

การประเมินการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้าน้ำสำหรับปลูกพืชเลี้ยง ในสภาพปลอดเชื้อต่อระดับไนโตรเจนที่แตกต่างกัน Evaluation of Growth and Development of Cassava Plantlets Cultured in vitro Affected by Different Nitrogen Levels

ประภาพรณ ยังสุขยิ่ง^{1,2} วิจารย์ วิชชุกิจ^{3,4} ภาณุพงษ์ คงจิวิ^{3,4} จักรกฤษณ์ ศรีแสง^{3,4}
และ สุตเขตต์ นาคะเสถียร^{1,2,3,4,*}

Prapapuny Youngsukyong^{1,2}, Vichan Vichukit^{3,4}, Phanuphong Khongchiu^{3,4},
Jakkrit SreeSaeng^{3,4} and Sutkhet Nakasathien^{1,2,3,4,*}

¹ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการ
การอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

³ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

⁴ ศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร สถาบันวิทยาการขั้นสูงแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 10900

¹ Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

² Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900

³ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

⁴ Center for Advanced Studies for Agriculture and Food, Kasetsart University Institute for Advanced Studies, Kasetsart
University, Bangkok 10900

รับเรื่อง: 20 กรกฎาคม 2558

Received: 20 July 2015

ปรับแก้ไข: 7 สิงหาคม 2558

Revised: 7 August 2015

รับตีพิมพ์: 13 ธันวาคม 2558

Accepted: 13 December 2015

* Corresponding author: agrskn@ku.ac.th

ABSTRACT: The objective of this experiment was to evaluate the cassava plantlet culture system as a tool to obtain the plantlets under the environmental control that will be further used for studying the nutrient uptake genes and genes that may involve. Three cassava varieties (*Manihot esculenta* Crantz) namely Huaybong 80 (HB80), Kasetsart 50 (KU50) and Rayong 1 (R1) were cultured in MS (Murashige and Skoog, 1962) medium with 5 varied levels of ammonium nitrate (NH_4NO_3) (0, 10.3, 20.6, 30.9 and 41.2 mM, respectively). Growth and development of plantlet were monitored at 30, 35, 40, 45, 50 and 55 days after culture. Chlorophyll content, fresh weight, dry weight of root, leaf, stem and total fresh and dry weight were measured. The TDW of each variety was maximum at 45 days after culture with 41.2 mM NH_4NO_3 added to the culture medium. HB80 showed greater growth and development in overall when compared to those of KU50 and R1. The TDW of HB80 was statistically higher than those of KU50 and R1 by 9.64% and 1.98% respectively. This was the consequence of greater leaf number, leaf length, stem length, root number and root length of HB80 than the other two. Moreover, the chlorophyll content of HB80 was significantly highest among 3 tested varieties. When compared among the N treatments, it was found that the media containing 41.2 mM NH_4NO_3 (N4) resulted on better

growth and development in cassava plantlets in every stages of harvest. The plantlet culture system can be adopted for further use for studying the gene expression affected by different levels of nutrient applications.

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz, chlorophyll content, biomass, ammonium nitrate

Agricultural Sci. J. (2020) Vol. 51(1): 80–90

ว. วิทย. กษ. (2563) 51(1): 80–90

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังเพื่อเป็นเครื่องมือในการผลิตกล้าพืชภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อนำไปใช้ศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมธาตุอาหารและยีนที่เกี่ยวข้องอื่นๆ โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ได้แก่ หัวยง 80 (HB80), เกษตรศาสตร์ 50 (KU50) และ ระยอง 1 (R1) ในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) 5 ระดับ คือ 0, 10.3, 20.6, 30.9 และ 41.2 mM โดยเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นอ่อน ที่ 30, 35, 40, 45, 50 และ 55 วันหลังเพาะเลี้ยง วัดค่าดัชนีความเขียว น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และมวลชีวภาพของใบ ต้น ราก น้ำหนักสดและแห้งรวม พบว่า น้ำหนักแห้งรวมทั้งหมด ของแต่ละพันธุ์มีค่าสูงสุด ที่ 45 วันหลังเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมแอมโมเนียมไนเตรท 41.2 mM HB80 มีการเจริญเติบโตและการพัฒนาโดยรวมสูงกว่า KU50 และ R1 โดย HB80 มีน้ำหนักแห้งรวมทั้งหมด (TDW) สูงกว่า KU50 และ R1 อยู่ร้อยละ 9.64 และ 1.98 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก HB80 มีจำนวนใบ จำนวนราก ความยาวใบ ต้น และราก มากกว่าอีก 2 พันธุ์ นอกจากนี้ พบว่าดัชนีความเขียวของ HB80 มีค่าสูงที่สุดในระหว่าง 3 พันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณแอมโมเนียมไนเตรท พบว่า อาหารที่เติมแอมโมเนียมไนเตรท 41.2 mM ให้ผลการเจริญเติบโตและการพัฒนาดีในทุกระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงมันสำปะหลัง ซึ่งสามารถนำไปปรับใช้เพื่อการ

เพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันสำปะหลังสำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีนเนื่องจากอิทธิพลของธาตุอาหารได้

คำสำคัญ : *Manihot esculenta* Crantz, ปริมาณคลอโรฟิลล์, ชีวมวล, แอมโมเนียมไนเตรท

บทนำ

ความต้องการมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นทั้งในอุตสาหกรรมแปรรูปและอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลของประเทศไทย ส่งผลให้ต้องหาแนวทางในการเพิ่มผลิตภาพของมันสำปะหลังในหลากหลายแนวทาง ซึ่งสามารถทำได้โดยการปรับปรุงพันธุ์ การศึกษาพัฒนาระบบการทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และเทคนิคอื่น ๆ เป็นเครื่องมือหนึ่งที่จะปูทางไปสู่ความสำเร็จในการเข้าใจกลไกทางสรีรวิทยาบางอย่างของพืช คือการใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อป้องกันปัจจัยที่ไม่พึงประสงค์ ซึ่งวิธีนี้จะทำให้การศึกษาวิจัยมีความแม่นยำมากขึ้น การศึกษารังนี้เน้นพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของมันสำปะหลัง

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืช พืชจะนำไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์ได้ในรูปของไนเตรทไอออน (NO_3^-), แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) และยูเรีย ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีการเคลื่อนย้ายหมุนเวียนระหว่างบรรยากาศดิน และสิ่งมีชีวิต แหล่งใหญ่ของไนโตรเจนถูกดูดใช้โดยรากพืชชั้นสูงในรูปไนเตรท และแอมโมเนียม โดย

แอมโมเนียมจะรวมตัวเป็นสารประกอบอินทรีย์ในราก ในขณะที่การเคลื่อนย้ายเกิดในไซเลม และจะสะสมใน แวคิวโอลของราก ยอด และอวัยวะที่ใช้สะสมอาหาร (Marschner, 1995)

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของโปรตีน (องค์ประกอบของโครงสร้างไซโตพลาสซึม เมมเบรน และ เอนไซม์) กรดอะมิโน ฮอร์โมนพืช (ออกซิน และ ไซโตไคนิน) กรดนิวคลีอิก และสารประกอบไนโตรเจนอื่น (อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต; ATP และ โคเอนไซม์) รวมถึง แอลคาลอยด์ (สารประกอบไนโตรเจนสำรอง เพื่อเป็น สารประกอบป้องกัน) ปริมาณไนโตรเจนที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตปกติของพืชอยู่ระหว่าง ร้อยละ 2-5 ของน้ำหนักแห้งของพืช ถ้าพืชขาดไนโตรเจนจะทำให้ ปริมาณโปรตีนลดลง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ลดลง และเกิดใบร่วงในใบแก่ (Mengel and Kirkby, 2001)

งานวิจัยในมันสำปะหลังเพื่อให้ได้ผลผลิต สูงสุด (Yield maximization) เป็นสิ่งที่นักวิจัยต่างมุ่งเน้น การรวมความรู้ทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และชีวโมเลกุล เพื่อพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ให้เข้าใจถึงการตอบสนอง ทางสรีรวิทยา และการควบคุมการดูดซึมธาตุอาหาร เพื่อนำไปสู่การพัฒนาสายพันธุ์มันสำปะหลังที่ดี ซึ่ง ถือว่าเป็นความท้าทายในปัจจุบัน โดยเฉพาะงานวิจัย ทางด้านฟิโนไทป์ โดยศึกษาทางสรีรวิทยา และชีวเคมี ในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่นำไปสู่การวิจัยในระดับชีวโมเลกุลต่อไป

การปรับปรุงผลผลิตโดยมุ่งเน้นให้พืชสามารถใช้ธาตุอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นเป้าหมายหลัก ทั้งนี้เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมธาตุอาหารในมันสำปะหลังระหว่างการพัฒนาการเจริญเติบโต เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สำคัญในการควบคุมทั้ง คุณภาพ และปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลัง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและ พัฒนาของต้นอ่อนมันสำปะหลังต่อระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทที่ในระหว่างช่วงการพัฒนาที่ แตกต่างกันภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ข้อมูลที่ได้จากการ

ศึกษาครั้งนี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับ โปรแกรมปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง เพื่อปรับปรุง ผลผลิตมันสำปะหลังให้ได้ผลผลิตสูงและมีแป้งที่มี คุณภาพดีขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) 3 พันธุ์ ได้แก่ หัวยาง 80 (HB80), เกษตรศาสตร์ 50 (KU50) และ ระยะเวลา 1 (R1) โดยใช้ตาข้าง (bud) จากต้นมันสำปะหลังในสภาวะปลอดเชื้อ ในอาหาร เพาะเลี้ยงสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมไนเตรท 5 ระดับ คือ 0, 10.3, 20.6, 30.9 และ 41.2 มิลลิโมล (N0, N1, N2, N3 และ N4 ตามลำดับ) เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและ พัฒนาการที่ 30, 35, 40, 45, 50 และ 55 วันหลังเพาะเลี้ยง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง

ใช้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้ ช่วงแสง 16 ชั่วโมง ความเข้มแสง $40 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (2000 ลักซ์) โดยให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

การวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และสัดส่วนการสะสม น้ำหนัก

ล้างต้นมันสำปะหลังให้สะอาดและซับให้แห้ง แยกใบ ต้น และราก ชั่งน้ำหนัก วัดความยาว และ จำนวนของแต่ละส่วน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนกระทั่ง น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักแห้งของใบ ต้น และราก และ คำนวณสัดส่วนเป็นเปอร์เซ็นต์ เพื่อดูการสะสมน้ำหนักแห้งในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง (Smethurst and Shabala, 2003)

ปริมาณคลอโรฟิลล์

วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในระหว่างการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องทุก ๆ 5 วัน เริ่มจากวันที่ 30 จนถึงวันที่ 55 หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบ โดยใช้ใบที่โตเต็มที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 มิลลิเมตร จำนวน 2 ชิ้น ใส่ในสาร N, N-Dimethylformamide (DMF) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนกระทั่งใบเปลี่ยนเป็นสีขาว นำสารสกัดที่ได้มาวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Chl a) และ คลอโรฟิลล์บี (Chl b) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 647 และ 664 นาโนเมตร ตามลำดับ ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคำนวณสัดส่วนระหว่าง Chl a และ Chl b (Arnon, 1949)

ความยาวใบ ต้น ราก จำนวนใบ และจำนวนราก

วัดความยาวใบและราก โดยวัดจากฐานถึงปลายของใบและราก ส่วนความยาวต้น วัดจากโคนต้น

ส่วนล่างสุดถึงยอดอ่อน นับจำนวนใบและจำนวนรากต่อต้น

ผลการทดลองและวิจารณ์

น้ำหนักสดรวมทั้งหมด (Total fresh weight; TFW)

น้ำหนักสดของใบ ต้น ราก และน้ำหนักสดรวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์ และมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดย HB80 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งหมดสูงกว่า KU50 และ R1 ซึ่งค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งหมดของทุกพันธุ์จะสูงสุด ที่ 45 วันหลังเพาะเลี้ยง และสูงสุดในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 (Figure 1)

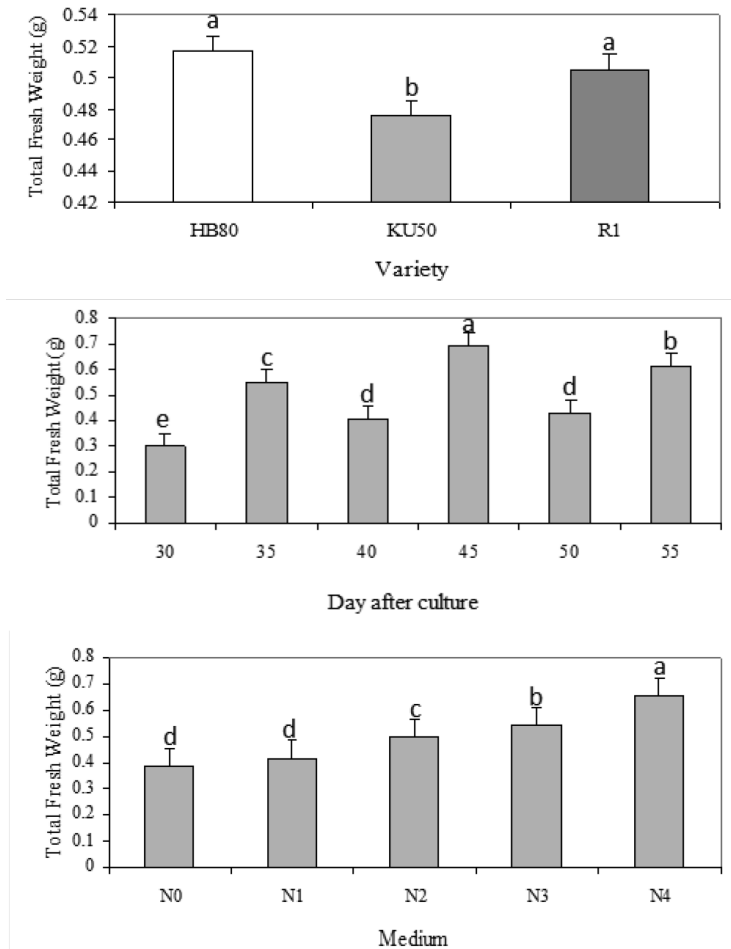


Figure 1 The effects of varieties, culture period and ammonium nitrate concentration on the total fresh weight (TFW) of cassava cultured in MS medium with five levels of ammonium nitrate (0, 10.3, 20.6, 30.9 and 41.2 mM). Physiological parameters were collected at 30, 35, 40, 45 and 55 days after culture.

Different lowercase letters on bars for different treatments are significantly different ($P < 0.05$).

น้ำหนักแห้งรวมทั้งหมด (Total dry weight; TDW)

น้ำหนักแห้งของใบ ต้น ราก และน้ำหนักแห้งรวม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างพันธุ์ ระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในสูตรอาหารเพาะเลี้ยง โดยค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมของ HB80 และ R1 สูงกว่า KU50 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมทั้งหมดของมันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ จะสูงสุด ที่ 45 วันหลังเพาะเลี้ยง และสูงสุดใน

อาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 (Figure 2) สอดคล้องกับ Sadiu และ Chattopadhyay (2002) ที่รายงานว่า ในข้าวสาลี ที่ได้รับไนเตรทจะมีความสูง และพื้นที่ใบเพิ่มขึ้น มีจำนวนใบ น้ำหนักแห้ง ความยาวราก เปอร์เซ็นต์ความชื้นในต้นและใบสูงขึ้น ข้อมูลการเก็บเกี่ยวแสดงให้เห็นว่า ผลผลิตสูงกว่าภายใต้อิทธิพลของไนโตรเจนในรูปไนเตรท เนื่องจากช่อดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น จำนวนช่อดอกย่อย จำนวนเมล็ด และน้ำหนักเมล็ดสูงขึ้น

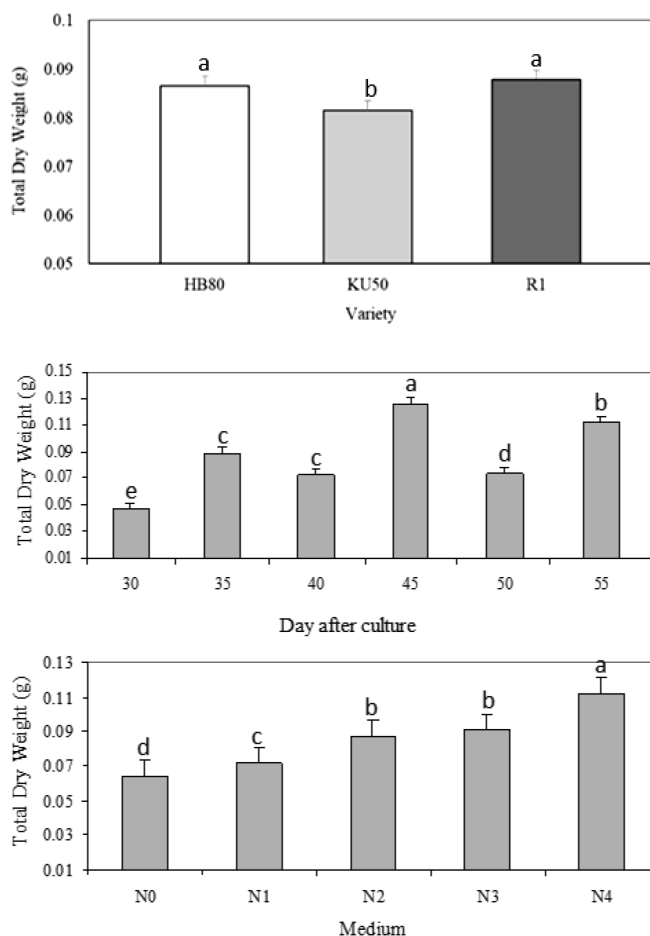


Figure 2 The effect of varieties, culture period and ammonium nitrate concentration on the total dry weight (TDW) of cassava cultured in MS medium with five levels of ammonium nitrate (0, 10.3, 20.6, 30.9 and 41.2 mM). Physiological parameters were collected at 30, 35, 40, 45 and 55 days after culture.

Different lowercase letters on bars for different treatments are significantly different ($P < 0.05$).

ปริมาณคลอโรฟิลล์

ปริมาณคลอโรฟิลล์เป็นพารามิเตอร์ที่ใช้พิจารณาประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของพืช ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในสูตรอาหารเพาะเลี้ยง มีอิทธิพลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์อย่างมาก ค่าคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวม มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์ ระยะเวลาเพาะ

เลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ค่าปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยของ HB80 มีค่าสูงสุด รองลงมา คือ R1 และ KU50 ตามลำดับ ค่าคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 30 จนถึง 55 วันหลังเพาะเลี้ยง และพบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 ให้ค่าคลอโรฟิลล์สูงสุดเช่นกัน (Figure 3) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Sadiu and Chattopadhyay (2002)

ที่รายงานว่า ข้าวสาลีที่ให้แอมโมเนียมจะมีความเขียวมากกว่า เนื่องจากความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในใบที่สูงกว่า และความเข้มข้นของแมกนีเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัส ในใบที่สูงกว่าซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ที่สูงขึ้น ค่าคลอโรฟิลล์ต่ำสุด พบได้ใน

มันสำปะหลังที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N0 และพบอาการคลอโรซิสเล็กน้อยในพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 นอกจากนี้ จำนวนใบของพืชในทุกพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 มีน้อยกว่าในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N3 ซึ่งมีสาเหตุมาจากการใบร่วง

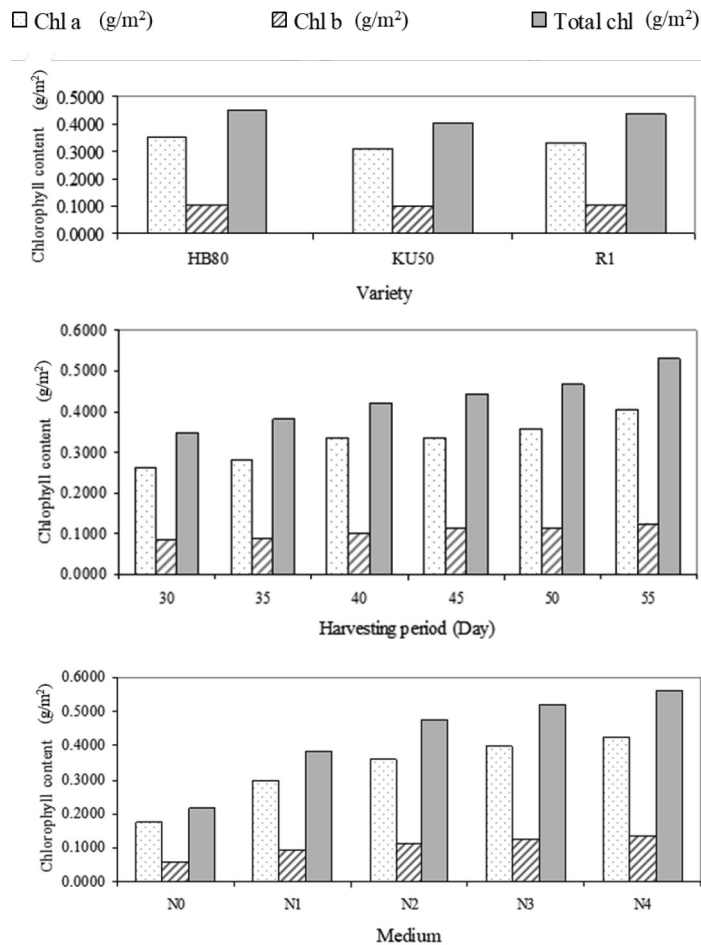


Figure 3 The effect of varieties, culture period and ammonium nitrate concentration on the chlorophyll content of cassava cultured in MS medium with five levels of ammonium nitrate (0, 10.3, 20.6, 30.9 and 41.2 mM). Physiological parameters were collected at 30, 35, 40, 45 and 55 days after culture.

ความยาวใบ ต้น และราก

ความยาวใบ ต้น และรากมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง HB80 มีค่าเฉลี่ยความยาวใบ ต้น และรากสูงกว่า R1 และ KU50 ค่าเฉลี่ยความยาวใบ ต้น และรากของทุกพันธุ์สูงสุด ที่ 55 วันหลังเพาะเลี้ยง และมีค่าสูงสุดในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 (Table 1) นอกจากนี้ ค่าเฉลี่ยความยาวต้น มีความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนความยาวใบมีความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ ระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

จำนวนใบและราก

จำนวนใบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์ ระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่ง HB80 มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบสูงกว่า KU50 แต่ไม่แตกต่างกับ R1 ส่วนจำนวนราก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่า จำนวนรากสูงสุด ที่ 45 วันหลังเพาะเลี้ยง และอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 (Table 1) มันสำปะหลังที่ได้รับแอมโมเนียมไนเตรทจะมีความสูง และพื้นที่ใบเพิ่มขึ้น มีจำนวนใบ น้ำหนักแห้ง ความยาวราก เปอร์เซ็นต์ความชื้นในต้นและใบ (Sadiu and Chattopadhyay, 2002) นอกจากนี้จำนวนรากมีความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาเพาะเลี้ยง และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

Table 1 Average leaf, stem and root length, leaf and fibrous root number comparing among 3 cassava varieties at different culture periods and under MS media with different ammonium nitrate concentrations

Factor	Leaf length (cm)	Stem length (cm)	Root length (cm)	Number of leaves	Number of Fibrous root
Varieties (V)					
HB80	2.73	5.38	8.89	4.26 ^a	5.48
KU50	2.65	5.08	8.76	3.99 ^b	5.41
R1	2.67	5.30	8.60	4.23 ^{ab}	5.49
F-Test	ns	ns	ns	**	ns
Culture periods (H)					
Day 30	2.29 ^d	4.59 ^c	8.63 ^c	3.71 ^c	4.91 ^c
Day 35	2.56 ^c	3.79 ^d	7.19 ^d	4.24 ^{ab}	5.29 ^c
Day 40	2.64 ^c	4.62 ^c	7.26 ^d	3.96 ^{bc}	5.38 ^b
Day 45	2.64 ^c	4.74 ^c	9.54 ^b	4.47 ^a	6.02 ^a
Day 50	2.77 ^b	6.43 ^b	8.23 ^c	4.11 ^{ab}	5.58 ^b
Day 55	3.20 ^a	7.36 ^a	11.65 ^a	4.47 ^a	5.58 ^b

Table 1 Continued.

Factor	Leaf length (cm)	Stem length (cm)	Root length (cm)	Number of leaves	Number of Fibrous root
F-Test	**	**	**	**	**
V x H	ns	ns	ns	ns	ns
The concentrations of ammonium nitrate in MS media (M)					
N0	2.57 ^c	4.74 ^c	7.87 ^c	3.78 ^c	5.11 ^c
N1	2.61 ^{bc}	4.94 ^{bc}	7.68 ^c	3.98 ^c	5.20 ^{bc}
N2	2.67 ^{bc}	5.36 ^b	9.06 ^c	4.37 ^{ab}	5.57 ^{ab}
N3	2.69 ^b	5.29 ^b	9.17 ^b	4.09 ^{bc}	5.65 ^a
N4	2.87 ^a	5.95 ^a	9.99 ^a	4.57 ^a	5.76 ^a
F-Test	**	**	**	**	**
V x M	ns	ns	ns	ns	ns
H x M	**	**	ns	ns	**
V x H x M	**	ns	ns	ns	ns
CV	10.66	24.04	18.81	11.20	19.34

Note Within column, means followed by the same letter are not significantly difference (DMRT)

*, ** = difference significantly at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

สัดส่วนน้ำหนักแห้งของชิ้นส่วนพืช

สัดส่วนน้ำหนักแห้งของใบ ต้น และราก ของ กลามีนสำหรับทั้ง 3 พันธุ์ วัดจากน้ำหนักแห้งของทุกส่วน คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่า HB80 มีสัดส่วนน้ำหนักแห้ง เป็นร้อยละ 41, 20 และ 39 ตามลำดับ KU50 เป็นร้อยละ 39, 20 และ 41 ตามลำดับ และ R1 เป็นร้อยละ 40, 20 และ 40 ตามลำดับ (Figure 4) จากการสังเกต ภายได้สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ใบและรากเป็น 2 ส่วนหลักที่มีการสะสมน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน ซึ่ง เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของพืชที่เป็นหลักใหญ่ของความ สัมพันธ์ระหว่างการสร้าง และการสะสมอาหารในมัน สำหรับ

สัดส่วนระหว่างแอมโมเนียมและไนเตรทมีนัย สำคัญมาก และมีผลกระทบต่อทั้งพืชและดินหรือ อาหารเพาะเลี้ยง ความต้องการไนโตรเจนมีความ จำเพาะกับพืชแต่ละชนิดซึ่งมีการอธิบายในงานวิจัย มากมายว่ามีความเกี่ยวข้องกับระบบการเพาะเลี้ยง และสัดส่วนของแอมโมเนียมไอออน ต่อไนเตรทไอออน ($\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$) เป็นสิ่งสำคัญทั้งต่อสภาพ pH และส่งผล ต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอื่น ๆ (Bellini *et al.*, 1990; Selby and Harvey, 1990; Nakasathien *et al.*, 2000)

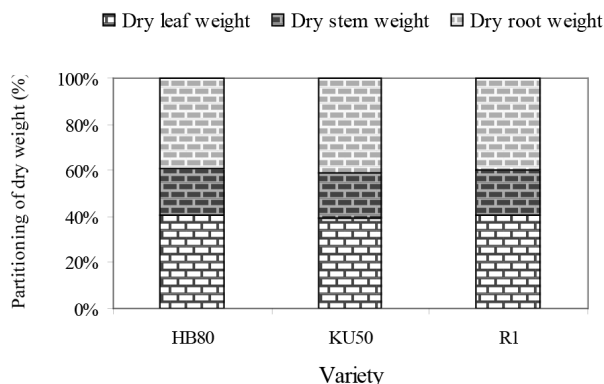


Figure 4 Partitioning percentage of dry weight in leaf, stem and root of three cassava varieties (HB80, KU50 and R1)

สรุป

มันสำปะหลัง HB80 ให้น้ำหนักสดรวมทั้งหมดของพืชทั้งต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จำนวนใบ ความยาวใบ ความยาวต้น และความยาวราก สูงกว่า R1 และ KU50 ตามลำดับ น้ำหนักสดรวม น้ำหนักแห้งรวม จำนวนใบ และจำนวนราก มีค่าสูงสุดและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ 45 วัน หลังเพาะเลี้ยง ขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ความยาวใบ ความยาวต้น และความยาวรากมีค่าสูงสุด ที่ 55 วันหลังเพาะเลี้ยง และอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 ส่งผลให้ทุกพารามิเตอร์มีค่าสูงสุดในทั้ง 3 พันธุ์ ผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของการการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนมันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ต่อระดับแอมโมเนียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานของการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ต่อระดับแอมโมเนียมไนเตรทที่ต่างกัน ซึ่งในโตรเจนมีการพิสูจน์แล้วว่าส่งผลต่อต้นอ่อน และผลผลิตของมันสำปะหลัง ข้อมูลจากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถใช้เพื่อ

หาพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหาร (Nutrient use efficiency; NUE) ได้ ในอนาคตเพื่อให้เข้าใจถึงการตอบสนองทางสรีรวิทยาและพันธุกรรมของมันสำปะหลังเพิ่มมากขึ้นสามารถศึกษาการแสดงออกของยีนที่มีต่อระดับแอมโมเนียมไนเตรท เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารสูง นำไปสู่การเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ผลผลิตพันธุ์ที่มีปริมาณแป้งและผลผลิตที่สูงขึ้น ใช้สำหรับโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิต ศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และภาควิชาชีพไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1–15.
- Bellini, C., M.C. Chupeau, M. Gervais, G. Vastra and Y. Chupeau. 1990. Importance of myo-inositol, calcium, and ammonium for the viability and division of tomato (*Lycopersicon esculentum*) protoplasts. Plant Cell Tissue Organ Cult. 23(1): 27–37.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plant. 2nd Edition. Academic Press, New York, USA.
- Mengel, K. and E.A. Kirkby. 2001. Principles of Plant Nutrition. 5th Edition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473–497.
- Nakasathien, S., D.W. Israel, R.F. Wilson and P. Kwanyuen. 2000. Regulation of seed protein concentration in soybean by supra-Optimal nitrogen supply. Crop Sci. 40: 1277–1284.
- Sadiu, T.K. and N.C. Chattopadhyay. 2002. Effect of ammonium and nitrate nutrition on growth, yield, nutrient uptake and leaf chlorophyll content of wheat. Indian J. Plant Physiol. 7: 305–308.
- Sajeev, M.S., R. Kailappan, V.V. Sreenarayanan and K. Thangavel. 2002. Kinetics of gravity setting of cassava starch in its aqueous suspension. Biosystems Engineering 83(3): 327–337.
- Selby, C. and B.M.R. Harvey. 1990. The Influence of Composition of the Basal Medium on the Growth and Morphogenesis of Cultured Sitka Spruce (*Picea sitchensis*) Tissues. Ann.Bot. 65(4): 395–407.
- Smethurst, C.F. and S. Shabala. 2003. Screening methods for waterlogging tolerance in Lucerne: comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. Funct. Plant Biol. 30: 335–343.
- Sriroth, K., K. Piyachomkwam, V. Santisopasri and C.G. Oates. 2001. Environmental conditions during root development: drought constraints on cassava starch quality. Euphytica. 120: 95–101.