การคัดเลือกแคลลัสอ้อยทนแล้งและการชักนำให้เกิดต้นโดยใช้สาร polyethylene glycol ในสภาพหลอดทดลอง

ศิรศาธิญากร บรรหาร *และวาสินี พงษ์ประยูร

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี
*ผู้รับผิดชอบบทความ: email siripan@buu.ac.th

บทคัดย่อ

ในการผลิตอ้อยเพื่อให้ได้ปริมาณและคุณภาพสูง ต้องใช้ท่อนพันธุ์อ้อยที่มีคุณภาพสูงทั้งด้านความงอก ความแข็งแรง และปลอดโรค รวมทั้งสามารถปรับตัวให้ทนต่อสภาวะแล้งได้ ในการทดลองครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการชักนำให้เกิดยอดและรากของแคลลัสอ้อยเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันและประเมินความทนทานต่อภาวะแล้งในการชักนำให้เกิดแคลลัสของอ้อย โดยนำปลายยอดอ้อยขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตรของอ้อย 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์สุพรรณบุรี 50 มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีขาวนวลและแคลลัสที่ได้เกาะกันหลวม ๆ (friable callus) จากนั้นคัดเลือกลักษณะแคลลัสที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG 6,000 ที่ระดับความเขมขน 0, 5, 10, 15 และ 20 % จะเห็นได้ว่าแคลลัสของอ้อยทั้งสองพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ไม่มีการเติม PEG แคลลัสที่ได้มีน้ำหนักสดและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุด และจะเห็นได้ว่าน้ำหนักสดและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสลดลงเมื่อได้รับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่มากขึ้น หลังจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน และแอคติวิตีของเอนไซม์ CAT APX SOD พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของ PEG ที่ให้มีผลต่อการสะสมโพรลีน และมีแอคติวิตีของเอนไซม์ CAT APX และ SOD เพิ่มมากขึ้น โดยอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีปริมาณโพรลีน และแอควิตีของเอนไซม์ CAT APX และ SOD มากกว่าอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ซึ่งเทคนิคนี้สามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกอ้อยที่ทนต่อสภาวะแล้งได้ในอนาคต

คำสำคัญ: อ้อย สภาวะแล้ง โพรลีน

In Vitro Selection of Drought-Tolerance Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Callus and Regeneration of Plantlets from the Selected Callus lines using Polyethylene Glycol

Sirasatiyakorn Banharn* and Wasinee Pongprayoon

Department of Biology, Faculty of Science, Burapha university, Chonburi.
*corresponding author: email siripan@buu.ac.th

Abstract

In the production of sugarcane to obtain high quantity and quality may be used high quality sugarcane cutting in terms of germination, vigor and disease free, as well as adaptation to tolerate drought stress. The objective of this experiment was to study the induction of shoots and roots of sugar cane callus when cultured on a synthetic medium with different plant growth regulators and to assess drought tolerance in the cultivation of sugar cane callus. The experiment launched by using shoot tip of the sugar cane approximately 0.5-1 mm in size, of two cultivars sugarcane i.e. Khon Kaen 3 cultivars and Suphanburi 50 cultivars that they were cultured on MS media containing 3 mg/l 2, 4-D and 0.5 mg/l kinetin for callus induction at 25°C and light intensity 2000 lux, 16 hours of light per day. For 4 weeks, it was found that callus can be induced in both cultivars which obtained a white color and friable callus. Then, callus was cultured on MS media containing 3 mg/l 2,4-D 3 mg/l and 0.5 mg/l kinetin together with PEG 6000 at the concentration 0, 5, 10, 15 and 20 % for 4 weeks. From the result, it showed that callus of both sugarcane cultivars that they cultured on MS medium containing 3 mg/l 2, 4-D and 0.5 mg/l kinetin without PEG, obtained the highest fresh weight and callus diameter. On the other hand, the fresh weight and callus diameter decreased when receiving PEG 6000 at higher concentrations. The analysis of the amount of proline and activity of the CAT APX SOD enzyme showed that all concentrations of PEG resulted in the accumulation of proline and the activity of the CAT APX and SOD enzymes. Khon Kaen 3 cultivars had the proline content and activity of the enzyme CAT APX and SOD more than Suphanburi 50 cultivars. From the results, this technique can be applied to select sugarcane cultivars that was resistant to drought stress.

Keywords: sugarcane, drought stress, proline

1. บทนำ

อ้อย เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญในหลาย ๆ ประเทศ โดยเฉพาะประเทศในทวีปเอเชียอาจถือเป็นแหล่งปลูกอ้อยแหล่งใหญ่ที่สุดของโลก โดยสามารถผลิตอ้อยได้ประมาณ 44 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตอ้อยทั่วโลก (ประเสริฐ ฉัตรวชิรวงษ์, 2542) สำหรับประเทศไทยจัดเป็นประเทศผู้ส่งออกน้ำตาลรายใหญ่ซึ่งติด 1 ใน 5 ของโลก โดยสามารถผลิตน้ำตาลได้ปีละ 4.0-5.5 ล้านตัน และใช้บริโภคภายในประเทศประมาณ 1.7 ล้านตัน ส่วนที่เหลือจะส่งไปขายยังต่างประเทศและนำรายได้เข้าสู่ประเทศปีละไม่

น้อยกว่า 30,000 ล้านบาท (พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2541) นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2552 มีรายงานการส่งออกสินค้าที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทรายรวมทั้งสิ้น 5,052,570 ตัน ซึ่งคิดเป็นมูลค่าการส่งออกประมาณ 61,586 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) อย่างไรก็ตามเกษตรกรผู้ปลูกอ้อยมักประสบกับปัญหาการระบาดของโรคแมลงศัตรูในแปลงปลูก ความแปรปรวนของสภาพแวดล้อม เช่น ความแห้งแล้งของอากาศ ความแปรปรวนของฝน และการใช้สารเคมีในดิน เป็นต้น ทำให้ความอุดมสมบูรณ์ของดินเสื่อมลงอย่างรวดเร็ว จากข้อมูลพบว่าในพื้นที่ปลูกอ้อยในเขตน้ำฝนทั่วประเทศ จะมีผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 10 ตันต่อไร่ บางครั้งผลผลิตที่ได้ไม่แน่นอนเนื่องจากฝนแล้งทำให้กระทบต่อผลผลิตและรายได้ของเกษตรกร หากมีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์อ้อยให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมโดยเฉพาะลักษณะทนแล้ง จะช่วยเพิ่มผลผลิตและมูลค่าต่อไร่สูงขึ้น ทางเลือกหนึ่งในการแก้ปัญหาที่มีศักยภาพและเป็นไปได้ คือ การนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการคัดเลือกอ้อยทนแล้ง (รงรอง หอมนวล และคณะ, 2553) ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชถือเป็นเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้ในการขยายพันธุ์พืชให้มีศักยภาพสูงได้ เนื่องจากสามารถขยายพันธุ์พืชเพื่อผลิตต้นพันธุ์ได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว สามารถผลิตต้นพันธุ์ที่ปลอดโรค และได้ต้นที่มีลักษณะคงเดิมทุกประการ สามารถนำวิธีการนี้ไปเพาะขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณประชากรของต้นพืชที่ต้องการได้ (อุดม นวพานิช, 2549) โดยการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิคการคัดเลือกลักษณะทนแล้งของแคลลัสอ้อยโดยการใช้สารโพลีเอ็ททีลีนไกลคอล (polyethylene glycol) ในความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดสภาวะขาดน้ำในอาหารเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อย และคัดเลือกแคลลัสอ้อยที่สามารถรอดชีวิตหรือมีแนวโน้มทนต่อสภาวะขาดน้ำ และนำมาทดสอบหาความสัมพันธ์กับความสามารถของกลไกการป้องกันตัว (defense mechanism) ของพืชจากอันตรายที่เกิดจากภาวะแล้ง โดยศึกษาจากกิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) , catalase (CAT) และ ascorbate peroxidase (APX) รวมถึงปริมาณของโพรลีน (proline) และโปรตีน (protein) ซึ่งเทคนิคที่ได้จะใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกลักษณะพันธุ์อ้อยที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำได้ในเบื้องต้นและสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์อ้อยให้สามารถในการทนภาวะเครียดที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากภาวะแล้ง และนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการพัฒนาสายพันธุ์อ้อยและเพิ่มมูลค่าในเชิงเกษตรกรรมและในเชิงเศรษฐกิจ เพื่อให้ได้พันธุ์ที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำ (หรือทนแล้ง) ได้

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเพาะเลี้ยงปลายยอดอ้อยเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส

สายพันธุ์อ้อยที่ใช้ในการศึกษาได้แก่พันธุ์ขอนแก่น (KK3) และสุพรรณบุรี 50 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการส่งเสริมให้เพาะปลูก (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2556) โดยนำปลายยอดอ้อยมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยใช้คลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมยาจับใบ (tween 20) 1-2 หยด แช่นานประมาณ 10 นาที และ 5 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างคลอรอกซ์ออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำส่วนนี้มาลอกกาบใบออกจนถึงปลายยอด เพื่อตัดปลายยอดให้มีขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร นำปลายยอดมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 3 มก./ล ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ดัดแปลงจาก Rao and Jabeen, 2013) เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส สังเกตการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

2.2 การคัดเลือกแคลลัสอ้อยพันธุ์ต่างๆ ในอาหารที่เติม PEG

นำแคลลัสน้ำหนักประมาณ 250±10 กรัม ที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม PEG 6,000 ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0,5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายแคลลัสลงในอาหารเดิม จำนวน 2 ครั้ง ทุก ๆ 4 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเจริญของแคลลัสที่มีความทนต่อสภาวะขาดน้ำตามวงรอบที่เพาะเลี้ยง (culture cycle) โดยบันทึกลักษณะแคลลัสที่เปลี่ยนแปลงไป สังเกตการตายของแคลลัส เพาะเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน แคลลัสที่มีความทนต่อสภาพขาดน้ำจะถูกพิจารณาให้เป็นแคลลัสสายพันธุ์อ้อยที่ทนต่อ PEG ที่ให้ และจะนำไปชักนำให้เกิดยอดและรากต่อไป

2.3 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของแคลลัสอ้อยพันธุ์ต่าง ๆ ในอาหารที่เติม PEG

2.3.1) การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีนในแคลลัสอ้อย

ในการวัดปริมาณโพรลีน (หน่วยเป็นไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด) วิเคราะห์ตามวิธีการของ Bates et al., (1973) โดยเตรียมสารละลายโพรลีนมาตรฐานเข้มข้น 0, 3.75, 7.5, 15 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากสารละลายโพรลีนมาตรฐาน 6 มิลลิกรัม/ลิตร โดยเจือจางด้วย 3เปอร์เซ็นต์ sulfosalicylic acid แล้วนำสารละลายโพรลีนมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองและทำการทดลองเหมือนสารละลายตัวอย่างพืช จากนั้นชั่งตัวอย่างแคลลัส ประมาณ 500 มิลลิกรัม บดกับ 3 เปอร์เซ็นต์ sulfosalicylic acid ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,000 g เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนใสที่กรองได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติม acid-ninhydrin ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และ glacial acetic acid ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากันแล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และสิ้นสุดปฏิกิริยาที่อ่างน้ำแข็ง นำ reaction mixture ที่ได้เติม toluene ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าประมาณ 15-20 วินาที สารละลายจะเกิดการแยกตัวออกจากกันเป็นชั้นบนและชั้นล่าง ดูดสารละลายส่วนบนออกจากหลอดทดลอง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย uv-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยมี toluene เป็น blank แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณโพรลีนในสารละลายตัวอย่างพืช โดยใช้วิธีเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานโพรลีน

2.3.2) การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD) และโปรตีน

นำแคลลัสของอ้อยมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CAT, APX, SOD และโปรตีน โดยดัดแปลงจาก Sunohara and Matsumoto (2004) โดยสกัดเอนไซม์ (enzyme extraction) ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่างแคลลัสอ้อยหนัก 1 กรัม ใส่ในโกร่งบดแช่เย็นที่มีไนโตรเจนเหลว แล้วเติมสารละลายสกัด (extraction solution) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซึ่งสารละลายสกัดประกอบด้วย 25 mM potassiumphosphate buffer (pH 7.8), 0.4 mM EDTA, 1 mM ascorbic acid และ 2 เปอร์เซ็นต์ PVPP เมื่อบดเข้ากันดีแล้วนำไปเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 15,000 x g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำส่วนของเหลวใส (supernatant) มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 นำส่วนของเหลวใสที่ผ่านการกรองซึ่งเป็น crude enzyme ไปใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CAT, APX และ SOD โดยตรวจสอบการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ CAT ตามวิธีของ Beers and Sizer (1951) โดยที่สารละลายสารตั้งต้นมีปริมาตร 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0 ใน 100 mM H_2O_2) ปริมาตร 0.90 มิลลิลิตร และสารสกัดเอนไซม์ 0.05 มิลลิลิตร วัดอัตราการลดลงของ H_2O_2 ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร โดยที่ 1 ยูนิตของเอนไซม์ CAT คือ การลดลงของ H_2O_2 1 ไมโครโมลต่อนาที สำหรับการตรวจสอบการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ APX ตามวิธีของ Nakano and Asada (1981) โดยที่สารละลายสารตั้งต้นมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0) ปริมาตร 48.6 มิลลิลิตร, 100 mM EDTA ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร, 11.6 mM H_2O_2 ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร, 100 mM ascorbic acid ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร) เติม substrate solution 200 ไมโครลิตร วัดด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร โดยที่ 1 ยูนิตของเอนไซม์ คือ 1 ไมโครโมล การเกิดออกซิเดชั่นของกรดแอสคอร์บิก (ascorbate oxidation) ต่อนาที ส่วนการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ SOD (SOD activity assay) โดยตรวจสอบการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ SOD ตามวิธีของ Foster and Hess (1980) โดยที่สารละลายสารตั้งต้นมีปริมาตร 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 216 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8) ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร, 1.1 mM cytochrome c จาก equine heart ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร, 0.108 mM xanthine, 0.3125 unit/มิลลิลิตร of xanthine oxidase ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร, น้ำกลั่น ปริมาตร 0.68 มิลลิลิตร และสารสกัดเอนไซม์ 0.005 มิลลิลิตร วัดอัตราการลดลงของ cytochrome c ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยที่ 1 ยูนิตของเอนไซม์ SOD ถูกยับยั้งโดย 50เปอร์เซ็นต์ ที่ควบคุมอัตราการสร้างโดยเอนไซม์ xanthine oxidase ในการลดลงของ cytochrome c ที่ 25 องศาเซลเซียล

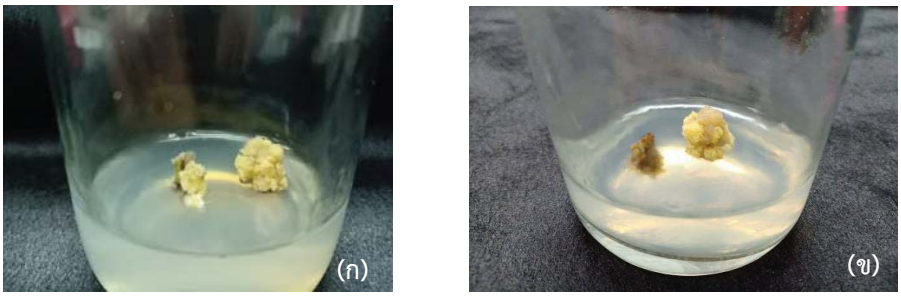
2.3.4) วิธีการประเมินผล/สังเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองปัจจัย (two-way analysis of variance) โดยปัจจัยที่ 1 คือ พันธุ์อ้อย และปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของ PEG ที่แตกต่างกัน และทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ต่าง ๆ โดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 การเพาะเลี้ยงปลายยอดอ้อยเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส

จากการนำปลายยอดอ่อนที่มีใบม้วน ขนาดความยาวประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร ของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และสุพรรณบุรี 50 มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ ปรากฏว่ามีแคลลัสสีขาวนวลเกิดขึ้น และมีการเกาะกันหลวม (friable callus) (ตามภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงปลายยอดที่มีใบม้วนของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์
ก) พันธุ์สุพรรณบุรี 50 ข) พันธุ์ขอนแก่น 3

3.2 น้ำหนักสดและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส

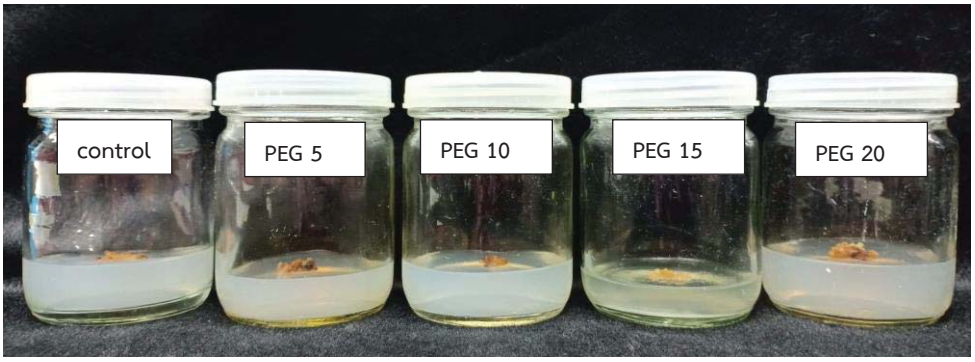
จากการทดลองพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 บนอาหารสูตรที่ไม่เติม PEG แคลลัสมีน้ำหนักสดมากที่สุดเท่ากับ 0.3650 ±0.0327 มิลลิกรัม แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 5เปอร์เซ็นต์ (0.2820 ± 0.1273 มิลลิกรัม) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ตารางที่ 1) ส่วนอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารหารสูตรที่ไม่เติม PEG มีน้ำหนักสดของแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 0.2670 ± 0.1161 มิลลิกรัม แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6000 5เปอร์เซ็นต์ (0.2150 ± 0.1898 มิลลิกรัม) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์จะเห็นได้ว่า แคลลัสของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 ในทุกระดับความเข้มข้น มีน้ำหนักสดของแคลลัสมากกว่าแคลลัสของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (ตารางที่ 1)

สำหรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตรที่ไม่เติม PEG แคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุดเท่ากับ 2.8 ± 1.647 เซนติเมตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ตารางที่ 1) ส่วนอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารหารสูตรที่ไม่เติม PEG แคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุดเท่ากับ 2.0±3.091 เซนติเมตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์จะเห็นได้ว่า แคลลัสของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 ในทุกระดับความเข้มข้น แคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าแคลลัสของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (ตารางที่ 1)

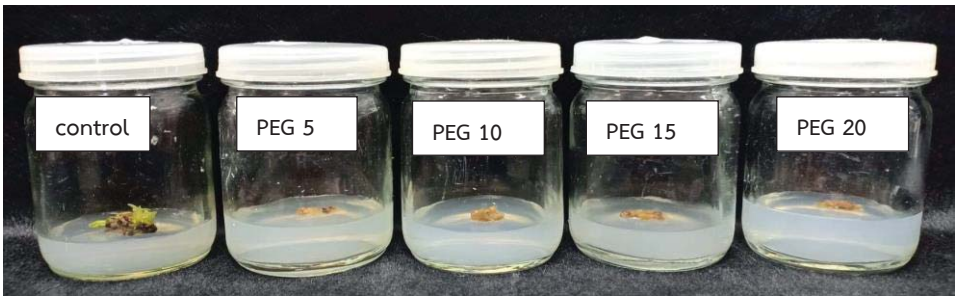
ตารางที่ 1 น้ำหนักสดและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์

พันธุ์	PEG	น้ำหนักสดของ callus (มิลลิกรัม)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส (เซนติเมตร)
ขอนแก่น 3	0	0.3650 ± 0.0327^{aA}	2.8 ± 1.647^{aA}
	5	0.2820 ± 0.1273^{aB}	2.0 ± 1.841^{bB}
	10	0.1900 ± 0.0865^{bCD}	1.8 ± 0.699^{bcBC}
	15	0.1780 ± 0.2794^{cD}	1.6 ± 0.919^{cC}
	20	0.1720 ± 0.0940^{cD}	1.2 ± 1.350^{dD}
สุพรรณบุรี 50	0	0.2670 ± 0.1161^{aB}	2.0 ± 3.091^{aB}
	5	0.2150 ± 0.1898^{abC}	1.6 ± 3.155^{bC}
	10	0.1670 ± 0.3013^{bD}	1.4 ± 0.422^{bcCD}
	15	0.1550 ± 0.1777^{bcD}	1.2 ± 1.075^{cD}
	20	0.1420 ± 0.649^{bcD}	1.0 ± 2.199^{cE}

หมายเหตุ – ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน (ในอ้อยพันธุ์เดียวกัน) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน (ในอ้อยระหว่างพันธุ์) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$



ภาพที่ 2 ลักษณะของแคลลัสอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 3 ลักษณะของแคลลัสอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.3 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของแคลลัสอ้อยพันธุ์ต่าง ๆ ในอาหารที่เติม PEG

3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีนในแคลลัสอ้อย

เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสของอ้อยทั้งสองพันธุ์บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าทุกระดับความเข้มข้นของ PEG มีผลต่อการสะสมโพรลีนในแคลลัสของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ โดยการสะสมโพรลีนในแคลลัสอ้อยที่ได้รับ PEG แต่ละระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 ที่ระดับความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีปริมาณโพรลีนมากที่สุดเท่ากับ 9.0837±0.07005 ไมโครกรัม/น้ำหนักสด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ ในอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 พบว่า แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ได้รับ PEG ในระดับความเข้มข้นสูง จะมีปริมาณโพรลีนในแคลลัสมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ PEG โดยจะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PEG 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีปริมาณโพรลีนมากที่สุดเท่ากับ6.7862±0.1004 ไมโครกรัม/น้ำหนักสด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 15 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณโพรลีนเท่ากับ 5.9410±0.1834 ไมโครกรัม/น้ำหนักสด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์จะเห็นได้ว่า แคลลัสของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เติม PEG 6,000 ในทุกระดับความเข้มข้น มีปริมาณโพรลีนมากกว่าแคลลัสของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ในทุกระดับของความเข้มข้นของ PEG (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณโพรลีนในแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ (Mean ± Standard error)

พันธุ์	PEG	ปริมาณโพรลีน (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด)
ขอนแก่น 3	0	1.6660 ± 0.04621^{aA}
	5	2.7521 ± 0.1200^{bB}
	10	3.7227 ± 0.1443^{cBC}
	15	7.3968 ± 0.1200^{dD}
	20	9.0837 ± 0.07005^{eE}
สุพรรณบุรี 50	0	1.8047 ± 0.0611^{aA}
	5	$2.1282\pm0.0693a^{AB}$
	10	2.9601 ± 0.0800^{bB}
	15	5.9410 ± 0.1834^{cC}
	20	6.7862 ± 0.1004^{cD}

หมายเหตุ – ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน (ในอ้อยพันธุ์เดียวกัน) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน (ในอ้อยระหว่างพันธุ์) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$

3.3.2 ผลของ PEG ต่อแอกติวิตีของ CAT

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสของอ้อยทั้งสองพันธุ์บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของ PEG ที่ให้มีผลต่อแอกติวิตีของ CAT ในแคลลัสของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ โดยมีแอคติวิตีของ CAT เพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ PEG ที่มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และแอคติวิตีของ CAT จะเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าแคลลัสอ้อยที่ได้รับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบน

อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีแอคติวิตีของ CAT มากที่สุดเท่ากับ 177.9480±7.5040 μmole H_2O_2 decomposed/mg protein • min และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ (ตารางที่ 3) ในอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีแอคติวิตีของ CAT มากที่สุดเท่ากับ 121.6556±5.7110 μmole H_2O_2 decomposed/mg protein • min ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ได้รับ PEG 15 เปอร์เซ็นต์ โดยมีแอคติวิตีของ CAT เท่ากับ 112.5246±5.7065 μmole H2O2 decomposed/mg protein • min แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์จะเห็นได้ว่า แคลลัสของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม PEG 6,000 ในทุกระดับความเข้มข้น มีแอคติวิตีของ CAT มากกว่าแคลลัสของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ในทุกระดับของความเข้มข้นของ PEG (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แอกติวิตีของ CAT, APX และ SOD ในแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ (Mean ± Standard error)

พันธุ์	PEG	แอกติวิตีของ CAT (μmole H_2O_2 decomposed/ mg protein • min)	แอกติวิตีของ APX (nmole L-ascorbic acid decomposed/mg protein • min)	แอกติวิตีของ SOD (Unit mg-1 protein)
ขอนแก่น 3	0	44.2044±0.0145^{aA}	63.1239±0.0208^{aA}	4.2543±0.2111^{aBC}
	5	86.0201±7.4478^{abBC}	122.8368±10.6354^{bcC}	4.5086±0.0541^{abC}
	10	124.0035±7.5599^{bC}	177.0770±10.7955^{cCD}	4.6512±0.3037^{abC}
	15	160.4825±0.0643^{cE}	229.1691±0.0919^{dD}	4.8774±0.0586^{bD}
	20	177.9480±7.5040^{dF}	254.1098±10.7158^{dE}	4.9350±0.0647^{bD}
สุพรรณบุรี 50	0	41.5589±5.7489^{aA}	59.3461±8.2095^{aA}	2.9413±0.1151^{aA}
	5	59.3790±7.3758^{bD}	84.7932±10.5327^{bB}	3.5702±0.1987^{aB}
	10	74.6931±2.4971^{cE}	106.6618±3.5659^{cBC}	3.9745±0.1154^{bB}
	15	112.5246±5.7065^{dF}	160.6851±8.1489^{dC}	4.5607±0.1242^{cC}
	20	121.6556±5.7110^{dF}	173.7242±8.1554^{dCD}	4.7800±0.1202^{dCD}

หมายเหตุ – ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน (ในอ้อยพันธุ์เดียวกัน) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน (ในอ้อยระหว่างพันธุ์) แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$

3.3.3 ผลของ PEG ต่อแอกติวิตีของ APX

ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม PEG 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีแอคติวิตีของ APX มากที่สุดเท่ากับ 254.1098±10.7158 nmole L-ascorbic acid decomposed/mg protein • min ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ได้รับ PEG 15 เปอร์เซ็นต์ โดยมีแอคติวิตีของ APX เท่ากับ 229.1691±0.0919 nmole L-ascorbic acid decomposed/mg protein • min แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ (ตารางที่ 3) ในอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม PEG 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีแอคติวิตีของ APX มากที่สุดเท่ากับ 173.7242±8.1554 nmole L-ascorbic acid decomposed/mg protein • min ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ได้รับ PEG 15 เปอร์เซ็นต์ โดยมีแอคติวิตีของ APX เท่ากับ 160.6851±8.1489 nmole L-ascorbic acid decomposed/mg

protein • min แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์จะเห็นได้ว่า แคลลัสของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม PEG 6,000 ในทุกระดับความเข้มข้น มีแอคติวิตีของ APX มากกว่าแคลลัสของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ในทุกระดับของความเข้มข้นของ PEG (ตารางที่ 3)

3.3.4 ผลของ PEG ต่อแอกติวิตีของ SOD

ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม PEG 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีแอคติวิตีของ SOD มากที่สุดเท่ากับ 4.9350±0.0647 Unit mg-1 protein แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ได้รับ PEG 15เปอร์เซ็นต์, 10 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีแอคติวิตีของ SOD เท่ากับ 4.8774±0.058, 4.6512±0.3037 และ 4.5086±0.0541 Unit mg-1 protein ตามลำดับ ส่วนในอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม PEG 6,000 20 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมีแอคติวิตีของ SOD มากที่สุดเท่ากับ 4.7800±0.1202 Unit mg-1 protein และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์จะเห็นได้ว่า แคลลัสของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม PEG 6,000 ในทุกระดับความเข้มข้น มีแอคติวิตีของ SOD มากกว่าแคลลัสของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ในทุกระดับของความเข้มข้นของ PEG (ตารางที่ 3)

4. บทสรุป

จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยทั้ง 2 พันธุ์บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังนี้ 1) น้ำหนักสดและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมีค่ามากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม PEG 6,000 2) ปริมาณโพรลีนในแคลลัสอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เติม PEG 6,000 ทุกระดับความเข้มข้น มีปริมาณโพรลีนมากกว่าแคลลัสอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 3) ทุกระดับความเข้มข้นของ PEG มีผลต่อแอกติวิตีของ CAT, APX และ SOD ในแคลลัสของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ 4) แคลลัสของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เติม PEG 6,000 ทุกระดับความเข้มข้น มีแอคติวิตีของเอนไซม์มากกว่าแคลลัสของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 จากการทดลองในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีความทนทานต่อภาวะขาดน้ำหรือภาวะเครียดน้ำ (water stress) ได้ดีกว่าอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง (References)

ประเสริฐ ฉัตรวชิรวงษ์. (2542). **พืชเศรษฐกิจ**. กรุงเทพ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. (2541). อุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลไทยในทศวรรษหน้า. **ว. น้ำตาล**, 34 (2), 1-7.

รงรอง หอมนวล, เรวัติ เลิศฤทัยโยธิน, รัตนา เอการัมย์ และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. (2553). การคัดเลือกแคลลัสอ้อยทนแล้งโดยใช้สาร polyethylene glycol ในสภาพปลอดเชื้อ ใน **การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 7**, (หน้า 1681-1688). นครปฐม : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. (2556). **สถานการณ์อ้อยและน้ำตาลทราย**. ค้นเมื่อ 1 พฤษภาคม 2564 จาก https://www. http://www.ocsb.go.th/th/home/index.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2552). **สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2550-2552**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อุดม นวพานิช. (2549). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

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

Beers, R.F., and Sizer, I.W. (1951). A spectrophotometeric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J Biol Chem,** 195, 133–140.

Braford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Ulilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, 72, 248-254.

Foster, J. G., and Hess, J. L. (1980). Responses of superoxide dismutase and glutathione reductase activities in cotton leaf tissue exposed to an atmosphere enriched in oxygen. **Plant Physiology**, 66(3), 482-487.

Nakano, Y., and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in Spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiol,** 22, 867–880.

Rao, S., and Jabeen, F. T. Z. (2013). *In vitro* selection and characterization of polyethylene glycol (PEG) tolerant callus lines and regeneration of plantlets from the selected callus lines in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 19(2), 261-268.

Sunohara, Y., and Matsumoto, H. (2004). Oxidative injury induced by the herbicide quinclorac on *Echinochloa oryzicola* Vasing and the involvement of antioxidative ability in its highly selective action in grass species. **Plant Science**,16, 597-606.