ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่)

ปริญญา

พืชไร่ พืชไร่นา

สาขา **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโต การแสดงออกของยีน Zinc Transporter (*ZIP*) และลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Effect of Zinc on Growth, Expression of Zinc Transporter (*ZIP*) Gene and Anatomical Characteristics of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Grown in Nutrient Solutions

นามผู้วิจัย นายภานุพงษ์ คงจิว

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุตเขตต์ นาคะเสถียร, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์วิจารณ์ วิชชุกิจ, Dr.sc.agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์ภัศจี คงศีล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์ประศาสตร์ เกื้อมณี, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะ กิตติภาดากุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโต การแสดงออกของยีน Zinc Transporter (*ZIP*) และลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Effect of Zinc on Growth, Expression of Zinc Transporter (*ZIP*) Gene and Anatomical Characteristics of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Grown in Nutrient Solutions

โดย

นายภานุพงษ์ คงจิว

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่)
พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภานุพงษ์ คงจิว 2557: ผลของธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโต การแสดงออกของยีน Zinc Transporter (*ZIP*) และลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่) สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุตเขตต์ นาคะเสถียร, Ph.D. 121 หน้า

ธาตุสังกะสีเป็นธาตุอาหารรองที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังทุกช่วงระยะการเจริญเติบโต โดยเฉพาะระยะการตั้งตัวของพืช ซึ่งอาจส่งผลให้มันสำปะหลังเกิดการชะลอการพัฒนาการ และเจริญเติบโตได้ การทดลองนี้จึงศึกษาผลของธาตุสังกะสีที่มีต่อการเจริญเติบโต การแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) และลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังในระยะตั้งตัวของมันสำปะหลัง โดยปลูกมันสำปะหลัง (พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50) ในระบบไฮโดรโพนิกส์ และวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland ที่มีระดับของธาตุสังกะสี ($ZnSO_4.7H_2O$) ที่ 1, 2 (ระดับควบคุม), 10, 100 µM และระดับที่ขาดธาตุสังกะสี (0 µM) และเก็บข้อมูลเมื่อมันสำปะหลังอายุ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร ผลการทดลองพบว่า มันสำปะหลังมีความสูง และความยาวรากสูงสุดที่ระดับสังกะสี 10 µM โดยเพิ่มขึ้นร้อยละ 18 และ 29 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับธาตุสังกะสีควบคุม (2 µM) เช่นเดียวกับมวลชีวภาพที่เพิ่มขึ้นเมื่อระดับธาตุสังกะสีเพิ่มมากขึ้น ขณะที่ในระดับที่ขาดธาตุสังกะสีจะมีมวลชีวภาพลดลงต่ำสุด (-67%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ อัตราส่วนของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินต่อส่วนรากลดลงเมื่อระดับธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลเนื่องมาจากความยาวราก และน้ำหนักรากที่เพิ่มขึ้นเมื่อระดับสังกะสีเพิ่มขึ้น การวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังพบว่า มีการสะสม และการดูดซึมสังกะสีสูงสุดที่ระดับธาตุสังกะสี 100 µM และมีปริมาณสะสมสังกะสีสูงในราก ใบ และลำต้น ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของสังกะสีต่อการสร้างน้ำหนักแห้งจะลดลง การแสดงออกสัมพัทธ์ของยีน *ZIP* นั้นพบระดับการแสดงออกของยีนสูงสุดในใบ ตามด้วย ลำต้น และราก ตามลำดับ และมีการแสดงออกสัมพัทธ์ที่สูงกว่าในพืชที่ขาดธาตุสังกะสีหรือระดับธาตุสังกะสีต่ำ สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของใบมันสำปะหลังพบว่า ความหนาของใบ ผิวใบชั้นบนและล่าง ชั้น palisade และ spongy parenchyma ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีธาตุสังกะสีเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้น ธาตุสังกะสีจึงมีความสำคัญ และมีอิทธิพลอย่างมีมิติสัมพันธ์ตั้งแต่ระดับการแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายวิภาค ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังในภาพรวมในระยะเริ่มต้นของพัฒนาการ

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Phanuphong Khongchiu 2014: Effect of Zinc on Growth, Expression of Zinc Transporter (*ZIP*) Gene and Anatomical Characteristics of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Grown in Nutrient Solutions. Master of Science (Agronomy), Major Field: Agronomy, Department of Agronomy. Thesis Advisor: Assistant Professor Sutkhet Nakasathien, Ph.D. 121 pages.

As a micronutrient, Zinc (Zn) has important role on growth and development of cassava in all growth stages, especially in the establishment stage, and possibly retarding the growth and development of cassava plant. The objectives are to study the effect of Zn during the establishment stage, the expression of Zn transporter (*ZIP*) gene and some anatomical characteristics. The cassava plants (cv. KU50) were grown in the hydroponic system, with 4 Zn levels ($ZnSO_4.7H_2O$) 1, 2, 10, 100 µM and treatment without Zn, and harvested at 2, 4 and 6 weeks after transplanting. The experimental design of factorial in CRD with 3 replications was applied. The results showed the stem height and root length were highest at 10 µM Zn treatment, with the increment of 18% and 29% when compared with a control (2 µM), respectively. Similarly, the higher Zn levels affected on the increment of biomass while reflecting on significantly decrease with Zn deficiency level (-67%). Moreover, shoot/root ratio of either fresh or dry weight significantly decreased with the increment of Zn concentration, demonstrating the greater root proportions and longer root length. The Atomic Absorption (AA) analysis revealed a significant increase of Zn accumulation and Zn uptake in all plant parts of 100 µM Zn grown plant. Moreover, The Zn was accumulated in roots more than those in leaves and stems, respectively. In contrast, the increased Zn supply could decrease the cassava Zn utilization efficiency. The relative partial *ZIP* gene expression was observed in all plant parts. It was found that higher expression in leaves were observed when compared to those of stems and roots, respectively. The results also revealed that the highest expression of Zn were observed in the deficient and lowest Zn concentration treated plants, as concomitantly reflected on the low Zn use efficiency. The anatomical study of leaf showed significantly decreased of thickness of leaf, and caused the compaction of adaxial epidermis, abaxial epidermis, palisade and spongy parenchyma cells when compared to the low or deficient Zn treated plants. Thus, in concert, Zn importantly demonstrated its effect on Zn transporter (*ZIP*) gene expression levels, anatomical characteristics, which consequently resulted on cassava growth and development observed during the establishment stage.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุตเขตต์ นาคะเสถียร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ซึ่งคอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ ความรู้ คอยอบรม สั่งสอนและให้ความช่วยเหลือสนับสนุนทุนการศึกษาและวิจัย ตั้งแต่ข้าพเจ้าศึกษาระดับปริญญาตรีจนกระทั่งสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาโท รวมทั้งช่วยให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ และตรวจแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ และขอบกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วิจารณ์ วิชชุกิจ อาจารย์ ดร.ภัศจี คงศีล และรองศาสตราจารย์ ดร.ประศาสตร์ เกื้อมณี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษา การทำวิจัย ตลอดจนแก้ไขตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เอ็จ สโรบล ประธานกรรมการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และดร. ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกสถาบันที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณอรุณี วงษ์แก้ว นักวิจัยภาควิชาพืชไร่นา ที่คอยให้คำปรึกษา ชี้แนะ ในการทำงานวิจัยทางด้านชีวโมเลกุลของพืชจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการกลางคณะเกษตร และพี่ๆ ห้องปฏิบัติการวิจัยทรัพยากรพันธุกรรมและการพัฒนาพันธุ์พืช และห้องปฏิบัติการไมโครเทคนิคทางพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยให้ความรู้ ตลอดจนเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณ แม่ พ่อ และทุกๆ คนในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้าเสมอมา

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนบางส่วนจาก ศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร สถาบันวิทยาการขั้นสูงแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายใต้ โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

ภานุพงษ์ คงจิว

กรกฎาคม 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(7)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(10)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	35
สรุปและข้อเสนอแนะ	83
สรุป	83
ข้อเสนอแนะ	84
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	85
ภาคผนวก	97
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	121

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ไพรเมอร์และลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง	23
2	ปริมาณธาตุอาหารในสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland	25
3	อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อความสูงลำต้น และความยาวรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	38
4	อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	45
5	อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อมวลรวมสด และมวลรวมแห้งของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	47
6	อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่ออัตราส่วนของน้ำหนักสด และแห้งของส่วนเหนือดินต่อส่วนรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	54
7	อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อค่าดัชนีความเขียว (SPAD index) และปริมาณคลอโรฟิวส์ของใบมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	58
8	อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อการสะสมปริมาณสังกะสีในใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	63
9	อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อเซลล์ชั้นต่างๆภายในใบของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	79

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ค่าร้อยละของความสูง และความยาวรากที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับค่าของความสูง และความยาวรากที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μM	98
2	ค่าร้อยละของน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μM	99
3	ค่าร้อยละของมวลรวมสด และมวลรวมแห้งของมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับมวลรวมสด และมวลรวมแห้งของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μM	100
4	ค่าการดูด (uptake) (total amount of Zn in shoot mg.plant^{-1}) และค่าประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ (utilization Efficiency: UtE) (g DM.mgZn$_{uptake}^{-1}$) ของธาตุสังกะสีที่ระดับธาตุสังกะสีแตกต่างกัน	101
5	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสูงของต้นมันสำปะหลัง (เซนติเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	101
6	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความยาวรากของมันสำปะหลัง (เซนติเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	102
7	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดใบของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	102
8	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดลำต้นของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	103

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่ **หน้า**

9 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดรากของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น)ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 103

10 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งใบของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 104

11 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งลำต้นของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 104

12 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งรากของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 105

13 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของมวลรวมสดของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 105

14 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของมวลรวมแห้งของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 106

15 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราส่วนน้ำหนักสดของส่วนเหนือดินต่อส่วนรากที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 106

16 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราส่วนน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินต่อส่วนรากที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 107

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่ **หน้า**

17 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของค่าดัชนีความเขียว (SPAD unit) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 107

18 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 108

19 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์บี (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร 108

20 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร 109

21 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บี (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 109

22 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณสังกะสีที่สะสมในใบของมันสำปะหลัง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโตที่ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร 110

23 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณสังกะสีที่สะสมในลำต้นของมันสำปะหลัง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร 110

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
24	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณสังกะสีที่สะสมในรากของมันสำปะหลัง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	111
25	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	111
26	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาผิวใบด้านบนของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	112
27	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของชั้น palisade parenchyma ของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	112
28	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของชั้น spongy parenchyma ของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	113
29	ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของผิวใบด้านล่างของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	113

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ความสูงต้น (เซนติเมตร) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารลายธาตุอาหาร	40
2	ความยาวราก (เซนติเมตร) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารลายธาตุอาหาร	40
3	น้ำหนักสดใบ (A) น้ำหนักสดต้น (B) และน้ำหนักสดราก (C) (กรัมต่อต้น) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารลายธาตุอาหาร	49
4	น้ำหนักแห้งใบ (A) น้ำหนักแห้งต้น (B) และน้ำหนักแห้งราก (C) (กรัมต่อต้น) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารลายธาตุอาหาร	50
5	สัดส่วนร้อยละของน้ำหนักสด (A) และน้ำหนักแห้ง (B) ของส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกัน	51
6	น้ำหนักรวมสด (fresh weight, FW) และน้ำหนักรวมแห้ง (dry weight, DW) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารลายธาตุอาหาร	52
7	การสะสมธาตุสังกะสี (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในส่วนใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารลายธาตุอาหาร	65
8	การดูดธาตุสังกะสีที่มีการสะสมอยู่ในส่วนเหนือดินในพืชที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่ 1, 2, 10 100 μM และระดับที่ขาดธาตุสังกะสี (0 μM)	66

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
9	ประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์ของธาตุสังกะสีที่มีการสะสมอยู่ในส่วนเหนือดินของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่ 1, 2, 10 100 μM และระดับที่ขาดธาตุสังกะสี (0 μM)	66
10	ตรวจสอบคุณภาพอาร์เอ็นเอของชิ้นส่วนของมันสำปะหลัง โดยวิธีการอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส	67
11	ลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนของยีน *ZIP* ในมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) ขนาด 999 คู่เบส	68
12	การเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของยีน *MeZIP* ของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 กับพืชชนิดต่าง ๆ	69
13	ความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการระหว่างลำดับกรดอะมิโนของยีน *ZIP* ของมันสำปะหลังกับยีน *ZIP* ของพืชชนิดต่าง ๆ ที่ได้รายงานไว้ใน Genbank database	71
14	การแสดงออกของยีน *ZIP* ในส่วนใบ ลำต้นและรากของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของธาตุสังกะสีที่แตกต่างกันเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นของธาตุสังกะสี 2 μM	74
15	การแสดงออกของยีน *ZIP* ในใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	74
16	ภาพตัดขวางใบของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสี 0 μM (A,B), 1 μM Zn (C,D), 2 μM Zn (E,F), 10 μM Zn (G,H), 100 μM Zn (I,J) ที่ระยะ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	78
17	ขนาดของชั้นเนื้อเยื่อของใบมันสำปะหลังประกอบด้วย ความหนาของใบ (A), ชั้นผิวใบชั้นบน (adaxial epidermis) (B), ชั้น palisade parenchyma (C), ชั้น spongy parenchyma (D) และชั้นผิวใบชั้นล่าง (Abaxial epidermis) (E) ที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	81

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีค่าความเขียวใบ (SPAD unit) กับความหนาของใบ (A), ชั้นผิวใบชั้นบน (adaxial epidermis) (B), ชั้น palisade parenchyma (C), ชั้น spongy parenchyma (D) และชั้นผิวใบชั้นล่าง (Abaxial epidermis) (E) ที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร	82

ภาพผนวกที่

1	The Partial *ZIP* gene of *Manihot esculenta* cultivar KU50 *ZIP* transporter mRNA ในฐานข้อมูล GenBank	114
2	The nucleotide blast of *ZIP* gene for cassava with BLASTX program	117
3	The partial sequence 18S ribosomal RNA of *Manihot esculenta* cultivar KU50 ในฐานข้อมูล GenBank	118
4	The nucleotide blast of 18S ribosomal RNA for cassava with BLASTX program	120

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

bp	=	Base pair
cDNA	=	Complemetary DNA
Chl a	=	Chlorophyll a
Chl b	=	Chlorophyll b
Chl total	=	Total Chlorophyll
cm	=	Centimeter
CTAB	=	Cetyl trimethyl ammonium bromide
dH_2O	=	Distilled water
DNA	=	Deoxyribonucleic acid
DMDC	=	Dimethyldicarbonate
EDTA	=	Ethylene diamine tetraacetic acid
Fm	=	Maximal fluorescence in dark-adapted leaf, all PSII closed
Fo	=	Minimal fluorescence in dark-adapted leaf, all PSII closed
Fv	=	Variable fluorescence in dark-adapted leaf, Fv = Fm-Fo, caused by closure of PSII due to saturating flash in darkness
µg	=	Microgram
µl	=	Microliter
µM	=	Micromole
µm	=	Micrometer
mM	=	Millimolor
ml	=	Milliliter
ng	=	Nanogram
OD	=	Optical density
PCR	=	Polymerase chain reaction
RNA	=	Ribonucleic acid
Rnase	=	Ribonuclease
RT-PCR	=	Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
rpm	=	Rounds per minute

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

SDS	=	Sodium dodecyl sulphate
TAE	=	Tris acetate EDTA
UV	=	Ultraviolet
V	=	Volts
WAP	=	Weeks after transplanting
ZIP	=	Zinc-regulated, Iron regulated transport-like Protein

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโต การแสดงออกของยีน Zinc Transporter (*ZIP*) และลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Effect of Zinc on Growth, Expression of Zinc Transporter (*ZIP*) Gene and Anatomical Characteristics of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Grown in Nutrient Solutions

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลก มีปริมาณการผลิตมากกว่า 200 ล้านตันต่อปี และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยในฐานะผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเป็นอันดับ 1 ของโลกมาอย่างต่อเนื่อง ในปี 2556 ประเทศไทยสามารถส่งออกมันสำปะหลัง และผลิตภัณฑ์ (มันเส้น มันสำปะหลังอัดเม็ด แป้งดัดแปร และอื่น ๆ) เป็นมูลค่าถึง 95,695 ล้านบาท รองจากยางพารา และข้าว ตามลำดับ (ธนาคารแห่งประเทศไทย, 2557) ซึ่งในช่วง 7 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ. 2548-2554) ประเทศไทยมีการส่งเสริมการปลูกมันสำปะหลังทั้งด้านการส่งเสริมพันธุ์ที่ดี และวิธีการจัดการการเขตกรรมที่เหมาะสมให้กับเกษตรกร จนทำให้พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่เมื่อเกษตรกรปลูกมันสำปะหลังซ้ำที่เดิมติดต่อกันเป็นเวลาหลายปี และการใส่ปุ๋ยเฉพาะธาตุอาหารหลักเพียงอย่างเดียวอาจทำให้ประสบปัญหาการขาดธาตุอาหารรอง โดยเฉพาะธาตุสังกะสีซึ่งระยะเริ่มต้นของการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง จะสังเกตเห็นลักษณะอาการขาดธาตุสังกะสีของมันสำปะหลัง เช่น ใบมันสำปะหลังมีสีเหลืองซีด (chlorosis) และปรากฏสีขาวประปรายตามแผ่นใบ โดยที่เส้นใบนั้นยังเขียวอยู่ (Marschner, 1995) อาการดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการเจริญเติบโตในช่วงแรกของมันสำปะหลัง เช่น กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง ทำให้การตั้งตัว (establishment) และการเจริญเติบโตช้าลง ส่งผลให้จำนวนรากสะสมอาหารใต้ดินลดลง และอาจเกิดผลกระทบต่อเนื่องทำให้ผลผลิตของมันสำปะหลังลดลงด้วย รวมทั้งอาจมีความอ่อนแอต่อโรคของมันสำปะหลัง โดยทั่วไปการแก้ปัญหาส่วนใหญ่ของเกษตรกรทำได้โดยการใส่ปุ๋ยหรือการฉีดพ่นหรือแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังด้วยปุ๋ยสังกะสีในอัตราแนะนำ เพื่อบรรเทาอาการการขาดธาตุสังกะสีที่เกิดขึ้น และหลังจากการใส่ปุ๋ยหรือฉีดพ่นปุ๋ยทางใบแล้ว ธาตุสังกะสียังตกค้างอยู่ในดิน และมีอิทธิพลต่อผลผลิตไปอีกไม่น้อยกว่า 2 ปี และหากพิจารณาในอีกด้านหนึ่งที่อาจก่อให้เกิดปัญหาได้เช่นกันคือ มีการสะสมธาตุสังกะสีที่เพิ่มมากขึ้นในดินอาจส่งผลเสียจากความ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นพิษของสังกะสีต่อมันสำปะหลังส่งผลให้การเจริญเติบโตของรากหลักลดลง ความยาวรากสั้นลง เกิดอาการรากเหลือง และยับยั้งการยืดตัวของเซลล์บริเวณลำต้นด้วย (Chakravarty and Srivastava, 1992; Ren *et al*., 1993)

ดังนั้น จากความสำคัญของธาตุสังกะสีที่มีต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง และเป็นปัญหาหนึ่งของการเพาะปลูกมันสำปะหลังของเกษตรกร จึงมีการศึกษาผลของธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังในช่วงระยะการเจริญเติบโตที่อายุ 1-2 เดือน การแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) ที่ทำหน้าที่ในการขนส่งธาตุสังกะสี และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของสังกะสีแตกต่างกัน เพื่อนำองค์ความรู้นี้ไปใช้เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาด้านสรีรวิทยาการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง และข้อมูลพื้นฐานที่จะเป็นประโยชน์ในการจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการปลูกมันสำปะหลัง ซึ่งจะส่งผลให้การปลูกมันสำปะหลังได้ผลผลิตที่เพิ่มสูงขึ้น และเพียงพอต่อความต้องการของอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

ศึกษาอิทธิพลของธาตุสังกะสี ที่มีผลต่อพัฒนาและการเจริญเติบโต การแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. ความสำคัญของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชอาหารที่เป็นแหล่งสะสมคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญพืชหนึ่งของประเทศในเขตร้อน โดยเฉพาะประเทศในทวีปแอฟริกา และอเมริกาใต้ ส่วนในทวีปเอเชียนั้นแหล่งผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศไทย และอินโดนีเซีย โดยประเทศไทยสามารถผลิตมันสำปะหลังได้เป็นอันดับที่ 3 ของโลก รองจากประเทศไนจีเรีย และบราซิล (Food and Agriculture Organization, 2013) การผลิตมันสำปะหลังของโลกส่วนใหญ่เป็นการผลิตเพื่อการบริโภคหรือใช้ประโยชน์ในรูปหัวมันสด และผลิตภัณฑ์แปรรูปต่าง ๆ ซึ่งถูกใช้เป็นอาหารมนุษย์ร้อยละ 48 เป็นอาหารสัตว์ร้อยละ 34 และประโยชน์ในด้านอื่น ๆ อีกร้อยละ 18 ความต้องการใช้มันสำปะหลังของประเทศผู้ผลิตทั้งในทวีปแอฟริกา เอเชีย และละตินอเมริกา ใช้บริโภคภายในประเทศเป็นหลัก ประมาณร้อยละ 90 ของผลผลิตทั้งหมด โดยอยู่ในรูปของหัวมันสด และผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง (สุดใจ และคณะ, 2554)

สำหรับการผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทยในปี 2556 มีพื้นที่เก็บเกี่ยวมันสำปะหลัง 8.14 ล้านไร่ ผลผลิต 28.28 ล้านตัน และมีผลผลิตต่อไร่ 3.48 ตันต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) แหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทย คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีพื้นที่ปลูกรวมร้อยละ 55 ของเนื้อที่ปลูกทั้งประเทศ รองลงมาได้แก่ ภาคกลาง (รวมภาคตะวันออก และภาคตะวันตก) มีเนื้อที่ปลูกประมาณร้อยละ 30 และภาคเหนือมีพื้นที่ปลูกประมาณร้อยละ 15 ส่วนภาคใต้ไม่มีการปลูกมันสำปะหลัง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ผลผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทยทั้งหมดจะเข้าสู่กระบวนการแปรรูป โดยแปรรูปเป็นมันเส้น มันอัดเม็ด แป้งมันสำปะหลัง และเอทานอล เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่อเนื่อง เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อาหารสัตว์ สารให้ความหวาน ผงชูรส กระดาษ สิ่งทอ เป็นต้น โดยความต้องการใช้ภายในประเทศในแต่ละปีมีประมาณร้อยละ 20-25 ส่วนที่เหลือร้อยละ 75-80 ส่งออกภายนอกประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) ทั้งนี้ประเทศไทยมีศักยภาพในการเพาะปลูกมันสำปะหลัง เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีความเหมาะสมกับการปลูกมันสำปะหลัง ทั้งยังมีเทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลังที่ก้าวหน้า และเกษตรกรที่มีความชำนาญในการปลูกมันสำปะหลัง ส่งผลให้มีแนวโน้มผลผลิตของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้น และทำให้ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังรายใหญ่ของโลกในปัจจุบัน (เจริญศักดิ์, 2532)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. สภาพแวดล้อมทั่วไป และปัญหาการจัดการธาตุสังกะสีสำหรับการปลูกมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เจริญเติบโต และทนต่อสภาวะแห้งแล้งได้ดี สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนปนทราย และสามารถปรับตัวได้ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ รวมถึงสภาพดินที่เป็นกรดจัด (pH 4.4) ก็ไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของมันสำปะหลัง และพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังควรมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 1,000 มิลลิเมตรต่อปี (เจริญศักดิ์, 2532; Lancaster *et al*., 1982) แต่มันสำปะหลังไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในดินด่าง และสภาพดินที่มีน้ำขัง (กรมวิชาการเกษตร, 2547) สำหรับแหล่งปลูกมันสำปะหลังของประเทศไทยได้แก่ พื้นที่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ตามลำดับ ส่วนภาคใต้ไม่พบพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ลักษณะดินส่วนใหญ่ในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังนั้นเป็นดินร่วนปนทราย ดินร่วนเหนียวปนทรายที่เป็นกรด มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินต่ำ เช่นเดียวกับปริมาณธาตุอาหารในดินที่มีอยู่ต่ำถึงต่ำมาก และดินมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้น้อย (ปิยะ และคณะ, 2542) อีกนัยหนึ่งการที่เกษตรกรปลูกมันสำปะหลังติดต่อกันเป็นเวลานาน มีผลทำให้ดินขาดความอุดมสมบูรณ์ และทำให้ผลผลิตของมันสำปะหลังลดลง ซึ่งในการแก้ปัญหาความเสื่อมความอุดมสมบูรณ์ของดิน เพื่อที่จะรักษาระดับผลผลิตให้อยู่ในระดับที่คุ้มค่าต่อการลงทุนได้นั้น จึงต้องมีการใส่ปุ๋ยเพื่อเพิ่มธาตุอาหารหลักในดิน แต่ไม่ค่อยพบว่ามีการใส่ปุ๋ยธาตุอาหารรองในการผลิตมันสำปะหลัง เป็นผลทำให้พืชขาดธาตุอาหารเหล่านี้เพราะถูกนำไปใช้อย่างต่อเนื่องหรือถูกชะล้างออกไปจากการพังทลายของดินที่อุ้มน้ำได้น้อย ซึ่งมักเป็นดินที่มีปริมาณธาตุอาหารหรืออินทรียวัตถุในดินต่ำอยู่แล้ว (ปิยะ และคณะ, 2542)

นอกจากนี้สภาพพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังนอกเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เช่น ลพบุรี สระบุรี นครสวรรค์ และกาญจนบุรี มักมีลักษณะของดินเป็นดินเนื้อปูนลักษณะที่สำคัญได้แก่ เป็นดินที่มีแคลเซียมคาร์บอเนตอิสระ และเกลือคาร์บอเนตอื่น ๆ มีปริมาณสมมูลแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่ในช่วง 10-1,000 กรัมต่อกิโลกรัมของดิน (คณะกรรมการจัดทำปทานุกรมปฐพีวิทยา, 2551) ดินเนื้อปูนมีค่า pH สูง เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ $CaCO_3$ และ $MgCO_3$ ซึ่งในสภาพ pH สูงจะทำให้ดินขาดธาตุอาหารรองได้ (Brady and Weil, 2008) ดังนั้นความเป็นประโยชน์ของสังกะสีในดินเนื้อปูนจะต่ำโดยเฉพาะที่ pH สูงกว่า 7.7 โดยที่สังกะสีจะอยู่ในรูปของ $Zn(OH)$ และ $Zn(OH)_2$ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อพืชน้อยกว่าในรูป Zn^{2+} วิธีการแก้ปัญหาการขาดธาตุสังกะสีของเกษตรกร คือ การให้ปุ๋ย $ZnSO_4.7H_2O$ ทั้งทางใบ และในดิน เมื่อมันสำปะหลังแสดงอาการขาดธาตุสังกะสี ซึ่งศิรินทรา (2553) ทดสอบการฉีดพ่นปุ๋ยสังกะสีที่อัตรา 3 กิโลกรัมต่อไร่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จำนวน 3 ครั้ง (เมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 1, 2 และ 3 เดือน) ร่วมกับการคลุกเคล้ามูลไก่แกลบในดินก่อนปลูกมีแนวโน้มทำให้ได้ผลผลิตหัวมันสดสูงสุดเท่ากับ 6.06 ตันต่อไร่ และเปอร์เซ็นต์แป้งเพิ่มสูงสุด 25.93 เปอร์เซ็นต์เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตที่อายุ 10 เดือน นอกจากนี้การใส่ปุ๋ยสังกะสีในรูป $ZnSO_4.7H_2O$ เพียงครั้งเดียวสามารถให้ผลตกค้างอยู่ในดินหลายปี เพราะ Zn^{2+} ไม่ถูกชะล้างออกไปจากดินได้ง่าย ผลตกค้างสามารถเพิ่มผลผลิตทานตะวันที่ปลูกในปีแรกร้อยละ 13-47 และยังมีอิทธิพลต่อผลผลิตในปีต่อไปได้อีกไม่น้อยกว่า 2 ปี (Fuehring, 1972 อ้างโดย มนัสนันท์, 2551) ซึ่งจะส่งผลดีต่อการลดต้นทุนของเกษตรกรในการปลูกพืชในปีต่อ ๆ ไป

3. การเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง และลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลัง

3.1 การเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 1-5 เมตร มีอายุอยู่ได้หลายปี (perennial shrub) ซึ่งในการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังมีทั้งช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้น การสะสมแป้งในรากสะสมอาหาร และการพักตัวเมื่อมันสำปะหลังได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยเฉพาะอุณหภูมิต่ำ และการขาดน้ำเป็นเวลานานในช่วงแล้งของปี (ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง, 2537) หลังจากเริ่มปลูกมันสำปะหลังในช่วงระยะเวลาประมาณ 1-15 วันหลังปลูก ท่อนพันธุ์เริ่มแตกยอด ใบจริงเริ่มผลิให้เห็นเป็นใบอ่อนขนาดเล็ก และมีรากหาอาหาร (adventitious root) เกิดขึ้นจากบริเวณแคมเบียม (cambium) และตา (bud) ใต้ผิวดินของท่อนพันธุ์ จากนั้นจะมีการพัฒนาของใบ และการสร้างหัวใต้ดิน โดยใบจริงจะเริ่มคลี่กางรับแสง ส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในใบจริงเริ่มทำงาน ส่วนการเจริญเติบโตทางลำต้น และรากนั้นจะขึ้นอยู่กับอาหารที่สะสมในท่อนพันธุ์ มีรากฝอยเกิดขึ้นแทนที่รากหาอาหาร และรากฝอยที่เกิดขึ้นเริ่มสะสมอาหารเป็นรากสะสมแป้ง ระยะนี้จะใช้เวลาประมาณ 15-90 วันหลังปลูก หลังจากนั้นมันสำปะหลังจะเข้าสู่ระยะการพัฒนาของลำต้นและใบ เป็นระยะที่มีการเจริญเติบโตของใบ และลำต้นสูงสุด เริ่มมีการเคลื่อนย้าย และสะสมแป้งที่ราก มีการแบ่งส่วนของสารอาหารที่สังเคราะห์จากใบไปยังรากสะสมอาหาร ทำให้หัวขยายขนาดเพิ่มมากขึ้น ระยะนี้จะใช้เวลาประมาณ 90-180 วันหลังปลูก จากนั้นมันสำปะหลังจะมีอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งในรากสะสมอาหารสูงขึ้น ใบแก่มีจำนวนเพิ่มขึ้น การร่วงของใบเป็นไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งพัฒนาการดังกล่าวจะเกิดขึ้นในช่วงอายุประมาณ 180–300 วันหลังปลูก หลังจากนั้นมันสำปะหลังจะเข้าสู่ระยะการพักตัว (dormancy) ซึ่งมีอัตราการสร้างใบลดลง ใบส่วนใหญ่ร่วงหล่น และลำต้นพักการเจริญเติบโต แต่ยังคงมีการเคลื่อนย้ายแป้งไปสะสมที่ราก โดยระยะนี้ใช้เวลา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประมาณ 300-360 วันหลังปลูก (Alves, 2002; Cock *et al*., 1979) สำหรับการพักตัวของมันสำปะหลังที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับฤดูปลูกมันสำปะหลัง ซึ่งดัชนีพื้นที่ใบของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของรากหรือการสะสมน้ำหนักแห้งของรากมันสำปะหลังที่เกิดขึ้นในช่วงฤดูฝน แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูแล้งดัชนีพื้นที่ใบของมันสำปะหลังจะลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้เหลือพื้นที่สังเคราะห์แสงเพื่อสร้างน้ำหนักแห้งลดลง และอาหารที่สร้างขึ้นในช่วงนี้ไม่เพียงพอกับขบวนการหายใจ น้ำหนักแห้งที่สะสมไว้ที่รากจึงถูกลำเลียงมาใช้ในระยะนี้ และการสะสมน้ำหนักแห้งในรากจะหยุดชะงัก หลังจากนั้นดัชนีพื้นที่ใบกลับเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งเมื่อเริ่มต้นฤดูฝนรอบถัดไป (โอภาษ, 2531)

3.2 ลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลัง

จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง เช่น ราก ใบ และลำต้น พบการเจริญของโครงสร้างทางกายวิภาคของมันสำปะหลัง ดังนี้

3.2.1 ลักษณะทางกายวิภาคของใบมันสำปะหลัง

ใบมันสำปะหลังเป็นแบบใบเดี่ยว แผ่นใบจะเว้าเป็นแฉก (lobe) แบบรูปมือ (palmate) เส้นใบ และเส้นกลางใบแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ซึ่งสามารถใช้ในการจำแนกพันธุ์มันสำปะหลังได้ ผิวใบด้านบนปกคลุมด้วยไขทำให้มีลักษณะเป็นมันเงา ใบมันสำปะหลังมีความหนาประมาณ 100-120 μm (Ramanujam and Jos, 1984) พบปากใบทั้งบนผิวใบด้านล่าง และด้านบน (amphistomatous) มีขนาดเล็กประมาณ 50-150 μm^2 และมีช่องเปิดของปากใบ (stomatal pore) ร้อยละ 1.4-3.1 ของพื้นที่ใบทั้งหมด (Alves, 2002) ส่วนใหญ่จะพบปากใบบริเวณผิวใบด้านล่าง (abaxial epidermis) มากกว่าด้านบนใบ (adaxial epidermis) ซึ่งผิวใบด้านล่างมีปากใบประมาณ 50-800 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร และผิวใบด้านบนมีปากใบประมาณ 0-50 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร โดยที่จำนวนปากใบจะแปรผันขึ้นอยู่กับพันธุ์ ระดับ ploidy อายุของใบ และสัดส่วนผิวใบด้านบนกับผิวใบด้านล่าง โครงสร้างของเซลล์ภายในใบมันสำปะหลังมีการเรียงตัวเพียงชั้นเดียว ประกอบด้วย ชั้น palisade parenchyma เป็นชั้นที่อยู่ถัดลงมาจากผิวใบด้านบน และบริเวณชั้นนี้จะพบคลอโรพลาสต์สะสมอยู่ และยังพบมีเซลล์ทำหน้าที่เก็บสะสมน้ำ และเซลล์ที่ทำหน้าที่สะสมแทนนิน ถัดลงมาเป็นส่วนของชั้น spongy parenchyma มีประมาณ 2-3 ชั้น เกาะกันอย่างหลวม ๆ (Oyetunde, 2009) ภายในชั้นนี้จะพบกลุ่มท่อลำเลียง (vascular tissue) และมี bundle

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

sheath เป็นแถบสีเขียว ขนาดเล็ก ผนังบาง และไม่มีพาเรงคิมาอยู่ล้อมรอบ bundle sheath และจะอยู่บริเวณด้านล่างของชั้น palisade parenchyma (Edwards *et al*., 1990)

ทั้งนี้จากการศึกษาเพิ่มเติมในพืชวงศ์เดียวกับมันสำปะหลัง (Euphorbiaceae) ซึ่งได้มีการศึกษากายวิภาคของใบสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) และสบู่แดง (*J. gossypifolia* L.) พบว่า ชั้นนอกสุดของใบเป็น epidermis ทั้งด้านบน และล่างของใบ เนื้อเยื่อ mesophyll แบ่งเป็น 2 ชั้นคือ ชั้น palisade และ spongy ที่ประกอบด้วยเซลล์ parenchyma เซลล์รูปสี่เหลี่ยมขนาดเล็กมากเรียงต่อกันลงมา แต่ละแถวมีเซลล์ประมาณ 6-25 เซลล์ การจัดเรียงตัวของเซลล์หนาแน่นกว่าชั้น spongy พบชั้น palisade เฉพาะด้านบนของแผ่นใบเท่านั้น การจัดเรียงตัวของ mesophyll ในลักษณะแบบนี้เรียกว่า bifacial leaf (กิตติคุณ, 2551; นรินทร์, 2526) ส่วนชั้น spongy ประกอบด้วยเซลล์ parenchyma เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าในชั้น palisade มีการเรียงตัวห่าง ๆ มีช่องว่างระหว่างเซลล์มาก เส้นกลางใบของมันสำปะหลังมี epidermis 1 ชั้น ทั้งด้านบน และล่างของแผ่นใบ กลุ่มท่อลำเลียงเป็นแบบ collateral bundle มี xylem อยู่ทางด้านบนของแผ่นใบ และ phloem อยู่ทางด้านล่างของแผ่นใบ เซลล์ parenchyma บางเซลล์ที่อยู่ใกล้ ๆ กับมัดท่อลำเลียงมีการสะสมน้ำยาง และพบท่อน้ำยางแบบ non-articulated laticifer ซึ่งในพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร สบู่ดำจะมีเซลล์สะสมน้ำยางประมาณ 4-5 เซลล์ และสบู่แดงจะพบ 7-8 เซลล์ (กิตติคุณ, 2551)

3.2.2 ลักษณะกายวิภาคของลำต้นมันสำปะหลัง

กายวิภาคของลำต้นมันสำปะหลังของการเจริญขั้นปฐมภูมิมี epidermis ชั้นเดียว ชั้นคอร์เท็กซ์เป็นเซลล์ parenchyma รูปร่างหลายเหลี่ยม และรูปร่างกลม จัดเรียงตัวกันไม่เป็นระเบียบ stele จะอยู่ถัดจากชั้น endodermis เข้ามาประกอบด้วยกลุ่มท่อลำเลียงอยู่ด้านนอก และมี pith อยู่ตรงกลางลำต้น เมื่อมีการเจริญขั้นทุติยภูมิจะมีการสร้าง periderm มาแทนที่ epidermis ส่วนชั้นคอร์เท็กซ์มีเซลล์ parenchyma เรียงกัน 5-7 ชั้น พบ idioblast เช่น ผลึก (crystal) และเม็ดแป้ง (starch granule) พบ angular collenchyma มากถึง 7 ชั้น ชั้น pericycle จะเป็นผนังหนา 1-4 ชั้น สำหรับกลุ่มท่อลำเลียง พบ primary phloem มากกว่า secondary phloem ขึ้นอยู่กับอายุ พบเม็ดแป้งและผลึกรูป druses ชั้น vascular cambium เรียงตัวกันอยู่ 4-5 ชั้น และชั้น secondary xylem มีการพัฒนาเพียงเล็กน้อยลักษณะเป็นวงแหวน ส่วน primary xylem พบ metaxylem 1-4 เซลล์ และ protoxylem 1-2 เซลล์ พบชั้น peripheral medulla 6 ชั้น เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ ไม่ค่อยพบเม็ดแป้งที่สะสมบริเวณนี้ (Graciano-Ribeiro and Nassar, 2012)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.3 ลักษณะทางกายวิภาคของรากมันสำปะหลัง

ในช่วงของการเจริญขั้นแรก (primary root) จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นคอร์เท็กซ์ (cortex) และกลุ่มท่อลำเลียง (vascular cylinder)

เนื้อเยื่อชั้นคอร์เท็กซ์ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชนิด ได้แก่ (1) เนื้อเยื่อชั้น epidermis เป็นเนื้อเยื่อชั้นเดียว ผนังเซลล์ด้านนอกโค้ง ด้านในเป็นเหลี่ยม (2) เนื้อเยื่อ parenchyma มีเซลล์อยู่ 10-13 ชั้น มีลักษณะรูปหลายเหลี่ยมขนาดไล่เลี่ยกัน ชั้นนอกของเซลล์เบียดชิดกัน ส่วนชั้นในนั้นอยู่กันอย่างหลวม ๆ มีช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular space) ซึ่งขนาดใหญ่กว่าช่องว่างระหว่างเซลล์ของ epidermis และ (3) เนื้อเยื่อชั้น endodermis รูปร่างส่วนมากเป็นเซลล์รูปหกเหลี่ยม เรียงตัวเป็นแถวโค้ง ขนาดของเซลล์เท่ากัน แต่โดยทั่วไปจะมีขนาดเล็กว่าเซลล์ที่ชั้น epidermis ที่ผนังด้านข้างของเซลล์ endodermis จะเป็นแถบของ Casparians strip

เนื้อเยื่อในกลุ่มท่อลำเลียง ประกอบด้วยชั้นของเนื้อเยื่อเรียงกัน 4 ชั้น คือ (1) ชั้น pericycle มีอยู่ 2-3 ชั้น เป็นเซลล์ผิวบางขนาดเล็กกว่าเซลล์ของ endodermis และขนาดของเซลล์เท่า ๆ กัน (2) เนื้อเยื่อชั้น xylem เซลล์จะอยู่รวมกันเป็นแถว ๆ ละ 6-7 เซลล์ บางเซลล์จะมีขนาดเล็กเรียงซ้อนกันอยู่ติดกับ pericycle เซลล์ ถัดเข้าไปจะใหญ่ขึ้นตามลำดับ ลักษณะเซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผิวหนา (3) เนื้อเยื่อชั้น phloem เป็นเซลล์ขนาดเล็กกว่า pericycle ผนังบางเป็นเงา แทรกอยู่ระหว่างแถวของ xylem หรืออยู่สลับกับแถวของ xylem อยู่เป็นกระจุกประมาณ 15-20 เซลล์ และ (4) เนื้อเยื่อ pith ขนาดของเซลล์แตกต่างกันไป เป็นเซลล์ผิวบางเบียดอยู่ชิดกัน (อาวุธ, 2499) และเมื่อรากมันสำปะหลังเจริญสมบูรณ์จะประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชนิด คือ เนื้อเยื่อชั้น periderm เนื้อเยื่อชั้น cortex และเนื้อเยื่อพาเรงคิมา ซึ่งเป็นรากแรกที่ใช้ในการลำเลียง และมีรากหาอาหารกระจายโดยทั่วไป โดยโครงสร้างจะประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อด้านนอกสุด (epidermal layer) ถัดมาเป็นชั้นคอเท็กซ์ และเนื้อเยื่อชั้นในสุด ซึ่งบริเวณนี้จะพบเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ลำเลียงน้ำ และแร่ธาตุ (xylem) และเนื้อเยื่อลำเลียงอาหาร (phloem) (Cabral *et al*., 2000)

4. การสังเคราะห์ด้วยแสงในมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่เขตร้อนชื้น โดยมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงสุดอยู่ระหว่าง 13-24 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ภายใต้สภาพเรือนทดลองหรือสภาพ growth

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

chamber (Edwards *et al*., 1990) และในสภาพแปลงปลูกมีอัตราสังเคราะห์ด้วยแสงสูงถึง 40-50 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} การสังเคราะห์ด้วยแสงในมันสำปะหลังต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมระหว่าง 30-35 องศาเซลเซียส (El-Sharkawy, 2004) การสังเคราะห์ด้วยแสงของใบมันสำปะหลังมีค่า saturation irradiance ประมาณ 1,800 μmol PAR m^{-2} s^{-1} (El-Sharkawy *et al*., 1992) El-Sharkawy (2006) ได้จัดให้มันสำปะหลังเป็นพืชที่จัดอยู่ในประเภท C_3-C_4 intermediate เนื่องจากมันสำปะหลังแสดงลักษณะเป็นทั้งพืช C_3 และ C_4 กล่าวคือ มันสำปะหลังแสดงลักษณะของพืช C_4 ไว้ถึงร้อยละ 15-25 ด้วยลักษณะที่พบการทำงานของเอนไซม์ Phosphoenol pyruvate carboxylase (PEPCase) และเอนไซม์ NAD-malic enzyme (NAD-ME) และ NADP-malic enzyme (NADP-ME) จึงทำให้มันสำปะหลังมีความสามารถในการสังเคราะห์แสงสูง และสามารถให้ผลผลิตสูงได้ในสภาวะแวดล้อมเช่นเดียวกับพืช C_4 อย่างไรก็ตาม มันสำปะหลังยังพบลักษณะที่แสดงลักษณะเป็นพืช C_3 เนื่องมาจากคุณสมบัติในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหายในเซลล์กลับมาใช้ใหม่ได้อีกครั้ง จึงมีค่าจุดชดเชยคาร์บอนไดออกไซด์สูง (49-68 μl l^{-1}) (El-Sharkawy and Cock, 1990) กล่าวคือ มีทั้งค่าการหายใจแสง (photorespiration) และค่าการหายใจที่เกิดขึ้นในไมโตรคอนเดรีย (mitochondrial dark respiration) แต่เนื่องจากใบของมันสำปะหลังนั้นไม่พบลักษณะทางกายวิภาคที่เรียกว่า C_4-Kranz ซึ่งมี bundle sheath ที่เป็นพาเรงคิมา และคลอโรพลาสต์ที่มีสีเขียวเข้ม และมีขนาดใหญ่ ล้อมรอบกลุ่มท่อลำเลียงอยู่ มันสำปะหลังจึงเป็นพืชที่จัดที่อยู่ในประเภท C_3-C_4 intermediate photosynthesis (El-Sharkawy, 2006)

อัตราการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุดของมันสำปะหลังนั้นขึ้นอยู่กับพันธุกรรม และสภาพแวดล้อม ถ้าเจริญเติบโตอยู่ในสภาพแบบร้อนชื้น ระยะเวลาที่อัตราการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุดอยู่ในช่วง 3–5 เดือนหลังปลูก โดยอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว (Howeler and Cadavid, 1983) อีกทั้งอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง (crops photosynthesis) ของมันสำปะหลังมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับผลผลิตราก และผลผลิตมวลรวมทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับความสัมพันธ์ระหว่าง LAI และการรับแสงของใบพืช กับผลผลิตมวลรวมทั้งหมด Howler and Cadavid (1983) ชี้ให้เห็นว่าความต้องการอาหารของรากที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มกิจกรรมการสังเคราะห์ด้วยแสง นอกจากนี้ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งใบ และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิของใบวัดที่ความเข้มแสงสูง (P_{max}) โดยกำหนดให้ใบที่ขยายตัวเต็มที่ (อายุน้อย) เป็นใบตำแหน่งที่ 1 จะพบว่า P_{max} ลดลงเมื่อตำแหน่งใบเพิ่มขึ้น (อายุมากขึ้น) ตำแหน่งใบสามารถอธิบายความแปรปรวนของ P_{max} โดยรวมในแต่ละพันธุ์ได้ประมาณร้อยละ 41-55 (พูนพิภพ และคณะ, 2537)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ธาตุสังกะสีกับการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

ธาตุอาหารพืชจำแนกออกเป็น 2 กระบวนการ คือแยกตามปริมาณของธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ และแยกตามบทบาทของธาตุอาหารในเมแทบอลิซึม สำหรับการจำแนกธาตุอาหารพืชตามปริมาณที่พืชต้องการใช้นั้น แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ มหธาตุหรือธาตุอาหารหลัก (macro nutrient elements) และจุลธาตุหรือธาตุอาหารรอง (micronutrient elements) (Epstein, 1972; Gauch, 1972 อ้างโดย ยงยุทธ, 2552) ธาตุอาหารหลักเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการปริมาณมาก ความเข้มข้นของธาตุโดยน้ำหนักแห้งเมื่อพืชเจริญเติบโตสูงกว่า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้แก่ ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน และธาตุอาหารรองเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อย ความเข้มข้นของธาตุโดยน้ำหนักแห้งเมื่อพืชเจริญเติบโตจะต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้แก่ ธาตุโบรอน คลอรีน ทองแดง เหล็ก แมงกานีส โมลิบดินัม สังกะสี และนิกเกิล

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของธาตุอาหารกับการเจริญเติบโตสัมพัทธ์(relative growth) ของพืช แบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงขาดแคลน (deficient zone) ช่วงการเปลี่ยนสภาพ (transition zone) และช่วงพอเพียง (adequate zone) หรือบริโภคฟุ่มเฟือย (luxury consumption) เนื่องจากสะสมเพิ่มขึ้นไปเรื่อย ๆ โดยไม่เกิดประโยชน์ด้านการเพิ่มผลผลิต หากเลยช่วงพอเพียงจะถึงช่วงเป็นพิษ (toxic zone) ซึ่งพืชจะผิดปกติเนื่องจากพิษของธาตุอาหาร และส่งผลให้ผลผลิตลดลง ในช่วงสภาพเปลี่ยนแปลงนั้นความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ทำให้การเจริญเติบโตสัมพัทธ์ของพืชได้ 90% ของการเจริญเติบโตสูงสุด ค่าความเข้มข้นของธาตุที่ให้ผลดังกล่าวเรียกว่าความเข้มข้นวิกฤต (critical concentration) หรือระดับวิกฤต (critical level) เนื่องจากค่านี้มีความคาบเกี่ยวกับช่วงขาดแคลนจึงเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าระดับวิกฤตขาดแคลน (critical deficiency level) ส่วนค่าที่อยู่ในช่วงเปลี่ยนสภาพเข้าสู่ภาวะเป็นพิษ เนื่องจากผลผลิตสัมพัทธ์ลดลงเหลือ 90% เรียกว่าระดับวิกฤตเป็นพิษ (critical toxicity level) (Epstein and Bloom, 2005)

สังกะสีเป็นธาตุอาหารรองซึ่งพืชต้องการในปริมาณน้อย แต่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช รากพืชดูดสังกะสีในรูปของ Zn^{2+} โดยแพร่ผ่านราก (diffusion) อัตราการแพร่ขึ้นกับความชื้นในดิน ความเข้มข้นของสังกะสีที่พืชต้องการอยู่ในช่วง 25-150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้งของใบ (Havlin *et al*., 2005) และถ้าต่ำกว่า 15-20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้งของใบจะอยู่ในระดับขาดแคลนขั้นวิกฤต (Polar, 1975) บทบาทของธาตุสังกะสีที่มีต่อการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เจริญเติบโตของพืช เช่น เป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดสในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งช่วยในการรักษาสมดุลระหว่าง CO_2 และ HCO^-_3 เพื่อให้มี CO_2 ที่ละลายในไซโตซอล (cytosol) ของมีโซฟิลล์เพียงพอสำหรับการสังเคราะห์ด้วยแสง นอกจากนี้สังกะสีทำงานร่วมกับโพแทสเซียมในการควบคุมการปิด-เปิดของปากใบ เพื่อให้ CO_2 ไหลผ่านเข้าปากใบได้เต็มที่ (ยงยุทธ, 2552; Havlin *et al*., 2005) และยังมีความสำคัญในการสร้างทริปโตเฟน (tryptophan) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ฮอร์โมน IAA (Indole-3-Acetic Acid) ซึ่งมีหน้าที่กระตุ้นการขยายเซลล์ การเจริญเติบโตของลำต้น การแตกราก และใบอ่อน และยังเป็นองค์ประกอบสำคัญของเอนไซม์หลายชนิดที่มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยา เช่น เอนไซม์ คาร์บอนิกแอนไฮเดส และ carboxy peptidase และหน้าที่เชิงโครงสร้าง เช่น alcohol dehydrogenase และ Zn finger protein เป็นต้น (ยงยุทธ, 2552) การทำงานในระดับชีววิทยาโมเลกุลธาตุสังกะสียังมีบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึมของดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ ช่วยในการสังเคราะห์โปรตีน โดยพืชที่ขาดสังกะสีจะมีการสังเคราะห์โปรตีนลดลงทำให้มีการสะสมกรดอะมิโนในเซลล์พืช เนื่องจากการขาดธาตุสังกะสีทำให้เอนไซม์ที่มีสังกะสีเป็นองค์ประกอบหยุดกิจกรรมในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (Mengel and Kirkby, 2001)

ปริมาณสังกะสีในดินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังควรมีปริมาณสังกะสีในใบมันสำปะหลังอยู่ในช่วงค่าเฉลี่ย 25-120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ถ้าหากมีปริมาณของสังกะสีน้อยกว่าระดับนี้พืชจะแสดงอาการขาดธาตุ และเริ่มเป็นพิษเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยระยะการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังที่อายุ 2 เดือน จะพบปริมาณการสะสมของสังกะสี 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 3-4 เดือน จะความเข้มข้นของสังกะสีในใบจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเท่ากับ 30-60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Howeler, 1978) ซึ่งสังกะสีช่วยเร่งการเจริญเติบโต สร้างคลอโรฟิลล์ และการสะสมแป้งที่รากสะสมอาหารของมันสำปะหลังให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่ง Nair and Mohankumar (1980) พบว่าการใส่สังกะสีซัลเฟต 12.5 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมอัตรา 100 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 15 และยังเพิ่มปริมาณแป้ง และลดปริมาณไซยาไนด์ที่สะสมในรากสะสมอาหารมันสำปะหลังอีกด้วย

จากการใส่ปุ๋ยสังกะสีออกไซด์อัตรา 10-20 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ จะช่วยเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลัง แต่ถ้าใส่สังกะสีซัลเฟตลงในดินที่มีค่าความเป็นด่างสูง (pH สูง) จะไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิต (CIAT, 1978) เนื่องจากสังกะสีถูกทำให้ตกตะกอน โดยไอออนของสังกะสีจะเข้าไปดูด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ซับอยู่กับดินเหนียว หรือแคลเซียมคาร์บอเนต (Havlin *et al*., 2005) ดังนั้นการพ่นปุ๋ยทางใบ หรือการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยปุ๋ยสังกะสีซัลเฟตที่ละลายน้ำจะมีประสิทธิภาพมากกว่า (CIAT, 1978) นอกจากนี้การใส่ปุ๋ยสังกะสีทางดินอัตรา 0.8 กิโลกรัมต่อไร่ และวิธีการชุบท่อนพันธุ์ด้วยสังกะสีซัลเฟตความเข้มข้น 2% นาน 15 นาทีก่อนปลูก ส่งผลให้ผลผลิตหัวมันสดสูงสุดที่ 4,579 และ 4,567 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ขณะที่การไม่ใส่สังกะสีให้ผลผลิตหัวมันสดเพียง 4,070 กิโลกรัมต่อไร่ รวมทั้งการใส่สังกะสียังช่วยให้เปอร์เซ็นต์แป้ง และการสะสมแป้งในรากมันสำปะหลังเพิ่มสูงขึ้นด้วย และได้ทดลองเปรียบเทียบการใส่สังกะสีโดยการพ่นสังกะสีซัลเฟตความเข้มข้น 4% ที่อายุ 1, 2 และ 3 เดือน จะให้ผลผลิตหัวสดเพิ่มสูงขึ้น (928 กิโลกรัมต่อไร่) อีกด้วย (วัฒนะ และคณะ, 2547)

5.1 การเคลื่อนย้ายธาตุสังกะสี

การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารบริเวณรากของพืชจะเคลื่อนย้ายจากเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวไปยังคอร์เท็กซ์ (cortex) จนถึง parenchyma ของ xylem โดยวิถีซิมพลาสต์ซึ่งผ่าน plasmodesmata ต่อจากนั้นจึงถูกขนส่งเข้าสู่เวสเซล (vessel) อย่างไรก็ตามการเคลื่อนย้ายของธาตุนี้โดยวิถีอะโพพลาสต์ (apoplast) อาจเกิดขึ้นได้ในส่วนรากที่ Casparians strip ของ endodermis ที่พัฒนายังไม่เต็มที่ อย่างไรก็ตามการเคลื่อนย้ายของสังกะสีโดยวิถีอะโพพลาสต์ ขึ้นอยู่กับความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออน(cation exchange capacity, CEC) ของราก ระยะการพัฒนาของ Casparians strip และอัตราการไหลของน้ำ หาก CEC ของรากสูง แถบ Casparians strip เกือบเต็ม และมีการคายน้ำน้อย อัตราการแพร่ทางวิถีอะโพพลาสต์จะช้า สำหรับพืชที่ทนและสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีสังกะสีสูง เช่น *Thlaspi caerulescens* นอกจะสะสมธาตุนี้ในแวคิวโอลเหมือนพืชทั่วไปแล้ว ยังสามารถสะสมในอะโพพลาสต์ ซึ่งได้แก่ผนังของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวใบและผนังเซลล์ชั้น mesophyll ด้วย (Frey *et al*., 2000)

สังกะสีเป็นธาตุที่เคลื่อนย้ายได้ใน phloem การให้ปุ๋ยสังกะสีทางใบจึงสามารถตอบสนองความต้องการธาตุนี้ในระยะการเติบโตทางลำต้น (vegetative growth) ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว สังกะสีที่ให้ทางใบเคลื่อนย้ายทาง phloem ไปยังอวัยวะต่าง ๆ ของส่วนเหนือดินและราก สำหรับสังกะสีที่เคลื่อนย้ายใน phloem อยู่ในสารเชิงซ้อนของกรดซิทริก กรดมาลิก และนิโคเทียนามีน (nicotianamine) สำหรับนิโคเทียนามีนมีบทบาทในการเคลื่อนย้ายธาตุนี้จากใบแก่ไปยังใบอ่อน จากใบไปยังดอก และการเคลื่อนย้ายระหว่างส่วนต่างๆภายในเซลล์ เพื่อนำสังกะสีไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่งยังโปรตีนเป้าหมาย และเข้าไปอยู่ในโครงสร้างของโปรตีนนั้น ต้นข้าวที่ขาดสังกะสี สามารถเคลื่อนย้ายธาตุนี้จากใบแก่ไปยังใบอ่อนได้เร็วกว่าต้นข้าวที่มีระดับสังกะสีเพียงพอ และสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพต่อการใช้สังกะสีสูงจะเคลื่อนย้ายได้เร็วกว่าสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพต่ำ (Ghandiyan *et al*., 2006; Sharma, 2006; Pagr *et al*., 2006 อ้างโดย ยงยุทธ, 2552)

นอกจากนี้สังกะสีส่วนเกินที่พบจะมีผลกระทบเชิงลบทั้งใน phloem loading และการขนส่งของธาตุโลหะอื่น ๆ จึงอาจมีศักยภาพที่จะก่อให้เกิดการขาดและ/หรือความเป็นพิษได้ ซึ่งเป็นข้อจำกัดของการนำธาตุสังกะสีไปใช้ในกระบวนการสร้างพลังงาน ที่จะส่งผลให้ความสามารถในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารในโฟลเอม และการสร้างชีวมวลของพืชลดลงด้วย (Rauser and Samarakoon, 1980)

5.2 การตอบสนองเมื่อมันสำปะหลังขาดธาตุสังกะสี

เมื่อพืชขาดสังกะสีจะมีการตอบสนองตั้งแต่ระดับโมเลกุล ซึ่งส่งผลให้มีการปรับเปลี่ยนกระบวนการทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และเห็นอาการขาดได้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐาน ซึ่งการขาดธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การปลูกมันสำปะหลังในพื้นที่นั้นติดต่อกันเป็นเวลานาน และเกษตรกรใส่ปุ๋ยธาตุอาหารหลักเพียงอย่างเดียว ดินในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังเป็นดินเนื้อปูนซึ่งมักขาดธาตุสังกะสี ดินที่มีปริมาณฟอสฟอรัสสูง เนื่องจากธาตุฟอสฟอรัสส่งเสริมให้สังกะสีดูดซับติดกับผิวอนุภาคเหล็กและอะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ หรือเหล็กและอะลูมิเนียมออกไซด์ หรือแคลเซียมคาร์บอร์เนตทำให้ความเป็นประโยชน์ของสังกะสีในดินลดลง (Loneragen *et al*., 1979)

อาการขาดสังกะสีในพืชใบเลี้ยงคู่พบว่าต้นจะแกร็นเนื่องจากช่วงห่างระหว่างกิ่งก้านบนต้นแคบลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนยอดที่ยืดตัวช้ากว่าปกติ ทำให้ใบตอนบนเรียงซ้อนกันค่อนข้างชิด (rosetting) ใบอ่อนมีสีเหลืองซีด และปรากฏสีขาวประปรายตามแผ่นใบ โดยที่เส้นใบนั้นยังเขียวอยู่ ลักษณะของอาการที่ปรากฏอาจมีความคล้ายคลึงกับอาการเกิดโรคซึ่งเกิดจากไวรัส รากของพืชที่ขาดสังกะสีก็จะไม่เจริญตามปกติ โดยพบรากของข้าวบาร์เลย์ที่ขาดสังกะสีจะปรับเปลี่ยนลักษณะสัณฐานของรากให้มีความยาวมากขึ้นแต่ขนาดของรากเล็กลง นอกจากนี้หากเป็นสายพันธุ์ที่ดูดสังกะสีจากดินได้มากกว่าจะมีปริมาณของขนรากมากกว่าสายพันธุ์ที่ดูดธาตุได้น้อย (Genc *et al*., 2007) ซึ่งอธิบายได้ว่าสังกะสีนั้นมีส่วนช่วยในการสร้างออกซินหรือฮอร์โมนในพืช

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ซึ่งมีตั้งแต่ยอด และปลายราก ถ้าขาดสังกะสีการสร้างออกซินจะน้อยลงหรือผิดปกติ มีผลทำให้ยอดและรากไม่เจริญ รากจะมีลักษณะสั้นกว่าปกติ และพืชที่ขาดสังกะสีจะไม่ทนต่อสภาวะร้อนจัด หรือหนาวจัด ใบพืชจะเกิดการงอเป็นกระจุก และขนาดใบเล็กลง (Havlin *et al*., 2005)

นอกจากนี้การขาดสังกะสีของพืชมีผลกระทบต่อโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ ทั้งในมีโซฟิลล์เซลล์ และเซลล์ของชั้นหุ้มมัดท่อลำเลียง (bundle sheath) มีลักษณะอาการผิดปกติ โดยที่คลอโรพลาสต์ในเซลล์มีโซฟิลล์มีจำนวนกรานา (grana) น้อยลง และขนาดของไทลาคอยด์ในกรานาแต่ละชุดก็เล็กลงด้วย ส่วนคลอโรพลาสต์ของเซลล์ในชั้นหุ้มมัดท่อลำเลียง มีช่วงห่างระหว่างลาเมลลา (lamellar) กว้างขึ้น และมีการชำรุดของเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ carbonic anhydrase จะถูกยับยั้ง และมีผลต่อเนื่องทำให้การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ หรือปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชันลดลง โดยในพืช C_4 การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวจะทำให้ความเข้มข้นของ HCO_3^- ที่เป็นซับสเทรตของเอนไซม์ phosphoenalpyruvate carboxlase ลดลง กระบวนการคาร์บอกซิเลชันของพืช C_4 จึงลดลงด้วย ส่วนพืช C_3 ที่ต้องการคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตั้งต้น เอนไซม์ carbonic anhydrase จะเปลี่ยน HCO_3^- กลับมาเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเมื่อพืชขาดสังกะสีแล้วจะทำให้มีความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับปฏิกิริยาคาร์บอกซีเลชันน้อยลง แต่มีผลกระทบต่อพืช C_3 ไม่มากนัก แต่จะส่งผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของพืช C_4 ลดลงอย่างมาก (Lowlor, 2001)

จากการที่กิจกรรมของเอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดสจะลดลงอย่างมากแล้วนั้นยังส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตอีกสองชนิดลดลงอย่างเด่นชัดด้วย คือ 1) fructose-1,6-bisphosphatase เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน fructose-1,6-bisphosphate เป็น fructose-6-phosphate ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์ซูโครสและแป้ง 2) aldolase เร่งปฏิกิริยาการแยก fructose-1,6-bisphosphate เป็นสารประกอบซึ่งมีคาร์บอน 3 อะตอม จำนวน 2 ชนิด สังกะสีจึงมีบทบาทสำคัญในกระบวนไกลโคไลซิส การขาดธาตุนี้ย่อมมีผลกระทบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในพืชหลายกระบวนการ (Epstein and Bloom, 2005) ซึ่งอาจทำให้ใบพืชสะสมคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น เนื่องจากสาเหตุสำคัญประการหนึ่งคือ มีการเคลื่อนย้ายของคาร์โบไฮเดรตทางโฟลเอ็มน้อยลง จึงไม่มีที่รองรับอาหาร (sink) ซึ่งจะเคลื่อนย้ายออกจากใบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธาตุสังกะสีมีบทบาทร่วมกับโพแทสเซียมในการควบคุมการปิดและเปิดของปากใบ สังกะสีเป็นธาตุที่ช่วยให้เยื่อหุ้มเซลล์คุม (guard cell) มีโครงสร้างที่แข็งแรงและมั่นคง กลไกการดูดโพแทสเซียมเข้าไปสะสมในเซลล์คุมก็ดำเนินไปได้ตามปกติ นอกจากนี้โพแทสเซียมภายในเซลล์คุมก็ไม่รั่วไหลออกไปยังเซลล์ข้างเคียงด้วย จึงมีศักย์ออสโมซิส (osmotic potential) เพียงพอที่จะเกิดความเต่งและเปิดปากใบ เมื่อพืชขาดสังกะสีเซลล์คุมจะไม่เต่งและปากใบปิด เนื่องจากมีขับออก (efflux) ของโพแทสเซียมจากเซลล์คุมเป็นเหตุให้ปากใบปิด (Sharma *et al*., 1995) อีกทั้งทำให้ช่องปากใบเล็ก ความต้านทานต่อการแพร่ของคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านปากใบจึงสูงคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปได้น้อย จึงทำให้อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง

Grewal and Williams (2000) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของน้ำในดินกับระดับของธาตุสังกะสี พบว่า ที่ระดับต่ำ และความชื้นในดินอยู่ในสภาวะเครียดจะส่งผลให้น้ำหนักแห้งของปลายยอด พื้นที่ใบของอัลฟาฟ่าลดลง และผลผลิตของ chickpea ลดลงมากที่สุด (Khan *et al*., 2004) ขณะที่จะเกิดผลกระทบเพียงเล็กน้อยในดินที่มีความชื้นเพียงพอเมื่อมีปริมาณสังกะสีสูง ซึ่งสันนิษฐานว่ามีความแตกต่างของกลไกที่ซับซ้อน โดยปริมาณความชื้นในดินมีอิทธิพลต่อในการดูด และความเป็นประโยชน์ของสังกะสีในพืช นอกเหนือไปจากอิทธิพลของอัตราการแพร่ของไอออนสังกะสีภายในดิน โดยจะพบว่าการเจริญของรากลดลงในดินที่แห้งแล้ง แต่มีการยับยั้งในการเจริญของปลายยอดบ้างเล็กน้อย แต่บางครั้งยังก็สามารถส่งเสริมการเจริญปลายยอดด้วย จึงส่งผลให้อัตราของรากต่อส่วนยอดเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณน้ำในดินที่จำกัด (Hong and Ji-yun, 2007) โดย Kösesakal and Ünal (2009) พบการสะสมของธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นในทุกส่วนของพืชโดยเฉพาะกับราก *Raphanus sativus* เมื่อมีความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของ $ZnCl_2$ 10 mM จะมีปริมาณของสังกะสีในเนื้อเยื่อราก และ hypocotyl เพิ่มขึ้น และภายใต้สภาวะของความเป็นพิษของสังกะสี (1-5 mg $Zn.kg^{-1}$) สังกะสีจะสะสมในทุกส่วนของพืช และจะสะสมสูงสุดในราก

5.3 ความเป็นพิษของธาตุสังกะสีต่อพืช

ความเป็นพิษจากสังกะสีของพืชจะแสดงอาการคลอโรซิส (chlorosis) ที่ใบอ่อน และระดับที่แสดงอาการความเป็นพิษนี้สามารถดำเนินต่อไปจนใบอาจกลายเป็นสีแดง เนื่องจากการสร้างสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin)ในใบอ่อน และอาจพบอาการเนคโครซิส (necrosis) ในใบ และอาจตายในที่สุด (Ren *et al*., 1993) นอกจากนั้นใบอ่อนจะเหลืองซีดซึ่งเป็นอาการขาดเหล็กในภาวะที่สังกะสีมากเกินไป ทั้งนี้เพราะทั้งสองธาตุมีขนาดของไฮเดรตไอออน (hydrated ion)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใกล้เคียงกันจึงเป็นปฏิปักษ์ต่อกันในการดูดที่ราก และรากพืชดูดเหล็กมาได้น้อยลง (Boardman and McGuire, 1990 อ้างโดย ยงยุทธ, 2552) กลไกที่พืชใช้เพื่อความทนทานต่อการขาดสังกะสี คือ ควบคุมการดูดเข้าสู่เซลล์ราก (influx) มีกระบวนการขับออกจากเซลล์ราก (efflux) และการจัดเก็บเป็นสัดส่วนภายในเซลล์ (intracellular compartmentalization) ในรากที่ระดับของสังกะสีที่เป็นพิษจะเห็นได้ชัดจากการที่รากลดการเจริญเติบโต รากสั้นลง และเกิดอาการรากเหลือง หากความเข้มข้นสังกะสีบริเวณภายนอกสูงจะยับยั้งการยืดตัวเซลล์บริเวณลำต้น ซึ่งชี้ให้เห็นว่าไม่เกิดกิจกรรมของความเป็นพิษของสังกะสี เมื่อมีระดับสังกะสีเพิ่มขึ้น (Chakravarty and Srivastava, 1992)

ระดับที่เป็นพิษของสังกะสีใน *Phaseolus vulgaris* มีผลในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงระบบ I และ II จึงทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง (Van Assche and Clijsters, 1986) จากกลไกการทำงานของการแทนที่ของสังกะสีในแมกนีเซียมที่ตำแหน่งการแตกตัวของน้ำใน photosystem II ใน *Spinacia oleracea* (spinach) ที่มีสังกะสีมากเกินไปพบว่าการสังเคราะห์ ATP จะลดลง โดยได้ทดลองให้ความเข้มข้นของสังกะสี 1 mM ภายในเวลา 50 นาที ซึ่งจะลดการปลดปล่อยอิเล็กตรอนถึงร้อยละ 26 และไทลาคอยด์ที่ให้ความเข้มข้นของสังกะสีที่ระดับ 1 mM และ 2 mM เป็นเวลา 30 นาที จะเกิดการยับยั้งการแตกตัวของน้ำในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง II การคายน้ำใน *Hordeum vulgare* จะถูกยับยั้งเพียงเล็กน้อยเมื่อความเข้มข้นสังกะสีสูงขึ้น (Brune *et al*., 1994)

ความเข้มข้นที่เป็นพิษของ Zn^{2+} ยังลดระดับของคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และอัตราส่วนระหว่างคลอโรฟิลล์เอต่อบีในสโตรมา (stroma) ภายในคลอโรพลาสต์ จลหพลศาสตร์ของปฏิกิริยาชีวเคมี (kinetics of the biochemical reactions) จะขับเคลื่อนโดยกิจกรรมเอนไซม์ Rubisco ซึ่งมีความไวต่อสารพิษของธาตุสังกะสี ถึงแม้ว่า cation bivalent มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ Rubisco และความสมดุลของการจับกันระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจน ส่วน Co^{2+}, Ni^{2+} และ Zn^{2+} จะแทนที่ Mg^{2+} ในโครงสร้างของเอนไซม์ Rubisco ซึ่งเป็นกำหนดความสูญเสียในปฏิกิริยา (Reichman, 2002)

นอกจากนี้ในพืชหลาย ๆ ชนิด และพืชอาหารสัตว์ที่เจริญเติบโตภายใต้เงื่อนไขของความเป็นพิษของสังกะสี จะแสดงอาการขาดธาตุฟอสฟอรัส แต่ความเข้มข้นของธาตุนี้ในเนื้อเยื่อพืชยังอยู่ในระดับปกติ (Boawn and Rasmussen, 1971) การค้นพบนี้ชี้ให้เห็นว่าธาตุสังกะสีในระดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่เป็นพิษอาจมีผลทำให้พืชขาดฟอสฟอรัส ที่ไม่ได้มาจากผลกระทบโดยตรงของอิทธิพลการดูดธาตุฟอสฟอรัส แต่มาจากอิทธิพลของกระบวนการแมทาบอลิซึมของฟอสฟอรัสนั้นเอง เช่นเดียวกับหญ้าที่ได้รับสังกะสีที่สูง จะแสดงอาการขาดธาตุฟอสฟอรัสด้วย ถึงแม้ว่าจะมีความเข้มข้นของธาตุฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อปกติ (Plenderleith, 1984)

อาการขาดและความเป็นพิษของสังกะสีที่พบ เช่น การยับยั้งการขยายความยาวของปลายยอดและการพัฒนาบริเวณที่มีสีเขียวในต้นพืช พบว่า ผลของสังกะสีทำให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของใบ ปลายยอด ราก และความยาวของปลายยอดลดลงทั้งระดับสังกะสีต่ำ (0 ppm) และสังกะสีสูง (50 ppm) ส่วนความยาวรากจะลดลงในการขาดสังกะสี แต่จะมีความยาวเพิ่มขึ้นในระดับสูงของสังกะสี (Michael and Krishnaswamy, 2011) สอดคล้องกับ Ali *et al*. (1999) ที่ความยาวของปลายยอด และน้ำหนักสดของ *Bacopa monniera* จะเจริญเติบโตสูงสุดที่มีระดับธาตุสังกะสีเพียงพอ (400 μM) และจะลดลงเมื่อขาดสังกะสี (0-300 μM) และได้รับสังกะสีในระดับสูง (600-900 μM) เนื่องจากการที่ได้รับสังกะสีสูงเกินไปจะยับยั้งการขยายตัวของเซลล์ในเนื้อเยื่อเจริญปลายราก (root meristem) อีกทั้งจะเกิดลักษณะแบบเดียวกันในอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงด้วย

5.4 ผลของธาตุสังกะสีต่อลักษณะทางกายวิภาคของพืช

เมื่อพืชแสดงอาการขาดสังกะสีทำให้เนื้อเยื่อสูญเสียบูรณภาพ (membrane integrity) เนื่องจากธาตุนี้มีบทบาทสำคัญในการคงความสมบูรณ์แบบของเยื่อโดยการจับกับฟอสโฟลิพิด (phospholipid) และหมู่ซัลไฮดริล (-SH) อันเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อหรือจับกับส่วนที่ยื่นของซีสเทอีน (cystein)ในสายโซ่พอลิเพปไทด์ จัดโครงสร้างให้เป็นสารเชิงซ้อน tetrahedral จึงช่วยคุ้มครองเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นลิพิด และโปรตีนไม่ให้เสียหายจากการเกิดออกซิเดชัน ควบคุมการเกิดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) เมื่อขาดสังกะสีพบว่าเยื่อหุ้มเซลล์รากมีการเปลี่ยนแปลงไปโดยสภาพให้ซึมได้ (permeability) มีสูงกว่าปกติ จึงมีการรั่วซึมโมเลกุลของสารอินทรีย์ ปริมาณของฟอสโฟลิพิด และกรดไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อเยื่อลดลง แต่เมื่อพืชได้รับสังกะสีจนถึงระดับพอเพียงเนื้อเยื่อก็กลับมีความสมบูรณ์ดังเดิมภายใน 12 ชั่วโมง และเนื้อเยื่อของเวสซิเคิล (vesicle) จากรากที่ขาดสังกะสีก็มีสภาพให้ซึมได้แบบแพสซีพ (passive) มากกว่าที่มาจากรากซึ่งได้รับสังกะสีเพียงพอ เนื้อเยื่อจากพืชที่ขาดสังกะสีมีโครงสร้างบางส่วนชำรุด และสภาพให้ซึมได้สูงกว่าปกติทำให้พืชมีอาการเหลืองซีดและเนื้อเยื่อใบตายบางบริเวณ ตลอดจนชะงักการยืดตัวของลำต้น (ยงยุทธ, 2552)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลักษณะทางกายวิภาคของพืชที่ได้รับธาตุอาหารที่ปกติของใบต้น Pecan (*Carya illinoinensis*) epidermis ด้านบน และด้านล่างจะเป็นแบบ uniserate ส่วนของ palisade และ spongy mesophyll จะเต็มไปด้วยไซโทพลาสซึม (cytoplasm) คลอโรพลาสต์ (chloroplast) และแวคิวโอล (vacuole) จำนวนน้อย ซึ่งมีความแตกต่างกันที่ palisade เซลล์จะมีช่องว่างภายในเซลล์น้อยกว่าเซลล์ spongy แต่เมื่อพืชขาดสังกะสีที่ไม่รุนแรงเซลล์ palisade จะกว้าง สั้น และมีแวคิวโอลมากกว่าใบที่ได้รับสังกะสีเพียงพอ รวมทั้งขนาดของ epidermis, spongy mesophyll และแวคิวโอลในเซลล์ spongy จะเพิ่มขึ้น ส่วนใบที่แสดงอาการขาดสังกะสีที่รุนแรงเซลล์ mesophyll จะเกิดความเสียหาย และยังส่งผลให้ความหนา ความสูงของเซลล์ palisade เนื้อเยื่อชั้น spongy และจำนวนเซลล์ palisade ต่อความยาวของพื้นที่ผิวใบลดลง (Kim and Wetzstein, 2003)

สำหรับพืชที่มีการสะสมสังกะสีที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ขนาดของ mesophyll ลดลงใน *Arabidopsis halleri* (Zhao *et al*., 2000) palisade และ epidermis จะลดลงในต้นที่มีการรับธาตุสังกะสีสูง (100 mM $ZnSO_4$.7H2O) ที่เปรียบเทียบกับชุดควบคุมสังกะสี (0.5 μM) พบการหยุดเจริญของเซลล์ spongy และ palisade parenchyma มีผลต่อการเสียหายของเซลล์ และการลดช่องว่างระหว่างเซลล์ อีกทั้งยังส่งผลให้หยุดสร้างคลอโรพลาสต์ใน bush bean ที่มีผลจากการสะสมของแคดเมียมซึ่งเป็นธาตุโลหะหนัก (Maruthi Sridhar *et al*., 2005)

Todeschini *et al*. (2011) ศึกษาผลของความเข้มข้นสูงของสังกะสีของใบ poplar จะพบชั้นเซลล์ palisade 2 ชั้น มีความหนา และความกว้างของเซลล์ในชั้นนี้มากกว่าใบที่ขาดธาตุสังกะสี และจะพบในลักษณะเดียวกันในเนื้อเยื่อเซลล์ spongy ผนังเซลล์ของใบที่ได้รับสังกะสีจะมีลักษณะเป็นลอนโค้ง และบางกว่าใบที่ไม่ได้รับสังกะสี เซลล์ชั้น palisade parenchyma จะมีช่องว่างภายในเซลล์มากกว่า และมีจำนวนของคลอโรพลาสต์ในเซลล์ palisade ลดลง นอกจากนี้ยังพบจุดหนาสีดำตามผนังของไซเลม และโฟลเอม (Maruthi Sridhar *et al*., 2005) และมีจำนวนของ xylem element (protoxylem และ metaxylem) กับการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ในพืชที่มีแมงกานีสเกิน 5,000 mmol/L จะสูงกว่าพืชที่มีการควบคุมแมงกานีสที่ระดับ 100 mmol/L (Santandrea *et al*., 1998)

6. การแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) ในมันสำปะหลัง

กลุ่มยีนที่มีหน้าที่ขนส่งสังกะสีภายในต้นพืชที่เรียกว่า ยีน *ZIP* ที่ถูกระบุใน Arabidopsis สำหรับในพืชการแสดงออกของยีน *ZIP1* และ *ZIP3* จะพบการแสดงออกส่วนใหญ่ในรากของพืชที่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีผลกระทบจากการขาดธาตุสังกะสี ซึ่งจะมีการขนส่งสังกะสีจากดินเข้าสู่ต้นพืช นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของยีน *ZIP4* ที่ปลายยอด และรากของพืชที่มีสังกะสีอยู่จำกัด ดังนั้นยีน *ZIP4* อาจจะมีการขนส่งกันเฉพาะภายในเซลล์หรือระหว่างเนื้อเยื่อของพืช ยีน *ZIP* ถูกรวมกันไปกับกลุ่มที่มีหน้าที่ในการขนส่ง เหล็ก สังกะสี แมงกานีส และแคดเมียม ซึ่งเป็นกลุ่มยีนที่มีความแตกต่างในค่าเฉลี่ย และความจำเพาะของสารตั้งต้น (Guerinot, 2000; Mäser *et al*., 2001) และยีนในกลุ่มนี้ถูกจำแนกในพวกแบคทีเรีย อาร์เคีย (archea) และพวกยูคาริโอตทั้งหมด ซึ่งพบประมาณ 85 ยีน และมีอยู่ 15 ยีนที่พบใน *Arabidopsis thaliana* (Mäser *et al*., 2001)

Moreau *et al*., (2002) ศึกษาการแสดงออกของยีน *GmZIP1* ของถั่วเหลือง ซึ่งยีนชนิดนี้แสดงออกในการขนส่งธาตุสังกะสี แต่จะไม่พบการแสดงออกในการขนส่งธาตุอื่น ๆ เช่น ธาตุเหล็กและแมงกานีส ยีน *GmZIP1* นี้แสดงออกในปมรากของถั่วเหลือง แต่ไม่แสดงออกในส่วนของราก ใบ หรือลำต้น และโปรตีนจะถูกจำกัดในเนื้อเยื่อของ peribacteroid ที่มีบทบาทต่อการอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิต Bamrungsetthapong *et al*. (2010) ได้โคลนยีน และศึกษาลักษณะของ *ZIP* ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง และศึกษาการแสดงออกของยีน *MeZIP* พบว่า ยีนนี้จะแสดงออกในระดับสูงในใบอ่อนของมันสำปะหลังมากกว่าส่วนของต้น และราก ดังนั้นรูปแบบของการแสดงออกของยีนนี้จะขึ้นอยู่กับความแตกต่างของส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาศึกษา และช่วงเวลาของการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ชี้ให้เห็นว่า *MeZIP* จะต้องมีส่วนเกี่ยวข้องในการดูดธาตุสังกะสีที่ช่วงระยะการพัฒนาที่แตกต่างกัน รวมทั้งช่วงเวลาของการเจริญเติบโต รูปแบบการแสดงออกของยีนในใบ ราก และลำต้น มีการถ่ายทอดในระดับสูงของยีนนี้ สามารถสังเกตได้ในช่วง 5-6 สัปดาห์ และการแสดงออกจะลดลงทีละน้อย เช่นเดียวกับ Ishimaru *et al*. (2005) ศึกษาการแสดงออกของยีน *OsZIP*4 ในข้าว พบว่ายีนนี้ถูกชักนำให้เกิดการแสดงออกสูงที่สุดในใบ เมื่อเกิดสภาวะการขาดธาตุ ในทางตรงกันข้ามมีการรายงานที่แตกต่างกันกับ Grotz *et al*. (1998) ที่พบการแสดงออกของ *ZIP1* และ *ZIP 3* ในระดับสูงที่ราก และ *ZIP4* ที่ราก และปลายยอดของ *A. thaliana*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ทั่วไป
   1.1 ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50
   1.2 กระถางปลูกพลาสติก ขนาด 10x15 เซนติเมตร
   1.3 กระบะพลาสติก ขนาด 40x50x10 เซนติเมตร
   1.4 แผ่นโฟมหนา 3 เซนติเมตร
   1.5 ปั๊มให้อากาศ
   1.6 หัวให้อากาศในน้ำ
   1.7 สายยาง
   1.8 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
   1.9 เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
   1.10 ตู้อบ (hot air oven)

2. อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์การสังเคราะห์ด้วยแสง และธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง
   2.1 เครื่องวัดความเขียวใบ (chlorophyll meter)
   2.2 เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AAS)
   2.3 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
   2.4 เครื่องย่อยสลายตัวอย่างอัตโนมัติ (microwave digestion oven)
   2.5 N, N - dimethylformamide (DMF)
   2.6 กรดไนตริก (HNO_3)
   2.7 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
   2.8 ตะแกรง ขนาด 20 ไมครอน
   2.9 กระดาษกรองเบอร์ 1
   2.10 Hot plate

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีน

3.1 5 M NaCl

3.2 0.5 M Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)

3.3 Tris HCl pH 8.0

3.4 Chloroform

3.5 Isoamyl alcohol

3.6 Cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB)

3.7 2-Mercapto ethanol ; C_2H_6OS

3.8 Dimethly dicarbonate (DMDC); $C_4H_6O_5$

3.9 Ethanol

3.10 Polyvinylpyrrolidone (PVP)

3.11 ไนโตรเจนเหลว

3.12 1 u/µl DNase I, RNase-free

3.13 5X Reaction buffer (Fermentas)

3.14 Agarose

3.15 20u/µl RiboLock™ RNAse Inhibitor

3.16 100 mM dNTPs

3.17 RevertAid™ reverse transcriptase

3.18 10X Reaction buffer with $MgCl_2$ for DNase I

3.19 5X Reaction buffer for M-MuLV RT

3.20 Isopropanol

3.21 เครื่อง Eco™ Real-time PCR

3.22 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR machine)

3.23 เครื่อง Nanodrop 2000 spectrophotometer

4. อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการศึกษาทางกายวิภาค

4.1 เครื่องดูดอากาศ (suction pump)

4.2 เครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบหมุน (rotary microtome)

4.3 เครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer)

4.4 กล้องจุลทรรศน์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.5 กระจกสไลด์ และกระจกปิดสไลด์

4.6 ขวดแก้วสำหรับย้อมสี (straining jar)

4.7 น้ำยาฆ่าและคงสภาพเนื้อเยื่อ FAA (formalin acetic alcohol)

4.8 เอทิลแอลกอฮอล์

4.9 Tertiary butyl alcohol

4.10 Parafin oil

4.11 Haupt's adhesive

4.12 Formalin

4.13 สี Safanin T

4.14 สี Fast green FCF

4.15 Xylene

4.16 Ether

4.17 Permount

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์และลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

Oligonucleotide primers	Sequences 5' ⟶ 3'
MeZIP227F	TGGGACTTTGATGGTTGATG
MeZIP227R	GAACCACAATTCCCAACTCC
Vr18srRNA_F	GCTACTCGGATAACCGTAGT
Vr18srRNA_R	ACCAGACTTGCCCTCCAATG

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

1. การเตรียมเพาะท่อนพันธุ์และระบบไฮโดรโพนิกส์

เตรียมพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ขนาดท่อนพันธุ์ยาว 20 เซนติเมตร เพาะท่อนพันธุ์ในกระถางปลูกโดยใช้ทรายละเอียดเป็นวัสดุปลูกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนย้ายท่อนพันธุ์ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ในกระบะขนาด 40x50x10 เซนติเมตร มีความจุ 35 ลิตร

วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design จำนวน 3 ซ้ำ ๆ โดยมีปัจจัยศึกษา 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 5 ระดับ ดังนี้

1) ระดับที่ไม่มีสังกะสี (0 μm)

2) ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 1 μm

3) ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μm (control) ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นปกติของสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland (Hoagland ans Arnon, 1950) (ตารางที่ 2)

4) ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 10 μm

5) ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 100 μm

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการศึกษาหลังจากย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหารก่อนสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ได้แก่ 2, 4 และ 6 สัปดาห์

เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังเพื่อวิเคราะห์การเจริญเติบโต และข้อมูลลักษณะทางการเกษตรที่ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร โดยการเตรียมสารละลายเจือจาง สำหรับการปลูกมันสำปะหลังในระบบไฮโดรโพนิกส์ นำธาตุอาหารเข้มข้นทั้งหมดที่เตรียมไว้มาเจือจางกับ deionized H_2O ให้ได้ปริมาตรในกระบะพลาสติกขนาด 35 ลิตร ให้ออกซิเจนในแต่ละกระบะโดยอาศัยปั๊มอากาศ เพื่อเติมออกซิเจน และให้เกิดการหมุนเวียนของสารละลายธาตุอาหาร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก ๆ 2 สัปดาห์ ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 5.5-6.5 โดยในระหว่างสัปดาห์มีการตรวจวัดค่ากรด-ด่าง ทุก ๆ 2 วัน ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Multi-Parameter test รุ่น 35) หากพบว่าค่ากรด-ด่างเปลี่ยนแปลงไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากที่กำหนด จะปรับค่าด้วยกรด HCl ในกรณีที่มีค่าเป็นด่าง (pH สูงกว่ากำหนด) และปรับด้วย NaOH ในกรณีที่มีค่าเป็นกรด (pH ต่ำกว่ากำหนด)

ตารางที่ 2 ปริมาณธาตุอาหารในสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950)

Compound	Element	Final concentration of element
Macronutrients		(mM)
KNO_3	N	16.00
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	K	0.60
$NH_4H_2PO_4$	Ca	0.40
$MgSO_4.7H_2O$	P	0.20
	S	0.10
	Mg	0.10
Micronutrients		(μM)
KCl	Cl	50.00
H_3BO_3	B	25.00
$MnSO_4.H_2O$	Mn	2.00
$ZnSO_4.7H_2O$	Zn	2.00
$CuSO_4.5H_2O$	Cu	0.50
H_2MoO_4	Mo	0.50
Fe-EDTA	Fe	10.00

การเก็บข้อมูล

1. ข้อมูลทางสรีรวิทยาการเจริญเติบโต

1.1 วัดความสูงต้น จำนวนต้น (ต้นที่งอกขึ้นใหม่จากตาของท่อนพันธุ์) และความยาวรากมันสำปะหลังที่แตกออกมาจากท่อนพันธุ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งรากของแต่ละช่วงอายุของการเก็บเกี่ยว แล้วสุ่มตัวอย่างของแต่ละปัจจัย แล้วนำมาชั่งน้ำหนักโดยเครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล ส่วนการหาน้ำหนักแห้งรากโดยการนำรากที่ชั่งหาค่าน้ำหนักสดเรียบร้อยแล้วนำไปอบในตู้อบแห้ง โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 65 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักแห้งคงที่แล้วนำมาชั่ง และบันทึกผล

1.3 น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินในของแต่ละช่วงอายุของการเก็บเกี่ยว ส่วนเหนือดิน กล่าวคือ ส่วนที่พ้นเหนือดินที่ปลูก ประกอบด้วย ลำต้น กิ่ง และใบ นำมาชั่งน้ำหนักในแต่ละส่วนแยกกัน จากนั้นนำไปอบในตู้อบแห้ง โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 65 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักแห้งคงที่แล้วนำมาชั่ง และบันทึกผล

1.4 ดัชนีความเขียว วัดดัชนีความเขียว (SPAD Index) โดยใช้เครื่อง Chlorophyll Meter (รุ่น SPAD-502 บริษัท Minolta Camera ประเทศญี่ปุ่น) บริเวณช่วงกลางของแฉกกลางของใบบนสุดที่คลี่กางเต็มที่ ให้ระยะวัดอยู่ห่างเส้นกลางใบ โดยวัดค่าเฉลี่ย 10 จุด ทำเครื่องหมายบริเวณที่วัดไว้แล้วติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีความเขียว ค่าดัชนีความเขียวที่ได้ใช้คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ จากความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีความเขียวกับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลัง ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ได้ดังนี้

วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ โดยเลือกใบจากต้นที่คัดเลือกไว้ (เป็นคนละใบกับที่ใช้ติดตามที่กล่าวในข้างต้น) เริ่มวัดตั้งแต่ใบอ่อนที่สามารถวัดได้เป็นค่าเฉลี่ย 5 จุด หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างใบบริเวณที่วัดโดยเจาะด้วยอุปกรณ์เจาะใบรูปวงกลมพื้นที่ 1.0 ตารางเซนติเมตร นำตัวอย่างแช่ในสารเคมี DMF (N,N-Dimethyformamide) ปริมาตร 4 มิลลิลิตรที่บรรจุในขวดแก้ว นำไปเก็บในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันไม่ให้คลอโรฟิลล์ถูกทำลายด้วยแสงแดด ทิ้งไว้ 24-48 ชั่วโมงจนแผ่นใบมีสีซีดขาว ซึ่งแสดงว่าคลอโรฟิลล์ถูกสกัดออกมาหมด และวัดค่าดูดกลืนแสง (absorbant, A) ของสารละลายที่ความยาวคลื่น 647 และ 664 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (GeneQuant 1300, USA) คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามสูตรของ Moran (1982)

ปริมาณ Chlorophyll a (mg dm^{-2}) = $(12.64\ A_{664} - 2.99A_{647}) \times Vol \times (Y \times Area \times 10)^{-1}$

ปริมาณ Chlorophyll b (mg dm^{-2}) = $(23.26\ A_{647} - 5.6A_{664}) \times Vol \times (Y \times Area \times 10)^{-1}$

Total Chlorophyll (mg dm^{-2}) = $(7.04\ A_{664} + 20.27A_{647}) \times Vol \times (Y \times Area \times 10)^{-1}$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อ A_{664} ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 664 nm

A_{647} ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 647 nm

Vol ปริมาณของ DMF ที่ใช้ในการสกัด (ml)

Y Dilution factor หรือปริมาณก่อนการเจือจางหารด้วยปริมาณการเจือจาง (ใช้เมื่อสารละลายที่ได้จากการสกัดมีความเข้มข้นสูงเกินไป: ค่า A สูงกว่า 0.8)

Area พื้นที่แผ่นใบตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์ (cm^2)

2. การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุสังกะสี

2.1 เก็บตัวอย่างในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง เช่น ใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังในแต่ละช่วงการเจริญเติบโต เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร โดยนำตัวอย่างไปอบแห้งที่ 65 องศาเซลเซียส บดให้ละเอียด และกรองด้วยตะแกรงขนาด 63 ไมครอนชั่งเก็บไว้ประมาณ 0.5 กรัม แล้วนำไปย่อยด้วยกรดไนตริก (HNO_3) 4 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 2 มิลลิลิตร ในเครื่องย่อยสลายตัวอย่างอัตโนมัติ (multiwave™ 3000, Germany) จนได้เป็นสารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรสารละลายที่ได้ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และเก็บสารละลายที่ได้ไว้วัดค่าปริมาณธาตุสังกะสี

2.2 เตรียมสารละลายที่เป็นค่ามาตรฐานนำไปวัดค่าด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (Perkin-Elmer Analyst 300, USA) และนำสารละลายตัวอย่างมาวัดค่าที่ความยาวคลื่น 213.9 นาโนเมตร หาความเข้มข้นของสังกะสีจากกราฟมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณสังกะสีในตัวอย่างพืชตามสมการ

$$\% \text{ สังกะสี} = \frac{\text{ปริมาตรที่ปรับ (ml) x ความเข้มข้น (mg/l) x dilution factor x } 10^{-4}}{\text{น้ำหนักพืช (g)}}$$

2.3 คำนวณหาปริมาณการดูดธาตุสังกะสีจากการคำนวณปริมาณของสังกะสีในส่วนยอด ($mg.kg^{-1}$) (zinc uptake) และค่าประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากธาตุสังกะสี (zinc utilization efficiency; ZnUtE) ตามสมการ (El-Nasharty *et al*., 2013)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Zn uptake (total amount of Zn in shoot mg.plant^{-1}) = Shoot dry weight (g.plant^{-1}) x Zn concentration (mg.kg^{-1})

$$ZnUtE\ (g\ DM.mg\ Zn_{uptake}^{-1}) = \frac{\text{Dry matter (g.plant}^{-1})}{\text{mg Zn}}$$

3. การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี relative quantification real-time PCR

3.1 การสกัดอาร์เอ็นเอรวม

3.1.1 เก็บตัวอย่างใบ ลำต้น และรากมันสำปะหลังของระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันเพื่อทำการสกัด RNA โดยดัดแปลงตามวิธีการของ Doyle and Doyle (1990) นำตัวอย่างที่ได้บดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว ปริมาณ 2 กรัม ถ่ายใส่หลอดเซนติฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร เติม 2% CTAB buffer (2% CTAB, 5 M NaCl, 0.5 M EDTA, 1M Tris HCl, pH 8.0, 1% PVP และ DMDC treated H_2O) 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เก็บส่วนใสชั้นบน ประมาณ 700 ไมโครลิตร และถ่ายลงสู่หลอดเซนติฟิวจ์ใหม่

3.1.2 นำสารละลายที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติม Chloroform : iso-amyalcohol (24:1) ปริมาตร 1 เท่าของสารละลาย ผสมให้เข้ากัน และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ย้ายสารละลายใสส่วนบนที่ได้ 500 ไมโครลิตรลงในหลอดเซนติฟิวจ์ใหม่

3.1.3 เติม isopropanol ปริมาตร 1 เท่าของสารละลาย ผสมให้เข้ากัน และทิ้งไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทสารละลายส่วนบนทิ้ง และเก็บตะกอนไว้

3.1.4 ล้างตะกอนด้วย 70% ethanol 500 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เวลา 10 นาที ดูด ethanol ทิ้ง ตากตะกอนให้แห้ง และละลายตะกอน total RNA ด้วย DMDC-treated H_2O 10-30 ไมโครลิตร และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

3.1.5 ตรวจสอบความเข้มข้นของ total RNA โดยใช้ Nanodrop 2000 spectrophoto meter (Thermo scientific, USA) ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (A_{260} และ A_{280}) แล้วคำนวณความเข้มข้นของสารละลาย total RNA จากสูตร ดังนี้

$$1.0\ A_{260} = 40\ \mu g/ml$$

และตรวจสอบคุณภาพของกรดนิวคลีอิก โดยหาอัตราส่วนของ A_{260}/ A_{280} ถ้ามากกว่า 2.0 แสดงว่า RNA ค่อนข้างบริสุทธิ์ และสามารถนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไป

3.2 Digestion DNA by using DNase I

3.2.1 นำ RNA ปริมาณ 10 ไมโครลิตร เติม DNase buffer (10X DNase buffer, 1u/µl DNase I และ DMDC treated H_2O) 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3.2.2 เติม 0.5 M EDTA ปริมาณ 2 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3.3 การสังเคราะห์ complementary DNA (cDNA)

3.3.1 สังเคราะห์ First strand cDNA จาก Total RNA ของส่วนต่างๆ ของมันสำปะหลัง โดยใช้ RevertAid™ First stand cDNA synthesis ตามวิธีการของบริษัท Fermentas โดยเตรียมส่วนผสมในการทำปฏิกิริยาใส่ลงในหลอดพีซีอาร์ ประกอบด้วยอาร์เอ็นเอที่ได้จากขั้นตอนที่ 4.2 ความเข้มข้นประมาณ 10 ไมโครกรัม เติม 100 ไมโครโมล Oligo $(dT)_{18}$ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และเติม DMDC treated H_2O ปรับปริมาตรให้ได้ 12.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการปั่นเหวี่ยงอย่างรวดเร็ว 3-5 วินาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR machine)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3.2 เตรียม Master mix ของปฏิกิริยา ซึ่งประกอบด้วย 5X Reaction buffer 4 ไมโครลิตร RiboLock™ Ribonuclease Inhibitor ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร 10 mM dNTPs ปริมาตร 2 ไมโครลิตร และ RevertAid reverse transcriptase 1 ไมโครลิตร ปริมาตรรวม 7.5 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายดังกล่าวในหลอดพีซีอาร์หลอดเดิมซึ่งจะได้สารละลายปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ผสมสารดังกล่าวให้เข้ากันและปั่นเหวี่ยงให้สารละลายทั้งหมดรวมกันอยู่ที่บริเวณก้นหลอด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้

3.4 การศึกษาการแสดงออกของยีน *ZIP* โดยวิธี Relative quantification Real-time PCR

3.4.1 นำ first strand cDNA ของตัวอย่างของมันสำปะหลัง จากข้อ 4.3.2 มาเป็น Template และใช้ specific primers ของยีน *ZIP* ที่ออกแบบมาจากลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของ cDNA ของยีน *ZIP* จำนวน 1 คู่ แล้วทำการเปรียบเทียบกับยีน Vr18s rRNA เป็นยีน house keeping

3.4.2 เตรียมส่วนผสมของสารเคมีสำหรับใช้ทำปฏิกิริยา ประกอบด้วย First stand cDNA (dilute 1:50) 2 ไมโครลิตร 5 µM Forward primer 0.2 ไมโครลิตร 5 µM Reverse primer 0.2 ไมโครลิตร 2X master mix 5 ไมโครลิตร และ DMDC treated H_2O 2.6 ไมโครลิตร ได้ปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ใส่สารข้างต้นลงใน 46 well plates ปิดทับด้วย Eco adhesive seals จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง Eco™ Real-Time PCR system (Illumina, สหรัฐอเมริกา) ที่กำหนดให้มีสภาวะการทำงานดังนี้

UDG pre-treatment	50 องศาเซลเซียส	2 นาที	1 รอบ
Initial denaturation	95 องศาเซลเซียส	10 นาที	1 รอบ
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	15 วินาที	40 รอบ
Annealing	60 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Extention	72 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
	95 องศาเซลเซียส	15 วินาที	1 รอบ
Melt curve	55 องศาเซลเซียส	15 วินาที	1 รอบ
	95 องศาเซลเซียส	15 วินาที	1 รอบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4.3 บันทึกผลค่า quantification cycle หรือ C_T จากโปรแกรม Eco™ Software version 4.0.7.0 เพื่อใช้ในการวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีน และวิเคราะห์ความแตกต่างการแสดงออกของยีน *ZIP*

3.4.4 การวิเคราะห์ผลที่ได้จากเทคนิค Real-time PCR

นำค่า C_T ที่ได้ของทุก ๆ ตัวอย่าง มาคำนวณเพื่อหาค่า relative expression ratio ตามวิธีการของ Livak and Schmittgen (2001) ซึ่งค่า relative expression ratio สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Relative expression ratio} = 2^{-(\Delta\Delta_{CT})}$$

เมื่อค่า ΔC_T คือ ความแตกต่างของค่า C_T ของยีน *ZIP* กับค่า C_T ของ 18s rRNA ที่ใช้ในการทดลอง โดยสามารถเขียนเป็นสมการได้ ดังนี้

$$\text{Relative expression ratio ของยีน } ZIP \; \Delta C_T = C_T \; ZIP - C_T \; 18s \; rRNA$$

จากนั้นนำค่า ΔC_T จากการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μM ($(\Delta C_T)_{2\ \mu M\ Zn}$) ใช้เป็น calibrator สำหรับการปรับค่า ΔC_T ของการทดลองในแต่ละระดับของความเข้มข้นของสังกะสีให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน โดยค่าที่ได้จากการคำนวณดังกล่าว เรียกว่า $\Delta\Delta C_T$ และสามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$\Delta\Delta C_T = (\Delta C_T)_{n\ Zn} - (\Delta C_T)_{2\ \mu M\ Zn}$$

นำค่า $\Delta\Delta C_T$ ที่ได้มาคำนวณหาค่า relative expression ratio ตามสูตรการคำนวณข้างต้น โดยใช้โปรแกรม Microsoft excel (Microsoft, สหรัฐอเมริกา)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การศึกษากายวิภาคของมันสำปะหลัง

เก็บส่วนใบของมันสำปะหลังเพื่อใช้ในการศึกษาด้วยเทคนิคพาราฟิน ตามวิธีการประศาสตร์ (2551) โดยการเก็บใบที่เจริญเต็มที่ (ใบที่ 2 จากปลายยอด) ตัดตัวอย่างให้มีขนาด 0.3x0.5 เซนติเมตร เมื่อเก็บตัวอย่างแล้วให้เตรียมขั้นตอนการทำสไลด์ถาวร ดังนี้

4.1 ตัดตัวอย่างพืชยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร แช่ตัวอย่างใน FAA (formalin acetic acid alcohol) 50% นานอย่างน้อย 12 ชั่วโมง ดูดอากาศออกด้วย suction pump ที่ความดัน 25 ปอนด์/ตารางนิ้ว ล้างด้วยเอทานอล 50% 3 ครั้ง ๆ ละอย่างน้อย 3 ชั่วโมง

4.2 แช่ในความเข้มข้นของ TBA (tertiary butly alcohol) 50%, 70%, 85%, 95% และ 100% นานขั้นละ 12 ชั่วโมง แล้วแช่ใน pure TBA 3 ครั้ง ๆ ละ อย่างน้อย 12 ชั่วโมง และ pure TBA ผสม paraffin oil (liquid) อย่างน้อย 12 ชั่วโมงที่ 60 องศาเซลเซียส

4.3 แช่ใน paraplast อย่างน้อย 12 ชั่วโมงที่ 60 องศาเซลเซียส และเปลี่ยน paraplast อีก 3 ครั้ง ๆ ละ อย่างน้อย 12 ชั่วโมงที่ 60 องศาเซลเซียส

4.4 ทำการ embed ลงในเบ้า แล้วทิ้งไว้ให้เย็น ตัดแต่งตัวอย่างแล้วติดลงบนแท่งไม้หรือโลหะ แล้วตัดตัวอย่างด้วยเครื่อง rotary microtome (SLEE medical รุ่น CUT 5062, Germany) ที่ความหนา 10-20 ไมครอน

4.5 ติด (affix) ตัวอย่างลงบนสไลด์ด้วย formalin 3% โดยใช้ Haupt's adhesive เป็นกาวยึดและวางสไลด์บนแท่นอุ่นที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส แล้วเก็บสไลด์ไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 5 วัน

4.6 แช่ใน xylene ประมาณ 5 นาที และแช่ใน xylene ผสม absolute ethanol (1:1) ตามด้วยแช่ใน ether ผสม absolute ethanol (1:1) ขั้นละนานประมาณ 5 นาที จากนั้นแช่ในเอทานอล 95%, 70%, 50% และ 30% นานขั้นละประมาณ 5 นาที

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.7 ย้อมสีในสี safanin T นานประมาณ 10 นาที แล้วล้างสีส่วนเกินด้วยน้ำประปา แล้วแช่ในเอทานอล 30%, 50%, 70% และ 95% นานขั้นละประมาณ 5 นาที

4.8 ย้อมสี fast green FCF โดยการหยดสี 1-3 หยด ล้างออกด้วยเอทานอล 95% และ absolute ethanol จากนั้นแช่ใน xylene ผสม absolute ethanol (1:1) นานประมาณ 5 นาที และใน xylene นานประมาณ 6 ชั่วโมง

4.9 ปิดตัวอย่างด้วยกระจกปิดสไลด์ โดยใช้ permount เป็นตัวยึด นำไปอบด้วยหลอดไฟจนแห้งสนิท เก็บบรรจุในกล่องเก็บสไลด์

4.10 ถ่ายภาพจากสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Olympus รุ่น CX21, USA) ที่เชื่อมต่อกับโปรแกรม Motic image Plus 2.0 สำหรับถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ และเก็บบันทึกข้อมูล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

โรงเรือนปลูกพืชทดลองและห้องปฏิบัติการทางชีวโมเลกุล ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ห้องปฏิบัติการวิจัยทรัพยากรพันธุกรรม และการพัฒนาพันธุ์พืช ศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ห้องปฏิบัติการไมโครเทคนิคทางพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ระยะเวลาทำการวิจัยตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2556 และสิ้นสุดเดือนธันวาคม 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. ข้อมูลการเจริญเติบโต

จากการทดลองอิทธิพลของระดับสังกะสีที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ประกอบด้วย 0, 1, 2, 10 และ 100 μM ในสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland's solution มีระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (weeks after transplanting; WAP) มีผลต่อการเจริญเติบโตทางสรีรวิทยาของมันสำปะหลังในด้านต่าง ๆ ดังนี้

1.1 ความสูงต้น

อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันมีผลต่อความสูงของมันสำปะหลัง เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3 และตารางผนวกที่ 5) ความสูงของต้นมันสำปะหลังที่ระดับสังกะสี 0 μM จะมีความสูงต่ำกว่าระดับสังกะสีอื่น ๆ (ภาพที่ 1) และเมื่อเปรียบเทียบกับระดับสังกะสีที่ระดับปกติ (2 μM) จะมีค่าความสูงลดลงร้อยละ 14.4 (ตารางผนวกที่ 1) แต่เมื่อมันสำปะหลังได้รับปริมาณสังกะสีที่เพิ่มขึ้นจากระดับปกติจะมีค่าความสูงเพิ่มขึ้นที่ 37.7 เซนติเมตร เพิ่มขึ้นร้อยละ 18.5 ที่ระดับสังกะสี 10 μM และค่าความสูงจะลดลงเมื่อระดับสังกะสีสูงสุด (100 μM) มีค่าความสูงที่ 35.0 เซนติเมตร เพิ่มขึ้นจากระดับสังกะสีปกติคิดเป็นร้อยละ 10 สำหรับอิทธิพลของระดับสังกะสีมีผลต่อความสูงของมันสำปะหลังที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหารพบว่า ความสูงของมันสำปะหลังเพิ่มสูงขึ้นในแต่ละสัปดาห์ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ มีความสูงเพิ่มขึ้นที่ 4 สัปดาห์ (31.1 เซนติเมตร) และ 6 สัปดาห์ (48.9 เซนติเมตร) คิดเป็นร้อยละ 69.3 และ 166.3 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความสูงที่ 2 สัปดาห์ (18.4 เซนติเมตร) หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (ตารางที่ 3 และตารางผนวกที่ 1) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ธาตุสังกะสีมีส่วนสำคัญต่อการสร้างการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งบาทของธาตุสังกะสีมีผลต่อกระบวนการการสังเคราะห์ออกซิน (Indole-3-Acetic acid) ที่สามารถเข้าไปส่งเสริมการขยายความยาว (elongation) ของการเจริญส่วนยอด และการสร้างน้ำหนักแห้ง ดังนั้นธาตุสังกะสีจึงมีความสำคัญต่อกิจกรรมของเอนไซม์ การสังเคราะห์โปรตีน และเสถียรภาพของเนื้อเยื่อ (El-Bendary *et al*., 2013) เมื่อพืชมีการขาดธาตุสังกะสีจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ เช่น การเจริญเติบโตของลำต้น ขนาดของใบ และผลลดลง (Marchner, 1995) Talukdar and Aarts (2008) ศึกษาผลของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธาตุสังกะสีใน A. *thaliana* พบว่า เมื่อ A. *thaliana* เจริญเติบโตภายใต้สภาพของการขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 4 สัปดาห์ จะมีการแสดงอาการคลอโรซีส และใบมีขนาดเล็กมากเมื่อเปรียบเทียบกับสภาพที่ได้รับสังกะสีเพียงพอ นอกจากนี้ผลของการขาดธาตุสังกะสีนั้นยังทำให้เกิด photo-oxidative ที่ส่วนยอดมีผลทำให้การเจริญปลายยอดของพืชลดลงได้เช่นกัน (Genc *et al*., 2002)

1.2 ความยาวราก

ผลของระดับสังกะสีที่แตกต่างกันในสารละลายธาตุอาหารมีผลต่อความยาวรากของมันสำปะหลัง และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ระดับของสังกะสีที่แตกต่างกันมีผลต่อความยาวราก และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 6) ซึ่งความยาวรากจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับสังกะสีเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2) และมีความยาวรากสูงสุดที่ระดับสังกะสี 10 μM มีความยาวราก 36.8 เซนติเมตร เพิ่มขึ้นร้อยละ 29.5 (ตารางที่ 3 และตารางผนวกที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับสังกะสีปกติ (2 μM) และความยาวของรากลดลงเมื่อระดับสังกะสีสูงสุด (100 μM) มีความยาว 29.1 เซนติเมตร โดยระดับของสังกะสี 100 μM มีความยาวรากเพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 2.5 เมื่อเปรียบเทียบกับระดับสังกะสี 2 μM และเมื่อระดับธาตุสังกะสีที่ต่ำกว่าระดับปกติ (2 μM) จะมีความยาวรากลดลงร้อยละ 3.2 และ 4.6 ที่ระดับสังกะสี 0 μM และ 1 μM ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 1)

ภายหลังจากย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร ความยาวรากเพิ่มขึ้นในแต่ละสัปดาห์ที่มีการเก็บข้อมูล เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวรากที่ 2 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีความยาวราก 21.7 เซนติเมตร ความยาวของรากของมันสำปะหลังที่ 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหารเพิ่มขึ้นร้อยละ 32.5 (28.8 เซนติเมตร) และ 78.7 (38.8 เซนติเมตร) ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และตารางผนวกที่1) ผลการทดลองสอดคล้องกับ Talukda and Aarts (2008) ที่ได้รายงานว่า ความยาวรากของ *A. thaliana* ลดลงเมื่อเจริญเติบโตในสภาพการขาดธาตุสังกะสีเมื่อเปรียบเทียบกับความยาวรากที่เจริญเติบโตในสภาพที่ได้รับธาตุสังกะสีเพียงพอ (2 μM) นอกจากนี้ในสภาพขาดธาตุสังกะสีรากของข้าวบาร์เลย์จะปรับเปลี่ยนลักษณะทางสัณฐานให้มีความยาวมากขึ้นแต่รากจะมีขนาดเล็กลง อีกทั้งถ้าข้าวบาร์เลย์เป็นสายพันธุ์ที่สามารถดูดธาตุสังกะสีจากดินได้ในปริมาณมากจะทำให้มีปริมาณขนรากมากกว่าข้าวบาร์เลย์สายพันธุ์ที่สามารถดูดธาตุสังกะสีได้น้อย (Genc *et al*., 2007) สามารถอธิบายได้ว่าธาตุสังกะสีนั้นเป็นตัวช่วยในกระบวนการสร้างออกซินหรือฮอร์โมนในพืช ซึ่งมีตั้งแต่ยอด และปลายราก ถ้าขาดธาตุสังกะสีการสร้างออกซิน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จะลดลงหรือมีความผิดปกติ มีผลทำให้ยอด และรากไม่เจริญ ส่งผลให้รากมีลักษณะสั้นกว่าปกติ และพืชที่ขาดสังกะสีจะไม่ทนต่อสภาวะร้อนจัด หรือหนาวจัด ใบพืชจะเกิดการงอเป็นกระจุก และใบจะมีเล็กลงอีกด้วย (Havlin *et al*., 2005)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อความสูงลำต้น และความยาวรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

สัปดาห์	ระดับสังกะสี (μM)	ความสูง	ความยาวราก
		----------(เซนติเมตร)----------	
2	0	18.6	18.2
	1	16.0	16.8
	2	17.9	18.6
	10	18.9	32.3
	100	20.3	22.7
4	0	21.6	28.0
	1	30.3	25.1
	2	30.1	25.4
	10	37.9	36.3
	100	35.3	29.0
6	0	41.5	36.3
	1	49.8	39.3
	2	47.4	41.2
	10	56.3	41.8
	100	49.4	35.5

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 (ต่อ)

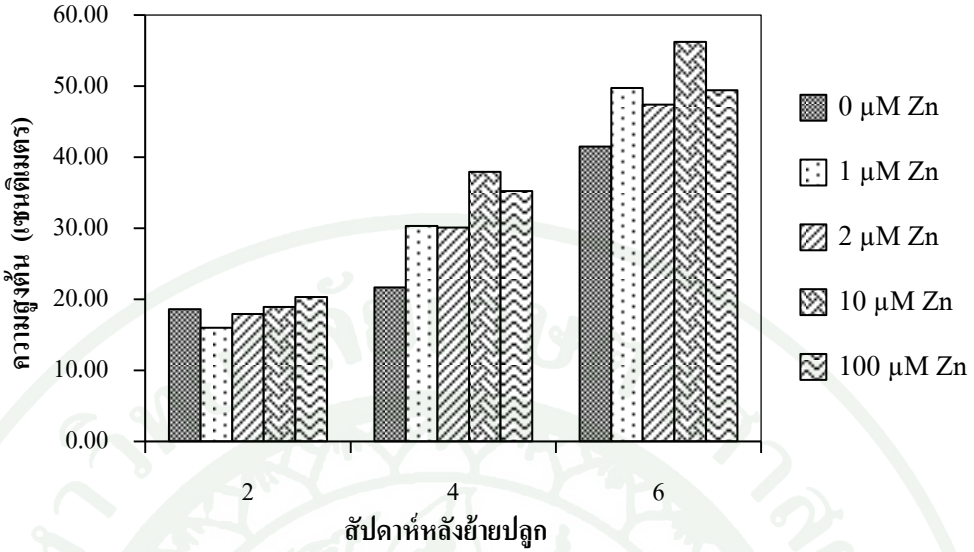
ข้อมูล	ความสูง	ความยาวราก
	----------(เซนติเมตร)----------	
ระดับสังกะสี (µM)		
0	27.2	27.5B
1	32.0	27.1B
2	31.8	28.4B
10	37.7	36.8A
100	35.0	29.1B
F-test	ns	**
สัปดาห์		
2	18.4C	21.7C
4	31.1B	28.8B
6	48.9A	38.8A
F-test	**	**
ระดับสังกะสี*สัปดาห์	ns	ns
CV (%)	24.6	18.4

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

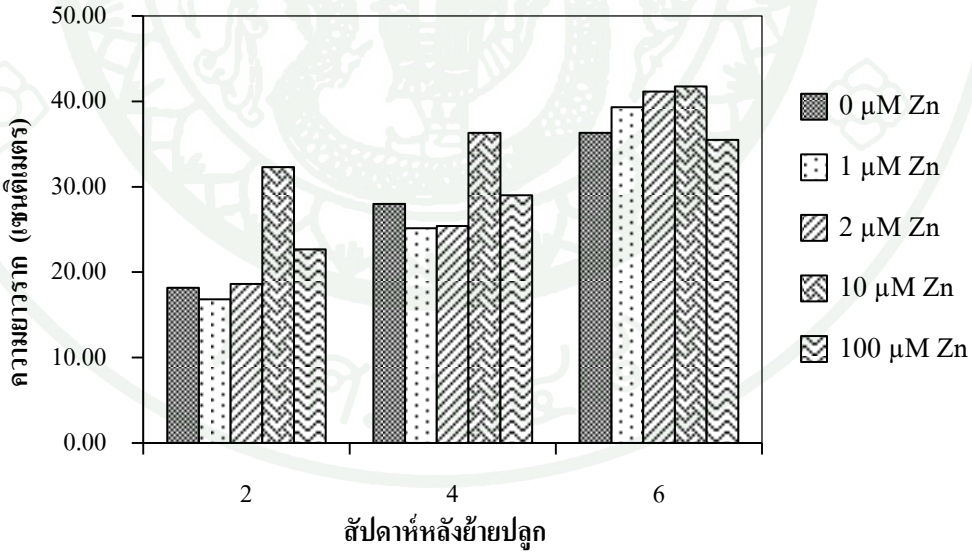
** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 ความสูงต้น (เซนติเมตร) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร



ภาพที่ 2 ความยาวราก (เซนติเมตร) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3 น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

ผลของระดับสังกะสีที่แตกต่างกันส่งผลให้น้ำหนักสดของมันสำปะหลังทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อระดับสังกะสีเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 1-100 μM (ภาพที่ 3) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ น้ำหนักสดของใบ และราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 7 และ 9) กล่าวคือ น้ำหนักสดใบจะมีน้ำหนักสูงสุดที่มีระดับสังกะสี 1-100 μM จะมีน้ำหนักสดอยู่ระหว่าง 29.3-34.0 กรัมต่อต้น และน้ำหนักสดรากจะมีน้ำหนักสดสูงสุดที่ระดับการให้สังกะสี 1-100 μM เช่นเดียวกัน จะมีน้ำหนักสดอยู่ระหว่าง 20.7-23.1 กรัมต่อต้น และจะมีน้ำหนักสดในใบ และรากน้อยที่สุดในระดับการขาดสังกะสี (0 μM) 16.2 และ 11.5 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 4) ลดลงร้อยละ 44.6 และ 47.2 ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับสังกะสีปกติ (2 μM) สำหรับน้ำหนักสดลำต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 8) แต่น้ำหนักสดลำต้นจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีเพิ่มขึ้น 1-100 μM (13.3-16.8 กรัมต่อต้น) และมีน้ำหนักสดลำต้นต่ำสุดในสารละลายธาตุอาหารที่ขาดธาตุสังกะสี (7.3 กรัมต่อต้น) ลดลงร้อยละ 44.7 เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักสดลำต้นที่เจริญเติบโตในธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีปกติ (2 μM)

สำหรับการสะสมน้ำหนักสดของมันสำปะหลังที่อายุการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ทั้งในส่วนใบ ราก และลำต้นจะมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นเมื่ออายุเพิ่มมากขึ้น และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติในทุก ๆ ส่วนของมันสำปะหลัง (ตารางผนวกที่ 7, 8 และ 9) น้ำหนักสดใบมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 2-6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหารมีค่าน้ำหนักสดอยู่ที่ 17.1, 20.8 และ 49.2 กรัมต่อต้น ตามลำดับ น้ำหนักสดลำต้นมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น 8.2. 8.4 และ 23.4 กรัมต่อต้น ตามลำดับ และน้ำหนักสดรากมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น 11.4, 14.1และ 34.5 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

นอกจากนี้มวลรวมน้ำหนักสดของมันสำปะหลังเพิ่มมากขึ้นในสารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 5A และ 6) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า มวลรวมของน้ำหนักสดของมันสำปะหลัง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 13) โดยมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ขาดสังกะสีจะมีมวลรวมน้ำหนักสดต่ำที่สุด 35.0 กรัมต่อต้น ลดลงร้อยละ 45.5 (ตารางผนวกที่ 3) และมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสังกะสีที่เพิ่มขึ้น 1-100 μM มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 64.3-73.1 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 5) อีกทั้งมวลรวม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้ำหนักสดจะสะสมเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเจริญเติบโตซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีน้ำหนักสดตั้งแต่ 2-6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ 36.7, 43.3 และ 107.1 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ส่วนอิทธิพลต่อการสร้างน้ำหนักแห้งในแต่ละส่วนของมันสำปะหลังนั้นมีการสร้างน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับระดับสังกะสีที่เพิ่มขึ้นในสารละลายธาตุอาหาร (ภาพที่ 4) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างทางสถิติ มีเฉพาะน้ำหนักแห้งใบที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 10) มีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นที่ระดับสังกะสี 1-100 μM มีค่าน้ำหนักแห้งอยู่ระหว่าง 4.8-6.5 กรัมต่อต้น และมีน้ำหนักแห้งใบน้อยที่สุดในสารละลายธาตุอาหารที่ขาดสังกะสีซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 3.5 กรัมต่อต้น ลดลงร้อยละ 37 (ตารางที่ 4 และตารางผนวกที่ 2) ส่วนน้ำหนักแห้งลำต้นและรากของมันสำปะหลังไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 11 และ 12) แต่มีการสร้างน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น เมื่อมีปริมาณสังกะสีเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับน้ำหนักแห้งใบ ซึ่งน้ำหนักแห้งลำต้นและรากของมันสำปะหลังอยู่ระหว่าง 1.7-2.1 และ 1.1-1.2 กรัมต่อต้น ตามลำดับ และการสร้างน้ำหนักแห้งในสารลายที่ขาดสังกะสีจะมีน้ำหนักแห้งต่ำที่สุด คือ 1.0 และ 0.6 กรัมต่อต้น ลดลงร้อยละ 42.7 และ 48.7 ในลำต้น และราก ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และตารางผนวกที่ 2)

ส่วนการสร้างน้ำหนักแห้งในแต่ละส่วนของมันสำปะหลังที่อายุการเจริญเติบโตแตกต่างกัน มีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ น้ำหนักสดใบมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 2-6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ 3.8, 3.6 และ 8.6 กรัมต่อต้น ตามลำดับ น้ำหนักสดลำต้นเพิ่มขึ้น 1.0, 0.9 และ 3.3 กรัมต่อต้น ตามลำดับ และน้ำหนักสดรากเพิ่มขึ้น 0.4, 0.6 และ 2.1 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

นอกจากนี้มวลรวมน้ำหนักแห้งของมันสำปะหลังเพิ่มมากขึ้นเมื่อระดับสังกะสีเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 5B และ 6) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 14) สารละลายธาตุอาหารที่มีสังกะสีจะมีมวลน้ำหนักแห้งมากกว่าในสารละลายธาตุอาหารที่ขาดสังกะสีซึ่งมีมวลรวมน้ำหนักแห้งต่ำที่สุดที่ 5.1 กรัมต่อต้น ส่วนระดับสังกะสี 1-100 μM ในสารละลายธาตุอาหารมีมวลรวมน้ำหนักแห้งอยู่ระหว่าง 8.0-9.7 กรัมต่อต้น อีกทั้งมีการสะสมมวลรวมน้ำหนักแห้งเพิ่มมากขึ้น และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตตั้งแต่ 2-6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร และที่อายุ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหารจะมีมวลรวมน้ำหนักแห้งสูงที่สุดที่ 14.0 กรัมต่อต้น เพิ่มขึ้นร้อยละ 173.0 (ตารางที่ 5 และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 3) จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการรายงานผลของธาตุสังกะสีที่มีผลกระทบต่อการสร้างมวลชีวภาพของพืชในหลายชนิด ซึ่งผลการศึกษามีความสอดคล้องกันกับผลการทดลองนี้ เช่น Sachdev *et al*. (1998) ศึกษาในข้าวสาลีรายงานว่า ข้าวสาลีจะมีผลผลิตเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการใส่ปุ๋ยสังกะสีซึ่งสังกะสีไปมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ และกระตุ้นฟังก์ชันกิจกรรมของเอนไซม์แมทาบอลิซึม และการสร้างออกซิน ที่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต และขนส่งสารเหล่านี้ไปยังส่วนที่มีการสร้างผลผลิตของพืช (Pedda Babu *et al*., 2007) เช่นเดียวกับ Cakmak *et al*. (1999) ที่มีการศึกษาในข้าวสาลีพบว่า การสร้างน้ำหนักแห้งส่วนยอดของข้าวสาลีลดลงเมื่อข้าวสาลีเจริญเติบโตภายใต้สภาพขาดธาตุสังกะสี และมีน้ำหนักแห้งต่ำกว่าข้าวสาลีที่เจริญเติบโตในสภาพที่มีธาตุสังกะสีที่เพียงพอ

นอกจากนี้สังกะสียังมีผลทำให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของใบ ปลายยอด ราก และความยาวของปลายยอดลดลงทั้งระดับสังกะสีต่ำ (0 ppm) และระดับสังกะสีสูง (50 ppm) ส่วนความยาวรากจะลดลงในการขาดสังกะสี แต่ความยาวเพิ่มขึ้นในระดับสังกะสีที่เพิ่มสูงขึ้น (Michael and Krishnaswamy, 2011) สอดคล้องกับ Ali *et al*. (1999) ที่ความยาวของปลายยอด และน้ำหนักสดของ *Bacopa monniera* จะเติบโตสูงสุดที่ระดับสังกะสีเพียงพอ (400 μM) และลดลงเมื่อระดับสังกะสีต่ำ (0-300 μM) และเมื่อได้รับสังกะสีในระดับที่สูงขึ้น (600-900 μM) เนื่องจากการที่พืชได้รับสังกะสีสูงเกินไปจะยับยั้งการขยายตัวของเซลล์ในเนื้อเยื่อเจริญปลายราก (root meristem) อีกทั้งจะเกิดลักษณะแบบเดียวกันต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงด้วย สำหรับมันสำปะหลังได้ศึกษาผลของธาตุสังกะสีด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า มวลน้ำหนักสดและแห้งของใบ ลำต้น และราก ลดลงภายใต้สภาพการขาดธาตุสังกะสี และลดลงเมื่อมันสำปะหลังอยู่ภายใต้สภาพที่มีธาตุสังกะสีสูง (0.22 mM) เมื่อเปรียบเทียบกับสภาพที่มีสังกะสีในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรปกติ (0.15 mM) (Bamrungsetthapong *et al*., 2010)

นอกจากนี้ในพืชหลาย ๆ ชนิด และพืชอาหารสัตว์ที่เจริญเติบโตภายใต้เงื่อนไขของความเป็นพิษของสังกะสี จะแสดงอาการขาดธาตุฟอสฟอรัส แต่ความเข้มข้นของธาตุนี้ในเนื้อเยื่อพืชยังอยู่ในระดับปกติ (Boawn and Rasmussen, 1971) การค้นพบนี้ชี้ให้เห็นว่าธาตุสังกะสีในระดับที่เป็นพิษอาจมีผลทำให้พืชขาดฟอสฟอรัสที่ไม่ได้มาจากผลกระทบโดยตรงของอิทธิพลการดูดธาตุฟอสฟอรัส แต่มาจากอิทธิพลของกระบวนการแมทาบอลิซึมของฟอสฟอรัสนั้นเอง เช่นเดียวกับหญ้าที่ได้รับสังกะสีที่สูง จะแสดงอาการขาดธาตุฟอสฟอรัสด้วย ถึงแม้ว่าจะมีความเข้มข้นของธาตุฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อปกติ (Plenderleith, 1984) Talukdar and Aarts 2008 ศึกษาใน *Thlaspi caerulescens*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่มีอายุ 16 สัปดาห์พบว่า น้ำหนักส่วนเหนือดิน และรากลดลง ในสภาพการเจริญเติบโตที่ขาดธาตุสังกะสี และในสภาพที่มีธาตุสังกะสีสูง (1,000 μM) เช่นเดียวกับการศึกษาในถั่ว ที่เจริญเติบโตในสภาพที่มีธาตุสังกะสีสูง (500 μM) มีผลทำให้น้ำหนักสดลดลงร้อยละ 43 เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วที่เจริญเติบโตในสภาพที่มีสังกะสี 1 μM (Vassilev *et al*., 2011) รวมถึงการศึกษาใน *Myracrodruon urundeuva* (Gomes *et al*., 2013) พบว่าสังกะสีมีผลทั้งกระตุ้น และเป็นอันตรายต่อการสร้างมวลชีวภาพ ทั้งน้ำหนักสดและแห้งสูงเมื่อมีปริมาณธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับระดับการขาดธาตุสังกะสี และมีเฉพาะน้ำหนักสดลดลง เมื่อระดับธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้น 120-200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในข้าวบาร์เลย์ น้ำหนักแห้งส่วนบน และรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีการเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสี (Genc *et al*., 2002)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของใบ ลำต้น และราก ของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

สัปดาห์	ระดับสังกะสี (µM)	น้ำหนักสด			น้ำหนักแห้ง		
		ใบ	ลำต้น	ราก	ใบ	ลำต้น	ราก
		(กรัม/ต้น)					
2	0	9.0	4.5	3.2	3.0	0.7	0.2
	1	30.4	12.3	21.6	5.6	1.4	0.7
	2	14.8	7.8	12.3	3.4	0.9	0.4
	10	10.5	5.3	7.8	3.8	0.8	0.4
	100	20.6	11.1	12.3	3.2	0.9	0.3
4	0	8.9	4.2	6.1	1.7	0.5	0.3
	1	17.6	6.9	14.1	3.0	0.6	0.6
	2	20.5	6.9	13.5	3.6	0.7	0.6
	10	30.6	13.5	17.8	5.0	1.4	0.8
	100	26.3	10.6	19.2	4.5	1.2	0.8
6	0	30.8	13.4	25.1	5.8	1.8	1.3
	1	54.1	24.6	33.7	10.2	3.4	2.0
	2	52.7	25.0	39.3	9.8	3.5	2.5
	10	55.6	25.2	36.4	10.7	3.9	2.2
	100	52.7	28.9	38.0	6.6	4.2	2.3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ข้อมูล	น้ำหนักสด			น้ำหนักแห้ง		
	ใบ	ลำต้น	ราก	ใบ	ลำต้น	ราก
	----------(กรัม/ต้น)----------					
ระดับสังกะสี (µM)						
0	16.2B	7.3	11.5B	3.5B	1.0	0.6
1	34.0A	14.6	23.1A	6.3A	1.8	1.1
2	29.3A	13.3	21.7A	5.6A	1.7	1.2
10	32.3A	14.6	20.7A	6.5A	2.0	1.1
100	33.2A	16.8	23.1A	4.8A	2.1	1.1
F-test	**	ns	**	*	ns	ns
สัปดาห์						
2	17.1B	8.2B	11.4B	3.8B	1.0B	0.4B
4	20.8B	8.4B	14.1B	3.6B	0.9B	0.6B
6	49.2A	23.4A	34.5A	8.6A	3.3A	2.1A
F-test	**	**	**	**	**	**
ระดับสังกะสี*สัปดาห์	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	35.1	49.4	31.7	35.7	56.9	42.6

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อมวลรวมสด และมวลรวมแห้งแห้งของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

สัปดาห์	ระดับสังกะสี (μM)	มวลรวมพืช	
		มวลสด	มวลแห้ง
		----------(กรัม/ต้น)----------	
2	0	16.7	3.8
	1	64.2	7.6
	2	34.9	4.8
	10	23.6	5.0
	100	43.9	4.5
4	0	19.1	2.5
	1	38.7	4.2
	2	41.0	4.9
	10	61.9	7.3
	100	56.0	6.5
6	0	69.3	8.9
	1	112.4	15.6
	2	117.0	15.8
	10	117.2	16.7
	100	119.5	13.1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 (ต่อ)

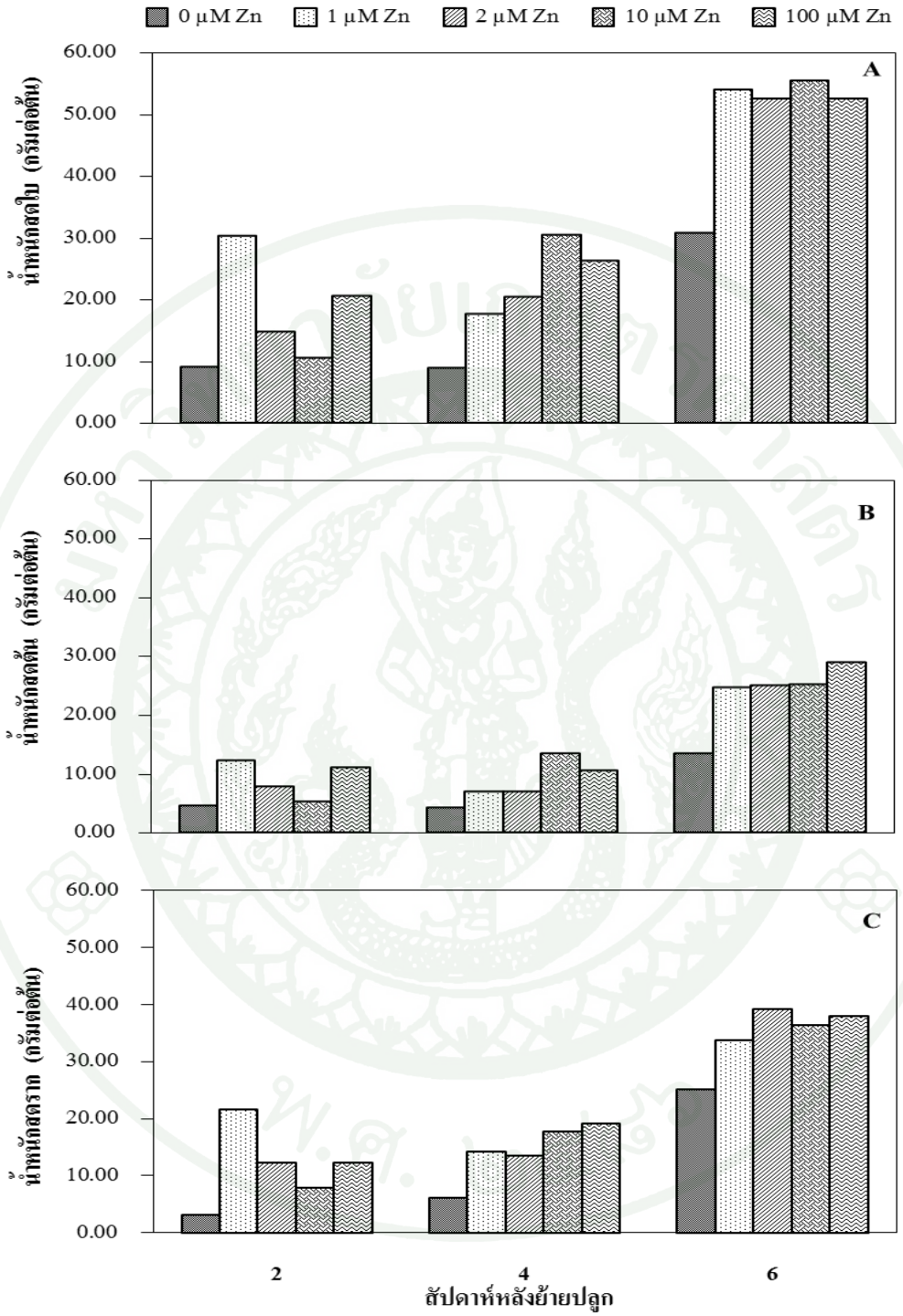
ข้อมูล	มวลรวมพืช	
	มวลสด	มวลแห้ง
	----------(กรัม/ต้น)----------	
ระดับสังกะสี (µM)		
0	35.0B	5.1B
1	71.8A	9.1A
2	64.3A	8.5A
10	67.6A	9.7A
100	73.1A	8.0A
F-test	**	*
สัปดาห์		
2	36.7B	5.1B
4	43.3B	5.1B
6	107.1A	14.0A
F-test	**	**
ระดับสังกะสี*สัปดาห์	ns	ns
CV (%)	35.6	37.1

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

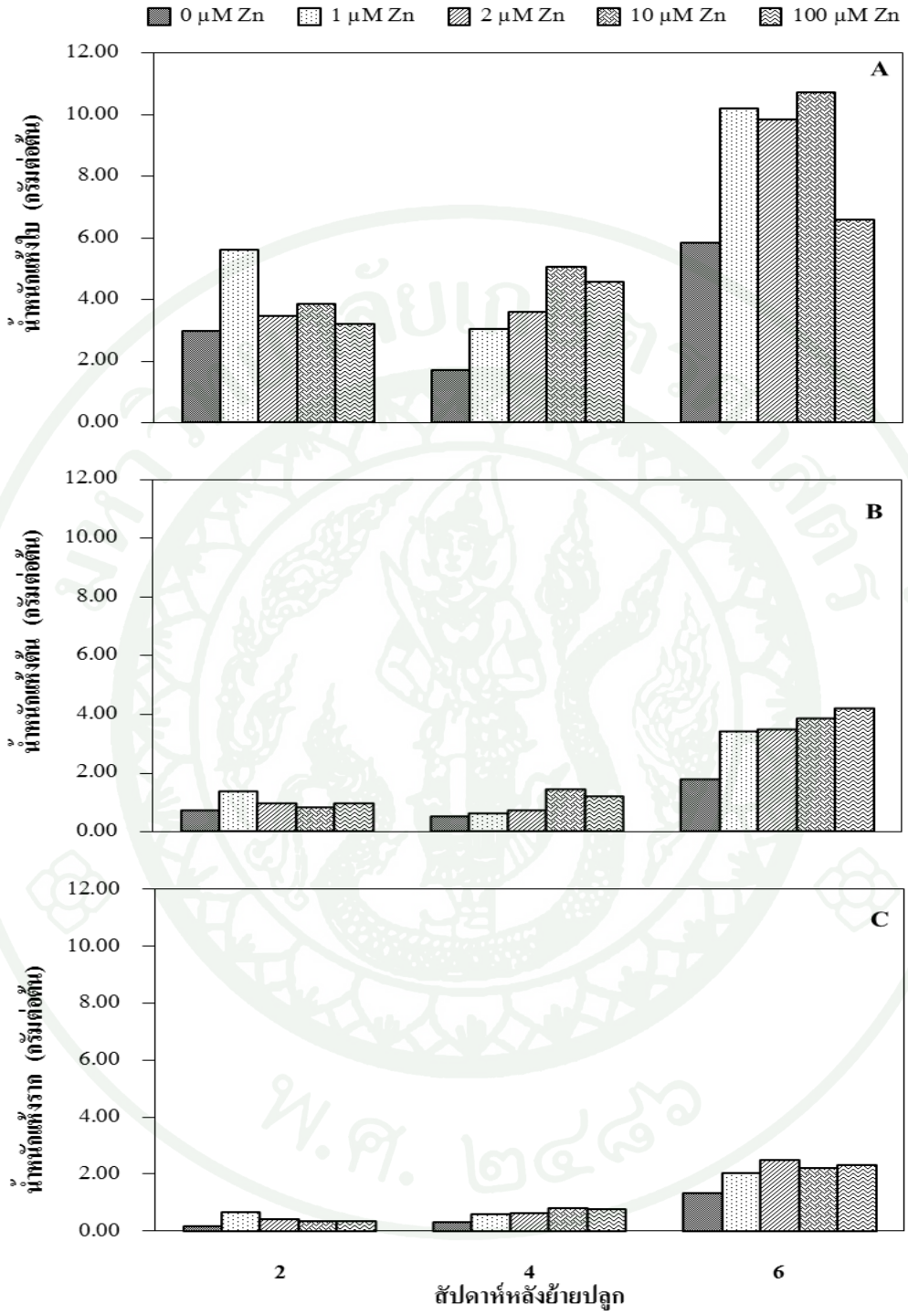
* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



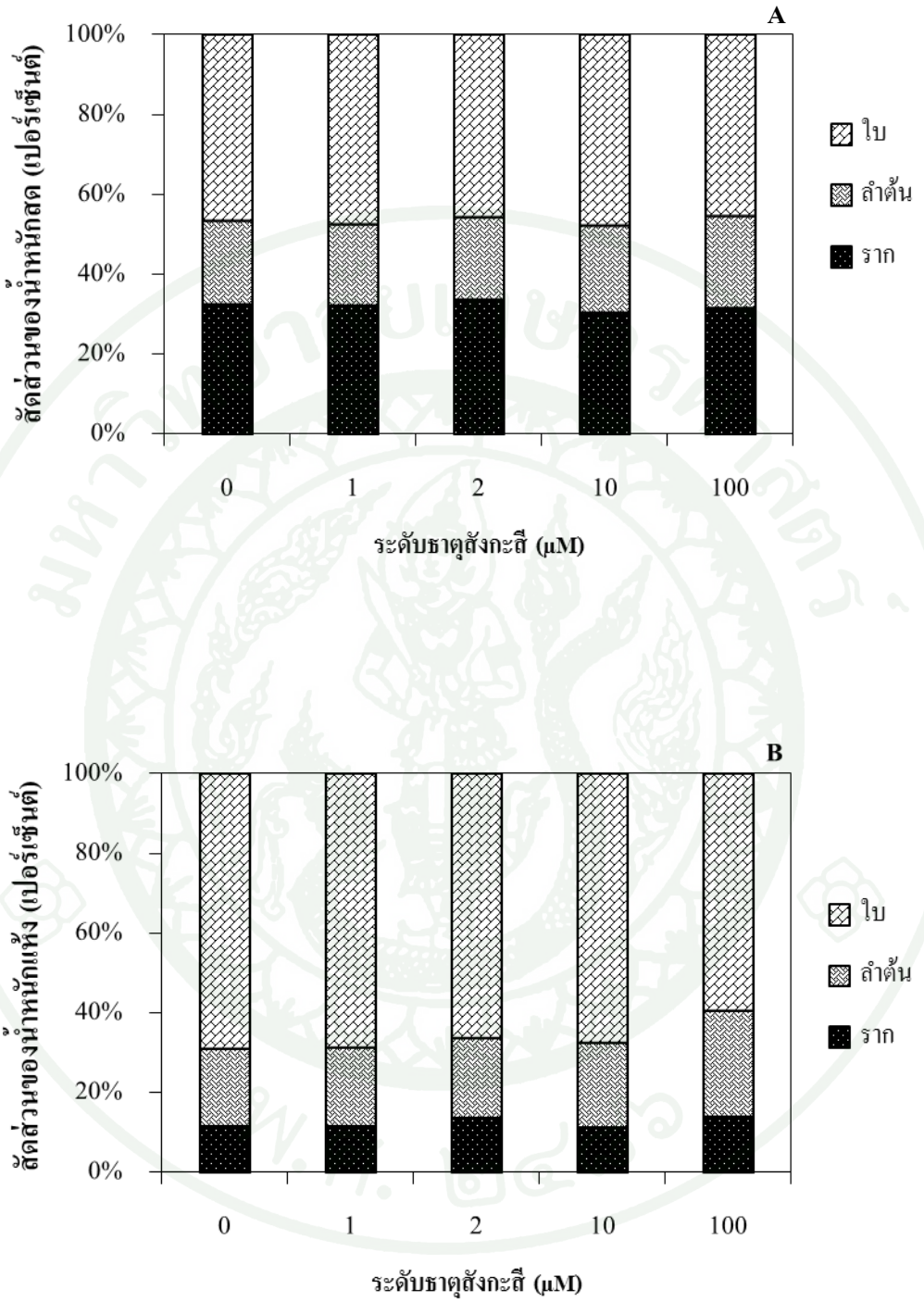
ภาพที่ 3 น้ำหนักสดใบ (A) น้ำหนักสดต้น (B) และน้ำหนักสดราก (C) (กรัมต่อต้น) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



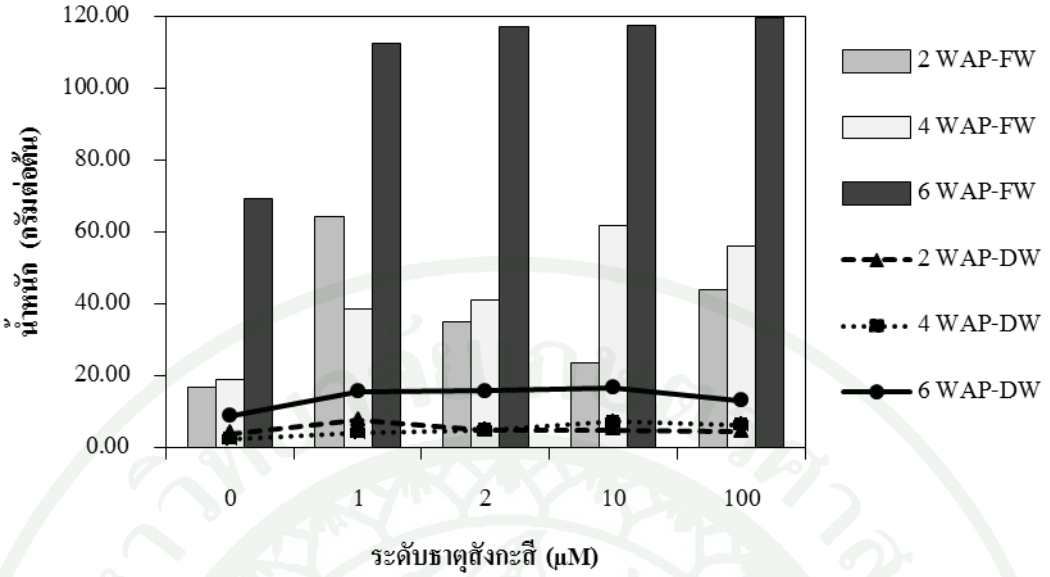
ภาพที่ 4 น้ำหนักแห้งใบ (A) น้ำหนักแห้งต้น (B) และน้ำหนักแห้งราก (C) (กรัมต่อต้น) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกัน ที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 สัดส่วนร้อยละของน้ำหนักสด (A) และน้ำหนักแห้ง (B) ของส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 น้ำหนักรวมสด (fresh weight, FW) และน้ำหนักรวมแห้ง (dry weight, DW) ของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

1.4 อัตราส่วนน้ำหนักส่วนเหนือดินต่อน้ำหนักส่วนราก

อัตราส่วนของน้ำหนักสดของส่วนเหนือดินต่อส่วนรากของมันสำปะหลัง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 15) โดยอัตราส่วนมีค่าสูงสุดในสารละลายธาตุอาหารที่ขาดธาตุสังกะสี ซึ่งมีอัตราส่วนเท่ากับ 2.9 และในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีตั้งแต่ 1-100 µM มีค่าอัตราส่วนอยู่ระหว่าง 1.9-2.2 (ตารางที่ 6) หมายความว่า เมื่อมันสำปะหลังได้รับธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มันสำปะหลังมีอัตราการเจริญเติบโตในส่วนรากมากกว่าส่วนที่อยู่เหนือดิน ส่วนช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังสัปดาห์ที่ 2-6 ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของอัตราส่วนน้ำหนักสดส่วนเหนือดินต่อส่วนรากซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันระหว่าง 2.1-2.6 (ตารางที่ 6) จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับ Cakmak *et al*. (1998) ที่ศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวสาลีภายใต้สภาพการขาดธาตุสังกะสีว่า มีผลทำให้อัตราส่วนของส่วนเหนือดินและส่วนรากลดต่ำลง ซึ่งเป็นผลสะท้อนของการชักนำให้เกิดความเสียหายของส่วนที่มีหน้าที่ในการสังเคราะห์ด้วยแสงในส่วนเหนือดิน ที่มีผลทำให้การเจริญส่วนเหนือดินลดลง ในทางตรงกันข้าม Genc *et al*. (2002) ได้รายงานว่า อัตราส่วนรากต่อส่วนเหนือดินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในสภาพที่มีธาตุสังกะสีต่ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัตราส่วนน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินต่อส่วนรากที่ระดับสารละลายธาตุอาหารที่ขาดธาตุสังกะสีมีอัตราส่วนสูงสุด 11.4 หลังจากที่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 16) และมีอัตราส่วนลดลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีเพิ่มขึ้น โดยมีอัตราส่วนอยู่ในช่วง 7.9-9.1 ดังนั้น สังกะสีจึงเป็นส่วนสำคัญต่อการสร้างน้ำหนักแห้งของส่วนใต้ดินหรือรากของมันสำปะหลังมากกว่าส่วนที่อยู่เหนือดิน และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังพบว่า ที่อายุ 2 สัปดาห์ จะมีอัตราส่วนน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินต่อส่วนรากสูงสุดที่ 13.7 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และที่ 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร มีอัตราส่วนน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินต่อส่วนรากอยู่ระหว่าง 5.9-7.2 (ตารางที่ 6) หมายความว่าที่อายุ 2 สัปดาห์หลังย้ายปลูกมันสำปะหลังมีการสร้างน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินที่ประกอบด้วย ใบ และลำต้น ซึ่งเป็นส่วนสำคัญต่อการเจริญเติบโตและเป็นส่วนที่พืชจะใช้ในการสร้างอาหารที่ได้มาจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และเมื่อมันสำปะหลังสามารถสร้างอาหารได้แล้วสักระยะหนึ่งจึงมีการลำเลียงสารอาหารไปสะสมยังบริเวณส่วนใต้ดิน และบางส่วนยังจะต้องสร้างขึ้นมาเพื่อใช้สำหรับการหาอาหารเพื่อมาใช้ในการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง จึงพบว่าที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงสารละลายธาตุอาหารมันสำปะหลังจะมีการสร้างน้ำหนักแห้งส่วนรากมากกว่าส่วนเหนือดิน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่ออัตราส่วนของน้ำหนักสด และแห้งของส่วนเหนือดินต่อส่วนรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

สัปดาห์	ระดับสังกะสี (μM)	อัตราส่วนน้ำหนักส่วนเหนือดิน/ส่วนราก	
		สด	แห้ง
2	0	4.3	21.0
	1	1.9	10.8
	2	1.8	11.4
	10	2.0	13.2
	100	2.6	12.1
4	0	2.5	7.3
	1	1.8	6.3
	2	2.1	7.0
	10	2.3	7.7
	100	1.9	7.8
6	0	1.9	6.0
	1	2.4	6.8
	2	2.0	5.5
	10	2.2	6.5
	100	2.0	4.6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ข้อมูล	อัตราส่วนน้ำหนักส่วนเหนือดิน/ส่วนราก	
	สด	แห้ง
ระดับสังกะสี (µM)		
0	2.9A	11.4A
1	2.0B	7.9B
2	1.9B	8.0B
10	2.2B	9.1B
100	2.2B	8.2B
F-test	*	*
สัปดาห์		
2	2.6	13.7A
4	2.1	7.2B
6	2.1	5.9B
F-test	ns	**
ระดับสังกะสี*สัปดาห์	*	**
CV (%)	30.3	23.3

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5 ดัชนีความเขียวและปริมาณคลอโรฟิลล์

ค่าดัชนีความเขียว (SPAD index) ที่วัดได้เมื่อมันสำปะหลังได้รับระดับสังกะสีที่แตกต่างกันพบว่า ค่าดัชนีความเขียวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 17) โดยที่ค่าดัชนีความเขียวมีค่าลดลงตั้งแต่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่ 0-100 µM Zn มีค่าเท่ากับ 44.25, 43.96, 43.61, 41.79 และ 39.65 (ตารางที่ 7) ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์เอ บี ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม และสัดส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์เอต่อปริมาณคลอโรฟิลล์บี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 18, 19, 20 และ 21) โดยที่ปริมาณคลอโรฟิลล์เอมีค่าอยู่ในช่วง 0.25-0.30 กรัมต่อตารางเมตร ปริมาณคลอโรฟิลล์บีมีค่าอยู่ในช่วง 0.09-0.11 กรัมต่อตารางเมตร ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม 0.35-0.42 กรัมต่อตารางเมตร และสัดส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์เอต่อปริมาณคลอโรฟิลล์บีอยู่ในช่วง 2.76-2.88 (ตารางที่ 7) จากผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า เมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีปริมาณสังกะสีเพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง ซึ่ง Shi and Cai (2009) กล่าวว่า ค่าของ Fv/Fm และ Fv/Fo ลดลงเมื่อมีระดับของปริมาณสังกะสีเพิ่มมากขึ้น แต่ effective quantum yield ของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง II ไม่เปลี่ยนแปลงเว้นแต่ที่ระดับสังกะสี 500 µM การลดลงในอัตรา Fv/Fo สะท้อนให้เห็นต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไทลาคอยด์บนตำแหน่งผู้ให้ (donor) บนกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง II ส่วนการลดลงของ Fv/Fm ชี้ให้เห็นต่อการลดลงของประสิทธิภาพกระบวนการสังเคราะห์แสง II เช่นเดียวกับ Vassilev *et al*. (2011) ศึกษาในถั่วที่พบว่า อัตราส่วน Fv/Fm ที่สำหรับใช้คำนวณประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง II นั้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีระดับสังกะสีเพิ่มมากขึ้น แต่มีอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron transport) มีค่าลดลงร้อยละ 22 เมื่อระดับสังกะสีเพิ่มสูงขึ้น 500 µM นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอ บี และแคโรทีนอยด์ มีปริมาณลดลงเมื่อสังกะสีเพิ่มมากขึ้น (Shi and Cai, 2009; Vassilev *et al*., 2011) นอกจากนี้ Xu *et al*. (2013) ได้ชี้ให้เห็นว่ามีความเสียหายของประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง II ที่เนื่องมาจากความเป็นพิษของธาตุสังกะสี ที่ศึกษาใน *Hydrilla verticillata* (L.f.) ซึ่งเมื่อระดับปริมาณสังกะสีที่เพิ่มขึ้นในช่วง 0-150 µM มีผลทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง (Fv/Fm) ลดลง และมีค่าลดลงสูงสุดร้อยละ 66 ที่ระดับสังกะสี 150 µM แต่มีรายงานผลที่แตกต่างไปจากข้อมูลข้างต้นในการศึกษาของ Gomes *et al*. (2013) ได้รายงานว่าสังกะสีไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง II (Fv/Fm) หรือปริมาณคลอโรฟิลล์ แต่ไปมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณแคโรทีนอยด์ในใบที่เพิ่มขึ้นที่ระดับสังกะสี 120-200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีความเขียว และปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ระยะการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังที่อายุ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร พบว่า ค่าดัชนีความเขียวมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7) ซึ่งค่าดัชนีความเขียวจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนอายุของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 39.04, 45.20 และ 43.71 ตามลำดับ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์เอ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางผนวกที่ 18, 19 และ 20) และสัดส่วนของปริมาณของคลอโรฟิลล์เอต่อปริมาณของคลอโรฟิลล์บีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 21) ซึ่งพบว่า ที่อายุการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังที่อายุ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารมีค่าสูงสุดที่ 2.93 และที่อายุ 2 และ 4 สัปดาห์หลังปลูกมีค่าของสัดส่วนเท่ากับ 2.68 และ 2.76 ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อค่าดัชนีความเขียว (SPAD index) และปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

สัปดาห์	ระดับสังกะสี (μM)	SPAD (SPAD unit)	Chl a	Chl b	Chl total	Chl a : b
			----------(g m^{-2})----------			
2	0	41.10	0.26	0.10	0.36	2.69
	1	40.65	0.30	0.12	0.43	2.60
	2	39.44	0.29	0.11	0.40	2.72
	10	37.97	0.23	0.09	0.33	2.58
	100	36.04	0.24	0.09	0.33	2.79
4	0	46.33	0.31	0.11	0.43	2.72
	1	46.02	0.29	0.10	0.40	2.80
	2	46.43	0.32	0.12	0.45	2.81
	10	44.48	0.25	0.09	0.34	2.67
	100	42.67	0.28	0.10	0.39	2.78
6	0	45.32	0.30	0.11	0.41	2.86
	1	45.20	0.31	0.10	0.42	3.03
	2	44.95	0.29	0.09	0.39	3.12
	10	42.82	0.29	0.09	0.39	3.02
	100	40.25	0.27	0.10	0.37	2.80

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ข้อมูล	SPAD (SPAD unit)	Chl a	Chl b	Chl total	Chl a : b
		----------(g m^{-2})----------			
ระดับสังกะสี (µM)					
0	44.25A	0.29	0.11	0.40	2.76
1	43.96A	0.30	0.11	0.42	2.81
2	43.61A	0.30	0.11	0.41	2.88
10	41.79AB	0.25	0.09	0.35	2.76
100	39.65B	0.26	0.09	0.36	2.79
F-test	**	ns	ns	ns	ns
สัปดาห์					
2	39.05B	0.26	0.10	0.37	2.68B
4	45.20A	0.29	0.10	0.40	2.76B
6	43.71A	0.29	0.10	0.40	2.96A
F-test	**	ns	ns	ns	**
ระดับสังกะสี*สัปดาห์	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	6.27	18.22	19.08	18.26	6.18

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.6 ปริมาณธาตุสังกะสีที่มีสะสมในส่วนต่าง ๆ มันสำปะหลัง

ปริมาณการสะสมธาตุสังกะสีในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังที่ได้รับระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่แตกต่างกัน และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าในทุก ๆ ส่วนของมันสำปะหลังที่ประกอบด้วยใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังมีปริมาณการสะสมสังกะสีที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 22, 23 และ 24) กล่าวคือ ปริมาณการสะสมธาตุสังกะสีในทุกส่วนของมันสำปะหลังจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 100 μM มีปริมาณการสะสมธาตุสังกะสีสูงที่สุดในใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลัง และมีปริมาณการสะสมธาตุสังกะสีเท่ากับ 263.8, 207.7 และ 339.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 8) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณการสะสมปริมาณสังกะสีจะพบว่า ส่วนรากของมันสำปะหลังมีปริมาณการสะสมของสังกะสีมากที่สุด รองลงมา คือ ใบ และลำต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 8 และภาพที่ 7) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของระดับธาตุสังกะสีที่ให้แก่มันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารจะส่งผลให้มันสำปะหลังมีการสะสมธาตุสังกะสีเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Muthukumararaja and Sriramachandrasekharan (2012) ที่ศึกษาในข้าวพบว่า มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสังกะสีในเมล็ดและฟางข้าว อาจเนื่องมาจากปริมาณของสังกะสีในดินที่เพิ่มขึ้น จากการใส่ปุ๋ยสังกะสีทำให้พืชสามารถดูดไปใช้ได้เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาในข้าวสาลีที่พบปริมาณสังกะสีในรากเพิ่มขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มมากขึ้น (Zhao *et al*., 2011) การเพิ่มขึ้นของปริมาณสังกะสีที่เคลื่อนย้ายไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของพืชนั้นสามารถเคลื่อนย้ายได้มาจาก 2 ทาง คือ การดูด (uptake) มาจากดินโดยตรง และจากการเคลื่อนย้ายมาจากแหล่งที่มีการสะสมอยู่ในใบ (Palmgren *et al*., 2008) สำหรับการเคลื่อนย้ายในใบนั้นมีการเคลื่อนย้ายสังกะสีจากที่มีการสะสมในใบที่มีอายุมากมายังส่วนเจริญของพืชในสภาวะที่มีระดับสังกะสีต่ำมากกว่าสภาวะที่มีสังกะสีเพียงพอ (Erenoglu *et al*., 2002) และ Talukdar and Aarts (2008) รายงานว่าในแต่ละความเข้มข้นของสังกะสี มีการสะสมสังกะสีในรากสูงกว่าในดอก ใบ ลำต้น และ silique ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการทดลองดังกล่าว

สำหรับระยะเวลาหลังจากย้ายปลูกมันสำปะหลังในสารละลายธาตุอาหารพบว่าปริมาณการสะสมของสังกะสีเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บข้อมูล ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Muthukumararaja and Sriramachandrasekharan (2012) ที่รายงานว่าการดูดธาตุสังกะสีนั้นจะเพิ่มขึ้นพร้อมกับระยะการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เจริญของพืช เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ระยะเวลา 2-6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยยิ่งสำคัญทางสถิติ ปริมาณการสะสมสังกะสีในใบมีการสะสมเพิ่มขึ้นที่ 69.2, 94.3 และสูงที่สุด 153.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ในลำต้นพบปริมาณการสะสมที่ 27.9, 76.4 และ 94.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และในรากมีปริมาณการสะสมสังกะสีที่ 197.5, 168.2 และ 157.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

การดูด (uptake) ธาตุสังกะสีเพื่อนำไปใช้ของมันสำปะหลัง พบว่าเมื่อระดับธาตุสังกะสีในสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 8) จะมีการดูดธาตุสังกะสีไปใช้เพิ่มมากขึ้นโดยที่มีปริมาณสังกะสีสูงที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 100 μM ที่มีค่าเท่ากับ 3,239.4 มิลลิกรัมต่อต้น รองลงมาที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่ 10, 1, 2 และ 0 μM ซึ่งมีค่าการดูดสังกะสี คือ 1,113.0, 848.6, 700.9 และ 251.0 ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 4) ซึ่งการดูดธาตุสังกะสีจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มขึ้นด้วย การดูดธาตุสังกะสีที่เพิ่มมากขึ้นเนื่องมาจากการเพิ่มปุ๋ยสังกะสี โดยมีผลจากความแปรปรวนในความเป็นประโยชน์ของการใส่ปุ๋ยสังกะสีในบริเวณราก (root zone) และจากบทบาทการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช (Chaudhary and Singh, 2007) โดยทั่วไปยอมรับว่าสังกะสีมีการสะสมในเมล็ดมีการควบคุมจากกลไกภายในพืชที่ควบคุมการดูดธาตุสังกะสี (Zn absorption) การเคลื่อนย้าย (translocation) และการขนส่ง (loading) และการไม่ขนส่ง (unloading) ผ่านทางโฟลเอม (Hao *et al*.,2007) และเมื่อมีการดูดสังกะสีเพียงพอจากสารละลายธาตุอาหาร หลังจากนั้นสังกะสีจะมีการเคลื่อนย้ายกลับจากส่วนอื่น ๆ ไปยังเมล็ด (Zhao *et al*., 2011)

ประสิทธิภาพการใช้ธาตุสังกะสี (Zn utilization efficiency) เป็นสัดส่วนของน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินของมันสำปะหลังต่อปริมาณการดูดธาตุสังกะสี ซึ่งประสิทธิภาพการใช้ธาตุสังกะสีจะมีค่าตรงข้ามกับปริมาณการดูดธาตุสังกะสี ซึ่งพบว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นของสังกะสีเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ของธาตุสังกะสีลดลง (ภาพที่ 9) ซึ่งประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ของธาตุสังกะสีนี้ลดลงต่ำสุดที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 100 μM มีค่าเท่ากับ 0.002 กรัมของน้ำหนักแห้งต่อมิลลิกรัมปริมาณการดูดธาตุสังกะสี และมีประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์สูงสุดในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีธาตุสังกะสี มีค่าเท่ากับ 0.018 กรัมของน้ำหนักแห้งต่อมิลลิกรัมปริมาณการดูดธาตุสังกะสี (ตารางผนวกที่ 4) ลักษณะสรีรวิทยาทางการเกษตรของพืชมีประสิทธิภาพที่เด่นชัดในการคืนสภาพของสังกะสี และประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ของสังกะสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญกับระดับของธาตุสังกะสี เนื่องจากความสัมพันธ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในทางตรงกันข้ามระหว่างความเป็นประโยชน์ และอัตราการให้ธาตุสังกะสี โดยประสิทธิภาพการใช้สังกะสีจะลดลงเมื่ออัตราของสังกะสีเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากการลดลงของการเคลื่อนย้ายไปยังผลผลิต และการสร้างน้ำหนักแห้งที่ระดับของสังกะสีที่สูง (Muthukumararaja and Sriramachandrasekharan, 2012) สอดคล้องกับ El-Nasharty *et al*. (2013) ที่รายงานว่า การเพิ่มขึ้นของระดับธาตุสังกะสีในข้าวสาลีจะส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้สังกะสี และประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ของสังกะสีลดลง ดังนั้นการที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สังกะสีให้เพิ่มขึ้นได้นั้นจะต้องมีผลเนื่องมาจากการลดลงของอัตราการใส่สังกะสี (Fageria *et al*., 2011)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อการสะสมปริมาณสังกะสีในใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

สัปดาห์	ระดับสังกะสี (µM)	ปริมาณสังกะสี		
		ใบ	ลำต้น	ราก
		----------(มิลลิกรัม/กิโลกรัม)----------		
2	0	41.9	16.4	168.8
	1	63.0	26.8	200.7
	2	67.0	13.5	211.8
	10	74.2	21.2	238.2
	100	99.7	61.8	168.0
4	0	33.9	16.7	80.4
	1	50.2	48.1	135.1
	2	60.7	26.5	98.9
	10	89.1	50.8	101.2
	100	237.4	240.1	425.4
6	0	43.6	16.0	92.7
	1	86.9	41.0	101.6
	2	77.0	43.0	63.7
	10	106.5	49.5	100.8
	100	454.4	321.3	426.3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 (ต่อ)

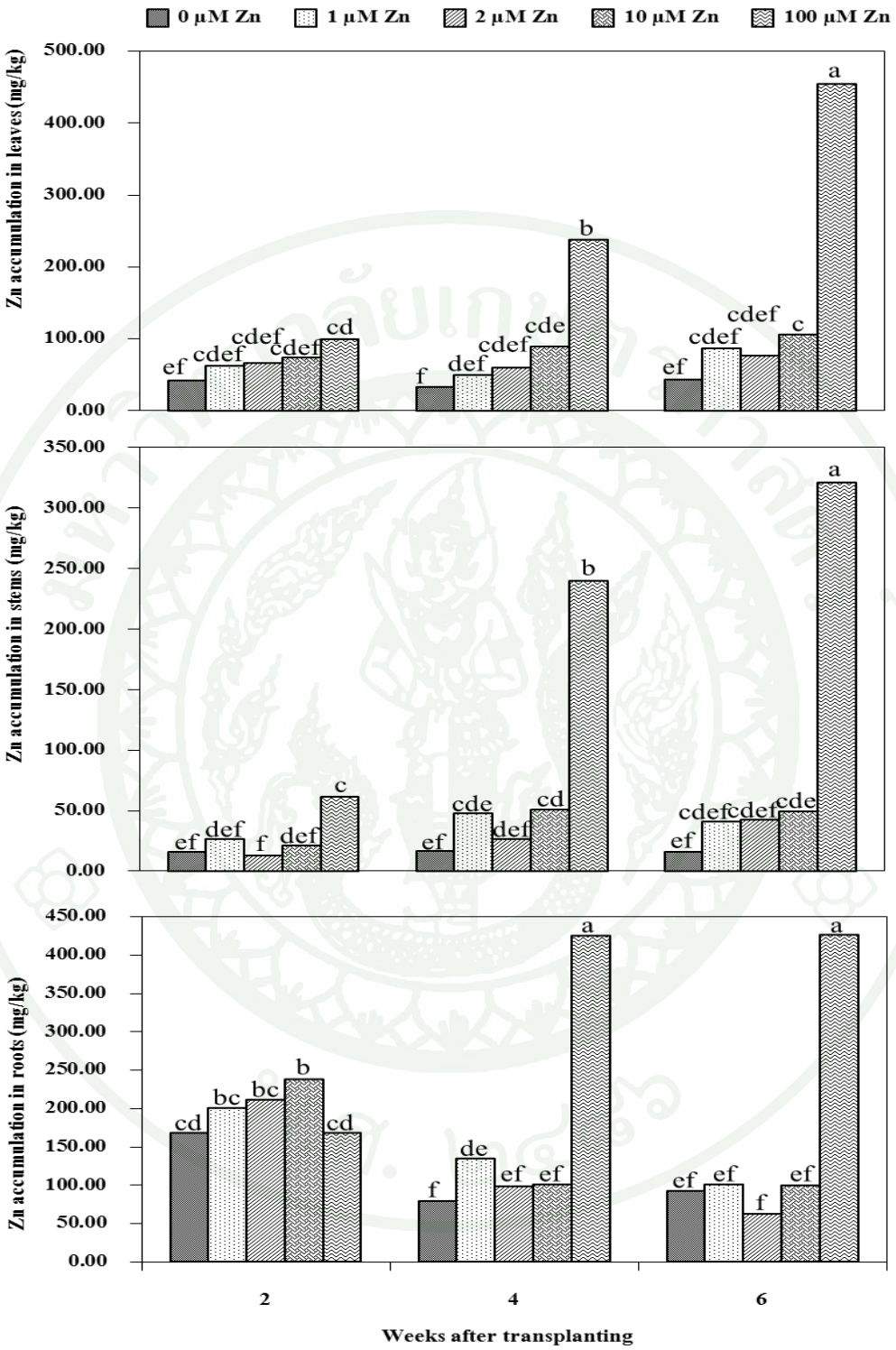
ข้อมูล	ปริมาณสังกะสี		
	ใบ	ลำต้น	ราก
	---------- (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)----------		
ระดับสังกะสี (µM)			
0	39.8C	16.4B	114.0B
1	66.7BC	38.6B	145.8B
2	68.2BC	27.7B	124.8B
10	89.9B	40.5B	146.7B
100	263.8A	207.7A	339.9A
F-test	**	**	**
สัปดาห์			
2	69.2B	27.9B	197.5A
4	94.3B	76.4A	168.2B
6	153.7A	94.2A	157.0B
F-test	**	**	**
ระดับสังกะสี*สัปดาห์	**	**	**
CV (%)	28.9	28.1	16.1

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

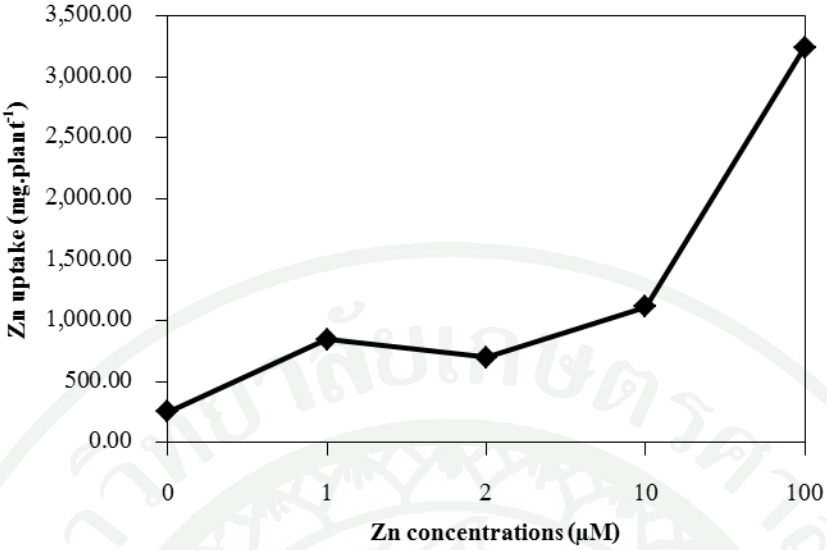
* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

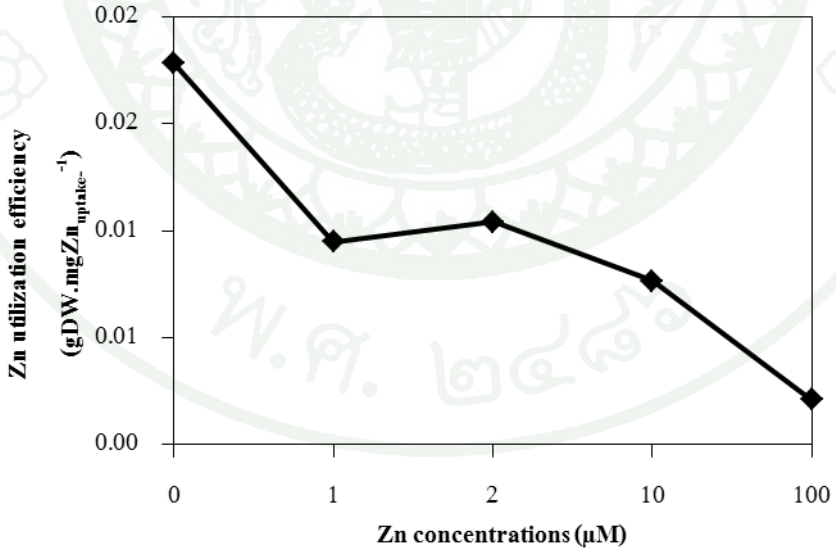


ภาพที่ 7 การสะสมสังกะสี (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในส่วนใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 การดูดธาตุสังกะสีที่มีการสะสมอยู่ในส่วนเหนือดินในพืชที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่ 1, 2, 10, 100 µM และระดับที่ขาดธาตุสังกะสี (0 µM)



ภาพที่ 9 ประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์ของธาตุสังกะสี ที่มีการสะสมอยู่ในส่วนเหนือดินของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่ 1, 2, 10, 100 µM และระดับที่ขาดธาตุสังกะสี (0 µM)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

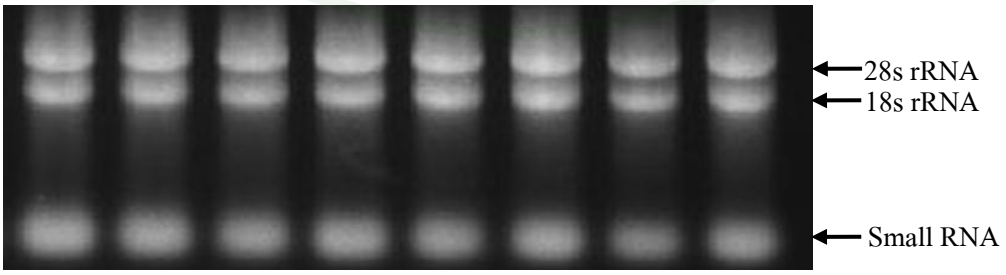
2. การศึกษาการแสดงออกของของยีน *ZIP* ที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีแตกต่างกันในมันสำปะหลังเมื่ออายุ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

2.1 การออกแบบไพรเมอร์ และการสังเคราะห์ cDNA จาก RNA

ออกแบบไพรเมอร์จากช่วงลำดับอนุรักษ์ของเบสและกรดอะมิโนของยีน *ZIP* ในพืชชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากการทำ alignment โดยใช้โปรแกรมจาก ClustalW (website http://www.ebi.ac.uk) ทำให้หาช่วงลำดับอนุรักษ์ได้โดยออกแบบ primer ที่แสดงผลดังตารางที่ 1 เพื่อนำไปใช้ในการสังเคราะห์ชิ้นส่วนของยีน โดยการทำ RT-PCR ผลจากการสังเคราะห์ชิ้นส่วนของยีน *ZIP* ในมันสำปะหลัง โดยใช้ primer ที่ออกแบบได้ตรวจสอบโดยการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสความเข้มข้นร้อยละ 1 (ภาพที่ 10)

2.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของ cDNA ของยีน *ZIP* ในมันสำปะหลัง

เมื่อนำชิ้นส่วนของยีน *ZIP* ที่โคลนชิ้นส่วนจากใบมันสำปะหลังโดยใช้ไพรเมอร์ที่ได้จากตารางที่ 1 ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแล้วนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequencing) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ZIP* โดยนำลำดับเบสของชิ้นส่วนของยีนมาเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกับยีนในฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BlastN, BlastX และใช้โปรแกรม ClustalW ในการเทียบเรียงลำดับเบส ซึ่งพบว่ามีความยาวเท่ากับ 999 คู่เบส ซึ่งเมื่อทำการพิจารณาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดนั้นจะประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถถอดรหัสเป็นกรดอะมิโนได้เป็นลำดับกรดอะมิโนที่มีความยาวทั้งสิ้น 333 residues (ภาพที่ 11) และส่งลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ZIP* ในฐานข้อมูล Genbank ซึ่งมี accession number KJ685509 (ภาพผนวกที่ 1)



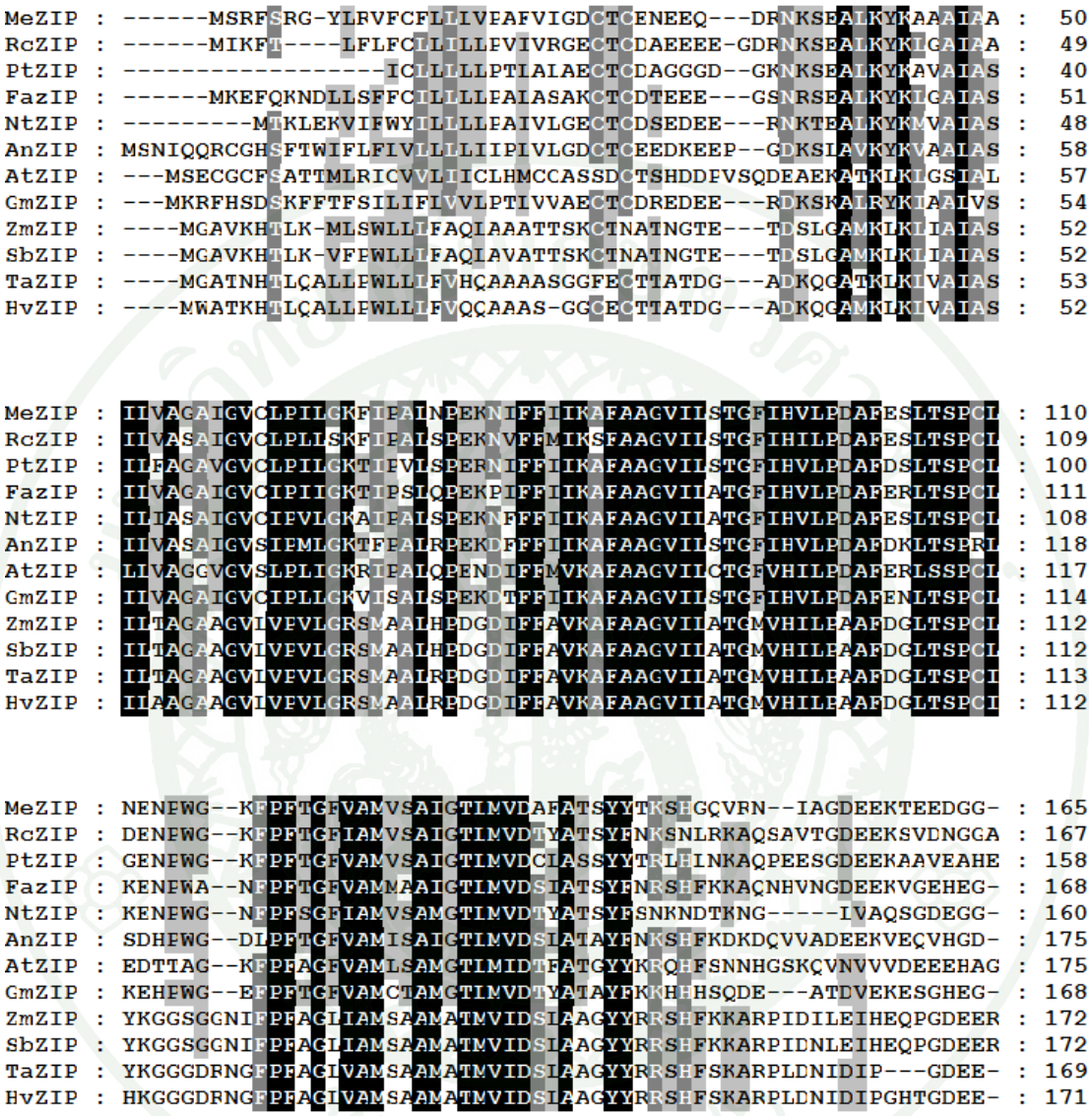
ภาพที่ 10 ตรวจสอบคุณภาพอาร์เอ็นเอ โดยวิธีการอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

```
  1  ATGAGCAGATTCAGTAGAGGCTACCTCAGAGTCTTTTGCTTCCTCCTGTTGGTCCCGGCT  60
       M  S  R  F  S  R  G  Y  L  R  V  F  C  F  L  L  L  V  P  A

 61  TTCGTGATCGGAGATTGCACCTGTGAAAACGAAGAACAAGATCGTAACAAATCTGAGGCA  120
       F  V  I  G  D  C  T  C  E  N  E  E  Q  D  R  N  K  S  E  A

121  CTTAAATATAAAGCAGCTGCCATAGCTGCAATATTGGTGGCTGGTGCAATTGGGGTCTGC  180
       L  K  Y  K  A  A  A  I  A  A  I  L  V  A  G  A  I  G  V  C

181  CTTCCAATTCTGGGAAAGTTCATCCCAGCTTTGAATCCTGAAAAGAATATATTTTTCATA  240
       L  P  I  L  G  K  F  I  P  A  L  N  P  E  K  N  I  F  F  I

241  ATCAAAGCATTTGCTGCAGGTGTAATTTTGTCAACTGGGTTCATTCATGTTCTTCCTGAT  300
       I  K  A  F  A  A  G  V  I  L  S  T  G  F  I  H  V  L  P  D

301  GCTTTCGAGAGCTTGACATCCCCTTGTCTCAATGAGAATCCATGGGGAAAGTTTCCTTTC  360
       A  F  E  S  L  T  S  P  C  L  N  E  N  P  W  G  K  F  P  F

361  ACTGGTTTTGTGGCCATGGTTTCTGCCATTGGGACTTTGATGGTTGATGCTTTTGCGACT  420
       T  G  F  V  A  M  V  S  A  I  G  T  L  M  V  D  A  F  A  T

421  TCTTATTATACCAAGTCTCATGGACAAGTCAGAAATATAGCTGGAGATGAGGAGAAAACA  481
       S  Y  Y  T  K  S  H  G  Q  V  R  N  I  A  G  D  E  E  K  T

481  GAAGAAGATGGAGGATTTCATACTCATGCAACTCATGATCATTCTCATTGTTCAGGTTTG  540
       E  E  D  G  G  F  H  T  H  A  T  H  D  H  S  H  C  S  G  L

541  ATTGAGAATTCTGCTTCACCTGAACTCCTTCGCCATCGAGTTATTTCTCAGGTTTTGGAG  600
       I  E  N  S  A  S  P  E  L  L  R  H  R  V  I  S  Q  V  L  E

601  TTGGGAATTGTGGTTCACTCTGTGATAATAGGAATCTCTTTAGGTGCTTCTCAAAGTCCT  660
       L  G  I  V  V  H  S  V  I  I  G  I  S  L  G  A  S  Q  S  P

661  AAAACGATGAGGCCTATAGAAGATGCCCTCACCTTTCATCAGTTCTTTGAGGGTATGGGA  720
       K  T  M  R  P  I  E  D  A  L  T  F  H  Q  F  F  E  G  M  G

721  CTTGGTGGTTGCATTTGTCAGGCAAAATTTAAGGGAAGAGTTATGGCGATTATGGCACTT  780
       L  G  G  C  I  C  Q  A  K  F  K  G  R  V  M  A  I  M  A  L

781  TTCTTCTCTCTGACAACACCAATTGGGATTGGGATTGGTATTGGGATATCAAACGCGTAC  840
       F  F  S  L  T  T  P  I  G  I  G  I  G  I  G  I  S  N  A  Y

841  AATGAAAACAGCCCAACTGCCCTAATTGTTGAAGGGATTTTTAATTCAGCCTCAGCTGGA  900
       N  E  N  S  P  T  A  L  I  V  E  G  I  F  N  S  A  S  A  G

901  ATTTTAATTTACATGGCATTGGTGGATCTTCTTGCTGCTGATTTCATGAATCCCAAAGTA  960
       I  L  I  Y  M  A  L  V  D  L  L  A  A  D  F  M  N  P  K  V

961  CAGGTCAATGGAAAACTTCAAATTGGAGTTAATCTTTCT  999
       Q  V  N  G  K  L  Q  I  G  V  N  L  S
```

ภาพที่ 11 ลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนของยีน *ZIP* ในมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) ขนาด 999 คู่เบส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



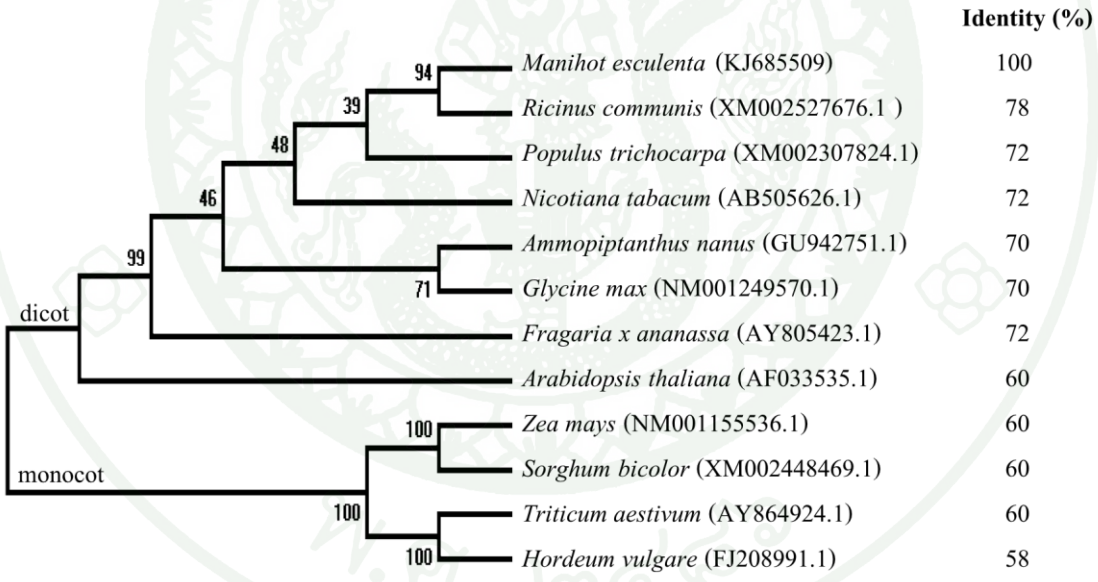
ภาพที่ 12 การเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของยีน *MeZIP* ของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 กับพืชชนิดต่าง ๆ ประกอบด้วย MeZIP, *Manihot esculenta*; RcZIP, *Ricinus communis*; PtZIP, *Populus trichocarpa*; FaZIP, *Fragaria x ananassa*; NtZIP, *Nicotiana tabacum*;AnZIP, *Ammopiptanthus nanus*; AtZIP, *Arabidopsis thaliana*; GmZIP, *Glycine max*; ZmZIP, *Zea mays*; SbZIP, *Sorghum bicolor*; TaZIP, *Triticum aestivum*; HvZIP, *Hordeum vulgare* cultivar Vanessa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 12 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังกับพืชชนิดอื่น ๆ ที่ได้จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของยีน *ZIP* โดยใช้โปรแกรม MEGA 5 (ภาพที่ 12) พบว่า Phylogenetic tree ของพืชชนิดอื่น ๆ ประกอบด้วย 12 interior branch เมื่อนำมาหาค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (% Identity) กับพืชชนิดอื่น ๆ พบว่าลำดับกรดอะมิโนของยีน *ZIP* มีความเหมือนกับยีน *ZIP* ของพืชชนิดอื่น ตั้งแต่ร้อยละ 58-78 โดยเหมือนกับ *Ricinus communis* (XM002527676.1) มากที่สุดร้อยละ 78 *Populus trichocarpa* (XM002307824.1) ร้อยละ 72, *Nicotiana tabacum* (AB505626.1) ร้อยละ 72, *Fragaria x ananassa* (AY805423.1) ร้อยละ 72, *Ammopiptanthus nanus* (GU942751.1) ร้อยละ 70, *Glycine max* (NM001249570.1) ร้อยละ 70, *Arabidopsis thaliana* (AF033535.1) ร้อยละ 60, *Zea mays* (NM001155536.1) ร้อยละ 60, *Sorghum bicolor* (XM002448469.1) ร้อยละ 60, *Triticum aestivum* (AY864924.1) ร้อยละ 60, และ *Hordeum vulgare* (FJ208991.1) น้อยที่สุดร้อยละ 58 (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการระหว่างลำดับกรดอะมิโนของยีน *ZIP* ของมันสำปะหลังกับยีน *ZIP* ของพืชชนิดต่าง ๆ ที่ได้รายงานไว้ใน Genbank database

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3 ผลการแสดงออกของยีน *ZIP* ที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสีที่แตกต่างกัน โดยใช้เทคนิค Relative quantification Real-time PCR

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *ZIP* ของมันสำปะหลังด้วยโปรแกรม Eco™ Software version 4.0.7.0 (Illumina, สหรัฐอเมริกา) ผลที่ได้แสดงออกมาในรูปของค่า C_T ในทุก ๆ ส่วนของพืชที่นำมาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีน *ZIP*

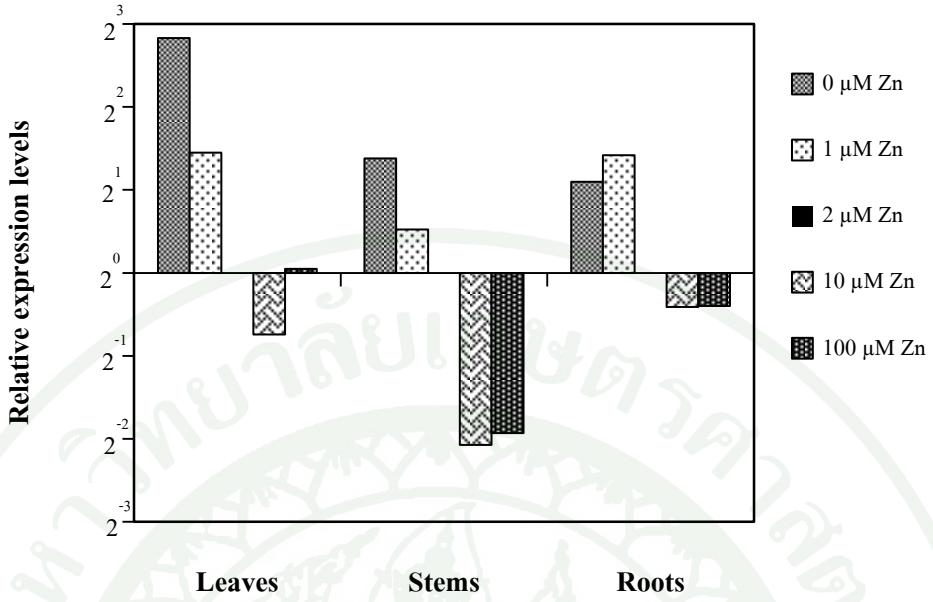
ผลการแสดงออกของยีน *ZIP* ในส่วนต่างๆ ของมันสำปะหลัง ที่ได้รับระดับธาตุสังกะสีที่แตกต่างกัน พบว่าที่ระดับการขาดธาตุสังกะสี (0 μM) และระดับธาตุสังกะสีต่ำ (1 μM) จะมีการแสดงออกของยีน *ZIP* สูงในทุกส่วนของมันสำปะหลัง เมื่อเปรียบเทียบกับระดับธาตุสังกะสีปกติที่มีอยู่ในสารละลายธาตุอาหาร (2 μM) (ภาพที่ 14) โดยที่ระดับการขาดธาตุสังกะสี มีค่าการแสดงออกของยีน เท่ากับ 7.1, 2.6 และ 2.1 ในใบ ลำต้นและราก ตามลำดับ และที่ระดับธาตุสังกะสี 1 μM มีระดับการแสดงออกของยีน เท่ากับ 2.7, 1.4 และ 2.7 ในใบ ลำต้นและราก ตามลำดับ จากนั้นระดับการแสดงออกของยีน *ZIP* จะลดลงเมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 14) และเมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตอยู่ในสภาวะที่มีระดับการขาดธาตุสังกะสีหรือระดับธาตุสังกะสีต่ำ ยีน *ZIP* นี้จะมีการแสดงออกในส่วนใบมากกว่าส่วนของลำต้นและราก ตามลำดับ สอดคล้องกับ Bamrungsetthapong *et al*. (2010) ได้ศึกษาลักษณะของ *MeZIP* ในส่วนต่างๆ ของมันสำปะหลังจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และพบการแสดงออกของยีน *MeZIP* ในระดับสูงที่ใบอ่อนของมันสำปะหลังมากกว่าส่วนของต้น และราก ตามลำดับ Ishimaru *et al*. (2005) ศึกษาการแสดงออกของยีน *OsZIP4* ในข้าว พบว่ายีนนี้ถูกชักนำให้เกิดการแสดงออกสูงที่สุดในใบ เมื่อเกิดสภาวะการขาดธาตุสังกะสี ในทางตรงกันข้ามได้มีการศึกษายีน *ZIP* ก่อนหน้านี้ที่ถูกระบุใน *Arabidopsis* โดยได้ศึกษาการแสดงออกของยีน *ZIP1* และ *ZIP3* พบการแสดงออกส่วนใหญ่ในรากของพืชที่มีผลกระทบจากการขาดธาตุสังกะสี และพบการแสดงออกของยีน *ZIP4* ที่ปลายยอดและรากของพืชที่มีธาตุสังกะสีอยู่อย่างจำกัด (Grotz *et al*.,1998; Guerinot, 2000; Mäser *et al*., 2001) นอกจากนี้ Moreau *et al*. (2002) ศึกษาการแสดงออกของยีน *GmZIP1* ของถั่วเหลือง ซึ่งยีนชนิดนี้แสดงออกในการขนส่งธาตุสังกะสี แต่จะไม่พบการแสดงออกในการขนส่งธาตุอื่น ๆ เช่น ธาตุเหล็กและแมงกานีส ยีน *GmZIP1* นี้แสดงออกในปมรากของถั่วเหลือง แต่ไม่แสดงออกในส่วนของราก ใบ หรือลำต้น เช่นเดียวกับ Milner *et al*. (2013) ศึกษาในกลุ่มของยีน *ZIP1, ZIP2, ZIP3, ZIP5* และ *ZIP6* ใน Arabidopsis พบว่ามีการแสดงออกใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

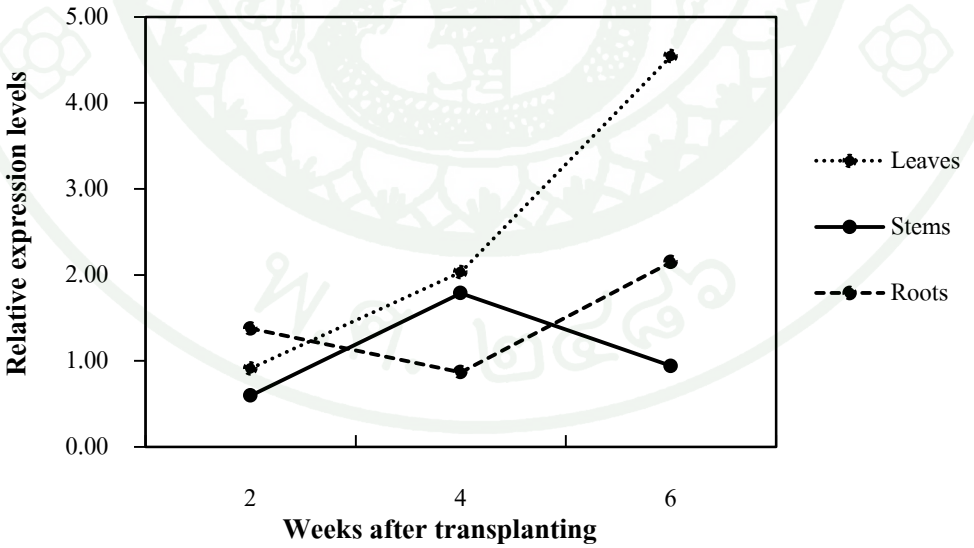
รากสูงกว่าส่วนยอด ดังนั้นรูปแบบของการแสดงออกของยีนนี้จะขึ้นอยู่กับความแตกต่างของส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาศึกษา และช่วงเวลาของการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน

เมื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนในแต่ละช่วงเวลาของการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังพบว่า ในส่วนของใบ และรากมีระดับการแสดงออกของยีน *ZIP* สูงสุดที่ 6 สัปดาห์หลังปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร แตกต่างจากส่วนของลำต้นจะมีการแสดงออกของยีน *ZIP* สูงสุดที่ระยะ 4 สัปดาห์หลังปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร และหลังจากนั้นยีน *ZIP* จะมีการแสดงออกลดลงเมื่อระยะ 6 สัปดาห์หลังปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร (ภาพที่ 15) ดังนั้นการทำงานของยีน *ZIP* ที่มีกลุ่มของยีนที่แตกต่างต่างกันมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันทั้งในส่วนต่าง ๆ ของพืช รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต โดย Bamrungsetthapong *et al*. (2010) ชี้ให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน *MeZIP* ที่แตกต่างกันในทุกส่วนของพืชมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังทั้งในส่วนของน้ำหนักสด และแห้งของใบอ่อน ต้น และราก ในช่วงของการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า *MeZIP* จะต้องมีส่วนเกี่ยวข้องในการดูดธาตุสังกะสีที่ช่วงระยะการพัฒนาของพืชที่แตกต่างกัน รวมทั้งช่วงเวลาของการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 14 การแสดงออกของยีน *ZIP* ในส่วนใบ ลำต้นและรากของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของธาตุสังกะสีที่แตกต่างกันเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นของธาตุสังกะสี 2 µM



ภาพที่ 15 การแสดงออกของยีน *ZIP* ในใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับธาตุสังกะสีที่แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลังที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีที่แตกต่างกัน โดยวัดขนาดของเซลล์ในชั้นต่างๆของใบของมันสำปะหลังในทุกๆ ชั้นเซลล์ของใบประกอบด้วย ความหนาของใบ (leaf thickness) ผิวใบชั้นบน (adaxial epidermis) palisade parenchyma, spongy parenchyma และ ผิวใบชั้นล่าง (abaxial epidermis) และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ในทุกระดับของธาตุสังกะสีที่แตกต่างกันกับขนาดของชั้นเซลล์ของใบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 25) โดยระดับของสารละลายธาตุอาหารที่ขาดธาตุสังกะสีจะพบขนาดของเซลล์ทุกชนิดมีค่ามากกว่าระดับของสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 16 และตารางที่ 9) กล่าวคือ ความหนาใบที่ระดับสังกะสี 0 μM มีความหนาสูงที่สุดที่ 58.0 μm ส่วนระดับธาตุสังกะสีอื่นๆ มีความหนาไม่แตกต่างกัน มีค่าความหนาอยู่ระหว่าง 40.1-40.9 μm (ภาพที่ 17A) และค่าการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระยะเวลาการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังหลังจากการย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารแล้ว พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเช่นเดียวกัน ซึ่งที่ระยะ 2 สัปดาห์หลังย้ายปลูกมีความหนาของใบมากที่สุด (47.3 μm) และที่ระยะ 4-6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกจะมีความหนาลดลง 42.9 และ 42.0 μm ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ส่วนความหนาของชั้นผิวใบชั้นบนที่ระดับสังกะสี 0 μM มีความหนามากที่สุด 5.7 μm และระดับธาตุสังกะสีที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 1-100 μM มีความหนาของชั้นนี้ไม่แตกต่างกันมีค่าอยู่ระหว่าง 3.7-4.2 μm (ภาพที่ 17B) และเมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตที่ระยะ 2-4 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารจะมีความหนาของผิวใบชั้นบนระหว่าง 4.0-4.6 μm (ตารางที่ 9 และตารางผนวกที่ 26) ความหนาของชั้น palisade parenchyma และชั้น spongy parenchyma จะมีความหนาของทั้ง 2 ชั้นนี้มากที่สุดที่สารละลายขาดสังกะสี ซึ่งมีความหนาเท่ากับ 25.9 และ 19.56 μm ตามลำดับ สำหรับสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับธาตุสังกะสีเพิ่มสูงขึ้นจะมีความหนาของชั้น palisade parenchyma อยู่ระหว่าง 18.1 -19.0 μm และในชั้น spongy parenchyma อยู่ระหว่าง 12.3-14.0 μm (ภาพที่ 17C และ D) และเมื่อระยะเวลาที่ปลูกมันสำปะหลังลงในสารละลายธาตุอาหาร ความหนาของชั้น palisade parenchyma มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 27) โดยที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารจะมีความหนามาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่สุด 22.1 μm และลดลงที่ระยะ 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูก มีค่าอยู่ระหว่าง 18.6-19.5 μm ส่วนชั้น spongy parenchyma นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 28)

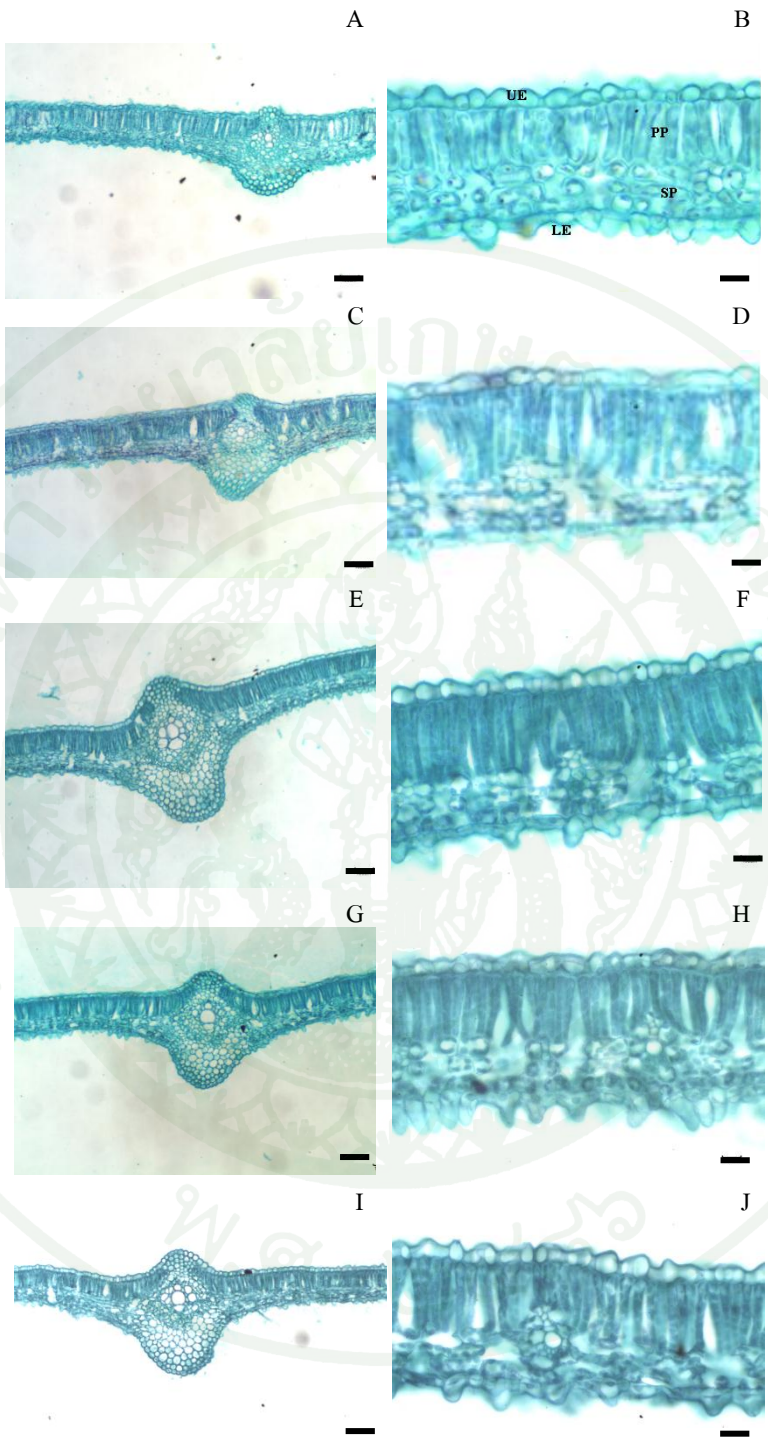
สำหรับชั้นผิวใบส่วนล่างเมื่อได้รับระดับธาตุสังกะสีที่แตกต่างกัน เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า มีความแกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 29) กล่าวคือ ความหนาของชั้นผิวใบส่วนล่างมีค่ามากที่สุดที่ระดับสารละลายธาตุอาหารที่ขาดธาตุสังกะสี ที่ 4.7 μm รองลงมา ที่ระดับธาตุสังกะสีที่ 10-100 μM มีความหนาของเซลล์อยู่ระหว่าง 3.2-3.3 μm และความหนาของเซลล์น้อยที่สุดที่ระดับธาตุสังกะสี 1-2 μm มีค่าอยู่ระหว่าง 2.8-2.9 μm และเมื่อระยะเวลาหลังการย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร ค่าความหนาของชั้นผิวใบส่วนล่างจะมีความหนาอยู่ระหว่า 3.1-3.6 μm (ตารางที่ 9 และภาพที่ 17E) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า เมื่อมันสำปะหลังที่ปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ขนาดความหนาของใบลดลง รวมถึงความหนาของชั้นเซลล์ต่าง ๆ ภายในใบลดลงด้วยเช่นกัน โดยที่ใบมันสำปะหลังที่เก็บตัวอย่างที่ปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารที่ขาดธาตุสังกะสีจะมีความหนาของชั้นเซลล์ต่างๆ มากที่สุด เมื่อเทียบกับสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีเพิ่มขึ้น Maruthi Sridhar *et al*. (2007) ได้รายงานว่า เมื่อข้าวบาร์เลย์มีความหนาของใบลดลง และชั้นผิวใบลดลงเมื่อมีการสะสมสังกะสีเพิ่มมากขึ้น เนื่องมาจากขนาดเซลล์ และช่องว่างภายในเซลล์ลดลง นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของสังกะสีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ ทำให้เกิดการหยุดการเจริญของเซลล์ผนังเซลล์ของกลุ่มท่อลำเลียง (vascular bundle) สอดคล้องกับ Zhao *et al*. (2000) ที่รายงานว่าพืชที่มีการสะสมสังกะสีที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ขนาดของ mesophyll ลดลง ใน A. *halleri* palisade และ epidermis จะลดลงในต้นที่มีการรับธาตุสังกะสีสูง (100 mM $ZnSO_4$.7H2O) ที่เปรียบเทียบกับชุดควบคุม Zn (0.5 μM) พบการหยุดเจริญของ spongy และ palisade parenchyma เซลล์ มีผลต่อการเสียหายของเซลล์ และการลดช่องว่างระหว่างเซลล์ และ Kim and Wetzstein (2003) ได้ศึกษาในใบของต้น Pecan (*Carya illinoinensis* (Wangenh.) C. Koch) รายงานว่าเมื่อพืชขาดสังกะสีที่ไม่รุนแรง palisade เซลล์จะกว้างสั้น และมีแวคิวโอลมากกว่าใบที่ได้รับสังกะสีเพียงพอ รวมทั้งขนาดของ epidermis, spongy mesophyll และแวคิวโอลใน spongy เซลล์จะเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้าม Todeschini *et al*. (2011) ศึกษาผลของความเข้มข้นสูงของสังกะสีของใบ poplar จะพบชั้น palisade และ spongy เซลล์ มีความหนา และความกว้างของเซลล์ในชั้นนี้มากกว่าใบที่ขาดธาตุสังกะสี มีจำนวนของคลอโรพลาสต์ใน palisade เซลล์ลดลง และเมื่อใบที่แสดงอาการขาดสังกะสีที่รุนแรงจะก่อให้เกิดความเสียหายของเซลล์ในพื้นที่นี้ และยังส่งผลให้ความหนา ความสูงของ palisade เนื้อเยื่อชั้น spongy และจำนวน palisade เซลล์ต่อความยาวของพื้นที่ผิวใบลดลง (Kim and Wetzstein, 2003) และในใบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของ pecan จะมีความหนาของใบ ชั้นของเซลล์ทั้ง palisade และ spongy parenchyma และผิวใบส่วนบนและล่างลดลงเมื่อพืชเกิดอาการขาดธาตุสังกะสีอย่างรุนแรง

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีความเขียวใบกับเซลล์ชั้นต่าง ๆ ของใบมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับธาตุสังกะสีที่แตกต่างกันและเมื่อระยะเวลาที่ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก กล่าวคือ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีความเขียวใบเพิ่มขึ้นเมื่อค่าความหนาของใบมันสำปะหลังเพิ่มขึ้น (R^2= 0.22) (ภาพที่ 18A) รวมทั้งชั้นเซลล์ผิวใบบน และล่างของใบมันสำปะหลังที่มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกด้วย (R^2= 0.07 และ 0.04 ตามลำดับ) (ภาพที่ 18B และ E) สำหรับเซลล์ชั้น palisade และ spongy parenchyma มีค่าความสัมพันธ์สูงกว่าความสัมพันธ์ของเซลล์ชั้นอื่น ๆ จากที่ได้กล่าวมา (ภาพที่ 18C และ D) ทั้งนี้มีความสัมพันธ์เชิงบวก (R^2= 0.18 และ 0.34 ตามลำดับ) เมื่อความหนาของเซลล์ทั้งสองชั้นนี้เพิ่มขึ้น ค่าดัชนีความเขียวที่วัดได้จะเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากว่าเซลล์ทั้งสองชั้นนี้เป็นแหล่งเก็บสะสมคลอโรฟิลล์อยู่ภายใน (Oyetunde, 2009)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 16 ภาพตัดขวางใบของมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสี 0 µM (A,B), 1 µM Zn (C,D), 2 µM Zn (E,F), 10 µM Zn (G,H), 100 µM Zn (I,J) ที่ระยะ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (UE, upper epidermis; LE, lower epidermis; PP, palisade parenchyma; SP, spongy parenchyma; ▬ = 100 µm)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 อิทธิพลของระดับสังกะสีที่มีผลต่อเซลล์ชั้นต่าง ๆ ภายในใบของมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

สัปดาห์	ระดับสังกะสี (µM)	ขนาดของชั้นเนื้อเยื่อ				
		Leaf thickness	Adaxial epidermis	Palisade parencyma	Spongy parencyma	Abaxial epidermis
		(µm)				
2	0	66.8	6.8	28.6	22.4	5.7
	1	47.1	3.8	23.7	14.1	3.0
	2	40.2	3.7	18.4	12.5	2.8
	10	40.4	4.5	18.8	13.5	3.5
	100	42.1	3.9	21.0	12.7	3.1
4	0	63.0	6.4	27.9	22.6	5.2
	1	33.8	3.5	14.4	11.5	2.6
	2	41.8	3.4	20.0	13.4	2.8
	10	37.2	4.0	17.2	11.7	3.0
	100	38.5	4.1	18.3	11.3	3.3
6	0	44.4	3.9	21.3	13.7	3.3
	1	41.7	3.9	17.2	16.3	2.7
	2	39.6	3.9	18.6	12.4	3.0
	10	42.6	4.0	18.3	14.2	3.0
	100	41.5	4.1	17.9	13.0	3.6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 (ต่อ)

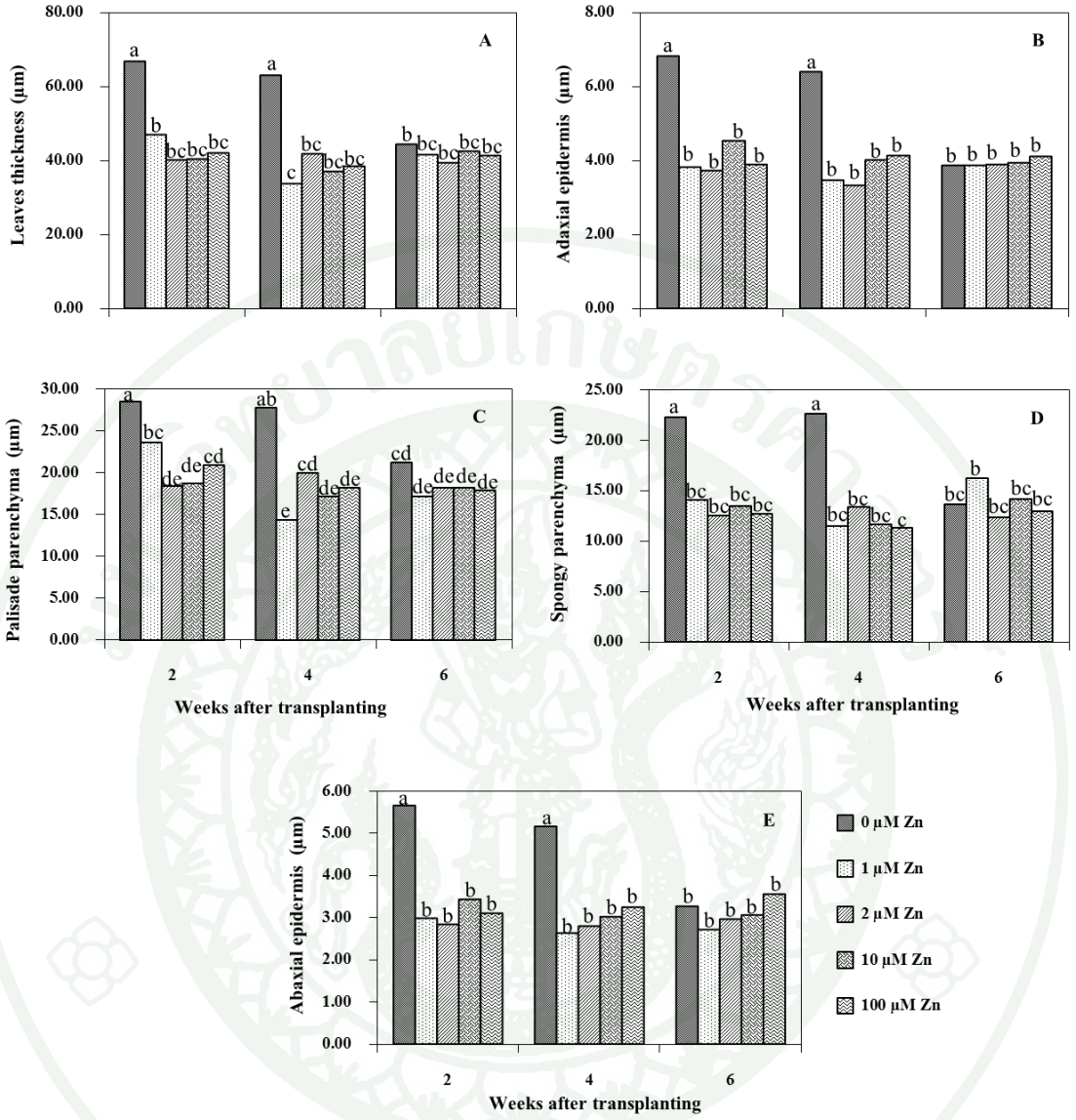
ข้อมูล	ขนาดของชั้นเนื้อเยื่อ				
	Leaf thickness	Adaxial epidermis	Palisade parencyma	Spongy parencyma	Abaxial epidermis
	----------(µm)----------				
ระดับสังกะสี (µM)					
0	58.0A	5.7A	25.9A	19.6A	4.7A
1	40.9B	3.7B	18.4B	14.0B	2.8C
2	40.5B	3.7B	18.9B	12.8B	2.9C
10	40.1B	4.2B	18.1B	13.2B	3.2BC
100	40.7B	4.1B	19.0B	12.3B	3.3B
F-test	**	**	**	**	**
สัปดาห์					
2	47.3A	4.6A	22.1A	15.0	3.6A
4	42.9B	4.3AB	19.5B	14.1	3.4AB
6	42.0B	4.0B	18.6B	13.9	3.1B
F-test	**	**	**	ns	**
ระดับสังกะสี*สัปดาห์	**	**	**	**	**
CV (%)	11.9	15.7	12.9	17.1	15.9

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

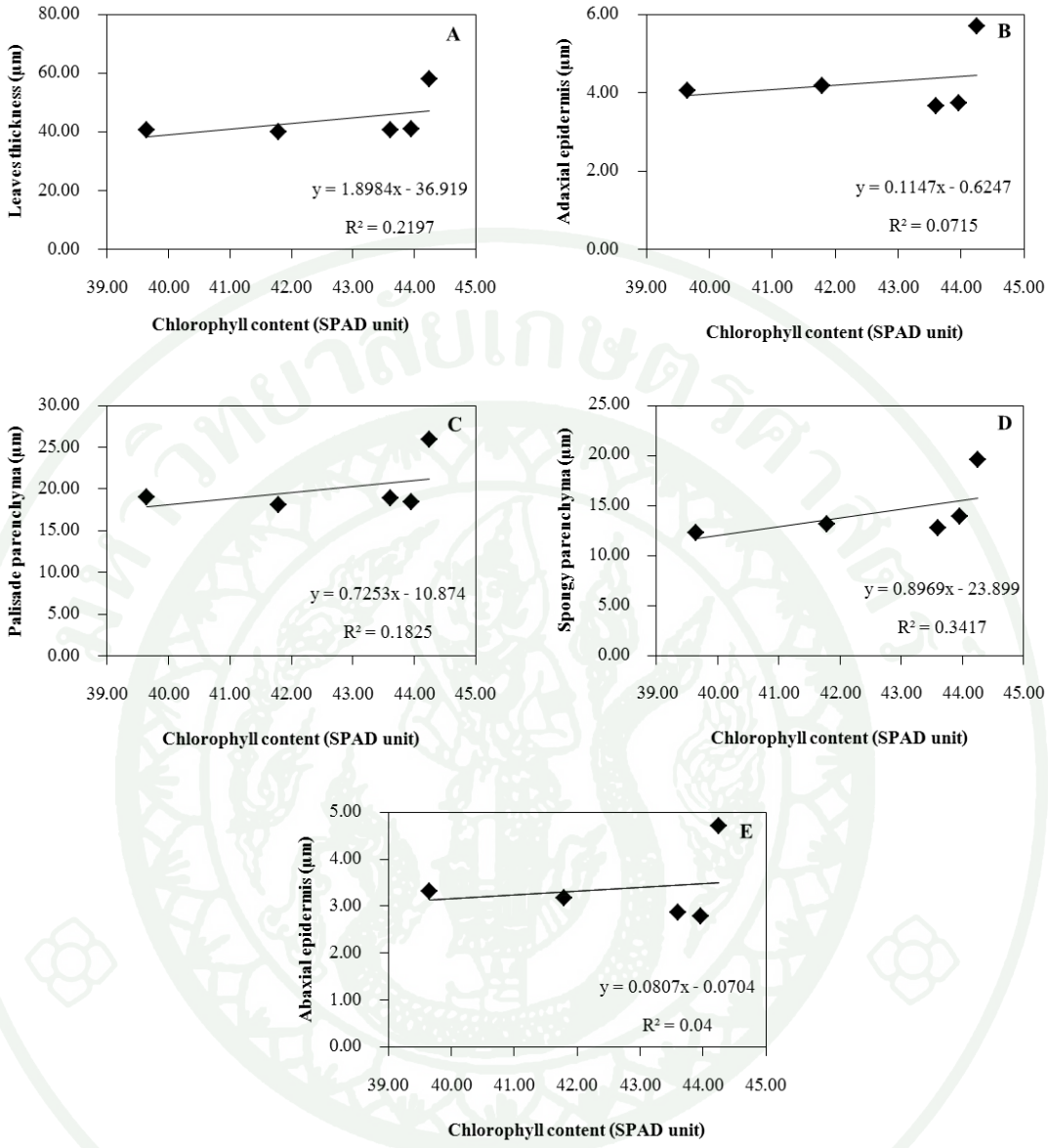
* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 17 ขนาดของชั้นเนื้อเยื่อของใบมันสำปะหลังประกอบด้วย ความหนาของใบ (A),ชั้นผิวใบชั้นบน (adaxial epidermis) (B), ชั้น palisade parenchyma (C), ชั้น spongy parenchyma (D) และชั้นผิวใบชั้นล่าง (Abaxial epidermis) (E) ที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีค่าความเขียวใบ (SPAD unit) กับความหนาของใบ (A), ชั้นผิวใบชั้นบน (adaxial epidermis) (B), ชั้น palisade parenchyma (C), ชั้น spongy parenchyma (D) และชั้นผิวใบชั้นล่าง (Abaxial epidermis) (E) ที่เจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การทดลองเพื่อศึกษาอิทธิพลของธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโต การแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) และลักษณะทางกายวิภาคของใบมันสำปะหลังที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร สรุปผลการทดลองได้ ดังนี้

1. การศึกษาระดับของธาตุสังกะสีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง มีผลต่อความสูงลำต้น และความยาวรากของมันสำปะหลังซึ่งสูงที่สุดที่ระดับธาตุสังกะสี 10 μM และมวลรวมน้ำหนักสดและแห้งของมันสำปะหลังลดลงต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับการขาดธาตุสังกะสี ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์เอ บี และคลอโรฟิลล์เอต่อบีในใบมันสำปะหลังไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อวัดค่าดัชนีความเขียว (SPAD index) จะลดลงเมื่อมีธาตุสังกะสีในสารละลายธาตุอาหารเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้อัตราส่วนเหนือดินต่อส่วนรากสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อระดับการขาดธาตุสังกะสีในสารละลายธาตุอาหาร แสดงให้เห็นว่า เมื่อมันสำปะหลังได้รับปริมาณธาตุสังกะสีเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้มีการเจริญเติบโตในส่วนรากซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่เป็นผลผลิตของมันสำปะหลังได้เพิ่มขึ้น

2. การสะสมธาตุสังกะสีในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และมีการสะสมธาตุสังกะสีสูงสุดที่ระดับธาตุสังกะสี 100 μM และพบการสะสมธาตุสังกะสีสูงสุดในราก ใบ และลำต้น ตามลำดับ สำหรับการดูดธาตุสังกะสีไปใช้ยังส่วนยอดของพืชก็จะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับธาตุสังกะสีในสารละลายธาตุอาหารเพิ่มขึ้นเช่นกัน ในทางตรงข้ามกับประสิทธิภาพของความเป็นประโยชน์ของธาตุสังกะสีจะลดลงเมื่อมีระดับธาตุสังกะสีเพิ่มมากขึ้นในสารละลายธาตุอาหาร

3. การศึกษาการแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) จากการโคลนชิ้นส่วนจากใบมันสำปะหลังและการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ZIP* มีความยาวทั้งสิ้น 999 คู่เบส และเมื่อนำมาถอดรหัสเป็นกรดอะมิโนได้กรดอะมิโนมีความยาวทั้งสิ้น 333 residues และเมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนโดยใช้เทคนิค real-time PCR พบว่า ยีนนี้จะมีการแสดงออกของยีน *ZIP* สูงเมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่ขาดสังกะสีหรือมีระดับธาตุสังกะสีต่ำ และมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การแสดงออกของยีนชนิดนี้ในใบสูงกว่าลำต้น และราก ตามลำดับ และพบการแสดงออกของยีนนี้อย่างเด่นชัดในช่วงระยะเวลา 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

4. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในใบของมันสำปะหลังจะมีความหนาของใบ ความหนาของชั้นผิวใบด้านบน และด้านล่าง เซลล์ชั้น palisade parenchyma และชั้น spongy parenchyma ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหารที่ระดับธาตุสังกะสีเพิ่มมากขึ้นที่ระดับ 1-100 μM และเมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาของเซลล์ชั้นต่าง ๆ กับค่าดัชนีความเขียวใบ (SPAD unit) มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณเซลล์ชั้น palisade และ spongy parenchyma ที่มีความหนาของเซลล์ชั้นนี้มากจะมีค่าดัชนีความเขียวใบที่สูงตามไปด้วย นอกจากนี้ระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังจากย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารค่าความหนาของเซลล์ชั้นต่าง ๆ ลดลงด้วย

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง การแสดงออกของยีน Zinc transporter (*ZIP*) และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของมันสำปะหลัง ในระยะตั้งตัวของมันสำปะหลังจะเห็นว่า ธาตุสังกะสีมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังซึ่งมีผลต่อการสร้างอาหารที่ไปสะสมไว้ในหัวใต้ดิน การทดลองนี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป ทั้งการศึกษากระบวนการสังเคราะห์แสง การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของพืช และการศึกษาการแสดงออกในระดับยีน ในระยะการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังช่วงอื่น ๆ เพื่อจะสามารถนำความรู้พื้นฐานเหล่านี้ไปใช้ในการจัดการธาตุอาหารให้แก่มันสำปะหลัง เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตในการปลูกมันสำปะหลังในโอกาสต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กิติคุณ วงศ์ชนะ. 2551. **กายวิภาคของสบู่ดำและสบู่แดง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กรมวิชาการเกษตร. 2547. **มันสำปะหลัง**. เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 7/2547. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

คณะกรรมการจัดทำปทานุกรมปฐพีวิทยา. 2551. ปทานุกรมปฐพีวิทยา. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์. 2532. **มันสำปะหลัง : การปลูก อุตสาหกรรมแปรรูปและการใช้ประโยชน์**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธนาคารแห่งประเทศไทย. 2557. **สถานการณ์สินค้าเกษตรสำคัญปี 2556 และแนวโน้มปี 2557**. ธนาคารแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

นรินทร์ สมบูรณ์สาร. 2526. **การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาคและเซลล์วิทยาของพืชไฮโดรคาร์บอนบางชนิด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2551. **เทคนิคเนื้อเยื่อพืช**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปิยะ ดวงพัตรา, วิจารณ์ วิชชุกิจ, เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, ปิยะวุฒิ พูลสงวน, จำลอง เจียมจำนรรจา, เอ็จ สโรบล และ วัชรี เลิศมงคล. 2542. **ดินและปุ๋ยมันสำปะหลัง**. เอกสารเผยแพร่วิชาการโครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พูนพิภพ เกษมทรัพย์, เจษฎา ภัทรเลอพงษ์, เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ และ เพ็น สายขุนทด. 2537. ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งใบและอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบมันสำปะหลัง 3 พันธุ์, น. 105-113. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 32 สาขาพืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มนัสนันท์ เกื้อหนุน. 2551. **ผลการใส่สังกะสีต่อการตอบสนองของข้าวโพดและปริมาณสังกะสีที่เป็นประโยชน์ในดินเนื้อปูน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2552. **ธาตุอาหารพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วัฒนะ วัฒนานนท์, เสาวรี ตังสกุล, เมธี คำหุ่ง, จำลอง กกรัมย์, สมพงษ์ ชมพูนุกูลรัตน์, สุกิจ รัตนศรีวงษ์, สุวพันธ์ รัตนะรัต, ปรีชา เพชรประไพ และ ไรน์ฮาร์ด เฮาเลอร์. 2547. การตอบสนองต่อปุ๋ยธาตุอาหารเสริมที่มีต่อผลผลิตมันสำปะหลัง พันธุ์ระยอง 72 และเกษตรศาสตร์ 50. **วารสารวิชาการเกษตร** 22 (1): 24-38.

ศิรินทรา ตะสาลิกา. 2553. **การตอบสนองของมันสำปะหลังที่ปลูกในดินเนื้อหยาบต่อปุ๋ยสังกะสีและเหล็กที่ให้ทางใบร่วมกับมูลไก่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. 2537. **มันสำปะหลัง**. เอกสารวิชาการ. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สุดใจ สูนาสวน, ยรรยง สมบัติวิชาธร, สิริมา ธนพงศ์พิพัฒน์, คนางค์ ดวงมณี และ เสาวณิต วรดิษฐ์. 2554. **รายงานผลการศึกษาสินค้าเกษตรประเภทมันสำปะหลัง มีนาคม 2554**. สำนักงานคณะกรรมการกำกับการซื้อสินค้าเกษตรล่วงหน้า. 92 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. **สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2554**. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

_____. 2556. **สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญ และแนวโน้มปี 2557**. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อาวุธ ณ ลำปาง. 2499**. การศึกษากายวิภาคของรากพืช**. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โอภาษ บุญเสิ่ง. 2531. **การศึกษาการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Ali, G., P.S. Srivastava and M. Iqbal. 1999. Morphogenic and biochemical responses of *Bacopa monniera* cultures to zinc toxicity. **Plant Sci.** 143: 187-193.

Alves, A.A.C. 2002. Cassava botany and physiology, pp. 67-89. *In* R.J. Hillockss, J.M Thresh and A.C. Bellotti, eds. **Cassava: Biology, Production and Utilization**. CABI Publishing, NewYork.

Bamrungsetthapong, T., V. Vichukit and S. Nakasathien. 2010. Cloning and Molecular Characterization of the Zinc Transporter (*ZIP*) Gene from Cassava. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 44: 89-901.

Boawn, L.C. and P.E. Rasmussen. 1971. Crop response to excessive zinc fertilization of alkaline soil. **Agron. J**. 63: 874-876.

Brady, N.C. and R.R. Weil. 2008. **The Nature and Properties of Soils**. 14th ed., Pearson Education, Inc., New Jersey.

Brune, A., W. Urbach and K.J. Dietz. 1994. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. **Plant Cell Environ.** 17: 153-162.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Cabral, G.B., I CJB Carvalho, and B.A. Schaal. 2000. The formation of storage root in cassava, pp. 345-356. *In* **Cassava Biotechnology-IV Internationnal Scientific Meeting CBN**. EMBRAPA-Genetic Resources and Biotechnology, Brazil.

Cakmak, I., B. Torun, B. Erenoğlu, L. Öztuürk, H. Marschner, M. Kalayci, H. Ekiz and A. Yilmaz. 1998. Morphological and physiological differences in the response of cereals to zinc deficiency. **Euphytica** 100: 349-357.

_____, O. Cakmak, S. Eker, A. Ozdemir, N. Watanabe and H.J. Braun. 1999. Expression of high zinc efficiency of *Aegilops tauschii* and *Triticum monococcum* in synthetic hexaploid wheat's. **Plant and Soil** 215: 203-220.

Chakravarty, B. and S. Srivastava. 1992. Toxicity of some heavy metals *in vivo* and *in vitro* in *Helianthus annuus*. **Mutat. Res.** 283: 287-294.

Chaudhary, S.K. and N.K. Singh. 2007. Effect of levels of nitrogen and zinc on grain yield and their uptake in transplanted rice. **Oryza** 44: 44–47.

CIAT. 1978. **Cassava program**. Annual Report for 1977. CIAT, Cali, Colombia.

Cock, J.H, D. Franklin, G. Sandoval and P. Juri. 1979. The ideal cassava plant for maximum yield. **Crop Sci**. 19: 271-279.

Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. **Focus** 12: 13-15.

Edwards, G.E., E. Sheta , B.D. Moore., Z. Dai, V.R. Franceschi, S.H. Cheng, C.H. Lin and M.S.B. Ku. 1990. Photosynthetic characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). a C_3 species with chlorenchymatous bundle sheath cells. **Plant Cell Physiol.** 31: 1199-1206.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

El-Bendary, A.A., M.F. EL-Masry, M.E. Fekry and M.M. El-Fouly. 2013. Zinc efficient of some Egyptian wheat genotypes grown in Zn-deficient soil. **Int. J. AgriScience** 3: 263-274.

El-Nasharty, A.B., A.I. Rezk, E.A.A. Abou El-Nour and O.A. Nofal. 2013. Utilization efficiency of zinc by some wheat cultivars under stress condition of zinc deficiency. **World Appl. Sci. J.** 25: 1485-1489.

El- Sharkawy, M. A. 2004. Cassava biology and physiology. **Plant Molecular Biology**. 56: 481-501.

_____. 2006. Review: International research on cassava photosynthesis, productivity, eco-physiology, and responses to environmental stresses in the tropics. **Photosynthetica**. 44: 481-512.

_____ and J.H. Cock. 1990. Relationships between biomass, root-yield and single-leaf photosynthesis in fields-grown cassava. **Field Crop. Res.** 25: 183-201.

_____, S. M. D. Tafur and L. F. Cadavid. 1992. Potential photosynthesis of cassava as affected by growth conditions. **Crop Sci**. 32: 1336-1342.

Epstein, E. and A. J. Bloom. 2005. **Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives**. Sinauer Associations, Inc. Publisher, Massachusetts.

Erenoglu, B., M. Nikolic, V. Römheld and I. Cakmak. 2002. Uptake and transport of foliar applied zinc (^{65}Zn) in bread and durum wheat cultivar differing in zinc efficiency. **Plant Soil** 241: 251-257.

Fageria, N.K., A. B. dos Santos and T. Cobucci. 2011. Zinc nutrition of lowland rice. **Commun. Soil Sci. Plan.** 42: 1719-1727.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Food and Agriculture Organization. 2013. **Food Outlook: Biannual report on global food Market November 2013**. 139 pp.

Frey, B., C. Keller, K. Zierold and R. Schulin. 2000. Distribution of Zn in functionally different leaf epidermis cells of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Plant Cell Environ.** 23: 675-687.

Genc, Y., C.Y. Huang and P. Langridge. 2007. A study of the role of root morphological traits in growth of barley in zinc-deficient soil. **J. Exp Bot.** 58: 2775-2784.

_____, G.K. McDonald and R.D. Graham. 2002. Critical deficiency concentration of zinc in barley genotypes differing in zinc efficiency and its relation to growth responses. **J. Plant Nutr.** 25: 545-560.

Gomes, M.P., D.M. Duarte, M.M.L.C. Carneiro, L.C. Barreto, M. Carvalho and A.M. Soares. 2013. Zinc tolerance modulation in *Myracrodruon urundeuva* plants. **Plant Physiol. Biochem.** 67: 1-6.

Graciano-Ribeiro, D. and N.M.A. Nassar. 2012. A comparative anatomical study in cassava diploid and tetra ploid hybrids. **Plant Syst. Evol**. 298: 1711-1721.

Grewal H.S. and R. Williams. 2000. Zinc nutrition effects alfalfa responses to water stress and excessive moisture. **J. Plant Nutr.** 23: 949-962.

Grotz, N., T. Fox, E. Connolly, W. Park, M.L. Guerinot and D. Eide. 1998. Identification of a family of zinc transporter genes from Arabidopsis that respond to zinc deficiency. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 95: 7220-7224.

Guerinot, M.L. 2000. To improve nutrition for the world's population. **Science** 288: 1966-1967.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hao, H.L., Y.Z. Wei, X.E. Yang, Y. Feng and C.Y. Wu. 2007. Effects of different nitrogen fertilizer levels on Fe, Mn, Cu and Zn concentrations in shoot and grain quality in rice (*Oryza sativa*). **Rice Science** 14: 289-294.

Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale and W.L. Nelson. 2005. **Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management**. 7th edition, Pearson Education, Inc., New Jersey.

Hoagland, D.R. and D.I. Arnon. 1950. The water culture method for growing plants without soil. **Calif Agr Expt Sta Circ.** 347: 1-32.

Hong, W. and J. Ji-yun. 2007. Effects of zinc deficiency and drought on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in Maize (*Zea mays* L.). **Agr Sci China** 6: 988-995.

Howeler, R. H. 1978. The mineral nutrition and fertilization of cassava, pp. 247-292. *In* **Cassava Production Course**. CIAT, Cali, Colombia.

_____ and L. F. Cadavid. 1983. Accumulation and distribution of dry matter and nutrients during a 12 month growth cycle of cassava. **Field Crop. Res.** 7: 123-139.

Ishimaru, Y., M. Suzuki, T. Kobayashi, M. Takahashi, H. Nakanishi, S. Mori and N.K. Nishizawa. 2005. OsZIP4, a novel zinc-regulated zinc transporter in rice. **J. Exp. Bot.** 56: 3207-3214.

Kösesakal, T. and M. Ünal. 2009. Role of zinc deficiency in photosynthetic pigments and peroxidase activity of tomato seedlings. **IUFS J. Biol**. 68: 113-120.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Khan, H.R., G.K. McDonald and Z. Rengel. 2004. Zinc fertilization and water stress affects plant water relations, stomatal conductance and osmotic adjustment in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant and Soil** 267: 271-284.

Kim, T. and H. Y. Wetzstein. 2003. Cytological and ultrastructural evaluations of zinc deficiency in leaves. **J. Amer. Soc. Hort. Sci**. 128: 171-175.

Lancaster, P.A., J.S. Ingram, M.Y. Lim and D.G. Coursey. 1982. Traditional cassava based foods: Survey of processing techniques. **Econ. Bot.** 36: 12-45.

Lawlor, D.W. 2001. **Photosynthesis**. ViVa Books Private Limited. New Delhi, India.

Livak, K.N. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta_{CT}}$ method. **Methods** 25: 402-408.

Loneragan, J.F., T.S. Grove, A.D. Robson and K. Snowball. 1979. Phosphorus toxicity as a factor in zinc-phosphorus interactions in plants. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 43: 966-972.

Mäser, P., S. Thomine, J.I. Schroeder, J.M. Ward, K. Hirschi, H. Sze, I.N. Talke, A. Amtmann, F.J. Maathuis, D. Sanders, J.F. Harper, J. Tchieu, M. Gribskov, M.W. Persans, D.E. Salt, S.A. Kim and M.L. Guerinot. 2001. Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis*. **Plant Physiol**. 126: 1646-1667.

Marschner, H. 1995. **Mineral Nutrition of Higher Plant**. 2nd edition, Academic Press. London, UK.

Maruthi Sridhar, .B.B., S.V. Diehl, F.X. Han, D.L. Monts and Y. Su. 2005. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn an Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environ. Exp. Bot.** 54: 131-141.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

_____, F.X. Han, S.V. Diehl, D.L. Monts and Y. Su. 2007. Effects of Zn and Cd accumulation on structural and physiological characteristics of barley plants. **Braz. J. Plant. Physiol.** 19: 15-22.

Mengel, K. and E.A. Kirkby. 2001. **Principles of Plant Nutrition**. 5Th edition, Kluwer Academic Publishers. Netherlands.

Michael, P.I. and M. Krishnaswamy. 2011. The effect of zinc stress combined with high irradiance stress on membrane damage and antioxidative response in bean seedlings. **Environ. Exp. Bot.** 74: 171-177.

Milner, M.J., J. Seamon, E. Craft and L.V. Kochian. 2013. Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis. **J. Exp. Bot.** 64: 369-381.

Moran, R. 1982. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N,N-dimethylformamide. **Plant Physiol.** 69: 1376-1381.

Moreau, S., R.M. Thomson, B.N. Kaiser, B. Trevaskis, M.L. Guerinot, M.K. Udvardi, A. Puppo and D.A. Day. 2002. GmZIP1 encodes a symbiosis-specific zinc transporter in soybean. **J. Biol. Chem**. 15: 4738-4746.

Muthukumararaja, T.M. and M.V. Sriramachandrasekharan. 2012. Effect of zinc on yield, zinc nutrition and zinc use efficiency of lowland rice. **J. Agric. Technol.** 8: 551-561.

Nair, P.G. and B. Mohankumar. 1980. Response of cassava to micronutrients application in acid laterite soil, pp. 81-83. *In* **Proc. Nat. Seminar on Tuber Crops Production Technology**, November 21-22, 1980. Faculty of Horticulture, Timil Nudu Agric. Univ., Coimbatore, India.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Oyetunde, A. 2009. **IITA Research Guide 55 Physiology of cassava**. Available Source: http://old.iita.org/cms/details/trn_mat/irg55/irg55obj.html, June 24, 2014.

Palmgren, M.G., S. Clemens, L.E. Williams, U. Kramer, S. Borg, J.K. Schjørring and D. Sanders. 2008. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. **Trends Plant Sci.** 13: 464-473.

Peda Babu, P., M. Shanti, B. R. Prasad and P.S. Minhas. 2007. Effect of zinc on rice in rice-black gram cropping system in saline soils. **Andhra Agric. J.** 54: 47-50.

Plenderleith, R.W. 1984. **An evaluation of the tolerance of a range of tropical grasses to excessive soil levels of copper and zinc**. Master of Thesis, University of Queensland, Australia.

Polar, E. 1975. Zinc in pollen and its concentration into seeds. **Planta** 123: 97-103.

Ramanujam, T. and J.S. Jos. 1984. Influence of light intensity on chlorophyll distribution and anatomical characters of cassava leaves. **Turrialba** 34: 467-471.

Rauser, W.E. and A.B. Samarakoon, 1980. Vein loading in seedlings of *Phaseolus vulgaris* exposed to excess cobalt, nickel and zinc**. Plant Physiol.** 65: 578-583.

Reichman, S.M. 2002. **The responses of plants to metal toxicity: A review focusing on copper, manganese and zinc**. Australian Minerals & Energy Environment Foundation. Australia.

Ren, F., T. Liu, H. Liu and B. Hu. 1993. Influence of zinc on the growth, distribution of elements, and metabolism of one-year old American ginseng plants. **J. Plant Nutr.** 16: 393-405.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sachdev, P., D.L. Dep and D.K. Rastogi. 1998. Effect of varying levels of zinc and manganese on dry matter yield and mineral composition of wheat plant at maturity. **J. Nuclear Agric. Biol.** 17: 137-143.

Santandrea, G., C. Tani and A. Bennici. 1998. A cytological and ultrastructural response of *Nicotiana tabacum* L. roots to manganese stress. **Plant Biosyst**. 132: 197-206.

Sharma, P.N., A. Tripathi and S.S. Bisht. 1995. Zinc requirement for stomatal opening in cauliflower. **Plant Physiol**. 107: 751-756.

Shi, G.R. and Q.S. Cai. 2009. Photosynthetic and anatomic responses of peanut leaves to zinc stress. **Biol. Plantarum** 53: 391-394.

Talukdar, S. and M.G.M. Aarts. 2008. *Arabidopsis thaliana* and *Thlaspi caerulescens* respond comparably to low zinc supply. **Plant Soil** 306: 85-94.

Todeschini, V., G. Lingua, G.D. Agostino, F. Carniato, E. Roccotiello and G. Berta. 2011. Effect of high zinc concentration on poplar leaves: A morphological and biochemical study. **Environ. Exp. Bot.** 71: 50-56.

Van Assche, F. and H. Clijsters. 1986. Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of zinc: effect on ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase. **J. Plant Physiol.** 125: 355-360.

Vassilev, A., A. Nikolova, L. Koleva and F. Lidon. 2011. Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants. **J. Phytol.** 3: 58-62.

Xu, Q., W. Chu, H. Qiu, Y. Fu, S. Cai and S. Sha. 2013. Responses of *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle to zinc: In situ localization, subcellular distribution and physiological and ultrastructural modifications. **Plant Physiol. Biochem.** 69: 43-48.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Zhao, A., X. Lu, Z. Chen, X. Tian and X. Yang. 2011. Zinc fertilization methods on zinc absorption and translocation in wheat. **J. Agr. Sci.** 3: 28-35.

Zhao, F.J., E. Lombi, T. Breedon and S.P. McGrath. 2000. Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. **Plant Cell Environ**. 23: 507-514.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 1 ค่าร้อยละของความสูง และความยาวรากที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับค่าของความสูง และความยาวรากที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μM

ข้อมูล	ความสูง	ความยาวราก
	----------(ร้อยละ)----------	
ระดับสังกะสี (μM)		
0	-14.4	-38.4
1	+0.7	-4.6
2	0	0
10	+18.5	+29.5
100	+10.0	+0.2
สัปดาห์		
2	0	0
4	+69.3	+32.5
6	+166.3	+78.7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 2 ค่าร้อยละของน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของใบ ลำต้น และรากของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μM

ข้อมูล	น้ำหนักสด			น้ำหนักแห้ง		
	ใบ	ลำต้น	ราก	ใบ	ลำต้น	ราก
	----------(ร้อยละ)----------					
-						
ระดับสังกะสี(μM)						
0	-44.6	-44.7	-47.2	-37.8	-42.7	-48.7
1	+16.1	+6.0	+6.6	+11.6	+4.7	-6.8
2	0	0	0	0	0	0
10	+10.1	+10.3	-4.7	+16.4	+18.1	-4.3
100	+13.1	+26.9	+6.5	-15.2	+23.4	-2.6
สัปดาห์						
2	0	0	0	0	0	0
4	+21.7	+3.1	+23.7	-6.3	+6.3	+60.5
6	+188.5	+186.5	+201.8	+126.6	+251.6	+447.4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 3 ค่าร้อยละของมวลรวมสด และมวลรวมแห้งของมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับมวลรวมสด และมวลรวมแห้งของมันสำปะหลังที่ระดับความเข้มข้นของสังกะสี 2 μM

ข้อมูล	มวลรวมพืช	
	มวลสด	มวลแห้ง
	----------(ร้อยละ)----------	
ระดับสังกะสี (μM)		
0	-45.5	-40.1
1	+11.7	+7.8
2	0	0
10	+5.1	+13.8
100	+13.8	-5.5
สัปดาห์		
2	0	0
4	+18.2	-1.6
6	+192.2	+173.0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 4 ค่าการดูด (uptake) (total amount of Zn in shoot mg.plant^{-1}) และค่าประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ (utilization Efficiency: UtE) (g DM.mgZn$_{uptake}^{-1}$) ของธาตุสังกะสีที่ระดับธาตุสังกะสีแตกต่างกัน

ระดับสังกะสี (μM)	Zn uptake	Zn UtE
0	251.0	0.018
1	848.6	0.010
2	700.9	0.010
10	1113.0	0.008
100	3239.4	0.002

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสูงของต้นมันสำปะหลัง (เซนติเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	7880.948	562.924	8.66**
Zinc level (Z)	4	552.082	138.020	2.12^{ns}
WAT (W)	2	7049.680	3524.840	54.24**
ZxW	8	279.186	34.898	0.54^{ns}
Error	30	1949.691	64.990	
Total	44	9830.639	223.424	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความยาวรากของมันสำปะหลัง (เซนติเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	3030.748	216.482	7.25**
Zinc level (Z)	4	574.657	143.664	4.81**
WAT (W)	2	2213.946	1106.973	37.08**
ZxW	8	242.144	30.268	1.01^{ns}
Error	30	895.690	29.856	
Total	44	3926.439	89.237	

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดใบของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	12294.738	878.196	8.36**
Zinc level (Z)	4	1944.876	486.219	4.63**
WAT (W)	2	9270.948	4635.474	44.15**
ZxW	8	1078.915	134.864	1.28^{ns}
Error	30	3149.574	104.986	
Total	44	15444.313	351.007	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดลำต้นของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	2998.431	214.174	4.88**
Zinc level (Z)	4	463.323	115.831	2.64^{ns}
WAT (W)	2	2284.305	1142.153	26.01**
ZxW	8	250.804	31.351	0.71^{ns}
Error	30	1317.120	43.904	
Total	44	4315.552	98.081	

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดรากของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	6011.984	429.427	10.52**
Zinc level (Z)	4	865.304	216.326	5.30**
WAT (W)	2	4763.556	2381.778	58.34**
ZxW	8	383.123	47.890	1.17^{ns}
Error	30	1224.847	40.828	
Total	44	7236.831	164.473	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งใบของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	338.190	24.156	6.16**
Zinc level (Z)	4	54.406	13.601	3.47*
WAT (W)	2	243.542	121.771	31.07**
ZxW	8	40.241	5.030	1.28^{ns}
Error	30	117.565	3.919	
Total	44	455.754	10.358	

ตารางผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งลำต้นของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	71.976	5.141	5.39**
Zinc level (Z)	4	7.106	1.777	1.86^{ns}
WAT (W)	2	58.625	29.312	30.75**
ZxW	8	6.245	0.781	0.82^{ns}
Error	30	28.596	0.953	
Total	44	100.572	2.286	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งรากของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	28.543	2.039	10.60**
Zinc level (Z)	4	2.044	0.511	2.66^{ns}
WAT (W)	2	25.298	12.649	65.78**
ZxW	8	1.201	0.150	0.78^{ns}
Error	30	5.769	0.192	
Total	44	34.312	0.780	

ตารางผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของมวลรวมสดของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	58280.984	4162.927	8.33**
Zinc level (Z)	4	8839.597	2209.899	4.42**
WAT (W)	2	45344.261	22672.1304	45.37**
ZxW	8	4097.126	512.141	1.02^{ns}
Error	30	14990.009	499.667	
Total	44	73270.993	1665.250	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของมวลรวมแห้งของมันสำปะหลัง (กรัมต่อต้น) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	985.890	70.421	7.55**
Zinc level (Z)	4	115.254	28.814	3.09*
WAT (W)	2	797.556	398.778	42.75**
ZxW	8	73.080	9.135	0.98^{ns}
Error	30	279.824	9.328	
Total	44	1265.714	28.766	

ตารางผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราส่วนน้ำหนักสดของส่วนเหนือดินต่อส่วนรากที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	16.426	1.173	2.53*
Zinc level (Z)	4	5.215	1.304	2.81*
WAT (W)	2	1.976	0.988	2.13^{ns}
ZxW	8	9.235	1.154	2.49*
Error	30	13.910	0.464	
Total	44	30.336	0.690	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราส่วนน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินต่อส่วนรากที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	748.179	53.441	9.82**
Zinc level (Z)	4	78.369	19.592	3.60*
WAT (W)	2	523.071	261.535	48.07**
ZxW	8	146.741	18.343	3.37**
Error	30	163.238	5.441	
Total	44	911.418	20.714	

ตารางผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของค่าดัชนีความเขียว (SPAD unit) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	450.000	32.143	4.58**
Zinc level (Z)	4	134.379	33.595	4.78**
WAT (W)	2	310.290	155.145	22.08**
ZxW	8	5.331	0.666	0.09^{ns}
Error	30	210.771	7.026	
Total	44	660.771	15.018	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 18 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันในสารละลายธาตุที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	0.032	0.002	0.93^{ns}
Zinc level (Z)	4	0.017	0.004	1.77^{ns}
WAT (W)	2	0.007	0.004	1.41^{ns}
ZxW	8	0.008	0.001	0.39^{ns}
Error	30	0.074	0.003	
Total	44	0.106	0.002	

ตารางผนวกที่ 19 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์บี (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันในสารละลายธาตุที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	0.0039	0.0003	0.79^{ns}
Zinc level (Z)	4	0.0020	0.0005	1.43^{ns}
WAT (W)	2	0.0003	0.0002	0.43^{ns}
ZxW	8	0.0016	0.0002	0.56^{ns}
Error	30	0.0105	0.0003	
Total	44	0.0144	0.0003	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 20 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	0.0569	0.0041	0.86^{ns}
Zinc level (Z)	4	0.0321	0.0080	1.71^{ns}
WAT (W)	2	0.0086	0.0043	0.91^{ns}
ZxW	8	0.0162	0.0020	0.43^{ns}
Error	30	0.1412	0.0047	
Total	44	0.1981	0.0045	

ตารางผนวกที่ 21 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บี (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	0.9930	0.0709	2.42*
Zinc level (Z)	4	0.0985	0.0246	0.84^{ns}
WAT (W)	2	0.6564	0.3282	11.19**
ZxW	8	0.2381	0.0298	1.01^{ns}
Error	30	0.8799	0.0293	
Total	44	1.8729	0.0426	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 22 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณสังกะสีที่สะสมในใบของมันสำปะหลัง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	488748.267	34910.591	77.63**
Zinc level (Z)	4	292655.197	73163.799	162.70**
WAT (W)	2	56510.438	28255.219	62.83**
ZxW	8	139582.632	17447.829	38.80**
Error	30	13490.376	449.679	
Total	44	502238.644	11414.515	

ตารางผนวกที่ 23 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณสังกะสีที่สะสมในลำต้นของมันสำปะหลัง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	338202.548	24157.325	141.45**
Zinc level (Z)	4	228798.865	57199.716	334.91**
WAT (W)	2	35253.358	17626.679	103.21**
ZxW	8	74150.325	9268.791	54.27**
Error	30	5123.680	170.789	
Total	44	343326.228	7802.869	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 24 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณสังกะสีที่สะสมในรากของมันสำปะหลัง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	551358.630	39382.759	107.27**
Zinc level (Z)	4	315751.036	78937.759	215.00**
WAT (W)	2	13124.915	6562.458	17.87**
ZxW	8	222482.679	27810.335	75.75**
Error	30	11014.494	367.150	
Total	44	562373.124	12781.207	

ตารางผนวกที่ 25 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	5676.313	405.451	14.66**
Zinc level (Z)	4	3674.675	918.669	33.21**
WAT (W)	2	410.865	205.432	7.43**
ZxW	8	1590.773	198.847	7.19**
Error	30	1659.574	27.659	
Total	44	7335.887	99.134	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 26 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาผิวใบด้านบนของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	69.248	4.946	11.50**
Zinc level (Z)	4	41.491	10.373	23.17**
WAT (W)	2	4.722	2.361	5.27**
ZxW	8	23.035	2.879	6.43**
Error	30	26.866	0.448	
Total	44	96.114	1.299	

ตารางผนวกที่ 27 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของชั้น palisade parenchyma ของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	1079.841	77.132	11.59**
Zinc level (Z)	4	646.458	161.615	24.29**
WAT (W)	2	163.853	81.927	12.32**
ZxW	8	269.530	33.691	5.06**
Error	30	399.148	6.653	
Total	44	1478.989	19.986	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 28 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของชั้น spongy parenchyma ของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	873.878	62.420	10.32**
Zinc level (Z)	4	527.735	131.934	21.82**
WAT (W)	2	18.384	9.192	1.52^{ns}
ZxW	8	327.758	40.970	6.77**
Error	30	362.868	6.048	
Total	44	1236.746	16.713	

ตารางผนวกที่ 29 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความหนาของผิวใบด้านล่างของใบมันสำปะหลัง (ไมโครเมตร) ที่ได้รับอิทธิพลจากระดับสังกะสีที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาการเจริญเติบโต 2, 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

Source	df	SS	MS	F
Treatment	14	53.888	3.849	13.44**
Zinc level (Z)	4	36.413	9.103	31.79**
WAT (W)	2	3.048	1.524	5.32**
ZxW	8	14.427	1.803	6.30**
Error	30	17.184	0.286	
Total	44	71.072	0.960	

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

GenBank	KJ685509.1
LOCUS	KJ685509 999 bp mRNA linear PLN 22-JUN-2014
DEFINITION	Manihot esculenta cultivar KU50 ZIP transporter mRNA, partial cds.
ACCESSION	KJ685509
VERSION	KJ685509.1 GI:656991273
KEYWORDS	.
SOURCE	Manihot esculenta (cassava)
ORGANISM	Manihot esculenta Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapetalae; rosids; fabids; Malpighiales; Euphorbiaceae; Crotonoideae; Manihoteae; Manihot.
REFERENCE	1 (bases 1 to 999)
AUTHORS	Khongchiu,P., Vichukit,V., Kongsila,P., Kermanee,P., Wongkeaw,A. and Nakasathien,S.
TITLE	Effect of Zinc on Growth, Expression of Zinc Transporter (ZIP) Gene and Anatomy of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) Grown in Nutrient Solutions
JOURNAL	Unpublished
REFERENCE	2 (bases 1 to 999)
AUTHORS	Khongchiu,P., Vichukit,V., Kongsila,P., Kermanee,P., Wongkeaw,A. and Nakasathien,S.
TITLE	Direct Submission
JOURNAL	Submitted (11-APR-2014) Agronomy, Kasetsart University, Ngamwongwan, Chatuvhak, Bangkok 10900, Thailand

ภาพผนวกที่ 1 The Partial *ZIP* gene of *Manihot esculenta* cultivar KU50 *ZIP* transporter mRNA, ในฐานข้อมูล GenBank

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..999
/organism="Manihot esculenta"
/mol_type="mRNA"
/cultivar="KU50"
/db_xref="taxon:3983"
/tissue_type="leaves"

CDS 1..>999
/codon_start=1
/product="ZIP transporter"
/protein_id="AID21515.1"
/db_xref="GI:656991274"
/translation="MSRFSRGYLRVFCFLLLVPAFVIGDCTCENEEQDRN
KSEALKYKAAAIAAILVAGAIGVCLPILGKFIPALNPEKNIFFIIKA
FAAGVILSTGFIHVLPDAFESLTSPCLNENPWGKFPFTGFVAMVS
AIGTLMVDAFATSYYTKSHGQVRNIAGDEEKTEEDGGFHTHAT
HDHSHCSGLIENSASPELLRHRVISQVLELGIVVHSVIIGISLGASQ
SPKTMRPIEDALTFHQFFEGMGLGGCICQAKFKGRVMAIMALFF
SLTTPIGIGIGIGISNAYNENSPTALIVEGIFNSASAGILIYMALVDL
LAADFMNPKVQVNGKLQIGVNLS"

ORIGIN

1 atgagcagat tcagtagagg ctacctcaga gtcttttgct tcctcctgtt ggtcccggct
61 ttcgtgatcg gagattgcac ctgtgaaaac gaagaacaag atcgtaacaa atctgaggca
121 cttaaatata aagcagctgc catagctgca atattggtgg ctggtgcaat tggggtctgc
181 cttccaattc tgggaaagtt catcccagct ttgaatcctg aaaagaatat atttttcata
241 atcaaagcat ttgctgcagg tgtaattttg tcaactgggt tcattcatgt tcttcctgat
301 gctttcgaga gcttgacatc cccttgtctc aatgagaatc catggggaaa gtttcctttc
361 actggttttg tggccatggt ttctgccatt gggactttga tggttgatgc ttttgcgact

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

421 tcttattata ccaagtctca tggacaagtc agaaatatag ctggagatga ggagaaaaca

481 gaagaagatg gaggatttca tactcatgca actcatgatc attctcattg ttcaggtttg

541 attgagaatt ctgcttcacc tgaactcctt cgccatcgag ttatttctca ggttttggag

601 ttgggaattg tggttcactc tgtgataata ggaatctctt taggtgcttc tcaaagtcct

661 aaaacgatga ggcctataga agatgccctc acctttcatc agttctttga gggtatggga

721 cttggtggtt gcatttgtca ggcaaaattt aagggaagag ttatggcgat tatggcactt

781 ttcttctctc tgacaacacc aattgggatt gggattggta ttgggatatc aaacgcgtac

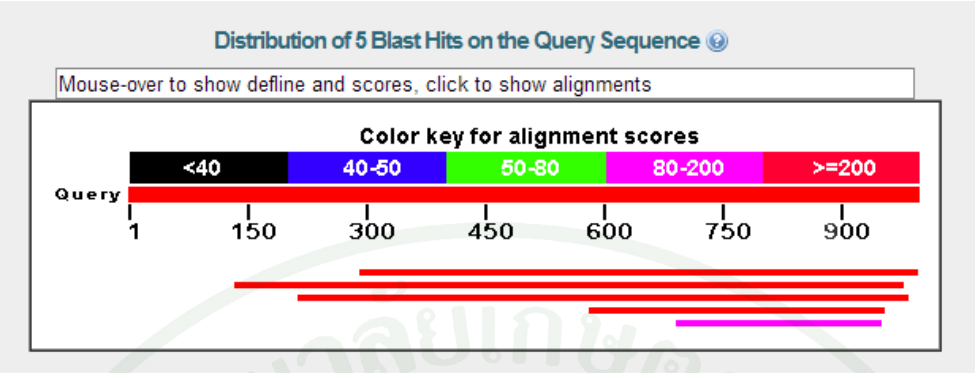
841 aatgaaaaca gcccaactgc cctaattgtt gaagggattt ttaattcagc ctcagctgga

901 attttaattt acatggcatt ggtggatctt cttgctgctg atttcatgaa tcccaaagta

961 caggtcaatg gaaaacttca aattggagtt aatctttct

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Manihot esculenta ZIP mRNA, partial cds	1247	1247	70%	0.0	99%	GU248339.1
☐	Theobroma cacao Zinc transporter 5 precursor (TCM_002136) mRNA, complete cds	462	462	84%	3e-126	77%	XM_007049068.1
☐	Theobroma cacao Zinc transporter 5 precursor (TCM_002038) mRNA, complete cds	425	425	77%	4e-115	77%	XM_007048985.1
☐	PREDICTED: Vitis vinifera zinc transporter 5-like, transcript variant 1 (LOC100250979), mRNA	209	209	37%	4e-50	77%	XM_002274512.1
☐	Lotus japonicus clone JCVI-FLLj-18P1 unknown mRNA	154	154	26%	2e-33	78%	BT134056.1

ภาพผนวกที่ 2 The nucleotide blast of *ZIP* gene for cassava with BLASTX program.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

GenBank	KJ685508.1
LOCUS	KJ685508 390 bp DNA linear PLN 22-JUN-2014
DEFINITION	Manihot esculenta cultivar KU50 18S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION	KJ685508
VERSION	KJ685508.1 GI:656991272
KEYWORDS	.
SOURCE	Manihot esculenta (cassava)
ORGANISM	Manihot esculenta Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapetalae; rosids; fabids; Malpighiales; Euphorbiaceae; Crotonoideae; Manihoteae; Manihot.
REFERENCE	1 (bases 1 to 390)
AUTHORS	Khongchiu,P., Vichukit,V., Kongsila,P., Kermanee,P., Wongkeaw,A. and Nakasathien,S.
TITLE	Effect of Zinc on Growth, Expression of Zinc Transporter (ZIP) Gene and Anatomy of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) Grown in Nutrient Solutions
JOURNAL	Unpublished
REFERENCE	2 (bases 1 to 390)
AUTHORS	Khongchiu,P., Vichukit,V., Kongsila,P., Kermanee,P., Wongkeaw,A. and Nakasathien,S.
TITLE	Direct Submission
JOURNAL	Submitted (04-APR-2014) Agronomy, Kasetsart University, Ngamwongwan, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

ภาพผนวกที่ 3 The partial sequence 18S ribosomal RNA of *Manihot esculenta* cultivar KU50 ในฐานข้อมูล GenBank

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

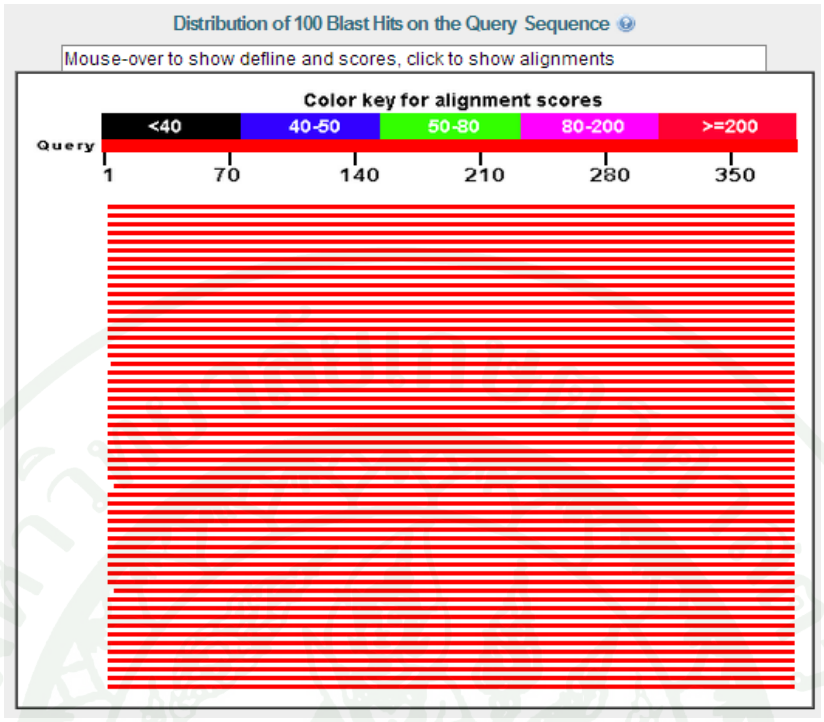
FEATURES	Location/Qualifiers
source	1..390
	/organism="Manihot esculenta"
	/mol_type="genomic DNA"
	/cultivar="KU50"
	/db_xref="taxon:3983"
rRNA	<1..>390
	/product="18S ribosomal RNA"

ORIGIN

```
     1 acaaaacccc gacttctggg aagggatgca tttattagat aaaaggtcga cgcgggctct
    61 gcccgttgct ctgatgattc atgataactc gacggatcgc acggccatcg tgccggcgac
   121 cccatcattc aaatttctgc cctatcaact ttcgatggta ggatagaggc ctaccatggt
   181 ggtgacgggt gacggagaat tagggttcga ttccggagag ggagcctgag aaacggctac
   241 cacatccaag gaaggcagca ggcgcgcaaa ttacccaatc ctgacacggg gaggtagtga
   301 caataaataa caataccggg ctcttcgagt ctggtaattg gaatgagtac aatctaaatc
   361 ccttaacgag gatccattga agggaaaggt
```

ภาพผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Excoecaria agallocha 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	KC140581.1
Manihot grahamii 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	FJ707524.1
Chamaesyce atoto gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268111.1
Spirostachys africana gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268116.1
Hippomane mancinella gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268112.1
Adenopeltis serrata gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268110.1
Micrandropsis scleroxylon gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268102.1
Klaineanthus gaboniae gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268100.1
Hevea brasiliensis gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268099.1
Lobanilia bakeriana gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB268077.1
Hura crepitans gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB233574.1
Excoecaria cochinchinensis gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB233573.1
Manihot esculenta gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB233568.1
Dovyalis macrocalyx gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB233620.1
Flueggea virosa gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AB233607.1
Excoecaria agallocha 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AY289628.1
Hevea sp. Gillespie 4272 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AY674601.1
Endospermum moluccanum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	682	682	98%	0.0	99%	AY674595.1
Mercurialis leiocarpa gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	678	678	98%	0.0	99%	AB233555.1
Harpullia cupanioides isolate EE4_09E_HARCUP 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	676	676	98%	0.0	98%	GU476416.1
Dodonaea viscosa isolate EE3_02B_DODVIS_PNG 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	676	676	98%	0.0	98%	GU476415.1
Pappea capensis isolate EE4_07G_PAPCAP 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	676	676	98%	0.0	98%	GU476378.1
Alectryon excelsus isolate EE2_06D_ALEEXC 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	676	676	98%	0.0	98%	GU476377.1
Alectryon connatus isolate EE4_10C_ALECON 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	676	676	98%	0.0	98%	GU476376.1
Pedilanthus tithymaloides gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	676	676	98%	0.0	98%	AB268115.1
Monadenium crispum gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence	676	676	98%	0.0	98%	AB268114.1

ภาพผนวกที่ 4 The nucleotide blast of 18S ribosomal RNA for cassava with BLASTX program.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นายภานุพงษ์ คงจิว
วัน เดือน ปี ที่เกิด	29 เมษายน 2532
สถานที่เกิด	จังหวัดลพบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ ปีการศึกษา 2553
สถานที่ทำงาน	-
ผลงานและการเข้าร่วมประชุม	- อบรมโครงการ“Management and Use of Genetics Resources 2012” ณ University of Miyazaki ประเทศญี่ปุ่น พ.ศ. 2555 - การประชุมวิชาการ The 2nd Malaysia-Thailand Graduate Forum in Life Science, Food Science and Agriculture (MTGF) 2013 ณ Universiti Putra Malaysia ประเทศมาเลเซีย พ.ศ. 2556 - ตีพิมพ์ผลงาน เรื่อง A Preliminary Study on Expression of Zinc Transporter Gene of Cassava Grown in Nutrient Solutions with some Physiological and Biochemical Responses ในวารสาร Kasetsart Journal (Natural Science) ปีที่ 48 ฉบับที่ 4 พ.ศ. 2557 - นำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์การประชุมสุดยอดมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ครั้งที่ 3 ณ ประเทศไทย พ.ศ. 2557
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนผู้ช่วยนักวิจัย ศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหารมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิทยาการขั้นสูงแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายใต้โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ปี พ.ศ. 2554-2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์