

การศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลง
พันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายโอนยีน *OSR1* ภายใต้สภาพแวดล้อมควบคุม



วิฑูร บุญเสริม

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2561

การศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลง
พันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายโอนยีน *OSR1* ภายใต้สภาพแวดล้อมควบคุม



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟิโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลง
พันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายโอนยีน OSR1 ภายใต้สภาพแวดล้อมควบคุม

วิฑูร บุญเสริม

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร.ปริดา นาเทเวศน์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกกุลสิงหาโรจน์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรณัฐ เจริญกิจ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายโอนยีน <i>OSR1</i> ภายใต้สภาพแวดล้อมควบคุม
ชื่อผู้เขียน	นายวิฑูร บัญเสริม
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์

บทคัดย่อ

ยีน *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)* จัดเป็นยีนสมาชิกในกลุ่มยีน *ARGOS* ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชและการขยายขนาดเซลล์ เมื่อทำการถ่ายโอนยีน *OSR1* ที่เป็น homolog ยีนจากต้น *Arabidopsis* เข้าสู่มันฝรั่งภายใต้การควบคุมการแสดงออกด้วย CaMV 35S และ Patatin promoter และผ่านการยืนยันความเสถียรของยีนในโครงสร้างพันธุกรรมอย่างชัดเจนด้วยเทคนิค RT-PCR โดยศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) แล้ว โดยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมจำนวน 7 รหัส ของ pBI121::35S::OSR1 และ 3 รหัส ของ pBI121::patatin::OSR1 ถูกนำมาทำการศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายโอนยีน *OSR1* ในสภาพแวดล้อมควบคุมภายใต้มาตรฐานแนวทางการปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ ผลการทดลองพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมภายใต้การควบคุมการแสดงออกด้วย pBI121::35S::OSR1 ทั้ง 7 รหัส โดยภาพรวมมีการเจริญเติบโตลักษณะทางสัณฐานวิทยาและค่าดัชนีทางสรีรวิทยาที่แตกต่างไปจากมันฝรั่ง wild type ทั้งขนาดของลำต้นและใบ ขนาดปากใบ รูปร่างใบ น้ำหนักสดต้น ขนาดของหัว ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณ Malondialdehyde ปฏิกริยาคาร์บอน รวมทั้งการออกดอก โดยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่แสดงออกความแตกต่างกับมันฝรั่ง wild type ได้ชัดเจนที่สุดคือ AO-1-18 ส่วนในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมภายใต้การควบคุมการแสดงออกด้วย pBI121::patatin::OSR1 ทุกรหัส (AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat) โดยภาพรวมนั้นมีการเจริญเติบโตส่วนเหนือดิน เช่น ขนาดลำต้นและขนาดใบ น้ำหนักสดและแห้งลำต้น ไม่มีความแตกต่างไปจากมันฝรั่ง wild type แต่ในด้านอัตราการสังเคราะห์แสง จำนวนต้นที่ออกดอก และการเจริญเติบโตในส่วนลำต้นใต้ดิน (หัว) มีการสะสมอาหารจนทำให้น้ำหนักต่อหัวสูงกว่ามันฝรั่ง wild type แต่จำนวนหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมภายใต้การควบคุมการแสดงออกทั้ง 2 promoter นั้นมีการสร้างจำนวนหัวที่น้อยกว่ามันฝรั่ง wild type นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาช่วงอายุในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายโอนยีน *OSR1* จากการทดลองพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ทำการคัดเลือกมาปลูกทดสอบจำนวน 4

line จากภายใต้การควบคุมการแสดงออกทั้ง 2 promoter มีการสร้างหัวได้เร็วกว่ามันฝรั่ง wild type ประมาณ 2 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงนอกจากนี้ได้ยังพบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ ภายใต้การควบคุมการแสดงออกทั้ง 2 promoter มีการสร้างหัวได้เร็วกว่ามันฝรั่ง wild type ประมาณ 2 สัปดาห์หลังย้ายปลูก จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ายีน *OSR1* สามารถแสดงออกได้ตามหน้าที่ได้แตกต่างกันตาม promoter



Title	STUDY OF PHENOTYPE OF TRANSGENIC POTATOES CARRYING <i>OSR1</i> GENE UNDER CONTROLLED ENVIRONMENT
Author	Mr.Witoon Boonserm
Degree	Master of Science in Horticulture
Advisor Committee Chairperson	Dr. Preeda Nathewet

ABSTRACT

ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1) is a gene member of *AGROS* family which regulates plant organ growth by affecting both cell expansion and proliferation. Arabidopsis *ARGOS* homolog *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)* was transformed to potato. Two promoters, CaMV35S (constitutive promoter) and Patatin (tuber specific promoter) were used for controlling expression of *OSR1* transgene. Transgenic plants were confirmed having the existing and stability of transgene by RT PCR technique at National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Seven pBI121::35S::*OSR1* and three pBI121::patatin::*OSR1* lines of transgenic potato were evaluated for the phenotypic performances in controlled environment room following the existing regulations of the Biological Safety Guidelines. The results indicated that growth, morphological characteristics and physiological index of all transgenic lines for pBI121::35S::*OSR1* were clearly different from the wild type, especially stem size, leaf size, leaf shape, guard cell size, stem fresh weight, tuber size, number of flowering plants, anthocyanin, malondialdehyde contents and photosynthetic rate. Among transgenic line of pBI121::35S::*OSR1*, AO-1-18 was clearly different from the wild type. In pBI121::patatin::*OSR1* lines, the above ground growth such as stem, guard cell size, stem fresh and dry weight were not significant different from wild type. However, photosynthesis rate, number of flowering plants, underground growth (tuber) were higher than wild type. Result also indicated that transgenic potato from both promoters produced lower number of tuber per plant than wild type. Moreover, It was found that wild type formed the tuber approximately two weeks later than all

transgenic potato lines obtained from both pBI121::35S::OSR1 and pBI121::patatin::OSR1 constructs. The results from this study indicated that the effect of *OSR1* transgene on potato phenotype is depended on its promoter.



กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษาในการวางแผนดำเนินงานทดลอง ตลอดจนช่วยเหลือในการตรวจแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์จนกระทั่งสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกุศลสิงหาโรจน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี ที่ให้ความอนุเคราะห์ทั้งในด้านของการศึกษาแนวความคิดตลอดจนแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องจนสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์ได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) และโครงการวิจัยการประเมินลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมภายใต้มาตรฐานความปลอดภัยทางด้านชีวภาพที่สนับสนุนทุนการศึกษาระดับปริญญาโทในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณนายศราวุธ บุญเสริม และอาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์ ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษาเล่าเรียนมาโดยตลอด และขอขอบพระคุณ คุณพ่อสัน ภู้อยู่ และคุณแม่กัญทิมา บุญเสริม ผู้ให้กำเนิดที่มอบโอกาสในการศึกษา รวมทั้งขอขอบคุณท่านที่ไม่ได้เอ่ยนามมาในครั้งนี้นี้ที่คอยช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการศึกษา

วิฑูร บุญเสริม

มีนาคม 2561

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	ค
ABSTRACT	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
ขอบเขตของการศึกษา.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร.....	4
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันฝรั่ง	4
เทคโนโลยีตัดแปลงพืชพันธุกรรม (Genetically Modified Plant, GMP).....	9
การใช้ประโยชน์พืชตัดแปลงพันธุกรรม.....	14
แนวทางการปฏิบัติความปลอดภัยทางด้านชีวภาพ	15
บทบาทและหน้าที่ของยีนกลุ่ม ARGOS	16
ห้องปฏิบัติการปลูกพืช.....	19
บทที่ 3 วิธีการวิจัย.....	22
สถานที่ทำการวิจัย.....	22
การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณภาพของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่งภายใต้สภาพ ควบคุม.....	22

การทดลองที่ 2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) และจีโนไทป์ (Genotype) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน OSR1	24
2.1 การศึกษาลักษณะปรากฏ (Phenotype) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม pBI121::35S::OSR1 และ pBI121::patatin::OSR1	24
2.2 การตรวจสอบการคงอยู่ของยีน OSR1 โดยใช้เทคนิค PCR และ Gel electrophoresis	25
การทดลองที่ 3 ระยะเวลาในการสร้างหัวของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน OSR1	27
การวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์	28
การวัดค่าการนำไหลของปากใบ การระเหยของน้ำจากใบ อัตราการดูดซึมน้ำคาร์บอนไดออกไซด์ ...	28
การวัดขนาดของปากใบ	29
การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ	29
การวัดปริมาณแอนโทไซยานินในใบ	29
การวัดปริมาณ Malondialdehyde (MDA)	30
การวิเคราะห์ข้อมูล	31
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	32
ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาคุณภาพของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่งภายใต้สภาพควบคุม	32
ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1).....	47
ผลการทดลองที่ 2.1.1 การศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม construct pBI121::35S::OSR1.....	47
ผลการทดลองที่ 2.1.2 การศึกษาการแสดงออกทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม construct pBI121::patatin::OSR1.....	65
ผลการทดลองที่ 2.2 การตรวจสอบการคงอยู่ของยีน ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1) ในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม.....	81

ผลการทดลองที่ 3 ระยะเวลาในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน OSR1.....	83
วิจารณ์ผลการทดลอง	89
การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณภาพของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่งภายใต้สภาพควบคุม	89
การทดลองที่ 2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน OSR1	92
การทดลองที่ 3 ระยะเวลาในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน OSR1 ...	95
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	97
สรุปผลการศึกษา.....	97
ข้อเสนอแนะ	98
บรรณานุกรม.....	99
ประวัติผู้วิจัย.....	109



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	คุณค่าทางอาหารของหัวมันฝรั่ง (ปริมาณต่อ 100 กรัม)..... 8
2	อัตราส่วนของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงิน ของคุณภาพแสงแต่ละชนิด 36
3	น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dried weight) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน (n=5)..... 44
4	น้ำหนักสดราก (Root fresh weight) และน้ำหนักแห้งราก (Root dried weight) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน (n=5) 45
5	ปฏิสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพของแสงกับพันธุ์มันฝรั่ง 46
6	การออกดอกของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5) 54
7	ความยาวและเส้นผ่าศูนย์กลางปากใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=9)..... 56
8	น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dried weight) น้ำหนักสดราก (Root fresh weight) และน้ำหนักแห้งราก (Root dried weight) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5)..... 61
9	การออกดอกของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5) 71
10	ขนาดปากใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=9) 73
11	น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dried weight) น้ำหนักสดราก (Root fresh weight) และน้ำหนักแห้งราก (Root dried weight) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5) 78
12	น้ำหนักสดต้น (Shoot FW) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot DW) น้ำหนักสดราก (Root FW) และน้ำหนักแห้งราก (Root DW) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูก (n=5) 85

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของลำต้นใต้ดินมันฝรั่ง (หัว).....	5
2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบมันฝรั่ง.....	6
3 โครงสร้างดอกของมันฝรั่ง.....	7
4 การสร้าง Recombinant DNA.....	9
5 การใช้เครื่องยิงอนุภาคเข้าสู่เซลล์พืช (particle bombardment).....	11
6 โครงสร้าง <i>Ti</i> plasmid ของแบคทีเรีย <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	13
7 ความสัมพันธ์ของยีน <i>OSR1</i> <i>ARGOS</i> และ <i>ARL</i> ในเชิงหน้าที่ของยีน.....	17
8 กลไกการทำงานของยีน <i>OSR1</i> <i>ARGOS</i> <i>ARL</i> ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชและกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์.....	18
9 ความยาวคลื่นแสงและสีที่ปรากฏ (นาโนเมตร: nm).....	21
10 Relative spectral irradiance ของชนิดหลอด LED ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ (a) LED3200K (b) LED6500K และ (c) LED Shigyo® red and blue (R:B).....	24
11 ความสูงของลำต้นมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลุกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	33
12 จำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลุกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	34
13 จำนวนไหลของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลุกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	35
14 การเจริญเติบโตของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่อายุ 15 วันหลังย้ายปลุกภายใต้คุณภาพแสง LED3200K, LED6500K, LED3200K+ 6500K (1:1) LED3200K+ 6500K (2:1), LED3200K+6500K (3:1) และLED Shigyo® R:B (2:1) ตามลำดับ.....	35
15 ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลุกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	37
16 ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลุกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	38

17 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) 39

18 ปริมาณแอนโทไซยานินในใบของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4)..... 40

19 จำนวนหัวของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)..... 42

20 น้ำหนักหัวของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5) 42

21 ความสูงลำต้นของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)..... 48

22 จำนวนใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)..... 48

23 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก..... 49

24 ลักษณะใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ตำแหน่งใบที่ 5 จากยอด ที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก 50

25 ความยาวใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับ *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)..... 51

26 จำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)..... 52

27 จำนวนไหลของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)..... 53

ภาพที่	หน้า
28 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Chl a) ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (Chl b) ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (Chl a+b) (a) และปริมาณแอนโทไซยานินในใบ (b) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)	55
29 ลักษณะปากใบชั้นใต้ใบ (abxial) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X: (Scale bar = 20 μ m).....	56
30 ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) (a) และ ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) (b) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	57
31 (a) ค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E: Transpiration rate) (b) ค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A: CO ₂ assimilations rate) และ (c) ค่าการนำไหลของปากใบ (gs: Stomatal conductance) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4).....	59
32 ปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4):	60
33 จำนวนหัวต่อต้น (a) น้ำหนักหัวรวมต่อต้น (b) และน้ำหนักต่อหัว (c) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)	62
34 ลักษณะของหัวมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 และ AO-1-18 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type	63
35 ลักษณะของหัวมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type.....	64
36 ความสูงลำต้นของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แลบลวดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	65

ภาพที่	หน้า
37 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับ wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก.....	66
38 จำนวนใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)	67
39 ความยาวใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)	67
40 ลักษณะใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type	68
41 จำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และAO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)	69
42 จำนวนไหลของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)	70
43 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Chl a) คลอโรฟิลล์บี (Chl b) คลอโรฟิลล์รวม (Chl a+b) : (a) และ ปริมาณแอนโทไซยานินในใบ : (b) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และAO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3).....	72
44 ลักษณะปากใบชั้นใต้ใบ (abxial) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และAO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 40X: (Scale bar = 20 μ m).....	73
45 ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) (a) และ ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) (b) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และAO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	74

ภาพที่	หน้า
46 (a) ค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A: CO ₂ assimilations rate) (b) ค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E: Transpiration rate) และ (c) ค่าการนำไหลของปากใบ (gs: Stomatal conductance) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4).....	76
47 ปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4): (DAT=Day after transplanting).....	77
48 จำนวนหัวต่อต้น (a) น้ำหนักหัวรวม (b) และน้ำหนักต่อหัว (c) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับ wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5).....	79
49 ลักษณะของหัวมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน <i>OSR1</i> line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type	80
50 ผลผลิตการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม M=100 kb Ladder, - = non sample, WT=wild type, 1=AO-1-2 pat (1), 2=AO-1-2pat (2), 3=AO-1-2pat (3), 4=AO-1-2pat (4), 5=AO-1-2pat (5), 6=AO-1-3pat (1), 7=AO-1-3pat (2), 8=AO-1-3pat (3), 9=AO-1-3pat (4), 10=AO-1-3pat (5), 11=AO-2-6pat (1), 12=AO-2-6pat (2), 13=AO-2-6pat (3), 14=AO-2-6pat (4), 15=AO-1-5 (1), 16=AO-1-5 (2), P= positive control, M=100 kb Ladder.....	81
51 ผลผลิตการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม M=100 kb Ladder, - =non sample, WT=wild type, 17=AO-1-5 (3), 18=AO-1-5 (4), 19=AO-1-5 (5), 20=AO-1-19 (1), 21=AO-1-19 (2), 22=AO-1-19 (3), 23=AO-1-19 (4), 24=AO-1-19 (5), 25=AO-1-4 (1), 26=AO-1-4 (2), 27=AO-1-4 (3), 28=AO-1-4 (4), 29=AO-1-4 (5), 30=AO-1-18 (1), 31=AO-1-18 (2), 32=AO-1-18 (3), P= positive control, M=100 kb Ladder.....	82
52 ผลผลิตการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม M= 100 kb Ladder, - =non sample, WT= wild type, 33=AO-1-18 (4), 34=AO-1-18 (5), 35=AO-1-21 (1), 36=AO-1-21 (2), 37=AO-1-21 (3), 38=AO-1-21 (4), 39=AO-1-21 (5), 40=AO-1-10 (1), 41=AO-1-10 (2), 42=AO-1-10 (3), 43=AO-1-10 (4), 44=AO-1-10 (5), P= positive control, M=100 kb Ladder.....	82

ภาพที่

หน้า

53 ความสูงลำต้นของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=4) ที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูก..... 84

54 จำนวนไหลของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat, AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=4) 84

55 ลักษณะลำต้นของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก..... 86

56 ช่วงอายุในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ในแต่ละช่วงอายุหลังย้ายปลูก (n=4)..... 87

57 การเจริญเติบโตในส่วนลำต้นใต้ดิน (หัว) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก 87

58 น้ำหนักหัวรวมของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=4)..... 88

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบัน มีการนำเทคโนโลยีชีวภาพในหลากหลายรูปแบบมาปรับใช้กับการปรับปรุงและพัฒนาสายพันธุ์พืชเพื่อเพิ่มผลผลิต เทคนิคพันธุวิศวกรรมหรือการตัดต่อยีนที่สนใจจากสิ่งมีชีวิตหนึ่ง ย้ายไปสู่สิ่งมีชีวิตหนึ่ง (Zupan and Zambryski, 1995) ที่ได้เข้ามามีบทบาททางภาคเกษตร เนื่องจากการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมนั้นใช้เวลานานประกอบกับการใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกค่อนข้างมาก เพื่อลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์และได้มาซึ่งคุณลักษณะของพืชตามที่ต้องการ จึงทำให้การตัดต่อยีนเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สำคัญเพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Banerjee et al., 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการถ่ายโอนยีนที่ทราบหน้าที่การทำงานอย่างชัดเจน ในการแสดงออกหรือควบคุมลักษณะตามที่ต้องการ จึงได้มีการศึกษาและดำเนินการในการสร้างพืชตัดแปลงพันธุกรรมเป็นจำนวนมาก

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ได้ศึกษาการทำงานของยีนสมาชิกกลุ่มยีน *AUXIN REGULATED GENE INVOLVED IN ORGAN SIZE (ARGOS)* ในมันสำปะหลัง ที่มีข้อสันนิษฐานว่ามีหน้าที่ควบคุมเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชและการขยายขนาดของเซลล์ พบว่าในจีโนมของมันสำปะหลังนั้นมียีนสมาชิกกลุ่ม *ARGOS* จำนวน 2 ยีน คือ *MeARGOS1* และ *MeARGOS2* ที่มีการแสดงออกคล้ายคลึงกับยีนกลุ่ม *ARGOS* (Prochnik et al., 2012) เป็นอย่างมาก ซึ่งการแสดงออกนั้นพบในส่วนต่าง ๆ ที่มีการเจริญเติบโต เช่น ใบอ่อน ยอดอ่อน และพบการแสดงออกที่ใบแก่ในระดับที่ต่ำ นอกจากนี้เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีน *MeARGOS1* และ *MeARGOS2* ในระบบรากสะสมอาหารของมันสำปะหลัง พบว่ายีนทั้ง 2 มีระดับการแสดงออกที่สูงมากในรากสะสมอาหารตลอดระยะเวลาช่วง 6 เดือนแรก มีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระอย่างรวดเร็วจากรากฝอยไปเป็นรากสะสมอาหาร โดยในระยะเวลาดังกล่าวมีระดับการแสดงออกของยีนที่สูงมากในส่วนระบบรากสะสมอาหารเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่น ๆ ของพืชไม่ว่าจะเป็นใบอ่อน หรือยอดอ่อน การแสดงออกที่ชัดเจนของยีน *MeARGOS1* และ *MeARGOS2* มีข้อสันนิษฐานว่าเพื่อการรองรับกับการเพิ่มจำนวนเซลล์และการขยายขนาดเซลล์ในรากสะสมอาหาร เพื่อเป็นการสะสมแป้งในปริมาณมาก จึงมีความเป็นไปได้ว่ายีน *ARGOS* ทั้ง 2 ยีนของมันสำปะหลังนั้น มีความสำคัญมากในกระบวนการเจริญเติบโตของรากสะสมอาหาร และเป็นยีนเป้าหมายหลักหากต้องการทำการกระตุ้นผลผลิตรากสะสมอาหารให้มีขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังมียีนสมาชิกกลุ่ม *ARGOS* อีกยีนหนึ่ง คือยีน *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)* ในต้น *Arabidopsis* ที่ทำหน้าที่กระตุ้นทั้งกระบวนการแบ่งเซลล์และเพิ่มขยายขนาดของเซลล์ได้เหมือนกับของยีน *ARGOS* และ *ARGOS-LIKE*

รวมกัน และเมื่อทำการกระตุ้นการแสดงออกของยีนด้วยกระบวนการพันธุวิศวกรรม ต้นพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้นั้นมีลักษณะใหญ่ขึ้นกว่าต้นปกติอย่างชัดเจน ทั้งในส่วนของ ใบ ดอก ฝัก ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มปริมาณและขนาดของเซลล์ร่วมกัน (Feng et al., 2011) และด้วยเหตุที่ยีน *OSR1* มีอิทธิพลต่อกระบวนการเพิ่มปริมาณและขนาดของเซลล์ร่วมกัน จึงได้มีแนวคิดในการนำยีน *OSR1* มาใช้ประโยชน์ในการสร้างแนวทางในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของรากสะสมอาหาร ทำให้เป็นอีกหนึ่งยีนเป้าหมายที่ได้นำมาทำการศึกษเพิ่มเติม เพื่อเป็นการยืนยันหน้าที่ของยีนกลุ่ม *ARGOS* ในพืช และการใช้ประโยชน์ของยีนจากต้น *Arabidopsis* ผ่านกระบวนการพันธุวิศวกรรมอีกด้วย

แต่เนื่องด้วยมันสำปะหลังมีอายุตั้งแต่การปลูกจนถึงช่วงเก็บเกี่ยวนั้นประมาณ 9-12 เดือน ประกอบกับใช้พื้นที่มากในการปลูกทดสอบ และต้องดำเนินการตามมาตรฐานแนวทางปฏิบัติความปลอดภัยทางด้านชีวภาพอย่างเคร่งครัดและข้อบังคับทางด้านกฎหมายคุ้มครองพันธุ์พืชเนื่องจากเป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรม ทางศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) จึงได้นำมันฝรั่งมาเป็นพืชทดลอง โดยทำการถ่ายโอนยีนกลุ่ม *ARGOS* จากมันสำปะหลังและต้น *Arabidopsis* เข้าสู่มันฝรั่งเพื่อยืนยันหน้าที่ของยีนกลุ่ม *ARGOS* เนื่องจากมันฝรั่งเป็นพืชหัว ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวที่สั้นและสามารถปลูกทดสอบในพื้นที่ที่มีขีดจำกัดได้ แต่เพื่อที่จะปลูกมันฝรั่งให้สามารถเจริญเติบโตได้นั้นจึงต้องจำลองสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเพื่อที่จะสามารถปลูกทดสอบมันฝรั่งได้ตลอดทั้งปี ที่มีการควบคุมทั้งแสง อุณหภูมิ ความชื้น ให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ภายใต้เทคโนโลยีการปลูกพืชแบบโรงงานพืช (plant factory) ดังนั้นการศึกษครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการแสดงออกของยีน *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)* ในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม ภายใต้สภาพแวดล้อมควบคุมตามมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพด้านพืช (BSL2)

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* ภายใต้ควบคุมสภาพแวดล้อม
2. เพื่อตรวจสอบความเสถียรของยีน *OSR1* ในต้นมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม

ขอบเขตของการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับพืชดัดแปลงพันธุกรรม คือ มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)* จากต้น *Arabidopsis (Arabidopsis thaliana)* ซึ่งจัดเป็นยีนในกลุ่ม *ARGOS* มีความสัมพันธ์เชิงหน้าที่ที่เกี่ยวกับการควบคุมการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชและการขยายขนาดของเซลล์ ประกอบด้วย 2 construct คือ construct pBI121::35S::OSR1 จำนวน 7 lines และ construct pBI121::patatin::OSR1 จำนวน 3 lines ปลูกทดสอบภายใต้ห้องปฏิบัติการ ปลูกพืชที่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมตามมาตรฐานความปลอดภัยทางด้านชีวภาพ (BSL2) เพื่อศึกษาลักษณะปรากฏ (Phenotype) ที่แสดงออกของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ข้อมูลลักษณะทางฟีโนไทป์ที่สำคัญของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* คือ การเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นใต้ดิน เช่น จำนวนหัว ขนาดของหัว สีผิว น้ำหนักหัว รูปร่างหัว เป็นต้น
2. ข้อมูลด้านสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการปลูกมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมแบบระบบโรงงานพืช

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

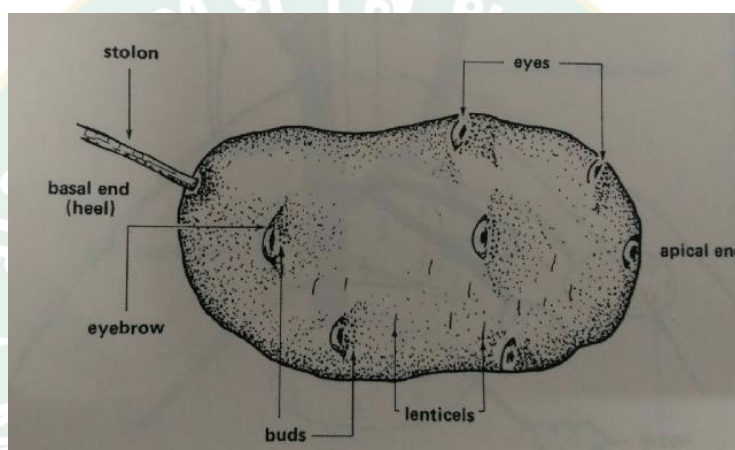
มันฝรั่งถือว่าเป็นพืชอาหารเศรษฐกิจหลักที่มีความสำคัญของโลกรองมาจากข้าว ข้าวโพด และข้าวสาลี โดยมีผลผลิตรวมทั่วโลกในประมาณ 591.72 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 74,840,595,000 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2016) โดยมีแหล่งเพาะปลูกหลักอยู่ในอเมริกาเหนือ ยุโรปตะวันตก ลาตินอเมริกา เอเชีย และแอฟริกา (บัณฑิต วาฤทธิ์ และนาตยา คำอำไพ, 2546) สำหรับในประเทศไทยนั้นพื้นที่ปลูกหลักอยู่ในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนบนและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ครอบคลุม 11 จังหวัด โดยมีพื้นที่ปลูกรวมประมาณ 28,000 ไร่ ผลผลิตของมันส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้สำหรับการแปรรูปในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ขนมขบเคี้ยว มันฝรั่งแช่แข็ง และแปรรูปเป็นแป้ง เป็นต้น (ศูนย์สารสนเทศเกษตร, 2559)

มันฝรั่งจัดเป็นพืชในวงศ์ (family) *Solanaceae* ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum tuberosum* L. มีจำนวนโครโมโซม $2n = 48$ (Huaman, 1986) สันนิษฐานว่ามีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ แถบเทือกเขาแอนดิส บริเวณประเทศเปรู โบลิเวีย ชิลี และโคลัมเบีย (Huaman, 1986) โดยมันฝรั่งเป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับ พริก มะเขือ ยาสูบ เป็นต้น หัวมันฝรั่งนั้นเป็นลำต้นใต้ดินทำหน้าที่สะสมอาหารและขยายพันธุ์ มันฝรั่งเป็นพืชที่ชอบอากาศหนาวเย็น สามารถเจริญเติบโตในอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 15-18 องศาเซลเซียส (Beukema and Van der Zaag, 1979) แต่หากอุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้มันฝรั่งเจริญเติบโตทางด้านลำต้นเหนือดินอย่างรวดเร็ว และทำให้สร้างหัวได้น้อย (ประสิทธิ์, 2548) สภาพที่เหมาะสมคือดินร่วนปนทรายที่มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ระหว่าง 5.5-6.5 (Beukema and Van der Zaag, 1979) และอีกหนึ่งปัจจัยที่มีความสำคัญคือความยาวของช่วงวันมันฝรั่งจะตอบสนองต่อช่วงวันที่สั้นในการลงหัว ซึ่งเป็นช่วงเวลาของฤดูหนาวจะส่งผลให้มันฝรั่งลงหัวได้เร็ว ส่งผลทำให้อายุในการปลูกจนถึงเก็บเกี่ยวสั้นลง (ประสิทธิ์, 2548)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันฝรั่ง

มันฝรั่งจัดเป็นพืชปีเดียว มันฝรั่งจัดเป็นพืชอายุปีเดียว (annual plant) มีลักษณะของลำต้น 2 แบบ คือ แบบที่อยู่เหนือดิน (stem) ซึ่งรวมถึงต้นหลัก และลำต้นแขนง ลำต้นมีลักษณะเป็นเหลี่ยม สีขาว หรือม่วงปนเขียวขึ้นอยู่กับพันธุ์ที่ตั้งตรง ความสูงประมาณตั้งแต่ 60 เซนติเมตรถึง 1.5 เมตร. (Beukema and Van der Zaag, 1979) และอาจแผ่ไปตามแนวราบขึ้นกับลักษณะพันธุ์ จึงสามารถ

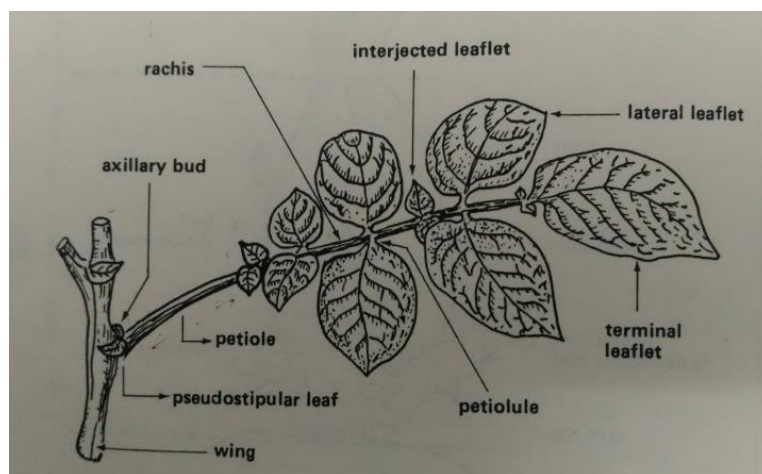
แบ่งการเจริญของทรงต้นได้ 3 แบบ ได้แก่ ทรงพุ่ม (rosette), เอนราบ (prostrate) และตั้งตรง (erect) และต้นอีกแบบคือ ลำต้นที่อยู่ใต้ดิน (stolon) โดยส่วนปลายของไหลนั้นสามารถสะสมอาหารและพัฒนากลายเป็นหัว แต่ถ้าไหลอยู่เหนือดินจะเจริญกลายเป็นลำต้นที่มีใบต่อไป ลำต้นที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นหัวนั้นเกิดจากการขยายตัวของลำต้นใต้ดินเนื่องจากการสะสมแป้งของหัวด้านที่ติดกับลำต้นใต้ดินเรียกว่า Heel และส่วนปลายอีกด้านหนึ่งเรียกว่า apical portion จะมี eye มากกว่าบริเวณ heel มันฝรั่งต้นหนึ่งจะให้หัวประมาณ 6-10 หัว ลักษณะประจำพันธุ์ ขนาดของหัวจะแตกต่างกัน หัวมันฝรั่งมีความแปรปรวนทั้งรูปร่างและขนาด ขึ้นอยู่กับพันธุ์ รูปร่างของหัวนั้นอาจยาวรี, กลม, รูปไข่ (Beukema and Van der Zaag, 1979; Huaman, 1986)



ภาพที่ 1 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของลำต้นใต้ดินมันฝรั่ง (หัว)

ที่มา : Huaman, 1986

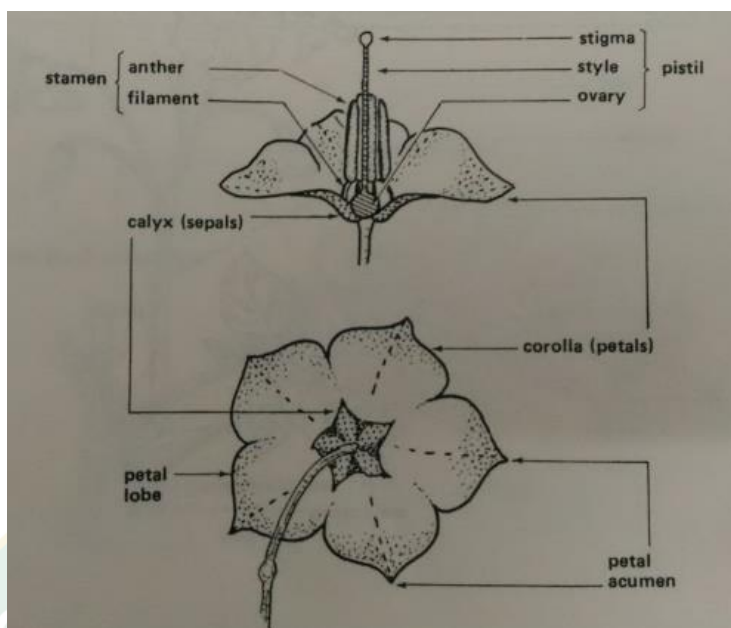
ในส่วนของลำต้นบนดินนั้นนอกจากกิ่งแขนงแล้วยังประกอบไปด้วยใบ ที่เป็นใบประกอบแบบ Pinnately compound ประกอบด้วยใบย่อยหลายคู่เรียงไปตามความยาวของก้านใบ มีใบย่อยสุดท้ายที่มีลักษณะเป็นใบเดี่ยวมีขนาดใหญ่ที่สุด และมีรูปร่างแตกต่างกันไปเช่น ทรงเรียวยาวแหลม (narrowly lanceolate) ทรงรูปไข่ (ovate) และในส่วนของใบที่เกิดจากลำต้นใต้ดิน (หัว) จะมีลักษณะใกล้เคียงกับเกล็ดปลาเรียกว่าคิ้วใบ (Eye brows) (Huaman, 1986)



ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบมันฝรั่ง

ที่มา : Huaman, 1986

ดอกมันฝรั่งเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (complete flower) มี 5 กลีบเลี้ยง (sepal) ซึ่งมีฐานเชื่อมติดต่อกับส่วนของกลีบดอก 5 กลีบดอก และสีของกลีบดอกแตกต่างกันไปตามพันธุ์เช่น ขาว เหลือง ม่วง เป็นต้น ภายในดอกมีเกสร 5 อัน และจะมีสีแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ตั้งแต่สีเหลืองถึงสีส้ม อับละอองเกสรทั้ง 5 อันจะล้อมรอบของก้านเกสรตัวเมีย ซึ่งเกสรตัวเมียจะประกอบด้วย 1 รังไข่ (Huaman, 1986) เมื่อดอกได้รับการผสมอย่างสมบูรณ์จะกลายเป็นผลแบบ berry มีขนาด รูปร่าง และสี ของผลแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับพันธุ์ รูปร่างของผลอาจจะกลมหรือรูปไข่ โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5-3 ซม. อาจเป็นสีเขียวหรือเขียวปนม่วง ซึ่งประกอบด้วยเมล็ดมากกว่า 200 เมล็ดขึ้นไป ซึ่งเมล็ดจะมีรูปร่างยาวรีแต่แบน สีเหลืองถึงสีน้ำตาล (ประสิทธิ์, 2548)



ภาพที่ 3 โครงสร้างดอกของมันฝรั่ง
ที่มา : Huaman, 1986

คุณค่าทางอาหารของมันฝรั่ง

หัวของมันฝรั่งมีองค์ประกอบหลักคือ น้ำและคาร์โบไฮเดรต ทั้งนี้การสะสมอาหารในหัวของมันฝรั่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยหัวของมันฝรั่งประกอบไปด้วยโพแทสเซียมในปริมาณมาก และให้พลังงาน 83 แคลอรีต่อน้ำหนักมันฝรั่ง 100 กรัม และไม่มีสารจำพวกไขมันดังตารางที่ 1

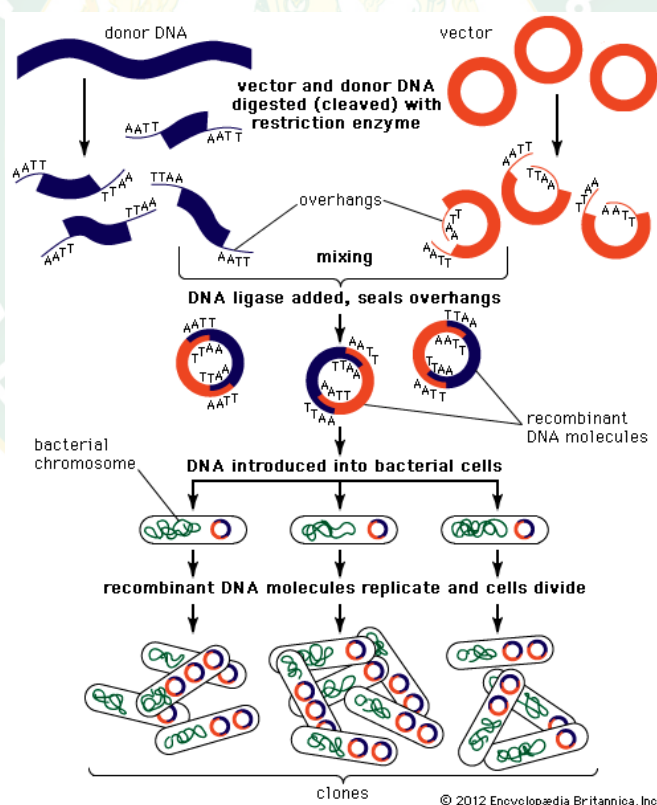
ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของหัวมันฝรั่ง (ปริมาณต่อ 100 กรัม)

Nutrient	Per 100 g
Water (%)	77.8
Food energy (Kcal.)	83
Protein (g)	2
Fat (g)	0.1
Carbohydrate (g)	19.1
Fiber (g)	0.4
Sugar (g)	1
Other (g)	15
Ash (mg)	1
Calcium (mg)	19
Magnesium (mg)	20
Phosphate (mg)	56
Potassium (mg)	370
Sodium (mg)	9
Vitamin A (IU)	20
Thiamin (mg)	0.11
Riboflavin (mg)	0.04
Niacin (mg)	1.2
Ascorbic acid (mg)	28

ที่มา : (Molders et al., 2012)

เทคโนโลยีตัดแปลงพืชพันธุกรรม (Genetically Modified Plant, GMP)

เทคโนโลยีในกระบวนการสร้างพืชตัดแปลงพันธุกรรมเป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้พันธุศาสตร์ ด้วยการใช้เทคนิคการถ่ายโอนยีนเป้าหมายเข้าสู่เซลล์พืช เพื่อให้พืชนั้นได้รับยีนเป้าหมายและสามารถแสดงออกในลักษณะตามที่ต้องการ โดยเทคนิคเหล่านี้จะทำการถ่ายโอนสารพันธุกรรมจากภายนอกซึ่งอาจมาจากแหล่งอื่น เช่น ยีนจากแบคทีเรียเข้าสู่ภายในเซลล์ของพืช ทำให้สารพันธุกรรมสามารถเข้าสู่จีโนมหรือดีเอ็นเอของพืชชนิดที่ต้องการได้ (กิตติพัฒน์, 2557) และทำให้เกิดการการเสถียรของการแสดงออกของยีนเป้าหมายที่สอดแทรกตัวเข้าไปผ่านขั้นตอนการแบ่งเซลล์ทั้งแบบไมโทซิส (Mitosis) และเมโอซิส (Meiosis) รวมทั้งยังสามารถที่จะถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมนั้นต่อไปยังรุ่นลูกหลานได้อีกด้วย (Sudhakar, 2006) พืชที่ผ่านการถ่ายโอนยีนเข้าไอนี้ อาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า “transgene plants”



ภาพที่ 4 การสร้าง Recombinant DNA

ที่มา : Griffiths, 2012

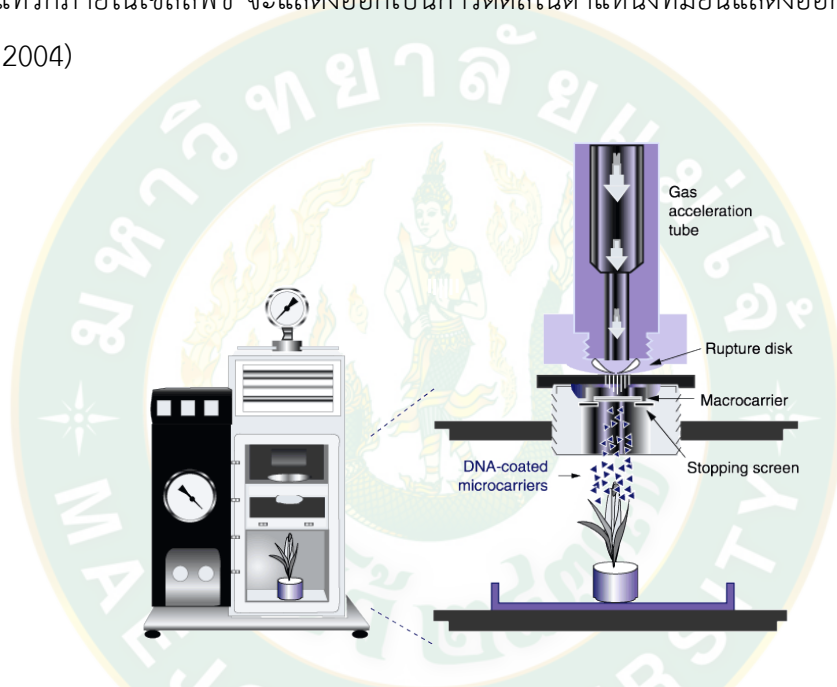
วิธีการสร้างพืชตัดแปลงพันธุกรรม เริ่มต้นจากการตัดยีนหรือท่อนดีเอ็นเอเป้าหมายที่ทราบขนาดตามลักษณะที่ต้องการจากดีเอ็นเอผู้ให้ (donor DNA) ด้วยเอนไซม์จำเพาะ (restriction enzyme) ซึ่งเอนไซม์นี้จะตัดที่ลำดับเบสจำเพาะของยีน และเตรียมพาหะ (vector) ด้วยการใช้เอนไซม์ชนิดเดียวกันกับการตัดท่อนดีเอ็นเอตัด เพื่อให้มีความสอดคล้อง (complementary) กันของลำดับเบสภายหลังการตัดในดีเอ็นเอพาหะ กับลำดับเบสตรงจุดตัดของยีนที่ต้องการ จากนั้นทำการเชื่อมดีเอ็นเอเป้าหมายเข้ากับดีเอ็นเอพาหะ โดยใช้เอนไซม์ไลเกส (ligase enzyme) จะทำให้ได้ดีเอ็นเอสายผสม (recombinant DNA) ซึ่งโมเลกุลนี้ทำหน้าที่จะเป็นตัวกลางในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมที่ต้องการเข้าสู่ยีนในพืชได้ โดยแสดงขั้นตอนต่าง ๆ ดัง รูป ซึ่งดีเอ็นเอสายพันธุ์ผสมที่ถูกสร้างขึ้นนั้น นอกจากต้องมีส่วนที่เรียกว่าโปรโมเตอร์ (promoter) แล้วยังต้องมียีนเครื่องหมาย (selectable marker) และยีนรายงานผล (reporter marker) อยู่ในส่วนของยีนนั้น ๆ ด้วยเพื่อสะดวกต่อการตรวจสอบความสำเร็จของการส่งถ่ายยีนเป้าหมาย

จากนั้นจึงทำการถ่ายฝากยีนเข้าสู่พืช สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธีการหลัก ๆ คือ การถ่ายฝากยีนโดยตรง เช่น การถ่ายฝากยีนโดยใช้เครื่องยิงอนุภาค การถ่ายฝากยีนโดยใช้เข็มฉีดยา การถ่ายฝากยีนโดยใช้กระแสไฟฟ้า เป็นต้น (Nicholl, 2008) และการถ่ายฝากยีนโดยใช้พาหะ เช่น การใช้แบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* เป็นสื่อในการนำยีนเป้าหมายเข้าสู่เซลล์พืช (Nicholl, 2008; Sudhakar, 2006) แต่วิธีการที่ประสบความสำเร็จและนิยมปฏิบัติในกระบวนการถ่ายยีนเข้าสู่พืชคือ การใช้แบคทีเรีย *Agrobacterium* และการใช้เครื่องยิงอนุภาค (Particle bombardment) (Hefferon, 2000) รายละเอียดดังนี้

การสร้างพืชตัดแปลงพันธุกรรมด้วยการใช้เครื่องยิงอนุภาค (particle bombardment)

วิธีการนี้เป็นการถ่ายฝากชิ้นส่วนของดีเอ็นเอสายพันธุ์ผสมเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชโดยใช้อุปกรณ์ที่มีแรงดันของก๊าซฮีเลียมในการขับเคลื่อนอนุภาคโลหะที่ใช้ในการเคลือบผิวภายนอกไว้กับยีนเป้าหมายที่จะถ่ายเข้าสู่เซลล์พืช โดยชนิดของโลหะที่นำมาเคลือบผิวคือ ทองคำ เงิน (Robledo-Paz et al., 2004) แต่ในกระบวนการภายในเซลล์ที่ชิ้นส่วนดีเอ็นเอสายผสมเข้าไปสอดแทรกในจีโนมพืชนั้น ยังไม่ทราบตำแหน่งยีนเป้าหมายในจีโนมพืชแน่ชัด (สุรินทร์, 2545) ซึ่งวิธีการที่ใช้ยิงอนุภาคมีชื่อเรียกต่างกันตามกลไกในการทำงานที่แตกต่างกันออกไป เช่น วิธี microprojectile หรือ Biolistic ซึ่งกระบวนการถ่ายยีนจะเริ่มขึ้นเมื่ออนุภาคโลหะขนาด 1-4 ไมครอน ที่บรรจุยีนเป้าหมาย ถูกแรงขับจากก๊าซให้เคลื่อนที่ด้วยความเร็วประมาณ 300-600 เมตร/วินาที จนสามารถทะลุผ่านผนังเซลล์พืชเข้าไปได้ (Hagio, 1998) วิธีการถ่ายยีนด้วยการใช้เครื่องยิงอนุภาค นิยมที่ใช้กับพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

เนื่องจากการถ่ายยีนโดยใช้แบคทีเรียกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวประสบความสำเร็จได้น้อย ซึ่งมาสาเหตุมาจากแบคทีเรียที่ใช้เป็นสื่อถ่ายยีนนั้นเป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคในพืชใบเลี้ยงคู่ (ศิริลักษณ์, 2552) การใช้เครื่องยิงอนุภาคถ่ายยีนประสบความสำเร็จในการถ่ายยีนเข้าสู่พืชหลายชนิด เช่น การถ่ายยีนสังเคราะห์โปรตีนที่มีความต้านทานต่อยากำจัดวัชพืชเข้าสู่เซลล์ข้าวโพด ข้าว และข้าวสาลี เป็นต้น ซึ่งสามารถตรวจสอบความสำเร็จในการถ่ายยีนด้วยวิธีเทคนิค PCR (Polymerase chain reaction) และยืนยันการผลิตโปรตีนชนิดนี้ด้วยเทคนิค Western blot analysis (Anzai et al., 1996) ในกระเทียมมีการใช้วิธีการนี้ในการถ่ายยีนรายงานผล (reporter gene) คือ β -glucuronidase ซึ่งเมื่อยีนเข้าแทรกภายในเซลล์พืช จะแสดงออกเป็นการติดสีในตำแหน่งที่มียีนแสดงออก (Robledo-Paz et al., 2004)



ภาพที่ 5 การใช้เครื่องยิงอนุภาคเข้าสู่เซลล์พืช (particle bombardment)

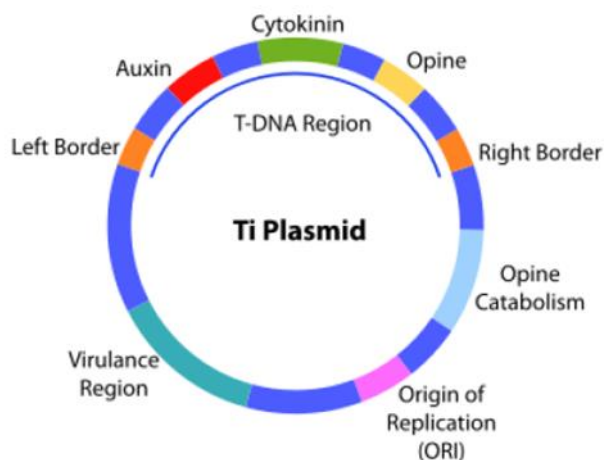
ที่มา : University of Arizona, 2000

การสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมด้วยการใช้แบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens*

อะโกรแบคทีเรีย (*Agrobacterium tumefaciens*) จัดเป็นแบคทีเรียก่อโรคในพืชใบเลี้ยงคู่ที่พบในดิน โดยเข้าทำลายพืชเมื่อพืชมีบาดแผลจนทำให้แบคทีเรียสามารถบุกรุกเข้าไปในพืช จนทำให้พืชเกิดเป็นปุ่มปม เรียกว่า crown gall (สุรินทร์, 2545) หลังจากนั้นบริเวณที่ติดเชื้อจากแบคทีเรียจะมีสังเคราะห์สารที่ชื่อว่า acetosyringone (AS) ซึ่งเป็นสารพวกฟีนอลิกส์ (phenolic compound) และปลดปล่อยออกมาจากบริเวณที่มีบาดแผล และยังพบว่ามีการสร้างฮอร์โมนออกซินและไซโตไคนิน ทำให้เกิดเนื้องอกของเนื้อเยื่อลำต้นเป็นปุ่มปม (ศิริลักษณ์, 2552) เมื่อแบคทีเรียเข้าทำลายพืชจะ

ทำให้เกิดการส่งถ่ายยีนเนื่องจากพลาสมิด Ti (tumour inducing) ซึ่งอยู่ในเซลล์แบคทีเรีย โดยจะส่งถ่ายส่วนที่เรียกว่า T-DNA เข้าแทรกในจีโนมของพืช และ T-DNA จะคงอยู่ในเซลล์พืชและสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกต่อไปได้ (Zupan and Zambryski, 1995) โดยจุดประสงค์ของแบคทีเรียในการเข้าทำลายพืชคือ ความต้องการอาหารจากพืชเพื่อประโยชน์ของแบคทีเรียเอง

T-DNA ของแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* ที่อยู่ใน Ti plasmid นั้นจะประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก ๆ ในของเขต LB (left border) จนถึง RB (right border) คือ ยีนสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม Auxin Cytokinin และ Opine ซึ่งเมื่อเข้าทำลายพืชแล้วแบคทีเรียจะส่งถ่ายส่วนของ T-DNA เข้าไปภายในจีโนมพืช โดยมีความสำคัญในการสร้างอาหารแก่แบคทีเรีย (Crouzet and Hohn, 2002) จนส่งผลให้เกิดเป็นปุ่มปมในบริเวณช่องเปิดที่แบคทีเรียเข้าทำลาย (สุรินทร์, 2548) จากกลไกดังกล่าวจึงได้ถูกนำมาใช้จึงได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรม คือ ทำการตัดส่วนของ T-DNA ที่เป็นสาเหตุหลักในการเกิดปุ่มปมในพืชด้วยกระบวนการทางพันธุวิศวกรรม (ศิริลักษณ์, 2552) แล้วทำการแทรกยีนเป้าหมายที่สนใจเข้าแทนที่ เมื่อได้เชื้อแบคทีเรียที่ถูกบรรจุยีนเป้าหมายแล้ว นำไปเลี้ยงร่วมกับชิ้นส่วนพืช เช่น ใบ ยอด แคลลัส เป็นต้น ในอาหารวุ้น (Pena, 2005) เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียนั้นเข้าไปทำการส่งถ่ายส่วนที่เป็น T-DNA ซึ่งมีขนาดประมาณ 200 Kb (Hefferon, 2000) ที่บรรจุยีนเป้าหมายไว้ ตามกลไกการทำงานของเชื้อแบคทีเรียซึ่งยีนเป้าหมายจะถูกส่งถ่ายเข้าแทรกสู่จีโนมพืช โดยไม่สามารถกำหนดตำแหน่งการแทรกตัวของยีนเป้าหมายได้ (McCullen and Binns, 2006) วิธีการนี้เป็นที่นิยมในการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมอย่างมาก เช่น การถ่ายยีน *Bt-cry1IA1* จากแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เข้าสู่มันฝรั่งพันธุ์ Mnandi เพื่อให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของหนอนผีเสื้อมันฝรั่ง ที่เข้าทำลายหัวมันฝรั่ง (Veale et al., 2012) การถ่ายยีนต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม bromoxynil เข้าสู่ยาสูบ (Taghipour and Jamshidi, 2015)



ภาพที่ 6 โครงสร้าง Ti plasmid ของแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens*

ที่มา : Crouzet and Hohn, 2002

โปรโมเตอร์ (promoter)

โปรโมเตอร์ (promoter) เป็นหนึ่งในสมาชิกยีนควบคุมการแสดงออกที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนในโอเปรอน (operon) และทำหน้าที่เป็นตำแหน่งให้ RNA polymerase จับและเคลื่อนที่ไปยังยีนโครงสร้างเพื่อสังเคราะห์ RNA นอกจากนี้ยีนส่งเสริมยังเป็นส่วนสำคัญในกระบวนการถ่ายโอนยีนเข้าสู่สิ่งมีชีวิตหรือการสร้างสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม มีทำหน้าที่สำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีนเป้าหมายที่จะนำแทรกเข้าสู่สิ่งมีชีวิต (Zhang, 2005)

Cauliflower mosaic virus 35S (CaMV 35S) promoter

CaMV 35S promoter เป็นยีนโปรโมเตอร์ที่ได้จากไวรัสเชื้อสาเหตุของโรคใบด่างของดอกกะหล่ำ (cauliflower mosaic virus) มีคุณสมบัติในการควบคุมและกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของยีนได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ (Pauli et al., 2004) มีความสามารถในการแสดงออกได้ในทุกเนื้อเยื่อ เช่น ใบ ลำต้น ราก ยอด เป็นต้น (Zhang, 2005) ซึ่ง CaMV 35S promoter นั้นได้ถูกนำมาใช้เป็นโปรโมเตอร์ควบคุมการแสดงออกของการถ่ายยีนเข้าสู่พืชใบเลี้ยงคู่หลาย ๆ ชนิด (Ow et al., 1987) เนื่องจากมีความเสถียรในการควบคุมการแสดงออกของยีนเป้าหมาย แต่ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวนั้นการใช้ CaMV 35S promoter มีประสิทธิภาพการควบคุมการแสดงออกของยีนเป้าหมาย ใน

ระดับที่ต่ำ (Pauli et al., 2004) และสาเหตุสำคัญที่ทำให้ CaMV 35S promoter ได้รับความนิยมในการถ่ายยีนเนื่องจากสามารถควบคุมยีนเป้าหมายให้มีการแสดงออกที่รุนแรง ชัดเจน ง่ายต่อการตรวจสอบตำแหน่งการแสดงออก และสภาพแวดล้อมไม่มีอิทธิพลต่อระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช (Zhang, 2005)

Patatin promoter

Patatin promoter เป็นโปรโมเตอร์ที่พบในมันฝรั่งมีการแสดงออกในส่วนเนื้อเยื่อของหัวมันฝรั่งเป็นหลัก จัดเป็นโปรโมเตอร์ที่มีการแสดงออกจำเพาะ (Andrew et al., 1988) เป็นโปรโมเตอร์ของยีนที่สร้างโปรตีนกลุ่ม glycoprotein ที่มีการสะสมมากกว่า 40% ของสารละลายโปรตีนในหัวของมันฝรั่ง (Trindade et al., 2003) โดยมีความเกี่ยวข้องกับการสะสมแป้ง โปรตีน และน้ำตาลในหัว เมื่อทำการตรวจสอบมันฝรั่งแต่ละสายพันธุ์ในอเมริกาใต้ พบว่ามันฝรั่งทุก ๆ สายพันธุ์มีการแสดงออกของยีน Patatin และพบบริเวณหัวเท่านั้น (Zhang, 2005) โดยในช่วงมันฝรั่งเริ่มเข้าสู่ระยะการสร้างหัวจะมีการสะสมโปรตีน Patatin ปริมาณสูงในหัว ซึ่งการสร้างหัวของมันฝรั่งนอกจากจะมีความเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อม ยังมีความเกี่ยวข้องกับการส่งถ่ายของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม gibberellin (GA) ไปสะสมในส่วนของไหล (stolon) จนพัฒนาเป็นหัว (Andrew et al., 1988) กล่าวคือ เมื่อมันฝรั่งได้รับการชักนำให้เข้าสู่การสร้างหัวด้วยช่วงแสงวันสั้น กระบวนการสร้างไหลและสะสมอาหารในส่วนของลำต้นใต้ดิน (หัว) จะเกิดขึ้นพร้อมกับส่งถ่ายของสารควบคุมการเจริญเติบโต gibberellin และสะสมโปรตีน patatin ภายในหัวจนนำไปสู่การขยายขนาดอวัยวะสะสมอาหาร และมีการสะสมแป้ง โปรตีน และน้ำตาล (Stupar et al., 2006)

การใช้ประโยชน์พืชตัดแปลงพันธุกรรม

ปัจจุบันในหลาย ๆ ประเทศทั่วโลกมีการอนุญาตในการปลูกและบริโภคผลผลิตที่ได้จากพืชตัดแปลงพันธุกรรมมากมาย ซึ่งพืชตัดแปลงพันธุกรรมเหล่านี้จะมีคุณสมบัติตรงตามที่ต้องการ ทั้งในด้านการเพิ่มปริมาณผลผลิต คุณค่าทางโภชนาการ และการทนทานและต้านทานต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโต เช่น ความแล้ง สภาพดินเค็ม เป็นต้น รวมทั้งทนทานต่อโรคต่าง ๆ (Crouzet and Hohn, 2002) เพื่อตอบสนองต่อความต้องการในการบริโภคของประชากรโลกที่เพิ่มสูงขึ้น โดยพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่ถือว่ามีค่าสำคัญและเป็นที่ยอมรับอย่างมากที่สุดคือ ข้าวสีทอง (golden rice) ที่ผ่านการตัดต่อยีนจนทำให้มีคุณสมบัติในการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน (beta-carotene) ที่

เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ เพื่อแก้ปัญหาประชากรในพื้นที่ ๆ ขาดแคลนอาหาร (Beyer et al., 2002) หรือในมันฝรั่งที่ผ่านตัดต่อยีนผลิตโปรตีนของเชื้ออหิวาห์ที่ไม่เป็นอันตราย เพื่อเป็นอาหารพร้อมกับการให้วัคซีนแก่ประชากรโลกของประเทศที่กำลังพัฒนา ในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้ออหิวาห์ (Pribylova et al., 2006) ในด้านคุณสมบัติการทนทานต่อแมลง การตัดต่อยีน *cry1A* จากแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เข้าสู่ข้าวโพด ผลคือ เมื่อแมลงศัตรูพืชจำพวกหนอนได้เข้าทำลายพืชนั้น จะได้รับสารพิษและจะตายลง (Hurley et al., 2001) และการทำให้พืชมีความทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช การตัดต่อยีนทนทานต่อสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม glyphosate ให้กับถั่วเหลือง ข้าวโพด ทำให้มีความทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช และง่ายต่อการดูแลรักษา (Owen, 2000) และในยาสูบมีการตัดต่อยีนจากแบคทีเรียชนิดหนึ่ง ซึ่งทำให้ยาสูบที่ถูกตัดแปลงพันธุกรรมมีความสามารถสลายสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม bromoxynil ได้ ทำให้ทนทานต่อสารกำจัดวัชพืชชนิดนี้ได้ในระดับสูง (Taghipour and Jamshidi, 2015)

แนวทางการปฏิบัติความปลอดภัยทางด้านชีวภาพ

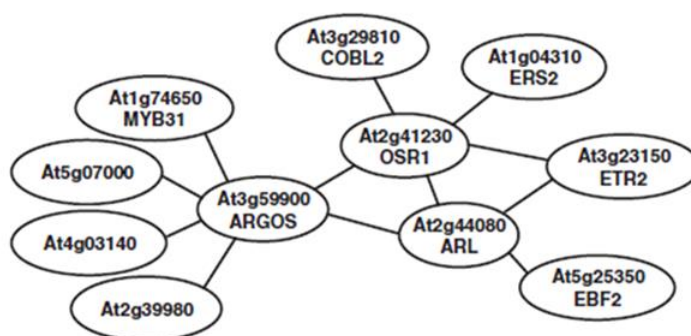
งานศึกษาทดลองที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (Genetically Modified Organism – GMO) ที่ไม่มีอันตรายไม่น่าขัดต่อศีลธรรมนั้น ได้มีมาตรฐานที่ใช้ควบคุมและป้องกันที่เรียกว่า GRAS (Generally Regarded as Safe) แต่เพื่อเป็นการป้องกันเหตุที่ไม่คาดคิดที่อาจจะเกิดขึ้น จึงจำเป็นต้องมี แนวทางหรือข้อปฏิบัติสำหรับควบคุมและป้องกันอันตรายที่จะเกิดขึ้น แนวทางปฏิบัติ ความปลอดภัยทางด้านชีวภาพจึงได้กำหนดถึงวิธีการต่าง ๆ และการดำเนินงานวิจัยทดลองที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ให้มีความปลอดภัยสูงสุด โดยมีวัตถุประสงค์หลักของแนวทางการปฏิบัติ คือระดับขั้นตอนและกระบวนการในการขออนุมัติดำเนินการวิจัยทดลอง ที่มีความเกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมและผลิตภัณฑ์ ซึ่งเพื่อเป็นแนวทางด้านกรรมวิธีหรือขั้นตอนที่ช่วยให้ผู้วิจัยและคณะได้ดำเนินการทดลองอย่างปลอดภัย และไม่กระทบต่อสิ่งแวดล้อม ความหลากหลายทางการวิจัย ทดลองเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม จำแนกตามระดับความเสี่ยงอันตรายเป็น 4 ประเภท คือ งานวิจัยที่ไม่มีอันตราย (BL1) งานวิจัยที่อันตรายระดับปานกลาง (BL2) งานวิจัยที่อันตรายระดับสูง (BL3) และงานวิจัยที่อันตรายระดับร้ายแรง หรือขัดต่อศีลธรรม (BL4) ซึ่งงานวิจัยและงานทดลองต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ต้องได้รับการควบคุมดูแลจากองค์กร เพื่อเป็นไปตามวิธีการควบคุมและป้องกัน โดยประกอบไปด้วย คณะวิจัยที่ทำการศึกษา ทดลอง คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพ และคณะกรรมการกลางด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ (คณะกรรมการกลางด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ, 2547)

บทบาทและหน้าที่ของยีนกลุ่ม ARGOS

AUXIN REGULATED GENE INVOLVED IN ORGAN SIZE (ARGOS) คือโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการแสดงออกของยีน โดยทำหน้าที่ทำงานเพื่อควบคุมผลลัพธ์โดยวิธีการถ่ายทอดสัญญาณเอทิลีน โดยยีน ARGOS พบว่ามีทั้งหมดสี่กลุ่มของโปรตีน และตามการแสดงออกของตัวมันเองตั้งชื่อซึ่งถูกชักนำโดยออกซิน ยีน ARGOS ถูกเสนอว่าเป็นตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชและชีวมวล เนื่องจากการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นของยีนทำให้ขนาดของอวัยวะเพิ่มขึ้น และ *antisense* ทำให้ขนาดอวัยวะลดลง สมาชิกอื่นของยีนกลุ่มนี้ประกอบด้วย *ARGOS-Like (ARL)* (Hu et al., 2006), *Organ Size Related1 (OSR1)* (Feng et al., 2011) และ *Organ Size Related2 (OSR2)* (Qin et al., 2014) ที่ให้ผลผลิตเหมือนกันที่เกี่ยวกับการการคาบเกี่ยวหน้าที่ในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Hu et al., 2006)

ยีน *Organ Size Related1 (OSR1)* จัดเป็นสมาชิกยีนในกลุ่มยีน ARGOS พบในต้น *Arabidopsis thaliana* ที่มีความสัมพันธ์ในเชิงหน้าที่ของยีนที่เกี่ยวกับการควบคุมการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชรวมทั้งกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ (Hu, 2003) ในต้น *Arabidopsis* นั้นมีกลุ่มยีน ARGOS ได้มีการตรวจสอบการแสดงออกของยีนชนิดนี้ด้วยวิธีการ Gus assay คือการตรวจสอบแสดงออกของยีนในส่วนประกอบของพืช ซึ่งพบการแสดงออกในส่วนของใบอ่อน ยอด ก้านใบ เกสร ที่สูงแต่พบการแสดงที่ใบแก่และรากในระดับที่ต่ำ (Hu, 2003) ทั้งนี้ยังพบว่ายีน *OSR1* ซึ่งพบในต้น *Arabidopsis* ก็จัดอยู่ในกลุ่มยีน ARGOS เนื่องจากมีหน้าที่ในการควบคุมการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชและกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ (ภาพที่ 7) เมื่อทำการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกและหน้าที่ของยีน *OSR1* ในต้น *Arabidopsis* โดยวิธีการกระตุ้นให้ยีนการแสดงออกแบบ overexpression โดยผ่าน CaMV 35S promoter ทำให้ส่วนต่าง ๆ ของต้น *Arabidopsis* เช่น ใบ ก้านใบ รวมถึงดอกและฝักนั้น มีขนาดที่ใหญ่ขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน (Feng et al., 2011) อีกทั้งมีการทำให้ยีน *OSR1* ในต้น *Arabidopsis* ให้ไม่มีการแสดงออก (Silencing) พบว่าต้น *Arabidopsis* มีใบ ก้านใบ ดอก และฝักที่เล็กลงอย่างชัดเจน เมื่อมีการเปรียบเทียบกับการทำยีนแสดงออกแบบ overexpression และพืชปกติ (Hu et al., 2006) นอกจากนี้ยังสามารถพบยีน ARGOS ในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง *Arabidopsis* เป็นต้น (Hu, 2003; Prochnik et al., 2012; Wang et al., 2009) โดยยีนกลุ่ม ARGOS มีการศึกษาในข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมที่กระตุ้นให้ยีน *ZAR1 (Zea mays ARGOS1)* กระตุ้นให้ยีนมีการแสดงออกแบบ overexpression โดยผ่าน CaMV 35S promoter พบว่าข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมนั้นมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้น ความยาวใบ ขนาดของฝัก ที่สูงกว่าข้าวโพดปกติอย่างชัดเจน (Guo et al., 2014) ซึ่งจากผลการศึกษาที่มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาการถ่ายโอนยีน *OsARGOS (Oryza sativa ARGOS)* เข้าสู่ต้น

Arabidopsis ให้มีการแสดงออกแบบ overexpression ทำให้ต้น *Arabidopsis* ได้รับยีน *OsARGOS* มีการแสดงออกทางด้านการเจริญเติบโตด้านขนาดใบ ขนาดดอก รวมทั้งขนาดของฝักที่มีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ (Wang et al., 2009)

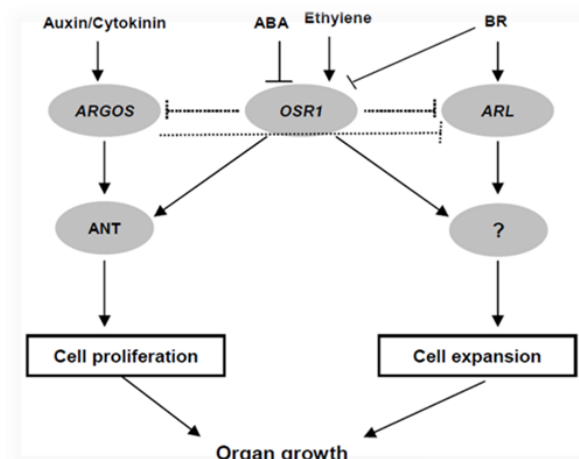


ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ของยีน *OSR1* *ARGOS* และ *ARL* ในเชิงหน้าที่ของยีน

ที่มา : Feng et al., 2011

กลไกการทำงานของยีนกลุ่ม ARGOS

ปัจจัยที่มีผลทำให้กลุ่มยีน ARGOS นั้นทำงานมีความเกี่ยวข้องกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม Auxin, Cytokinin หรือ Ethylene คือ เมื่อพืชมีการสร้างหรือได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตเหล่านี้ (Feng et al., 2011) ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นยีนกลุ่ม ARGOS ทั้งยีน ARGOS, OSR1 และ ARGOS-Like (ARL) ทำงาน โดยจะส่งสัญญาณกระตุ้นให้ยีน *ANT* (*AINTEGUMENTA*) นั้นทำงานจนนำไปสู่กระบวนการขยายขนาดของเซลล์และการยึดของเซลล์ที่มีผลทำให้พืชมีการเจริญเติบโตของอวัยวะในส่วนต่าง ๆ แต่พบว่าไม่ใช่เพียงยีน *ANT* ที่มีผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์และขยายขนาดขนาดของเซลล์ แต่ยังมีอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการนี้เช่นกันแต่ยังไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจน (Feng et al., 2011) ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 กลไกการทำงานของยีน *OSR1* *ARGOS* *ARL* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชและ กระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์

ที่มา : Feng et al., 2011

ความสำคัญของยีน *ANT* (*AINTEGUMENTA*)

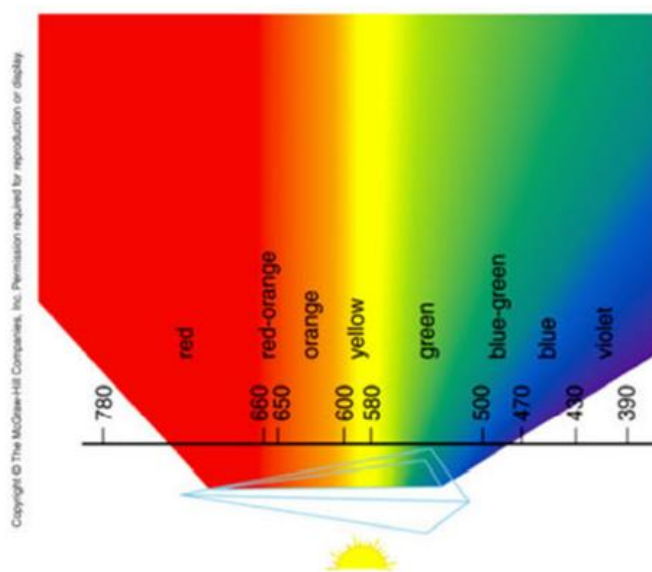
ยีน *ANT* (*AINTEGUMENTA*) ที่มีบทบาทสำคัญในการเจริญของอวัยวะพืชและการขยายขนาดของเซลล์ มีการศึกษาเกี่ยวกับพืชตัดแปลงพันธุกรรมโดยการทำให้ยีน *ANT* ในต้น *Arabidopsis* ไม่สามารถแสดงออกได้ (gene silencing) ผลการศึกษาคือ ต้น *Arabidopsis* ที่ยีนนี้ ถูกยับยั้งการแสดงออกมีขนาดของลำต้นและใบเล็กลงกว่าต้นปกติ (Hu, 2003) ต่อมาการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับยีน ยีน *ANT* มีการศึกษาที่ทำการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม Auxin โดยได้รับการกระตุ้นการทำงานจากยีนกลุ่ม *ARGOS* ซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องกับการแก่ชราของเซลล์พืชกล่าวคือ เมื่อศึกษาในพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่มีการทำให้ยีน *ANT* อยู่ในสภาพไม่แสดงออกเปรียบเทียบกับต้นพืชปกติและพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่ถูกทำให้ยีน *ANT* แสดงออกแบบ overexpression ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเปรียบเทียบพืชที่ช่วงอายุที่เข้าสู่สภาวะชรา คลอโรฟิลล์ในใบของพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่มีการทำให้ยีน *ANT* อยู่ในสภาพไม่แสดงออกมีการเสื่อมสลายมากกว่าในพืชปกติและพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่ถูกทำให้ยีน *ANT* แสดงออกแบบ overexpression (Feng et al., 2016)

ห้องปฏิบัติการปลูกพืช

Cabinet plant หรือห้องปฏิบัติการปลูกพืชในระบบปิด ที่ให้แสงเทียมกับพืชที่มาจากแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้พลังงานไฟฟ้า เช่น หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ หลอดไฟ LED เป็นต้น โดยภายในห้องมีการควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่องปรับอากาศและควบคุมระดับความชื้นตลอดจนการหมุนเวียนของอากาศ ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกทดลอง ซึ่งจัดเป็นนวัตกรรมที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อแก้ปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ (climate change) และปัญหาการใช้สารเคมีในปริมาณมาก (Kozai, 2013) โดยการปลูกพืชในห้องระบบปิดมีจุดประสงค์เพื่อการตอบสนองความต้องการทางด้านอาหารของประชากรโลกที่เพิ่มสูงขึ้นและการใช้ทรัพยากรในการผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่ ๆ ไม่มีความเหมาะสมในการผลิตพืชทั่วไป เช่น ทะเลทรายหรือพื้นที่ ๆ มีการปนเปื้อนของมลพิษ (Kozai et al., 2015) แต่อย่างไรก็ตามระบบปลูกพืชแบบปิดนี้มีต้นทุนในการผลิตที่สูง จึงมีความเหมาะสมกับพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง ต้องการคุณภาพดี สะอาดและปลอดภัย ในทางตรงกันข้ามระบบปลูกพืชแบบนี้ทำให้ได้ผลผลิตที่มีประสิทธิภาพทั้งด้านคุณภาพของผลผลิต รวมทั้งมีปริมาณคงที่ตลอดทั้งปี เนื่องจากมีการควบคุมสภาพแวดล้อมในกระบวนการผลิต ได้ตลอดเวลาและทำได้ในทุกสภาพแวดล้อม (Okano et al., 1988)

การปลูกพืชในระบบปิดได้ถูกพัฒนาขึ้นมาในหลายประเทศ เช่น ประเทศญี่ปุ่น ประเทศไต้หวัน สหรัฐอเมริกา และประเทศเนเธอร์แลนด์ ดังที่กล่าวมาข้างต้นว่าระบบนี้มีข้อดีที่สำคัญคือมีต้นทุนในการติดตั้งและการดำเนินการสูง (Takakura, 1988) เนื่องจากในอดีตการปลูกพืชในระบบปิดนิยมให้แสงโดยใช้หลอดไฟประเภทต่าง ๆ เช่น High Pressure Sodium Lamp หลอด fluorescent หลอด incandescent เป็นต้น ซึ่งหลอดเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นแสงสว่างได้ต่ำ อีกทั้งยังทำให้เกิดความร้อนกับระบบปลูกทำให้อุณหภูมิภายในห้องปลูกเพิ่มสูงขึ้นอีกด้วย (Watanabe, 2011) เทคโนโลยีการให้แสงนั้นได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว จนในปัจจุบัน มีการผลิตหลอดไฟประเภท Light Emitting Diode (LED) ซึ่งเป็นหลอดไฟที่มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าให้เป็นแสงสูง มีอายุการใช้งานยาวนาน และมีการปลดปล่อยความร้อนออกมาน้อยกว่าหลอดทุกประเภทที่กล่าวข้างต้นมาก หลอด LED จึงถือเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดสำหรับระบบการให้แสงในโรงเรือนพืชในปัจจุบัน (Shimizu et al., 2011) มีการประมาณว่าการใช้หลอด LED ช่วยลดต้นทุนค่าไฟฟ้าลงเหลือเพียงประมาณ 30% ของต้นทุนค่าไฟฟ้าในการใช้หลอดไส้ปกติ (Watanabe, 2011) ปัจจุบันหลอด LED สามารถหาซื้อได้ทั่วไป ราคาไม่แพง และมีหลายรูปแบบที่ให้แสงได้หลายช่วงคลื่น งานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นว่าหลอด LED ที่ให้แสงในช่วงคลื่นที่เหมาะสมสามารถใช้ปลูกพืช เช่น แดงกวา (Brazaityte et al., 2009) ผักกาดขาว (Li

et al., 2012) มะเขือเทศ (Brazaityte et al., 2010) และผักสลัด (Wang et al., 2009) ได้นอกจากนี้ มีการค้นพบว่าช่วงคลื่นและความเข้มของแสงจากหลอด LED มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช การใช้หลอด LED สีแดงเพียงอย่างเดียวกับสลัดครอสส์นั้น ส่งผลทำให้สลัดมีน้ำหนักสด ความยาวลำต้น ความยาวใบและความกว้างใบสูงกว่าเมื่อเทียบเปรียบเทียบกับหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Li and Kubota, 2009) ทั้งนี้ยังพบว่าแสงสีแดงยังทำให้คะน่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในใบเพิ่มขึ้นกว่าปกติ (Lefsrud et al., 2006) การใช้หลอด LED สีแดง กับสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินทำให้ต้นผักกาดหอมมีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงที่สุดเมื่อเทียบกับแสงสีเขียว แสงขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ และแสงเลียนแบบแสงแดด และยังพบว่าในผักกาดขาวต้นที่ได้รับแสงสีแดงมีน้ำหนักแห้งของส่วนยอดและรากมากกว่าต้นที่ได้รับแสงสีน้ำเงินเพียงอย่างเดียว มีการศึกษาพบว่า แสงสีน้ำเงินร่วมกับแสงสีแดงและแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Li et al., 2012) และการให้แสงสีแดงหรือน้ำเงินเพียงอย่างเดียวทำให้ลำต้นของผักกาดหอมยืดยาวมากกว่าการให้แสงทั้งสองสีร่วมกัน (Shimizu et al., 2011) ในส่วนของแสงสีเขียวพืชสามารถดูดซับได้ในปริมาณที่น้อยและพืชไม่ใช้ในการเจริญเติบโตและกระบวนการสังเคราะห์แสง (Terashima et al., 2009) แต่มีรายงานเกี่ยวกับการตอบสนองต่อแสงสีเขียวของไซโตโครม แม้ว่าแสงสีเขียวไม่ได้มีส่วนชกนำในการเปลี่ยนแปลงทางด้านสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยา ที่ประกอบด้วยการเจริญทางด้านใบ การยืดยาวของลำต้น รวมทั้งการนำไหลของปากใบ แต่ควบคุมการพัฒนาของพืช การเปิดปิดของปากใบ และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับคลอโรฟิลล์โดยไซโตโครม (Folta and Maruhnich, 2007) ในมะเขือเทศเขอรู้พบว่า การให้แสง 2 สีคือสีแดงร่วมกับน้ำเงิน และการให้แสง 3 สีร่วมกันคือ สีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของมะเขือเทศสูงที่สุด ในขณะที่แสงสีเขียวเพียงอย่างเดียวทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงต่ำที่สุด (Xiaoying et al., 2012) ด้านการเจริญเติบโตเกี่ยวกับพื้นที่ใบที่ทำการศึกษาในฝ้าย พบว่าการปลูกภายใต้แสงจากหลอด LED ที่มีสีน้ำเงินเพียงสีเดียว ทำให้ฝ้ายมีพื้นที่ใบสูงกว่าการปลูกภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ และหลอด LED ที่มีสีแดงกับน้ำเงิน (Li et al., 2010) แต่การศึกษาในเบญจมาศ การปลูกภายใต้จากหลอด LED ที่มีแสงสีน้ำเงินกับแดงกลับทำให้มีพื้นที่ใบสูงกว่าภายใต้แสงสีแดงเพียงอย่างเดียว (Kim et al., 2004)



ภาพที่ 9 ความยาวคลื่นแสงและสีที่ปรากฏ (นาโนเมตร: nm)

ที่มา : Olle and Virsile, 2013

ในมันฝรั่งมีการศึกษาพบว่าสีของแสงมีผลต่อจำนวนตาข้าง จำนวนต้น จำนวนใบของยอด และการสร้างหัวของต้นมันฝรั่งในระบบ *in vitro* โดยแสงสีน้ำเงินและสีแดงแดงมีผลทำให้เพิ่มจำนวนตาข้างในขณะที่แสงสีน้ำเงินเพียงอย่างเดียวมีผลในการข่มตาข้าง (Muleo et al., 2001) นอกจากนี้ยังพบว่า การเปลี่ยนแปลงช่วงคลื่นสามารถยับยั้งตาข้างของต้นมันฝรั่งเพื่อให้เกิดการสร้างหัวขนาดเล็กได้ (Seabrook, 2005) สีของแสงที่พืชต้องการนั้นอาจมีความแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ดังเช่นกรณีของมันฝรั่งซึ่งแสงสีน้ำเงินทำให้ต้นมีการเจริญเติบโตดีกว่าแสงสีแดง และถ้าหากปรับให้แสงสีแดงและแสงสีน้ำเงินมีอัตราส่วนที่เหมาะสมยังส่งเสริมให้มันฝรั่งมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นเพิ่มสูงขึ้น (Seabrook, 2005) และพบรายงานเกี่ยวกับการเพิ่มแสงสีเขียวร่วมกับแสงสีแดงและน้ำเงินกับมันฝรั่ง สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตทางด้านพื้นที่ใบของมันฝรั่งที่เพาะเลี้ยงแบบ *in vitro* ได้ดีกว่าการใช้แสงสีแดงกับน้ำเงิน (Ma et al., 2015) และยังพบว่าความยาวคลื่นของแสงสีแดง 630 nm และ 660 nm ทำให้มันฝรั่งมีการเจริญเติบโตที่ต่างกัน โดยความยาวคลื่นของแสงสีแดง 660 nm เป็นประโยชน์ในการเจริญเติบโตของมันฝรั่งมากกว่าหลอด LED ที่มียาวคลื่นของแสงสีแดง 630 (Ma et al., 2015) รวมทั้งยังมีผลต่อขนาดและจำนวนปากใบคือ การใช้หลอด LED ที่มีสีแดงกับน้ำเงินกับเบญจมาศ ทำให้ปากใบมีขนาดใหญ่ แต่หนาแน่นของปากใบน้อยกว่าการใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ และหลอด LED ที่มีสีแดงหรือน้ำเงินเพียงสีเดียว (Kim et al., 2004)

บทที่ 3 วิธีการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายโอนยีน *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)* จากต้น *Arabidopsis* ที่ผ่านการตรวจสอบความเสถียรของยีนเป้าหมาย โดยทำการปลูกทดสอบและศึกษาเปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type พันธุ์ “Bhutan” ซึ่งได้รับตัวอย่างมันฝรั่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC)

สถานที่ทำการวิจัย

ดำเนินการวิจัย ณ ห้องปฏิบัติการปลูกพืชดัดแปลงพันธุกรรมตามมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพด้านพืช (BSL2) สาขาพืชผัก ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณภาพของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่งภายใต้สภาพ

ควบคุม

เนื่องจากยังไม่มีรายงานสภาวะแสงที่เหมาะสมสำหรับการปลูกมันฝรั่งในสภาพแวดล้อมควบคุม การศึกษาในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาสภาวะแสงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการลงหัวของมันฝรั่งภายใต้ห้องปฏิบัติการปลูกพืช ณ สาขาพืชผัก โดยทำการทดสอบปลูกมันฝรั่ง 2 พันธุ์ คือ “Spunta” และ “Bhutan” ซึ่งเป็นต้นที่มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเป็นต้นที่ได้รับมาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) เมื่อได้รับตัวอย่างพืชเรียบร้อยแล้ว ทำการปรับสภาพต้นกล้าโดยนำถุงต้นเพาะเนื้อเยื่อไปวางไว้ในห้องที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ $150 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (16 ชั่วโมง/8 ชั่วโมง กลางวันต่อกลางคืน) โดยทำการควบคุมตำแหน่งของหลอดไฟให้มีความสูงเหนือต้นพืชที่ 15 เซนติเมตร ในขั้นตอนนี้ยังไม่มีการเปิดฝาถุงเพาะเนื้อเยื่อปล่อยให้ทิ้งไว้นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการแกะหลอดเยื่อออกแต่ไม่ทำการเปิดปากปล่อยให้ทิ้งนาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการคลี่ปากถุงออกให้กว้างเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อเป็นการปรับสภาพต้นกล้า จากนั้นจึงทำการย้ายปลูกอนุบาลต้นกล้าด้วยการล้างอาหารวุ้นออกจากรากให้หมดแล้วนำไปแช่ในสารละลายเบเนมิล ในอัตรา 1 กรัม ต่อ น้ำ 1 ลิตร นาน 1 นาที แล้วทำการปลูก

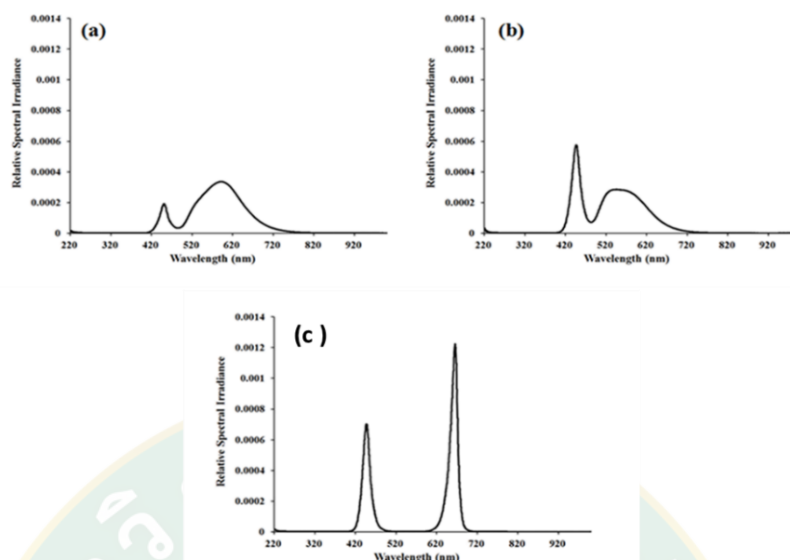
ลงในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว ที่บรรจุขุยมะพร้าวกับทราย ในอัตราส่วน 2:1 ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำมันฝรั่งแต่ละพันธุ์ไปปลูกภายใต้คุณภาพแสงที่แตกต่างกันดังนี้

- 1) หลอด LED3200K
- 2) หลอด LED6500K
- 3) หลอด LED3200K +6500K (1:1)
- 4) หลอด LED3200K+6500K (2:1)
- 5) หลอด LED3200K+6500K (3:1)
- 6) หลอด LED Shigyo® R:B (2:1)

ทำการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ ปล่อยให้มันฝรั่งเจริญเติบโตภายใต้สภาพคุณภาพแสงแต่ละชนิดเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เพื่อให้มันฝรั่งได้เจริญเติบโตทางด้านลำต้นนาน 45 วัน หลังจากนั้นทำการชักนำการลงหัวมันฝรั่งด้วยการให้แสงนาน 8 ชั่วโมงต่อวัน นาน 60 วัน การให้ปุ๋ยสารละลายความเข้มข้น 1X Hoagland ทุก ๆ 2 วัน

การบันทึกข้อมูลดังนี้

1. การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบ เช่น ความสูง จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนไหล เป็นต้น การเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นใต้ดิน เช่น จำนวนหัว น้ำหนักรวมของหัว เป็นต้น
2. ค่าดัชนีทางสรีรวิทยา คือ ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง (Phi PSII, Fv/Fm)
3. ปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณแอนโทไซยานินในใบเมื่ออายุ 45 หลังย้ายปลูก
4. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากนั้นจะเก็บข้อมูลหลังจากเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นใต้ดินเรียบร้อยแล้ว



ภาพที่ 10 Relative spectral irradiance ของชนิดหลอด LED ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ (a) LED3200K (b) LED6500K และ (c) LED Shigyo® red and blue (R:B)

การทดลองที่ 2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) และจีโนไทป์ (Genotype) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1*

2.1 การศึกษาลักษณะปรากฏ (Phenotype) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม *pBI121::35S::OSR1* และ *pBI121::patatin::OSR1*

หลังจากที่ทราบคุณภาพแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างหัวของมันฝรั่งในการทดลองที่ 1 ข้างต้นแล้ว จึงทำการประเมินลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมภายใต้มาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ ซึ่งประกอบไปด้วยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมจำนวน 2 construct คือ *pBI121::35S::OSR1* จำนวน 7 lines ดังนี้ AO-1-4, AO-1-5, AO-1-10, AO-1-18, AO-1-19, AO-1-21, AO-1-24 และ *pBI121::patatin::OSR1* จำนวน 3 lines ดังนี้ AO-2-6pat, AO-1-2pat และ AO-1-3pat โดยต้นมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมได้ผ่านกระบวนการถ่ายโอนยีนด้วยวิธีการ *Agrobacterium tumefaciens* เป็นสื่อ นำ และผ่านตรวจสอบความเสถียรของ transgene ด้วยเทคนิค Southern blot analysis พร้อมทั้งตรวจสอบการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค RT-PCR แล้วจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารวุ้น

ทำการรับตัวอย่างตามขั้นตอนความปลอดภัยทางด้านชีวภาพเพื่อการปลูกทดสอบ หลังจากตรวจรับตัวอย่างมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมเรียบร้อยแล้ว จึงทำการปรับสภาพต้นกล้าโดยนำถุงต้นเพาะเนื้อเยื่อออกจากกล่องแล้วนำไปวางไว้ในห้องปลูกทดสอบที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ $150 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (16/8 กลางวัน/กลางคืน) โดยทำการควบคุมตำแหน่งของหลอดไฟให้มีความสูงเหนือต้นพืชที่ 15 เซนติเมตร ในขั้นตอนนี้ยังไม่มีการเปิดฝากล่องเพาะเนื้อเยื่อปล่อยให้วางนาน 48 ชั่วโมง ทำการเตรียมต้นมันฝรั่งเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นจะย้ายปลูกลงในกระถางเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 10 นิ้ว ที่มีวัสดุปลูกเช่นเดียวกับการอนุบาลต้นกล้า จากนั้นมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมของแต่ละ construct ไปปลูกประเมินเปรียบเทียบการเจริญเติบโตกับมันฝรั่ง wild type พันธุ์ Bhutan ในแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยทำการแยกประเมินในแต่ละ construct ภายใต้การให้แสงด้วยหลอด LED3200K+6500K (2:1) ความเข้มแสงประมาณ $150 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ที่ผ่านการทดลองคุณภาพของแสงที่มีความเหมาะสมกับการปลูกมันฝรั่งในสภาพควบคุมจากการทดลองที่ 1 แล้ว โดยให้แสง 16/8 ชั่วโมง (กลางวัน/กลางคืน) ต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นทำการปรับเปลี่ยนการให้แสงเป็น 8/16 ชั่วโมง (กลางวัน/กลางคืน) ต่อวัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์ การดูแลตลอดระยะเวลาทำการปลูกประเมินให้ปุ๋ยโดยใช้สารละลายปุ๋ย Hoagland 1X ทุก ๆ 2 วัน โดยภายในห้องปฏิบัติการปลูกพืชอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

ทำการบันทึกข้อมูลดังนี้

1. การเจริญเติบโตทางด้านสรีระ เช่น ความสูง จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนไหล จำนวนกิ่งแขนง เป็นต้น
2. ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณแอนโทไซยานิน และปริมาณ malondialdehyde ในใบ
3. การเรืองแสงของคลอโรฟิลล์
4. การวัดค่าการนำของปากใบ การระเหยของน้ำจากใบ อัตราการดูดซึ่มคาร์บอนไดออกไซด์
5. การเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นใต้ดิน เช่น จำนวนหัว น้ำหนักหัว สีมิวของหัว เป็นต้น

2.2 การตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *OSR1* โดยการใช้เทคนิค PCR และ Gel electrophoresis

ทำการตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *OSR1* ในต้นมันฝรั่งที่ตัดแปลงพันธุกรรม โดยจะทำการตรวจสอบเมื่อต้นเจริญเติบโตอายุประมาณ 12 สัปดาห์หลังย้ายปลูก สกัด DNA ด้วยวิธี CTAB โดย

การนำใบอ่อนของมันฝรั่ง wild type และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมแต่ละ line ที่มาจากทั้ง 2 construct ตันละ 0.2 g ใส่ลงใน Microcentrifuge tube เติมสาร CTAB ที่ปริมาตร 700 ไมโครลิตร จากนั้นทำการบดตัวอย่างใบให้ละเอียด แล้วนำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาทีแล้วทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นเติม chloroform ปริมาตร 240 ไมโครลิตร และ Iso-Amyl ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วกลับหลอดไปมาเบา ๆ ปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที สังเกตเห็นการแยกชั้นของส่วนใสและตะกอนอย่างชัดเจน ทำการดูดส่วนใส ใส่ลงใน Microcentrifuge tube ใหม่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยระวังไม่ให้มีการปนเปื้อน chloroform เพราะจะทำให้ DNA ไม่มีความบริสุทธิ์ เติม Ammonium acetate ความเข้มข้น 5M ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพื่อทำให้ DNA นั้นตกผลึกร่วมกับ Ethanol 95% ในสภาพเย็น ปริมาตร 500 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบา ๆ แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเทสารละลายออกจาก Microcentrifuge tube ให้หมด ขั้นตอนต่อไปคือการเติม ethanol 70% ในสภาพเย็นที่ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ทำการกลับหลอดไปมาเบา ๆ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที และเท Ethanol ออกจาก Microcentrifuge tube ให้หมด จากนั้นตากผลึก DNA ที่อยู่ในหลอดไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที แล้วเติม DNase free water ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ตีดี Microcentrifuge tube ที่บรรจุ genomic DNA ก่อนทำการเก็บรักษาสภาพ DNA ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการตรวจสอบความคงอยู่ของยีนด้วยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจาก genomic DNA ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type ด้วยเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นของยีนที่ต้องการด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับยีน *OSR1* คือ

AtOSR1-checkF (Forward) –CTTGCGTTGCGAACCGTCCGTACATAC-
pBI-TnosR (Reverse) –AGTAACATAGATGACACCGCGC-

ซึ่งยีนมีขนาดประมาณ 700 bp โดยการใช้นำ Taq master mix kit 1.9 ไมโครลิตร สารละลาย DNA ปริมาตร 2.0 ไมโครลิตร Forward-primer 0.5 ไมโครลิตร Reward-primer 0.5 ไมโครลิตร และน้ำ 5.1 ไมโครลิตร และนำเข้าเครื่อง PCR ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิของเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอสำหรับ ดังนี้

Pre-denature 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

Denature 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที

Annealing 60 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ

Extension 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ตามด้วย 72 ตามด้วย 5 นาที

จากนั้นตรวจสอบผลด้วยเทคนิค Electrophoresis โดยใช้ 1.5% agarose gel และเปรียบเทียบกับขนาดดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 kb DNA Ladder marker (บริษัท Fermentas, USA) พร้อมบันทึกภาพด้วย Gel-Doc transluminator (บริษัท Bio Rad Laboratories, CA, USA)

การทดลองที่ 3 ระยะเวลาในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1*

หลังจากประเมินลักษณะทางฟีโนไทป์และทำการตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *OSR1* ในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมแล้ว เพื่อเป็นการประเมินเกี่ยวกับระยะเวลาในการสร้างหัวและช่วงเหมาะสมในการเก็บเกี่ยวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม จึงทำการเลือกมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทั้ง 2 construct คือ pBI121::35S::OSR1 และ pBI121::patatin::OSR1 อย่างละ 2 line เพื่อเปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type พันธุ์ Bhutan โดยใช้หัวพันธุ์ที่ได้จากการปลูกประเมินในการทดลองที่ 2 ทำการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วยสิ่งทดลองดังนี้

- 1) มันฝรั่ง wild type พันธุ์ Bhutan
- 2) มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4
- 3) มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-18
- 4) มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat
- 5) มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม lin AO-1-3pat

ทำการผ่าหัวมันฝรั่งออกให้เหลือชิ้นละ 1 ตาเพื่อที่จะให้มันฝรั่งงอก จากนั้นแช่ลงในสารละลายเบโนมิล ในอัตรา 1 กรัม ต่อ น้ำ 1 ลิตร นาน 1 นาที เพาะลงในขุยมะพร้าวผสมกับทราย ในอัตราส่วน 2:1 ที่ผ่านการอบเพื่อฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการงอกประมาณ 2 สัปดาห์ เลือกความสูงของต้นอ่อนที่มีความสูงเท่า ๆ กัน ปลูกภายใต้หลอด LED โดยให้แสง 16/8 ชั่วโมง (กลางวัน/กลางคืน) ต่อวัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ จากนั้นทำการปรับเปลี่ยนการให้แสงเป็น 8/16 ชั่วโมง (กลางวัน/กลางคืน) ต่อวัน เป็นเวลา 7 สัปดาห์ การดูแลตลอดระยะเวลาทำการประเมินให้ปุ๋ยโดยใช้สารละลายปุ๋ย Hoagland 1X ทุก ๆ 2 วัน โดยภายในห้องปฏิบัติการปลูกพืชอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

การบันทึกข้อมูลดังนี้

1. การเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ใบ คือ ความสูง จำนวนไหล น้ำหนักสดและแห้งของลำต้น ใบ และราก
2. การเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นใต้ดิน คือ จำนวนหัวที่อายุ 30 45 60 75 90 และ 105 วันหลังย้ายปลูก
3. น้ำหนักหัวที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูก

การวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์

ในการวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์จะใช้เครื่อง Fluorescence Monitoring System รุ่น FMS2 ของบริษัท Hansatec ประเทศอังกฤษ วัดค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง ภายใต้สภาวะที่มีแสง (Quantum efficiency of PSII electron transport in illuminated leaf; Phi PSII) โดยทำการวัดการเรืองแสงที่ตำแหน่งใบที่ 3 นับจากยอด ในช่วงเวลา 10.00-12.00 น. เริ่มจากเครื่องให้แสง Actinic light จะได้ค่า Ft หลังจากนั้นให้แสงที่มีความเข้มระดับสูง ได้ค่า Fm' นำไปคำนวณเป็นค่า Phi PSII ตามสมการสมการดังนี้

$$\text{Phi PSII} = (Fm' - Ft) / Fm'$$

ในการวัดค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะมืด (maximum quantum efficiency of PSII ; Fv/Fm) ก่อนวัดค่า Fv/Fm ต้องให้พืชอยู่ในสภาวะไม่มีแสงประมาณ 20 -30 นาที เพื่อให้ระบบแสงที่สองอยู่ในสภาวะที่พร้อมรับพลังงานแสงหรือสภาวะเปิด โดยวัดตำแหน่งใบที่ 3 เช่นเดียวกัน จากนั้นเครื่องวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์โดยให้แสงระดับต่ำ ได้ Fo (minimum, quasi-dark fluorescence yield) จากนั้นเครื่องให้แสงความเข้มระดับสูง ทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนเข้าสู่ระบบแสงที่สองเป็นจำนวนมาก ทำให้ระบบแสงที่สองอยู่ในสภาวะปิดจึงเกิดการปล่อยพลังงานออกมาในรูปของรังสีฟลูออเรสเซนส์ ได้ค่า Fm (maximum total fluorescence yield) นำไปใช้ในการคำนวณดังสมการ

$$Fv/Fm = (Fm - Fo) / Fm$$

การวัดการนำไหลของปากใบ การระเหยของน้ำจากใบ อัตราการดูดซึ่มคาร์บอนไดออกไซด์

ดัชนีปฏิบัติการคาร์บอน ศึกษาเกี่ยวกับอัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คือ อัตราการสังเคราะห์แสง (CO₂ assimilation rate) อัตราการคายระเหยของน้ำ (Transpiration

rate) และอัตราการนำไหลของปากใบ (Stomata conductance) โดยวัดค่าทางปฏิกิริยาคาร์บอนที่ตำแหน่งใบที่ 3 นับจากยอด ช่วงเวลา 09.00-12.00 น. ทำการวัดภายใต้ความเข้มแสง $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ โดยใช้เครื่อง LCi-SD ADC BioScientific Ltd. ประเทศอังกฤษ

การวัดขนาดของปากใบ

ทำการวัดขนาดปากใบชั้นใต้ใบ (abxial) ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก โดยการใช้สก็อตเทปติดที่ผิวใบและลอกออก จากนั้นแช่ในสารละลายคลอรีน ความเข้มข้น 10 % เพื่อขจัดคลอโรฟิลล์ออก ใช้กล้องจุลทรรศน์บริษัท Olympus รุ่น BX60M ประเทศญี่ปุ่น กำลังขยาย 40 เท่า (40x) และวัดขนาดด้วยโปรแกรม ImageJ ในส่วนของความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางของปากใบ

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ

วิธีการสกัดปริมาณคลอโรฟิลล์นั้นได้ประยุกต์จากวิธีการของ (Richardson et al., 2002) เริ่มจากการตัดตัวอย่างของใบมันฝรั่งให้มีขนาดที่เท่า ๆ กัน ใช้ตัวอย่างใบโดยตัดใบเป็นวงกลมขนาดเท่า ๆ กัน จำนวน 5 วงใบและบันทึกน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างใบใส่ลงใน Microcentrifuge tube ทำการเติม Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้ตัวอย่างสารละลายเย็นลง เมื่อตัวอย่างสารละลายเย็นลงแล้วนำไปวัดปริมาณคลอโรฟิลล์โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร และใช้สูตรคำนวณค่าปริมาณคลอโรฟิลด์ดังนี้

$$\text{Chl a (mg/gFW)} = 0.127 A_{663} - 0.00269 A_{645}$$

$$\text{Chl b (mg/gFW)} = 0.229 A_{663} - 0.00468 A_{645}$$

$$\text{Chl a+b (mg/gFW)} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

การวัดปริมาณแอนโทไซยานินในใบ

วิธีการสกัดปริมาณแอนโทไซยานินได้ประยุกต์มาจากกรรมวิธีของ (Gazula et al., 2007; Giusti and Wrolstad, 2001) โดยชั่งตัวอย่างใบ 0.2 กรัม ใส่ลงใน microcentrifuge tube เติมสารละลายที่มีส่วนประกอบของ Hydrochloric acid ความเข้มข้น 1% และ Ethanol ความเข้มข้น

99% ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร จากนั้นทำการบดตัวอย่างใบเล็กน้อยเพื่อให้สารแอนโทไซยานินในใบละลายออกมา แล้วนำไปปั่นไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะแยกเป็นสองส่วนคือ ส่วนที่ 1 จะเติมสารละลายตัวอย่างจากใบพืช ปริมาตร 450 ไมโครลิตร เติมด้วยสารละลาย KCl ความเข้มข้น 0.025M pH 1 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร และส่วนที่ 2 เติมสารละลายตัวอย่างจากใบพืช ปริมาตร 450 ไมโครลิตร เติมด้วยสารละลาย $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 0.4M pH 4.5 ที่ปริมาตร 250 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารละลายไปวัดปริมาณแอนโทไซยานินโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 และ 700 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้ (Gazula et al., 2007; Giusti and Wrolstad, 2001)

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของ pH 1 และ pH 4.5 ที่ 530 และ 700 นาโนเมตร

$$\text{สูตร A} = (A_{530} - A_{700}) \text{ pH 1} - (A_{530} - A_{700}) \text{ pH 4.5}$$

การคำนวณปริมาณแอนโทไซยานิน โดย

$$\text{Monomeric anthocyanin pigment (mg/gFW)} = (A \times M_w \times DF \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

MW (น้ำหนักโมเลกุล) = 449.2, ϵ (ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสง) = 26,900, DF (ค่าการเจือจางด้วยสารละลาย Buffer) = 6.67

การวัดปริมาณ Malondialdehyde (MDA)

วิธีการวัดปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ประยุกต์มาจากวิธีการของ (Hodges et al., 1999) ทำการตัดตัวอย่างใบเป็นวงกลมเท่า ๆ กัน ชั่งน้ำหนักใบมันฝรั่งประมาณ 0.3 กรัม ใส่ลงใน microcentrifuge tube หลังจากนั้นเติมด้วย 0.1% TCA (Trichloroacetic Acid) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บดตัวอย่างใบมันฝรั่งให้ละเอียด นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที และเนื้อเยื่อของใบมันฝรั่งตกตะกอนแล้ว ทำการดูดส่วนใส ปริมาตร 550 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายที่มีส่วนประกอบของ Thiobarbituric acid (TBA) ความเข้มข้น 0.5% + Trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 20% ปริมาตร 550 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วปั่นเหวี่ยง 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 532 และ 600 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยสามารถคำนวณปริมาณ MDA จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/gFW}) = [(A532-A600)-[(A440-A600)] \times (8.4/147)]/1570 \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม R เวอร์ชัน 3.2.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลอง และระบุความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีการ Duncan's New multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

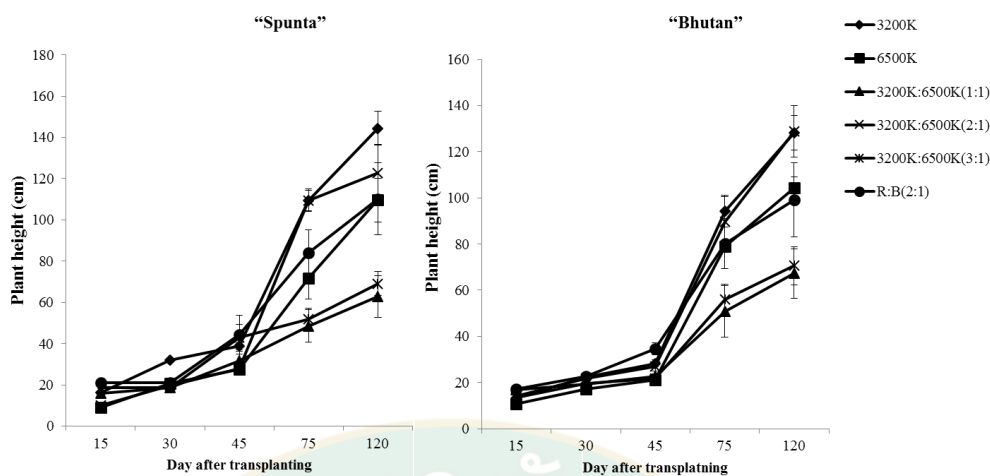
ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาคุณภาพของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่งภายใต้สภาพควบคุม

ทำการศึกษาคุณภาพแสงของที่มาจากแหล่งของแสงดังนี้ 1. LED 3200K 2. LED 6500K 3. LED 3200K+6500K (1:1) 4. LED 3200K+6500K (2:1) 5. LED 3200K+6500K (3:1) และ 6. LED Shigyo® R:B (2:1) กำหนดความเข้มแสงที่ $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ โดยเป็นการทดสอบคุณภาพของแสงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการสร้างหัวของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และพันธุ์ “Bhutan” ในสภาพแวดล้อมควบคุม เพื่อนำผลการศึกษาไปใช้ในการศึกษามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *ORGAN SIZE RELATED (OSR1)* ผลการศึกษาดังนี้

ความสูงของลำต้น

ด้านความสูงลำต้นของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และพันธุ์ “Bhutan” โดยพบว่าในพันธุ์ “Spunta” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพแสงที่ต่างกัน ที่อายุ 45 วันจนถึง 120 วันหลังย้ายปลูก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K ทำให้มันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” มีความสูงเฉลี่ยสูงสุด (144.0 เซนติเมตร) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) มีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด (70.6 เซนติเมตร) (ภาพที่ 11)

ในพันธุ์ “Bhutan” พบว่า ความสูงของลำต้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก โดยความสูงของลำต้นที่สูงที่สุดพบในการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K (128.2 เซนติเมตร) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) มีความสูงเฉลี่ยต่ำที่สุด (67.2 เซนติเมตร) (ภาพที่ 11)

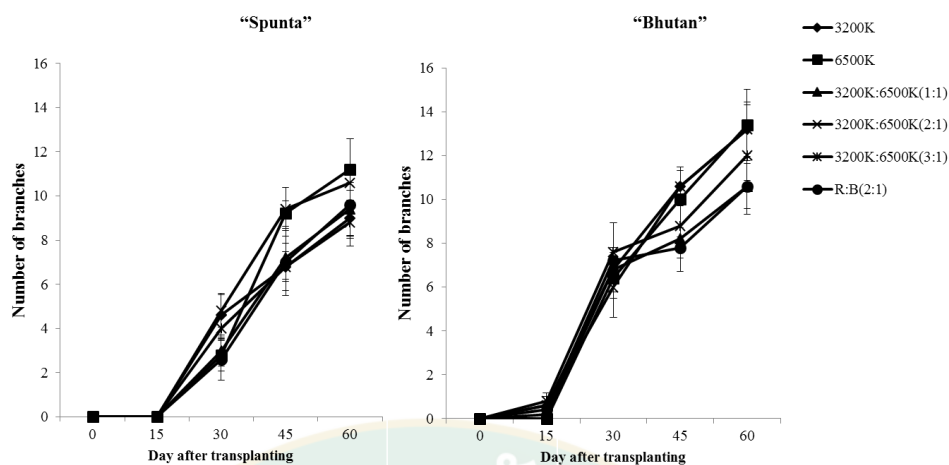


ภาพที่ 11 ความสูงของลำต้นมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

จำนวนกิ่งแขนง

การเจริญเติบโตทางด้านจำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งทั้งสองสายพันธุ์พบว่า ในพันธุ์ “Spunta” นั้นมีการสร้างกิ่งแขนงเมื่ออายุ 30 วันหลังย้ายปลูก และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อพิจารณาที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูกนั้นพบว่า การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 6500K ส่งผลให้มีจำนวนกิ่งแขนงสูงที่สุด (11.2 กิ่ง) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 12) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (2:1) มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ยน้อยที่สุด (8.8 กิ่ง)

ในขณะที่พันธุ์ “Bhutan” นั้นมีการสร้างกิ่งแขนงเมื่ออายุ 15 วันหลังย้ายปลูก และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตามอายุพืชที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับพันธุ์ “Spunta” เมื่อพิจารณาที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก พบว่าการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 6500K มีผลทำให้มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ยสูงที่สุด (13.4 กิ่ง) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง R:B (2:1) มีจำนวนกิ่งแขนงน้อยที่สุด (10.6 กิ่ง) (ภาพที่ 12)

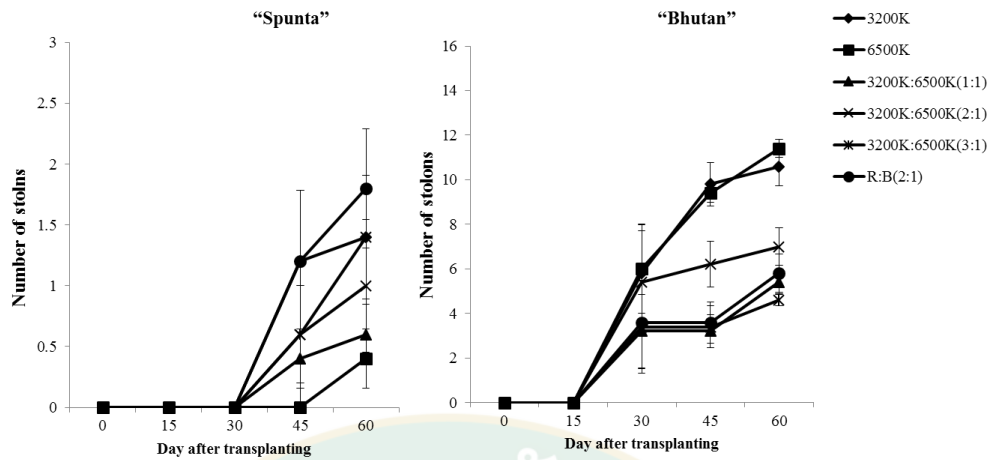


ภาพที่ 12 จำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

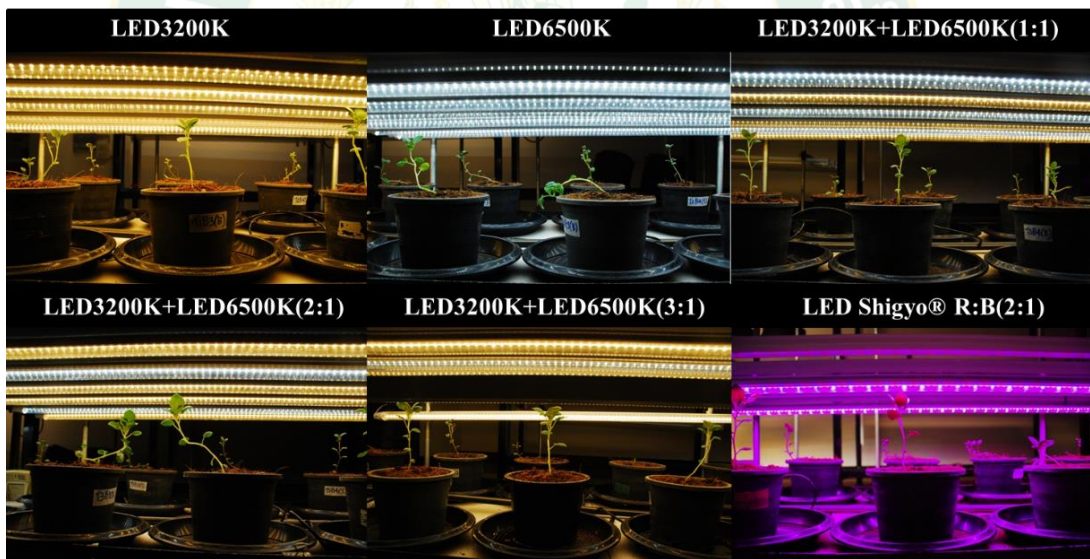
จำนวนไหล

การเจริญเติบโตด้านจำนวนไหลถือว่ามีความสำคัญต่อการสร้างหัว เนื่องจากไหลนั้นสามารถพัฒนาไปเป็นหัวมันฝรั่งต่อไปได้ จากผลการศึกษาพบว่า การเจริญเติบโตด้านการสร้างไหลของมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตามอายุพืชที่เพิ่มขึ้น ในพันธุ์ “Spunta” พบว่าเริ่มมีการสร้างไหลเมื่อมีอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก เมื่อพิจารณาที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูกนั้น การปลูกภายใต้คุณภาพแสง R:B (2:1) มีจำนวนไหลเฉลี่ยสูงที่สุด (1.8 ไหล) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 6500K มีจำนวนไหลเฉลี่ยน้อยที่สุด (0.4 ไหล) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างสิ่งทดลอง (ภาพที่ 13)

ในพันธุ์ “Bhutan” เริ่มมีการสร้างไหลเมื่อมีอายุ 30 วันหลังย้ายปลูก ผลการศึกษาคือเมื่อพิจารณาที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 6500K ส่งผลทำให้มีจำนวนไหลที่สูงที่สุด (11.4 ไหล) และมีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสงอื่น ๆ ยกเว้นคุณภาพแสง 3200K และคุณภาพแสงที่ทำให้มันฝรั่งพันธุ์ “Bhutan” สร้างไหลน้อยที่สุด (4.6 ไหล) คือการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) โดยภาพรวมมันฝรั่งพันธุ์ “Bhutan” มีการสร้างไหลได้สูงกว่าพันธุ์ “Spunta” เป็นอย่างมากดังผลการศึกษาก่อนหน้านี้ (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 จำนวนไหลของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ที่แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



ภาพที่ 14 การเจริญเติบโตของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่อายุ 15 วันหลังย้ายปลูก ภายใต้คุณภาพแสง LED3200K, LED6500K, LED3200K+6500K (1:1) LED3200K+6500K (2:1), LED3200K+6500K (3:1) และLED Shigyo® R:B (2:1) ตามลำดับ

อัตราส่วนของแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน

การตรวจสอบอัตราส่วนของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงิน ของชนิดคุณภาพแสงที่ใช้ในการทดลองพบว่า คุณภาพแสง 3200K มีปริมาณสีแดง 54.2% เขียว 36% น้ำเงิน 9.8% คุณภาพแสง 6500K มีปริมาณสีแดง 32.4% เขียว 39.2% น้ำเงิน 28.4% และคุณภาพแสง R:B (2:1) มีปริมาณสีแดง 66.4% เขียว 2.2% น้ำเงิน 31.4% เมื่อนำคุณภาพแสง 3200K ผสมกับ 6500K ในอัตราส่วนต่างๆ ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของแสงสีต่างๆมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 อัตราส่วนของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงิน ของคุณภาพแสงแต่ละชนิด

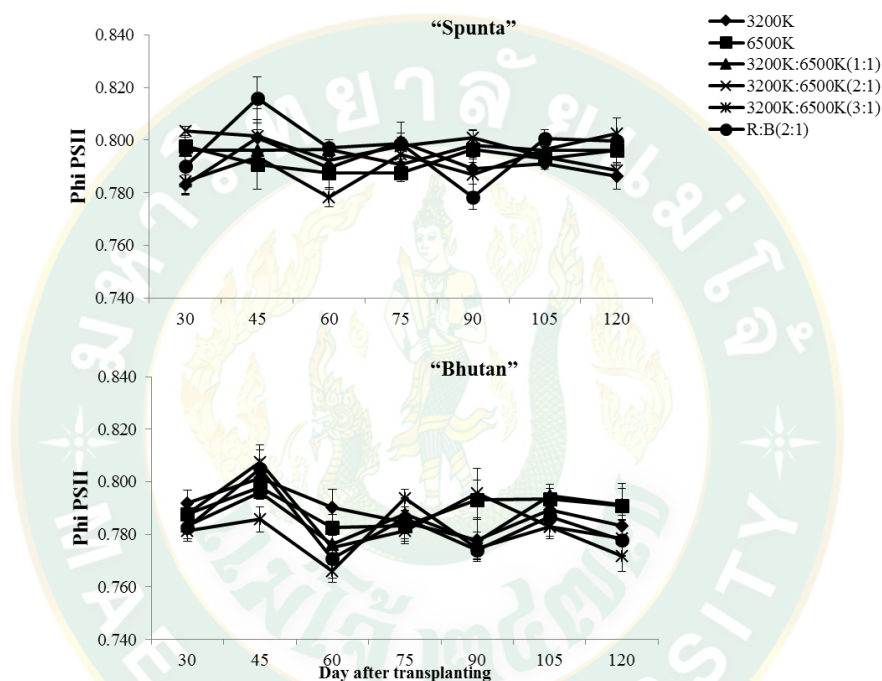
	percentage (%)		
	R	G	B
3200K	54.2	36.0	9.8
6500K	32.4	39.2	28.4
3200K+6500K(1:1)	43.1	38.4	18.5
3200K+6500K(2:1)	48.3	36.5	15.2
3200K+6500K(3:1)	53.2	35.7	11.1
R:B(2:1)	66.4	2.2	31.4

ดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์

ดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อประเมินประสิทธิภาพการทำงานของแสงในระบบแสงที่สองของพืช ประกอบด้วยค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) และค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) ทั้งสองค่านี้เป็นค่าที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นที่นิยมนำมาประเมินสุขภาพของพืชจากการสังเคราะห์แสง จากผลการศึกษาพบว่าค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) ในมันฝรั่งที่ปลูกภายใต้คุณภาพแสงที่ต่างกัน ในสภาพแวดล้อมควบคุม มันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” การปลูกภายใต้แต่ละคุณภาพแสงนั้นไม่มี

นัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ส่องภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) มีแนวโน้มที่ค่อนข้างคงที่ในแต่ละช่วงอายุ อยู่ในระดับ 0.780-0.820 (ภาพที่ 15)

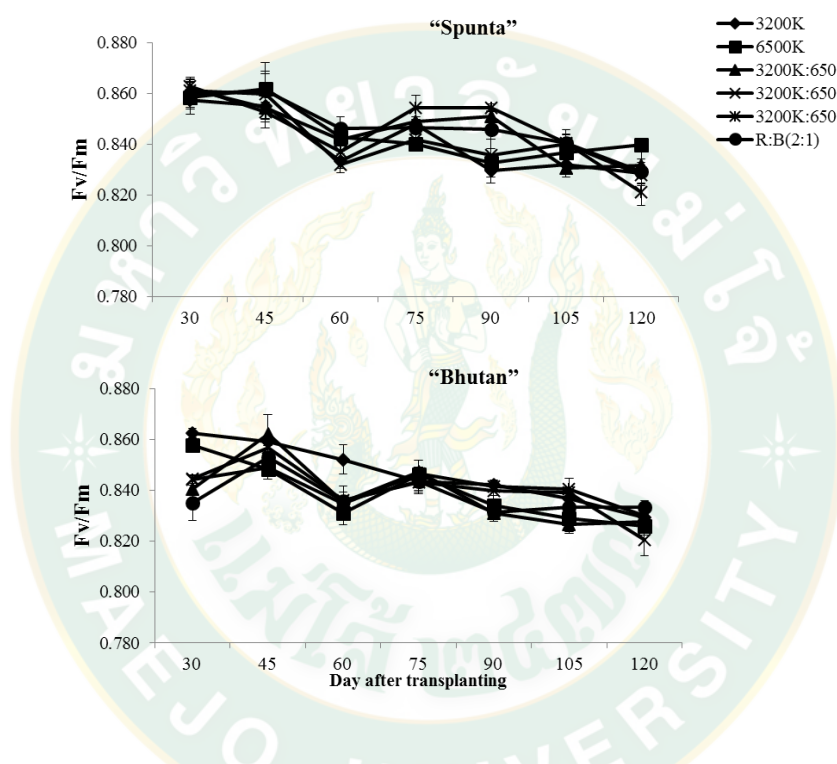
แต่ในพันธุ์ “Bhutan” การปลูกภายใต้แต่ละคุณภาพแสงนั้น มีค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ส่องภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) ค่อนข้างแปรปรวนขึ้นลงในแต่ละช่วงอายุ ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการบันทึกข้อมูล โดยค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ส่องภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) อยู่ในระดับ 0.760-0.810 (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ส่องภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

ค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ส่อง (Fv/Fm) ของมันฝรั่งพันธุ์ Spunta และ “Bhutan” ปลูกภายใต้คุณภาพแสงที่แตกต่างกันพบว่าในช่วงการให้แสง 16 ชั่วโมง ต่อวัน มันฝรั่งทั้งสองพันธุ์มีค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ส่อง (Fv/Fm) มีแนวโน้มที่สูงแต่หลังจากนั้นเมื่อสลับช่วงการให้แสง 8 ชั่วโมง ต่อวัน มีแนวโน้มที่ลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดการบันทึกข้อมูล (ภาพที่ 16)

ในพันธุ์ “Bhutan” ค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) นั้นไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในทุกช่วงอายุหลังย้ายปลูก แต่ในพันธุ์ “Bhutan” ช่วงอายุ 60 วันหลังย้ายปลูก การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K มีค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) สูงที่สุด และมีนัยสำคัญกับคุณภาพแสงอื่น ๆ เพียงช่วงอายุเดียว โดยภาพรวมนั้นค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) ของมันฝรั่งทั้งสองสายพันธุ์อยู่ในเกณฑ์ที่ปกติคือ อยู่ในระดับที่สูงกว่า 0.800 ค่าที่บ่งชี้ถึงสภาวะปกติของพืช (ภาพที่ 16)



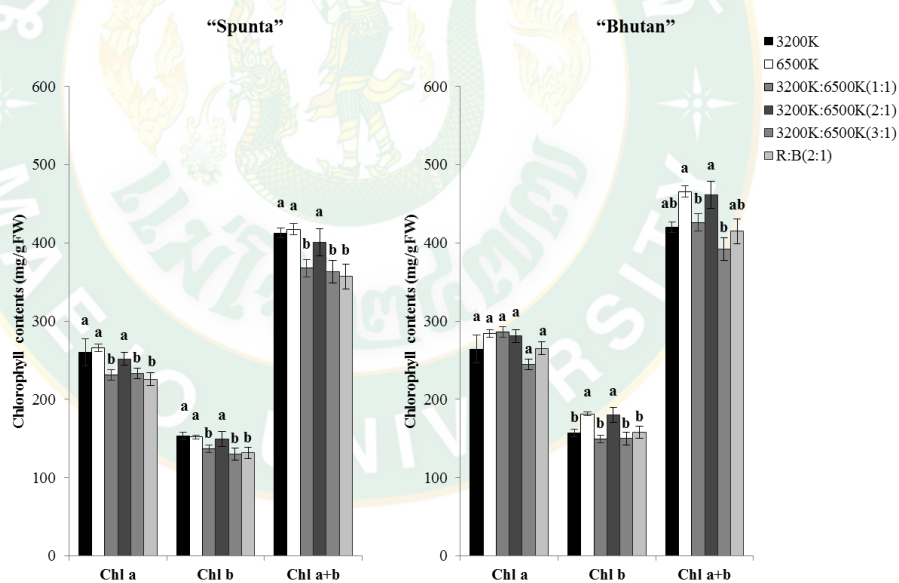
ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของมันฝรั่งทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าในมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพแสง 6500K ส่งผลทำให้มีการสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์เอสูงที่สุด โดยมีปริมาณเฉลี่ย 265.7 mg/gFW และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1), 3200K+6500K (3:1) และ R:B (2:1) ด้านปริมาณคลอโรฟิลล์บีพบว่า การปลูกภายใต้คุณภาพ

แสง 3200K มีผลทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สูงสุด มีปริมาณเฉลี่ย 152.8 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด มีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) 3200K+6500K (3:1) และ R:B (2:1) และการปลูกภายใต้คุณภาพ 6500K ยังทำให้มีการสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุด โดยมีปริมาณเฉลี่ย 417.5 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และมีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสง 3200K+6500 (1:1) 3200K+6500K (3:1) และ R:B (2:1) เช่นเดียวกับคลอโรฟิลล์เอและบี (ภาพที่ 17)

ในพันธุ์ “Bhutan” การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 6500K มีผลทำให้มีการสะสมของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ, คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมสูงที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ย 283.9 181.5 และ 465.4 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งคลอโรฟิลล์เอนั้นไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับการปลูกภายใต้คุณภาพแสงอื่น ๆ ปริมาณคลอโรฟิลล์บีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกคุณภาพแสง ยกเว้น 3200K+6500K (2:1) และปริมาณของคลอโรฟิลล์รวม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 3200K+6500K (1:1) และ 3200K+6500K (3:1) (ภาพที่ 17)

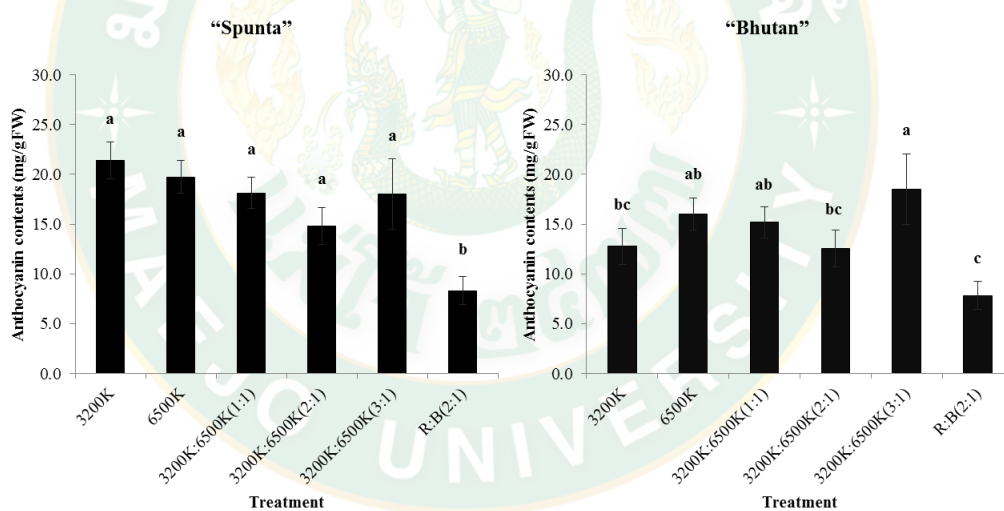


ภาพที่ 17 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED ต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4)

ปริมาณแอนโทไซยานินในใบ

ปริมาณแอนโทไซยานินในใบของมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์ ในพันธุ์ “Spunta” พบว่าเมื่อปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K มีผลทำให้มีการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด โดยมีปริมาณเฉลี่ย 21.4 mg/gFW แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับการปลูกภายใต้คุณภาพแสงอื่น ๆ ยกเว้นคุณภาพแสง R:B (2:1) ที่มีการปริมาณแอนโทไซยานินต่ำที่สุดคือ 8.4 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 18)

ในส่วนของพันธุ์ “Bhutan” พบว่าเมื่อปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) ส่งผลทำให้มีการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินในใบสูงที่สุด โดยมีปริมาณเฉลี่ย 18.5 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสงอื่น ๆ ยกเว้นคุณภาพแสง 6500K กับ 3200K+6500K (1:1) การสะสมของปริมาณแอนโทไซยานินในใบที่ต่ำที่สุดพบในการปลูกภายใต้คุณภาพแสง R:B (2:1) เช่นเดียวกันกับในพันธุ์ “Spunta” มีปริมาณเฉลี่ยอยู่ที่ 7.8 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 18)



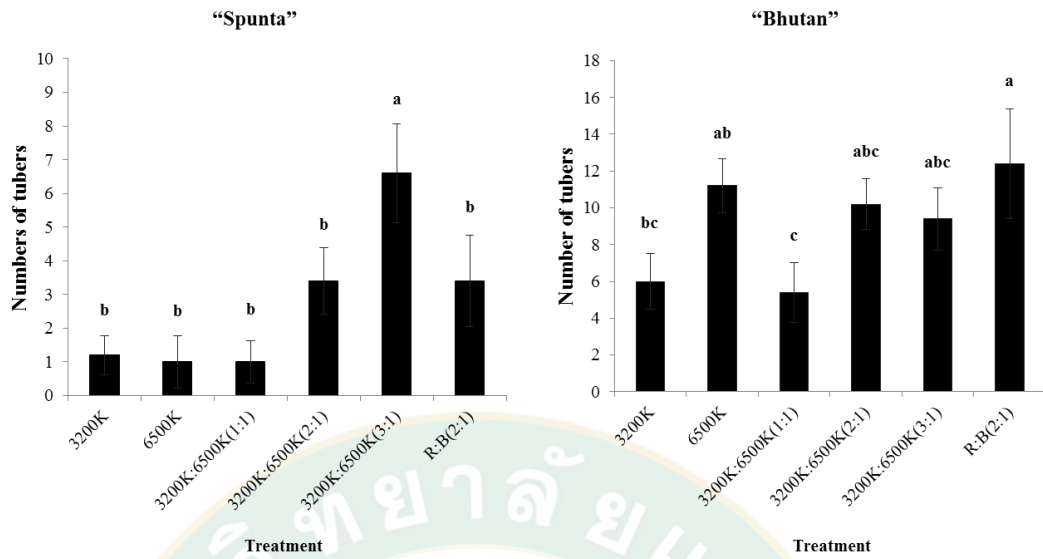
ภาพที่ 18 ปริมาณแอนโทไซยานินในใบของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4)

จำนวนหัวและน้ำหนักหัว

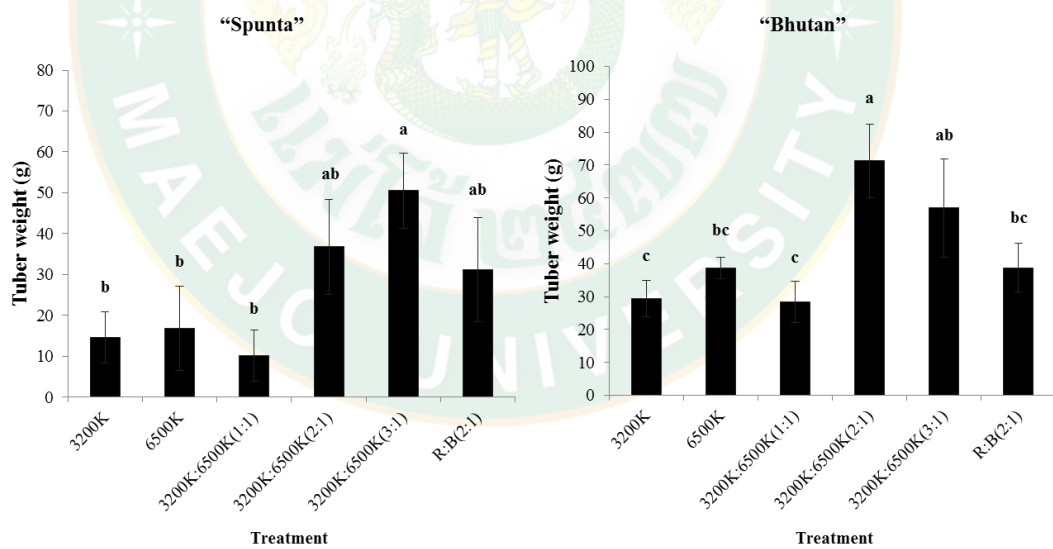
จำนวนหัวของมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์ที่ปลูกภายใต้คุณภาพแสงที่แตกต่างกัน พบว่าในพันธุ์ “Spunta” การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) มีผลทำให้มันฝรั่งมีจำนวนหัวเฉลี่ยสูงสุด โดยมีจำนวนหัวเฉลี่ย 6.6 หัวต่อต้น และมีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสงอื่น ๆ และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 6500K และ 3200K+6500K (1:1) มีจำนวนหัวเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 1 หัวต่อต้นทั้งสองคุณภาพแสง (ภาพที่ 19)

ในส่วน of พันธุ์ “Bhutan” การปลูกภายใต้คุณภาพแสง R:B (2:1) นั้น ทำให้มีจำนวนหัวเฉลี่ย 12.4 หัวและสูงที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ โดยมีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) และ 3200K ที่มีจำนวนหัวน้อยที่สุด คือ 4.5 หัว และ 6 หัว ตามลำดับ (ภาพที่ 19)

ด้านน้ำหนักหัวของมันฝรั่งพันธุ์ทั้งสองพันธุ์ พบว่าในพันธุ์ “Spunta” การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) นั้น มันฝรั่งมีน้ำหนักหัวสูงสุดคือ 50.5 กรัม และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 3200K 6500K และ 3200K+6500K (1:1) โดยการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) มีน้ำหนักหัวน้อยที่สุด คือ 8.6 กรัมต่อต้น (ภาพที่ 20) และในพันธุ์ “Bhutan” พบว่าการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (2:1) ทำให้มันฝรั่งมีน้ำหนักหัวสูงสุด มีน้ำหนักหัวเฉลี่ย 71.2 กรัมต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสงอื่น ๆ ยกเว้นคุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) และน้ำหนักหัวที่น้อยที่สุดพบในการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) มีน้ำหนักหัวเฉลี่ย 28.4 กรัมต่อต้น (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 19 จำนวนหัวของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



ภาพที่ 20 น้ำหนักหัวของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลำต้นกับราก

ด้านน้ำหนักสดและแห้งของลำต้น พบว่าในพันธุ์ “Spunta” การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K ทำให้มีน้ำหนักสดลำต้นสูงที่สุด (185.4 กรัม) และต่ำที่สุดคือภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) มีน้ำหนักเฉลี่ย 118.6 กรัม ด้านน้ำหนักแห้งต้น การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) มีผลทำให้มีน้ำหนักแห้งลำต้นสูงที่สุด (22.8 กรัม) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K มีน้ำหนักแห้งลำต้นต่ำที่สุด (14.6 กรัม) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งน้ำหนักสดและแห้งของลำต้น (ตารางที่ 3)

ส่วนของพันธุ์ “Bhutan” พบว่าการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K ทำให้มีน้ำหนักสดต้นสูงที่สุด (218.6 กรัม) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (1:1) ทำให้มีน้ำหนักสดต้นน้อยที่สุด (152.9 กรัม) ด้านน้ำหนักแห้งรากพบว่าการปลูกภายใต้คุณภาพแสง R:B (2:1) และ 3200K+6500K (1:1) ส่งผลให้มีน้ำหนักแห้งลำต้นสูงที่ (14.7 กรัม) เท่ากัน แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3)



ตารางที่ 3 น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dried weight) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน (n= 5)

Cultivar	Light treatment	Shoot fresh weight (g)	Shoot dried weight (g)
"Spunta"	3200K	185.4±28.9 ns	14.6±6.34 ns
	6500K	164.8±24.2 ns	18.3±4.77 ns
	3200K+6500K (1:1)	118.7±21.3 ns	22.8±3.92 ns
	3200K+6500K (2:1)	126±30.1 ns	17.3±4.68 ns
	3200K+6500K (3:1)	118.6±22.8 ns	18.5±3.15 ns
	R:B (2:1)	125.8±31.6 ns	15.7±3.73 ns
"Bhutan"	3200K	218.6 ±14.8 ns	11.1±0.66 ns
	6500K	185.2±12.6 ns	11.4±0.69 ns
	3200K+6500K (1:1)	152.9±18.6 ns	14.7±1.49 ns
	3200K+6500K (2:1)	209.2±18.5 ns	12.8±1.60 ns
	3200K+6500K (3:1)	172.1±9.37 ns	14.5±2.18 ns
	R:B (2:1)	154.9±21.3 ns	14.7±1.71 ns

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ระบุด้วยอักษร ns คือไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของราก จากผลการศึกษาพบว่า ในพันธุ์ “Spunta” การปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K:6500K (3:1) มีน้ำหนักสดรากสูงที่สุด (4.98 กรัม) โดยการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K มีผลทำให้น้ำหนักสดรากต่ำที่สุด (3.29 กรัม) และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K:6500K (1:1) ทำให้มีน้ำหนักแห้งรากสูงที่สุด (0.86 กรัม) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ คุณภาพแสง ยกเว้นคุณภาพแสง 3200K:6500K (3:1) (ตารางที่ 4)

ส่วนของพันธุ์ “Bhutan” น้ำหนักสดและแห้งของรากที่สูงที่สุดนั้นพบในการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K:6500K (3:1) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 9.13 และ 1 กรัม ตามลำดับ แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับคุณภาพแสงชนิดอื่น ซึ่งทำให้เห็นว่าคุณภาพแสงแต่ละชนิดที่แตกต่างกันนั้นไม่มีผลต่อน้ำหนักสดและแห้งของมันฝรั่งพันธุ์ “Bhutan” (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 น้ำหนักสดราก (Root fresh weight) และน้ำหนักแห้งราก (Root dried weight) ของมันฝรั่งพันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพของแสงจากหลอด LED แตกต่างกัน (n=5)

Cultivar	Light treatment	Root fresh weight (g)	Root dried weight (g)
Spunta	3200K	3.29±0.53 a	0.39±0.06 b
	6500K	3.98±0.19 a	0.49±0.02 b
	3200K+6500K (1:1)	4.80±0.76 a	0.86±0.31 a
	3200K+6500K (2:1)	3.36±0.45 a	0.45±0.03 b
	3200K+6500K (3:1)	4.98±0.67 a	0.57±0.05 ab
	R:B (2:1)	3.75±0.11 a	0.39±0.06 b
	Bhutan	3200K	8.10±0.87 a
6500K		8.76±1.20 a	0.93±0.09 a
3200K+6500K (1:1)		7.54±1.33 a	0.74±0.11 a
3200K+6500K (2:1)		6.40±0.83 a	0.59±0.10 a
3200K+6500K (3:1)		9.13±0.89 a	1.00±0.16 a
R:B (2:1)		7.10±0.85 a	0.63±0.07 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ระบุด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

อิทธิพลร่วมระหว่างคุณภาพของแสงกับพันธุ์มันฝรั่ง

การวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ระหว่างแสงกับพันธุ์มันฝรั่งต่อการเจริญเติบโตด้านลำต้นเหนือดินและลำต้นใต้ดิน พบว่า คุณภาพแสงนั้นมีอิทธิพลต่อความสูงของลำต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณแอนโทไซยานิน และน้ำหนักหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านพันธุ์มันฝรั่งนั้นมีอิทธิพลต่อความสูงลำต้น จำนวนตาข้าง จำนวนไหล ค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Phi PSII) ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณแอนโทไซยานิน จำนวนและน้ำหนักหัว และชีวมวลของลำต้นกับรากอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่คุณภาพแสงกับพันธุ์มันฝรั่งมีอิทธิพลร่วมต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของคลอโรฟิลล์บีย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่านั้น (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพของแสงกับพันธุ์มันฝรั่ง

Source	Light (A)	Cultivar (B)	A × B
Height	**	***	0.37
Number of branches	0.29	**	0.78
Number of stolons	0.57	**	0.46
Phi PSII	0.29	***	0.37
Fv/Fm	0.99	0.12	0.58
Chlorophyll a	**	*	0.47
Chlorophyll b	***	***	*
Chlorophyll a+b	***	***	0.40
Anthocyanin content	***	*	0.21
Number of tubers	0.63	***	0.56
Tuber weight	***	**	0.69
Shoot fresh weight	0.07	**	0.81
Shoot dried weight	0.64	*	0.92
Root fresh weight	0.31	***	0.54
Root dried weight	0.03	***	0.04

หมายเหตุ ตัวเลขที่ระบุในตารางแสดงค่า *P*-value แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ (*) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $P \leq 0.05$ (**) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $P \leq 0.01$ และ (***) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $P \leq 0.001$

ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ ได้รับยีน *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)*

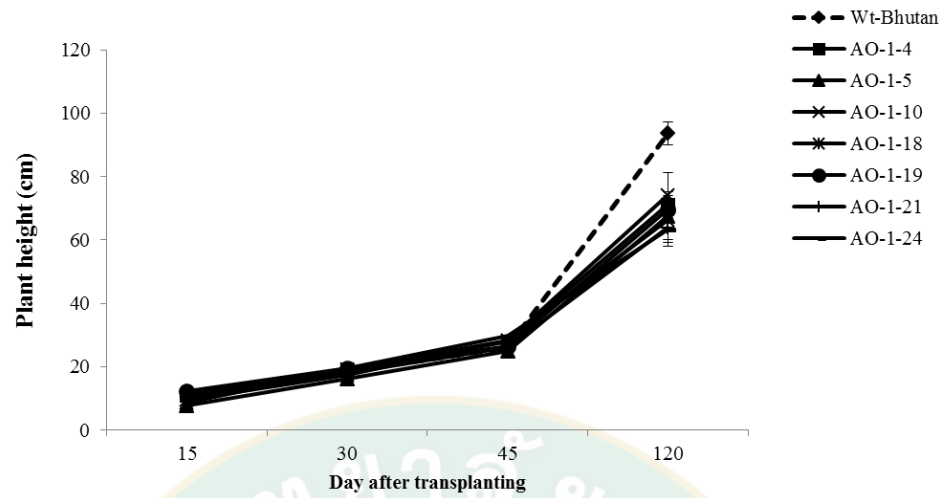
ผลการทดลองที่ 2.1.1 การศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่ง ดัดแปลงพันธุกรรม construct pBI121::35S::OSR1

ความสูงของลำต้น

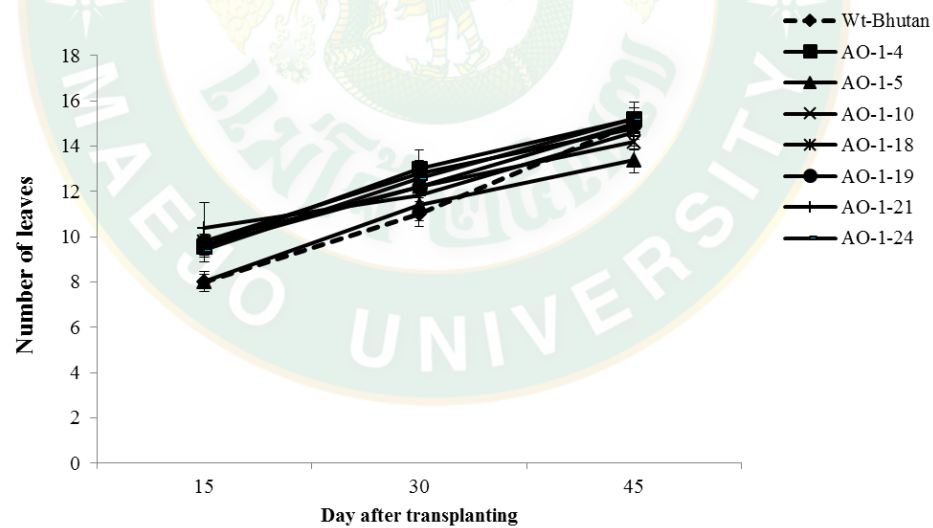
การศึกษาลักษณะแสดงออกทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type พันธุ์ “Bhutan” ภายใต้สภาพแวดล้อมควบคุม พบว่าการเจริญเติบโตด้านความสูงทั้งมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและ wild type มีการเจริญเติบโตด้านความสูงของลำต้นเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตามอายุของมันฝรั่งที่เพิ่มขึ้น ในแต่ละช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความสูงสุดท้ายที่อายุ 120 วันหลังย้ายปลูก มันฝรั่ง wild type มีความสูงลำต้นเฉลี่ย 93.8 เซนติเมตร มากกว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก line อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระหว่างมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line ที่มีความสูงลำต้นต่ำที่สุด คือ line AO-1-21 และ AO-1-24 มีความสูงลำต้นเฉลี่ยที่ 63.8 และ 63.2 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 21)

จำนวนใบ

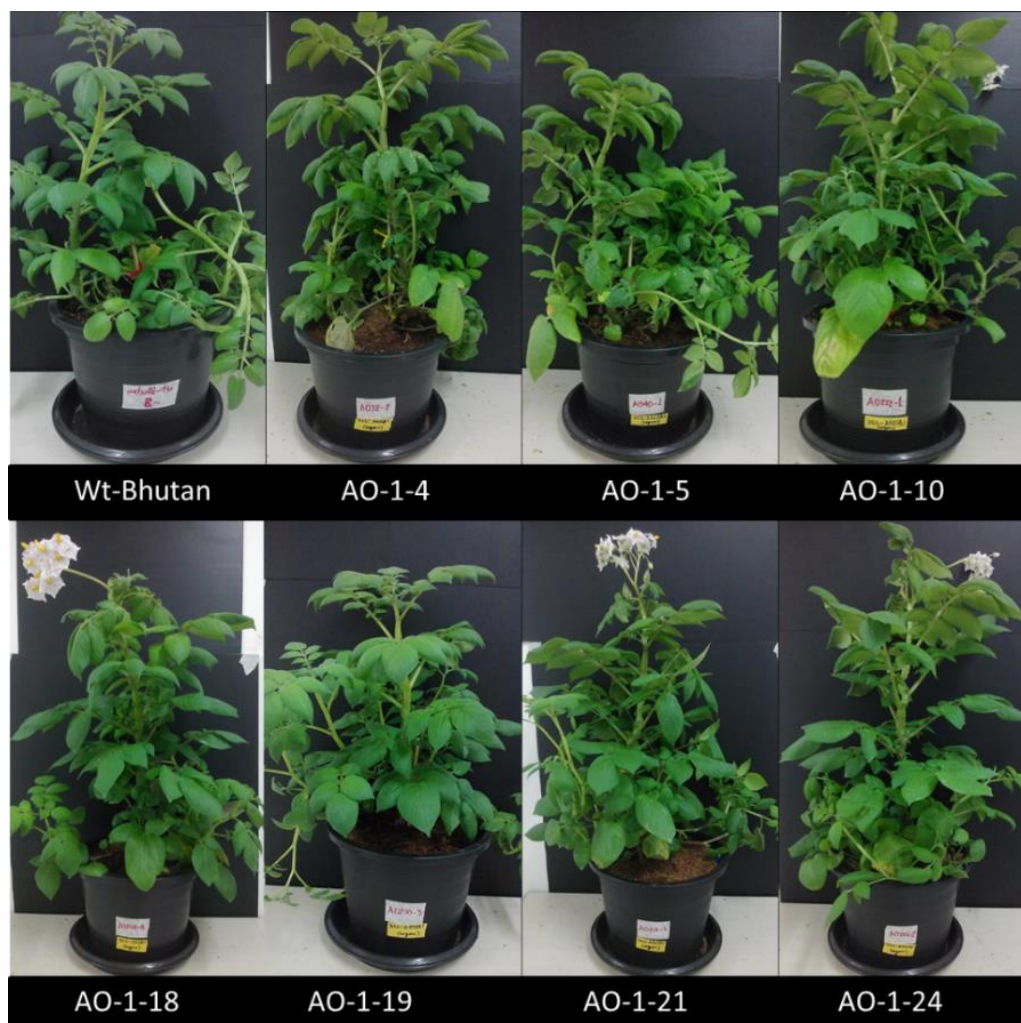
จำนวนใบพบว่า มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมมีจำนวนใบเพิ่มสูงขึ้นมากกว่ามันฝรั่ง wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตั้งแต่ช่วงอายุ 15 และ 30 วันหลังย้ายปลูก และอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก จำนวนใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมมีจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นที่อายุ 45 วันอยู่ระหว่าง 13.4-15.2 ใบ มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีจำนวนใบน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่ทำการบันทึกข้อมูลคือมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-5 (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 21 ความสูงลำต้นของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบ คลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



ภาพที่ 22 จำนวนใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบ คลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

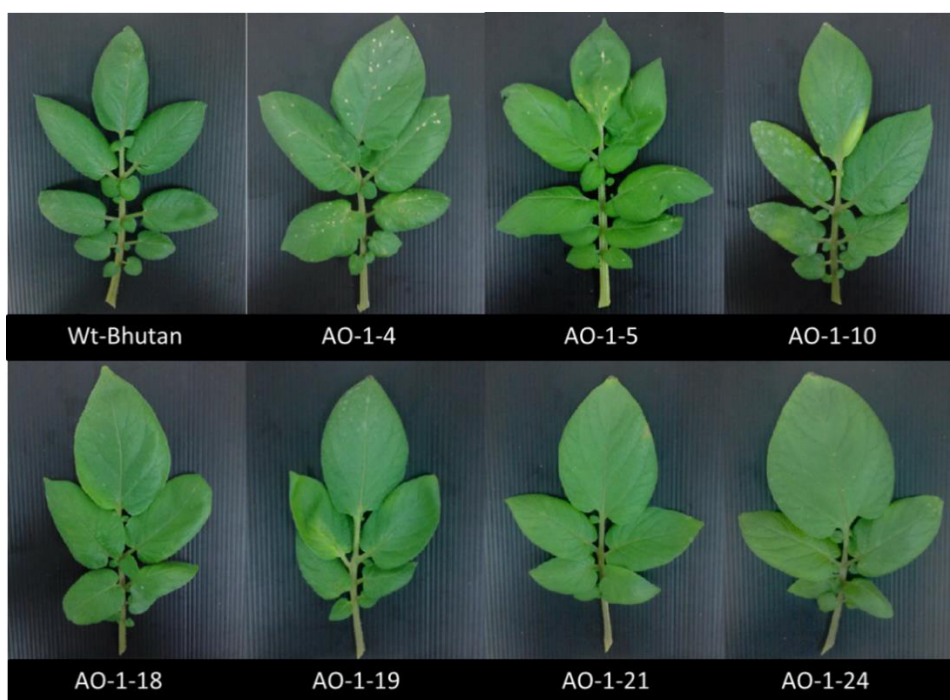


ภาพที่ 23 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก

ลักษณะรูปร่างของใบ

โดยทั่วไปลักษณะใบของมันฝรั่งมีลักษณะของใบเป็นแบบใบประกอบซึ่งเป็นใบประกอบแบบ Pinnately compound ประกอบด้วยใบย่อยหลายคู่เรียงไปตามความยาวของก้านใบ มีใบย่อยสุดท้ายเป็นใบเดี่ยวที่มีขนาดใหญ่ที่สุด (ภาพที่ 24) จากการทดลองครั้งนี้จะเห็นได้ว่าใบมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมนั้นจะมีขนาดของใบที่ใหญ่กว่าใบมันฝรั่ง wild type อย่างชัดเจนที่สุด โดยเฉพาะ

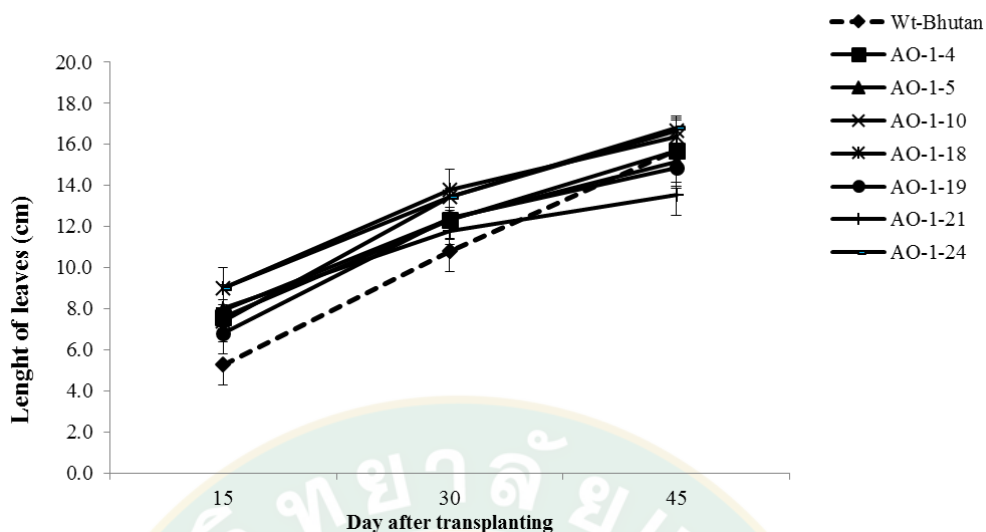
อย่างยิ่งในใบย่อยใบสุดท้ายที่อยู่ตรงกลาง ยกเว้นในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-5 และ AO-1-10 ที่มีรูปร่างและองค์ประกอบใบค่อนข้างไม่แตกต่างไปจากใบมันฝรั่ง wild type มากนัก



ภาพที่ 24 ลักษณะใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ตำแหน่งใบที่ 5 จากยอด ที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก

ความยาวใบ

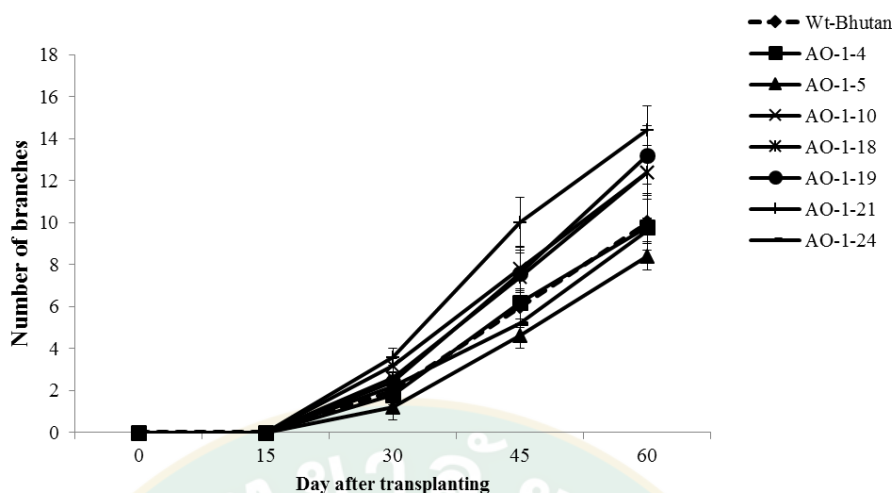
ความยาวใบ พบว่าทั้งมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและ wild type มีความยาวใบค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามอายุหลังย้ายปลูก โดยความยาวใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมมีความแตกต่างกับ wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในช่วงอายุ 15-30 วันหลังย้ายปลูก แต่ในช่วงอายุ 45 หลังย้ายปลูกมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4, AO-1-5, AO-1-10, AO-1-18, AO-1-19 และ AO-1-24 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type มีเพียงมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-21 เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 ความยาวใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับ *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อน แสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

จำนวนกิ่งแขนง

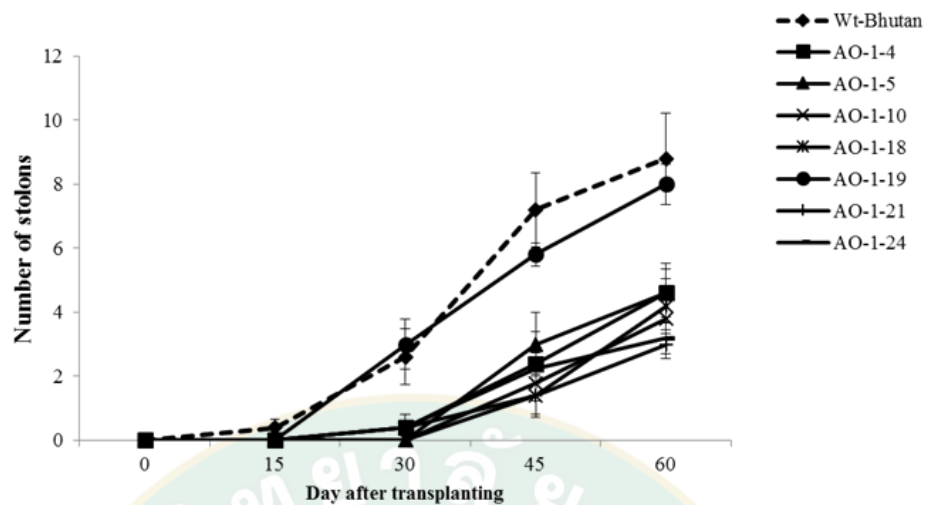
จำนวนกิ่งแขนง พบว่าในช่วงอายุ 30 วันหลังย้ายปลูก ทั้งมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type เริ่มมีการสร้างกิ่งแขนง หลังจากนั้นมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมมีการสร้างกิ่งแขนงเพิ่มขึ้นตามอายุหลังย้ายปลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type เมื่อพิจารณาที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูกซึ่งเป็นการบันทึกข้อมูลครั้งสุดท้าย มันฝรั่งที่มีการสร้างจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ยต่อต้นสูงที่สุดนั้นพบในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-21 ที่มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ย 14.4 กิ่ง รองลงมาคือ line AO-1-19, AO-1-10 และ AO-1-18 ที่มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ยต่อต้นที่ 13.2, 12.4 และ 12.4 กิ่ง ตามลำดับ และมันฝรั่งที่พบการสร้างกิ่งแขนงน้อยที่สุดคือ line AO-1-5 โดยมีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ยอยู่ที่ 8.4 กิ่ง (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 จำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบ คลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

จำนวนไหล

จำนวนไหลถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญต่อผลผลิตของหัวมันฝรั่ง เนื่องจากไหลนั้นจะพัฒนาและมีการสะสมอาหารกลายเป็นหัวมันฝรั่งต่อไป พบว่ามันฝรั่ง wild type เริ่มมีการสร้างไหลเมื่ออายุ 15 วันหลังย้ายปลูก ในขณะที่มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก line จะสังเกตเห็นการสร้างไหลเมื่ออายุ 30 วันหลังย้ายปลูก ซึ่งมันฝรั่ง wild type มีการสร้างจำนวนไหลเพิ่มสูงขึ้นมากกว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น line AO-1-19 และในระหว่างมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมพบว่า line AO-1-19 มีจำนวนไหลเฉลี่ยสูงกว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่อายุ 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูกที่ทำการบันทึกข้อมูล ซึ่งจำนวนไหลเฉลี่ยต่อต้นที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูกของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 3.2-8 ไหล โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีจำนวนไหลเฉลี่ยต่อต้นต่ำที่สุดคือ line AO-1-21 และ AO-1-24 มีค่าอยู่ที่ 3.2 และ 3.0 ไหล ตามลำดับ (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 จำนวนไหลของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบ คลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

จำนวนต้นที่ออกดอก

มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line เริ่มมีการออกดอกเมื่ออายุ 40 หลังย้ายปลูก ซึ่งอยู่ในสภาพแสงวันยาวเพื่อชักนำให้มันฝรั่งเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบ ในขณะที่มันฝรั่ง wild type นั้นไม่มีการออกดอกตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา ซึ่งในระหว่างมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* มีการออกดอกที่แตกต่างกันออกไป โดยร้อยละการออกดอกอยู่ระหว่างร้อยละ 60 (AO-1-19 และ AO-1-21) จนถึงร้อยละ 100 (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 การออกดอกของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5)

Line	No. of flowering plant (%)	No. of non-flowering plant (%)
Wt-Bhutan	0 (0)	5 (100)
AO-1-4	5 (100)	0 (0)
AO-1-5	5 (100)	0 (0)
AO-1-10	5 (100)	0 (0)
AO-1-18	5 (100)	0 (0)
AO-1-19	3 (60)	2 (40)
AO-1-21	3 (60)	2 (40)
AO-1-24	5 (100)	0 (0)

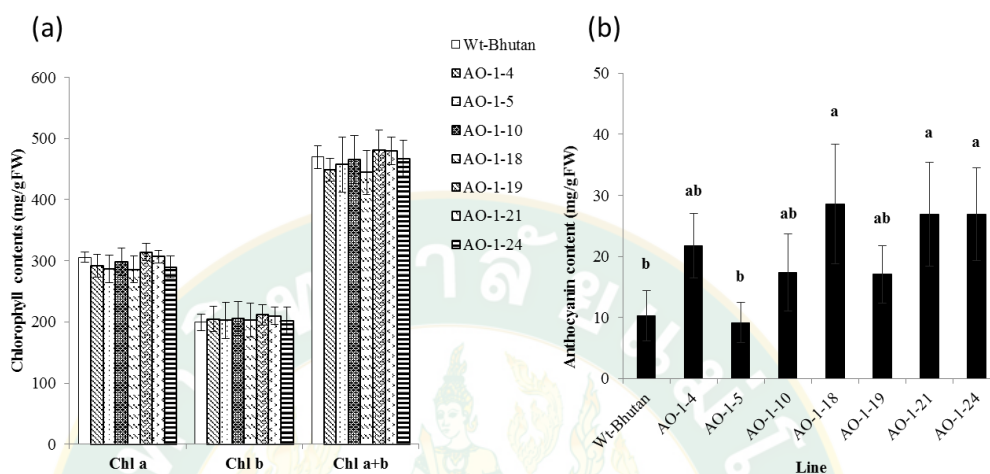
ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และปริมาณคลอโรฟิลล์รวม ที่พบในใบมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอ อยู่ที่ระหว่าง 286-314 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ปริมาณคลอโรฟิลล์บีอยู่ระหว่าง 199-211 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมอยู่ระหว่าง 445-481 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 28a)

ปริมาณแอนโทไซยานินในใบ

การวัดปริมาณแอนโทไซยานินในใบมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type พบว่า มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม AO-1-18, AO-21 AO-24 มีปริมาณการสะสมแอนโทไซยานินในใบสูงกว่า มันฝรั่ง wild type ยกเว้นมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-5 โดยการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ยสูงที่สุดและมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type พบในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-18 มีปริมาณ 29 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือ line AO-1-21 และ AO-1-24 มี

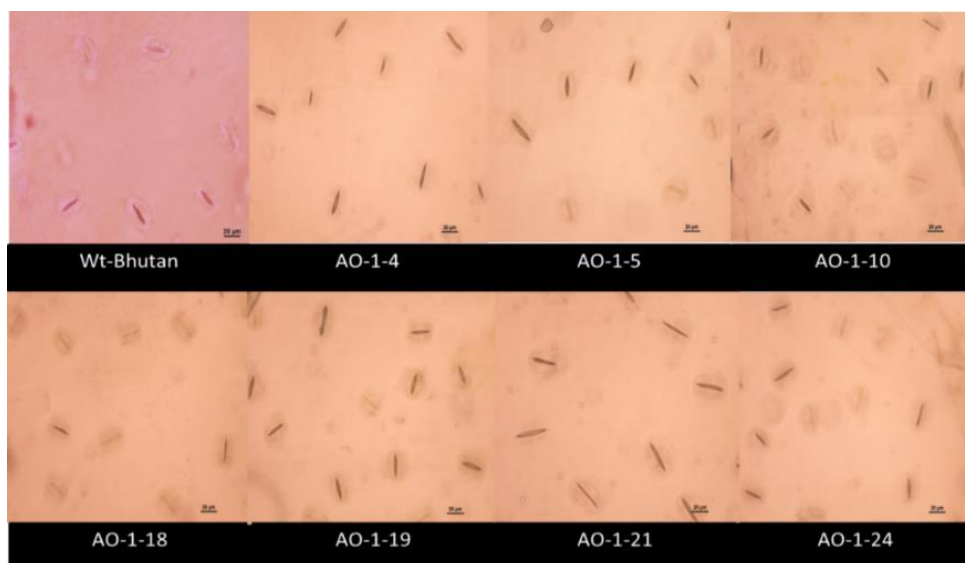
ปริมาณ 27 และ 27 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินที่ต่ำที่สุดพบในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-5 มีปริมาณ 9 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 28b)



ภาพที่ 28 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Chl a) ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (Chl b) ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (Chl a+b) (a) และปริมาณแอนโทไซยานินในใบ (b) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ขนาดของปากใบ

การวัดขนาดปากใบได้ทำการวัดเมื่อมันฝรั่งมีอายุ 60 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 29) พบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมในทุก ๆ line นั้นจะมีความยาวปากใบเฉลี่ยที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type ซึ่งความยาวปากใบที่สูงที่สุดในการศึกษาครั้งนี้พบในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-10 และ AO-1-24 มีความยาวเฉลี่ย 37.9 และ 37.4 ไมโครเมตร ตามลำดับและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับมันฝรั่ง wild type ที่มีความยาวปากใบเฉลี่ยต่ำที่สุด โดยมีความยาวเฉลี่ย 34.4 ไมโครเมตร และในส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางทั้งมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของปากใบอยู่ระหว่างที่ 22.3-22.7 ไมโครเมตร (ตารางที่ 7)



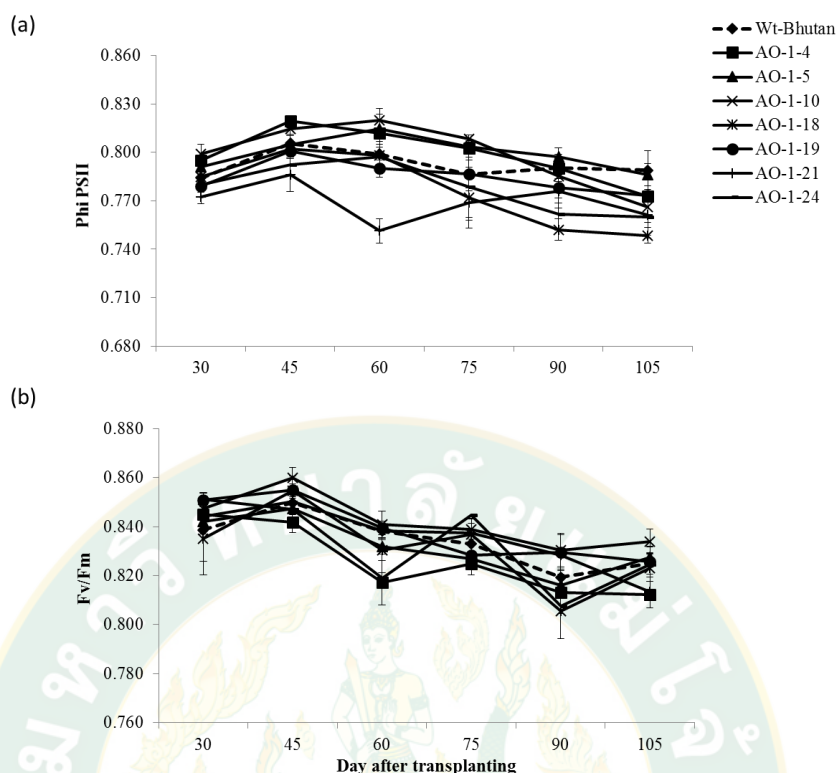
ภาพที่ 29 ลักษณะปากใบชั้นใต้ใบ (abxial) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X: (Scale bar = 20 µm)

ตารางที่ 7 ความยาวและเส้นผ่าศูนย์กลางปากใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=9)

Line	Size (µm)	
	Length	Diameter ^A
Wt-Bhutan	34.4±1.62 c	23.0±0.99 a
AO-1-4	35.5±1.48 bc	22.3±0.78 a
AO-1-5	35.7±1.88 bc	22.5±1.63 a
AO-1-10	37.9±1.77 a	23.0±1.23 a
AO-1-18	34.5±1.54 c	22.7±0.56 a
AO-1-19	35.0±1.22 c	22.6±1.08 a
AO-1-21	35.0±1.51 c	22.3±0.19 a
AO-1-24	37.4±3.00 ab	23.2±0.83 a

หมายเหตุ ^A ทำการวัดจากเซลล์คุมปากใบ

ค่าเฉลี่ยที่ระบุด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 30 ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) (a) และ ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) (b) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

ดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์

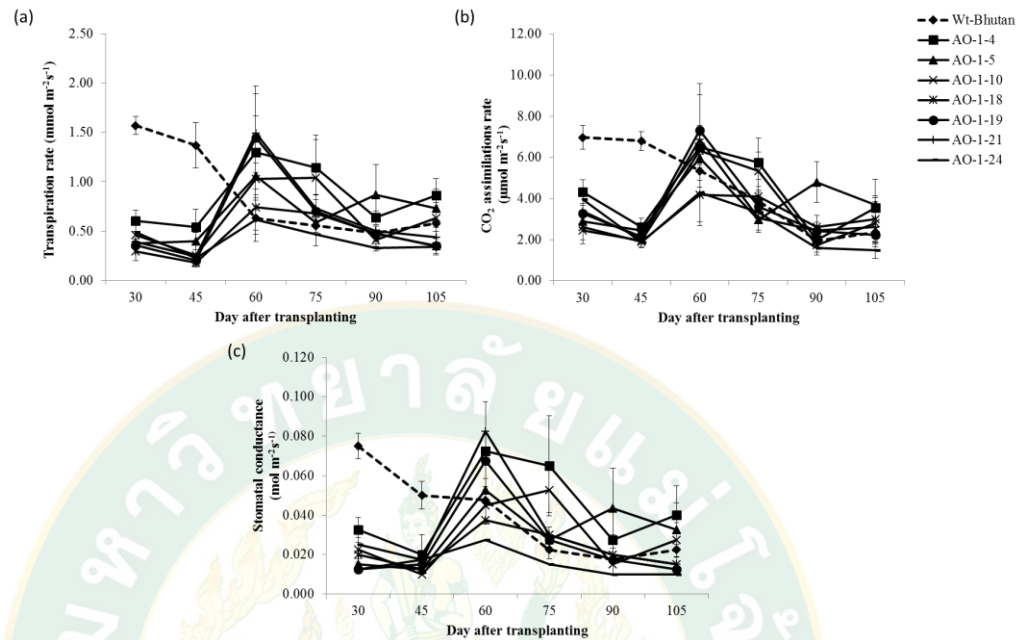
ดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ที่ทำการวัดครั้งนี้ประกอบด้วยค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) และค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) พบว่า ค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) ในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุก line ในช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก และหลังจากนั้นจะสังเกตเห็นว่าค่า Phi PSII มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องและลดลงต่ำสุดเมื่ออายุ 105 วันหลังย้ายปลูก มีค่า Phi PSII อยู่ระหว่าง 0.751-0.808 (ภาพที่ 30a) และเมื่อทำการวัดค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมเปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type พบว่าค่า

Fv/Fm มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับค่า Phi PSII โดยจะค่อย ๆ ลดลงตามอายุของมันฝรั่งที่เพิ่มขึ้น แต่มีค่า Fv/Fm สูงกว่า 0.800 ซึ่งค่าบ่งชี้เกี่ยวกับความเสียหายของการทำงานของระบบแสงที่สอง และค่า Fv/Fm ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมกับมันฝรั่ง wild type นั้นตลอดระยะเวลาทำการศึกษายู่ระหว่าง 0.806-0.860 (ภาพที่ 30b)

ดัชนีทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาคาร์บอน

ดัชนีที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาคาร์บอนเป็นอีกค่าหนึ่งที่ถูกนำมาประเมินสภาพของพืช โดยในทางสรีรวิทยาพืชค่านี้สามารถบ่งบอกความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำตาลของพืชโดยการนำ ATP และ NADH ที่ได้รับมาจากปฏิกิริยาแสงโดยมีเอนไซม์รูบิสโกทำหน้าที่ในการตรึงและความสามารถในการตรึงยังขึ้นอยู่กับการเปิดปิดของปากใบซึ่งเกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างภายในและภายนอกใบพืช ดัชนีที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาแสงนั้นประกอบไปด้วย ค่าอัตราการคายระเหยน้ำ (E: Transpiration rate) ค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A: CO₂ assimilations rate) และค่าการนำไหลของปากใบ (gs: Stomatal conductance) พบว่าค่าอัตราการคายระเหยน้ำ (E) ในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก line ที่ช่วงอายุ 30 และ 45 วันหลังย้ายปลูก มีค่าต่ำกว่ามันฝรั่ง wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในช่วงอายุเดียวกันค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) ในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก line นั้นมีแนวโน้มคงที่และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type และหลังจากช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูกแล้ว สังเกตได้ว่าค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงอายุ 60 วันหลังย้ายปลูก และมีแนวโน้มลดลงจนถึง 105 วันหลังย้ายปลูก ส่วนในมันฝรั่ง wild type มีค่า E ที่ลดลงอย่างต่อเนื่องหลังจาก 45 วันหลังย้ายปลูก มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line ที่มีแนวโน้มของค่า E สูงที่สุดคือมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีแนวโน้มของค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) ต่ำที่สุดคือ line AO-1-24 (ภาพที่ 31a)

ในส่วนของค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A) และค่าการนำไหลของปากใบ (gs) พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) โดยค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A) และค่าการนำไหลของปากใบ (gs) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงสุดที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก และหลังจากนั้นเริ่มลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีแนวโน้มของค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A) และค่าการนำไหลของปากใบ (gs) สูงที่สุดคือ line AO-1-4 และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีแนวโน้มของค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A) และค่าการนำไหลของปากใบ (gs) ต่ำที่สุดคือ AO-1-24 เช่นเดียวกับค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) (ภาพที่ 31b และภาพที่ 31c)

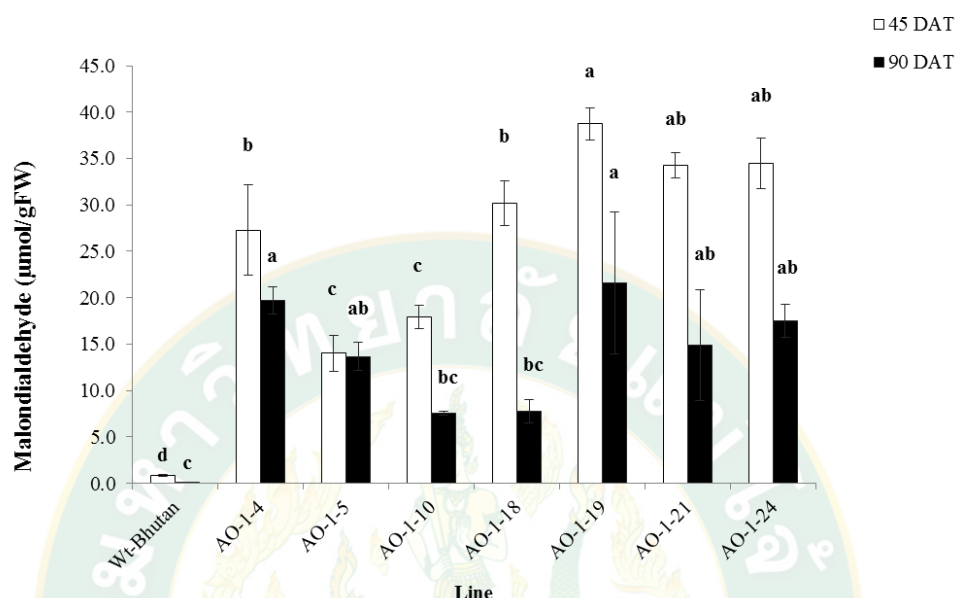


ภาพที่ 31 (a) ค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E: Transpiration rate) (b) ค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A: CO₂ assimilations rate) และ (c) ค่าการนำไหลของปากใบ (gs: Stomatal conductance) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4)

ปริมาณลิปดเพอร็อกซิเดชันในใบ

การประเมินการเกิดลิปดเพอร็อกซิเดชัน (lipid peroxidation) ถือว่าเป็นดัชนีที่ชี้วัดสภาวะที่เกิดความเครียดในพืช พบว่ามันฝรั่งที่อายุ 45 และ 90 วันหลังย้ายปลูกในแต่ละช่วงอายุมีปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ที่แตกต่างกัน โดยในช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูกนั้นมีปริมาณ MDA ที่สูงกว่าที่อายุ 90 วันหลังย้ายปลูก และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก line มีปริมาณ MDA ที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type ระหว่าง 7-39 เท่าที่อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก โดยพบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีปริมาณ MDA สูงที่สุดคือ line AO-1-19 รองลงมาคือ AO-1-21 กับ AO-1-24 และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีปริมาณ MDA ต่ำที่สุดคือ line AO-1-5 ในส่วนของปริมาณ MDA ที่อายุ 90 วันหลังย้ายปลูก ค่าปริมาณ MDA ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type มีแนวโน้มที่

ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ยกเว้นมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-5 ที่ปริมาณ MDA ลดลงเล็กน้อย และอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันกับที่อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 ปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4): (DAT=Day after transplanting)

น้ำหนักสดและแห้งของลำต้นและราก

จากการศึกษาพบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีน้ำหนักสดลำต้นสูงที่สุดคือ line AO-1-18 (269.3 กรัม) และมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type และน้ำหนักสดลำต้นที่ต่ำที่สุดคือ มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-5 (168.4 กรัม) ด้านน้ำหนักแห้งลำต้นพบว่า มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีน้ำหนักแห้งลำต้นสูงกว่ามันฝรั่ง wild type โดย line AO-1-10 มีน้ำหนักแห้งลำต้นสูงที่สุด (26.1 กรัม) และมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ และมันฝรั่ง wild type ยกเว้น line AO-1-19 และ AO-1-21 (ตารางที่ 8) ในส่วนของน้ำหนักสดราก มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีน้ำหนักสดรากสูงกว่ามันฝรั่ง wild type น้ำหนักสดรากสูงที่สุดคือ line AO-1-10 (26.1 กรัม) และมีนัยสำคัญกับมันฝรั่ง wild type ส่วนน้ำหนักสดรากต่ำที่สุดคือ

มันฝรั่ง wild type (12.7 กรัม) และน้ำหนักแห้งราก เช่นเดียวกับน้ำหนักสดรากคือ มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีน้ำหนักสดรากสูงกว่ามันฝรั่ง wild type น้ำหนักแห้งรากสูงสุดคือ line AO-1-10 (2.18 กรัม) ส่วนน้ำหนักสดรากต่ำที่สุดคือ มันฝรั่ง wild type (1.28 กรัม) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dried weight) น้ำหนักสดราก (Root fresh weight) และน้ำหนักแห้งราก (Root dried weight) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5)

Line	Shoot FW (g)	Shoot DW (g)	Root FW (g)	Root DW (g)
Wt-Bhutan	204.0±18.1 bcd	13.7±1.19 c	12.7±2.19 d	1.28±0.20 b
AO-1-4	211.5±7.91 bcd	23.9±1.20 b	16.9±0.96 bcd	1.65±0.07 ab
AO-1-5	168.4±13.5 d	21.3±1.79 bc	17.6±2.84 bcd	1.87±0.21 a
AO-1-10	257.2±17.9 ab	24.5±1.96 b	26.1±2.30 a	2.18±0.16 a
AO-1-18	269.3±18.1 a	31.7±2.01 a	18.3±2.94 bcd	1.96±0.25 a
AO-1-19	224.1±21.3 abcd	19.7±1.60 bc	19.8±1.29 abc	2.01±0.10 a
AO-1-21	231.7±11.6 abc	21.1±1.18 b	21.8±1.60 ab	1.99±0.09 a
AO-1-24	189.0±27.6 cd	23.2±3.20 b	14.0±0.46 cd	1.87±0.17 a

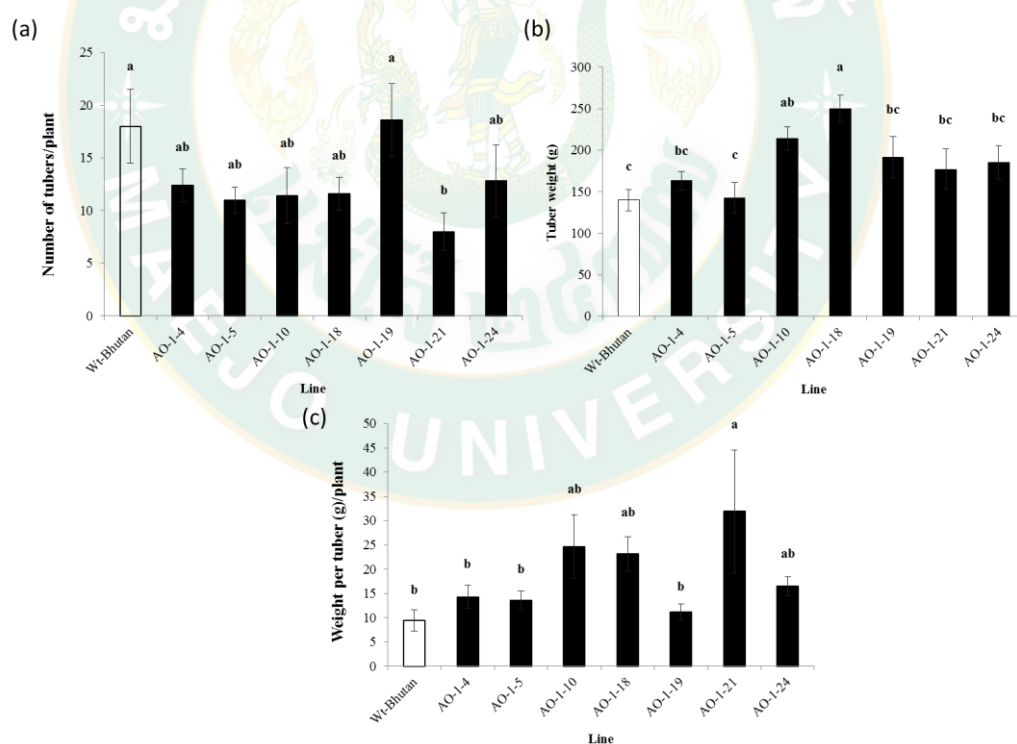
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ระบุด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จำนวนหัวและน้ำหนักหัว

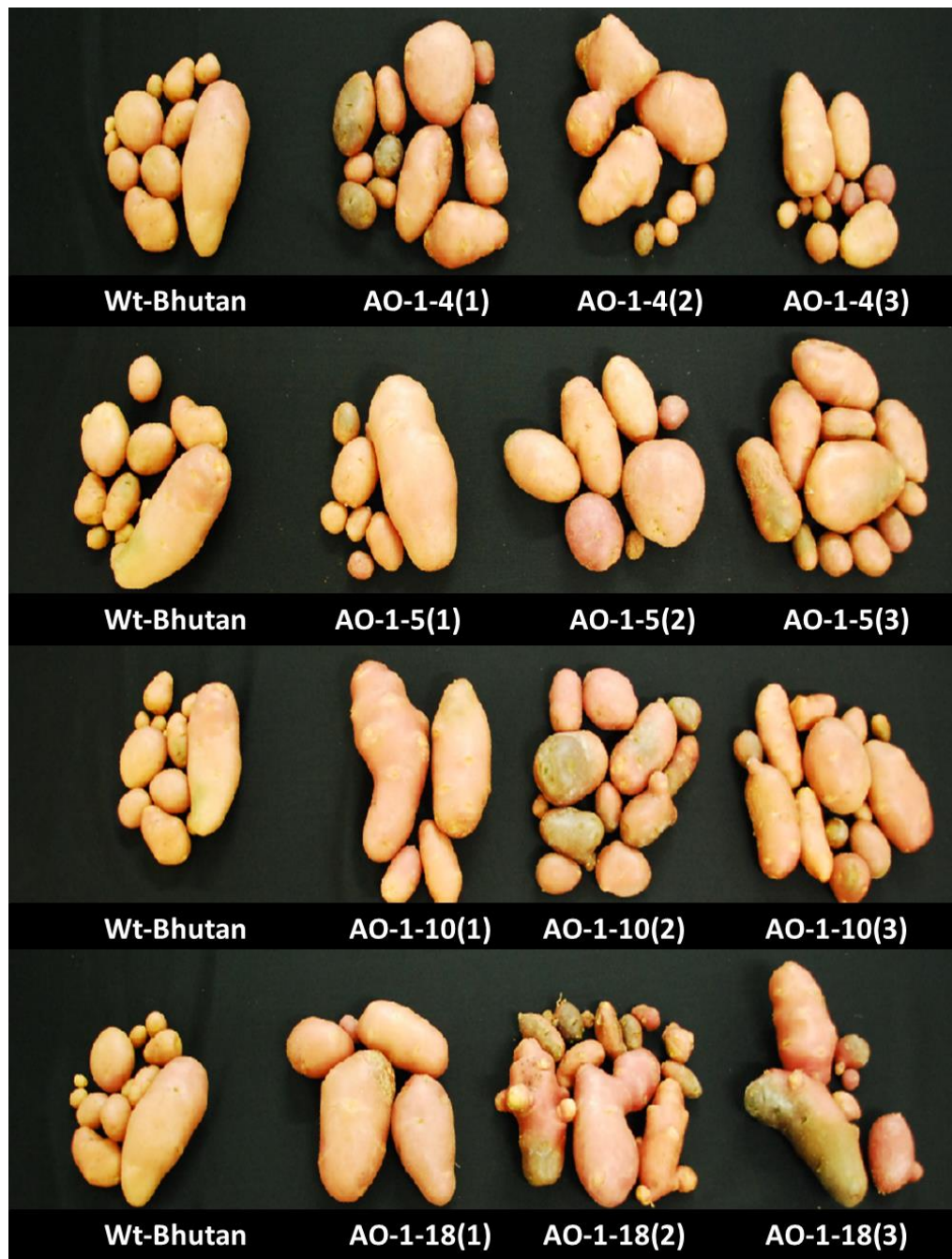
จำนวนหัวของมันฝรั่งเมื่ออายุครบ 120 วันหลังย้ายปลูก พบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมโดยส่วนใหญ่จะมีจำนวนหัวเฉลี่ยต่อต้นที่ต่ำกว่ามันฝรั่ง wild type แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-21 ที่พบว่ามีจำนวนหัวเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 8 หัว และมันฝรั่งที่มีการสร้างหัวได้มากที่สุดคือมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-19 โดยมีจำนวนหัวเฉลี่ย 18.3 หัว (ภาพที่ 33a) หากพิจารณาจากลักษณะของหัวเห็นได้ว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4, AO-1-5, AO-1-10, AO-1-18, AO-1-21 และ AO-1-24 มีขนาดของหัวที่ใหญ่กว่าอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่มีจำนวนของหัวขนาดเล็กกว่าแต่มีจำนวนมาก (ภาพที่ 34 และภาพที่ 35)

น้ำหนักรวมเฉลี่ยพบว่า มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-10 และ line AO-1-18 มีน้ำหนักสูงกว่ามันฝรั่ง wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีน้ำหนักหัวรวมเฉลี่ยสูงสุดคือ 249.6 และ 213.8 กรัม ตามลำดับ และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4, AO-1-5 AO-1-19, AO-1-21 และ AO-1-24 มีน้ำหนักหัวรวมเฉลี่ยอยู่ที่ 163.0 142.8 191.4 176.7 และ 185.2 กรัม ตามลำดับ ซึ่งถือว่าสูงกว่า wild type ที่มีน้ำหนักหัวรวมเฉลี่ย 139.4 กรัม แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 33b)

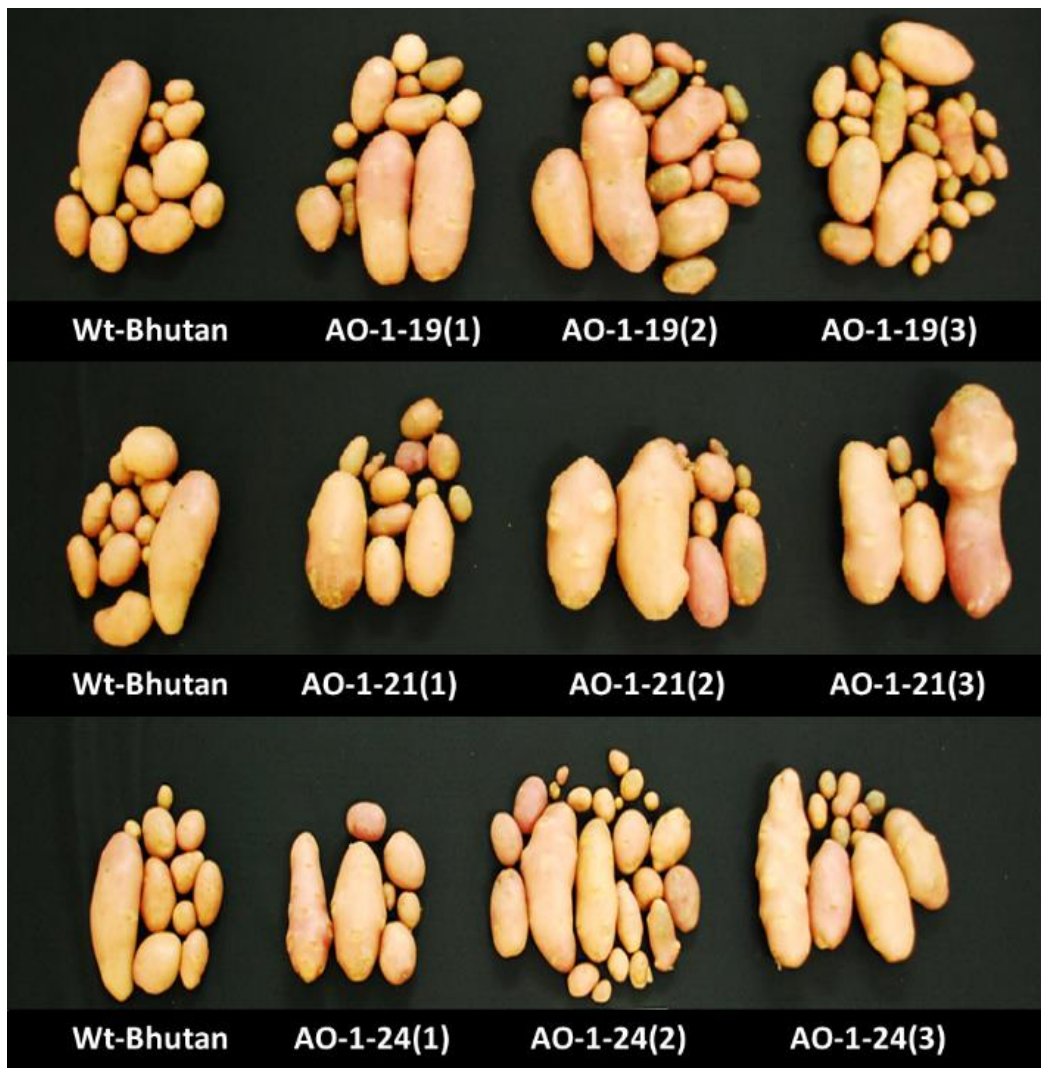
นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักต่อหัวของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line สูงกว่ามันฝรั่ง wild type โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-21 มีน้ำหนักต่อหัวสูงสุดและน้ำหนักต่อหัวเฉลี่ยอยู่ที่ 31.9 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 AO-1-5 และ line AO-1-19 แต่หากเปรียบเทียบเฉพาะมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมพบว่า มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-19 มีน้ำหนักต่อเฉลี่ยหัวน้อยที่สุดคือ 11.2 กรัม (ภาพที่ 33c)



ภาพที่ 33 จำนวนหัวต่อต้น (a) น้ำหนักหัวรวมต่อต้น (b) และน้ำหนักต่อหัว (c) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 AO-1-18 AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



ภาพที่ 34 ลักษณะของหัวมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-4 AO-1-5 AO-1-10 และ AO-1-18 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type

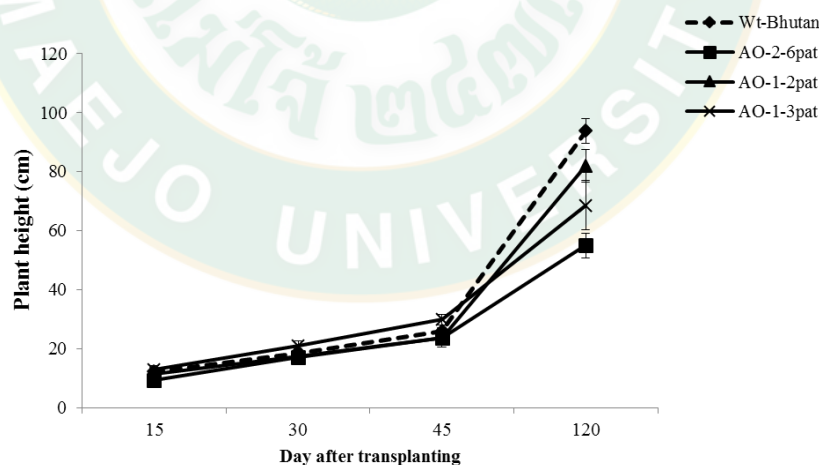


ภาพที่ 35 ลักษณะของหัวมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-1-19 AO-1-21 และ AO-1-24 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type

ผลการทดลองที่ 2.1.2 การศึกษาการแสดงออกทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม construct pBI121::patatin::OSR1

ความสูงของลำต้น

การแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่มาจาก construct pBI121::patatin::OSR1 เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type พันธุ์ “Bhutan” ภายใต้สภาพแวดล้อมควบคุม พบว่าการเจริญเติบโตด้านความสูงของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type มีการเจริญเติบโตด้านความสูงของลำต้นเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง และในแต่ละช่วงอายุมีความสูงที่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งในช่วงอายุ 15 จนถึง 45 วันหลังย้ายปลูกลำต้น มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line มีความสูงของลำต้นเฉลี่ยมากกว่ามันฝรั่ง wild type เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ความสูงของลำต้นเฉลี่ยครั้งสุดท้ายที่อายุ 120 วันหลังย้ายปลูกพบว่า มันฝรั่ง wild type มีความสูงลำต้นเฉลี่ย 93.8 เซนติเมตร สูงกว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในระหว่างมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line ที่มีความสูงลำต้นสูงที่สุดคือ AO-1-2pat (82 เซนติเมตร) และความสูงเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ line AO-2-6pat (54.8 เซนติเมตร) (ภาพที่ 36)



ภาพที่ 36 ความสูงลำต้นของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



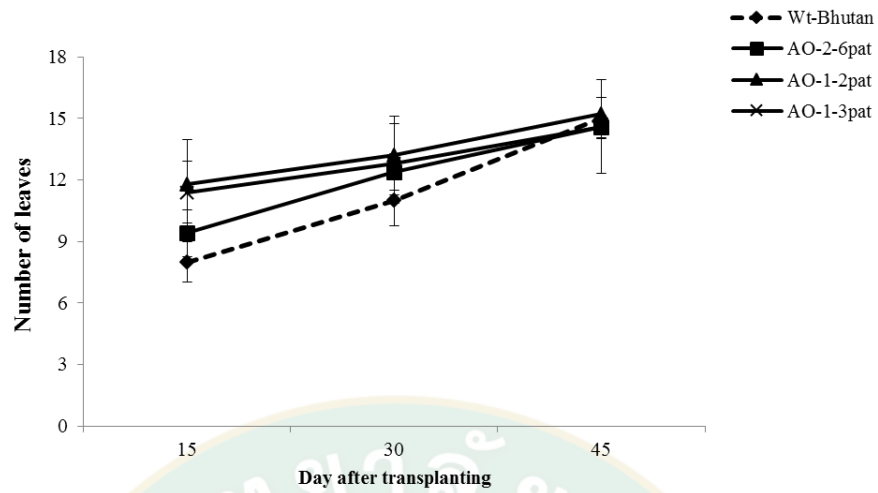
ภาพที่ 37 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับ wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก

จำนวนใบ

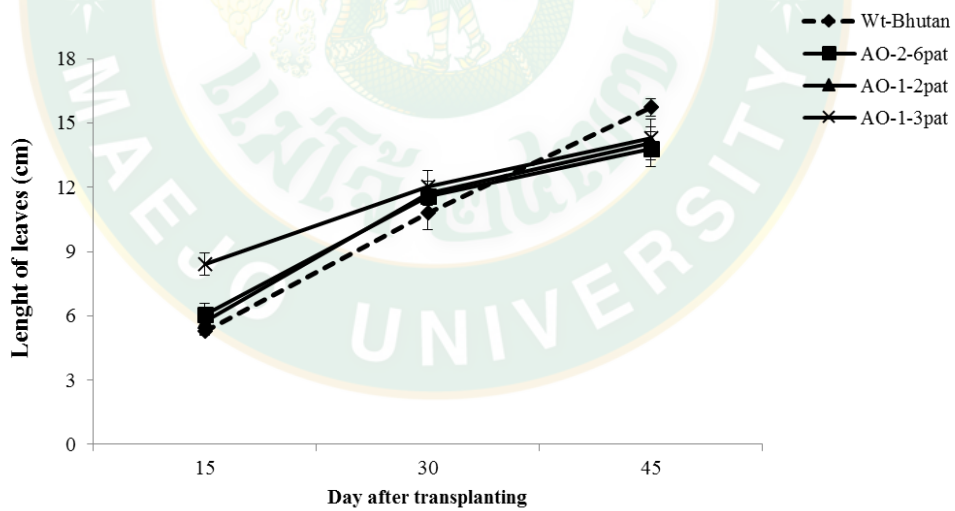
จำนวนใบพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมในช่วงอายุ 15 และ 30 วันหลังย้ายปลูก มีจำนวนมากกว่ามันฝรั่ง wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออายุ 45 วันหลังย้ายปลูก จำนวนใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมันฝรั่ง wild type โดยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมมีจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นที่อายุ 45 วันอยู่ระหว่าง 14.6-15.2 เซนติเมตร มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่มีจำนวนใบน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่ทำการบันทึกข้อมูลคือ AO-1-3pat (ภาพที่ 38)

ความยาวใบ

ความยาวใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type พบว่าความยาวใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line ในช่วงอายุ 15 และ 30 วันหลังย้ายปลูก มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมมีแนวโน้มสูงกว่ามันฝรั่ง wild type แต่เมื่ออายุ 45 หลังย้ายปลูก มันฝรั่ง wild type มีความยาวใบเฉลี่ยที่สูงกว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line ซึ่งทั้งมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 39)



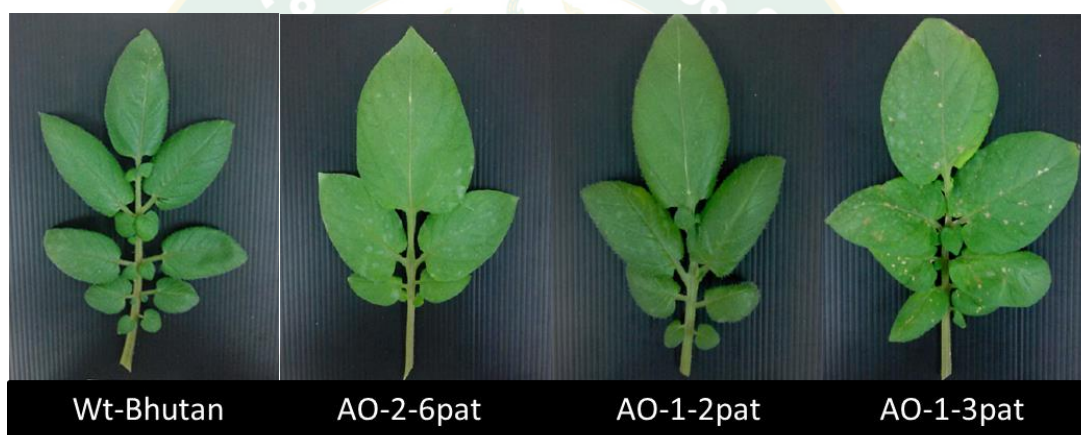
ภาพที่ 38 จำนวนใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



ภาพที่ 39 ความยาวใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

ลักษณะรูปร่างใบ

โดยทั่วไปลักษณะใบของมันฝรั่งมีลักษณะของใบเป็นแบบใบประกอบซึ่งเป็นใบประกอบแบบ Pinnately compound ที่มีใบย่อยหลายคู่เรียงไปตามความยาวของก้านใบ มีใบย่อยสุดท้ายจะเป็นใบเดี่ยวที่มีขนาดใหญ่ที่สุด และยิ่งพบว่าใบมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมนั้นจะมีขนาดของใบที่ใหญ่กว่าใบมันฝรั่ง wild type อย่างชัดเจนที่สุดในใบย่อยใบสุดท้ายที่อยู่ตรงกลาง และความยาวโดยรวมของใบมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line จะสั้นกว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม โดยที่เห็นความแตกต่างได้อย่างชัดเจนคือใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-2-6pat ที่ไม่ปรากฏหูใบรองใบประกอบหลัก ในขณะที่มันฝรั่ง wild type มีหูใบจำนวนมาก (ภาพที่ 40)

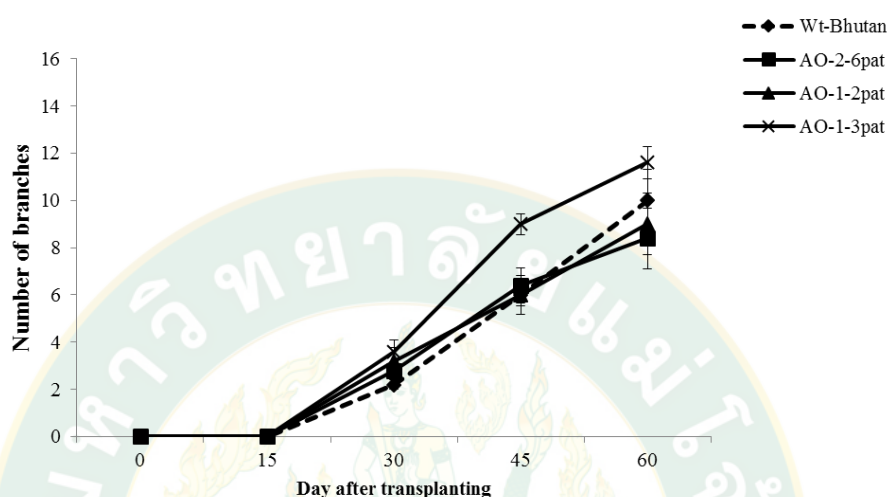


ภาพที่ 40 ลักษณะใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type

จำนวนกิ่งแขนง

จำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type พบว่าเมื่ออายุ 30 หลังย้ายปลูก ทั้งมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type เริ่มมีการสร้างกิ่งแขนงแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-3pat มีการสร้างกิ่งแขนงสูงที่สุดและมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ รวมถึงมันฝรั่ง wild type ในช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก เมื่อพิจารณาที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก พบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ยต่อต้นสูงที่สุดคือ line AO-1-2pat

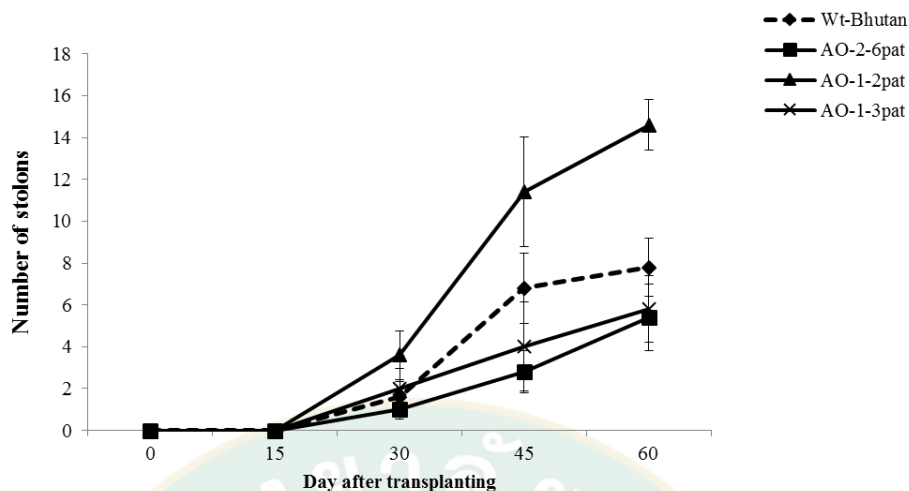
(11.6 กิ่ง) รองลงมาคือมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-2-6pat และมันฝรั่ง wild type มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ยต่อต้นที่ 10.6 และ 10 กิ่งต่อต้น ตามลำดับ และจำนวนกิ่งแขนงต่อที่ต้นต่ำสุดคือมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ย 9 กิ่งต่อต้น (ภาพที่ 41)



ภาพที่ 41 จำนวนกิ่งแขนงของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แยกคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

จำนวนไหล

มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type ไม่มีการสร้างไหลที่อายุ 15 วันหลังย้ายปลูก มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type เริ่มมีการสร้างไหลเมื่ออายุ 30 วันหลังย้ายปลูก และมีแนวโน้มเพิ่มสูงตามอายุหลังย้ายปลูก โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat มีจำนวนไหลเฉลี่ยต่อต้นสูงกว่ามันฝรั่ง wild type และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก เมื่อพิจารณาจำนวนไหลที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก พบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat มีการสร้างไหลสูงที่สุด (14.6 ไหล) ส่วนมันฝรั่งที่สร้างจำนวนไหลที่ต่ำที่สุดในการศึกษาครั้งนี้คือมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-2-6pat (5.4 ไหล) และต่ำกว่ามันฝรั่ง wild type (7.8 ไหล) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 42)



ภาพที่ 42 จำนวนไหลของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

จำนวนต้นที่ออกดอก

มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมมีการออกดอกเมื่ออายุ 40 หลังย้ายปลูก ซึ่งเป็นระยะชักนำการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบด้วยสภาพแสงวันยาว ในขณะที่มันฝรั่ง wild type ไม่มีการการออกดอกตลอดระยะที่ได้การศึกษา ซึ่งในระหว่างมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* มีเพียงมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-2-6pat ที่ออกดอกสูงร้อยละ 80 ในขณะที่มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat และ AO-1-3pat ไม่มีการออกดอก (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 การออกดอกของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5)

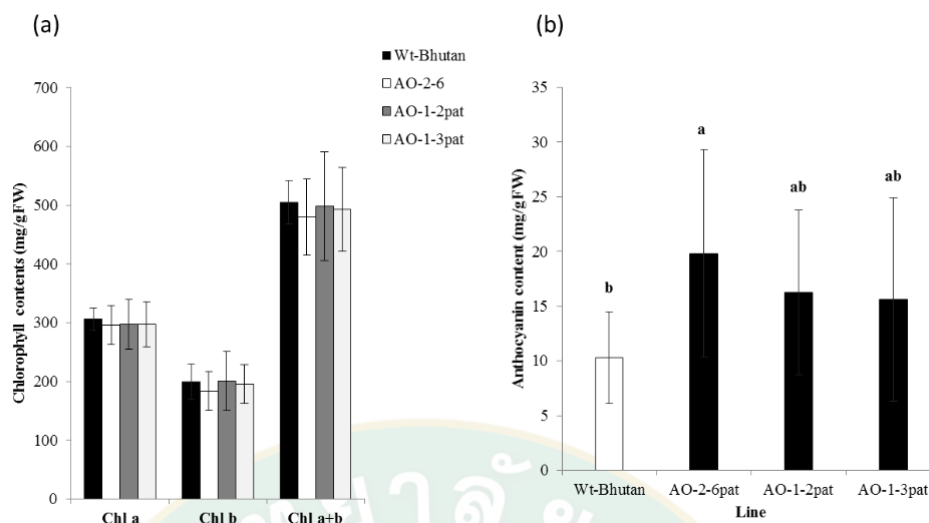
Line	No. of flowering plant (%)	No. of non-flowering plant (%)
Wt-Bhutan	0 (0)	5 (100)
AO-2-6pat	4 (80)	1 (20)
AO-1-2pat	0 (0)	5 (100)
AO-1-3pat	0 (0)	5 (100)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และปริมาณคลอโรฟิลล์รวม ที่พบในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line และมันฝรั่ง wild type ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปริมาณคลอโรฟิลล์เออยู่ที่ระหว่าง 296-306 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด คลอโรฟิลล์บี 184-200 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และคลอโรฟิลล์รวมอยู่ระหว่าง 480-505 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่43a)

ปริมาณแอนโทไซยานินในใบ

ปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมในใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-2-6pat มีปริมาณสูงที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ย 20 mg/gFW และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat และ AO-1-3pat ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินในใบเฉลี่ย 16 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด เท่ากัน สามารถสังเกตได้ว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ นั้นจะมีการสะสมสารแอนโทไซยานินในใบที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type ที่มีการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ย 10 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 43b)



ภาพที่ 43 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (Chl a) คลอโรฟิลล์บี (Chl b) คลอโรฟิลล์รวม (Chl a+b) : (a) และปริมาณแอนโทไซยานินในใบ : (b) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และAO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ขนาดของปากใบ

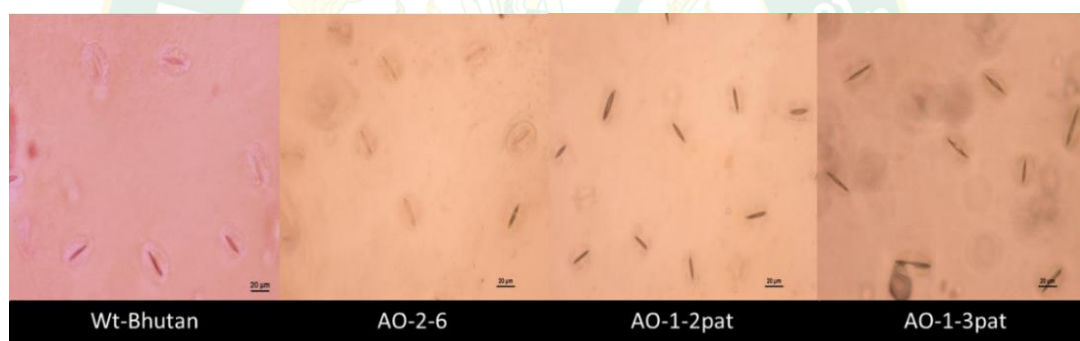
ขนาดปากใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 44) พบว่าความยาวปากใบนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีความยาวปากใบอยู่ระหว่าง 34.3-35 ไมโครเมตร และในส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางปากใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางปากใบเฉลี่ยอยู่ที่ 21.7-23 ไมโครเมตร (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ขนาดปากใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=9)

Line	Size (μm)	
	Length	Diameter ^A
Wt-Bhutan	34.4±1.71 a	23.0±1.05 a
AO-2-6pat	33.5±1.25 a	21.7±1.29 a
AO-1-2pat	34.3±2.15 a	21.7±1.07 a
AO-1-3pat	35.0±1.53 a	22.3±1.29 a

หมายเหตุ ^A ทำการวัดจากเซลล์คุมปากใบ

ค่าเฉลี่ยที่ระบุด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

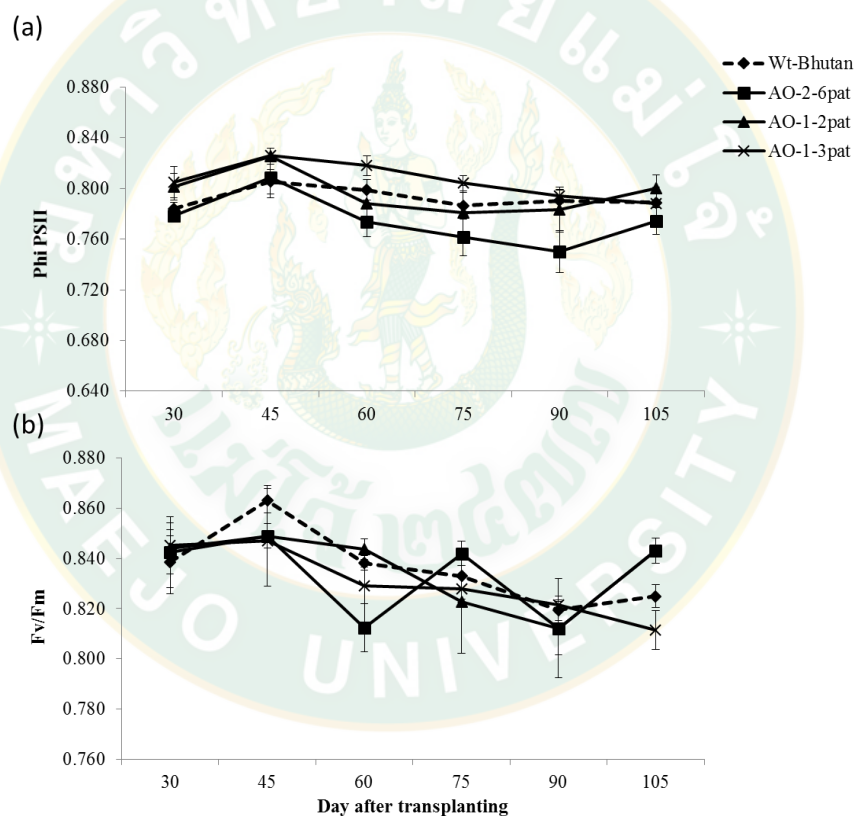


ภาพที่ 44 ลักษณะปากใบชั้นใต้ใบ (abxial) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 40X: (Scale bar = 20 μm)

ดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์

ดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ที่ทำการบันทึกข้อมูลคือ ค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) และค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) ในการทดลองครั้งนี้พบว่าในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type มีค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) เพิ่มขึ้นสูงสุด

ในช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก และหลังจากนั้นค่า Phi PSII มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องและลดลงจนถึงการบันทึกข้อมูลครั้งสุดท้ายที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูก และพบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม AO-2-6pat มีค่า Phi PSII ต่ำกว่า line อื่น ๆ และมันฝรั่ง wild type (ภาพที่ 45a) และเมื่อทำการวัดค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (F_v/F_m) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type พบว่าค่า F_v/F_m มีค่าสูงกว่า 0.8 ที่เป็นค่าบ่งชี้เกี่ยวกับความเสียหายของการทำงานของระบบแสงที่สอง ของพืชที่เกิดจากแสง และมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตั้งแต่อายุ 30 วันหลังย้ายปลูก ในช่วงอายุและสังเกตได้ว่า F_v/F_m ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก line และมันฝรั่ง wild type มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องหลังจากอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 45b)



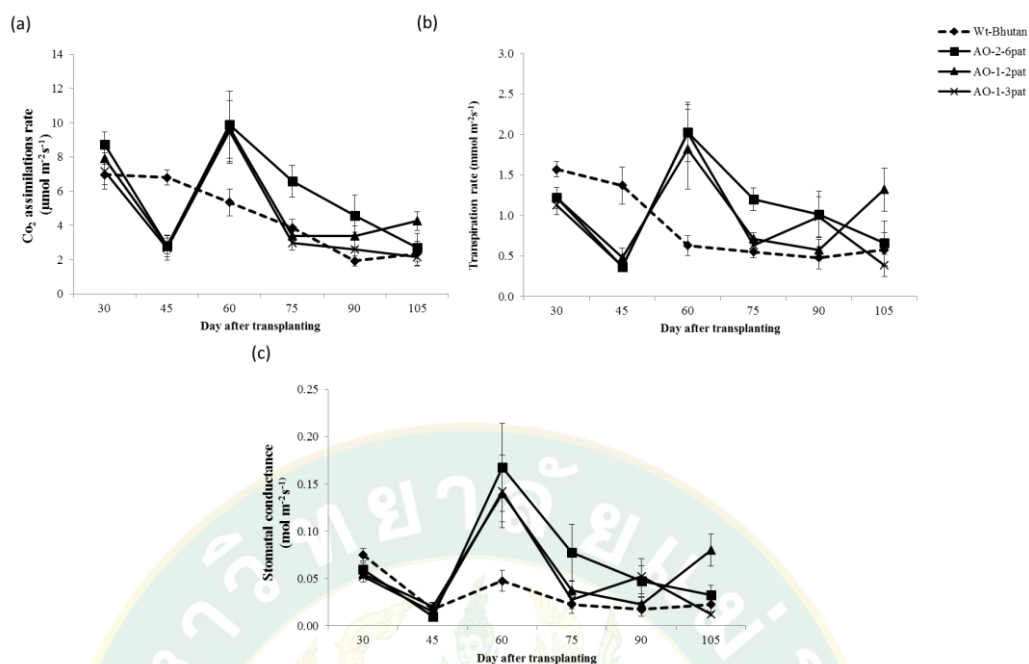
ภาพที่ 45 ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองภายใต้สภาวะที่มีแสง (Phi PSII) (a) และ ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (F_v/F_m) (b) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=5$)

ดัชนีทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องปฏิกิริยาคาร์บอน

ค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A) พบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีค่าลดลงต่ำสุด ในช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก และมีการเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงอายุ 60 วันหลังย้ายปลูก หลังจากนั้นสังเกตได้ว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A) ของมันฝรั่ง wild type เริ่มลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูก และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมกับมันฝรั่ง wild type ที่ช่วงอายุ 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 45a)

ส่วนค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) ในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) ลดลงหลังจาก 30 และ 45 วันหลังย้ายปลูก มีการเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออายุ 60 วันหลังย้ายปลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type และลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่ค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E) ของมันฝรั่ง wild type มีการลดลงตั้งแต่อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก และลดลงต่ำสุดที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 45b)

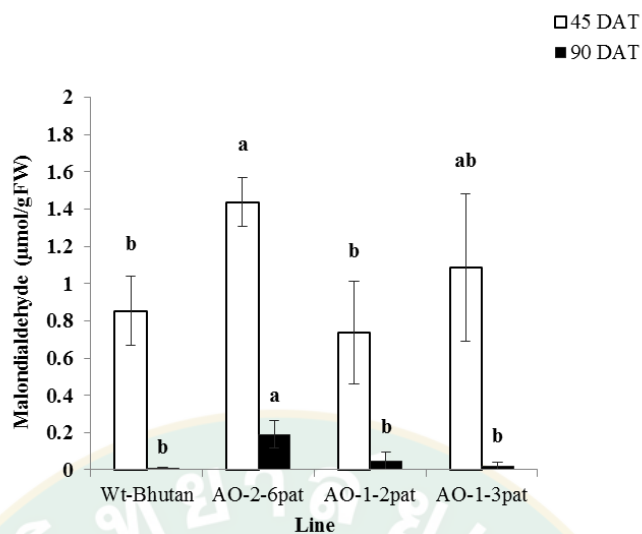
ค่าการนำไหลของปากใบ (gs) พบว่าหลังอายุ 30 วันหลังย้ายปลูกจนถึง 45 วันหลังย้ายปลูก ทั้งมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type มีค่าการนำไหลของปากใบ (gs) ลดลงและเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้นค่าการนำไหลของปากใบ (gs) มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ยกเว้นมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat ที่มีการเพิ่มขึ้นในอายุ 105 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 45c)



ภาพที่ 46 (a) ค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (A: CO₂ assimilations rate) (b) ค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (E: Transpiration rate) และ (c) ค่าการนำไหลของปากใบ (gs: Stomatal conductance) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4)

ปริมาณลิพิดเพอร็อกซิเดชัน

การประเมินการเกิดลิพิดเพอร็อกซิเดชัน (lipid peroxidation) ในมันฝรั่งที่อายุ 45 และ 90 วันหลังย้ายปลูก พบว่าปริมาณ Malondialdehyde (MDA) มีความแตกต่างกัน โดยในช่วงอายุ 45 วันหลังย้ายปลูกมีปริมาณ MDA สูงกว่าที่อายุ 90 วันหลังย้ายปลูก โดยที่อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่มีปริมาณ MDA สูงที่สุดคือ line AO-2-6pat และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type และมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ ยกเว้น line AO-1-3pat โดยปริมาณ MDA ที่มีค่าต่ำสุดคือมันฝรั่ง wild type ส่วนที่อายุ 90 วันหลังย้ายปลูกพบว่าปริมาณ MDA ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมและมันฝรั่ง wild type ลดลงอย่างชัดเจน แต่มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line ยังคงมีปริมาณ MDA สูงกว่ามันฝรั่ง wild type อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 47)



ภาพที่ 47 ปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type แถบ คลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4): (DAT=Day after transplanting)

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

มวลน้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมมีน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นสูงกว่ามันฝรั่ง wild type ยกเว้นมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-3pat ที่มีน้ำหนักสดและแห้งของลำต้นน้อยที่สุด มีน้ำหนักเฉลี่ย 181.2 กรัม และ 12.1 กรัม ตามลำดับ มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นสูงสุดคือ line AO-1-2pat โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 273 กรัม และ 18.3 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type และมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line อื่นๆ ในส่วนของน้ำหนักสดรากและน้ำหนักแห้งรากนั้นพบว่า มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม AO-1-2pat มีน้ำหนักสูงสุด เฉลี่ยอยู่ที่ 23.5 กรัม และ 2.16 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 น้ำหนักสดต้น (Shoot fresh weight) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot dried weight) น้ำหนักสดราก (Root fresh weight) และน้ำหนักแห้งราก (Root dried weight) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=5)

Line	Shoot FW (g)	Shoot DW (g)	Root FW (g)	Root DW (g)
Wt-Bhutan	204±40.4 bc	13.7±2.66 b	12.7±4.89 a	1.28±0.46 a
AO-2-6pat	232.8±28.4 b	12.2±1.11 b	17.8±9.15 a	1.95a±0.79 a
AO-1-2pat	273±22.7 a	18.3±4.11 a	23.5±7.16 a	2.16±0.28 a
AO-1-3pat	181.2±22.7 c	12.1±3.26 b	13.0±2.74 a	1.54±0.20 a

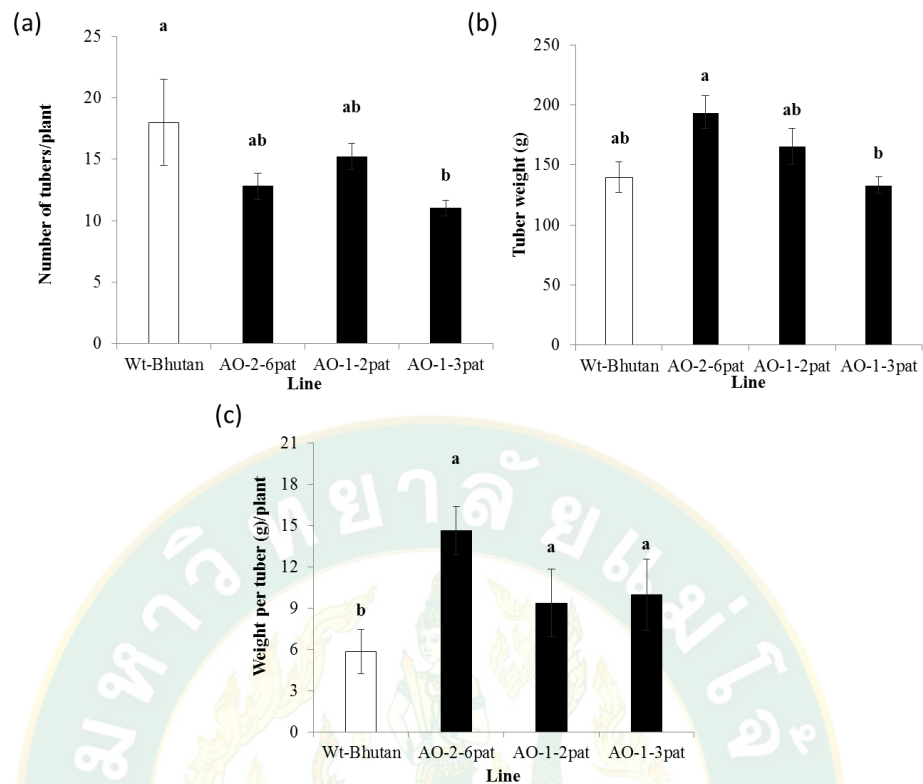
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ระบุด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จำนวนหัวและน้ำหนักหัว

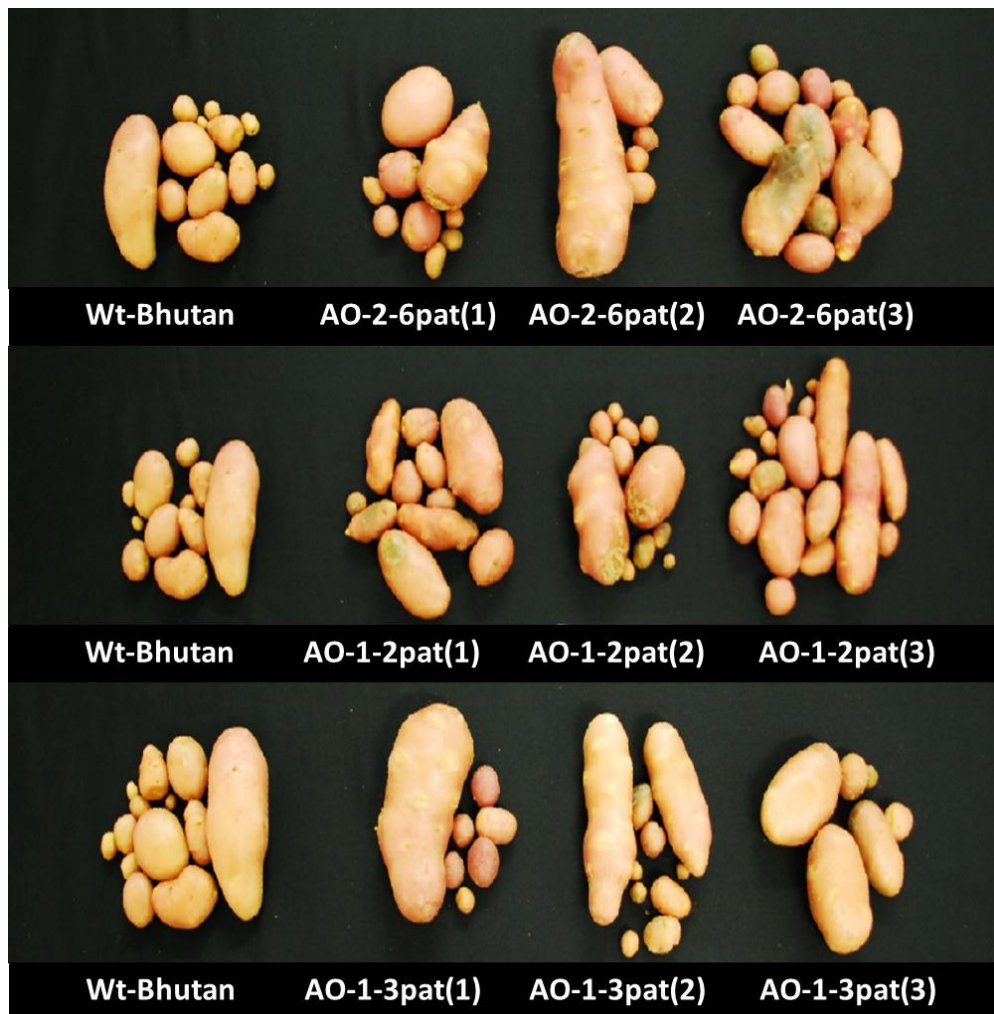
เมื่อมันฝรั่งที่อายุ 120 วันหลังจากย้ายปลูก ได้ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตพบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมนั้นมีจำนวนหัวต่อต้นที่ต่ำกว่ามันฝรั่ง wild type แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-3pat ที่พบว่ามีจำนวนหัวเฉลี่ยต่อต้นต่ำที่สุดคือ 11 หัว และความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type ที่มีจำนวนหัวเฉลี่ย 18.0 หัว โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีจำนวนหัวต่อต้นสูงที่สุดคือ line AO-1-2pat มีจำนวนหัวเฉลี่ย 15 หัว (ภาพที่ 48a) หากพิจารณาจากลักษณะของหัวเห็นได้ว่า AO-2-6pat, AO-1-2pat, และ AO-1-3pat มีขนาดของหัวที่ใหญ่กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ wild type ที่มีจำนวนหัวขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก

น้ำหนักหัวรวมพบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม AO-2-6pat และ AO-1-2pat มีน้ำหนักสูงกว่ามันฝรั่ง wild type แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line มันฝรั่ง AO-2-6pat และ AO-1-2pat มีน้ำหนักหัวรวมเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 194 และ 165 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 48b)

นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักต่อหัวของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีความแตกต่างกันกับมันฝรั่ง wild type โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อหัวสูงที่สุดคือ AO-2-6pat และมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมันฝรั่ง wild type (ภาพที่ 48c)



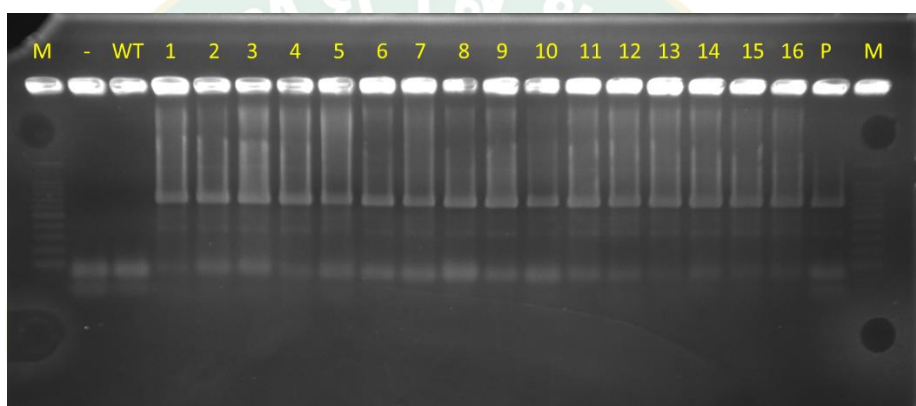
ภาพที่ 48 จำนวนหัวต่อต้น (a) น้ำหนักหัวรวม (b) และน้ำหนักต่อหัว (c) ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับ wild type แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



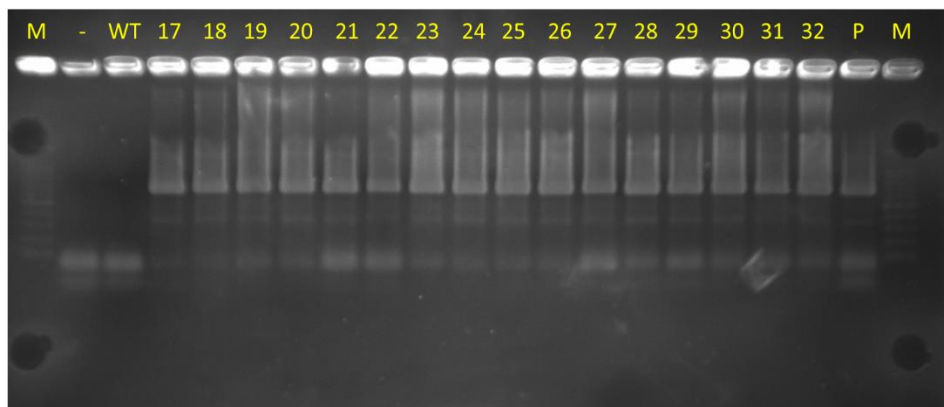
ภาพที่ 49 ลักษณะของหัวมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* line AO-2-6pat AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type

ผลการทดลองที่ 2.2 การตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *ORGAN SIZE RELATED1 (OSR1)* ในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม

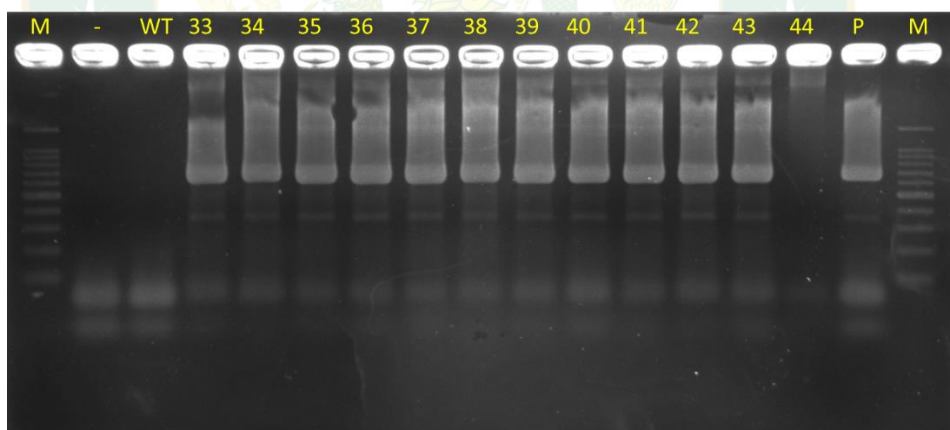
ผลการตรวจสอบความคงอยู่ของยีนในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมรวมทั้งหมด 44 ต้น ที่มาจาก construct pBI121::35s::OSR1 และ construct pBI121::patatin::OSR1 พบว่าต้นมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุกต้นที่มาจาก construct pBI121::patatin::OSR1 มีการคงอยู่ของยีนในทุก ๆ ต้นที่ได้ทำการปลูกศึกษา ยกเว้นใน construct pBI121::35s::OSR1 ที่พบว่าในต้นที่ 5 ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-10 ต้นที่ 5 ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 700 bp (ภาพที่ 51)



ภาพที่ 50 ผลผลิตการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม M=100 kb Ladder, - =non sample, WT=wild type, 1=AO-1-2 pat (1), 2=AO-1-2pat (2), 3=AO-1-2pat (3), 4=AO-1-2pat (4), 5=AO-1-2pat (5), 6=AO-1-3pat (1), 7=AO-1-3pat (2), 8=AO-1-3pat (3), 9=AO-1-3pat (4), 10=AO-1-3pat (5), 11=AO-2-6pat (1), 12=AO-2-6pat (2), 13=AO-2-6pat (3), 14=AO-2-6pat (4), 15=AO-1-5 (1), 16=AO-1-5 (2), P= positive control, M=100 kb Ladder



ภาพที่ 51 ผลผลิตการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม M=100 kb Ladder, - =non sample, WT=wild type, 17=AO-1-5 (3), 18=AO-1-5 (4), 19=AO-1-5 (5), 20=AO-1-19 (1), 21=AO-1-19 (2), 22=AO-1-19 (3), 23=AO-1-19 (4), 24=AO-1-19 (5) 25=AO-1-4 (1), 26=AO-1-4 (2), 27=AO-1-4 (3), 28=AO-1-4 (4), 29=AO-1-4 (5), 30=AO-1-18 (1), 31=AO-1-18 (2), 32=AO-1-18 (3), P= positive control, M=100 kb Ladder



ภาพที่ 52 ผลผลิตการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม M= 100 kb Ladder, - =non sample, WT= wild type, 33=AO-1-18 (4), 34=AO-1-18 (5), 35=AO-1-21 (1), 36=AO-1-21 (2), 37=AO-1-21 (3), 38=AO-1-21 (4), 39=AO-1-21 (5), 40=AO-1-10 (1), 41=AO-1-10 (2), 42=AO-1-10 (3), 43=AO-1-10 (4), 44=AO-1-10 (5), P= positive control, M=100 kb Ladder

ผลการทดลองที่ 3 ระยะเวลาในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1*

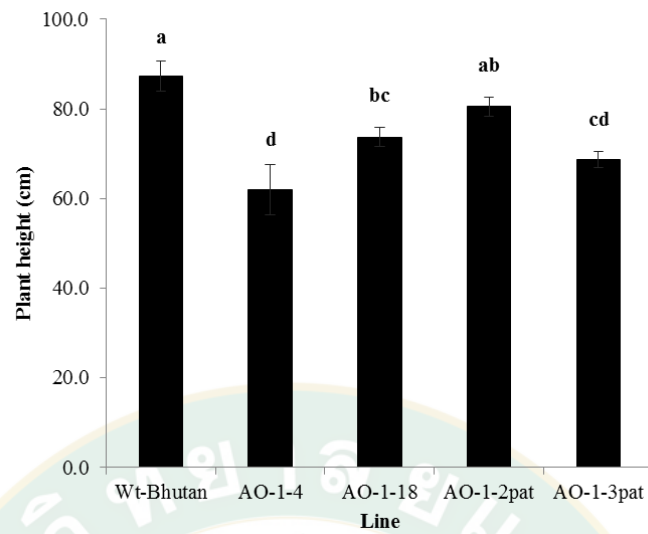
ทำการศึกษาช่วงอายุในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม construct pBI121::35S::OSR1 ประกอบด้วยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 และ AO-1-18 และ construct pBI121::patatin::OSR1 ประกอบด้วยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat และ AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type สายพันธุ์ “Bhutan” ปลูกภายใต้สภาพแสง LED3200K+6500K (2:1) กำหนดความเข้มแสงที่ $150 \pm 5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ผลการศึกษาดังนี้

ความสูงของลำต้น

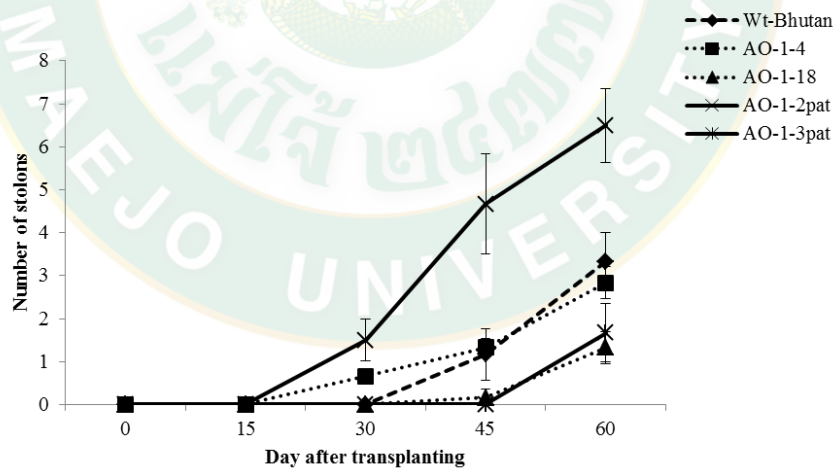
การเจริญเติบโตด้านความสูงที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูก พบว่ามันฝรั่ง wild type นั้นมีความสูงเฉลี่ยสูงสุด (87.3 เซนติเมตร) และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม ยกเว้น line AO-1-2pat และความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุดในการทดลองคือ มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 (62.4 เซนติเมตร) (ภาพที่ 53)

จำนวนไหล

จำนวนไหลพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat และ AO-1-4 มีการสร้างที่อายุ 30 วันหลังย้ายปลูก และมันฝรั่ง wild type พบการสร้างไหลที่อายุ 45 หลังย้ายปลูก ส่วนมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-18 และ AO-1-3pat พบการสร้างไหลที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก เมื่อพิจารณาจำนวนไหลที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก พบว่า มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat มีจำนวนไหลสูงสุด (6.8 ไหล) และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type และมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ โดยจำนวนไหลที่น้อยที่สุดพบในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-18 (1.2 ไหล) (ภาพที่ 54)



ภาพที่ 53 ความสูงลำต้นของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=4) ที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูกลง



ภาพที่ 54 จำนวนไหลของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat, AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=4)

น้ำหนักสดและแห้งของลำต้นกับราก

น้ำหนักสดของลำต้นและใบ พบว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat มีน้ำหนักสดลำต้นสูงที่สุด (135.3 กรัม) และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type น้ำหนักสดลำต้นน้อยที่สุด (104.8 กรัม) น้ำหนักแห้งของลำต้นพบว่ามีมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-18 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด (10 กรัม) และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 (2.09 กรัม) และมันฝรั่ง wild type (1.02 กรัม) ที่มีน้ำหนักต่ำที่สุด และในส่วนของน้ำหนักสดและแห้งของราก พบว่ามีมันฝรั่งดัดแปลง line AO-1-3pat มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด (24.7 และ 3.15 กรัม) โดยน้ำหนักสดและแห้งของรากต่ำที่สุดคือ มันฝรั่ง wild type (13.8 และ 1.02 กรัม) (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 น้ำหนักสดต้น (Shoot FW) น้ำหนักแห้งต้น (Shoot DW) น้ำหนักสดราก (Root FW) และน้ำหนักแห้งราก (Root DW) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* เปรียบเทียบมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูก (n=5)

Line	Shoot FW (g)	Shoot DW (g)	Root FW (g)	Root DW (g)
Wt-Bhutan	104.8±5.35 c	7.19±1.13 b	13.8±3.76 b	1.02±0.32 c
AO-1-4	110.8±7.67 bc	6.85±0.91 b	16.3±6.02 b	2.09±0.71 b
AO-1-18	128.5±2.90 ab	10±1.22 a	23.5±4.23 a	2.57±0.64 ab
AO-1-2pat	135.3±6.98 a	9.24±0.79 a	23.7±3.21 a	2.33±0.61 b
AO-1-3pat	121.5±6.61 abc	8.62±1.30 ab	24.7±2.07 a	3.15±0.42 a

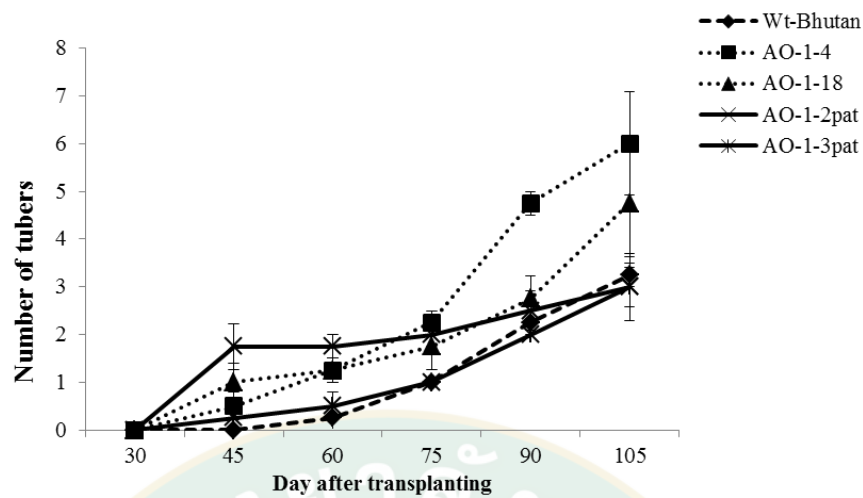
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ระบุด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



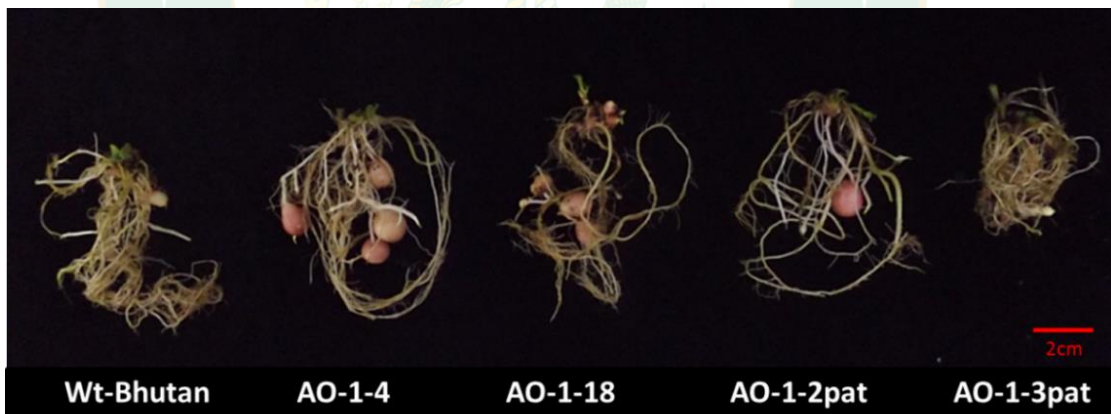
ภาพที่ 55 ลักษณะลำต้นของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก

จำนวนหัวแต่ละช่วงอายุ

จำนวนหัวแต่ละช่วงอายุพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line เริ่มมีการสร้างหัวเมื่ออายุ 45 วันหลังย้ายปลูก แต่มันฝรั่ง wild type พบการสร้างหัวที่อายุ 60 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 56) และมีจำนวนหัวเพิ่มสูงขึ้นในแต่ละช่วงอายุมันฝรั่ง และเมื่อมันฝรั่งมีอายุ 105 วันหลังย้ายปลูกพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมละมันฝรั่ง wild type ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีลักษณะหัวและไหลอย่างชัดเจน (ภาพที่ 57) โดยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 มีจำนวนหัวเฉลี่ยสูงสุด (6 หัว) และต่ำสุดพบในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-2pat และ AO-1-3pat ที่มีจำนวนหัวเฉลี่ย 3 หัวเท่ากัน



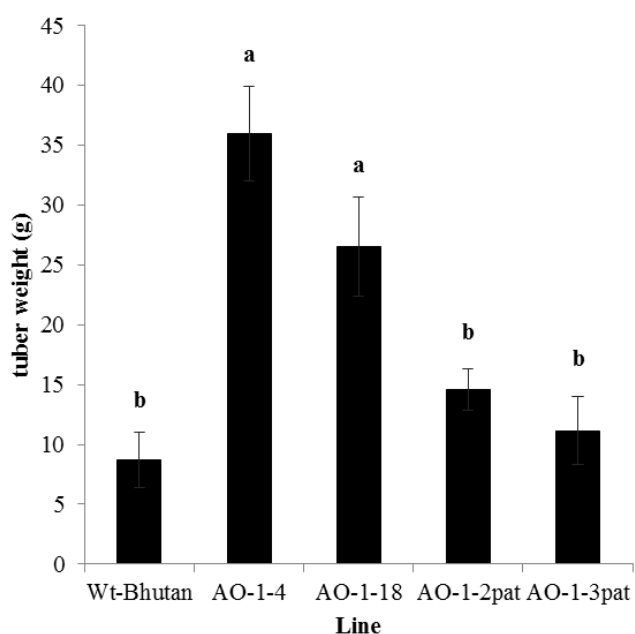
ภาพที่ 56 ช่วงอายุในการสร้างหัวของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ในแต่ละช่วงอายุหลังย้ายปลูก (n=4)



ภาพที่ 57 การเจริญเติบโตในส่วนลำต้นใต้ดิน (หัว) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก

น้ำหนักหัว

น้ำหนักหัวของมันฝรั่งที่อายุ 105 วัน พบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 นั้นมีน้ำหนักหัวรวมเฉลี่ยสูงสุด (36 กรัม) และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับมันฝรั่ง wild type และมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ ยกเว้น line AO-1-18 และน้ำหนักหัวรวมเฉลี่ยน้อยที่สุด คือมันฝรั่ง wild type (8.7 กรัม) (ภาพที่ 56)



ภาพที่ 58 น้ำหนักหัวรวมของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จาก construct pBI121::35S::OSR1 คือ line AO-1-4 AO-1-18 และ pBI121::patatin::OSR1 คือ line AO-1-2pat AO-1-3pat เปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type (n=4)

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณภาพของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่งภายใต้สภาพควบคุม

ในสภาวะการปลูกพืชที่ไม่อาศัยแสงจากธรรมชาติ แหล่งของแสงจากหลอดไฟชนิดต่าง ๆ ได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางเพื่อเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช ในปัจจุบันหลอด LED เป็นแหล่งที่มาของแสงเทียมที่ได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับเป็นอย่างมาก ที่ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับการปลูกพืช หลายชนิด เช่นเบญจมาศ (Kim et al., 2004) แตงกวา (Brazaityte et al., 2009) ผักกาดขาว (Li et al., 2012) มะเขือเทศ (Brazaityte et al., 2010) และผักสลัด (Weiguo et al., 2012) และการขยายพันธุ์ในหลอดแก้วเนื่องจากการปลดปล่อยความร้อนออกมาน้อย มีอายุการใช้งานที่ยาวนาน มีช่วงคลื่นที่จำเพาะและที่สำคัญคือประหยัดพลังงาน อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับการใช้หลอด LED ในมันฝรั่งสำหรับการปลูกเพื่อประเมินการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตภายใต้สภาพควบคุมนั้นยังมีอยู่ในวงจำกัด มีเพียงการใช้เพื่อเป็นแหล่งของแสงสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเท่านั้น (Muleo et al., 2001; Seabrook, 2005) คุณภาพแสงถือว่าเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณาเพื่อนำมาใช้ในการปลูกพืชในระบบควบคุม คุณภาพสเปกตรัมของแสงมีความสัมพันธ์กับความเข้มแสงและคุณภาพของแต่ละช่วงคลื่นที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากแหล่งของแสงและการรับรู้โดยตัวรับแสงภายในพืช ซึ่งผลผลิตและคุณภาพของพืชนั้นเป็นผลมาจากปฏิสัมพันธ์ของปัจจัยสิ่งแวดล้อมหลายอย่างที่พืชสามารถเจริญเติบโตได้ ซึ่งในการศึกษาได้ทำการทดสอบอิทธิพลของคุณภาพแสงที่มีความแตกต่างกันของสเปกตรัมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมันฝรั่งพันธุ์ “Bhutan” และ “Spunta” ภายใต้สภาพควบคุม นาน 105 วัน โดยคุณภาพของแสงนั้นมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นเหนือดินของมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์ ที่พบว่าเมื่อปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K และ 3200K+6500K (2:1) ทำให้มันฝรั่งทั้งสองพันธุ์มีความสูงของลำต้นสุดท้ายเพิ่มขึ้นมากกว่าหลอด R:B (ภาพที่ 11) สิ่งหนึ่งที่พบว่ามี ความแตกต่างกันระหว่างหลอด LED ที่เป็นแสงขาวกับหลอด R:B คือ สัดส่วนของแสงสีเขียวในสิ่งทดลองที่เป็นแสงขาวที่มีค่าอยู่ระหว่าง 34-38% (ตารางที่ 2) ในขณะที่หลอด R:B มีเพียง 2% สอดคล้องกับการศึกษาในพืทุเนย ที่ปลูกภายใต้แสงขาวมีการเจริญเติบโต พัฒนาการและการสังเคราะห์แสงที่ดีกว่าการปลูกภายใต้หลอด R:B (Phansurin et al., 2017) นอกจากนี้ยังมีรายงานที่ทำการศึกษากการปลูกแรดิช และผักโขม (Yorio et al., 2001) ภายใต้หลอดฟลูออเรสเซนต์ ทำให้มีน้ำหนักแห้งสูงกว่าการปลูกภายใต้หลอด R:B ที่ไม่มีแสงสีเขียว การเพิ่มแสงสีเขียวในหลอด R:B ยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของ

สลัดได้ด้วยเช่นกัน (Kim et al., 2004) จากผลการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าแสงสีเขียวมี่ความสำคัญต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

รงควัตถุในพืชมีรูปแบบการดูดกลืนแสงเฉพาะที่เรียกว่าสเปกตรัมการดูดซับ ซึ่งความยาวคลื่นทางชีวสังเคราะห์สำหรับการสร้างรงควัตถุในพืชนั้นเรียกว่า action spectra (Xiaoying et al., 2012) โดยคลอโรฟิลล์ มีการดูดซับแสงที่สูงสุดและต่ำสุดที่ 400-500 nm และ 630-680 nm ตามลำดับ ในการทดลองนี้ถึงแม้ว่าคุณภาพแสงในทุกสิ่งทดลองที่แตกต่างกันถูกนำไปใช้กับพืชที่ระดับความเข้มแสง (PPFD) เท่ากัน แต่มีนัฟรังทั้งสองพันธุ์แสดงการดูดซับสเปกตรัมที่คล้ายกันของรงควัตถุในการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์เอ, คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวม (ภาพที่ 17) ทั้งนี้ระดับความเข้มแสง (PPFD) ที่ใช้มีความจำเป็นเพียงพอต่อการสังเคราะห์และกิจกรรมการสังเคราะห์แสงของรงควัตถุและตัวอิเล็กตรอน (electron carriers) (Saebo et al., 1995) พืชที่มีส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์ในปริมาณที่ต่ำ อาจจะมีการใช้คลอโรฟิลล์ได้มีประสิทธิภาพมากกว่าพืชที่มีคลอโรฟิลล์สูง การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันของปริมาณ คลอโรฟิลล์เอ, คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมในใบมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ในพันธุ์ “Spunta” ภายใต้คุณภาพแสง R:B มีค่าต่ำสุด ในขณะที่พันธุ์ “Bhutan” ภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) มีค่าต่ำสุด แสดงให้เห็นว่ามันฝรั่งแต่ละพันธุ์มีการใช้คลอโรฟิลล์มีประสิทธิภาพภายใต้คุณภาพแสงที่แตกต่างกันโดยพันธุ์ “Spunta” มีประสิทธิภาพการใช้คลอโรฟิลล์มีมากขึ้นภายใต้คุณภาพแสง R:B ส่วนพันธุ์ “Bhutan” ภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) แต่อย่างไรก็ตามกลไกของการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาแสงภายใต้การให้แสงชนิดต่าง ๆ นั้นยังไม่ชัดเจน มันฝรั่งที่ปลูกภายใต้แสงทุกชนิดในการทดลองนี้แสดงการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เอมากกว่าคลอโรฟิลล์บี ซึ่งน่าจะมาจากช่วงสเปกตรัมของคลอโรฟิลล์เอ มีความกว้างกว่าคลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวม (ภาพที่ 17) ซึ่งมีโมเลกุลที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นได้ (Calatayud et al., 2004; Li and Kubota, 2009; Lina et al., 2013)

อิทธิพลของคุณภาพแสงและพันธุ์นั้น จากผลการทดลองพบว่าคุณภาพแสงนั้น โดยภาพรวมไม่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่ง ซึ่งหากพิจารณาแต่ละคุณภาพแสงนั้น มีส่วนประกอบของแสงสีแดงและสีน้ำเงินเป็นองค์ประกอบหลัก และมีเปอร์เซ็นต์ของสัดส่วนแสงแต่ละสีที่ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 2) ซึ่งเป็นช่วงคลื่นแสงที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช (Olle and Virsile, 2013) แต่อิทธิพลของพันธุ์จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า มีผลทำให้มันฝรั่งทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตที่ต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน ทั้งนี้อาจเกิดจากการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมและการปรับตัวของพืชภายใต้สภาพแสงเทียม ดังเช่นการศึกษาในถั่วจำนวน 4 สายพันธุ์ในสภาพแสงเทียมที่มีความเข้มแสงเท่าๆกัน ผลคือถั่วแต่ละสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตที่ต่างกัน (Hodges and Barber, 1983) และประกอบกับลักษณะประจำพันธุ์ที่ต่างกัน คือ พันธุ์ “Spunta” นั้น

จัดเป็นมันฝรั่งกลุ่ม Charlotte คือทรงลำต้นเลื้อย จำนวนใบน้อย หัวมีสีเหลืองและเนื้อสีเหลือง (Rykbost et al., 1990) ส่วนในพันธุ์ Bhutan จัดอยู่ในกลุ่ม Desiree คือทรงต้นเป็นพุ่ม ใบหนา แตกตาข้างมาก หัวจะมีเปลือกสีชมพู และเนื้อสีเหลือง (Abu-Zinada and Mousa, 2015) จึงอาจส่งผลทำให้มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตในด้านต่างๆ และเมื่อวิเคราะห์อิทธิพลร่วมของคุณภาพแสงกับพันธุ์นั้น ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตทางด้านเหนือดินและใต้ดินของมันฝรั่ง (ตารางที่ 5)

การสร้างหัวในมันฝรั่งนั้นถูกควบคุมโดยสภาพแวดล้อมเป็นหลัก โดยเฉพาะแสงทั้งช่วงของวัน และคุณภาพของแสงที่มีผลต่อมันฝรั่ง ในมันฝรั่งการสร้างหัวถูกชักนำให้ลงหัวได้ในช่วงวันสั้น โดยกิจกรรมการสร้างหัวนั้นขึ้นอยู่กับตัวรับแสง (Photoreceptor) ซึ่งขึ้นอยู่กับสัญญาณจากสิ่งแวดล้อมไปยังพืช และไฟโตโครมบีพบว่ามีส่วนร่วมในการทำให้เกิดหัว กิจกรรมของไฟโตโครมบีได้รับผลกระทบมาจากสเปกตรัมของแสง โดยแสงสีแดงทำหน้าที่กระตุ้น ขณะที่แสงสีแดงแบบ far-red นั้นทำหน้าที่ยับยั้ง (Casal, 2013) แต่พบว่าแสงสีน้ำเงินมีผลต่อการลงหัวของมันฝรั่ง (Fixen et al., 2012) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าคุณภาพของแสงมีผลต่อจำนวนหัวของมันฝรั่ง และแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองที่ต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์ “Bhutan” ที่มีการตอบสนองต่อหลอด LED แสงขาว 6500K และหลอด R:B ที่มีร้อยละของแสงสีแดงและน้ำเงินที่สูงกว่าสิ่งทดลองอื่น ซึ่งสีของแสงทั้งสองชนิดทำหน้าที่กระตุ้นไฟโตโครมบีและส่งเสริมการลงหัว ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองในการศึกษาผลของแสงสีแดงต่อการสร้างหัวของมันฝรั่ง (Plantenga et al., 2016) ที่มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างไหลเพื่อสะสมอาหารและการส่งถ่ายฮอร์โมนกลุ่ม Gibberellin (GA) เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาในมันฝรั่งพบว่าแสงสีแดงนอกจากจะมีผลต่อการกระตุ้นไฟโตโครมบีแล้วยังมีผลต่อการส่งถ่ายฮอร์โมนกลุ่ม Gibberellin (GA) ทำให้ลำต้นใต้ดิน (stolon) พัฒนากลายเป็นหัว (Garcia-Martinez and Gil, 2001) จากรายงานการปลูกมันฝรั่งในระบบ *in vitro* ร่วมกับการให้แสงสีที่ต่างกันพบว่าแสงสีน้ำเงินแดงมีผลทำให้เพิ่มจำนวนตาข้างในขณะที่แสงสีน้ำเงินมีผลในการข่มตาข้าง (Muleo et al., 2001) และการเปลี่ยนแปลงช่วงคลื่นของแสงสามารถยับยั้งตาข้างของต้นมันฝรั่งเพื่อให้เกิดการสร้างหัวขนาดเล็กได้ (Seabrook, 2005) อีกทั้งคุณภาพของช่วงแสงยังสามารถนำมาใช้ในการเพิ่มจำนวนใบและต้นของมันฝรั่งในระบบเพาะเนื้อเยื่อ จากผลการทดลองดังกล่าวจึงเลือกใช้คุณภาพแสง 3200K+6500K (2:1) ในการศึกษามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับ *OSR1* เนื่องจากส่งผลให้มันฝรั่งพันธุ์ “Bhutan” ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ใช้ในการถ่ายโอนยีนครั้งนี้ เจริญเติบโตทางด้านต้น ใบ และสร้างหัวอยู่ในระดับที่สูง

การทดลองที่ 2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับ ยีน *OSR1*

ยีน *ORGAN SIZE RELEATE1 (OSR1)* ซึ่งเป็นยีนสมาชิกกลุ่ม *ARGOS* ที่มีบทบาทในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชผ่านการขยายขนาดของอวัยวะต่าง ๆ (Feng et al., 2011) และได้ถูกอนุรักษ์ไว้ในระบบวิวัฒนาการของพืช ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* จากทั้ง 2 construct โดยทั่วไปมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวมปกติ และมีลักษณะไม่แตกต่างกับมันฝรั่ง wild type เมื่อพิจารณาดัชนีด้านการเจริญเติบโตของส่วนเหนือดิน มีเพียงบางลักษณะและบาง line ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่จากทั้ง 2 construct เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระหว่างมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line อื่นและมันฝรั่ง wild type โดยใน construct pBI121::35S มีเพียงจำนวนกิ่งแขนง ความยาวใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม AO-1-10 AO-1-18 AO-1-21 AO-1-24 ที่สูงกว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line อื่น ๆ และมันฝรั่ง wild type และยังพบว่าใบของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line ใน construct pBI121::35S มีขนาดใหญ่กว่า wild type บาง line มีใบประกอบมากกว่าห้าใบและไม่มีหูใบเกิดขึ้นใต้ใบประกอบ (ภาพที่ 24 และภาพที่ 40) นอกจากนี้มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีการออกดอก ส่วนใน construct pBI121::patatin มีการสร้างกิ่งจำนวนกิ่งแขนงที่มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมมีความแตกต่างกับ wild type คือ โดยมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม AO-1-3pat และ AO-2-6pat ที่มีค่าสูงกว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม AO-1-2pat และมันฝรั่ง wild type ด้านการออกดอกพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม AO-2-6pat เท่านั้นที่ออกดอก ในขณะที่มันฝรั่ง wild type ไม่มีการออกดอก และเมื่อพิจารณาด้านลักษณะของหัวพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line ทั้ง 2 construct นั้นมีลักษณะรูปร่างของหัวแตกต่างกับมันฝรั่ง wild type จนทำให้หัวเกิดการบิดเบี้ยวหรือเกิดการเสียรูปร่าง (ภาพที่ 34 ภาพที่ 35 และภาพที่ 48) โดยขนาดหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมมีขนาดที่ใหญ่กว่าเมื่อเทียบกับมันฝรั่ง wild type ที่มีการสร้างหัวขนาดที่เล็กกว่าแต่มีจำนวนมาก

โดยที่น้ำหนักหัวรวมของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม construct pBI121::35S ส่วนใหญ่มีแนวโน้มสูงกว่ามันฝรั่ง wild type แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับมันฝรั่ง wild type ยกเว้นมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม AO-1-10 และ AO-1-18 ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำหนักหัวรวมของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type นั้นมาจากน้ำหนักต่อหัวที่สูงกว่า แม้ว่าจะมีจำนวนหัวที่ต่ำกว่ามันฝรั่ง wild type (ภาพที่ 33) และใน construct pBI121::patatin มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมมีน้ำหนักหัวรวมที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type และมีจำนวนหัวน้อยกว่าเช่นเดียวกับใน construct pBI121::35S ยกเว้นมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม AO-1-3pat (ภาพที่ 48) อีกทั้งมีความเป็นไปได้ว่าขนาดของกระถางอาจมีผลต่อการขยายขนาดของหัว ทำให้ขนาดและจำนวนหัวถูกจำกัด

และเป็นสิ่งที่สังเกตว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line มีการสร้างไหล (stolon) ได้ใกล้เคียงกับมันฝรั่ง wild type แต่ลงหัวได้ไวกว่าและมีเวลาในการสะสมอาหารได้ดีขึ้นส่งผลให้มีการขยายขนาดของหัวได้ดีขึ้น ซึ่งลักษณะที่ไม่เป็นไปตามความคาดหวังเช่นนี้ได้ถูกรายงานในการทดสอบมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมในสภาพแปลง ที่พบว่าหลังจากมีการตัดต่อพันธุกรรมด้วยการนำยีนที่มีแหล่งกำเนิดแตกต่างกันแล้วส่งผลให้ลักษณะทางฟีโนไทป์เช่น ลักษณะของใบ น้ำหนักหัว จำนวนหัว รูปแบบการสุกแก่ ไม่เป็นตามความคาดหมาย อาจมีผลมาจากอิทธิพลโดยตรงของระดับการแสดงออกของยีนและผลของสภาพแปลงปลูก (Conner et al., 1994; Dale and Mcpartlan, 1992; Richter et al., 2011; Torres et al., 2012)

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้มาจาก construct pBI121::35S และ pBI121::patatin จะเห็นได้ว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line ที่มาจาก construct pBI121::35S มีชีวมวลน้ำหนักต้นและรากแห้งที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type แต่มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้มาจาก construct pBI121::patatin ไม่มีความแตกต่างกันมันฝรั่ง wild type ยกเว้น AO-1-2pat :ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมจาก construct pBI121::35S มีการเจริญเติบโต และการสะสมอาหาร ที่ดีกว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้มาจาก construct pBI121::patatin ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาคาร์บอนไดออกไซด์โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าการคายระเหยของน้ำ ค่าการนำไหลของปากใบ ที่พบว่า ค่าเหล่านี้ในมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมทุก line ที่มาจาก construct pBI121::35S มีค่าสูงกว่า construct pBI121::patatin ในทุกช่วงเวลา ที่ทำการทดลอง ค่าที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลต่อการคายระเหยน้ำของใบ หากมีค่าสูงอัตราการคายระเหยน้ำในใบยิ่งสูงขึ้นตามและส่งผลให้การนำคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้สำหรับการสังเคราะห์แสงได้น้อยลง แต่อย่างไรก็ตามค่าการคายระเหยน้ำ ค่าการนำไหลของปากใบ ในการศึกษาครั้งนี้ยังไม่สูงถึงขั้นส่งผลต่อการสังเคราะห์แสงเนื่องจากค่าอัตราการสังเคราะห์แสงของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้มาจากทั้ง 2 construct มีค่าใกล้เคียงกันในทุกระยะที่ทำการวัดตลอดระยะเวลาทำการทดลองครั้งนี้ นอกจากนี้ยังเห็นได้ว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ปลูกประเมินลักษณะทางฟีโนไทป์ในครั้งนี้ ไม่ถูกรบกวนโดยสภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมโดยพิจารณาจากค่า Fv/Fm และ Phi PSII ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0.80-0.85 ใน pBI121::35S และ 0.75-0.83 ใน pBI121::patatin ตามลำดับ (ภาพที่ 30 และภาพที่ 44) และค่าเหล่านี้มีแนวโน้มลดลงตามช่วงอายุโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเข้าสู่ช่วงชราภาพ หรือใกล้ระยะเก็บเกี่ยว แต่ไม่มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์ ฉะนั้นหากพิจารณาค่าทางสรีรวิทยาโดยรวมแล้วจะเห็นได้ว่ามวลชีวภาพของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมใน construct pBI121::35S ที่มีค่าสูงนั้นส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากพืชสามารถนำแสงและการรับคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ ทำให้เกิดการสะสมอาหารและพลังงานได้ดีจนทำให้มีประสิทธิภาพตามไปมาด้วย

ปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มาจาก construct pBI121::35S ที่มีค่าสูงกว่าในมันฝรั่ง wild type ตั้งแต่ 15.0-40.0 $\mu\text{mol/gFW}$ และ 5.0-20.0 $\mu\text{mol/gFW}$ ที่อายุ 45 วัน และ 90 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 32) ในขณะที่มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มาจาก construct pBI121::patatin มีค่าไม่แตกต่างจากมันฝรั่ง wild type ยกเว้น AO-2-6pat มีค่าที่สูงกว่าเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 47) ผลของปริมาณ MDA ที่เพิ่มสูงขึ้นในมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมในครั้งนี้โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน construct pBI121::35S นั้นส่วนหนึ่งน่าจะมาจากลักษณะการแสดงออกของยีน *OSR1* ที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการเพิ่มปริมาณและขยายขนาดของเซลล์ร่วมกับการส่งเสริมการแสดงออกด้วย 35S promoter ที่แสดงออกแบบไม่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อของพืช เมื่อใบมีการขยายขนาดของเซลล์และเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วส่งผลต่อการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ในส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ ซึ่งลักษณะเหล่านี้ถูกรายงานว่ามักเกิดขึ้นกับพืชหรือสัตว์ที่มีการเปลี่ยนแปลงโปรตีน DNA RNA และชีวโมเลกุลอื่น ๆ ผ่านการปฏิกิริยา Schiff's base ซึ่ง MDA ที่สร้างขึ้นจะถูกปลดปล่อยออกอย่างรวดเร็วผ่านชั้นส่วนของเนื้อเยื่อไขมันที่ถูกออกซิไดซ์ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อสภาวะเครียด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณ MDA ในใบของมันฝรั่งในการศึกษาครั้งนี้เพิ่มสูงขึ้นสูงสุดเมื่ออายุ 45 วันและลดลงเมื่ออายุ 90 วันหลังย้ายปลูกแต่ไม่ใกล้เคียงกับมันฝรั่ง wild type ในกรณีของ construct pBI121::35S ยังพบว่ามีปริมาณที่สูง แต่ในส่วนของ construct pBI121::patatin ลดลงใกล้เคียงกับมันฝรั่ง wild type ซึ่งการลดลงเช่นนี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้และได้อธิบายว่าพืชมีกลไกในการควบคุมระดับของ MDA (Sattler et al., 2006; Weber et al., 2004) เนื่องจาก MDA เป็นกิจกรรมทางชีววิทยาที่โดดเด่นในพืชและทำหน้าที่ในการกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการปกป้องเซลล์หรือกระบวนการขับสารพิษออกจากเซลล์ (Almeras et al., 2003; Loeffler and Baragiola, 2005; Vollenweider et al., 2000)

ขนาดใบและรูปร่างใบของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมใน construct pBI121::patatin สามารถสังเกตได้ว่ามันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะใบไปจากมันฝรั่ง wild type ซึ่งมีความขัดแย้งกับ patatin promoter ที่ส่งเสริมให้ยีน *OSR1* แสดงออกในส่วนของหัวสะสมอาหารเท่านั้น (Zhang, 2005) ทั้งนี้อาจเป็นผลกระทบจากการส่งถ่ายฮอร์โมนกลุ่ม Abscisic Acid (ABA) จากรากไปสู่ลำต้นและใบ โดยมีการศึกษาในข้าวโพด เมื่อทำการปลูกทดสอบข้าวโพดในสภาพที่แห้งแล้ง และทำการตรวจสอบการส่งถ่ายฮอร์โมนกลุ่ม ABA พบว่าข้าวโพดมีการส่งถ่ายฮอร์โมนกลุ่ม ABA จากรากไปสะสมที่ใบโดยผ่านทางท่อลำเลียง Xylem เพื่อตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำ (Sauter et al., 2001) จากกลไกดังกล่าวจึงมีความเป็นไปได้ว่ายีน *OSR1* อาจจะเกิดจากการตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของใบมันฝรั่ง เนื่องจากยีนกลุ่ม ARGOS เป็นยีนที่ตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชโดยตรง (Feng et al., 2011) และอีกหนึ่งสาเหตุที่มีความเป็นไปได้คือกระบวนการทำงานของ miRNA ที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีน มีการศึกษา

พืชกับการตอบสนองต่อปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม เพื่อตรวจสอบการควบคุมการทำงานของยีนโดย miRNA ผลการศึกษาพบว่าเมื่อพืชเกิดความเครียดจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมแล้ว miRNA จะกระตุ้นให้ยีนที่ทำหน้าที่สร้างโปรตีน Transcription factor เพื่อปรับตัวและให้เกิดความทนทานต่อปัจจัยดังกล่าว (Sunkar et al., 2007)

จากการตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *OSR1* ในใบมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม ทั้ง construct pBI121::35S และ construct pBI121::patatin พบว่าใน construct pBI121::35S มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-10 ต้นที่ 5 ไม่สามารถตรวจพบยีน *OSR1* ได้ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาลักษณะทางฟีโนไทป์ทั้งขนาดใบ ขนาดหัว และอื่นๆ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปจากลักษณะของมันฝรั่ง wild type อย่างชัดเจน จึงมีข้อสันนิษฐานเกี่ยวกับการไม่พบยีน *OSR1* ครั้งนี้อาจเกิดจากสภาวะ Chimera คือ สภาวะการไม่ปรากฏยีนทุกส่วนเนื้อเยื่อของพืชตัดแปลงพันธุกรรม เช่นตรวจพบการคงอยู่ของยีนที่ทำการถ่ายโอนที่ใบ ลำต้น ดอก แต่ไม่พบที่ราก ในขณะที่พืชตัดแปลงพันธุกรรมปรากฏคุณสมบัติของยีนดังกล่าว (Birch, 1997) ในงานทดลองนี้ได้ใช้ตัวอย่างใบในการสกัด DNA เท่านั้นเพื่อยืนยันการคงอยู่ของยีน จึงมีความเป็นไปได้ว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-10 ต้นที่ 5 อาจเกิดสภาวะ Chimera ในเซลล์ ทำให้ไม่ปรากฏยีนในการตรวจสอบครั้งนี้

การทดลองที่ 3 ระยะเวลาในการสร้างหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1*

การสร้างหัวของมันฝรั่งนั้นมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลาย ๆ ด้าน ทั้งสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และช่วงแสง (ประสิทธิ์, 2548) รวมทั้งการส่งถ่ายฮอร์โมนกลุ่มจิบเบอเรลลิน (gibberellin) ซึ่งทั้งหมดสันนิษฐานว่าถูกกระตุ้นที่ใบ แล้วส่งสัญญาณไปสะสมในส่วนของไหล (Martinez-Garcia et al., 2002; Wheeler and Tibbitts, 1986) จนกระทั่งพัฒนากลายเป็นหัวและมีการสะสมอาหาร ซึ่งระยะการเจริญเติบโตของมันฝรั่งแบ่งเป็น 2 ระยะที่สำคัญ (Ewing, 1978) คือ การเจริญเติบโตของลำต้นและใบเหนือดิน (Shoots/Aerial Development) และระยะการเจริญเติบโตของลำต้นใต้ดิน (Tubers Development) จากผลการทดลองพบว่ามันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน ทั้งภายใต้การควบคุมการแสดงออกด้วย pBI121::35S และ pBI121::patatin มีการสร้างหัวได้เร็วกว่ามันฝรั่ง wild type โดยเริ่มพบการสร้างหัวที่อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก (ภาพที่ 56) แต่มันฝรั่ง wild type พบการสร้างหัวที่ 60 วันหลังย้ายปลูก ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานการแสดงออกของยีน *OSR1* ที่สามารถกระตุ้นให้มันฝรั่งเจริญเติบโตทางด้านลำต้นเหนือดินและใต้ดินได้เร็ว อีกทั้งยังทำให้อายุพืชมีขนาดที่ใหญ่กว่าปกติตามหน้าที่ยีน (Feng et al., 2011; Hu, 2003; Hu et al., 2006) ส่งผลให้มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมเข้าสู่ระยะสุกแก่ได้เร็วขึ้น จนมีผลชักนำให้มันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมนั้นสร้างหัวที่

เร็วกว่ามันฝรั่ง wild type และจำนวนหัวมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ แต่เมื่อเปรียบเทียบจำนวนการสร้างหัวกับมันฝรั่ง wild type พบว่ามีจำนวนหัวไม่แตกต่างกับมันฝรั่ง wild type (ภาพที่ 56) ที่อายุ 105 วันหลังย้ายปลูกซึ่งถือว่าเป็นระยะเก็บเกี่ยวของมันฝรั่งที่มีอายุเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 100- 150 วันหลังย้ายปลูก (Huaman, 1986; Oliveira, 2015) แต่น้ำหนักหัวของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line อยู่ในเกณฑ์ที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type (ภาพที่ 58) ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองที่ 2 ในด้านจำนวนหัว (ภาพที่ 33a และภาพที่ 48a) การสร้างหัวได้เร็วของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* ถือเป็น การเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดี คือเมื่อมันฝรั่งสร้างหัวได้เร็วขึ้นนั้นจะทำให้ลดระยะเวลาการเพาะปลูก และลดต้นทุนการผลิตในด้านต่าง ๆ เช่น ปุ๋ย สารป้องกันและกำจัดโรคแมลง รวมทั้งด้านแรงงาน



บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

ผลการทดลองคุณภาพแสงในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าคุณภาพแสงทั้ง 6 ชนิดนั้นสามารถชักนำให้มันฝรั่ง wild type พันธุ์ “Spunta” และ “Bhutan” มีเจริญเติบโตทั้งในส่วนของลำต้นเหนือดินและการเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นใต้ดินได้ โดยการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K ส่งผลให้มันฝรั่งทั้งสองพันธุ์มีการเจริญเติบโตด้านความสูงของลำต้นสูงที่สุด ด้านจำนวนหัวพันธุ์ “Spunta” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) ทำให้มีจำนวนหัวสูงที่สุด และพันธุ์ “Bhutan” ที่ปลูกภายใต้คุณภาพแสง R:B (2:1) ส่งผลให้มีจำนวนหัวมากที่สุด และในส่วนของน้ำหนักหัวนั้นการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (3:1) ทำให้พันธุ์ “Spunta” มีน้ำหนักหัวรวมสูงที่สุด และการปลูกภายใต้คุณภาพแสง 3200K+6500K (2:1) ทำให้พันธุ์ “Bhutan” มีน้ำหนักหัวรวมสูงที่สุด แต่คุณแสงทุกชนิดไม่มีอิทธิพลต่อกิ่งแขนง ความยาวใบ จำนวนไหล ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง น้ำหนักสดและแห้งของลำต้นกับรากของมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์

การศึกษาการแสดงออกลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* ใน construct pBI121::35S โดยภาพรวมมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมแต่ละ line จะมีการเจริญเติบโตส่วนลำต้นเหนือดินและลำต้นใต้ดินที่สูงกว่ามันฝรั่ง wild type เช่น ความยาวใบ ขนาดใบ น้ำหนักสดและแห้งของลำต้น ซึ่งมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่มีการเจริญเติบโตสูงที่สุดคือ line AO-1-18 ทั้งขนาดใบ น้ำหนักสดและแห้งของลำต้นกับใบ รวมทั้งน้ำหนักหัวรวมสูงที่สุด แต่ด้านจำนวนหัวมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก ๆ line นั้นน้อยกว่ามันฝรั่ง wild type แต่มีน้ำหนักรวมอยู่ในเกณฑ์ที่สูงกว่าในระดับหนึ่ง และใน construct pBI121::patatin มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมมีการเจริญเติบโตเหนือดิน เช่น ความสูง ความยาวใบ จำนวนใบ น้ำหนักสดและแห้งของลำต้น ไม่แตกต่างกับมันฝรั่ง wild type แต่ในส่วนของน้ำหนักหัวรวม มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-2-6pat มีน้ำหนักสูงที่สุด ด้านจำนวนหัวมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมทุก line มีจำนวนหัวน้อยกว่ามันฝรั่ง wild type เช่นเดียวกันกับใน construct pBI121::35S แต่มีน้ำหนักรวมสูงกว่ายกเว้น AO-1-3pat

มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* ใน construct pBI121::35S และ construct pBI121::patatin สร้างหัวได้เร็วกว่ามันฝรั่ง wild type ประมาณ 2 สัปดาห์หลังย้ายปลูก โดยมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม line AO-1-4 ภายใต้การควบคุมการแสดงออกด้วย construct pBI121::35S สามารถสร้างจำนวนหัวได้สูงที่สุด และมีน้ำหนักหัวรวมในระยะเก็บเกี่ยว (105 วัน) สูงที่สุดเช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางฟีโนไทป์ของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมที่ได้รับยีน *OSR1* ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโตของอวัยวะพืชและการขยายขนาดของเซลล์ จากการทดลองพบว่ายีน *OSR1* ส่งผลกระทบต่อมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรมมีขนาดหัวที่ใหญ่ขึ้นอย่างชัดเจน จึงควรทำการตรวจสอบด้านคุณค่าทางอาหารที่มีการสะสมในหัวของมันฝรั่งตัดแปลงพันธุกรรม เช่น ปริมาณแป้ง วิตามิน โปรตีน เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างกับมันฝรั่ง wild type



บรรณานุกรม

- กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ. 2557. **พันธุวิศวกรรม: เทคโนโลยียีน**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- คณะกรรมการด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ. 2557. **แนวทางการปฏิบัติเพื่อความปลอดภัย**. ปทุมธานี: ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.
- บัณฑูร วาฤทธิ์ และนายาคำอำไพ. 2546. **มันฝรั่ง**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ประสิทธิ์ โนรี. 2548. **พืชหัว**. ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม. 2552. **พันธุวิศวกรรม: วิธีการประยุกต์ใช้**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศูนย์สารสนเทศเกษตร. 2559. **สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2559**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.oae.go.th/download/forecastdata/calendar> (27 ธันวาคม 2558).
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Abu-Zinada, I. A. & Mousa, W. A. .2015 Growth and productivity of different potato varieties under Gaza Strip conditions. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, (3)8, .437-433
- Almeras, E., Stolz, S., Vollenweider, S., Reymond, P., Mene-Saffrane, L. & Farmer, E. E. .2003 Reactive electrophile species activate defense gene expression in *Arabidopsis*. **Plant J.**, (2)34, .216-205
- Andrew, D. L., Beames, B., Summers, M. D. & Park, W. D. .1988 Characterization of the lipid acyl hydrolase activity of the major potato (*Solanum tuberosum*) tuber protein, patatin, by cloning and abundant expression in a baculovirus vector. **Biochem J.**, (1)252, .206-199
- Anzai, H., Ishii, Y., Shichinohe, M., Katsumata, K., Nojiri, C., Morikawa, H. & Tanaka, M. .1996 Transformation of phalaenopsis by Particle Bombardment. **Plant Tissue Culture Letters**, (3)13, .272-265
- Banerjee, A. K., Prat, S. & Hannapel, D. J. .2006 Efficient production of transgenic potato (*S. tuberosum L. ssp. andigena*) plants via *Agrobacterium tumefaciens*-

- mediated* transformation. **Plant Science**, (4)170, .738-732
- Beukema, H. P. & Van der Zaag, D. E. .1979 **Potato Improvement**. Netherlands: International Agriculture Centre, Wageningen.
- Beyer, P., Al-Babili, S., Ye, X., Lucca, P., Schaub, P., Welsch, R. & Potrykus, I. .2002 Golden Rice: Introducing the Beta-Carotene Biosynthesis Pathway into Endosperm by Genetic Engineering to Defeat Vitamin A Deficiency. **American Society for Nutritional Sciences**, (1)132, 506S-510S.
- Birch, R. G. .1997 PLANT TRANSFORMATION: Problems and Strategies for Practical Application. **Plant Physiol. Plant Mol. Biol**, (1)48, .326-297
- Brazaityte, A., Duchovskis, P., Urbonaviciute, A., Samuoliene, G., Jankauskiene, J., Bonakere, K., A, B., Z. , Novickovas, A., Breive, K. & Zukauskas, A. .2009 The effect of light-emitting diodes lighting on cucumber transplants and after-effect on yield. **Zemdirbyste-Agriculture**, (3)96, 118-102
- Brazaityte, A., Duchovskis, P., Urbonaviciute, A., Samuoliene, G., Jankauskiene, J., Sakalauskaite, J., Sabajeviene, G., Sirtautas, R. & Novickovas, A. .2010 The effect of light-emitting diodes lighting on the growth of tomato transplants. **Zemdirbyste-Agriculture**, (2)97, .98-89
- Calatayud, A., Barreno, E. & . .2004 Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation. **Plant Physiol. Biochem**, 42(1), .555-549
- Casal, J. J. .2013 Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. **Annu Rev Plant Biol.**, (1)64, .427-403
- Conner, A. J., Williams, M. K., Abernethy, D. J., Fletcher, P. J. & Genet, R. A. .1994 Field performance of transgenic potatoes. **NZJ Crop Hortic. Sci.**, 22(1), .371-361
- Crouzet, P. & Hohn, B. .2002 Transgenic Plants. **ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES**, (1)37, .59-56
- Dale, P. J. & Mcpartlan, H. C. .1992 Field performance of transgenic potato plants compared with controls regenerated from tuber discs and shoot cutting. **Theoretical and Applied Genetics**, (6-5)84, .591-585
- Ewing, E. E. 1978. Shoot, Stolon and Tuber Formation on Potato (*Solanum tuberosum* L.) Response to photoperiod. **Plant physiol.**, (1)61, .353-348

- Feng, G., Qin, Z., Yan, J., Zhang, X. & Hu, Y. .2011*Arabidopsis ORGAN SIZE RELATED1* regulates organ growth and final organ size in *orchestration* with *ARGOS* and *ARL*. **New Phytologist**, (3)191, .646-635
- Feng, G., Xu, Q., Wang, Z. & Zhuoma, Q. .2016*AINTEGUMENTA* negatively regulates age-dependent leaf senescence downstream of *AUXIN RESPONSE FACTOR 2* in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biotechnology**, (2)33, .76-71
- Fixen, K. R., Thomas, S. C. & Tong, C. B. S. .2012Blue light inhibition of tuberization in a day-neutral potato. **Journal of Plant regulation**, (1)31, .350-342
- Folta, K. M. & Maruhnich, S. A. .2007Green Light: A Signal to Slow Down or Stop. **Journal of Experimental Botany** (1)58, .3111-3099
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).] .2016 [Online]. Available <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (7 January .(2018
- Garcia-Martinez, J. L. & Gil, J. .2001Light regulation of gibberellin biosynthesis and mode of action. **Journal of Plant Growth Regulation**, (1)20, .368-354
- Gazula, A., Kleinhenz, M. D. & Scheerens, J. C. .2007Anthocyanin Levels in Nine Lettuce (*Lactuca sativa*) Cultivars: Influence of Planting Date and Relations among Analytic, Instrumented, and Visual Assessments of Color. **HORTSCIENCE**, (2)42, 232–238
- Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. .2001 **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. United States.
- Griffiths, A. J. F. .2012 **Recombinant DNA technology**. [Online]. Available <https://www.britannica.com/science/recombinant-DNA-technology> (10 February .(2018
- Guo, M., Rupe, M. A., Wei, J., Winkler, C., Goncalves-Butruille, M., Weers, B. P., Cerwick, S. F., Dieter, J. A., Duncan, K. E., Howard, R. J., Hou, Z., Loffler, C. M., Cooper, M. & Simmons, C. R. .2014*Maize ARGOS1 (ZAR1)* transgenic alleles increase hybrid maize yield. **J Exp Bot**, (1)65, .260-249
- Hagio, T. .1998Optimizing the Particle Bombardment Method for Efficient Genetic Transformation. **JARQ**, (1)32, 247-239
- Hefferon, K. L. .2000TRANSGENIC PLANTS. **Biotechnology**, (1)8, .30-21
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F. & Prange, R. K. .1999Improving the

- thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta** (1)207, .611-606
- Hodges, M. & Barber, J. 1983. Photosynthetic adaptation of pea plants grown at different light intensities: State - 1State 2 transitions and associated chlorophyll fluorescence changes. **Planta.**, (2)157, .173-166
- Hu, Y. .2003The *Arabidopsis Auxin-Inducible* Gene *ARGOS* Controls Lateral Organ Size. **The Plant Cell Online**, (9)15, .1961-1951
- Hu, Y., Poh, H. M. & Chua, N. H. .2006The *Arabidopsis ARGOS-LIKE* gene regulates cell expansion during organ growth. **Plant J**, (1)47, .9-1
- Huaman, Z. .1986 **Systematic Botany and Morphology of the potato.** Peru: International Potato Center, Lima.
- Hurley, T. M., Babcock, B. A. & Hellmich, R. L. .2001Bt Corn and Insect Resistance: An Economic Assessment of Refuges. **Journal of Agricultural and Resource Economics** (1)26, .194-176
- Kim, H. H., Goins, G. D., Wheeler, R. M. & Sager, J. C. .2004 Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red-and blue-light emitting diodes. **HortScience**, (7)39, .1622-1617
- Kim, S. J., Hahn, E. J., Heo, J. W. & Paek, K. Y. .2004 Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, (2-1)101, .151-143
- Kozai, T. .2013 Resource use efficiency of closed plant production system with artificial light: Concept, estimation and application to plant factory. **Proceedings of the Japan Academy, Series B**, 89(10), 447-461.
- Kozai, T., Niu, G. & Takagaki, M. E. .2015**Plant factory: an in door vertical farming system for efficient quality food production.** Academic Press.
- Lefsrud, M. G., Kopsell, D. A., Auge, R. M. & Both, A. J. .2006Biomass production and pigment accumulation in kale grown under increasing photoperiod. **HortScience**, (3)41, .606-603
- Li, H., Tang, C., Xu, Z., Liu, X. & Han, X. .2012Effects of Different Light Sources on the Growth of Non-heading Chinese Cabbage (*Brassica campestris* L.). **Journal of**

- Agricultural Science**, (4)4, .273-262
- Li, H., Xu, Z. & Tang, C. .2010 Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 103(2), 155-163.
- Li, Q. & Kubota, C. .2009 Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. **Environ. Exp. Bot.**, (1)67, .64-59
- Lina, K. H., Huang, M. Y., Huang, W. D., Hsu, M. H., Yang, Z. W. & Yang, C. M. .2013 The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata). **Scientia Horticulturae**, (1)150, .91-86
- Loeffler, M. J. & Baragiola, R. A. .2005 The state of hydrogen peroxide on Europa. **Phys. Chem.**, (1)72, .191-187
- Ma, X., Wang, Y., Liu, M., Xu, J. & Xu, Z. .2015 Effects of green and red lights on the growth and morphogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, (1)190, .109-104
- Martinez-Garcia, J. F., Martinez, J. L. G., Bou, J. & Prat, S. .2002 The Interaction of Gibberellins and Photoperiod in the Control of Potato Tuberization. **Plant Growth Regul.**, (1)20, .386-377
- McCullen, C. A. & Binns, A. N. .2006 *Agrobacterium tumefaciens* and plant cell interactions and activities required for interkingdom macromolecular transfer. **Annu Rev Cell Dev Biol**, (1)22, .127-101
- Molders, K., Quinet, M., Decat, J., Secco, B., Duliere, E., Pieters, S., van der Kooij, T., Lutts, S. & Van Der Straeten, D. .2012 Selection and hydroponic growth of potato cultivars for bioregenerative life support systems. **Advances in Space Research**, (1)50, .165-156
- Muleo, R., Morini, S. & Casano, S. .2001 Photoregulation of growth and branching of plum shoots: physiological action of two photosystems. **In Vitro Cellular and Development Biology**, (1)37, .617-609
- Nicholl, D. S. T. .2008 **An Introduction to Genetic Engineering**. United Kingdom: University of the West of Scotland, Paisley.
- Okano, T., Hoshi, T. & Sekiyama, T. .1988 Vegetable growth and energy consumption

- in a vegetable factory using off-peak electricity. **Acta Horticulturae**, (1)229, .355-353
- Oliveira, J. S. D. .2015 **Growth and development of potato (*Solanum tuberosum* L.) crops after different cool season storage.** Lincoln University: New Zealand.
- Olle, M. & Virsile, A. .2013 The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. **AGRICULTURAL AND FOOD SCIENCE**, (1)22, .234-223
- Ow, D. W., Jacob, J. D. & Howell, S. H. .1987 Functional regions of the cauliflower mosaic virus 35S RNA promoter determined by use of the firefly luciferase gene as a reporter of promoter activity. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, (1)84, pp .4874-4870
- Owen, M. D. K. .2000 Current use of transgenic herbicide-resistant soybean and corn in the USA. **Crop Protection** (1)19, .771-765
- Pauli, S., Rothnie, H. M., Chen, G., He, X. & Hohn, T. .2004 The cauliflower mosaic virus 35S promoter extends into the transcribed region. **JOURNAL OF VIROLOGY**, (22)78, .12128-12120
- Pena, L. .2005 **Transgenic Plants: Methods and Protocols.** Totowa, NJ: Humana Press.
- Phansurin, W., Jamaree, T. & Sakhonwasee, S. .2017 Comparison of Growth, Development, and Photosynthesis of Petunia Grown Under White or Red-blue LED lights. **Korean Society for Horticultural Science**, (1)35, .699-689
- Plantenga, F. D. M., Siakou, M., Bergonzi, S., Heuvelink, E., Bachem, C. W. B., Visser, R. G. F. & Marcelis, L. F. M. .2016 Regulating flower and tuber formation in potato with light spectrum and day length. **Acta Horticulturae** (1134)1134, .276-267
- Pribylova, R., Pavlik, I. & Bartos, M. .2006 Genetically modified potato plants in nutrition and prevention of diseases in humans and animals: a review. **Veterinari Medicina**, (5)51, 212-223
- Prochnik, S., Marri, P. R., Desany, B., Rabinowicz, P. D., Kodira, C., Mohiuddin, M., Rodriguez, F., Fauquet, C., Tohme, J., Harkins, T., Rokhsar, D. S. & Rounsley, S. .2012 The Cassava Genome: Current Progress, Future Directions. **Trop Plant Biol**, (1)5, .94-88
- Qin, Z., Zhang, X., Zhang, X., Feng, G. & Hu, Y. .2014 The *Arabidopsis* ORGAN SIZE

- RELATED 2* is involved in regulation of cell expansion during organ growth. **BMC Plant Biology**, (1)14, .360-349
- Richardson, A. D., Duigan, S. P. & Berlyn, G. P. .2002An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytol.**, 153(1), .194- 185
- Richter, C., Oktaba, K., Steinmann, J., Muller, J. & Knoblich, J. A. .2011The tumour suppressor L (3) mbt inhibits neuroepithelial proliferation and acts on insulator elements. **Nat. Cell Biol.**, (9)13, .1039-1029
- Robledo-Paz, A., Ponce, J. L., Arambula, V. M., Estrella, L. H. & Garfias, A. E. .2004 Genetic Transformation of Garlic (*Allium sativum* L.) by Particle Bombardment. **HORTSCIENCE**, (6)39, .1211-1208
- Rykbost, K. A., Carlson, H. L. & Voss, R. .1990**POTATO VARIETIES**. United States: Oregon State University, Corvallis and University of California, Davis.
- Saebo, A., Krekling, T. & Appelgren, M. .1995Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets in vitro. **Plant Cell Tissue Organ Cult**, (1)41, .185-177
- Sattler, S. E., Saffrane, L. M., Farmer, E. E., Kruschke, M., Mueller, M. J. & DellaPenna, D. .2006 Nonenzymatic Lipid Peroxidation Reprograms Gene Expression and Activates Defense Markers in Arabidopsis Tocopherol-Deficient Mutants. **Plant Cell.**, (12)18, .3720-3706
- Sauter, A., Davies, W. J. & Hartung, W. .2001The long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. **Journal of Experimental Botany**, (363)52, .1997-1991
- Seabrook, J. E. A. .2005Light Effects on the Growth and Morphogenesis of Potato (*Solanum tuberosum*) In Vitro: A Review. **Amer J of Potato Res**, 82(1), 353-367.
- Shimizu, H., Saito, Y., Nakashima, H., Miyasaka, J. & Ohdoi, K. .2011Light Environment Optimization for Lettuce Growth in Plant Factory. **18th IFAC World Congress Milano (Italy)** .609-605
- Stupar, R. M., Beaubien, K. A., Jin, W., Song, J., Lee, M. K., Wu, C., Zhang, H. B., Han, B. & Jiang, J. .2006Structural diversity and differential transcription of the patatin multicopy gene family during potato tuber development. **Genetics**, (2)172, .1275-1263

- Sudhakar, D. 2006. **Detection methods for GMOs/LMOs.** Tamil Nadu Agricultural University.
- Sunkar, R., Chinnusamy, V., Zhu, J. & Zhu, J. K. .2007 Small RNAs as big players in plant abiotic stress responses and nutrient deprivation. **Trends Plant Sci**, (7)12, .309-301
- Taghipour, F. & Jamshidi, S. .2015 Bromoxynil resistant tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) generation using a synthetic bxn gene. **Turkish Journal of Botany**, (1)39, -10 .19
- Takakura, T. .1988 Protected Cultivation in Japan. **Acta Horticulturae** (1)230, .35-29
- Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, W. S. & Oguchi, R. .2009 Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: irradiations of light emitting diodes (LED). **African Journal of Biotechnology**, (22)11, .6177-6169
- Torres, L., Driscoll, M. W. & Voell, M. .2012 Discrimination, acculturation, acculturative stress, and Latino psychological distress: A moderated mediational model. **Cultural Diversity and Ethnic Minority Psychology**, (1)18, .25-17
- Trindade, L. M., Horvath, B., Bachem, C., Jacobsen, E. & Visser, R. G. F. .2003 Isolation and functional characterization of a stolon specific promoter from potato (*Solanum tuberosum* L.). **Gene**, (1)303, .87-77
- University of Arizona. .2000 **Lecture - 19 Transgenic Flies and Plants.** [Online]. Available <http://cbc.chem.arizona.edu/classes/bioc/471pages/Lecture.19.html> (10 February .(2018
- Veale, M. A., Slabbert, M. M. & Van Emmenes, L. .2012 Agrobacterium-mediated transformation of potato cv. Mnandi for resistance to the potato tuber moth (*Phthorimaea operculella*). **South African Journal of Botany**, (1)80, .74-67
- Vollenweider, S., Weber, H., Stolz, S. & Farmer, E. E. .2000 Fatty acid ketodienes and fatty acid ketotrienes: Michael addition acceptors that accumulate in wounded and diseased *Arabidopsis* leaves. **The Plant Journal**, (4)24, .476-467
- Wang, B., Sang, Y., Song, J., Gao, X. Q. & Zhang, X. .2009 Expression of a rice *OsARGOS* gene in *Arabidopsis* promotes cell division and expansion and increases organ size. **J. Genet. Genomics**, (1)36, .40-31

- Wang, F. Y., Yan, H. Y., Chen, J. S.-C., Wang, T. Y. & Wang, D. .2009Adaptation of visual spectra and opsin genes in seabreams. **Vision Research**, (1)49, .1868-1860
- Watanabe, H. .2011Light-Controlled Plant Cultivation System in Japan - Development of a Vegetable Factory Using LEDs as a Light Source for Plants. Proc. **Acta Hort**, (1)907, .44-37
- Weber, H., Chetelat, A., Reymond, P. & Farmer, E. E. .2004Selective and powerful stress gene expression in *Arabidopsis* in response to malondialdehyde. **Plant J**, (1)37, pp. .888-877
- Weiguo, F., Pingping, L., Yanyou, W. & Juanjuan, T. .2012Effects of different light intensities on anti-oxidative enzyme activity, quality, and biomass in lettuce. **Horticultural Science**, (3)39, .134-129
- Wheeler, R. M. & Tibbitts, T. W. .1986Growth and Tuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) under Continuous Light. **Plant Physiol**, (3)80, .804-801
- Xiaoying, L., Shirong, G., Taotao, C., X., Z. & T., T. .2012Regulation of the growth and photosynthesis of cherry tomato seedlings by different light irradiations of light emitting diodes (LED). **African Journal of Biotechnology** (22)11, .6177-6169
- Yorio, N. C., Goins, G. D., Kagie, H. R., Wheeler, R. M. & Sager, J. C. .2001Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light-emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. **HortScience**, (2)36, .383-380
- Zhang, L. .2005 **Characterization of potato plants overexpressing plastidic transporters involved in starch metabolism.** Germany: University of Koln.
- Zupan, J. R. & Zambryski, P. .1995transfer of T-DNA From *Agrobacterium* to the plant Cell. **Plant Physiol**, (1)107, .1047-1041

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	วิฑูร บุญเสริม	
เกิดเมื่อ	21 เมษายน 2536	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2558	ปริญญาตรี สาขาพืชศาสตร์ (พืชผัก) คณะผลิตกรรมและการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่
	พ.ศ. 2553	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมัธยมวัดหนองแขม กรุงเทพมหานคร
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2558-2560	ผู้ช่วยนักวิจัย โครงการวิจัยการประเมินลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของมันฝรั่ง ดัดแปลงพันธุกรรมภายใต้มาตรฐานความปลอดภัยทางด้านชีวภาพ เชียงใหม่

