รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตอ้อย
2. **โครงการวิจัย** : โครงการวิจัยการปรับปรุงพันธุ์อ้อยสำหรับเขตดินทราย ทรายร่วน และร่วนทราย สภาพน้ำฝน
3. **กิจกรรม** : ระบุชื่อกิจกรรมตามแบบ ว1-ก ที่ผ่านการอนุมัติ

   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : ระบุชื่อกิจกรรมย่อยตามแบบ ว1-ก ที่ผ่านการอนุมัติ

4. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** :

   การทดลองที่ 1.34 ผลของสภาวะแล้งต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในอ้อยพันธุ์ต่างๆในสภาพควบคุม

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) :

   Biochemical responses of sugarcane cultivars to drought stress in the control condition

5. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : นางสาวศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

   ผู้ร่วมงาน : นางสาวรวีวรรณ เชื้อกิตติศักดิ์ สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

   นายวีรกรณ์ แสงไสย์ สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

   นางสาวอมราวรรณ ทิพยวัฒน์ สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

6. **บทคัดย่อ**

การทดสอบการทนแล้งในอ้อยโดยใช้การปลูกทดสอบในแปลงทดลองให้ผลที่แปรปรวนเนื่องจากมีภาวะแวดล้อมอื่นที่ไม่สามารถควบคุมได้ร่วมด้วย การทดสอบในสภาพควบคุมสภาพแวดล้อม ร่วมกับการตรวจวัดการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาและชีวเคมีจะทำให้ได้ข้อมูลที่แม่นยำมากขึ้นและสามารถตรวจวัดลักษณะการทนแล้งของพันธุ์ที่คัดเลือกได้ ในการทดลองนี้ทำการศึกษาลักษณะการทนแล้งของอ้อยในสองสภาวะ ได้แก่ การทนแล้งจากสภาวะร้อนและขาดน้ำและการทนแล้งจากสภาพการขาดน้ำ การทดลองตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีต่อสภาวะเครียดแล้งจากการขาดน้ำและความร้อนในอ้อยพันธุ์ทนแล้ง (ขอนแก่น 3)ในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อมที่อุณหภูมิ 33°C (มืด) 39°C (สว่าง) ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 55% RH ความเข้มแสง 20,000 LUX และการส่องสว่าง 14/10 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) นาน 4 วัน ไม่ให้น้ำ ใช้อ้อยอายุ 60 วัน พบว่ามีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX, GPX สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสม โพรลีน และ ไกลซีนบีเทน

กรมวิชาการเกษตร

สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ให้น้ำทั้งหมด ในขณะที่พันธุ์อ่อนแอต่อสภาวะแล้ง (สุพรรณบุรี72) มีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์เฉพาะ APX สารไกลซีนบีเทน และสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ GPX และสารโพรลีนไม่เปลี่ยนแปลงจากกลุ่มควบคุม จากการทดสอบในพันธุ์ลูกผสมที่ไม่ทราบลักษณะการทนแล้ง (UT10-015R) พบว่ามีกิจกรรมเอ็นไซม์ APX สูงขึ้นแต่น้อยกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 ค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ GPX และสารโพรลีนไม่เปลี่ยนแปลง แต่พบว่าไม่มีการสะสมสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มแม้อยู่ในสภาพแล้ง และมีสารไกลซีนบีเทนใกล้เคียงกับพันธุ์ขอนแก่น 3 จากการทดลองนี้จะสังเกตได้ว่าการสร้างสารโพรลีนร่วมกับไกลซีนบีเทนอาจส่งผลต่อการรักษาสภาพเต่งของเซลล์ในสภาวะแล้งจากความร้อนและการขาดน้ำ โดยพันธุ์ UT10-015R อาจมีคุณสมบัติไม่ทนแล้งเมื่อเทียบกับพันธุ์ขอนแก่น 3 การทดสอบสภาวะแล้งจากการขาดน้ำ ดำเนินการในสภาพโรงเรือน โดยการปลูกอ้อยในกระถาง ใช้อ้อยอายุ 60 วันนับจากวันเพาะ กลุ่มควบคุมมีการรดน้ำให้ดินในกระถางมีความชื้นที่ระดับความจุความชื้นสนาม (field capacity, FC) และกลุ่มขาดน้ำโดยงดให้น้ำจนความชื้นในดินลดลงจนถึงระดับ 1/3 ของน้ำใช้ประโยชน์ได้ (available water, AW) เป็นเวลา 14 วัน กลุ่มคืนสภาพ (recovery) หลังงดน้ำทำการรดน้ำให้ดินในกระถางให้มีความชื้นที่ระดับ FC เป็นเวลา 30 วัน ผลการทดสอบการรั่วไหลของสารอิเลคโตรไลต์ในภาวะขาดน้ำในสภาพโรงเรือนเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ทนแล้งและพันธุ์อ่อนแอ พบว่ามีค่าการรั่วไหลทั้งสองกลุ่มแต่ในพันธุ์ทนแล้ง (ขอนแก่น 3) มีค่าน้อยกว่าพันุ์อ่อนแอ (บาดิลล่า) สอดคล้องกับผลการตรวจสารในกลุ่ม osmoprotectant ได้แก่ โพรลีนและไกลซีนบีเทนในอ้อยพันธุ์ทนแล้ง (ขอนแก่น 3) ที่พบว่ามีค่าสูงกว่าพันธุ์อ่อนแอต่อสภาวะแล้ง การทดสอบการทนแล้งจากการขาดน้ำในอ้อยลูกผสมจำนวน 19 พันธุ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ขอนแก่น 3 พบว่าแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองแตกต่างกันโดยวิเคราะห์จากการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาความเครียดออกซิเดชั่น สารรักษาความเต่งของเซลล์ สารบ่งชี้การทำลายของเซลล์ แต่ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติการทนแล้งจากการขาดน้ำได้น้อยกว่าพันธุ์ขอนแก่น โดยพบว่า โคลนรหัส 307, 315, 320, KK07-234, KK07-370, KK06-381 มีคุณสมบัติทนแล้งจากการขาดน้ำได้ดี ส่วนโคลนรหัส 103, 381, KK07-250, KK120-85, UT10-175 และ UT15 ค่อนข้างอ่อนแอต่อการขาดน้ำ อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้พบว่ามีปัญหาด้านจำนวนต้นที่ใช้ในการทดสอบ สืบเนื่องจากความสมบูรณ์ของท่อนพันธุ์ที่ทำให้คัดต้นสมบูรณ์สำหรับทำการทดลองได้น้อย โดยเฉพาะพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาพแล้งซึ่งมีจำนวนน้อย การใช้ตัวอย่างที่มากขึ้นจะทำให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์มากกว่านี้

คำสำคัญ : อ้อย แล้ง ขาดน้ำ ความเครียดออกซิเดชั่น การเจริญเติบโต

ABSTRACT

The selection of drought tolerant trait in sugarcane is generally conducted in field experiment that often leads to variation due to uncontrollable environmental factors. The

กรมวิชาการเกษตร

testing in the controllable environment couple with the detection of growth, physiological and biochemical changes offer a more effective approach for the evaluation and selection. Two drought conditions i.e. drought cause by heat and water deficiency, and drought cause by water deficiency were observed young sugarcane at 60 day after planting (DAP). The heat and water deficiency stress on the drought tolerant variety (Khon Kaen 3: KK3) was conducted in a growth chamber programmed with 33°C (dark) 39°C (light) 55% RH, 20,000 LUX and 14/10 hrs (light/dark) 4 days no irrigation. The result showed that the activities of APX and GPX enzymes, hydrogen peroxide, proline and glycinebetaine accumulation were alleviated in the test group. In contrast, only the activity of APX enzyme, glycinebetaine and hydrogen peroxide accumulation were alleviated in the test group of drought sensitive variety (Supanburi 72: SP72). But the GPX enzyme activity and proline accumulation were not stimulated in this variety. The testing in the unknown sample : *Saccharum* hybrid (UT10-015R) revealed a lower APX enzyme activity than that of KK3 while GPX enzyme activity and proline were not stimulated. However, hydrogen peroxide was not accumulated while glycine betaine was found at the same level as in KK3. It is worth notify that the accumulation of proline and glycine betaine can have positive effect on the cell turgors purposes in drought stress from heat and water deficiency. UT10-015R may be less tolerant to drought when compared with KK3 from this finding. The tests on drought stress caused by water deficiency were carried out in the green house using young sugarcane at 60 DAP in planting pots. The control groups were irrigated to field capacity level (FC) and the test groups were treated with no irrigation to the level of 1/3 of available water (AW) for 14 days. Recovery testing was re-watering to FC level for 30 days. It was revealed that the electrolyte leakage in water deficiency stress condition of the tolerant variety (KK3) was lower than that of the sensitive variety (Badilla) which correlated with the higher osmoprotectant substances (proline and glycine betaine) in KK3 than in the drought sensitive variety. The testing of drought stress caused by water deficiency in 19 *Saccharum* hybrids showed different level of tolerance to water stress based on growth, physiological and biochemical changes that related to oxidative stress, osmoprotectant substances accumulation and cell destruction substances. The majority of these unknown testing results indicated lower drought tolerant, when compared to KK3. It was found that clones 307, 315, 320, KK07-234, KK07-370 and KK06-381, potentially showed

ศูนย์วิทยทรัพยากร

moderately water stress tolerance while clones 103, 381, KK07-250, KK120-85, UT10-175 and UT15 potentially were water stress sensitive. However, this study facing the on the limited of healthy planting materials that resulted in insufficient samples for statistical analysis. More of the drought sensitive varieties need to be included in the testing. This is to make sufficient data for statistical analysis.

Key words: *Saccharum* spp., drought, water deffieciency, oxidation stress, growth

7. คำนำ

การทดสอบการทนแล้งในอ้อยเดิมใช้การปลูกทดสอบในแปลง ซึ่งทำให้การแปลผลทำได้ยากเนื่องจากมีภาวะแวดล้อมอื่นที่ไม่สามารถควบคุมได้ร่วมด้วย ที่อาจทำให้อ้อยปรับตัวได้ เช่น ปริมาณฝน ความเข้มแสง นอกจากนี้พันธุกรรมในการปรับตัวของอ้อยแต่ละพันธุ์ ยังทำให้เกิดความสับสนในการบ่งชี้การทนแล้ง เช่น การหยุดการเติบโตชั่วคราว เช่นในกรณีของ อ้อยพันธุ์ขอนแก่น3 ที่จะเกิดการเหี่ยวอย่างรุนแรงในช่วงแล้งและฟื้นตัวได้เร็วเมื่อได้รับน้ำ ซึ่งพันธุ์อื่นอาจจะมีการตอบสนองต่อสภาวะนี้แตกต่างไป จากรายงานการศึกษาเพื่อความเข้าใจถึงการตอบสนองของพืชต่อการขาดน้ำหลายรายงาน พบว่าการตอบสนองของพืชต่อภาวะเครียดนี้เป็นขบวนการที่ซับซ้อน และมีการทำงานของยีนหลายชนิดที่มีการตอบสนองทั้งในขบวนการทางชีวเคมี สรีระ และระดับโมเลกุล ทั้งนี้ยีนที่พบเหล่านี้ประกอบไปด้วยยีนใน 4กลุ่มหลัก ได้แก่ กลุ่มยีนที่ทำงานด้านการส่งสัญญาณและการควบคุม กลุ่มยีนที่ทำหน้าที่ในการป้องกันความเสียหายของผนังเซลล์และโปรตีน กลุ่มยีนที่ทำหน้าที่ในการดูดเก็บน้ำและอิออน และกลุ่มยีนอื่นที่ยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด (Shinozaki andShinozaki, 2000) มีรายงานว่ายีน *Scdr*1 (sugarcane drought related1) ในอ้อย พบว่าถูกควบคุมโดยภาวะแล้ง จากการทดลองในอ้อย 4 พันธุ์ และเมื่อทำการถ่ายยีนนี้เข้าสู่ต้นยาสูบซึ่งใช้เป็นพืชทดลองระบบการแสดงออกของยีน และออกแบบให้มีการแสดงออกของยีนนี้ในปริมาณสูง พบว่าทำให้ต้นยาสูบทนต่อสภาวะแล้ง เค็มและภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้มากขึ้น (Begcy et al. 2012) นอกจากนี้ยังพบว่าพืชชนิดเดียวกันแต่ต่างพันธุ์มีความแตกต่างของการตอบสนองต่อภาวะเครียดที่ต่างกันออกไป เช่นในข้าวสาลี พบว่าประสิทธิภาพการใช้น้ำในข้าวสาลี 2 พันธุ์ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงและมีน้ำน้อย มีความแตกต่างกัน โดยพันธุ์หนึ่งมีการกระตุ้นการทำงานของชุดยีนที่เป็นที่ทราบกันว่ามีการแสดงออกเมื่อเกิดภาวะขาดน้ำ ส่วนอีกพันธุ์หนึ่งตอบสนองต่อภาวะเดียวกันโดยมีการแสดงออกของยีนหลายชุด (Aprile et al., 2013) โดยการแสดงออกของยีนเหล่านี้ จะสามารถตรวจได้ในระดับโปรตีนซึ่งสามารถตรวจได้จากการเปลี่ยนแปลงทางสรีระและทางชีวเคมีในรูปแบบของปฏิกิริยาโต้ตอบของพืชต่อภาวะเครียดต่างๆ

พื้นที่เพาะปลูกอ้อยของประเทศไทยส่วนใหญ่อยู่ในเขตอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก ในช่วงปลายฤดูฝนระหว่างเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน อ้อยมีโอกาสประสบกับสภาวะขาดน้ำในช่วงต้นของการเจริญเติบโต หากไม่มีฝนตกในช่วงฤดูแล้งอ้อยจะได้รับความเครียดจากการขาดน้ำจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของอ้อยเป็นอย่างมาก การเจริญเติบโตของอ้อยในช่วงอายุ 3-5 เดือนหลังจากปลูก ซึ่งเป็นช่วงอายุที่มีการแตกกอ

ของอ้อย โดยการแตกกอให้มีจำนวนข้อที่เหมาะสมจะทำให้ได้ผลผลิตที่ดี โดยปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการแตกกอมีหลายปัจจัย ได้แก่ ความชื้นในดิน แสง อุณหภูมิ และน้ำ การควบคุมน้ำในระหว่างการปลูกอ้อยจึงมีความสำคัญต่อการแตกกอเป็นอย่างมากซึ่งจะช่วยกระตุ้นการแตกกอให้มีปริมาณหน่อลูกที่เหมาะสม และจะส่งผลต่อผลผลิตต่อไร่ของอ้อยได้ ดังนั้นเมื่อพืชอยู่ในสภาวะขาดน้ำจะเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมีภายในต้นพืช เช่นการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำภายในต้นพืช เซลล์สูญเสียความเต่งซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์จึงส่งผลให้เกิดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ออกจากเซลล์ นอกจากนี้มีการสร้างและสะสมสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species: ROS) ภายในเซลล์สูงขึ้นจึงยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช พืชจึงมีกลไกการตอบสนองและการปรับตัวเพื่อให้ทนต่อสภาวะขาดน้ำ โดยสร้างตัวถูกละลายที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (compatible solutes) เช่น น้ำตาล โพรลีน และไกลซีนบีเทน เป็นต้น เพื่อลดค่าศักย์ของน้ำภายในเซลล์ (osmotic adjustment) ทำให้พืชยังคงสามารถดูดน้ำเข้าสู่เซลล์ได้ และยังมีกลไกป้องกันเซลล์พืชจากสารอนุมูลอิสระที่สะสมภายในเซลล์ โดยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD) และ Catalase (CAT) เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาและการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในอ้อยภายใต้สภาพการได้รับน้ำปกติและการขาดน้ำ เพื่อความเข้าใจรูปแบบการเจริญเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาภายใต้สภาพขาดน้ำของอ้อย ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสมกับการปลูกในพื้นที่ของเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้

ในอ้อยซึ่งภาวะเครียดจากแล้งส่งผลอย่างมากต่อการให้ผลผลิต การศึกษาปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระที่เกิดจากการเครียดจากสภาวะแล้งและขาดน้ำในอ้อยกลุ่มพันธุ์ทนแล้งและพันธุ์ที่ไม่ทนแล้งโดยการงดให้น้ำเป็นเวลา 3, 10 และ 20 วัน พบว่าพันธุ์ที่ไม่ทนแล้งมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (relative water content) ต่ำมาก และมีขบวนการทำลายผนังเซลล์ (lipid peroxidation) ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารโพรลีนสูงมาก ในการศึกษาถึงการทำงานของเอ็นไซม์ในกลุ่มต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPOX) และ glutathione reductase (GR) พบว่ามีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์และความรุนแรงของสภาวะเครียด ในพันธุ์ทนแล้งบางพันธุ์พบว่ากิจกรรมเอ็นไซม์ CAT และ APX สูงกว่าพันธุ์อื่นในช่วงแรกของสภาวะแล้ง ในขณะที่พันธุ์อื่นมีกิจกรรมเอ็นไซม์ GPOX และ GR สูงในช่วงท้ายของภาวะแล้ง และยังพบว่าขบวนการ lipid peroxidation และการสร้างและสะสมสารโพรลีนได้เร็ว อาจใช้เป็นตัวชี้วัดถึงความไวต่อสภาวะแล้งได้ (Cia et al., 2012)

จากรายงานดังกล่าวนี้ การทดสอบในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ เช่น การใช้ตู้ควบคุมสภาวะแวดล้อมและศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในสภาพโรงเรือนที่ควบคุมองค์ประกอบต่างๆ ได้ ร่วมกับการวิเคราะห์แสดงออกของยีน หรือการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวให้พืชสามารถอยู่ในสภาพแล้งได้นั้น จึงสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการบ่งชี้การทนแล้งของอ้อยพันธุ์ต่างๆ ได้อย่างแม่นยำกว่าการทดสอบด้วยวิธีดั้งเดิมที่ใช้การปลูกทดสอบในสภาพไร่ที่ไม่สามารถควบคุมตัวแปรด้านสภาพแวดล้อมได้เต็มที่ ยีนและการแสดงออกของยีน หรือการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีที่ได้จากการใช้วิธีการนี้ในการทดสอบ สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายชีวภาพ (Biomarker) ในการคัดเลือกพันธุ์อ้อยทนแล้ง การติดตามการถ่ายทอดลักษณะทนแล้งในงานปรับปรุงพันธุ์ได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาตอบสนองทางสรีระวิทยาและทางชีวเคมีชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดจากการขาดน้ำของอ้อยพันธุ์ต่างๆ ของ

สถาบันวิจัยพืชไร่ฯ ที่เปลี่ยนแปลงไปในสภาพแล้งที่ทดสอบในสภาวะที่ควบคุม เพื่อใช้ศึกษาปฏิกิริยาการทนแล้งในอ้อยพันธุ์ดังกล่าวเพื่อความเข้าใจรูปแบบการเจริญเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาภายใต้สภาพแล้งจากขาดน้ำและจากอุณหภูมิสูงของอ้อย ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสมกับการปลูกในพื้นที่ของเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ รวมทั้งเพื่อใช้เป็นวิธีการในการติดตามลักษณะและบ่งชี้การทนแล้งที่แม่นยำของอ้อยได้

8. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ : เครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสง อ่างควบคุมอุณหภูมิ อุปกรณ์ดูดจ่ายสารละลาย เครื่องปั่นเหวี่ยง หลอดแอพเพนดอร์ฟ กระถางพลาสติก ดินสำหรับเพาะกล้า

ตัวอย่างพืช : ต้นกล้าอ้อยพันธุ์ต่างๆ 26พันธุ์ ดังนี้

พันธุ์ทนแล้ง ได้แก่ ขอนแก่น3, อู่ทอง6, K88-92

พันธุ์อ่อนแอต่อสภาวะแล้ง ได้แก่ KPK 98-40, บาดิลล่า, สุพรรณบุรี72

พันธุ์ทดสอบที่ไม่ทราบลักษณะการทนแล้ง ได้แก่ UT10-015R, KK07-037, KK07-501, RT, โคลนรหัส 103, 307, 315, 318 และ 320, KK08-053, KK06-381, KK07-234, KK07-370, ทองภูมิ 6, KK09-0358, KK09-0857 (ลูกผสมรุ่น BC1 หรือ BC2 S. spontenium), KK07-250, KK120-85, UT15 และ UT10-175

ใช้พันธุ์ขอนแก่น3 เป็นพันธุ์ควบคุมในการทดสอบ

วิธีการ :

แผนการทดลอง : แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 : ทดสอบสภาวะแล้งจากการขาดน้ำและความร้อน ดำเนินการในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อม ประกอบด้วย กลุ่มควบคุมให้น้ำ และกลุ่มทดสอบในตู้ควบคุมฯ ไม่ให้น้ำ กลุ่มละ 10 ซ้ำ (ต้น) ทดสอบ 2 และ 4 วัน

ขั้นตอนที่ 2 : ทดสอบสภาวะแล้งจากการขาดน้ำดำเนินการในสภาพโรงเรือน ประกอบด้วย 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดทดสอบสภาวะแล้ง และชุดทดสอบการคืนสภาพ (recovery) การให้น้ำประกอบด้วยปริมาณน้ำ 2 ระดับ คือ ความจุความชื้นสนาม (field capacity, FC) และ 1/3 ปริมาณน้ำที่พืชนำไปใช้ได้ (available water, AW) ชุดละ 4 ซ้ำ (ต้น) งดน้ำ 14 วัน และให้น้ำกลับ 30 วัน

ขั้นตอนการดำเนินการ :

การทดสอบในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อม : ดำเนินการโดยปลูกอ้อยในกระถางพลาสติกบรรจุทราย ขนาดกว้าง 20 ซม. ยาว 47 ซม. ใช้อ้อยอายุประมาณ 60 วันหลังปลูก แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมที่มีการให้น้ำ และกลุ่มทดสอบที่ไม่ให้น้ำและทดสอบในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 และ 4 วัน ใช้ตัวอย่างกลุ่มละ 10 ต้น นำตัวอย่างมาทดสอบสภาวะแล้งในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต โดยควบคุมอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 55 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มแสง 20,000 LUX ในช่วงส่องสว่าง เวลาส่องสว่าง:มืด 14:10 ชั่วโมง ไม่ให้น้ำระหว่างทดสอบ เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ที่ 2 วัน และ 4 วัน วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางสรรีระและทางชีวเคมี

การทดสอบการขาดน้ำในกระถางภายใต้สภาพโรงเรือน : ดำเนินการโดยปลูกอ้อยในกระถาง ทดสอบภายใต้สภาพโรงเรือน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น เมื่ออ้อยอายุ 60 วันนับจากวันเพาะ แบ่งต้นอ้อยออกเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 ประกอบด้วยกลุ่มควบคุม ซึ่งรดน้ำให้ดินในกระถางมีความชื้นที่ระดับความจุความชื้นสนาม (field

กรมวิชาการเกษตร

capacity, FC) และกลุ่มขาดน้ำ โดยงดให้น้ำจนความชื้นในดินลดลงจนถึงระดับ 1/3 ของน้ำใช้ประโยชน์ได้ (available water, AW) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและค่าทางสรีรวิทยา ชุดที่ 2 ใช้ศึกษาการคืนสภาพ (recovery) ของอ้อย ประกอบด้วยตัวอย่างพืชและการทดลองเช่นเดียวกันกับชุดที่ 1 แต่หลังจากทดสอบแล้งในกลุ่มทดสอบแล้ว จากนั้นทำการรดน้ำให้ดินในกระถางให้มีความชื้นที่ระดับ FC เป็นเวลา 30 วัน เก็บข้อมูลเช่นเดียวกันกับชุดที่ 1 ทำการทดสอบพันธุ์/จีโนไทป์ ละ 4 ซ้ำต่อชุด

การเตรียมต้นอ้อยสำหรับทดสอบในโรงเรือน : เตรียมท่อนพันธุ์อ้อย เพาะในถุงพลาสติก หลังงอกคัดเลือกเฉพาะต้นที่สมบูรณ์ ย้ายปลูกในกระถางพลาสติกกลมขนาด 17 นิ้ว ที่มีดินที่ได้จากแปลงทดลองภายในของศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น (ชุดยโสธร) น้ำหนัก 20 กิโลกรัมต่อกระถาง เพาะเลี้ยงในเรือนการทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น โดยรดน้ำให้ดินทุกกระถางมีความชื้นที่ระดับความจุชื้นสนามจนกระทั่งอ้อยมีอายุ 60 วัน ชักนำให้อ้อยชุดทดสอบสภาวะเครียดแล้ง โดยงดให้น้ำจนความชื้นในดินลดลงถึงระดับ 1/3 AW เป็นเวลา 21 วันตรวจสอบความชื้นในดินในกระถางด้วยวิธีกราวิเมตริกที่ความลึก 15 เซนติเมตร (6 นิ้ว) จากผิวดิน เก็บตัวอย่างของอ้อยกลุ่มขาดน้ำและกลุ่มควบคุม

การวัดการเจริญเติบโต : วัดความสูงของต้น โดยวัดจากโคนต้นจนถึงคอใบของใบบนสุดที่แผ่เต็มที่และเห็นคอใบชัดเจน [Top visible dewlap (TVD) leaf] วัดความยาวราก ชั่งน้ำหนักสดของต้นและราก จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งตัวอย่างแห้งแล้วจึงนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้งของต้นและราก

การวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ : ชั่งน้ำหนักสด (fresh weight; FW) ของใบ TVD โดยนำชิ้นส่วนใบขนาดยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร ใส่ลงในหลอด Eppendorf ปิดฝาให้สนิท และทำการชั่งน้ำหนักสดอย่างรวดเร็ว ย้ายใบไปแช่ในจาน (petri dish) ที่มีน้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionized water) ปริมาตร 10 ml ปิดฝาแล้วนำไปวางให้ได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ใบอ้อยดูดน้ำอย่างเต็มที่ จากนั้นนำชิ้นส่วนใบไปชั่งหาน้ำหนักเต่ง (turgid weight; TW) และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และชั่งน้ำหนักแห้ง (dry weight; DW) คำนวณหาค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (RWC) ตามวิธีการของ Turner (1981) จากสูตรคำนวณ ดังนี้

ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (RWC) = [(FW - DW)/(TW - DW)]x100

การวัดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ : วัดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ภายในใบ โดยการตัดชิ้นส่วนของใบ TVD น้ำหนัก 0.1 กรัม แช่ในหลอดขนาด 15 ml ที่มีน้ำ Deionized water ปริมาตร 10 ml ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการนำไฟฟ้า (EC1) จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC2) คำนวณร้อยละการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ตามวิธีการของ Dionisio-Sese and Tobita (1998) จากสูตรคำนวณ ดังนี้

ร้อยละการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (EL) = (EC1/EC2) x 100

การวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ : ใช้ตัวอย่างใบอ้อย 0.1 กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลว เติม 0.2M perchloric ปริมาตร 1ml ลงในตัวอย่าง แล้วเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ทำปฏิกิริยาโดยดูดส่วนใส่ปริมาตร 800 µl แล้วเติม 4M KOH ปริมาตร 63 µl เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้ชุด Kit (Hydrogen peroxide test Method: photometric

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Wasserstoffperoxide-test) โดยเติม Reagent1 และ Reagent 2 ปริมาตร 80 µl ตามลำดับ จากนั้นเติมสารละลายส่วนใส ปริมาตร 13.4 µl แล้วเขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงบันทึกผลการทดลองและรายงานผลในหน่วย mg/L

การวัดปริมาณโพรลีน : วัดปริมาณสารโพรลีน ตามวิธีการของ Bates et al. (1973) บดตัวอย่างเกสรอ้อยน้ำหนัก 0.1กรัม ด้วยไนโตรเจนเหลว เติม 3% sulfosalicylic acid ปริมาตร 5 ml กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปิเปตสารละลายที่ได้ปริมาตร 1ml เติมสารผสม ninhydrin ที่ประกอบด้วย ninhydrin ปริมาณ 1.25 กรัม ใน 3 ml acetic acid และ 6 M phosphoric acid ปริมาตร 20 ml นำส่วนใส่ที่ได้ปริมาตร 1 ml แช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาในกระบะน้ำเย็น เติม toluene ปริมาตร 2 ml ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ดูดสารละลายบริเวณด้านบนเหนือผิว ของโทลูอีน วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้โทลูอีน เป็น blank นำค่าที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานโพรลีนที่ใช้ L-proline

การวัดปริมาณไกลซีนบีเทน : การวัดปริมาณไกลซีนบีเทนโดยดัดแปลงวิธีการวัดมาจากวิธีของ Patade et al. (2011) โดยนำตัวอย่างใบอ้อยมาตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนัก 0.1 กรัมจากนั้นบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว เติม deionized water ปริมาตร 4,000 µl ลงในตัวอย่างที่บดละเอียดใน Erlenmeyer Flaskแล้วนำไปเขย่าบน shaker เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กรองเอาส่วนใสโดยใช้กระดาษกรอง (filter paper)เตรียมหลอด eppendorf เท่ากับจำนวนตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เจือจางสารละลายตัวอย่างโดยเติมสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 500 µl ลงใน 2N H_2SO_4 ปริมาตร 500 µl แช่ไว้ในน้ำแข็งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม KI-I_2 ปริมาตร 200 µl แล้ว mixเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้เติม 1,2-dichloethane ปริมาตร 1,000 µl ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-2.5 ชั่วโมง นำสารละลายส่วนใสที่ได้วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงที่ 365 nm และใช้ 1,2-dichloethane เป็น blank

การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ : การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์โดยดัดแปลงวิธีการวัดมาจากวิธีของ Heath และ Packer(1968). โดยเก็บตัวอย่างใบอ้อยน้ำหนัก 0.1 กรัม บดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วเติม 0.1% TCA reagentปริมาตร 1 ml แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที ดูดสารละลายส่วนใสปริมาตร0.2 ml ใส่หลอด eppendorf ขนาด 1.5 ml จากนั้นเติม TBA reagent [0.5% (w/v) TBA ใน 20% (w/v) Trichloroacetic acid (TCA)] ปริมาตร 0.8 ml จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นแช่ในน้ำแข็งทันที 5 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm และ 600 nm โดยใช้ TBA reagent ปริมาตร 0.8 ml ผสมกับ 0.1% TCA reagent 0.2 ml เป็น blank นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณ MDAจากค่า Extinction coefficient = 155 mM-1cm-1 และแสดงปริมาณ MDA ในหน่วย mM/g FW

การวัดปริมาณของโปรตีน : การวัดปริมาณของโปรตีนในใบอ้อย โดยดัดแปลงวิธีการวัดมาจากวิธีของ Bradford (1976) โดยเก็บตัวอย่างใบอ้อยน้ำหนัก 0.1 กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลว เติม extraction buffer (0.25M NaCl ใน 0.05M Sodium phosphate buffer (pH7.0)) ปริมาตร 1,000 µl ใส่ใน

กรมวิชาการเกษตร

eppendorf ขนาด 1.5 ml เขย่าให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา15 นาที ทำปฏิกิริยาโดยนำสารละลายส่วนใส ปริมาตร 20 µl เติมลงในสารละลาย Bradford reagent ปริมาตร 1,000 µl ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที ส่วน Blank เติม Extraction buffer 20 µl วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงที่ 595 nm แล้วบันทึกค่าดูดกลืนแสง คำนวณเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส แสดงปริมาณโปรตีนในหน่วย mg/ g FW

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ Ascorbate Peroxidase (APX) : การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ Ascorbate Peroxidase โดยดัดแปลงวิธีการวัดมาจากวิธีของ Nakano และ Asada (1998) เก็บตัวอย่างใบชั่งน้ำหนัก 0.1 กรัมบดด้วยไนโตรเจนเหลวเติม extraction buffer (HEPES buffer pH7.0) ปริมาตร 1,000µl ใส่ใน Eppendorf ขนาด 1.5 mlเขย่าให้เข้ากัน แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำปฏิกิริยาโดยเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 760 µl ตามด้วย 1mM EDTA ปริมาตร 100 µl และ 5 mM ascorbate ปริมาตร 100 µl และเติมสารละลายส่วนใสปริมาตร 30 µlจากนั้นเติม 1mM hydrogen peroxide ปริมาตร 10 µl (เติมก่อนวัด) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 290 nm ส่วน Blank คือ น้ำกลั่น บันทึกค่าดูดกลืนแสงที่วินาทีที่ 0 และ 1 นาที

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ Guaiacal Peroxidase (GPX) : การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ Guaiacal Peroxidase โดยดัดแปลงวิธีการวัดมาจากวิธีของ Ghamsari et al. (2007) โดยเก็บตัวอย่างใบชั่งน้ำหนัก 0.1 กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลว เติม extraction buffer (GPX) ปริมาตร 1,000 µl ใส่ใน Eppendorf ขนาด 1.5 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำปฏิกิริยาโดย เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 830 µl ตามด้วย 10x 60 mM K-phosphate buffer (pH6.1) ปริมาตร100 µl และ28 mM guaical ปริมาตร 10 µl เติมสารละลายส่วนใสปริมาตร 10 µl จากนั้นเติม 1mM hydrogen peroxide ปริมาตร 10 µl (เติมก่อนวัด) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง470 nm ส่วน Blank คือ น้ำกลั่น บันทึกค่าดูดกลืนแสงที่วินาทีที่ 0 และ 1 นาที

การวิเคราะห์ปริมาณแป้งและน้ำตาลรวม: การวัดปริมาณน้ำตาลรวมด้วย Anthrone reagent โดยดัดแปลงวิธีการวัดมาจากวิธีของ Patade et al. (2011) โดยเก็บตัวอย่างใบอ้อยชั่งน้ำหนัก 0.1กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วเติม 80% Ethanol ปริมาตร 1 ml ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ4องศาเซลเซียส จากนั้นปิเปตสารส่วนใสใส่หลอด eppendorf ปริมาตร 100 µlแล้วเติม Anthrone reagent ปริมาตร 500 µlบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 นาทีหยุดปฏิกิริยาโดยการนำไปแช่ในน้ำแข็ง จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงที่ 630 nm โดยใช้ Anthrone reagent เป็น blank คำนวณเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส แสดงปริมาณน้ำตาลรวมในหน่วย mg/ g FW การวัดปริมาณแป้ง โดยการนำเนื้อเยื่อที่สกัดน้ำตาลออกแล้วนำมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 500 µlและ 52% perchloric acid ปริมาตร 650µl เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ4องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแป้งด้วยวิธี Anthrone reagent ตามขั้นตอนดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น และคำนวณเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส แสดงปริมาณแป้งในหน่วย mg/ g FW

กรมวิชาการเกษตร

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์: วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีของ Arnon (1949) โดยนำตัวอย่างใบอ้อยน้ำหนัก 0.1กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลว เติม 80% acetone ปริมาตร 1 ml ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 nm โดยใช้ 80% acetone เป็น blank แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์รวม มีหน่วยเป็น mg /g FW จากสูตร

คลอโรฟิลล์รวม = ([20.2 (A645)+ 8.02 (A663)])/(1000×น้ำหนักตัวอย่างพืช) × ปริมาตร

A645 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 nm

A663 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 663 nm

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกส์ : วัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์โดยดัดแปลงวิธีการวัดมาจาก Kaur และ Kapoor (2002). โดยบดตัวอย่างใบอ้อยน้ำหนัก 0.1กรัม ด้วยไนโตรเจนเหลว เติม 80% Ethanol ปริมาตร 1 ml ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปิเปตสารส่วนใสใส่หลอด eppendorf ขนาด 1.5 ml ปริมาตร 20 µl เติมน้ำกลั่นปริมาตร 780 µl และเติม Folin-Ciocalteau reagent ปริมาตร 50 µl เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม 2.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 150 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 532 nm โดยใช้ Folin-Ciocalteau reagent, 2.5% Na_2CO_3,น้ำกลั่น และใช้ 80% Ethanol แทนสารสกัด เป็น blank คำนวณเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกส์ในหน่วย mg/g FW

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น : ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2563

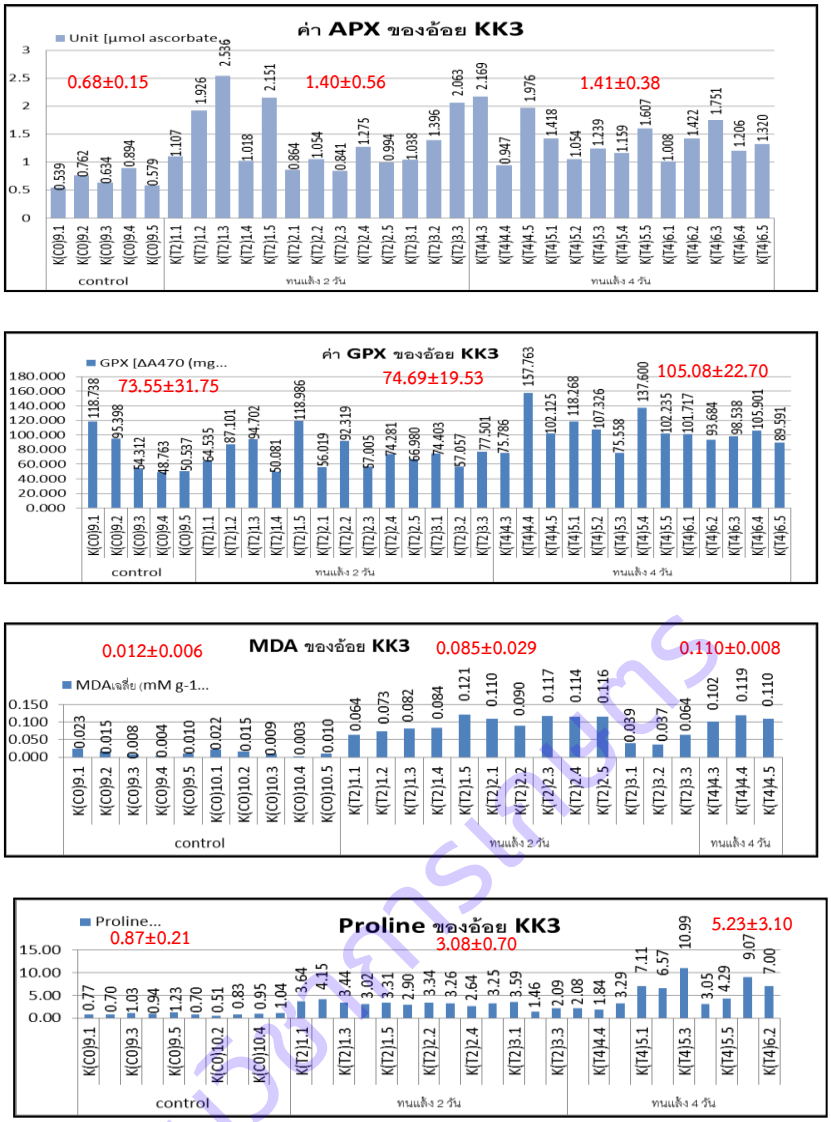
สถานที่ทำการทดลอง : ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีต่อสภาวะเครียดแล้งจากการขาดน้ำและความร้อนในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ทดสอบในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต :

ผลการตรวจการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีจำนวน 9 ชนิด พบว่า กิจกรรมเอ็นไซม์ในกลุ่ม oxidative stress ได้แก่ Ascorbate peroxidase (APX) มีปริมาณสูงขึ้นประมาณ 2 เท่า (1.40±0.56 และ 1.41±0.38 unit) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้น้ำ (0.68±0.15 unit) ในขณะที่ Guaicol peroxidase (GPX) มีการตอบสนองที่ช้ากว่า โดยมีปริมาณสูงขึ้นประมาณ 1.4 เท่าหลังการทดสอบที่ 4 วัน การตรวจวิเคราะห์สารในกลุ่มที่แสดงถึงการทำลายของเซลล์ ได้แก่ Malondialdehyde (MDA) พบว่ามีปริมาณสูงขึ้นเมื่อผ่านการทดสอบแล้ง โดยเพิ่มจาก 0.012±0.006 mg/gfw เป็น 0.085±0.029 และ 0.110±0.008 mg/gfw และกลุ่มที่แสดงถึงภาวะปัญหาความเต่งของเซลล์ ได้แก่ Proline มีการเพิ่มขึ้น 3 และ 5 เท่า ที่ 2 วันและ 4 วัน (ภาพที่ 1)

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุประมาณ 60 วัน หลังการทดสอบในตู้ควบคุมอุณหภูมิในที่ควบคุมอุณหภูมิ 39°C ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 55% RH ความเข้มแสง 20,000 LUX และการส่องสว่าง 14/10 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) นาน 2 วัน และ 4วัน ไม่ให้น้ำ APX : ascorbate peroxidase, GPX: guaicol peroxidase, MDA : malondialdehyde Control : ไม่ได้ทดสอบในตู้ควบคุมและให้น้ำ ตัวเลขเหนือกราฟ : ค่าเฉลี่ย

การทดสอบซ้ำในพันธุ์ขอนแก่น 3 พบว่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นประมาณ 1.09 ถึง 2.74 เท่า ในกลุ่มตัวอย่างที่ทดสอบเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่กิจกรรมเอ็นไซม์กลุ่มออกซิเดชั่นอีก 3 ชนิด ได้แก่ GPX, CAT, SOD มีค่าแปรปรวน แต่พบว่าค่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมมีปริมาณสูงขึ้นในกลุ่มทดสอบเฉลี่ย 1.19 ถึง 1.72 เท่าของกลุ่มที่ไม่ได้ทดสอบ โดยมีค่าการเปลี่ยนแปลงเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับกิจกรรมเอ็นไซม์ APX (ภาพที่ 2)

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดสอบเดิมที่ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ซึ่งทำการทดสอบในอ้อย 4 พันธุ์ ได้แก่ ขอนแก่น 3 อู่ทอง 6 และพันธุ์ K88-92 และพันธุ์อ่อนแอต่อสภาวะแล้ง ได้แก่ KPK 98-40 พบว่าค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX ในพันธุ์ขอนแก่น3 มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยจากชุดควบคุม 2.94 เท่า (เฉลี่ย 3.65 : 1.24 unit) ค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ GPX พบว่า พันธุ์ขอนแก่น3 มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม 2.06 เท่า

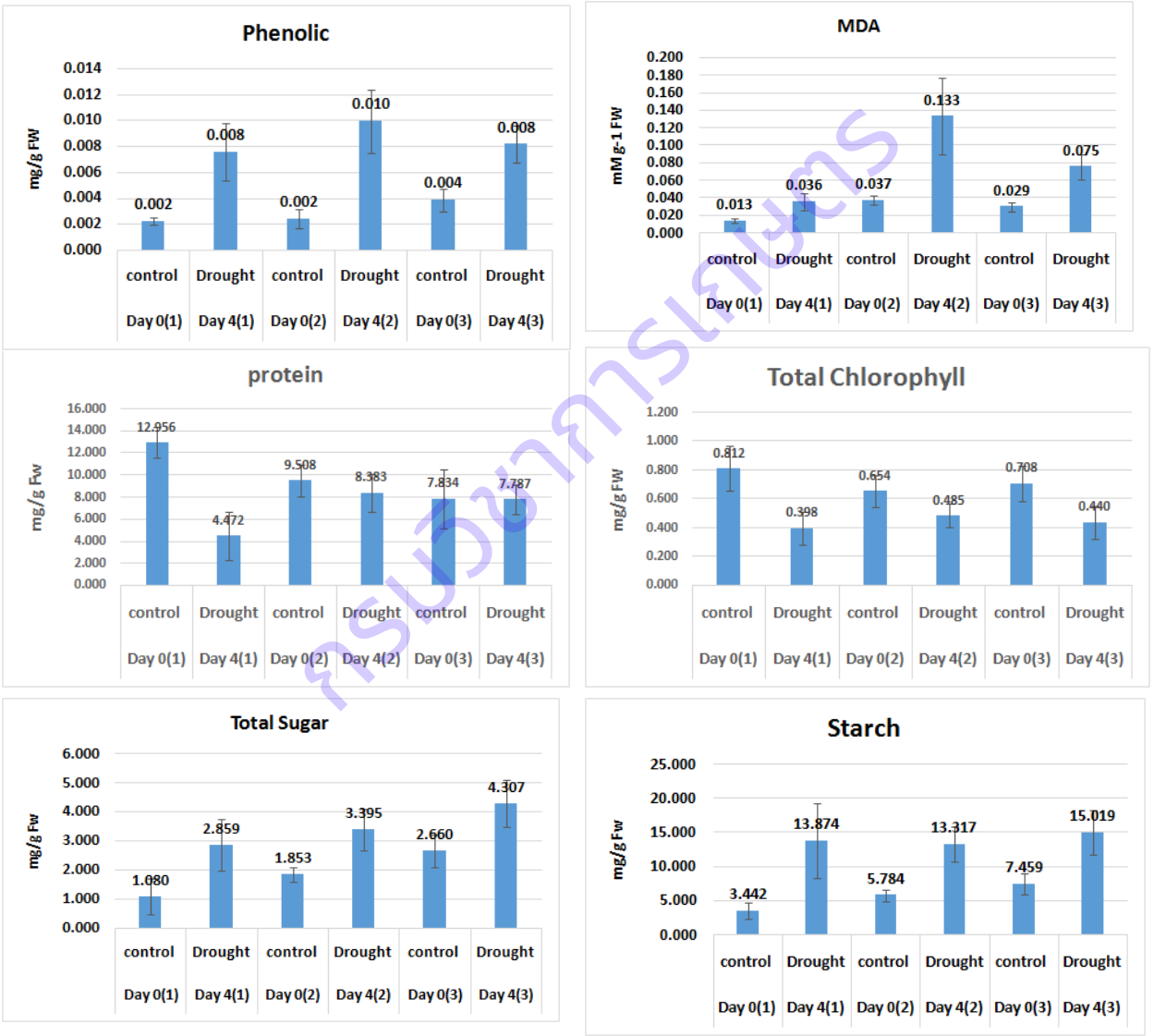
(เฉลี่ย 220.24 : 106.99 unit) ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สูงกว่าชุดควบคุม 2.06 เท่า (เฉลี่ย 73.99 : 35.89 mg/l) และ MDA สูงกว่าชุดควบคุม 4.00 เท่า (เฉลี่ย 0.092 : 0.023 mM/g FW) เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ อู่ทอง 6 และพันธุ์ K88-92 พบว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 มีกิจกรรมเอ็นไซม์ APX และ GPX สูงกว่าทั้ง 2 พันธุ์ ในขณะที่พันธุ์ KPK 98-40 ที่ไม่ทนแล้งพบว่ามีปริมาณ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ MDA สะสมสูงมากกว่าอีก 2 พันธุ์ และมีกิจกรรมเอ็นไซม์ GPX ต่ำอีกด้วย มีปริมาณสาร Proline สูงกว่าค่าเฉลี่ย และ Glycine betaine สูงกว่าค่าเฉลี่ยจากชุดควบคุม 1.27 เท่า (เฉลี่ย 36.66 : 28.81 nmol/g) เช่นเดียวกันกับปริมาณ Chlorophyll รวมของทุกพันธุ์มีค่าลดลงเฉลี่ยประมาณ 2-3 เท่า แต่ปริมาณแป้งและน้ำตาลรวมประมาณ 2 เท่าผล

ภาพที่ 2 ค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงทางค่ากิจกรรมเอ็นไซม์กลุ่มออกซิเดชั่นและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุประมาณ 60 วัน หลังการทดสอบในตู้ควบคุมอุณหภูมิในที่ควบคุมอุณหภูมิ 33°C (มืด) 39°C (สว่าง) ความชื้น

กรมวิชาการเกษตร

สัมพัทธ์ที่ 55% RH ความเข้มแสง 20,000 LUX และการส่องสว่าง 14/10 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) นาน 4 วัน ไม่ให้น้ำ APX : ascorbate peroxidase, GPX: guaicol peroxidase, SOD: superoxide dismutase, Catalase Drought : ทดสอบในสภาพควบคุม ไม่ให้น้ำ Control: ไม่ได้ทดสอบในสภาพควบคุมและให้น้ำตามปกติ ตัวเลขเหนือกราฟ : ค่าเฉลี่ย

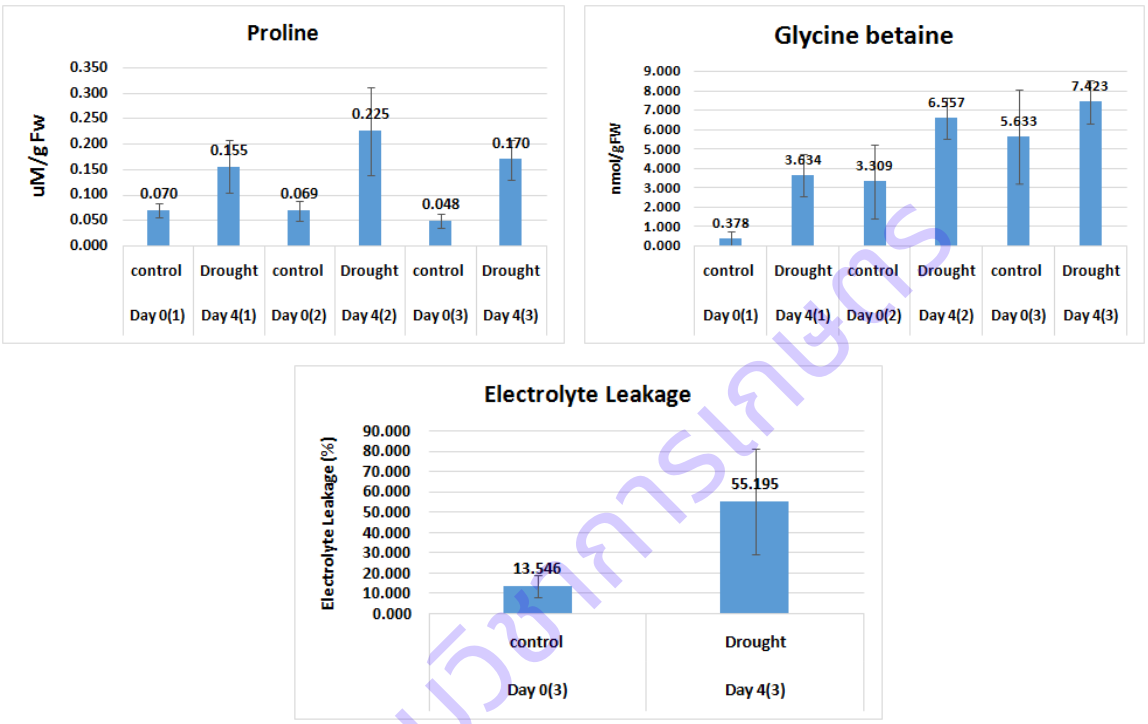
การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบอื่นๆ ในพันธุ์ขอนแก่น 3 พบว่า คลอโรฟิลล์มีค่าเฉลี่ยต่ำลง 0.49-0.74 เท่าของกลุ่มควบคุม ในขณะที่มีการสะสมแป้งและน้ำตาลสูงขึ้นในกลุ่มที่ทดสอบ 2.01-4.03 เท่า และ 1.62-2.65 เท่า ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าไม่มีผลของโรคใบขาวมาแทรกซ้อน เช่นเดียวกับสารประกอบฟีนอลิกส์และ MDA ที่พบว่ามีค่าเฉลี่ยสูงขึ้น 2-5 เท่า และ 2.59-3.59 เท่า ตามลำดับ (ภาพที่ 3) การตรวจพบปริมาณน้ำตาลมีค่าสูงขึ้นหลังการทดสอบ ซึ่งเป็นอาการปกติของอ้อยที่ถูกทดสอบในภาวะร้อนและขาดน้ำ



กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุประมาณ 60 วัน หลังการทดสอบในตู้ควบคุมอุณหภูมิในที่ควบคุมอุณหภูมิ 33°C (มืด) 39°C (สว่าง) ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 55% RH ความเข้มแสง 20,000 LUX และการส่องสว่าง 14/10 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) นาน 4 วัน ไม่ให้น้ำ MDA : Malondialdehyde Control: ไม่ได้ทดสอบในตู้ควบคุมและให้น้ำ

ผลการตรวจวิเคราะห์สารในกลุ่ม osmotic stress หลังทดสอบ 4 วัน พบว่าสาร Proline ที่เป็นกรดอะมิโนในกลุ่มการรักษาความยืดหยุ่นของโปรตีนมีค่าเฉลี่ยสูงขึ้น 2.21-3.54 เท่า ส่วนสาร Glycine betaine ที่เป็น compatible solutes ทำหน้าที่ปรับความเต่งภายในเซลล์ (Osmotic adjustment) พบว่ามีค่าสูงขึ้นเช่นเดียวกัน ตั้งแต่ 1.32-9.61 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ค่าการแตกของเซลล์ตรวจจากค่า Electrolyte leakage มีเฉลี่ย 4 เท่าของกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 4)



กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของสารในกลุ่ม osmoprotectant ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุประมาณ 60 วัน หลังการทดสอบในตู้ควบคุมอุณหภูมิในที่ควบคุมอุณหภูมิ 33°C (มืด) 39°C (สว่าง) ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 55% RH ความเข้มแสง 20,000 LUX และการส่องสว่าง 14/10 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) นาน 4 วัน ไม่ให้น้ำ Drought : กลุ่มทดสอบในสภาพควบคุมและไม่ให้น้ำ Control: ไม่ได้ทดสอบในสภาพควบคุมและให้น้ำตามปกติ ตัวเลขเหนือกราฟ : ค่าเฉลี่ย

จากผลการทดสอบดังกล่าว แสดงให้เห็นถึงกลไกในการตอบสนองต่อสภาพร้อนและขาดน้ำของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ในระยะต้นอ่อนประมาณ 60 วันหลังปลูก ซึ่งพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอ็นไซม์ในกลุ่มออกซิเดชั่นที่เด่นชัด คือ APX มีการควบคุมสภาพการขาดน้ำภายในเซลล์จากการเพิ่มขึ้นของทั้ง Proline และ Glycine betaine โดยทั้งสองสารนี้มีค่าเฉลี่ยรวมสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมเท่ากับ 2.7 เท่าเช่นเดียวกัน

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีต่อสภาวะเครียดแล้งจากการขาดน้ำและความร้อนในอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 72 และ UT10-015R ทดสอบในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต :

พบว่า กิจกรรมเอ็นไซม์ในกลุ่ม oxidative stress ได้แก่ Ascorbate peroxidase (APX) และ Guaicol peroxidase (GPX) มีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันใน 2 พันธุ์นี้ แต่มีปริมาณการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอ็นไซม์ต่ำกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีกิจกรรมเอ็นไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้เพิ่มขึ้น 2.94 และ 2.06 เท่า ตามลำดับเมื่อทดสอบในสภาวะเดียวกัน และพบว่าปริมาณของ Proline และ Glycine betaine ของพันธุ์สุพรรณบุรี 72 และ UT10-015R ไม่แตกต่างกันระหว่างการทดสอบใน 2 สภาวะ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ระดับการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีและกิจกรรมเอ็นไซม์ของอ้อย 2 พันธุ์จากการทดสอบสภาวะแล้งในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตนาน 2 และ 4 วัน (หน่วย : จำนวนเท่าของการเพิ่มปริมาณเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทดสอบสภาวะแล้ง)

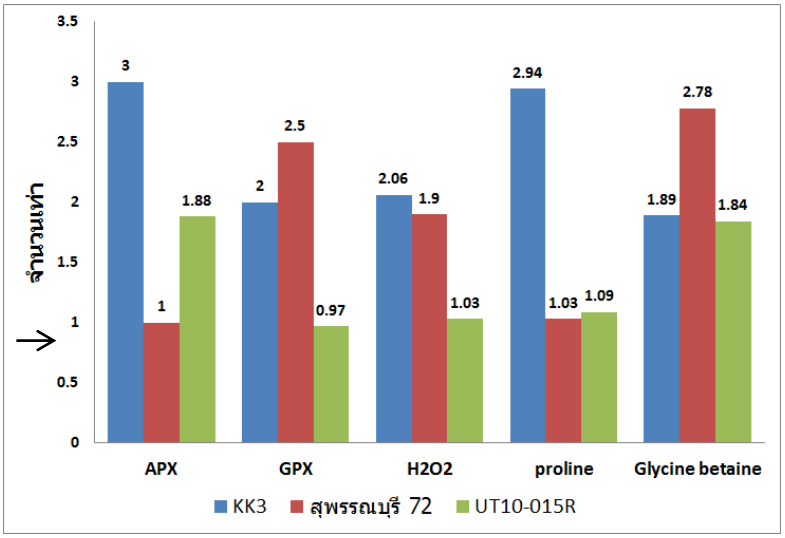
ชนิดสารชีวเคมี	สุพรรณบุรี 72		UT10-015R	
	2 วัน	4 วัน	2 วัน	4 วัน
APX	0.41	1	0.58	1.88
GPX	0.78	2.5	1.68	0.97
H_2O_2	1.37	1.90	0.90	1.03
Proline	1.00	1.03	1.04	1.09
Glycine betaine	NT	2.78	1.13	1.84

NT : ไม่ได้ทดสอบ

การทดสอบใน 2 พันธุ์นี้ ได้ข้อมูลที่ไม่สมบูรณ์ และมีปัญหาโรคใบขาว

จากผลการทดสอบปฏิกิริยาการทนแล้งในสภาพร้อนและขาดน้ำเป็นเวลา 4 วัน ในอ้อยพันธุ์ทนแล้ง ได้แก่ ขอนแก่น3 มีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX, GPX สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสม โพรลีน และไกลซีนบีเทน สูงกว่ากลุ่มควบคุมทั้งหมด ในขณะที่พันธุ์อ่อนแอต่อสภาวะแล้ง ได้แก่ สุพรรณบุรี72 มีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์เฉพาะ APX สารไกลซีนบีเทน และสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ GPX และสารโพรลีนไม่เปลี่ยนแปลงจากกลุ่มควบคุม ส่วนในพันธุ์ทดสอบที่ไม่ทราบลักษณะการทนแล้ง ได้แก่ UT10-015R ซึ่งเป็นพันธุ์ลูกผสมที่ได้จากการคัดในรุ่นอ้อยตอ พบว่ามีกิจกรรมเอ็นไซม์ APX สูงขึ้นแต่น้อยกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 มีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ GPX และสารโพรลีนไม่เปลี่ยนแปลง แต่พบว่าไม่มีการสะสมสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มแม้อยู่ในสภาพแล้ง และมีสารไกลซีนบีเทนใกล้เคียงกับพันธุ์ขอนแก่น 3 (ภาพที่ 5) จากการทดลองนี้จะสังเกตได้ว่าการสร้างสารโพรลีนร่วมกับไกลซีนบีเทนอาจส่งผลต่อการรักษาสภาพเต่งของเซลล์ในสภาวะแล้งจากความร้อนและการขาดน้ำ และจากผลการทดลองนี้พันธุ์ UT10-015R อาจมีคุณสมบัติไม่ทนแล้งเมื่อเทียบกับพันธุ์ขอนแก่น 3

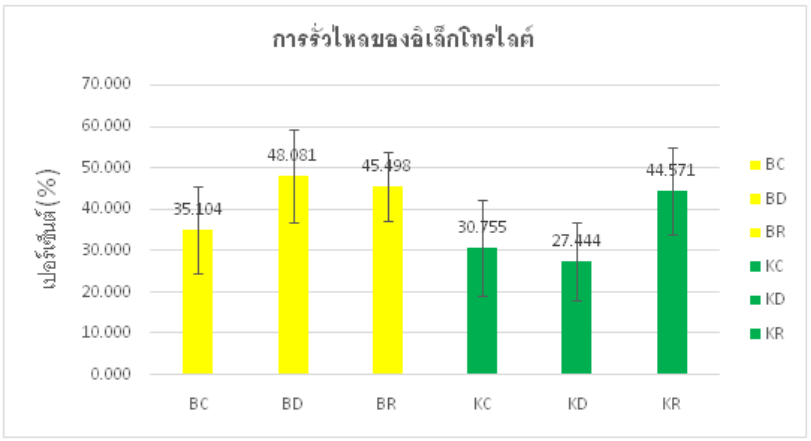
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 5 ระดับจำนวนเท่าของค่าการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีในกลุ่ม osmoprotectant และกิจกรรมเอ็นไซม์กลุ่ม oxidative stress จำนวน 5 ชนิดในอ้อย 3 พันธุ์อายุประมาณ 60 วันหลังปลูก จากการทดสอบสภาวะแล้งในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต ที่ 33°C (มืด) 39°C (สว่าง) ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 55% RH ความเข้มแสง 20,000 LUX และการส่องสว่าง 14/10 ชั่วโมง (สว่าง/มืด) นาน 4 วัน ไม่ให้น้ำ เทียบกับผลของกลุ่มควบคุมที่ให้น้ำตามปกตินาน 4 วัน ลูกศรชี้ : ระดับเท่ากับกลุ่มควบคุม

การรั่วไหลของสารอิเลคโตรไลต์ในภาวะขาดน้ำในสภาพโรงเรือน เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ทนแล้งและพันธุ์อ่อนแอ

ดำเนินการในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีลักษณะทนแล้งและพันธุ์บาดิลล่าที่อ่อนแอต่อสภาพแล้งขาดน้ำ โดยการทดลองชักนำสภาวะการขาดน้ำด้วยการงดให้น้ำในกระถาง โดยปลูกอ้อยในกระถางในโรงเรือนทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น รดน้ำให้ดินทุกกระถางมีความชื้นที่ระดับความจุชื้นสนาม (11.43%) จนกระทั่งอ้อยมีอายุ 124 วันหลังปลูก ชักนำให้อ้อยกลุ่มทดลองอยู่ในสภาวะเครียดแล้ง โดยงดให้น้ำจนความชื้นในดินลดลงจนถึงระดับ 1/3 AW (8.79%) ต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน แล้วให้น้ำกลับตรวจสอบการคืนสภาพ (Recovery) ของอ้อย โดยรดน้ำในกระถางให้มีความชื้นที่ระดับความจุความชื้นสนาม เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งอ้อยอายุครบ 145 วัน บันทึกข้อมูล เก็บตัวอย่างใบบนสุดที่แผ่เต็มที่และเห็นคอใบชัดเจน (Top Visible Dewlap (TVD) leaf) ตรวจการรั่วไหลของสารอิเลคโตรไลต์ พบว่าในภาวะขาดน้ำ ทั้งสองพันธุ์แสดงการรั่วไหลของสารอิเลคโตรไลท์ โดยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีค่าการรั่วไหล 32.73 % ในขณะที่พันธุ์บาดิลล่ามีค่าการรั่วไหล 53.86% (ภาพที่ 6) ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 แสดงถึงภาวะผนังเซลล์ถูกทำลายมากกว่า สอดคล้องกับผลการตรวจสารในกลุ่ม osmoprotectant ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่พบว่ามีค่าสูงกว่าพันธุ์อื่นที่ทดสอบ

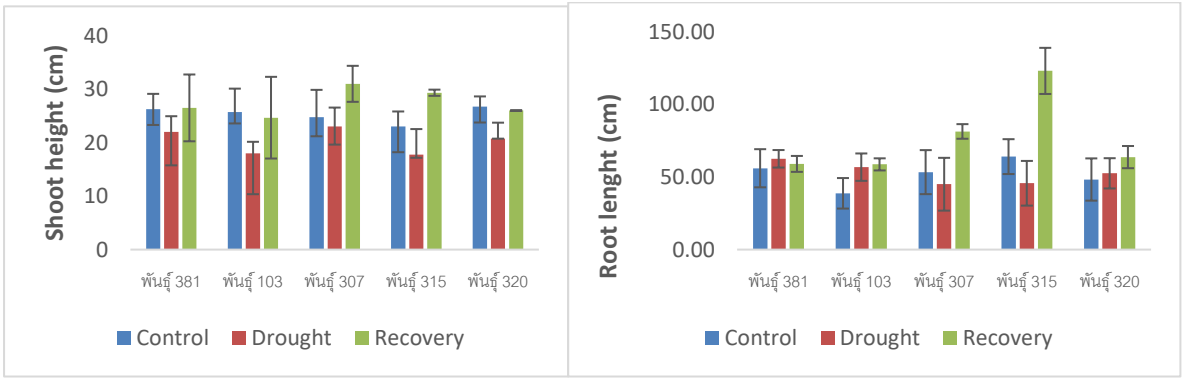


ภาพที่ 6 การทดลองตรวจวัดการรั่วไหลของสารอิเลคโตรไลต์ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์บาดิลล่า B=อ้อยพันธุ์ Badila (สีเหลือง), K= อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 (สีเขียว), C= กลุ่มควบคุม, D=กลุ่มทดสอบการขาดน้ำ, R=กลุ่มที่ให้น้ำกลับ

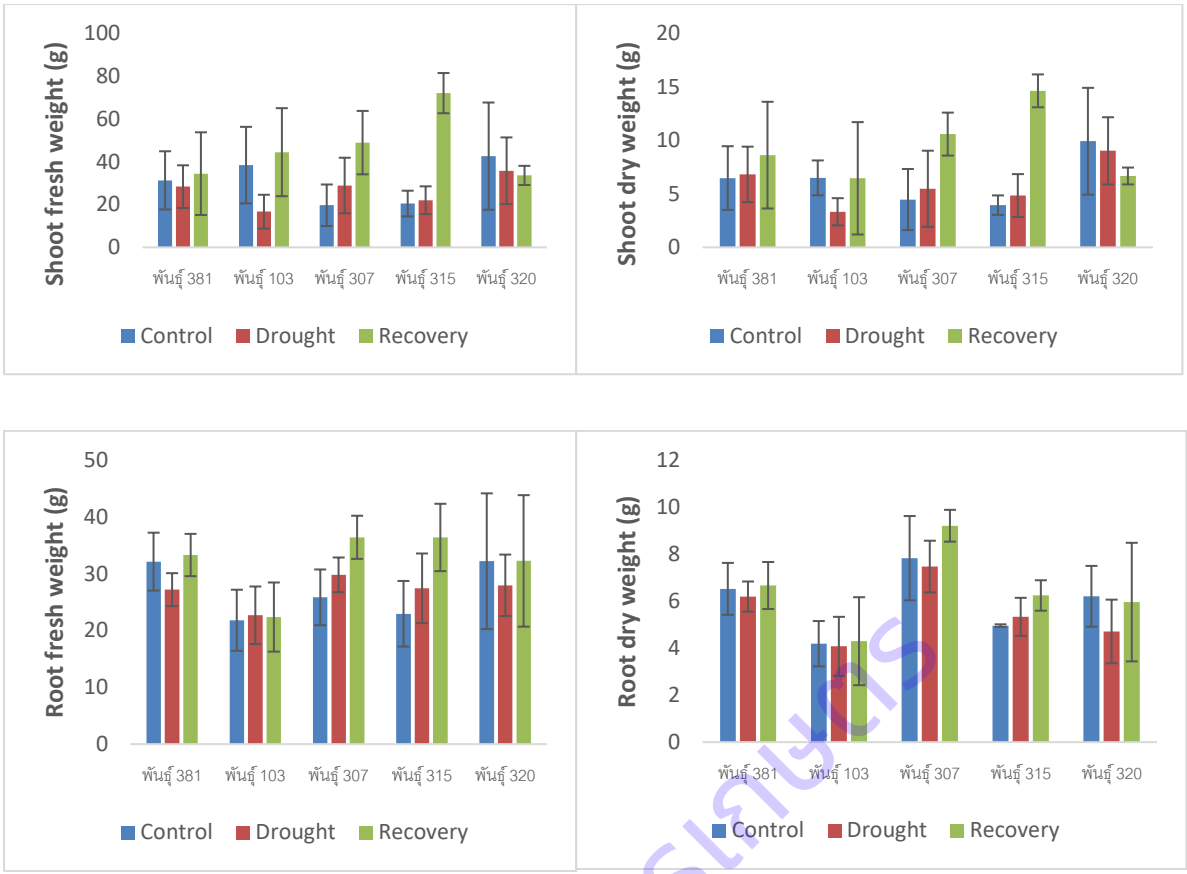
การทดสอบการทนแล้งในอ้อยลูกผสม 5 โคลนด้วยการตรวจวัดการเจริญเติบโตร่วมกับการรั่วไหลของอิเลคโตรไลท์และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในสภาพโรงเรือน

การทดสอบในอ้อย 5 โคลน ได้แก่ โคลนรหัส 103, 307, 315, 318 และ 320 โคลนละ 4 ซ้ำต่อ โดยหนึ่งชุดประกอบด้วย 3 กลุ่มตัวอย่าง คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มทดสอบสภาวะแล้ง และกลุ่มทดสอบการคืนสภาพ (recovery) มีผลการทดลองดังนี้

การเจริญเติบโต ประกอบด้วย ความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักต้นสด น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากสด และน้ำหนักรากแห้ง พบว่าโคลนรหัส 315 มีค่าการฟื้นตัวได้ดีกว่าโคลนอื่น โดยมีค่าความยาวราก (root length) น้ำหนักต้นสดและแห้ง (shoot fresh weight, shoot dry weight) ในกลุ่มให้น้ำกลับสูงกว่ากลุ่มอื่น รหัส 307 มีน้ำหนักรากสดและแห้งมากที่สุด ส่วนรหัส 103 มีน้ำหนักรากสดและแห้งน้อยที่สุด (ภาพที่ 7)

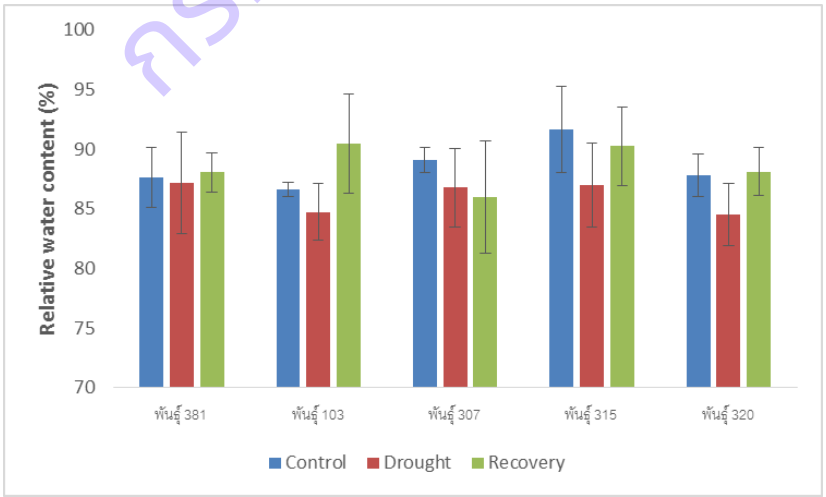


ศูนย์วิทยทรัพยากร



ภาพที่ 7 ความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักต้นสด น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากสด และน้ำหนักรากแห้ง ในอ้อยกลุ่มควบคุม กลุ่มเครียดแล้ง และกลุ่มให้น้ำกลับ

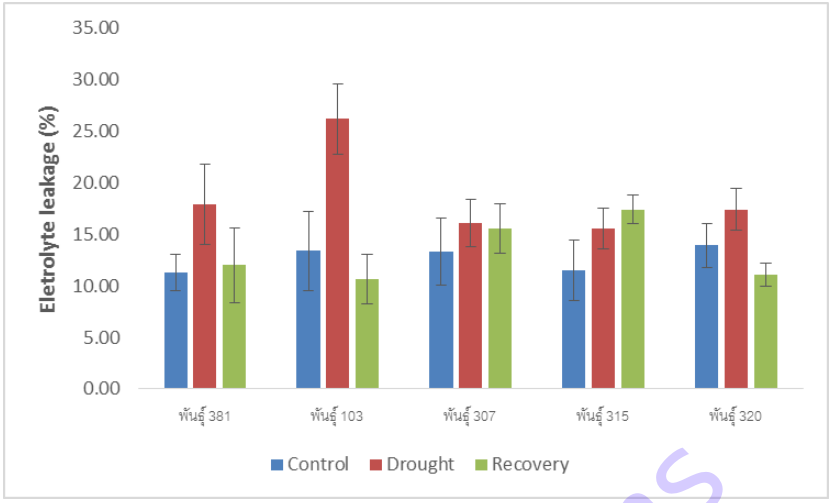
ลักษณะทางสรีรวิทยา : พบว่าโคลนรหัส 103 และ 320 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในกลุ่มทดสอบแล้งต่ำที่สุด และโคลนรหัส 103, 320 และ 315 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในกลุ่มให้น้ำกลับสูงกว่าโคลนอื่น (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ **(Relative water content; RWC) ในใ**บอ้อยในอ้อยกลุ่มควบคุม กลุ่มเครียดแล้ง และกลุ่มให้น้ำกลับ

กรมวิชาการเกษตร

แต่ในการทดสอบการรั่วไหลของอิเลคโตรไลท์ที่แสดงถึงการแตกของเซลล์ภายใน พบว่าโคลนรหัส 103 พบการรั่วไหลอิเลคโตรไลท์ในกลุ่มทดสอบสภาวะแล้งสูงที่สุด ในขณะที่โคลนรหัส 307, 315 และ 320 พบการรั่วไหลต่ำกว่ากลุ่มอื่น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการตรวจการเจริญเติบโต (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ในใบอ้อยในอ้อยกลุ่มควบคุม กลุ่มเครียดแล้ง และกลุ่มให้น้ำกลับ

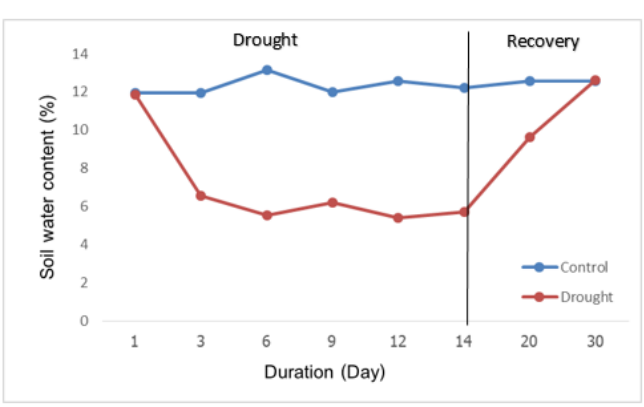
จากผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าแต่ละโคลนมีการตอบสนองต่อการขาดน้ำที่ต่างกัน โคลนรหัส 103 และ 381 ค่อนข้างอ่อนแอต่อสภาพแล้งจากการขาดน้ำ เมื่อเทียบกับ โคลน 307, 315 และ 320 โดยวิเคราะห์จากการเจริญเติบโตและการรั่วไหลของอิเลคโตรไลท์ โดยที่การวิเคราะห์ตัวแปรดังกล่าวนี้อาจนำมาใช้ในการพิจารณาคัดเลือกการทนแล้งของอ้อยได้ แต่ทั้งนี้ยังต้องอาศัยข้อมูลการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีมาใช้ในการตัดสิน

ชุดที่ 1 การทดสอบในอ้อยลูกผสมอ้อยป่า 6 พันธุ์ :

ทำการทดสอบในอ้อยลูกผสมอ้อยและ *S. spontaneum* 6 พันธุ์ ได้แก่ KK08-053 และ KK06-381 , KK07-234 และ KK07-370, KK09-0358 และ KK09-0857 เปรียบเทียบกับ ขอนแก่น 3 (KK3) ในกระถางภายใต้สภาพโรงเรือน

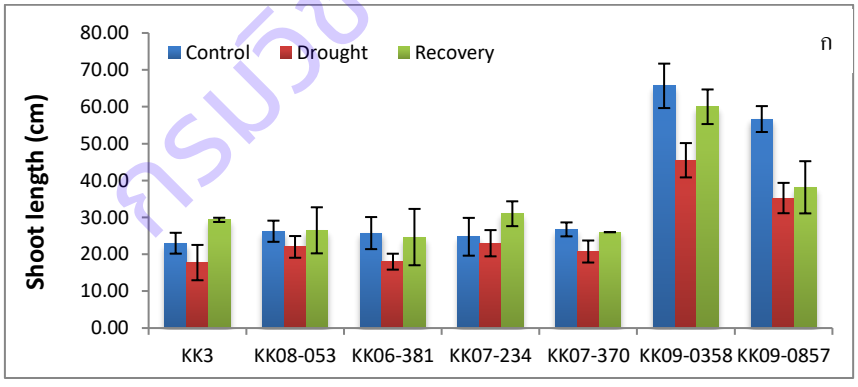
จากการวัดความชื้นของดินในกระถางในช่วงการทดลอง พบว่า ดินในกระถางกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติมีความชื้นในดินเฉลี่ยเท่ากับ 12.37 ± 0.42 % ส่วนกลุ่มขาดน้ำที่ระดับ 1/3 AW มีความชื้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.87 ± 0.48 % และเมื่อรดน้ำกลับความชื้นของดินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.12 ± 2.11 % (ภาพที่ 10)

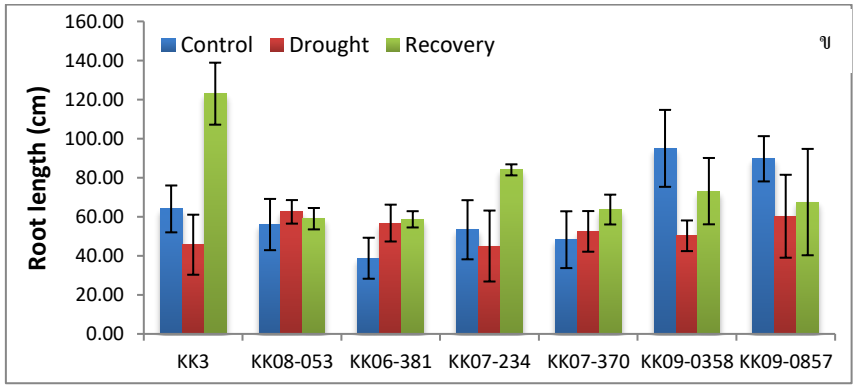
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 10 ความชื้นดินในกระถางทดลองของอ้อยกลุ่มควบคุม กลุ่มขาดน้ำ และกลุ่มที่ให้น้ำกลับคืน

ผลต่อการเจริญเติบโต : เมื่ออ้อยอยู่ในสภาวะขาดน้ำ พบว่า อ้อยทั้ง 7 พันธุ์ มีค่าเฉลี่ยความสูงต้นและความยาวรากลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่รดน้ำปกติ (กลุ่มควบคุม) แต่เมื่อได้รับน้ำกลับคืนส่งผลให้ค่าดังกล่าวเพิ่มขึ้นมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้น้ำกลับคืนแก่อ้อยอีกครั้งพบว่าอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 (KK3), KK07-234 และ KK09-0358 มีค่าเฉลี่ยความสูงต้นและความยาวรากเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าพันธุ์อื่นๆ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ขาดน้ำ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยความสูงต้นเท่ากับ 29.33, 31.00 และ 60.00 เซนติเมตร ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยความยาวรากเท่ากับ 123.00, 84.00 และ 73.10 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยความสูงต้นเท่ากับ 17.75, 23.00 และ 45.50 เซนติเมตร ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยความยาวรากเท่ากับ 45.67, 45.00 และ 50.25 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 11) ในการทดลองนี้พบว่ากลุ่มลูกผสมรหัส KK09 ทั้ง 2 หมายเลขมีการเจริญเติบโตด้านยอดเร็วกว่ากลุ่มอื่น แต่พันธุ์ขอนแก่น 3 มีความยาวรากที่มากกว่า

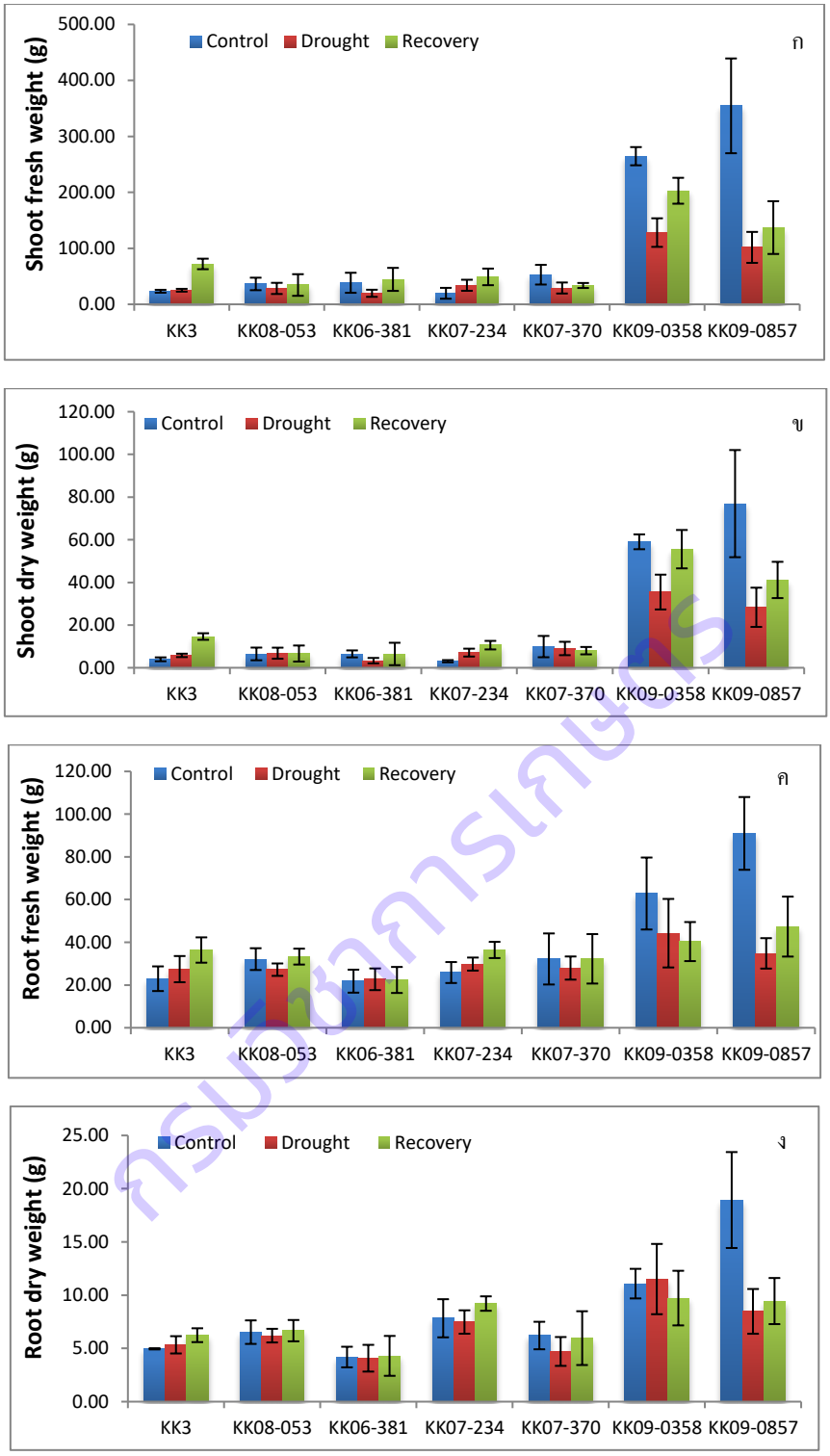




ภาพที่ 11 ค่าเฉลี่ยความสูงต้น (ก) และความยาวราก (ข) เมื่ออ้อยอยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ
(Control คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้งอ้อยพันธุ์ KK3, KK08-053, KK07-234, KK07-370 และ KK09-0857 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ขาดน้ำ โดยในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลับคืนมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรากเท่ากับ 36.39, 33.30, 36.42, 32.27 และ 47.36 กรัม ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากเท่ากับ 6.24, 6.67, 9.21, 5.96 และ 9.45 กรัม ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรากเท่ากับ 27.44, 27.20, 29.81, 27.96 และ 34.82 กรัม ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากเท่ากับ 5.34, 6.20, 7.48, 4.71 และ 8.48 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 12ค, 12ง) ในขณะที่อ้อยพันธุ์ KK08-053, KK06-381 และ KK07-370 ในกลุ่มที่ขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับน้ำปกติ (ภาพที่ 11ข) ในสภาวะขาดน้ำส่งผลทำให้อ้อยพันธุ์ KK06-381, KK07-370, KK09-0358 และ KK09-0857 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่รับน้ำตามปกติ และเมื่อได้รับน้ำกลับคืนพบว่าค่าดังกล่าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้ง พบว่า อ้อยพันธุ์ KK3 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ กลุ่มที่ได้รับน้ำกลับคืนมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 72.08 กรัม และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 14.63 กรัม ส่วนในกลุ่มที่ได้รับน้ำปกติมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 23.29 กรัม และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 3.95 กรัม (ภาพที่ 12ก,12ข) ในการทดลองนี้ยังคงพบว่ากลุ่มลูกผสมรหัส KK09 ทั้ง 2 หมายเลขมีการเจริญเติบโตด้านยอดเร็วกว่ากลุ่มอื่นและมีปริมาณรากที่มากกว่ากลุ่มอื่นแต่มีความอ่อนแอต่อสภาพแล้งเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นจากการทดสอบการฟื้นตัวที่ไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพปกติได้

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 12 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้น (ก) น้ำหนักแห้งของต้น (ข) น้ำหนักสดราก (ค) และน้ำหนักแห้งราก (ง) เมื่ออ้อยอยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

ผลของการขาดน้ำต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาและการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี :

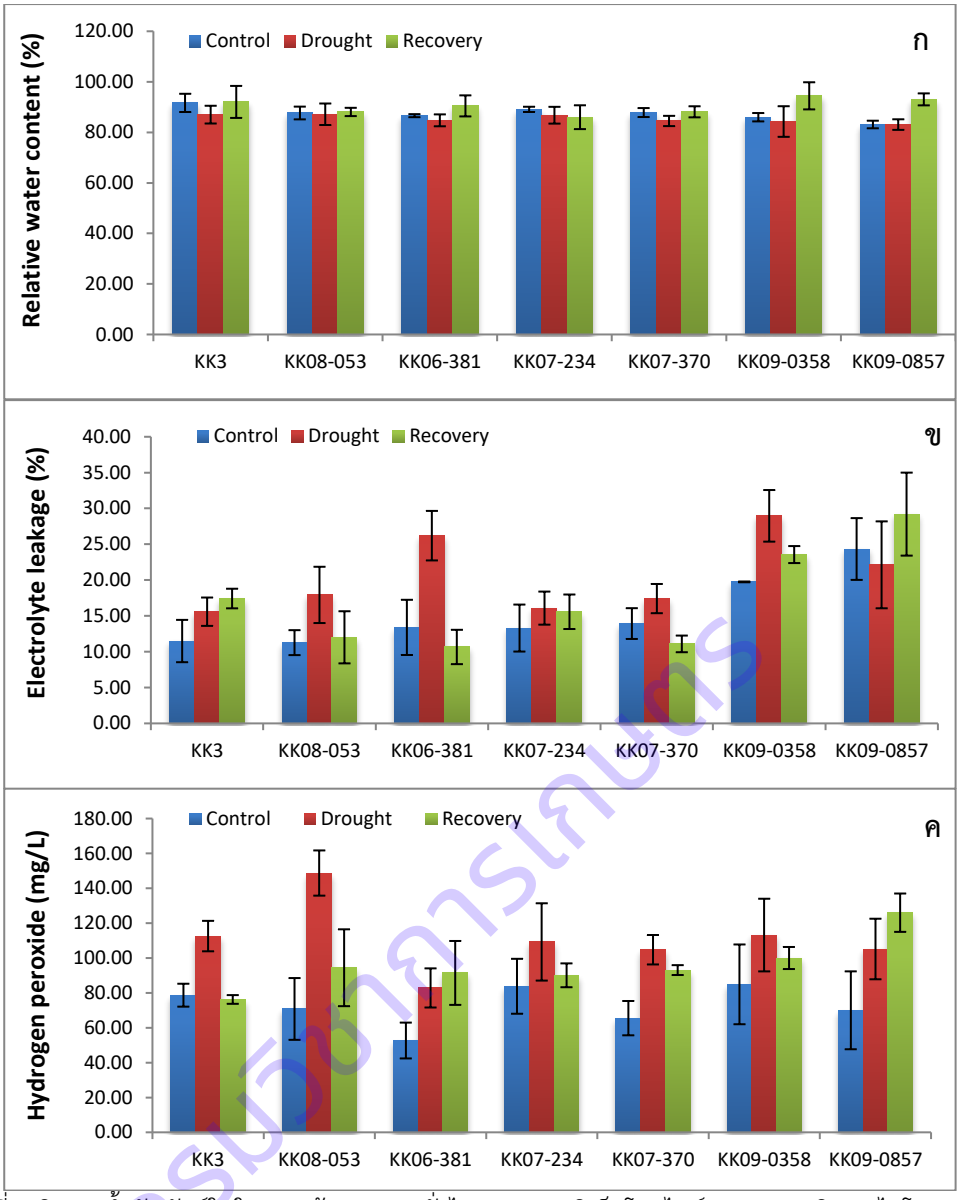
ในสภาวะขาดน้ำเป็นเวลา 14 วัน ความชื้นในดินในช่วงระหว่างการงดให้น้ำมีค่าต่ำ ซึ่งส่งผลให้อ้อยมีการเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ โดยในกลุ่มขาดน้ำ พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ โดยกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติมีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบเท่ากับ

87.42% ในขณะที่กลุ่มขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบเท่ากับ 85.37% และเมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้ง ทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 90.32% (ภาพที่ 13 ก) การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีค่าใกล้เคียงกันในตัวอย่างกลุ่มนี้ที่ทดสอบ

ในสภาวะขาดน้ำทำให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลทำให้ค่าเฉลี่ยของการรั่วไหลสารอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ ซึ่งพบว่าอ้อยพันธุ์ KK08-053, KK06-381 และ KK09-0358 มีค่าเฉลี่ยการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ โดยในกลุ่มขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.93, 26.20 และ 28.97% ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.27, 13.40 และ 19.75% ตามลำดับ และเมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้งทำให้ค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำและมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ (ภาพที่ 13ข)

นอกจากนี้ในสภาวะขาดน้ำยังทำให้อ้อยสร้างสารอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ ซึ่งในกลุ่มที่ขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 110.92 mg/Lส่วนกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 72.33 mg/L ซึ่งในกลุ่มขาดน้ำอ้อยพันธุ์ KK08-053 มีค่าเฉลี่ยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 148.75 mg/L เมื่ออ้อยได้รับน้ำกลับคืน พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 95.89 mg/L อย่างไรก็ตามเมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้ง พบว่า อ้อยพันธุ์ KK06-381, KK07-370 และ KK09-0857 ยังมีค่าเฉลี่ยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 91.44, 93.08 และ 126.00 mg/L ตามลำดับ กลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 52.67, 65.50 และ 70.00 mg/L ตามลำดับ (ภาพที่ 13ค)

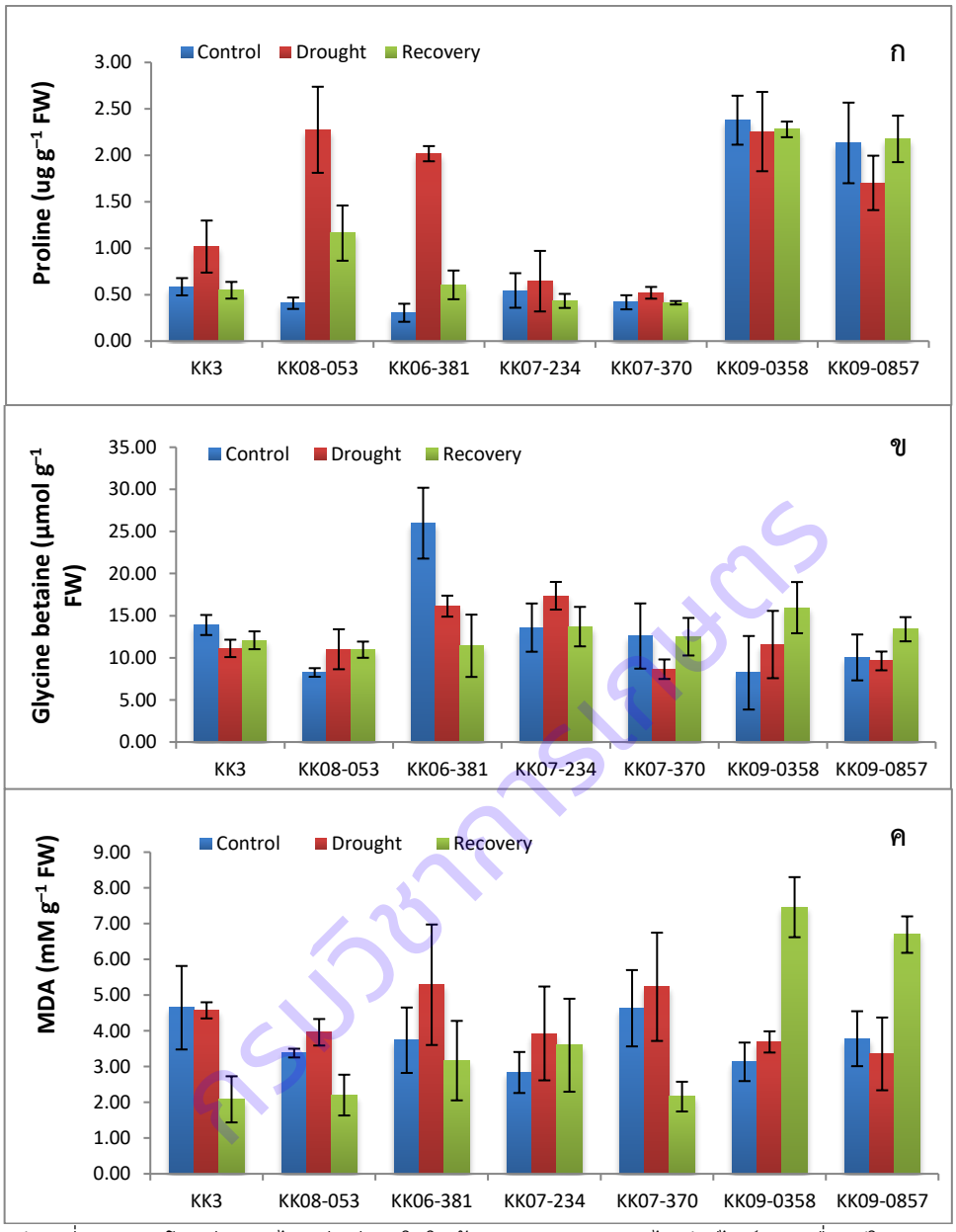
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 13 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (ก) ร้อยละการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (ข) และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอ้อย (ค) เมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

ความเครียดแล้งทำให้อ้อยพันธุ์ KK3, KK08-053 และ KK06-381 มีปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งในกลุ่มขาดน้ำอ้อยทั้ง 3 พันธุ์ มีค่าเฉลี่ยปริมาณโพรลีนเท่ากับ 1.02, 2.28 และ 2.02 ug/g FW ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.59, 0.41 และ 0.31 ug/g FW ตามลำดับ ในขณะที่อ้อยพันธุ์ KK07-234 และ KK07-370 มีค่าเฉลี่ยของโพรลีนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อได้รับน้ำกลับอ้อยทุกพันธุ์มีค่าเฉลี่ยของโพรลีนลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ ยกเว้นอ้อยพันธุ์ KK0-0358 และ KK09-0857 ค่าเฉลี่ยของโพรลีนไม่ต่างจากกลุ่มขาดน้ำ (ภาพที่ 14ก) นอกจากนี้ในกลุ่มขาดน้ำยังพบว่าปริมาณของไกลซีนบีเทนมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งอ้อยพันธุ์ KK08-053, KK07-234 และ KK09-358 มีค่าเฉลี่ยไกลซีนบีเทนเท่ากับ 11.01, 17.37 และ 11.58 µmol/ gFW ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.26, 13.58 และ 8.22 µmol/ gFW ตามลำดับ เมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้ง พบว่าปริมาณไกลซีนบีเทนลดลงใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 14ข) ในทำนองเดียวกัน กลุ่มขาดน้ำมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้น ยกเว้นอ้อยพันธุ์ KK3 และ KK09-0857 มีค่าไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม และเมื่อได้รับน้ำกลับ พบว่า

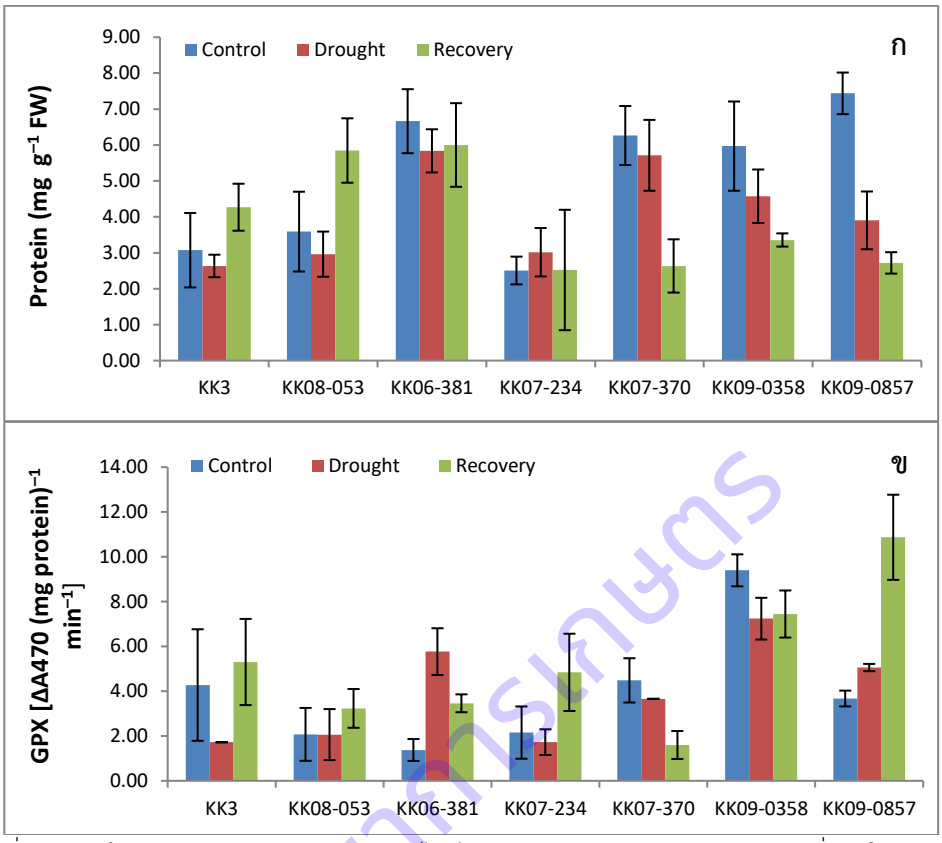
ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ แต่อ้อยพันธุ์ KK09-0358 และ KK09-0857 มีค่าเฉลี่ยมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำและกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 14ค)



ภาพที่ 14 ค่าเฉลี่ยปริมาณโพรลีน (ก) ไกลซีนบีเทนในใบอ้อย (ข) และมาลอนไดอัลดีไฮด์ (ค) เมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

จากการศึกษาผลของการขาดน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ guaiacol peroxidase พบว่า อ้อยพันธุ์ KK06-381 และ KK09-0857 มีกิจกรรมของเอนไซม์ guaiacol peroxidase เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งในกลุ่มขาดน้ำมีค่าเท่ากับ 5.77 และ 5.06 [ΔA470 (mg protein)$^{-1}$ min^{-1}] ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 1.38 และ 3.67 [ΔA470 (mg protein)$^{-1}$ min^{-1}] ตามลำดับ ในขณะที่อ้อยพันธุ์ KK3, KK07-234, KK07-370 และ KK09-0358 มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อให้น้ำกลับพบว่า อ้อยมีกิจกรรมของเอนไซม์ guaiacol peroxidase เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ ยกเว้นอ้อยพันธุ์ KK06-381 และ KK07-370 มีกิจกรรมของเอนไซม์ guaiacol peroxidase ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ (ภาพที่ 15ข) นอกจากนี้ในกลุ่มขาดน้ำอ้อยทุกพันธุ์มีปริมาณโปรตีนลดลง ในขณะที่อ้อยพันธุ์ KK07-234 มี

ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อให้น้ำกลับอ้อยพันธุ์ KK3, KK08-053 และ KK06-381 มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่อ้อยพันธุ์ KK07-234, KK07-370, KK09-0358 และ KK09-0857 มีปริมาณโปรตีนลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ (ภาพที่ 15ก)



ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (ก) และกิจกรรมของเอนไซม์ guaiacol peroxidase (GPX) (ข) เมื่ออยู่ใน สภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

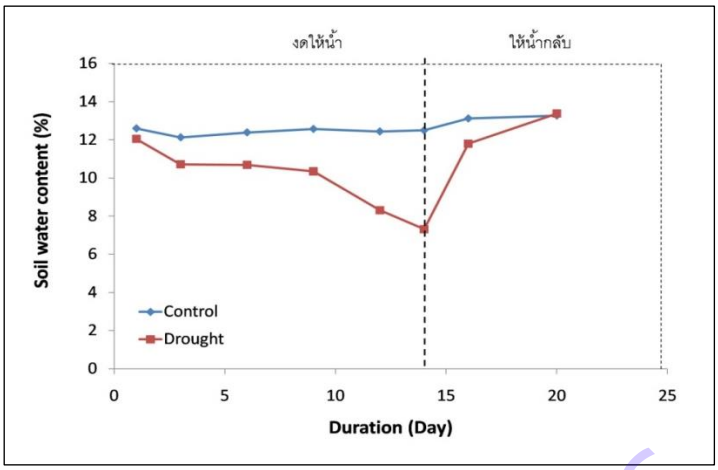
สรุปผลการทดสอบการขาดน้ำในสภาพโรงเรือนในอ้อยลูกผสมอ้อยป่า 6 พันธุ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ขอนแก่น 3 พบว่าพันธุ์ที่สามารถฟื้นคืนและมีการเจริญเติบโตต่อได้ ได้แก่ พันธุ์ KK07-234 โดยมีการเติบโตทางยอดและราก รวมทั้งมีน้ำหนักแห้งของทั้งยอดและรากที่เพิ่มขึ้น มีการสะสมของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลดลง โดยมีการเพิ่มขึ้นของสารโพรลีนและไกลซีนบีเทนที่รักษาสภาพเต่งของเซลล์ในระหว่างการขาดน้ำและลดลงเมื่อเข้าสู่การฟื้นตัว รวมถึงมีการทำลายของเซลล์ที่ตรวจด้วยปริมาณ MDA ลดลงหลังฟื้น แต่ไม่มากเท่าพันธุ์ขอนแก่น 3 และมีเอ็นไซม์ GPX ที่ลดระดับสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น ส่วนพันธุ์ที่อ่อนแอต่อการขาดน้ำมากที่สุดในกลุ่มที่ทดสอบนี้ ได้แก่ KK09-0358 และ KK09-0857 ที่พบว่าการเจริญเติบโตทั้งยอดและรากหลังการฟื้นตัวน้อยกว่าก่อนทดสอบ รวมทั้งยังตรวจพบการรั่วไหลของอิเลคโตรไลท์ สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมที่สูงหลังการฟื้นตัวแม้จะพบว่าพันธุ์ KK09-0857 มีเอ็นไซม์ GPX สูงมากในช่วงการฟื้นตัว ไม่มีการสร้างสารโพรลีนเพิ่มแต่มีสารไกลซีนบีเทนเพิ่มขึ้นในระหว่างทดสอบการขาดน้ำ และพบว่ามีการทำลายของเซลล์สูงมากหลังการฟื้นตัว

ชุดที่ 2 การทดสอบในอ้อยลูกผสม 8พันธุ์ :

ทำการทดสอบในอ้อยลูกผสม 8 พันธุ์ ได้แก่ KK07-370, ทองภูมิ6, KK06-381, KK07-250, KK120-85, UT15 และ UT10-175 เปรียบเทียบกับ ขอนแก่น 3 (KK3) ในกระถางภายใต้สภาพโรงเรือน

กรมวิชาการเกษตร

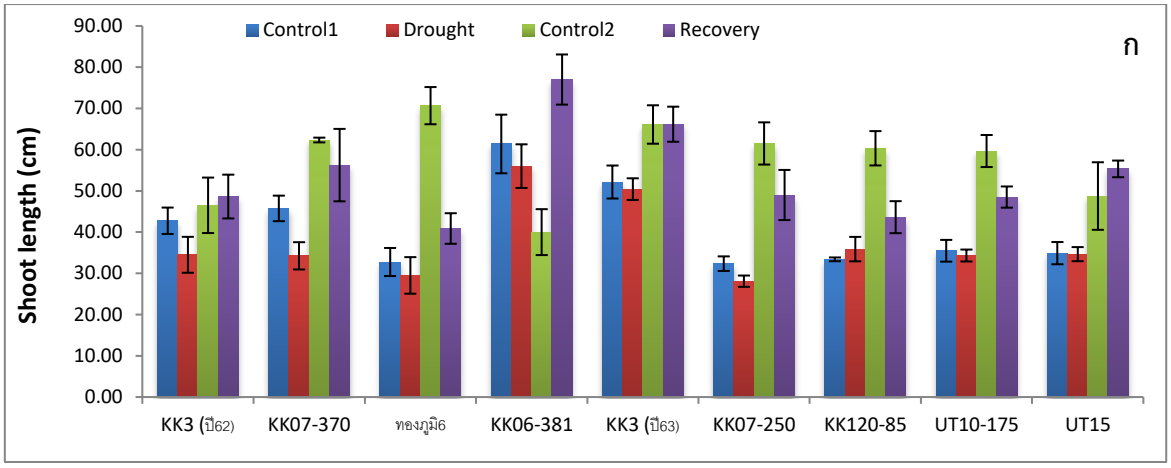
จากการวัดความชื้นของดินในกระถางในช่วงการทดลอง พบว่า ดินในกระถางกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ มีความชื้นในดินเฉลี่ยเท่ากับ 12.37 % ส่วนกลุ่มขาดน้ำที่ระดับ 1/3 AW มีความชื้นเฉลี่ยเท่ากับ 7.32 % (ภาพที่ 11)

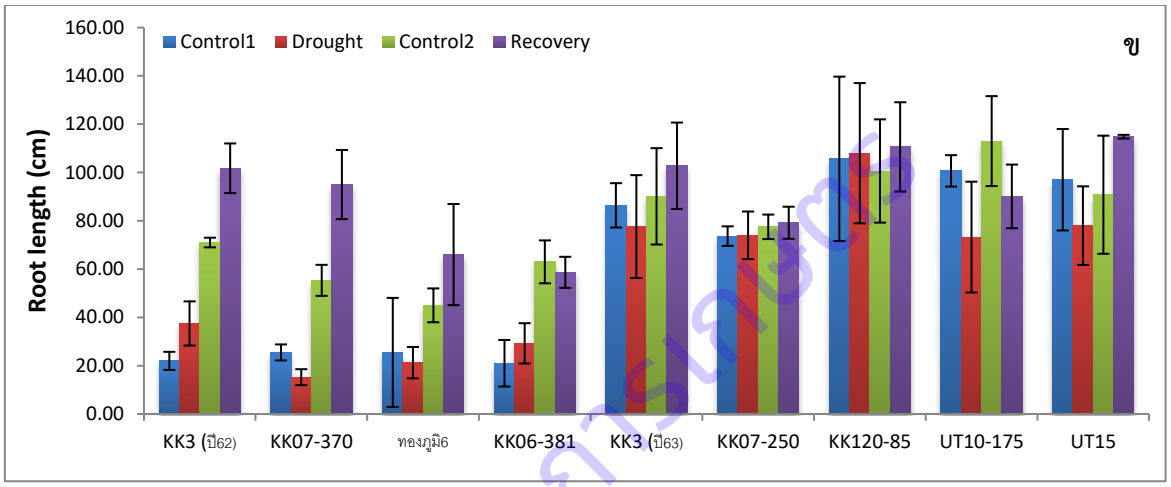


ภาพที่ 11 ความชื้นดินในกระถางทดลองของอ้อยกลุ่มควบคุม กลุ่มขาดน้ำ และกลุ่มที่ให้น้ำกลับคืน

ผลต่อการเจริญเติบโต : ในสภาวะขาดน้ำส่งผลให้การเจริญเติบโตของต้นอ้อยลดลง ซึ่งอ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62), KK07-370, ทองภูมิ6, KK06-381 และ KK07-250 มีค่าเฉลี่ยความสูงต้นลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ ยกเว้นอ้อยพันธุ์ KK3 (ปี63), KK120-85, UT15 และ UT10-175 มีค่าเฉลี่ยความสูงต้นไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม และเมื่อได้รับน้ำกลับคืนพบว่าอ้อยทุกพันธุ์มีค่าเฉลี่ยความสูงต้นเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ (ภาพที่ 12ก) ในสภาวะขาดน้ำทำให้อ้อยพันธุ์ KK07-370, ทองภูมิ6, KK3 (ปี63), UT15 และ UT10-175 มีค่าเฉลี่ยความยาวรากลดลง แต่พันธุ์ KK3 (ปี62) และ KK06-381 มีค่าเฉลี่ยความยาวรากเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ (Control 1) เมื่อให้น้ำกลับคืน พบว่า อ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62), KK07-370, ทองภูมิ6, KK3 (ปี63) และ UT15 มีค่าเฉลี่ยความยาวรากเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control 2) (ภาพที่ 12ข)

กรมวิชาการเกษตร

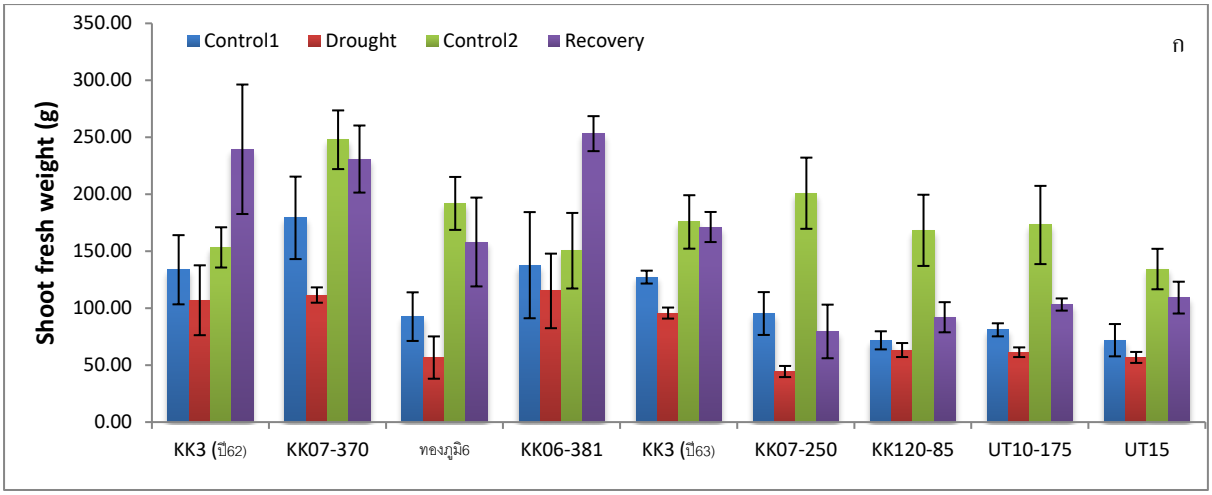


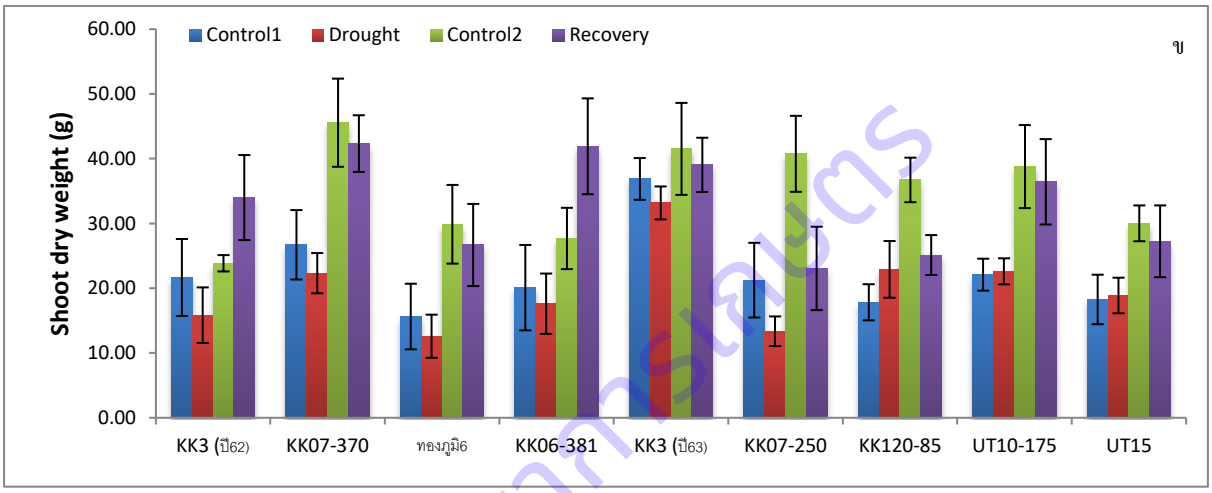


ภาพที่ 12 ค่าเฉลี่ยความสูงต้น (ก) และความยาวราก (ข) เมื่ออ้อยอยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control1 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ, Control 2 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะให้น้ำกลับ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

กรมวิชาการเกษตร

ในสภาวะขาดน้ำทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นของอ้อยทุกพันธุ์มีค่าลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำปกติ (Control 1) ซึ่งในกลุ่มที่ขาดน้ำอ้อยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 79.09 และ 19.92 กรัม ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่ได้รับน้ำปกติมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 110.07 และ 22.27 กรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้ง พบว่า ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ ซึ่งในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลับคืนมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 159.67 และ 32.87 กรัม ตามลำดับ ซึ่งเมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้ง พบว่า อ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62) และ KK06-381 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นเพิ่มขึ้นอย่างมาก เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control 2) ซึ่งในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลับมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 239.48 และ 253.20 กรัม ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 34.00 และ 41.91 กรัม ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุม (Control 2) มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 153.34 และ 150.44 กรัม ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 23.85 และ 27.68 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 13)

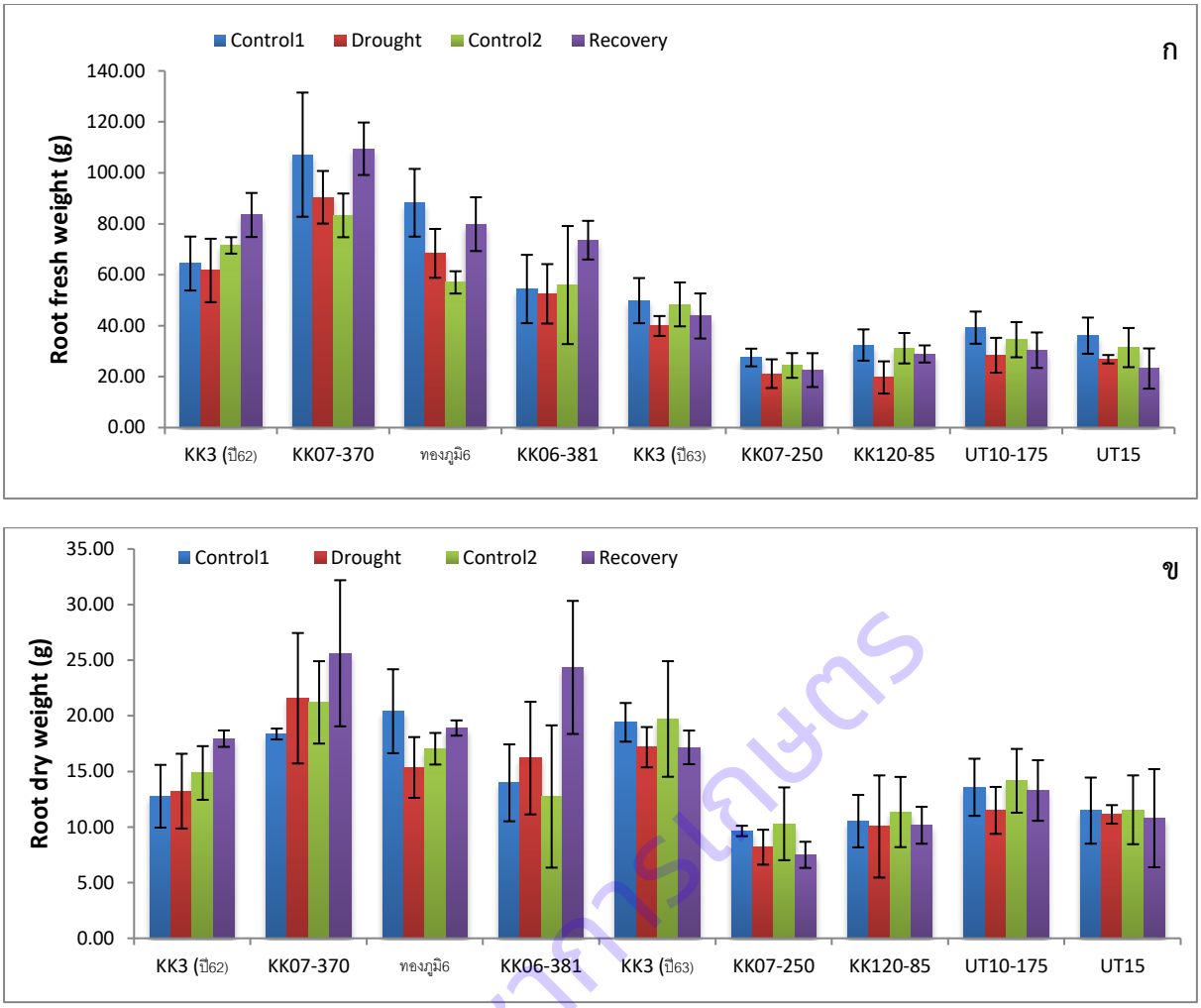




ภาพที่ 13 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้น (ก) และน้ำหนักแห้งของต้น (ข) เมื่ออ้อยอยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control1 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ, Control 2 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะให้น้ำกลับ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

ในสภาวะขาดน้ำทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรากลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำปกติ (Control 1) และเมื่อได้รับน้ำกลับค่าดังกล่าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ ในทำนองเดียวกันเมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้ง พบว่า อ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62), KK07-370, ทองภูมิ6, KK06-381 และ UT10-175 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ (ภาพที่ 14)

ศูนย์วิทยทรัพยากร



ภาพที่ 14 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดราก (ก) และน้ำหนักแห้งราก (ข) เมื่ออ้อยอยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control1 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ, Control 2 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะให้น้ำกลับ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

กรมวิชาการเกษตร

ผลของการขาดน้ำต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาและการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี :

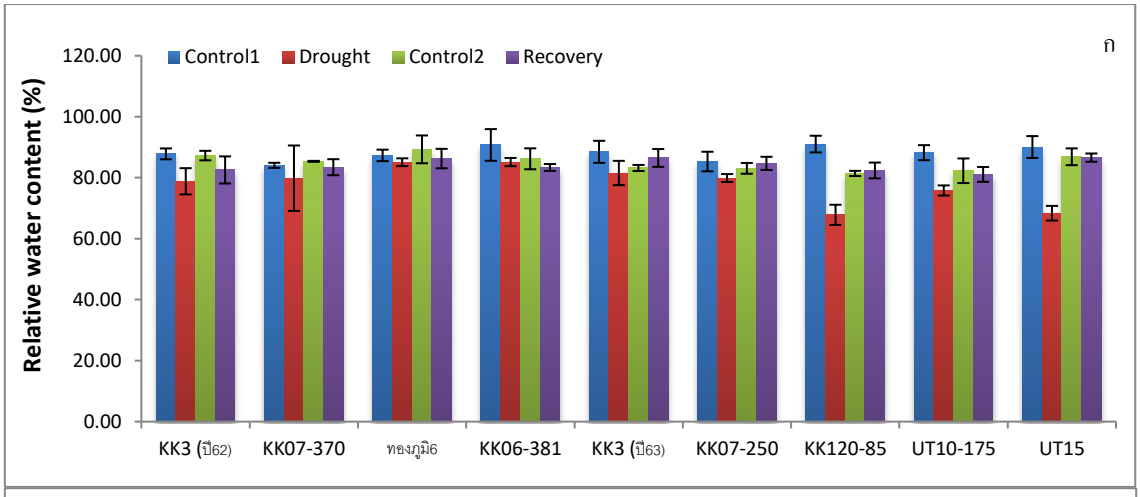
จากการศึกษาผลของการขาดน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีในอ้อยพันธุ์ KK3, KK07-370, ทองภูมิ6, KK06-381, KK07-250, KK120-85, UT15 และ UT10-175 พบว่า ในสภาวะขาดน้ำ พบว่า อ้อยมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control1) ซึ่งในกลุ่มขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 78.04% ส่วนกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 88.12% และเมื่อให้น้ำกลับปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 85.00% ในกลุ่มขาดน้ำอ้อยพันธุ์ KK120-85, UT10-175 และ UT15 มีค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control1) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 64.82, 75.82 และ 68.36% ตามลำดับ ในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 91.03, 88.22 และ 90.07% ตามลำดับ (ภาพที่ 15ก)

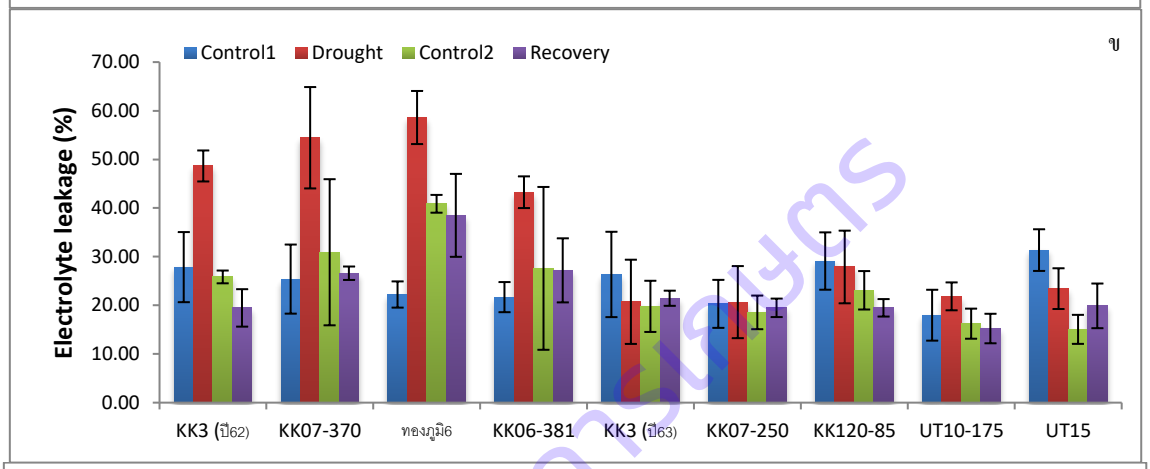
ในสภาวะขาดน้ำอ้อยมีค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งในกลุ่มขาดน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 35.50% ส่วนในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24.70% ซึ่งอ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62), KK07370, ทองภูมิ6 และ KK06-381 มีค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับ

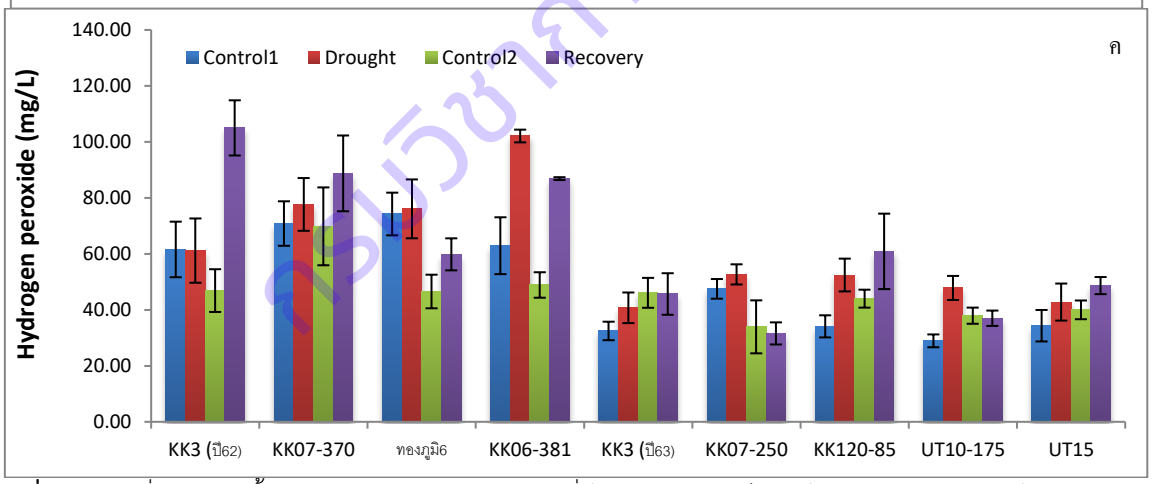
กลุ่มควบคุม และเมื่อให้น้ำกลับ พบว่า อ้อยมีค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ลดลง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 23.04% ซึ่งมีค่าไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 15ข)

นอกจากนี้ในสภาวะขาดน้ำยังส่งผลทำให้อ้อยมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โพรลีน และมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งอ้อยพันธุ์ KK06-381, KK120-85 และUT10-175 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control1) ในขณะที่อ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62) และ ทองภูมิ 6 มีค่าไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม และเมื่อให้น้ำกลับ อ้อยพันธุ์ ทองภูมิ 6, KK06-381, KK07-250 และ UT10-175 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ (ภาพที่ 15ค)

กรมวิชาการเกษตร

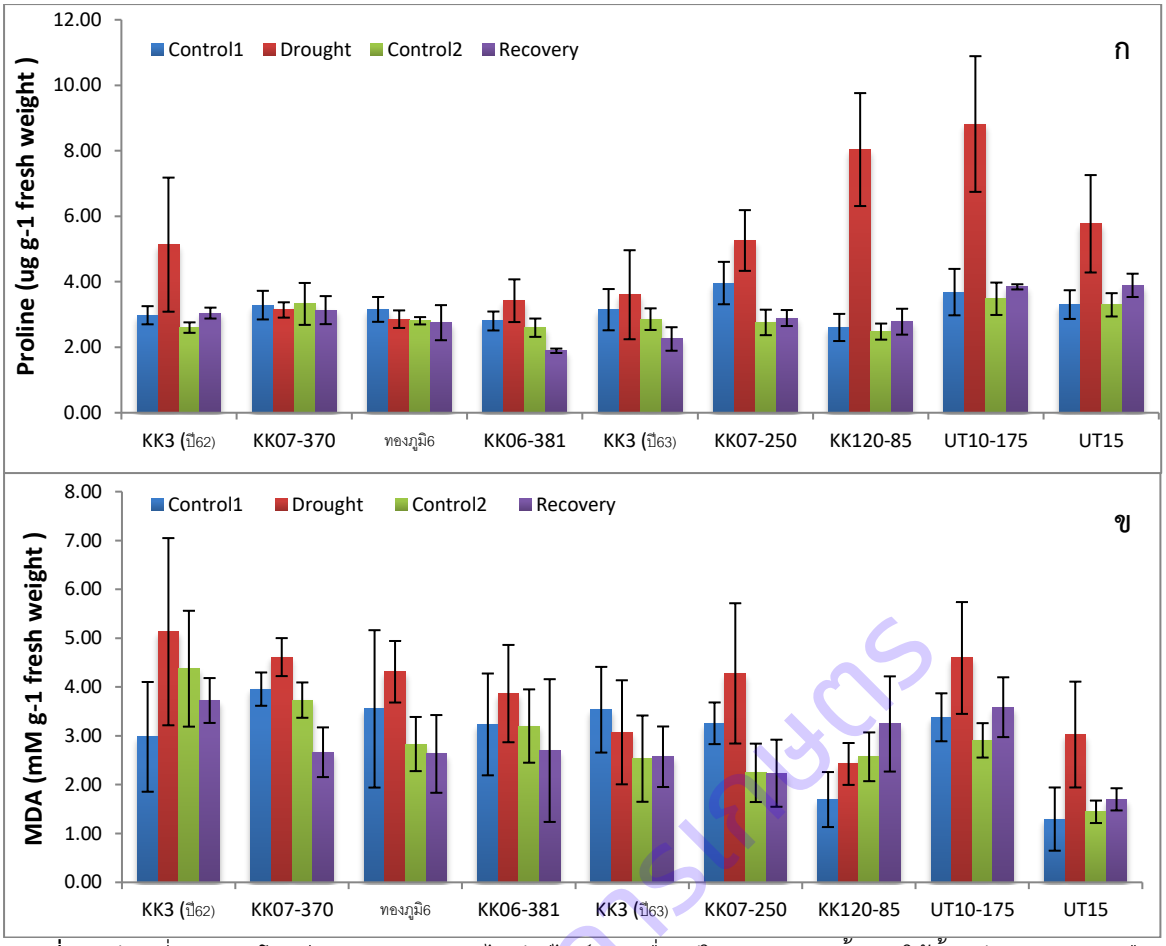






ภาพที่ 15 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (ก) ร้อยละการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (ข) และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในใบอ้อย (ค) เมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control1 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ, Control 2 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะให้น้ำกลับและ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

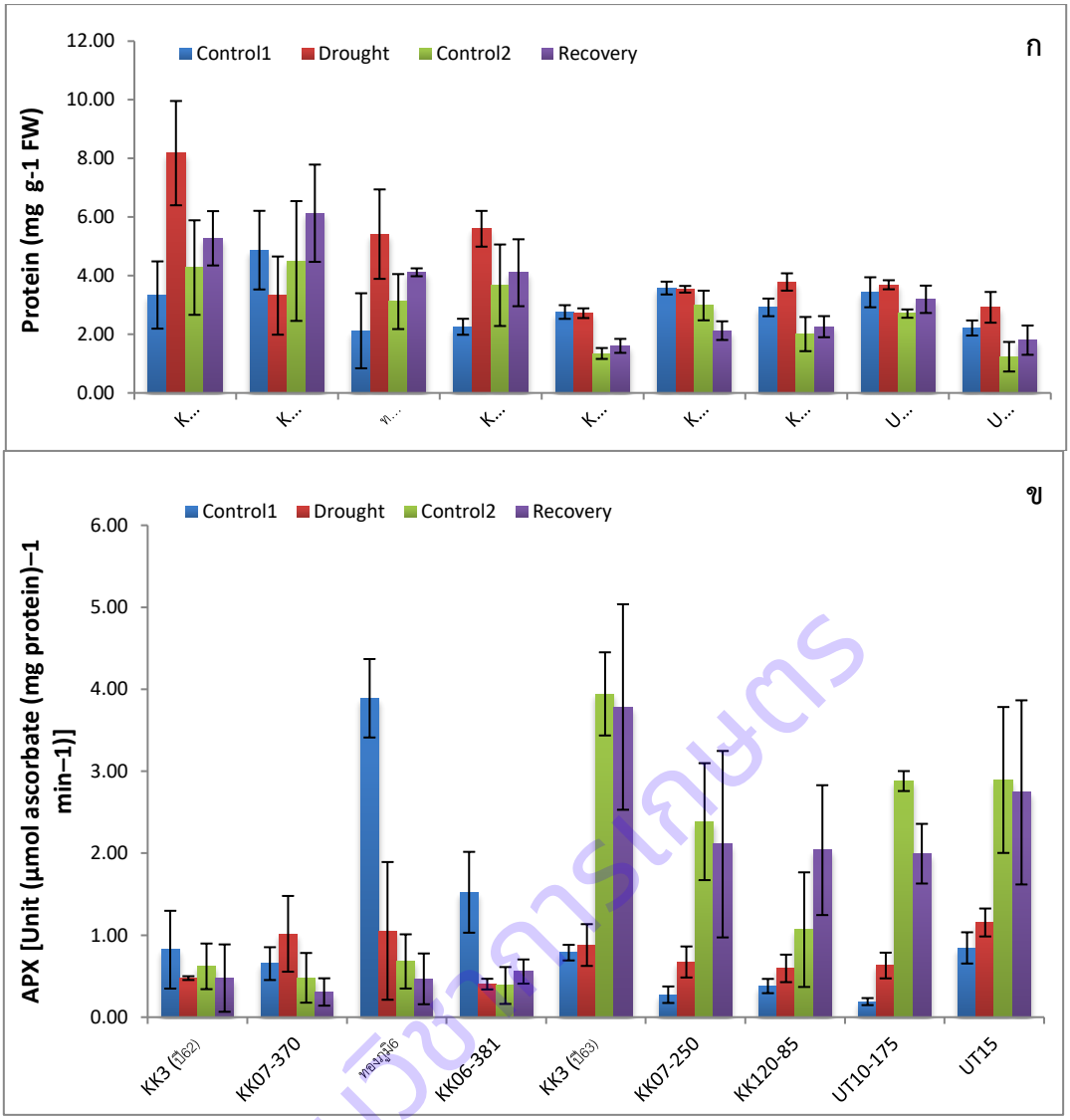
ในสภาวะขาดน้ำ พบว่า อ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62) , KK07-250, KK120-85, UT10-175 และ UT15 มีปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control1) แต่เมื่อให้น้ำแก่อ้อยอีกครั้งส่งผลทำให้อ้อยที่ค่าปริมาณโพรลีนลดลงมีค่าไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม (Control2) (ภาพที่ 16ก) ในทำนองเดียวกัน ในกลุ่มขาดน้ำอ้อยมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อได้รับน้ำกลับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มีค่าลดลงมีค่าไม่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับน้ำตามปกติ (ภาพที่ 16ข)



ภาพที่ 16 ค่าเฉลี่ยปริมาณโพรลีน (ก) และมาลอนไดอัลดีไฮด์ (ข) เมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control1 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ, Control 2 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะให้น้ำกลับ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

ความเครียดจากการขาดน้ำทำให้อ้อยทุกพันธุ์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) เพิ่มสูงขึ้น ยกเว้น อ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62) และ KK06.381 มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control1) ในสภาวะขาดน้ำ พบว่า อ้อยพันธุ์ KK3 (ปี62), ทองภูมิ 6, KK06-381, KK120-85 และ UT15 มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control1) และเมื่อให้น้ำกลับอ้อยทุกพันธุ์มีปริมาณโปรตีนลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ และมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (Control2) ยกเว้นอ้อยพันธุ์ KK07-370 มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มขาดน้ำ (ภาพที่ 17)

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 17 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (ก) และกิจกรรมของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) (ข) เมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำและให้น้ำกลับ (Control1 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะขาดน้ำ, Drought คือ กลุ่มขาดน้ำ, Control 2 คือ กลุ่มควบคุมในสภาวะให้น้ำกลับ และ Recovery คือ กลุ่มให้น้ำกลับคืน)

สรุปผลการทดสอบการขาดน้ำในสภาพโรงเรือนในอ้อยลูกผสม 8 พันธุ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ขอนแก่น 3 พบว่าพันธุ์ที่สามารถฟื้นคืนและมีการเจริญเติบโตต่อได้ ได้แก่ พันธุ์ KK07-370, KK06-381และอู่ทอง 15 โดยมีการเติบโตทางยอดและรากของรวมทั้งมีน้ำหนักแห้งของทั้งยอดและรากที่เพิ่มขึ้น ตรวจพบการรั่วไหลสารอิเลคโตรไลท์แต่มีปริมาณที่ลดลงเมื่อทดสอบการฟื้นตัวเช่นเดียวกับพันธุ์ขอนแก่น 3 แต่ยังคงมีการสะสมของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมแม้จะมีเอนไซม์ APX สูงขึ้นในภาวะขาดน้ำ และลดลงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อฟื้นตัว KK07-370 ไม่มีการสร้างสารโพรลีนเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในภาวะขาดน้ำแต่พันธุ์ KK06-381 มีสารโพรลีนสูงขึ้น และลดลงสู่ปกติเมื่อฟื้น การทำลายของเซลล์ที่ตรวจด้วยปริมาณ MDA พบว่าลดลงทั้งสองพันธุ์หลังฟื้น ส่วนพันธุ์ที่อ่อนแอต่อการขาดน้ำในกลุ่มที่ทดสอบนี้มีหลายพันธุ์ ได้แก่ KK07-250, KK120-85, UT10-175 และ UT15 ที่พบว่าการเจริญเติบโตทั้งยอดและรากหลังการฟื้นตัวน้อยกว่าก่อนทดสอบ รวมทั้งยังตรวจพบการรั่วไหลของอิเลคโตรไลท์ สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมที่สูงหลังการฟื้นตัวแม้จะพบว่าพันธุ์ KK09-0857 มีเอ็นไซม์ APX สูงมากในช่วงการฟื้นตัว มีการสร้างสารโพรลีนสูงมากในระหว่างทดสอบการขาดน้ำและลดลงสู่ภาวะปกติหลังการฟื้นคืนสภาพ และพบว่ามีการทำลายของเซลล์สูงมากหลังการฟื้นตัว

ศรีบัวการเกษตร

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การทดสอบการทนแล้งในอ้อยโดยใช้สภาวะที่ควบคุมสภาพแวดล้อมได้ ทำให้ได้ข้อมูลที่แม่นยำกว่าการทดสอบในแปลงทดลองที่ควบคุมตัวแปรได้ยาก การทดสอบในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อมทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ผลกระทบของสภาวะแล้งจากการขาดน้ำและความร้อนได้ ส่วยการทดสอบในสภาพโรงเรือนทำให้ตรวจผลกระทบแล้งจากการขาดน้ำเพียงอย่างเดียวได้ การตรวจวัดการเจริญเติบโตร่วมกับการตรวจวัดตัวแปรด้านสรรีระวิทยาและชีวเคมีที่เปลี่ยนแปลงไปในการทดสอบในสภาวะควบคุมทั้งสองสภาพทำให้สามารถนำมาใช้ประกอบการคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะทนแล้งได้อย่างแท้จริง ในพันธุ์ที่มีลักษณะทนแล้งพบว่าว่ามีการฟื้นตัวกลับคืนด้านการเจริญเติบโตได้ดี โดยวัดได้จากความยาวยอดและรากที่มีการเติบโตได้เท่ากับหรือมากกว่ากลุ่มควบคุมหลังการทดสอบการฟื้นตัวจากสภาวะแล้ง การวิเคราะห์ผลจากตัวแปรด้านสรีระวิทยาและชีวเคมี ได้แก่ ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบจะแสดงถึงการสูญเสียน้ำในสภาพแล้ง และการรั่วไหลของสารอิเลคโตรไลท์จะแสดงถึงการเสียสภาพของเซลล์ ซึ่งเป็นผลจากการรักษาสภาพเต่งของเซลล์โดยสารโพรลีนและไกลซีนบีเทน โดยสารมาลอนไดอัลดีไฮด์จะแสดงถึงการทำลายของเซลล์ ในขณะที่การสะสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะบ่งบอกสภาวะเครียดออกซิเดชั่นที่เกิดจากการขาดน้ำ โดยมีเอ็นไซม์ APX และ GPX เป็นตัวลดระดับสารนี้ลง จากการตรวจวิเคราะห์สารเหล่านี้จะพบว่าในพันธุ์ทนแล้ง (ขอนแก่น 3) มีการสร้างทั้งสารโพรลีนและไกลซีนบีเทนที่สามารถรักษาสภาวะความเต่งของเซลล์ได้เมื่ออยู่ในสภาวะแล้ง และมีการเพิ่มกิจกรรมเอ็นไซม์ทั้งสองชนิดหลังผ่านสภาวะแล้งทำให้สามารถลดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมลงได้ ทำให้เซลล์ถูกทำลายน้อยลง ซึ่งสามารถตรวจวัดได้จากค่าการรั่วไหลของอิเลคโตรไลท์และมาลอนไดอัลดีไฮด์ อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้พบว่ามีปัญหาด้านจำนวนต้นที่ใช้ในการทดสอบ สืบเนื่องจากความสมบูรณ์ของท่อนพันธุ์ที่ทำให้คัดต้นสมบูรณ์สำหรับทำการทดลองได้น้อย โดยเฉพาะพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาพแล้งซึ่งมีจำนวนน้อย การใช้ตัวอย่างที่มากขึ้นจะทำให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์มากกว่านี้

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : ให้ระบุผลงานที่สิ้นสุด ได้นำไปใช้ประโยชน์อย่างไร พัฒนาต่อหรือถ่ายทอด หรือเผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์กับกลุ่มเป้าหมาย (ระบุเป็นข้อๆ)

11.1 อยู่ระหว่างการจัดเตรียมข้อมูลเพื่อการเผยแพร่

11.2 ต่อยอดวิธีการและผลการทดลองในโครงการปรับปรุงพันธุ์อ้อยปี 2565-2567 ของสถาบันวิจัยพืชไร่ฯ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

12. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยที่ช่วยปฏิบัติการทดลอง ทดสอบอ้อยตามแผนงานทดลอง ขอขอบคุณคุณปิยะรัตน์ จังพล คุณรวีวรรณ เชื้อกิตติศักดิ์ คุณภาคภูมิ ถิ่นคำ ที่เอื้อเฟื้อต้นอ้อยเพื่อการทดสอบ ขอขอบคุณ อ. ทักษิณา ศันสยะวิชัย ผชช.วีระพล พลรักดี ที่ให้คำปรึกษาด้านพันธุ์ และให้ตัวอย่างในการทดสอบ

13. เอกสารอ้างอิง :

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ทักษิณา ศันสยะวิชัย สุนี ศรีสิงห์. 2557. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีบางชนิดในอ้อยที่เป็นโรคใบขาว. รายงานไตรมาส 2 ประจำปี 2557. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร

Aprile, A., L. Havlickova, R.Panna, C.Marè, G. M. Borrelli, D.Marone,C.Perrotta, P. Rampino, L. De Bellis, V. Curn, A. M.Mastrangelo, F.Rizzaand L.Cattivelli. 2013. Different stress responsive strategies to droughtand heat in two durum wheat cultivars withcontrasting water use efficiency. BMC Genomics 2013, 14:821.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant physiology 24 (1), 1-15.

Barrs, H.D. and Weatherley, P.E. (1962) A Re-Examination of the Relative Turgidity Techniques for Estimating Water Deficits in Leaves. Australian Journal of Biological Sciences, 15, 413-428.

Bates L.S., Waldren R.P. and Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39, 205–207.

Begcy K, E.D. Mariano, A. Gentile, C.G. Lembke, S.M. Zingaretti, G. M. Souza and M.Menossi. 2012. A novel stress-induced sugarcane gene confers tolerance to drought, salt and oxidative stress in transgenic tobacco plants. PLoS ONE 7(9): e44697. doi:10.1371/journal.pone.0044697

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

Cia, M.C., A.C.R. Guimarães,L.O. Medici, S.M. Chabregas and R.A. Azevedo. 2012. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and -sensitive sugarcane varieties. Annals of Applied Biology ,161 (3): 313–324.

กรมวิชาการเกษตร

da Silva, M.D., R. L. de Oliveira Silva, J. R. C. F. Neto, A. C. R. Guimarães, D. T. Veiga, S. M. Chabregas, W. L. Burnquist, G. K. A. Benko-Iseppon and E. A. Kido. 2013. Expression Analysis of Sugarcane Aquaporin Genes under Water Deficit. J. of Nuc. Acids. Vol. 2013, Article ID 763945, 14 pages. http://dx.doi.org/10.1155/2013/763945 สืบค้นเมื่อ 16 มิ.ย. 2557.

Dionisio-Sese, L.M. and Tobita S. (1998). Antioxidant responses of rice seedling to salinity stress. Plant Science 135, 1-9.

Ghamsari L., Keyhani E.and Golkhoo S. (2007). Kinetics Properties of Guaiacol Peroxidase Activity in Crocus sativus L. Corm during Rooting. Iranian Biomedical Journal 11 (3): 137-146.

Heath R. L.and Packer L.(1968).Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics. 125, 189–198.

KaurC. and KapoorH.C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal Food Science Technology. 37, 153-161

Lopes, M.S. and M.P. Reynolds M.P. 2011. Drought adaptive traits and wide adaptation inelite lines derived from resynthesized hexaploid wheat. Crop Sci. 51:1617–1626.

Patade V. Y., Bhargava S.and Suprasanna P. (2011). Salt and drought tolerance of sugarcane under iso-osmotic salt and water stress: growth, osmolytes accumulation, and antioxidant defense. Journal of Plant Interactions. Vol. 6, No. 4, 275-282.

Rampino P. 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. Plant Cell Environ. 29:2143–2152.

Sakuanrungsirikul, S., T. Wongwarat, S. Sankot, K. Kawabe, Y. Kobori and S. Ando. 2013. Sugarcane white leaf and sugarcane grassy shoot diseases in Thailand and their detection methods. Proc. Int. Soc. Sugar cane technol., Vol 28, 2013.

สำนักวิทยบริการฯ

Shinozaki K, and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. CurrOpin Plant Biol 3: 217–223.

14. ภาคผนวก **:** เป็นส่วนที่ให้รายละเอียดเพิ่มเติม ซึ่งไม่จำเป็นต้องแสดงไว้ในเนื้อหาของรายงาน เช่น สูตร วิธีคำนวณ ตารางการบันทึกข้อมูลภาพ แสดงเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย แบบสำรวจข้อมูล เป็นต้น ส่วนนี้จะมีหรือไม่มีก็ไม่ทำให้เนื้อหาของรายงานขาดความสมบูรณ์

หมายเหตุ

รูปแบบ :

- หัวเรื่องข้อ 1-13 : ตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 Point ตัวหนา
- เนื้อหา : ตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 Point ตัวธรรมดา
- Page Setup : ด้านบน 2.5 ซม. ด้านซ้าย 2.5 ซม. ด้านขวา 2 ซม. ด้านล่าง 2.5 ซม.
- ขนาด A4 โดยใช้ Program Microsoft Word

* ให้แนบไฟล์รูปภาพประกอบด้วย เพื่อนำไปจัดทำรูปเล่มต่อไป

กรมวิชาการเกษตร