การชักนำและการตอบสนองของมันสำปะหลังเตตระพลอยด์ต่อความแห้งแล้งในสภาพหลอดทดลอง

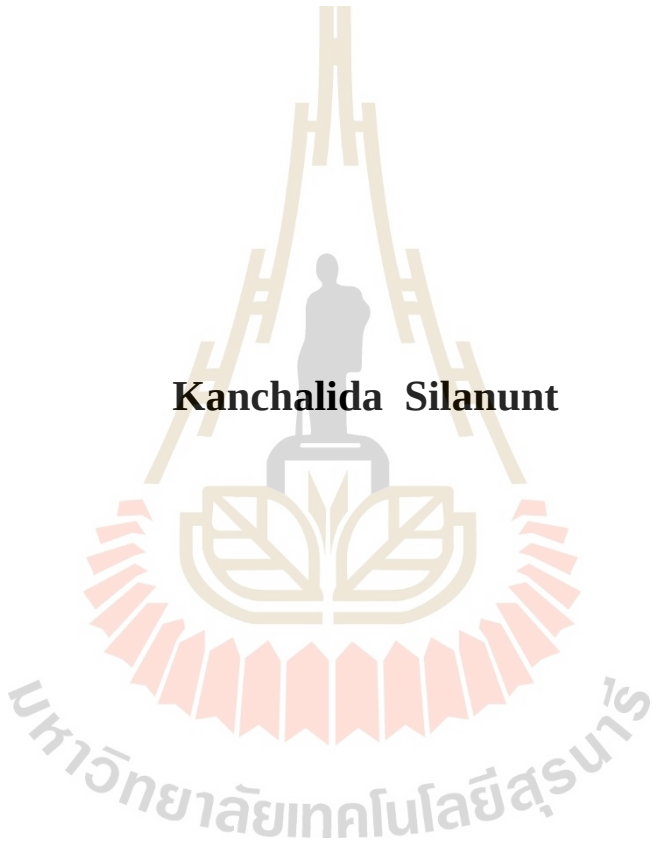
นางสาวกัญชลิดา ศิลานันท์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2562

INDUCTION AND RESPONSES OF TETRAPLOID CASSAVA TO DROUGHT STRESS UNDER *in vitro* CONDITIONS

Kanchalida Silanunt



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science Program in Crop Science

Suranaree University of Technology

Academic Year 2019

การชักนำและการตอบสนองของมันสำปะหลังเตตระพลอยด์ต่อความแห้งแล้ง ในสภาพหลอดทดลอง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผศ. ดร.ฐิติพร มะชิโกวา)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.ธีรยุทธ เกิดไทย)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(ศ. ดร.ปิยะดา อลิฆาณ์ ตันตสวัสดิ์)
กรรมการ

(ผศ. ดร.จิรวัฒน์ สนิทชน)
กรรมการ

(รศ. ร.อ. ดร.กนต์ธร ชำนิประศาสน์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและพัฒนาความเป็นสากล

(ศ. ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กัญชลิดา ศิลานันท์ : การชักนำและการตอบสนองของมันสำปะหลังเตตระพลอยด์ต่อความแห้งแล้งในสภาพหลอดทดลอง (INDUCTION AND RESPONSES OF TETRAPLOID CASSAVA TO DROUGHT STRESS UNDER *in vitro* CONDITIONS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ เกิดไทย, 88 หน้า.

ความแห้งแล้งเป็นปัญหาที่สำคัญของการปลูกมันสำปะหลังทั่วโลกโดยส่งผลต่อการเจริญเติบโต พัฒนาการ รวมถึงผลผลิตของมันสำปะหลังอย่างรุนแรง การแก้ปัญหาโดยการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังทนแล้งจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง วิธีการกลายพันธุ์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์พืช งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อสภาพความแห้งแล้งของสายพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการเพิ่มชุดโครโมโซมด้วยสารโคลชิซินในสภาพหลอดทดลอง งานวิจัยนี้ แบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลอง คือ 1) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นมันสำปะหลังในสภาพหลอดทดลอง 2) ศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงของต้นมันสำปะหลัง 3) ศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลัง diploid 3 พันธุ์ต่อความแห้งแล้งที่ถูกชักนำด้วยสาร polyethylene glycol (PEG) เพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในสภาพหลอดทดลอง และ 4) ศึกษาผลของความทนแล้งเนื่องจากสาร polyethylene glycol (PEG) ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนแล้งของมันสำปะหลัง tetraploid จากการทดลองที่ 1 พบว่าการเพาะเลี้ยงมันสำปะหลังในอาหารสูตร MS+น้ำตาล 20 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ได้ต้นที่มีความแข็งแรงและใช้เวลาสั้นที่สุด จากการทดลองที่ 2 พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่ 0.003 ถึง 0.005% ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 25 ถึง 50% โดยการแช่ชิ้นส่วนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 และห้วยบง 60 ที่ความเข้มข้น 0.005% เป็นเวลา 2 วัน และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ความเข้มข้น 0.003% เป็นเวลา 2 วัน สามารถเพิ่มจำนวนโครโมโซมของมันสำปะหลังให้กลายเป็นสายพันธุ์ tetraploid ได้ จากการทดลองที่ 3 พบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ diploid ที่ได้รับความเข้มข้น PEG 20% มีจำนวนใบร่วงมากที่สุดในวันที่ 7 และวันที่ 9 (1.44 และ 2 ใบ ตามลำดับ) รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 15 10 5 และ 0% ตามลำดับ และมันสำปะหลังมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบน้อยที่สุดในวันที่ 13 โดยมีค่าอยู่ที่ 76.40% และจากการทดลองที่ 4 พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ GPX เพิ่มมากขึ้นเมื่อมันสำปะหลังประสบสภาวะความแห้งแล้ง จากการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ CAT SOD GPX ในสภาพปกติพบว่าสายพันธุ์ tetraploid ทุกสายพันธุ์มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้นและมากกว่าในพันธุ์ diploid จากการศึกษาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในสภาพขาดน้ำพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ CAT กับ GPX (r=0.62**) และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD กับ GPX (r=0.57*) งานวิจัยนี้จึงชี้ให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD กับ GPX

(r=0.57*) งานวิจัยนี้ จึงชี้ให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์ ลักษณะทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาเป็นตัวบ่งชี้ถึงลักษณะการทนแล้งของมันสำปะหลังในสภาพหลอดทดลองและสายพันธุ์ที่ถูกเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยการใช้สารโคลซิซินมีศักยภาพในการทนแล้งและสามารถนำไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ทนแล้งได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา กัญชลิดา ศิลานันท์

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

KANCHALIDA SILANUNT : INDUCTION AND RESPONSES OF TETRAPLOID CASSAVA TO DROUGHT STRESS UNDER *in vitro* CONDITIONS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. TEERAYOOT GIRDTHAI, Ph.D., 88 PP.

CASSAVA/*in vitro*/DROUGHT RESPONSES/TETRAPLOID

Drought is a major problem for cassava production worldwide. It can greatly affect plant growth and development along with crop yield. Breeding for drought tolerance is necessary, and mutation breeding is an alternative way for cassava improvement. The objective of this research was to investigate the responses of tetraploid cassava induced by colchicine to water stress under *in vitro* conditions. This research was divided into 4 parts: (1) to investigate the optimal culture media for induction of shoot regeneration; (2) to study the effect of different colchicine concentrations on the survival rate and morphological changes in cassava; (3) to determine the responses of three diploid cassava varieties to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG), and to investigate its suitability for *in vitro* screening; and (4) to study the effect of drought induced by PEG on enzyme activities related to the drought resistant mechanisms of tetraploid cassava. The result of the 1st experiment found that cultivation of cassava node on MS supplemented with 20 g/l sucrose was the optimum condition providing the most and fastest plantlet development. The 2nd experiment found that the survival rate of all varieties was 25 to 50% at 0.003 to 0.005% of colchicine concentrations. Application of two colchicine concentrations, 0.005% (for HB60 and R72) and 0.003% (for KU50) for 2 days was the best protocol for tetraploid induction. The 3rd experiment found that diploid cassava varieties

cultured under drought conditions induced by 20% of PEG at 7 and 9 days had highest number of leaf retention (1.44 and 2 leaves, respectively) followed by at 15, 10, 5 and 0%, respectively. RWC under 20% of PEG had the lowest (76.40%) at 13 days. The last experiment found that GPX enzyme activity was increased under stress conditions. Under non-stress conditions, the activities of CAT, SOD and GPX enzymes of all tetraploid cassava lines were significantly higher than diploid cassava. A study on relationships between different enzyme activities under stress conditions found that there were positive correlations between CAT and GPX (r=0.62**) and between SOD and GPX (r=0.57*). These results indicated that enzyme activities, morphological and physiological traits can be used as an indicator of drought resistance mechanism under *in vitro* conditions and some tetraploid cassava lines induced by colchicine had drought resistant potential which can be used in the cassava breeding program.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Crop Production Technology Student's Signature Kanchalida Silanunt

Academic Year 2019 Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งด้านวิชาการและด้านการดำเนินงานวิจัย จากบุคคลและกลุ่มบุคคลต่าง ๆ ได้แก่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ เกิดไทย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่เมตตามอบโอกาสทางการศึกษา ให้คำแนะนำ และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา รวมทั้งช่วยแก้ปัญหา ช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา อลิฌาณ์ ตันตสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่เมตตาให้ข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาวิจัย รวมถึงคอยเติมเต็มกำลังใจเสมอมา

ผู้ช่วยศาสตรจารย์ ดร.ฐิติพร มะชิโกวา ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิรวัฒน์ สนิทชน กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาเสียสละเวลา และให้คำแนะนำ ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

อาจารย์ ดร.กมลชนก อำนาจกิติกร ที่เมตตาให้คำแนะนำความรู้ด้านเอนไซม์แก่ผู้วิจัย

เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือทุกท่าน ที่คอยอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์และเครื่องมือเป็นอย่างดี รวมถึงขอขอบคุณ คุณกิตติมา กฤษณสุวรรณ ที่คอยประสานงานเรื่องเอกสารต่าง ๆ ตลอดการทำวิจัย

พี่น้องบัณฑิตศึกษาทุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณอภิญญา ไขรัมย์ และความช่วยเหลือ ที่ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางการทำงานวิจัย ตลอดทั้งให้กำลังใจแก่ผู้วิจัย

คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว สำหรับการสนับสนุน ตลอดจนให้ความรัก เติมเต็มกำลังใจ และให้ความช่วยเหลือเสมอมา

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้กับบิดา มารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา จนสำเร็จการศึกษาไปได้ด้วยดี

กัญชลิดา ศิลานันท์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ซ
สารบัญภาพ ..... ฌ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฐ

บทที่

1. บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย 3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

2. ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ความสำคัญของมันสำปะหลัง 4
2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง 6
2.3 การปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทย 7
2.4 การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง 12
2.5 การกลายพันธุ์ในพืช 13
2.6 การชักนำพืชให้เกิด polyploid โดยสารโคลชิซิน 15
2.7 การตรวจสอบความเป็นพืช polyploid 16
2.8 ผลของการกลายพันธุ์ 17
2.9 การคัดเลือกพืชที่ทนทานต่อสภาพแห้งแล้งในสภาพหลอดทดลอง 19

3. อุปกรณ์ วิธีดำเนินการวิจัย 24
3.1 วิธีการทดลอง 24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

- การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นมันสำปะหลังในสภาพหลอดทดลอง 24
- การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงของต้นมันสำปะหลัง 25
- การทดลองที่ 3 ศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลัง diploid 3 พันธุ์ต่อความแห้งแล้งที่ถูกชักนำด้วย polyethylene glycol (PEG) เพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในสภาพหลอดทดลอง 27
- การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของความทนแล้งเนื่องจากสาร polyethylene glycol (PEG) ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนแล้งของมันสำปะหลัง tetraploid 28

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูล 29

4. ผลการทดลองและอภิปรายผล 30

- การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นมันสำปะหลังในสภาพหลอดทดลอง 30
- การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงของต้นมันสำปะหลัง 35
- การทดลองที่ 3 ศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลัง diploid 3 พันธุ์ต่อความแห้งแล้งที่ถูกชักนำด้วย polyethylene glycol (PEG) เพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในสภาพหลอดทดลอง 48
- การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของความทนแล้งเนื่องจากสาร polyethylene glycol (PEG) ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนแล้งของมันสำปะหลัง tetraploid 53

5. สรุปผลการทดลอง 64

รายการอ้างอิง 66

ภาคผนวก 74

ประวัติผู้เขียน 88

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกของการแปรรูปมันสำปะหลังปี 2560 และ 2561 5
2 เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยวและผลผลิตของแหล่งผลิตที่สำคัญในปี 2562 5
3 คุณลักษณะของพันธุ์ ระยอง 72 เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 60 9
4 คุณลักษณะของพันธุ์ พิรุณ 1 ห้านาที และระยอง 9 10
5 คุณลักษณะของพันธุ์ ระยอง 60 ระยอง 5 และห้วยบง 80 11
6 ประวัติและลักษณะมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง 24
7 เกณฑ์การบันทึกการเปลี่ยนแปลง 27
8 ค่าแรงดันออสโมติก (OP) ของ polyethylene glycol (PEG) 6000 28
9 จำนวนวันที่เนื้อเยื่อเริ่มมีการเจริญเป็นต้นกล้า ความสูงต้น จำนวนใบ และจำนวนข้อ ที่อายุ 30 วันที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 5 สูตร ของมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ 32
10 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์เมื่ออายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน 36
11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน 38
12 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน 43
13 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบร่วงในมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในวันต่าง ๆ หลังจากได้รับ polyethylene glycol (PEG) 5 ระดับความเข้มข้น 50
14 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (%) ของมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในวันที่ 13 หลังได้รับ polyethylene glycol PEG 5 ระดับความเข้มข้น 53
15 กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 54
16 กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

17 กิจกรรมของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (APX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับ ความเข้มข้น 57
18 กิจกรรมของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 59
19 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง กิจกรรมของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันต่าง ๆ ใน มันสำปะหลังที่ได้รับความเข้มข้น polyethylene glycol (PEG) 20% 60

ตารางภาคผนวกที่

1 อัตราส่วนการดูดสารสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ CAT APX GPX 76
2 อัตราส่วนการดูดสารสำหรับวิเคราะห์เอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD) 77
3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสาร ลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่าง 79
4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสาร ละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน 80
5 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วันหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลา ที่แตกต่างกัน 81
6 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบร่วงของมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในวันต่าง ๆ ต่อระดับความแห้งแล้ง ที่ได้รับจาก polyethylene glycol (PEG) 5 ระดับความเข้มข้น 82
7 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (%) ของมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในวันที่ 13 ต่อระดับ ความแห้งแล้งที่ได้รับจาก polyethylene glycol (PEG) 5 ระดับความเข้มข้น 83
8 กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) PEG 2 ระดับความเข้มข้น 84
9 กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 85

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

10 กิจกรรมของเอนไซม์ Ascorbate peroxidase (APX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 86
11 กิจกรรมของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 87

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 แสดงองค์ประกอบของมันสำปะหลัง (A) ส่วนประกอบต่างๆของราก (B) ผล (C) ดอกตัวผู้ และดอกตัวเมีย (D) ส่วนประกอบลำต้นที่ทำการตัดขวาง 7

2 จำนวนวันที่เนื้อเยื่อของมันสำปะหลังมีการเจริญเป็นต้น (วัน) เมื่อเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน 33

3 ความสูงต้น (ซม.) ของมันสำปะหลังที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน 33

4 จำนวนใบของมันสำปะหลังที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน 34

5 จำนวนข้อมันสำปะหลังที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน 34

6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับความเข้มข้นโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้น 37

7 จำนวนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับการแช่ชิ้นส่วนในวันที่แตกต่างกันด้วยโคลชิซิน 39

8 จำนวนใบมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับการแช่ชิ้นส่วนในวันที่แตกต่างกันด้วยโคลชิซิน 39

9 จำนวนรากมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับการแช่ชิ้นส่วนในวันที่แตกต่างกันด้วยโคลชิซิน 40

10 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงของมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้น 44

11 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงของมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วันที่ได้รับโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและใช้ระยะเวลาในการแช่ชิ้นส่วนที่แตกต่างกัน 44

12 ลักษณะต้นและฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 60 วัน 45

13 ลักษณะต้นและฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่อายุ 60 วัน 46

14 ลักษณะต้นและฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 60 วัน 47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

15 ผลของความแห้งแล้งจาก polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนใบร่วงของใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 51
16 ผลของความแห้งแล้งจาก polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนใบร่วงของใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 51
17 ผลของความแห้งแล้งจาก polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนใบร่วงของใบมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 52
18 กิจกรรมเอนไซม์ CAT ของมันสำปะหลังที่อายุ 7 วันหลังได้รับความเข้มข้น polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 55
19 กิจกรรมเอนไซม์ APX ของมันสำปะหลังที่อายุ 13 วันหลังได้รับ Polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 58
20 กิจกรรมเอนไซม์ GPX ของมันสำปะหลังที่อายุ 13 วันหลังได้รับ Polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น 59

ภาพภาคผนวกที่

1 กราฟโปรตีนมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน 78

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

APX	=	เอนไซม์แอสคอเบทเพอร์ออกซิเดส
BA	=	เบนซิลอะดีนีน
CAT	=	เอนไซม์คะตาเลส
CRD	=	การทดลองที่มีแผนแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์
GPX	=	เอนไซม์กวาอะคอลเพอร์ออกซิเดส
HB60	=	พันธุ์ห้วยบง 60
KU50	=	พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50
MS	=	อาหารสังเคราะห์ Murashige and Skoog
NAA	=	แนฟทาลีนอะซีติก
NBT	=	ไนโตรบลูเตตระโซเลียม
R72	=	พันธุ์ระยอง 72
RWC	=	ปริมาณน้ำสัมพัทธ์
PEG 6000	=	โพลีเอทิลีนไกลคอล ที่มีน้ำหนักโมเลกุล = 6000
S.E.	=	ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
SOD	=	เอนไซม์ออกไซด์ดิสมิวเตส

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

จากแนวโน้มความต้องการมันสำปะหลังของโลกที่ขยายตัวจากพืชอาหารไปสู่พืชพลังงาน ส่งผลต่อความต้องการมันสำปะหลังเพื่อรองรับอุตสาหกรรมภายในประเทศและต่างประเทศ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตให้มีผลผลิตต่อไร่สูงขึ้น รวมถึงผลผลิตที่มีคุณภาพสอดคล้องกับความต้องการของตลาด มันสำปะหลังจึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอันดับต้น ๆ ของประเทศไทย ประเทศไทยนอกจากจะเป็นผู้ผลิตมันสำปะหลังได้มากเป็นอันดับที่สามของโลกรองจากประเทศไนจีเรีย และบราซิลยังเป็นประเทศผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มัน-สำปะหลังเป็นอันดับหนึ่งของโลก จากผลสำรวจของคณะสำรวจภาวะการผลิตการค้ามันสำปะหลังประจำปี 2562 พบว่ามีพื้นที่เก็บเกี่ยวมันสำปะหลังประมาณ 8.60 ล้านไร่ ผลผลิตหัวสด 31 ล้านตัน โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 3.5 ตันต่อไร่ จังหวัดที่มีการปลูกมันสำปะหลังมากที่สุด คือ จังหวัดนครราชสีมา มีพื้นที่เพาะปลูก 1,431,615ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) ในปัจจุบันการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศเป็นประเด็นปัญหาที่ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากประเทศไทยมีพื้นฐานอยู่บนกิจกรรมด้านการเกษตรหรือผลผลิตทางการเกษตร มันสำปะหลังเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ง่าย แต่ช่วงระยะเวลาประมาณ 40 ปีที่ผ่านมา สภาพอากาศค่อนข้างร้อนจึงทำให้ต้นมันสำปะหลังขาดน้ำมีเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่ หัวมันมีขนาดเล็กผิดปกติ แม้จะมีการลงทุนด้านการวิจัยพันธุ์พืชและการพัฒนาเทคโนโลยีทางการเกษตรแต่การผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทยยังคงอยู่ในเกณฑ์ต่ำเมื่อเทียบกับความต้องการในปัจจุบัน ซึ่งปัญหาที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือต้องเผชิญตลอดมาได้แก่ ปัญหาภัยแล้ง ปัญหาดังกล่าวส่งผลโดยตรงต่อการลดลงของผลผลิตมันสำปะหลังโดยเฉพาะจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เกษตรกรต้องเผชิญกับภัยแล้งตลอดมา เนื่องจากพื้นที่การปลูกมันสำปะหลังส่วนใหญ่เป็นการปลูกโดยอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก (ยุทธชัย อนุรักษ์ติพันธุ์ และ สรรสฤษฎ์ เธียรโพธิภิรักษ์, 2546)

ซึ่งการผลิตมักประสบปัญหาในอีกหลายด้านเช่น ขาดแคลนพันธุ์ดีที่ปรับตัวและเหมาะสมกับพื้นที่ปลูกที่มีข้อจำกัดทางการผลิตที่แตกต่างกัน ซึ่งในบางพื้นที่มีช่วงที่ฝนทิ้งช่วงมากกว่า 4 เดือนและมีปริมาณน้ำฝนต่ำกว่า 1,200 มิลลิเมตรต่อปี ทำให้มีโอกาสประสบความแห้งแล้งเพิ่มมากขึ้น ผนวกกับปัญหาดินมีความสมบูรณ์ต่ำ มีความเหมาะสมกับการปลูกพืชน้อย จึงทำให้มัน-สำปะหลังมีการเจริญเติบโตช้า มีผลผลิตหัวมันต่ำ และคุณภาพผลผลิตต่ำ เปอร์เซ็นต์แป้งและ

คุณภาพลดลง ดังนั้นการผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทยจึงควรมีการจัดการทั้งทางด้านการใช้พันธุ์ และการเขตกรรมอย่างผสมผสานเพื่อให้สามารถแก้ไขปัญหาได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังโดยการใช้พันธุ์ที่เหมาะสมเป็นวิธีการแก้ปัญหาที่ยั่งยืนแต่การปรับปรุงพันธุ์ก็ต้องใช้เวลาและมีการลงทุนมากเช่นเดียวกัน

วิธีการในการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังในปัจจุบันที่เป็นแบบดั้งเดิม (conventional breeding) ใช้เวลานานกว่าจะได้พันธุ์ดีที่สามารถปล่อยเป็นพันธุ์แนะนำให้แก่เกษตรกร โดยปกติการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังใช้เวลาประมาณ 8-10 ปี มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีอัตราส่วนในการผสมข้ามสูงและมีความเป็น heterozygous สูง ดังนั้นการสร้างสายพันธุ์แท้และลูกผสมเพื่อใช้ประโยชน์จากความดีเด่นเหนือพ่อแม่ (heterosis) ก็ต้องใช้เวลานานเช่นเดียวกัน โดยเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์คือการสร้างความหลากหลายให้แก่พืชโดยการกลายพันธุ์ ซึ่งการสร้างพันธุ์มันสำปะหลัง tetraploid โดยใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนโครโมโซมจะส่งผลให้พืชมีลักษณะต่าง ๆ เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม Nassar (2008) กล่าวว่าการใช้สารโคลชิซินเพื่อเพิ่มจำนวนโครโมโซมที่ตาข้างมันสำปะหลังที่กำลังเจริญเติบโต ทำให้ผนังเซลล์ในท่อลำเลียงมีความหนามากขึ้น และเซลล์ท่อลำเลียงน้ำมีขนาดใหญ่ขึ้น และกลุ่มเซลล์ parenchyma มีความแข็งแรงและมีจำนวนมากขึ้น ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต การให้ผลผลิตและอาจมีความต้านทานต่อความแห้งแล้งได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ ยังพบว่าเทคนิคการเพิ่มจำนวนโครโมโซมยังสามารถใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง polyploidy ซึ่งมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตที่สูงกว่าพันธุ์ปกติที่มีโครโมโซมสองชุดหรือ diploid ในปัจจุบันมีการพัฒนาโดยการนำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมในการสร้างพืช polyploid มากขึ้น (Dhooghe *et al*., 2011) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการชักนำและการตอบสนองต่อสภาพความแห้งแล้งของสายพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกเพิ่มชุดโครโมโซมในสภาพหลอดทดลองเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังให้มีผลผลิตสูงต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นมันสำปะหลังในสภาพหลอดทดลอง

1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงของต้นมันสำปะหลัง

1.2.3 ศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลัง diploid 3 พันธุ์ต่อความแห้งแล้งที่ถูกชักนำด้วย polyethylene glycol (PEG) เพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในสภาพหลอดทดลอง

1.2.4 ศึกษาผลของความทนแล้งเนื่องจากสาร polyethylene glycol (PEG) ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนแล้งของมันสำปะหลัง tetraploid

1.3 สมมุติฐานการวิจัย

1.3.1 การก่อการกลายพันธุ์โดยการใช้สารเคมีโคลซิซินร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในมันสำปะหลังได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.3.2 มันสำปะหลัง tetraploids มีกลไกการทนทานต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดีกว่าในพันธุ์ มันสำปะหลัง diploids

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาวิธีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์มันสำปะหลัง ที่ได้จากการเพราะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังจำนวน 3 พันธุ์ โดยการใช้โคลซิซินเป็นสารก่อกลายพันธุ์ ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การเปลี่ยนแปลงลักษณะต่างๆ ทางสัณฐานวิทยา และทดสอบความสามารถในการทนแล้งในสภาพหลอดทดลองในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาคารเกษตรภิวัฒน์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญ และปัจจุบันมีความต้องการบริโภคมันสำปะหลังเพิ่มมากขึ้นในหลายอุตสาหกรรม ทั้งเพื่อเป็นอาหารสัตว์ เป็นวัตถุดิบในภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น แอลกอฮอล์ เครื่องนุ่งห่ม ยา กระดาษ กาวและภาชนะบรรจุอาหาร เป็นต้น รวมถึงเป็นวัตถุดิบในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (เอทานอล) โดยมันสำปะหลังมีถิ่นกำเนิด (center of origin) ในบริเวณเขตร้อนของทวีปอเมริกาใต้ ซึ่งมีการปลูกมันสำปะหลังมาประมาณ 7,000 ปี ต่อมาได้ขยายไปสู่แหล่งอื่นๆของโลก สำหรับประเทศไทยยังไม่มีหลักฐานยืนยันแน่ชัดว่ามีการนำเข้ามาปลูกเมื่อใด แต่มีการคาดการว่ามีการนำเข้าสู่ประเทศไทยจากประเทศมาเลเซียเมื่อราวปี พ.ศ. 2329 ซึ่งผลผลิตมันสำปะหลังทั่วโลกในปี 2560 มีประมาณ 278 ล้านตัน ทวีปแอฟริกาเป็นแหล่งผลิตที่ใหญ่ที่สุดของโลก เนื่องจากเป็นพืชอาหารหลักของผู้บริโภคในภูมิภาคนี้ ผู้ผลิตมัน-สำปะหลังอันดับ 1 ของโลกคือ ไนจีเรีย (สัดส่วน 20% ของผลผลิตมันสำปะหลังทั่วโลก) ตามด้วย ไทย บราซิล อินโดนีเซีย และกานา มีสัดส่วนการผลิต 11 77 และ 6% ของผลผลิตโลก ตามลำดับ ถึงแม้ไทยจะมีผลผลิตเป็นอันดับสองรองจากไนจีเรีย แต่ผลผลิตของไนจีเรียส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ ไทยจึงเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังรายใหญ่ที่สุดของโลก คิดเป็นมูลค่าประมาณแสนล้านบาทต่อปี (FAO, 2018) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณและมูลค่าการส่งออกระหว่างปี พ.ศ. 2560 และ 2561 พบว่า มูลค่าการส่งออกมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 1) ซึ่งในปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีเนื้อที่เพาะปลูกรวมทั้งประเทศ 8.8 ล้านไร่ ผลผลิตรวม 31 ล้านตัน พื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังของไทยส่วนใหญ่อยู่ในจังหวัดนครราชสีมา กำแพงเพชร ชัยภูมิ กาญจนบุรี และอุบลราชธานี ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกของการแปรรูปมันสำปะหลังปี 2560 และ 2561

ประเภทการแปรรูป		2560	2561
มันเส้น	ปริมาณ (ตัน)	5,748,950.587	3,772,092.080
	มูลค่า (บาท)	32,366,593,781	26,893,493,812
มันอัดเม็ด	ปริมาณ (ตัน)	35,420.997	10,343.760
	มูลค่า (บาท)	197,557,815	78,803,788
กากมันสำปะหลัง	ปริมาณ (ตัน)	454,179.627	268,345,689
	มูลค่า (บาท)	1,580,300,816	1,164,543,069
แป้งมันสำปะหลัง	ปริมาณ (ตัน)	2,831,091.265	2,688,824.504
	มูลค่า (บาท)	31,343,700,584	40,881,860,268
โมดิฟายด์สตาร์ช	ปริมาณ (ตัน)	927,780.756	947,709.337
	มูลค่า (บาท)	19,095,231,821	22,287,545,772
สาคู	ปริมาณ (ตัน)	29,977.793	33,689.240
	มูลค่า (บาท)	694,724,644	871,836,652
รวม	ปริมาณ (ตัน)	10,027,401.025	7,721,004.640
	มูลค่า (บาท)	85,278,129,461	92,178,143,361

(ที่มา: สมาคมโรงงานผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังไทย, 2561)

ตารางที่ 2 เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยวและผลผลิตของแหล่งผลิตที่สำคัญในปี 2562

จังหวัด	เนื้อที่เพาะปลูก (ไร่)	เนื้อที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กก)	
				ต่อเนื้อที่ปลูก	ต่อเนื้อที่เก็บเกี่ยว
รวมทั้งประเทศ	8,823,412	8,666,596	31,079,966	3,522	3,586
นครราชสีมา	1,431,615	1,413,314	5,325,614	3,720	3,768
กำแพงเพชร	684,681	684,561	2,487,594	3,633	3,634
ชัยภูมิ	629,570	605,111	2,169,264	3,446	3,585
กาญจนบุรี	480,879	479,644	1,665,352	3,463	3,472
อุบลราชธานี	470,839	457,930	1,700,045	3,611	3,712

(ที่มา: สำนักงานเกษตรแห่งชาติ, 2562)

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีชื่อสามัญ Cassava, Manihot, Manioc, Tapioca มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz. ซึ่งจัดหมวดหมู่ไว้ดังนี้

Genus : *Manihot*

Family : *Euphorbiaceae*

Subdivision : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Order : Geraniales

2.2.1 ต้น มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม ความสูงของต้น 1-5 เมตร ขึ้นกับพันธุ์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นประมาณ 2-6 เซนติเมตร สีของลำต้นแตกต่างกันไปตามพันธุ์ และบริเวณตา (bud) จะเจริญเป็นต้นใหม่เมื่อนำท่อนพันธุ์ไปปลูก สีของลำต้นส่วนยอดจะเป็นสีเขียวส่วนทางด้านล่างอาจมีสีน้ำตาล หรือสีม่วงแดงขึ้นอยู่กับพันธุ์

2.2.2 ใบ เป็นใบเดี่ยว ตัวใบหรือแผ่นใบ (lamina) จะเว้าเป็นหยักลึกเป็นแฉก (palmately lobe) จำนวนหยักมีตั้งแต่ 3-9 หยัก ใบแยกเป็นแฉกคล้ายใบปาล์ม สีของใบในพันธุ์ส่วนใหญ่เป็นสีเขียวบางพันธุ์ใบจะมีสีเหลืองหรือขาวใบด่าง ก้านยาวประมาณ 5-30 เซนติเมตร ก้านใบมีสีที่แตกต่างกันอาจมีสีเขียว หรือขาวหม่นจนถึงแดง ซึ่งลักษณะความกว้างของใบ จำนวน ความยาวของแฉกใบ สีของใบอ่อน ใบแก่ สามารถใช้จำแนกพันธุ์ได้

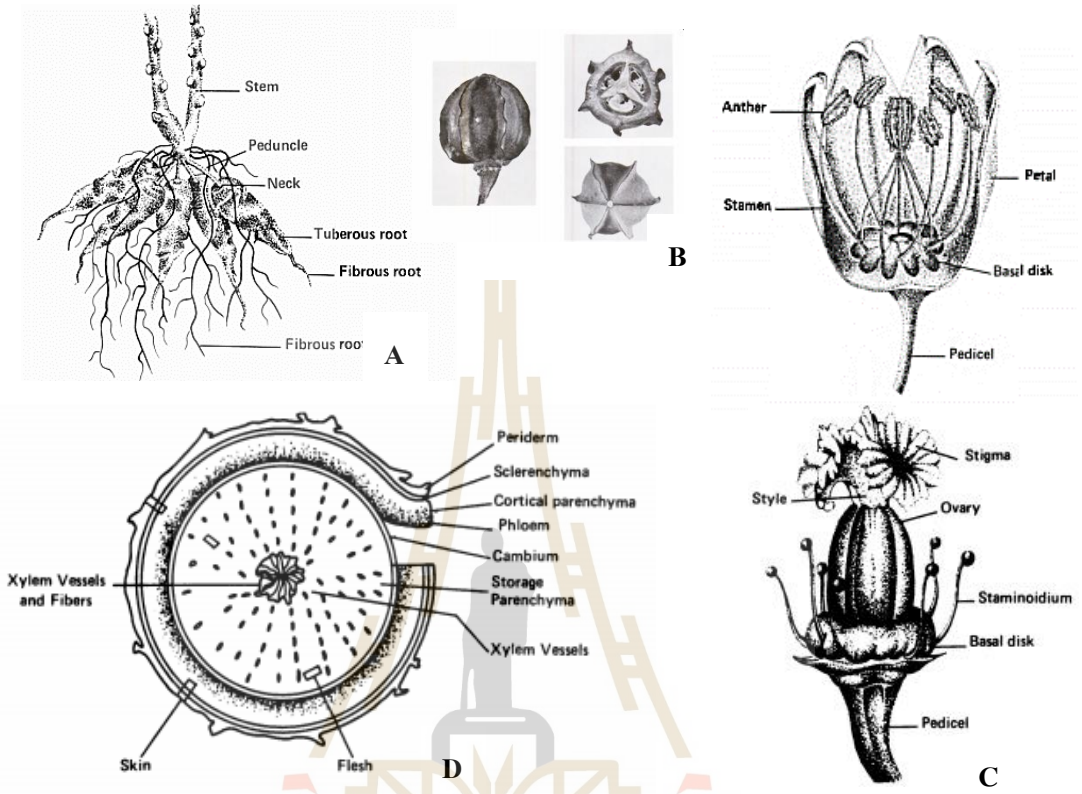
2.2.3 ดอก เป็นพืชที่มีช่อดอกเป็นแบบ panicle คือมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียจะอยู่แยกดอกแต่อยู่ในช่อดอกเดียวกัน (monoecious) ช่อดอกจะเกิดบริเวณปลายยอดของลำต้นหรือรอยต่อบริเวณที่เกิดตาข้าง

- ดอกตัวผู้ (staminate flower) จะอยู่ทางส่วนบนของช่อดอก มีกลีบเลี้ยง (sepal) 5 กลีบ แต่ละดอกมี 10 stamen แบ่งเป็น 2 วง ๆ ละ 5 อัน
- ดอกตัวเมีย (pistillate flower) จะมีขนาดใหญ่กว่าดอกตัวผู้ เกิดบริเวณส่วนล่างของช่อดอก ซึ่งประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 5 กลีบ รังไข่ (ovary) ประกอบด้วย 3 carpel แต่ละ carpel มีไข่ (ovule) อยู่ 1 ใบ ดอกตัวผู้จะบานหลังดอกตัวเมียประมาณ 7-10 วัน

2.2.4 ผล หลังการผสมเกสรแล้ว รังไข่ก็จะเจริญเติบโตขยายใหญ่กลายเป็นผลแบบ capsule ขนาดโตเต็มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ยาว 1-1.5 เซนติเมตร ภายในมี 3 ช่อง แต่ละช่องมีเมล็ด 1 เมล็ด รูปร่างยาวรี มีสีน้ำตาลและมีลายดำ

2.2.5 ราก มันสำปะหลัง มีราก 2 ชนิด คือ รากจริงเป็นแบบรากฝอย และรากสะสมอาหารที่เรียกกันทั่วไปว่า หัว ซึ่งส่วนหัว (tuber) ของมันสำปะหลัง คือส่วนรากที่ขยายใหญ่เพื่อสะสมอาหารที่เป็นคาร์โบไฮเดรต ในส่วน parenchyma cell รากสะสมอาหารมีปริมาณแป้งประมาณ 15 –

40% มีกรดไฮโดรไซยานิก (HCN) หรือ กรดพรัสซิก (prussic acid) ซึ่งมีพิษ จะมีอยู่มากในส่วนของเปลือกมากกว่าเนื้อของหัว



ภาพที่ 1 แสดงองค์ประกอบของมันสำปะหลัง (A) ส่วนประกอบต่าง ๆ ของราก (B) ผล (C) ดอกตัวผู้ และดอกตัวเมีย (D) ส่วนประกอบลำต้นที่ทำการตัดขวาง
(ที่มา : Carlos *et al*., 1984)

2.3 การปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทย

มันสำปะหลังถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย การปลูกมันสำปะหลังจะพบพื้นที่ปลูกในทั่วทุกภาคของประเทศยกเว้นภาคใต้ ภาคที่มีการปลูกมากที่สุดคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชสามารถเพาะปลูกได้ทั่วไป ทนแล้ง และขยายพันธุ์ได้ดี ผลตอบแทนต่อไร่สูงและมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าพืชหลายๆชนิด โดยจะแบ่งมันสำปะหลังออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดหวาน (Sweet type) ใช้เพื่อการบริโภค มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคต่ำไม่มีรสขมสามารถใช้หัวสดทำอาหารได้โดยตรงซึ่งในประเทศไทยไม่มีการปลูกมันสำปะหลังชนิดนี้ เป็นพื้นที่ใหญ่เนื่องจากมีตลาดจำกัดนิยมปลูกใช้แค่ภายในครัวเรือน ส่วนมัน-

สำปะหลังอีกชนิดคือ ชนิดขม (Bitter type) มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคสูง มีความเป็นพิษต่อร่างกายหากไม่ผ่านการแปรรูป ซึ่งในระหว่างการทำมันเส้นผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ 150 องศาเซลเซียสสามารถทำให้กรดไฮโดรไซยานิคลดลงเหลือเพียง 30 ส่วนต่อล้านส่วน ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ และหากมีการเก็นมันเส้นไว้ในระยะเวลาหนึ่งปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคก็จะมีปริมาณลดลง (สุกัญญา จัตตุพรพงษ์, 2530) สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมแปรรูปต่าง ๆ ได้ เนื่องจากมีปริมาณแป้งสูง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3.1 ลักษณะพันธุ์ที่นิยมปลูกในไทย

ตารางที่ 3 คุณลักษณะของพันธุ์ ระยอง 72 เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 60

คุณลักษณะของพันธุ์	ระยอง 72	เกษตรศาสตร์ 50	ห้วยบง 60
สียอดอ่อน	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วงอ่อน
สีก้านใบ	สีแดงเข้ม	สีเขียวอมม่วง	สีเขียวอมม่วง
ลักษณะแผ่นใบ	ใบหอก	ใบหอก	ใบหอก
สีลำต้น	สีเขียวเงิน	สีเขียวเงิน	สีเขียวเงิน
สีเนื้อหัว	สีขาว	สีขาว	สีขาว
ลักษณะหัว	หัวอ้วนและยาวกว่าพันธุ์ระยอง 5	กรวยแกมกระบอก	เรียวยาว
ผลผลิตหัวสด (ตัน/ไร่)	5.1	4.4	5.8
ลักษณะเด่น	ให้ผลผลิตหัวสดสูง ต้นพันธุ์คุณภาพดี ทนแล้ง	สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี มีความงอกดี มีปริมาณแป้งสูง	มีผลผลิตและปริมาณแป้งสูง ต้านทานโรคใบจุดปานกลาง
ข้อจำกัด	ปริมาณแป้งต่ำเมื่อปลูกในภาคตะวันออก และค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคใบไหม้	ในบางท้องที่จะแตกกิ่ง ทำให้ไม่สะดวกในการปฏิบัติดูแลรักษา	ควรเก็บเกี่ยวเมื่ออายุไม่น้อยกว่า 10 เดือน

(ที่มา: คณะทำงานโครงการเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังโดยการกระจายพันธุ์และการขยายท่อนพันธุ์สะอาด กรมวิชาการเกษตร, 2552)

ตารางที่ 4 คุณลักษณะของพันธุ์ พิรุณ 1 ห้านาที และระยอง 9

คุณลักษณะของพันธุ์	**พิรุณ 1**	**ห้านาที**	**ระยอง 9**
สียอดอ่อน	สีม่วงอมเขียว	สีเขียว	สีเขียวอ่อน
สีก้านใบ	สีเขียวปนแดง	สีแดงเข้ม	สีเขียวอ่อนอมชมพู
ลักษณะแผ่นใบ	ใบหอก	ใบหอก	แฉกใบกลางเป็นรูปใบหอก
สีลำต้น	สีเขียวเงิน	สีน้ำตาลอมเขียว	สีน้ำตาลอมเหลือง
สีเนื้อหัว	สีขาว	สีขาว	สีขาว
ลักษณะหัว	ทรงกระบอก	เรียวยาว	เรียวยาว
ผลผลิตหัวสด (ตัน/ไร่)	6.6	2-3	4.9
ลักษณะเด่น	ลำต้นเป็นแบบซิกแซก เหมาะสำหรับปลูกในดินเหนียวสีแดงและร่วนปนเหนียว	ปริมาณกรดไซยานิคต่ำ รสชาติดี เนื้อร่วนซุย เหมาสำหรับการบริโภค	ลำต้นสูงตรง แข็งแรง ผลผลิตสูง มีปริมาณแป้งสูง ต้านทานโรค
ข้อจำกัด	ไม่เหมาะกับดินเหนียวสีดำ	ผลผลิตต่ำถ้าปลูกในสภาพไร่	ไม่ต้านทานไรแดง ไม่เหมาะสำหรับดินร่วนเหนียว ไม่เหมาะกับการเก็บเกี่ยวต่ำกว่า 12 เดือน

(ที่มา: คณะทำงานโครงการเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังโดยการกระจายพันธุ์และการขยายท่อนพันธุ์สะอาด กรมวิชาการเกษตร, 2552)

ตารางที่ 5 คุณลักษณะของพันธุ์ ระยอง 60 ระยอง 5 และห้วยบง 80

คุณลักษณะของพันธุ์	**ระยอง 60**	**ระยอง 5**	**ห้วยบง 80**
สียอดอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีม่วงอมน้ำตาล	สีเขียวอ่อน
สีก้านใบ	สีเขียวอ่อน	สีแดงเข้ม	สีเขียวอมแดง
ลักษณะแผ่นใบ	ใบหอก	ใบหอก	ใบหอก
สีลำต้น	สีน้ำตาลอมส้ม	สีเขียวอมน้ำตาล	สีเขียวอมเงิน
สีเนื้อหัว	สีขาว	สีขาว	สีขาว
ลักษณะหัว	เรียวยาว	อ้วนป้อม	กรวย
ผลผลิตหัวสด (ตัน/ไร่)	3.8	4.4	4.9
ลักษณะเด่น	ปริมาณแป้งสูง	ปรับตัวได้ดีกับหลายสภาพแวดล้อม ผลผลิตสูงบริโภค	ปริมาณแป้งสูง
ข้อจำกัด	ต้นพันธุ์สูญเสียความงอกเร็ว และไม่ทนแล้ง จึงไม่เหมาะกับการปลูกปลายฤดูฝน	ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคใบไหม้ ทรงต้นแตกกิ่ง ได้ต้นพันธุ์น้อย	ควรเก็บเกี่ยวเมื่ออายุไม่น้อยกว่า 10 เดือน

(ที่มา: คณะทำงานโครงการเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังโดยการกระจายพันธุ์และการขยายท่อนพันธุ์สะอาด กรมวิชาการเกษตร, 2552

เนื่องจากพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์แนะนำของประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ ซึ่งพันธุ์มันสำปะหลังในประเทศไทยมีหลายแหล่ง เช่น สายพันธุ์มันสำปะหลังของกรมวิชาการเกษตร สายพันธุ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เป็นต้น ซึ่งมักได้มาจากการปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง ต้านทานโรค หรือทนทานต่อสภาวะความเครียดจากสิ่งแวดล้อม โดยพื้นฐานของความหลากหลายทางชีวภาพหรือความหลากหลายทางพันธุกรรม มีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของหน่วยพันธุกรรมหรือยีน (gene) โดยการปรับปรุงพันธุ์ หรือเป็นการเปลี่ยนแปลงที่นักพันธุศาสตร์เรียกว่า การกลายพันธุ์ (mutation) ซึ่งมีหลายแบบโดยปกติมันสำปะหลังมีโครโมโซม 2n = 36 หนึ่งในวิธีที่นิยมในการก่อกลายพันธุ์คือการกระตุ้นพืชให้ได้พืช polyploid เช่น triploid มีโครโมโซม (2n = 3x = 54) และ tetraploid มีโครโมโซม (2n = 4x = 72) ทำได้โดยการหยดสารโคลชิซินที่บริเวณ meristem หรือการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร และละอองเกสรของพืช (anther และ pollen culture) ในอาหารสังเคราะห์ ต้นพืชที่มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid plant) เพิ่มโครโมโซมได้เป็น 2 ชุด (homozygous diploid) ซึ่งเป็นพันธุ์แท้ ปกติแล้วการทำพืชพันธุ์แท้ ทำได้โดยผสมตัวเองซ้ำหลาย ๆ ชั่วอายุ (generations) ซึ่งใช้เวลานาน แต่วิธีการนี้สามารถลดเวลาในการสร้างพันธุ์แท้ได้ (Wang *et al*., 2007) มันสำปะหลังที่ถูกกระตุ้นด้วยสารโคลซิซินจะมีขนาด รูปร่างการเจริญเติบโตและผลผลิตแตกต่างกับมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการ double chromosome (Nassar, 2006)

2.4 การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง

เนื่องจากปัจจุบันมีโนวโน้มความต้องการปริมาณมันสำปะหลังสูงขึ้นจากเดิม การผลิตมันสำปะหลังจะได้ผลผลิตดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับการเลือกใช้พันธุ์และสภาพแวดล้อม ซึ่งพันธุ์มันสำปะหลังที่ให้ผลผลิตสูงในแต่ละพื้นที่ จะเป็นแรงจูงใจที่ส่งผลให้เกษตรกรหันมาปลูกมันสำปะหลัง โดยเลือกใช้พันธุ์มันสำปะหลังที่เหมาะสมกับพื้นที่นั้น ๆ ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตดี เปอร์เซ็นต์แป้งในหัวสูง และสามารถปรับตัวได้ดีกับสิ่งแวดล้อม เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มลักษณะทางการเกษตรที่ดีและช่วยลดต้นทุนการผลิต การปรับปรุงพันธุ์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การปรับปรุงโดยวิธีมาตรฐาน (conventional breeding) ส่วนใหญ่จะอาศัยความแปรปรวนทางธรรมชาติ วิธีพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) และวิธีการเหนี่ยวนำให้เกิดการพันธุ์ (mutation breeding) โดยจะใช้สารเคมีหรือรังสีทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชที่ต้องการ และเป็นที่ยอมรับในหมู่นักวิชาการโดยเฉพาะนักปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง โดยคำนึงถึงโอกาสที่จะสร้างพันธุ์ให้ดีกว่าปัจจุบัน ทั้งนี้จำเป็นจะต้องมีขั้นตอนทดสอบพันธุ์ และประเมินการแสดงออกของสายพันธุ์ดีเด่น เพื่อดูปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อม (G x E) ซึ่งมีพื้นฐานมาจากความไม่สม่ำเสมอหรือความแตกต่างกันของสภาพแวดล้อม รวมถึงด้านพื้นที่ปลูก

ฤดูกาล และปีที่ปลูก ซึ่งมีผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโต และให้ผลผลิตของแต่ละพันธุ์แตกต่างกันไป (สกล ฉายศรี และคณะ, 2550)

ปัจจุบันการปรับปรุงพันธุ์โดยทำให้เกิดกลายพันธุ์ในมันสำปะหลัง จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถสร้างสายพันธุ์กลายที่ให้ลักษณะใหม่ที่ดีเด่นกว่าเดิม ซึ่งลักษณะบางประการวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมไม่สามารถทำได้ นอกจากนี้ ยังสามารถใช้วิธีการต่าง ๆ เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ ดังนี้การเหนี่ยวนำให้กลายด้วยรังสี สารเคมี เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเหนี่ยวนำโดยการสอดแทรก DNA สำหรับมันสำปะหลังที่มีการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าการใช้สารโคลชิซินความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิด tetraploids ส่งผลให้ลักษณะทางสรีรวิทยาเปลี่ยนแปลงไป เช่น ใบกว้าง หนา มีสีเขียวเข้ม และมีความสามารถในการสังเคราะห์แสงได้ดีกว่าในพันธุ์ diploid (Zhou *et al*., 2017) ซึ่งข้อดีของสารเคมีก่อกลายพันธุ์ที่เหนือกว่าวิธีอื่นคือ หาซื้อได้ง่าย สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่จำเพาะสามารถทำนายได้ และเกิดการกลายของยีนในอัตราที่สูง แต่มีข้อเสียบางประการเช่น ความไม่แน่นอนในการเข้าเซลล์เป้าหมาย มีการทำซ้ำได้ยาก และการป้องกันอันตรายทำได้ยาก มีความเสี่ยงต่อการใช้สูง เนื่องจากสารเคมีส่วนใหญ่เป็นพิษเป็นสารก่อมะเร็ง (กิตติ โพธิปัทมะ และคณะ, 2555)

2.5 การกลายพันธุ์ในพืช

สามารถแบ่งการกลายตามสาเหตุของการเกิดได้ 2 ประเภทคือ การกลายธรรมชาติ เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นโดยไม่ทราบสาเหตุ เรียกว่า การกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ และการกลายพันธุ์ที่เกิดจากการกระตุ้น ซึ่งจะได้อัตราการกลายสูงกว่าที่เกิดเองโดยธรรมชาติหลายเท่า สิ่งที่ใช้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายโดยทั่วไปเรียกสิ่งก่อการกลาย (mutagen) แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

- รังสี เป็นสิ่งที่เกิดจากสารกัมมันตภาพมีได้ 2 รูป คือ ในรูปอนุภาคหรือรูปมวล ได้แก่ รังสีแอลฟา รังสีบีตา และนิวตรอน และรังสีในรูปของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ได้แก่ รังสีเอ็กซ์ และรังสีแกมมา เมื่อพืชได้รับรังสีก็อาจทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้

- สารเคมี มีสารเคมีหลายชนิดสามารถกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ได้แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มที่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับเบส DNA 2) สารเคมีที่มีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกับเบสใน DNA 3) สารที่สามารถเข้าแทนที่เบส purine ในสาย DNAได้เช่น พวก alkylating agents และสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการเพิ่มหรือลดเบสใน DNA (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และคณะ, 2550)

2.5.1 รูปแบบการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ เป็นการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเซลล์ การกลายพันธุ์อาจเกี่ยวกับการสูญหายของยีน หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในยีน เรียกว่า การกลายพันธุ์ของยีน (gene mutation) ส่วนการกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนส่วนของโครโมโซม การสูญ

หายไปหรือการเพิ่มเข้ามาของโครโมโซมที่ครอบคลุมมากกว่าหนึ่งยีน เรียกว่า การกลายพันธุ์ของโครโมโซม (chromosome mutation)

2.5.1.1. การเปลี่ยนแปลงของยีน เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับเบสนิวคลีโอไทด์เพียง 1 หรือไม่กี่เบส เช่น การเพิ่ม การลดลง หรือการแทนที่ของเบส เป็นผลทำให้ลำดับของยีนบน DNA เปลี่ยนแปลงไปจำแนกการกลายพันธุ์ระดับยีนออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.5.1.1.1 การแทนที่คู่เบส (base pair substitution mutation หรือ point mutation) เป็นการเปลี่ยนแปลงโดยมีการแทนที่เบสเดิมด้วยเบสคู่อื่น แบ่งเป็น 2 รูปแบบคือ ทรานซิชั่น (transition) คือการแทนที่เบสด้วยเบสกลุ่มเดิม เช่นเบสพิวรีน (purine; A, G) ถูกแทนที่ด้วยเบสพิวรีนอีกตัวหนึ่ง หรือเบสไพริมิดีน (pyrimidine; C, T) ถูกแทนที่ด้วยเบสไพริมิดีนอีกตัวหนึ่ง เช่น A ⇌ G หรือ C ⇌ T แต่ถ้าการแทนที่เบสเดิมด้วยเบสต่างกลุ่ม เรียกว่า ทรานสเวอร์ชั่น (transversion) เช่นเบสพิวรีนถูกแทนที่ด้วยเบสไพริมิดีน หรือเบสไพริมิดีนถูกแทนที่ด้วยเบสพิวรีนก็ได้เช่น A/G ⇌ T/C

2.5.1.1.2 เฟรมชิฟท์มิวเทชั่น (frameshift mutation) คือการเพิ่ม หรือลดลำดับ เบสตั้งแต่1 โมเลกุลทำให้โคดอนเลื่อน (shift) จึงแปลรหัสกรดอะมิโนผิดทั้งสายดีเอ็นเอโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นมาก็จะเป็นชนิดอื่น หรือเป็นโปรตีนที่ไม่ทำงาน

2.5.1.2 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโครโมโซม เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับยีนหลายยีน เพราะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง หรือจำนวนโครโมโซม สามารถแบ่งการกลายของโครโมโซมเป็น 2 ชนิด คือ

2.5.1.2.1 การกลายเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม การกลายประเภทนี้เป็นผลจากการแตกหักของโครโมโซม ซึ่งอาจเกิดเองได้ตามธรรมชาติหรือจากการเหนี่ยวนำ

2.5.1.2.2 การกลายเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ 1) แอนิวพลอยด์ (aneuploid) เป็นการเพิ่มหรือลดลงของโครโมโซมเป็นจำนวน 1 หรือมากกว่า 1 โครโมโซมขึ้นไป สามารถตรวจสอบได้จากลักษณะฟีโนไทป์ ซึ่งส่วนมากจะแสดงออกในลักษณะการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าปกติ 2) ยูพลอยด์ (euploid) เป็นการเพิ่มหรือลดของโครโมโซมเป็นชุด การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของโครโมโซมเป็นชุด พืชที่มีเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ประกอบไปด้วยจีโนมครบชุดอย่างน้อย 1 ชุด เรียกว่า โมโนพลอยด์ (monoploid) และรวมถึงพืชที่มีจีโนมเป็นผลคูณของชุดจีโนม คือ ดิพลอยด์ (diploid) เททระพลอยด์ (tetraploid) หรือเรียกรวม ๆ ว่า โพลีพลอยด์ (polyploid)

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีการใช้รังสีและสารเคมีในการก่อกลายพันธุ์พืชเพื่อให้ได้ลักษณะที่ต้องการ โดยเฉพาะในสารเคมี สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซม หรือโพลีพลอยด์ คือ โคลชิซิน

2.6 การชักนำพืชให้เกิด polyploid โดยสารโคลชิซิน

สารโคลชิซิน (colchicine) มีชื่อเรียกตามระบบ IUPAC ว่า N-((7S)-5,6,7,9-tetrahydro-1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxobenzo(a)heptalen-7-yl)-acetamide มีสูตรเคมี คือ $C_{22}H_{25}NO_6$ ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ (alkaloid) ที่สกัดได้จากเมล็ดและหัวของ *Colchicum autumnale* มีผลยับยั้งกลไกของ spindle fiber ทำให้โครโมโซมไม่มีการแยกตัวออกเป็น 2 ชุด หลังการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) ทำให้ในนิวเคลียส มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มเป็น 2 เท่า ของเซลล์ เดิมแม้ว่า ไมโตซีสจะเกิดปกติ แต่เซลล์และเนื้อเยื่อที่ได้จะเป็นโพลีพลอยด์ (polyploid) (เปรมจิต รองสวัสดิ์, 2549) spindle fiber ที่จะดึงโครโมโซมให้แยกออกจากกันในระยะ metaphase ได้โครมาติดทั้งสองของโครโมโซมจึงไม่ถูกดึงไปยังขั้วทั้งสองของเซลล์ในระยะ anaphase มีผลทำให้เมื่อสิ้นสุดกระบวนการแบ่งเซลล์แล้ว จึงได้เซลล์ที่มีการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมเป็นสองเท่า ซึ่งการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยโคลชิซินจะต้องทำกับส่วนที่กำลังมีการเจริญเติบโตและมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง ซึ่งส่วนของพืชที่เหมาะสมต่อการใช้สารโคลชิซินคือ เมล็ด ต้นกล้า และตายอดที่กำลังมีการเจริญเติบโต ซึ่งสารที่ใช้เป็นตัวกลาง (carrier) มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น น้ำ แอลกอฮอล์ lanolin paste agar solution และ emulsion เป็นต้น วิธีการให้สารโคลชิซินแก่พืชที่นิยมทำกันได้แก่ การแช่ยอด การหยด และการป้าย ซึ่งการที่จะเลือกใช้สารตัวกลางชนิดไหนความเข้มข้นเท่าใดขึ้นอยู่กับชนิดของพืชนั้น ๆ และส่วนของพืชที่ใช้ เช่น เมล็ด นิยมใช้การแช่ในสารละลาย (รัชนีวรรณ จึงสงวนสิทธิ์, 2546) ในส่วนของสถานะ autotetraploid เป็นการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ยืนยันการตรวจสอบโดยใช้ใบของพืชมันสำปะหลังพันธุ์ NZ199 diploid และ autotetraploid แสดงให้เห็นว่า จำนวนโครโมโซมของ diploid เท่ากับ 36 (2n = 2 x = 36) ในขณะที่พันธุ์ autotetraploid เท่ากับ 72 (4n = 4 x = 72) (An *et al*., 2014) อย่างไรก็ตาม ในพืชบางชนิดโคลชิซินส่งผลให้พืชเป็นหมัน การเจริญเติบโตผิดปกติ และเกิดการขาดของโครโมโซมได้ (Luckett, 1989)

2.6.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้สารโคลชิซินเพื่อการเพิ่มโครโมโซมในพืช

ปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการชักนำต้นเตตระพลอยด์ คือ ชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นโคลชิซิน ร่วมกับระยะเวลา และวิธีการ ซึ่งแต่ละพืชจะมีการตอบสนองต่อปัจจัยต่าง ๆ แตกต่างกัน

2.6.1.1 ชิ้นส่วนพืช ชนิดของชิ้นส่วนพืชเป็นส่วนสำคัญที่ส่งผลต่อความสามารถของเนื้อเยื่อพืชในการลำเลียงสารโคลชิซินเข้าสู่เนื้อเยื่อเจริญ จากการศึกษาพบว่า การใช้ชิ้นส่วนพืชที่แตกต่างกัน ส่งผลให้พืชมีจีโนไทป์ที่แตกต่างกันด้วย (Khosravi *et al*., 2008) ชิ้นส่วนที่นิยมใช้คือ ปลายยอด ตาข้าง ข้อ เมล็ด แคลลัส เป็นต้น (Dhooghe *et al*., 2011) ซึ่งมีรายงานการศึกษาสำหรับการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้ชิ้นส่วนที่แตกต่างกันในพืชหลายชนิดเช่น ชิ้นส่วนยอดในกล้วย (Hamill *et al*., 1992) แคลลัสในส้ม (Zhang *et al*., 2010) โซมาติกเอ็มบริโอขององุ่น (Yang *et al*., 2006) และ ชิ้นส่วนข้อในมันสำปะหลัง (Zhou *et al*., 2017) เป็นต้น

2.6.1.2 ความเข้มข้น ระยะเวลา และวิธีการ ความเข้มข้นของสารร่วมกับระยะเวลามีผลต่อโอกาสการเกิดโพลีพลอยด์ โดยในแต่ละพืชการตอบสนองจะแตกต่างกัน หากใช้ความเข้มข้นที่ต่ำอาจไม่สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมได้ แต่หากใช้ความเข้มข้นที่สูง เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตก็จะต่ำลงเช่นกัน และระยะเวลาที่เหมาะสมเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่สำคัญ รวมถึงวิธีการใช้แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือการหยดสารละลายโดยตรงกับเนื้อเยื่อเจริญของพืช และการนำชิ้นส่วนพืชมาแช่ในสารละลาย ซึ่งสามารถทำได้ในพืชที่เจริญเติบโตในแปลงปลูก รวมถึงในหลอดทอลองภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ Tang *et al*. (2007) ได้มีการศึกษาใน *Paulownia tomentosa* โดยการนำแคลลัสไปแช่ในสารโคลชิซินที่มีความเข้มข้นต่ำ แต่ใช้เวลานาน พบว่าสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นโพลิพลอยด์ได้

2.7 การตรวจสอบความเป็นพืช polyploid

ภายหลังการหยดโคลชิซินที่ตายอดเจริญที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทำการตรวจสอบต้นที่คาดว่าจะเป็นต้นที่เกิดการกลายพันธุ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้หยดสารโคลชิซินและบันทึกผลเป็นวิธีการหนึ่งโดยวิเคราะห์ขนาดของนิวเคลียส หรือปริมาณ DNA ที่เป็นองค์ประกอบในนิวเคลียสด้วยการฉายแสงเลเซอร์ผ่านเซลล์ แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นตามหลักการทางฟิสิกส์แปรผลออกมาในรูปของปริมาณ DNA ที่ปรากฏในเซลล์หรือกลุ่มเซลล์นั้น ๆ ในการใช้ flow cytometer สามารถตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว วิธีการคือ ทำการแยกเซลล์ออกมาโดยการหั่นส่วนใบพืชเป็นชิ้นบาง ๆ ด้วยมีดในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้แยกให้เซลล์เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ กรองเซลล์แล้วนำมาย้อมด้วยสารให้สีเรืองแสง เช่น PI (propidium iodine) หรือ DAPI [4,6-bis (2-imidazxoliyl-4H,5H)-2-phenylindol] วัดปริมาณ DNA ด้วยเครื่อง flow cytometer โดยจะมีการพ่นสารละลายของเซลล์ที่มีการย้อมสีนิวเคลียสผ่านช่องป้อนด้านหน้าตัวเครื่องให้เซลล์ผ่านลำแสง ซึ่งเมื่อกระทบกับนิวเคลียสที่ย้อมสี เครื่องตรวจจะแปลงค่าการดูดกลืนแสงเป็นกราฟหรือเรียกว่า DNA ฮีสโตแกรม เมื่อนำฮิสโตแกรมมาเปรียบเทียบกับเซลล์มาตรฐานที่ทราบปริมาณ DNA แน่นอนแล้ว สามารถ

จำแนกความแตกต่างระหว่างพืชโดยอาศัยความแตกต่างของปริมาณ DNA ได้ รวมทั้งบอกความผิดปกติของเซลล์ได้ (ณัฐพร เกิดสุวรรณ, 2553)

รัชนี เพ็ชร์ช้าง (2553) ได้ทดสอบระดับพลอยดีด้วยเครื่อง flow cytometer รุ่น PA II โดยการใช้ CyStain UV precise P : high resolution DNA staining kit ที่ประกอบ ด้วย extraction buffer และ staining buffer ซึ่งใช้สี DAPI ในการย้อมสี DNA และตรวจวัดปริมาณ DNA ด้วยเครื่อง flow cytometer โดยนำใบพืชขนาด 1 กรัม สับใบพืชให้มีขนาดเล็กในสาร extraction buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เป็นเวลา 4 นาที กรองสารแขวนลอยนิวเคลียสผ่านเยื่อกรอง ย้อมสารแขวนลอยนิวเคลียสด้วยสีย้อม DNA (staining buffer) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ดูดสารละลายผ่านเยื่อกรองเดิม นำตัวอย่างที่ได้มาวัดด้วยเครื่อง flow cytometer

2.8 ผลของการกลายพันธุ์

ปกติการเกิด polyploid ในธรรมชาติมักเกิดร่วมกับการเกิดการผสมพันธุ์ระหว่างชนิด (interspecific hybridization) สายพันธุ์ (intraspecific hybridization) หรืออาจจะต่างสกุล ดังนั้นรูปร่างจึงขึ้นอยู่กับจีโนไทป์ของบรรพบุรุษ การเกิด polyploid อาจจะมีทั้งสิ่งที่ดีและไม่ดีก็ได้ ดังนี้

1. เพิ่มขนาดของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้อวัยวะหรือส่วนต่าง ๆ ของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย ดังเช่นขนาดของใบ สำหรับเซลล์ที่ใช้วัดได้อย่างชัดเจนได้แก่ ขนาดของ guard cell ของปากใบ (stomata) ซึ่งจะเป็นตัวบ่งชี้ได้ว่าพืชนั้น ๆ เป็น polyploid หรือไม่ นอกจากนี้ขนาดของ pollen ก็สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดได้เช่นกัน (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2557)

2. มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต ปกติแล้วอัตราการเจริญของ autopolyploid จะช้ากว่าdiploid จึงทำให้การเกิดดอกเกิดช้า การแตกกิ่งก้านน้อยลง บางครั้งผลมีขนาดเล็กลง กิ่งก้านและการแตกหน่อลดลง

3. จำนวน pollen น้อยลง เกิดความเป็นหมันมากขึ้นทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ดังนั้นต้นที่เป็น polyploid จึงมักจะเป็นหมัน เช่น แตงโม กล้วย

4. เกิดการผสมกันเองภายในชนิดเดียวกันไม่ได้ (self-incompatible) ถ้าหากต้น polyploid นั้นเกิดจากพ่อแม่ที่เป็นหมัน ผสมตัวเองไม่ได้ ลูกที่เป็น polyploid จะมีโอกาสเป็นสูงขึ้นหรือเรียกว่า เกิดสิ่งกีดขวางของยีน (genetic barrier) ในพวกที่เป็น autopolyploid ที่ไม่สามารถผสมกันเองได้ ทั้งนี้เนื่องจากมีการแบ่งเซลล์ไม่ปกติ ทำให้เกิดการเป็นหมันสูง เช่น คะน้า ผักกาดหัว พิทูเนีย หอม เป็นต้น

นอกจากนี้ ยังมีหลายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการ double chromosome โดยใช้สารโคลชิซินในพืชต่าง ๆ เช่น การศึกษาผลของระยะเวลาและวิธีการให้โคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางสรีรวิทยา

วุฒิกร เหลี่ยมสุทธิพันธุ์และกิตติ สัจจาวัฒนา (2555) ได้นำต้นกล้าแตงโมที่มีอายุ 5 วันมาทดลองหยดด้วยสารโคลชิชินที่ยอดจำนวน 3 ระดับความเข้มข้นคือ 0.2 0.4 และ 0.6% พบว่า ต้นแตงโมมีลักษณะความสูงและความกว้างใบที่แปรปรวนแตกต่างกันในแต่ละทรีทเมนต์ หลังจากนั้นยืนยันด้วยการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายราก พบว่าการหยดสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนต้น tetraploid สูงสุด โดยจำนวนต้น tetraploid มีความสัมพันธ์ในทางบวกกับวันดอกเพศเมียบาน ความยาวใบ ความกว้างใบ และขนาดรอยแผล แต่มีความสัมพันธ์ในทางลบกับความสูง (วุฒิกร เหลี่ยมสุทธิพันธุ์และกิตติ สัจจาวัฒนา, 2555)

รังษี เจริญสถาพร และคณะ (2552) ได้ศึกษาการสร้างมันสำปะหลังเตตระพลอยด์โดยการโดยการใช้ตาอ่อนในการเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่าวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการใช้สารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.002-0.003 % ผสม DMSO 2% จะได้ต้นกล้าซึ่งสามารถเจริญและพัฒนาต่อไปเป็นต้นกล้าที่มีลักษณะโพลิพลอยด์ที่มีต้นเตี้ย ข้อถี่ ใบหนา เขียวเข้ม หยักเว้าน้อย

รัชนี เพ็ชร์ช้าง (2553) ได้ศึกษาโพรโตคอร์มของเอื้องเงินที่แช่ในอาหารสูตร VW (ชุดควบคุม) และแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0.005 0.10 และ0.50% (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า มีความสูงและจำนวนใบไม่แตกต่างกัน โดยมีความสูงอยู่ระหว่าง 3.24-4.20 เซนติเมตร และมีจำนวนใบอยู่ระหว่าง 3-4 ใบ แต่พบว่า ขนาดของใบ ขนาดของลำต้น ลักษณะของลำต้นจะใหญ่และโตกว่า ใบมีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุม โดยเฉพาะกลุ่มแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นขนาดของใบ ขนาดของลำต้น ลักษณะของลำต้นจะใหญ่และโตกว่าและใบมีสีเขียวเข้มมากที่สุด จากการสังเกต พบว่าโพรโตคอร์มมีการรอดชีวิตน้อยกว่าชุดควบคุมและชุดแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นอื่น ๆ

Woodward (2001) ได้ศึกษาการชักนำดอกของมันสำปะหลังในสภาพปลอดเชื้อให้เกิดเป็น embryogenesis ในสูตรอาหาร MS ดัดแปลง เติมน้ำตาลซูโครส 2% $CuSO_4$ 2 ไมโครโมลาร์และอะกาโรส 0.6% ดอกอ่อนที่นำมาเพาะชักนำมีขนาด 0.3-2.5 มิลลิเมตร พบว่า ดอกอ่อนสามารถชักนำให้เกิด embryogenesis สูงถึง 78% เมื่อเปรียบเทียบกับอับเรณู เนื้อเยื่อผนังดอกหรือไมโครสปอร์ (microspores)

Graciano and Nassar (2012) ได้ทำการศึกษากายวิภาคของมันสำปะหลังที่ถูกกระตุ้นด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ที่บริเวณตา พบว่า ต้นมันสำปะหลัง tetraploid จะมีขนาดใหญ่และการเจริญเติบโตต่างจากต้นมันสำปะหลัง diploid เนื้อเยื่อภายในต้น tetraploid ก็มีขนาดใหญ่เช่นกัน เมื่อโครงสร้างภายในมีลักษณะแตกต่างกันจึงทำให้ต้นมันสำปะหลัง tetraploid สามารถทนแล้งและกักเก็บปริมาณน้ำได้ดีกว่าต้น diploid การทดลองของ

Sreekumari *et al*. (1999) สามารถผลิตมันสำปะหลังสายพันธุ์ใหม่ชื่อว่า Sree Harsha จากมันสำปะหลัง *Manihot esculenta* ที่กระตุ้นด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 2% ที่บริเวณตาข้าง

มันสำปะหลังพันธุ์ดังกล่าวมี chromosome 2n= 54 ความสูงของต้น 180-230 เซนติเมตร สามารถเก็บเกี่ยวหัวสดเมื่อมีอายุ 10 เดือน ให้ผลผลิตเฉลี่ย 38.4 t ha^{-1} ปริมาณแป้ง 35.0-39.8 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณไซยาไนด์ต่ำกว่ามันสำปะหลัง diploid

Nassar (2006) ได้ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลัง *Manihot esculenta* x *Manihot anomala* ซึ่งมันสำปะหลังรุ่น F1 ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ บริเวณตาข้างแล้วทำการหุ้มด้วยสำลี พบว่าต้นมันสำปะหลังที่หยดด้วยสารละลายโคลชิซินให้ความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาอย่างชัดเจนกับต้นที่ไม่ได้หยดด้วยสารละลายโคลชิซินคือ ขนาดของใบกว้างและมีการเจริญเติบโตช้า

Nassar *et al*. (2008) ได้ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่อการทนแล้งของมันสำปะหลังด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.2% บริเวณตาข้าง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเป็น tetraploid (2n = 4x = 72) ซึ่งทำให้เกิดเป็นต้น tetraploid มีผลให้ขนาดของท่อลำเลียงน้ำและอาหารใหญ่ขึ้น และคาดว่าจะมีผลต่อการทนแล้งและสามารถกักเก็บน้ำได้มากขึ้น รวมถึงมีการพัฒนามากกว่าต้นมันสำปะหลัง diploid ที่มีผนังเซลล์บางและปริมาณแป้งน้อย

2.9 การคัดเลือกพืชที่ทนทานต่อสภาพแห้งแล้งในสภาพหลอดทดลอง

การคัดเลือกพืชที่ทนทานต่อสภาพแล้งภายใต้สภาพธรรมชาติ เป็นการคัดเลือกที่ใช้เวลานาน เพราะต้องขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการคัดเลือกในสภาวะที่ควบคุมได้ เพื่อให้การคัดเลือกใช้เวลาเร็วขึ้น (Georgieva *et al*., 2004) เช่น การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำได้โดยการเติมสารออสโมติคัม เช่น โพลีเอทธีลีนไกลคอล (polyethylene glycol, PEG) ซูโครส (sucrose) น้ำตาลแมนนิทอล (mannitol) และกลูโคส (glucose) เป็นต้น สารเหล่านี้มีคุณสมบัติ คือ จะลด osmotic potential ในสารละลายที่อยู่ล้อมรอบเซลล์ ทำให้เซลล์อยู่ในสภาวะขาดน้ำ PEG นิยมนำมาใช้ในการคัดเลือกพืชที่ทนแล้งเนื่องจากเป็นสารเฉื่อย เมื่อละลายน้ำจะไม่มีกลิ่นและสี ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ และที่สำคัญไม่ดูดซึมเข้าไปในเซลล์พืช โดย PEG เองมีหลายชนิดแตกต่างไปตามน้ำหนัก เช่น PEG2000 PEG3000 PEG4000 และ PEG6000 เป็นต้น

Phookaew *et al*. (2014) ศึกษาการใช้ PEG6000 ความเข้มข้น 40% (มวลต่อปริมาตร) ชักนำให้เกิดความเครียดในการเพาะเลี้ยงมันสำปะหลังเป็นเวลา 2 6 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า ใบจะเริ่มเหี่ยวตั้งแต่ 2 ชั่วโมง และใบจะเหี่ยวและร่วงเด่นชัดขึ้นตามลำดับ รวมถึงเริ่มมีการปิดปากใบอย่างสนิทในชั่วโมงที่ 6

Zainudin (2015) ได้ทำการคัดเลือก F1 Hybrids ของสบู่ดำ (*Jatropha curcas*) ซึ่งเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ PEG 6000 ความเข้มข้น 0 5 10 15 20และ 25% โดยพิจารณาการอยู่รอดของแคลลัสซึ่งสามารถพัฒนาเป็น

พืชที่ทนแล้งได้ พบว่า การเลือกใช้ PEG 15% สามารถทำให้แคลลัสยังคงที่จะพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้

2.9.1 การตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชต่อสภาะขาดน้ำ

ปกติน้ำจะเคลื่อนที่จากค่าชลศักย์ (water potential) สูงไปยังค่าต่ำ ซึ่งหากมีการเติมสารออสโมติคัมในวัสดุปลูกจะทำให้ในวัสดุปลูกมีค่าชลศักย์ต่ำกว่าในสภาวะปกติ ความแตกต่างระหว่างชลศักย์ของน้ำในเซลล์รากกับน้ำในวัสดุปลูกเกิดการลดลง ทำให้รากพืชดูดน้ำไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ได้ยากขึ้น ดังนั้นพืชจึงจำเป็นต้องมีการปรับตัวโดยการลดค่าชลศักย์ในเซลล์ให้ต่ำลงกว่าในวัสดุปลูก เพื่อให้น้ำสามารถออสโมซิสเข้าสู่พืชได้ (Vysotskaya *et al*., 2010) หากพืชไม่มีการปรับตัวจะเกิดสภาวะเซลล์เหี่ยว เนื่องจากปกติพืชจะมีการสูญเสียน้ำจากทางปากใบอยู่ตลอดเวลา จึงจำเป็นต้องมีการดูดน้ำมาชดเชยในส่วนที่เสียออกจากเซลล์ (Gall *et al*., 2015) นอกจากนั้น ยังจะทำให้พืชลดการคายน้ำโดยการปิดปากใบ ซึ่งทำให้พืชลำเลียงน้ำเข้าสู่ท่อไซเลมลดลงเช่นกัน (Taiz and Zeiger, 2010)

จากสภาวะการขาดน้ำส่งผลให้น้ำเคลื่อนที่เข้าสู่รากยากขึ้น ค่าปริมาณสัมพัทธ์ (relative water content, RWC) ในใบพืชจะลดลง ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงสภาวะน้ำที่มีอยู่ในเซลล์เปรียบเทียบกับปริมาตรเซลล์ทั้งหมดที่บรรจุน้ำไว้ได้เมื่อพืชขาดน้ำจะมีปริมาณน้ำภายในเซลล์น้อยลง ค่า RWC จึงลดลง (Chutipaijit *et al*., 2009)

2.9.2 การเจริญเติบโตของพืชที่ได้รับสภาวะแล้ง

การเจริญเติบโตของพืช ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและระดับการขาดน้ำที่พืชได้รับการเจริญเติบโตของพืชจะลดลง เพราะการที่ค่าชลศักย์ในเซลล์พืชสูงกว่าในวัสดุปลูกพืชจะลดการดูดน้ำ เซลล์จะขยายตัวได้น้อยลง เนื่องจากสูญเสียแรงดันเต่ง และเกิดการแบ่งเซลล์ได้น้อยลงทำให้ลดการเจริญของลำต้นและราก ลดการสังเคราะห์แสง เป็นต้นเหตุทำให้อัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตลดต่ำลง (Cushman and Bohnert, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชที่อยู่ในระยะต้นกล้า (Munns, 2002) สภาวะแล้งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยา กระบวนการทางชีวเคมีรวมไปถึงรูปแบบ การแสดงออกของยีนหลายประการการตอบสนองของ พืชเมื่อได้รับสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เป็นผลมาจากการพยายามปรับตัวเพื่อให้สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ พืชจะมีการชักนำให้เกิดการส่งสัญญาณเชื่อมโยงของ ระบบต่าง ๆ รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และกลไกทางชีวเคมีต่าง ๆ

2.9.3 การตอบสนองของพืชภายใต้สภาวะแล้งต่อกิจกรรมของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน ความเครียดจากสภาวะแวดล้อม เช่น สภาพแล้ง ภาวะดินเค็ม อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป เป็นต้น จะส่งผลให้พืชสะสมอนุมูลอิสระชนิดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (reactive oxygen species, ROS) ภายในเซลล์ ซึ่งอาจอยู่ในรูป hydrogen peroxide (H_2O_2) superoxide ($O_2^{\cdot-}$) และ hydroxyl radical

($OH^{\cdot}$) ซึ่ง ROS จะทำให้องค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ที่เป็นโมเลกุลเกิดความเสียหายได้ เช่น DNA ถูกทำลายโครงสร้าง โปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการเปลี่ยนสภาพ หรือการที่อนุมูลอิสระสร้างพันธะโควาเลนต์กับโปรตีนหรือ เอนไซม์บางชนิด โดยมีรายงานว่า hydrogen peroxide สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดที่สำคัญในกระบวนการตรึงแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ของพืช โดยเฉพาะ hydrogen peroxide จำนวนมาก ที่เกิดจากปฏิกิริยาการกำจัด superoxide ของ SOD (อัญชลี ร่มพา, 2543) ซึ่งกลไกการกำจัดหรือยับยั้งการทำงานของ ROS ภายในพืช เกิดขึ้นโดยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น กลุ่มที่เป็นเอนไซม์ เช่น catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase เป็นต้น (Kharrazia *et al*., 2008) โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ จะช่วยรักษาระดับของอนุมูลอิสระให้มีพอเหมาะ แต่หากในภาวะที่อนุมูลอิสระเกิดขึ้นมากเกินไป ก็จะส่งผลให้เกิดความเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้น ซึ่งเป็นภาวะที่จะก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์พืชหลายประการ

2.9.3.1 Superoxide Dismutase (SOD)

SOD เป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการกำจัด ROS ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน superoxide ไปเป็น hydrogen peroxide (H_2O_2) SOD มี 3 ไอโซฟอร์ม (isoform) โดยแบ่งตามโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์คือคอปเปอร์/ซิงค์ (copper/zinc) ซึ่งมี 3 ไอโซฟอร์ม ซึ่งในพืชส่วนใหญ่ Cu/ZnSOD เป็นไอโซฟอร์มที่พบได้มากที่สุดในคลอโรพลาสต์และไซโตซอล แมงกานีส (Mn-SOD) พบในไมโตรคอนเดรีย ส่วน (Fe-SOD) พบเฉพาะในคลอโรพลาสต์ (อัญชลี ร่มพา, 2543) สภาวะการขาดน้ำทำให้เกิด ROS ขึ้น ซึ่งจะทำให้เซลล์พืชถูกทำลายและเสื่อมสภาพ ส่งผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีพืชปรับตัวโดยการลด ROS เพื่อปกป้องเซลล์ด้วยสารแอนติออกซิแดนซ์เช่น SOD ดังนั้น ในภาวะที่พืชได้รับสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม พืชจะมีการสร้าง SOD สูงขึ้นเพื่อปกป้องเซลล์และฟื้นสภาพเซลล์พืช (Hare *et al*., 1998) โดยสามารถตรวจวัดการตอบสนองต่อภาวะเครียดของพืชได้ 2 วิธี คือ การตรวจวัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นโดยตรง และการตรวจวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่เซลล์ได้ผลิตขึ้น ซึ่งปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นสามารถบ่งบอกได้ถึงอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นภายในเซลล์

2.9.3.2 Catalase (CAT)

CAT เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในรูปเตตระเมอร์และมีฮีม (heme) เป็นองค์ประกอบมีหน้าที่สลาย H_2O_2 สองโมเลกุลให้กลายเป็นน้ำและออกซิเจน ซึ่งมีความจำเพาะสูงต่อ H_2O_2 CAT มีลักษณะเฉพาะคือทำงานได้โดยไม่ต้องมีตัวให้อิเล็กตรอน ปฏิกิริยาที่เกิดโดย CAT มีจำนวนสารตั้งต้นท่สามารถเปลี่ยนแปลงในหนึ่งหน่วยเวลาที่สูง แต่สามารถจับกับ H_2O_2 ได้ต่ำกว่า ascorbate peroxidase (APX) ซึ่งกระบวนการกำจัด H_2O_2เกิดขึ้นในเพอรอกซิโซมเนื่องจากปฏิกิริยา บีตา-ออกซิเดชัน (β- oxidase) การหายใจ และการสลายพิวรีน (purine catabolism) นอกจากนี้ ยัง

สามารถพบ CAT ได้ในไซโทซอล คลอโรพลาสต์ และไมโทคอนเดรีย ซึ่งมีหลายไอโซฟอร์ม CAT เป็นเอนไซม์ที่ค่อนข้างไวต่อแสงเนื่องจากการดูดกลืนแสงของฮีมซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของเอนไซม์ (Hajiboland, 2014) แอกติวิทีของ CAT เพิ่มขึ้นหรือลดลงขึ้นอยู่กับความรุนแรง ระยะเวลา และลักษณะของความเครียดที่พืชได้รับ โดยส่วนมากพบว่าพืชสายพันธุ์ที่ทนต่อความเครียดจะมีกิจกรรมของ CAT สูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทน (El-shabrawi *et al*., 2010; Mishra *et al*., 2011)

2.9.3.3 Guaiacol Peroxidase (GPX)

GPX เป็นโปรตีนที่มีฮีมเป็นองค์ประกอบ มักจิกซิไดส์ตัวให้อิเล็กตรอนที่เป็นวงแหวนอโรมาติก เช่น guaiacol เพื่อจะสลาย H_2O_2 ซึ่ง GPX ในพืชมีหลายไอโซเอนไซม์ พบได้ที่แวคิวโอล ผนังเซลล์ และไซโทซอล โครงสร้าง GPX จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) หลายกระบวนการในพืช ทั้งการสร้างเอทิลีน การสมานแผล การสร้างลิกนินของผนังเซลล์ การสลาย indole-3-acetic acid การจัดการกับความเครียดทั้งทางกายภาพและชีวภาพ รวมถึงได้รับการยอมรับว่าเป็นเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เปลี่ยนแปลงมาจากออกซิเจนและเพอรอกซีเรดิเคิลซึ่งเกิดในสภาวะเครียด (Hajiboland, 2014) ซึ่งพบว่ากิจกรรมของ GPX จะสูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทนต่อความเครียด (El-shabrawi *et al*., 2010 ; Mishra *et al*., 2011)

2.9.3.4 Ascorbate Peroxidase (APX)

APX เป็นเอนไซม์หลักในวัฏจักร ascorbate-glutathione โดย APX ใช้แอสคอร์เบท (ascorbate) 2 โมเลกุลเพื่อเปลี่ยน H_2O_2 ให้เป็นน้ำและในขณะเดียวกันก็จะสร้าง monodehydroascorbate (MDHA) ขึ้นมา 2 โมเลกุล APX มี 5 ไอโซเอนไซม์ โดยจะพบ APX ในส่วนต่าง ๆ ของเซลล์พืชชั้นสูง ได้แก่ สโตรมา ไซโทซอล ไกลาคอยล์ ไมโทคอนเดรีย และเพอรอกซิโซม ซึ่ง APX ที่อยู่ในแต่ละออร์แกเนลล์จะกำจัด H_2O_2 ที่เกิดภายในออร์แกเนลล์นั้น ๆ APX ในไซโทซอลจะไวต่อการลดลงของแอสคอร์เบทมากกว่าในส่วนอื่น (Hajiboland, 2014) จะเห็นได้ว่า APX เป็นเอนไซม์หนึ่งที่กระจายอยู่ในเซลล์มากที่สุด และ APX สามารถจับกับ H_2O_2 ได้ดีกว่า CAT ส่งผลให้ APX มีประสิทธิภาพในการกำจัด H_2O_2 ได้ดีกว่าภายใต้สภาวะเครียด (Sharma *et al*., 2012) ซึ่งพบว่า โดยส่วนใหญ่พืชที่ทนต่อสภาวะเครียดจะมีค่ากิจกรรม APX สูงกว่าพันธุ์ที่ไม่ทน (El-shabrawi *et al*., 2010 ; Mishra *et al*., 2011)

Jung (2003) ทำการทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระใน *Arabidopsis thaliana* ในสภาพงดน้ำ พบว่า เมื่ออยู่ในสภาพงดน้ำ ระดับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์จะมีปริมาณสูงขึ้น ทั้งในใบอ่อนและใบแก่ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่เป็นเอนไซม์จะมีปริมาณสูงขึ้นเฉพาะกลุ่มใบแก่ ระยะการเจริญเติบโตของใบมีผลต่อความหลากหลายของสารต้านอนุมูลอิสระ

Pinheiro *et al*. (2004) ทำการทดลองใน *Coffea canephora* โดยใช้สายพันธุ์ที่ทนแล้ง และไม่ทนแล้ง พบว่า เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดหรือยับยั้ง hydrogen peroxide เช่น superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase และ guaiacol peroxidase จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นแตกต่างกันเมื่ออยู่ในภาวะแล้ง โดยไม่ขึ้นอยู่กับว่าเป็นพันธุ์ที่ทนแล้งหรือไม่ทนแล้ง

Turkan *et al*. (2005) ทำการทดสอบโดยใช้ *Phaseolus acutifolius* ซึ่งทนทานต่อสภาพแล้ง และ *Phaseolus vulgaris* ซึ่งไม่ทนทานต่อสภาพแล้งพบว่าเมื่อได้รับสภาพแล้งการ เจริญเติบโตของ *Phaseolus acutifolius* ดีกว่าและมีค่า superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase และ peroxidase สูงกว่าในพันธุ์ *Phaseolus vulgaris*

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้ เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองของมันสำปะหลังเตตระพลอยด์ต่อความแห้งแล้งในสภาพหลอดทดลอง โดยทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ อาคารเกษตรภิวัฒน์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลองดังนี้

3.1 วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำมันสำปะหลังให้เกิดต้น (plantlet) ในหลอดทดลอง

พันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72

ตารางที่ 6 ประวัติและลักษณะมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับที่	พันธุ์มันสำปะหลัง	พ่อพันธุ์	แม่พันธุ์	ลักษณะเด่น
1	ห้วยบง 60	ระยอง 5	เกษตรศาสตร์ 50	มีผลผลิตและปริมาณแป้งสูง ต้านทานโรคใบจุดปานกลาง
2	เกษตรศาสตร์ 50	ระยอง 60	ระยอง 1	ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี มีปริมาณแป้งสูง
3	ระยอง 72	ระยอง 1	ระยอง 5	ให้ผลผลิตหัวสดสูง ต้นพันธุ์คุณภาพดี ทนแล้ง

(ที่มา: คณะทำงานโครงการเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังโดยการกระจายพันธุ์และการขยายท่อนพันธุ์สะอาด กรมวิชาการเกษตร, 2552)

1. การเตรียมตัวอย่างพืช (explant) สำหรับใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำส่วนข้อ (node) ของมันสำปะหลังที่มีตาจำนวน 1 ตา มาใช้ในการทดลอง โดยนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อดังกล่าวมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70%นาน 30 วินาที เพื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 15% นาน 10 นาที โดยจะผสมสารจับใบ (tween 20) 2-3 หยด จากนั้น นำตัวอย่างทั้งหมดล้างน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3-4 ครั้งจึงนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในขวดขนาด 8 ออนซ์ ที่มีอาหารปริมาณ 40 มิลลิลิตร

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตรต่างๆ

นำชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วมาเพาะบนอาหารสูตรต่าง ๆ ที่มีรายงานว่าสามารถชักนำข้อของมันสำปะหลังให้เกิดต้นกล้า (plantlet) ได้แก่

1) MS
2) MS + sucrose 20 กรัมต่อลิตร (รังษี เจริญสถาพร และคณะ, 2552)
3) MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Smith *et al*., 2015)
4) MS + BAP 0.005มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร (Mayabi *et al*., 2012)
5) MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร (Mayabi *et al*., 2012)

จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25-28 องศาเซลเซียสและ ให้แสง 12 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,600 ลักซ์ เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นบันทึก ความสูงต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนใบ และวันที่เนื้อเยื่อเริ่มเจริญเป็นต้น (plantlet) โดยวางแผนการทดลองแบบ 3x5 Factorial in Completely Randomized Design (CRD)จำนวน 7 ซ้ำ โดยกำหนดให้ปัจจัย A คือพันธุ์มันสำปะหลังจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72 และปัจจัย B คือสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นจำนวน 5 สูตรอาหาร

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงของมันสำปะหลัง

1. การชักนำชิ้นส่วนพืชด้วยสารละลายโคลชิซิน

นำต้นมันสำปะหลังที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอายุ 30 วัน ทั้ง 3 พันธุ์จากการทดลองที่ 1 มาตัดเป็นท่อนให้ได้ความยาว 1-1.5 ซม. (จำนวนตา 1 ตาต่อท่อน) จากนั้นนำไปแช่ในอาหาร MS เหลวที่มีโคลชิซินความเข้มข้นต่างๆ ที่มีรายงานการชักนำให้เกิดมันสำปะหลัง tetraploid ได้แก่ 0.003% 0.005% (รังษี เจริญสถาพร และคณะ, 2552) และ 0.1% (Zhou *et al*., 2017) เป็นส่วนประกอบ โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x3x2 Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น โดยกำหนดให้ปัจจัย A คือความเข้มข้นโคลชิซิน 4 ความเข้มข้นได้แก่ 0 0.003 0.005 และ 0.1% ปัจจัย B คือพันธุ์มันสำปะหลังจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72 และปัจจัย C คือระยะเวลาที่ใช้ในการแช่เนื้อเยื่อพืช แบ่งออกเป็น 1 และ 2 วัน จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Rotary shaker 60 rpm ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส โดยไม่ให้แสง หลังจากการแช่ชิ้นส่วนพืชตามเวลาที่กำหนด นำชิ้นส่วนพืชมาล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS 4.43 กรัมต่อลิตร + sucrose 20 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 โดยทำการเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิเช่นเดียวกับขั้นตอน

การแช่ชิ้นส่วนพืชโดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน และทำการเปลี่ยนอาหารในทุก ๆ 30 วัน และเนื่องจากต้นมันสำปะหลังเริ่มมีการเจริญเติบโตที่ช้าลง จึงทำการเปลี่ยนสูตรอาหาร ในเดือนที่ 2 โดยนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS 4.43 กรัมต่อลิตร+ BAP 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำตาล 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (Zhou *et al*., 2017)

2. การคัดเลือกและตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.1.1 บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}\right) \times 100$$

1.1.2 บันทึกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันสำปะหลังดังนี้ ความสูงต้น จำนวนข้อ ปล้อง จำนวนใบ จำนวนราก

1.1.3 บันทึกเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลง}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}\right) \times 100$$

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 7 เกณฑ์การบันทึกการเปลี่ยนแปลง

ลักษณะ	รายละเอียดการบันทึก
ลำต้น	- ลำต้นสูง คือ ลำต้นที่ความสูงมากกว่า 5 เซนติเมตร - ลำต้นเตี้ย คือ ลำต้นที่มีความสูงน้อยกว่า 5 เซนติเมตร
ความยาวข้อปล้อง	- ข้อปล้องยาว คือ ความสูงต้นไม่รวมใบ/จำนวนข้อปล้อง มีค่ามากกว่า 0.3 ซม. - ข้อปล้องสั้น คือ ความสูงต้นไม่รวมต้น/จำนวนข้อปล้อง มีค่าน้อยกว่า 0.3 ซม.
ปริมาณราก	- รากมีจำนวนมาก คือมีราก 4 รากขึ้นไป - รากมีจำนวนน้อย คือมีรากน้อยกว่า 4 ราก

3. ทดสอบระดับ ploidy ด้วยเครื่อง Flow cytometer

ทำการสุ่มตัวอย่างมันสำปะหลังที่ได้จากการก่อกลายพันธุ์ จากนั้นชั่งใบมันสำปะหลัง 0.5-1 กรัม มาสับให้ละเอียดใน plastic Petri dish โดยใช้ Quantum Stain NA UV2 (A) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร และ PVP (Polyvinyl-Pyrrolidone) ประมาณ 0.1 กรัม จากนั้นกรองสารแขวนลอยนิวเคลียสผ่านตัวกรองขนาด 30 ไมครอน และเติม Quantum Stain NA UV2 (B) ลงในหลอดสารแขวนลอยตัวอย่างเพิ่มอีก 1000 ไมโครลิตร พักตัวอย่างทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที และนำตัวอย่างที่ได้มาวัดด้วยเครื่อง Flow cytometer เพื่อนำต้น tetraploid ไปใช้ในการทดลองที่ 4

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของความเข้มข้นของ polyethylene glycol (PEG) ที่มีต่อมัน-สำปะหลัง dipolid

1. การชักนำให้เกิดความแห้งแล้งด้วยสาร polyethylene glycol (PEG)

นำต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 45 วัน โดยเลือกต้นที่มีใบจำนวน 6 ใบเท่าๆกัน ทำการย้ายปลูกในอาหาร MS เหลวที่ประกอบด้วย PEG 5 ความเข้มข้น โดยวางแผนการทดลองแบบ 5x3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ โดยกำหนดให้ ปัจจัย A คือความเข้มข้น PEG จำนวน 5 ความเข้มข้นได้แก่ 0 5 10 15 และ 20% ปัจจัย B คือพันธุ์มันสำปะหลังจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72

ตารางที่ 8 ค่าแรงดันออสโมติก (OP) ของ polyethylene glycol (PEG) 6000

ชนิด PEG	ความเข้มข้น(%)	ค่าความต่างศักย์ (MPa)
PEG MW 6000	10	-0.15
	20	-0.5
	30	-1.0
	40	-1.8

(ที่มา : Michel *et al*., 1973)

จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25-28 องศาเซลเซียส และให้แสง 12 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,600 ลักซ์

2. การเก็บผล

2.1 บันทึกจำนวนใบร่วงในวันที่ 5 7 9 11 และ 13 วัน

2.2 วัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content; RWC) บันทึกผลเปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์ของใบในวันที่ 13 ของการทดสอบแล้ง โดยทำการชั่งน้ำหนักสด (fresh weight; FW) ของชิ้นส่วนใบมันสำปะหลัง แล้วนำไปแช่น้ำเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อให้ใบมันสำปะหลังดูดน้ำเต็มที่ จากนั้นนำใบไปชั่งน้ำหนักเต่ง (turgid weight; TW) และนำใบมันสำปะหลังไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง (dry weight; DW) เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Barr *et al*., 1962)

จากสูตร

$$RWC = \frac{FW-DW}{TW-DW} \text{ X } 100$$

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของความทนแล้งเนื่องจากสาร Polyethylene glycol (PEG) ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทนแล้งของมันสำปะหลัง tetraploid

1. การชักนำให้เกิดความแห้งแล้งด้วย polyethylene glycol (PEG)

นำต้นมันสำปะหลังที่มีจำนวนชุดโครโมโซม 4n = 72 (tetraploid) ที่ผ่านการตรวจสอบระดับ ploidy ด้วยเครื่อง Flow cytometer มาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS เพื่อทำการเพิ่มจำนวนให้เพียงพอในการทดลอง เป็นเวลาอายุ 45 วัน จากนั้นทำการย้ายปลูกในอาหาร MS เหลวที่

ประกอบด้วย polyethylene glycol (PEG) จำนวน 5 ความเข้มข้น โดยวางแผนการทดลองแบบ 2x6 Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยกำหนดให้ปัจจัย A คือความเข้มข้น PEG 2 ความเข้มข้นได้แก่ 0 และ 20% ปัจจัย B คือพันธุ์มันสำปะหลังจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72 ที่มีจำนวนชุดโครโมโซม 2n = 36 (diploid) และห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72 ที่มีจำนวนชุดโครโมโซม 4n = 72 (tetraploid) จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25-28 องศาเซลเซียสและ ให้แสง 12 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,600 ลักซ์ เป็นเวลา 7 วัน

2. วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์

เก็บชิ้นส่วนมันสำปะหลังประมาณ 100 มิลลิกรัม เพื่อสกัดใช้ในการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมกิจกรรมเอนไซม์ catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), Guaiacol peroxidase (GPX) และ superoxide dismutase (SOD) สำหรับเอนไซม์ CAT เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร (ดัดแปลงจากวิธีของ Beer and Sizer, 1952) สำหรับเอนไซม์ APX เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของ ascorbate ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร (ดัดแปลงจากวิธีของ Nakano and Asada, 1981) รวมถึงเอนไซม์ GPX เป็นการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงของ tetraguaiacol ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร (ดัดแปลงจากวิธีของ Macadam *et al*., 1992) และ เอนไซม์ SOD เป็นการวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา photochemical reduction ของ nitro blue tetrazolium (NBT) ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (ดัดแปลงจาก Dhindsa *et al*., 1981)

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการทดลองที่ได้ไป วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS for Windows Version 14.0 และ Statistix 8 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์โดยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นมันสำปะหลังในภาพหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วนข้อ (node) พบว่าจำนวนวันที่เนื้อเยื่อเริ่มเจริญเป็นต้นมีความแตกต่างกัน เนื่องมาจากความแตกต่างของสูตรอาหารและพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและพันธุ์ ซึ่งจำนวนวันที่เนื้อเยื่อเริ่มเจริญเป็นต้นจากสูตรอาหารทั้ง 5 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยอาหารสูตร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตรมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 3.11 ซึ่งใช้เวลาเร็วที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรอื่น ๆ รองลงมาคือสูตร MS+BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS+BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งจำนวนวันที่เนื้อเยื่อเริ่มมีการเจริญเป็นต้นอยู่ที่ 4 และ 4.11 วันตามลำดับ (ภาพที่ 2) และยังพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและพันธุ์ การเพาะเลี้ยงข้อมันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตร ทำให้เนื้อเยื่อเริ่มมีการเจริญเติบโตได้เร็วกว่าสูตรอื่น ๆ โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 เนื้อเยื่อเริ่มมีการเจริญเติบโตเป็นต้นเร็วที่สุด รองลงมาคือ เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.2 3 และ 3 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 9) จากการศึกษาความสูงต้นพบว่า สูตรอาหารที่ต่างกันส่งผลให้ความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งสูตร MS +sucrose 20 กรัมต่อลิตรมีค่าเฉลี่ยความสูงมากที่สุดคือ 6.33 ซม. รองลงมาคือสูตร MS+BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS+BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยความสูงต้นอยู่ที่ 3.86 และ 3.41 ตามลำดับ (ภาพที่ 3) นอกจากนี้ ยังพบว่า ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสูตรอาหาร ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยความสูงแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งจะพบว่า มันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติและเป็นค่าที่สูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยความสูงอยู่ที่ประมาณ 5.96 ถึง 6.56 ซม. นอกจากนี้ ยังพบว่าอิทธิพลของสูตรอาหารยังส่งผลให้ค่าเฉลี่ยจำนวนใบและจำนวนข้อแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงข้อในอาหารสูตร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนใบสูงสุดอยู่ที่ 6.07 ใบ รองลงมาคือสูตร MS BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและ MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนใบเท่ากับ 2.96 และ 2.61 ใบ ตามลำดับ (ภาพที่ 4) นอกจากนี้ ยังปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสูตร

อาหารที่ทำให้จำนวนใบต่างกัน ซึ่งการเพาะเลี้ยงมันสำปะหลังใน อาหารสูตร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้พันธุ์ห้วยบง 60 และ ระยอง 72 มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบสูงที่สุด คือ 6.6 และ 6.4 ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ และรองลงมาคือ เกษตรศาสตร์ 50 มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบ 5.20 ใบ (ตารางที่ 9) จากการศึกษาจำนวนข้อพบว่าสูตรอาหารที่ต่างกันทำให้จำนวนข้อต่างกันโดยพบว่า สูตรอาหาร MS +sucrose 20 กรัมต่อลิตร และ MS+BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยมีจำนวนข้อเท่ากับ 5.79 และ 5.2 ข้อ และยังพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสูตรอาหารที่ทำให้ข้อแตกต่างกัน โดยทั้ง 3 พันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตร ยังคงให้ค่าเฉลี่ยจำนวนข้อสูงที่สุดซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 5.56 ถึง 6 ข้อ (ตารางที่ 9, ภาพที่ 5)

จะเห็นได้ว่าโดยรวมอาหารสูตร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นกล้าได้ดีกว่าทุกสูตรอาหารและทำให้ความสูงของลำต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนใบ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รวมถึงเนื้อเยื่อสามารถเจริญเป็นต้นเร็วกว่าในสูตรอาหารอื่น ๆ ทำให้ได้ได้ต้นกล้าที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของรังษี เจริญสถาพร และคณะ(2552) ที่ได้ทำการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำต้นมันสำปะหลังโดยพบว่า การเพาะเลี้ยงมันสำปะหลังในอาหารสูตร MS+sucrose 20 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30-45 วัน จะได้ต้นกล้ามันสำปะหลังที่แข็งแรงและสมบูรณ์ ทั้งนี้บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ และคณะ (2558) พบว่า การเพาะข้อมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 7ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต รวมถึงไม่เติมน้ำตาลเพื่อให้พลังงาน จะใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงถึง 10 สัปดาห์ถึงจะได้ต้นกล้ามันสำปะหลังที่มีความสูง 2 ซม. ทั้งนี้เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่จำกัด ทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชไม่เพียงพอ พืชจึงมีความต้องการแหล่งพลังงานจากอาหารเพิ่มเติมซึ่งถือว่าเป็นวัตถุดิบที่สำคัญต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช (ศิวพงษ์ จำรัสพันธุ์, 2546) อย่างไรก็ตาม ขึ้นอยู่กับพันธุ์และชนิดชิ้น ส่วนพืชที่ในการเพาะเลี้ยง และเนื่องจากข้อเป็นเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งมีสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สะสมอยู่ในชิ้นส่วนพืชอยู่ในระดับที่เหมาะสมทำให้มีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดส่วนต่าง ๆ และส่งเสริมการยืดยาวของต้นได้ (Gasper and Coumans, 1987) และหากมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอัตราส่วนที่ไม่เหมาะสมอาจจะส่งผลต่อการแสดงออกและการเจริญเติบโตของพืชด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 9 จำนวนวันที่เนื้อเยื่อเริ่มมีการเจริญเป็นต้นกล้า ความสูงต้น จำนวนใบ และจำนวนข้อที่อายุ 30 วันที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 5 สูตร ของมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ

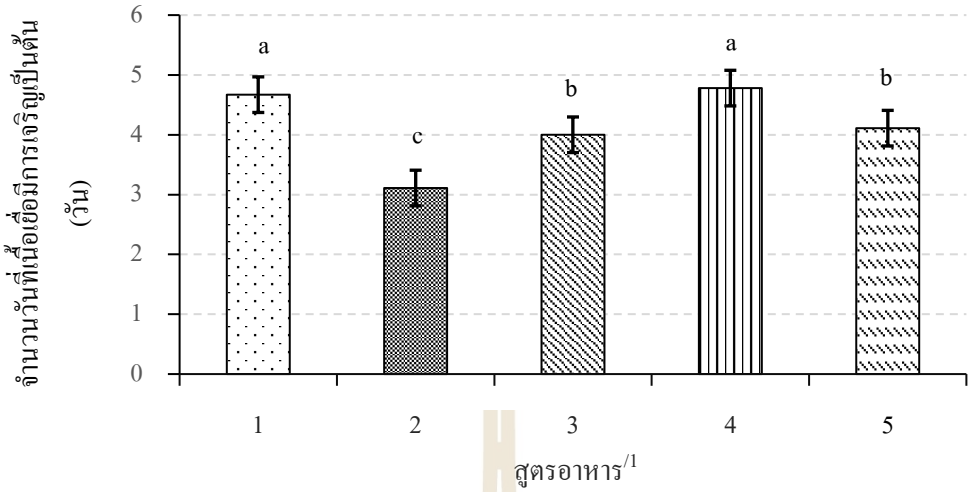
พันธุ์ (A)	สูตรอาหาร (B)	จำนวนวันที่เนื้อเยื่อเริ่มมีการเจริญ (วัน)	ความสูง (ซม.)	จำนวนใบ	จำนวนข้อ
ห้วยบง 60	1[/3]	5.00 ± 0.52 a[/1]	0.82 ± 0.85 cd	0.60 ± 1.23 e	0.60 ± 1.24 e
	2	2.20 ± 0.54 d	6.56 ± 0.19 a	6.60 ± 0.64 a	5.56 ± 0.72 a
	3	3.00 ± 0.28 c	4.04 ± 1.52 b	3.00 ± 0.40 c	2.20 ± 0.32 c
	4	5.00 ± 0.72 a	0.56 ± 0.77 d	1.00 ± 0.12 de	2.00 ± 0.17 c
	5	4.20 ± 0.86 b	3.26 ± 0.67 b	2.40 ± 0.11 c	1.40 ± 1.64 d
เกษตรศาสตร์ 50	1	4.00 ± 0.33 b	1.36 ± 0.96 c	1.00 ± 0.20 de	0.80 ± 0.53 e
	2	3.00 ± 0.31 c	6.44 ± 0.51 a	5.20 ± 0.38 b	5.80 ± 0.84 a
	3	4.00 ± 0.84 b	3.88 ± 0.33 b	3.20 ± 0.42 c	2.20 ± 0.75 c
	4	4.20 ± 0.67 b	1.18 ± 0.17 cd	1.40 ± 0.11 d	2.89 ± 0.43 b
	5	4.00 ± 0.85 b	3.46 ± 1.64 b	2.40 ± 0.17 c	1.60 ± 0.64 d
ระยอง 72	1	4.80 ± 0.44 a	1.28 ± 1.72 c	1.00 ± 0.57 de	0.89 ± 0.32 e
	2	3.00 ± 1.12 c	5.96 ± 1.53 a	6.40 ± 0.42 a	6.00 ± 0.21 a
	3	4.00 ± 0.62 b	3.78 ± 0.63 b	2.60 ± 0.56 c	1.60 ± 1.21 d
	4	5.00 ± 0.64 a	1.62 ± 0.98 c	1.60 ± 0.16 d	2.57 ± 0.85 bc
	5	4.00 ± 0.87 b	3.46 ± 0.33 b	3.00 ± 0.24 c	2.20 ± 0.73 c
A		ns[/2]	ns	ns	ns
B		*	**	**	*
A x B		*	*	**	**
CV (%)		15.67	27.89	22.14	29.36

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

[/3] 1) MS 2) MS + sucrose 20 กรัมต่อลิตร 3) MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร 4) MS + BAP 0.005มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร 5)MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร

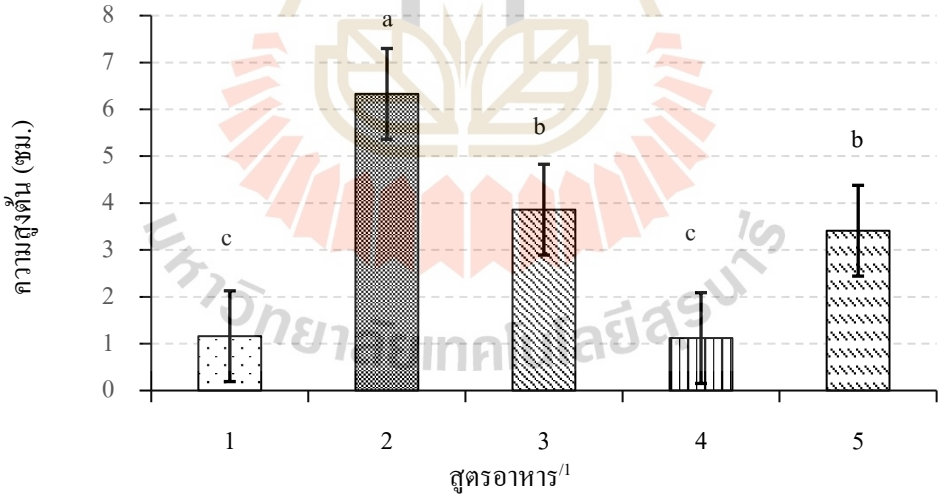
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 2 จำนวนวันที่เนื้อเยื่อของมันสำปะหลังมีการเจริญเป็นต้น (วัน) เมื่อเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน

/1 1) MS 2) MS + sucrose 20 กรัมต่อลิตร 3) MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

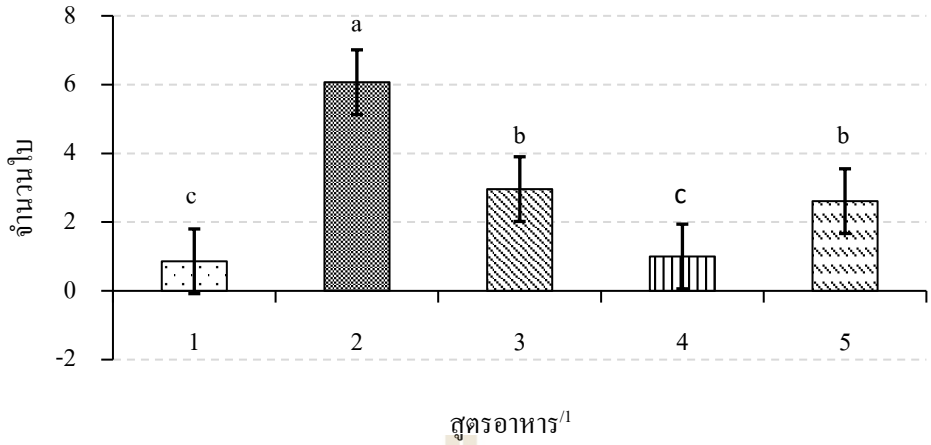
4) MS + BAP 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร 5) MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 3 ความสูงต้น (ซม.) ของมันสำปะหลังที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน

/1 1) MS 2) MS + sucrose 20 กรัมต่อลิตร 3) MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

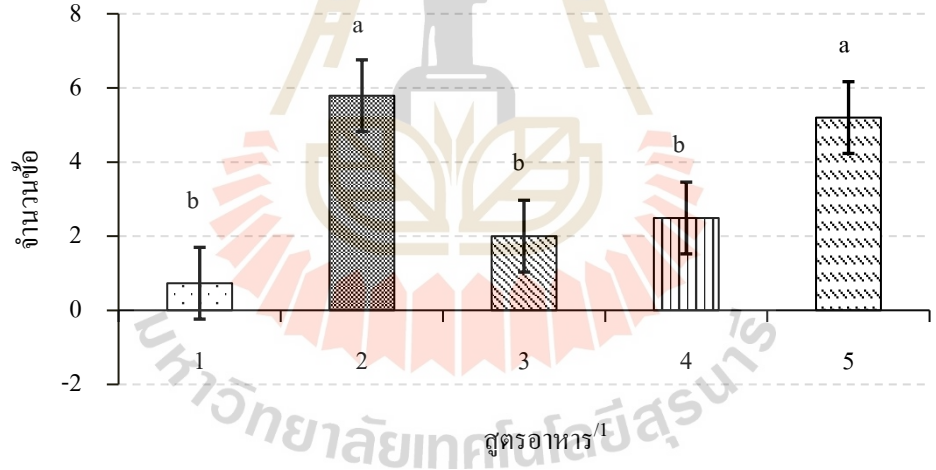
4) MS + BAP 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร 5) MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร +NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4 จำนวนใบของมันสำปะหลังที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน

/1 1) MS 2) MS + sucrose 20 กรัมต่อลิตร 3) MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

4) MS +BAP 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร 5) MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 5 จำนวนข้อมันสำปะหลังที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร ที่อายุ 30 วัน

/1 1) MS 2) MS + sucrose 20 กรัมต่อลิตร 3) MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

4) MS + BAP 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร 5) MS+ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงของต้นมันสำปะหลัง

จากการศึกษาพบว่า อันเนื่องมาจากทุกปัจจัย ซึ่งได้แก่ ความเข้มข้นของโคลชิซิน พันธุ์มันสำปะหลัง เวลาที่ใช้ในการแช่ที่ต่างกันทำให้ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่มีเพียงสองปัจจัยเท่านั้นที่มีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างกันนั่นก็คือ ความเข้มข้นกับพันธุ์ (ตารางที่ 10)

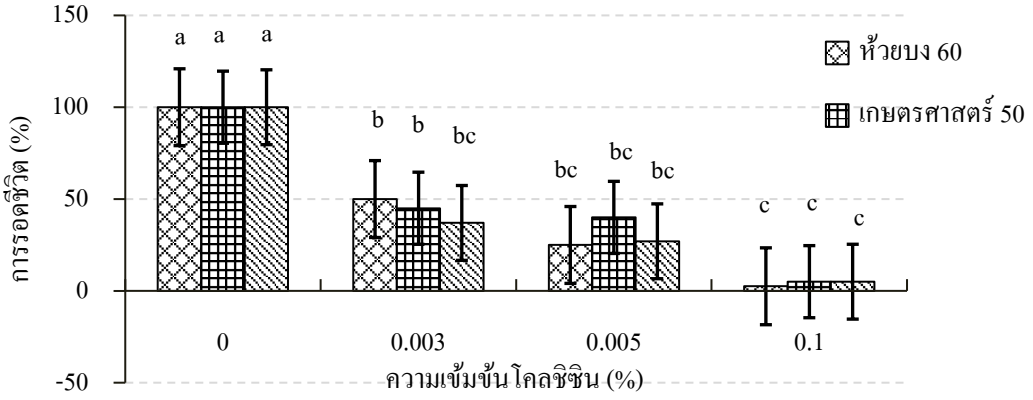
มันสำปะหลังที่ผ่านการชักนำให้เกิดกลายพันธุ์ด้วยโคลชิซิน ที่อายุ 60 วัน พบว่า ที่ความเข้มข้นโคลชิซิน 0% ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% ซึ่งสูงที่สุด รองลงมาคือ 0.003 และ 0.005% ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตอยู่ที่ 44.72 และ 30.83% ตามลำดับ และความเข้มข้นที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำที่สุดคือ 0.1% ซึ่งพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดคือพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 47.50% ไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ห้วยบง 60 ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 44.58% แต่แตกต่างกับพันธุ์ระยอง 72 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 42.50% การศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ชิ้นส่วนพืชในโคลชิซิน พบว่าการแช่ชิ้นส่วนพืชเพียง 1 วัน ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่า 2 วัน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตอยู่ที่ 47.64 และ 42.08% ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่าปัจจัยร่วมระหว่างความเข้มข้นโคลชิซินและพันธุ์ ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งความเข้มข้นโคลชิซิน 0% ที่ใช้กับมันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้น 0.003 และ 0.005% ไม่พบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่การแตกต่างทางสถิติในทั้ง 3 พันธุ์ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจะอยู่ระหว่าง 25-50% แต่พบว่าพันธุ์ห้วยบง 60 และเกษตรศาสตร์ 50 เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตระหว่างความเข้มข้น 0.003 และ 0.1% พบความแตกต่างทางสถิติโดยที่ความเข้มข้นโคลชิซิน 0.003% มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากกว่าที่ความเข้มข้น 0.1% และยังพบว่ามีเพียงพันธุ์ระยอง 72 เท่านั้น ที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นโคลชิซิน 3 ระดับซึ่งได้แก่ ความเข้มข้น 0.003 0.005 และ 0.1% ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 5 ถึง 37% (ตารางที่ 10 และ ภาพที่ 6)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ปัจจัย		เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
ความเข้มข้น	0%	100.00 ± 0.00 a[/1]
โคลชิซิน (A)	0.003%	44.72 ± 2.74 b
	0.005%	30.83 ± 2.84 c
	0.1%	4.17 ± 1.16 d
พันธุ์ (B)	ห้วยบง 60	44.58 ± 7.71 ab
	เกษตรศาสตร์ 50	47.50 ± 7.19 a
	ระยอง 72	42.50 ± 7.55 b
เวลา (C)	1	47.64 ± 5.80 a
	2	42.08 ± 6.32 b
A		**[/2]
B		*
C		*
A*B		**
A*C		ns
B*C		ns
A*B*C		ns
CV (%)		42.17

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01



ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน ที่จากได้รับความเข้มข้นโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้น

จากตารางที่ 11 พบว่า ความสูงต้น จำนวนข้อ จำนวนใบ และจำนวนรากมีความแตกต่างทางสถิตินั้นเป็นผลมาจากความแตกต่างของความเข้มข้นโคลชิซิน โดยความเข้มข้น 0% มีค่าเฉลี่ยความสูงที่สูงที่สุด คือ 6.5 ซม. รองลงมาคือ ความเข้มข้น 0.003 และ 0.005% ซึ่งมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยความสูงอยู่ที่ 4.67 และ 4.58 ซม. และความเข้มข้นที่ทำให้ความสูงน้อยที่สุดคือความเข้มข้น 0.1% มีค่าเฉลี่ย 3.34 ซม. ซึ่งลักษณะความสูงไม่พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างปัจจัย จึงไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 11) จากการศึกษาจำนวนข้อ พบว่า ความเข้มข้นที่ 0.003 และ 0.005% มีจำนวนข้อ 8.86 และ 7.97 ข้อ ตามลำดับ รองลงมาคือ ความเข้มข้น 0% มีจำนวนข้อ 6.47 และ 0.1% มีจำนวนข้อน้อยที่สุดคือ 2.78 ข้อ และยังพบปัจจัยร่วมระหว่างพันธุ์และเวลาที่ใช้ในการแช่ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยข้อมีความแตกต่างกัน ซึ่งพบว่าในพันธุ์ระยอง 72 การแช่ชิ้นส่วนเป็นระยะเวลา 2 วัน ทำให้มีจำนวนข้อมากกว่าการแช่เพียง 1 วัน โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนข้ออยู่ที่ 8.24 และ 5.55 ข้อ ตามลำดับ แต่พบว่า พันธุ์ห้วยบง 60 และเกษตรศาสตร์ 50 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยจำนวนข้อ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 1 วัน และ 2 วัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 8.24 ถึง 7.04 ข้อ ตามลำดับ (ตารางที่ 10, ภาพที่ 7)ในส่วนของจำนวนใบพบว่า ที่ความเข้มข้น 0.003% มีจำนวนใบสูงที่สุดคือ 7.41 ใบ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น 0.005% ที่มีจำนวนใบอยู่ที่ 6.43 ใบ และยังพบว่าที่ความเข้มข้น 0.1% มีจำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 1.11 ใบ และการศึกษาปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และเวลา พบว่ามีแนวโน้มในทิศทางเดียวกับค่าเฉลี่ยจำนวนข้อ (ตารางที่ 11, ภาพที่ 8) นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนราก ที่ความเข้มข้นโคลชิซินที่ 0% มีจำนวนรากมากที่สุดคือ 5.06 ราก รองลงมาคือ ความเข้มข้น 0.003 0.005 และ 0.1% มีจำนวนราก 3.57 3.12 และ 1.17 ราก ตามลำดับ ซึ่งพบความแตกต่างทางสถิติในทุกระดับความเข้มข้น และยังพบปฏิกิริยา

สัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและเวลาซึ่งทำให้จำนวนรากแตกต่างกันทางสถิติ การแช่ชิ้นส่วนพืชที่ความเข้มข้น 0% เป็นเวลา 1 และ 2 วัน มีจำนวนรากอยู่ที่ 5.11 และ 5.06 ราก ซึ่งมีจำนวนรากที่มากที่สุด รองลงมาคือการแช่ชิ้นส่วนพืชที่ความเข้มข้น 0.003% เป็นเวลา 2 วัน มีจำนวนราก 3.94 ราก ซึ่งมีค่ามากกว่าการแช่เพียง 1 วัน ซึ่งจากการสังเกตพบว่าที่ความเข้มข้น 0.003% โดยการแช่ 1 วันมีจำนวนรากไม่แตกต่างทางสถิติกับการแช่ที่ความเข้มข้น 0.005% เป็นเวลา 1 และ 2 วัน ซึ่งมีจำนวนรากอยู่ที่ 3.06 ถึง 3.2 ราก และความเข้มข้นที่ 0.1% โดยแช่ชิ้นส่วนพืชเป็นเวลา 1 วัน ส่งผลให้มีจำนวนรากน้อยสุดคือ 0.91 ราก (ตารางที่ 11, ภาพที่ 9)

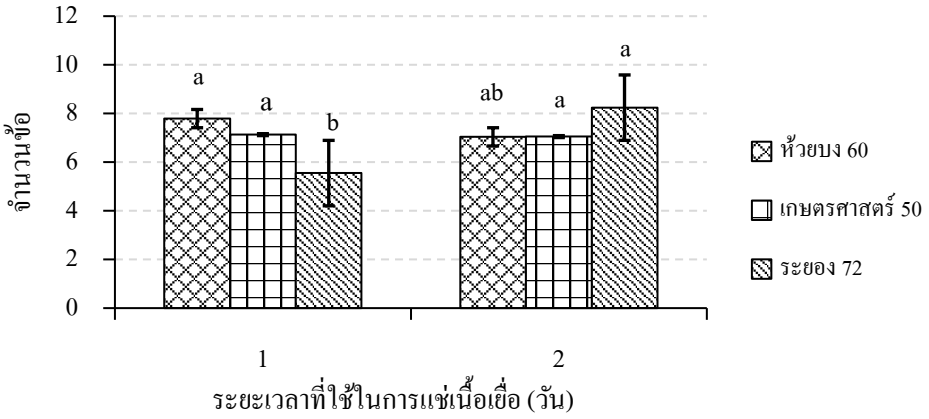
ตารางที่ 11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ปัจจัย		ความสูง (ซม.)	จำนวนข้อ	จำนวนใบ	จำนวนราก
ความเข้มข้นโคลชิซิน (A)	0%	6.50 ± 0.00 a[/1]	6.47 ± 0.00 b	5.69 ± 0.23 b	5.06 ± 0.09 a
	0.003%	4.67 ± 0.11 b	8.86 ± 0.11 a	7.41 ± 0.62 a	3.57 ± 0.16 b
	0.005%	4.58 ± 0.11 b	7.97 ± 0.11 a	6.43 ± 0.56 ab	3.12 ± 0.13 c
	0.1%	3.34 ± 0.34 c	2.78 ± 0.34 c	1.11 ± 0.56 c	1.17 ± 0.26 d
พันธุ์ (B)	ห้วยบง 60	5.09 ± 0.25	7.36 ± 0.66	5.82 ± 0.65	3.45 ± 0.28
	เกษตรศาสตร์ 50	5.14 ± 0.27	7.10 ± 0.60	6.11 ± 0.59	3.44 ± 0.28
	ระยอง 72	4.74 ± 0.27	6.70 ± 0.56	5.28 ± 0.63	3.67 ± 0.34
เวลา (C)	1	4.86 ± 0.23	6.74 ± 0.46	6.47 ± 0.00	3.29 ± 0.27
	2	5.13 ± 0.20	7.41 ± 0.53	6.48 ± 0.36	3.77 ± 0.21
A		*[/2]	*	*	*
B		ns	ns	ns	ns
C		ns	ns	ns	ns
A*B		ns	ns	ns	ns
A*C		ns	ns	ns	*
B*C		ns	*	**	ns
A*B*C		ns	ns	ns	ns
CV (%)		12.77	20.34	22.75	19.14

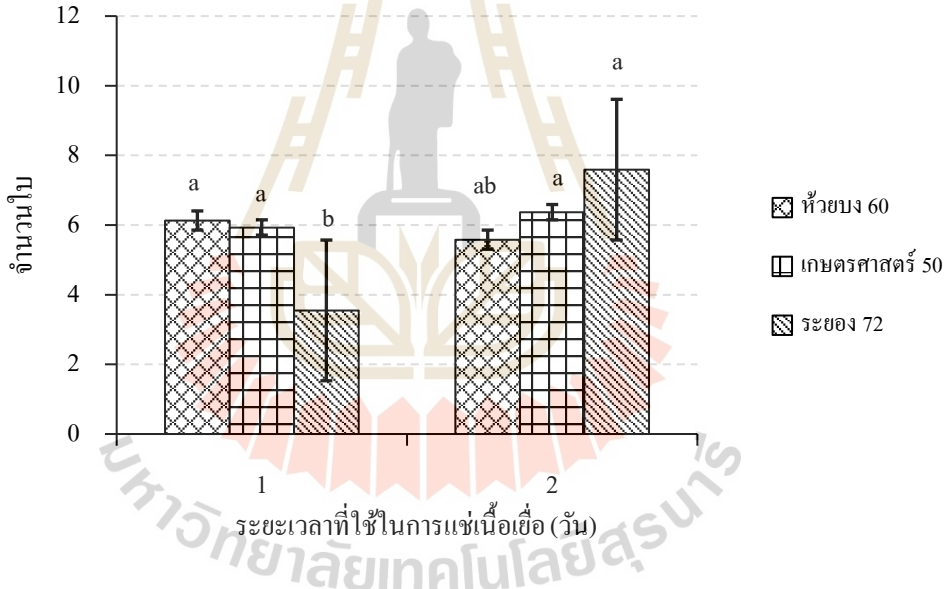
[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns =ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

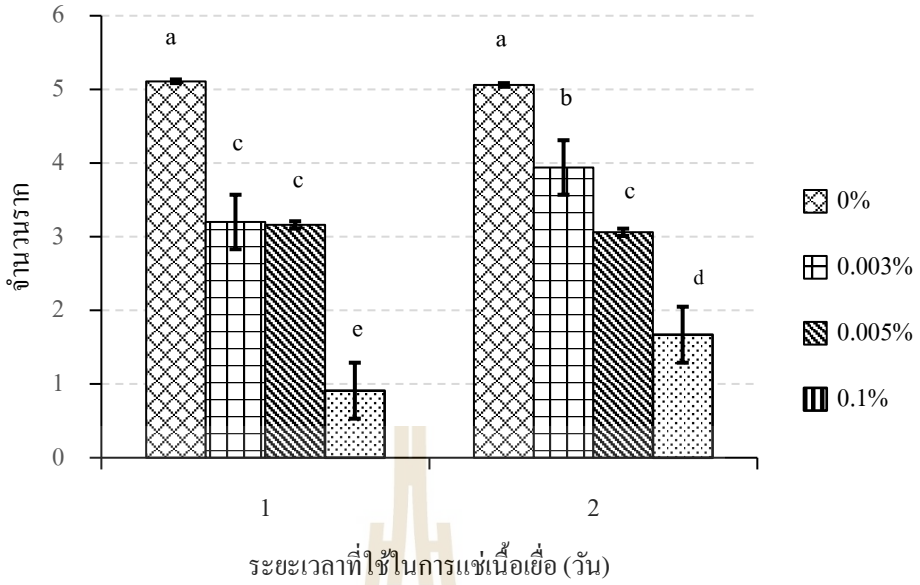


ภาพที่ 7 จำนวนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับการแช่ชิ้นส่วนในวันที่แตกต่างกันด้วยโคลชิซิน



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพที่ 8 จำนวนใบมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับการแช่ชิ้นส่วนในวันที่แตกต่างกันด้วยโคลชิซิน



ภาพที่ 9 จำนวนรากมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับการแช่ชิ้นส่วนในวันที่แตกต่างกันด้วยโคลชิซิน

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังที่อายุ 60 วันพบว่า ต้นที่ผ่านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยโคลชิซิน มีลักษณะที่มีความแตกต่างจากต้นที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์หลายลักษณะ เช่น จะมีการเจริญเติบโตช้า ลำต้นเตี้ย จำนวนข้อปล้องมีจำนวนมากขึ้นและค่อนข้างถี่ ใบหนา รวมถึงมีจำนวนรากน้อย ซึ่งลักษณะเหล่านี้อาจเป็นลักษณะในการบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมได้ และจากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นโคลชิซินที่ต่างกันส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ที่พืชจะมีลักษณะต้นเตี้ย ข้อปล้องสั้นถี่ และรากมีจำนวนน้อยแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเข้มข้น 0.1% ทำให้เกิดลักษณะต้นเตี้ยมากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น 0.005% โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดลักษณะต้นเตี้ย 59.26 และ 55.68% รองลงมาคือ ความเข้ม 0.003% มีเปอร์เซ็นต์การเกิดลักษณะต้นเตี้ย 41.38% และที่ความเข้มข้น 0% ไม่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเตี้ย ในส่วนของเปอร์เซ็นต์การเกิดลักษณะข้อปล้องสั้นและถี่ ที่ความเข้มข้น 0.003 0.005 และ 0.1% มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดอยู่ที่ประมาณ 44.61 ถึง 54.06% และที่ความเข้มข้น 0% ไม่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดข้อปล้องสั้นถี่ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การเกิดลักษณะต้นเตี้ย ข้อปล้องสั้นถี่ ไม่พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างปัจจัย ในส่วนของเปอร์เซ็นต์การเกิดรากน้อย พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1% ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลง มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่น ๆ รองลงมาคือ ความเข้มข้น 0.005 0.003 และ 0.1% ที่มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลง อยู่ที่ 47.44 31.05 และ 1.67% ตามลำดับ และจากตารางที่ 11 พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างความเข้มและพันธุ์ ซึ่งที่ความเข้มข้น 0.1% พันธุ์ห้วยบง 60 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ลดลงมากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกับพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 โดยมี

ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 100 และ 72% และยังพบว่าในทุกพันธุ์ที่ได้รับความเข้มข้น 0% มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่น ๆ และที่ความเข้มข้น 0.003 และ 0.005% ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 10) รวมถึงยังพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ของ 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นโคลชิซิน พันธุ์ และเวลาที่ใช้ในการแช่ชิ้นส่วน ที่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในพันธุ์ห้วยบง 60 พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1% และความเข้มข้น 0.005% โดยการแช่ชิ้นส่วน 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ลดลงมากที่สุดซึ่งไม่ต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงคือ 100 และ 80% ซึ่งที่ความเข้มข้น 0.1% โดยการแช่ชิ้นส่วนพืช 1 วัน ไม่พบข้อมูลที่สามารถให้เปรียบเทียบได้เนื่องจากไม่พบต้นที่รอดชีวิต (ภาพที่ 11) และในพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1% โดยการแช่ชิ้นส่วน 1 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงที่ 72.22% ซึ่งเป็นค่าที่มากที่สุด แต่ไม่แตกต่างกับความเข้มข้น และระยะเวลาการแช่อื่น ๆ แต่แตกต่างกับความเข้มข้น 0% ที่มีการแช่ชิ้นส่วนพืช 1 และ 2 วัน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ลดลงอยู่ที่ 3.33 และ 5% ตามลำดับ แต่ทั้งนี้ที่ความเข้มข้น 0.1% โดยการแช่ชิ้นส่วนพืช 2 วัน ไม่พบข้อมูลที่สามารถให้เปรียบเทียบได้เนื่องจากไม่พบต้นที่รอดชีวิต (ภาพที่ 11) และในส่วนของพันธุ์ระยอง 72 ที่ความเข้มโคลชิซิน 0.003 และ 0.005% ที่มีการแช่ 1 และ 2 วัน และความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 1 วันไม่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยค่าอยู่ที่ 37.60 ถึง 53.57% และยังพบว่าที่ความเข้มข้น 0% ที่มีการแช่ 1 และ 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ลดลงคือ 0 ถึง 1.67% ตามลำดับ ซึ่งที่ความเข้มข้น 0.1% โดยการแช่ชิ้นส่วนพืช 2 วัน ไม่พบข้อมูลที่สามารถให้เปรียบเทียบได้เนื่องจากไม่พบต้นที่รอดชีวิต (ภาพที่ 11)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในภาพรวมพบว่าแนวโน้มส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับปัจจัยความเข้มข้นโคลชิซินโดยจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 0.1% จะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด อาจจะเป็นเพราะเมื่อมันสำปะหลังได้รับความเข้มข้นที่สูงขึ้น การเจริญเติบโตจะช้ากว่าในความเข้มข้นอื่น ๆ จึงทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงมีเปอร์เซ็นต์ที่สูงกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ รวมถึงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่ำจนในบางพันธุ์ไม่พบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ซึ่งถือว่าความเข้มข้นที่ 0.1% ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.003 และ 0.005% เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่สูงกว่าเพื่อที่จะสามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบและคัดเลือกต่อไป และที่ความเข้มข้น 0.003 และ 0.005% ยังทำให้ต้นมันสำปะหลังเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา ซึ่งจากผลการวิจัยพบว่าสอดคล้องกับ รังษี เจริญสถาพร และคณะ (2552) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับ การสร้างมันสำปะหลัง tetraploids โดยใช้มันสำปะหลัง 3 พันธุ์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นโคลชิซินสูงขึ้นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจะลดลง ซึ่งการชักนำด้วยโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.003% จะได้ต้นมันสำปะหลังที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 33 ถึง 41% ซึ่งสามารถ

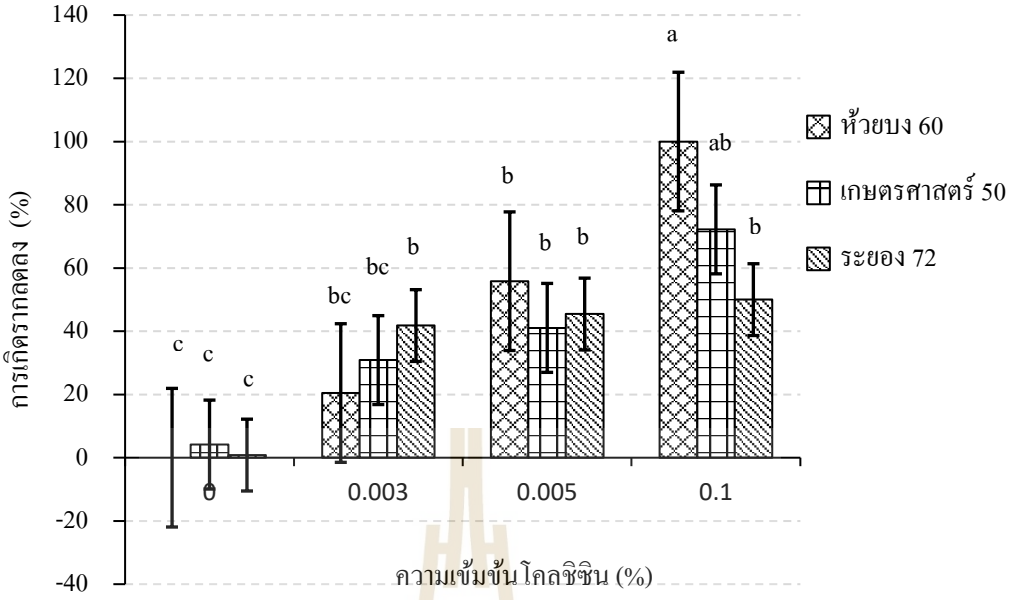
พัฒนาไปเป็นต้นที่มีลักษณะ polyploid ที่มีต้นเตี้ย ข้อถี่ ใบหนา เจริญเติบโตช้า มีรากใหญ่และสั้น รวมถึงมีจำนวนรากน้อย และงานวิจัยของ Zhou *et al*. (2017) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยโคลชิซิน ในมันสำปะหลังพันธุ์ Xinxuan 048 พบว่าที่ความเข้มข้นโคลชิซิน 0.1% มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 8% ซึ่งค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า และยังพบว่าที่ความเข้มข้น 0.1% ไม่สามารถสร้างมันสำปะหลัง tetraploid ได้ แต่ขัดแย้งกับงานวิจัยของ Mondin *et al*. (2018) ที่ทำการชักนำมันสำปะหลัง 2 สายพันธุ์ ด้วยโคลชิซินโดยพบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตโดยใช้ความเข้มข้น 0.1% มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 16-22% รวมถึงยังพบว่า ที่ความเข้มข้น 0.1% มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดมันสำปะหลัง tetraploid มากกว่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์พืช ชิ้นส่วนพืชที่ใช้ความเข้มข้นของสารเคมี ร่วมกับระยะเวลา ซึ่งต้องมีความเหมาะสม จึงจะสามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และปิยะดา ทิพย-ผ่อง, 2550) และจากหลายงานวิจัยพบว่า ความเข้มข้นของโคลชิซินที่สูงเกินไป มีประสิทธิภาพน้อยลงที่จะชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของโครโมโซม รวมถึงสร้างความเป็นพิษให้กับต้นพืชได้ เนื่องจากสารโคลชิซินนั้นสามารถแทรกซึมเข้าไปยังส่วนต่าง ๆ ของเซลล์พืช และยังเป็นพิษต่อเซลล์พืช การได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้นที่สูงและระยะเวลานานเกินไปอาจทำให้พืชมีจำนวนชุดโครโมโซมเกินระดับที่ต้องการจนทำให้เซลล์เสียสมดุลและตายในที่สุด โดยสารโคลชิซินนั้นจะทำให้การทำงานของเซลล์รวมทั้งกระบวนการต่าง ๆ ภายในพืชผิดปกติองค์ประกอบในไซโทพลาสซึมทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงไป โดยจะมีผลยับยั้งการสร้างสายดึงโครโมโซม (spindle fiber) ซึ่งส่งผลให้เส้นโครมาติด (chromatid) ของโครโมโซมอันหนึ่ง ๆ เข้าไปอยู่ในเซลล์เดียวกัน ทำให้การแบ่งเซลล์แบบไมโตซิส (mitosis) มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นจากเดิม 2 เท่า (Awoleye *et al*., (1994) ; Carvalho *et al*., (2016)) อย่างไรก็ตาม การคัดกรองพืชเพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาอาจไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการคัดกรองพืช polyploid จึงจำเป็นที่จะต้องใช้เครื่อง Flow cytometer ซึ่งเป็นวิธีการที่รวดเร็วและแม่นยำในการตรวจสอบโครโมโซม (Dhooghe *et al*., 2011) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการสุ่มเลือกต้นที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปจากต้นมันสำปะหลังที่ไม่ได้รับการชักนำจากโคลชิซินเพื่อใช้ในการทดลองที่ 4 ซึ่งลักษณะดังกล่าวคือ ข้อสั้น ต้นเตี้ย ใบหนาสีเขียวเข้ม ลำต้นใหญ่ ไปตรวจสอบด้วยเครื่อง Flow cytometer และจากการสุ่มตัวอย่างพบว่า พันธุ์ห้วยบง 60 และ ระยอง 72 ที่ได้รับการชักนำด้วยโคลชิซินความเข้มข้น 0.005% เป็นเวลา 2 วัน และ พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ได้รับความเข้มข้น 0.003% เป็นเวลา 2 วัน สามารถสร้างโครโมโซมเพิ่มขึ้น จาก 2n = 36 เป็น 4n = 72 (ภาพที่ 12, 13,14) ทั้งนี้พบว่า แม้ว่ามันสำปะหลังที่ได้รับการชักนำด้วยโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนไปจากต้นที่ไม่ได้รับการชักนำด้วยโคลชิซินก็ไม่สามารถรับรองได้ว่าทุกต้นสามารถกลายพันธุ์เป็นมันสำปะหลัง tetraploid

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

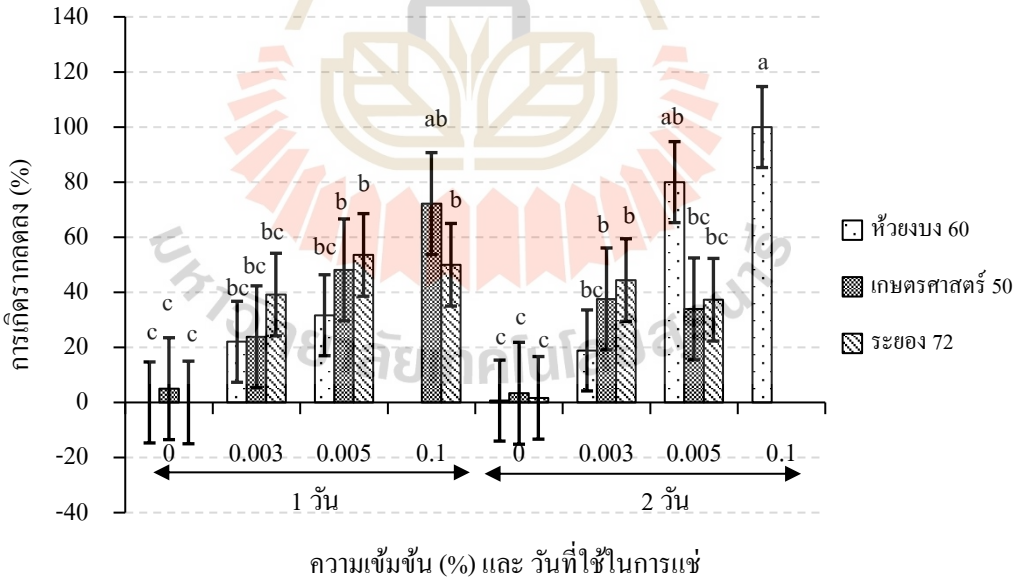
ปัจจัย		เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา		
		ลำต้นเตี้ย	ข้อปล้องสั้น	การเกิดรากลดลง
ความเข้มข้น	0%	0.00 ± 0.00 c[/1]	0.00 ± 0.00 b	1.67 ± 7.00 d
โคลชิซิน (A)	0.003%	41.38 ± 3.11 b	44.61 ± 7.14 a	31.05 ± 3.28 c
	0.005%	55.68 ± 6.12 ab	54.06 ± 5.95 a	47.44 ± 5.40 b
	0.1%	59.26 ± 4.34 a	51.86 ± 7.93 a	74.07.± 8.38 a
พันธุ์ (B)	ห้วยบง 60	42.93 ± 2.25	32.30 ± 7.74	36.28 ± 8.59
	เกษตรศาสตร์ 50	31.34 ± 5.17	35.13 ± 6.32	32.06 ± 5.40
	ระยอง 72	34.32 ± 4.38	39.36 ± 8.01	32.31 ± 5.04
เวลา (C)	1	40.86 ± 5.76	33.71 ± 4.51	31.42 ± 4.37
	2	42.13 ± 6.82	37.68 ± 7.40	34.08 ± 6.22
A		*[/2]	*	*
B		ns	ns	ns
C		ns	ns	ns
A*B		ns	ns	*
A*C		ns	ns	ns
B*C		ns	ns	ns
A*B*C		ns	ns	**
CV (%)		21.42	19.78	20.17

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

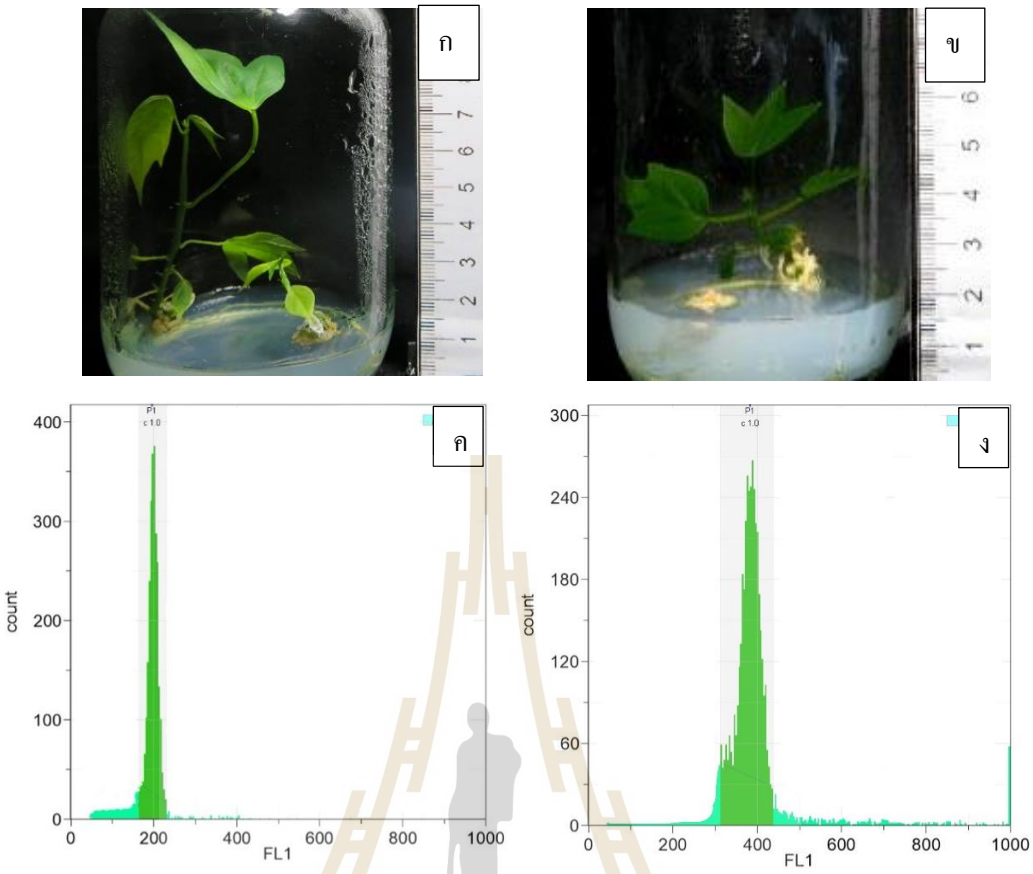
[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01



ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงของมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้น



ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากลดลงของมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและใช้ระยะเวลาในการแช่ชิ้นส่วนที่แตกต่างกัน



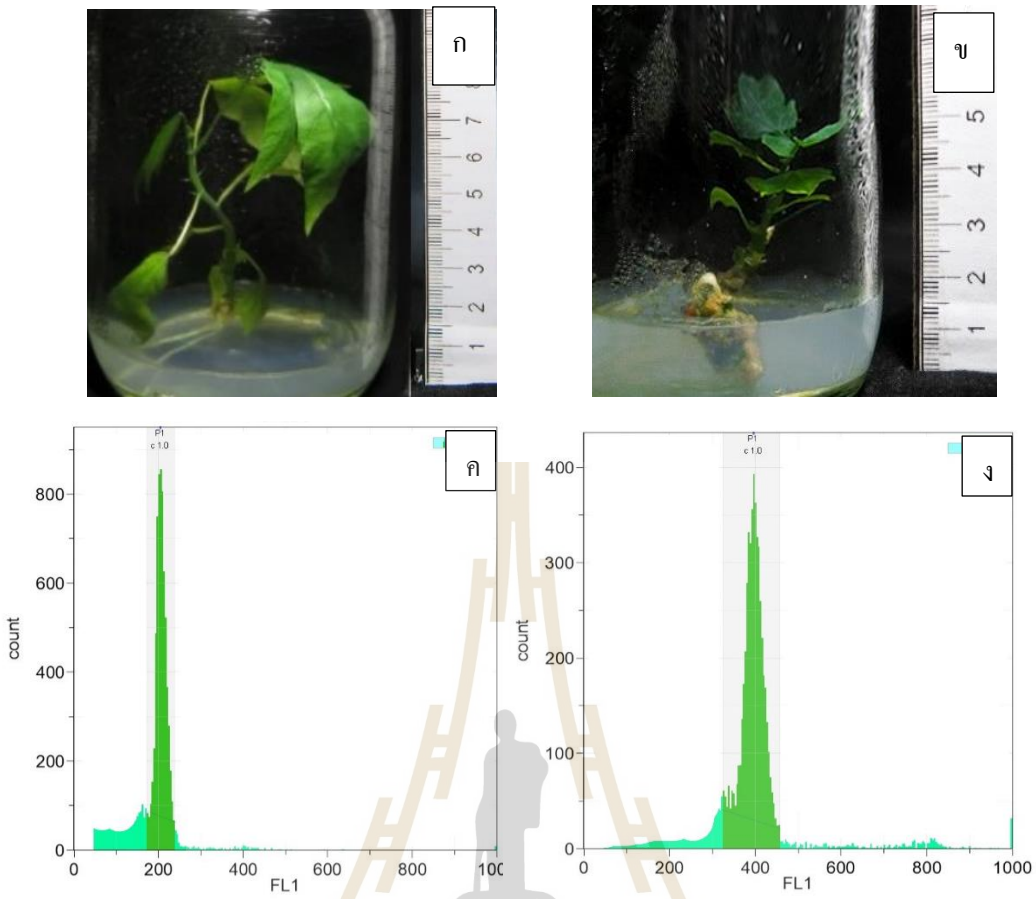
ภาพที่ 12 ลักษณะต้นและฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 60 วัน

ก. ลักษณะลำต้นของต้น diploid

ข.ลักษณะลำต้นของต้น tetraploid

ค. ฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้น diploid

ง. ฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้น tetraploid



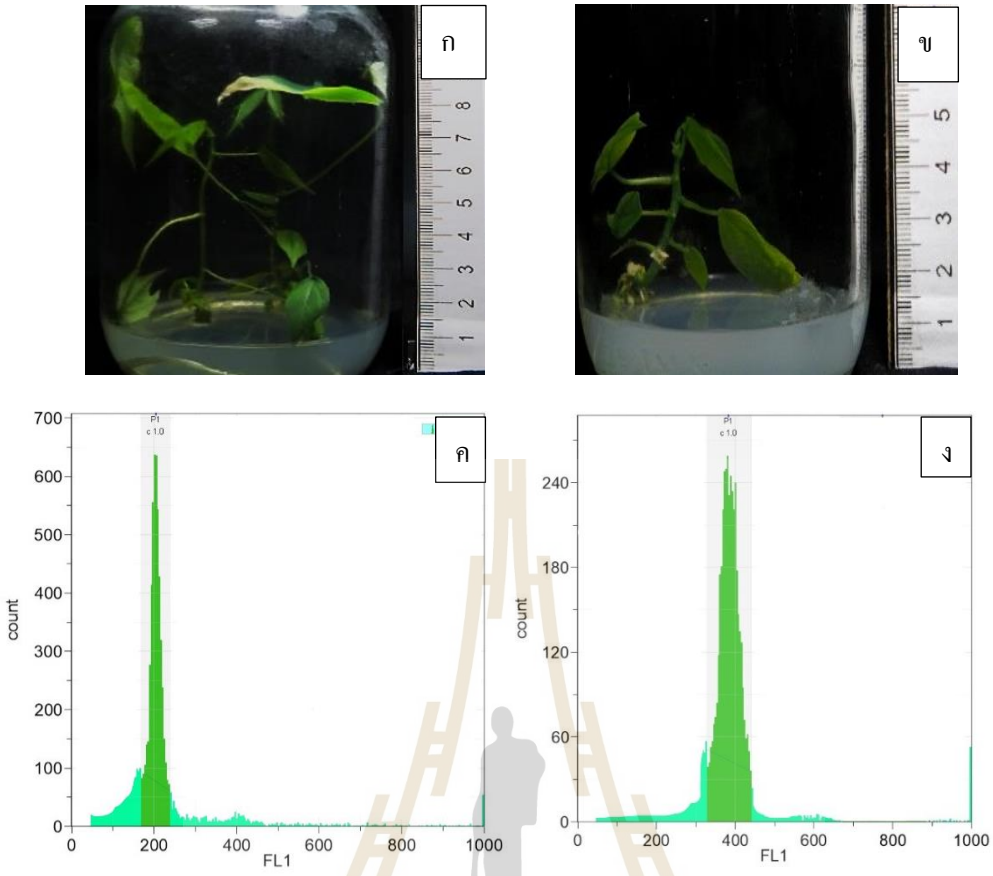
ภาพที่ 13 ลักษณะต้นและฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่อายุ 60 วัน

ก. ลักษณะลำต้นของต้น diploid

ข. ลักษณะลำต้นของต้น tetraploid

ค. ฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้น diploid

ง. ฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้น tetraploid



ภาพที่ 14 ลักษณะต้นและฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 60 วัน

ก. ลักษณะลำต้นของต้น diploid

ข. ลักษณะลำต้นของต้น tetraploid

ค. ฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้น diploid

ง. ฮิสโทแกรมแสดงระดับพลอยดีของต้น tetraploid

การทดลองที่ 3 ศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลัง diploid 3 พันธุ์ต่อความแห้งแล้งที่ถูกชักนำด้วย polyethylene glycol (PEG) เพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในสภาพหลอดทดลอง

จากการศึกษาพบว่า อิทธิพลของความเข้มข้น PEG มีผลทำให้จำนวนใบร่วงของมันสำปะหลังแตกต่างกันทางสถิติ ในวันที่ 7 9 11 และ 13 แต่ไม่พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น PEG และพันธุ์ สำหรับความเข้มข้น PEG 20% มีจำนวนใบร่วงสูงที่สุด ตั้งแต่วันที่ 7 เป็นต้นไป โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.44 2.00 2.78 และ 4 ใบตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างจากความเข้มข้นที่ 15%ในวันที่ 11 และ 13 (ตารางที่ 13) ซึ่งถ้าดูจากแนวโน้มของแต่ละพันธุ์จะพบว่าเมื่อความเข้มข้น PEG สูงขึ้นส่งผลให้จำนวนใบร่วงมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 15, 16, 17) ซึ่ง Calatayud (2000) ได้ทำการศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลังที่อายุ 4 เดือน ต่อความแห้งแล้งในกระถางพบว่า เมื่อมันสำปะหลังได้รับความเครียดจากน้ำจะส่งผลให้มันสำปะหลังมีใบร่วงมากกว่าสภาวะปกติถึง 2 เท่า และ Luis (2012) กล่าวว่า พันธุ์ที่มีการหลุดร่วงของใบน้อยกว่าจะทนต่อความแห้งแล้งกว่าพันธุ์ที่มีการหลุดร่วงของใบมาก ทั้งนี้พบว่าพืชเมื่ออยู่ในสภาวะแห้งแล้งจะมีการสร้างกรดแอบไซซิก (abscisic acid) ซึ่งมีส่วนในการกระตุ้นให้พืชสร้างฮอร์โมนเอทิลีนเพื่อเร่งการหลุดร่วงของใบเพื่อลดการคายน้ำ (กนกวรรณ เสรีภาพ, 2555)

จากตารางที่ 14 ยังพบว่าที่ 13 วัน ความเข้มข้น PEG มีผลต่อปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าความเข้มข้น PEG ที่ 0% มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมากที่สุดคือ 85.74% และพบว่าที่ความเข้ม PEG 20% มีปริมาณน้ำในใบน้อยที่สุด คือ 76.40% ทั้งนี้เนื่องจากการเติมสาร PEGในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะทำให้มีค่าชลศักย์ต่ำกว่าในสภาวะปกติ ทำให้รากพืชดูดน้ำไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ได้ยากขึ้นหรือเกิดจากพืชมีการปรับตัวโดยการคายน้ำสูง ส่งผลให้มีปริมาณน้ำในใบน้อย และจากการทดลองยังพบว่าพันธุ์ที่ต่างกันมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของปรียานุช ลาขุนทด และคณะ (2558) พบว่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์เชิงลบกับระดับความเครียดจากการขาดน้ำ สุพรรณิกา นพคุณ (2560) กล่าวว่า เมื่อมันสำปะหลังได้รับความแห้งแล้งปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบจะลดลง และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับน้ำหนักแห้งหัว รวมถึงการศึกษาของปวันรัตน์ โอกาสดี (2561) ทำการศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลังที่อายุ 3 4 และ 5 เดือนต่อความเครียดจากการขาดน้ำระดับ 3 ระดับ ได้แก่ FC 2/3AW และ 1/3AW พบว่าที่ระดับ 1/3AW พืชมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบน้อยที่สุด และยังพบว่า ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีความสัมพันธ์เชิงลบกับการร่วงของใบ แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบสามารถบ่งบอกสภาวะความเครียดจากการขาดน้ำของพืช เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับกิจกรรม metabolism และการเจริญเติบโตของต้นพืช

(Sinclair and Ludlow, 1985) ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่าพันธุ์ที่มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมากที่สุด คือพันธุ์ เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 ซึ่งมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบอยู่ที่ 82.36 และ 82.55% และพันธุ์ที่มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบน้อยที่สุดคือ พันธุ์ห้วยบง 60

อย่างไรก็ตาม การใช้ระยะเวลาในการศึกษายาวนานขึ้น อาจจะสามารถแสดงความแตกต่างของระดับความแห้งแล้งร่วมกับสายพันธุ์ ทั้งนี้การศึกษาในหัวข้อนี้ มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อหาความเข้มข้น PEG และระยะเวลา ที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการทดสอบกลไกการทนแล้งในมันสำปะหลัง tetraploid และจากการทดลองพบว่าควรมีการใช้ความเข้มข้น PEG 20% ที่ระยะเวลา 7 เนื่องจากในต้นมันสำปะหลัง tetraploid ที่อายุ 45 วัน มีการเจริญเติบโตช้า ขนาดต้นเล็กและมีปริมาณใบน้อย ซึ่งหากใช้ระยะเวลาที่นานกว่านี้ ใบจะมีการหลุดร่วงเพิ่มมากขึ้น อาจไม่สามารถใช้ในการสกัดและวัดกิจกรรมเอนไซม์ในการตอบสนองความแห้งแล้งได้ ซึ่งงานวิจัยของ Wei *et al* . (2013) พบว่าที่ตวามเข้มข้น PEG 20% เป็นเวลา 7 วันสามารถเห็นความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ SOD และ CAT เมื่อเทียบกับสภาวะปกติในข้าวสาลีได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

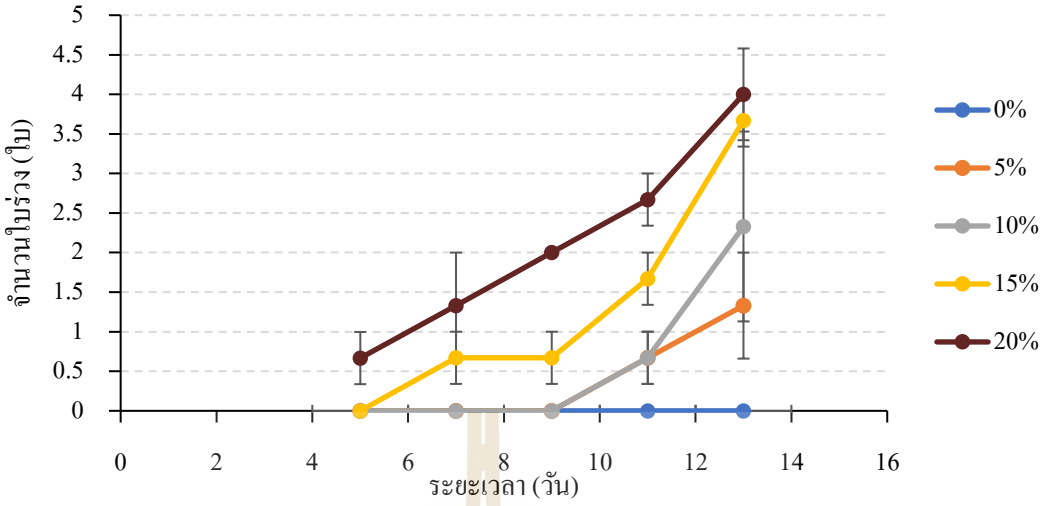
ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบร่วงในมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในวันต่าง ๆ หลังได้รับของ polyethylene glycol (PEG) 5 ระดับความเข้มข้น

ปัจจัย	จำนวนใบร่วง				
	ระยะเวลา (วัน)				
	5	**7**	**9**	**11**	**13**
ความเข้มข้น PEG (A)					
0%	0.00 ± 0.00[/1]	0.00 ± 0.00 c	0.00 ± 0.00 c	0.00 ± 0.00 d	0.00 ± 0.00 d
5%	0.22 ± 0.15	0.44 ± 0.29 bc	0.56 ± 0.29 bc	0.89 ± 0.35 cd	1.56 ± 0.53 c
10%	0.11 ± 0.11	0.56 ± 0.24 bc	0.78 ± 0.32 b	1.56 ± 0.38 bc	2.22 ± 0.46 bc
15%	0.22 ± 0.15	1.11 ± 0.31 b	1.12 ± 0.32 b	2.00 ± 0.41 ab	3.11 ± 0.48 ab
20%	0.33 ± 0.17	1.44 ± 0.24 a	2.00 ± 0.17 a	2.78 ± 0.15 a	4.00 ± 0.33 a
พันธุ์ (B)					
ห้วยบง 60	0.13 ± 0.09	0.40 ± 0.19	0.53 ± 0.22	1.13 ± 0.27	1.93 ± 0.42
เกษตรศาสตร์ 50	0.33 ± 0.13	0.73 ± 0.27	1.13 ± 0.32	1.47 ± 0.39	2.00 ± 0.53
ระยอง 72	0.07 ± 0.07	0.10 ± 0.18	1.07 ± 0.21	1.73 ± 0.33	2.60 ± 0.46
A	ns[/2]	*	*	*	*
B	ns	ns	ns	ns	ns
AxB	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	12.15	18.36	22.36	12.94	19.23

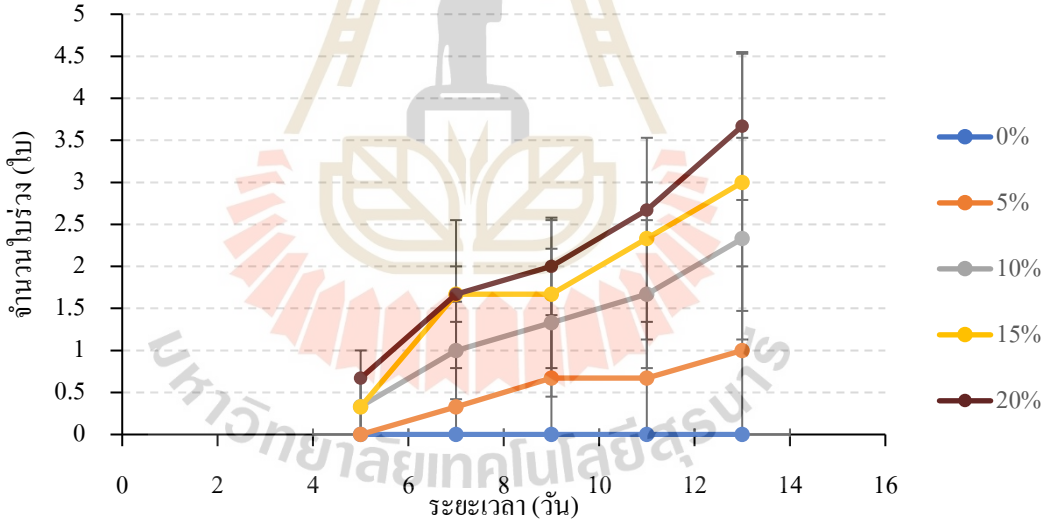
[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

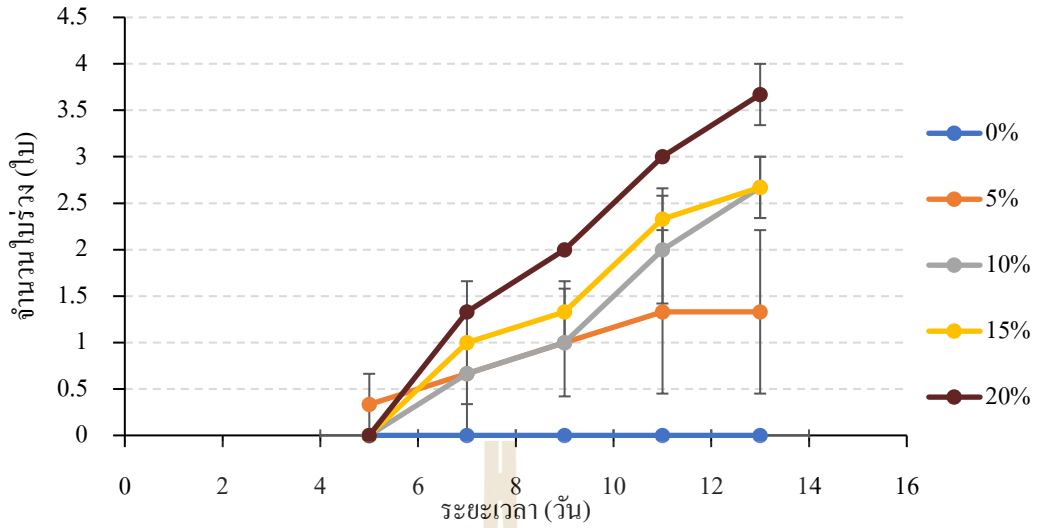
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 15 ผลของความแห้งแล้งจาก polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนใบร่วงของใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60



ภาพที่ 16 ผลของความแห้งแล้งจาก polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนใบร่วงของใบมันสำปะหลัง พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50



ภาพที่ 17 ผลของความแห้งแล้งจาก polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนใบร่วงของใบมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 14 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (%) ของมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในวันที่ 13 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 5 ระดับความเข้มข้น

ปัจจัย	ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (%)
ความเข้มข้น PEG (A)	
0%	85.74 ± 1.46 a[/1]
5%	82.95 ± 0.42 ab
10%	81.40 ± 0.43 bc
15%	78.79 ± 1.17 cd
20%	76.40 ± 2.23 d
พันธุ์ (B)	
ห้วยบง 60	78.57 ± 1.41 b
เกษตรศาสตร์ 50	82.36 ± 1.17 a
ระยอง 72	82.55 ± 1.45 a
A	*[/2]
B	*
AxB	ns
CV (%)	17.92

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของความทนแล้งเนื่องจากสาร polyethylene glycol (PEG) ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนแล้งของมันสำปะหลัง tetraploid

1. กิจกรรมเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายใต้สภาวะแล้ง

1.1 กิจกรรมเอนไซม์ catalase (CAT)

จากตารางที่ 15 จะเห็นได้ว่า กิจกรรมของเอนไซม์ CAT ของมันสำปะหลังแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ CAT สูงที่สุด โดยมีค่า 31.48 U/mg protein และพันธุ์ห้วยบง 60 ที่เป็น diploid มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ CAT น้อยที่สุด ซึ่งมีค่า 10.88 U/mg protein แต่ไม่แตกต่างกับพันธุ์ห้วยบง 60 ที่เป็น tetraploid และ ระยอง 72 ที่เป็น diploid และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ tetraploid

และ diploid พบว่า พันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ CAT สูงกว่าใน diploid แต่ความเข้มข้นของ PEG ที่ต่างกันไม่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ CAT แตกต่างกัน และพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์มันสำปะหลังและความเข้มข้นของ PEG โดยพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ลดลงเมื่อกระทบแล้ง และในทางตรงกันข้ามมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 18) นอกจากนี้ จากการเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ CAT ในสภาวะแล้งกับสภาวะปกติไม่แตกต่างกัน

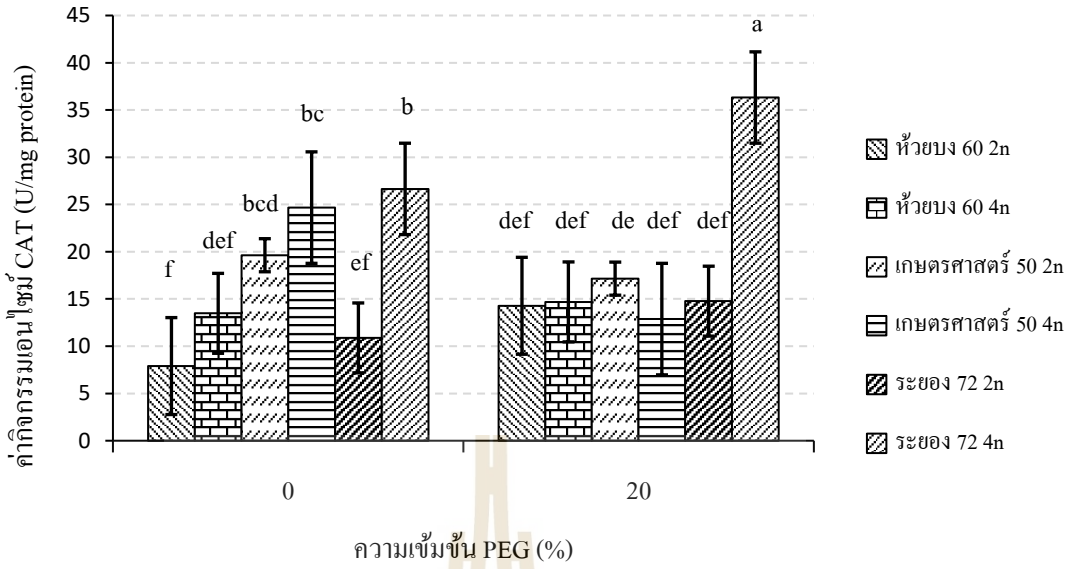
ตารางที่ 15 กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylen glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

ปัจจัย		**ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CAT (U/mg protein)**
ความเข้มข้น (A)	0	17.13 ± 1.81[/1]
	20	18.34 ± 2.28
พันธุ์ (B)	ห้วยบง 60 2n	10.88 ± 1.78 c
	ห้วยบง 60 4n	14.08 ± 0.82 bc
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	18.38 ± 1.57 b
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	18.77 ± 2.73 b
	ระยอง 72 2n	12.82 ± 2.76 bc
	ระยอง 72 4n	31.48 ± 3.43 a
A		ns[/2]
B		**
AXB		**
CV (%)		26.12

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 18 กิจกรรมเอนไซม์ CAT ของมันสำปะหลังที่อายุ 7 วันหลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

1.2 กิจกรรมเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD)

จากตารางที่ 16 พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ SOD ของมันสำปะหลังแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกับพันธุ์ ระยอง 72 และ ห้วยบง 60 ที่เป็น tetraploid โดยมีค่า 7.11 และ 6.74 และ 6.48 U/mg protein ส่วนพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่เป็น diploid มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ SOD น้อยที่สุดซึ่งไม่แตกต่างกับ ระยอง 72 ที่เป็น diploid ซึ่งมีค่า 4.13 และ 4.95 U/mg protein ซึ่งจากการเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ SOD ในสภาวะแล้งกับสภาวะปกติไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ ไม่พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์มันสำปะหลังและความเข้มข้นของ PEG

ตารางที่ 16 กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

ปัจจัย		ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD (U/mg protein)
ความเข้มข้น (A)	0	5.31 ± 0.28[/1]
	20	6.28 ± 0.01
พันธุ์/สายพันธุ์ (B)	ห้วยบง 60 2n	5.51 ± 0.65 bc
	ห้วยบง 60 4n	6.48 ± 0.12 ab
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	4.13 ± 0.14 d
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	7.11 ± 0.09 a
	ระยอง 72 2n	4.95 ± 0.22 cd
	ระยอง 72 4n	6.74 ± 0.97 ab
A		ns[/2]
B		**
AxB		ns
CV (%)		22.14

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

1.3 กิจกรรมเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX)

จากตารางที่ 17 จะเห็นได้ว่า กิจกรรมของเอนไซม์ APX ของมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ APX สูงที่สุด โดยมีค่า 2.00 และ 1.67 U/mg protein และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ tetraploid และ diploid พบว่า พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และ ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ APX สูงกว่าใน diploid แต่ความเข้มข้นของ PEG ที่ต่างกันไม่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ APX แตกต่างกัน และพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์มันสำปะหลังและความเข้มข้นของ PEG โดยพันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่เป็น diploid มีกิจกรรมของเอนไซม์ APX เพิ่มขึ้นเมื่อกระทบแล้ง (ภาพที่ 19) นอกจากนี้ จากการเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ APX ในสภาวะแล้งกับสภาวะปกติไม่แตกต่างกัน

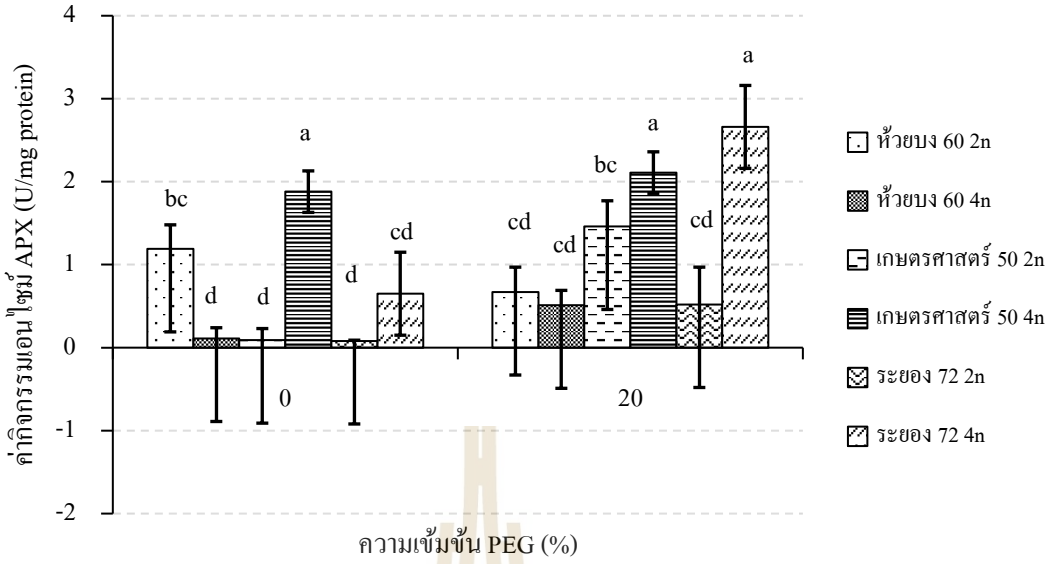
ตารางที่ 17 กิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

ปัจจัย		**ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ APX (U/mg protein)**
ความเข้มข้น PEG (A)	0	1.00 ± 0.27[/1]
	20	0.99 ± 0.20
พันธุ์ (B)	ห้วยบง 60 2n	0.93 ± 0.22 bc
	ห้วยบง 60 4n	0.31 ± 0.12 c
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	0.78 ± 0.38 c
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	2.00 ± 0.46 a
	ระยอง 72 2n	0.30 ± 0.12 c
	ระยอง 72 4n	1.66 ± 0.47 ab
A		ns[/2]
B		**
AxB		**
CV (%)		23.77

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 19 กิจกรรมเอนไซม์ APX ของมันสำปะหลังที่อายุ 7 วันหลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

1.4 กิจกรรมเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX)

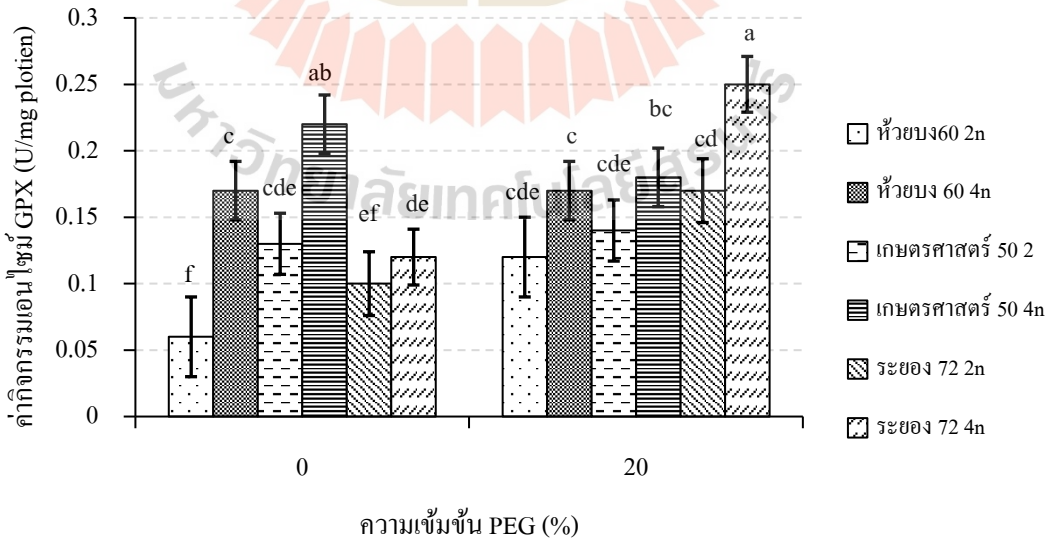
จากตารางที่ 18 จะเห็นได้ว่า กิจกรรมของเอนไซม์ GPX ของมันสำปะหลังแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ระยอง 72 ที่เป็นสายพันธุ์ tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ GPX สูงที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกับพันธุ์ห้วยบง 60 ที่เป็น tetraploidโดยมีค่า 0.20 0.18 และ 0.17 U/mg protein ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ diploid ซึ่งมีค่า 0.14 0.13 และ 0.10 U/mg protein และยังพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์มันสำปะหลังและความเข้มข้นของ PEG โดยพันธุ์ห้วยบง 60 และระยอง 72 ที่เป็น diploid มีกิจกรรมของเอนไซม์ GPX เพิ่มขึ้นเมื่อกระทบแล้ง และในสายพันธุ์ tetraploid พบเพียง ระยอง 72 เท่านั้นที่พบการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ GPX อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ GPX เป็นเท่าตัว (ภาพที่ 20) นอกจากนี้ จากการเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ GPX ในสภาวะแล้งกับสภาวะปกติ พบว่าในสภาวะแล้งพืชมีกิจกรรมของเอนไซม์ GPX มากกว่าในสภาวะปกติ

ตารางที่ 18 กิจกรรมของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

ปัจจัย		ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ GPX (U/mg protein)
ความเข้มข้น (A)	0	0.13 ± 0.02 b[/1]
	20	0.17 ± 0.01 a
พันธุ์/สายพันธุ์ (B)	ห้วยบง 60 2n	0.10 ± 0.02 d
	ห้วยบง 60 4n	0.17 ± 0.00 ab
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	0.14 ± 0.00 bc
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	0.20 ± 0.02 a
	ระยอง 72 2n	0.13 ± 0.02 cd
	ระยอง 72 4n	0.18 ± 0.03 a
A		**[/2]
B		**
AxB		**
CV (%)		17.23

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

[/2] ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01



ภาพที่ 20 กิจกรรมเอนไซม์ GPX ของมันสำปะหลังที่อายุ 7 วันหลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

1.5 ความสัมพันธ์ของกิจกรรมเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน

เมื่อมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ได้รับความเข้มข้น PEG 20% พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ CAT กับ GPX (r=0.624) มีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 และยังพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ SOD กับเอนไซม์ GPX (r=0.569) มีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันต่าง ๆในมันสำปะหลังที่ได้รับความเข้มข้น PEG 20%

	CAT	APX	GPX	SOD
CAT	1			
APX	-0.124	1		
GPX	0.624**[/1]	0.036	1	
SOD	0.341	-0.060	0.569*	1

[/1] * คือ มีสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญในระดับ 0.05, ** คือ มีสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญในระดับ 0.01

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่า มันสำปะหลังในแต่ละพันธุ์ที่มีพื้นฐานทางพันธุกรรมแตกต่างกันมีกิจกรรมเอนไซม์ที่แตกต่างกัน รวมถึงเอนไซม์แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสภาวะความแห้งแล้งที่เกิดจาก PEG 20% ที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 16 ถึง 19) ดังนั้น จึงเป็นที่น่าสนใจว่ากลุ่มสายพันธุ์ tetraploid มีการตอบสนองของเอนไซม์ใดบ้างที่ดีกว่าในพันธุ์ diploid ทั้งนี้พบว่าเมื่อพืชได้รับสภาวะแล้งจาก PEG 20% พันธุ์ระยอง 72 สายพันธุ์ tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ CAT มากกว่าในพันธุ์ diploid และในพันธุ์ tetraploid ยังคงมีการปรับตัวโดยมีการเพิ่มขึ้นของค่ากิจกรรมเอนไซม์ CAT เมื่อได้รับสภาวะแล้ง ซึ่งในพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ยังพบว่า สายพันธุ์ tetraploid มีการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ CAT แต่ในพันธุ์ห้วยบง 60 ที่เป็นสายพันธุ์ tetraploid ไม่พบการเปลี่ยนแปลงจากสภาวะปกติ นอกจากนี้กิจกรรมเอนไซม์ CAT จะมีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงขึ้นอยู่กับระดับความแห้งแล้งและเวลา รวมถึงลักษณะความเครียดที่พืชจะได้รับ (Sharma *et al*., 2012) ซึ่งจากการทดลองนี้ อาจเป็นไปได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ CAT ในแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ มีการตอบสนองที่แตกต่างกัน ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าหากมีการเก็บข้อมูลในระยะเวลาที่แตกต่างออกไปอาจพบความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ CAT ระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ จากการศึกษาของ Zhu *et al*. (2019) ได้ทำการศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลัง 2 พันธุ์ ซึ่งพบว่า มันสำปะหลังที่มีการทนแล้งจะมีกิจกรรมเอนไซม์ CAT มากกว่า เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ แต่พบว่าเมื่อพืชได้รับสภาวะความแห้งแล้งมากขึ้นจะส่งผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์มีการลดลงได้เช่นกัน

ในการศึกษาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในครั้งนี้พบว่า ไม่พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น PEG และพันธุ์/สายพันธุ์ ซึ่งพบเพียงความแตกต่างของค่ากิจกรรมเอนไซม์ระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72 สายพันธุ์ tetraploid มีค่าเฉลี่ยมากกว่าในพันธุ์ diploid แต่พบว่าพันธุ์ ห้วยบง 60 ไม่พบความแตกต่างระหว่าง tetraploid และ diploid ทั้งนี้ อาจจะเป็นเพราะด้วยระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษาอาจจะมีผลที่ทำให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ SOD ไม่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ จากการศึกษาของ Fu and Huang (2001) พบว่า ในสภาพขาดน้ำกิจกรรมของเอนไซม์ SOD จะเพิ่มขึ้นในระยะแรกจากนั้นจะลดลง อย่างไรก็ตาม เอนไซม์ SOD ยังคงมีความเกี่ยวข้องกับสภาวะเครียดที่เกิดจากน้ำ ซึ่งหากมีปริมาณมากจะช่วยปกป้องเซลล์และฟื้นสภาพเซลล์พืช (Wang *et al*., 2009) และการศึกษาของ Meloni *et al*. (2003) ในสภาวะขาดน้ำที่เกิดจากโซเดียมคลอไรด์ พบว่าฝ้ายพันธุ์ Pora ที่ได้รับสภาวะเค็มที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ SOD สูงกว่าชุดควบคุม แต่ฝ้ายพันธุ์ Guazuncho มีปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงขึ้นเช่นกัน แต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ($P \leq 0.05$) จึงสรุปได้ว่าฝ้ายทนเค็มมีการสร้าง antioxidant enzyme เพิ่มสูงขึ้นเพื่อต่อต้าน ROS ที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่พืชขาดน้ำ

ในส่วนของกิจกรรมเอนไซม์ APX นั้นพบว่า พันธุ์ระยอง 72 และเกษตรศาสตร์ 50 ที่เป็น tetraploid มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงกว่าในพันธุ์ diploid ทั้งในสภาวะปกติและสภาวะแห้งแล้งจาก PEG 20% รวมถึงยังพบว่า ระยอง 72 สายพันธุ์ tetraploid เมื่อพืชได้รับความเครียดจากการขาดน้ำมากขึ้น ค่ากิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มมากขึ้น แต่ใน เกษตรศาสตร์ 50 สายพันธุ์ tetraploid ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับความเครียดมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ diploid และ tetraploid ของพันธุ์ห้วยบง 60 ทั้งในสภาวะปกติและสภาวะแห้งแล้ง Turkan *et al*. (2005) ได้ทำการทดสอบโดยใช้ *Phaseolus acutifolius* ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการทนต่อสภาพแล้งและ *Phaseolus vulgaris* ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ พบว่าเมื่อได้รับสภาพแล้ง การเจริญเติบโตของ *Phaseolus acutifolius* ดีกว่า และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ APX สูงกว่าในพันธุ์ *Phaseolus vulgaris*

ทั้งนี้ Zhu *et al*. (2019) ได้กล่าวว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์ APX ในแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกันจากการศึกษาพบว่า ในมันสำปะหลังพันธุ์ Xinxuan 048 จะมีการตอบสนองต่อความเครียดจากการขาดน้ำโดยการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ตั้งแต่ในระยะแรก กลับกันกับในพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 จะค่อย ๆ มีการเพิ่มขึ้นของค่ากิจกรรมเอนไซม์ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น

สำหรับเอนไซม์ GPX นั้นพบว่า เมื่อมันสำปะหลังได้รับความเครียดจากสภาวะแห้งแล้งจะทำให้กิจกรรมเอนไซม์ GPX เพิ่มมากขึ้นโดยระยอง 72 สายพันธุ์ tetraploid มีการปรับตัวโดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับสภาวะแห้งแล้งจาก PEG ทั้งนี้ยังพบว่า มีค่ากิจกรรมเอนไซม์มากกว่าในพันธุ์ diploid ถึงแม้ในพันธุ์ diploid จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นจากสภาวะปกติก็ตาม

ส่วนใน ห้วยบง 60 และเกษตรศาสตร์ 50 ทั้งพันธุ์/สายพันธุ์ diploid และ tetraploid ไม่พบความแตกต่างของค่ากิจกรรมเอนไซม์ระหว่างสภาวะปกติและเมื่อพืชได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ Dudziak *et al*. (2019) ได้ทำการศึกษามันสำปะหลังในสภาวะขาดน้ำพบว่า พันธุ์ที่มีการทนแล้งมากกว่า จะมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ GPX ที่สูงกว่าพันธุ์ที่ไม่ทนแล้ง

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ที่สภาวะที่พืชได้รับความแห้งแล้งพบว่า พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างกิจกรรมเอนไซม์ CAT กับ GPX ซึ่งสอดคล้องกับงานของ ฝนทิพย์ หนูทอง (2554) ที่พบว่าเมื่อพืชได้รับสภาวะการขาดน้ำ จะพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างเอนไซม์ CAT และ GPX รวมถึงพบว่าเอนไซม์ GPX มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้ง 2 เอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ส่วนการตอบสนองของเอนไซม์อื่น ๆ มีระดับแตกต่างกันออกไปส่งผลให้พบความสัมพันธ์เชิงบวก ที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างเอนไซม์บางเอนไซม์เท่านั้น ทั้งนี้พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างเอนไซม์ SOD กับ GPX ทั้งนี้พบว่าเอนไซม์ SOD นั้นมีบทบาทสำคัญในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเอนไซม์ SOD นั้น จะทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์โดยการเปลี่ยนซุปเปอร์ออกไซด์ไอออนให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งควรจะต้องมีเอนไซม์อื่นที่เข้ามาช่วยในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Sharma *et al*., 2012) ดังนั้นจากการทดลองนี้อาจเป็นไปได้ว่าเอนไซม์ GPX มีส่วนช่วยในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทั้งนี้เอนไซม์ต่าง ๆ มีการตอบสนองต่อระยะเวลาที่พืชได้รับความแห้งแล้งที่แตกต่างกันเป็นผลทำให้การสร้างกิจกรรมของแต่ละเอนไซม์แตกต่างกัน ซึ่ง Xiao *et al*. (2019) ศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลังพันธุ์ Xinxuan 048 ต่อความแห้งแล้งในกระถางที่อายุ 100 วัน พบว่ามันสำปะหลัง tetraploid เมื่อได้รับความเครียดจากการขาดน้ำมีการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์และการคายน้ำน้อยกว่าในพันธุ์ diploid แต่มีการสร้างกิจกรรมเอนไซม์ CAT รวมถึงปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีปริมาณที่มากกว่าในพันธุ์ diploid และ Wei *et al*. (2019) พบว่าเมื่อส้ม tetraploid ที่มีอายุ 4 เดือน ได้รับความเครียดจากการขาดน้ำในกระถาง มีการสร้างกิจกรรมเอนไซม์ SOD และ CAT รวมถึง ปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าในพันธุ์ diploid และมีการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์น้อยกว่าในพันธุ์ diploid และเนื่องจากพืช tetraploid มีใบที่หนา มีการสูญเสียน้ำน้อย สามารถเชื่อมโยงกับความทนทานต่อความแห้งแล้งที่สูงขึ้น (Li *et al*., 2009) อย่างไรก็ตาม อาจเป็นไปได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ต่าง ๆ รวมถึงลักษณะทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาบางลักษณะที่เพิ่มมากขึ้นเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซม และการตอบสนองของสายพันธุ์ tetraploid ต่อสภาวะการขาดน้ำที่มีประสิทธิภาพกว่าในพันธุ์ diploid นั้น นอกจากมีการสร้างกิจกกรมของเอนไซม์ที่เพิ่มมากขึ้น อาจเป็นผลของการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และสัณฐานวิทยาร่วมด้วย ทั้งนี้ควรมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์ร่วมกับ

เอนไซม์ตัวอื่น ๆ ด้วย เพื่อเป็นการยืนยันว่า เอนไซม์ดังกล่าว มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยตรง รวมถึงลักษณะทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยา เพื่อให้ทราบกระบวนการต่าง ๆ ให้แน่ชัดมากขึ้น

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังด้วยชิ้นส่วนข้อในอาหารสูตร MS + sucrose 20 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ได้ต้นกล้าที่มีความสมบูรณ์ ในระยะเวลาที่รวดเร็ว เพื่อนำไปใช้ในการชักนำให้เกิดมันสำปะหลัง tetraploid ในสภาพหลอดทดลองร่วมกับการใช้สารโคลชิซิน

2. โคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.003 และ 0.005% มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตอยู่ที่ 30.83 และ 44.72% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำและการคัดเลือกให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในมันสำปะหลังพันธุ์ ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 72 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ชิ้นส่วนพืช ซึ่งในแต่ละพันธุ์มีความเหมาะสมแตกต่างกัน รวมถึงที่ความเข้มข้น 0.003 และ 0.005% ยังทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างไปจากต้น diploid โดยต้น tetraploid จะมีใบหนา จำนวนใบมากกว่า รากสั้นและมีจำนวนน้อย ข้อสั้นถี่ และมีการเจริญเติบโตช้ากว่าในต้น diploid

3. ระดับความเข้มข้นของ PEG มีความสำคัญเมื่อพืชได้รับความเครียดที่เพิ่มมากขึ้นจำนวนใบร่วงก็จะเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในทางกลับกันพบว่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีปริมาณที่ลดลงเมื่อพืชได้รับความเครียดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้พบว่า พืชเริ่มมีการตอบสนองโดยมีการร่วงของใบโดยเริ่มเห็นความแตกต่างระหว่างระดับความเข้มข้น PEG ในวันที่ 7 เป็นต้นไปโดยในวันที่ 7 และ 9 พบว่า ที่ความเข้มข้น 20% มีจำนวนการร่วงของใบมากที่สุด รวมถึงปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบที่น้อยที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกับที่ความเข้มข้น 15%

4. จากการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ต่าง ๆ พบว่า

- กิจกรรมของเอนไซม์ GPX เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการจำแนกความทนแล้งของมันสำปะหลังทั้ง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ เนื่องจากพบความแตกต่างทางสถิติของกิจกรรมของเอนไซม์ระหว่างสภาวะแห้งแล้ง และสภาวะปกติ ความแห้งแล้งมีผลทำให้ กิจกรรมของเอนไซม์ของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้น จากสภาวะปกติ ซึ่งทุกพันธุ์ที่เป็นสายพันธุ์ tetraploid มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ GPX สูงกว่าในพันธุ์ diploid

- กิจกรรมของเอนไซม์ CAT พบว่า พันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ CAT สูงกว่าในพันธุ์ diploid ทั้งนี้ พบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์มัน-สำปะหลังและความเข้มข้นของ PEG ซึ่งพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมของ

เอนไซม์ CAT ลดลงเมื่อกระทบแล้ง และในทางตรงกันข้ามมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT เพิ่มขึ้น

- กิจกรรมของเอนไซม์ SOD พบว่า พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 กับพันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD สูงกว่าในพันธุ์ diploid
- กิจกรรมเอนไซม์ APX สายพันธุ์ tetraploid สูงกว่าใน diploid โดยพันธุ์ระยอง 72 ที่เป็น tetraploid และพันธุ์ห้วยบง 60 ที่เป็น diploid มีกิจกรรมของเอนไซม์ APX เพิ่มขึ้นเมื่อกระทบแล้ง ทั้งนี้แนวโน้มส่วนใหญ่พบว่า ในสายพันธุ์ tetraploid มีกิจกรรมของเอนไซม์มากกว่าในพันธุ์ diploid

การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ในแต่ละตัวมีผลต่อการทำให้พืชเกิดการทนแล้ง ทั้งนี้พบสหสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ซึ่งอาจจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงการคัดเลือกพืชทนแล้งได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ เสรีภาพ. (2555). เอทิลีน. **คู่มือประกอบสื่อการสอนวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย.**สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐานและคณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 22 หน้า.

กิตติ โพธิปัทมะ สุริยะ ฤธาทิพย์ และกรวิศฎ์ ณ กลาง. (2555). การแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. **ว.วิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ**. 22: 225-231.

คณะทำงานโครงการเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังโดยการกระจายพันธุ์และการขยายท่อนพันธุ์สะอาด. (2552). **การจำแนกพันธุ์มันสำปะหลัง**. โรงพิมพ์สำนักงานพุทธศาสนาแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 32 หน้า.

ณัฐพร เกิดสุวรรณ. (2553). ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสรีรวิทยาและเซลล์วิทยาของกล้วยไม้ช้างแดง.**วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**. 65 หน้า.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. (2557). Polyploid [ออนไลน์ , 10 สิงหาคม 2561]
ได้จาก: http://biology.ipst.ac.th/index.php/2009-12-21-05-12-28/160-polyploid.html.

บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ สรรลาภ สงวนดีกุล สันติ สายสุวรรณ์ และพิชญนาถ อัญชลิสังกาศ. (2558). ผลของ TDZ BA และ GA ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 ระยอง 72 และระยอง 7. **วิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก**. 8 (1): 7-16.

ปวันรัตน์ โอกาสดี. (2561). ผลการตอบสนองทางชีวเคมี และฮอร์โมนพืชในมันสำปะหลังภายใต้สภาพความแห้งแล้ง. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี**. 65 หน้า.

เปรมจิต รองสวัสดิ์. (2549). การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในกล้วยเล็บมือนางโดยสารโคลชิซินและเอธิลมีเทนซัลโฟเนต. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยทักษิณ**. 84 หน้า.

ฝนทิพย์ หนูทอง. (2554). ผลของความเครียดจากความเค็มต่อกิจกรรมของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในประชากรข้าว CSSL. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.** 123 หน้า.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ และ ปิยะดา ทิพยผ่อง. (2550). **หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช**. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 372 หน้า.

ยุทธชัย อนุรักติพันธุ์ และสรรสฤษฎ์ เธียรโพธิ์ภิรักษ์. (2546). **ความแห้งแล้งซ้ำซากสู่ภาวการณ์เป็นทะเลทรายของประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน. 614 หน้า.

รังษี เจริญสถาพร อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และ โอภาษ บุญเส็ง. (2552). การสร้างมันสำปะหลังเตตราพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. **ผลงานวิจัยใช้ได้จริงจากหิ้งสู่ห้างครั้งที่ 2 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์**. 138-146.

รัชนี เพ็ชร์ช้าง. (2553). ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้โคลซิซินต่อการเจริญและจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องเงิน. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**. 29(4): 413-419.

รัชนีวรรณ จึงสงวนสิทธิ์. (2546). ความแปรปรวนทางสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยาในตำลึงที่เกิดจากการใช้สารโคลชิซิน. **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**. 65 หน้า.

วุฒิกร เหลี่ยมสุทธิพันธุ์ และกิตติ สัจจาวัฒนา. (2555). ผลของโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานและสรีรวิทยาที่สัมพันธ์กับต้นเททระพลอยด์ของแตงโม. **วารสารแก่นเกษตร.** 40: 201-206.

ศิวพงษ์ จำรัสพันธุ์. (2546). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี, อุดรธานี. 189 หน้า.

สกล ฉายศรี, โอภาษ บุญเส็ง, พชรดา ฉายศรี, ประภาส ช่างเหล็ก, กิ่งกานท์พานิชนอก, สุปราณี งามประสิทธิ์, นิตยา ดนตรี และ นิกร ตูมสันเทียะ. (2550) .**รายงานผลการดำเนินงานโครงการประเมินเชื้อพันธุกรรมมันสำปะหลังสำหรับจัดทำฐานข้อมูลด้านการปรับปรุงพันธุ์.** โครงการวิจัยสถาบันวิจัย และพัฒนาแห่ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี พ.ศ. 2549-50

สมาคมโรงงานผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง. (2563). รายงานภาวะการค้ามันสำปะหลัง. [ออนไลน์, 10 มิถุนายน 2563]. ได้จาก : http://thaitapioca.org/category/article/.

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. (2530). **วัตถุดิบอาหารสัตว์ การใช้และการตรวจสอบคุณภาพ.** นครปฐม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 135หน้า

สุพรรณิกา นพคุณ. (2560). ผลของความแห้งแล้งต่อลักษณะทางสรีรวิทยา ผลผลิต ของมัน-สำปะหลังพันธุ์ต่างๆ. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี**. 109 หน้า

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2562). ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตร. [ออนไลน์ 10 มกราคม 2563]. ได้จาก : http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/casava62(1).pdf.

อัญชลี ร่มพา. (2543). ความสัมพันธ์ของกิจกรรมของซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส ปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสงและการเจริญเติบโตในถั่วเหลือง *Glycine max* (L.) Merrill ภายใต้ภาวะเค็ม. **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.** 84 หน้า.

An, F., Fan, J., Li, J., Li, Q. X., Li, K., Zhu, W., & Chen, S. (2014). Comparison of leaf proteomes of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) cultivar NZ199 diploid and autotetraploid genotypes. **Plos one**. 9(4): e85991.

Awoleye F, Van Duren M, Dolezel J and Novak FJ. (1994). Nuclear DNA content and in vitro induced somatic polyploidization cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) breeding. **Euphytica.** 76: 195-202.

Barrs, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian journal of biological sciences**. 15(3) : 413-428.

Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J Biol chem**. 195(1): 133-140.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72(1-2): 248-254.

Calatayud, P. A., Llovera, E., Bois, J. F., & Lamaze, T. (2000). Photosynthesis in drought-adapted cassava. **Photosynthetica**. 38(1): 97-104.

Carlos E., Dominguez, M. S. (1984). **Mophology of cassava plant**. Centro Internacional de Agricultura (CAIT). 44 p.

Carvalho MJS, Gomes VB, Souza AS, Aud FF, Santos-Serejo JA and Oliveira EJ (2016) . Inducing autotetraploids in cassava using oryzalin and colchicine and their *in vitro* morphophysiological effects. **Genetics and Molecular Research**. 15: gmr.15028281.

Cha-um, S., Nhung, N.T.H. and Kirdmanee, C. (2010). Effect of mannitol- and salt-induced iso-osmotic stress on proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of rice cultivars (*Oryza sativa* L. spp. indica). **Pak. J. Bot**. 42(2): 927-941.

Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. (2009). Differential accumulations of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity. **Pakistan journal of Botany**. 41: 2497-2506.

Cushman CJ. and Bohnert JH. (2000). Genomic approaches to plant stress tolerance. **Curr Opin Plant Biol**. 3: 117-124.

Dhindsa, R.S., P., Plumb-Dhindsa, and T.A. Thorpe. (1981). Leaf senescence: correlation with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. **Experimental Botany**. 32(126): 93-101.

Dhooghe, E., Van Laere, K., Eeckhaut, T., Leus, L., & Van Huylenbroeck, J. (2011). Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro*. **Plant Cell**, Tissue and Organ Culture. 104(3): 359-373.

Dudziak, K., Zapalska, M., Börner, A., Szczerba, H., Kowalczyk, K., & Nowak, M. (2019). Analysis of wheat gene expression related to the oxidative stress response and signal transduction under short-term osmotic stress. **Scientific reports**. 9(1): 1-14.

El-Shabrawi, H., Kumar, B., Kaul, T., Reddy, M. K., Singla-Pareek, S. L. and Sopory, S.K. (2010). Redox homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification as markers for salt tolerance in Pokkali rice. **Protoplasma.** 245: 85-96.

FAO. Food Outlook biannual report on global food markets. [online, 2018]
Available frome : http://www.fao.org/3/CA2320EN/ca2320en.pdf.

Fu, J., & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. **Environmental and Experimental Botany**. 45: 105-114.

Gall, H. L., Phillippe, F., Domon, J. M., Gillet, F., Pelloux, J. and Rayon, C. (2015). Cell wall metabolism in response to abiotic stress. **Plants**. 4: 112-166.

Gaspar, T., & Coumans, M. (1987). Root formation. **In Cell and tissue culture in forestry** . Springer, Dordrecht. pp 202-217.

Georgieva, M., Djilianov, D., Konstantinova, T., & Parvanova, D. (2004). Screening of Bulgarian raspberry cultivars and elites for osmotic tolerance *in vitro*. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**. 18(2): 95-98.

Graciano-Ribeiro, D., & Nassar, N. M. (2012). A comparative anatomical study in cassava diploid and tetraploid hybrids. **Plant systematics and evolution**. 1-11.

Hajiboland, R. (2014). Reactive oxygen species and photosynthesis. In Ahmad, P. (ed.). **Oxidative damage to plants: antioxidant networks and signaling**. Waltham: Elsevier. pp 1-50.

Hamill, S., Smith, M. and Dodd, W. (1992). *In vitro* induction of banana autotetraploids by colchicine treatment of micropropagated diploids. **Australian Journal of Botany**. 40: 887-896.

Hare PD., Cress WA. andStaden JV. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. **Plant Cell Environ**. 21: 535-553.

Jung, S. (2003). Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. **Plant Science**. 166: 459-466.

Khosravi, P., Kermani, M.J., Nematzadeh, G.A., Bihamta, M.R. and Yokoya, K. (2008). Role of mitotic inhibitors and genotype on chromosome doubling of *Rosa*. **Euphytica**. 160: 267-275.

Kharrazia, H., Vaisi-Raygania, A., Rahimia, Z., Tavilanid, H., Aminianb, M., & Pourmotabbede, T. (2008). Association between enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense mechanism with apolipoprotein E genotypes in Alzheimer disease. **Clinical biochemistry**. 41(12): 932–936.

Li WD, Biswas DK, Xu H, Xu CQ, Wang XZ, Liu JK, Jiang GM. (2009). Photosynthetic responses to chromosome doubling in relation to leaf anatomy in *Lonicera japonica* subjected to water stress. **Funct Plant Biol**. 36: 783–792.

Luckett, D. (1989). Colchicine mutagenesis is associated with substantial heritable variation in cotton. **Euphytica**. 42: 177-182.

Luis, O.D. (2012). **Cassava drought tolerance mechanisMS revisited: evaluation of drought tolerance in contrasting cassava genotypes under water stressed environments**. Presented to the Faculty of the Graduate School of Cornell University. 176.

MacAdam, J. W., Nelson, C. J., & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. **Plant Physiology.** 99(3): 872-878.

Mapayi, E. F., Ojo, D. K., Oduwaye, O. A., & Porbeni, J. B. O. (2013). Optimization of in-Vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta Crantz*) genotypes. **Journal of Agricultural Science**. 5(3): 261.

Michel, B. E., & Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant physiology**. 51(5): 914-916.

Mishra, P., Bhoomika, K. and Dubey, R. S. (2011). Differential response of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Protoplasma.** 250: 3-19.

Meloni, D. A., Oliva, A. M., Martinez, A. C., & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**. 49: 69-76.

Mondin, M., Latado, R. R., & Mourão Filho, F. D. A. A. (2018). In vitro induction and regeneration of tetraploids and mixoploids of two cassava cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. 18(2): 176-183.

Munns R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. **Plant Cell Environ**. 25: 239-250.

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**. 22(5): 867-880.

Nassar, N. M. (2006). Chromosome doubling induces apomixis in a cassava× *Manihot anomala* hybrid. **Hereditas**. 143(2006): 246-248.

Nassar, N. M., Graciano-Ribeiro, D., Fernandes, S. D. C., & Araujo, P. C. (2008). Anatomical alterations due to polyploidy in cassava, *Manihot esculenta* Crantz. **Genetics and Molecular Research**. 7(2): 276-283.

Phookaew, P., Netrphan, S., Sojikul, P., & Narangajavana, J. (2014). Involvement of miR164-and miR167-mediated target gene expressions in responses to water deficit in cassava. **Biologia plantarum**. 3(58): 469-478.

Pinheiro, H.A., Damatta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B., & Loureiro, M.E. (2004). Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea Canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science**. 167: 1307-1314.

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**. 2012: 1-26.

Sinclair, T. R., & Ludlow, M. M. (1985). Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. **Functional Plant Biology.** 12(3): 213-217.

Smith, M. K., Biggs, B. J., & Scott, K. J. (1986). In vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). **Plant cell, tissue and organ culture**. 6(3): 221-228.

Sreekumari, M. T., Jos, J. S., & Nair, S. G. (1999). 'Sree Harsha': A superior triploid hybrid in cassava. **Euphytica**. 106(1): 1-6.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2010). **Plant Physiology**. 5th Edition, Sinauer Associates Inc., Sunderland. 690 p.

Tang, Z.Q., Chen, D.L., Song, Z.J., He, Y.C. and D.T. (2010). In vitro induction and identification of tetraploid plants of Paulownia tomentosa. Plant Cell, **Tissue and Organ Culture**. 102: 213-220.

Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., & Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant P. *acutifolius* Gray and drought sensitive P. *vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. **Plant Physiology**. 161: 1211-1224.

Vysotskaya, L., Hedley, P. E., Sharipova, G., Veselov, D., Kudoyarova, G., Morris, J. and Jones, H.G. (2010). Effect of salinity on water relations of wild barley plants differering in salt tolerance. **AoB PLANTS**. 2010: 1-8.

Wang, C., Tabares Z, E., Ceballos, H., Peng, Z., & Lentini, Z. (2007). Development of an *in vitro* protocol for the production of cassava doubled-haploids and its use in breeding. **CIAT Posters and Infographics**.

Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, S. H., Kim, Y. K., Deng, P. X., & Kwak, S. S. (2009). Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**. 47: 570-577.

Wei, J., Li, C., Li, Y., Jiang, G., Cheng, G., & Zheng, Y. (2013). Effects of external potassium (K) supply on drought tolerances of two contrasting winter wheat cultivars. **Plos one**. 8(7): e69737.

Wei, T., Wang, Y., Xie, Z., Guo, D., Chen, C., Fan, Q., & Liu, J. H. (2019). Enhanced ROS scavenging and sugar accumulation contribute to drought tolerance of naturally occurring autotetraploids in Poncirus trifoliata. **Plant biotechnology journal**. 17(7): 1394-1407.

Woodward, B., & Puonti-Kaerlas, J. (2001). Somatic embryogenesis from floral tissue of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). **Euphytica**. 120(1): 1-6.

Xiao, L., Shang, X. H., Cao, S., Xie, X. Y., Zeng, W. D., Lu, L. Y., … & Yan, H. B. (2019). Comparative physiology and transcriptome analysis allows for identification of lncRNAs

imparting tolerance to drought stress in autotetraploid cassava. **BMC genomics**. 20(1): 514.

Yang, X., Cao, Z., An, L., Wang, Y. and Fang, X. (2006). *In vitro* tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Euphytica**. 152: 217-224

Zhang, X.Y., Hu, C.G. and Yao, J.L. (2010a). Tetraploidization of diploid *Dioscorea* results in activitation of the antioxidant defense system and increased heat tolerance. **Journal of Plant Physiology**. 167: 88-94.

Zayed, E. M., ShaMS, A. S., & Kamel, A. S. (2013). Genetic diversity in introduced cassava using inter simple sequence repeat markers (ISSRs). **Gene Conserve**. 12(47): 23-33.

Zainudin, A. (2015). *In Vitro* Selection of *Jatropha Curcas* Linn. Hybrids Using Polyethylene Glycol to Obtain Drought Tolerance Character. **Procedia Chemistry**. 14: 239-245.

Zhou H., Zeng W., Yan H. (2017). *In vitro* induction of tetraploids in cassava variety 'Xinxuan 048' using colchicine. **Plant Cell Tiss. Org.an Cult**. 128: 723-729.

Zhu, Y., Luo, X., Wei, M., Khan, A., Munsif, F., Huang, T., ... & Shan, Z. (2019). Antioxidant Enzymatic Activity and Its Related Genes Expression in Cassava Leaves at Different Growth Stages Play Key Roles in Sustaining Yield and Drought Tolerance Under Moisture Stress. **Journal of Plant Growth Regulation**. 39: 594–607.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

1) การสกัดโปรตีนเพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

ดัดแปลงจากวิธีของ Beer and Sizer (1952)

1. สารละลายที่ใช้ในการสกัดประกอบด้วย
   - 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7)
   - 4% polyvinylpyrrolidone (PVP)
   - 4 mM dithiothreitol (DTT)
   - 1 mM phenylmethylsulfonyl (PMSF) (เตรียม stock ใน isopropanol)
2. นำตัวอย่างใบ 50 mg เติม extraction buffer 300 µl จากนั้นบดด้วยโกร่ง และเทใส microcentrifuge tube
3. ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
4. เก็บส่วนสารละลายใสด้านบน 400 µl ใส่ microcentrifuge tube ใหม่ เติม protein assay dye reagent concentrate 100 µl ผสมให้เข้ากัน ปล่อยเกิดให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที เพื่อนำไปใช้วัดปริมาณโปรตีนรวมตามวิธีการของ Bradford (1976) ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectracount microplatephotometer นำค่าที่ได้เทียบกับสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นนำไปวัดกิจกรรมเอนไซม์ต่าง ๆ ต่อไป

2) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ catalase (CAT)

ดัดแปลงจากวิธีของ Beer and Sizer (1952)

1. เตรียม substrate mixture ซึ่งประกอบด้วย
   - 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7)
   - 10 mM hydrogen peroxide
2. อ่านค่าดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร ที่ลดลงภายใน 5 นาที
3. คำนวณค่ากิจกรรมเอนไซม์ CAT โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด และแทนค่า $e^{mM} = 0.0436\ (mM^{-1}\ cm^{-1})$

3) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX)

ดัดแปลงจากวิธีของ Nakano และAsada (1981)

1. เตรียม substrate mixture ซึ่งประกอบด้วย
   - 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7)
   - 10 mM hydrogen peroxide

- 1 mM EDTA (pH 8)
- 0.5 mM ascorbic acid

2. อ่านค่าดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ที่ลดลงภายใน 5 นาที
3. คำนวณค่ากิจกรรมเอนไซม์ APX โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดและแทนค่า

$e^{mM} = 2.8\ (mM^{-1}\ cm^{-1})$

4) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ guaiacol peroxidase (GPX)

ดัดแปลงจากวิธีของ Macadam *et al*. (1992)

1. เตรียม substrate mixture ซึ่งประกอบด้วย
   - 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6)
   - 0.2 mM hydrogen peroxide
   - 2.5 mM guaiacol 0.0025M
2. อ่านค่าดูดกลืนแสงแบบ kinetic ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ที่เพิ่มขึ้นภายใน 5 นาที
3. คำนวณค่ากิจกรรมเอนไซม์ CAT โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด และแทนค่า $e^{mM} = 26.6\ (mM^{-1}\ cm^{-1})$

ตารางภาคผนวกที่ 1 อัตราส่วนการดูดสารสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ CAT APX GPX

Solution	reference well (µl)	sample well (µl)
50 mM potassium phosphate buffer (pH 7)	10	-
clude extract	-	10
Substrate mixture	190	190

สูตรการคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ CAT APX GPX

หน่วย Unit / mg protein

$$\frac{(\Delta A_{sample}/\ min\ -\ \Delta A_{reference}\ /min)\ x\ (vol\ of\ reacion)\ x\ (dilution\ factor)}{e^{mM}\ x\ (vol\ of\ crude\ extract)\ x\ (path\ length\ in\ cm) x\ (mg\ protein/\ ml\ crude\ extract)}$$

5) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD)

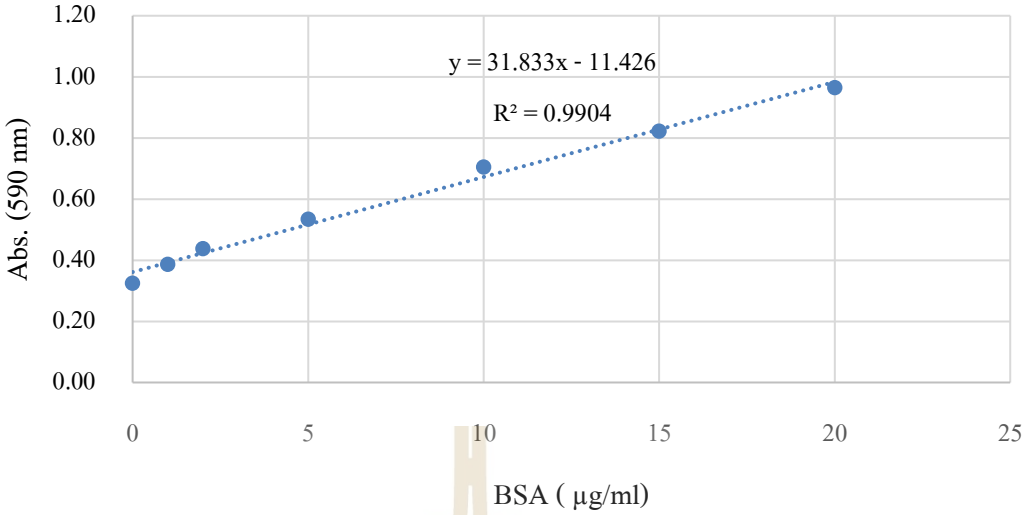
ดัดแปลงจาก Dhindsa *et al*., (1981)

1. เตรียม substrate mixture ซึ่งประกอบด้วย
   - 50 mM phosphate buffer pH 7.8
   - 13 mM methionine
   - 75 µM nitroblue tetrazolium (NBT)
   - 0.1 mM ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)
   - 2 µM riboflavin *ใส่เป็นสารตัวสุดท้าย
2. นำหลอดผสมสารละลายของปฏิกิริยา ไปวางไว้ที่มีแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 18 W เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดผสมสารละลายของปฏิกิริยา ไปไว้ในที่มืด

   กำหนดให้
   - หลอดผสมสารละลายของปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารละลายเอนไซม์และไม่ถูกแสงเป็นหลอดไม่เกิดปฏิกิริยาเป็น Blank
   - หลอดผสมสารละลายของปฏิกิริยาที่ไม่ได้ใส่สารละลายเอนไซม์สกัดเป็น Control
   - หลอดผสมสารละลายของปฏิกิริยาที่ใส่สารละลายเอนไซม์สกัดเป็น Sample
3. อ่านค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (1 หน่วยของเอนไซม์ (unit enzyme) เท่ากับ 50% ของค่า การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm ของหลอดควบคุม)

ตารางภาคผนวกที่ 2 อัตราส่วนการดูดสารสำหรับวิเคราะห์ Superoxide dismutase (SOD)

Blank	**Control**	**Sample**
50 µl extraction buffer	50 µl extraction buffer	12.5 µl clude extract
750 µl substrate mix	750 µl substrate mix	37.5 µl extraction buffer
		750 µl substrate
DARK	LIGHT	LIGHT



ภาพภาคผนวกที่ 1 กราฟโปรตีนมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้น	เวลา	พันธุ์	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
0	1	ห้วยบง 60	100.00 ± 0.00[/1]
		เกษตรศาสตร์ 50	100.00 ± 0.00
		ระยอง 72	100.00 ± 0.00
	2	ห้วยบง 60	100.00 ± 0.00
		เกษตรศาสตร์ 50	100.00 ± 0.00
		ระยอง 72	100.00 ± 0.00
0.03	1	ห้วยบง 60	51.67 ± 4.40
		เกษตรศาสตร์ 50	50.00 ± 2.89
		ระยอง 72	35.00 ± 12.58
	2	ห้วยบง 60	50.00 ± 5.00
		เกษตรศาสตร์ 50	40.00 ± 2.89
		ระยอง 72	35.00 ± 12.58
0.005	1	ห้วยบง 60	35.00 ± 5.00
		เกษตรศาสตร์ 50	45.00 ± 2.89
		ระยอง 72	30.00 ± 5.00
	2	ห้วยบง 60	15.00 ± 5.00
		เกษตรศาสตร์ 50	35.00 ± 5.77
		ระยอง 72	26.67 ± 6.00
0.1	1	ห้วยบง 60	0.00 ± 0.00
		เกษตรศาสตร์ 50	10.00 ± 2.89
		ระยอง 72	10.00 ± 0.00
	2	ห้วยบง 60	5.00 ± 0.00
		เกษตรศาสตร์ 50	0.00 ± 0.00
		ระยอง 72	0.00 ± 0.00

[/1]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง ที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วัน หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้น	เวลา	พันธุ์	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนข้อ	จำนวนใบ	จำนวนราก
0	1	ห้วยบง 60	6.60 ± 0.06[/1]	5.35 ± 1.11	5.00 ± 1.29	5.10 ± 0.46
		เกษตรศาสตร์ 50	6.63 ± 0.35	6.89 ± 1.01	6.00 ± 0.66	5.00 ± 0.44
		ระยอง 72	6.37 ± 0.38	6.83 ± 2.52	5.41 ± 1.28	5.23 ± 0.68
	2	ห้วยบง 60	6.70 ± 0.17	6.12 ± 1.42	5.67 ± 0.76	5.13 ± 0.35
		เกษตรศาสตร์ 50	6.70 ± 0.21	6.89 ± 0.77	6.22 ± 1.01	4.70 ± 0.10
		ระยอง 72	6.30 ± 0.06	6.67 ± 1.04	5.83 ± 1.04	5.20 ± 0.20
0.03	1	ห้วยบง 60	4.70 ± 0.06	10.00 ± 1.38	7.22 ± 0.69	2.70 ± 0.1
		เกษตรศาสตร์ 50	5.13 ± 0.26	9.37 ± 1.95	8.35 ± 1.27	3.03 ± 0.06
		ระยอง 72	4.28 ± 0.04	5.67 ± 0.88	4.00 ± 1.20	3.87 ± 0.76
	2	ห้วยบง 60	4.57 ± 0.49	11.33 ± 1.52	10.00 ±2.00	3.67 ± 0.15
		เกษตรศาสตร์ 50	4.77 ± 0.18	6.78 ± 0.69	5.55 ± 0.69	3.60± 0.26
		ระยอง 72	4.57 ± 0.16	10.00 ± 2.18	9.33 ± 1.88	4.27 ± 0.57
0.005	1	ห้วยบง 60	4.70 ± 0.06	8.00 ± 0.86	6.17 ± 1.04	3.00 ± 0.17
		เกษตรศาสตร์ 50	4.81 ± 0.08	9.28 ± 1.30	7.03 ± 1.37	3.27 ±1.10
		ระยอง 72	4.23 ± 0.37	6.70 ± 2.01	3.77 ± 0.25	3.20 ± 1.06
	2	ห้วยบง 60	4.37 ± 0.52	8.32 ± 0.96	6.67 ± 1.15	2.60 ± 0.10
		เกษตรศาสตร์ 50	4.69 ± 0.12	7.50 ± 3.07	7.33 ± 5.30	3.60 ± 0.26
		ระยอง 72	4.57 ± 0.16	8.06 ± 0.53	7.59 ± 1.03	3.23 ± 0.70
0.1	1	ห้วยบง 60	-	-	-	-
		เกษตรศาสตร์ 50	3.23 ± 0.72	3.00 ± 1.00	2.33 ± 1.08	1.17 ± 0.29
		ระยอง 72	2.80 ± 0.40	3.00 ± 1.73	1.00± 1.73	0.67 ± 0.58
	2	ห้วยบง 60	4.00 ± 0.57	2.33 ± 0.58	0.00 ± 0.00	1.67 ± 1.15
		เกษตรศาสตร์ 50	-	-	-	-
		ระยอง 72	-	-	-	-

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ที่อายุ 60 วันหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้น	เวลา	พันธุ์	ลำต้นเตี้ย	ข้อปล้องถี่	การเกิดรากลดลง
0	1	ห้วยบง 60	0.00 ± 0.06[/1]	5.35 ± 1.11	0.00 ± 1.29 c
		เกษตรศาสตร์ 50	6.63 ± 0.35	6.89 ± 1.01	5.00 ± 0.66 c
		ระยอง 72	6.37 ± 0.38	6.83 ± 2.52	0.00 ± 1.28 c
	2	ห้วยบง 60	0.00 ± 0.17	6.12 ± 1.42	0.67 ± 0.76 c
		เกษตรศาสตร์ 50	6.70 ± 0.21	6.89 ± 0.77	3.33± 1.01 c
		ระยอง 72	6.30 ± 0.06	6.67 ± 1.04	1.67 ± 1.04 c
0.03	1	ห้วยบง 60	42.56 ± 0.06	10.00 ± 1.38	22.03 ± 0.69 bc
		เกษตรศาสตร์ 50	5.13 ± 0.26	9.37 ± 1.95	23.84 ± 1.27 bc
		ระยอง 72	4.28 ± 0.04	5.67 ± 0.88	39.17± 1.20 bc
	2	ห้วยบง 60	27.77 ± 0.49	11.33 ± 1.52	18.89 ± 2.00 bc
		เกษตรศาสตร์ 50	4.77 ± 0.18	6.78 ± 0.69	37.60 ± 0.69 b
		ระยอง 72	4.57 ± 0.16	10.00 ± 2.18	44.44 ± 1.88 b
0.005	1	ห้วยบง 60	4.70 ± 0.06	8.00 ± 0.86	31.67 ± 5.83 bc
		เกษตรศาสตร์ 50	4.81 ± 0.08	9.28 ± 1.30	48.14 ± 1.85 b
		ระยอง 72	4.23 ± 0.37	6.70 ± 2.01	53.57 ± 7.23 b
	2	ห้วยบง 60	4.37 ± 0.52	8.32 ± 0.96	80.00 ± 8.10 ab
		เกษตรศาสตร์ 50	4.69 ± 0.12	7.50 ± 3.07	33.97 ± 3.31 bc
		ระยอง 72	4.57 ± 0.16	8.06 ± 0.53	37.30 ± 6.50 bc
0.1	1	ห้วยบง 60	-	-	-
		เกษตรศาสตร์ 50	3.23 ± 0.72	3.00 ± 1.00	72.22 ± 4.69 ab
		ระยอง 72	2.80 ± 0.40	3.00 ± 1.73	50.00 ± 0.00 b
	2	ห้วยบง 60	4.00 ± 0.57	2.33 ± 0.58	100.00 ± 0.00 a
		เกษตรศาสตร์ 50	-	-	-
		ระยอง 72	-	-	-

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบร่วงของมันสำปะหลัง 3พันธุ์ ในวันต่าง ๆ ต่อระดับความแห้งที่ได้รับจาก polyethylene glycol (PEG) 5 ระดับความเข้มข้น

ความเข้มข้น PEG (%)	พันธุ์	จำนวนใบร่วง				
		ระยะเวลา				
		5	7	9	11	13
0	ห้วยบง 60	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	เกษตรศาสตร์ 50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	ระยอง 72	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
5	ห้วยบง 60	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.67±0.57	1.67±1.15
	เกษตรศาสตร์ 50	0.33±0.57	0.67±0.15	0.67±1.15	0.67±1.15	1.00±1.73
	ระยอง 72	0.33±0.58	0.67±1.15	1.00±1.00	1.33±1.52	1.33±2.08
10	ห้วยบง 60	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.67±0.58	2.33±1.53
	เกษตรศาสตร์ 50	0.33±0.57	1.00±1.00	1.33±1.52	1.67±1.52	2.33±2.08
	ระยอง 72	0.00±0.00	0.00±0.00	1.00±1.00	2.33±0.58	2.67±0.58
15	ห้วยบง 60	0.00±0.00	0.67±0.58	0.67±0.58	1.67±1.52	3.67±0.58
	เกษตรศาสตร์ 50	0.67±0.58	1.67±1.52	1.67±1.52	2.33±2.08	3.00±2.65
	ระยอง 72	0.00±0.00	1.00±0.00	1.33±0.58	2.00±1.00	2.67±0.58
20	ห้วยบง 60	0.67±0.57	1.33±1.15	2.00±0.12	2.67±0.58	4.00±1.00
	เกษตรศาสตร์ 50	0.33±0.58	1.67±0.57	2.00±1.00	2.67±0.58	3.67±1.52
	ระยอง 72	0.00±0.00	1.33±0.58	2.00±0.81	3.00±0.15	3.67±0.58

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 7 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (%) ของมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในวันที่ 13 ต่อระดับความแห้งแล้งที่ได้รับจาก polyethylene glycol (PEG) 5 ระดับความเข้มข้น

ความเข้มข้น PEG (%)	สายพันธุ์มันสำปะหลัง	ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (%)
0	ห้วยบง 60	85.57 ± 2.05[/1]
	เกษตรศาสตร์ 50	87.21 ± 0.33
	ระยอง 72	86.03± 2.95
5	ห้วยบง 60	81.58 ± 0.30
	เกษตรศาสตร์ 50	83.17 ± 0.50
	ระยอง 72	84.08± 0.32
10	ห้วยบง 60	79.85 ± 0.23
	เกษตรศาสตร์ 50	82.20 ± 0.84
	ระยอง 72	82.14 ± 0.26
15	ห้วยบง 60	74.17 ± 0.45
	เกษตรศาสตร์ 50	81.00 ± 0.86
	ระยอง 72	81.19± 1.52
20	ห้วยบง 60 2n	71.66 ± 0.17
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	79.31 ± 1.75
	ระยอง 72 2n	78.23 ± 1.60

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 8 กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

PEG (%)	สายพันธุ์มันสำปะหลัง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CAT (U/mg protein)
0	ห้วยบง 2n	7.49 ± 0.65 f[/1]
	ห้วยบง 60 4n	13.48 ± 0.00 def
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	19.63 ± 0.71 bcd
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	24.67 ± 0.20 bc
	ระยอง 72 2n	10.88 ± 1.66 ef
	ระยอง 72 4n	26.65 ± 3.95 b
20	ห้วยบง 60 2n	14.28 ± 1.99 def
	ห้วยบง 60 4n	14.69 ± 1.73 def
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	17.15 ± 2.49 cde
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	12.87 ± 1.59 def
	ระยอง 72 2n	14.77 ± 5.62 def
	ระยอง 72 4n	36.32 ± 4.46 a

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 9 กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismustase (SOD) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

PEG (%)	สายพันธุ์มันสำปะหลัง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD (U/mg protein)
0	ห้วยบง 60 2n	5.31 ± 0.28[/1]
	ห้วยบง 60 4n	6.28 ± 0.01
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	4.27 ± 0.16
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	7.74 ± 1.39
	ระยอง 72 2n	4.88 ± 0.47
	ระยอง 72 4n	6.67 ± 0.87
20	ห้วยบง 60 2n	1.13 ± 0.65
	ห้วยบง 60 4n	6.66 ± 0.12
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	3.99 ± 0.14
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	6.48 ± 0.09
	ระยอง 72 2n	5.01 ± 0.22
	ระยอง 72 4n	6.80 ± 0.97

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

PEG (%)	สายพันธุ์มันสำปะหลัง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ APX (U/mg protein)
0	ห้วยบง 60 2n	1.19 ± 0.29 bc[/1]
	ห้วยบง 60 4n	0.11 ± 0.13 d
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	0.09 ± 0.14 d
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	1.88 ± 0.69 a
	ระยอง 72 2n	0.08 ± 0.01 d
	ระยอง 72 4n	0.65 ± 0.06 cd
20	ห้วยบง 60 2n	0.67 ± 0.30 cd
	ห้วยบง 60 4n	0.51 ± 0.18 cd
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	1.46 ± 0.31 bc
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	2.11 ± 0.75 a
	ระยอง 72 2n	0.52 ± 0.45 cd
	ระยอง 72 4n	2.66 ± 0.32 a

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 11 กิจกรรมของเอนไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX) ของมันสำปะหลัง 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ในวันที่ 7 หลังได้รับ polyethylene glycol (PEG) 2 ระดับความเข้มข้น

PEG (%)	สายพันธุ์มันสำปะหลัง	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ GPX (U/mg protein)
0	ห้วยบง 60 2n	0.06 ± 0.02[/1]
	ห้วยบง 60 4n	0.17 ± 0.01
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	0.13 ± 0.02
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	0.22 ± 0.03
	ระยอง 72 2n	0.10 ± 0.01
	ระยอง 72 4n	0.12 ± 0.06
20	ห้วยบง 60 2n	0.13 ± 0.01
	ห้วยบง 60 4n	0.17 ± 0.01
	เกษตรศาสตร์ 50 2n	0.14 ± 0.01
	เกษตรศาสตร์ 50 4n	0.18 ± 0.02
	ระยอง 72 2n	0.17 ± 0.01
	ระยอง 72 4n	0.25 ± 0.02

[/1] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้งที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกัญชลิดา ศิลานันท์ เกิดเมื่อวันที่ 24 กรกฎาคม พ.ศ. 2536 ณ จังหวัดนครราชสีมา ได้เข้าศึกษาในระดับปริญญาตรี ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยี การเกษตร โดยได้สำเร็จการศึกษาในปี 2558 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิตศึกษา หลักสูตรสาขาวิชาพืชศาสตร์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ขณะที่ศึกษาได้รับทุนการศึกษาแก่นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาที่คณาจารย์ได้รับทุนวิจัยจากแหล่งทุนภาย (OROG) พร้อมทั้งเป็นผู้ช่วยสอนและผู้ช่วยวิจัย สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี