

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

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

Prapapuny Youngsukyng^{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 สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา 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): 79–89

ว. วิทย. กษ. (2563) 51(1): 79–89

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังเพื่อเป็นเครื่องมือในการผลิตกล้าพืชภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อนำไปใช้ศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมธาตุอาหารและยีนที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ได้แก่ หัวยอบ 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 วัดค่าดัชนีความเขียวน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และมวลชีวภาพของใบ ต้นราก 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 มีจำนวนใบจำนวนราก ความยาวใบ ต้น และราก มากกว่าอีก 2 พันธุ์ นอกจากนี้ พบว่า ดัชนีความเขียของ HB80 มีค่าสูงที่สุดในระหว่าง 3 พันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างปริมาณแอมโมเนียมไนเตรทพบว่า อาหารที่เติมแอมโมเนียมไนเตรท 41.2 mM ให้ผลการเจริญเติบโตและการพัฒนาดีในทุกระยะเวลาที่

เพาะเลี้ยงมันสำปะหลัง ซึ่งสามารถนำไปปรับใช้เพื่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันสำปะหลังสำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีนเนื่องจากอิทธิพลของธาตุอาหารได้

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

บทนำ

ความต้องการมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นทั้งในอุตสาหกรรมแป้งและอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลของประเทศไทย ส่งผลให้ต้องหาแนวทางในการเพิ่มผลิตภาพของมันสำปะหลังในหลากหลายแนวทาง ซึ่งสามารถทำได้โดยการปรับปรุงพันธุ์ การศึกษาพัฒนากระบวนการทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และเทคนิคอื่น ๆ เป็นเครื่องมือหนึ่งที่จะปูทางไปสู่ความสำเร็จในการเข้าใจกลไกทางสรีรวิทยาบางอย่างของพืช คือการใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อป้องกันปัจจัยที่ไม่พึงประสงค์ ซึ่งวิธีนี้จะทำให้การศึกษาวิจัยมีความแม่นยำมากขึ้น การศึกษาครั้งนี้เน้นพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของมันสำปะหลัง

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืช พืชจะนำไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์ได้ในรูปของไนเตรทไอออน (NO_3^-), แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) และยูเรีย ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีการเคลื่อนย้ายหมุนเวียนระหว่างบรรยากาศ

ดิน และสิ่งมีชีวิต แหล่งใหญ่ของไนโตรเจนถูกดูใช้โดยรากพืชชั้นสูงในรูปไนเตรท และแอมโมเนียม โดยแอมโมเนียมจะรวมตัวเป็นสารประกอบอินทรีย์ในราก ในขณะที่การเคลื่อนย้ายเกิดในไซเลม และจะสะสมในแวคคิวโอลของราก ยอด และอวัยวะที่ใช้สะสมอาหาร (Marschner, 1995)

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของโปรตีน (องค์ประกอบของโครงสร้างไซโตพลาสซึม เมมเบรน และเอนไซม์) กรดอะมิโน ฮอร์โมนพืช (ออกซิน และ ไซโตไคนิน) กรดนิวคลีอิก และสารประกอบไนโตรเจนอื่น (อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต; ATP และ โคเอนไซม์) รวมถึงแอลคาลอยด์ (สารประกอบไนโตรเจนสำรอง เพื่อเป็นสารประกอบป้องกัน) ปริมาณไนโตรเจนที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตปกติของพืชอยู่ระหว่าง ร้อยละ 2-5 ของน้ำหนักแห้งของพืช ถ้าพืชขาดไนโตรเจนจะทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ลดลง และเกิดใบร่วงในใบแก่ (Mengel and Kirkby, 2001)

งานวิจัยในมันสำปะหลังเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุด (Yield maximization) เป็นสิ่งที่นักวิจัยต่างมุ่งเน้น การรวมความรู้ทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และชีวโมเลกุล เพื่อพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ให้เข้าใจถึงการตอบสนองทางสรีรวิทยา และการควบคุมการดูดซึมธาตุอาหาร เพื่อนำไปสู่การพัฒนาสายพันธุ์มันสำปะหลังที่ดี ซึ่งถือว่าเป็นความท้าทายในปัจจุบัน โดยเฉพาะงานวิจัยทางด้านฟิโนไทป์ โดยศึกษาทางสรีรวิทยา และชีวเคมี ในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่นำไปสู่การวิจัยในระดับชีวโมเลกุลต่อไป

การปรับปรุงผลผลิตโดยมุ่งเน้นให้พืชสามารถใช้ธาตุอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นเป้าหมายหลัก ทั้งนี้เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมธาตุอาหารในมันสำปะหลังระหว่างการพัฒนาการเจริญเติบโต เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สำคัญในการควบคุมทั้งคุณภาพ และปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลัง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนมันสำปะหลังต่อระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทที่ในระหว่างช่วงการพัฒนาที่

แตกต่างกันภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับโปรแกรมปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง เพื่อปรับปรุงผลผลิตมันสำปะหลังให้ได้ผลผลิตสูงและมีแป้งที่มีคุณภาพดีขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) 3 พันธุ์ ได้แก่ หัวยง 80 (HB80), เกษตรศาสตร์ 50 (KU50) และ ระยอง 1 (R1) โดยใช้ตาข้าง (bud) จากต้นมันสำปะหลังในสภาวะปลอดเชื้อ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร 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) เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและพัฒนาการที่ 30, 35, 40, 45, 50 และ 55 วันหลังเพาะเลี้ยง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ

สภาวะในการเพาะเลี้ยง

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

การวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และสัดส่วนการสะสมน้ำหนัก

ล้างต้นมันสำปะหลังให้สะอาดและซับให้แห้ง แยกใบ ต้น และราก ชั่งน้ำหนัก วัดความยาว และจำนวนของแต่ละส่วน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักแห้งของใบ ต้น และราก และคำนวณสัดส่วนเป็นเปอร์เซ็นต์ 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 วัดจากโคนต้นส่วนล่างสุดถึงยอดอ่อน นับจำนวนใบและจำนวนรากต่อต้น

ผลการทดลองและวิจารณ์

น้ำหนักสดรวมทั้งหมด (Total fresh weight; TFW)

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

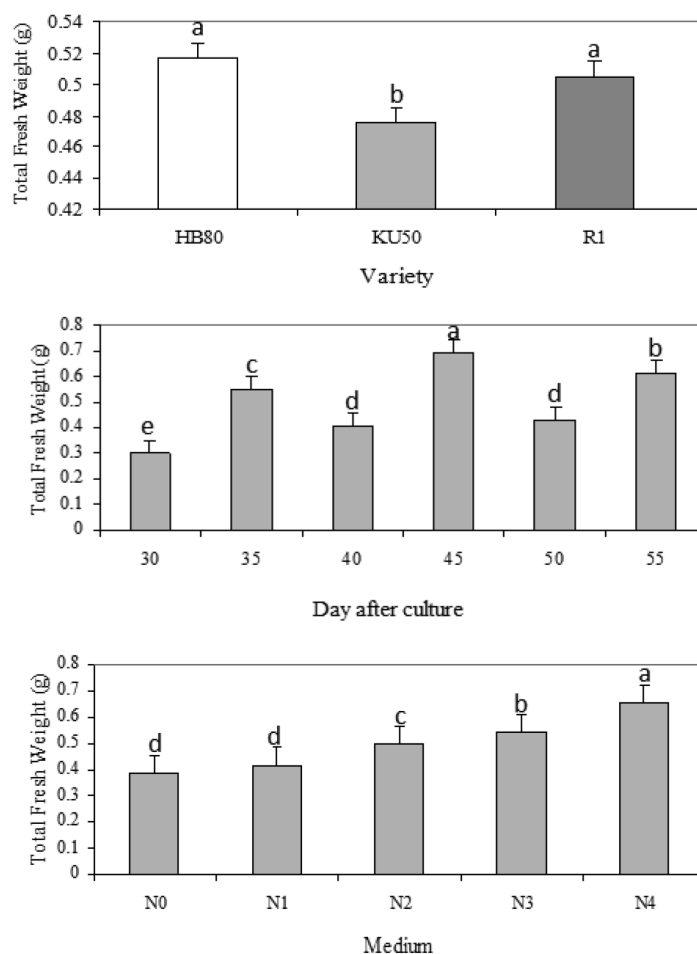


Figure 1 The effects of varieties, culture period and ammonium nitrate concentration on the total fresh weight (TFW) of cassava cultured in MS medium with five levels of ammonium nitrate (0, 10.3, 20.6, 30.9 and 41.2 mM). Physiological parameters were collected at 30, 35, 40, 45 and 55 days after culture. 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 โดยค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมทั้งหมดของ HB80 และ R1 สูงกว่า KU50 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมทั้งหมดของมันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ จะสูงสุด ที่ 45 วันหลังเพาะเลี้ยง และสูงสุดใน

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

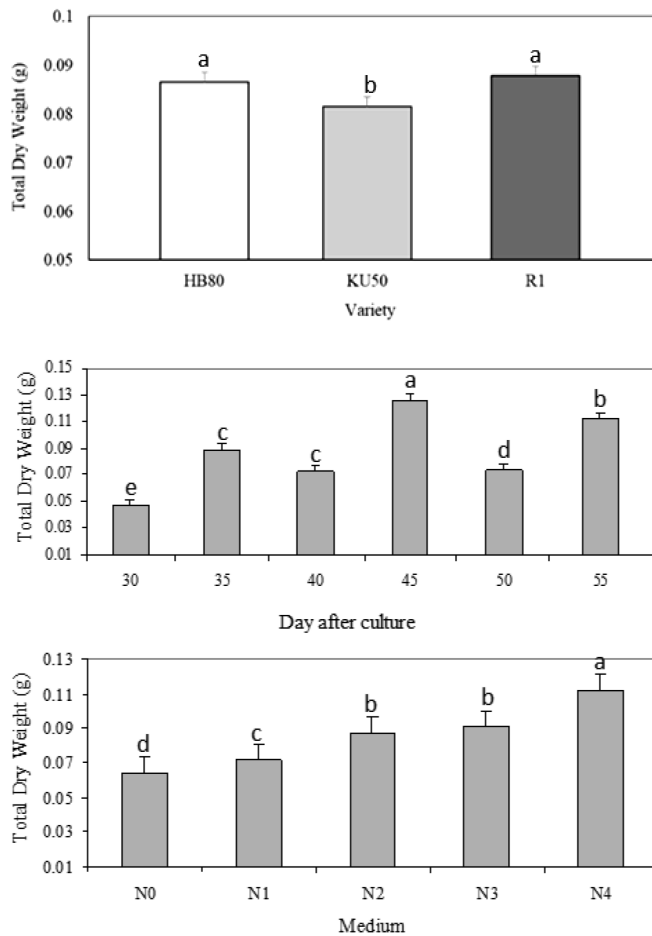


Figure 2 The effect of varieties, culture period and ammonium nitrate concentration on the total dry weight (TDW) of cassava cultured in MS medium with five levels of ammonium nitrate (0, 10.3, 20.6, 30.9 and 41.2 mM). Physiological parameters were collected at 30, 35, 40, 45 and 55 days after culture. 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 Sadiiu and Chattopadhyay (2002)

ที่รายงานว่่า ข้าวสาลีที่ให้อาอมโมเนียมจะมีความเขียวมากกว่า เนื่องจากความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในใบที่สูงกว่า และความเข้มข้นของแมกนีเซียม เหล็ก และ ฟอสฟอรัส ในใบที่สูงกว่าซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ที่สูงขึ้น ค่าคลอโรฟิลล์ต่ำสุด พบได้ใน

มันสำปะหลังที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N0 และพบอาการคลอโรซิสเล็กน้อยในพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 นอกจากนี้ จำนวนใบของพืชในทุกพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 มีน้อยกว่าในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N3 ซึ่งมีสาเหตุมาจากอาการใบร่วง

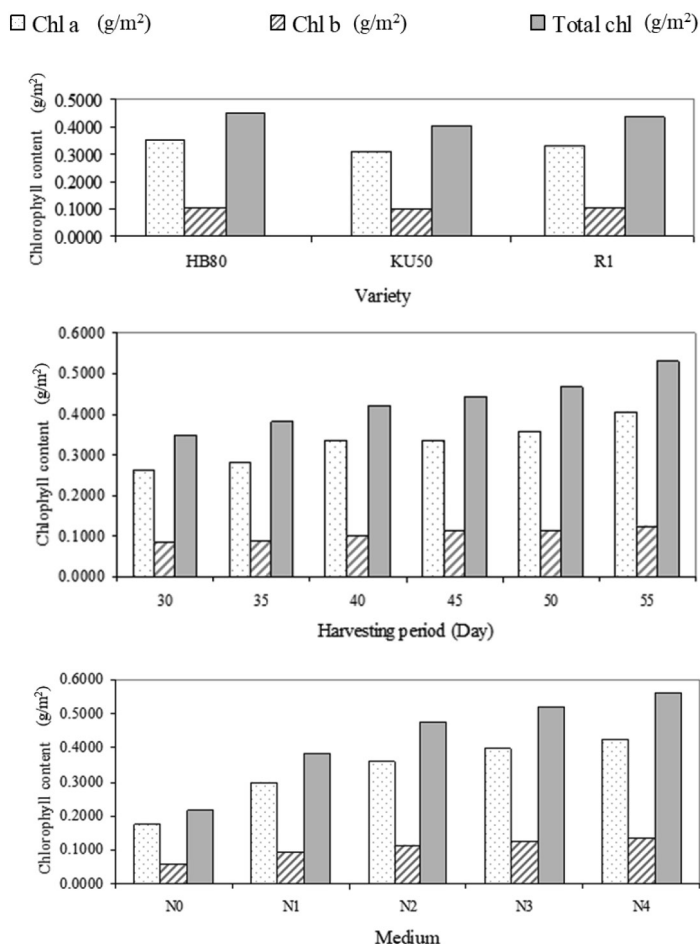


Figure 3 The effect of varieties, culture period and ammonium nitrate concentration on the chlorophyll content of cassava cultured in MS medium with five levels of ammonium nitrate (0, 10.3, 20.6, 30.9 and 41.2 mM). Physiological parameters were collected at 30, 35, 40, 45 and 55 days after culture.

ความยาวใบ ต้น และราก

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

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 และความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทอย่างมีนัยสำคัญถึงทางสถิติ

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

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 ของมันสำปะหลังทั้ง 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 ภายใต้สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ใบและรากเป็น 2 ส่วนหลักที่มีการสะสมน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของพืชที่เป็นหลักใหญ่ของความสัมพันธ์ระหว่างการสร้าง และการสะสมอาหารในมันสำปะหลัง

สัดส่วนระหว่างแอมโมเนียมและไนโตรเจนมีนัยสำคัญมาก และมีผลกระทบต่อทั้งพืชและดินหรืออาหารเพาะเลี้ยง ความต้องการไนโตรเจนมีความจำเพาะกับพืชแต่ละชนิดซึ่งมีการอธิบายในงานวิจัยมากมายว่ามีความเกี่ยวข้องกับระบบการเพาะเลี้ยง และสัดส่วนของแอมโมเนียมไอออน ต่อไนเตรทไอออน ($\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$) เป็นสิ่งสำคัญทั้งต่อสภาพ pH และส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอื่น ๆ (Bellini *et al.*, 1990; Selby and Harvey, 1990; Nakasathien *et al.*, 2000)

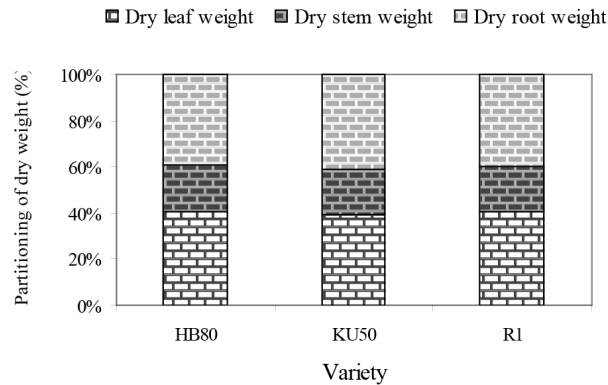


Figure 4 Partitioning percentage of dry weight in leaf, stem and root of three cassava varieties (HB80, KU50 and R1)

สรุป

มันสำปะหลัง HB80 ให้น้ำหนักสดรวมทั้งหมดของพืชทั้งต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด จำนวนใบ ความยาวใบ ความยาวต้น และความยาวราก สูงกว่า R1 และ KU50 ตามลำดับ น้ำหนักสดรวม น้ำหนักแห้งรวม จำนวนใบ และจำนวนราก มีค่าสูงสุดและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ 45 วัน หลังเพาะเลี้ยง ขณะที่ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ความยาวใบ ความยาวต้น และความยาวรากมีค่าสูงสุดที่ 55 วันหลังเพาะเลี้ยง และอาหารเพาะเลี้ยงสูตร N4 ส่งผลให้ทุกพารามิเตอร์มีค่าสูงสุดในทั้ง 3 พันธุ์ ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของการการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนมันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ต่อระดับแอมโมเนียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน การศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานของการเจริญเติบโตและการพัฒนาของมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ต่อระดับแอมโมเนียมไนเตรทที่ต่างกัน ซึ่งในโครงการนี้มีการพิสูจน์แล้วว่าส่งผลต่อต้นอ่อน และผลผลิตของมันสำปะหลัง ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เพื่อ

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

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิต ศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และภาควิชาพืชไร่ฯ 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. Physiol. Plant. 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.
- Sadiiu, 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.
- 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.