การชักนำมันสำปะหลังให้เกิดการกลายพันธุ์โดยรังสีแกมมา และเอธิลมีเทนซัลโฟเนต

นางสาววิลาวรรณ ทิมทอง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2562

INDUCED MUTATION IN CASSAVA BY GAMMA RADIATION AND ETHYL METHANESULFONATE

Wilawan Thimtong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science Program in Crop Science

Suranaree University of Technology

Academic Year 2019

การชักนำมันสำปะหลังให้เกิดการกลายพันธุ์โดยรังสีแกมมาและเอธิลมีเทนซัลโฟเนต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผศ. ดร.จุติพร มะชิโกวา)
ประธานกรรมการ

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

(ศ. ดร.ปิยะดา อลิฌาณ์ ตันตสวัสดิ์)
กรรมการ

(ผศ. ดร.จิรวัฒน์ สนิทชน)
กรรมการ

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

(ศ. ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิลาวรรณ ทิมทอง : การชักนำมันสำปะหลังให้เกิดการกลายพันธุ์โดยรังสีแกมมาและเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (INDUCED MUTATION IN CASSAVA BY GAMMA RADIATION AND ETHYL METHANESULFONATE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ เกิดไทย, 141 หน้า.

มันสำปะหลัง เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยนอกจากจะใช้แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารของคนแล้ว ยังเป็นวัตถุดิบเพื่อใช้ในการแปรรูปเป็นอาหารสัตว์ จึงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่คุณภาพดีและมีผลิตสูงจึงมีความจำเป็น ซึ่งการกลายพันธุ์เป็นทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์มัน-สำปะหลัง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยวิธีกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมี เอธิลมีเทนซัลโฟเนต (Ethyl Methanesulfonate; EMS) และการฉายรังสีแกมมา ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน คือ 1) ศึกษาสูตรอาหารและชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันสำปะหลังที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนในสภาพหลอดทดลอง 2) ศึกษาความเข้มข้นในการใช้ EMS และระดับรังสีแกมมาที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในมันสำปะหลังในหลอดทดลอง 3) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการได้รับ EMS และรังสีแกมมา ซึ่งจากการทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะต่อการชักนำต้นอ่อนมันสำปะหลัง พันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 พบว่าสูตรอาหาร MS ร่วมกับ 0.1BA มก/ล. ร่วมกับ 1.0Kin มก/ล. และร่วมกับ 0.05NAA มก/ล. ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นสูงสุด (75.00%) หลังจากนั้นทำการทดสอบหาความเข้มข้นของ EMS และปริมาณรังสีแกมมา ที่เหมาะสมต่อการกลายพันธุ์มันสำปะหลัง โดยใช้ reverse osmosis water (ROW; control) และ EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์และทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การตายที่ 1 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นการตายของมันสำปะหลัง เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ EMS ที่สูงขึ้น โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการกลายพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 พันธุ์ระยอง 72 คือ 0. 91 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดสอบหาระดับปริมาณรังสีแกมมา 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การตายที่ 1 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของมันสำปะหลัง เพิ่มขึ้นตามระดับปริมาณรังสีแกมมาสูงขึ้น โดยปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการกลายพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 คือ 25.50 และ 30 เกรย์ ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนาน 45 วัน แล้วนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงภายหลังได้รับสารละลาย EMS และปริมาณรังสีแกมมาในรุ่น M_1V_1 ของมันสำปะหลังพบการเปลี่ยนแปลงในลักษณะสัณฐานที่เปลี่ยนแปลงไปคือ ความสูงต้น จำนวนใบ เส้นผ่าศูนย์กลางต้น และปริมาณคลอโรฟิลล์ ที่แตกต่างไปจากต้น ที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลง เมื่อ

ประเมินการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 และ 111 ต้น ตามลำดับ และการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ จำนวน 36 และ 43 ต้น ตามลำดับ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ด้วยใช้เครื่องหมาย inter-simple sequence repeats (ISSR) โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR ที่ให้ความหลากหลายทั้งหมด 12 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายระหว่างสายพันธุ์ ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ทำให้กลายพันธุ์ด้วย EMS จำนวน 97 แถบ จาก 292 แถบ คิดเป็น 33.21% และในมันสำปะหลังระยอง 72 จำนวน 69 แถบ จาก 249 แถบ คิดเป็น 27.17% และพบว่าต้นที่ฉายรังสีแกมมาทำให้แถบดีเอ็นเอมีความหลากหลายระหว่างมันสำปะหลังห้วยบง 60 จำนวน 57 แถบ จาก 232 แถบ คิดเป็น 24.56% และพันธุ์ระยอง 72 จำนวน 46 แถบ จาก 249 แถบ คิดเป็น 18.47% จากการนำลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย ISSR มาประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS และการฉายรังสีแกมมา เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่า EMS และรังสีแกมมา สามารถก่อกลายพันธุ์ในมันสำปะหลังได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเครื่องหมาย ISSR เป็นเครื่องมือที่มีสามารถใช้ในการจำแนกต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ออกจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ซึ่งงานวิจัยนี้เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา วิลาวรรณ ทิมาทอง

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

WILAWAN THIMTONG : INDUCED MUTATION IN CASSAVA BY GAMMA RADIATION AND ETHYL METHANESULFONATE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. TEERAYOOT GIRDTHAI, Ph.D., 141 PP.

Manihot esculenta (L.) Crantz)/MORPHOLOGY/MUTATION/ISSR/ETHYL METHANESULFONATE/GAMMA RAY

Cassava is one of the most important starch crops, and its storage root is mostly used as a source for food and feed products. There is also a lot of demand domestically and internationally. Therefore, breeding new varieties for high quality and yield is essential. Mutation breeding is an alternative way for cassava improvement. The objective of this research was to induce mutation of two cassava varieties; Huay bong 60 and Rayong 72 using Ethyl methanesulfonate (EMS) and gamma ray under *in vitro*. The experiment was divided into 3 parts: 1) Determination of a suitable culture medium for cassava plantlet induction; 2) Chemical and physical mutagenesis using EMS and gamma-ray of cassava under *in vitro*; and 3) Evaluation of mutant cassava induced by EMS and gamma-ray using morphological characters and ISSR marker. The results from this study found that MS medium supplemented with different concentrations of 0.1 BA (mg/l.) +1.0 Kin (mg/l.) +0.05 NAA (mg/l.) was a suitable culture medium for plantlet induction on Huay bong 60 and Rayong 72 providing highest percentages of plantlets (75%). Different concentrations of EMS (0, 0.25, 0.50, 0.75 and 1%) were evaluated to determine the optimal concentrations for induced mutation of cassava and the median lethal dose (LD_{50}) at one-week old plantlet. The results found that the percentages of mortality increased with the increasing concentrations of EMS. LD_{50} of EMS on Huay bong 60 and Rayong 72 were 0.91 and 0.25%, respectively. Different doses of gamma-ray (10, 20, 30, 40, 50

and 60 Gy) were also evaluated. The results found that the percentages of mortality increased with the increasing doses of gamma-ray, the highest dose led to the highest mortality rate. LD_{50} of gamma ray on Huay bong 60 and Rayong 72 were 25.50 and 35.00 Gy, respectively. After cassava nodes were mutagenized with EMS and gamma-ray at different concentrations, it was found that cassava mutant at M_1V_1 generation had an effect on shoots length, number of leaves, stem diameter and chlorophyll content. The plantlets were then cultured for 45 days before being transferred to a greenhouse. Morphological and ISSR markers alterations were observed and found in some putative mutants. Shoots length, number of leaves, stem diameter and chlorophyll content were significant difference. Fifteen and 111 putative survival mutants from mutagenesis using EMS and 36 and 43 successive mutants from mutagenesis using gamma ray on two varieties were compared to the non-mutagenized control. For mutagenesis using EMS, 97 polymorphic bands were produced from a total of 292 bands (33.21%) in Huay bong 60, and 69 polymorphic bands were produced from a total of 249 bands (27.17%) in Rayong 72 by using 12 polymorphic ISSR primers. In the gamma ray experiment, 57 polymorphic bands were produced from a total of 232 bands (24.56%) in Huay bong 60, and 46 polymorphic bands were produced from a total of 249 bands (18.47%) in Rayong 72. Genetic diversity and relatedness were evaluated among EMS and gamma ray treated plants. These results indicated that EMS and gamma ray can be effectively utilized to mutagenize cassava, and the ISSR marker is a powerful tool for identification of mutants, and might be used as breeding germplasm in a cassava breeding program.

School of Crop Production Technology Student's Signature Wilawan Thimtong

Academic Year 2019 Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งด้านวิชาการ และด้านการดำเนินงานวิจัยจากบุคคล และกลุ่มบุคคลต่างๆ ได้แก่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ เกิดไทย อาจารย์ประจำสาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้โอกาสทางการศึกษา ทุนสำหรับบัณฑิต ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือและความเอาใจใส่อย่างดียิ่งทั้งด้านการเรียน งานวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจทาน และแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

คณาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้ความเมตตา และกำลังใจมาโดยตลอด

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้โอกาสในการศึกษาระดับปริญญาโท แก่ผู้จัดทำวิทยานิพนธ์ด้วยทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา และทุนอุดหนุนโครงการวิจัยเพื่อสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ในระดับบัณฑิตศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ช่วยอำนวยความสะดวกทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ พร้อมให้คำแนะนำในการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณเพื่อน พี่ น้องนักศึกษาปริญญาโท ปริญญาเอก และนักวิจัยห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืชทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำงานวิจัยนี้จนแล้วเสร็จ

ขอขอบคุณคุณอภิญญา ไขรัมย์ และคุณพิชชากร พาพันธ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านปฏิบัติงานให้คำแนะนำและแก้ไขปัญหาระหว่างปฏิบัติงาน

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้กับบิดา มารดา และญาติพี่น้องซึ่งเป็นที่รัก และเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ผู้สอนที่เคารพทุกท่าน ที่ได้ถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ที่ดีให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา จนสำเร็จการศึกษาไปได้ด้วยดี

วิลาวรรณ ทิมทอง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ฑ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฒ

บทที่

1. บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา 3

1.3 สมมติฐานของการศึกษา 4

1.4 ขอบเขตของการศึกษา 4

2. ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

2.1 ความสำคัญของมันสำปะหลัง 6

2.2 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของมันสำปะหลัง 6

2.3 การจำแนกชนิดของมันสำปะหลัง 8

2.4 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง 8

2.5 อนุกรมวิธาน และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง 9

2.6 ลักษณะพันธุ์มันสำปะหลัง 9

2.7 วิธีการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง 11

2.8 การกลายพันธุ์ในพืช 15

2.9 ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้สารเคมีกลายพันธุ์ 18

2.10 การใช้เอธิลมีเทนซัลโฟเนตชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ 20

2.11 ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้รังสีกลายพันธุ์ 21

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.12 การใช้รังสีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ 23
2.13 การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 24
2.14 การประเมินลักษณะของการกลายพันธุ์ 26
2.15 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม 27
3. วิธีดำเนินงานวิจัย 29
3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 29
3.2 การทดลองที่ 2 การก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลัง ด้วยสารเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulphonate; EMS) และการฉายรังสีแกมมา (gamma ray) 30
3.3 การทดลองที่ 3 ความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังที่ทำ ให้เกิดการกลายพันธุ์ 32
4. ผลการทดลอง และอภิปรายผล 38
4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 38
4.2 การทดลองที่ 2 การก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลัง ด้วยสารเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulphonate; EMS) และการฉายรังสีแกมมา (gamma ray) 41
4.2.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังที่ได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 41
4.2.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมาระดับความเข้มข้นต่าง ๆ 47
4.3 การทดลองที่ 3 ความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ 55
4.3.1 การคัดเลือกและตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) 55
4.3.2 การคัดเลือกและตรวจสอบด้วยความแปรปรวนทางพันธุกรรมเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers) 72

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5. สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง 108
รายการอ้างอิง 115
ภาคผนวก 126
ประวัติผู้เขียน 141

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง ปี 2557- 2561 7

2.2 ข้อมูลการผลิตมันสำปะหลังในแห่งปลูกที่สำคัญ 10 อันดับของไทยในปี 2560 7

2.3 การใช้เอธิลมีเทนซัลโฟเนตเพื่อก่อกลายพันธุ์ในพืชชนิดต่างๆ 19

2.4 การใช้รังสีแกมมาเพื่อก่อกลายพันธุ์ในบางชนิด 22

3.1 ลำดับเบส และอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ ISSR 35

4.1 เปอร์เซ็นต์การต้น การเกิดแคลลัส จำนวนใบและจำนวนราก ของมันสำปะหลัง ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน 39

4.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังได้รับสารก่อกลายพันธุ์ EMS ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 30 วัน 42

4.3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ความสูงต้น (ซม.) จำนวนใบ และจำนวนราก ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังใช้สารก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อายุ 30 วัน 44

4.4 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะและขนาดของราก หลังจากได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ในสภาพปลอดเชื้อที่ 4 สัปดาห์ 46

4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังได้รับรังสีแกมมาในปริมาณต่าง ๆ ที่ 30 วัน 48

4.6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังก่อกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาในปริมาณที่แตกต่างกัน ที่ 30 วัน 51

4.7 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะและขนาดของราก หลังจากได้รับปริมาณรังสีแกมมาที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ในสภาพปลอดเชื้อที่ 4 สัปดาห์ 54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control) ในมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 อายุ 3 เดือน 57

4.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control) เมื่ออายุ 3 เดือน 59

4.10 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบหลังจากได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 3 เดือน 60

4.11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control) เมื่ออายุ 3 เดือน 61

4.12 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบหลังจากได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในM_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 3 เดือน 62

4.13 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลัง 2 พันธุ์ ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาปริมาณ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ เมื่ออายุ 3 เดือน 64

4.14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (0 เกรย์ ; control) เมื่อ อายุ 3 เดือน 65

4.15 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบ หลังจากได้รับรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสีที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 3 เดือน 67

4.16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (0 เกรย์ ; control) เมื่อ อายุ 3 เดือนต้น 68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.17 แปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบ หลังจากได้รับรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสีที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 3 เดือน 71

4.18 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism) ขนาดแถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M11) 0.75% (M12-M13) และ 1% (M14) จำนวน 14 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)จำนวน 1 ต้น 74

4.19 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14)และ 1% (M15) จำนวน 15 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control 1 (C1) จำนวน 1 ต้น 77

4.20 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism) ขนาด แถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับ ความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 80

4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น เข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 85

4.22 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism)

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ขนาดแถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 98

4.23 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์(ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 101

4.24 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism) ขนาดแถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 104

4.25 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 107

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

1 ส่วนประกอบของอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) 127

2 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; 0 control) 129

3 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; 0 control) 130

4 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสี 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (0 control) 131

5 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสี 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (0 control) 132

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะประจำพันธุ์ห้วยบง 60 10

2.2 ลักษณะประจำพันธุ์ระยอง 72 11

4.1 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างสูตรอาหารที่แตกต่างกันกับพันธุ์มันสำปะหลังและที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 40

4.2 เปอร์เซ็นต์การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 40

4.3 ลักษณะเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและค่า LD_{50} ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 หลังได้รับปริมาณสารละลาย EMS ที่ปริมาณ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1% ภายใต้สภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน 42

4.4 ลักษณะลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ 30 วัน 45

4.5 ลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ 30 วัน 45

4.6 ลักษณะรากและจำนวนรากของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ที่ 4 สัปดาห์ 47

4.7 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและค่า LD_{50} ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 หลังได้ผ่านการฉายรังสีแกมมา ที่ปริมาณ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน 49

4.8 แสดงลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 หลังได้รับรังสีแกมมา เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ 30 วัน 52

4.9 แสดงลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 หลังได้รับรังสีแกมมา เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ 30 วัน 52

4.10 ลักษณะรากและจำนวนรากที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ ที่ 4 สัปดาห์ 55

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.10 ลักษณะรากและจำนวนรากที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่างๆ ที่ 4 สัปดาห์ 55

4.11 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างความเข้มข้น EMS ที่แตกต่างกันกับมันสำปะหลังที่แตกต่างกันต่อความสูงต้น 58

4.12 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างความเข้มข้น EMS ที่แตกต่างกันกับมันสำปะหลังที่แตกต่างกันต่อเส้นผ่าศูนย์กลางต้น 58

4.13 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างความเข้มข้น EMS ที่แตกต่างกันกับมันสำปะหลังที่แตกต่างกันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ 58

4.14 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 841 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M12-M13) และ 1% จำนวน 15 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (C; controls (ROW, 0 %) เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือ ต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW, 0%) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 1 ต้น 75

4.15 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M11) 0.75% (M12-M13) และ 1% กับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 75

4.16 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14) และ 1% (M15) กับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 76

4.17 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M11) 0.75% (M12-M13) และ 1% กับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 76

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.18 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 855 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น เข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1%(M86-M111) จำนวน 111 ต้น เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 1 ต้น 81

4.19 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังจากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0เข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 82

4.20 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังจากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0 เข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 83

4.21 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 84

4.22 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 818 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี ปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW, 0%) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 1 ต้น 99

4.23 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13)

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 99

4.24 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31- M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 100

4.25 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 100

4.26 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 836 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา ที่ปริมาณรังสี 0. 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW, 0%) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 1 ต้น 105

4.27 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์ (M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น 105

4.28 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

(M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และ
ต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 10 ต้น 106

4.29 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) 106

ภาพภาคผนวกที่

1 ลักษณะรากและจำนวนรากของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร 5 128

2 ลักษณะต้นผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ที่ 4 สัปดาห์ 133

3 ลักษณะสียอดที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ปริมาณต่างๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน 134

4 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ปริมาณต่างๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน 135

5 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ปริมาณต่างๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน 136

6 ลักษณะต้นผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่างๆ ที่ 4 สัปดาห์ 137

7 ลักษณะสียอดที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน 138

8 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่างๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน 139

9 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่าการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน 140

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

EMS	=	Ethyl methanesulphonate
LD	=	Lethal dose
ISSR	=	Inter-simple sequence repeat
PCR	=	Polymerase chain reaction
CTAB	=	Cetyltrimethylammonium bromide
ROW	=	Reversed osmosis water
CRD	=	Completely randomized
DMRT	=	Duncan's New Multiple Range test
UPGMA	=	unweighted pair group method with arithmetic averaging
PCoA	=	Principle coordinate analysis
%	=	Percent
KIN	=	Kinetin
NAA	=	Naphthyl acetic Acid
TDZ	=	Thidiazuron
2,4-D	=	2 4-dinitrophenylhydrazine
$\mu mol.\ m^{-2}.s^{-1}$	=	ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที
APS	=	Ammonium persulfate
ซม.	=	เซนติเมตร
มก/ล.	=	มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

มันสำปะหลังเป็นพืชหัวชนิดหนึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Manihot esculenta* Crantz มีชื่อสามัญเรียกตามภาษาต่าง ๆ ได้แก่ Cassava Yuca Mandioa Manioc และ Tapioca มันสำปะหลังมีแหล่งกำเนิดในที่ลุ่มเขตร้อน (lowland tropics) เก็บสะสมอาหารในรูปของคาร์โบไฮเดรตหรือแป้งไว้ในราก โดยมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งถึง 70-80% มีการรายงานว่ามันสำปะหลังที่ปลูกกันในปัจจุบันมีบรรพบุรุษมาจากพันธุ์ป่า ประมาณ 98 ชนิด โดยมีความแปรปรวนที่พบเห็นตั้งแต่ไม้พุ่มเตี้ยจนถึงไม้ยืนต้นขนาดเล็กแต่มันสำปะหลังที่ปลูกเพื่อการค้านั้นมีเพียง *Manihot esculenta* Crantz เท่านั้น มันสำปะหลังยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของหลายประเทศ ทั้งใน ทวีปอัฟริกา อเมริกาใต้ และเอเชีย เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนทานต่อสภาพดินฟ้าอากาศที่แปรปรวน สามารถเจริญเติบโตได้ในที่ดินมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำและทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดี พื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังทั่วโลกมีประมาณ 115.25 ล้านไร่ ให้ผลผลิตรวม 224.27 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 1.95 ตันต่อไร่ และมันสำปะหลังยังเป็นพืชไร่เศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยมีปริมาณการผลิตเป็นอันดับ 3 ของโลกรองจากประเทศไนจีเรีย และบราซิล ตามลำดับ โดยประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังประมาณ 8.92 ล้านไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 3.43 ตันต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

สำหรับการผลิตมันสำปะหลังถึงแม้ว่าจะมีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้น แต่ก็ยังไม่เพียงพอต่อการใช้ภายในประเทศจึงต้องมีการนำเข้าอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากการผลิตมักประสบปัญหาในหลายด้าน ทั้งการขาดแคลนมันสำปะหลังพันธุ์ดี มีผลผลิตสูงเนื่องจากพันธุ์มันสำปะหลังในประเทศไทยมีอยู่จำกัด ขาดแคลนพันธุ์ดีที่ปรับตัวและเหมาะสมกับพื้นที่ปลูก ที่มีข้อจำกัดทางการผลิต ที่แตกต่างกัน มันสำปะหลังมักประสบปัญหาความแห้งแล้ง เนื่องจากพื้นที่การปลูกมันสำปะหลังส่วนใหญ่เป็นการปลูกโดยอาศัยน้ำฝนเป็นหลักซึ่งในบางพื้นที่มีช่วงที่ฝนทิ้งช่วงมากกว่า 4 เดือนและมีปริมาณน้ำฝนต่ำกว่า 1,200 มิลลิเมตรต่อปี ทำให้มีโอกาสประสบสภาวะความแห้งแล้งเพิ่มมากขึ้น ผนวกกับปัญหาดินมีความสมบูรณ์ต่ำ มีความเหมาะสมกับการปลูกพืชน้อย จึงทำให้มันสำปะหลังมีการเจริญเติบโตช้า มีผลผลิตหัวมันต่ำ และคุณภาพผลผลิตต่ำ เปอร์เซ็นต์แป้งและคุณภาพต่ำ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของมันสำปะหลังในปัจจุบัน ซึ่งการปรับปรุงมันสำปะหลังสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีดั้งเดิม (conventional breeding) พันธุวิศวกรรม (genetic engineering)

การกลายพันธุ์ (mutation) ในอดีตจนปัจจุบันใช้การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีดั้งเดิมเพราะเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก แต่วิธีการนี้มีข้อจำกัดเนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชผสมข้ามที่มี heterozygosity สูง มีลักษณะปีนโพลีพลอยด์ มีความสมบูรณ์เพศต่ำ ติดเมล็ดน้อย และเมล็ดงอกน้อย (บัวทิพย์ อุบล-ประเสริฐ และคณะ, 2558) ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มัน-สำปะหลังในด้านต่าง ๆ เช่น การใช้เทคนิคการระบุตำแหน่งยีนเพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ก็เป็นทางเลือกหนึ่งในการสร้างความแปรปรวนให้กับมันสำปะหลัง ซึ่งพบว่า การกลายพันธุ์จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานวิทยา เช่น การเปลี่ยนแปลงของก้าน ดอก สีดอก ลักษณะใบ และต้านทานต่อปัจจัย biotic stress และ abiotic stress มากขึ้น (Anderson *et al.* 1996; Kowalski and Cassels; 1999 Nagata *et al.*, 1999; Rai, 2001; Dita *et al.*, 2006) การเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นขั้นตอนพื้นฐานที่สำคัญที่นำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช สามารถเพิ่มคุณภาพด้านต่างๆ ของมันสำปะหลังให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคได้ เป็นวิธีที่มีโอกาสทำให้เกิดสายพันธุ์กลายที่มีลักษณะใหม่ และอาจมีลักษณะบางประการที่ไม่สามารถปรับปรุงได้จากวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมอีกทั้งวิธีนี้ สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะบางอย่าง โดยที่พันธุกรรมส่วนใหญ่ยังอยู่เหมือนเดิม จึงเหมาะสมที่จะใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังที่มีลักษณะส่วนใหญ่ดีอยู่แล้ว เพื่อเพิ่มเติมบางลักษณะที่ (Medina *et al*., 2004)

การกลายพันธุ์สามารถเกิดขึ้นตามธรรมชาติและเกิดจากการกระตุ้น ตามธรรมชาติอาจเกิดจากรังสี สารเคมีตามธรรมชาติ หรืออาจเกิดจากหน่วยดีเอ็นเอหนึ่งที่เรียกว่า transposons ที่เคลื่อนที่ไปตามหรือระหว่างโคโมโซม เมื่อไปแทรกตัวใกล้ยีนก็ทำให้ยีนนั้นเปลี่ยนสภาพได้ (ไพศาล เหล่า-สุวรณ และปิยะดา ทิพยผ่อง, 2550) ซึ่งวิธีนี้ มีอัตราการกลายพันธุ์ต่ำ นักปรับปรุงพันธุ์พืชจึงให้วิธีการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอัตราที่สูงกว่าเดิมโดยการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการหนึ่งที่ทำให้พืชมีลักษณะใหม่ ๆ เกิดขึ้นในระยะเวลาอันสั้นซึ่งปัจจุบันทำได้ 2 วิธี คือ การใช้รังสีในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ ไอออนบีม รังสียูวี และการใช้สารเคมี เช่น EMS โคลชิซินและโอไรซาลิน จากการศึกษาการเปรียบเทียบผลกระทบของการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ทางกายภาพและสารเคมีในงาโดยให้สาร EMS พบว่า การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการใช้สารเคมีมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุ์กรรมมากกว่า เมื่อเทียบกับการชักนำโดยการใช้รังสี (Begum and Dasgupta, 2010) ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการใช้รังสี เช่น รังสีเอกซ์และรังสีแกมมาพบว่าทำให้เกิดการขาดของโครโมโซมและทำให้เกิดลักษณะพันธุ์ใหม่ ๆ (Stadler, 1928)

การก่อกลายพันธุ์ควรคำนึงถึงความสัมพันธุ์ระหว่างความเข้มข้นของสารก่อกลายพันธุ์ ระยะเวลาในการใช้สารและเปอร์เซ็นต์การตายของเนื้อเยื่อพืช (lethal dose, LD) ซึ่งเป็นดัชนีในการ

ชี้วัดความมีประสิทธิภาพและความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารก่อกลายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง โดยทั่วไปนิยมใช้ความเข้มข้นที่ทำให้เกิดอัตราการตายของเนื้อเยื่อพืชที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) เพื่อก่อกลายพันธุ์ แต่อาจใช้ค่าที่มากหรือน้อยกว่าร่วมกับค่า LD_{50} ในการทดลองได้ เช่น LD_{30} และ LD_{80} เป็นต้น การใช้สารก่อกลายพันธุ์ความเข้มข้นต่ำส่งผลให้เกิดอัตราการกลายพันธุ์ต่ำแต่อัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืชมากกว่า การใช้สารก่อกลายพันธุ์ความเข้มข้นสูง ซึ่งเนื้อเยื่อพืชที่รอดชีวิตอาจจะพัฒนา และเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ดีกว่า (ธัญญา ขำเลิศ, 2532; Abdullah *et al*., 2009) โดยการตรวจสอบการกลายพันธุ์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา ตรวจสอบระดับเซลล์ และการตรวจสอบระดับดีเอ็นเอ ซึ่งสามารถแยกลักษณะการกลายพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในปัจจุบันจึงนิยมใช้การตรวจสอบโดยการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล เป็นการตรวจสอบที่แม่นยำสามารถทำซ้ำได้รวดเร็วง่าย ใช้ต้นทุนต่ำ และยังประยุกต์ใช้กับงานอื่นได้ในอนาคตซึ่งเครื่องหมาย inter-simple sequence repeat (ISSR) เป็นหนึ่งในเครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ สามารถแยกความแตกต่าง (polymorphism) ของพันธุกรรมของมันสำปะหลัง แต่ละพันธุ์ หรือความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างต้นสายพันธุ์กลายออกจากต้นดั้งเดิมได้อย่างชัดเจน โดยไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม สามารถเป็นเครื่องมือในการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ (ทิพวัลย์ อยู่ชา และคณะ, 2549) นอกจากนี้ ยังพบว่าการใช้เครื่องหมาย ISSR สามารถวิเคราะห์ความแปรปรวนของประชากรมันสำปะหลังแองโกลา (Domingos *et al*., 2019) และยังสามารถประเมินความหลากหลายและหาความสัมพันธ์ของสบู่ดำได้อีกด้วย (Tanya *et al*., 2010) คุณสมบัติของเครื่องหมาย ISSR จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการหาความแตกต่างทางพันธุกรรมของมันสำปะหลัง แต่อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังที่ผ่านมาค่อนข้างใช้เวลานาน จึงมีความจำเป็นในการพัฒนาสายพันธุ์มันสำปะหลังโดยใช้การก่อกลายพันธุ์ด้วยสาร EMS และรังสีแกมมา การศึกษานี้เป็นการศึกษาความเข้มข้นของสาร EMS และปริมาณของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในมันสำปะหลัง ซึ่งคาดหวังว่าในการศึกษาในครั้งนี้ อาจทำให้ได้มันสำปะหลังที่มีลักษณะแตกต่างไปจากชนิดเดิม และมีลักษณะที่สำคัญเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังในอนาคตต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสูตรอาหารและชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันสำปะหลังที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของมันสำปะหลังในสภาพหลอดทดลอง

1.2.2 เพื่อศึกษาหาความเข้มข้นในการใช้ EMS และระดับรังสีแกมมาที่ เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในมันสำปะหลังในหลอดทดลอง

1.2.3. เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการได้รับ EMS และรังสีแกมมา

1.3 สมมติฐานงานวิจัย

1.3.1 การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพสามารถกระตุ้นให้เกิดต้นอ่อนในมันสำปะหลัง

1.3.2 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีและสารเคมีที่ก่อการกลายพันธุ์และกระตุ้นความแปรปรวนให้กับมันสำปะหลังได้

1.3.3 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีและสารเคมีสร้างความแปรปรวนที่สำคัญในลักษณะสัณฐานวิทยามันสำปะหลังได้

1.3.4 เครื่องหมาย ISSR สามารถระบุเอกลักษณ์ของต้นสายพันธุ์กลาย และประเมินการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคตได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อการกลายพันธุ์ในข้อของมันสำปะหลัง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ห้วยบง 60 และ ระยอง 72 ในสารละลาย EMS และรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของมันสำปะหลัง ชักนำต้นที่ได้จากการกลายพันธุ์ให้เจริญเติบโตด้วยอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสม และตรวจสอบการกลายพันธุ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการใช้เครื่องหมาย ISSR ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช อาคารเกษตรภิวัฒน์และในโรงเรือนมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรม และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) อยู่ในตระกูล Euphorbiaceae (ซึ่งรวมถึงยางพารา และละหุ่ง) มันสำปะหลัง มีโครโมโซม 2n=36 จัดเป็นพวก allotetraploid เป็นพืชที่มี heterozygosity สูงมากซึ่งสามารถรักษาลักษณะนี้ ได้โดยการขยายพันธุ์ด้วยท่อนพันธุ์ โดยธรรมชาติมันสำปะหลังมีทั้งการผสมข้าม และการผสมตัวเอง (self-pollination) ซึ่งการผสมข้าม (cross pollination) ของมัน-สำปะหลังจะทำให้เมล็ดที่ได้จากการผสมแต่ละเมล็ดมี genotype ที่แตกต่างกันทำให้เกิดการกระจายตัวทางพันธุกรรม ในลักษณะต่าง ๆ ทั้งทางด้านรูปทรง ลักษณะต้น ผลผลิต และดัชนีการเก็บเกี่ยว แต่ลูกที่ได้จากการผสมตัวเองนั้นอิทธิพลของ inbreeding depression ทำให้ลูกที่ได้นั้นอ่อนแอ ผลผลิตต่ำ และลักษณะต่าง ๆ เช่น ความสูง ความแข็งแรง ลดลงอย่างมาก ต้นที่ได้จากผสมตัวเองจึงไม่สามารถนำไปปลูกเป็นการค้าได้ (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2555; ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง, 2537)

2.2 ความสำคัญทางเศรษฐกิจของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญเป็นอันดับ 5 ของโลก รองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญของประเทศในเขตร้อน โดยเฉพาะในทวีปแอฟริกา อเมริกาใต้ และเอเชียบางประเทศ เช่น อินโดนีเซีย อินเดีย และฟิลิปปินส์ (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2561) มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งสามารถทำรายได้เข้าประเทศคิดเป็นมูลค่านับหมื่นล้านบาท รองจากข้าว และยางพารา เป็นพืชที่ปลูกง่ายแม้ในดินที่มีความสมบูรณ์ต่ำและไม่จำเป็นต้องดูแลรักษามากเหมือนพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น แหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กำแพงเพชร ชัยภูมิ กาญจนบุรี อุบลราชธานี สระแก้ว นครสวรรค์ เลย อุดรธานี และลพบุรี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) ในปี 2557 – 2561 การส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังได้แก่ มันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมันสำปะหลัง มีปริมาณและมูลค่าการส่งออกปรับตัวลดลงร้อยละ 5.94 และร้อยละ 4.58 ต่อปี ตามลำดับ (ตารางที่ 2.1) การผลิตมันสำปะหลัง ในปี 2560 มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 8.91 ล้านไร่ ผลผลิต 30.50 ล้านตัน และผลผลิตเฉลี่ยไร่

3.50 ตัน/ไร่ ในปี 2561 มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 7.87 ล้านไร่ ผลผลิต 27.24 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 3.46 ตัน/ไร่ เมื่อเทียบกับปี 2560 พบว่าพื้นที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ลดลงร้อยละ 11.67 10.69 และ 1.14 ตามลำดับ เนื่องจากราคาหัวสดปรับตัวลดลงอย่างต่อเนื่องในปี 2560 เกษตรกรจึงเปลี่ยนไปปลูกพืชอื่นทดแทน เช่น อ้อยโรงงาน จึงทำให้ปี 2561 มีพื้นที่เก็บเกี่ยวลดลง และผลผลิตจึงลดลง แหล่งผลผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญในปี 2560 ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา มีพื้นที่ปลูก 1.51 ล้านไร่ รองลงมาคือ จังหวัดกำแพงเพชร มีพื้นที่ปลูก 0.68 ล้านไร่ จังหวัดชัยภูมิ 0.55 ล้านไร่ จังหวัดกาญจนบุรี 0.47 ล้านไร่ จังหวัดอุบลราชธานี 0.45 ล้านไร่ และจังหวัดสระแก้ว 0.40 ล้านไร่ (ตารางที่ 2.2) (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) ผลผลิตมันสำปะหลังเข้าสู่กระบวนการแปรรูปทั้งหมด โดยแปรรูปเป็นแป้งมันสำปะหลัง มันเส้น มันอัดเม็ด และเอทานอล เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่อเนื่อง เช่น อาหาร อาหารสัตว์ สารความหวาน ผงชูรส กระดาษ สิ่งทอ เป็นต้น โดยความต้องการใช้ภายในประเทศในแต่ละปีประมาณร้อยละ 20-25 ที่เหลือร้อยละ 78-80 เป็นการส่งออก ความต้องการใช้ในประเทศ ปี 2555-2559 มีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะความต้องการใช้เพื่อผลิตเอทานอลและแป้งมันสำปะหลังที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นมาก ส่วนความต้องการใช้เพื่อผลิตมันเส้นเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ มีแนวโน้มลดลง โดยลดลงมากตั้งแต่ปี 2558 เนื่องจากผู้ประกอบการอาหารสัตว์หันไปใช้กากมันสำปะหลัง หรือพืชทดแทนอื่น ๆ เช่น ข้าวสาลี เนื่องจากราคาต่ำกว่ามันเส้น ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังรายใหญ่ที่สุดของโลก ในรูปแป้งมันสำปะหลัง มันเส้นและมันอัดเม็ด โดยมีประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศจีน อินโดนิเซีย และญี่ปุ่น ในปี 2560 ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังไปประเทศจีนประมาณ 12.2 ล้านตัน อินโด-นิเซียประมาณ 1 ล้านตัน และญี่ปุ่นประมาณ 1 ล้านตัน (FAO, 2017; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561)

ในปี 2562 มีเนื้อที่เก็บเกี่ยว 8.41 ล้านไร่ ผลผลิต 29.98 ล้านตัน และผลผลิตต่อไร่ 3,556 กิลโลกรัม เมื่อเทียบกับปี 2561 ที่มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 8.03 ล้านไร่ ผลผลิต 27.88 ล้านตัน และผลผลิตต่อไร่ 3,474 กิโลกรัม พบว่าพื้นที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ เพิ่มขึ้นร้อยละ 4.73 7.53 และ 2.65 ตามลำดับ เนื่องจากในปี 2561 ราคาหัวมันสำปะหลังที่เกษตรกรขายได้ปรับตัวสูงมาก จึงเป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูก โดยปลูกทดแทนในพื้นที่อ้อยโรงงานที่ครบอายุ ในบางพื้นที่ปลูกแทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และพื้นที่ที่ปล่อยทิ้งว่างไว้ในปีที่ผ่านมา รวมถึงพื้นที่ยางพาราที่โค่นทิ้ง เป็นต้น สำหรับผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น เนื่องจากสภาพอากาศเอื้ออำนวย ปริมาณน้ำฝนเหมาะแก่การเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลัง ประกอบกับราคามันสำปะหลังจูงใจทำให้เกษตรกรดูแลเอาใจใส่บำรุงรักษา จึงส่งผลให้ผลผลิตรวมเพิ่มขึ้น (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2561)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง ปี 2557- 2561

ปี	มันเส้น		มันอัดเม็ด		แป้งมันสำปะหลัง				รวมผลิตภัณฑ์	
					แป้งดิบ		แป้งดัดแปร			
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
2557	6.77	48,873	0.023	157	3.012	40,053	0.947	21,626.000	10.759	111,709
2558	7260	51,869	0.039	293	2.923	41,049	0.905	21,414.000	11.127	114,625
2559	6.422	39,133	0.012	81	3.277	39,995	0.948	21,245.000	10.659	100,454
2560	6.366	36,080	0.036	204	3.134	35,059	1.011	20,757.000	10.547	92,100
2561*	4.2	30,000	0.012	85	2.900	44,500	1.025	24,000.000	8.137	98,585
อัตราเพิ่ม (ร้อยละ)	-10.31	-12.53	-12.9	-14.69	-0.06	-0.04	2.73	1.79	-5.94	-4.58

หน่วย: ปริมาณ = ล้านตัน, มูลค่า: ล้านบาท

*หมายเหตุ: ประมาณการ ณ ตุลาคม 2561

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2558)

ตารางที่ 2.2 ข้อมูลการผลิตมันสำปะหลังในแห่งปลูกที่สำคัญ 10 อันดับของไทยในปี 2560

แหล่งปลูก	พื้นที่เก็บเกี่ยว (ล้านไร่)	ผลผลิต (ล้านตัน)	ผลผลิตเฉลี่ย (ตัน/ไร่)
ปี 2561 (คาดการณ์)	**7.91**	**27.24**	**3.46**
ปี 2560	8.91	30.5	3.5
นครราชสีมา	1.49	5.51	3.7
กำแพงเพชร	0.68	2.41	3.54
ชัยภูมิ	0.54	1.84	3.4
กาญจนบุรี	0.47	1.54	3.28
อุบลราชธานี	0.45	1.58	3.53
สระแก้ว	0.39	1.35	3.49
นครสวรรค์	0.36	1.14	3.2
เลย	0.30	1.04	3.45
ลพบุรี	0.29	0.98	3.34
อุดรธานี	0.25	0.93	3.76

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2561)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3 การจำแนกชนิดของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกอยู่ในเขตร้อน เหมาะกับดินร่วนปนทราย แต่เป็นพืชทนแล้งจึงสามารถทำการปลูกได้ในดินทุกชนิด แม้แต่ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ โดยมันสำปะหลังที่ปลูกกันทั่วโลกมีหลายประเภท แต่มันสำปะหลังที่ปลูกเพื่อการค้านั้นมีเพียง *Manihot esculenta* Crantz (*Manihot esculenta* Pohl) ซึ่งมันสำปะหลังที่ปลูกแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

1. ชนิดหวาน (sweet type) เป็นมันสำปะหลัง ที่มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคต่ำ ไม่มีรสขมใช้เพื่อการบริโภคของมนุษย์ มีทั้งชนิดเนื้อร่วนนุ่ม และชนิดเนื้อแน่น เหนียว แต่มีจำนวนน้อย

2. ชนิดขม (bitter type) เป็นมันสำปะหลังที่มีกรดไฮโดรไซยานิคสูง เป็นพิษ และมีรสขม ไม่เหมาะสำหรับ การบริโภคของมนุษย์ หรือใช้หัวมันสำปะหลังสดเลี้ยงสัตว์โดยตรง แต่จะใช้สำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปต่าง ๆ เช่น แป้งมัน มันอัดเม็ด และแอลกอฮอล์ เป็นต้น เนื่องจากมีปริมาณแป้งสูง มันสำปะหลังที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นชนิดขมสำหรับใช้ในอุตสาหกรรม (มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย, 2543)

2.4 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ และสามารถจำแนกสายพันธุ์โดยใช้คุณลักษณะหลายอย่างช่วยในการจำแนกเช่น สีของใบอ่อน สีก้านใบ สีลำต้น ขนที่ยอดอ่อน ลักษณะทรงต้น หูใบ จึงมีการจำแนกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลังไว้อย่างชัดเจน ดังนี้

- ลำต้น มีลักษณะเป็นข้อๆ ซึ่งเป็นรอยที่ก้านใบร่วงหลุดไป สีของลำต้นส่วนยอดจะเป็นสีเขียวส่วนด้านล่างอาจมีสีน้ำตาล หรือสีม่วงแดงขึ้นอยู่กับพันธุ์ (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2555)

- ราก มันสำปะหลังมีรากน้อยและอยู่ไม่ลึกจากผิวดิน มีราก 2 ชนิด คือรากจริงและรากสะสมอาหาร ที่เรียกกันทั่วไปว่า หัว มีปริมาณแป้งประมาณ 15–40 เปอร์เซ็นต์ มีกรดไฮโดรไซยานิก (HCN) หรือกรดพรัสซิก (prussic acid) ซึ่งมีพิษ จะมีอยู่มากในส่วนของเปลือกมากกว่าเนื้อของหัว การแช่น้ำ การต้ม จะทำให้กรดระเหยไปได้ (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2555)

- ใบ เป็นใบเดี่ยว ใบแยกเป็นแฉกคล้ายใบปาล์มมีสีเขียว ก้านใบอาจมีสีเขียวหรือสีแดง บางพันธุ์ใบจะมีสีเหลืองหรือขาว หรือใบด่าง ที่ใช้เป็นไม้ประดับ (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2555)

- ดอก มันสำปะหลังมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ในช่อดอกเดียวกัน ดอกตัวผู้จะอยู่ทางส่วนปลายของช่อดอกมีขนาดเล็กกว่าดอกตัวเมีย มีกลีบดอก 5 กลีบ มีสีเหลืองหรือมีลายแดง ผลและเมล็ด ในแต่ละผลจะมี 3 เมล็ด เมล็ดจะมีสีเทาหรือลายจุดดำ (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2555)

- ผล ผลมีลักษณะเป็นพู 3 พู (trilocular capsule) มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1–1.5 เซนติเมตร ผลจะเริ่มแก่หลังจากได้รับการผสมพันธุ์แล้ว 75–90 วัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

- เมล็ด เมล็ดมีลักษณะเป็นแบบ ovoidellpsoidal มีน้ำหนักประมาณ 136 มิลลิกรัม ผิวเรียบและเป็นสีน้ำตาลเข้มมีจุดสีเทา ใช้เวลางอกประมาณ 16 วัน ลักษณะเฉพาะในการเจริญเติบโต หรือให้ผลผลิตของพืช มันสำปะหลังเป็นพืชที่ใช้รากสะสมอาหารมาจากรากฝอยโดยรากจะขยายตัวออกหลังจากงอกได้ประมาณ 75–90 วัน และมีประมาณ 3–13 ราก (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

2.5 อนุกรมวิธาน และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง

2.5.1 อนุกรมวิธาน

มันสำปะหลังมีชื่อสามัญ Cassava, Manihot, Manioc, Tapioca, Tapioka อเมริกาใต้ เรียกว่า Yuca ภาษาโปรตุเกสในบราซิลเรียกว่า Mandioca และได้จัดมันสำปะหลังไว้เป็น หมวดหมู่ดังนี้

Genus	*Manihot*
Family	Euphorbiaceae
Subdivision	Angiospermae
Class	Dicotyledonae
Order	Geraniales

2.6 ลักษณะประจำพันธุ์มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ระยอง 5 และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เริ่มในปี 2543 โดยมีรหัสชื่อเดิมคือสายพันธุ์ MKU 34-114-206 และเข้าสู่กระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการคัดเลือกพันธุ์ตั้งแต่ พ.ศ. 2535-2540 และทำการทดสอบพันธุ์ใน พ.ศ. 2541-2544 ในท้องที่ 10 จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังมาก ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี สระแก้ว จันทบุรี ระยอง และกาญจนบุรี รวมจำนวน 30 การทดลอง ผลการทดสอบพันธุ์พบว่า พันธุ์ห้วยบง 60 ให้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ย 5,750 กิโลกรัมต่อไร่ โดยมีปริมาณแป้งในหัวเฉลี่ย 25.4 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตหัวสดเฉลี่ยที่สูงกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดในประเทศในขณะนั้นอยู่ 7 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณแป้งในหัวสูงกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 อยู่เล็กน้อย นอกจากนั้นพันธุ์ห้วยบง 60 ยังมีเสถียรภาพของผลผลิตและปริมาณแป้งในหัวสูง สามารถปลูกได้ทั่วไปในเขตปลูกมันสำปะหลัง สามารถสกัดแป้งจากหัวสดได้มาก แป้งมีสีขาว และมีความหนืดสูง เหมาะสำหรับอุตสาหกรรมแป้ง

และอุตสาหกรรมต่อเนื่อง นอกจากนั้น ยังเป็นพันธุ์ที่งอกดี ลำต้นสูงใหญ่ สามารถคลุมวัชพืชได้ดี อีกทั้งยังมีความต้านทานโรคใบจุดได้ดี (ภาพแสดงที่ 2.6.1) (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2558)

ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะประจำพันธุ์ห้วยบง 60 (ก) ยอดอ่อนสีม่วงอ่อน ใบสีเขียวอมม่วง (ข) ลำต้นสีเขียวเงิน (ค) เปลือกหัวสีน้ำตาลอ่อน
ที่มา : กรมวิชาการเกษตร

มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง พันธุ์ระยอง 1 กับพันธุ์ระยอง 5 เมื่อ พ.ศ. 2533 โดยมีรหัสชื่อเดิมคือสายพันธุ์ CMR33-57-81 และเข้าสู่กระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืช พบว่าเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น ในจังหวัดมหาสารคาม บุรีรัมย์ มุกดาหาร ร้อยเอ็ด นครราชสีมา และกาฬสินธุ์ โดยได้ผ่านการพิจารณาจากกรมวิชาการเกษตรให้เป็นพันธุ์พืชขึ้นทะเบียนเรียบร้อยแล้ว เมื่อวันที่ 2 กุมภาพันธุ์ 2543 การทดลอง ผลการทดสอบพันธุ์พบว่า พันธุ์ระยอง 72 ผลผลิตหัวสดสูง 5.09 ตัน/ไร่ ผลผลิตแป้งสูง 1.07 ตัน/ไร่ ผลผลิตมันแห้งสูง 1.71 ตัน/ไร่ ปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยให้ผลผลิตหัวสด 5.55 ตัน/ไร่ ผลผลิตแป้ง 1.23 ตัน/ไร่ และผลผลิตมันแห้ง 1.91 ตัน/ไร่ ท่อนพันธุ์มีความอยู่รอดถึงเก็บเกี่ยวสูงถึง 92 เปอร์เซ็นต์ ทรงต้นดี แตกกิ่งบ้างเล็กน้อยในระดับที่สูงจากโคนต้น สามารถทำให้ขยายพันธุ์ได้มากขึ้น ลำต้นสีเขียวเงินสูงประมาณ 200 เซนติเมตร มีระดับการแตกกิ่ง 0-1 ระดับ ความสูงของการแตกกิ่งระดับแรก 130-140 เซนติเมตร กิ่งทำมุมกับลำต้น 60-75 องศา ใบแก่สีเขียวเข้ม ก้านใบสีแดงเข้ม ความยาวก้านใบ 25-30 เซนติเมตร ยอดอ่อนสีม่วง เปลือกหัวสีขาวนวล เนื้อในสีขาว ฤดูปลูกที่เหมาะสม ต้นฤดูฝน เดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน ปลายฤดูฝน เดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม พื้นที่แนะนำ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ต้านทานต่อโรคใบจุด และต้านทานปานกลางต่อโรคใบไหม้ (ภาพแสดงที่ 2.6.2) (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2558)

ภาพที่ 2.2 แสดงลักษณะประจำพันธุ์ระยอง 72 (ก) ยอดอ่อนสีม่วง ใบสีแดงเข้ม (ข) ลำต้นสีเขียวเงิน (ค) เปลือกหัวสีขาวนวล
ที่มา : กรมวิชาการเกษตร

2.7 วิธีการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง

การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังในปัจจุบันนิยมคัดเลือกพันธุ์จากคู่ผสมระหว่างสายพันธุ์ดีหลาย ๆ คู่ และนำเมล็ดไปปลูกขยายพันธุ์ และนำไปทดสอบผลผลิตในระดับต่าง ๆ หรืออาจปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธี recurrent selection ซึ่งใช้เวลานานกว่าจะได้พันธุ์ดีที่สามารถปล่อยเป็นพันธุ์ให้เกษตรกร โดยปกติการปรับปรุงพันธุ์ใช้เวลาประมาณ 8-10 ปี เนื่องจากอัตราการขยายพันธุ์ของมันสำปะหลังโดยใช้ท่อนพันธุ์และสร้างเมล็ดลูกผสมค่อนข้างต่ำ ในปัจจุบันซึ่งการปรับปรุงมัน-สำปะหลังสามารถทำได้หลายวิธีเช่น การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีดั้งเดิม (conventional breeding) พันธุ์วิศวกรรม (genetic engineering) การกลายพันธุ์ (mutation) ในอดีตจนปัจุบันใช้การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีดั้งเดิม (conventional breeding) เพราะเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก แต่วิธีการนี้ มีข้อจำกัดเนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชผสมข้ามที่มี heterozygosity สูง มีลักษณะเป็นโพลีพลอยด์ มีความสมบูรณ์เพศต่ำ ติดเมล็ดน้อย และเมล็ดงอกน้อย (บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ และคณะ, 2558) ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังในด้านต่าง ๆ เช่น การใช้เทคนิคการระบุตำแหน่งยีนเพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ก็เป็นทางเลือกหนึ่งในการสร้างความแปรปรวนให้กับมันสำปะหลัง ซึ่งพบว่า การกลายพันธุ์จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะสัณฐานวิทยา เช่น การเปลี่ยนแปลงของก้านดอก สีดอก ลักษณะใบ และต้านทานต่อปัจจัย biotic stress และ abiotic stress มากขึ้นซึ่งมีโอกาสได้พันธุ์ที่ดีเด่นกว่าพันธุ์เดิมและอาจมีลักษณะแปลกใหม่ที่ไม่พบตามธรรมชาติ เป็นการเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมอีกทางหนึ่ง แต่วิธีการนี้มีข้อจำกัดหลายประการ เป็นวิธีการที่สามารถทำได้ในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น ต้องใช้เครื่องมือและสารเคมีมีราคาสูง และยังต้องใช้ทักษะในการทำวิจัยระดับสูงอีกด้วย (Anderson *et al.* 1996; Kowalski and cassels; 1999 Nagata *et al*., 1999; Rai, 2001; Dita *et al*., 2006)

ปัจจุบันการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังโดยวิธีการกลายพันธุ์ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งของนักปรับปรุงพันธุ์เป็นวิธีการที่มีโอกาสก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ทำให้เกิดอัลลีลแปลกใหม่ ซึ่งควมคุมลักษณะที่ไม่พบในพ่อแม่พันธุ์มาก่อน ส่งผลให้ได้สายพันธุ์กลายลักษณะใหม่ที่ดีเด่นกว่าเดิม และอาจมีลักษณะบางประการที่ไม่สามารถหาได้จากวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม อย่างไรก็ตามสามารถนำสายพันธุ์กลายดังกล่าวมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม ส่งผลให้เกิด genetic recombination ในรูปแบบใหม่ ๆ ทำให้ได้ลูกผสมที่มีลักษณะหลากหลายกว่าเดิมอีกด้วย อีกทั้งวิธีการนี้สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะเพียงบางอย่าง โดยที่พันธุกรรมส่วนใหญ่ยังเหมือนเดิม จึงเหมาะสมที่จะใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังที่มีลักษณะส่วนใหญ่ดีอยู่แล้วเพื่อเพิมบางลักษณะแปลกใหม่ลงไป โดยเฉพาะลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนด้อย (Medina *et al*., 2004) การกลายพันธุ์สามารถเกิดขึ้นตามธรรมชาติ และเกิดจากการกระตุ้น การกลายพันธุ์อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงจำนวนหรือโครงสร้างของโครโมโซม (chromosome mutation) หรือเกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของยีน (gene mutation) การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นได้เองธรรมชาติเรียกว่า spontaneous mutation หรืออาจเกิดจากการเหนี่ยวนำที่เรียก induce mutation ซึ่งเป็นการเพิ่มความแปรปรวนทางพันธุกรรม (สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์, 2539) สำหรับการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เกิดในอัตราการเกิดค่อนข้างต่ำ จึงควรมีการเพิ่มอัตราการกลายพันธุ์ให้สูงขึ้นโดยการเหนี่ยวนำด้วยสิ่งก่อกลายพันธุ์ เช่น การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีหรือการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี เป็นต้น (อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์ และคณะ, 2543) สำหรับการเหนี่ยวนำพืชให้กลายพันธุ์โดยใช้รังสี (radiation) นิยมใช้ รังสีเอกซ์ โดยรังสีแกมมา และรังสีนิวตรอน รังสีแกมมาได้รับความนิยมในการใช้เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชมากกว่ารังสีเอกซ์ เนื่องจากสามารถฉายรังสีได้ทั้ง 2 แบบ คือการฉายแบบเฉลียบพลัน (acute irradiation) เป็นการให้รังสีในปริมาณมาก ๆ แต่ให้เป็นระยะสั้น ส่วนรังสีนิวตรอนมีความรุนแรงมากกว่ารังสีเอกซ์ และรังสีแกมมา โดยในปริมาณรังสีที่เท่ากัน ทำให้เกิดอันตรายได้ประมาณ 10 เท่าของรังสีเอกซ์หรือรังสีแกมมา และการฉายรังสีค่อนข้างยุ่งยากจึงได้รับความนิยมน้อยกว่ารังสีแกมมา และการฉายรังสีแบบเรื้อรัง (chronic irradiation) เป็นการผ่อนระยะเวลาที่ได้รับรังสีนานออกไป โดยให้ได้รับปริมาณรังสีต่อหน่วยต่ำ เพื่อให้ทุกระยะของการเจริญเติบโต หรือการแบ่งเซลล์ได้รับรังสีดังนั้นจึงต้องให้ได้รับรังสีอยู่เป็นเวลานาน การฉายรังแบบเรื้อรังจะทำให้พืชเสียหายน้อยกว่าการได้รับแบบรุนแรงในกรณีนี้ได้รับปริมาณที่เท่ากัน (สิรนุช ลามศรีจันทร์, 2540; พีรนุช จอมพุก, 2560)

สำหรับมันสำปะหลังที่มีการใช้รังสีแกมมาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่ารังสีแกมมาอัตรา 3-9 Gy ส่งผลให้ลักษณะทางสรีรวิทยาของต้นมันสำปะหลังในหลอดทดลองเปลี่ยนแปลงไป เช่น น้ำหนักต้น จำนวนข้อ และจำนวนใบลดลง (Ndofunsu. *et al*, 2015) และพบลักษณะแปลกใหม่เพิ่มขึ้น เช่น ความยาวข้อปล้องสั้นลงและลำต้นเตี้ย มีลักษณะการแตกกอเพิ่มขึ้น (ปวีณนุช ศรีช่วย

และคณะ, 2561; นุชรัฐ บาลลา และคณะ, 2559) ประโยชน์ของการใช้รังสี คือ รังสีบางชนิดสามารถทะลุผ่านเนื้อเยื่อเซลล์ได้หลายชั้น และรังสีสามารถให้ปริมาณการกลายพันธุ์ที่สม่ำเสมอ แต่วิธีการนี้มีข้อเสียคือ ต้องใช้อุปกรณ์และห้องปฏิบัติการเฉพาะทาง ไม่สามารถซื้อได้โดยทั่วไปดังนั้นการใช้สารเคมีก่อกลายพันธุ์จึงเป็นที่นิยมมากขึ้น เพราะสารเคมีก่อกลายพันธุ์สามารถหาซื้อได้ง่าย ผลการทดลองสม่ำเสมอ และประสิทธิภาพการก่อกลายพันธุ์สูง (Jain, 2005; สิรนุช ลามศรีจันทร์, 2540)

สารเคมีที่สามารถใช้ในการก่อกลายพันธุ์คือ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulfonate; EMS) โพรนามิด (pronamide) เอธิลไนโตรโซยูเรีย (ethyl nitroso urea; ENU) เอทิลซัลเฟต (diethyl sulphate; dES) และ 5-โบรโมยูเรซิล (5- bromouracil) แต่ที่นิยมใช้มากที่สุดในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช คือ EMS เพราะมีประสิทธิภาพสูงในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์และใช้ได้ผลดีกับพืชหลายชนิด (สิรนุช ลามศรีจันทร์, 2540) จากการศึกษามันสำปะหลังในสภาพหลอดทดลอง (*Manihot esculenta* Crantz) ที่มีการใช้ EMS เพื่อก่อกลายพันธุ์ พบว่า เมื่อมันสำปะหลังได้รับสารละลาย EMS ทำให้ส่วนของต้นอ่อนมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านใบและสีของก้านใบ นอกจากนี้พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน Magaia *et al*. (2015); นฤมล ประคองรักษ์ และ มณฑิรา มณฑาทอง, (2552) ในขณะเดียวกัน ชญานีย์ สังวาล และ สมปอง เตชะโต, (2558) ทำการศึกษาผลของ ethyl methanesulphonate (EMS) ต่ออัตราการรอดชีวิตของโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาวและสร้างโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง โดยนำปาล์มน้ำมันระยะสร้างจาวมาหั่นเป็นฝอยแล้วจุ่มสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร ARDA เติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 14 วัน พบว่า ความเข้มข้นที่ทำให้ชิ้นส่วนพืชตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) คือ 0.81 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงปืนเวลา 28 วัน พบว่าชิ้นส่วนพืชเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยชิ้นส่วนเกิดเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสีเหลืองเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะ EMS ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้เกิดการพัฒนาเป็นเอมบริโอเจนิคแคลลัสเพียงอย่างเดียวสูงสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วน EMS ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสร่วมกับโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุด 77.8 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีลักษณะที่เปลี่ยนไป ในปัจจุบัน EMS จะเป็นที่นิยมนำไปใช้ในการใช้ก่อกลายพันธุ์เพราะมีประสิทธิภาพสูงในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์และใช้ได้ผลดีกับพืชหลายชนิด เนื่องจากมีอัตราการกลายพันธุ์สูง สามารถใช้สารความเข้มข้นต่ำและปริมาณน้อยในการเหนี่ยวนำการกลายพันธุ์ได้ และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ลำดับเบส แต่สารเคมีก่อกลายพันธุ์ชนิดนี้ก็มีข้อจำกัดหลายประการเมื่อเปรียบเทียบกับ NaN_3 เช่น EMS ราคาแพงกว่า NaN_3 อีกทั้ง EMS เป็นสารเคมีที่อันตรายมาก เนื่องจากมีอัตราการก่อกลายพันธุ์กับเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสูงกว่า NaN_3 ดังนั้น EMS จึงเป็นหนึ่งในสารเคมีก่อกลายพันธุ์ที่

น่าสนใจในการเหนี่ยวนำพืชให้กลายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชในอนาคต (Amano, 2004; สิรนุช ลามศรีจันทร์, 2540)

รังสีที่ใช้ในการก่อกลายพันธุ์คือ รังสีไอออน (ionizing radiation) ได้แก่ รังสีเอ็กซ์ (X-rays) รังสีแกมมา (gamma rays) รังสีเบต้า (beta rays) และรังสีนิวตรอน (non-ionizing radiation) ได้แก่ รังสีอัลตร้าไวโอเลต (ultraviolet radiation) (สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์, 2552) รังสีที่นิยมนำมาใช้สำหรับการกลายพันธุ์เพื่อปรับปรุงพันธุ์ คือ รังสีไอออน ซึ่งส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นรังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ รังสีนิวตรอน และไอออนบีม เป็นต้น รังสีแกมมา เป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 10^{-13}-10^{-17} ซึ่งมีความยาวคลื่นสั้นกว่ารังสีเอ็กซ์ การที่มีความยาวคลื่นสั้น จึงทำให้มีความถี่สูงกว่ารังสีเอ็กซ์ มีอำนาจทะลุทะลวงสูง ไม่มีมวล ไม่มีประจุ เกิดจากการปล่อยพลังงานของนิวไคลด์กัมมันตรังสี (radionuclide) รังสีแกมมาจัดเป็นรังสีนิวเคลียร์ เนื่องจากเกิดจากนิวเคลียสของนิว-ไคลด์กัมมันตรังสีตัวอย่างนิวไคลด์กัมมันตรังสีคือ โคบอลต์ -60 (60Co) และซีเซียม -137 (137Cs) ซึ่งนิยมนำมาใช้เป็นต้นกำเนิดรังสีแกมมา นักปรับปรุงพันธุ์นิยมนำรังสีแกมมาใช้เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์เนื่องจากสามารถฉายรังสีได้ 2 แบบ คือ ฉายแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) โดยใช้อัตรารังสีสูงแต่ใช้ระยะเวลาฉายสั้นเป็นนาที หรือชั่วโมง นิยมใช้กับส่วนของเมล็ด ท่อนพันธุ์ หรือเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง และการฉายแบบโครนิก (chronic irradiation) โดยใช้อัตรารังสีต่ำ แต่ใช้ระยะเวลานานเป็นสัปดาห์ หรือเป็นเดือน นิยมใช้กับพืชที่กำลังเติบโต และมีการแบ่งเซลล์ เพื่อให้ทุกระยะการเติบโตได้รับรังสี (อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์, 2550) จากการศึกษารังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่มีผลต่อเนื้อเยื่อหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเนื้อเยื่อปลายยอดและตาข้างต้นหน้าวัวขนาด 0.5 เซนติเมตร เจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้ดีโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม NAA 0.1 มล/ก. ร่วมกับ Kinetin 0.1 มล/ก. น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ และเจลไรท์ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ต้นอ่อนหน้าวัวขนาดเท่า ๆ กัน ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันปริมาณ 0 20 40 60 80 100 และ 120 เกรย์ แล้วย้ายอาหารเดิมทุก ๆ 4 สัปดาห์ จำนวน 4 ครั้ง ผลปรากฏว่าปริมาณของรังสีแกมมาที่สูงขึ้น ส่งผลให้การเจริญเติบโตในด้านการแตกตอ ความสูงของต้นและจำนวนใบต่อกอลดลง (ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ, 2558) ดังนั้นการใช้รังสีแกมมาเพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เกิดลักษณะที่แปลกใหม่ เป็นการเพิ่มความหลากหลายของพันธุกรรม และมีโอกาสคัดเลือกลักษณะที่ดี (อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์, 2550; พีรนุช จอมพุก, 2553) อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังพบว่า มีการใช้สารเคมีก่อกลายพันธุ์ EMS และการใช้รังสีแกมมาก่อกลายพันธุ์กับมัน-สำปะหลัง

2.8 การกลายพันธุ์ในพืช

การกลายพันธุ์ คือการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสารพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของยีนจากลักษณะเดิมไปเป็นอีกลักษณะหนึ่ง เช่น ยีนเด่นอาจเปลี่ยนเป็นยีนด้อย (recessive mutation) หรือยีนด้อยอาจเปลี่ยนเป็นยีนเด่น (dominant mutation) ก็ได้ สามารถส่งต่อลักษณะดังกล่าวที่เปลี่ยนแปลงไปยังรุ่นลูกหลานได้ เป็นการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมอย่างฉับพลัน ส่งผลให้สิ่งมีชีวตที่เกิดขึ้นแตกต่างไปจากเดิม (วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล, 2554) การกลายพันธุ์สามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) หรือเกิดจากการเหนี่ยวนำ (induced mutation) โดยสิ่งก่อกลายพันธุ์ เช่น รังสีและสารเคมี ส่งผลให้ความถี่ในการกลายพันธุ์สูงขึ้นกว่าเดิม โดยสิ่งมีชีวิตที่มีพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการกลายพันธุ์เรียกว่า mutant ปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์พบรูปแบบหลักของการกลายพันธุ์ 2 รูปแบบดังนี้

2.8.1 การกลายพันธุ์ของยีน เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของยีนที่เกี่ยวข้องกับนิวคลีโอไทด์เบสเพียงไม่กี่โมเลกุลจากจำนวนทั้งหมด 103-105 นิวคลีโอไทด์ ในยีนหนึ่ง ๆ ซึ่งแบ่งตามการเกิดได้ 2 ชนิด ดังนี้

2.8.1.1 การกลายพันธุ์แบบเฟรมชิพต์ (frameshift mutation) เป็นการเพิ่มหรือการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์จากโมเลกุล DNA ที่ทำหน้าที่ยีน การทำงานของยีนเพื่อสร้างโพลีเปปไทด์จะส่งข้อมูลพันธุกรรมผ่าน mRNA เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในยีน เนื่องจากการเพิ่มเข้ามาหรือหลุดหายไปของเบส ทำให้ลำดับของเบสบน mRNA เปลี่ยนแปลงไปด้วย ซึ่งส่งผลให้ลำดับของกรดอะมิโนของโพลิเปปไทด์ที่ควบคุมการสร้างโดยยีนนั้นเปลี่ยนไปจากเดิม ทำให้โปรตีนที่สร้างขึ้นมาจากยีนดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้เหมือนเดิม หรือมีประสิทธิภาพไม่เท่าเดิมหรือมีประสิทธิภาพไม่เท่าเดิม หรือทำงานไม่ได้เลย การเพิ่มเข้ามาหรือหลุดหายไปของเบสเพียง 1 โมเลกุล สามารถทำให้กรอบการอ่านของรหัสพันธุกรรมที่ละ 3 เบส (triplet code) เปลี่ยนไปได้ มีการเลื่อนเข้ามาหรือเลื่อนออกไปจากตำแหน่งเดิม จึงเรียกว่าการกลายพันธุ์แบบเฟรมชิพต์

2.8.1.2 การกลายพันธุ์เนื่องจากการเข้าแทนที่ของคู่เบส (base substitution) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากการแทนที่คู่ของเบสด้วยเบสอื่นในกลุ่มเดียวกัน ซึ่งเกิดขึ้นได้ในระหว่างที่ DNA มีการจำลองตัวเอง สามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะคือ

2.8.1.2.1 ทรานซิชั่น (transition) เช่น กลุ่มเบสพิวริน (purine) มีเบสอะดินิน (adenine, A) เข้าแทนที่เบสกัวนิน (guanine, G) หรือ กลุ่มเบสไพริมิดิน(pyrimidine) มีเบสไซโทซิน(cytosine, C) เข้าแทนที่เบสไทมิน (thymine, T) หรือเป็นการเปลี่ยนแปลงสลับคู่ของเบส ซึ่งเกิดได้ในช่วงระยะที่มีการซ่อมสาย DNA

2.8.1.2.2 ทรานเวอร์ชั่น (transversion) คือการการเปลี่ยนแปลง แบบสลับคู่

ของเบส เช่น การแทนที่คู่ของเบสพิวรีน (A หรือ G) ด้วยเบสไพริมิดีน (C หรือ T) หรือในทางตรงข้ามเบสไพริมิดีน (C หรือ T) เข้าไปแทนที่เบสพิวรีน (A หรือ G) ทำให้รหัสพันธุกรรมถูกแปลออกมาต่างไปจากรหัสเดิม เรียกว่าการกลายพันธุ์ชนิดมิสเซนส์ (missense mutation) หรือการแทนที่ของคู่เบสทำให้เกิดเทอร์มิเนเตอร์โคดอนทำให้การสร้างพอลิเปปไทด์หยุดชะงักลง เป็นเส้นที่ไม่สมบูรณ์ มีขนาดสั้นกว่าปกติ เรียกว่าการกลายพันธุ์ชนิดนอนเซนส์ (nonsense mutation) การกลายพันธุ์ทั้งแบบการทรานซิชั่นและทรานเวอร์ชั่นสามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ ซึ่งการกลายพันธุ์แบบการแทนที่เบสเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation)

2.8.2 การกลายพันธุ์ระดับโครโมโซม (chromosome mutation) เป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือจำนวนของโครโมโซม โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมนั้นเกิดจากการขาดหายไปของส่วนของโครโมโซมการเพิ่มเข้ามามากกว่าปกติ (dublication) หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงกลับทิศทางของส่วนของโครโมโซม (inversion) หรือเกิดการย้ายสลับที่ระหว่างส่วนของโครโมโซมที่ต่างคู่กัน (translocation) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้มีผลมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของยีน ส่วนการเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครโมโซม เกิดจากความผิดปกติในกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โดยที่โครโมโซมที่เป็นคู่กันคู่ใดคู่หนึ่งไม่แยกจากกันเรียกว่านอนดิสจังชัน (nondisjunction) หรืออาจเกิดการยังยั้งการเคลื่อนที่ของโครโมโซมยังขั้วของเซลล์ในระยะแอนาเฟส ทำให้เซลล์สืบพันธุ์บางเซลล์มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น และในบางเซลล์มีจำนวนโครโมโซมน้อยไปกว่าปกติ เมื่อมีการปฏิสนธิระหว่างเซลล์สืบพันธุ์ปกติกับผิดปกติด้วยก็ตาม ทำให้ได้ต้นลูกที่เกิดใหม่มีความผิดปกติในจำนวนโครโมโซม

การกลายพันธุ์เกิดขึ้นในระดับยีน หรือโครโมโซมซึ่งเป็นโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตที่เล็กมาก การที่จะทราบว่า มีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นนั้นทราบได้จากการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ (phenotype) การเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ในบางลักษณะอาจชัดเจน สามารถแยกได้ด้วยตาเปล่า เช่น การเปลี่ยนแทรงของต้น เปลี่ยนแปลงสีดอก จำนวนหรือขนาดของผล มีอายุการเก็บเกี่ยวเร็วขึ้นหรือช้าลง เป็นต้น ซึ่งการกลายพันธุ์ชนิดนี้สามารถคัดเลือกนำมาใช้ประโยชน์ได้ง่าย แต่การกลายพันธุ์บางชนิดก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์เล็กน้อย ไม่ปรากฏให้เห็นชัดเจนต้องใช้วิธีการเฉพาะในการแยกพันธุ์กลาย และคัดเลือกนำพันธุ์กลายที่ต้องการมาใช้ประโยชน์ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงในลักษณะเชิงปริมาณ เช่น องค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ของพืช ปริมาณโปรตีน ไขมัน น้ำตาล กรดอะมิโน ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง การเก็บสะสมอาหารของพืช ผลผลิต เป็นต้น การแยกพันธุ์กลายมาใช้ประโยชน์จะต้องอาศัยเครื่องมือวิเคราะห์และวิธีการวิเคราะห์โดยเฉพาะ บางลักษณะต้องอาศัยหลักสถิติเข้าช่วยในการวิเคราะห์ และต้องใช้จำนวนต้นพืชหลายต้นในการตรวจ-สอบ ตัวอย่างเช่น ผลผลิต และในปัจจุบันยังมีการนำเทคนิคทางโมเลกุล (molecular techniques) มาช่วยในการคัดเลือกและตรวจสอบพันธุ์กลายอีกด้วย (พีรนุช จอมพุก, 2553) อย่างไรก็ตาม

กระบวนการต่าง ๆ ภายในเซล์พืช อาจมีผลให้เกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติได้ เช่น เกิดจากความผิดปกติภายในจีโนมของพืชเอง ซึ่งอาจเกิดจากความผิดพลาดระหว่าง recombination การจำลองดีเอ็นเอ และการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์, 2554) แม้กระทั่งภาวะสรีรวิทยาของพืชก็มีผลให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ โดยภาวะ physiological ageing ของเมล็ดพืชบางชนิดส่งผลต่อความถี่ของการกลายพันธุ์ การทดลองปลูกพืชจากเมล็ดที่เก็บไว้นาน เปรียบเทียบกับเมล็ดที่เพิ่งเก็บเกี่ยวใหม่ พบว่า ต้นอ่อนที่ได้จากเมล็ดที่เก็บไว้นาน มีความแปรผันทางพันธุกรรมสูงกว่าต้นอ่อนที่ได้จากเมล็ดที่เพิ่งเก็บเกี่ยวใหม่ อย่างไรก็ตาม เมล็ดพืชที่ยังมีชีวิต ก็ย่อมมีกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) เกิดขึ้น ซึ่งสารเมตาบอไลต์ (metabolite) บางชนิดที่เกิดระหว่างกระบวนการ อาจมีคุณสมบัติเป็นสารก่อกลายพันธุ์ได้ โดยสารเหล่านี้มีความสำคัญกับวิวัฒนาการของพืชขั้นสูง ในสภาวะปกติพืชมีกลไกการควบคุมสารเมตาบอไลต์ต่าง ๆ ให้ทำงานอย่างถูกต้อง ยกเว้นเมื่อมีสภาวะกระตุ้นบางอย่าง เช่น การเกิดบาดแผล ทำให้สารเมตบอไลต์บางชนิดทำงานเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (จินดา เดชบุญ, 2555) ในขณะที่ที่ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอกก็มีผลที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ เช่น การปลูกพืชในดินขาดธาตุอาหารบางชนิด มีการทดลองปลูกต้นลิ้นมังกรในดินที่ขาดธาตุฟอสฟอรัส ไนโตรเจน และกำมะถัน พบว่าต้นลิ้นมังกรมีอัตราการกลายพันธุ์สูงกว่าต้นที่ปลูกในดินที่สมบูรณ์ (อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์, 2554) อย่างไรก็ตาม การกลายพันธุ์ตามธรรมชาติมีอัตราการกลายพันธุ์ต่ำประมาณ 10^{-6} หรือ 10^{-5} นักปรับปรุงพันธุ์พืชจึงใช้วิธีกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอัตราที่สูงกว่าเดิม โดยการใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ ได้แก่ รังสีและสารเคมี รังสีที่ก่อให้เกิดไอออน (ionizing radiation) มีอำนาจในการทะลุผ่านเนื้อเยื่อสูง มักทำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม เช่น รังสีอัลฟา รังสีเบตา รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ และนิวตรอน ส่วนรังสีที่ไม่ก่อให้เกิดไอออน (non ionizing radiation) มีอำนาจในการทะลุผ่านเนื้อเยื่อต่ำ มักทำให้เกิด thymine dimer หรือ cytosine dimer เช่นรังสีอัลตราไวโอเลต

อย่างไรก็ตาม สารเคมีบางชนิดก็มีผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ เช่น สารเคมีกลุ่มอัลไคเลติงเอเจน (alkylating agent) เป็นสารเคมีที่มีหมู่อัลคิล (alkyl group) เป็นองค์ประกอบ โดยหมู่อัลคิลจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลดีเอ็นเอ กลุ่มฟอสเฟต และเบสไพริมิดีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับยีนและโครโมโซมได้ สารเคมีที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ EMS (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และปิยะดา ทิพย-ผ่อง, 2550) อย่างไรก็ตาม มีสารเคมีบางกลุ่มที่มีโมเลกุลคล้ายเบส (base analogues) สามารถเข้าไปแทนที่คู่เบส เช่น 5- โบรโมยูราซิล (5- Bromouracil; 5-BU) และ 2-อะมิโนพิวรีน (2- Aminopurine 2-AP) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายไทมีนและอะดีนีนตามลำดับ ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์แบบทรานซิชั่นในอัตราคงที่ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และปิยะดา ทิพยผ่อง, 2550; พีรนุช จอมพุก, 2560)

การกลายพันธุ์สามารถเกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติโดยไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอน ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติแบ่งได้เป็น 2 พวก คือปัจจัยภายในของพืช

ได้แก่ องค์ประกอบทางพันธุกรรมและสภาพทางสรีระ ปัจจัยจากสภาพแวดล้อม ได้แก่ อาหาร อุณหภูมิ รังสีและสิ่งก่อกลายพันธุ์จะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ส่วนใหญ่เป็นลักษณะด้อย เช่น การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน ขณะที่การกลายพันธุ์บางลักษณะปรากฏผลเชิงปริมาณมากกว่าคุณภาพ (micro mutation) สามารถตรวจสอบโดยวิธีการทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อเกิดการกลายพันธุ์ก็จะทำให้เกิดความแปรปรวนของลักษณะดังกล่าวขึ้น และสามารถทดสอบลักษณะต่าง ๆ ได้เช่น ความสูง ขนาดเมล็ด และผลผลิต (สิรนุช ลามศรีจันทร์, 2540)

2.9 ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้สารเคมีกลายพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยวิธีการกลายพันธุ์โดยสารเคมี เป็นเครื่องมือหนึ่งที่มีประสิทธิภาพก่อให้เกิดการกลายพันธุ์สูง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและส่วนของพืชที่นำมาเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ส่วนของพืชที่นิยมใช้ คือ เมล็ด (เนื่องจากทำได้ง่าย) และเนื้อเยื่อ (ชนิดเนื้อเยื่อ ขนาดเนื้อเยื่อ และระยะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อมีผลต่อการกลายพันธุ์) อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาระหว่างทำการทดลองก็มีความสำคัญอย่างยิ่งต้องศึกษาเพื่อให้ได้สภาวะที่มีความเหมาะสมกับชนิดของพืช (ตารางที่ 2.3) เพื่อการก่อกลายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด อย่างไรก็ตามมีการก่อกลายพันธุ์ในเนื้อเนื่อพืชหลายชนิด เช่น ใบ เมล็ด ละอองเกสร แคลลัส (callus) ฯลฯ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.3 การใช้เอธิลมีเทนซัลโฟเนตเพื่อก่อกลายพันธุ์ในพืชชนิดต่างๆ

ปัจจัยการทดลอง					
ชนิดพืช	**ชนิดเนื้อเยื่อ**	**ความเข้มข้นสาร (เปอร์เซ็นต์)**	**ระยะเวลาการใช้สาร (ชั่วโมง)**	**วัตถุประสงค์ในการทดลอง**	**แหล่งอ้างอิง**
ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis Jacq.*)	โซมาติกเอ็มบริโอ	0-1	1.30	ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมัน	ชญานีย์ สังวาลย์, 2557
มันสำปะหลัง (*Manihot esculanta* Crantz)	แคลลัส	0.6-1.2	NA	ศึกษาความแปรปรวนที่เกิดจากการเหนี่ยวนำ	Antony *et al*, 2018
	โซมาติกเอ็มบริโอ	0.3-1.5	72	ศึกษาประสิทธิภาพของก่อกลายพันธุ์	Magaia1 *et al,* 2015
สบู่ดำ (*Jatropha curcas*)	แคลลัส	0.4-0.8	0.5 1.5 3	พัฒนาสายพันธุ์ใหม่	Dhakshanamoorthy *et al*, 2010
	เมล็ด	1-4	NA	ศึกษาความแปรปรวนที่เกิดจากการเหนี่ยวนำ	

NA คือ ไม่พบข้อมูล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.10 การใช้เอธิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS) ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

EMS เป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่ม alkylating มีประสิทธิภาพสูง และมีต่อความผิดปกติของโครโมโซมพืชน้อยมาก (Khatri *et al*, 2005; Bashir *et al*, 2013) สาร EMS หรือ N-methyl-N-nitrosourea (MNU) จัดว่าเป็นสารเคมีใช้กันมากในการศึกษาการกลายพันธุ์ในพืช การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการ EMS หรือ MNU จะก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของกลุ่มเบสในระดับโครโมโซม EMS ประกอบด้วยหมู่เอทิล (C_2H_5: ethyl group) 1 หมู่ จะถูกถ่ายให้กับโมเลกุลของดีเอ็นเอในปฏิกริยาแอลคิเลชัน (alkylation) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับเบสเพียวรินและไพริมิดิน รวมทั้งหมู่ของฟอสเฟตของดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาแอลคิเลชันจะเกิดมากที่สุด ในตำแหน่ง N-7 ของเบสกัวนิน (G) ภายหลังทำปฏิกิริยาแล้วกลายเป็น 7-เอทิลกัวนิน (7-ethylguanine) หรือที่เรียกว่า แอลคิเลเตตกัวนิน (alkylated guanine) (IAEA,1977) วิธีการที่สาร EMS ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ซึ่งรายงานโดย IAEA (1977) มีดังต่อไปนี้ เช่น ทำให้เกิดการเข้าแทนที่คู่เบส โดยการที่มีหมู่เอทิลมาอยู่ในโมเลกุลของ guanine ทำให้คุณสมบัติในการเกิด ionization ที่แตกต่างไปจากปกติ จึงเกิดการจับคู่เบสที่ผิดปกติไปจากเดิมได้ เช่น กรณี 7-ethyguanine สามารถจับคู่กับเบส thymine (T) ซึ่งเป็นการกลายพันธุ์ชนิด transition สาร EMS ยังทำให้เกิดการหลุดหายไปของเบสเพียวรีนจากสายดีเอ็นเอ เพราะการที่มีหมู่เอทิลเข้าไปจับอยู่ในตำแหน่งต่าง ๆ ในเบสเพียวรีน ทำให้เกิดการตัดขาดของพันธะที่เชื่อมระหว่างน้ำตาลกับเบส จึงเกิดการหลุดออกไปของเบสเพียวรีนและเกิดช่องว่างขึ้น ต่อมาเมื่อเซลล์มีกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเออาจจะเกิดความผิดพลาดได้เบสที่แตกต่างไปจากเดิม ซึ่งนำไปสู่การกลายพันธุ์แบบ transition และ transversion ได้ และนอกจากนี้การตัดขาดของหมู่ฟอสเฟสและน้ำตาล อาจทำให้เกิดการขาดจากกันของดีเอ็นเอสายเดี่ยวและสายคู่ ซึ่งนำไปสู่การหลุดหายไปของส่วนดีเอ็นเอและเกิดการกลายพันธุ์ในที่สุด อย่างไรก็ตามสาร EMS สามารถก่อกลายพันธุ์ได้ดีกับพืชหลายพืช ทั้งสภาพในหลอดทดลองและนอกหลอดทดลอง โดยความถี่ของการกลายพันธุ์ที่ถูกชักนำด้วยการใช้สาร EMS มีค่าสูงกว่าการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติหลายเท่า (Sung, 1976) สายพันธุ์กลายที่ได้สามารถถ่ายทอดลักษณะการกลายพันธุ์ต่อได้อีกหลายรุ่น (Osorio *et al*, 1995) มีการใช้ EMS ที่ความเข้มข้น 75 และ 125 mM นาน 4 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้ความยาวยอด ความยาวใบ และความกว้างลดลง (Seerangan *et al*, 2014) ในปัจจุบันมีการใช้ EMS ในพืชชนิดอื่น ๆ เช่น ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis Jacq*.) ทำให้ชิ้นส่วนพืชตายมากขึ้นส่งเสริมให้สร้างเอมบริโอเจนิคแคลลัสร่วมกับโซมาติกเอมบริโอสูงสุด (ชญานีย์ สังวาลย์และ สมปอง เตชะโต, 2557) และ EMS สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านระดับโปรตีนเพียงเล็กน้อย (Echevarria *et al*, 1995) อีกทั้งยังพบว่า EMS สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัญฐานวิทยาที่ผิดปกติของต้นไม้ดอกไม้ประดับ เช่น กล็อกซิเนีย

(*Sinninga speciosa*) และคาร์เนชั่น (*Dianthus caryophyllus* L.) ได้อีกด้วย (Latado *et al*. 2004; ยุพากรณ์ ศิริโสม และ สมปอง เตชะโต, 2551)

2.11 ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้รังสีกลายพันธุ์

รังสีแกมมาทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ โดยรังสีจะถ่ายเทพลังงานให้กับเซลล์พืชก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีขึ้น กับองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะสารพันธุกรรม หรือดีเอ็นเอหรือยีน ซึ่งเป็นตัวกำหนดลักษณะและกิจกรรมต่าง ๆ ของพืช เมื่อสารพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงเนื่องจากได้รับพลังงานจากรังสีแกมมา จะทำให้หน้าที่ของสารพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะต่าง ๆ เปลี่ยนแปลงไปด้วย เมื่อเซลล์มีการแบ่งตัวพัฒนาเป็นต้นพืชก็จะได้ลักษณะที่ต่างไปจากเดิม อย่างไรก็ตามระยะเวลาระหว่างทำการทดลองก็มีความสำคัญอย่างยิ่งต้องศึกษาเพื่อให้มีความเหมาะสมกับชนิดของพืช (ตารางที่ 2.4) เมื่อมีการกลายเกิดขึ้น เราจะทราบได้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงที่ปรากฏให้เห็นทางฟีโนไทป์ (phenotype) ของพืช เช่น การเปลี่ยนแปลงของสีดอก สีใบ รูปร่างดอก รูปทรงใบ ความสูงต้น อายุการออกดอก การติดดอกเร็วขึ้นหรือช้าลง สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.4 การใช้รังสีแกมมาเพื่อก่อกลายพันธุ์ในบางชนิด

ปัจจัยการทดลอง				
ชนิดพืช	**ชนิดเนื้อเยื่อ**	**ปริมาณรังสี (เกรย์)**	**วัตถุประสงค์ในการทดลอง**	**แหล่งอ้างอิง**
กุหลาบหนู (*Rosa chinensis Jacq.var. minima* Voss)	ตาข้าง	10-80	ศึกษาการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการใช้รังสี	ภิญญารัตน์ กงประโคน และนัททรียา จิตบำรุง, 2560
หงส์เหิน (*Globba hybrida*)	เหง้า	0-100	ศึกษาปริมาณรังสีแกมมาต่อการปรับปรุงพันธุ์	ดวงจิต โตไทยะ , 2556
เบญจมาศ (*Dendranthemum grandifflora*)	ตาข้าง	5-30	พัฒนาสายพันธุ์ใหม่	พันทิพา ลิ้มสงวน และคณะ, 2559
มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz)	ท่อนพันธุ์	0 -100	ศึกษาความถี่ต่อการกลายพันธุ์	Seerangan *et al*, 2014
	โหนด	5 10 15 20 25 30	ศึกษาปริมาณรังสีที่มีผลต่อการกลายพันธุ์	Ndofunsu *et al*, 2015
	เมล็ด	200	ศึกษาประสิทธิภาพการก่อกลายพันธุ์	Magaia1*et a*l, 2015
มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.)	ยอดอ่อน	0-30	ศึกษาปริมาณรังสีแกมมาต่อการปรับปรุงพันธุ์	นุชรัฐ บาลลา, 2559

NA คือ ไม่พบข้อมูล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.12 การใช้รังสีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

การฉายรังสีเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชเป็นอีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้ ซึ่งการที่รังสีทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชได้นั้น เนื่องจากรังสีเป็นคลื่นที่มีพลังงานดังนั้นเมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง จะถ่ายเทพลังงานให้กับตัวกลางนั้นโดยในส่วนของพืชนั้นตำแหน่งที่สำคัญคือเซลล์ รังสีแกมมาเป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า เกิดจากนิวไคลด์กัมมันตรังสีสลายตัวให้รังสีอื่นแล้วยังอยู่ในสถานะกระตุ้น จึงปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปแบบรังสีแกมมานิวไคลด์ กัมมันตรังสีที่นิยมนำมาใช้เพื่อให้รังสีแกมมาในการปรับปรุงพันุ์พืชคือ โคบอลท์ -60 (60Co) และซีเซียม -137 (137Cs) (Kim *et al*, 2004; Kovacs and Keresztes, 2002; สิรนุช ลามศรีจันทร์, 2540 มีการใช้รังสีแกมมาในการก่อกลายพันธุ์ในพืชหลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง (*Manihot esculanta* Crantz) การใช้รังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 10 กับ 110 เกรย์ ทำให้ชิ้นส่วนพืชตาย ส่งเสริมให้พืชมีจำนวนหน่อที่เพิ่มขึ้นและมีการเปลี่ยนของสีของก้านใบ (Magaia *et al*, 2015) และรังสีแกมมา สามารถทำให้โครงสร้างของเม็ดแป้งเปลี่ยนไป (Ceballos *et al*, 2008) อีกทั้งยังพบว่า รังสีแกมมา สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางอย่างของไม้ดอกไม้ประดับ เช่น มันเทศประดับ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) และอนูเบียคอนเจนซิส (*Anubias congensis* N.E. Brown) ได้อีกด้วย (นุชรัฐ บาลลา และคณะ 2559; ปกรณ์ ตั้งปอง, 2552)

การทดลองก่อกลายพันธุ์ ควรคำนึงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารก่อกลายพันธุ์ ระยะเวลาในการให้สาร และเปอร์เซ็นต์การตายของเนื้อเยื่อพืช (lethal dose; LD) ซึ่งเป็นดัชนีหนึ่งในการชี้วัดความมีประสิทธิภาพ และความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารก่อกลายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง มักนิยมใช้ความเข้มข้นและปริมาณรังสีที่ทำให้เกิดอัตราการตายของเนื่อเยื่อพืชที่ 50% (LD_{50}) เพื่อก่อกลายพันธุ์ แต่อาจใช้ค่าที่มากหรือน้อยกว่าร่วมกับค่า LD_{50} ในการทดลองได้ เช่น LD_{30} และ LD_{80} (คือความเข้มข้นของสารและปริมาณรังสีก่อกลายพันธุ์ที่ทำให้เนื่อเยื่อพืชตาย 30 และ 80% ตามลำดับ) เป็นต้น ความเข้มข้นของสารเคมีก่อกลายพันธุ์และปริมาณรังสีที่แตกต่างกันจะส่งผลให้อัตราการกลายพันธุ์แตกต่างกัน โดยการใช้สารก่อกลายพันธุ์และปริมาณรังสีความเข้มข้นสูง จะส่งผลให้เกิดอัตราการกลายพันธุ์สูง แต่อัตราการรอดชีวิตของเนื่อเยื่อจะลดลง ซึ่งเนื้อเยื่อพืชที่รอดชีวิตอาจจะพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ แต่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากเกินไป บางกรณีเกิดผลเสียในกระบวนการเจริญเติบโตของพืชได้เช่นกัน การใช้สารก่อกลายพันธุ์และปริมาณรังสีความเข้มข้นต่ำ ส่งผลให้เกิดอัตราการกลายพันธุ์ต่ำแต่อัตราการรอดชีวิตของเนื่อเยื่อพืชมากกว่าการใช้สารก่อกลายพันธุ์และปริมาณรังสีความเข้มข้นสูง ซึ่งเนื่อเยื่อพืชที่รอดชีวิตอาจพัฒนาและเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ดีกว่า แต่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาอาจจะไม่เปลี่ยนแปลงหรือเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ต้องการ (ธัญญา ขำเลิศ, 2532;

Abdullah *et al*., 2009) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ภาวะที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มโอกาสประสบความสำเร็จในการก่อกลายพันธุ์ และได้ต้นกลายพันธุ์ในอัตราสูงขึ้นอีกด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้วิธีการนี้ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อ

2.13 การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณของพืชให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น โดยที่คุณภาพของพืชที่ได้จะมีความสม่ำเสมอ ขั้นตอนแรกของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือ การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชเพื่อกำจัดสิ่งสกปรก และเชื้อจุลลินทรีย์ออกจากผิวของเนื้อเยื่อโดยสารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อมีหลายชนิด เช่น โซเดียมไฮโปรคลอไรย์ (NaOCl), คลอร็อกซ์(clorox), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) และเอธิลแอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งความเข้มข้น และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นกับประสิทธิภาพของสารเคมีและชนิดของพืชเมื่อได้ชิ้นส่วนพืชที่ปราศจากการปนเปื้อนแล้ว จึงทำการศึกษาเพื่อหาสูตรอาหาร รวมทั้งชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การเกิดยอดและการเกิดรากของพืชชนิดนั้น ๆ ต่อไป

2.13.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชผสมข้ามที่มี heterozygosity สูง มีลักษณะเป็นโพลีพลอยด์ มีความสมบูรณ์เพศต่ำ ติดเมล็ดน้อย และเมล็ดงอกน้อย (Byrne, 1984) และเนื่องจากในการขยายพันธุ์มันสำปะหลังด้วยวิธีปกติ คือการใช้ท่อนพันธุ์ ซึ่งเกษตรกรนิยมใช้กันอยู่ทั่วไปจะขยายพันธุ์ได้ช้าและน้อย มีผู้รายงานไว้ว่าจากต้นแม่เดิม 1 ต้น ใช้เวลา 1 ปี จะให้ท่อนพันธุ์เพียง 10-30 ท่อนพันธุ์ สำหรับในพันธุ์ดั้งเดิม หรือแม้แต่ในขณะนี้ มีการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังที่มีอายุสั้นลง ทำให้ใน 1 ปี จากต้นแม่ 1 ต้น สามารถขยายท่อนพันธุ์ได้ถึง 900 ท่อนพันธุ์ แต่ก็ยังแตกต่างเป็นอย่างมากกับการใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสามารถขยายต้นได้ถึงปีละ 1,000,000 ต้น (Michael *et al*, 1986) จะเห็นได้ว่า การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำมาช่วยในการขยายพันธุ์ได้โดยตรง แล้วต้นพันธุ์ที่ได้จะปลอดจากเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะเทคนิคนี้สามารถนำไปใช้ผลิตต้นพันธุ์ให้ปลอดจากไวรัสได้อีกด้วย และช่วยในการกระจายพันธุ์ใหม่ได้เร็วขึ้น เนื่องจากสามารถเพิ่มท่อนพันธุ์หรือต้นใหม่ได้เร็วและทำให้ขั้นตอนในการปลูกทดสอบและประเมินผลในแปลงไม่ต้องรอเวลานาน และการปรับปรุงพันธุ์ เมื่อใช้วิธีมาตรฐานมักไม่ค่อยมีประสิทธิภาพ เนื่องจากปัญหาดังกล่าวข้างต้น การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังในปัจจุบันจึงหันมาใช้วิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพเข้าช่วย เช่น การตัดต่อยีน แต่ขบวนการเหล่านี้จะสำเร็จได้ ขั้นตอนแรกต้องประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังก่อน โดยเฉพาะการชักนำโซมาติกเอมบริโอ (somatic embryo) การ

เพิ่มปริมาณโซมาติกเอมบริโอ และการชักนำโซมาติกเอมบริโอเป็นต้นที่สมบูรณ์ ปัจจุบันมีการทดลองเกี่ยวกับการขยายพันธุ์มันสำปะหลังในสภาพปลอดเชื้ออยู่ 2 แนวทางคือ การชักนำโดยผ่านขบวนการออร์แกโนเจเนซิส (organogenesis) และโซมาติกเอมบริโอเจเนซิส (somatic embryogenesis) โดยเฉพาะในต่างประเทศมีรายงานวิจัยอยู่จำนวนมาก แต่โดยสรุปแล้วยัง พบว่า ในขบวนการออร์แกโนเจเนซิเพื่อชักนำเป็นยอด (shoot) มักประสบปัญหาที่คือ ชนิดและอายุของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง ฤดูกาลที่ปลูกต้นมันสำปะหลังก่อนจะนำชิ้นส่วนมาเพาะเลี้ยงก็ให้ผลที่แตกต่างกัน การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลังจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง (บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ และคณะ, 2557)

จากการศึกษาโซมาติกเอมบริโอในมันสำปะหลัง 2 สายพันธุ์ในประเทศไนจีเรีย โดยใช้มันสำปะหลังสายพันธุ์ Sandpaper และ TMS 60444 โดยทำการศึกษาโดยนำส่วนใบอ่อนของมันสำปะหลังมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของ Picloram ในอาหารที่ต่างกันจะช่วยเพิ่มออร์แกนโนเจนิซิสที่ต่างกัน (53.1±1 และ 51.5±14.6 เปอร์เซ็นต์ ในพันธุ์ Sandpaper และ TMS 60444) ตามลำดับ แต่พบว่าความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Picloramme ทำให้มีการพัฒนาได้ดี (Ubalua and Mbanaso, 2014) จากการศึกษาการปลูกมันสำปะหลังโดยโซมาติกเอมบริโอจากชิ้นส่วนใบอ่อนในหลอดทดลองเพื่อพัฒนาเป็นต้น โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS เพิ่มน้ำตาล 20 เปอร์เซ็นต์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 7 มก/ล. พบว่าหลังจาก 10-15 วัน ของการเพาะเลี้ยงมีการเพิ่มจำนวนโซมาติกเอมบริโออยู่ระหว่าง 13.6–92.6 เปอร์เซ็นต์ (Le and Anh *et al*, 2007)

ผลการศึกษาเพื่อสร้างมันสำปะหลังเตทราพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มันสำปะหลัง 3 พันธุ์ คือ ระยอง 7 ระยอง 90 และเกษตรศาสตร์ 50 โดยใช้ตาข้างและตายอดอายุ 30-45 วัน เป็น Explant ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายเมอร์คิวลิคคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 20 นาที แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS medium ผสมซูโครส 20 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 30–45 วัน ทำให้ได้ต้นกล้ามันสำปะหลังที่สมบูรณ์และแข็งแรง (รังษี เจริญสถาพร และคณะ, 2551)

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด คือ TDZ (thiadiazuron) BA (N6-benzyladenine) และ GA_3 (Gibberellic acid) ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง พันธุ์ระยอง 5 ระยอง 72 และ ระยอง 7 โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังที่ปลอดเชื้อในอาหารแข็ง พบว่าชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติมโตให้ความสูงยอด จำนวนข้อต่อยอดและจำนวนใบที่สูงที่สุด (บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ และคณะ, 2558)

2.14 การประเมินลักษณะของการกลายพันธุ์

ลักษณะการกลายพันธุ์ของพืชหลังจากการฉายรังสีแล้วเป็นไปได้หลายแบบ การกลายพันธุ์ที่มองเห็นได้ชัดเรียกว่า มาโครมิวเทชั่น (macromutation) เช่น การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของส่วนต่าง ๆ ของพืช ผลของการฉายรังสีเมล็ดในชั่วที่ 1 (M_1 generation) มักเป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช โดยไม่สามารถรักษาลักษณะเหล่านี้ไว้ได้ในรุ่นต่อไป แต่เมื่อฉายรังสีแกมมากับส่วนอื่นของพืชนอกเหนือจากเมล็ด (vegetative part) มักได้การกลายแบบถาวร ซึ่งอาจจำแนกได้เป็น 2 ลักษณะ คือการกลายที่เกิดขึ้นทั้งต้นหรือทั้งส่วนของพืช (solid mutation) เป็นการกลายที่สามารถรักษาลักษณะการกลายและขยายพันธุ์ต่อไปได้ด้วยวิธีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และการกลายเพียงบางส่วน (partly mutation) หรือ ไคเมรา (chimera) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเฉพาะส่วน อาจเกิดขึ้นบนต้นเดียวกัน เกิดเฉพาะบางส่วนของกิ่ง บางส่วนของดอก หรือบางส่วนของใบ เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม ด้วยเทคนิคของวิธีการขยายพันธุ์ สามารถทำให้ลักษณะกลายที่เป็นไคเมราเจริญไปเป็นการกลายทั้งต้นได้ โดยการตัดยอดในส่วนของกิ่งที่เกิดไคเมรา เพื่อทำให้ตาข้าง (axillary bud) เจริญเป็นกิ่งได้ ซึ่งในที่สุด ก็จะได้กิ่งที่กลายทั้งกิ่ง และนำไปขยายพันธุ์เป็นต้นกลายทั้งต้นได้ต่อได้ไป (อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์ และนวลฉวี รุ่งธนเกียรติ, 2536)

การตรวจสอบการกลายพันธุ์ สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา ตรวจสอบระดับเซลล์ และการตรวจสอบระดับดีเอ็นเอ แต่การตรวจสอบลักษณะการกลายพันธุ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยามีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ใช้เวลานาน ต้องรอต้นมันสำปะหลังโตเต็มที่จนถึงระยะที่แสดงออกลักษณะเหล่านั้น ส่วนการตรวจสอบระดับเซลล์เป็นการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือจำนวนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ สิ่งก่อกลายพันธุ์บางชนิด สามารถส่งผลให้รูปร่างโครโมโซมเปลี่ยนแปลง (ชิ้นส่วนโครโมโซมขาดหาย เพิ่มขึ้น และเปลี่ยนสลับทิศ) และจำนวนโครโมโซมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (เพิ่มขึ้นหรือลดลง) ซึ่งอาจส่งผลต่อลักษณะการแสดงออกของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ได้ วิธีการนี้มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ต้องทำในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ใช้เครื่องมือและสารเคมีที่จำเพาะเจาะจง อีกทั้งวิธีการนี้ไม่สามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงระดับดีเอ็นเอได้ ในปัจจุบันจึงมีการหาความรู้ เทคนิค และวิธีการต่าง ๆ ด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรม เครื่องหมายที่นิยมใช้ ได้แก่ restriction fragment length polymorphism (RFLP) random amplified polymorphic DNA (RAPD) amplified fragment length polymorphism (AFLP) simple sequence repeat (SSR) หรือ inter-simple sequence repeat (ISSR) (ปริญญา ขจัดพาล, 2552) การใช้เครื่องหมาย ISSR ประสบความสำเร็จในการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมในเนื้อเยื่อของเยอบีร่า (Bhatia *et al.*, 2009) หน้าวัว (Gantait และ Sinniah, 2011) และอุ่น (Nookaraju และ Agrawal, 2012) โดย

การศึกษาครั้งนี้ เป็นการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) โดยใช้เครื่องหมาย ISSR ในการตรวจสอบ อีกทั้งสามารถตรวจสอบความแตกต่างได้ปริมาณมาก ให้ผลการทดลองที่แม่นยำ และใช้ต้นทุนต่ำ ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ เครื่องหมาย ISSR จึงเหมาะที่จะเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้แยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของสายพันธุ์กลายออกจากสายพันธุ์ดั้งเดิมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.15 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

ความหลากหลายทางพันธุกรรม มีความสำคัญต่อการศึกษาด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช และยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยทางด้านชีววิทยา ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชีวภาพ และด้านเทคโนโลยีการเกษตร ซึ่งการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถทำได้หลายวิธีการ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป ปัจจุบันนักการปรับปรุงพันธุ์พืชได้นำความรู้ด้านเครื่องหมายโมเลกุลมาประยุกต์ในงานปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากสามารถประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ การประเมินความมีประสิทธิภาพและความเหมาะสมในการแยกความหลากหลายทางพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุลในแต่ละชนิด จะได้ค่า polymorphic information content (PIC) ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 ซึ่งหาก PIC มีค่ามาก หมายถึงเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนั้นมีประสิทธิภาพในการแยกความหลากหลายทางพันธุกรรม เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

$$PIC = 1 - \sum \square\square^2$$

กำหนดให้ pij เป็นความถี่ของอัลลีล i ของเครื่องหมายโมเลกุล j ตามลำดับ (Botstein *et al*, 1980) ในขณะเดียวกันค่า phylogenetics เป็นสมมติฐานที่สร้างขึ้นเพื่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตในลักษณะแผนภูมิ dendrogram สามารถอธิบายความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพืชแต่ละชนิด ซึ่งจะนำไปสู่ความเข้าใจในด้านความหลากหลายทางชีวภาพของพืชชนิดนั้นได้ เป็นการอาศัยองค์ความรู้ด้านวิวัฒนาการ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต และข้อมูลทางชีววิทยาเชิงโมเลกุล เช่น ลำดับกรดอะมิโนของสายโปรตีนหรือลำดับนิวคลีโอทด์ของสายดีเอ็นเอ โดยค่า goodness for fit ของสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ cophenetic แสดงถึงความมีประสิทธิภาพของ dendrogram สามารถเป็นตัวแทนข้อมูล ในแมททริกซ์ความคล้ายคลึงกันได้ ซึ่งถ้ามีค่ามาก หมายถึงแผนภูมิ dendrogram มีข้อมูลที่แม่นยำและสอดคล้องกับสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้จากการทดลอง อย่างไรก็ตามเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละชนิดที่นำมาใช้ในการทดลอง ก็มีความเหมาะสมต่อลักษณะงานและวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นควรเลือกใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่เหมาะสมกับ

การทดลอง ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่จะนำไปสู่ผลการทดลองที่ถูกต้อง โดยเครื่องหมายโมเลกุลที่ดีควรมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เหมาะสมกับการทดลอง และให้ผลคงที่เมื่อทำการทดลองซ้ำอีกด้วย (Rizzo and Rouchka, 2007; อนรรฆอร วรรณจินดาพร, 2558)

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการก่อกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมีและการฉายรังสีแกมมา ในมันสำปะหลัง 2 พันธุ์ โดยใช้มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ในการทดลอง ซึ่งทั้ง 2 พันธุ์นี้ มีคุณสมบัติให้ผลผลิตและเปอร์เซ็นต์แป้งสูง และเป็นที่นิยมปลูก ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1: การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง

การทดลองที่ 2: การก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลัง ด้วยสารเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulphonate; EMS) และการฉายรังสีแกมมา (gamma ray) แบบเฉียบพลัน (acute irradiation)

การทดลองที่ 3: ความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์

3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมัน-สำปะหลัง

3.1.1 ทำการทดลองโดยใช้มันสำปะหลัง 2 พันธุ์คือ พันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 (จากมูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย) นำชิ้นส่วนที่เหมาะสมคือส่วนที่เป็นตายอดและตาข้างมาใช้ในการเพาะเลี้ยง ทำการทดลองโดยนำท่อนมันสำปะหลังมาตัดเป็นท่อน ๆ ให้มีความยาวประมาณ 15 เซนติเมตร แล้วนำไปปักชำในกระถางขนาด 12 นิ้ว ซึ่งวัสดุปลูกประกอบด้วย หน้าดิน กากหม้อกรอง ขี้เถ้าแกลบ ปุ๋ยหมัก แกลบ ปุ๋ยคอก และปุ๋ยเคมี อัตราส่วน 1:1:1:1:1:0.1 หลังปลูกได้ประมาณ 60 วัน ชิ้นส่วนพืชจะแตกยอดใหม่ ตัดยอดที่แตกใหม่ความยาว 10-15 เซนติเมตร นำมาตัดแต่งเอาใบออกให้หมดมีตาติดมา 4-5 ตาต่อท่อน

3.1.2 นำส่วนที่เป็นกิ่งอ่อนของมันสำปะหลัง มาทำความสะอาดด้วยน้ำสบู่ และฟอกด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30% เป็นเวลา 30 นาที โดยจะผสมสารจับใบ (tween 20) 2-3 หยด แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3-4 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนข้อจากกิ่งอ่อนมันสำปะหลังยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำไปเลี้ยงในอาหารแข็งทั้ง 5 สูตร ดังต่อไปนี้

M1: MS Basal (free growth regulators)

M2: MS+1.0BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

M3: MS+0.1BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

M4: MS+0.1BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +1.0 TDZ (มก/ล.)

M5: MS+1.0BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +15 2,4-D (มก/ล.)

ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±1° ซ ช่วงแสง 16 ชั่วโมง ความเข้มแสง 40 µmol. $m^{-2}.s^{-1}$ โดยวางแผนการทดลองแบบ 2x5 Factorial in CRD จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ข้อ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ (1) พันธุ์สำปะหลัง 2 พันธุ์ คือพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 และ (2) อาหารชักนำให้เกิดต้น จำนวน 5 สูตร เพาะเลี้ยงใส่ขวดขนาด 8 ออนซ์ เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

2. บันทึกผลการทดลอง

หลังเพาะเลี้ยงโดยทำการเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ดังสมการต่อไปนี้

2.1 $\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดต้น} = \frac{\text{จำนวนชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดต้น}}{\text{จำนวนชิ้นทั้งหมด}} \times 100$

2.2 $\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนชิ้นเนื้อเยื่อที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นทั้งหมด}} \times 100$

วัดลักษณะต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อ ได้แก่ ความสูงต้น (ซม.)โดยวัดความสูงจากจากโคนต้นจนถึงปลายยอด และจำนวนรากที่เกิดจากการเพาะเลี้ยง

3. วิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ความสูงต้น (ซม.) และจำนวนราก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารควบคุมการเจริญโตที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยโปรแกรมทางสถิติ SPSS version 14.0 (Levesque and SPSS Inc., 2006)

3.2 การทดลองที่ 2 การก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลัง ด้วยสารเอธิลมีเทนซัลโฟเนท (ethyl methanesulphonate; EMS) และการฉายรังสีแกมมา (gamma ray)

1. การศึกษาความเข้มข้นของสาร EMS และปริมาณรังสีแกมมา ที่มีผลต่อความสำเร็จในการก่อกลายพันธุ์ โดยการทดลองนี้ทดสอบหาความเข้มข้นของสาร EMS และปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 โดยหาความเข้มข้นและปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้มันสำปะหลังตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50})

2. คัดเลือกส่วนข้อมันสำปะหลังที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 0.5-1 เซนติเมตร ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันทั้งอายุ ขนาด ไปแช่ใน reverse osmosis water (ROW) นึ่งฆ่าเยื่อ (control) และสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.25 0.50 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเตรียมใน 100 mM phosphate buffer (pH 7) เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ (1) พันธุ์สำปะหลัง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 และ (2) ระดับความเข้มข้นของสาร EMS ที่แตกต่างกัน 5 ระดับ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงนำชิ้นส่วนพืช มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS+0.1BA(มก/ล.) +1.0Kin(มก/ล.)+0.05NAA (มก/ล.) ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±1º ซ ช่วงแสง 16 ชั่วโมง ความเข้มแสง 40 μmol. $m^{-2}.s^{-1}$ วางแผนการทดลองแบบ 2x5 Factorial in CRD จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ข้อ เพาะเลี้ยงใส่ขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ เป็นเวลานาน 30 วัน

3. คัดเลือกส่วนข้อมันสำปะหลังที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 0.5-1 เซนติเมตร ที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน ทั้งอายุ ขนาด นำมาตัดขนาดความยาว 3 เซนติเมตร แล้วนำใส่ในจานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีกระดาษเพาะนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเติมน้ำ RO นึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 3 มิลลิลิตรบรรจุลงในจานเพาะเลี้ยงจำนวน 10-15 ชิ้นปิดด้วยพาราฟิล์มแล้วนำไปฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณรังสีต่าง ๆ คือ 0 (control) 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ ฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งมีซีเซียม 137 เป็นต้นกำเนิดรังสีแกมมา โดยมีอัตราปริมาณรังสี 240 เกรย์ต่อชั่วโมง งานทดลองประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ (1) พันธุ์สำปะหลัง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 และ (2) ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่แตกต่างกัน 7 ระดับ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงนำชิ้นส่วนพืช มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS+0.1BA(มก/ล.) +1.0Kin(มก/ล.)+0.05NAA (มก/ล.) ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±1º ซ ช่วงแสง 16 ชั่วโมง ความเข้มแสง 40 μmol. $m^{-2}.s^{-1}$ วางแผนการทดลองแบบ 2x5 Factorial in CRD จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ข้อ เพาะเลี้ยงใส่ขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ เป็นเวลานาน 30 วัน

4. บันทึกผลการทดลอง

เก็บข้อมูลเช่นเดียวกันกับการทดลองการก่อกลายพันธุ์ด้วยสาร EMS จากนั้นนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารก่อกลายพันธุ์ EMS และปริมาณรังสีแกมมา เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของมันสำปะหลัง ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) หลังทำการก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลังซึ่งให้ค่าที่ LD_{50} ที่ได้สามารถนำไปใช้ในการชักนำมันสำปะหลังให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์กลายต่อไป

5. วิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความปรวนแปรทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ความสูงต้น (ซม.) จำนวนใบ และจำนวนราก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประเมินประสิทธิภาพของสารละลาย EMS และรังสีแกมมา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยโปรแกรมทางสถิติ SPSS version 14.0 (Levesque and SPSS Inc., 2006)

3.3 การทดลองที่ 3 ความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมของมันสำปะหลังที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์

การคัดเลือกและตรวจสอบสายพันธุ์กลายของมันสำปะหลังสามารถทำได้หลายวิธี การทดลองนี้ ใช้วิธีการตรวจสอบ 2 วิธีคือ 1) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เป็นการตรวจสอบลักษณะที่แสดงออกทางฟีโนไทป์ที่เปลี่ยนไปจากเดิม 2) เครื่องหมายโมเลกุล เป็นการตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอ ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์กลายออกจากสายพันธุ์ดั้งเดิมได้ ในการทดลองนี้ใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 12 ไพรเมอร์

1. คัดเลือกและตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

1.1 บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง โดยนำต้นมันสำปะหลังที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากการทดลองที่ 2 อายุประมาณ 45 วัน นำออกปลูกในโรงเรือนโดยเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น กับต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14) และ 1% (M15) จำนวน 15 ต้น และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น กับต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ท่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น วางแผนการทดลองแบบ 2x5 Factorial in CRD ทำการบันทึกลักษณะของต้นมันสำปะหลัง

1.2 บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 (0 control (C1) จำนวน 1 ต้น กับต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จากการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 (0 control (C1) ที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น กับต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จากการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์ (M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น วางแผนการทดลองแบบ 2x5 Factorial in CRD ทำการบันทึกลักษณะของต้นมันสำปะหลังดังต่อไปนี้

1) ลักษณะต้น ได้แก่ ความสูงทั้งต้น และการแตกหน่อ โดยวัดความสูงจากโคนต้นจนถึงปลายยอด การแตกหน่อวัดจากจำนวนหน่อที่แตกออกมาจากต้น และการวัดเส้นผ่าศูนย์กลาง

ต้นโดยวัดจากบริเวณโคนต้นเหนือจากพื้นดิน เก็บลักษณะของต้นมันสำปะหลัง หลังทำการย้ายปลูกเป็นเวลา 3 เดือน

2) ลักษณะใบ ได้แก่ จำนวนใบ โดยนับจำนวนใบทั้งหมดเมื่ออายุ 3 เดือน ลักษณะใบ ทำการบันทึกรูปร่างและจำนวนแฉกที่แตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร (Fukuda *et al*., 2010)

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลัง

เก็บตัวอย่างใบมันสำปะหลังใบที่ 5 ที่ใบขยายเต็มที่ แล้วเจาะด้วย cork borer เบอร์ 2 ซึ่งมีพื้นที่ 0.283 ตารางเซนติเมตร(โดยหลีกเลี่ยงการใช้เนื้อเยื่อบริเวณเส้นใบ และขอบใบ) แล้วนำตัวอย่างใบใส่ในหลอดที่มี N,N- dimethylformamide (DMF) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท แล้วเก็บไว้ในที่มืดทันทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันไม่ให้คลอโรฟิลล์ถูกทำลายด้วยแสง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 647 และ 664 นาโน-เมตร โดยใช้ DMF เป็น blank นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์รวม คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี โดยมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรตามสมการของ Porra *et al*. (1989)

$$\text{Chlorophyll a} = 12A_{664} - 3.11A_{647}$$

$$\text{Chlorophyll b} = 20.78A_{647} - 4.88A_{664}$$

$$\text{Chlorophyll total} = 17.67A_{647} + 7.12A_{664}$$

1.4 การวิเคราะห์ผล

1) วิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS และการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS version 14.0 (Levesque and SPSS Inc., 2006)

2) ประเมินความเหมือนกันทางสัณฐานวิทยาระหว่างต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS และการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ Jaccard's genetic similarity coefficients และสร้าง phylogenetic tree ด้วย unweighted paired grouped mean arithmetic average โดยใช้ SAHN and TREE options และหาค่า similarity matrix ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 (Rohlf, 2000) วิเคราะห์ principle coordinate analysis (PCoA) เพื่อให้ได้ข้อมูลระยะห่างระหว่างกลุ่มเพื่อเติมจากข้อมูลที่ได้จาก cluster analysis ประเมินความสัมพันธ์ภายในกลุ่ม dendrogram ของต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS และการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวิธีของ Mantel, (1967)

2. การคัดเลือกและตรวจสอบต้นสายพันธุ์กลายด้วยเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers) ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์กลายออกจากสายพันธุ์ดั้งเดิมได้ ในการทดลองนี้ใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR จำนวน 12 ไพร์มอร์ โดยคัดเลือกจากไพรเมอร์ทั้งหมดจำนวน 32 ไพรเมอร์ และมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

1) สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS และการฉายรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ได้จากการทดลองที่ 2 โดยวิธีการดัดแปลงจาก Owens, (2003); Pirttila *et. al*, (2001) และ Thangaraj *et al,* (2016).

1.1) ใช้ extraction buffer ซึ่งประกอบด้วย 100 mM Tris-HCL (pH 8.0), 1.5 M NaCl, 20 mM EDTA (pH 8.0) และ 3% cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)

1.2) บดตัวอย่างใบน้ำหนัก 1 กรัมโดยใช้เครื่องบดตัวอย่าง (Bullet Blender®Gold) แล้วนำตัวอย่างใส่ในหลอด เติม extraction buffer ปริมาตร 600 µL บ่มที่อุณหภูมิ 65 °ซ นาน 30 นาที

1.3) เติม 24:1 chloroform isoamyl alcohol ปริมาตร 600 µL ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นใน microcentrifuge ที่ความเร็ว 13,000 rpm อุณหภูมิห้อง นาน 20 นาที ดูดน้ำใสใส่หลอด microcentrifuge ใหม่

1.4) ทำตามขั้นตอนที่ 3 อีกรอบ จะได้น้ำใสประมาณ 400 µL เติม 0.5 volume (200 µL) ของ 5 M NaCl ผสมให้เข้ากัน

1.5) เติม 1 volume (600 µL) ของ isopropanol (cold) 100% ผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปปั่นใน microcentrifuge ที่ความเร็ว 13,000 rpm อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที

1.6) ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 500 µL ของ ethanol (cold) 70% นำไปปั่นใน microcentrifuge ที่ความเร็ว 13,000 rpm อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที เทสารละลายทิ้ง

1.7) ล้างตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย 500 µL ของ ethanol (cold) 100% นำไปปั่นใน microcentrifuge ที่ความเร็ว 13,000 rpm อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที เทสารละลายทิ้ง

1.8) นำตะกอนดีเอ็นเอไปตากที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แห้งและละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย ddH_2O ปริมาณ 100 µL เติม RNAase A (1 mg/ml) ปริมาตร 40 µL บ่มใน incubator ที่ 37 °ซ เป็นเวลานาน 30 นาที

1.9) นำตัวอย่างดีเอ็นเอมาตรวจสอบความเข้มข้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดนาโน (Nanodrop 2000 Spectrophotometer) ที่ 260 และ 280 นาโนเมตร

2) ทำการคัดเลือกไพรเมอร์ ISSR เบื้องต้น จำนวน 32 ไพรเมอร์ เพื่อคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสม ที่จะนำมาใช้ตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง

ดังตารางที่ 3.1 (Zayed *et al*., 2018; Tiago *et al*, 2016; Vidal *et al*, 2015; Khajudparn, 2012; Camellia *et al*, 2011; Vasconcelos *et al*, 2012.)

ตารางที่ 3.1 ลำดับเบส และอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ ISSR

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	อุณหภูมิ annealing	ไพรเมอร์	ลำดับเบส	อุณหภูมิ annealing
HB12	$(CAC)_3GC$	43.5	ISSR811	$(GA)_8C$	57.4
14A	$(CT)_8TG$	41.3	ISSR812	$(GA)_8A$	51.5
HB13	$(GAG)_3GC$	54.9	ISSR828	$(TG)_8A$	NA
ISSR12	$(GA)_8RC$	54.9	ISSR866	$(CTC)_6$	NA
ISSR25	$C(GT_8)$	NA	ISSR836	$(AG)_8YA$	57.4
ISSR32	$CY(CAC_5)$	57.4	ISSR840	$(GA)_8CT$	NA
ISSR34	$(CAG_5)RC$	57.4	ISSR841	$(CA)_8G$	57.4
ISSR35	$(CAG_5)YC$	58.9	ISSR818	$(CA)_8G$	57.4
ISSR39	$(GTG_5)RC$	58.9	ISSR825	$(AC)_8T$	57.4
ISSR41	$CR(GTG_5)$	54.9	ISSR857	$(AC)_8YG$	54.9
ISSR90	$(gAA)_5RC$	51.5	ISSR856	$(AC)_8YA$	57.4
ISSR808	$(Ag)_8C$	57.4	ISSR846	$(GA)_8A$	57.4
ISSR826	$(AC)_8C$	58.9	ISSR847	$(CA)_8RG$	51.5
ISSR834	$(AG)_8YT$	57.4	ISSR848	$(CA)_8RG$	43.5
ISSR835	$(AG)_8YC$	58.9	ISSR855	$(AC)_8YT$	57.4
ISSR844	$HBH(AG)_7$	54.9	ISSR889	$DBD(AC)_7$	51.5

Y = T,C R = A,T V = A,C,G B = T,C,G, H = A,T,C D = A,T,G N = A,T,C,G

NA คือ ไม่พบข้อมูล

2.1) คัดเลือกไพรเมอร์ ISSR ที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 2 จำนวน 12 ไพรเมอร์ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งดัดแปลงจาก Zayed *et al*, (2018) และ Baiea *et al*, (2017) โดยใช้ reaction mixture 25 µL ประกอบด้วย 1x PCR buffer, $MgCl_2$ 25 mM dNTP 2 mM, template DNA 25 ng, *Taq* DNA polymerase 2 unit และ ISSR primer 2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรม ดังนี้

Denaturing step: อุณหภูมิ 94°ซ	4 นาที	
Denaturing step: อุณหภูมิ 94°ซ	1 นาที	40 รอบ
Annealing step: อุณหภูมิ 57.4°ซ	2 นาที	
Extension step: อุณหภูมิ 72°ซ	2 นาที	
Extension step: อุณหภูมิ 72°ซ	7 นาที	

หมายเหตุ: อุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอน annealing step ขึ้นอยู่กับแต่ละไพรเมอร์ ดังตารางที่ 3.1.1

2.2) ผสม PCR products 5 µL กับ 3x loading dye 2.5 µL (NaOH 5M, formamide 95%, bromophenol blue 0.5 mg/mL และ xylene FF 0.5 mg/mL)

2.3) แยกความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอโดยใช้ polyacrylamide gel 42% (w/v) urea, 10x TBE, 40% (v/v) acrylamide/Bis (19:1), 10% (v/v) ammonium persulfate (APS) และ 0.05 (v/v) TEMED ทำการ pre-run ภายใต้สนามไฟฟ้า 200 โวลต์ นาน 70 นาที หยดตัวอย่างในหลุมแล้วรันเจลภายใต้สนามไฟฟ้า 200 โวลต์ นาน 70 นาที

2.4) ย้อมเจลด้วย silver nitrate โดยวิธีการดัดแปลงจาก Di Gaspero and Cipriani, (2003) เพื่อตรวจสอบขนาดและจำนวนท่อนดีเอ็นเอในแต่ละตัวอย่าง โดยแช่และล้าง gel ด้วยสารเคมีต่างๆ ตามขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: แช่เจล ใน EtOH 10%นาน 10 นาที

ขั้นตอนที่ 2: แช่เจลใน HNO_3 0.7% นาน 6 นาที

ขั้นตอนที่ 3: แช่เจลใน $AgNO_3$ 0.2%นาน 30 นาที

ขั้นตอนที่ 4: แช่เจลด้วย developer (0.02 mg/ml Na_2CO_3, 0.625 µL/ml, (formaldehyde และ 0.2 µL/ml sodiumthiosulfate)

ขั้นตอนที่ 5: แช่เจลใน acetic acid 3% นาน 5 นาที

ขั้นตอนที่ 6: แช่เจลใน EtOH 10%นาน 10 นาที

2.5) บันทึกผลการทดลอง และประเมินความแตกต่างของรูปแบบดีเอนเอมัน-สำปะหลังที่ใช้ในการทดลองโดยใช้ Jaccard's genetic similarity coefficients และสร้าง phylogenetic tree ด้วย unweighted paired grouped method with the arithmetic average (UPGMA) โดยใช้ SAHN and TREE options และหาค่า similarity matrix ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 (Rohlf, 2000) วิเคราะห์ principle coordinate analysis (PCoA) เพื่อให้ได้ข้อมูลระยะห่างระหว่างกลุ่มเพื่อเติมจากข้อมูลที่ได้จาก cluster analysis ประเมินความสัมพันธ์ภายในกลุ่ม dendrogram ของต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS และการฉายรังสีแกมมา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวิธีของ Mantel, (1967) จากนั้นเปรียบเทียบ similarity และ cophenetic matrix ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย ISSR ด้วย matrix correspondence ของ Mantel's test

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการทดลอง และอภิปรายผล

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมัน-สำปะหลัง

การศึกษาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 โดยใช้สูตรอาหารแข็ง MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตรวม 5 สูตร เพื่อการพัฒนาของข้อมันสำปะหลังให้เกิดเป็นต้นที่มีลักษณะที่สมบูรณ์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ความสูงต้น (ซม.) และจำนวนรากของมัน-สำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 เฉลี่ยเท่ากับ 55.08% เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส เฉลี่ยเท่ากับ 20.40% ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.93 ซม. และจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 1.58 ราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 เฉลี่ยเท่ากับ 68.40% เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส เฉลี่ยเท่ากับ 30.00% ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 4.51 ซม. และจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 1.20 ราก โดยสูตรอาหาร M1 M2 M3 M4 และM5 ไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นแตกต่างกัน (75.00 73.50 58.50 54.00 และ 49.50% ตามลำดับ) และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์มันสำปะหลังกับสูตรอาหารต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น ($P<0.01$) สูตรอาหารมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ($P<0.01$) โดยพบว่าสูตรอาหารสูตร M5 ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 54.00% รองลงมาคือสูตรอาหาร M4 M3 และM2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสรวมเท่ากับ 30.00 27.00 และ 15.00% ตามลำดับ และสูตรอาหาร M1 ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำที่สุด 0.00% (ตารางที่ 4.1) และพบว่าความแตกต่างของพันธุ์มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับสูตรอาหารต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ($P<0.01$) (รูปภาพที่ 4.1) สูตรอาหารยังมีผลต่อความสูงต้น ($P<0.01$) โดยพบว่า สูตรอาหารสูตร M1 ทำให้ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 5.96 ซม. รองลงมาคือสูตรอาหาร M3 M2 และM4 ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.87 3.50 และ3.38 ซม. ตามลำดับ และสูตรอาหาร M5 ความสูงต้นต่ำที่สุด 1.50 ซม. และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับสูตรอาหารต่อความสูงต้น นอกจากนั้น พบว่าสูตรอาหารมีผลต่อจำนวนราก ($P<0.01$) โดยพบว่าสูตรอาหารสูตร M3 ให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 3.20 ราก รองลงมาสูตรอาหาร M1 M2 และ M3 จำนวนรากเฉลี่ยเท่ากัน 1.75 1.30 และ 0.70 ราก ตามลำดับ และสูตร M5 จำนวนรากต่ำที่สุด 0.00 รากและไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับสูตรอาหาร (ตารางที่ 4.1 รูปภาพที่ 4.2; ภาผนวกที่ 1)

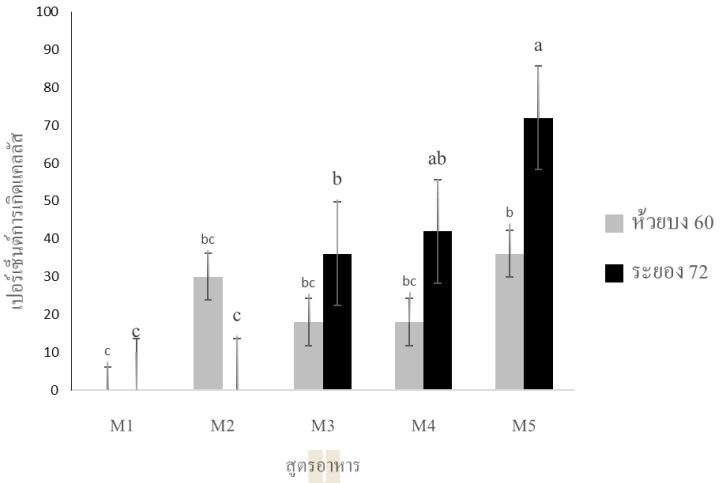
ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดต้น การเกิดแคลลัส จำนวนใบและจำนวนราก ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน

ปัจจัย		การเกิดต้น (%)	การเกิดแคลลัส (%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนราก (ราก)
พันธุ์	ห้วยบง 60	55.80±7.47	20.40±5.73	2.93±0.71	1.58±0.30
	ระยอง 72	68.40±3.88	30.00±6.53	4.51±0.75	1.20±0.27
สูตรอาหาร	M1	73.50±7.22	0.00±0.00^{c}	5.96±1.19^{a}	1.75±0.42^{b}
	M2	58.50±8.78	15.00±6.32^{bc}	3.50±1.05^{ab}	1.30±0.23^{bc}
	M3	75.00±6.32	27.00±6.24^{b}	5.87±0.98^{a}	3.20±0.38^{a}
	M4	49.50±9.75	30.00±9.48^{b}	3.38±1.14^{ab}	0.70±0.33^{c}
	M5	54.00±1.30	54.00±13.07^{a}	1.50±0.45^{b}	0.00±0.00^{c}
พันธุ์	สูตรอาหาร				
ห้วยบง 60	M1	81.04±9.00	0.00±0.00c	3.98±1.73	0.00±0.00
	M2	54.03±16.85	30.02±8.22bc	2.22±3.04	0.00±0.00
	M3	72.04±11.03	18.01±11.03bc	5.88±1.81	13.00±0.62
	M4	36.02±16.85	18.01±11.03bc	2.78±1.51	0.22±0.20
	M5	36.02±22.06	36.02±22.06b	0.90±0.60	1.40±0.87
ระยอง 72	M1	66.03±11.23	36.02±3.68b	7.94±1.21	0.30±0.12
	M2	63.03±7.35	0.00±0.00c	4.78±1.53	0.30±0.20
	M3	90.05±0.00	0.00±0.00c	5.86±1.04	0.50±0.16
	M4	63.03±7.35	42.02±14.55ab	3.98±1.86	0.00±0.00
	M5	72.04±11.03	72.04±11.03a	1.40±0.75	0.00±0.00
พันธุ์		ns	ns	ns	ns
สูตรอาหาร		ns	**	**	**
พันธุ์ x สูตรอาหาร		ns	*	ns	ns

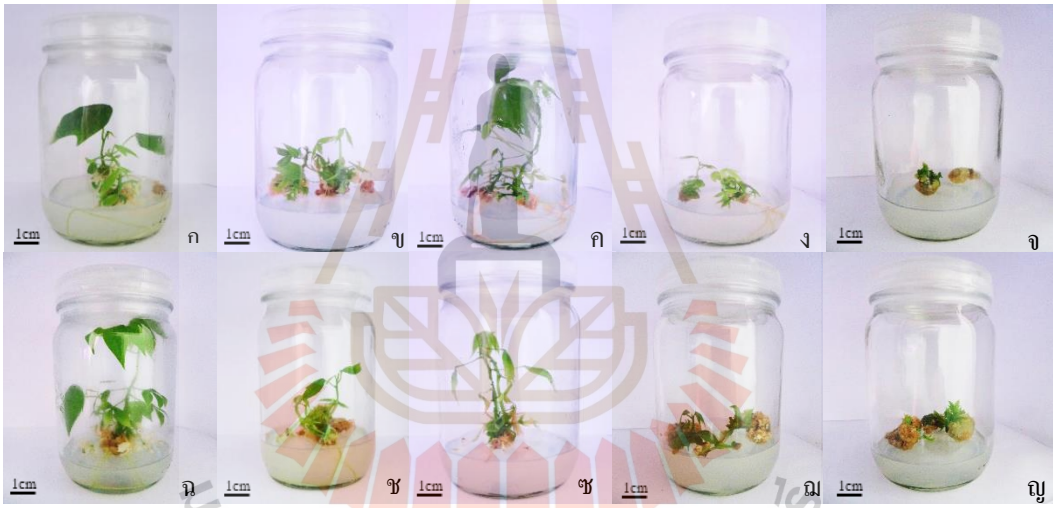
[1/] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[2/] สูตรอาหาร: M1; MS Basal (free growth regulators), M2; MS+1.0BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.), M3; MS+0.1BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.), M4; MS+0.1BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +1.0 TDZ(มก/ล.), M5; MS+1.0BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +8 2,4-D (มก/ล.)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.1 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างสูตรอาหารที่แตกต่างกันกับพันธุ์มันสำปะหลังและที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส



ภาพที่ 4.2 การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 (ก-จ) และพันธุ์ระยอง 72 (ฉ-ญ)

ก. MS Basal (free growth regulators)

ข. MS+1.0BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

ค. MS+0.1BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

ง. MS+0.1BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +1.0 TDZ (มก/ล.)

จ. MS+1.0BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +8 2,4-D (มก/ล.)

ฉ. MS Basal (free growth regulators)

ช. MS+1.0BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

ซ. MS+0.1BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

ฌ. MS+0.1BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +1.0 TDZ (มก/ล.)

ญ. MS+1.0BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +8 2,4-D (มก/ล.)

4.2 การก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลัง ด้วยสารเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulphonate; EMS) และการฉายรังสีแกมมา (gamma ray)

4.2.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังที่ได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

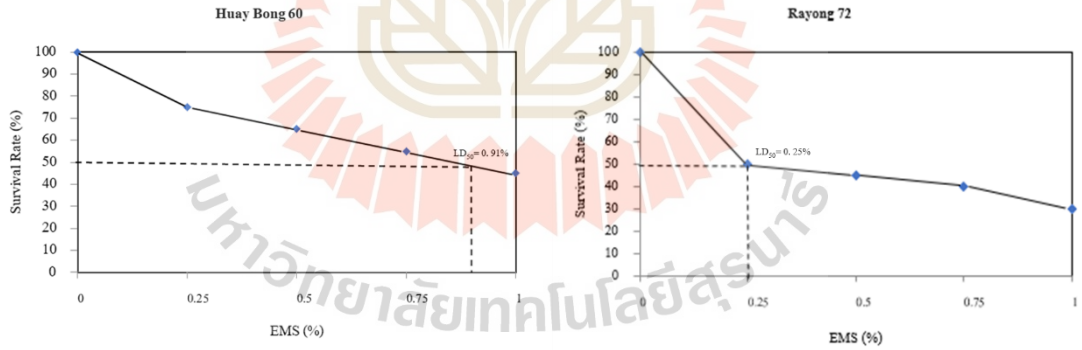
ทำการก่อกลายพันธุ์ชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยสารเคมีก่อกลายพันธุ์โดยใช้สารเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulphonate; EMS) ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% นาน 1 ชั่วโมง โดยใช้ reverse osmosis water (ROW; control) เป็นทรีทเม้นท์ควบคุม จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล. ร่วมกับ Kinetin 1.0 มก/ล.ร่วมกับ NAA 0.05 มก/ล. และน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่แช่ด้วย ROW (Control) มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดสูงสุดเท่ากับ 100.00% และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายตามโดยความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% มีความอยู่รอดเท่ากับ 75.00 65.00 55.00 และ 45.00% ตามลำดับ และพบว่า เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่แช่ด้วย ROW (Control) มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดสูงสุดเท่ากับ 100.00% และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายโดยความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% มีความอยู่รอดเท่ากับ 50.00 45.00 40.00 และ30.00% ตามลำดับ จากการบันทึกเปอร์เซ็นต์การตาย (mortality) ที่ 30 วัน ของข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่แช่ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่ทำให้ข้อมันสำปะหลังตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) พบว่า ในค่า LD_{50} ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่แช่ด้วย EMS คือความเข้มข้น 0.91% และในมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่แช่ด้วย EMS คือความเข้มข้น 0.25% (ภาพที่ 4.3)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังได้รับสารก่อกลายพันธุ์ EMS ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 30 วัน

พันธุ์	ความเข้มข้นของ EMS (%)[1/]	จำนวนพืชที่ใช้ในการทดลอง	จำนวนพืชที่รอดชีวิตทั้งหมด	เปอร์เซ็นความอยู่รอด (%)
ห้วยบง 60	ROW (Control)	20	20	100.00
	0.25	20	15	75.00
	0.50	20	13	65.00
	0.75	20	11	55.00
	1.00	20	9	45.00
ระยอง 72	ROW (Control)	20	20	100.00
	0.25	20	10	50.00
	0.50	20	9	45.00
	0.75	20	8	40.00
	1.00	20	6	30.00

[1/] EMS คือ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต; ROW คือ น้ำปราศจากไอออน (reverse osmosis water)



ภาพที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและค่า LD_{50} ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 หลังได้รับปริมาณสารละลาย EMS ที่ปริมาณ 0 0.25 0.50 0.75 และ 1% ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน

จากผลการทดลองนำชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 แช่ด้วย EMS พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์มีต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 55.80% และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีเปอร์เซ็นต์รอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 68.40% ตามลำดับ ปริมาณความเข้มข้นของ EMS ที่ต่างกันมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยพบว่าความเข้มข้น 0% มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 85.54% รองลงมาคือความเข้มข้น 0.25 0.50 และ 0.75% มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตรวมเท่ากับ 58.53 45.02 และ 31.51% ตามลำดับ และความเข้มข้น 1% ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำที่สุด 22.51% และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับความเข้มข้นของสาร EMS ต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (P>0.05) จากการศึกษาความสูงต้น พบว่าพันธุ์มันสำปะหลัง 2 พันธุ์ มีผลต่อความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ให้ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.47 ซม. และมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ให้ความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 2.08 ซม. ตามลำดับ พบว่าความเข้มข้นสาร EMS ที่ต่างกันมีผลต่อความสูงต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยพบว่า ความเข้มข้นที่ 0.25% มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 4.87 ซม. รองลงมาคือความเข้มข้น 0 0.50 0.75 และ 1% มีความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 4.48 3.77 และ4.65 ซม. ตามลำดับ และความเข้มข้น 1% มีความสูงต้นน้อยที่สุด 1.12 ซม. และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์มันสำปะหลังกับความเข้มสาร EMS ต่อความสูงต้น (P>0.05) โดยพบว่า พันธุ์มันสำปะหลังมีผลต่อจำนวนใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 10.70 ใบ และมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 3.92 ใบ พบว่าความเข้มข้นของสาร EMS มีผลต่อจำนวนใบมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) พบว่าความเข้มข้น 0.25%ให้จำนวนใบมันสำปะหลังเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 9.11 รองลงมาคือความเข้มข้น 0 0.75 และ 0.50%ให้จำนวนใบมันสำปะหลังเฉลี่ยเท่ากับ 8.87 8.31 และ 7.86 ใบ ตามลำดับ และความเข้มข้น 1% ให้จำนวนใบมันสำปะหลังต่ำสุดเฉลี่ยเท่ากับ 2.39 ใบ และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์มันสำปะหลังกับความเข้มข้นสาร EMS ต่อจำนวนใบมันสำปะหลัง (P>0.05) โดยพบว่าพันธุ์มันสำปะหลังมีผลต่อจำนวนรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 3.02 ราก และมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ให้จำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 0.11 ราก พบว่าความเข้มข้นของสาร EMS ไม่มีผลต่อจำนวนราก (P>0.05) และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์มันสำปะหลังกับความเข้มข้นของสาร EMS ต่อจำนวนรากมันสำปะหลัง (P>0.05) (ตารางที่ 4.3; ภาพที่ 4.4-4.5)

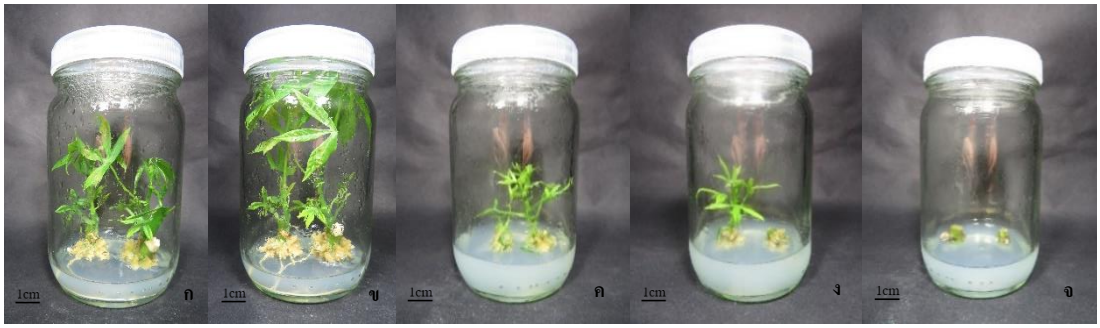
ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ความสูงต้น (ซม.) จำนวนใบ และจำนวนราก ของมัน-สำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังใช้สารก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อายุ 30 วัน

ปัจจัย		การรอดชีวิต	ความสูงต้น	จำนวนใบ	จำนวนราก
พันธุ์	ห้วยบง 60	55.80±7.47	20.40±5.73	2.93±0.71	1.58±0.30
	ระยอง 72	68.40±3.88	30.00±6.53	4.51±0.75	1.20±0.27
ความเข้มข้นของ EMS(%)	ROW (control)	85.54±1.50[a]	4.48±1.44[a]	8.87±2.43[a]	1.78±0.76
	0.25%	58.53±9.61[b]	4.87±1.16[a]	9.11±1.95[a]	1.85±0.88
	0.50%	45.02±9.49[ab]	3.77±0.70[ab]	7.86±1.45[a]	2.10±1.04
	0.75%	31.51±6.87[c]	4.65±1.26[a]	8.31±2.25[a]	1.70±0.58
	1%	22.51±7.50[c]	1.12±0.61[b]	2.39±1.23[b]	0.40±0.30
พันธุ์	ความเข้มข้นของ EMS(%)				
ห้วยบง 60	ROW (control)	81.04±9.00	1.83±1.13	4.34±1.78	0.57±0.57
	0.25%	63.03±11.03	3.40±1.55	5.52±2.49	0.00±0.00
	0.50%	45.02±14.24	2.49±0.80	4.52±1.25	0.00±0.00
	0.75%	27.01±11.03	1.91±0.84	3.93±1.69	0.00±0.00
	1%	18.01±11.03	0.81±0.81	1.29±1.29	0.00±0.00
ระยอง 72	ROW (control)	90.05±0.00	7.14±2.16	13.40±3.66	3.00±1.25
	0.25%	54.03±16.85	6.35±1.61	12.70±2.12	3.70±1.34
	0.50%	45.02±14.24	5.05±0.90	11.20±1.55	4.20±1.63
	0.75%	36.02±9.00	7.40±1.64	12.70±3.22	3.40±0.29
	1%	27.01±11.03	1.44±0.99	3.50±2.14	0.80±0.58
พันธุ์		ns	**	**	**
ความเข้มข้นของ EMS(%)		**	*	*	ns
พันธุ์ x ความเข้มข้นของ EMS(%)		ns	ns	ns	ns

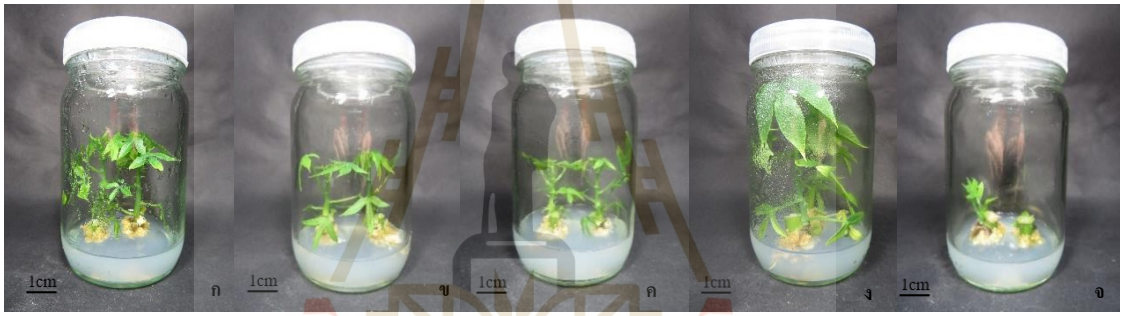
[1/] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[2/] EMS คือ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต; ROW คือ น้ำปราศจากไอออน (reverse osmosis water)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.4 ลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ก; ROW คือน้ำปราศจากไอออน (reverse osmosis water); ข; 0.25%, ค; 0.50% ง; 0.75%, จ; 1% เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ 30 วัน



ภาพที่ 4.5 ลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ก; ROW คือน้ำปราศจากไอออน (reverse osmosis water); ข; 0.25%, ค; 0.50%, ง; 0.75%, จ; 1% เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ 30 วัน

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 แช่ด้วย EMS พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของราก แบ่งออกเป็น รากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ พบว่า ความเข้มข้นสารละลาย EMS มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของลักษณะราก โดยลักษณะรากขนาดกลาง และลักษณะรากขนาดใหญ่ เป็นลักษณะการกลายที่ไม่พบในชุดควบคุม แต่พบว่า ความเข้มข้นสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของมัน-สำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดใหญ่ 90.05 เปอร์เซ็นต์ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.50% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็กและรากขนาดกลาง 35.28 และ 54.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่า ต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย

EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.75% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ 40.91 22.22 และ 40.91% ตามลำดับ โดยพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 1% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก 90.05 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ 64.79 17.56 และ 21.68% ตามลำดับ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.50% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ 56.04 30.02 และ 14.48% ตามลำดับ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.75% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ 52.66 27.33 และ 23.43% ตามลำดับ โดยพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 1% มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ 46.71 39.94 และ 14.04 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4; ภาพที่ 4.6)

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะและขนาดของราก หลังจากได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ในสภาพปลอดเชื้อที่ 4 สัปดาห์

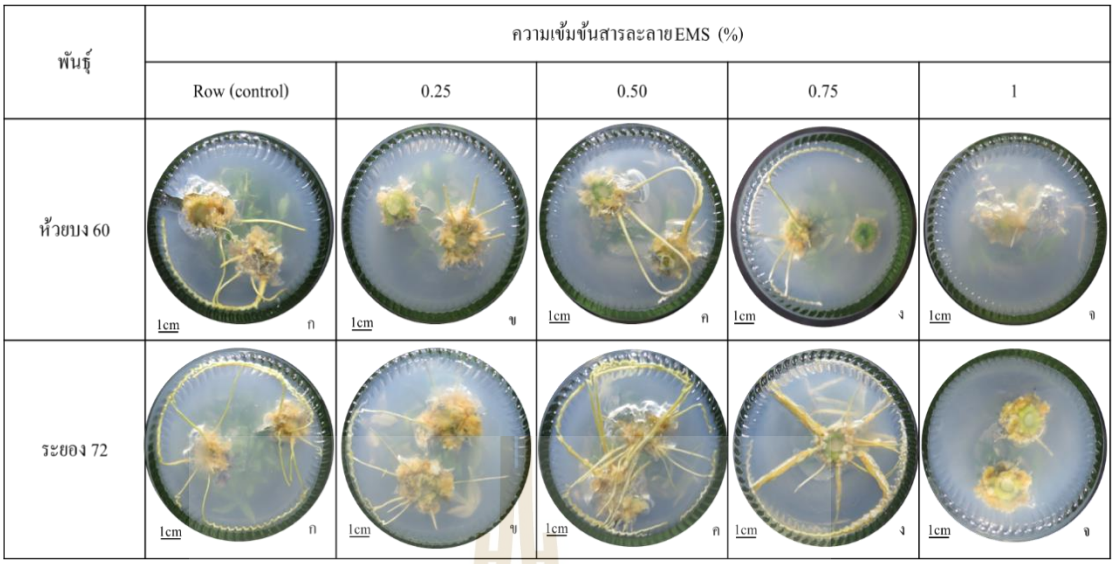
พันธุ์	ความเข้มข้น EMS (%)[2/]	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (%)[1/]		
		ขนาดของราก[3/]		
		เล็ก	กลาง	ใหญ่
ห้วยบง 60	0.00	90.05	0.00	0.00
	0.25	0.00	0.00	90.05
	0.50	35.28	54.76	0.00
	0.75	40.91	22.22	40.91
	1.00	90.05	0.00	0.00
ระยอง 72	0.00	90.05	0.00	0.00
	0.25	64.79	17.56	21.68
	0.50	56.04	30.02	14.48
	0.75	52.66	27.33	23.43
	1.00	46.71	39.94	14.04

[1/] เปอร์เซ็นต์การปลี่ยนแปลง = (จำนวนต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลง/จำนวนตั้งทั้งหมด) x 100

[2/] EMS คือ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต

[3/]รากขนาดเล็ก คือ รากที่มีขนาด 0-0.80 มิลลิเมตร ; รากขนาดกลาง คือ รากที่มีขนาดมากกว่า 0.80 มิลลิเมตร ; รากขนาดใหญ่ คือ รากที่มีขนาดมากกว่า 1.00 มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.6 ลักษณะรากและจำนวนรากของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ที่ 4 สัปดาห์

4.2.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

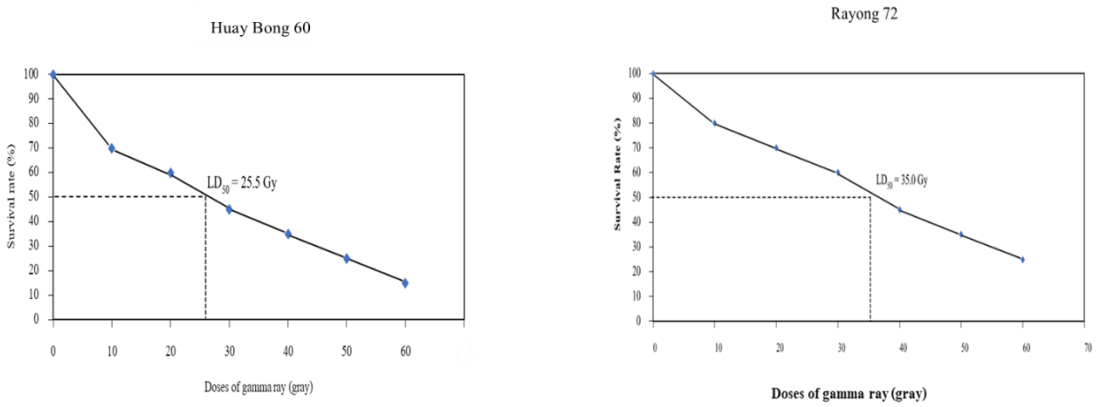
ทำการก่อกลายพันธุ์ที่ส่วนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ปริมาณรังสีแกมมาเท่ากับ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งมีซีเซียม 137 เป็นต้นกำเนิดรังสีแกมมา โดยมีอัตราปริมาณรังสี 240 เกรย์ต่อชั่วโมง จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 0.1 มก/ล. ร่วมกับ Kinetin 1.0 มก/ล. ร่วมกับ NAA 0.05 มก/ล. และน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน จากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดสูงสุดเท่ากับ 100.00% และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีแกมมาเป็น 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ มีความอยู่รอดเท่ากับ 70.00 60.00 45.00 35.00 25.00 และ 15.00% ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดสูงสุดเท่ากับ 100.00% และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดลดลงเมื่อเพิ่มความปริมาณรังสีแกมมามากขึ้นเป็น 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ มีความอยู่รอดเท่ากับ 80.00 70.00 60.00 45.00 35.00 และ 25.00% ตามลำดับ และจากการบันทึกเปอร์เซ็นต์การตาย (mortality) ที่ 30 วัน ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่รับปริมาณรังสีแกมมาแตกต่างกัน เพื่อนำข้อมูลมาสร้างกราฟเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่ทำให้

มันสำปะหลังตาย 50% (LD_{50}) พบว่า ค่า LD_{50} ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 คือระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 24.37 เกรย์ และ ค่า LD_{50} ของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 คือระดับปริมาณรังสีที่ 30 เกรย์ (ภาพที่ 4.7)

ตารางที่ 4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังได้รับรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ ที่ 30 วัน

พันธุ์	ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนพืชที่ใช้ในการทดลอง	จำนวนพืชที่รอดชีวิตทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด (%)
ห้วยบง 60	0 (control)	20	20	100.00
	10	20	14	70.00
	20	20	12	60.00
	30	20	9	45.00
	40	20	7	35.00
	50	20	5	25.00
	60	20	3	15.00
ระยอง 72	0 (control)	20	20	100.00
	10	20	16	80.00
	20	20	14	70.00
	30	20	12	60.00
	40	20	9	45.00
	50	20	7	35.00
	60	20	5	25.00

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและค่า LD_{50} ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 หลังได้ผ่านการฉายรังสีแกมมา ที่ปริมาณ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน

จากผลการทดลองนำชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 มาทดลองฉายรังสีแกมมา พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 42.44% และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีเปอร์เซ็นต์รอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 51.45% ตามลำดับ ปริมาณรังสีแกมมาที่แตกต่างกันมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยพบว่าปริมาณรังสีแกมมา 0 เกรย์ (control) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 90.05 เกรย์ รองลงมาคือปริมาณรังสีแกมมา 10 20 30 40 และ 50 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตรวมเท่ากับ 67.53 58.52 45.02 31.51 และ 22.51% ตามลำดับ และปริมาณรังสีแกมมา 60 เกรย์ ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำที่สุด 1.35% และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับปริมาณรังสีแกมมาต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (P>0.05) จากการศึกษาความสูงต้นพบว่ามันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ มีความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ให้ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 3.89 ซม. และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ให้ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 3.38 ซม. ตามลำดับ โดยปริมาณรังสีแกมมาที่ต่างกันผลต่อความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) พบว่าปริมาณรังสีแกมมา 10 เกรย์ ทำให้มันสำปะหลังมีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 7.24 ซม. รองลงมาคือปริมาณรังสีแกมมา 0 20 30 40 และ 50 เกรย์ มีความสูงต้นเท่ากับ 6.75 5.24 3.72 1.71 และ 0.65 ซม. ตามลำดับ และปริมาณรังสีแกมมา 60 เกรย์ ทำให้ความสูงต้นน้อยที่สุด 0.13 ซม. และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับปริมาณรังสีแกมมาต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (P>0.05) และจากการศึกษาจำนวนใบพบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 5.64 ซม. และมันสำปะหลัง

พันธุ์ระยอง 72 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 4.86 ใบ ปริมาณรังสีแกมมาที่ต่างกันทำให้จำนวนใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยพบว่า ปริมาณรังสีแกมมา 10 เกรย์ มีผลทำให้จำนวนใบมันสำปะหลังเฉลี่ยสูงสุด 10.93 ใบ รองลงมาคือปริมาณรังสีแกมมา 0 20 30 40 และ 50 เกรย์ มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 9.01 8.50 3.83 2.68 และ 1.30 ใบ ตามลำดับ และปริมาณรังสีแกมมา 60 เกรย์ ทำให้มันสำปะหลังมีจำนวนใบต่ำที่สุด 0.50 ใบ และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับปริมาณรังสีแกมมาต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ($P>0.05$) และจากการศึกษาจำนวนรากพบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ให้จำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 2.58 ราก และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 2.75 ราก ตามลำดับ พบว่าปริมาณรังสีแกมมา 10 เกรย์ ทำให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 6.05 ราก รองลงมาคือปริมาณรังสีแกมมา 0 20 30 40 และ 50 เกรย์ ทำให้มันสำปะหลังมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 4.30 4.30 2.00 และ 1.10 ราก ตามลำดับ และมันสำปะหลังที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมา 60 เกรย์ มีให้จำนวนรากต่ำที่สุดเท่ากับ 0.35 ราก และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับปริมาณรังสีแกมมา ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.6; ภาพที่ 4.8-4.9)

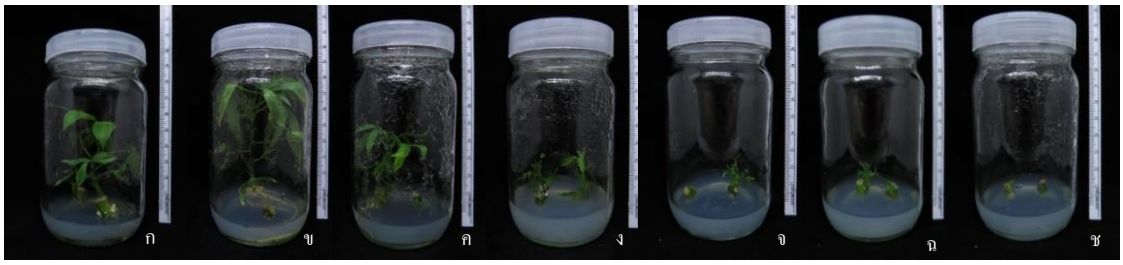
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังก่อกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาในปริมาณที่แตกต่างกันที่ 30 วัน

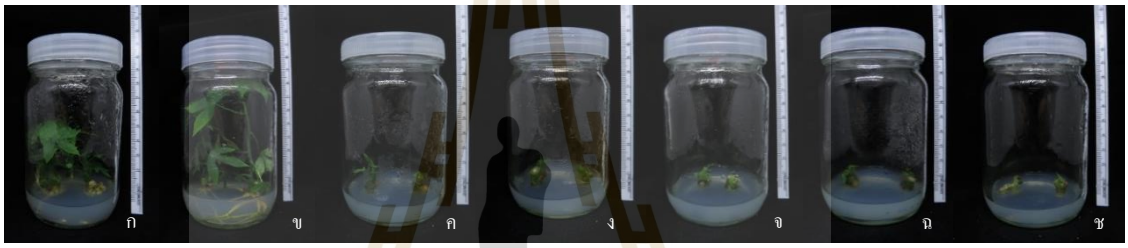
ปัจจัย		การรอดชีวิต (%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	จำนวนราก (ราก)
พันธุ์	ห้วยบง 60	42.44±5.15[1/]	3.89±0.58	5.64±0.87	2.58±0.46
	ระยอง 72	51.45±5.26	3.38±0.52	4.86±0.75	2.75±0.47
ปริมาณรังสี (เกรย์)	0 (control)	90.05±0.00^{a}	6.75±0.67^{ab}	9.01±1.00^{a}	4.30±0.49^{a}
	10	67.53±7.50^{a}	7.24±0.64^{a}	10.93±1.20^{a}	6.05±0.83^{a}
	20	58.52±6.87^{ab}	5.24±0.60^{bc}	8.50±1.28^{a}	4.30±0.88^{a}
	30	45.02±6.71^{cd}	3.72±0.85^{c}	3.83±0.98^{b}	2.00±0.77^{b}
	40	31.51±6.87^{de}	1.71±0.70^{d}	2.68±0.92^{bc}	1.10±0.43^{b}
	50	22.51±7.50^{e}	0.65±0.26^{d}	1.30±0.47^{bc}	0.60±0.22^{b}
	60	1.350±6.87^{e}	0.13±0.06^{d}	0.50±0.26^{bc}	0.35±0.18^{b}
พันธุ์	ปริมาณรังสี (เกรย์)				
ห้วยบง 60	0 (control)	90.05±0.00	7.58±0.84	9.83±1.47	4.20±0.66
	10	63.03±11.03	8.14±0.93	12.75±1.73	6.70±1.04
	20	54.03±9.00	5.51±0.80	8.95±1.72	4.40±1.17
	30	36.02±9.00	3.90±1.00	3.40±0.98	1.20±0.37
	40	27.01±11.03	1.32±0.59	2.80±1.16	1.00±1.00
	50	18.01±11.03	0.70±0.44	1.40±0.87	0.40±0.24
	60	9.00±9.00	0.10±0.10	0.40±0.40	0.20±0.20
ระยอง 72	0 (control)	90.05±0.00	5.94±1.00	8.20±1.43	4.40±0.81
	10	72.04±11.03	6.34±0.79	9.11±1.36	5.40±1.36
	20	63.03±11.03	4.99±0.99	8.07±2.09	4.20±3.27
	30	45.02±9.00	3.54±1.50	4.27±1.81	2.80±1.50
	40	36.02±9.00	2.11±1.35	2.58±1.58	1.20±0.80
	50	27.01±11.03	0.60±0.37	1.20±0.49	0.80±0.37
	60	18.01±11.02	0.16±0.10	0.60±0.40	0.50±0.31
พันธุ์		ns	ns	ns	ns
ปริมาณรังสี (เกรย์)		**	**	**	**
พันธุ์ x ปริมาณรังสี (เกรย์)		ns	ns	ns	ns

[1/] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.8 แสดงลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 หลังได้รับรังสีแกมมา ก; 0 เกรย์ (ควบคุม), ข; 10 เกรย์, ค; 20 เกรย์, ง; 30 เกรย์, จ; 40 เกรย์, ฉ; 50 เกรย์, ช; 60 เกรย์ เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ 30 วัน



ภาพที่ 4.9 แสดงลักษณะต้นอ่อนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 หลังได้รับรังสีแกมมา ก; 0 เกรย์ (ควบคุม), ข; 10 เกรย์, ค; 20 เกรย์,ง; 30 เกรย์, จ; 40 เกรย์, ฉ; 50 เกรย์, ช; 60 เกรย์ เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ 30 วัน

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของราก แบ่งออกเป็น รากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ พบว่า ปริมาณรังสีแกมมามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของลักษณะราก โดยลักษณะรากขนาดกลาง และลักษณะรากขนาดใหญ่ เป็นลักษณะการกลายที่ไม่พบในชุดควบคุม แต่พบว่า ปริมาณรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 10 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก 90.05 เปอร์เซ็นต์ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 20 มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก และรากขนาดใหญ่ 65.94 และ 24.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 30 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก และรากขนาดใหญ่ 65.94 และ 24.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมา

ที่ 40 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ 45.02 24.11 และ 35.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย รังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีที่ 50 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก และรากขนาดกลาง 60.03 และ 28.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 10 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก และรากขนาดใหญ่ 52.27 และ 37.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 20 มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก 90.05 เปอร์เซ็นต์ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 30 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก และรากขนาดใหญ่ 65.94 และ 24.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 40 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก รากขนาดกลาง และรากขนาดใหญ่ 62.46 15.51 และ 22.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณรังสีแกมมาที่ 50 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก และรากขนาดใหญ่ 73.26และ 16.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีที่ 60 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรากให้มีรากขนาดเล็ก 90.05 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.7; ภาพที่ 4.10)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

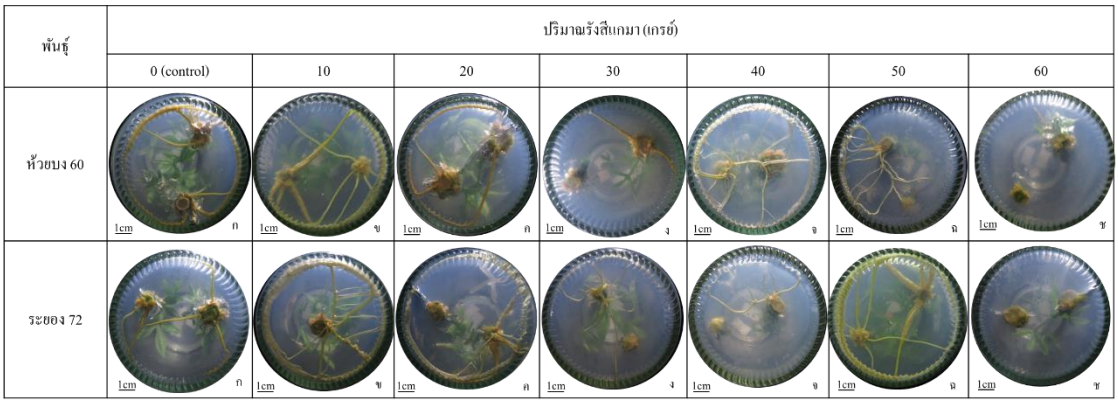
ตารางที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะและขนาดของราก หลังจากได้รับปริมาณรังสีแกมมา ที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ในสภาพปลอดเชื้อที่ 4 สัปดาห์

พันธุ์	ปริมาตรรังสี (เกรย์)	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (%)[1/]		
		ขนาดของราก[2/]		
		เล็ก	กลาง	ใหญ่
ห้วยบง 60	0 เกรย์	90.05	0.00	0.00
	10 เกรย์	90.05	0.00	0.00
	20 เกรย์	65.94	0.00	24.11
	30 เกรย์	66.59	0.00	24.11
	40 เกรย์	45.02	24.11	35.28
	50 เกรย์	60.03	28.14	0.00
ระยอง 72	0 เกรย์	90.05	0.00	0.00
	10 เกรย์	52.27	0.00	37.78
	20 เกรย์	90.05	0.00	0.00
	30 เกรย์	65.94	0.00	24.11
	40 เกรย์	62.46	15.51	22.22
	50 เกรย์	73.26	0.00	16.79
	60 เกรย์	90.05	0.00	0.00

[1/] เปอร์เซ็นต์การปลี่ยนแปลง = (จำนวนต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลง/จำนวนตั้งทั้งหมด) x 100

[2/]รากขนาดเล็ก คือ รากที่มีขนาด 0-0.80 มิลลิเมตร ; รากขนาดกลาง คือ รากที่มีขนาดมากกว่า 0.80 มิลลิเมตร ; รากขนาดใหญ่ คือ รากที่มีขนาดมากกว่า 1.00 มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.10 ลักษณะรากและจำนวนรากที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ ที่ 4 สัปดาห์

4.3 การทดลองที่ 3: ความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์

4.3.1 การคัดเลือกและตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

จากการก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยสารก่อกลายพันธุ์ EMS จากนั้นทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์เมื่ออายุ 3 เดือนหลังย้ายปลูกพบว่า พันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์มีความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 12.82 ซม. และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ให้ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 12.86 ซม. โดยพบว่าระดับความเข้มข้นสาร EMS มีผลต่อความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) EMS ความเข้มข้น 0% ให้ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 14.21 ซม. รองลงมาคือความเข้มข้น 0.25 0.50 และ 1% ทำให้ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 13.90 13.51 และ 11.42 ซม. ตามลำดับ และปริมาณความเข้มข้น 0.75% ทำให้ความสูงต้นน้อยสุดเท่ากับ 11.16 ซม. และพบว่าความแตกต่างของพันธุ์มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับความเข้มข้นสารละลาย EMS ต่อความสูงต้น ($P<0.01$) (รูปภาพที่ 4.9) จากการศึกษาจำนวนใบพบว่ามันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ มีจำนวนใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 6.32 ใบ และสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 5.28 ใบ ตามลำดับ จากการศึกษาความเข้มข้นสาร EMS ที่ต่างกันมีผลต่อจำนวนใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยความเข้มข้นของ EMS 0% ทำให้มันสำปะหลังมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5.85 ใบ รองลงมาคือความเข้มข้น 0.50 0.25 และ 0.75% ทำให้จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 5.65 5.55 และ 4.69 ใบ ตามลำดับ และปริมาณ

ความเข้มข้น 1% ให้จำนวนใบต่ำสุด 3.80 ใบ และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับความเข้มข้นสารละลาย EMS ต่อจำนวนใบ (P>0.05)

พันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์มีเส้นผ่าศูนย์กลางต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 0.55 ซม. และมัน-สำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 0.60 ซม. ตามลำดับ และระดับความเข้มข้นสาร EMS ที่ต่างกันมีผลทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยความเข้มข้น 0 และ 1% ทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางต้นมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.63 ซม. รองลงมาคือความเข้มข้น 0.25 และ 0.50% ทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางต้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.60 ซม. ตามลำดับ และปริมาณความเข้มข้นของEMS ที่ 0.75% ทำให้เส้นผ่าศูนย์กลางต้นต่ำสุด 0.39 ซม.และพบว่าความแตกต่างของพันธุ์มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับความเข้มข้นสารละลาย EMS ต่อเส้นผ่าศูนย์กลางต้น (P<0.01) (รูปภาพที่ 4.10) จากการศึกษายัง พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์แตกต่างกัน (P<0.01) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยเท่ากับ 2.57 มก/ซม^2 และพันธุ์ระยอง 72 ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยเท่ากับ 3.00 มก/ซม^{2}ตามลำดับ และพบว่าระดับความเข้มข้นสาร EMS ที่แตกต่างกันทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยพบว่าความเข้มข้น 0% ทำให้มันสำปะหลังมีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยสูงสุด 3.03 มก/ซม^2 รองลงมาคือความเข้มข้น 1 0.25 และ 0.50% มีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยเท่ากับ 2.78 2.76 และ 2.67 มก/ซม^{2}ตามลำดับ และปริมาณความเข้มข้น 0.75% ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำสุด 2.58 มก/ซม^2 พบว่าความแตกต่างของพันธุ์มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับความเข้มข้นสารละลาย EMS ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ (P<0.01) (รูปภาพที่ 4.11-4.13) (ตารางที่ 4.9)

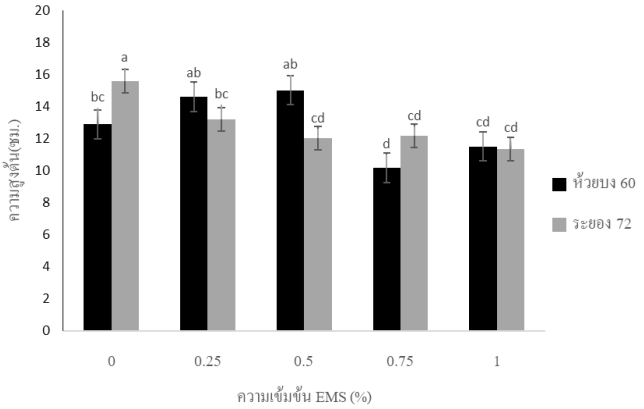
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1% ต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control) ในมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 อายุ 3 เดือน

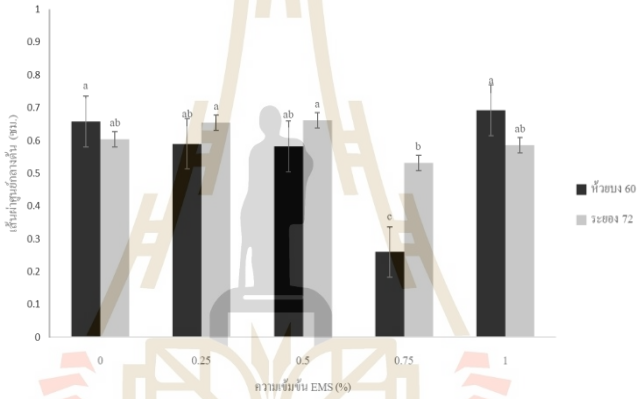
ปัจจัย		ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มก/ซม^2)
พันธุ์	ห้วยบง 60	12.82±0.50	6.32±0.17^{a}	0.55±0.03^{b}	2.57±0.06^{b}
	ระยอง 72	12.86±0.39	5.28±0.17^{b}	0.60±0.01^{a}	3.00±0.07^{a}
ความเข้มข้นของ EMS(%)	ROW (control)	14.21±0.73^{a}	5.85±0.19^{a}	0.63±0.01^{a}	3.03±0.17^{a}
	0.25%	13.90±0.52^{a}	5.55±0.39^{a}	0.62±0.04^{a}	2.76±0.09^{bc}
	0.50%	13.51±0.76^{a}	5.65±0.36^{a}	0.62±0.02^{a}	2.67±0.63^{bc}
	0.75%	11.16±0.59^{b}	4.69±0.29^{b}	0.39±0.04^{b}	2.58±0.15^{c}
	1%	11.42±0.24^{b}	3.80±0.23^{c}	0.63±0.01^{a}	2.78±0.05^{ab}
พันธุ์	ความเข้มข้นของ EMS(%)				
ห้วยบง 60	ROW (control)	12.87±0.98^{bc}	6.10±0.33	0.66±0.02^{a}	2.68±0.21^{bc}
	0.25%	14.60±0.92^{ab}	6.10±0.46	0.59±0.08^{ab}	2.55±0.09^{c}
	0.50%	15.01±1.08^{ab}	6.10±0.37	0.58±0.03^{ab}	2.75±0.12^{bc}
	0.75%	10.15±0.62^{d}	5.14±0.40	0.26±0.02^{c}	2.16±0.11^{d}
	1%	11.50±0.35^{cd}	3.90±0.40	0.69±0.00^{a}	2.73±0.01^{bc}
ระยอง 72	ROW (control)	15.56±0.76^{a}	5.60±0.19	0.60±0.02^{ab}	3.40±0.18^{a}
	0.25%	13.20±0.37^{bc}	5.00±0.57	0.66±0.05^{a}	2.98±0.09^{b}
	0.50%	12.02±0.58^{cd}	5.20±0.60	0.66±0.04^{a}	2.58±0.04^{c}
	0.75%	12.18±0.83^{cd}	4.24±0.34	0.06±0.03^{b}	3.01±0.10^{b}
	1%	11.35±0.36^{cd}	3.70±0.30	0.58±0.01^{ab}	3.02±0.08^{b}
พันธุ์		ns	**	*	**
ความเข้มข้นของ EMS(%)		**	**	**	*
พันธุ์ x ความเข้มข้นของ EMS(%)		*	ns	**	**

[1/] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

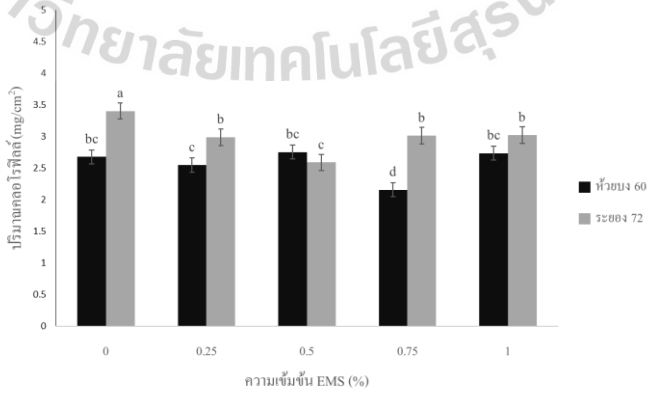
[2/] EMS คือ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต; ROW คือ น้ำปราศจากไอออน (reverse osmosis water)



ภาพที่ 4.11 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างความเข้มข้น EMS ที่แตกต่างกันกับมันสำปะหลังที่แตกต่างกันต่อความสูงต้น



ภาพที่ 4.12 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างความเข้มข้น EMS ที่แตกต่างกันกับมันสำปะหลังที่แตกต่างกันต่อเส้นผ่าศูนย์กลางต้น



ภาพที่ 4.13 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างความเข้มข้น EMS ที่แตกต่างกันกับมันสำปะหลังที่แตกต่างกันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์

ตารางที่ 4.9 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control) เมื่อ อายุ 3 เดือน

การก่อกลายพันธุ์	ต้นอายุ 3 เดือน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา [1/]
ROW (control)		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบตามแนวนอน
0.25%		ลำต้นสูง พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
0.50%		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
0.75%		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบตามแนวนอน
1%		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น

[1/] ลำต้นเตี้ย คือลำต้นที่มีความสูง 0-10 เซนติเมตร; ลำต้นสูง (ลักษณะปกติ) คือลำต้นที่มีความสูงมากกว่า 10 เซนติเมตร; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 3 เดือน พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ทั้ง 5 ระดับความเข้มข้นบางต้นมีลักษณะแตกต่างไปจากต้นที่ไม่ ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์หลายลักษณะ เช่น ลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ (ภาคผนวกที่ 3 และ 4) ส่วนต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ไม่พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทุกต้น ในทางตรงกันข้ามต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1% มีเปอร์เซ็นต์การกลายในลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบแตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ที่ความเข้มข้นแตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ นอกจากนี้ พบว่าค่าเฉลี่ยลักษณะสียอดของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ความเข้มข้น 0.50 0.75 และ 1% แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ซึ่งพบว่าค่าเฉลี่ยลักษณะแผ่นใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ และยังพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ความเข้มข้น 0.25% แตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ และพบว่าความเข้มข้น 0.50 0.75 และ 1% พบว่าลักษณะแฉกใบไม่แตกต่างกับต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.10-4.11)

ตารางที่ 4.10 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบ หลังจากได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 3 เดือน

ความเข้มข้นของ EMS(%)[2/]	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (%)[1/]										
	ลักษณะสียอด[3/]			ลักษณะแผ่นใบ			จำนวนแฉกใบ				
	สีเขียว	สีม่วง	สีม่วงอมเขียว	ใบหอก	ใบไวโอลีน	ใบรูปรี	3 แฉก	4 แฉก	5 แฉก	6 แฉก	7 แฉก
ROW (0 control)	0.00	0.00	90.05	90.05	0.00	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00
0.25	0.00	0.00	90.05	24.11	45.02	35.28	24.10	0.00	65.93	0.00	0.00
0.50	24.11	45.02	35.28	45.02	35.28	24.11	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00
0.75	0.00	90.05	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00
1.00	0.00	90.05	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00

[1/] เปอร์เซ็นต์การปลี่ยนแปลง = (จำนวนต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลง/จำนวนตั้งทั้งหมด) x 100

[2/] EMS คือ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต

[3/] ลักษณะสียอด คือ สีของยอดอ่อนสามารถดูได้จากปลายกิ่ง โดยตรวจสอบลักษณะสีของใบยอดที่ยังไม่คลี่; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

ตารางที่ 4.11 ลักษณะสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control) เมื่อ อายุ 3 เดือน

การก่อกลายพันธุ์	ต้นอายุ 3 เดือน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา [1/]
ROW (control)		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบตามแนวนอน
0.25%		ลำต้นสูง พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
0.50%		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
0.75%		ลำต้นสูง พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบตามเอียงขึ้น
1%		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น

[1/] ลำต้นเตี้ย คือลำต้นที่มีความสูง 0-10 เซนติเมตร; ลำต้นสูง (ลักษณะปกติ) คือลำต้นที่มีความสูงมากกว่า 10 เซนติเมตร; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 3 เดือน พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ทั้ง 5 ระดับความเข้มข้นบางต้นมีลักษณะแตกต่างไปจากต้นที่ไม่ ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์หลายลักษณะ เช่น ลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ (ภาคผนวกที่ 3 และ 5) ส่วนต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ไม่พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทุกต้น ในทางตรงกันข้ามต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1 % มีเปอร์เซ็นต์การกลายในลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบแตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ที่ความเข้มข้นแตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ นอกจากนี้ พบว่าค่าเฉลี่ยลักษณะสียอดของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ1% แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ซึ่งพบว่าค่าเฉลี่ยลักษณะแผ่นใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% ไม่มีความแตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ และยังพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% แตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบ หลังจากได้รับสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในM_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 3 เดือน

ความเข้มข้นของ EMS(%)[2/]	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (%)[1/]										
	ลักษณะสียอด[3/]			ลักษณะแผ่นใบ			จำนวนแฉกใบ				
	สีเขียว	สีม่วง	สีม่วงอมเขียว	ใบหอก	ใบไวโอลิน	ใบรูปรี	3 แฉก	4 แฉก	5 แฉก	6 แฉก	7 แฉก
ROW (0 control)	0.00	90.05	0.00	90.05	0.00	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00
0.25	10.35	21.06	68.98	90.05	0.00	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	10.35
0.50	0.00	24.66	65.39	90.05	0.00	0.00	12.04	0.00	78.00	0.00	0.00
0.75	9.74	22.22	65.57	90.05	0.00	0.00	9.74	9.74	76.21	0.00	0.00
1.00	0.00	25.01	65.04	90.05	0.00	0.00	10.90	0.00	60.03	27.59	0.00

[1/] เปอร์เซ็นต์การปลี่ยนแปลง = (จำนวนต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลง/จำนวนตั้งทั้งหมด) x 100

[2/] EMS คือ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต

[3/] ลักษณะสียอด คือ สีของยอดอ่อนสามารถดูได้จากปลายกิ่ง โดยตรวจสอบลักษณะสีของใบยอดที่ยังไม่คลี่; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

จากการก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 โดยใช้รังสีแกมมา ได้ทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลัง เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์มีความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.01$) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.44 ซม. และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 7.78 ซม. จากการทดลองพบว่า ปริมาณรังสีแกมมาที่มีผลต่อความสูงต้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยปริมาณรังสีแกมมา 0 เกรย์ ทำให้ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 12.22 ซม. รองลงมาคือปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 เกรย์ ซึ่งให้ความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 8.29 8.07 6.38 5.49 และ 5.06 ซม. ตามลำดับ ส่วนต้นมันสำปะหลังที่ก่อกลายพันธุ์ที่ได้รับจากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 60 เกรย์ ตายทั้งหมดเมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน มันสำปะหลังทั้ง 2พันธุ์มีจำนวนใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 4.02 ซม. และพันธุ์ระยอง 72 มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 5.88 ซม. และพบว่า ปริมาณรังสีแกมมาที่ต่างกันมีผลต่อจำนวนใบแตกต่างกัน ($P<0.01$) โดยปริมาณรังสีแกมมา 0 เกรย์ ทำให้มันสำปะหลังมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดท่ากับ 9.20 ใบ รองลงมาคือปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 เกรย์ ทำให้จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 4.10 8.10 5.60 3.30 และ 4.40 ใบ ตามลำดับ ส่วนมันสำปะหลังที่ได้รับจากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 60 เกรย์นั้นตายทั้งหมด เมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน พันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางต้นต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.01$) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีเส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.20 ซม. และพันธุ์ระยอง 72 มีเส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.35 ซม. ตามลำดับ ปริมาณรังสีแกมมาที่ต่างกันยังมีผลต่อเส้นผ่าศูนย์กลางต้น ($P<0.01$) ปริมาณรังสีแกมมา 0 เกรย์ มีเส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ยสูงสุด 0.49 ซม. รองลงมาคือปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 เกรย์ มีเส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 0.26 0.42 0.25 และ 0.23 ซม. ตามลำดับ ส่วนต้นมันสำปะหลังที่ได้รับจากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 60 เกรย์นั้นตายทั้งหมด เมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน จากการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ mg/cm^2 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.01$) โดยมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 มีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยเท่ากับ 1.19 mg/cm^2 และมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยเท่ากับ 1.88 mg/cm^2 ตามลำดับ และปริมาณรังสีแกมมาที่ต่างกันมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยมันสำปะหลังที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมา 0 เกรย์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.68 mg/cm^2 รองลงมาคือปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 เกรย์ ให้เส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ยเท่ากับ 197 1.85 1.67 1.60 และ 1.00 mg/cm^2 ตามลำดับ ส่วนต้นสำปะหลังที่ได้รับจากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 60 เกรย์นั้น ตายทั้งหมดเมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน ($P>0.05$)(ตารางที่ 4.13-4.14)

ตารางที่ 4.13 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลัง 2 พันธุ์ ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาปริมาณ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ เมื่ออายุ 3 เดือน

ปัจจัย		ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)
พันธุ์	ห้วยบง 60	42.44±5.15[1/]	3.89±0.58	5.64±0.87	2.58±0.46
	ระยอง 72	51.45±5.26	3.38±0.52	4.86±0.75	2.75±0.47
ปริมาณรังสี (เกรย์)	0 (control)	5.44±0.99[b]	4.02±0.82	0.20±0.03[b]	1.19±0.24[b]
	10	7.78±0.89[a]	5.88±0.87	0.35±0.04[a]	1.88±0.23[a]
	20	12.22±0.53[1/a]	9.20±1.29[a]	0.49±0.04[a]	2.68±0.27[a]
	30	8.29±1.87[ab]	4.10±1.07[bcd]	0.26±0.06[b]	1.97±0.46[ab]
	40	8.07±1.54[ab]	8.10±2.01[ab]	0.42±0.08[ab]	1.85±0.44[ab]
	50	6.38±1.79[b]	5.60±1.92[abc]	0.25±0.0[8b]	1.67±0.51[ab]
	60	5.49±1.86[b]	3.30±1.14[bc]	0.25±0.93[b]	1.60±0.53[ab]
พันธุ์	ปริมาณรังสี (เกรย์)				
ห้วยบง 60	0 (control)	90.05±0.00	7.58±0.84	9.83±1.47	4.20±0.66
	10	63.03±11.03	8.14±0.93	12.75±1.73	6.70±1.04
	20	54.03±9.00	5.51±0.80	8.95±1.72	4.40±1.17
	30	36.02±9.00	3.90±1.00	3.40±0.98	1.20±0.37
	40	27.01±11.03	1.32±0.59	2.80±1.16	1.00±1.00
	50	18.01±11.03	0.70±0.44	1.40±0.87	0.40±0.24
	60	9.00±9.00	0.10±0.10	0.40±0.40	0.20±0.20
ระยอง 72	0 (control)	90.05±0.00	5.94±1.00	8.20±1.43	4.40±0.81
	10	72.04±11.03	6.34±0.79	9.11±1.36	5.40±1.36
	20	63.03±11.03	4.99±0.99	8.07±2.09	4.20±1.46
	30	54.03±9.00	3.54±1.50	4.27±1.81	2.0±1.50
	40	36.02±9.00	2.11±1.35	2.58±1.58	1.20±0.80
	50	27.01±11.03	0.60±0.37	1.20±0.49	0.80±0.37
	60	18.01±11.03	0.16±0.10	0.60±0.40	0.50±0.32
พันธุ์		*	ns	*	*
ปริมาณรังสี (เกรย์)		**	**	**	**
พันธุ์ x ปริมาณรังสี (เกรย์)		ns	ns	ns	ns

[1/] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (0 เกรย์ ; control) เมื่อ อายุ 3 เดือน

การก่อกลายพันธุ์	ต้นอายุ 3 เดือน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา [1/]
0 (control)		ลำต้นสูง พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียว การเรียงตัวของใบตามแนวนอน
10 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
20 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
30 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น

[1/] ลำต้นเตี้ย คือลำต้นที่มีความสูง 0-10 เซนติเมตร; ลำต้นสูง (ลักษณะปกติ) คือลำต้นที่มีความสูงมากกว่า 10 เซนติเมตร; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.14 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (0 เกรย์ ; control) เมื่อ อายุ 3 เดือน (ต่อ)

การก่อกลายพันธุ์	ต้นอายุ 3 เดือน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา [1/]
40 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบ ใบเรียงลง
50 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียว การเรียงตัวของใบตามแนวนอน
60 เกรย์		ลำต้นไม่มีการเจริญเติบโต ลำต้นสีน้ำตาล

[1/] ลำต้นเตี้ย คือลำต้นที่มีความสูง 0-10 เซนติเมตร; ลำต้นสูง (ลักษณะปกติ) คือลำต้นที่มีความสูงมากกว่า 10 เซนติเมตร; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 3 เดือน พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาทั้ง 7 ระดับความเข้มข้นบางต้นมีลักษณะแตกต่างไปจากต้นที่ไม่ ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์หลายลักษณะ เช่น ลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ(ภาคผนวกที่ 7 และ 8) ส่วนต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ไม่พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทุกต้น ในทางตรงกันข้ามต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การกลายในลักษณะลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสีแตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ นอกจากนี้พบว่า ค่าเฉลี่ยลักษณะสียอดของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 30 40 และ 50 เกรย์ (60 เกรย์ ตายทั้งหมดเมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน) แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ซึ่งพบว่าค่าเฉลี่ยลักษณะแผ่นใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับ 40 และ 50 เกรย์ (60 เกรย์ ตายทั้งหมดเมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน) แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์และยังพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 เกรย์ (60 เกรย์ ตายทั้งหมดเมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน)ไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.15-4.16)

ตารางที่ 4.15 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบ หลังจากได้รับรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสีที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่อายุ 3 เดือน

ระดับปริมาณรังสี (เกรย์)	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (%)[1/]										
	ลักษณะสียอด[2/]			ลักษณะแผ่นใบ			จำนวนแฉกใบ				
	สีเขียว	สีม่วง	สีม่วงอมเขียว	ใบหอก	ใบไวโอลีน	ใบรูปรี	3 แฉก	4 แฉก	5 แฉก	6 แฉก	7 แฉก
(0 control)	0.00	0.00	90.05	90.05	0.00	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00
10	0.00	0.00	90.05	90.05	0.00	0.00	38.35	0.00	51.70	0.00	0.00
20	0.00	0.00	90.05	90.05	0.00	0.00	40.91	0.00	49.13	0.00	0.00
30	35.28	0.00	54.76	90.05	0.00	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00
40	0.00	0.00	90.05	45.02	45.02	0.00	30.02	0.00	60.03	0.00	0.00
50	0.00	0.00	90.05	45.02	45.02	0.00	45.02	0.00	54.76	0.00	0.00

[1/] เปอร์เซ็นต์การปลี่ยนแปลง = (จำนวนต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลง/จำนวนตั้งทั้งหมด) x 100

[2/] ลักษณะสียอด คือ สีของยอดอ่อนสามารถดูได้จากปลายกิ่ง โดยตรวจสอบลักษณะสีของใบยอดที่ยังไม่คลี่; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมต

ตารางที่ 4.16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (0 เกรย์ ; control) เมื่อ อายุ 3 เดือน

การก่อกลายพันธุ์	ต้นอายุ 3 เดือน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา [1/]
0 (control 1)		ลำต้นสูง พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
10 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
20 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเหลือ การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น
30 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบเอียงขึ้น

[1/] ลำต้นเตี้ย คือลำต้นที่มีความสูง 0-10 เซนติเมตร; ลำต้นสูง (ลักษณะปกติ) คือลำต้นที่มีความสูงมากกว่า 10 เซนติเมตร; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

ตารางที่ 4.16 ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (0 เกรย์ ; control) เมื่อ อายุ 3 เดือน (ต่อ)

การก่อกลายพันธุ์	ต้นอายุ 3 เดือน	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา [1/]
40 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบตามแนวนอน
50 เกรย์		ลำต้นสูง ไม่พบการแตกหน่อ รูปใบหอกมี 3 แฉก ใบสีเขียวเข้ม การเรียงตัวของใบตามแนวนอน
60 เกรย์		ลำต้นไม่มีการเจริญเติบโต ลำต้นสีน้ำตาล

[1/] ลำต้นเตี้ย คือลำต้นที่มีความสูง 0-10 เซนติเมตร; ลำต้นสูง (ลักษณะปกติ) คือลำต้นที่มีความสูงมากกว่า 10 เซนติเมตร; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 3 เดือน พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาทั้ง 7 ระดับความเข้มข้นบางต้นมีลักษณะแตกต่างไปจากต้นที่ไม่ ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์หลายลักษณะ เช่น ลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ (ภาคผนวกที่ 7 และ 9) ส่วนต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ไม่พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทุกต้น ในทางตรงกันข้ามต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การกลายในลักษณะลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสีแตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ นอกจากนี้พบว่า ค่าเฉลี่ยลักษณะสียอดของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 10 50 และ 60 เกรย์ แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ซึ่งพบว่าค่าเฉลี่ยลักษณะแผ่นใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับ 10 20 40 และ 50 เกรย์ แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์และยังพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนแฉกใบของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ มีความแตกต่างจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.17)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.17 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงลักษณะของสียอด รูปทรงใบ และลักษณะจำนวนแฉกใบ หลังจากได้รับรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสีที่แตกต่างกัน ในรุ่น M_1V_1ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่อายุ 3 เดือน

ระดับปริมาณรังสี (เกรย์)	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (%)[1/]										
	ลักษณะสียอด[2/]			ลักษณะแผ่นใบ			จำนวนแฉกใบ				
	สีเขียว	สีม่วง	สีม่วงอมเขียว	ใบหอก	ใบไวโอลีน	ใบรูปรี	3 แฉก	4 แฉก	5 แฉก	6 แฉก	7 แฉก
(0 control)	0.00	0.00	90.05	90.05	0.00	0.00	0.00	0.00	90.05	0.00	0.00
10	17.56	25.25	58.55	72.49	0.00	17.56	37.11	0.00	52.94	0.00	0.00
20	0.00	0.00	90.05	57.72	0.00	32.33	31.50	0.00	49.13	0.00	0.00
30	0.00	0.00	90.05	90.05	0.00	0.00	32.33	0.00	57.72	0.00	0.00
40	0.00	0.00	90.05	57.72	0.00	22.22	32.33	0.00	57.72	0.00	0.00
50	0.00	40.91	49.13	57.72	32.33	0.00	32.33	0.00	57.72	0.00	0.00
60	0.00	30.02	60.03	90.05	0.00	0.00	30.02	0.00	60.03	0.00	0.00

[1/] เปอร์เซ็นต์การปลี่ยนแปลง = (จำนวนต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลง/จำนวนตั้งทั้งหมด) x 100

[2/] ลักษณะสียอด คือ สีของยอดอ่อนสามารถดูได้จากปลายกิ่ง โดยตรวจสอบลักษณะสีของใบยอดที่ยังไม่คลี่; ใบ คือ มีรูปร่างและจำนวนแฉกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยปกติ 3-9 แฉก ยาวประมาณ 4-20 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-6 เซนติเมตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3.2 การคัดเลือกและตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers)

นำต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS มาทำการตรวจสอบพันธุกรรมเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมาย ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 12 ไพรเมอร์ จากการวิเคราะห์เครื่องหมาย ISSR ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและคงที่ ของต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น (C1) และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 15 ต้น (M1-M15) พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 292 แถบ ซึ่งเป็นแถบที่มีความหลากหลายจำนวน 97 แถบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 33.21% โดยจำนวนแถบดีเอ็นเอที่พบมี 17-29 แถบต่อไพรเมอร์ ซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละไพรเมอร์ โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยของแถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์เท่ากับ 24 แถบ ในจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดพบว่าดีเอ็นเอที่แตกต่างกันตั้งแต่ 5-10 แถบต่อไพรเมอร์ คิดเป็นค่าเฉลี่ย 8 แถบ เครื่องหมาย ISSR 32 มีเปอร์เซ็นต์ความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอสูงสุดคือ 45.5% รองลงมาคือ ISSR34 (45.0%) และ ISSR 841 และ ISSR 856 (41.7%) ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลที่เหมาะสมในการแยกความหลากหลายมากที่สุดคือ ISSR34 (ค่า PIC = 0.464) รองลงมาคือ ISSR32 (ค่า PIC = 0.423) (ตารางที่ 4.18)

นำข้อมูลมาสร้าง dendrogram โดยวิธี UPGMA ทำให้สามารถแยกกลุ่มความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ซึ่งจาก dendrogram สามารถจัดกลุ่มต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 15 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (cluster) I และ II กลุ่มใหญ่ ที่ 2 (cluster II) สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย (subcluster) ได้ 4 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มย่อย IIA ประกอบด้วยต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่จำนวน 4 ต้น คือ M1 - M4 และกลุ่มย่อย IIB มีจำนวน 8 ต้น คือ M5 M7 M8 M11 -M14 และ M15 กลุ่มย่อย IIC มีจำนวน 2 ต้น คือ M9 และ M10 และกลุ่มย่อม IID จำนวน 1 ต้น คือ M6 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม II (ภาพที่ 4.15)

การวิเคราะห์ PCoA จากไพรเมอร์ ISSR แสดงผลเป็นภาพสามมิติ พบว่าสามารถจัดกลุ่มมันสำปะหลังที่ ออกเป็นกลุ่มได้ไม่ค่อยชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกับการวิเคราะห์กลุ่มโดยUPGMA cluster analysis แต่สามารถแยกต้น M8 และ M11-M15 ออกมาจากกลุ่มทั้งหมดได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.17) แกนทั้งสามของ PCoA อธิบายความแปรปรวน 17.10 12.75 และ 10.01% ของความแปรปรวนทั้งหมด ตามลำดับ โดยมีผลรวมเท่ากับ 39.84%

เมื่อพิจารณาความเหมือนกันทางพันธุกรรมในรูปของแมททริกซ์พบว่า Jaccard's genetic similarity coefficient ระหว่างคู่สายพันธุ์มีค่าตั้งแต่ 0.390 (M6 และ M11-M15) จนไปถึง 0.954 และพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์มากที่สุด คือต้น M10 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม 0.691 รองลงมาคือ M11 (0.707)

M9 (0.716) และ M15 (0.725) พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.19)

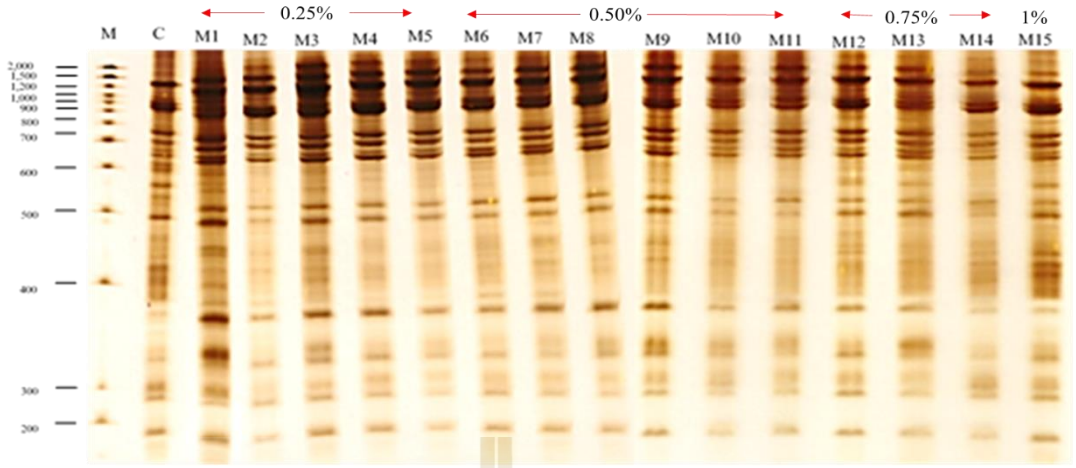
เมื่อนำผลของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมมาสร้างเป็นเดนโดแกรมโดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS (ภาพที่ 4.16) โดยพิจารณาที่ค่า similarity coefficience 0.55 พบแนวโน้นว่า สามารถเป็นกลุ่มต้นที่ศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (cluster) I และ II กลุ่มใหญ่ ที่ 1 (cluster I) สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย (subcluster) ได้ 3 กลุ่มย่อยคือ กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ และกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ซึ่งรวมทั้งต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยสารละลาย EMS และต้นที่ไม่ได้สารละลาย EMS และสำหรับในกลุ่มที่มีการกลายนั้นสามารถวิเคราะห์ความเชื่อมโยงของการเกิดโพลีมอรฟิซึมที่คล้ายคลึงกันในกลุ่มที่มีหายรูปแบบใกล้เคียงกัน แม้ว่าจะมีที่มาจากปริมาณความเข้มข้นสารละลาย EMS ที่แตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

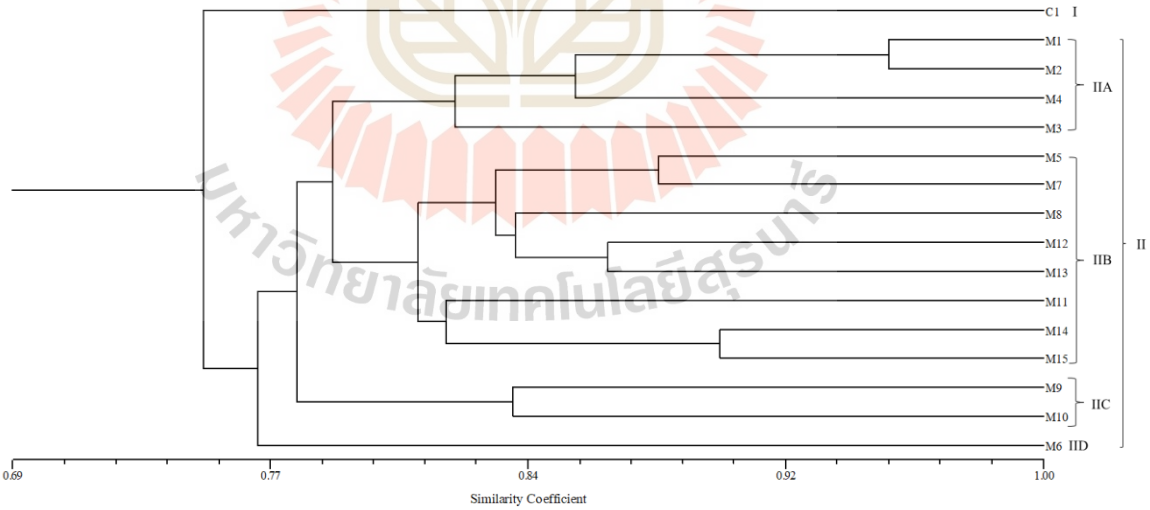
ตารางที่ 4.18 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism) ขนาดแถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M11) 0.75% (M12-M13) และ 1% (M14) จำนวน 14 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น

ไพรเมอร์	ลำดับเบสของไพรเมอร์	อุณหภูมิ annealing	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย	Polymorphism (%)	ค่า PIC
ISSR32	CY(CAC_5)	57.4	22	10	45.5	0.423
ISSR34	(CAG_5)RC	57.4	20	9	45.0	0.464
ISSR811	$(GA)_8$C	57.4	25	7	28.0	0.300
ISSR836	$(AG)_8$YA	57.4	27	5	18.5	0.249
ISSR841	$(CA)_8$G	57.4	24	10	41.7	0.379
ISSR818	$(CA)_8$G	57.4	17	6	35.3	0.401
ISSR825	$(AC)_8$T	57.4	26	8	30.8	0.409
ISSR856	$(AC)_8$YA	57.4	24	10	41.7	0.354
ISSR808	$(Ag)_8$C	57.4	28	8	28.6	0.267
ISSR834	$(AG)_8$YT	57.4	28	10	35.7	0.294
ISSR846	$(GA)_8$A	57.4	29	8	27.6	0.378
ISSR855	$(AC)_8$YT	57.4	22	6	27.3	0.336
12 ไพร์เมอร์ ที่ให้แถบ		รวม	292	97		
ชัดเจนและคงที่		ค่าเฉลี่ย	24	8	33.8	0.355

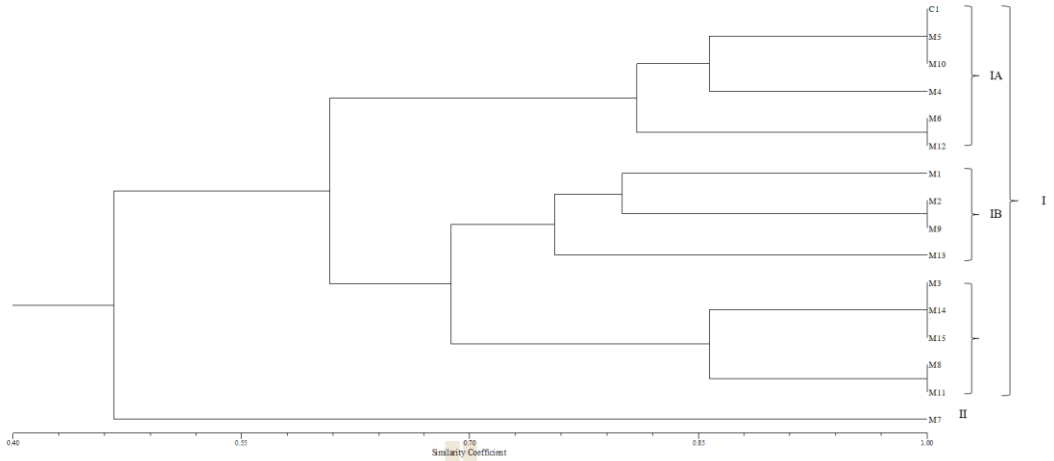
(Y คือ ไพริมิดีน (pyrimidines; C, T)



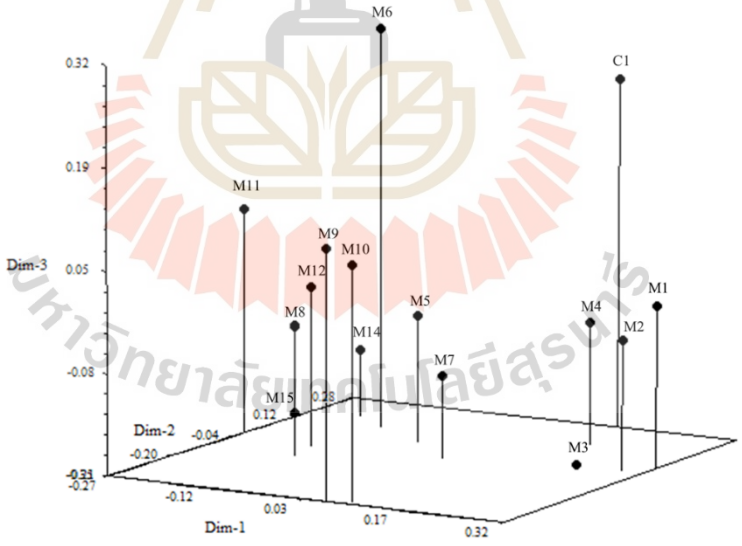
ภาพที่ 4.14 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 841 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14) และ 1% (M15) จำนวน 15 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (C; controls (ROW, 0%) เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือ ต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW, 0%) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 10 ต้น



ภาพที่ 4.15 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14) และ 1% (M15)กับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)



ภาพที่ 4.16 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14) และ 1% (M15) กับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)



ภาพที่ 4.17 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14) และ 1% (M14)กับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)

ตารางที่ 4.19 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M5) 0.50% (M6-M12) 0.75% (M13-M14)และ 1% (M15) จำนวน 15 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW; control 1 (C1) จำนวน 1 ต้น

	control	EMS 0.25%					EMS0.50%							EMS 0.75%		EMS 1%
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15
control	1.000															
M1	0.789	1.000														
M2	0.794	0.954	1.000													
M3	0.746	0.819	0.853	1.000												
M4	0.779	0.863	0.855	0.797	1.000											
M5	0.757	0.827	0.832	0.775	0.847	1.000										
M6	0.746	0.764	0.755	0.706	0.754	0.817	1.000									
M7	0.748	0.819	0.824	0.851	0.811	0.884	0.780	1.000								
M8	0.726	0.772	0.806	0.788	0.777	0.839	0.803	0.817	1.000							
M9	0.716	0.792	0.811	0.750	0.739	0.775	0.721	0.794	0.818	1.000						
M10	0.691	0.808	0.814	0.390	0.771	0.739	0.725	0.783	0.791	0.841	1.000					
M11	0.707	0.727	0.746	0.726	0.759	0.780	0.800	0.786	0.779	0.756	0.759	1.000				
M12	0.745	0.776	0.795	0.734	0.794	0.869	0.748	0.806	0.843	0.777	0.780	0.812	1.000			
M13	0.786	0.760	0.805	0.803	0.778	0.838	0.789	0.844	0.839	0.817	0.778	0.823	0.869	1.000		
M14	0.754	0.784	0.789	0.729	0.789	0.808	0.757	0.772	0.809	0.729	0.732	0.806	0.811	0.808	1.000	
M15	0.725	0.770	0.789	0.786	0.789	0.836	0.771	0.814	0.851	0.757	0.761	0.835	0.839	0.849	0.903	1.000

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นำต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS มาทำการตรวจสอบพันธุกรรมเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมาย ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 12 ไพรเมอร์ จากการวิเคราะห์เครื่องหมาย ISSR ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและคงที่ ของต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น (C1) และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 111 ต้น (M1-M111) พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 249 แถบ ซึ่งเป็นแถบที่มีความหลากหลายจำนวน 69 แถบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 27.17% โดยจำนวนแถบดีเอ็นเอที่พบมี 16-27 แถบต่อไพรเมอร์ ซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละไพรเมอร์ โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยของแถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์เท่ากับ 21 แถบ ในจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดพบว่าดีเอ็นเอที่แตกต่างกันตั้งแต่ 4-7 แถบต่อไพรเมอร์ คิดเป็นค่าเฉลี่ย 6 แถบ โดยเครื่องหมาย ISSR 855 มีเปอร์เซ็นต์ความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอสูงสุดคือ 38.9% รองลงมาคือ ISSR32 (36.8%) และ ISSR 818 (33.3%) ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลที่เหมาะสมในการแยกความหลากหลายมากที่สุดคือ ISSR34 (ค่า PIC = 0.453) รองลงมาคือ ISSR808 (ค่า PIC = 0. 450) (ตารางที่ 4.20)

นำข้อมูลมาสร้าง dendrogram โดยวิธี UPGMA ทำให้สามารถแยกกลุ่มความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ซึ่งจาก dendrogram สามารถจัดกลุ่มต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (cluster) I II และ III กลุ่มใหญ่ซึ่งกลุ่มที่ II สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย (subcluster) ได้ 4 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มย่อย IIA ประกอบด้วยต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่จำนวน 66 ต้น คือ M1 -M30 M38- M43 M46- M49 M51-M65 M76 -M82 M88- M90 และ M109 กลุ่มย่อย IIB มีจำนวน 11 ต้น คือ M31 M32 M45 M50 M100 M101 M104 M05 M107 M108 M110 กลุ่มย่อย IIC มีจำนวน 14 ต้น คือ M67-68 M83-M87 M91 M92 M102 M103 M106 และ M111 กลุ่มย่อย IID มีจำนวน 15 ต้น คือ M44 M60 M70- M75 M93- M99 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม II และกลุ่มที่ III มีจำนวน 5 ต้น คือ M33-M37 (ภาพที่ 4.19)

การวิเคราะห์ PCoA จากไพรเมอร์ ISSR แสดงผลเป็นภาพสามมิติ พบว่าสามารถจัดกลุ่มต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น ออกเป็นกลุ่มได้ไม่ค่อยชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกับการวิเคราะห์กลุ่มโดย UPGMA cluster analysis แต่สามารถแยกต้น M12 M13 M14 M17 และ M21-M22 M31 ออกมาจากกลุ่มทั้งหมดได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.21) แกนทั้งสามของ PCoA อธิบายความแปรปรวนได้ 9.05 4.05 และ 6.53% ของความแปรปรวนทั้งหมด ตามลำดับ โดยมีผลรวมเท่ากับ 19.63%

เมื่อพิจารณาความเหมือนกันทางพันธุกรรมในรูปของแมททริกซ์พบว่า Jaccard's genetic similarity coefficient ระหว่างคู่สายพันธุ์มีค่าตั้งแต่ 0.602 (M12 M14 M15 M17 และ M21-M22) จนไปถึง 0.955 และพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์มากที่สุด คือต้น M34 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม 0.626

รองลงมาคือ M96 (0.638) M32 (0.660) และ M7 (0.681) ตามลำดับ พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.21)

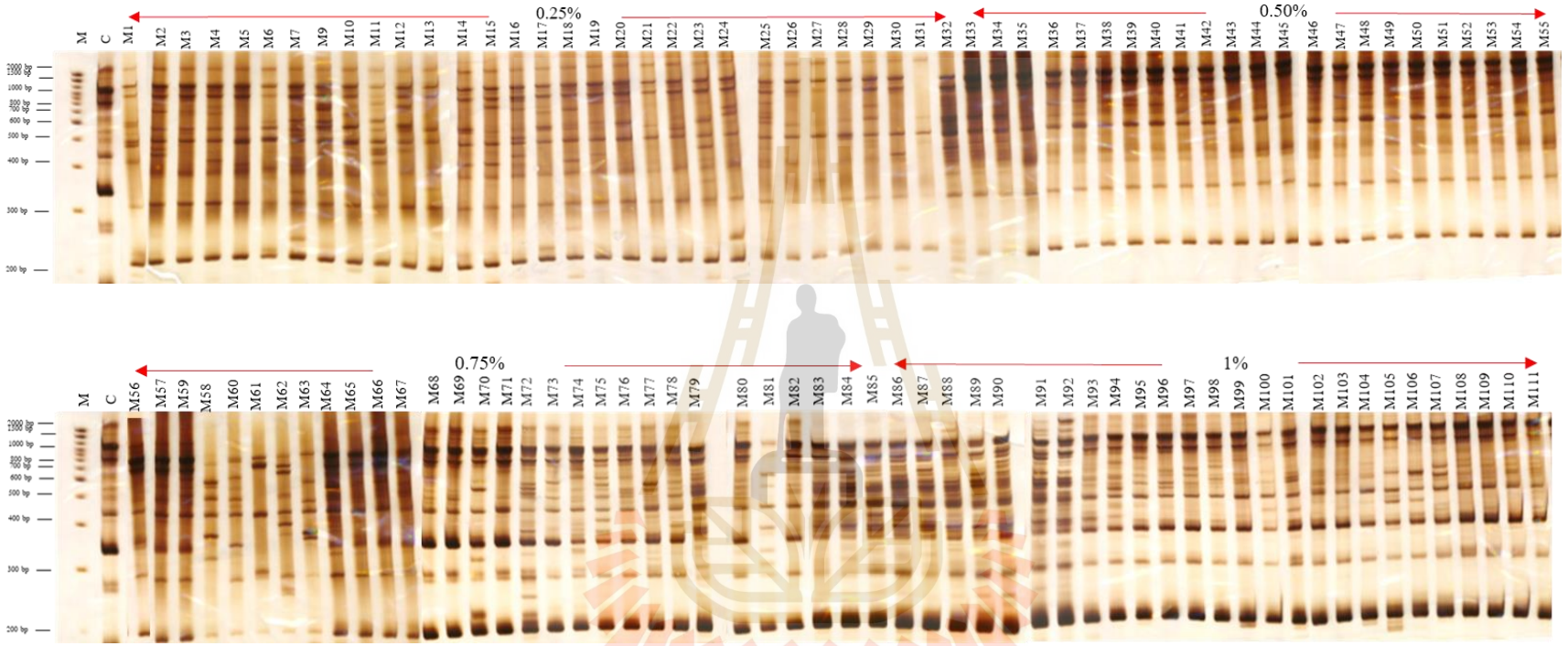
เมื่อนำผลของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมมาสร้างเป็นเดนโดแกรมโดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS (ภาพที่ 4.20) โดยพิจารณาที่ค่า similarity coefficience 0.70 พบแนวโน้นว่าสามารถเป็นกลุ่มต้นที่ศึกษาออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (cluster) I II และ III กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ และกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ซึ่งรวมทั้งต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยสารละลาย EMS และต้นที่ไม่ได้สารละลาย EMS และสำหรับในกลุ่มที่มีการกลายนั้นสามารถวิเคราะห์ความเชื่อมโยงของการเกิดโพลีมอรฟิซึมที่คล้ายคลึงกันในกลุ่มที่มีหายรูปแบบใกล้เคียงกันแม้ว่าจะมีที่มาจากปริมาณความเข้มข้นสารละลาย EMS ที่แตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

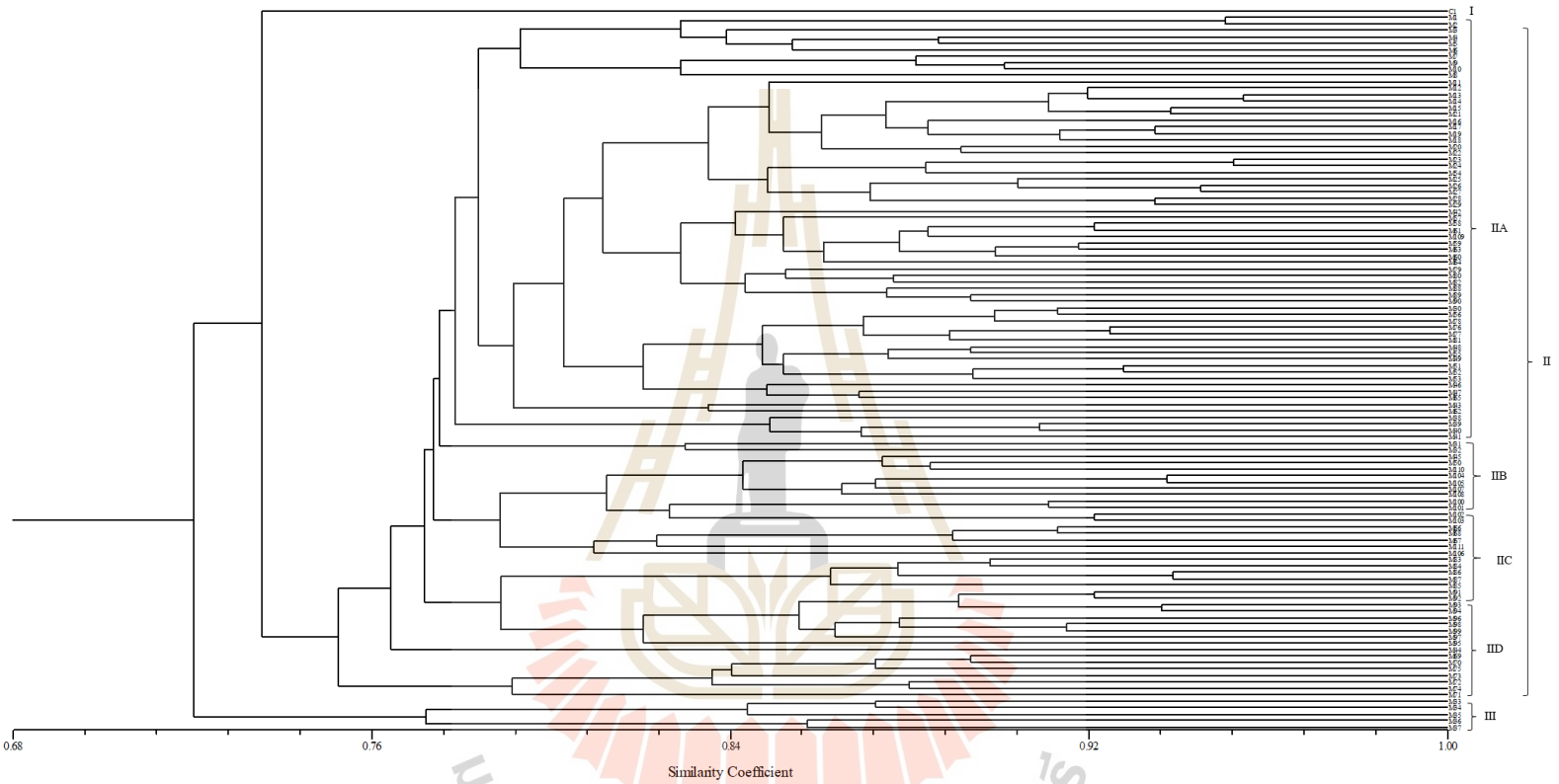
ตารางที่ 4.20 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism) ขนาดแถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น

ไพรเมอร์	ลำดับเบสของไพรเมอร์	อุณหภูมิ annealing	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นที่มีความหลากหลาย	Polymorphism (%)	ค่า PIC
ISSR32	CY(CAC_5)	57.4	19	5	20.8	0.244
ISSR34	(CAG_5)RC	57.4	20	7	36.8	0.453
ISSR811	$(GA)_8$C	57.4	22	6	16.0	0.131
ISSR836	$(AG)_8$YA	57.4	20	5	20.0	0.337
ISSR841	$(CA)_8$G	57.4	21	6	20.0	0.326
ISSR818	$(CA)_8$G	57.4	18	5	33.3	0.386
ISSR825	$(AC)_8$T	57.4	16	6	23.1	0.374
ISSR856	$(AC)_8$YA	57.4	19	6	26.3	0.404
ISSR808	$(Ag)_8$C	57.4	26	7	30.4	0.450
ISSR834	$(AG)_8$YT	57.4	18	6	26.9	0.428
ISSR846	$(GA)_8$A	57.4	27	6	24.0	0.431
ISSR855	$(AC)_8$YT	57.4	23	4	38.9	0.430
12 ไพร์เมอร์ ที่ให้แถบ		รวม	249	69		
ชัดเจนและคงที่		ค่าเฉลี่ย	21	6	26.4	0.366

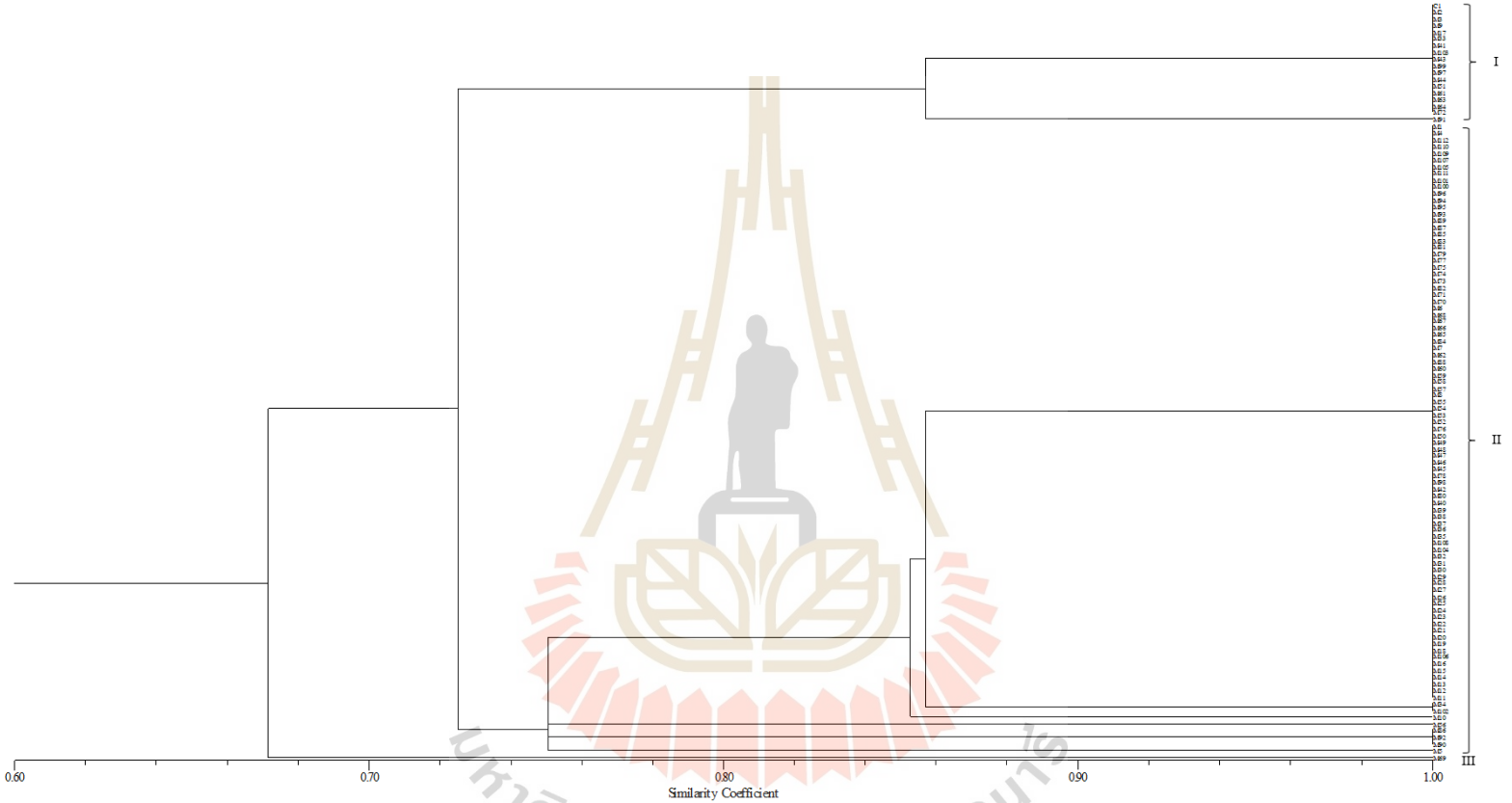
Y คือ ไพริมิดีน (pyrimidines; C, T)



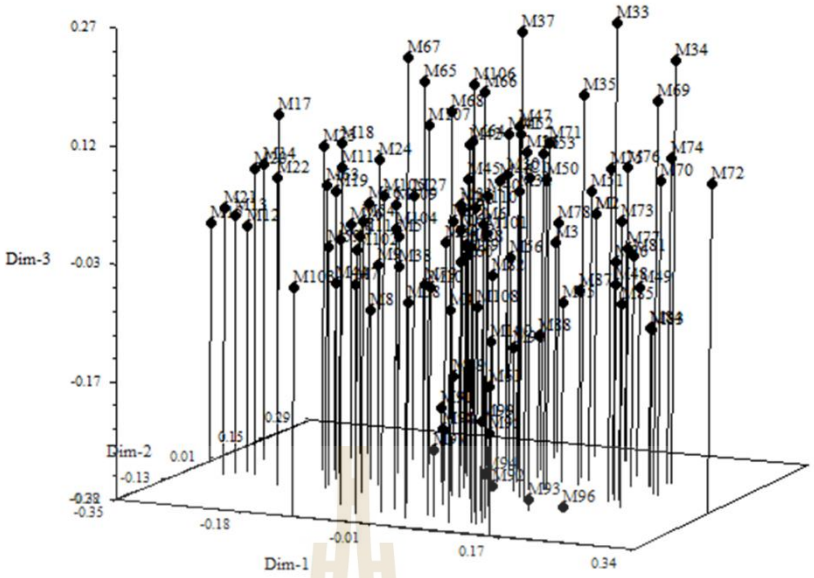
ภาพที่ 4.18 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 855 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือ ต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW, 0%) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 10 ต้น



ภาพที่ 4.19 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังจากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0 เข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น



ภาพที่ 4.20 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังจากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0 เข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น



ภาพที่ 4.21 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น เข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)

	control	EMS 0.25 %																															
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31	M32
control	1.000																																
M1	0.745																																
M2	0.733	1.000																															
M3	0.725	0.950	1.000																														
M4	0.681	0.824	0.851	1.000																													
M5	0.708	0.809	0.839	0.851	1.000																												
M6	0.688	0.813	0.842	0.833	0.886	1.000																											
M7	0.681	0.813	0.842	0.833	0.841	0.867	1.000																										
M8	0.694	0.766	0.796	0.830	0.860	0.864	0.818	1.000																									
M9	0.729	0.755	0.763	0.796	0.756	0.761	0.814	0.800	1.000																								
M10	0.742	0.729	0.758	0.792	0.795	0.800	0.756	0.886	0.826	1.000																							
M11	0.722	0.784	0.792	0.825	0.831	0.791	0.813	0.876	0.860	0.901	1.000																						
M12	0.745	0.742	0.750	0.804	0.831	0.791	0.835	0.831	0.817	0.791	0.870	1.000																					
M13	0.723	0.723	0.731	0.809	0.837	0.795	0.750	0.837	0.822	0.864	0.854	0.876	1.000																				
M14	0.708	0.702	0.731	0.830	0.860	0.841	0.795	0.860	0.800	0.841	0.809	0.854	0.930	1.000																			
M15	0.725	0.708	0.737	0.833	0.841	0.822	0.844	0.818	0.848	0.800	0.791	0.901	0.909	0.955	1.000																		
M16	0.742	0.703	0.733	0.791	0.819	0.800	0.776	0.843	0.805	0.776	0.791	0.837	0.916	0.916	0.894	1.000																	
M17	0.737	0.722	0.771	0.825	0.809	0.769	0.791	0.809	0.817	0.791	0.730	0.870	0.876	0.854	0.879	0.884	1.000																
M18	0.722	0.737	0.766	0.779	0.759	0.764	0.764	0.759	0.813	0.787	0.756	0.822	0.854	0.851	0.876	0.905	0.889	1.000															
M19	0.788	0.763	0.813	0.825	0.809	0.791	0.813	0.787	0.796	0.791	0.783	0.826	0.874	0.854	0.879	0.554	0.891	0.933	1.000														
M20	0.739	0.768	0.796	0.808	0.813	0.817	0.774	0.813	0.821	0.817	0.809	0.851	0.857	0.857	0.860	0.886	0.872	0.935	0.894	1.000													
M21	0.717	0.674	0.703	0.739	0.786	0.767	0.721	0.786	0.795	0.814	0.782	0.828	0.881	0.857	0.860	0.864	0.828	0.894	0.828	0.921	1.000												
M22	0.688	0.696	0.725	0.783	0.833	0.814	0.767	0.833	0.795	0.791	0.782	0.851	0.905	0.929	0.907	0.938	0.874	0.894	0.897	0.899	0.878	1.000											
M23	0.681	0.645	0.696	0.731	0.753	0.736	0.713	0.776	0.764	0.759	0.750	0.818	0.824	0.824	0.828	0.854	0.864	0.860	0.864	0.867	0.892	0.892	1.000										
M24	0.716	0.703	0.733	0.747	0.747	0.753	0.753	0.747	0.736	0.706	0.698	0.767	0.795	0.819	0.824	0.850	0.860	0.905	0.884	0.841	0.815	0.864	0.878	1.000									
M25	0.723	0.716	0.745	0.800	0.782	0.787	0.787	0.736	0.747	0.674	0.711	0.778	0.782	0.805	0.831	0.857	0.867	0.886	0.889	0.848	0.800	0.847	0.860	0.952	1.000								

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	control	EMS 0.25 %																															
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31	M32
M26	0.695	0.702	0.753	0.766	0.814	0.795	0.750	0.814	0.711	0.750	0.764	0.809	0.814	0.837	0.795	0.892	0.831	0.851	0.854	0.857	0.833	0.881	0.894	0.867	0.874	1.000							
M27	0.755	0.779	0.809	0.821	0.874	0.854	0.831	0.851	0.769	0.764	0.822	0.844	0.874	0.874	0.854	0.905	0.844	0.841	0.889	0.848	0.824	0.894	0.837	0.857	0.864	0.920	1.000						
M28	0.722	0.796	0.745	0.837	0.844	0.870	0.826	0.822	0.766	0.783	0.817	0.817	0.844	0.844	0.826	0.851	0.860	0.857	0.903	0.884	0.818	0.864	0.831	0.851	0.857	0.889	0.945	1.000					
M29	0.722	0.784	0.813	0.845	0.809	0.813	0.835	0.831	0.796	0.791	0.804	0.804	0.787	0.831	0.813	0.814	0.826	0.800	0.848	0.809	0.782	0.828	0.818	0.837	0.844	0.854	0.889	0.860	1.000				
M30	0.784	0.804	0.833	0.825	0.809	0.813	0.835	0.787	0.774	0.747	0.761	0.804	0.878	0.831	0.813	0.814	0.826	0.822	0.870	0.830	0.782	0.828	0.818	0.860	0.844	0.831	0.889	0.903	0.935	1.000			
M31	0.747	0.763	0.813	0.845	0.831	0.835	0.796	0.809	0.753	0.769	0.804	0.826	0.809	0.831	0.813	0.837	0.848	0.822	0.826	0.872	0.828	0.828	0.795	0.814	0.844	0.854	0.867	0.903	0.870	0.870	1.000		
M32	0.660	0.747	0.776	0.808	0.769	0.796	0.769	0.769	0.779	0.753	0.766	0.766	0.791	0.813	0.796	0.818	0.809	0.804	0.830	0.833	0.764	0.854	0.800	0.818	0.804	0.813	0.848	0.863	0.809	0.830	0.851	1.000	
M33	0.639	0.742	0.771	0.784	0.719	0.690	0.637	0.742	0.731	0.681	0.652	0.717	0.719	0.764	0.769	0.767	0.739	0.778	0.761	0.766	0.759	0.759	0.773	0.814	0.800	0.787	0.778	0.774	0.804	0.828	0.804	0.830	1.000
M34	0.626	0.660	0.646	0.722	0.629	0.637	0.710	0.652	0.602	0.637	0.652	0.696	0.652	0.674	0.659	0.674	0.696	0.667	0.696	0.681	0.644	0.690	0.705	0.651	0.689	0.719	0.689	0.688	0.717	0.696	0.739	0.745	0.761
M35	0.680	0.747	0.714	0.808	0.703	0.688	0.745	0.703	0.653	0.688	0.681	0.681	0.659	0.703	0.710	0.636	0.681	0.652	0.702	0.646	0.629	0.652	0.667	0.682	0.696	0.681	0.696	0.674	0.766	0.723	0.702	0.729	0.809
M36	0.733	0.740	0.717	0.760	0.761	0.723	0.746	0.761	0.646	0.702	0.758	0.779	0.717	0.739	0.723	0.697	0.758	0.667	0.737	0.722	0.667	0.733	0.725	0.719	0.731	0.739	0.774	0.771	0.758	0.758	0.779	0.763	0.737
M37	0.727	0.772	0.760	0.752	0.753	0.758	0.716	0.796	0.722	0.779	0.771	0.729	0.731	0.753	0.737	0.689	0.688	0.681	0.688	0.714	0.703	0.703	0.739	0.711	0.732	0.731	0.723	0.722	0.792	0.705	0.711	0.735	0.771
M38	0.729	0.667	0.694	0.707	0.681	0.688	0.688	0.703	0.695	0.710	0.723	0.723	0.703	0.725	0.731	0.682	0.723	0.717	0.723	0.729	0.719	0.719	0.778	0.750	0.761	0.769	0.739	0.758	0.766	0.745	0.766	0.729	0.766
M39	0.745	0.729	0.758	0.792	0.841	0.822	0.733	0.795	0.761	0.733	0.769	0.769	0.795	0.818	0.800	0.800	0.769	0.764	0.747	0.774	0.791	0.910	0.782	0.800	0.831	0.841	0.809	0.783	0.813	0.769	0.791	0.731	0.769
M40	0.729	0.702	0.710	0.723	0.767	0.750	0.727	0.814	0.756	0.773	0.831	0.787	0.676	0.767	0.750	0.771	0.742	0.713	0.674	0.747	0.762	0.738	0.729	0.723	0.713	0.767	0.782	0.756	0.742	0.742	0.787	0.725	0.719
M41	0.727	0.792	0.800	0.792	0.841	0.800	0.778	0.841	0.761	0.756	0.813	0.791	0.795	0.795	0.778	0.800	0.769	0.742	0.703	0.774	0.791	0.767	0.759	0.753	0.742	0.795	0.809	0.783	0.791	0.769	0.835	0.753	0.791
M42	0.760	0.788	0.796	0.828	0.791	0.760	0.839	0.813	0.779	0.753	0.809	0.851	0.791	0.791	0.839	0.750	0.787	0.761	0.766	0.771	0.764	0.754	0.756	0.773	0.761	0.747	0.804	0.820	0.809	0.787	0.809	0.750	0.766
M43	0.755	0.780	0.808	0.820	0.804	0.787	0.809	0.848	0.771	0.809	0.800	0.821	0.826	0.848	0.830	0.831	0.842	0.796	0.821	0.825	0.822	0.844	0.813	0.787	0.774	0.826	0.860	0.833	0.863	0.842	0.842	0.825	0.821
M44	0.703	0.776	0.804	0.837	0.800	0.783	0.826	0.800	0.870	0.783	0.817	0.774	0.822	0.822	0.826	0.782	0.796	0.747	0.796	0.779	0.750	0.773	0.742	0.736	0.769	0.711	0.791	0.780	0.796	0.796	0.796	0.779	0.731
M45	0.843	0.659	0.689	0.747	0.795	0.824	0.753	0.819	0.782	0.800	0.767	0.721	0.771	0.843	0.800	0.825	0.767	0.762	0.744	0.795	0.790	0.840	0.780	0.775	0.786	0.795	0.786	0.759	0.814	0.767	0.767	0.773	0.767
M46	0.784	0.784	0.792	0.804	0.809	0.813	0.813	0.787	0.816	0.792	0.804	0.763	0.809	0.830	0.813	0.813	0.784	0.800	0.784	0.848	0.804	0.804	0.753	0.747	0.779	0.766	0.800	0.816	0.804	0.804	0.845	0.788	0.742
M47	0.765	0.742	0.750	0.804	0.787	0.791	0.747	0.787	0.731	0.703	0.739	0.761	0.787	0.809	0.791	0.837	0.783	0.800	0.783	0.872	0.828	0.828	0.795	0.791	0.822	0.831	0.844	0.839	0.826	0.826	0.870	0.787	0.783
M48	0.763	0.804	0.792	0.843	0.745	0.771	0.813	0.787	0.816	0.750	0.784	0.825	0.787	0.809	0.854	0.791	0.804	0.800	0.825	0.848	0.783	0.804	0.774	0.769	0.800	0.754	0.800	0.816	0.845	0.825	0.845	0.788	0.784

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

		EMS 0.25 %																														
	control	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31	M32
M49	0.780	0.804	0.833	0.825	0.831	0.813	0.835	0.787	0.817	0.769	0.826	0.783	0.742	0.742	0.769	0.744	0.761	0.756	0.761	0.787	0.783	0.759	0.727	0.767	0.800	0.764	0.800	0.817	0.848	0.826	0.870	0.787	0.761
M50	0.784	0.800	0.808	0.860	0.761	0.766	0.766	0.717	0.771	0.745	0.779	0.779	0.761	0.739	0.745	0.742	0.779	0.774	0.758	0.825	0.736	0.756	0.725	0.742	0.774	0.739	0.774	0.792	0.821	0.821	0.863	0.804	0.779
M51	0.804	0.804	0.812	0.843	0.787	0.771	0.750	0.766	0.755	0.729	0.763	0.742	0.745	0.787	0.771	0.747	0.763	0.758	0.784	0.788	0.756	0.783	0.774	0.791	0.800	0.766	0.779	0.796	0.845	0.845	0.784	0.768	0.763
M52	0.784	0.804	0.851	0.824	0.809	0.813	0.771	0.766	0.755	0.750	0.763	0.722	0.745	0.766	0.750	0.769	0.763	0.779	0.804	0.848	0.717	0.783	0.774	0.769	0.800	0.809	0.821	0.857	0.866	0.845	0.887	0.808	0.804
M53	0.725	0.742	0.792	0.804	0.809	0.835	0.769	0.742	0.688	0.747	0.739	0.717	0.742	0.787	0.769	0.744	0.739	0.778	0.783	0.830	0.783	0.759	0.750	0.791	0.822	0.809	0.800	0.839	0.826	0.783	0.870	0.766	0.739
M54	0.737	0.824	0.871	0.843	0.787	0.833	0.833	0.766	0.796	0.750	0.763	0.784	0.745	0.766	0.813	0.747	0.784	0.821	0.825	0.848	0.782	0.783	0.774	0.813	0.821	0.809	0.821	0.857	0.845	0.804	0.866	0.828	0.825
M55	0.768	0.716	0.745	0.779	0.782	0.787	0.719	0.759	0.725	0.719	0.733	0.733	0.805	0.828	0.787	0.833	0.800	0.818	0.822	0.848	0.783	0.847	0.837	0.881	0.886	0.851	0.841	0.857	0.800	0.822	0.822	0.804	0.756
M56	0.742	0.788	0.816	0.848	0.791	0.774	0.796	0.813	0.779	0.753	0.878	0.787	0.747	0.769	0.774	0.773	0.787	0.783	0.766	0.833	0.800	0.787	0.778	0.818	0.826	0.813	0.804	0.821	0.851	0.830	0.851	0.792	0.787
M57	0.763	0.742	0.792	0.804	0.787	0.813	0.791	0.742	0.774	0.747	0.761	0.783	0.764	0.764	0.769	0.910	0.826	0.822	0.804	0.872	0.764	0.805	0.818	0.814	0.844	0.813	0.800	0.839	0.804	0.804	0.913	0.830	0.804
M58	0.723	0.742	0.771	0.784	0.764	0.769	0.769	0.764	0.796	0.769	0.783	0.783	0.787	0.809	0.791	0.791	0.826	0.800	0.804	0.809	0.851	0.828	0.818	0.814	0.800	0.809	0.822	0.839	0.848	0.848	0.870	0.809	0.739
M59	0.711	0.723	0.731	0.809	0.791	0.795	0.727	0.791	0.756	0.773	0.787	0.787	0.814	0.837	0.795	0.819	0.742	0.759	0.764	0.813	0.805	0.857	0.824	0.771	0.782	0.837	0.828	0.800	0.809	0.787	0.831	0.791	0.764
M60	0.796	0.689	0.742	0.800	0.829	0.800	0.753	0.805	0.759	0.810	0.800	0.800	0.854	0.892	0.847	0.825	0.800	0.786	0.814	0.818	0.833	0.864	0.829	0.775	0.786	0.819	0.833	0.828	0.791	0.791	0.814	0.750	0.698
M61	0.722	0.796	0.804	0.837	0.844	0.826	0.783	0.822	0.766	0.804	0.817	0.817	0.844	0.867	0.826	0.828	0.839	0.813	0.839	0.842	0.840	0.864	0.787	0.851	0.835	0.822	0.857	0.872	0.839	0.860	0.860	0.821	0.753
M62	0.716	0.763	0.771	0.804	0.809	0.769	0.703	0.809	0.817	0.813	0.826	0.783	0.809	0.809	0.769	0.791	0.783	0.756	0.761	0.809	0.795	0.805	0.795	0.767	0.778	0.809	0.800	0.796	0.804	0.804	0.804	0.766	0.761
M63	0.729	0.695	0.723	0.821	0.736	0.897	0.719	0.736	0.747	0.742	0.756	0.756	0.805	0.805	0.787	0.786	0.800	0.773	0.778	0.783	0.753	0.824	0.791	0.762	0.795	0.759	0.773	0.769	0.822	0.800	0.800	0.761	0.711
M64	0.767	0.729	0.758	0.813	0.818	0.800	0.756	0.795	0.804	0.800	0.791	0.813	0.864	0.909	0.889	0.847	0.835	0.831	0.857	0.882	0.860	0.907	0.851	0.824	0.831	0.795	0.831	0.826	0.835	0.350	0.813	0.796	0.747
M65	0.768	0.708	0.737	0.833	0.773	0.756	0.733	0.773	0.717	0.773	0.747	0.769	0.773	0.818	0.800	0.753	0.747	0.742	0.769	0.774	0.791	0.791	0.805	0.729	0.764	0.795	0.809	0.804	0.813	0.791	0.813	0.710	0.725
M66	0.708	0.768	0.758	0.828	0.769	0.774	0.769	0.769	0.758	0.753	0.766	0.787	0.813	0.857	0.860	0.841	0.787	0.848	0.830	0.854	0.809	0.809	0.778	0.818	0.826	0.769	0.826	0.821	0.830	0.851	0.851	0.792	0.787
M67	0.716	0.747	0.737	0.768	0.725	0.731	0.688	0.747	0.758	0.774	0.745	0.723	0.791	0.791	0.774	0.727	0.723	0.761	0.754	0.771	0.764	0.764	0.756	0.727	0.739	0.725	0.761	0.758	0.809	0.787	0.745	0.708	0.723
M68	0.714	0.708	0.776	0.708	0.705	0.711	0.667	0.750	0.761	0.778	0.725	0.703	0.795	0.795	0.778	0.753	0.769	0.787	0.791	0.774	0.767	0.791	0.782	0.753	0.719	0.727	0.764	0.783	0.791	0.791	0.747	0.710	0.681
M69	0.735	0.674	0.737	0.695	0.690	0.697	0.652	0.713	0.747	0.809	0.733	0.711	0.782	0.759	0.742	0.738	0.733	0.795	0.756	0.783	0.800	0.776	0.791	0.738	0.727	0.759	0.727	0.747	0.778	0.756	0.756	0.739	0.711
M70	0.740	0.735	0.681	0.755	0.756	0.696	0.717	0.689	0.723	0.739	0.731	0.688	0.733	0.733	0.739	0.690	0.731	0.725	0.753	0.779	0.773	0.727	0.719	0.690	0.703	0.711	0.747	0.766	0.758	0.753	0.796	0.758	0.753
M71	0.740	0.776	0.763	0.755	0.778	0.696	0.674	0.689	0.702	0.783	0.753	0.710	0.756	0.733	0.717	0.690	0.731	0.725	0.731	0.779	0.750	0.705	0.674	0.667	0.681	0.711	0.725	0.745	0.731	0.731	0.774	0.716	0.710
M72	0.740	0.720	0.727	0.740	0.717	0.702	0.723	0.739	0.688	0.745	0.758	0.779	0.739	0.739	0.723	0.697	0.758	0.731	0.758	0.784	0.733	0.756	0.725	0.697	0.688	0.717	0.731	0.750	0.737	0.758	0.758	0.722	0.695

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	control	EMS 0.25 %																														
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31	M32
M73	0.760	0.720	0.707	0.740	0.674	0.638	0.638	0.630	0.708	0.681	0.674	0.674	0.674	0.652	0.660	0.652	0.716	0.731	0.716	0.742	0.689	0.711	0.703	0.697	0.710	0.696	0.688	0.729	0.716	0.737	0.737	0.763	0.737
M74	0.706	0.800	0.880	0.800	0.717	0.723	0.723	0.717	0.729	0.766	0.758	0.695	0.717	0.739	0.702	0.719	0.716	0.753	0.779	0.804	0.733	0.733	0.703	0.719	0.731	0.761	0.774	0.792	0.800	0.800	0.800	0.784	0.758
M75	0.776	0.765	0.729	0.824	0.745	0.729	0.750	0.702	0.735	0.729	0.742	0.722	0.723	0.702	0.729	0.703	0.804	0.758	0.804	0.768	0.696	0.739	0.731	0.725	0.758	0.723	0.758	0.796	0.742	0.742	0.784	0.808	0.742
M76	0.776	0.735	0.742	0.776	0.733	0.717	0.674	0.711	0.660	0.761	0.710	0.710	0.756	0.778	0.739	0.736	0.753	0.769	0.753	0.821	0.750	0.773	0.719	0.736	0.725	0.778	0.747	0.787	0.753	0.753	0.796	0.779	0.731
M77	0.742	0.837	0.845	0.857	0.844	0.804	0.783	0.778	0.702	0.761	0.774	0.796	0.778	0.778	0.830	0.759	0.817	0.791	0.739	0.821	0.773	0.773	0.764	0.782	0.813	0.800	0.813	0.851	0.817	0.817	0.882	0.758	0.753
M78	0.766	0.804	0.833	0.825	0.854	0.791	0.791	0.787	0.731	0.747	0.761	0.783	0.742	0.742	0.747	0.744	0.826	0.778	0.804	0.830	0.782	0.759	0.750	0.767	0.800	0.787	0.778	0.817	0.804	0.804	0.870	0.745	0.761
M79	0.755	0.745	0.853	0.787	0.814	0.795	0.795	0.744	0.711	0.727	0.764	0.809	0.791	0.767	0.773	0.795	0.831	0.805	0.809	0.835	0.786	0.833	0.776	0.819	0.851	0.814	0.828	0.844	0.809	0.809	0.899	0.835	0.742
M80	0.729	0.776	0.825	0.796	0.867	0.783	0.783	0.844	0.809	0.848	0.839	0.817	0.822	0.844	0.826	0.805	0.839	0.813	0.860	0.863	0.795	0.864	0.787	0.782	0.769	0.800	0.813	0.830	0.796	0.796	0.796	0.779	0.688
M81	0.768	0.771	0.800	0.792	0.841	0.756	0.733	0.864	0.739	0.778	0.791	0.791	0.818	0.818	0.778	0.824	0.813	0.787	0.813	0.839	0.814	0.837	0.828	0.776	0.787	0.864	0.854	0.848	0.813	0.813	0.835	0.753	0.747
M82	0.716	0.788	0.796	0.788	0.791	0.731	0.753	0.747	0.737	0.753	0.745	0.787	0.725	0.747	0.753	0.727	0.809	0.761	0.766	0.813	0.764	0.787	0.778	0.773	0.783	0.791	0.761	0.779	0.830	0.809	0.830	0.750	0.745
M83	0.772	0.695	0.745	0.737	0.805	0.719	0.719	0.759	0.747	0.787	0.778	0.756	0.805	0.782	0.764	0.762	0.778	0.773	0.756	0.804	0.824	0.824	0.814	0.786	0.773	0.828	0.818	0.813	0.778	0.778	0.822	0.783	0.756
M84	0.727	0.752	0.780	0.812	0.796	0.737	0.779	0.774	0.742	0.758	0.771	0.711	0.731	0.753	0.737	0.711	0.792	0.723	0.771	0.755	0.703	0.725	0.739	0.756	0.766	0.774	0.787	0.825	0.854	0.854	0.854	0.776	0.750
M85	0.700	0.768	0.776	0.808	0.791	0.731	0.731	0.725	0.737	0.710	0.766	0.745	0.747	0.725	0.731	0.727	0.766	0.739	0.787	0.750	0.697	0.742	0.733	0.773	0.804	0.769	0.826	0.824	0.809	0.840	0.809	0.771	0.745
M86	0.720	0.740	0.747	0.780	0.739	0.723	0.702	0.696	0.708	0.660	0.795	0.695	0.696	0.717	0.702	0.697	0.716	0.710	0.758	0.722	0.644	0.733	0.703	0.742	0.753	0.761	0.796	0.813	0.779	0.540	0.758	0.784	0.737
M87	0.740	0.780	0.768	0.800	0.783	0.681	0.702	0.761	0.688	0.723	0.737	0.737	0.761	0.761	0.745	0.719	0.758	0.710	0.758	0.722	0.667	0.733	0.703	0.742	0.731	0.761	0.796	0.792	0.779	0.830	0.758	0.742	0.737
M88	0.780	0.780	0.768	0.820	0.783	0.681	0.766	0.804	0.729	0.745	0.779	0.800	0.783	0.783	0.766	0.764	0.821	0.731	0.800	0.742	0.689	0.778	0.747	0.764	0.774	0.804	0.839	0.833	0.842	0.800	0.821	0.784	0.737
M89	0.747	0.780	0.788	0.840	0.804	0.723	0.787	0.826	0.792	0.809	0.842	0.800	0.826	0.826	0.787	0.787	0.800	0.753	0.779	0.804	0.756	0.800	0.747	0.764	0.774	0.804	0.839	0.854	0.821	0.779	0.863	0.825	0.758
M90	0.763	0.747	0.776	0.828	0.826	0.787	0.753	0.835	0.800	0.860	0.851	0.809	0.857	0.857	0.817	0.818	0.809	0.761	0.830	0.833	0.787	0.831	0.800	0.750	0.761	0.813	0.726	0.821	0.830	0.842	0.809	0.813	0.745
M91	0.750	0.763	0.771	0.804	0.857	0.753	0.747	0.787	0.753	0.769	0.783	0.783	0.809	0.809	0.769	0.767	0.804	0.733	0.783	0.787	0.736	0.782	0.750	0.791	0.800	0.787	0.800	0.817	0.848	0.842	0.848	0.766	0.739
M92	0.695	0.729	0.737	0.813	0.831	0.769	0.778	0.818	0.783	0.800	0.813	0.791	0.818	0.841	0.800	0.824	0.813	0.764	0.791	0.796	0.767	0.860	0.782	0.776	0.787	0.805	0.854	0.826	0.879	0.830	0.835	0.817	0.747

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	control	EMS 0.25 %																														
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31	M32
M93	0.688	0.716	0.745	0.800	0.818	0.778	0.764	0.805	0.791	0.764	0.778	0.756	0.782	0.805	0.764	0.786	0.800	0.750	0.778	0.783	0.729	0.800	0.744	0.762	0.773	0.841	0.818	0.813	0.844	0.848	0.800	0.804	0.778
M94	0.740	0.729	0.737	0.771	0.828	0.764	0.711	0.773	0.761	0.778	0.769	0.747	0.773	0.773	0.733	0.753	0.769	0.697	0.725	0.774	0.744	0.676	0.859	0.706	0.719	0.805	0.787	0.761	0.813	0.835	0.747	0.753	0.747
M95	0.694	0.740	0.747	0.780	0.818	0.733	0.723	0.783	0.771	0.787	0.779	0.779	0.840	0.804	0.766	0.787	0.800	0.731	0.758	0.804	0.778	0.800	0.791	0.742	0.753	0.795	0.817	0.792	0.821	0.844	0.779	0.763	0.758
M96	0.638	0.694	0.680	0.714	0.804	0.745	0.652	0.711	0.745	0.717	0.688	0.710	0.689	0.689	0.696	0.690	0.731	0.681	0.688	0.737	0.705	0.727	0.764	0.690	0.703	0.711	0.681	0.660	0.731	0.791	0.667	0.765	0.710
M97	0.714	0.723	0.753	0.787	0.689	0.674	0.727	0.744	0.778	0.727	0.742	0.719	0.721	0.721	0.705	0.699	0.719	0.690	0.719	0.725	0.714	0.714	0.753	0.699	0.713	0.721	0.736	0.756	0.809	0.921	0.742	0.747	0.809
M98	0.714	0.714	0.701	0.776	0.744	0.727	0.717	0.756	0.809	0.783	0.774	0.774	0.800	0.800	0.761	0.805	0.753	0.769	0.753	0.821	0.795	0.795	0.787	0.736	0.747	0.800	0.769	0.766	0.774	0.710	0.796	0.800	0.796
M99	0.735	0.755	0.784	0.796	0.756	0.739	0.761	0.778	0.787	0.761	0.753	0.744	0.778	0.822	0.804	0.805	0.774	0.791	0.817	0.842	0.773	0.818	0.809	0.782	0.791	0.822	0.813	0.766	0.817	0.631	0.774	0.779	0.870
M100	0.757	0.776	0.763	0.796	0.778	0.783	0.761	0.756	0.745	0.717	0.710	0.753	0.733	0.778	0.761	0.759	0.753	0.747	0.774	0.800	0.727	0.773	0.764	0.736	0.747	0.778	0.769	0.830	0.817	0.796	0.753	0.758	0.774
M101	0.740	0.796	0.765	0.777	0.733	0.783	0.763	0.758	0.788	0.742	0.755	0.796	0.737	0.758	0.763	0.739	0.755	0.771	0.776	0.820	0.731	0.753	0.745	0.761	0.771	0.779	0.771	0.787	0.816	0.860	0.776	0.760	0.735
M102	0.729	0.760	0.747	0.760	0.716	0.763	0.702	0.783	0.729	0.723	0.695	0.737	0.696	0.739	0.745	0.719	0.716	0.731	0.758	0.784	0.711	0.733	0.747	0.764	0.774	0.761	0.753	0.788	0.800	0.817	0.758	0.722	0.779
M103	0.758	0.771	0.737	0.729	0.696	0.787	0.711	0.773	0.717	0.756	0.725	0.725	0.773	0.795	0.756	0.753	0.681	0.764	0.747	0.774	0.744	0.791	0.713	0.753	0.719	0.750	0.764	0.771	0.747	0.796	0.725	0.731	0.725
M104	0.760	0.758	0.723	0.695	0.727	0.822	0.697	0.782	0.747	0.742	0.711	0.733	0.782	0.805	0.764	0.786	0.711	0.795	0.756	0.804	0.776	0.800	0.744	0.786	0.750	0.782	0.773	0.783	0.733	0.779	0.733	0.739	0.756
M105	0.796	0.820	0.828	0.820	0.736	0.809	0.787	0.848	0.792	0.809	0.842	0.800	0.826	0.848	0.809	0.809	0.779	0.817	0.863	0.866	0.778	0.744	0.790	0.809	0.796	0.804	0.860	0.791	0.842	0.842	0.821	0.804	0.737
M106	0.720	0.776	0.763	0.755	0.804	0.809	0.717	0.800	0.745	0.761	0.774	0.753	0.778	0.800	0.761	0.782	0.731	0.791	0.796	0.842	0.750	0.818	0.742	0.782	0.769	0.778	0.813	0.875	0.796	0.796	0.796	0.779	0.710
M107	0.763	0.660	0.687	0.680	0.733	0.783	0.660	0.717	0.708	0.745	0.695	0.674	0.717	0.739	0.723	0.697	0.737	0.753	0.779	0.742	0.711	0.756	0.769	0.764	0.731	0.717	0.731	0.830	0.737	0.758	0.716	0.742	0.716
M108	0.740	0.701	0.708	0.763	0.674	0.702	0.681	0.764	0.710	0.747	0.717	0.696	0.787	0.809	0.769	0.791	0.739	0.800	0.804	0.787	0.759	0.828	0.773	0.814	0.800	0.787	0.800	0.771	0.862	0.804	0.804	0.809	0.804
M109	0.742	0.780	0.768	0.780	0.697	0.747	0.723	0.761	0.813	0.809	0.800	0.716	0.804	0.804	0.766	0.742	0.716	0.774	0.779	0.804	0.756	0.778	0.725	0.842	0.731	0.739	0.774	0.792	0.821	0.800	0.758	0.784	0.758
M110	0.808	0.742	0.771	0.763	0.761	0.745	0.725	0.809	0.731	0.813	0.783	0.783	0.831	0.854	0.813	0.791	0.761	0.778	0.804	0.830	0.851	0.828	0.841	0.791	0.778	0.854	0.844	0.839	0.848	0.804	0.826	0.745	0.761
M111	0.688	0.788	0.816	0.788	0.750	0.776	0.735	0.771	0.800	0.776	0.788	0.747	0.771	0.813	0.776	0.774	0.768	0.784	0.828	0.832	0.766	0.809	0.800	0.774	0.763	0.792	0.804	0.840	0.828	0.848	0.808	0.812	0.768

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	EMS 0.50 %																														
	M33	M34	M35	M36	M37	M38	M39	M40	M41	M42	M43	M44	M45	M46	M47	M48	M49	M50	M51	M52	M53	M54	M55	M56	M57	M58	M59	M60	M61	M62	M63
M33	1.000																														
M34	0.872	1.000																													
M35	0.863	0.825	1.000																												
M36	0.750	0.796	0.808	1.000																											
M37	0.745	0.729	0.804	0.857	1.000																										
M38	0.659	0.710	0.702	0.800	0.753	1.000																									
M39	0.629	0.637	0.717	0.774	0.769	0.841	1.000																								
M40	0.681	0.731	0.766	0.821	0.753	0.889	0.909	1.000																							
M41	0.660	0.750	0.763	0.776	0.750	0.817	0.835	0.903	1.000																						
M42	0.779	0.784	0.796	0.747	0.763	0.766	0.804	0.851	0.866	1.000																					
M43	0.624	0.695	0.729	0.742	0.737	0.761	0.756	0.761	0.800	0.833	1.000																				
M44	0.651	0.682	0.697	0.733	0.705	0.824	0.771	0.776	0.727	0.809	0.805	1.000																			
M45	0.660	0.667	0.720	0.772	0.788	0.813	0.809	0.833	0.808	0.840	0.857	0.835	1.000																		
M46	0.696	0.702	0.737	0.729	0.745	0.791	0.787	0.813	0.787	0.821	0.796	0.791	0.866	1.000																	
M47	0.742	0.747	0.780	0.772	0.768	0.729	0.745	0.792	0.869	0.860	0.816	0.725	0.824	0.845	1.000																
M48	0.630	0.681	0.695	0.792	0.745	0.813	0.809	0.350	0.830	0.779	0.796	0.791	0.845	0.826	0.825	1.000															
M49	0.695	0.701	0.735	0.727	0.701	0.754	0.739	0.766	0.763	0.776	0.792	0.742	0.820	0.842	0.820	0.884	1.000														
M50	0.722	0.768	0.780	0.832	0.808	0.833	0.766	0.833	0.828	0.820	0.816	0.791	0.882	0.825	0.824	0.845	0.820	1.000													
M51	0.701	0.707	0.740	0.792	0.788	0.813	0.745	0.833	0.788	0.820	0.776	0.769	0.882	0.866	0.843	0.887	0.860	0.882	1.000												
M52	0.674	0.702	0.716	0.792	0.787	0.835	0.719	0.791	0.766	0.758	0.753	0.767	0.845	0.826	0.784	0.848	0.800	0.845	0.928	1.000											
M53	0.701	0.747	0.740	0.792	0.788	0.813	0.723	0.813	0.848	0.800	0.755	0.725	0.804	0.804	0.863	0.866	0.840	0.824	0.902	0.887	1.000										
M54	0.667	0.652	0.774	0.754	0.761	0.809	0.713	0.764	0.739	0.774	0.791	0.810	0.800	0.822	0.779	0.756	0.774	0.842	0.842	0.844	0.800	1.000									
M55	0.660	0.708	0.742	0.776	0.729	0.796	0.769	0.817	0.833	0.804	0.800	0.795	0.808	0.851	0.848	0.894	0.866	0.848	0.869	0.830	0.869	0.870	1.000								
M56	0.717	0.681	0.737	0.708	0.723	0.791	0.742	0.791	0.766	0.800	0.753	0.767	0.784	0.826	0.804	0.826	0.863	0.742	0.845	0.826	0.866	0.844	0.851	1.000							
M57	0.696	0.681	0.737	0.750	0.766	0.769	0.767	0.769	0.766	0.821	0.796	0.791	0.825	0.804	0.784	0.804	0.821	0.804	0.804	0.783	0.804	0.844	0.851	0.870	1.000						
M58	0.697	0.681	0.717	0.753	0.725	0.795	0.767	0.795	0.769	0.826	0.756	0.795	0.787	0.831	0.809	0.787	0.826	0.766	0.787	0.764	0.787	0.828	0.835	0.876	0.876	1.000					
M59	0.682	0.667	0.733	0.719	0.705	0.800	0.747	0.776	0.773	0.841	0.814	0.825	0.813	0.767	0.769	0.753	0.750	0.800	0.769	0.791	0.747	0.857	0.805	0.837	0.860	0.892	1.000				
M60	0.688	0.716	0.792	0.742	0.716	0.804	0.800	0.826	0.842	0.875	0.830	0.828	0.837	0.839	0.837	0.839	0.833	0.857	0.846	0.796	0.796	0.879	0.884	0.860	0.882	0.889	0.907	1.000			
M61	0.696	0.702	0.737	0.771	0.723	0.813	0.809	0.813	0.766	0.821	0.753	0.791	0.763	0.804	0.804	0.826	0.821	0.784	0.784	0.390	0.763	0.822	0.851	0.870	0.848	0.921	0.871	0.903	1.000		
M62	0.733	0.696	0.753	0.766	0.761	0.742	0.690	0.719	0.717	0.774	0.835	0.762	0.779	0.778	0.800	0.778	0.839	0.842	0.779	0.756	0.758	0.841	0.848	0.800	0.844	0.828	0.867	0.835	0.822	1.000	
M63	0.703	0.710	0.787	0.758	0.753	0.778	0.705	0.756	0.774	0.851	0.826	0.824	0.813	0.813	0.854	0.747	0.787	0.833	0.813	0.791	0.792	0.899	0.817	0.835	0.835	0.864	0.918	0.891	0.857	0.831	1.000

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	EMS 0.50 %																						EMS 0.75 %									
	M33	M34	M35	M36	M37	M38	M39	M40	M41	M42	M43	M44	M45	M46	M47	M48	M49	M50	M51	M52	M53	M54	M55	M56	M57	M58	M59	M60	M61	M62	M63	M64
M64	0.747	0.753	0.745	0.758	0.753	0.733	0.705	0.756	0.740	0.830	0.761	0.729	0.771	0.835	0.813	0.747	0.766	0.792	0.771	0.769	0.771	0.787	0.796	0.791	0.835	0.886	0.894	0.826	0.835	0.826	0.844	1.000
M65	0.702	0.729	0.742	0.796	0.792	0.753	0.769	0.796	0.813	0.825	0.842	0.750	0.848	0.851	0.869	0.787	0.804	0.828	0828	0.830	0.808	0.826	0.833	0.766	0.830	0.791	0.773	0.821	0.766	0.826	0.839	0.796
M66	0.702	0.729	0.742	0.816	0.792	0.731	0.725	0.753	0.771	0.784	0.758	0.705	0.788	0.809	0.828	0.745	0.763	0.808	0.788	0.745	0.768	0.783	0.771	0.723	0.766	0.791	0.773	0.779	0.809	0.809	0.839	0.860
M67	0.659	0.667	0.702	0.779	0.796	0.711	0.727	0.733	0.731	0.787	0.783	0.706	0.792	0.791	0.792	0.725	0.702	0.792	0.792	0.747	0.750	0.787	0.753	0.703	0.835	0.750	0.776	0.783	0.769	0.773	0.822	0.822
M68	0.689	0.674	0.645	0.766	0.761	0.719	0.736	0.719	0.717	0.774	0.725	0.738	0.779	0.778	0.758	0.756	0.731	0.737	0.758	0.733	0.737	0.727	0.739	0.756	0.800	0.805	0.762	0.769	0.800	0.747	0.764	0.809
M69	0.710	0.758	0.750	0.722	0.758	0.696	0.711	0.761	0.758	0.813	0.766	0.690	0.796	0.839	0.796	0.774	0.792	0.755	0.837	0.774	0.796	0.725	0.758	0.817	0.774	0.778	0.759	0.787	0.796	0.725	0.804	0.804
M70	0.710	0.758	0.729	0.701	0.671	0.717	0.733	0.761	0.716	0.792	0.745	0.713	0.776	0.796	0.776	0.774	0.813	0.735	0.796	0.753	0.755	0.703	0.758	0.774	0.731	0.756	0.744	0.809	0.817	0.753	0.761	0.761
M71	0.737	0.722	0.816	0.667	0.701	0.702	0.739	0.745	0.784	0.816	0.771	0.719	0.800	0.800	0.760	0.695	0.776	0.780	0.740	0.674	0.720	0.731	0.763	0.758	0.779	0.739	0.787	0.833	0.737	0.731	0.787	0.766
M72	0.737	0.722	0.673	0.646	0.722	0.660	0.696	0.681	0.722	0.776	0.688	0.674	0.760	0.779	0.760	0.779	0.816	0.760	0.780	0.695	0.740	0.710	0.784	0.758	0.779	0.739	0.682	0.771	0.779	0.753	0.702	0.745
M73	0.716	0.722	0.714	0.667	0.680	0.681	0.696	0.702	0.722	0.837	0.771	0.742	0.800	0.800	0.820	0.758	0.837	0.760	0.820	0.758	0.780	0.774	0.825	0.800	0.821	0.804	0.764	0.833	0.821	0.737	0.787	0.766
M74	0.742	0.742	0.740	0.653	0.667	0.667	0.681	0.708	0.768	0.800	0.755	0.680	0.725	0.784	0.784	0.784	0.820	0.725	0.784	0.722	0.804	0.716	0.788	0.804	0.784	0.745	0.711	0.796	0.784	0.769	0.729	0.771
M75	0.731	0.768	0.708	0.701	0.716	0.717	0.711	0.739	0.758	0.813	0.745	0.736	0.796	0.860	0.796	0.774	0.813	0.796	0.816	0.796	0.796	0.769	0.821	0.796	0.774	0.800	0.767	0.851	0.796	0.769	0.783	0.783
M76	0.710	0.737	0.771	0.742	0.737	0.766	0.733	0.804	0.821	0.833	0.787	0.713	0.796	0.839	0.857	0.860	0.854	0.816	0.857	0.839	0.837	0.791	0.842	0.860	0.817	0.822	0.814	0.894	0.839	0.796	0.804	0.726
M77	0.696	0.758	0.779	0.729	0.723	0.791	0.742	0.835	0.809	0.821	0.731	0.721	0.804	0.826	0.804	0.848	0.821	0.804	0.866	0.826	0.825	0.778	0.830	0.891	0.783	0.787	0.776	0.860	0.848	0.733	0.791	0.769
M78	0.719	0.723	0.761	0.710	0.725	0.773	0.744	0.773	0.769	0.783	0.756	0.747	0.787	0.831	0.809	0.876	0.870	0.766	0.830	0.831	0.809	0.805	0.835	0.899	0.809	0.814	0.780	0.867	0.809	0.805	0.795	0.727
M79	0.645	0.681	0.750	0.742	0.716	0.783	0.733	0.761	0.758	0.813	0.787	0.782	0.816	0.735	0.776	0.796	0.750	0.796	0.816	0.796	0.796	0.813	0.842	0.796	0.839	0.800	0.860	0.872	0.839	0.791	0.870	0.761
M80	0.703	0.688	0.787	0.779	0.774	0.800	0.795	0.822	0.774	0.851	0.783	0.753	0.813	0.857	0.813	0.791	0.766	0.792	0.813	0.769	0.771	0.809	0.839	0.791	0.813	0.841	0.833	0.848	0.879	0.809	0.822	0.844
M81	0.723	0.729	0.763	0.776	0.792	0.774	0.747	0.796	0.792	0.825	0.737	0.750	0.828	0.809	0.828	0.851	0.845	0.848	0.848	0.809	0.828	0.783	0.875	0.851	0.851	0.835	0.805	0.863	0.851	0.826	0.817	0.796
M82	0.667	0.652	0.731	0.766	0.804	0.787	0.805	0.787	0.761	0.817	0.769	0.762	0.800	0.800	0.758	0.822	0.796	0.758	0.800	0.778	0.800	0.795	0.826	0.822	0.822	0.828	0.819	0.813	0.844	0.818	0.809	0.787
M83	0.688	0.714	0.747	0.780	0.776	0.758	0.753	0.779	0.796	0.808	0.763	0.711	0.832	0.792	0.792	0.854	0.808	0.832	0.851	0.813	0.792	0.766	0.857	0.892	0.854	0.774	0.764	0.845	0.813	0.766	0.737	0.779

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	EMS 0.50 %																	EMS 0.75 %														
	M33	M34	M35	M36	M37	M38	M39	M40	M41	M42	M43	M44	M45	M46	M47	M48	M49	M50	M51	M52	M53	M54	M55	M56	M57	M58	M59	M60	M61	M62	M63	M64
M84	0.660	0.688	0.722	0.714	0.729	0.753	0.747	0.753	0.771	0.763	0.758	0.705	0.768	0.787	0.808	0.872	0.845	0.808	0.848	0.789	0.788	0.704	0.854	0.787	0.787	0.769	0.759	0.842	0.830	0.783	0.753	0.753
M85	0.674	0.701	0.714	0.687	0.701	0.702	0.652	0.681	0.701	0.714	0.688	0.652	0.720	0.779	0.740	0.779	0.776	0.760	0.800	0.737	0.780	0.774	0.804	0.758	0.779	0.761	0.719	0.792	0.779	0.731	0.723	0.766
M86	0.674	0.763	0.796	0.788	0.784	0.723	0.717	0.766	0.763	0.776	0.729	0.629	0.740	0.758	0.780	0.758	0.755	0.800	0.800	0.758	0.780	0.774	0.804	0.695	0.758	0.739	0.705	0.792	0.779	0.753	0.745	0.745
M87	0.716	0.742	0.816	0.788	0.784	0.745	0.739	0.766	0.763	0.796	0.750	0.674	0.760	0.779	0.780	0.800	0.776	0.800	0.800	0.760	0.600	0.774	0.804	0.370	0.821	0.761	0.727	0.813	0.800	0.774	0.745	0.766
M88	0.674	0.220	0.755	0.788	0.763	0.766	0.783	0.787	0.784	0.816	0.813	0.742	0.820	0.821	0.800	0.863	0.816	0.800	0.820	0.780	0.780	0.796	0.845	0.821	0.821	0.826	0.818	0.875	0.863	0.796	0.809	0.787
M89	0.681	0.708	0.763	0.796	0.750	0.774	0.747	0.753	0.729	0.804	0.821	0.750	0.788	0.787	0.808	0.787	0.784	0.788	0.808	0.769	0.768	0.804	0.813	0.787	0.878	0.835	0.828	0.742	0.872	0.826	0.860	0.774
M90	0.674	0.702	0.779	0.813	0.766	0.813	0.742	0.791	0.787	0.800	0.796	0.744	0.825	0.804	0.804	0.804	0.779	0.845	0.825	0.784	0.754	0.844	0.830	0.804	0.826	0.809	0.800	0.882	0.848	0.800	0.835	0.769
M91	0.703	0.710	0.745	0.758	0.688	0.822	0.773	0.778	0.753	0.809	0.783	0.847	0.813	0.813	0.750	0.835	0.830	0.813	0.813	0.792	0.792	0.787	0.839	0.791	0.835	0.818	0.810	0.848	0.813	0.831	0.800	0.756
M92	0.644	0.674	0.688	0.702	0.652	0.809	0.759	0.764	0.729	0.796	0.791	0.833	0.800	0.800	0.737	0.822	0.796	0.800	0.808	0.758	0.758	0.773	0.826	0.778	0.778	0.759	0.771	0.835	0.822	0.773	0.764	0.719
M93	0.659	0.688	0.723	0.737	0.688	0.778	0.750	0.778	0.731	0.809	0.761	0.800	0.771	0.791	0.750	0.769	0.787	0.792	0.792	0.750	0.750	0.787	0.817	0.791	0.769	0.818	0.786	0.826	0.879	0.787	0.800	0.756
M94	0.674	0.680	0.755	0.747	0.701	0.787	0.761	0.766	0.722	0.796	0.771	0.787	0.760	0.800	0.760	0.779	0.816	0.780	0.820	0.760	0.760	0.839	0.845	0.821	0.800	0.826	0.818	0.833	0.884	0.817	0.830	0.766
M95	0.645	0.632	0.667	0.742	0.695	0.717	0.733	0.769	0.674	0.729	0.681	0.690	0.694	0.710	0.735	0.710	0.771	0.735	0.735	0.735	0.735	0.725	0.758	0.753	0.753	0.800	0.698	0.823	0.817	0.747	0.739	0.717
M96	0.652	0.681	0.652	0.710	0.637	0.750	0.698	0.727	0.725	0.761	0.756	0.747	0.723	0.742	0.745	0.787	0.804	0.766	0.760	0.745	0.745	0.736	0.813	0.787	0.764	0.791	0.756	0.778	0.854	0.782	0.750	0.750
M97	0.688	0.653	0.688	0.722	0.695	0.761	0.756	0.761	0.716	0.771	0.723	0.759	0.796	0.796	0.776	0.753	0.813	0.755	0.776	0.755	0.755	0.791	0.779	0.839	0.796	0.867	0.782	0.809	0.882	0.769	0.783	0.761
M98	0.624	0.653	0.688	0.722	0.695	0.761	0.733	0.739	0.737	0.771	0.766	0.782	0.776	0.817	0.816	0.796	0.813	0.796	0.816	0.796	0.796	0.813	0.842	0.796	0.753	0.822	0.805	0.830	0.860	0.791	0.826	0.783
M99	0.667	0.695	0.708	0.722	0.674	0.739	0.689	0.717	0.737	0.750	0.726	0.736	0.755	0.796	0.796	0.731	0.792	0.776	0.776	0.796	0.796	0.769	0.821	0.816	0.774	0.822	0.759	0.809	0.817	0.769	0.783	0.761
M100	0.673	0.680	0.733	0.745	0.700	0.742	0.695	0.722	0.760	0.752	0.727	0.717	0.757	0.776	0.835	0.776	0.812	0.777	0.796	0.835	0.835	0.813	0.860	0.796	0.816	0.821	0.761	0.828	0.837	0.771	0.784	0.763
M101	0.695	0.722	0.755	0.808	0.763	0.745	0.717	0.723	0.763	0.755	0.708	0.742	0.720	0.779	0.840	0.758	0.755	0.780	0.800	0.820	0.820	0.817	0.845	0.779	0.779	0.804	0.742	0.813	0.821	0.731	0.784	0.766
M102	0.637	0.667	0.681	0.737	0.645	0.778	0.705	0.756	0.753	0.745	0.674	0.729	0.771	0.747	0.729	0.703	0.702	0.771	0.771	0.792	0.792	0.787	0.753	0.725	0.769	0.795	0.753	0.804	0.747	0.674	0.753	0.733
M103	0.600	0.609	0.645	0.845	0.696	0.809	0.782	0.764	0.717	0.731	0.681	0.738	0.779	0.756	0.716	0.711	0.688	0.758	0.758	0.758	0.758	0.795	0.739	0.733	0.778	0.782	0.738	0.791	0.778	0.659	0.742	0.697
M104	0.653	0.680	0.776	0.747	0.722	0.766	0.717	0.766	0.784	0.816	0.813	0.764	0.820	0.800	0.740	0.779	0.796	0.840	0.860	0.840	0.840	0.882	0.845	0.779	0.821	0.804	0.831	0.875	0.800	0.796	0.872	0.787
M105	0.645	0.632	0.729	0.763	0.737	0.739	0.756	0.761	0.758	0.792	0.745	0.736	0.816	0.796	0.716	0.753	0.771	0.837	0.837	0.816	0.816	0.857	0.821	0.753	0.817	0.800	0.782	0.851	0.744	0.769	0.826	0.761
M106	0.716	0.701	0.735	0.727	0.742	0.702	0.717	0.723	0.742	0.776	0.688	0.797	0.760	0.737	0.760	0.695	0.673	0.780	0.780	0.740	0.740	0.753	0.722	0.716	0.758	0.717	0.742	0.792	0.737	0.710	0.766	0.745
M107	0.739	0.723	0.737	0.771	0.787	0.769	0.742	0.769	0.766	0.821	0.753	0.791	0.784	0.804	0.825	0.761	0.758	0.835	0.845	0.804	0.804	0.844	0.809	0.761	0.804	0.809	0.767	0.839	0.783	0.800	0.813	0.769
M108	0.653	0.701	0.694	0.788	0.742	0.766	0.717	0.766	0.763	0.796	0.792	0.764	0.840	0.779	0.820	0.779	0.776	0.840	0.840	0.820	0.820	0.796	0.804	0.758	0.779	0.804	0.787	0.833	0.821	0.796	0.830	0.766
M109	0.696	0.702	0.758	0.813	0.809	0.813	0.764	0.813	0.809	0.863	0.774	0.767	0.804	0.820	0.845	0.761	0.758	0.804	0.820	0.845	0.845	0.844	0.809	0.826	0.826	0.899	0.884	0.860	0.870	0.800	0.879	0.879
M110	0.727	0.713	0.765	0.777	0.792	0.796	0.792	0.796	0.792	0.843	0.800	0.774	0.865	0.808	0.846	0.788	0.804	0.885	0.865	0.788	0.827	0.825	0.812	0.808	0.848	0.833	0.839	0.880	0.848	0.804	0.857	0.796
M111	0.659	0.645	0.702	0.800	0.796	0.778	0.750	0.800	0.796	0.809	0.739	0.729	0.792	0.747	0.792	0.769	0.702	0.813	0.792	0.747	0.833	0.809	0.774	0.747	0.835	0.818	0.824	0.804	0.791	0.787	0.800	0.822

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	EMS 0.75 %														EMS 1%											
	M65	M66	M67	M68	M69	M70	M71	M72	M73	M74	M75	M76	M77	M78	M79	M80	M81	M82	M83	M84	M85	M86	M87	M88	M89	M90
M65	1.000																									
M66	0.813	1.000																								
M67	0.839	0.903	1.000																							
M68	0.761	0.913	0.876	1.000																						
M69	0.758	0.842	0.804	0.835	1.000																					
M70	0.737	0.800	0.761	0.813	0.894	1.000																				
M71	0.722	0.742	0.745	0.710	0.792	0.813	1.000																			
M72	0.722	0.784	0.745	0.817	0.813	0.813	0.755	1.000																		
M73	0.804	0.763	0.745	0.753	0.813	0.875	0.816	0.837	1.000																	
M74	0.747	0.763	0.750	0.779	0.857	0.837	0.780	0.880	0.840	1.000																
M75	0.779	0.800	0.761	0.835	0.872	0.872	0.792	0.854	0.833	0.837	1.000															
M76	0.800	0.758	0.739	0.747	0.830	0.851	0.771	0.792	0.833	0.837	0.851	1.000														
M77	0.745	0.723	0.703	0.711	0.839	0.817	0.779	0.758	0.779	0.804	0.796	0.925	1.000													
M78	0.769	0.703	0.682	0.736	0.778	0.778	0.739	0.783	0.761	0.787	0.822	0.889	0.876	1.000												
M79	0.779	0.737	0.804	0.747	0.787	0.787	0.792	0.729	0.792	0.776	0.787	0.809	0.839	0.800	1.000											
M80	0.796	0.817	0.822	0.787	0.804	0.804	0.787	0.745	0.809	0.771	0.783	0.848	0.857	0.795	0.870	1.000										
M81	0.771	0.771	0.753	0.783	0.821	0.821	0.784	0.825	0.804	0.768	0.763	0.884	0.894	0.879	0.863	0.839	1.000									
M82	0.761	0.783	0.787	0.795	0.813	0.791	0.753	0.796	0.774	0.758	0.791	0.769	0.778	0.828	0.835	0.876	0.848	1.000								
M83	0.796	0.735	0.758	0.745	0.763	0.742	0.747	0.808	0.788	0.772	0.784	0.845	0.854	0.817	0.825	0.821	0.878	0.809	1.000							
M84	0.771	0.750	0.731	0.717	0.758	0.779	0.701	0.845	0.804	0.808	0.779	0.863	0.809	0.857	0.779	0.796	0.833	0.826	0.898	1.000						
M85	0.722	0.763	0.745	0.731	0.750	0.708	0.694	0.816	0.755	0.800	0.771	0.771	0.737	0.761	0.750	0.745	0.763	0.753	0.848	0.887	1.000					
M86	0.784	0.784	0.766	0.710	0.771	0.750	0.694	0.755	0.755	0.760	0.771	0.813	0.779	0.739	0.792	0.830	0.804	0.796	0.869	0.866	0.857	1.000				
M87	0.784	0.763	0.766	0.731	0.750	0.729	0.714	0.755	0.755	0.780	0.750	0.833	0.821	0.804	0.813	0.851	0.825	0.774	0.909	0.866	0.857	0.939	1.000			
M88	0.784	0.763	0.745	0.753	0.792	0.750	0.735	0.755	0.776	0.760	0.813	0.833	0.821	0.848	0.833	0.830	0.825	0.839	0.869	0.845	0.837	0.857	0.787	1.000		
M89	0.792	0.792	0.774	0.783	0.800	0.800	0.742	0.722	0.784	0.747	0.800	0.800	0.787	0.791	0.884	0.860	0.813	0.848	0.837	0.813	0.784	0.845	0.845	0.887	1.000	
M90	0.787	0.766	0.769	0.733	0.753	0.753	0.758	0.716	0.758	0.701	0.774	0.817	0.848	0.809	0.839	0.835	0.851	0.822	0.869	0.809	0.758	0.821	0.842	0.863	0.894	1.000

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	EMS 0.75 %																									
	M65	M66	M67	M68	M69	M70	M71	M72	M73	M74	M75	M76	M77	M78	M79	M80	M81	M82	M83	M84	M85	M86	M87	M88	M89	M90
M91	0.710	0.711	0.719	0.717	0.739	0.766	0.723	0.766	0.750	0.783	0.761	0.769	0.818	0.826	0.800	0.817	0.831	0.821	0.796	0.766	0.766	0.830	0.851	0.839	0.835	0.710
M92	0.696	0.697	0.705	0.725	0.747	0.753	0.753	0.774	0.758	0.769	0.747	0.800	0.782	0.813	0.809	0.783	0.818	0.851	0.826	0.774	0.753	0.796	0.839	0.848	0.867	0.696
M93	0.753	0.711	0.742	0.783	0.804	0.745	0.745	0.787	0.750	0.804	0.761	0.813	0.750	0.804	0.822	0.839	0.831	0.821	0.796	0.745	0.787	0.787	0.809	0.882	0.879	0.753
M94	0.763	0.745	0.731	0.771	0.792	0.755	0.735	0.796	0.760	0.792	0.771	0.800	0.783	0.833	0.830	0.825	0.839	0.808	0.825	0.796	0.816	0.837	0.857	0.887	0.842	0.763
M95	0.737	0.717	0.725	0.681	0.681	0.667	0.750	0.708	0.735	0.702	0.681	0.710	0.689	0.745	0.739	0.779	0.769	0.742	0.737	0.729	0.750	0.750	0.729	0.800	0.753	0.737
M96	0.725	0.682	0.713	0.711	0.711	0.696	0.761	0.761	0.745	0.711	0.733	0.764	0.721	0.733	0.773	0.769	0.782	0.839	0.835	0.783	0.739	0.761	0.783	0.813	0.809	0.725
M97	0.758	0.696	0.769	0.723	0.745	0.729	0.771	0.792	0.735	0.766	0.745	0.774	0.756	0.745	0.783	0.779	0.791	0.804	0.779	0.771	0.750	0.771	0.813	0.863	0.839	0.758
M98	0.779	0.739	0.747	0.745	0.766	0.729	0.729	0.792	0.755	0.787	0.787	0.774	0.756	0.809	0.826	0.800	0.791	0.804	0.842	0.813	0.792	0.792	0.813	0.863	0.796	0.779
M99	0.737	0.696	0.703	0.702	0.702	0.729	0.708	0.771	0.735	0.766	0.766	0.774	0.733	0.766	0.783	0.800	0.703	0.804	0.758	0.792	0.771	0.792	0.771	0.800	0.796	0.737
M100	0.780	0.742	0.750	0.707	0.727	0.733	0.733	0.812	0.757	0.768	0.788	0.776	0.758	0.788	0.784	0.800	0.708	0.804	0.780	0.812	0.792	0.812	0.792	0.800	0.796	0.780
M101	0.784	0.766	0.731	0.688	0.688	0.694	0.714	0.776	0.720	0.729	0.792	0.758	0.717	0.750	0.787	0.763	0.688	0.768	0.763	0.776	0.776	0.776	0.755	0.763	0.779	0.784
M102	0.753	0.756	0.742	0.652	0.674	0.702	0.681	0.723	0.688	0.739	0.717	0.703	0.682	0.761	0.711	0.710	0.674	0.737	0.710	0.766	0.754	0.745	0.723	0.710	0.747	0.753
M103	0.739	0.764	0.750	0.637	0.659	0.667	0.688	0.712	0.653	0.703	0.703	0.711	0.690	0.769	0.764	0.696	0.750	0.723	0.696	0.731	0.731	0.753	0.753	0.739	0.756	0.739
M104	0.804	0.809	0.731	0.750	0.750	0.796	0.721	0.837	0.760	0.771	0.813	0.779	0.761	0.875	0.830	0.763	0.753	0.788	0.804	0.796	0.816	0.816	0.816	0.845	0.821	0.804
M105	0.800	0.804	0.747	0.702	0.702	0.750	0.729	0.792	0.717	0.766	0.766	0.310	0.733	0.809	0.873	0.758	0.725	0.763	0.758	0.771	0.771	0.771	0.771	0.779	0.796	0.800
M106	0.804	0.851	0.796	0.771	0.729	0.796	0.776	0.735	0.780	0.750	0.708	0.716	0.696	0.771	0.745	0.722	0.753	0.763	0.763	0.796	0.735	0.714	0.714	0.742	0.737	0.804
M107	0.809	0.813	0.800	0.753	0.731	0.737	0.779	0.800	0.763	0.796	0.774	0.739	0.764	0.753	0.791	0.745	0.756	0.771	0.787	0.758	0.779	0.779	0.758	0.766	0.783	0.809
M108	0.845	0.809	0.817	0.813	0.792	0.755	0.755	0.816	0.740	0.813	0.750	0.758	0.717	0.813	0.787	0.784	0.796	0.808	0.784	0.776	0.796	0.755	0.816	0.866	0.863	0.845
M109	0.851	0.835	0.822	0.817	0.796	0.758	0.695	0.800	0.722	0.817	0.839	0.704	0.764	0.817	0.879	0.830	0.844	0.792	0.766	0.737	0.800	0.779	0.800	0.851	0.848	0.851
M110	0.812	0.837	0.784	0.800	0.780	0.824	0.784	0.843	0.769	0.800	0.800	0.880	0.750	0.840	0.837	0.812	0.784	0.816	0.792	0.784	0.765	0.765	0.804	0.832	0.828	0.812
M111	0.817	0.844	0.809	0.739	0.696	0.702	0.702	0.702	0.708	0.739	0.761	0.725	0.705	0.783	0.822	0.774	0.809	0.758	0.753	0.745	0.787	0.787	0.766	0.774	0.769	0.817

ตารางที่ 4.21 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (M1-M32) 0.50% (M33-M55) 0.75% (M56-M85) และ 1% (M86-M111) จำนวน 111 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) (ต่อ)

	EMS 1%																				
	M91	M92	M93	M94	M95	M96	M97	M98	M99	M100	M101	M102	M103	M104	M105	M106	M107	M108	M109	M110	M111
M91	1.000																				
M92	0.921	1.000																			
M93	0.867	0.921	1.000																		
M94	0.894	0.882	0.936	1.000																	
M95	0.783	0.769	0.848	0.875	1.000																
M96	0.818	0.897	0.886	0.848	0.800	1.000															
M97	0.826	0.857	0.910	0.875	0.851	0.867	1.000														
M98	0.826	0.857	0.870	0.896	0.809	0.889	0.872	1.000													
M99	0.826	0.813	0.848	0.854	0.830	0.867	0.851	0.915	1.000												
M100	0.784	0.771	0.804	0.851	0.828	0.779	0.848	0.848	0.889	1.000											
M101	0.723	0.710	0.745	0.796	0.813	0.739	0.771	0.813	0.854	0.911	1.000										
M102	0.778	0.719	0.711	0.745	0.739	0.727	0.783	0.783	0.826	0.825	0.809	1.000									
M103	0.764	0.500	0.719	0.774	0.791	0.713	0.813	0.791	0.813	0.833	0.839	0.921	1.000								
M104	0.809	0.796	0.766	0.816	0.729	0.739	0.792	0.833	0.792	0.871	0.837	0.851	0.839	1.000							
M105	0.783	0.747	0.739	0.771	0.766	0.689	0.787	0.787	0.787	0.484	0.854	0.800	0.879	0.938	1.000						
M106	0.702	0.731	0.702	0.714	0.729	0.696	0.729	0.729	0.688	0.733	0.755	0.766	0.753	0.796	0.813	1.000					
M107	0.791	0.778	0.747	0.758	0.731	0.742	0.774	0.774	0.774	0.796	0.842	0.813	0.822	0.763	0.882	0.842	1.000				
M108	0.809	0.860	0.872	0.816	0.771	0.826	0.854	0.833	0.813	0.832	0.776	0.809	0.796	0.878	0.854	0.816	0.863	1.000			
M109	0.791	0.756	0.735	0.842	0.774	0.764	0.817	0.839	0.817	0.837	0.842	0.813	0.800	0.863	0.839	0.779	0.848	0.863	1.000		
M110	0.796	0.804	0.796	0.804	0.780	0.792	0.820	0.840	0.840	0.838	0.843	0.796	0.825	0.882	0.880	0.863	0.869	0.882	0.690	1.000	
M111	0.778	0.742	0.756	0.766	0.739	0.727	0.783	0.783	0.739	0.784	0.766	0.800	0.809	0.830	0.826	0.787	0.835	0.83	0.879	0.837	1.000

นำต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมามาทำการตรวจสอบพันธุกรรมเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมาย ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 12 ไพรเมอร์ จากการวิเคราะห์เครื่องหมาย ISSR ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและคงที่ ของต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น (C1) และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 36 ต้น (M1-M36) พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 232 แถบ ซึ่งเป็นแถบที่มีความหลากหลายจำนวน 57 แถบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 24.56% โดยจำนวนแถบดีเอ็นเอที่พบมี 15-27 แถบต่อไพรเมอร์ ซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละไพรเมอร์ โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยของแถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์เท่ากับ 19 แถบ ในจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดพบว่าดีเอ็นเอที่แตกต่างกันตั้งแต่ 3-7 แถบต่อไพรเมอร์ คิดเป็นค่าเฉลี่ย 5 แถบ เครื่องหมาย ISSR856 และ ISSR 855 มีเปอร์เซ็นต์ความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอสูงสุด คือ 31.80 % รองลงมาคือ ISSR808 และ ISSR 818 (26.7%) ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลที่เหมาะสมในการแยกความหลากหลายมากที่สุดคือ ISSR34 (ค่า PIC = 0.459) รองลงมาคือ ISSR841 (ค่า PIC = 0. 430) (ตารางที่ 4.22)

นำข้อมูลมาสร้าง dendrogram โดยวิธี UPGMA ทำให้ให้สามารถแยกกลุ่มความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ซึ่งจาก dendrogram สามารถจัดกลุ่มต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (cluster) I และ II กลุ่มใหญ่ II ซึ่งกลุ่มนี้สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย (subcluster) ได้ 4 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มย่อย IIA ประกอบด้วยต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จำนวน 14 ต้น คือ M1-M7 M12-M14 M16 M18 M19 และ M33 กลุ่มย่อย IIB มีจำนวน 13 ต้น คือ M8-M10 M17 M20-M25 M34 M35 และ M36 กลุ่มย่อย IIC มีจำนวน 9 ต้น คือ M5 M11 M26-M30 และ M31 และกลุ่มย่อย IID จำมีนวน 1 ต้น คือ M15 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม II (ภาพที่ 4.23)

การวิเคราะห์ PCoA จากไพรเมอร์ ISSR แสดงผลเป็นภาพสามมิติ พบว่า สามารถจัดกลุ่มต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น ออกเป็นกลุ่มได้ไม่ค่อยชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกับการวิเคราะห์กลุ่มโดย UPGMA cluster analysis แต่สามารถแยกต้น M25 M27 M29 M31 และ M32 ออกมาจากกลุ่มทั้งหมดได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.25) แกนทั้งสามของ PCoA อธิบายความแปรปรวนได้เท่ากับ 11.20 8.59 และ 8.07 เปอร์เซ็นต์ของความแปรปรวนทั้งหมด ตามลำดับ โดยมีผลรวมเท่ากับ 27.87 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาความเหมือนกันทางพันธุกรรมในรูปของแมททริกซ์ พบว่า Jaccard's genetic similarity coefficient ระหว่างคู่สายพันธุ์มีค่าตั้งแต่ 0.640 (M30 M34 M32 และ M9) จนไปถึง 0.921 และพบว่า ต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์มากที่สุด คือต้น M30 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม 0.640 รองลงมาคือ M34

(0.649) M32 (0.657) และ M9 (0.658) ตามลำดับ พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.23)

เมื่อนำผลของการเกิดโพลีมอร์ฟีซึมมาสร้างเป็นเดนโดแกรมโดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS (ภาพที่ 4.24) โดยพิจารณาที่ค่า similarity coefficience 0.70 พบแนวโน้นว่าสามารถเป็นกลุ่มต้นที่ศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (cluster) I และ II กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ และกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ซึ่งรวมทั้งต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา และต้นที่ไม่ได้รับปริมาณรังสีแกมมา และสำหรับในกลุ่มที่มีการกลายนั้นสามารถวิเคราะห์ความเชื่อมโยงของการเกิดโพลีมอรฟีซึมที่คล้ายคลึงกันในกลุ่มที่มีหายรูปแบบใกล้เคียงกันแม้ว่าจะมีที่มาจากปริมาณรังสีแกมมาที่แตกต่างกัน

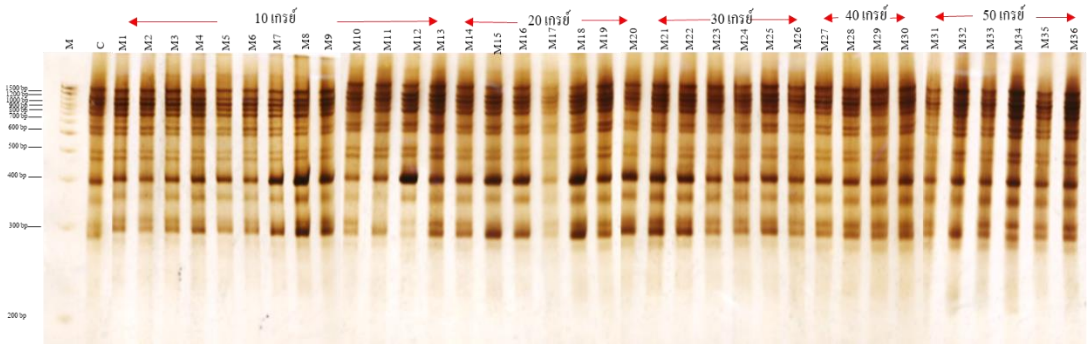
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.22 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism) ขนาดแถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น

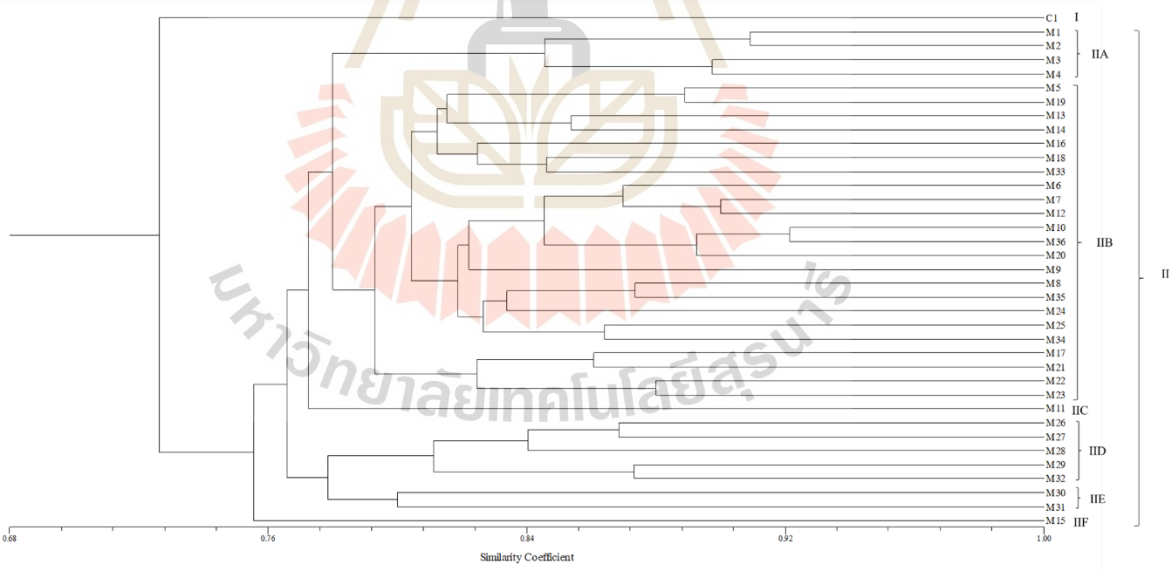
ไพรเมอร์	ลำดับเบสของไพรเมอร์	อุณหภูมิ annealing	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นที่มีความหลากหลาย	Polymorphism (%)	ค่า PIC
ISSR32	CY(CAC_5)	57.4	19	5	26.3	0.263
ISSR34	(CAG_5)RC	57.4	19	4	21.1	0.459
ISSR 11	$(GA)_8$C	57.4	15	3	20.0	0.355
ISSR836	$(AG)_8$YA	57.4	17	4	23.5	0.229
ISSR841	$(CA)_8$G	57.4	22	3	13.6	0.430
ISSR818	$(CA)_8$G	57.4	15	4	26.7	0.294
ISSR825	$(AC)_8$T	57.4	20	5	25.0	0.369
ISSR856	$(AC)_8$YA	57.4	22	7	31.8	0.294
ISSR808	$(Ag)_8$C	57.4	15	4	26.7	0.404
ISSR834	$(AG)_8$YT	57.4	19	5	26.3	0.149
ISSR846	$(GA)_8$A	57.4	27	6	22.2	0.367
ISSR855	$(AC)_8$YT	57.4	22	7	31.8	0.313
12 ไพร์เมอร์ ที่ให้แถบชัดเจนและคงที่		รวม	232	57		
		ค่าเฉลี่ย	19	5	24.6	0.327

Y คือ ไพริมิดีน (pyrimidines; C, T)

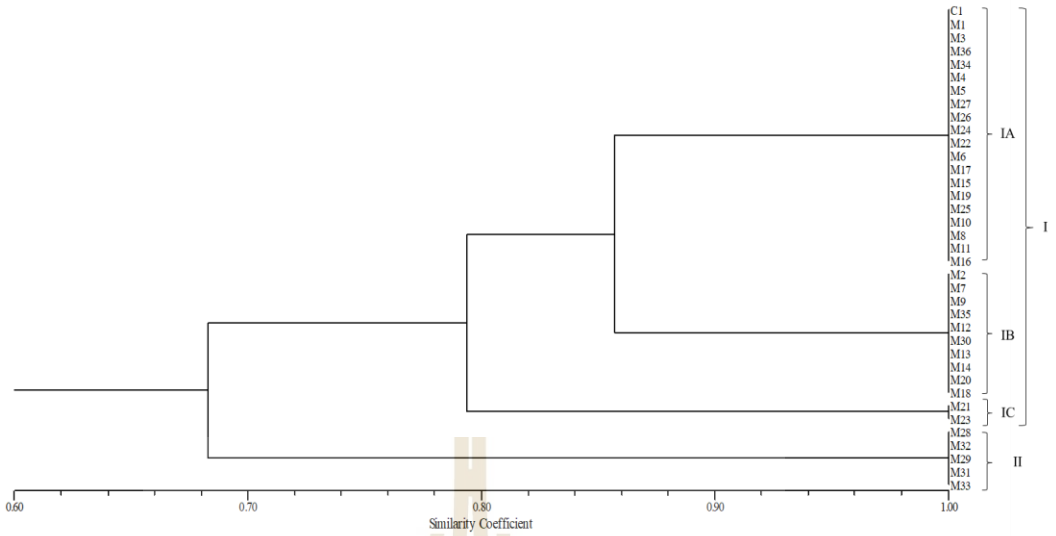
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



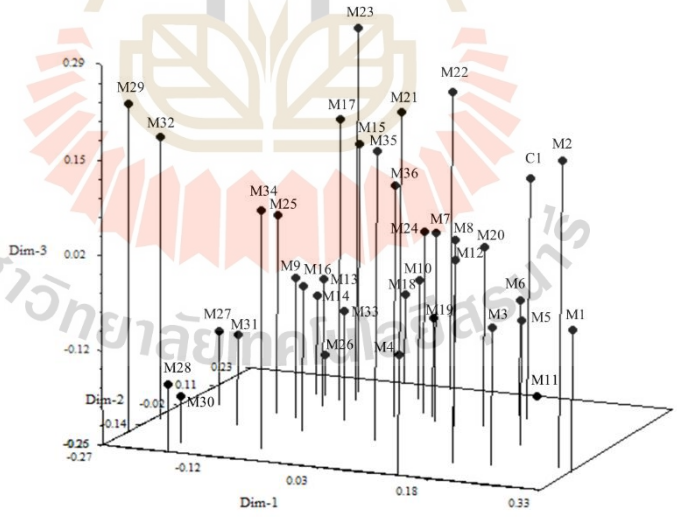
ภาพที่ 4.22 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 818 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี ปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือ ต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW, 0 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 10 ต้น



ภาพที่ 4.23 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น



ภาพที่ 4.24 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น



ภาพที่ 4.25 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)

ตารางที่ 4.23 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M13) 20 เกรย์ (M14-M20) 30 เกรย์ (M21-M26) 40 เกรย์ (M27-M30) 50 เกรย์ (M31-M36) และ 60 เกรย์ (ไม่มีการเจริญเติบโตและตาย) จำนวน 36 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)

	control	10 เกรย์													20 เกรย์										30 เกรย์						40 เกรย์				50 เกรย์					
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31	M32	M33	M34	M35	M36
control	1.000																																							
M1	0.740	1.000																																						
M2	0.757	0.909	1.000																																					
M3	0.795	0.895	0.857	1.000																																				
M4	0.773	0.821	0.810	0.897	1.000																																			
M5	0.703	0.857	0.821	0.883	0.785	1.000																																		
M6	0.750	0.773	0.816	0.800	0.779	0.842	1.000																																	
M7	0.763	0.785	0.850	0.810	0.790	0.825	0.897	1.000																																
M8	0.720	0.821	0.861	0.821	0.775	0.810	0.805	0.840	1.000																															
M9	0.658	0.709	0.750	0.759	0.741	0.800	0.795	0.829	0.790	1.000																														
M10	0.810	0.756	0.771	0.829	0.786	0.771	0.840	0.824	0.786	0.871	1.000																													
M11	0.694	0.800	0.763	0.773	0.727	0.789	0.811	0.795	0.727	0.769	0.840	1.000																												
M12	0.730	0.805	0.846	0.779	0.785	0.795	0.842	0.900	0.810	0.825	0.795	0.816	1.000																											
M13	0.711	0.734	0.750	0.734	0.765	0.750	0.769	0.805	0.741	0.805	0.824	0.769	0.825	1.000																										
M14	0.711	0.759	0.700	0.785	0.765	0.825	0.821	0.829	0.741	0.805	0.824	0.769	0.825	0.854	1.000																									
M15	0.720	0.744	0.709	0.769	0.675	0.734	0.701	0.765	0.725	0.691	0.762	0.701	0.734	0.790	0.840	1.000																								
M16	0.711	0.759	0.700	0.810	0.790	0.800	0.769	0.805	0.790	0.805	0.776	0.692	0.800	0.780	0.854	0.815	1.000																							
M17	0.730	0.753	0.769	0.805	0.734	0.821	0.763	0.825	0.759	0.800	0.819	0.737	0.821	0.775	0.850	0.835	0.850	1.000																						
M18	0.773	0.744	0.709	0.795	0.725	0.785	0.805	0.815	0.775	0.765	0.857	0.831	0.785	0.790	0.840	0.825	0.840	0.835	1.000																					
M19	0.673	0.775	0.765	0.800	0.756	0.889	0.835	0.843	0.829	0.795	0.791	0.810	0.815	0.819	0.867	0.780	0.819	0.790	0.854	1.000																				
M20	0.785	0.854	0.867	0.854	0.813	0.819	0.864	0.871	0.857	0.800	0.886	0.815	0.867	0.824	0.824	0.786	0.824	0.867	0.833	0.837	1.000																			
M21	0.747	0.795	0.810	0.744	0.725	0.759	0.727	0.790	0.775	0.741	0.786	0.779	0.810	0.790	0.790	0.775	0.741	0.861	0.800	0.756	0.857	1.000																		
M22	0.757	0.753	0.846	0.753	0.709	0.769	0.842	0.825	0.785	0.800	0.843	0.816	0.795	0.775	0.775	0.759	0.700	0.821	0.810	0.790	0.819	0.835	1.000																	
M23	0.732	0.703	0.800	0.730	0.732	0.747	0.795	0.831	0.747	0.805	0.800	0.740	0.757	0.763	0.763	0.737	0.737	0.827	0.763	0.779	0.800	0.816	0.800	1.000																
M24	0.740	0.763	0.779	0.816	0.769	0.753	0.827	0.886	0.821	0.785	0.829	0.773	0.779	0.785	0.785	0.795	0.810	0.753	0.746	0.825	0.829	0.744	0.805	0.838	1.000															
M25	0.701	0.725	0.815	0.775	0.756	0.765	0.835	0.892	0.805	0.743	0.837	0.759	0.815	0.843	0.843	0.780	0.771	0.815	0.829	0.833	0.837	0.805	0.840	0.846	0.850	1.000														
M26	0.703	0.727	0.718	0.779	0.785	0.744	0.789	0.825	0.734	0.775	0.819	0.842	0.769	0.750	0.750	0.759	0.750	0.769	0.861	0.815	0.795	0.759	0.821	0.747	0.831	0.815	1.000													
M27	0.750	0.720	0.771	0.800	0.779	0.737	0.811	0.821	0.727	0.821	0.864	0.784	0.763	0.769	0.769	0.727	0.795	0.816	0.831	0.759	0.840	0.753	0.789	0.795	0.800	0.835	0.868	1.000												
M28	0.667	0.773	0.763	0.773	0.805	0.737	0.757	0.795	0.805	0.821	0.765	0.730	0.789	0.846	0.846	0.701	0.795	0.737	0.753	0.785	0.790	0.727	0.737	0.722	0.800	0.835	0.816	0.865	1.000											
M29	0.704	0.676	0.747	0.757	0.763	0.720	0.712	0.779	0.763	0.805	0.750	0.630	0.773	0.779	0.779	0.737	0.805	0.827	0.763	0.744	0.750	0.789	0.800	0.817	0.757	0.821	0.747	0.822	0.849	1.000										
M30	0.640	0.718	0.684	0.744	0.750	0.709	0.701	0.741	0.750	0.765	0.786	0.727	0.709	0.716	0.716	0.673	0.765	0.734	0.750	0.732	0.762	0.750	0.684	0.893	0.692	0.805	0.759	0.805	0.805	0.763	1.000									
M31	0.667	0.744	0.759	0.718	0.725	0.709	0.753	0.790	0.725	0.741	0.786	0.753	0.759	0.790	0.790	0.725	0.691	0.734	0.750	0.732	0.786	0.750	0.734	0.737	0.718	0.854	0.759	0.831	0.831	0.737	0.800	1.000								
M32	0.657	0.712	0.730	0.767	0.747	0.730	0.694	0.763	0.720	0.737	0.734	0.667	0.757	0.737	0.737	0.800	0.737	0.838	0.720	0.727	0.759	0.800	0.784	0.789	0.712	0.779	0.811	0.833	0.806	0.873	0.720	0.773	1.000							
M33	0.767	0.789	0.753	0.816	0.744	0.805	0.800	0.835	0.795	0.810	0.829	0.773	0.831	0.810	0.810	0.769	0.810	0.831	0.846	0.800	0.829	0.812	0.779	0.730	0.789	0.850	0.779	0.800	0.827	0.784	0.795	0.795	0.767	1.000						
M34	0.649	0.727	0.769	0.779	0.759	0.769	0.763	0.825	0.785	0.775	0.771	0.684	0.744	0.725	0.735	0.709	0.800	0.769	0.759	0.815	0.795	0.709	0.744	0.800	0.805	0.864	0.744	0.789	0.789	0.800	0.759	0.734	0.757	0.779	1.000					
M35	0.756	0.776	0.837	0.800	0.805	0.767	0.786	0.841	0.874	0.818	0.835	0.738	0.791	0.773	0.773	0.781	0.818	0.791	0.805	0.831	0.835	0.782	0.814	0.829	0.847	0.854	0.767	0.738	0.786	0.819	0.782	0.759	0.732	0.776	0.860	1.000		
M36	0.800	0.771	0.810	0.819	0.800	0.786	0.854	0.860	0.800	0.814	0.921	0.756	0.833	0.814	0.860	0.800	0.814	0.833	0.800	0.805	0.899	0.800	0.833	0.815	0.819	0.851	0.762	0.829	0.756	0.790	0.776	0.800	0.775	0.819	0.833	0.891	1.000	

นำต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมามาทำการตรวจสอบพันธุกรรมเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ ด้วยเครื่องหมาย ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 12 ไพรเมอร์ จากการวิเคราะห์เครื่องหมาย ISSR ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและคงที่ ของต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น (C1) และต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 43 ต้น (M1-M43) พบแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 249 แถบ ซึ่งเป็นแถบที่มีความหลากหลายจำนวน 46 แถบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 18.47 เปอร์เซ็นต์ โดยจำนวนแถบดีเอ็นเอที่พบมี 16-26 แถบต่อไพรเมอร์ ซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละไพรเมอร์ โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยของแถบดีเอ็นเอต่อไพรเมอร์เท่ากับ 21 แถบ ในจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดพบว่าดีเอ็นเอที่แตกต่างกันตั้งแต่ 3-6 แถบต่อไพรเมอร์ คิดเป็นค่าเฉลี่ย 4 แถบ เครื่องหมาย ISSR34 มีเปอร์เซ็นต์ความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอสูงสุดคือ 30.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ISSR855 (26.1 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลที่เหมาะสมในการแยกความหลากหลายมากที่สุดคือ ISSR825 (ค่า PIC = 0.472) รองลงมาคือ ISSR836 (ค่า PIC = 0. 450) (ตารางที่ 4.24)

นำข้อมูลมาสร้าง dendrogram โดยวิธี UPGMA ส่งผลให้สามารถแยกกลุ่มความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ซึ่งจาก dendrogram สามารถจัดกลุ่มต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (cluster) I และ II กลุ่มใหญ่ ซึ่ง II สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย (subcluster) ได้ 5 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มย่อย IIA ประกอบด้วยต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่จำนวน 11 ต้น คือ M1 M3- M10 M38 และ M41 กลุ่มย่อย IIB จำนวน 16 ต้น คือ M2 M14 M15 M25- M35 M42 และ M43 กลุ่มย่อย IIC จำนวน 8 ต้น คือ M16 M18- M23 และ M24 กลุ่มย่อย IID จำนวน 3 ต้น คือ M11-M13 กลุ่มย่อย IIE จำนวน 3 ต้น คือ M37 M39- M40 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม II (ภาพที่ 4.27)

การวิเคราะห์ PCoA จากไพร เมอร์ ISSR แสดงผลเป็นภาพสามมิติ พบว่าสามารถจัดกลุ่มต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น ออกเป็นกลุ่มได้ไม่ค่อยชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกับการวิเคราะห์กลุ่มโดย UPGMA cluster analysis แต่สามารถแยกต้น M22 M23 และ M39 ออกมาจากกลุ่มทั้งหมดได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.29) แกนทั้งสามของ PCoA อธิบายความแปรปรวน 15.62 13.11 และ 9.22 เปอร์เซ็นต์ ของความแปรปรวนทั้งหมด ตามลำดับ โดยมีผลรวม 38.65 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาความเหมือนกันทางพันธุกรรมในรูปของแมททริกซ์พบว่า Jaccard’s genetic similarity coefficient ระหว่างคู่สายพันธุ์มีค่าตั้งแต่ 0.633 (M22 M23 และ M39) จนไปถึง 0.956 และพบว่า ต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์มากที่สุด คือต้น M17 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม 0.677 รองลงมาคือ M11

(0.645) และ M16 M19 (0.656) และ M40 (0.689) ตามลำดับ พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ตารางที่ 4.19)

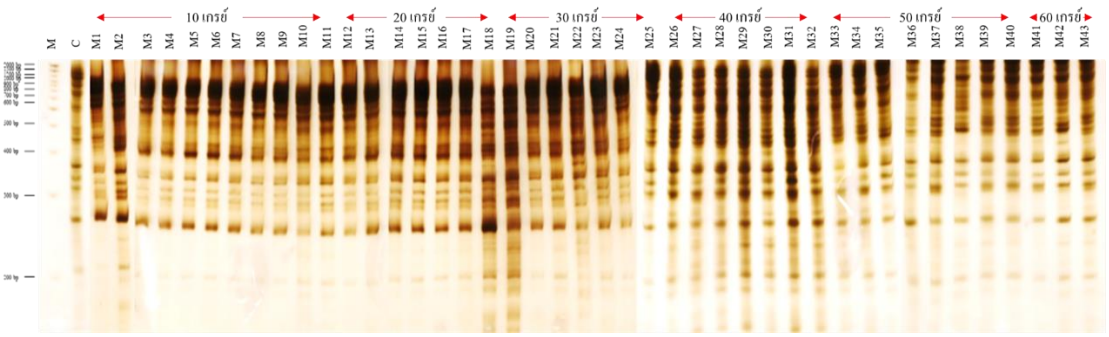
เมื่อนำผลของการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมมาสร้างเป็นเดนโดแกรมโดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYS (ภาพที่ 4.28) โดยพิจารณาที่ค่า similarity coefficience 0.68 พบแนวโน้นว่าสามารถเป็นกลุ่มต้นที่ศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (cluster) I และ II กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของลักษณะสียอด ลักษณะแผ่นใบ และจำนวนแฉกใบ และกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ซึ่งรวมทั้งต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา และต้นที่ไม่ได้รับปริมาณรังสีแกมมา และสำหรับในกลุ่มที่มีการกลายนั้นสามารถวิเคราะห์ความเชื่อมโยงของการเกิดโพลีมอรฟิซึมที่คล้ายคลึงกันในกลุ่มที่มีหายรูปแบบใกล้เคียงกันแม้ว่าจะมีที่มาจากปริมาณรังสีแกมมา ที่แตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

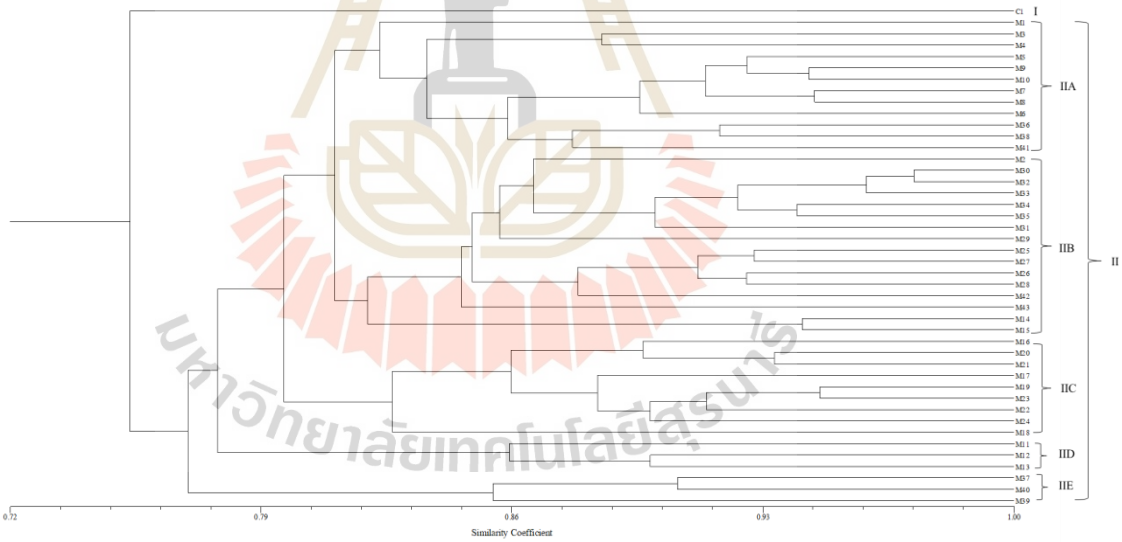
ตารางที่ 4.24 ลำดับไพรเมอร์ อุณหภูมิ annealing จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลาย (polymorphic) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลาย (polymorphism) ขนาดแถบดีเอ็นเอ และค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมาย ISSR สำหรับวิเคราะห์ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 1 ต้น

ไพรเมอร์	ลำดับเบสของไพรเมอร์	อุณหภูมิ annealing	จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด	จำนวนแถบดีเอ็นที่มีความหลากหลาย	Polymorphism (%)	ค่า PIC
ISSR32	CY(CAC_5)	57.4	19	3	15.8	0.301
ISSR34	(CAG_5)RC	57.4	20	6	30.0	0.176
ISSR 811	$(GA)_8$C	57.4	22	3	13.6	0.345
ISSR836	$(AG)_8$YA	57.4	20	2	10.0	0.450
ISSR841	$(CA)_8$G	57.4	21	3	14.3	0.184
ISSR818	$(CA)_8$G	57.4	18	3	16.7	0.386
ISSR825	$(AC)_8$T	57.4	16	6	37.5	0.472
ISSR856	$(AC)_8$YA	57.4	19	3	15.8	0.423
ISSR808	$(Ag)_8$C	57.4	26	3	11.5	0.330
ISSR834	$(AG)_8$YT	57.4	18	4	22.2	0.304
ISSR846	$(GA)_8$A	57.4	27	4	14.8	0.250
ISSR855	$(AC)_8$YT	57.4	23	6	26.1	0.361
12 ไพร์เมอร์ ที่ให้แถบชัดเจนและคงที่		รวม	249	46		
		ค่าเฉลี่ย	19	4	19.0	0.332

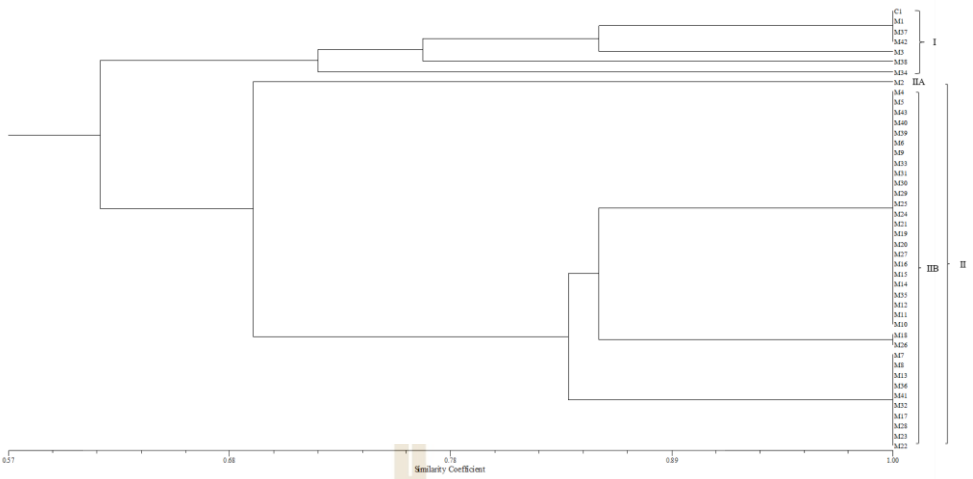
Y คือ ไพริมิดีน (pyrimidines; C, T)



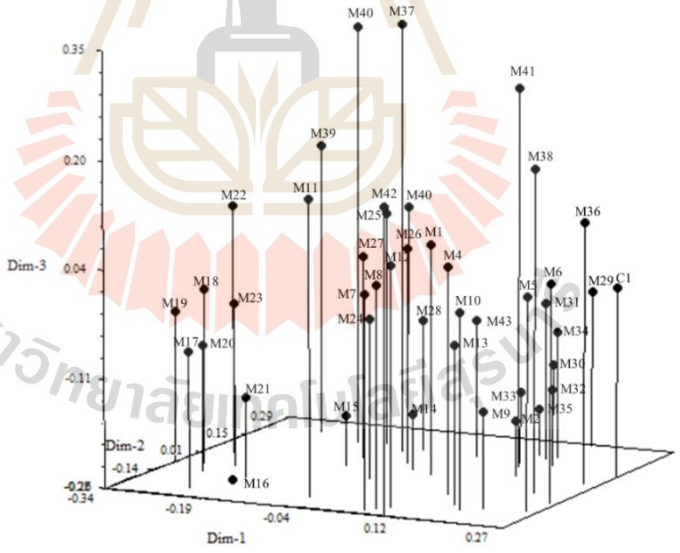
ภาพที่ 4.26 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมาย ISSR 836 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 0.10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 เปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอกับ (M); 100 bp DNA ladder โดย C คือ ต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (ROW, 0 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีรูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันหมดทั้ง 10 ต้น



ภาพที่ 4.27 Dendrogram ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 10 ต้น



ภาพที่ 4.28 Dendrogram ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1) จำนวน 10 ต้น



ภาพที่ 4.29 Principle coordinate analysis (PCoA) แบบ 3 มิติของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 จากเครื่องหมาย ISSR ระหว่างต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย การฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; control (C1)

ตารางที่ 4.25 แมททริกซ์ความคล้ายคลึงกัน (similarity matrix) ทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังพันธ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์ (M1-M11) 20 เกรย์ (M12-M18) 30 เกรย์ (M19-M25) 40 เกรย์ (M26-M32) 50 เกรย์(M33-M40) และ 60 เกรย์ (M41-M43) จำนวน 43 ต้น และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์(ROW; control (C1)

	control	10 เกรย์											20 เกรย์							30 เกรย์							40 เกรย์							50 เกรย์								60 เกรย์		
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27	M28	M29	M30	M31	M32	M33	M34	M35	M36	M37	M38	M39	M40	M41	M42	M43
control	1.000
M1	0.774	1.000
M2	0.814	0.825	1.000
M3	0.690	0.806	0.746	1.000
M4	0.787	0.831	0.806	0.885	1.000
M5	0.820	0.800	0.839	0.787	0.844	1.000
M6	0.857	0.806	0.844	0.762	0.848	0.090	1.000
M7	0.769	0.841	0.818	0.862	0.912	0.882	0.886	1.000
M8	0.769	0.841	0.818	0.831	0.853	0.912	0.886	0.944	1.000
M9	0.794	0.806	0.875	0.794	0.879	0.939	0.912	0.914	0.943	1.000
M10	0.800	0.812	0.818	0.831	0.853	0.912	0.886	0.889	0.944	0.943	1.000
M11	0.645	0.727	0.730	0.774	0.738	0.769	0.716	0.783	0.783	0.746	0.783	1.000
M12	0.730	0.806	0.750	0.825	0.818	0.818	0.824	0.829	0.857	0.824	0.857	0.866	1.000
M13	0.750	0.824	0.800	0.813	0.806	0.836	0.841	0.845	0.817	0.841	0.845	0.853	0.899	1.000
M14	0.762	0.806	0.844	0.730	0.818	0.818	0.824	0.829	0.829	0.853	0.800	0.687	0.735	0.783	1.000
M15	0.730	0.836	0.813	0.730	0.788	0.788	0.794	0.800	0.800	0.824	0.771	0.687	0.735	0.783	0.941	1.000
M16	0.656	0.735	0.769	0.688	0.776	0.776	0.754	0.845	0.817	0.841	0.817	0.706	0.725	0.771	0.812	0.841	1.000
M17	0.677	0.788	0.794	0.774	0.800	0.800	0.716	0.841	0.841	0.806	0.783	0.758	0.746	0.765	0.836	0.866	0.852	1.000
M18	0.633	0.750	0.754	0.733	0.776	0.730	0.708	0.806	0.806	0.769	0.746	0.719	0.769	0.697	0.769	0.769	0.818	0.875	1.000
M19	0.656	0.824	0.800	0.750	0.776	0.746	0.725	0.817	0.817	0.783	0.789	0.765	0.783	0.771	0.812	0.841	0.857	0.912	0.879	1.000
M20	0.677	0.783	0.788	0.769	0.824	0.794	0.771	0.889	0.889	0.857	0.861	0.783	0.800	0.789	0.800	0.800	0.901	0.870	0.836	0.901	1.000
M21	0.735	0.778	0.754	0.735	0.817	0.761	0.795	0.853	0.827	0.822	0.827	0.722	0.767	0.784	0.822	0.849	0.892	0.833	0.771	0.865	0.933	1.000
M22	0.710	0.818	0.730	0.742	0.800	0.708	0.716	0.783	0.754	0.716	0.754	0.727	0.746	0.765	0.776	0.776	0.765	0.848	0.781	0.912	0.841	0.861	1.000
M23	0.735	0.861	0.812	0.765	0.845	0.789	0.795	0.853	0.853	0.822	0.827	0.806	0.849	0.811	0.822	0.849	0.865	0.889	0.857	0.946	0.933	0.923	0.917	1.000
M24	0.758	0.857	0.836	0.818	0.870	0.841	0.817	0.849	0.849	0.845	0.849	0.829	0.873	0.889	0.817	0.817	0.806	0.886	0.794	0.889	0.849	0.842	0.886	0.921	1.000
M25	0.794	0.806	0.781	0.762	0.848	0.758	0.794	0.829	0.829	0.794	0.800	0.716	0.765	0.725	0.824	0.824	0.783	0.836	0.831	0.812	0.829	0.849	0.836	0.877	0.817	1.000
M26	0.742	0.788	0.794	0.677	0.800	0.738	0.746	0.783	0.783	0.776	0.783	0.727	0.746	0.735	0.806	0.806	0.794	0.788	0.813	0.824	0.812	0.806	0.818	0.861	0.800	0.925	1.000
M27	0.750	0.824	0.800	0.750	0.866	0.806	0.841	0.873	0.845	0.841	0.817	0.765	0.812	0.800	0.841	0.841	0.829	0.824	0.813	0.857	0.873	0.865	0.853	0.919	0.861	0.928	0.912	1.000
M28	0.730	0.836	0.750	0.730	0.818	0.788	0.794	0.829	0.829	0.824	0.800	0.776	0.794	0.812	0.853	0.824	0.812	0.836	0.800	0.841	0.829	0.795	0.806	0.877	0.873	0.882	0.835	0.928	1.000
M29	0.772	0.754	0.828	0.667	0.767	0.767	0.742	0.719	0.719	0.774	0.781	0.689	0.710	0.794	0.742	0.710	0.698	0.721	0.678	0.730	0.688	0.687	0.754	0.746	0.831	0.774	0.852	0.794	0.871	1.000
M30	0.831	0.812	0.848	0.738	0.853	0.853	0.857	0.833	0.833	0.886	0.861	0.754	0.829	0.845	0.857	0.829	0.789	0.754	0.746	0.789	0.806	0.827	0.754	0.853	0.877	0.857	0.870	0.901	0.886	0.875	1.000
M31	0.806	0.788	0.825	0.774	0.862	0.800	0.806	0.812	0.783	0.836	0.812	0.727	0.806	0.824	0.806	0.776	0.765	0.758	0.781	0.765	0.754	0.778	0.758	0.806	0.829	0.866	0.879	0.824	0.836	0.852	0.899	1.000
M32	0.831	0.812	0.879	0.738	0.853	0.853	0.857	0.833	0.833	0.886	0.861	0.754	0.829	0.845	0.857	0.829	0.817	0.783	0.776	0.789	0.806	0.827	0.754	0.853	0.877	0.886	0.899	0.901	0.914	0.875	0.972	0.928	1.000
M33	0.788	0.857	0.866	0.758	0.841	0.841	0.845	0.822	0.822	0.873	0.849	0.743	0.817	0.861	0.873	0.873	0.806	0.800	0.735	0.833	0.795	0.842	0.800	0.868	0.919	0.845	0.857	0.889	0.901	0.862	0.959	0.886	0.959	1.000
M34	0.806	0.879	0.889	0.774	0.862	0.831	0.836	0.812	0.812	0.866	0.841	0.697	0.776	0.824	0.836	0.836	0.794	0.818	0.750	0.794	0.754	0.778	0.788	0.833	0.886	0.866	0.848	0.853	0.896	0.885	0.899	0.909	0.928	0.943	1.000
M35	0.806	0.879	0.889	0.710	0.800	0.800	0.806	0.783	0.783	0.836	0.783	0.667	0.746	0.794	0.836	0.836	0.765	0.788	0.750	0.794	0.754	0.806	0.758	0.833	0.857	0.836	0.818	0.824	0.866	0.820	0.899	0.879	0.928	0.943	0.939	1.000
M36	0.806	0.848	0.825	0.806	0.892	0.923	0.896	0.870	0.870	0.796	0.899	0.727	0.806	0.824	0.836	0.806	0.765	0.758	0.719	0.735	0.783	0.778	0.727	0.806	0.829	0.836	0.818	0.853	0.836	0.820	0.899	0.879	0.899	0.886	0.909	0.848	1.000
M37	0.721	0.800	0.710	0.712	0.813	0.781	0.818	0.824	0.794	0.758	0.765	0.738	0.727	0.716	0.758	0.758	0.716	0.738	0.762	0.776	0.765	0.761	0.800	0.817	0.754	0.879	0.862	0.896	0.818	0.733	0.794	0.800	0.794	0.783	0.800	0.738	0.862	1.000
M38	0.807	0.820	0.828	0.807	0.867	0.867	0.871	0.875	0.844	0.839	0.844	0.689	0.742	0.730	0.774	0.742	0.698	0.721	0.678	0.730	0.781	0.746	0.721	0.776	0.769	0.806	0.754	0.825	0.774	0.714	0.813	0.787	0.813	0.800	0.820	0.787	0.918	0.833	1.000
M39	0.712	0.762	0.767	0.644	0.742	0.677	0.719	0.727	0.758	0.719	0.727	0.698	0.688	0.646	0.781	0.781	0.738	0.794	0.820	0.831	0.788	0.754	0.794	0.841	0.746	0.876	0.857	0.831	0.813	0.724	0.758	0.794	0.788	0.746	0.794	0.762	0.762	0.871	0.759	1.000
M40	0.689	0.800	0.667	0.689	0.719	0.750	0.727	0.735	0.765	0.697	0.735	0.738	0.697	0.716	0.727	0.758	0.687	0.800	0.730	0.806	0.735	0.732	0.831	0.817	0.812	0.818	0.800	0.806	0.788	0.767	0.765	0.738	0.735	0.783	0.800	0.738	0.800	0.906	0.733	0.839	1.000
M41	0.767	0.844	0.787	0.800	0.825	0.857	0.831	0.806	0.839	0.800	0.836	0.750	0.800	0.818	0.769	0.738	0.667	0.781	0.742	0.788	0.746	0.714	0.813	0.800	0.882	0.831	0.813	0.818	0.831	0.847	0.836	0.844	0.836	0.853	0.875	0.813	0.906	0.857	0.847	0.787	0.889	1.000
M42	0.738	0.812	0.758	0.738	0.794	0.824	0.829	0.833	0.861	0.800	0.833	0.754	0.829	0.789	0.829	0.800	0.761	0.783	0.776	0.817	0.833	0.827	0.812	0.880	0.849	0.886	0.870	0.901	0.857	0.750	0.889	0.812	0.889	0.877	0.812	0.812	0.870	0.853	0.813	0.788	0.824	0.866	1.000
M43	0.774	0.758	0.794	0.710	0.769	0.800	0.746	0.783	0.812	0.806	0.841	0.727	0.746	0.765	0.806	0.746	0.765	0.788	0.750	0.765	0.783	0.778	0.788	0.806	0.829	0.866	0.848	0.824	0.836	0.820	0.870	0.848	0.889	0.857	0.848	0.818	0.818	0.738	0.754	0.762	0.738	0.813	0.870	1.000

บทที่ 5
สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 โดยการชักนำให้เกิดต้น ทำการเปรียบเทียบอิทธิพลของพันธุ์ และอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงมันสำปะหลัง เพื่อที่จะนำสูตรอาหารที่เหมาะสมไปใช้ต่อในการเพาะเลี้ยงหลังจากการก่อกลายพันธุ์โดยวิธีการใช้สารเคมีและการฉายรังสีแกมมา สรุป และวิจารณ์ผลที่เกิดได้ดังนี้

5.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดต้นของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 พบว่า การนำข้อมันสำปะหลังมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้เกิดต้น ได้เนื่องจากอาหารแข็งสูตร MS มีธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่ถ้าหากไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้นใหม่ที่เกิดขึ้นจะไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (คำนูญ กาญจนภูมิ, 2544; สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2544)

จากการเพาะเลี้ยงข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง60 และพันธุ์ระยอง 72 พบอิทธิพลร่วม ได้แก่ พันธุ์มันสำปะหลัง 2 พันธุ์ และสูตรอาหารต้องการชักนำให้เกิดต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ความสูงต้น และจำนวนราก โดยพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS เติม BA 0.1 มก/ล. ร่วม 1.0 kin 1.0 มก/ล. และ NAA 0.05 มก/ล. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นสูงสุด (75.00%) และอาหารสูตร MS เติม 1.0BA มก/ล. ร่วม 0.1Kin มก/ล. ร่วม 8 2,4-D มก/ล. ทำให้เกิดแคลลัสสูงสุด (54.00%) และพบว่าสูตรอาหาร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้ความสูงต้นสูงสุด (5.96 ซม.) และยังพบว่าสูตรอาหาร MS ร่วม 0.1BA มก/ล. ร่วม 1.0Kin มก/ล. ร่วม 0.05NAA มก/ล. ทำให้จำนวนรากสูงสุด (3.20 ราก) มากที่สุด เช่นเดียวกับงานทดลอง Mingxia Fan *et al*, (2010) ที่พบว่าอาหารชักนำให้เกิดต้นมันสำปะหลังในอาหาร MS ที่เติม BA 0-2.0 มก/ล. ช่วยส่งเสริมให้เกิดยอดในมันสำปะหลังได้ดี และ NAA 0-2.0 มก/ล. ช่วยส่งเสริมให้มีการพัฒนาเป็นรากได้ดี แต่อย่างไรก็ตามการเติม BA และNAA ที่เติมน้ำตาล 6% ช่วยให้เกิดยอดมากที่สุด (71.43%) สอดคล้องกับ Alla *et al*, (2013) ซึ่งพบว่า อาหาร MS ที่เติม BA และ Kin 0.1 0.3 0.5 และ 1.0 มก/ล.

เสริมด้วย NAA 0.05 มก/ล. ช่วยชักนำให้มันสำปะหลังเกิดยอดสูงสุด (5.67 ยอด) และนอกจากนี้จะเห็นได้ว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนิน ในอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิดมีผลกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยงสามารถเจริญ และพัฒนาเป็นอวัยวะหรือยอดใหม่จำนวนมากได้ (นภดล จรัสสัมทธิ์, 2537)

5.2 การก่อกลายพันธุ์ข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง60 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยเอธิล-มีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulfonat; EMS) และการฉายรังสีแกมมา

EMS เป็นสารเคมีที่นิยมใช้ก่อกลายพันธุ์พืชหลายชนิด และสามารถก่อกลายพันธุ์ในเนื้อเยื่อพืชได้หลากหลาย อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จของการก่อกลายพันธุ์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ธรรมชาติของเนื้อเยื่อพืช (ชนิดของเนื้อเยื่อ ขนาดเนื้อเยื่อและอายุของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ) (ประภาศรีพิจิตต์ และคณะ, 2537) ซึ่งปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวมานั้น เป็นองค์ประกอบที่ส่งเสริมความมีประสิทธิภาพและความเหมาะสมของการก่อกลายพันธุ์พืชชนิดนั้น ๆ

ความเข้มข้นของสารเคมีก่อกลายพันธุ์ที่เหมาะสมมีผลต่อการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืช โดยการใช้สารก่อกลายพันธุ์ความเข้มข้นสูง จะส่งผลให้เกิดอัตราการกลายพันธุ์สูง แต่การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืชจะลดลง ในทางตรงกันข้าม การใช้สารก่อกลายพันธุ์ความเข้มข้นต่ำ ส่งผลให้เกิดอัตราการกลายพันธุ์ต่ำ แต่การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อจะสูงขึ้น ดังนั้นการใช้ความเข้มข้นของสารก่อกลายพันธุ์ที่เหมาะสมจึงจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากทำให้มีจำนวนเนื้อเยื่อพืชที่รอดชีวิตในปริมาณที่เหมาะสม และมีโอกาสพบต้นกลายพันธุ์ที่ต้องการ สำหรับการทดลองนี้ได้ ความเข้มข้นของ EMS ที่เหมาะสมต่อการก่อกลายพันธุ์ ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และระยอง 72 (LD_{50}) สำหรับการแช่ข้อมันสำปะหลังใน EMS นาน 1 ชั่วโมง จากการวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า EMS ความเข้มข้น 0.90% (EMS) เหมาะสมสำหรับก่อกลายพันธุ์โซมาติกเอ็มบริโอมันสำปะหลัง (Magaia *et al*., 2015) เช่นเดียวกันกับ Dhakshanamoorthy *et al* (2010) ซึ่งพบว่า EMS ความเข้มข้น 4% เหมาะสมสำหรับก่อกลายพันธุ์เมล็ดสบู่ดำ อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบการก่อกลายพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง60 และพันธุ์ระยอง 72 ในงานวิจัยนี้มีค่า (LD_{50}) คือ 0.91 และ0.25% ตามลำดับ เช่นเดียวกับการก่อกลายพันธุ์ในโซมาติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) ซึ่งความเข้มข้นของ EMS ที่เหมาะสม (LD_{50}) ทำให้โซมาติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันรอดชีวิต 50% คือ 0.81% โดยแช่เป็นเวลานาน 90 นาที (ชญานีย์ สังวาล, 2557) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ EMS ที่ใช้ในการก่อกลายพันธุ์ ขึ้นอยู่กับพันธุ์พืชและชนิดเนื้อเยื่อพืช จึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในแต่ละพืช

รังสีแกมมา นิยมนำมาใช้ก่อกลายพันธุ์พืชหลายชนิด ซึ่งรังสีทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชขึ้นได้นั้น ก็เนื่องมาจากรังสีเป็นคลื่นที่มีพลังงานสูง ดังนั้นเมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง จะถ่ายเท

พลังงานให้กับตัวกลางนั้น โดยในส่วนของพืชนั้นตำแหน่งที่สำคัญ คือ เซลล์แต่ละเซล์ของพืช โดยเฉพาะในช่วงเวลาที่มีการแบ่งตัว ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ ผลของรังสีอาจไปทำลายหรือช่วยซ่อมแซมเซลล์ได้ ทำให้พืชมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกระบวนการทางเคมีในเซลล์พืชเปลี่ยนแปลงไป (kim, 2004; kovacs and Keresztes, 2002)

ปริมาณรังสีแกมมา ก่อกลายพันธุ์ที่เหมาะสม มีผลต่อการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืช สำหรับการทดลองนี้ได้ ปริมาณรังสีแกมมา ที่เหมาะสมต่อการก่อกลายพันธุ์ ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 (LD_{50}) งานวิจัยที่ผ่านมาศึกษาปริมาณรังสีที่เหมาะสมกับมันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ ในสภาพหลอดทดลอง พบว่า รังสีแกมมา ที่ระดับปริมาณ 6 เกรย์ (LD_{50}) เหมาะสมสำหรับก่อกลายพันธุ์ข้อมันสำปะหลัง (Ndofunsu *et al*, 2015) เช่นเดียวกับ Magaia *et al*, 2015 ซึ่งค้นพบว่ารังสีแกมมาที่ปริมาณ 30 เกรย์ เหมาะสมสำหรับก่อกลายพันธุ์โซมาติกเอ็มบริโอมันสำปะหลัง อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบการก่อกลายพันธุ์ข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 จากการทดลองนี้พบว่า (LD_{50}) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ คือ 25 และ 35 เกรย์ ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการก่อกลายพันธุ์ในมันเทศประดับ (ornamental sweet potato) ซึ่งได้รับปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน (LD_{50}) พบว่า มันเทศประดับที่ได้รับรังสี 20 เกรย์ ทำให้สีของลำต้นปลี่ยนแปลงไป และใบมีลักษณะเป็นสีเขียวอ่อนซึ่งเปลี่ยนแปลงไปจากต้นที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ (นุชรัฐ บาลลา และคณะ, 2559)

การคัดเลือกและตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

หลังจากก่อกลายพันธุ์ข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยสารก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% โดยใช้ ROW เป็น control จากนั้นนำชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS เติม BA 0.1 มก/ล. ร่วม 1.0 kin 1.0 มก/ล. และ NAA 0.05 มก/ล. พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาในสภาพหลอดทดลอง ที่อายุ 30 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ความสูงต้น จำนวนใบ จำนวนราก ไม่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การรอดสูงสุด (85.54%) รองลงมาคือต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% มีเปอร์เซ็นต์การรอด (58.53 45.02 31.51 และ 22.51% ตามลำดับ) หลังจากย้ายปลูกอายุ 3 เดือน พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการเช่น ความสูงต้น จำนวนใบ เส้นผ่าศูนย์กลางต้น และปริมาณคลอโรฟิลล์ มีความแตกต่างกันโดยต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS 0.25 0.50 0.75 และ 1% มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงมากที่สุด ซึ่งผลที่แตกต่างอาจเกิดจากสิ่งแวดล้อม หรืออาจเป็นผลมาจากความเป็นพิษ (toxicity) ของสารก่อกลายพันธุ์ EMS จึงมีการทดสอบในระดับดีเอ็นเอ

มีรายงานการใช้ EMS ในพืชหลายชนิด ซึ่งพบว่าการใช้ EMS ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชที่ศึกษาได้ โดยการใช้ EMS ในกล็อกซิเนีย สายพันธุ์ *Sinningia speciose* ความเข้มข้น 0.88% นาน 60 นาที และ 0.73% นาน 90 นาที พบลักษณะยอดรวมที่ผิดปกติ

เช่น ยอดรวมมีขนาดเล็ก ใบเขียวอ่อน ใบซีด (ยุพาภรณ์ ศิริโสม และสมปอง เตชะโต, 2551) และพบว่าเมื่อได้รับความเข้มข้นสาร EMS เพิ่มขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง เมื่อได้รับความเข้มข้น EMS ลดลงทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการทดลองในพืชอื่น ๆ (Magaia *et al*., 2015; More and Borkar, 2016; *Seerangan et al*, 2014 และ Velmurugan *et al*., 2010) และการใช้EMS ความเข้มข้นต่ำส่งเสริมให้ต้นกล้ากระเจี๊ยบมีความสูงมากขึ้น (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.) Gupta *et al*, (2016) และสามารถกระตุ้นรากให้เกิดความผิดปกติได้โดย พบว่า มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) มีลำต้นเตี้ย ลำต้นอวบและเกิดกิ่งแขนง วิทยา พรหมมี, (2541) พบว่า ความเข้มข้นสาร 0.75% EMS ช่วยส่งเสริมการสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสรวมกับโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุดของปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) ได้ (ชญานีย์ สังวาล และ สมปอง เตชะโต, 2557) ส่วนการใช้ EMS ในเมล็ดข้าว (*Oryza sativa L.*) ความเข้มข้น 0.5% นาน 14 ชั่วโมง ทำให้อัตราการรอดชีวิตและทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงไป (นฤมล ประคองรักษ์ และคณะ, 2552) ในส่วนถั่วแขก พบว่า EMS ที่ระดับความเข้มข้นระหว่าง 0.36 - 0.45% มีผลต่อพฤติกรรมการงอกของเมล็ด อัตราการตาย ความเป็นหมันของเกสร และลักษณะทางสัณฐานวิทยา (More and Borkar, 2016) ในขณะที่ Mangaiyarkarasi *et al*. (2014) พบว่า EMS ที่ระดับความเข้มข้น 30-70 mM ในแพงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus* (L.) ทำให้การเกิดต้นกล้าเจริญเติบโตช้าและปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง อีกทั้งทุกความเข้มข้นสามารถเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงของสีดอก จากรายงานการวิจัยดังกล่าวมาแสดงให้เห็นว่า EMS เป็นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้หลายลักษณะและเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการปรับปรุงพันธุ์พืชในปัจจุบัน

หลังจากก่อกลายพันธุ์ข้อมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยการฉายรังสีแกมมา 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ โดยให้ 0 เกรย์ เป็น control เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS เติม BA 0.1 มก/ล. ร่วมกับ 1.0 kin 1.0 มก/ล. และ NAA 0.05 มก/ล. พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาในสภาพหลอดทดลอง ที่อายุ 30 วัน ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง60 และพันธุ์ระยอง 72 ไม่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การรอดสูงสุด (90.05%) รองลงมาต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยรังสีที่มีปริมาณ 10-60เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดลดลง (67.53 58.52 45.02 31.51 22.51และ 1.35% ตามลำดับ) หลังจากย้ายปลูกอายุ 3 เดือน พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการเช่น ความสูงต้น จำนวนใบ เส้นผ่าศูนย์กลางต้น และปริมาณคลอโรฟิลล์ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงมากที่สุด

มีรายงานการใช้รังสีแกมมาในพืชหลายชนิด พบว่าใช้รังสีแกมมา ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชที่ศึกษาได้ โดยใช้รังสีแกมมาในมันสำปะหลัง *Manihot esculenta* (L.) Crantz ที่ปริมาณรังสีแกมมา 30 เกรย์ พบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและลักษณะความสูงต้น

จำนวนหน่อ จำนวนใบ สีของก้านใบที่ผิดปกติ Magaia *et al*, (2015) และพบว่าเมื่อได้รับปริมาณรังสีแกมมา 25 เกรย์ สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการออกของดอกของพืชได้ Dhakshanamoorthy *et al*. (2010) และพบว่าเมื่อได้รับปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มขึ้น การเจิญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตลดลง และรังสีทำให้ลักษณะใบ ลักษณะต้นผิดปกติสอดคล้องในหลายพืช (Ndofunsu *et al*, 2015; Satpute and Fultambkar, 2012; อัญชลี จาละ, 2556; นุชรัฐ บาลลา และคณะ 2559) ส่วนการใช้รังสีแกมมาในเมล็ดข้าว (*Oryza sativa L.*) ปริมาณ 40 เกรย์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตลดลงและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางด้านปริมาณคลอโรฟิลล์ Singh *et al*. (2015) ในขณะที่ อัญชลี จาละ. (2554) พบว่าปริมาณรังสีแกมมา 30 เกรย์ ในอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) ทำให้ลักษณะเซลล์ปากใบผิดปกติและปริมาณคลอโรฟิลล์เอและปริมาณคลอโรฟิลล์บีเปลี่ยนไป อีกทั้งปริมาณรังสีแกมมาสามารถเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงของสีดอกและการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์

การทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers)

ตรวจสอบมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ด้วยเครื่องหมาย inter-simple sequence repeats (ISSR) จำนวน 12 ไพรเมอร์ สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้น M6 และ M11 ของมันพันธุ์ห้วยบง 60 และต้น M13 M12 M17 M21 M22 M34 M26 ของพันธุ์ระยอง 72 และการตรวจสอบต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์รังสีแกมมา สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้น M29 และ M32 ของพันธุ์ห้วยบง60 และต้น M17 M18 M19 M20 M21 M22 และM23 ของพันธุ์ระยอง 72 ออกจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ได้ ซึ่งอาจเป็นผลจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากความแปรปรวนแบบโซมาโคนอล (somaclonal variation) ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระหว่างทำการทดลองหรือการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์จำเป็นต้องทำการศึกษาต่อไป โดยความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาจเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของเนื้อเยื่อพืช ชิ้นส่วนพืช (explants) ที่ใช้ในการทดลอง องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยง ระยะเวลาระหว่างการเพาะเลี้ยง และวิธีการเพาะเลี้ยง ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอได้ (Leva et al., 2012) จากผลการทดลองบ่งบอกถึงความมีประสิทธิภาพของ EMS และรังสีแกมมา ในการชักนำการกลายพันธุ์ อีกทั้งเป็นข้อบ่งชี้ได้ว่าเครื่องหมาย ISSR ที่ให้ความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอระหว่างสายพันธุ์ทั้ง 12 ไพรเมอร์ มีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดจากการก่อกลายพันธุ์ออกจากต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ได้อย่างชัดเจน

ก่อนทำการทดลอง ควรพิจารณาความเหมาะสมของชนิด และลำดับเบสของไพร์เมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมให้เหมาะสมกับชนิดของพืช ในขณะที่ชิ้นส่วนของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย EMS และการฉายรังสีแกมมา

อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ เช่น การแทนที่คู่เบส (point mutation) การขัดขวางการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ส่งผลทำให้ดีเอ็นเอขาดหาย (deletion) ดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ (duplication) ดีเอ็นเอขาดหายแล้วต่อกลับเข้ามาใหม่แบบกลับทิศทาง (inversion) หรือดีเอ็นเอขาดหายแต่ไปต่อกับดีเอ็นเอส่วนอื่น (translocation) (Wannajindaporn *et al*, 2014; อนรรฆอร วรรณจินดาพร, 2558)

นอกจากนี้ มีรายงานว่า EMS มีคุณสมบัติในการก่อกลายพันธุ์ และสามารถเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของดีเอ็นเอ ในปฏิกิริยาแอลคิเลชัน (alkylation) ทำให้เกิดการขาดหายไปของเบสและการเปลี่ยนชนิดของเบสโดย EMS สามารถเข้าทำปฏิกิริยาแอลคิเลชันกับเบสพิวรีนและไพริมิดีน รวมทั้งหมู่ฟอสเฟตของดีเอ็นเอด้วย แต่ปฏิกิริยา แอลคิเลชันจะเกิดรุนแรงกับเบสกัวนีน (G) ภายหลังจาก การเข้าทำปฏิกิริยาแล้วกลายเป็น O6- ethylguanine ซึ่งจะเข้าคู่กับเบสไทมีน (T) แทนที่จะเป็นไซโตซีน (C) (Green *et al*, 2003) ในขณะเดียวกันมีรายงานว่า รังสีแกมมา เป็นรังสีประเภทคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าทำให้เกิดการไอออนไนเซชันได้ เกิดจากการสลายตัวของนิวเคลียสของเรดิโอนิวไคลด์ ในปฏิกิริยาการสลายตัวของนิวเคลียสของเรดิโอนิวไคลด์จะเกิดสภาพที่ไม่เสถียร (unstable) จึงมีการปรับตัวให้เข้าสู่สภาพเสถียร (stable) โดยการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินออกมาในรูปรังสีเบต้า และตามด้วยการสลายตัวให้รังสีแกมมา (สิรนุช ลามศรีจันทร์, 2540) ในขณะเดียวกันการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว อาจส่งผลให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมาย ISSR

มีรายงานการใช้เครื่องหมาย ISSR เพื่อแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมในพืชหลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง *Manihot esculenta* (L.) Crantz และสบู่ดำ (*Jatropha curcas*) (A.V. Tiago *et al*., 2016; Noor Camellia *et al*., 2011) นอกจากนี้เครื่องหมาย ISSR ยังมีประโยชน์ด้านอื่น เช่น สามารถใช้กำหนดเอกลักษณ์ของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ และการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ได้ การทดลองครั้งนี้เป็นรายงานแรกที่แสดงให้เห็นว่า EMS และรังสีแกมมา มีความสามารถและประสิทธิภาพสูงในการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ในมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 อีกทั้งยังสามารถตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมได้โดยการใช้เครื่องหมาย ISSR ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชในอนาคต

การวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis และ PCoA สามารถจัดกลุ่มและแยกความแตกต่างของต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ได้อย่างชัดเจน จากการทดลองพบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก EMS และรังสีแกมมา บางต้นมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไปแต่ไม่พบความแตกต่างทางพันธุกรรม เมื่อตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย ISSR ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากความเป็นพิษของสารก่อกลายพันธุ์ EMS และปริมาณรังสีแกมมาที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังกล่าว ในทางตรงกันข้าม ต้นที่ผ่านการก่อกลาย

พันธุ์ด้วย EMS และรังสีแกมมา บางต้นสามารถพบความแตกต่างทางพันธุกรรมเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมาย ISSR โดยมีรายงาน การตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยเครื่องหมาย SSR และ ISSR เพื่อแยกความแตกต่างของถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) (Tantasawat et al., 2010)

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าการใช้สาร EMS ความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1% เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะสัณฐานวิทยา และการทดลองฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ ก็สามารถเปลี่ยนแปลงพบต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังทั้ง 2 พันธุ์ ต้นที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปนั้นอาจจะเป็นลักษณะที่ดีที่เป็นที่ต้องการ ควรที่จะศึกษาความแตกต่างให้ลึกซึ้งในการเปลี่ยนแปลงด้านอื่น ๆ เช่น โปรตีน เอมไซม์ รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแป้งในมันสำปะหลัง เพื่อที่จะใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมที่สามารถนำไปใช้เป็นพันธุ์การค้าในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

กษิดิศ ดิษบรรจง, ชยานิจ ดิษบรรจง และ มงคล เกษประเสริฐ. (2550). **การสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์บุก**. ปทุมธานี: สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ. 8 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2551). คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร มันสำปะหลัง [ออนไลน์]. ได้จาก http://ag-ebook.lib.ku.ac.th/ebooks/2011/2011-005-0082/files/assets/basic html/index.html#page2.

กิตติ โพธิปัทมะ, สุริยา ฤธาทิพย์ และ กรวิศฎ์ ณ ถลาง. (2555). การแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, **ว. พระจอมเกล้าพระนครเหนือ** 22(1): 225-231.

คำนูญ กาญจนภูมิ. (2544). การเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวทยาลัย.

โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. (2555). มันสำปะหลัง [ออนไลน์]. ได้จาก http://kanchanapisek.or.th.

จินดา เดชบุญ. (2555). **การชักนำความแปรปรวนทางพันธุกรรมในกล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Doritaenopsis* โดยการใช้สารโคลชิซินและรังสีแกมมาในสภาพปลอดเชื้อ**. วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ชญานีย์ สังวาล. (2557). **ผลของเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS) ที่ใช้กับโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันต่อการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของต้นกล้าที่พัฒนา**. วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชญานีย์ สังวาล และ สมปอง เตชะโต. (2557). **ผลของethyl methanesulphonate (EMS) ต่ออัตราการรอดชีวิตของโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาวและการสร้างโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง**.ว. พืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1(1): หน้า 14-20.

ไซนีย๊ะ สะมาลา, นูรมา มาสากี และ นอร์รีซา ปอ. (2557). ลักษณะเอททิลมีเทนซัลโฟเนตต่ออัตราการรอดชีวิตและลักษณะของเซลล์ปากใบ *Chrysanthemum morifolium* ในสภาวะปลอดเชื้อ. **ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์** 1(4): หน้า 16-19.

ไซนีย๊ะ สะมาลา, สมปอง เตชะโต และ สุรีรัตน์ เย็นช้อน. (2557). **ผลของ ethyl methanesulphonate (EMS) on Dendrobium Sonia**. ว. แก่นเกษตร 42(3): หน้า 507- 511.

ณัฐพงค์ จันจุฬา. (2556). **Mutation Induction *in Globba williamsiana* by Gamma Irradiation.** ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2(1): 46-52.

ธัญญา ขาเลิศ. (2532). **ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อเนื้อเยื่อบุกที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.** วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นพดล รัสสัมฤทธิ์. (2537). **ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.** กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซท.

นุชรัฐ บาลลา,ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, อัญชลี จาละ และ ธีระชัย ธนานันต์. (2559). **ผลของรังสีแกรมมาที่มีต่อมันเทศประดับพันธุ์ผสมในสภาพปลอดเชื้อ.** ว. วิทย. กษ. 48(1): 151–159

นฤมล ประคองรักษ์ และมณฑิรา มณฑาทอง. (2552). **ผลของ EMS ต่อการตอบสนองต่อความเครียดเกลือของข้าวขาวดอกมะลิ 105**. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 12 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วันที่ 12-13 กุมภาพันธ์.

บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ, รุ่งอรุณ ดอนจันทร์ทอง และ กฤษฎา สไลยรักษ์. (2557). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง. [ออนไลน์]. ได้จาก https://programming .cpe.ku.ac. th/AgriInformatics/viewProject. php?itemID=33.

บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ,สรรลาภ สงวนดีกุล, สันติ สายสุวรรณ์, และ พิชญนาถ อัญชลิสังกาศ. (2558). **ผลของ TDZ BA และ GA3 ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง พันธุ์ระยอง 5 ระยอง 72 และระยอง 7**. วารสารวิจัย ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน

ปกรณ์ ตั้งปอง. (2552). **ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและโครนิกต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงอนูเบียสคอนเจนซิส.** วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประภา ศรีพิจิตต์ อนงค์ นัยวิกุล และวิทยา แสงแก้วสุข. (2537). **การปรับปรุงข้าวหอม (*oryza sativa* L.) พันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 โดยใช้เทคนิคการชักนำให้คัพภะสร้างยอดจำนวนมากร่วมกับรังสีแกมมา**.ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย์) 28: 180-192.

ปริญญา ขจัดพาล. (2552). **ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพการให้ผลผลิตและการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว.** วิทยานิพนธ์ระดับดุษฎีบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ปวีณนุช ศรีช่วย, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ และเฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์. (2561). **ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อข้อมันเทศประดับเลื้อยในสภาพปลอดเชื้อ.** Thai Journal of Science and Technology. ปีที่ 7 ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม.

ปิยะดา อลิฌาณ์ ตันตสวัสดิ์, ยุวดี มานะเกษม และ อนรรฆอร วรรณจินดาพร. (2558). **การปรับปรุง**

พันธุ์กล้วยไม้ด้วยวิธีกลายพันธุ์. รายงานวิจัย, สาขาวิชาเทคโนโลการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ปิยะดา ตันตสวัสดิ์ และ อารีย์ วรัญญวัฒก์. (2551). **บทปฏิบัติการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** กรุงเทพมหานคร: เอเจนเทค. 109 หน้า.

พีรนุช จอมพุก. (2553). **การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์.** กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 22 หน้า.

พีรนุช จอมพุก. (2560). การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ. **การใช้เทคนิคการกลายพันธุ์เพื่อสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับปรุงพันธุ์พืช.** ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. รุ่นที่ 9 วันที่ 5-7 กรกฎาคม 2560.

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

มันสำปะหลัง. (2559). ระบบข้อมูลทางวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [ออนไลน์]. ได้จากhttp://www.ldd.go.th/Lddwebsite/web_ord/Technical/pdf/P_Tech nical 06013.pdf.

มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย. (2543). มันสำปะหลัง [ออนไลน์]. ได้จาก http://-www.tapioca thai.org/C.html.

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. (2558). **รังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่มีผลต่อเนื้อเยื่อหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ**.บทความวิจัย, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 4(2): 178-184.

ยุพาภรณ์ ศิริโสม และสมปอง เตชะโต. (2551). **ผลของเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS) ต่ออัตราการรอดชีวิต และการสร้างยอดรวมของกล็อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*) ในหลอดทดลอง.** ว. วิทย์.กษ. 39(3) (พิเศษ) : 223-226.

รังษี เจริญสถาพร, อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และ โอภาษ บุญเสิ่ง. (2551). **การสร้างมันสำปะหลังเตทพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. ระยอง: ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. 7 หน้า.

วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล. (2554). พันธุศาสตร์. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร. 250 หน้า.

วิทยา พรหมมี และสมปอง เตชะโต. (2541). **ผลของการฉายรังสีแกมมาให้กับแคลลัสต่อการกลายพันธุ์ของมังคุด**. ว.แก่นเกษตร. 26: 66-73.

วิมลศิริ สีหะวงษ์, ปิยะ กิตติภาดากุล, กฤตยา เพชรผึ้ง, สุขุมาล หวานแก้วและ ภัศจี คงศีล. (2557). **การประเมินความแม่นยำของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลัง.** กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 8 หน้า.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2544). **สรีรวิทยาพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สิรนุช ลามศรีจันทร์. (2540). **การกลายพันธุ์ของพืช** ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 2 ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 262 หน้า.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. (2539). **การปรับปรุงพันธุ์พืช.** ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. (2552). **การปรับปรุงพันธุ์พืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 259 หน้า.

สุนทรี ยิ่งชัชวาลย์, จินตฌา บางจั่น และจิตฤทัยชูมาก. (2543). **ปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบมะม่วงภายใต้สภาพน้ำขัง**. รายงานโครงการวิจัยวิธีการให้อากาศเพื่อกู้ชีวิตต้นมะม่วงที่ประสบอุทกภัย, สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ: 69-84 หน้า

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2557). สถิติการเกษตรของประเทศไทยปีการเพาะปลูก 2557. [ออนไลน์]. ได้จาก http://www.oae.go.th/download/download_journal/2557/yearbook57.pdf.

อนรรฆอร วรรณจินดาพร. (2558). **การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอียสกุลโดยโซเดียมเอไซด์.** วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์ และนวลฉวี รุ่งธนเกียรติ. (2536). **รังสีกับการกลายพันธุ์ในไม้ดอกไม้ประดับ.** ว. วิทยาศาสตร์เกษตร. 26: 113-125.

อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. (2550). **การกลายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์, สิรนุช ลามศรีจันทร์ และพีรนุช จอมพุก. (2543). **การใช้รังสีในการสร้างพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับ**. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการสร้างพันธุ์ไม้ดอก-ไม้ประดับให้สวยด้วยรังสีสำหรับเกษตรกรผู้ปลูกไม้ดอกไม้ประดับเป็นอาชีพ ณ ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร วันที่ 9 มิถุนายน – 21 กรกฎาคม 2543

อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. (2554). **หลักการและวิธีการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสี.** ในการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการการใช้เทคนิคการกลายพันธุ์เพื่อสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมและปรับปรุงพันธุ์พืช รุ่นที่ 5. วันที่ 19-21 ตุลาคม 2554. ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัญชลี จาละ. (2554). **รังสีแกมมาระดับต่างๆ มีผลต่อจำนวนเซลล์คุมและปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบอัญชัน** (*Clitoria ternatea* L.). ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 19(4): 61-69.

อัญชลี จาละ. (2556). การชักนำให้เกิดการกลายในหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 21 ฉบับที่ 1

อารีย์ วรัญญวัฒก์. (2541). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช.**กรุงเทพมหานคร. สำนักพิมพ์อิติสวรรค์. 133 หน้า.

Abdoulaye, FAYE., Maurice, SAGNA., Papa Demba, KANE and Djibrilm, SANE. (2015). Effects of different hormones on organogenesis in vitro of some varieties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) grown in Senegal. **Afr. J. Plant Sci.** 9(8): 305-312.

Abdullah, Date. H. and Sinha, R. R. (2009). Knowledge management and intellectual capital emerging perspectives (Ed.), Critical factors for KM implementation: An L&T, E&C division case study. In Institute of Management Technology, **Ghaziabad**. pp. 53-71.

A.D. More and A.T. Borkar. (2016). Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and EMS in *Phaseolus vulgaris* L. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** ISSN: 2319-7706 Volume 5 Number 10 pp. 544-554.

Alfred O. Ubalua and Ena Mbanaso. (2014). Somatic embryogenesis in two Nigerian cassava cultivars (Sandpaper and TMS 60444). **Journal of Evolutionary Biology Research**.6(3): 9-12.

Ambli, K. and Mullainathan, L. (2015). Chlorophyll and morphological mutants of Pearl millet (*Pennisetum tphoides* (Burn.) **European Journal of Experimental Biology**. 5(3): 72-77.

Amano, E. (2004). Practical suggestions for mutation breeding. Forum for nuclear cooperation in Asia (FNCA). 70 p.

Anand, K., Parmanand, P. and Rajendra P. (2009). Induced chlorophyll and morphological mutations in (*Vigna radiata* l. Wilczek). **Legume Res**. 32(1): 41-45.

Anderson, P., Okubara, P., Arroyo García, R., Mayers, B. and Michelmore, R. (1996). Molecular analysis of irradiation induced and spontaneous deletion mutants at a disease resistant locus in *Lactuca sativa*. **Mol. Gen. Genet**. 251(3). 316 325.

Bashir, S., A. A. Wani, and I. A. Nawchoo. (2013). Mutagenic sensitivity of gamma rays, EMS and sodium azide in *Trigonella foenum-graecum* L. **Science Research Reporter.** 3(1): 20-26.

Barba, J.L., Maldonado, A and Jiménez-Díaz, R. (2005). Small-scale total DNA extraction from bacteria and yeast for PCR applications. **Analytical biochemistry**. 347(2): 333-335.

Begum, T. and Dasgupta, T. (2010). A comparison of the effects of physical and chemical mutagens in sesame (*Sesamum indicum* L.). **Genetics and Molecular Biology**. (33)4: 761-766.

Begum, T. and Dasgupta, T. (2011). Effect of mutagens on character association in sesame (*sesamum indicum* l.). **Pak. J. Bot**. 43(1): 243-251.

Botstein David, White Raymond L., Skolnick Mark and Davis Ronald. (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. **Am J Hum Genet** 32:314-331,

Brunner, H. (1995). Radiation induced mutations for plant selection. **Appl Radiat Isot**. 46: 589-594.

Byme, B. M. (1984). The general/academic self-concept nomological network: A review of construct validation research. **Review of Educational Research**. 54: 427-456.

Das, A.K., Piper, J.D.A., Bandyopadhyay, G. and Mallik, S.B. (1996). Polarity inversion in the Rajmahal lavas, north-east India: trap emplacement near commencement of the Cretaceous Normal Superchron. Geophysical. **J. International**. 124: 427-452.

Dhakshanamoorthy, D., Selvaraj, R. and Chidambaram, A. (2010). Physical and Chemical Mutagenesis in Jatropha curcas L. to Induce Variability in Seed Germination, Growth and Yield Traits, Romanian. **J. Biology Plant Biology**. 55: 113-125.

Diamuini Ndofunsu.,Luyindula Ndiku., Bulubulu Otono., Kikakedimau Nakwet., Chikelu Mba., Bradley J. Till. (2015). In vitro gamma radiosensitivity test in Congolese cassava, *Manihot esculenta* Crantz accession . **Academia Journal of Biotechnolo**gy 3(1): 001-005.

Di, G.G. and Cipriani, G. (2003). Nucleotide binding site/leucine-rich repeats, Pto-like and receptor like kinase related to disease resistance in grapevine. **Mol. Genet. Genomics** 269: 612-623.

Dita, M., Rispail, N., Prats, E., Rubiales, D. and Singh, K. (2006). Biotechnology approaches to bioticand abiotic stress overcome constraints in legumes. **Euphytica**. 147(1): 1-24.

Echevarria. I., Reynaldo, I. and Mainardi, S. (1995). Some aspects of nitrogen metabolism in rice seed germinating at two NaCl concentration. **Cultivos Tropicales** 16(1): 43-45.

Ernesto Magaia, H., Joseph, J., Elsy, C.R., Francis, R.M., Bastian, D., Sujatha, R. and Beena, C. (2015). Creation of variability by in vitro mutagenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **J. Tropical Agriculture.** 53(2): 123-130.

Fukuda, W. M. G., Guevara, C. L., Kawuki, R., & Ferguson, M. E. (2010). Selected morphological and agronomic descriptors for the characterization of cassava. **IITA**. Ibadan, Nigeria. pp 19.

Gantait, S., Sinniah, U.R. (2011). Morphology, flow cytometry and molecular assessment of ex-vitro grown micropropagated Anthurium in comparison with seed germinated plants. **Afr. J. Biotechnol**. 10: 13991–13998.

Girija, M and Dhanavel, D. (2009). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, ethyl methane sulphonate and their combined treatments in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Global J Mol Sci**. 4:68-75.

Green, E.A., Codomo, C.A., and Taylor, N.E. (2003). Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reversr-genetic screen in Arabidposis. **Genetics** 164: 731-740.

Gupta.N, Sood, S, Singh, Y and Sood. D. (2016). Determination Of Lethal Dose For Gamma Rays And Ethyl Methane Sulphonate Induced Mutagenesis In Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.). **Sabrao Journal of Breeding and Genetics** 48 (3) 344-351.

Hilário Ernesto Magaia, Jiji Joseph, C.R. Elsy, Rose Mary Francis, Dijee Bastian, R.Sujatha and C. Beena. (2015). Creation of variability by in vitro mutagenesis in cassava (*Manihot esculenta,* Crantz). **Journal of Tropical Agriculture** 53 (2) :123-130.

IAEA. (1977). Manual on mutation breeding. Technical reports speries on. 2nd edition. Joint FAO/IAEA division of Atomic Energy in Food and Agriculture. Vienna, Austria.

Jain S.M. (2005). Major mutation-assisted plant breeding programs supported by FAO/IAEA. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** (2005) 82: 113–123.

Kanagarasu Seerangan.; Ganesh Ram and John joel. (2014). Determination of lethal dose for gamma Rays and ethyl methane sulphonate induced mutagenesis in cassava (*Manihot Esculenta* Crantz.). volume :3 Issue : 1 ISSN No 2277 – 8179.

Khajudparn.P., Prajongjai. T., Poolsawat. O. and Tantasawat. P.A. (2012). Application of ISSR markers for verification of F1 hybrids in mungbean (*Vigna radiata*). **Genetics and Molecular Research** 11 (3): 3329-3338.

Khatri, A., I. A. Khan, M. A. Siddiqui, S. Raza, and G. S. Nizamani. (2005). Evaluation of high yielding mutants of Brassica juncea cv. S-9 developed through gamma.

Kim, J.H., M.H. Beak, B.Y. Chung, S.G. Wi and J.S. Kim. (2004). Alterations in the photosynthetic pigments and antioxidant machineries of red pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings from gamma– irradiation seeds. **J. Plant Biol**. 47: 314–321.

Kovacs, E. and A. Keresztes. (2002). Effect of gamma and UV–B/C radiation on plant cell. Micron, 33: 199–210.

Kowalski, B and cassels, A.C. (1999). Mutation breeding for yield and *Phytophthra infestans* (Mont.) de Bary foliar resistance in potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Golden Wonder) using computerized image analysis in selection, **Potato Res**.42: 121-130.

Kumar,K., Gill, M.I.S., Kaur, H., Choudhary, O.P and Gosal, S.S. (2010). In vitro mutagenesis and somaclonal variation assisted salt tolerance in 'Rough Lemon' (*Citrus jambhiri* Lush.). European **J. Horticultural Science**. 75: 233-238.

Latado, R.R., Adames, A.H. and Neto, A.T. (2004). *In vitro* mutation of Chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) with ethylmethanesulfonate (EMS) in immature floral pedicels. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 77: 103-106.

Leva, A.R., Petruccelli, R. and Rinaldi, L.M.R. (2012). Somaclonal variation in tissue culture: a ase study with olive. Available [online, 2019 October 25: https://www.researchgate.net/publication/234138345. P123-150

Le, B.V., Anh, B.L., Soytong, K., Danh, N.D and Anh Hong, L.T. (2007). Plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Cratz) plant. **J. Agricultural Technology**. 3(1): 121-127.

Luan, S., Zhang, J., Rong Gao, X. and Jia An, L. (2007). Mutation induced by ethyl methanesulphonate (EMS). in vitro screening for salt tolerance and plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Plant Cell Tiss Organ Cult** 88:77–81.

Mangaiyarkarasi R, Girija M and Gnanamurthy S. (2014). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and ethyl methanesulphonate in *Catharanthus roseus*. Interantional Jouranal of Current Microbiology and Applied Sciences. ISSN: 2319-7706 Volume 3 Number 5 pp.881-889.

Mamba-Mbayi, G., Nkongolo, K. K., Narendrula., R., Tshilenge Djim, P and Kalonji-Mbuyi, A (2014). Molecular Relatedness and Morpho-Agronomic Characteristics of Congolese

Accessions of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) for Breeding Purposes. **British Biotechnology Journal** 4(5): 551-565.

Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Res. 27: 209-220.

Medina, III.F.I.S., Amano, E. and Tano, S. (2004). **Mutation Breeding Manual** Forum for Nuclear Cooperation in Asia (FNCA). 110 p.

Michael, K.S., Brenda J.B. and Kenneth J.S. (1986). In vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Plant Cell. **Tissue and Organ Culture** 6: 221 – 228.

Mingxia Fan, Zaochang Liu, Liguo Zhou, Tian Lin, Yunhua Liu and Lijun Luo. (2010). Effects of Plant Growth Regulators and Saccharide on In Vitro Plant and Tuberous Root Regeneration of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **J Plant Growth Regul** 30:11–19.

Moran, R. (1982). Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N, N-dimethylformamide. **Plant physiology** 69:(6), 1376-1381.

Nagata, T., S. Todoriki, T. Hayashi, Y. Shibata, M. Mori, H. Kanegae, and S. Kikuchi. (1999). a radiationinduces leaf trichome formation in Arabidopsis. **Plant Physiol** 120: 113 119.

Ndofunsu, D., Ndiku, L., Otono, B., Nakweti., K. Mba., C. Till and B, J. (2015). In vitro Gamma radiatiosensitivity test in Congolese cassava, *Manihot esculenta* Crantz accession, **Academia Journal of Biotechnology**. 3(1): 001 – 005.

Neama A, Abd Alla., Mohamed E, Ragab., Salah El-Deen M, El-Miniawy and Hussein S, Taha., (2013). In vitro studies on cassava plant Micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **J. Applied Sciences Research**. 9(1): 811-820.

Nookaraju, A and Agrawal, D.C. (2012). Genetic homogeneity of in vitro raised raised plants of grapevine cv. Crimson Seedless revealed by ISSR and microsatellite markers, **S. Af. r J. Bot**. 78: 302-306.

Noor Camellia, N. A, Thohirah Lee, A and N. A. P. Abdullah. (2011). Genetic relationships and diversity of Jatropha curcas accessions in Malaysia. **African Journal of Biotechnology** Vol. 11(13), pp. 3048-3054.

Osorio, J., Fermandez-Martinez, J. and Mancha, G. (1995). Mutant sunflowers with high concentration of saturated faffy acids in the oil. **Crop Science** 35: 739-742.

Porra, R. J., W. A. Thompson, P. E. Kriedemann. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with

four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. BrochimicaetBiophsicaActa 975: 384-394.

Rai, S. (2001). Pleiotropic morphological and abiotic stress resistance phenotypes of the hyperabscisic acid producing Abo mutant in the periwinkle Catharanthus roseus. **J. Biosci.** 26(1): 57 70.

Rizzo, J. and Rouchka, E.C. (2007). Review of phylogenetic tree construction. Bioinformatics laboratory technical report series. TR-ULBL: 1-8.

Rohlf, F.J. (2000). Ntsys-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.2 User guide. Applied Biostatistics, Inc., New York.

Sanjeev Singh, Rishi Kumar Sharma, Prakash Singh And Satish Kumar Chakravarti. (2015). Gamma Ray And Ems Induced Effectiveness And Efficiency Of Chlorophyll Mutations In Aromatic Rice (*Oryza Sativa* L.). The Ecoscan - **An International Quarterly Journal of Environmental Science**. 9(3&4): 975-979.

Santelmo Vasconcelos, Alberto V. C. Onofre, Máira Milani, Ana Maria Benko-Iseppon, and Ana Christina Brasileiro-Vidal. (2012). Molecular Markers to Access Genetic Diversity of Castor Bean: Current Status and Prospects for Breeding Purposes. **Plant Breeding.**

Sambrook, J., and Russell, D. W. (2001). In vitro mutagenesis using double-stranded DNA templates: selection of mutants with DpnI. **Molecular cloning**. 2: 13-19.

Satpute R. A. and Fultambkar Rajendra V. (2010). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and EMS in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Current Botany** 3(2): 18-20 ISSN: 2220-4822.

Sonai Rajan Thangaaraj., Graham A. McCulloch., Mohankumar Subbarayalu., Chandrasekaran Subramaniam and Gimme H. Walter. (2016). Development of microsatellite markers and preliminary assessment of population structuring in the rice weevil, Sitophilus *Oryzae* (L). **Journal of Stored Products Research**. 66: 12-17.

Stadler, L.J. (1928). Mutations in barley induced by X-rays and radium. **Science**. 68: 186-187.

Sung, Z.R. (1976). Mutagenesis of culture plant cells. **Genetics** 8:51-57.

Tantasawat, P., Trongchuen, J., Prajongjai, T., Seehalak, W. and Jittayasothorn, Y. (2010). Variety identification and comparative analysis of genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) using morphological characters, SSR and ISSR analysis. **Scientia Hort.** 124: 204–216.

Tiago A.V., Rossi A.A.B., Tiago P.V., Carpejani A.A., Silva B.M., Hoogerheide E.S.S and Yamashita O.M. (2016). Genetic diversity in cassava landraces grown on farms in Alta Floresta-MT, Brazil. Genetics and Molecular Research 15 (3): gmr.15038615.

Ubalua A.O and Mbanaso E.N.A. (2013). A Novelgene transformation technique for farmer's preferred cassava cultivar (Nwibibi) frome Nigeria. World. **J. Agricultural Sciences**. 9(3): 284-289.

Velmurugan. M., Rajamani. K., Paramaguru. P., Gnanam. R., Kannan Bapu. J.R., Harisudan C., and Hemalatha P. (2010). In Vitro Mutation In Horticultural Crops- A Review. **Agric**. Rev., 31 (1): 63 - 67

Velmurugan, B., Selvanayagam, M., Cengiz, E.I. and Unlu, E. (2007). The effects of fenvalerate on different tissues of freshwater fish Cirrhinus mrigala. **J. Environ. Sci. Heal.** 42: 157–163.

Vidal. Á.M., Vieira. L.J., Ferreira. C.F., Souza. F.V.D., Souza. A.S and Ledo. C.A.S. (2015), Genetic fidelity and variability of micropropagated cassava plants (*Manihot esculenta Crantz*) evaluated using ISSR markers**. Genetics and Molecular Research**. 14 (3): 7759-7770.

Wannajindaporn, A., Poolsawat, O., Chaowiset, W. and Tantasawat, P.A. (2014). Evaluation of genetic variability in *in vitro* sodium azide- induced *Dendrobium* 'Earsakul' mutants. **Genet. Mol. Res.** 13: 5333-5342.

Zaghmout, O.M.F., and Torello, W.A. (1988). Enhanced regeneration in longterm callus culture of red fescue by pretreatment with activated charcoal. **HortScience**. 23: 615-616.

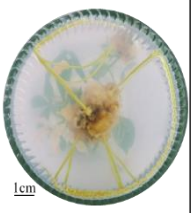
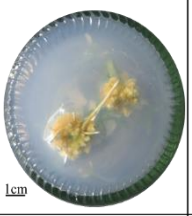
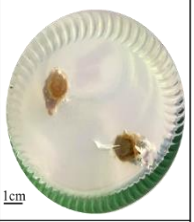
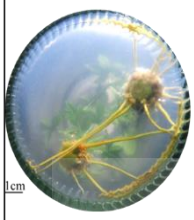
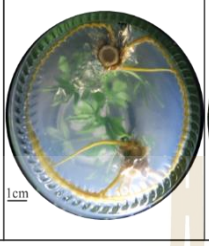
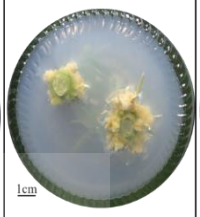
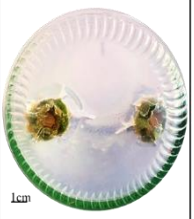
Zayed, E.M., Shams, A.S. and Kamel, A.S. (2013). Genetic diversity in introduced cassava using inter simple sequence repeat markers (ISSR). **Geneconserve**. (47)12: 23-33.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ส่วนประกอบของอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)

องค์ประกอบอาหาร	**(มก./ล.)**
MS macronutrients	
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$CaCl_2.2H_2O$	440
MS micronutrients	
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4.4H_2O$	22.30
$ZnSO_4.7H_2O$	8.60
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
KI	0.83
FeNaEDTA	36.70
MS vitamins	
Myo-inositol	100.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Glycine	2.0
pH	5.7

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พันธุ์	M1	M2	M3	M4	M5
ห้วยบง 60					
ระยอง 72					

ภาพภาคผนวกที่ 1 ลักษณะรากและจำนวนรากของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร 5 สูตร

M1 MS Basal (free growth regulators)

M2 MS+1.0BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

M3 MS+0.1BA (มก/ล.) +1.0Kin (มก/ล.) +0.05NAA (มก/ล.)

M4 MS+0.1BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +1.0 TDZ (มก/ล.)

M5 MS+1.0BA (มก/ล.) +0.1Kin (มก/ล.) +8 2,4-D (มก/ล.)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางภาคผนวกที่ 2 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; 0 control)

การก่อกลายพันธุ์	**ลักษณะ**	**Mean**	**Maximum**	**Minimum**	**SD**
ROW; 0 % control	ความสูงต้น (ซม.)	12.87	15.00	10.00	2.19
	จำนวนใบ	6.10	7.00	5.00	0.74
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.65	0.75	0.62	0.05
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.67	3.48	2.27	0.46
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
0.25 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	14.60	18.00	13.00	2.05
	จำนวนใบ	6.10	7.00	4.50	1.02
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.59	0.88	0.43	0.17
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.54	2.73	2.23	0.20
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
0.50 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	15.01	18.75	12.80	2.40
	จำนวนใบ	6.10	7.00	5.00	0.82
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.58	0.66	0.52	0.05
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.75	3.13	2.52	0.25
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
0.75 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	10.15	12.00	8.25	1.38
	จำนวนใบ	5.14	6.50	4.00	0.89
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.26	0.32	0.20	0.04
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.15	2.48	1.97	0.23
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
1 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	11.50	12.50	10.50	0.79
	จำนวนใบ	3.90	5.00	3.90	0.89
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.69	0.70	0.69	0.00
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.73	2.78	2.69	0.03

ตารางภาคผนวกที่ 3 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1% และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (ROW; 0 control)

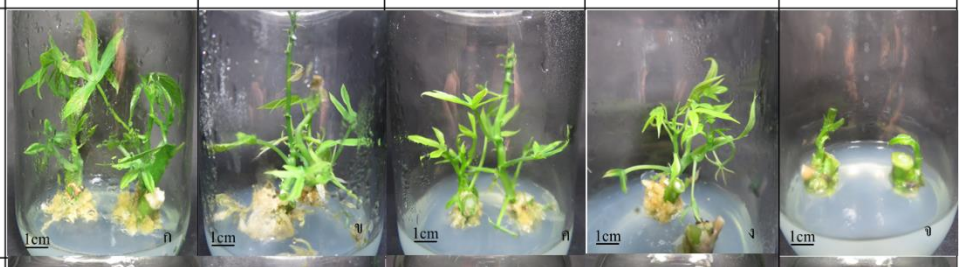
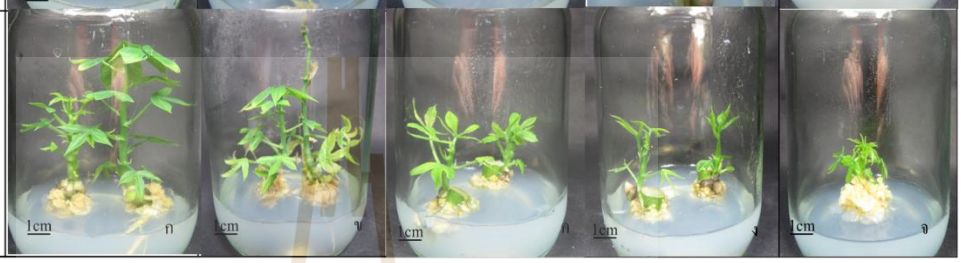
การก่อกลายพันธุ์	**ลักษณะ**	**Mean**	**Maximum**	**Minimum**	**SD**
ROW; 0 % control	ความสูงต้น (ซม.)	15.56	17.50	13.90	1.69
	จำนวนใบ	5.60	6.00	5.00	0.41
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.60	0.64	0.54	0.04
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	3.40	3.85	2.96	0.42
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
0.25 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	13.20	14.25	12.00	0.81
	จำนวนใบ	5.00	6.00	3.00	1.27
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.65	0.79	0.51	0.11
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.98	3.30	2.76	0.22
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
0.50 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	12.02	14.10	10.75	1.29
	จำนวนใบ	5.20	7.50	4.00	1.35
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.66	0.77	0.56	0.09
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.58	2.72	2.50	0.08
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
0.75 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	12.18	14.75	10.25	1.86
	จำนวนใบ	4.24	5.00	3.20	0.76
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.53	0.60	0.45	0.06
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	3.01	3.36	2.71	0.23
การก่อกลายพันธุ์	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
1 % (EMS)	ความสูงต้น (ซม.)	11.35	12.25	10.50	0.82
	จำนวนใบ	3.70	4.50	3.00	0.67
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.58	0.63	0.56	0.02
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	3.02	3.33	2.80	0.20

ตารางภาคผนวกที่ 4 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสี 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (0 control)

ปริมาณรังสี (เกรย์)	**ลักษณะ**	**Mean**	**Maximum**	**Minimum**	**SD**
0 เกรย์ control	ความสูงต้น (ซม.)	13.24	15.00	10.50	1.81
	จำนวนใบ	7.80	13.00	5.00	3.11
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.44	0.62	0.29	0.12
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.76	3.64	1.82	0.79
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
10 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	12.95	13.90	12.00	1.34
	จำนวนใบ	7.00	8.00	6.00	1.41
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.31	0.36	0.27	0.63
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	3.29	3.37	3.22	0.10
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
20 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	10.33	11.00	10.00	0.57
	จำนวนใบ	10.33	16.00	7.00	4.93
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.46	0.77	0.29	0.26
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.45	4.28	0.66	1.81
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
30 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	10.15	11.30	9.00	1.62
	จำนวนใบ	11.00	17.00	5.00	8.48
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.39	0.47	0.31	0.11
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	1.98	2.45	1.52	0.65
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
40 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	11.10	12.20	10.00	1.55
	จำนวนใบ	5.50	6.00	5.00	0.70
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.41	0.53	0.29	0.16
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	3.26	3.63	2.89	0.52
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
50 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	8.33	10.00	7.00	1.52
	จำนวนใบ	8.00	9.00	7.00	1.00
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.44	0.46	0.42	0.02
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	1.19	1.81	0.83	0.53

ตารางภาคผนวกที่ 5 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณรังสี 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ และต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ (0 control)

ปริมาณรังสี (เกรย์)	**ลักษณะ**	**Mean**	**Maximum**	**Minimum**	**SD**
0 เกรย์ control	ความสูงต้น (ซม.)	11.20	12.00	10.50	0.75
	จำนวนใบ	10.60	16.00	5.00	4.82
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.55	0.70	0.35	0.15
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.60	3.26	0.76	1.04
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
10 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	11.40	13.50	8.00	2.07
	จำนวนใบ	5.40	7.00	1.00	2.60
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.41	0.59	0.19	0.14
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.62	3.89	1.93	0.76
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
20 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	11.54	13.50	8.20	2.00
	จำนวนใบ	10.00	20.00	4.00	6.16
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.57	0.75	0.48	0.12
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.24	3.34	0.98	0.85
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
30 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	10.87	13.00	9.00	2.17
	จำนวนใบ	8.50	14.00	5.00	3.87
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.44	0.65	0.20	0.20
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	3.20	4.44	2.24	0.99
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
40 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	10.91	13.50	9.25	2.26
	จำนวนใบ	7.33	9.00	6.00	1.52
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.58	0.78	0.45	0.17
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	3.18	3.33	3.00	0.16
ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะ	Mean	Maximum	Minimum	SD
50 เกรย์	ความสูงต้น (ซม.)	8.53	11.60	5.00	3.32
	จำนวนใบ	6.66	9.00	5.00	2.08
	เส้นผ่าศูนย์กลางต้น (ซม.)	0.35	0.45	0.25	0.10
	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/cm^2)	2.14	2.60	1.59	0.51

พันธุ์	ความเข้มข้นสารละลายEMS (%)				
	Row (control)	0.25	0.50	0.75	1
ห้วยบง 60					
ระยอง 72					

ภาพภาคผนวกที่ 2 ลักษณะต้นผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 หลังแช่สารละลายเอธิลมีเทนซัลโฟเนต ที่ 4 สัปดาห์

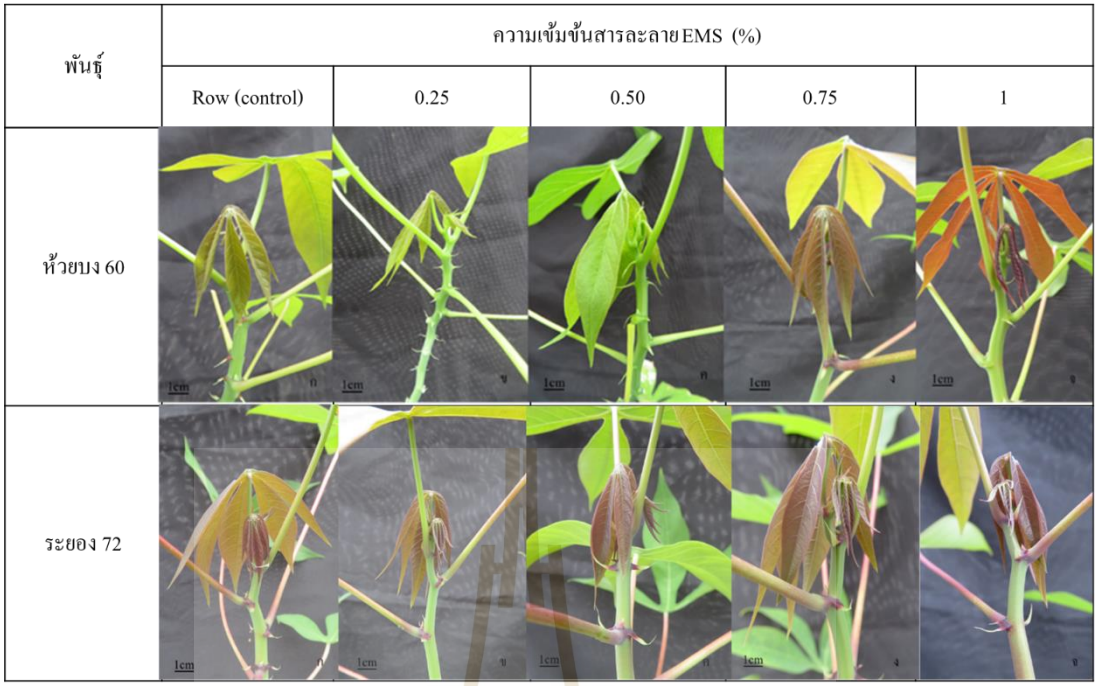
ก) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS

ข) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.25%

ค) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.50%

ง) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.75%

จ) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 1%



ภาพภาคผนวกที่ 3 ลักษณะสียอดที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน

ก) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS

ข) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.25%

ค) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.50%

ง) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.75%

จ) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 1%

ภาพภาคผนวกที่ 4 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน

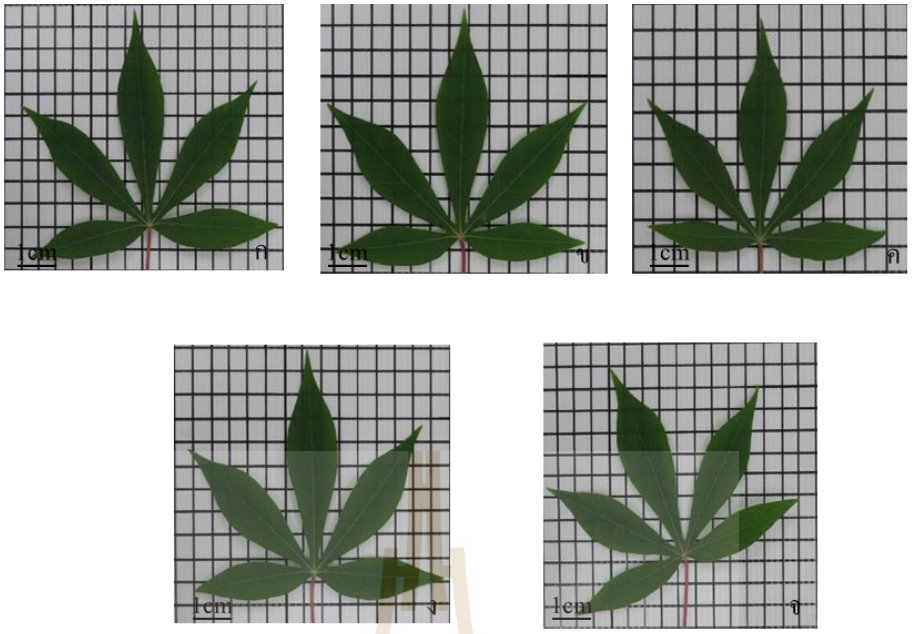
ก) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS

ข) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.25%

ค) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.50%

ง) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.75%

จ) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 1%



ภาพภาคผนวกที่ 5 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน

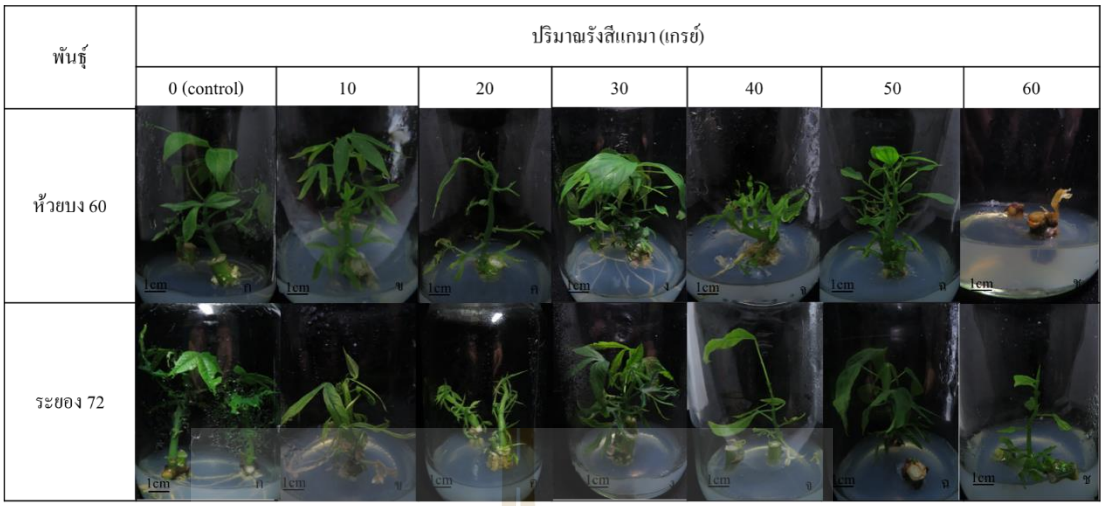
ก) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS

ข) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.25%

ค) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.50%

ง) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.75%

จ) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 1%



ภาพภาคผนวกที่ 6 ลักษณะต้นผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ ที่ 4 สัปดาห์

ก) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

ข) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์

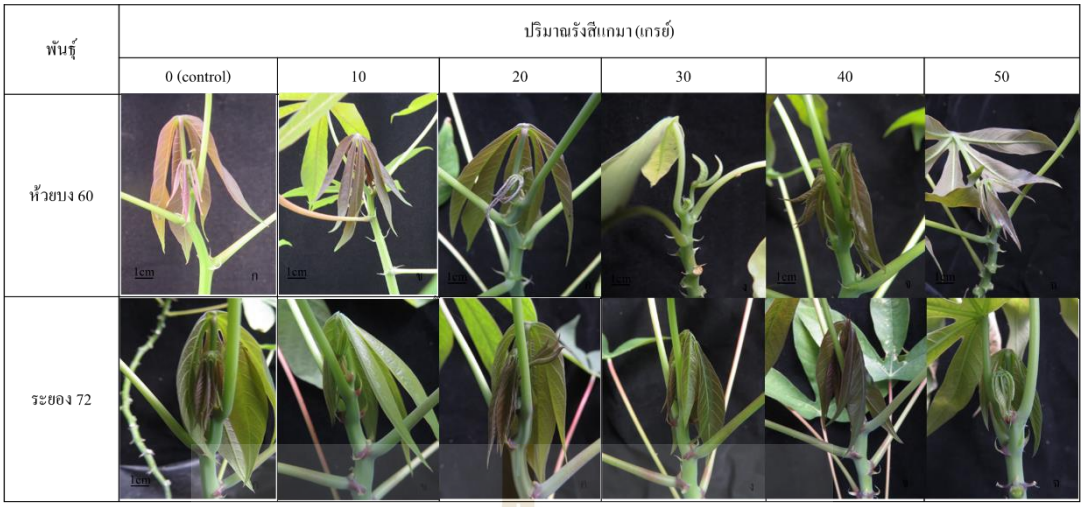
ค) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 20 เกรย์

ง) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 30 เกรย์

จ) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 40 เกรย์

ฉ) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 50 เกรย์

ช) ลักษณะต้นของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 60 เกรย์



ภาพภาคผนวกที่ 7 ลักษณะสียอดที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน

ก) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

ข) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์

ค) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 20 เกรย์

ง) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 30 เกรย์

จ) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 40 เกรย์

ฉ) ลักษณะสียอดของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 50 เกรย์

□ หมายเหตุ รังสีแกมมาปริมาณ 60 เกรย์นั้นตายทั้งหมดเมื่อนำออกย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพภาคผนวกที่ 8 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน

ก) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

ข) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์

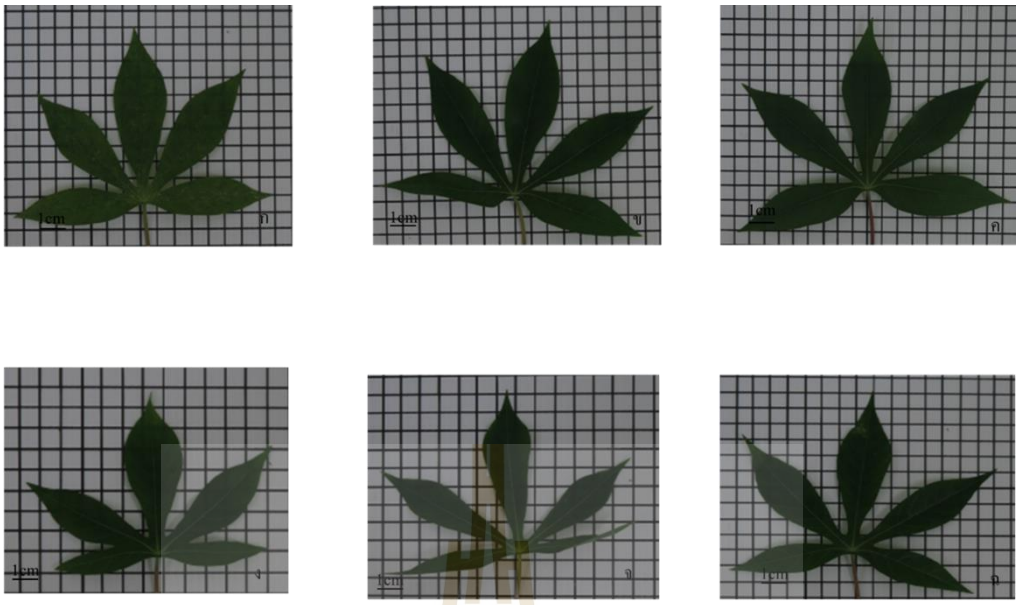
ค) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 20 เกรย์

ง) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 30 เกรย์

จ) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 40 เกรย์

ฉ) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 50 เกรย์

□ หมายเหตุ ปริมาณรังสีแกมมาที่ 60 เกรย์ ทำให้ต้นพืชตายในขณะเพาะเลี้ยง



ภาพภาคผนวกที่ 9 ลักษณะใบที่ผิดปกติของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 3 เดือน

ก) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

ข) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 10 เกรย์

ค) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 20 เกรย์

ง) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 30 เกรย์

จ) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 40 เกรย์

ฉ) ลักษณะใบของมันสำปะหลังที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ที่ระดับปริมาณ 50 เกรย์

□ หมายเหตุ ปริมาณรังสีแกมมาที่ 60 เกรย์ ทำให้ต้นพืชตายในขณะเพาะเลี้ยง

ประวัติผู้เขียน

นางสาววิลาวรรณ ทิมทอง เกิดเมื่อวันที่ 18 ตุลาคม 2535 ที่อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ ในปี 2548-2553 ได้เข้าศึกษาและสำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายที่โรงเรียนหนองบัว อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ ในปี พ.ศ. 2554 ได้เข้าศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยสำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตพืช) เมื่อปี พ.ศ. 2557 โดยได้ผ่านการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (โป่งน้อย) ในตำแหน่งผู้ช่วยนักวิจัย และในปี พ.ศ. 2558 ได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี