



การศึกษากลุ่มยีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง



โดย
นางสาวณัฐลิตา พยัพ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษากลุ่มยีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมัน
สำปะหลัง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

GENOME-WIDE IDENTIFICATION AND EXPRESSION ANALYSIS OF ZINC UPTAKE
GENE FAMILIES IN CASSAVA



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science (BIOLOGY)
Department of BIOLOGY
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2021
Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ การศึกษากลุ่มยีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการ
ลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง
โดย ณิชฐิตา พยัพ
สาขาวิชา ชีววิทยา แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิมนารักษ์ อยู่คงแก้ว

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิมนารักษ์ อยู่คงแก้ว)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณฤฎิภา เส็งสาย)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรารธนา เผือกวิไล)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรีรัตน์ มงคลศิริวัฒนา)

61303201 : ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท

คำสำคัญ : มันสำปะหลัง, ธาตุสังกะสี, การแสดงออกของยีน, การขาดธาตุสังกะสี

นางสาว ณัฐลิตา พยัพ: การศึกษากลุ่มยีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิมนนารักษ์ อยู่คงแก้ว

อาการขาดธาตุสังกะสีในต้นมันสำปะหลัง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมันสำปะหลัง ธาตุสังกะสีเป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อเมทาบอลิซึมในพืช ดังนั้นพืชจะมีการรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีภายในเซลล์ ซึ่งการศึกษาการใช้ธาตุสังกะสีในต้นมันสำปะหลังนั้นต้องอาศัยความเข้าใจกลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีจากรากขึ้นสู่ยอด จึงมีการสืบหาพันธุศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีและศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน ผู้วิจัยพบว่ามันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีการตอบสนองต่อการขาดธาตุสังกะสีมากกว่าพันธุ์ห้วยบง 80 และพบว่ามีปริมาณธาตุสังกะสีในใบลดลงอย่างชัดเจน เริ่มมีอาการขาดธาตุสังกะสีที่ใบอ่อนของมันสำปะหลังที่อายุ 7 วันหลังจากย้ายปลูกลงในสภาวะขาดธาตุสังกะสี จากการสืบหาพันธุศาสตร์โดยอ้างอิงอะราบิดอพซิสและพบว่า มี *MeZIP* 12 ยีน *MeYSL* 8 ยีน และ *MeMTP* 12 ยีนในมันสำปะหลัง เมื่อวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีน 19 ยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี พบว่าส่วนใหญ่ยีนกลุ่ม *ZIP* แสดงออกมากในใบภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7 วัน เป็นต้นไป ซึ่งยีนกลุ่มนี้มีตำแหน่ง *ZDRE* ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสีในการควบคุมการทำงานของยีนด้วย ส่วนกลุ่มยีน *YSL* มีการแสดงออกมากในรากภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7 วัน เป็นต้นไป ขณะที่กลุ่มยีน *MTP* มีเพียง *MTP2* ที่แสดงออกชัดเจนมากในรากที่อายุ 7 วัน เป็นต้นไป แสดงให้เห็นว่าเมื่อต้นมันสำปะหลังอยู่ในสภาวะขาดธาตุสังกะสี ส่งผลให้การสะสมธาตุสังกะสีที่ใบลดลงตั้งแต่อายุ 7 วัน ขณะเดียวกันกลุ่มยีน *YSL* มีการทำงานบริเวณรากเพื่อควบคุมการดูดซึมธาตุสังกะสีขึ้นสู่ยอด จากนั้นกลุ่มยีน *ZIP* มีการควบคุมการทำงานบริเวณใบมากขึ้น เมื่อเข้าสู่วันที่ 14 อาการขาดธาตุสังกะสีที่ใบชัดเจนมากขึ้น ส่งผลกระทบต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง จึงทำให้การเจริญเติบโตของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีลดลงอย่างชัดเจนที่อายุ 21 วัน บ่งชี้ว่ากลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีกำลังพยายามควบคุมการรักษาสมดุลธาตุสังกะสีภายในต้นมันสำปะหลัง

61303201 : Major (BIOLOGY)

Keyword : cassava, zinc, gene expression, zinc deficiency

MISS NATLITA PAYAP : GENOME-WIDE IDENTIFICATION AND EXPRESSION ANALYSIS OF ZINC UPTAKE GENE FAMILIES IN CASSAVA THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR NIMNARA YOOKONGKAEW, Ph.D.

Zinc deficiency symptoms have an impact on growth and yield of cassava plants. Zinc is a micronutrient essential for plant metabolism. Therefore, plants need a process to maintain the optimal zinc concentration in their cells. To study the zinc homeostasis in cassava plants, an understanding of zinc uptake and transport from roots to shoots is necessary. In this research, zinc uptake gene families in cassava were identified and gene expression patterns were monitored under zinc deficiency. The results showed that the cultivar Kasetsart50 (KU50) was more sensitive to zinc deficient conditions than Huay-bong80 (HB80). Zinc concentration in leaves decreased significantly and the chlorosis primarily occurred at the interveinal regions of young leaves at 7 days after transferring to zinc deficient conditions. Genome-wide identification of 3 zinc uptake gene families showed 12 *MeZIPs*, 8 *MeYSLs* and 12 *MeMTPs* in cassava genome based on *Arabidopsis* and rice genome databases. The expression of 19 candidate zinc uptake genes were analyzed. Most of *ZIP* genes were up-regulated in leaves after 7 days under zinc deficiency. Promoter analysis revealed zinc responsive cis-acting elements (ZDRE) on *ZIP* promoters. Most of *YSL* genes were up-regulated in roots after 7 days under zinc deficiency but only *MTP2* in the *MTP* family was highly expressed in this manner. These results suggested that zinc deficiency caused a reduction of zinc accumulation in 7-day-old leaves. *YSLs* were responsible for zinc uptake in roots whereas *ZIPs* acted in leaves after 7 days under zinc deficiency. The leaves exhibited severe chlorosis after 14 days resulting in the reduction of chlorophyll content and photosynthetic efficiency. Cassava plants were obviously reduced the developmental process at 21 days, indicating that the zinc uptake gene families were acting as zinc controller in cassava plants.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือและคำแนะนำจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิมนนารักษ์ อยู่คงแก้ว ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ถ่ายทอดความรู้ ประสบการณ์ในการดำเนินงานวิจัย และมอบทุนการศึกษา ตลอดจนทักษะในการดำเนินชีวิตและคอยให้กำลังใจมาโดยตลอด อีกทั้งยังแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นขณะทำการทดลองและการเขียนรายงานวิจัย ท่านถัดมา คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณฎิภา เสี่ยงสาย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรารภนา เผือกวิไล ท่านทั้งสองเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่คอยให้คำแนะนำและตรวจสอบข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์นี้ให้ดียิ่งขึ้น รวมทั้งผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ ออบสุวรรณ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรีรัตน์ มงคลศิริวัฒนา ที่สละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงอาจารย์ทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธิธา ที่ให้ความช่วยเหลือด้านทุนการศึกษาและคอยสนับสนุนกำลังใจและใจมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณบิดามารดาและพี่ชายที่คอยให้กำลังใจในทุก ๆ อุปสรรคตลอดระยะเวลาที่ดำเนินงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ คุณนงนุช กำลังแพทย์ คุณจำปา เกาต์วง และคุณณรงค์ สามงามน้อม ที่คอยให้การช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์การทดลองและการเข้าใช้ห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณ ดร.เพ็ญภา การะเวก และนางสาวตรีวรรณ์ รุจิเกียรติโชค รวมทั้งพี่น้องในห้องปฏิบัติการที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในการทำการทดลอง

ขอขอบคุณนางสาวชนาพร โตสาคร นางสาวปณณภา จ้อตระกูล และเพื่อน ๆ ทุกคนที่คอยให้กำลังใจเสมอมา

ขอขอบคุณสถาบันพัฒนามันสำปะหลัง ต.ห้วยบง อ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์ที่นอนพักรู้มันสำปะหลัง

ขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนทุนพัฒนาบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2563 เพื่อดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

นางสาว ณิชุลิตา พัทพ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหาและที่มาของโครงการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
คำสำคัญของโครงการวิจัย.....	3
บทที่ 2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
มันสำปะหลัง	4
มันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัย	5
1. มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	5
2. มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 (HB80).....	6
ธาตุสังกะสี.....	7
1. ความสำคัญของธาตุสังกะสี	7
2. การขาดธาตุสังกะสีในพืช	8
3. ธาตุสังกะสีในดิน	9
4. การดูดซึมธาตุสังกะสีในพืช	9

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้ธาตุสังกะสีในพืช.....	11
กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี.....	15
1. โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (ZIPs; Zinc-regulated transporters, Iron-regulated transporter-like protein).....	17
2. โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates (YSLs; Yellow stripe-like proteins).....	18
3. โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน (MTPs; Metal tolerance proteins หรือ CDFs; Cation diffusion facilitators). 20	
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
พืชที่ใช้ในการวิจัย.....	22
วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	22
1. วัสดุอุปกรณ์.....	22
1.1 วัสดุอุปกรณ์สำหรับสืบหาถิ่น.....	22
1.2 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการปลูกมันสำปะหลังในระบบไฮโดรโปนิคส์.....	22
1.3 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา.....	23
1.4 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน.....	23
2. สารเคมี.....	24
2.1 สารเคมีสำหรับการปลูกมันสำปะหลังในระบบไฮโดรโปนิคส์.....	24
2.2 สารเคมีสำหรับการสกัดอาร์เอ็นเอ.....	25
2.3 สารเคมีสำหรับเทคนิค Agarose gel electrophoresis.....	25
2.4 สารเคมีสำหรับหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน.....	25
2.5 สารเคมีสำหรับกำจัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอ.....	25
2.6 สารเคมีสำหรับสังเคราะห์ซีดีเอ็นเอ.....	25
2.7 สารเคมีสำหรับเทคนิค Real-time PCR.....	26
3. วิธีการศึกษา.....	26

3.1	การระบุยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง	26
	การสืบหากลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง	26
	การวิเคราะห์โครงสร้างของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง	26
	การทำนายตำแหน่งของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง	27
	การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี	27
3.2	การปลูกมันสำปะหลังโดยการเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์	27
	ระยะที่ 1 (pre-nursery).....	27
	ระยะที่ 2 (nursery).....	27
	ระยะที่ 3 (treatments).....	28
3.3	การวิเคราะห์ทางสรีรวิทยา.....	28
3.4	การวิเคราะห์ธาตุอาหาร	28
3.5	การศึกษาารูปแบบการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค quantitative real-time PCR..	29
	การออกแบบไพรเมอร์.....	29
	การเตรียมไพรเมอร์เพื่อส่งวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์	29
	การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์การแสดงออกของยีน	33
	การสกัดอาร์เอ็นเอ	33
	การตรวจสอบคุณภาพอาร์เอ็นเอ.....	34
	การกำจัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอออกจากอาร์เอ็นเอ.....	34
	การสังเคราะห์ซีดีเอ็นเอ.....	35
	การวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน.....	35
3.6	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	36
บทที่ 4	ผลการดำเนินการวิจัย.....	37
4.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	37
4.2	การสะสมธาตุอาหารในรากและใบมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี.....	48

4.3 การระบุกลุ่มยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง	55
กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์หรือ (ZIPs)	56
กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates (YSLs).....	62
กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน (MTP).....	68
4.4 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี.....	74
การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ในมันสำปะหลัง (MeZIPs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	74
การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates ในมันสำปะหลัง (MeYSLs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	83
การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออนในมันสำปะหลัง (MeMTPs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	86
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง.....	91
5.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี.....	91
5.2 การสะสมธาตุอาหารในรากและใบมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี.....	94
5.3 การระบุกลุ่มยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีโดยใช้ชีวสารสนเทศ	99
กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์หรือ (ZIPs)	99
กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates (YSLs).....	102
กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน (MTP).....	104
5.4 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี.....	106
การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ในมันสำปะหลัง (MeZIPs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	106

การแสดงผลออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates ในมันสำปะหลัง (MeYSLs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	110
การแสดงผลออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของ ไฮโดรเจนไอออนในมันสำปะหลัง (MeMTPs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	112
5.5 การวิเคราะห์กลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี	115
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	120
ภาคผนวก ก.....	122
การเตรียมอาหารสูตร Hoagland.....	122
องค์ประกอบของอาหารสูตร Hoagland.....	122
ภาคผนวก ข.....	123
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติทางสถิติทางสรีรวิทยาของมันสำปะหลัง	123
ความสูงของส่วนเหนือดิน.....	123
น้ำหนักแห้งของราก	124
น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน	125
ปริมาณคลอโรฟิลล์เอในใบมันสำปะหลัง	126
ปริมาณคลอโรฟิลล์บีในใบมันสำปะหลัง	127
ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในใบ	128
ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในระบบแสงสอง.....	129
อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง	130
อัตราการคายน้ำ.....	131
การชักนำการเปิดปากใบ	132
ความเข้มข้นของคาร์บอนไดร็อกไซด์ที่ปากใบ	133
ความต้านทานการเปิดปากใบ.....	134
ปริมาณธาตุสังกะสีในใบ	135

ปริมาณธาตุสังกะสีในราก	136
ปริมาณธาตุเหล็กในใบ.....	137
ปริมาณธาตุเหล็กในราก	138
ปริมาณธาตุแมงกานีสในใบ	139
ปริมาณธาตุทองแดงในใบ	140
ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในใบ	141
ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในราก	142
ภาคผนวก ค.....	143
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP1 ในใบ.....	143
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP1 ในราก.....	143
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP2 ในใบ.....	144
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP2 ในราก.....	144
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP3 ในใบ.....	145
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP3 ในราก.....	145
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP4 ในใบ.....	146
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP4 ในราก.....	146
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP5 ในใบ.....	147
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP5 ในราก.....	147
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP6 ในใบ.....	148
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP6 ในราก.....	148
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP8 ในใบ.....	149
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP8 ในราก.....	149
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP11 ในใบ	150
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP11 ในราก	150

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>IRT1</i> ในใบ	151
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>IRT1</i> ในราก.....	151
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>IRT3</i> ในใบ	152
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>IRT3</i> ในราก.....	152
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>YSL1</i> ในใบ.....	153
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>YSL1</i> ในราก.....	153
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>YSL2</i> ในใบ.....	154
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>YSL2</i> ในราก.....	154
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>YSL3</i> ในใบ.....	155
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>YSL3</i> ในราก.....	155
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>MTP1</i> ในใบ.....	156
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>MTP1</i> ในราก	156
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>MTP2</i> ในใบ.....	157
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>MTP2</i> ในราก	157
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>MTP3</i> ในใบ.....	158
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน <i>MTP3</i> ในราก	158
ภาคผนวก ง	159
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>MeZIP</i>	159
<i>MeZIP1</i>	159
<i>MeZIP2</i>	160
<i>MeZIP3</i>	161
<i>MeZIP4</i>	162
<i>MeZIP5</i>	163
<i>MeZIP6</i>	164

<i>MeZIP8</i>	165
<i>MeZIP11</i>	166
<i>MeIRT1</i>	167
<i>MeIRT3</i>	168
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>MeYSL</i>	169
<i>MeYSL1</i>	169
<i>MeYSL2</i>	170
<i>MeYSL3</i>	171
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>MeMTP</i>	172
<i>MeMTP1</i>	172
<i>MeMTP2</i>	173
<i>MeMTP3</i>	174
<i>MeMTP4</i>	175
<i>MeMTP5</i>	176
<i>MeMTP12</i>	177
รายการอ้างอิง	178
ประวัติผู้เขียน.....	193



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ ZIP ที่ใช้ในการวิจัย.....	31
ตารางที่ 2 ไพรเมอร์ YSL ที่ใช้ในการวิจัย.....	31
ตารางที่ 3 ไพรเมอร์ MTP ที่ใช้ในการวิจัย.....	32
ตารางที่ 4 ไพรเมอร์ยีนอ้างอิงที่ใช้ในการวิจัย.....	32
ตารางที่ 5 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยีน ZIP.....	57
ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน ZIP ในมันสำปะหลัง.....	59
ตารางที่ 7 การวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีน ZIP (functional annotation).....	61
ตารางที่ 8 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยีน YSL.....	63
ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน YSL ในมันสำปะหลัง.....	65
ตารางที่ 10 การวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีน YSL (functional annotation).....	67
ตารางที่ 11 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยีน MTP.....	69
ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน MTP ในมันสำปะหลัง.....	71
ตารางที่ 13 การวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีน MTP (functional annotation).....	73

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ KU50	5
รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ HB80.....	6
รูปที่ 3 กลไกการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน.....	7
รูปที่ 4 ลักษณะอาการขาดธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลัง.....	9
รูปที่ 5 การดูดซึมและลำเลียงธาตุสังกะสีสู่ edible tissues ในพืช	10
รูปที่ 6 ปัจจัยที่มีผลต่อกลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในพืช	11
รูปที่ 7 ปฏิสัมพันธ์ของการรักษาสมดุลธาตุฟอสฟอรัส เหล็ก และธาตุสังกะสีในพืช	12
รูปที่ 8 กลไกการรักษาสมดุลของธาตุเหล็ก รวมถึงความสัมพันธ์ที่มีต่อธาตุสังกะสีและธาตุทองแดง ในอะราบิโดพซิส.....	13
รูปที่ 9 กลไกการรับสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับธาตุโลหะด้วยโปรตีนลำเลียง IRT1.....	13
รูปที่ 10 การควบคุมการแสดงออกของยีนบนโปรโมเตอร์	14
รูปที่ 11 บทบาทของฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของธาตุเหล็ก	15
รูปที่ 12 โปรตีนลำเลียงธาตุสังกะสีในพืช	16
รูปที่ 13 โปรตีนลำเลียงที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะในพืช	16
รูปที่ 14 การลำเลียงธาตุโลหะหนักในเนื้อเยื่อพืชโดยอาศัยโปรตีน YSL	19
รูปที่ 15 โปรตีน MTP บนอแกแนลของอะราบิโดพซิส (ข้าว) และข้าว (ขาก)	21
รูปที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ HB80 และ KU50.....	40
รูปที่ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ (YFEL) มันสำปะหลังพันธุ์ HB80 และ KU50	41
รูปที่ 18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 อายุ 21 วัน ที่ปลูกภายใต้สภาวะ มีธาตุสังกะสี.....	42
รูปที่ 19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 อายุ 21 วัน ที่ปลูกภายใต้สภาวะ ขาดธาตุสังกะสี.....	42

รูปที่ 20	ความสูงของลำต้น (a), น้ำหนักแห้งของราก (b) และน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน (c).....	43
รูปที่ 21	ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลัง.....	44
รูปที่ 22	ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในระบบแสงสองของใบมันสำปะหลัง	45
รูปที่ 23	อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบมันสำปะหลัง	45
รูปที่ 24	อัตราการคายน้ำของใบมันสำปะหลัง.....	46
รูปที่ 25	การชักนำการเปิดปากใบของมันสำปะหลัง.....	46
รูปที่ 26	ความเข้มข้นของคาร์บอนไดร็อกไซด์ที่ปากใบของมันสำปะหลัง	47
รูปที่ 27	ความต้านทานการเปิดปากใบในใบของมันสำปะหลัง	47
รูปที่ 28	การสะสมธาตุสังกะสีในรากมันสำปะหลัง.....	50
รูปที่ 29	การสะสมธาตุเหล็กในรากมันสำปะหลัง	51
รูปที่ 30	การสะสมธาตุแมงกานีสในรากมันสำปะหลัง	51
รูปที่ 31	การสะสมธาตุทองแดงในรากมันสำปะหลัง.....	52
รูปที่ 32	การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในรากมันสำปะหลัง	52
รูปที่ 33	การสะสมธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลัง	53
รูปที่ 34	การสะสมธาตุเหล็กในใบมันสำปะหลัง.....	53
รูปที่ 35	การสะสมธาตุแมงกานีสในใบมันสำปะหลัง	54
รูปที่ 36	การสะสมธาตุทองแดงในใบมันสำปะหลัง.....	54
รูปที่ 37	การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในใบมันสำปะหลัง	55
รูปที่ 38	โครงสร้างของยีน ZIP ในมันสำปะหลัง.....	58
รูปที่ 39	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีน ZIP ในมันสำปะหลัง อาราบิโดพซิส และข้าว	60
รูปที่ 40	โครงสร้างของยีน YSL ในมันสำปะหลัง	64
รูปที่ 41	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีน YSL ในมันสำปะหลัง อาราบิโดพซิส และข้าว.....	66
รูปที่ 42	โครงสร้างของยีน MTP ในมันสำปะหลัง.....	70
รูปที่ 43	ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีน MTP ในมันสำปะหลัง อาราบิโดพซิส และข้าว ...	72

รูปที่ 44 การแสดงออกของยีน MeZIP1-3 ในไขมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	76
รูปที่ 45 การแสดงออกของยีน MeZIP4-6 ในไขมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	77
รูปที่ 46 การแสดงออกของยีน MeZIP8, 11 และ MeIRT1 ในไขมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	78
รูปที่ 47 การแสดงออกของยีน MeIRT3 ในไขมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	79
รูปที่ 48 การแสดงออกของยีน MeZIP1-3 ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	80
รูปที่ 49 การแสดงออกของยีน MeZIP4-6 ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	81
รูปที่ 50 การแสดงออกของยีน MeZIP8, 11 และ MeIRT1 ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	82
รูปที่ 51 การแสดงออกของยีน MeIRT3 ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50	83
รูปที่ 52 การแสดงออกของยีน MeYSL1-3 ในไขมันสำปะหลังพันธุ์ KU50	84
รูปที่ 53 การแสดงออกของยีน MeYSL1-3 ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50	85
รูปที่ 54 การแสดงออกของยีน MeMTP1-3 ในไขมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	87
รูปที่ 55 การแสดงออกของยีน MeMTP4-5 และ MeMTP12 ในไขมันสำปะหลังพันธุ์ KU50	88
รูปที่ 56 การแสดงออกของยีน MeMTP1-3 ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50.....	89
รูปที่ 57 การแสดงออกของยีน MeMTP4-5 และ MeMTP12 ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50	90
รูปที่ 58 ภาพรวมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในใบและรากมันสำปะหลัง พันธุ์ KU50 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (-Zn).....	118
รูปที่ 59 การทำนายตำแหน่งโปรตีน ZIP, YSL และ MTP ในระดับเซลล์ของมันสำปะหลัง.....	119

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญของปัญหาและที่มาของโครงการวิจัย

อาการขาดธาตุสังกะสีเป็นสาเหตุสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากธาตุสังกะสีเป็นจุลธาตุ (micronutrient) ที่มีความจำเป็นในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ เช่น องค์ประกอบหลักของเอนไซม์และโคแฟกเตอร์หลายชนิดในกระบวนการต่าง ๆ ของพืช และยังเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย (White & Broadley, 2011) เมื่อพืชต้องการธาตุสังกะสีในปริมาณน้อย หากขาดธาตุดังกล่าวไปจึงมีผลกระทบต่อพืชค่อนข้างมาก เช่น ลักษณะใบซีดจางจึงส่งผลกระทบต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง อัตราการยืดยาวของลำต้นลดลงจึงชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหลักที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของพืชได้

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย จัดเป็นไม้พุ่มยืนต้น นิยมปลูกในเขตร้อน ซึ่งให้ผลผลิตต่อไร่สูงเมื่อเทียบกับพืชไร่อื่น ๆ มีการรายงานการสำรวจภาวะการผลิตมันสำปะหลังในฤดูกาลผลิตของประเทศไทย ปี 2552-2561 โดยสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร พบว่าพื้นที่เก็บเกี่ยวมันสำปะหลังลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่เพาะปลูก อาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น ไวรัสก่อโรค ระบบการจัดการการใส่ปุ๋ยที่ขาดประสิทธิภาพ เป็นต้น อีกทั้งยังพบว่าเกษตรกรบางพื้นที่ เช่น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยยังคงพบปัญหาผลผลิตมันสำปะหลังตกต่ำเนื่องจากขาดธาตุสังกะสี โดยพบว่าใบมันสำปะหลังแสดงอาการขาดธาตุสังกะสีอย่างชัดเจน อาจมีสาเหตุมาจากลักษณะดินที่มีความเป็นด่างสูง และพฤติกรรมการใส่ปุ๋ยที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักเพียงอย่างเดียว ก่อนหน้านี้มีการศึกษาพบว่า ใบมันสำปะหลังที่โตเต็มที่ (youngest fully expanded leaves) จะมีการสะสมธาตุสังกะสีประมาณ 50-100 ไมโครกรัมต่อกรัม แต่มันสำปะหลังที่แสดงอาการขาดธาตุจะพบว่าการสะสมธาตุสังกะสีต่ำกว่า 20 ไมโครกรัมต่อกรัม (Ding et al., 2016)

สำหรับธาตุสังกะสีในดินนั้นมาจากเศษซากของการเผาไหม้ในบรรยากาศ อาทิ การเกิดไฟฟ้าและภูเขาไฟระเบิด เป็นต้น หรืออาจมาจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การทำเหมืองแร่ การใส่ปุ๋ยต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยเคมีก็ตาม (Moreira et al., 2018) ถึงแม้ว่าธาตุสังกะสีจะมีการสะสมอยู่ในดินจากกิจกรรมโดยมนุษย์และปรากฏการณ์ทางธรรมชาติต่าง ๆ มากมาย แต่รูปแบบที่พืชสามารถดูดซึมจากดินเข้าสู่รากได้มีน้อยมาก นั่นคือ Zn^{2+} และ Zn-chelate ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งในการศึกษากลไกของการลำเลียงธาตุสังกะสี เพื่อนำไปสู่การใช้ธาตุสังกะสีอย่างมีประสิทธิภาพ (Alloway, 2009; Ricachenevsky et al., 2015; Scott Aleksander Sinclair & Krämer, 2012)

เพื่อให้เกิดความเข้าใจของกลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษากลไกการขนส่งธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้มีการรายงานเกี่ยวกับกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งธาตุสังกะสีในพืชชนิดต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนหรือการศึกษาความสัมพันธ์ของกลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี อาทิ โปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของราก (ZIPs; Zinc-regulated transporters, Iron-regulated transporter-like protein) (Fu et al., 2017; S. Li et al., 2013) โปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงธาตุโลหะ โดยอาศัยสารที่มีคุณสมบัติเป็น chelate (YSLs; Yellow stripe-like proteins) (Rhizopoulou & Psaras, 2003) โปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงธาตุสังกะสีโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแวคิวโอล (MTPs; Metal tolerance proteins หรือ CDFs; Cation diffusion facilitators) และโปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงธาตุโลหะหนักโดยอาศัยพลังงาน (HMAs; Heavy metal ATPases) (Takahashi et al., 2012) เป็นต้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษากลไกการลำเลียงธาตุสังกะสี และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีภายในต้นมันสำปะหลัง เพื่อนำไปสู่การเกษตรที่แม่นยำ (precision agriculture) ในการทำนายระบบการจัดการการใช้ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อระบุยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี 3 กลุ่มในมันสำปะหลัง
2. เพื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี
3. เพื่อศึกษากลไกของการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาลำดับเบสจากฐานข้อมูลมันสำปะหลัง โดยการไฮโปรแกรมทางชีวสารสนเทศ เช่น MEGA-X, GSDS และ PlantCare เพื่อระบุยีนและทำนายตำแหน่งบริเวณ cis-acting regulatory elements และศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มยีน *MTPs*, *YSLs* และ *ZIPs* ทั้งหมด 19 ยีน ในใบและรากมันสำปะหลังที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน โดยทำการปลูกมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์ ในอาหาร 1X Hoagland ที่มีความเข้มข้นของธาตุสังกะสี (ZnSO_4) 2.5 μM เป็นเวลา 10 วัน แล้วย้ายปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (0 μM ZnSO_4) และสภาวะควบคุม (2.5 μM ZnSO_4) เป็นเวลา 3 สัปดาห์โดยเก็บตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ส่วนแรกนำมาสกัดอาร์เอ็นเอเพื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค qRT-PCR ส่วนที่สองบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางสรีรวิทยา ได้แก่ ความสูง น้ำหนักแห้ง และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วนสุดท้ายนำไปวัดปริมาณธาตุอาหารด้วยเทคนิค ICP-OES

คำสำคัญของโครงการวิจัย

มันสำปะหลัง (cassava), ธาตุสังกะสี (zinc), การแสดงออกของยีน (gene expression), การขาดธาตุสังกะสี (zinc deficiency)



บทที่ 2

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ (Family) Euphorbiaceae เป็นที่รู้จักกันในชื่อ cassava, mandioca, manioc, และ yuca นิยมปลูกในเขตร้อน สภาพอากาศอบอุ่น มีความชื้น ปริมาณฝนกระจายทั่วพื้นที่ และเจริญเติบโตได้ดีในดินทุกชนิด ยกเว้นดินที่มีความเป็นด่าง ดินเค็ม หรือสภาพดินที่มีน้ำท่วมขังยากต่อการระบายน้ำ (ill-drained soils) อีกทั้งยังพบว่ามันสำปะหลังทนต่อสภาพดินที่เป็นกรดด้วย โดยทั่วไปค่าความเป็นกรดเบสของสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังจะอยู่ในช่วง 5.5-7.0 (Ceballos et al., 2011; Howeler, 2014; Shackelford et al., 2018)

ใบมันสำปะหลังเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) มีลักษณะการเกิดแบบหมุนเวียนรอบลำต้น (spiral) ประกอบด้วย แผ่นใบ (lamina/blade) มีลักษณะเว้าเป็นหยักลึกแบบ palmately lobe จำนวนแฉกมีตั้งแต่ 3-9 แฉก โดยแฉกตรงกลางจะมีขนาดใหญ่กว่าส่วนอื่น รูปทรงของแฉกแตกต่างกัน แต่ค่อนข้างคงที่ในแต่ละพันธุ์ ใบที่อยู่ใกล้ซอกดอกและยอดมักจะมีขนาดเล็กกว่า และมีจำนวนแฉกน้อยกว่าใบด้านล่าง ๆ สีของก้านใบอาจมีสีเขียวหรือสีแดงขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์., 2558) การเจริญเติบโตและพัฒนาของแผ่นใบมีสีแตกต่างกันไปตามชนิดพันธุ์ เช่น สีม่วง สีเขียวเข้ม และสีเขียวอ่อน เป็นต้น (Byrne, 1984)

ลำต้นมันสำปะหลังเป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 1-5 เมตร ลำต้นมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-6 เซนติเมตร ความหนาของเปลือกและสีของลำต้นแตกต่างกันไปตามชนิดพันธุ์ และบนลำต้นหรือกิ่งของมันสำปะหลังจะมีรอยหลุดร่วงของใบแก่ เรียกว่า รอยแผลใบ (leaf scar) ซึ่งเป็นรอยต่อระหว่างก้านใบกับลำต้นหรือกิ่ง ระยะระหว่างรอยหลุดร่วงของใบ 2 รอยต่อกัน เรียกว่า ความยาวของชั้น (storey length) ด้านบนเหนือรอยหลุดร่วงของใบจะมีตา (bud) ซึ่งจะงอกเป็นต้นใหม่เมื่อนำท่อนพันธุ์ไปปลูก (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์., 2558)

รากมันสำปะหลัง มีราก 2 ชนิด คือ รากจริงเป็นแบบรากฝอย และรากสะสมอาหาร ที่เรียกกันทั่วไปว่า หัว โดยรากของมันสำปะหลังเป็นระบบรากแบบ adventitious root รากที่งอกจากท่อนพันธุ์ (cutting) สามารถงอกได้จาก 3 ส่วน คือ รากจากส่วนเนื้อเยื่อ cambium รากจากส่วนตา และรากจากส่วนรอยหลุดร่วงของใบ (leaf scar) ส่วนหัว (tuber) ของมันสำปะหลัง คือส่วนรากที่ขยายใหญ่เพื่อสะสมแป้ง ขนาดของรากขึ้นอยู่กับอายุ พันธุ์ ดิน และสภาพภูมิอากาศ (กรมวิชาการเกษตร., 2561)

มันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัย

1. มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)

มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีชื่อเดิมว่า MKUC28-77-3 ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ระยอง 1 และพันธุ์ระยอง 90 ในปี พ.ศ. 2527 ที่สถานีวิจัยศรีราชาของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยในปี พ.ศ. 2535 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์แนะนำพันธุ์ โดยตั้งชื่อว่าเกษตรศาสตร์ 50 เพื่อร่วมฉลองวาระครบรอบ 50 ปี ของการก่อตั้งมหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นการพัฒนาพันธุ์ร่วมกันระหว่างนักวิชาการจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรมวิชาการเกษตร และศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (Centro International de Agricultura Tropical, CIAT) มันสำปะหลังพันธุ์ดังกล่าวสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ทรงต้นสูง ปฏิบัติดูแลรักษาง่าย ต้นพันธุ์แข็งแรง มีความงอกดี และเก็บรักษาได้นาน มีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง ให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดี จึงเหมาะสมแก่การปลูกในทุกภาคของประเทศไทย ดังนั้นจึงเป็นพันธุ์มันสำปะหลังที่เกษตรกรนิยมปลูกมากที่สุด (อรุณวงศ์ราเชน, 2549) ลักษณะประจำพันธุ์ คือ ยอดอ่อนสีม่วง ไม่มีขน ใบที่เจริญเต็มที่สีเขียวอมม่วง แผ่นใบเป็นแบบใบหอก (lanceolate) ต้นสูงประมาณ 2.0-3.0 เมตร ลำต้นโค้ง มีสีเทาเงิน แตกกิ่งน้อย หากแตกกิ่ง กิ่งชุดแรก (primary branch) จะแตกสูงจากพื้นดินประมาณ 1.50 เมตร กิ่งทำมุมกว้าง 75-90 องศา ลักษณะหัวหรือรากสะสมอาหารมีขนาดสม่ำเสมอ เปลือกสีน้ำตาล เนื้อสีขาว ส่วนใหญ่ไม่พบการติดดอกและผลภายใน 1 ปี (รูปที่ 1) (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561; สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์., 2558)

จากการรายงานของรัชชา สัจจาศิลป์ ในปี 2559 พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในช่วง 2-4 สัปดาห์แรกของการเจริญพัฒนามันสำปะหลังมีรากฝอยจำนวนมาก โดยรากดังกล่าวทำหน้าที่หลักในการดูดซึมธาตุอาหาร และรากเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นรากสะสมอาหารในช่วง 8-12 สัปดาห์ ซึ่งมีบทบาทในการดูดซึมธาตุอาหารลดลง



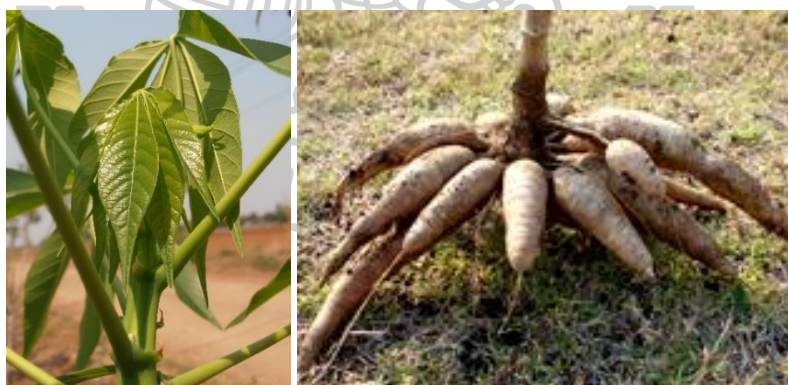
รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

(กรมวิชาการเกษตร., 2561)

2. มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 (HB80)

มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 เป็นพันธุ์ที่ได้รับการผสมระหว่างพันธุ์ระยอง 5 และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ซึ่งพัฒนาขึ้นโดยความร่วมมือระหว่างภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กับมูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ณ สถาบันวิจัยศรีราชา จังหวัดชลบุรี ในปี 2535-2549 เริ่มแนะนำพันธุ์ดังกล่าวให้เกษตรกรปลูกในปี 2551 โดยชื่อพันธุ์แสดงถึงที่ตั้งของสถาบันพัฒนามันสำปะหลังภายใต้มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ที่ตำบลห้วยบง อำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา เพื่อเฉลิมพระเกียรติเนื่องในโอกาสสมทวงเฉลิมพระชนมพรรษา 80 พรรษา ของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ รัชกาลที่ 9 (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์., 2558) และเป็นมันสำปะหลังพันธุ์แรกของไทยที่ได้รับการจดทะเบียนพันธุ์พืชใหม่ ซึ่งได้รับการคุ้มครองสิทธิตามพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ.2542

จากการทดสอบเปรียบเทียบพันธุ์โดยมูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย พบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 มีแป้งในหัวเฉลี่ยสูงถึง 26.8% ซึ่งสูงกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 4.9-5.5 ตันต่อไร่ ลักษณะประจำพันธุ์มียอดสีเขียวอ่อน ลำต้นสีเขียวเงิน ทรงต้นสูง แตกกิ่งน้อยหรือไม่แตกกิ่ง จึงสะดวกแก่การเก็บเกี่ยว งอกดี ความอยู่รอดสูง และที่สำคัญคือสามารถตอบสนองต่อการให้ปุ๋ยได้ดี เปลือกหัวสีน้ำตาล แป้งมีสีขาวและมีความหนืดสูงเหมาะแก่การทำอุตสาหกรรมแป้งและอุตสาหกรรมต่อเนื่อง (มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย, 2561) (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังพันธุ์ HB80

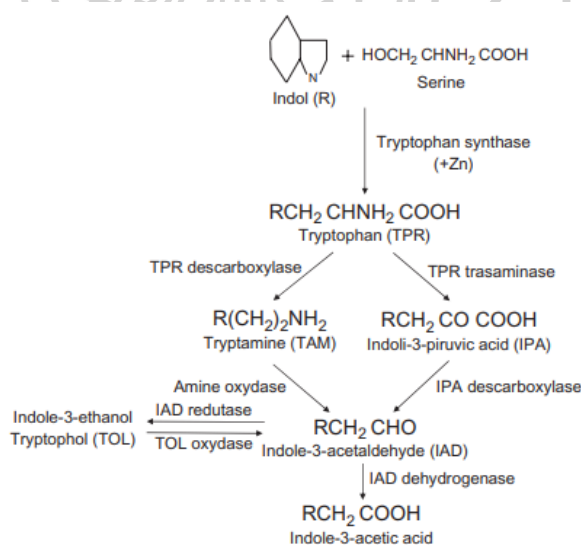
(กรมวิชาการเกษตร., 2561)

จากลักษณะประจำพันธุ์ของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่มีความแตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นการทนต่อทุกสภาพแวดล้อมหรือการตอบสนองต่อการให้ปุ๋ย ส่วนหนึ่งอาจมีผลมาจากปัจจัยในการเจริญเติบโตและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุอาหารที่แตกต่างกันภายใต้สภาวะการมีธาตุอาหารมากเกินไปหรือมีจำกัด เป็นต้น

ธาตุสังกะสี

1. ความสำคัญของธาตุสังกะสี

ธาตุสังกะสี (Zinc) เป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของมนุษย์และพืช ธาตุดังกล่าวมีบทบาทสำคัญในเซลล์สิ่งมีชีวิต ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์และมีบทบาทในกิจกรรมเอนไซม์ เช่น โคแฟกเตอร์สำหรับสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ มีหน้าที่ในกระบวนการไกลโคไลซิส เป็นต้น โดยมนุษย์ในช่วงวัยผู้ใหญ่ต้องการธาตุสังกะสีปริมาณ 15 มิลลิกรัมต่อวัน มีรายงานพบว่ามนุษย์มากกว่า 30% ของโลกมีอาการขาดธาตุสังกะสี มักพบอาการผมร่วง ความทรงจำเลือนราง มีปัญหาเกี่ยวกับผิวหนัง และกล้ามเนื้ออ่อนแอ เป็นต้น (Hafeez et al., 2013) ดังนั้นการบริโภคอาหารที่มีธาตุสังกะสีจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง ได้แก่ อาหารที่มีโปรตีนสูง อาทิ นมและเนื้อสัตว์ เป็นต้น พืชผัก อาทิ ข้าวกล้อง เมล็ดทานตะวัน และมันฝรั่ง เป็นต้น สำหรับพืช ธาตุสังกะสีเป็นจุลธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งจัดเป็นธาตุโลหะชนิดหนึ่ง โดยมีบทบาทในกระบวนการต่าง ๆ ได้แก่ องค์ประกอบสำคัญของเอนไซม์และโปรตีน มีส่วนในการผลิตฮอร์โมนพืช เช่น ฮอร์โมนออกซิน เนื่องจากเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ในการสังเคราะห์ทริปโตเฟน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิต IAA ในพืช (รูปที่ 3) และการยืดยาวของปล้อง (internode elongation) เป็นต้น รวมถึงผลกระทบต่อการผลิตเอนไซม์บางชนิด เช่น Cu/Zn superoxide dismutase (Cu/Zn SOD) และ carbonic anhydrate ที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับความเครียดออกซิเดชันและกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงตามลำดับ (Broadley et al., 2012; Moreira et al., 2018)



รูปที่ 3 กลไกการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน

โดยมีธาตุสังกะสีเป็นองค์ประกอบในการสังเคราะห์ทริปโตเฟนที่ใช้เป็นสารตั้งต้น

(Moreira et al., 2018)

2. การขาดธาตุสังกะสีในพืช

อาการขาดธาตุสังกะสีถือเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรลดลง เมื่อพืชขาดธาตุสังกะสีจะมีอาการซีดเหลืองจากบริเวณเส้นกลางใบ แผ่นใบขนาดเล็กลง (รูปที่ 4) หรือที่เรียกว่า little leaf รวมถึงปล้อง (internode) และก้านใบสั้นหรืออาการ rosetting จึงทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช โดยอาการขาดธาตุดังกล่าวจะเกิดที่ใบอ่อนก่อน เนื่องจากธาตุสังกะสีไม่สามารถเคลื่อนย้ายได้ (immobile) และเป็นเหตุให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง 50-70% อีกทั้งยังพบว่าพืชจะเกิดสภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) และสร้าง reactive oxygen species (ROS) มากขึ้น จึงชักนำให้เกิดการสะสมเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และกระตุ้นกระบวนการ lipid peroxidation รวมถึงกระบวนการ oxidative IAA degradation มีการรายงานไว้ว่า พืชที่อยู่ในสภาวะปกติจะมีปริมาณธาตุสังกะสีในใบอ่อนและใบที่โตเต็มที่อยู่ในช่วง 50-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่ปริมาณธาตุสังกะสีที่ส่งผลให้พืชแสดงอาการขาดธาตุสังกะสีจะมีปริมาณน้อยกว่า 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Alloway, 2009; Broadley et al., 2012; Hafeez et al., 2013; R. Howeler et al., 1982)

อาการขาดธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังถือเป็นปัญหาหลักที่มีผลกระทบต่อผลผลิตของเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง มีการรายงานว่า การปลูกมันสำปะหลังบริเวณพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยที่มีลักษณะเป็นดินต่าง มักมีอาการขาดธาตุสังกะสีเกิดขึ้น (Alloway, 2009; Howeler, 2014; R. Howeler et al., 1982; Khongchui et al., 2014) และพบว่าพฤติกรรมการเพาะปลูกของเกษตรกรนิยมให้ปุ๋ยที่เป็นธาตุอาหารหลัก เช่น ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ซึ่งมีการรายงานว่า การให้ธาตุฟอสฟอรัสในปริมาณมาก จะลดประสิทธิภาพในการละลายและการเคลื่อนย้ายของธาตุสังกะสีภายในเซลล์ ตลอดจนการลำเลียงธาตุดังกล่าวขึ้นสู่ยอด เนื่องจากจะเกิดสารประกอบของ $Zn_3(PO_4)_2$ ที่ไม่สามารถละลายในดินได้ ทำให้ความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในดินลดลง ซึ่งมีผลต่อการขาดธาตุสังกะสีในพืช (Broadley et al., 2012; Hafeez et al., 2013; Singh et al., 2005)



รูปที่ 4 ลักษณะอาการขาดธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลัง

(Byrne, 2011; William, 2008)

3. ธาตุสังกะสีในดิน

ธาตุสังกะสีที่พบตามแหล่งดินอาจมาจากกระบวนการเผาไหม้ในชั้นบรรยากาศ เช่น ไฟป่า หรือ การทำเหมืองแร่ เป็นต้น ส่วนใหญ่มักพบว่าธาตุดังกล่าวมาจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การใส่ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยชีวภาพ เป็นต้น มีการรายงานไว้สำหรับแหล่งดินที่เคยทำการเกษตรจะมีความเข้มข้นของสังกะสี ประมาณ 10 - 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Sadeghzadeh & Rengel, 2011)

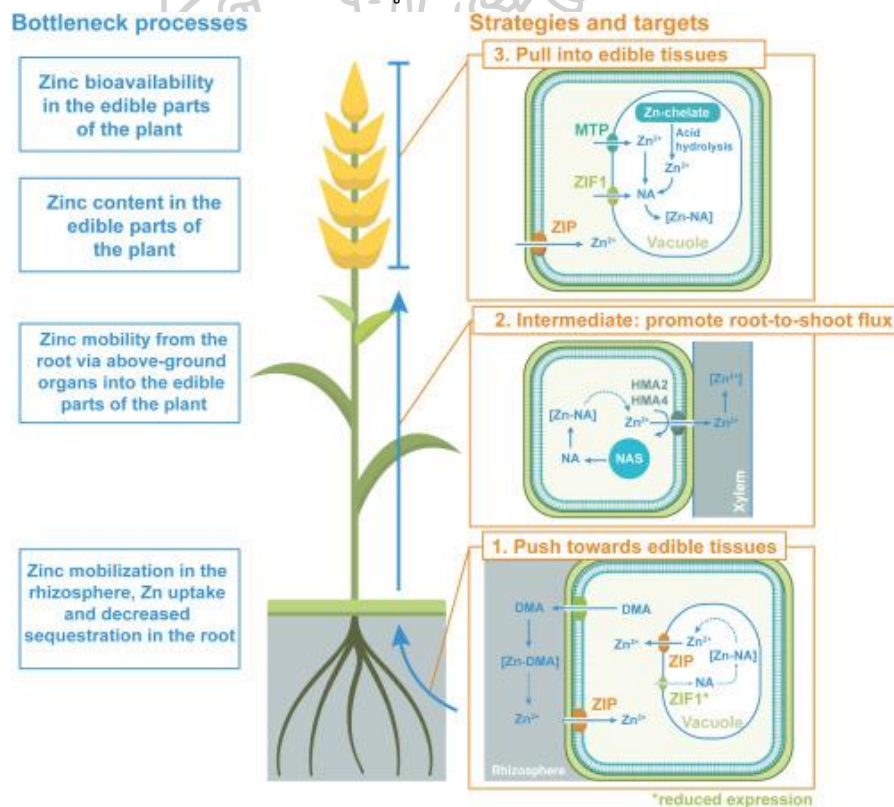
สังกะสีในดินสามารถแบ่งตามวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีได้ 3 ประเภท ได้แก่ 1) ธาตุสังกะสีที่สามารถละลายน้ำได้ 2) ธาตุสังกะสีที่สามารถแลกเปลี่ยนไอออนในชั้นคอลลอยด์ดิน และ 3) ธาตุสังกะสีที่ไม่ละลายน้ำในชั้นของแข็ง สำหรับการวัดความเป็นกรดต่างของดิน เป็นปัจจัยสำคัญเพื่อที่จะศึกษาการกระจายของธาตุสังกะสีในดิน (Sadeghzadeh & Rengel, 2011) สำหรับดินที่ขาดธาตุสังกะสีมักพบในพื้นที่ที่มีสภาพเป็นด่าง (alkaline soils) ดินที่มีแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และ คาร์บอเนตชนิดอื่น ๆ (calcareous soils) พื้นที่ที่มีการทำการเกษตรเป็นเวลานาน ดินที่มีการระบายน้ำได้ยาก ดินเค็ม (sodic & saline soils) ดินที่มีธาตุฟอสฟอรัสและซิลิคอนสูง รวมถึงดินที่มีการทับถมของซากต้นไม้ขายน้ำ เป็นต้น (Singh et al., 2005)

4. การดูดซึมธาตุสังกะสีในพืช

พืชสามารถดูดซึมธาตุสังกะสีในรูปของ Zn^{2+} จากสารละลายดินผ่านโปรตีนลำเลียงบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของราก การดูดซึมธาตุสังกะสีอาศัยความเข้มข้นของไอออนของธาตุดังกล่าวบริเวณผิวราก และความสามารถในการดูดซึมของราก ซึ่งไอออนของธาตุสังกะสีสามารถเข้าสู่เซลล์โดยกระบวนการ ดังนี้ 1) การเคลื่อนที่ของน้ำโดยอาศัยแรงดึงหรือแรงดันจากภายนอก (mass flow) และ 2) การแพร่ (diffusion) สำหรับกระบวนการหลัก เมื่อพืชอยู่ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของธาตุสังกะสีมาก

สามารถนำธาตุสังกะสีเข้าสู่เซลล์ได้ด้วยวิธีการเคลื่อนที่ของน้ำโดยอาศัยแรงดึงหรือแรงดันจากภายนอก ที่เรียกว่า mass flow ซึ่งเป็นกระบวนการที่อาศัยแรงดันจากการคายน้ำของพืช อย่างไรก็ตามถ้าพืชอยู่ภายใต้สภาวะที่มีธาตุสังกะสีน้อย กระบวนการที่จะทำให้พืชดูดซึมธาตุสังกะสีไปใช้ได้ก็คือ การแพร่ หรือที่เรียกว่า diffusion เนื่องจากเมื่อพืชอยู่ในสภาวะที่มีธาตุสังกะสีน้อย รูปแบบของธาตุสังกะสีที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้จึงมีน้อยเช่นกัน ส่งผลให้พืชต้องอาศัยความเข้มข้นของสิ่งแวดล้อมบริเวณผิวรากในการแพร่ไอออนของธาตุเข้าสู่เซลล์ (Sadeghzadeh & Rengel, 2011)

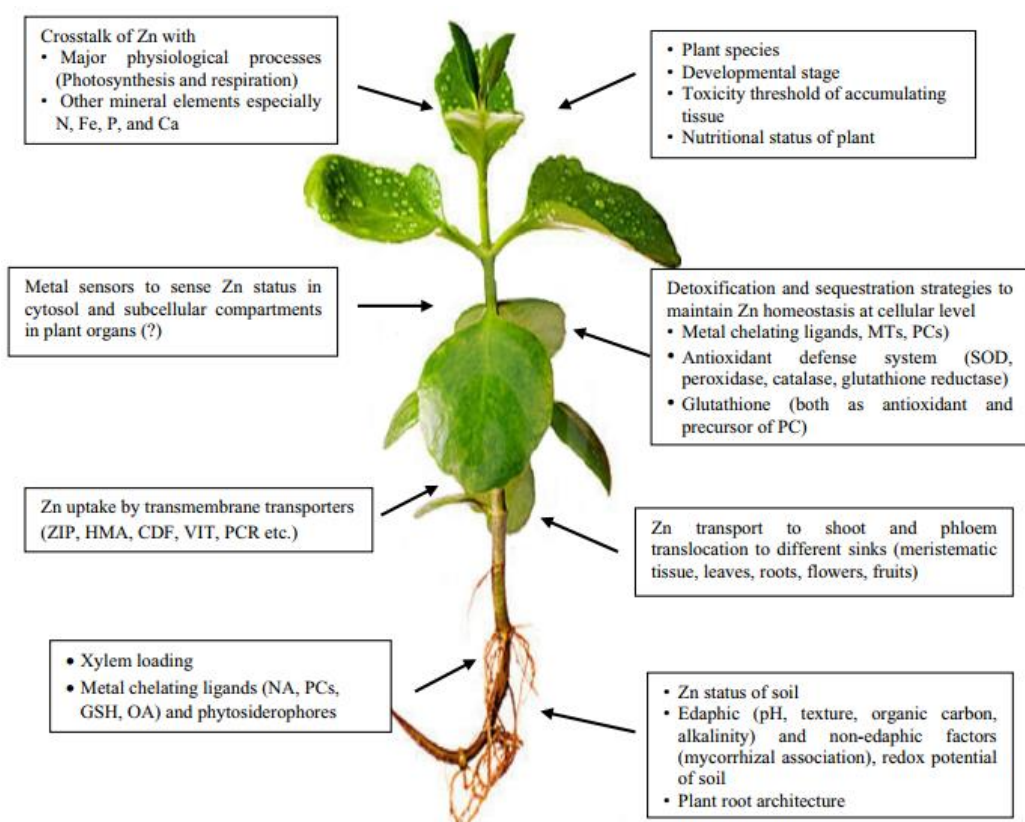
กระบวนการดูดซึมและลำเลียงธาตุสังกะสีขึ้นสู่ส่วนที่รับประทานได้ (edible tissues) ในพืชนั้น นอกจากอาศัยหลักการข้างต้นแล้ว ยังอาศัยกระบวนการลำเลียงธาตุอาหารที่พยายามดูดซึมไอออนของธาตุสังกะสีผ่านรากแล้วเคลื่อนย้ายสู่อวัยวะส่วนเหนือดิน โดยมีกลุ่มโปรตีนลำเลียงบางชนิดที่ทำหน้าที่ควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณออสเทลล์ต่าง ๆ ในราก จากนั้นมีการกระตุ้นการลำเลียงไอออนของธาตุสังกะสีผ่านไซเลมไปยังบริเวณอวัยวะที่มีบทบาทในการสะสมธาตุสังกะสี โดยมีโปรตีนลำเลียงเป็นพาหะในการนำไอออนของธาตุสังกะสีเข้าสู่บริเวณ ส่วนที่รับประทานได้ (edible tissues) (Stanton et al., 2022) (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 การดูดซึมและลำเลียงธาตุสังกะสีสู่ edible tissues ในพืช (Stanton et al., 2022)

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้ธาตุสังกะสีในพืช

การเปลี่ยนแปลงการสะสมธาตุสังกะสีในพืชนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายด้าน ได้แก่ ชนิดของพืช ความเครียดจากสภาพแวดล้อมที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต (biotic) และสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic) รวมถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอวัยวะต่าง ๆ เช่น ความยาวของราก ความหนาแน่นของรากแขนง อายุของราก มวลราก รวมถึงมวลของส่วนเหนือดิน จำนวนใบ พื้นที่ใบ ซึ่งมีผลต่อการดูดซึม การกระจายตัวของธาตุสังกะสี ตลอดจนความสามารถในการนำธาตุสังกะสีไปใช้ในกระบวนการทางเมแทบอลิซึมต่าง ๆ (รูปที่ 6)

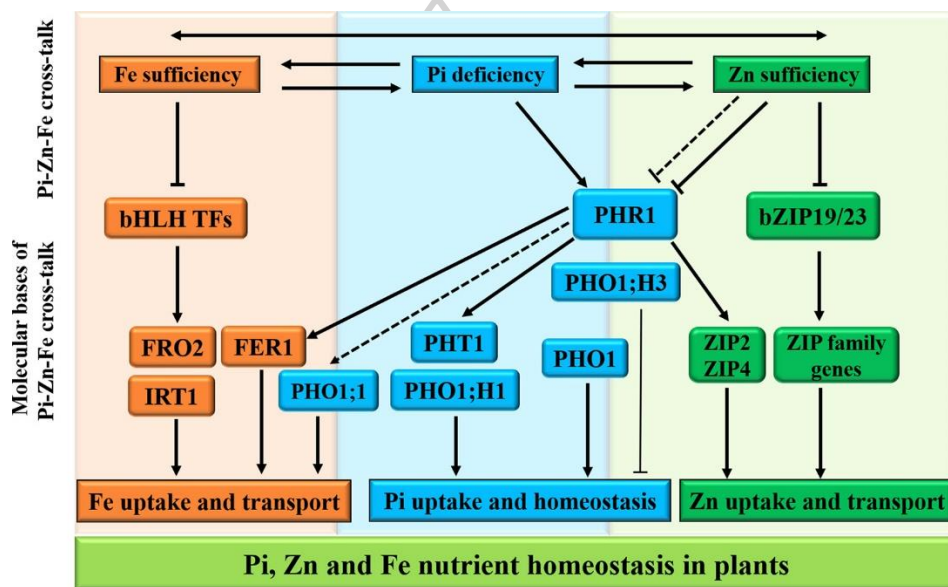


รูปที่ 6 ปัจจัยที่มีผลต่อกลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในพืช

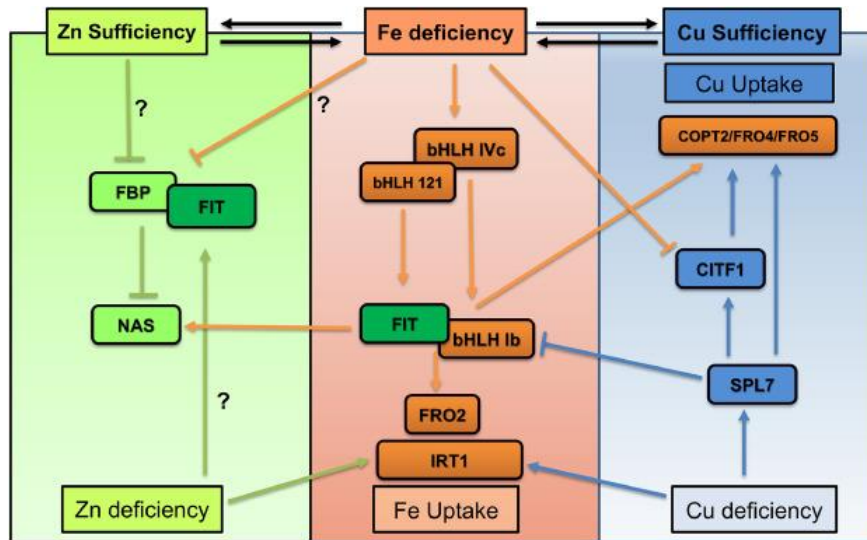
(Gupta et al., 2016)

ความสัมพันธ์ของการรักษาสมดุลของธาตุอาหารภายในพืช อาจมีผลมาจากการควบคุมในระดับชีวโมเลกุลของพืชที่ปลูกในสภาวะต่าง ๆ ซึ่งเป็นการควบคุมที่เกี่ยวข้องกับ transcription factors อาทิ PHR1 ซึ่งเป็น transcription factor ที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงฟอสเฟต เหล็ก และสังกะสีในพืช โดยมีหน้าที่หลักในการควบคุมการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงฟอสเฟต ขณะเดียวกันยังมีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกของโปรตีน ZIP2 และ ZIP4

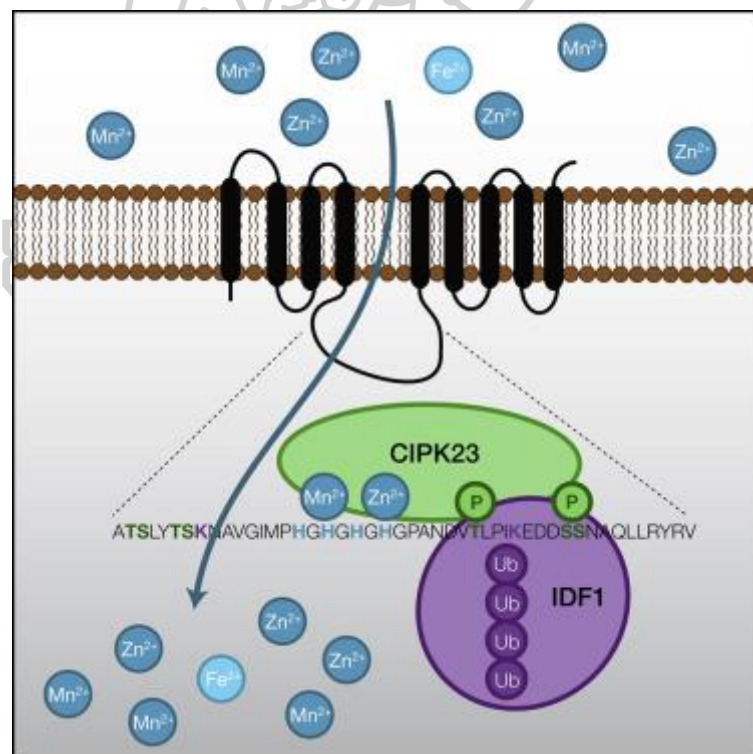
ที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีด้วย (รูปที่ 7) (X. Xie et al., 2019) อย่างไรก็ตามพืชที่อยู่ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดธาตุอาหารหรือมีธาตุอาหารมากเกินไปนั้น จะมีผลต่อการทำงานของโปรตีนที่เป็น transcription factors โดยมีความสัมพันธ์กันทั้งในเชิงบวกและเชิงลบ จึงส่งผลต่อการดูดซึมหรือลำเลียงธาตุอาหาร (รูปที่ 8) (Rai et al., 2021) รวมถึงการส่งสัญญาณเพื่อตอบสนองต่อธาตุโลหะในสภาวะนั้น ๆ โดยจะมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช ร่วมกับกลไกในระดับ transcription (รูปที่ 9) (Dubeaux et al., 2018) โปรตีนลำเลียงธาตุอาหารจึงมีบทบาทสำคัญในการนำธาตุอาหารต่าง ๆ เข้าไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช



รูปที่ 7 ปฏิสัมพันธ์ของการรักษาสสมดุลธาตุฟอสฟอรัส เหล็ก และธาตุสังกะสีในพืช (X. Xie et al., 2019)

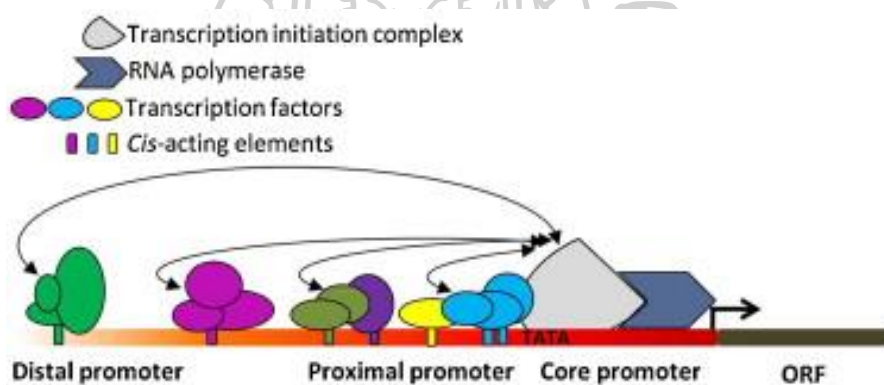


รูปที่ 8 กลไกการรักษาสมดุลของธาตุเหล็ก รวมถึงความสัมพันธ์ที่มีต่อธาตุสังกะสีและธาตุทองแดงในอะราบิโดพซิส (Rai et al., 2021)

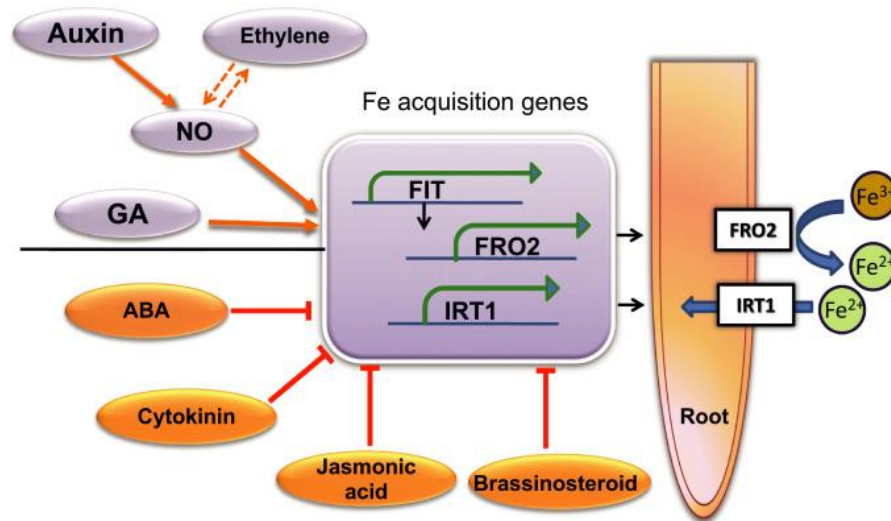


รูปที่ 9 กลไกการรับสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับธาตุโลหะด้วยโปรตีนลำเลียง IRT1 (Dubeaux et al., 2018)

การทำงานของโปรตีนที่มีบทบาทในการลำเลียงธาตุอาหาร ไม่ว่าจะเป็นธาตุอาหารหลักหรือจุลธาตุก็ตาม จำเป็นต้องอาศัยการควบคุมตั้งแต่ระดับ transcription ดังนั้นการควบคุมการทำงานของบนโปรโมเตอร์ของยีนเป็นส่วนหนึ่งที่จะช่วยให้ทราบว่ามีบทบาทของยีน ซึ่งส่งผลต่อการแสดงออกของยีน รวมถึงการทำงานของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุอาหารต่าง ๆ ของพืชที่ปลูกภายใต้สภาวะปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม สิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิตอื่น ๆ โดยโครงสร้างของการควบคุมการทำงานของยีนในระดับโปรโมเตอร์นั้น จะมีตำแหน่ง cis-acting elements ซึ่งเป็นตำแหน่งจับของ transcription factors ที่มีผลต่อกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของยีน (รูปที่ 10) (Hernandez-Garcia & Finer, 2014) นอกจากนี้ฮอร์โมนพืชบางชนิด เช่น ออกซิน จิบเบอเรลลิน เอทิลีน กรดแอบไซซิก ไซโตไคนิน กรดแจสโมนิก และบราสซิโนสเตอรอยด์ มีผลต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของยีนที่ควบคุมการลำเลียงธาตุอาหารในพืช (รูปที่ 11) (Rai et al., 2021)



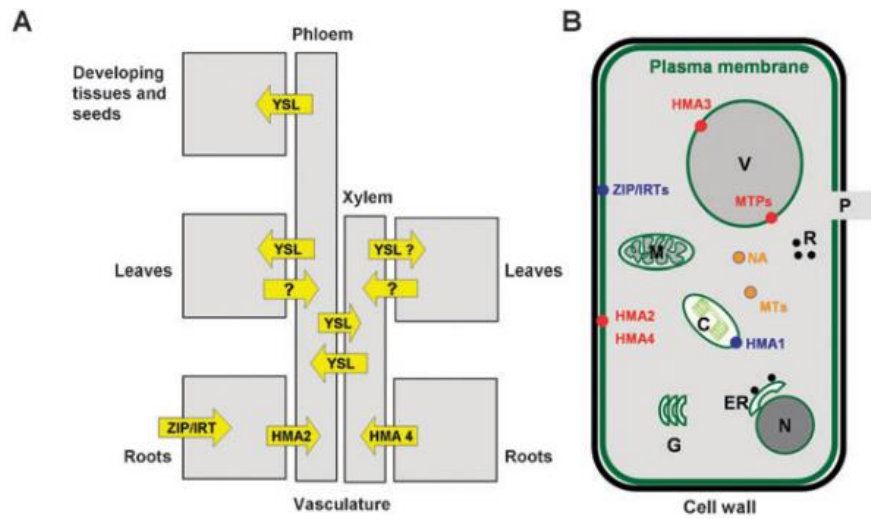
รูปที่ 10 การควบคุมการแสดงออกของยีนบนโปรโมเตอร์
(Hernandez-Garcia & Finer, 2014)



รูปที่ 11 บทบาทของฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของธาตุเหล็ก บริเวณรากของอะราบิโดพซิส (Rai et al., 2021)

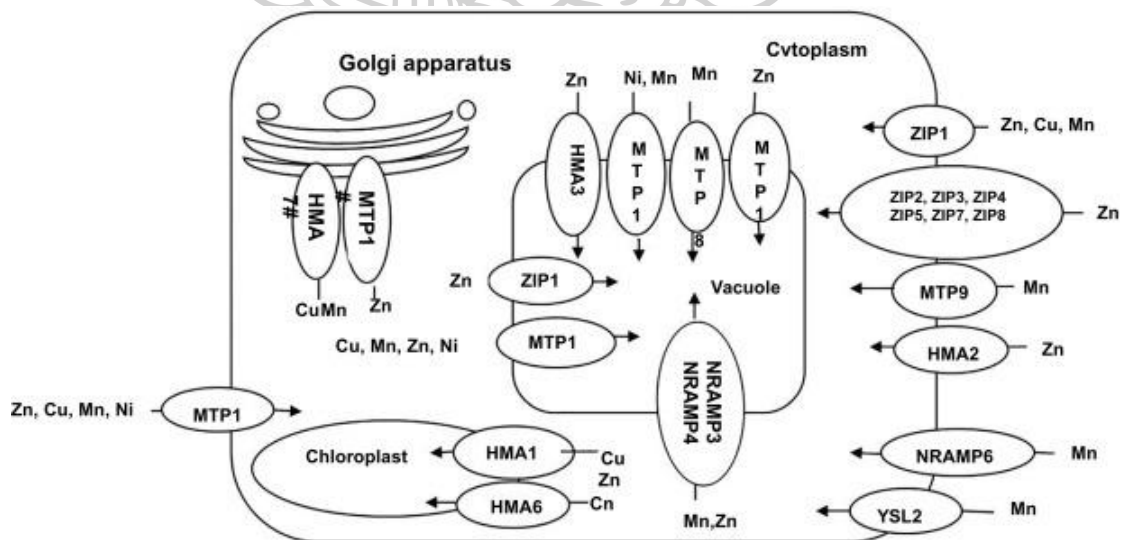
กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี

โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์หรืออแกแนลล์ต่าง ๆ เช่น ในเซลล์ของ *Arabidopsis thaliana* จะลำเลียงธาตุโลหะเข้าหรือออกจากเซลล์ โดยมีกลุ่มยีนที่เป็นตัวตั้งต้นในการสังเคราะห์กลุ่มโปรตีนต่าง ๆ ได้แก่ กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบนเยื่อหุ้มเซลล์ของราก (ZIPs; Zinc-regulated transporters, Iron-regulated transporter-like Protein) จากนั้นธาตุสังกะสีที่อยู่ภายในไซโตพลาซึมของเซลล์จะมี ligands เช่น nicotianamine, glutathione รวมทั้งโมเลกุลจำพวก metallochaperone หรือ phytochelatins มาจับเพื่อลดความเป็นพิษและลำเลียงธาตุดังกล่าวผ่านกลุ่มโปรตีนชนิดหนึ่งที่ถูกสังเคราะห์โดยกลุ่มยีน *Yellow stripe-like proteins* หรือเรียกว่า *YSLs* สำหรับการลำเลียงธาตุสังกะสีเข้าสู่แควคิวโอล จะอาศัยการทำงานของกลุ่มโปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน โดยมีกลุ่มยีนที่เป็นตัวตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีนดังกล่าว คือ *Metal tolerance proteins (MTPs)* หรือ *Cation diffusion facilitators (CDFs)* อีกทั้งยังพบว่ามี การนำธาตุสังกะสีออกจากเซลล์ โดยอาศัยกลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะหนักที่ต้องอาศัยพลังงาน ATP โดยมีกลุ่มยีน *Heavy metal ATPases* หรือที่เรียกว่า *HMA s* เป็นยีนตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีนชนิดนี้ (Krämer et al., 2007) (รูปที่ 12 และ 13)



รูปที่ 12 โปรตีนลำเลียงธาตุสังกะสีในพืช

(A: long-distance Zn trafficking; B: subcellular compartments (C, chloroplast, ER, endoplasmic reticulum, G, Golgi apparatus, M, mitochondrium, P, plasmodesmum (channel to adjacent cell), R, ribosomes, V, vacuole และโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี) (Blindauer & Schmid, 2010)



รูปที่ 13 โปรตีนลำเลียงที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะในพืช

(Dhir, 2021)

1. โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (ZIPs; Zinc-regulated transporters, Iron-regulated transporter-like protein)

กลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์จะมีใน ZIPs ทำหน้าที่เป็นตัวตั้งต้นในการสังเคราะห์กลุ่มโปรตีนดังกล่าว โดยส่วนใหญ่จะลำเลียงธาตุโลหะ ได้แก่ ธาตุสังกะสี แมงกานีส โคบอลต์ และแคดเมียม บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ไซโตพลาสซึมของเซลล์ราก จากการศึกษาการแสดงออกของยีนในอะราบิดอปซิส พบว่ามีการแสดงออกของยีน *AtZIP1*, *AtZIP2*, *AtZIP3*, *AtZIP4*, *AtZIP5*, *AtZIP9*, *AtZIP10*, *AtZIP11*, *AtZIP12* และ *AtIRT3* เพิ่มขึ้นในรากและ/หรือยอดของอะราบิดอปซิสภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เช่นเดียวกัน และยังพบว่าในสภาวะปกติ *AtZIP1*, *AtZIP2*, *AtZIP3*, *AtZIP5* และ *AtZIP8* มีการแสดงออกในรากมากกว่าในยอด ขณะที่ *AtZIP7* และ *AtZIP11* มีการแสดงออกมากในยอด ส่วนใหญ่พบว่าโปรตีนที่ได้รับการสังเคราะห์โดยกลุ่มยีนเหล่านี้มีบทบาทในการลำเลียงธาตุโลหะบนเยื่อหุ้มเซลล์ของราก ยกเว้น *AtZIP1* ที่พบอยู่บนเยื่อหุ้มแควิวโอล แสดงให้เห็นว่า *AtZIP1* อาจไม่ได้มีหน้าที่หลักในการดูดซึมธาตุสังกะสีเข้า (influx) สู่อินทรีย์เซลล์ราก สำหรับยีน *AtZIP2* พบว่ามีการแสดงออกของยีนบริเวณชั้นของเซลล์ที่มีการแบ่งตัว (cell division) และเซลล์ที่กำลังมีการเปลี่ยนแปลง (cell differentiation) ในราก ซึ่งเป็นบริเวณที่มีส่วนช่วยในการดูดซึมธาตุอาหารของพืช (Milner et al., 2013) เมื่อทำการศึกษารายการแสดงออกของยีนในอะราบิดอปซิสที่ได้รับการถ่ายยีน พบว่ายีน *AtIRT3* มีการแสดงออกมากในยอดและรากที่มีการสะสมธาตุสังกะสีและธาตุเหล็กสูง ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่า *AtIRT3* มีการแสดงออกมากขึ้นเมื่ออะราบิดอปซิสอยู่ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ขณะที่ยีนดังกล่าวมีการแสดงออกลดลงภายใต้สภาวะความเป็นพิษของธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของยีน *IRT3* ที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการทำงานของโปรตีน *IRT3* ในการลำเลียงธาตุโลหะจากภายนอกสู่ไซโตพลาสซึมของเซลล์ (Natasha Grotz et al., 1998; Lin et al., 2009; Henri Wintz et al., 2003)

จากการศึกษารายการถ่ายยีน *AtZIP1* และ *AtMTP1* ในมันสำปะหลัง เพื่อให้ยีนมีการแสดงออกมากขึ้น ซึ่งเป็นยีนที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของรากและเยื่อหุ้มแควิวโอล ตามลำดับ พบว่า มันสำปะหลังที่ได้รับการถ่ายยีนมีการสะสมธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นคิดเป็น 25% ของต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน แต่ส่งผลให้ลำต้นเล็กลง และใบมีอาการซีดขาว รวมทั้งรากมันสำปะหลังก็มีขนาดลดลงด้วย อีกทั้งยังพบว่าเกิดการรบกวนสมดุลของธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง เป็นผลทำให้เกิดการเกิดยอดอ่อนอย่างรุนแรงและผลผลิตลดลง จึงแสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีนมีผลต่อการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสี ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช (Gaitán-Solís et al., 2015b) และยังมีการรายงานเกี่ยวกับการ

แสดงออกของยีน *MeZIPs* ในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 หัวยบง 80 และระยอง 1 ในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ในสัปดาห์ที่ 5-6 มีการแสดงออกของยีน *MeZIPs* มาก และพบว่าการแสดงออกของยีนกลุ่มนี้ในมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 มากกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และหัวยบง 80 และส่วนใหญ่พบว่ากลุ่มยีนนี้จะแสดงออกมากในสภาวะที่มีความเข้มข้นของธาตุสังกะสี ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) เท่ากับ 0 และ 0.15 มิลลิโมลาร์ (Bamrungsetthapong et al., 2010) อีกทั้งยังมีการรายงานว่าการแสดงออกของยีน *MeZIPs* มีการแสดงออกมากในรากมากกว่าในลำต้นและใบของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี จึงแสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีนนี้มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสี (Khongchui et al., 2014)

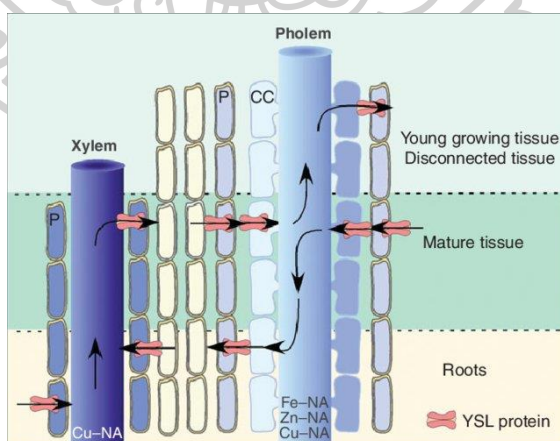
การศึกษาการแสดงออกของยีน *ZmZIP1*, *ZmZIP4* และ *ZmIRT1* ในข้าวโพด (*Zea mays*) ภายใต้สภาวะที่มีธาตุสังกะสี 0.01 ไมโครโมลาร์ พบว่าการแสดงออกของยีนดังกล่าวมากขึ้นในราก เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพดภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี 2.0 ไมโครโมลาร์ (Khatun et al., 2018) สำหรับในข้าวพบว่ามียีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี ดังนี้ *OsZIP1*, *OsZIP3*, *OsZIP4*, *OsZIP5*, *OsZIP8* และ *OsIRT1* โดยมียีน *OsZIP1*, *OsZIP3*, *OsZIP4* และ *OsZIP5* มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (Ishimaru et al., 2006; Sichul Lee et al., 2010; Nakandalage et al., 2016) เมื่อมีการศึกษาเกี่ยวกับกลุ่มยีนดังกล่าวในส้ม (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) โดยศึกษาบทบาทของยีนในกลุ่ม *ZIPs* ด้วยการทดสอบประสิทธิภาพของยีนในยีสต์ พบว่าโคโลนีของตัวอย่างที่มียีน *PtIRT1*, *PtZIP1*, *PtZIP2*, *PtZIP3* และ *PtZIP12* มีลักษณะคล้ายกับโคโลนีของ wild type แสดงให้เห็นว่าการดูดซึมธาตุสังกะสีในยีสต์พันธุ์กลาย (Fu et al., 2017) ดังนั้นกลุ่มยีน *ZIPs* จึงมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนในกลุ่ม *ZIPs* เพื่อดูดซึมธาตุสังกะสีเข้าสู่เซลล์รากของพืช

2. โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates (YSLs; Yellow stripe-like proteins)

โปรตีน YSL ได้รับการสังเคราะห์จากกลุ่มยีน *YSLs* ซึ่งโปรตีนดังกล่าวอาศัยสารที่มีสมบัติเป็น chelates ในการลำเลียงธาตุโลหะบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) จัดอยู่ในกลุ่ม oligopeptide transporter (OPT) โดยลำเลียงธาตุโลหะที่มีการรวมตัวกับ nicotianamine (NA) ที่เรียกว่า NA-metal chelates และ glutathione รวมทั้งโมเลกุลจำพวก metallochaperone หรือ phytochelatin ซึ่งช่วยในการเคลื่อนย้ายธาตุโลหะ เช่น ธาตุสังกะสี เหล็ก และทองแดงในเนื้อเยื่อพืช (long distance mobilization) ตลอดจนการลำเลียงธาตุดังกล่าวระหว่างเซลล์ (intracellular transport) (Blindauer & Schmid, 2010;

Lubkowitz, 2011; Moreira et al., 2018) โดยลำเลียง Cu-NA, Fe-NA และ Zn-NA จากไซเลมผ่านสฟิวโลม เพื่อนำไปใช้บริเวณเนื้อเยื่อที่อ่อนกว่า ขณะเดียวกันการลำเลียง NA-metal chelates จากโฟลเอ็มไปยังไซเลมจะเกิดขึ้นบริเวณราก (รูปที่ 14) มีการรายงานไว้ในอะราบิโดพซิสไม่มีการสังเคราะห์ phytosiderophores ซึ่งเป็นสารชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็น chelate แต่พบว่ามี nicotianamine (NA) ที่เป็นสารตั้งต้นในกิจกรรม chelate จึงทำให้ YSL มีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนย้ายธาตุโลหะในอะราบิโดพซิส

เมื่อมีการศึกษาอะราบิโดพซิสพันธุ์กลายที่ไม่มีการทำงานของยีน *YSL1* และ *YSL3* (*ysl1ysl3* double mutant) พบว่ามีการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดต่ำ ซึ่งตรงข้ามกับในใบที่มีการสะสมธาตุสังกะสีสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ควบคุม แสดงให้เห็นว่าโปรตีน AtYSL1 และ AtYSL3 มีบทบาทในการเคลื่อนย้ายธาตุสังกะสีจากใบไปยังเมล็ด (Ricachenevsky et al., 2015) จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *AtYSL1* และ *AtYSL3* พบว่ายีนดังกล่าวมีการแสดงออกในใบแก่มากขึ้น อีกทั้งยังพบว่าการเคลื่อนย้ายของธาตุทองแดงและสังกะสีในใบของอะราบิโดพซิสพันธุ์กลายมีความผิดปกติเกิดขึ้น อาจเป็นเพราะยีน *AtYSL1* และ *AtYSL3* มีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียง Cu-NA และ Zn-NA ในโฟลเอ็ม ดังนั้นเมื่อไม่มีการเคลื่อนย้ายธาตุสังกะสีและทองแดงจากอวัยวะที่แก่กว่า (remobilization) อาจส่งผลต่อการนำธาตุดังกล่าวไปใช้ในการสร้างเมล็ดได้ (Curie et al., 2009) แสดงให้เห็นว่า YSL มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีจากใบแก่สู่ใบอ่อนและเมล็ดของพืช อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการศึกษายีนในกลุ่ม YSLs ของมันสำปะหลังแต่อย่างใด



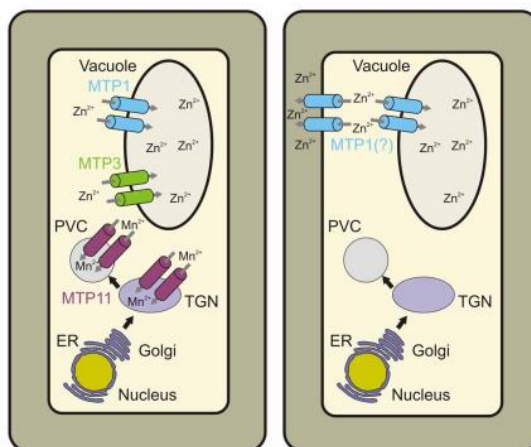
รูปที่ 14 การลำเลียงธาตุโลหะหนักในเนื้อเยื่อพืชโดยอาศัยโปรตีน YSL (P, parenchyma cells; CC, companion cells) (Curie et al., 2009)

3. โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน (MTPs; Metal tolerance proteins หรือ CDFs; Cation diffusion facilitators)

โปรตีน MTPs และ CDFs เป็นโปรตีนที่ได้รับการสังเคราะห์โดยยีน *MTPs* หรือที่เรียกอีกอย่างว่า *CDFs* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน โดยจะลำเลียงไอออนของธาตุโลหะหนักออกจากไซโตพลาซึมไปยังเซลล์อื่น ๆ กลุ่มโปรตีน MTP จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการสะสมธาตุสังกะสีในแวคิวโอลของพืช กลุ่มโปรตีนดังกล่าวแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ Zn-CDFs, Zn/Fe-CDFs และ Mn-CDFs (Montanini et al., 2007) สำหรับในพืชนิยมเรียกโปรตีนดังกล่าวว่า MTP (Gustin et al., 2011b) ซึ่งแบ่งเป็น 7 กลุ่มย่อย ดังนี้ กลุ่มหมายเลข 1 (MTP1, MTP2, MTP3 และ MTP4), กลุ่มหมายเลข 5 (MTP5) และกลุ่มหมายเลข 12 (MTP12) จัดอยู่ในกลุ่ม Zn-CDFs ส่วนกลุ่มหมายเลข 6 (MTP6) และกลุ่มหมายเลข 7 (MTP7) จัดอยู่ในกลุ่ม Zn/Fe-CDFs สำหรับกลุ่มหมายเลข 8 (MTP8) และกลุ่มหมายเลข 9 (MTP9, MTP10 และ MTP11) จัดอยู่ในกลุ่ม Mn-CDFs มีการรายงานพบว่า MTP1, MTP3 และ MTP4 ทำหน้าที่ในการลำเลียงธาตุสังกะสี และยังมีบทบาทในการลำเลียงธาตุแคดเมียม โคบอลต์ และเหล็กไปยังแวคิวโอลอีกด้วย ต่อมา มีการระบุยีนดังกล่าวบนจีโนมของ *Citrus sinensis* โดยพบโปรตีน CitMTP1, CitMTP3, CitMTP4, CitMTP5 และ CitMTP12 จัดอยู่ในกลุ่ม Zn-CDFs หรือ Zn-MTPs เช่นกัน (Fu et al., 2017)

การศึกษาในอะราบิโดพซิสและข้าวพบว่า AtMTP1, OsMTP1 และ AtMTP3 มีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีจากไซโตพลาซึมไปยังแวคิวโอล และยังพบว่า OsMTP1 มีหน้าที่ในการลำเลียงธาตุโคบอลต์ เหล็ก และแคดเมียมอีกด้วย ซึ่งโปรตีนข้างต้นมีตำแหน่งอยู่บริเวณเยื่อหุ้มแวคิวโอล สำหรับโปรตีน AtMTP1 และ OsMTP1 จะมีส่วนช่วยในการสะสมธาตุสังกะสีในแวคิวโอล เพื่อรักษาภาวะความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในไซโตพลาซึมให้ต่ำกว่าภายในแวคิวโอล จึงมีส่วนช่วยให้พืชทนต่อธาตุสังกะสีที่มากเกินไป และการเคลื่อนย้ายธาตุสังกะสี (remobilization) โดยโปรตีน OsMTP1 จะมีความจำเพาะเจาะจงในการลำเลียงไอออนของธาตุแต่ละชนิดผ่านเข้าสู่แวคิวโอล (Desbrosses-Fonrouge et al., 2005; Kobae et al., 2004; Krämer, 2005; Menguer et al., 2013; Ricachenevsky et al., 2013b) สำหรับ AtMTP2 นั้นพบว่า มีตำแหน่งอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (ER membrane) อีกทั้งยังมีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีสู่ยอดภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีด้วย (Sinclair et al., 2018) และยังพบว่า AtMTP5 กับ AtMTP12 มีความสัมพันธ์กันในการลำเลียงธาตุสังกะสีไปยัง Golgi apparatus (Fujiwara et al., 2015) (รูปที่ 15) แสดงให้เห็น

ว่า MTPs มีบทบาทในการรักษาสสมดุลของธาตุสังกะสีในเซลล์พืช อย่างไรก็ตามยังไม่พบการรายงานเกี่ยวกับยีนกลุ่มนี้ในมันสำปะหลัง



รูปที่ 15 โปรตีน MTP บนอแกแนคส์ของอะราบิดอพซิส (ซ้าย) และข้าว (ขวา)
(TGN, trans-Golgi network, PVC, prevacuolar compartment)
(Ricachenevsky et al., 2013a)



บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

พืชที่ใช้ในการวิจัย

1. มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)
2. มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 (HB80)

จากสถาบันพัฒนามันสำปะหลัง (ห้วยบง) ตำบลห้วยบง อำเภอตำบลขุนทด จังหวัดนครราชสีมา

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 วัสดุอุปกรณ์สำหรับสืบหาถิ่น

- คอมพิวเตอร์
- โปรแกรมทางชีวสารสนเทศ

1.2 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการปลูกมันสำปะหลังในระบบไฮโดรโปนิกส์

- ถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 และ 16 ออนซ์
- กระจกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว ขนาด 3 ลิตร
- กระบะพลาสติก
- เชือก
- เลื่อยตัดกิ่ง
- โฟม ขนาดความหนา 1 นิ้ว
- ปีกเกอร์ขนาด 5000, 1000, 500, 250, 50 มิลลิลิตร
- แท่งแก้วคน
- กระบอกตวงขนาด 1000, 250 มิลลิลิตร
- เครื่องชั่งสารทศนิยม 3 ตำแหน่ง (CZ 1202 CERTIFIED BALANCE), Citizen
- เครื่องวัดความเป็นกรดเบส
- คัดเตอร์
- กรรไกร
- ไม้บรรทัด
- ตลับเมตร
- กระดาษฟอยล์

- สายยาง
- เครื่องปั๊มออกซิเจนในน้ำ
- ปลั๊กไฟ
- เครื่อง microwave R280, Sharp
- พาสเจอร์ปีเปต

1.3 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา

- เครื่อง Handy PEA chlorophyll fluorometer, Hansatech Instruments Ltd., UK
- เครื่อง Portable photosynthesis รุ่น LCpro-SD, ADC Bioscientific, Ltd., UK
- กล้องถ่ายรูปดิจิทัล, Canon
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น Analytical Balance ME104E, Mettler Toledo
- สายวัด
- อลูมิเนียมฟอยล์
- Centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร

1.4 วัสดุอุปกรณ์สำหรับการศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน

- เครื่องแก้วมาตรฐานในการเตรียมสารเคมี
- Micropipette, Axygen
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ Autoclave รุ่น GI Series, ZEALWAY
- Tip, EXtraGene
- Centrifuge tube ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร , EXtraGene
- Microcentrifuge tube
- PCR tube
- เครื่องบ่มปรับอุณหภูมิ (Dry Bath-Heating & Cooling), Witeg
- เครื่องเขย่าสาร (Vortex-Mixer VM-10 orbital motion), Witeg
- เครื่องบันทึกภาพจากเจล (Gel Documentation System InGenius3), Syngene
- เครื่องแยกสารพันธุกรรมแบบแนวนอน (Mupid-EXU Gel Electrophoresis System), Advance
- เครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรม (NanoDrop™ 2000/2000c Spectrophotometers), Thermo Scientific
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (megafuge 8/8R Centrifuge), Thermo Scientific

- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (FlexCycler2 thermal cycler), Analytik JENA
- เครื่อง Microwave R280, Sharp
- แผ่นพาราฟิล์ม (parafilm)
- กระจกน้ำแข็งและกล่องโฟม
- โกร่งและที่บด (mortar and pestle)
- ตู้ดูดควัน (fume hood)
- เครื่อง spin-down
- เครื่องเขย่าสาร (Vortex-Mixer VM-10 orbital motion), Witeg
- เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น Analytical Balance ME104E, Mettler Toledo
- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง (7500 Fast Real-time PCR System), ABI
- ตู้อบลมร้อน (hot-air oven)
- กระดาษ kimwipe
- เครื่อง heating box รุ่น HB-48, DaiHan

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับการปลูกมันสำปะหลังในระบบไฮโดรโปนิกส์

- น้ำกลั่น
- น้ำปราศจากไอออน
- น้ำส้มควันไม้
- แคลเซียมไนเตรท ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), VWR Chemicals
- โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4), VWR Chemicals
- โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4), VWR Chemicals
- โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
- แมงกานีสซัลเฟต ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
- แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), VWR Chemicals
- กรดบอริก (H_3BO_3)
- ซิงค์ซัลเฟต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Scharlau Chemicals
- คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- โซเดียมโมลิบเดต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 7% เหล็ก ดีทีพีเอ, เวสโก้ เหล็ก ดีที
- โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)

- กรดไนตริก (HNO₃)

- ยากันราแคปทาไซด์

2.2 สารเคมีสำหรับการสกัดอาร์เอ็นเอ

- Plant RNA purification reagent, Invitrogen

- ไนโตรเจนเหลว

- 75% ethanol

- NaCl

- RNase free water

- Chloroform, VWR

- Isopropyl alcohol

2.3 สารเคมีสำหรับเทคนิค Agarose gel electrophoresis

- Agarose gel, Vivantis

- 1X TAE buffer (เตรียมจาก stock เข้มข้น 50X), Vivantis

- GelRed nucleic acid staining solution, Biotium

- RedSafe nucleic acid staining solution, iNtRon

- Loading dye (6X), Vivantis

- Gen-100 DNA ladder, Vivantis

2.4 สารเคมีสำหรับหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน

- GoTaq® Green Master Mix, Promega

- Gel/PCR purification kit, FavorPrep

- Forward primer

- Reverse primer

- RNase free water

2.5 สารเคมีสำหรับกำจัดดีเอ็นเอ

- 10X DNase buffer (TURBO), Invitrogen

- DNase (TURBO), Invitrogen

- DNase inactivation reagent (TURBO), Invitrogen

- RNase free water

2.6 สารเคมีสำหรับสังเคราะห์ซีดีเอ็นเอ

- Oligo (dT) 15 mers, Invitrogen by Thermo Scientific

- 5X reaction buffer, Invitrogen by Thermo Scientific

- MgCl₂, Invitrogen by Thermo Scientific
- dNTP mix, Invitrogen by Thermo Scientific
- reverse transcriptase, Invitrogen by Thermo Scientific
- RNase free water

2.7 สารเคมีสำหรับเทคนิค Real-time PCR

- KARA SYBR FAST qPCR Master Mix Kit, KAPABIOSYSTEMS
- Forward primer
- Reverse primer
- cDNA
- RNase free water

3. วิธีการศึกษา

3.1 การระบุยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง

การสืบหากลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง

นำ amino sequence ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีจาก จีโนมอะราบิดอพซิสและข้าว ซึ่งเป็นพืชอ้างอิง ได้แก่ transporter proteins (MTPs), yellow stripe like proteins (YSLs) และ zinc-regulated transporters หรือ iron regulated-transporter-like proteins (ZIPs) มาเทียบหาโปรตีนที่มีลำดับเบสใกล้เคียงกัน (blastp) ในจีโนมของมันสำปะหลังโดยใช้ฐานข้อมูล phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) โดยกำหนดค่า Score มากกว่า 100 และตั้งชื่อยีนโดยอ้างอิงจากอะราบิดอพซิสและข้าว จากนั้นทำนายหน้าที่ของโปรตีน (functional annotation) จากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทป์ของมันสำปะหลังบน phytozome

การวิเคราะห์โครงสร้างของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง

ทำการวิเคราะห์โครงสร้างของยีนโดยการนำ genomic sequence และ CDS sequence ของยีนบนฐานข้อมูลมันสำปะหลังเข้าโปรแกรม Gene Structure Display Server (GSDS) (Hu et al., 2015) จากนั้นวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน ณ ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 2000 คู่เบส (upstream) โดยใช้โปรแกรม PlantCare (Lescot et al., 2002)

การทำนายตำแหน่งของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง ทำการวิเคราะห์ตำแหน่งของโปรตีนภายในเซลล์ โดยการนำ amino sequence ของโปรตีนบนฐานข้อมูลมันสำปะหลังเข้าโปรแกรม PSORT (Peabody et al., 2016), CELLO (C. S. Yu et al., 2006), Plant-mPLOC (Chou & Shen, 2010) จากนั้นวิเคราะห์ transmembrane regions ด้วย TMHMM Server (Käll et al., 2007)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี

นำ amino sequence ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีจากจีโนมอะราบิดอปซิสและข้าว ซึ่งเป็นพืชอ้างอิง มาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทป์ (multiple sequence alignment) ด้วยคำสั่ง clustalW จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกลุ่มโปรตีนในรูปแบบ phylogenetic tree ด้วยวิธี neighbor-joining (NJ) โดยมีการกำหนดจำนวนซ้ำเป็น 1000 bootstrap replicates และทำนายความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม MEGA-X (S. Kumar et al., 2018)

3.2 การปลูกมันสำปะหลังโดยการเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิคส์

ระยะที่ 1 (pre-nursery)

นำท่อนพันธุ์มันสำปะหลังเกษตรศาสตร์ 50 (KU50) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากทนต่อสภาพแวดล้อมที่หลากหลายและมีอัตราการสะสมแป้งสูง ตัดให้มีขนาดยาวประมาณ 1-1.5 นิ้ว และนำไปแช่น้ำยาฆ่าเชื้อราประมาณ 30 นาที เติมน้ำกลั่นลงในกระบะให้สูงจากก้นกระบะประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำท่อนพันธุ์วางในแนวตั้งลงในแก้วพลาสติกเจาะรูตรงกลาง เพื่อชักน้ำให้เกิดยอดและราก ประมาณ 7 วัน

ระยะที่ 2 (nursery)

นำท่อนพันธุ์ในระยะ pre-nursery ที่มียอดและรากสมบูรณ์ มาเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิคส์ที่มีสารละลายธาตุอาหาร 1X Hoagland (ภาคผนวก ก) โดยปรับ pH ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และกรดไนตริกให้ได้ค่าอยู่ระหว่าง 5.8-6.3 ในกระถางที่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร แล้วนำแก้วที่มีท่อนพันธุ์ ซึ่งมียอดและรากสมบูรณ์มาวางลงบนแผ่นโฟมที่ถูกต้องเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 นิ้ว และเจาะรูตรงกลางให้มีขนาดพอดีกับแก้ว โดยทำการเลี้ยงให้ต้นมีความแข็งแรงและมีใบพร้อมต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นเวลา 10 วัน

ระยะที่ 3 (treatments)

ทำการย้ายปลูก โดยนำแก้วที่บรรจุท่อนพันธุ์จากระยะ nursery มาทำความสะอาด รากต้นมันสำปะหลังด้วยน้ำ DI (deionized water) เพื่อกำจัดไอออนของธาตุ ปลูกใน กระถางที่มีแผ่นโฟมทรงกลมเจาะรูตรงกลางให้มีขนาดพอดีกับแก้ว มีปริมาตร 2500 มิลลิตรที่ประกอบด้วยอาหารสูตร 1X Hoagland ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ($0 \mu\text{M ZnSO}_4$) และสภาวะควบคุม ($2.5 \mu\text{M ZnSO}_4$) พร้อมติดตั้งเครื่องให้ออกซิเจนในน้ำ และ บันทึกผลเป็นเวลา 21 วัน

3.3 การวิเคราะห์ทางสรีรวิทยา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลัง ส่วนหนึ่งวัดการเจริญเติบโต โดย วัดความสูงของลำต้นที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน หลังจากย้ายเข้าสู่สภาวะขาดธาตุสังกะสี ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง โดยนำราก ลำต้น ใบที่โตเต็มที่ (youngest fully expanded leaves, YFELs) ซึ่งเป็นใบตำแหน่งที่ 4-5 นับจากปลายยอด และใบอ่อนไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 3 วัน

ศึกษาอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบที่โตเต็มที่ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน หลังจากนำต้นมันสำปะหลังเข้าสู่สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยเลือกใบตำแหน่งที่ 3-5 นับจาก ปลายยอด ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นวัดประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงด้วยระบบแสง 2 (Maximum quantum efficiency of PSII Photochemistry, Fv/Fm) ด้วยเครื่องวัด Handy PEA chlorophyll fluorometer สำหรับการวัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในส่วนที่สอง จะวัดค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (net photosynthetic rate, A), ค่าอัตราการคาย น้ำ (transpiration rate, E), ค่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปากใบ (substomatal CO_2 , Ci), ค่าความต้านทานการเปิดปากใบ (stomatal resistance, s/cm) และค่าการชักนำการ เปิดปากใบ (stomatal conductance, Gs) ด้วยเครื่อง Portable photosynthesis

3.4 การวิเคราะห์ธาตุอาหาร

เก็บตัวอย่างใบที่โตเต็มที่ (youngest fully expanded leaves, YFELs) และรากที่ อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน หลังจากย้ายเข้าสู่สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยเก็บตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำมาล้างด้วยกรดไนตริก 5% แล้วล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน เพื่อกำจัดไอออนของธาตุ ที่ปนเปื้อน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 3 วัน แล้วบดตัวอย่างให้ละเอียด จึง ทำการส่งวิเคราะห์ปริมาณธาตุสังกะสี รวมถึงจุลธาตุอื่น ๆ ด้วย เช่น ธาตุเหล็ก ทองแดง

และแมงกานีส เพื่อดูความสัมพันธ์ของธาตุในเนื้อเยื่อพืชที่มีผลมาจากการขาดธาตุสังกะสี ด้วยเทคนิค ICP-OES

3.5 การศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค quantitative real-time PCR

การออกแบบไพรเมอร์

นำ CDS sequence ที่ได้สืบหาจากกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบนฐานข้อมูลมันสำปะหลัง มาออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะด้วยโปรแกรม PrimerQuest (<https://sg.idtdna.com/pages/tools/primerquest>) โดยกำหนดให้ไพรเมอร์มีลำดับเบสส่วนที่คร่อม intron ซึ่งมีขนาดประมาณ 18-20 คู่เบส และขนาด product อยู่ระหว่าง 90-160 คู่เบส มีค่า Tm ประมาณ 60 องศาเซลเซียส ค่า GC ประมาณ 45-55% จากนั้นส่งข้อมูลไพรเมอร์ที่ออกแบบให้บริษัท Integrated DNA Technologies เพื่อทำการสังเคราะห์ไพรเมอร์ต่อไป (ตารางที่ 1-4)

เมื่อได้ไพรเมอร์แล้ว จึงทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะปกติและขาดธาตุสังกะสี เพื่อตรวจสอบการทำงานของไพรเมอร์ โดยการสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในมันสำปะหลัง

การเตรียมไพรเมอร์เพื่อสังเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์

ทำการสกัดดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอเพื่อใช้เป็น template ในการเพิ่มปริมาณ โดยใช้ GoTaq® Green Master Mix (Promega) ดังนี้

นำดีเอ็นเอ (50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) ยกเว้นยีน ZIP1 และ IRT1 ใช้ซีดีดีเอ็นเอ (100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) รากและใบที่สังเคราะห์ได้ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด PCR เต็ม 5 ไมโครโมลาร์ forward primer, 5 ไมโครโมลาร์ reverse primer, RNase free water และ GoTaq® Green Master Mix ปริมาตร 0.7, 0.7, 4.1 และ 7.5 ไมโครลิตร ตามลำดับ จากนั้นเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยใช้เครื่อง thermal cycle ที่มีสภาวะการทำงาน ดังนี้

- ขั้นที่ 1 Initialization ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 3 นาที
- ขั้นที่ 2 Denaturation ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 30 วินาที
- ขั้นที่ 3 Annealing ที่อุณหภูมิ 58-60 °C เป็นเวลา 30 วินาที
- ขั้นที่ 4 Extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 30-35 รอบ
- ขั้นที่ 5 Final elongation ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที
- ขั้นที่ 6 Final hold ที่อุณหภูมิ 10 °C หยุดการทำงาน

นำผลผลิต RT-PCR/PCR ไปตรวจสอบคุณภาพสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส จากนั้นทำการสกัดผลผลิต RT-PCR/PCR ออกมาจากเจล โดยใช้ Gel/PCR purification kit (FavorPrep) ทำการตัดเจลภายใต้แสงยูวีให้เจลมีลักษณะบาง ที่สุด (ไม่เกิน 300 มิลลิกรัม) ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ไมโครลิตร แล้วเติม FADF buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มที่ 55°C เป็นเวลา 10 นาที เขย่าด้วย vortex ทุก ๆ 2 นาที เพื่อให้เจลหลอมละลาย เมื่อเจลละลายแล้วจะเห็น เป็นสีเหลือง จึงวางพักไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเทใส่ลงใน column (ที่มี collection tube) ครั้งละ 800 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000xg เป็นเวลา 30 วินาที เทสารละลาย ใน collection tube ทิ้ง (ทำซ้ำจนกว่าสารละลายสีเหลืองจะหมด) จากนั้นเติม wash buffer (ที่เติม 96-100% ethanol แล้ว) ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ลงใน column แล้ว นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000xg เป็นเวลา 30 วินาที และเททิ้ง จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 18,000xg อีกครั้ง รอให้ column แห้ง แล้วเตรียมตัดฝาหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ไมโครลิตร เพื่อนำ column ใส่ลงไป แล้วเติม RNase free water ประมาณ 40 ไมโครลิตร ลงตรงกลาง membrane ของ column แล้วจึงรอ 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 18,000xg เป็นเวลา 1 นาที เพื่อชะล้างดีเอ็นเอลงกันหลอด และนำไปวัดความเข้มข้นให้ได้ ประมาณ 10-40 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ขึ้นอยู่กับขนาดของผลผลิต RT-PCR/PCR) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัทออร์ดเมติกต่อไป

หลังจากได้รับผลวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จึงนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอหรือซีดีเอส (multiple sequence alignment) บนฐานข้อมูลมันสำปะหลังร่วมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ forward/reverse primer โดยใช้ Multalin server (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>)

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ ZIP ที่ใช้ในการวิจัย

Gene name	Primer sequences		Nucleotide size (bp)	Ta (°C)	Amplicon size (bp)	
					gDNA	cDNA
ZIP1	Forward	5'-TCACTTACgCAggATTTgg-3'	19	60	209	124
	Reverse	5'-gACTCTgAgAAgCACCTAAAg-3'	21			
ZIP2	Forward	5'-ATTgCggACTACTTCTCTTG-3'	20	58	510	111
	Reverse	5'-CATgCCTCTgCgTTAgTT-3'	18			
ZIP3	Forward	5'-CTggCCATTTCAggCATAg-3'	19	60	250	137
	Reverse	5'-gAAAgTgAgTgCTgCTACAA-3'	20			
ZIP4	Forward	5'-gACgAggAgAgTggTgTA-3'	18	60	200	110
	Reverse	5'-CATgggCTCTgTgAAACT-3'	18			
ZIP5	Forward	5'-TggCAATTTCTCCATTCTC-3'	20	60	143	143
	Reverse	5'-CCCAGTTgAgAgAATCACAC-3'	20			
ZIP6	Forward	5'-TTTgCTgCCggTgTAATC-3'	18	60	141	141
	Reverse	5'-AgCgCCAATCAAggTAAC-3'	18			
ZIP8	Forward	5'-CCTTCgCCATCgAgTTATT-3'	19	58	290	158
	Reverse	5'-CAAgTCCCATACCCTCAAAG-3'	20			
ZIP11	Forward	5'-CACCATggAACTTCACAgCC-3'	20	60	100	100
	Reverse	5'-ggTTTTCTTgCCgTACACATAAG-3'	23			
IRT1	Forward	5'-gCAAgTggTggACAACAA-3'	18	60	178	100
	Reverse	5'-CTCCATAgAgAgACCAATCA-3'	21			
IRT3	Forward	5'-gACgAggAgAgTggTgTA-3'	18	60	202	110
	Reverse	5'-CATgggCTCTgTgAAACT-3'	18			

ตารางที่ 2 ไพรเมอร์ YSL ที่ใช้ในการวิจัย

Gene name	Primer sequences		Nucleotide size (bp)	Ta (°C)	Amplicon size (bp)	
					gDNA	cDNA
YSL1	Forward	5'-gAgCAgCAACCTTgATACA-3'	19	60	188	115
	Reverse	5'-ATATCCgACgACTCCTATCC-3'	20			
YSL2	Forward	5'-gCCACTgATAggAgggAATA-3'	20	60	221	111
	Reverse	5'-CCgAggATCAgAgCAATAgA-3'	20			
YSL3	Forward	5'-CAgAgCTAAgACTggAgATTTg-3'	22	60	420	132
	Reverse	5'-ATggAgAAggCggTgTAT-3'	18			

ตารางที่ 3 โพรเมอร์ MTP ที่ใช้ในการวิจัย

Gene name	Primer sequences		Nucleotide size (bp)	Ta (°C)	Amplicon size (bp)	
					gDNA	cDNA
<i>MTP1</i>	Forward	5'-CCgTTgggAgAAgTAggATATg-3'	22	60	120	120
	Reverse	5'-gTgCTACTgCAATCAAgAgC-3'	20			
<i>MTP2</i>	Forward	5'-TgCTgCCCATTgCTTTC-3'	18	58	124	124
	Reverse	5'-TgCACCTAgAATCTCAACCC-3'	20			
<i>MTP3</i>	Forward	5'-gCCATTgCTCgACTgATCTA-3'	20	60	118	118
	Reverse	5'-CATgCTgATgACCCAACAAG-3'	20			
<i>MTP4</i>	Forward	5'-CAgAACCTCgggAAACAAG-3'	19	60	209	123
	Reverse	5'-gggTCTATCCACCAgTAAG-3'	20			
<i>MTP5</i>	Forward	5'-TgggAATTgggCTCTTCA-3'	18	60	282	131
	Reverse	5'-gTACACAGATCAggCTTTC-3'	20			
<i>MTP12</i>	Forward	5'-ACCAgTCTCACCATTCA-3'	18	58	181	124
	Reverse	5'-CAACTCCAACACTTCCATC-3'	20			

ตารางที่ 4 โพรเมอร์ยีนอ้างอิงที่ใช้ในการวิจัย

Gene name	Primer sequences		Nucleotide size (bp)	Ta (°C)	Amplicon size (bp)	
					gDNA	cDNA
<i>Me18S</i>	Forward	5'-CggAgAgggAgCCTgAgAAA-3'	20	60	120	120
	Reverse	5'-CAgACTCgAAgAgCCCggTATTA-3'	23			
<i>MeGAPDH</i>	Forward	5'-CgACTgTCCATgCAACTAC-3'	19	60	212	111
	Reverse	5'-CACCAgTggAACTAggAATg-3'	20			
<i>MeEF1-α</i>	Forward	5'-ggCAAgTAGAATCgggTAG-3'	20	60	222	120
	Reverse	5'-AggTCCTgCACgTCTAA-3'	17			
<i>Me26S</i>	Forward	5'-gAgTTTCAATggAggAggAg-3'	22	60	115	115
	Reverse	5'-gAgTTTCAATggAggAggAg-3'	22			

การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

เก็บตัวอย่างใบที่โตเต็มที่ (YFEL) โดยใช้มีดโกนกรีดเฉพาะแผ่นใบที่ไม่รวมเส้นกลางใบ และรากที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน โดยเก็บตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เช็ดทำความสะอาดด้วย 70% alcohol แล้วบรรจุในกระดาศพอยส์ จากนั้นใส่ลงในถังไนโตรเจนเหลวและนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อ

การสกัดอาร์เอ็นเอ

นำตัวอย่างใบและรากมันสำปะหลังที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน จากการเก็บที่อุณหภูมิ -80°C และโกร่ง ที่บด ซ้อนและปากคีบที่ผ่านการฆ่าเชื้อซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C นั้น มาแช่ในไนโตรเจนเหลว เมื่อโกร่งเย็นจึงตักไนโตรเจนเหลวใส่ในโกร่ง แล้วใช้ปากคีบ คีบตัวอย่างใส่ลงในโกร่ง แล้วบดให้ละเอียดเป็นผงสีขาว โดยระหว่างบดจะเติมไนโตรเจนเหลวเป็นระยะเพื่อช่วยให้บดง่ายขึ้นและป้องกันอาร์เอ็นเอเสื่อมสลาย จากนั้นตักตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วใส่ลงในหลอด microcentrifuge ที่ผ่านการแช่ในไนโตรเจนเหลวแล้วประมาณสามในสี่ส่วนของหลอด ปิดฝาหลอดและแช่ลงในไนโตรเจนเหลว

จากนั้นเติมน้ำยา Plant RNA purification reagent (Invitrogen®) 500 ไมโครลิตร (สำหรับตัวอย่างรากใช้น้ำยา 1000 ไมโครลิตร) ลงในหลอด microcentrifuge ที่บรรจุตัวอย่างแล้วเขย่าหลอดอย่างแรงก่อนนำไป vortex 10 นาที จากนั้นนำหลอดวางในแนวอนทิงไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จึงนำไปปั่นเหวี่ยง 12,000 xg 10 นาที แล้วดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอด microcentrifuge หลอดใหม่ เติมน้ำ 5M NaCl 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำ chloroform ที่แช่เย็นไว้ 400 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันก่อนนำไป vortex 10 นาที แล้วปั่นเหวี่ยง 12,000 xg 15 นาที เมื่อครบเวลาจึงดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอด microcentrifuge หลอดใหม่ (ระวังชั้น interphase) จากนั้นเติมน้ำ isopropanol 1 เท่าของปริมาณสารละลายส่วนใส แล้วพลิกหลอดขึ้นลง 3-5 ครั้ง เพื่อให้สารละลายเข้ากัน นำไปตกตะกอนที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที หรือตกตะกอนข้ามคืน เมื่อตกตะกอนครบเวลาแล้วจึงนำมาปั่นเหวี่ยง 12,000 xg 10 นาที ก่อนดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง (ระวังตะกอนที่ก้นหลอด) จากนั้นเติมน้ำ 75% ethanol ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร จึงนำไปปั่นเหวี่ยง 12,000 xg 3 นาที แล้วดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง ตากตะกอนจนกระทั่ง ethanol ระเหยหมด ละลายตะกอนอาร์เอ็นเอด้วย RNase free water 30-40 ไมโครลิตร

การตรวจสอบคุณภาพอาร์เอ็นเอ

เตรียม 1.2% agarose gel 40 มิลลิลิตร โดยชั่งผงวุ้น agarose 0.48 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม 1X TAE buffer ลงไป 20 มิลลิลิตร นำไปหลอมในเตาอบไมโครเวฟจนกระทั่งผงวุ้นละลาย ขณะเดียวกันทำการเตรียมหัวใส่ลงในถาดเตรียมเจล เมื่อวุ้นเย็นลงถึงระดับที่ใช้มือสัมผัสขวดรูปชมพู่ได้ จึงเติม 2,000X RedSafe 0.8 ไมโครลิตร แล้วเขย่าเบาๆ จากนั้นเทวุ้นใส่ลงในถาดเตรียมเจล (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ) รอประมาณ 10-15 นาทีจนกระทั่งเจล แข็งตัว จึงนำเจลใส่ในเครื่อง gel electrophoresis แล้วเติม 1X TAE buffer ให้ท่วมเจล นำตัวอย่างอาร์เอ็นเอ 1-1.5 ไมโครลิตรผสมกับ 6X loading dye 2 ไมโครลิตร แล้วหยอดลงในช่องเจลจนครบทุกตัวอย่าง จึงเปิดเครื่อง gel electrophoresis โดยกำหนดค่าความต่างศักย์ 70-75 โวลต์ เป็นเวลา 25-30 นาที จากนั้นนำไปตรวจสอบผลด้วยเครื่อง gel document

ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของตัวอย่างอาร์เอ็นเอ โดยใช้ micropipette ดูดตัวอย่างอาร์เอ็นเอ ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร ลงบนหลุมของเครื่อง nanodrop 2000 UV-Vis spectrophotometer (ระวังฟองอากาศ) จากนั้นจะแสดงผลที่หน้าจอ โดยแสดงกราฟค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร และค่าเชิงปริมาณของการดูดกลืนแสงที่ 230, 260 และ 280 นาโนเมตร ตลอดจนอัตราส่วนของ OD260/280 ที่แสดงถึงค่าการปนเปื้อนของโปรตีน ซึ่งอาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพที่ดีควรมีค่า OD260/280 อยู่ระหว่าง 1.8-2.0 และอัตราส่วนของ OD260/230 จะแสดงค่าการปนเปื้อนจากสารประกอบฟีนอลิกและโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งควรมีค่ามากกว่า 2.0 จึงถือว่าเป็นอาร์เอ็นเอที่บริสุทธิ์

การกำจัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอออกจากอาร์เอ็นเอ

นำตัวอย่างอาร์เอ็นเอที่สกัดได้ปริมาณ 10 ไมโครกรัม (10000 นาโนกรัม) ใส่ลงในหลอด microcentrifuge จากนั้นเติม 10X DNase buffer (TURBO) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร DNase (2 ยูนิตต่อไมโครลิตร) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 ไมโครลิตรด้วย RNase free water และผสมสารละลายให้เข้ากันอย่างเบา มือก่อนนำไปปั่นเหวี่ยง แล้วจึงนำหลอด microcentrifuge ออกมาใส่ในเครื่องให้ความร้อนแก่หลอดทดลองที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาจึงเติม Dnase inactivation reagent ปริมาตร 2 ไมโครลิตร พักไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10000 xg เป็นเวลา 1.5 นาที แล้วย้ายอาร์เอ็นเอลงหลอดใหม่ ทำการตรวจสอบว่ากำจัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอหมดหรือไม่ ด้วย agarose gel electrophoresis และวัดปริมาณอาร์เอ็นเอด้วยเครื่อง Nanodrop 2000 UV-Vis spectrophotometer

การสังเคราะห์ซีดีเอ็นเอ

ทำปฏิกิริยาโดยเติม oligo (dT) 15 mers (500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Thermo Scientific) ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร และอาร์เอ็นเอที่กำจัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอแล้ว (1.5 ไมโครกรัม) จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 18 ไมโครลิตรด้วย RNase free water แล้วให้ความร้อนโดยเครื่อง thermocycler ที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาจึงนำไปแช่น้ำแข็งทันที จากนั้นเติม 5X reaction buffer ปริมาตร 6 ไมโครลิตร dNTP mix (10 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 3 ไมโครลิตร และ reverse transcriptase ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร และ RNase inhibitor 1.5 ไมโครลิตร รวมปริมาตร 30 ไมโครลิตร จากนั้นนำหลอดพีซีอาร์ใส่เครื่อง thermocycler ตั้งอุณหภูมิ 42°C เป็นเวลา 60 นาที, อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

การวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน

หลังจากที่สังเคราะห์ซีดีเอ็นเอแล้ว จึงทำการตรวจสอบความเข้มข้นของซีดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Nanodrop 2000 UV-Vis spectrophotometer จากนั้นเตรียมความเข้มข้นของซีดีเอ็นเอเท่ากับ 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ จากตัวอย่างพืชจำนวน 3 ซ้ำ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Real-time PCR ทำซ้ำตัวอย่างละ 2 ปฏิกิริยา โดยเตรียมหลอดพีซีอาร์ขนาด 0.2 มิลลิลิตร แบบ strip 8 หลอด พร้อมบันทึกตำแหน่งและชื่อของแต่ละตัวอย่างในสมุดบันทึก จากนั้นใช้ micropipette ดูดส่วนประกอบใส่หลอดพีซีอาร์ตามลำดับ ดังต่อไปนี้ (คำนวณ Master Mix ตามจำนวนปฏิกิริยา)

• น้ำกลั่น	ปริมาตร 4.38	ไมโครลิตร
• cDNA 50 ng/ μ l	ปริมาตร 2	ไมโครลิตร
• Forward primer (5 μ M)	ปริมาตร 0.56	ไมโครลิตร
• Reverse primer (5 μ M)	ปริมาตร 0.56	ไมโครลิตร
• KARA SYBR FAST qPCR Master Mix Kit	ปริมาตร 7.5	ไมโครลิตร
รวม	ปริมาตร 15	ไมโครลิตร

โดยชนิดของไพรเมอร์ศึกษาดังแสดงในตารางที่ 1-4 จากนั้นนำหลอดพีซีอาร์วางในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง เพื่อทำปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยกำหนดค่าอุณหภูมิและเวลา ดังนี้

- Cycling stage

ขั้นที่ 1 อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 20 วินาที

ขั้นที่ 2 อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 10 นาที

ขั้นที่ 3 อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 15 วินาที

ขั้นที่ 4 อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1 นาที

ปฏิกิริยาในขั้นที่ 3 และ 4 จะดำเนินไปจนครบ 40 รอบ จากนั้นจึงเข้าสู่สภาวะดังนี้

- Melting stage

ขั้นที่ 1 อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 15 นาที

ขั้นที่ 2 อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1 นาที

ขั้นที่ 3 อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 30 วินาที

ขั้นที่ 4 อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 15 วินาที

เมื่อครบปฏิกิริยาจึงทำการวิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนแบบสัมพัทธ์ (relative expression) ด้วยสมการ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ โดยใช้ยีน *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบหรือรากที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีเป็นตัวควบคุม

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ Software SPSS version 24.0

บทที่ 4

ผลการดำเนินการวิจัย

4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

การศึกษาทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาทำให้เข้าใจกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นทั้งภายนอกและภายในโครงสร้างของพืช ไม่ว่าจะเป็นความสัมพันธ์ของน้ำ ธาตุอาหาร แมทาบอลิซึมต่าง ๆ การสังเคราะห์ด้วยแสง ตลอดจนการเจริญและพัฒนาของพืช เมื่อมันสำปะหลังเจริญเติบโตภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี อาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาได้ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่า อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างต่าง ๆ อาทิ ราก ลำต้น และใบ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อกลไกทางสรีรวิทยาของมันสำปะหลัง ผู้วิจัยจึงวิเคราะห์การเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ดังนี้

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่า มันสำปะหลังที่อายุ 0, 3 และ 7 วันทั้งสองพันธุ์มีการเจริญเติบโตของราก ลำต้น และใบเพิ่มขึ้นตามลำดับ แต่มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่กำลังเข้าสู่อายุ 7 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น เริ่มแสดงอาการขาดธาตุสังกะสีก่อนพันธุ์ห้วยบง 80 โดยมีลักษณะชืดที่ใบอ่อนบริเวณระหว่างเส้นใบ ขณะที่ใบอ่อนของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เริ่มมีลักษณะชืดที่ใบอ่อนบริเวณระหว่างเส้นใบที่อายุ 8 วัน จะเห็นได้ว่าลักษณะอาการขาดธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 แสดงอาการเร็วกว่าพันธุ์ห้วยบง 80 (รูปที่ 16) เมื่อมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีเข้าสู่อายุ 10-21 วัน พบว่าใบอ่อนมีขนาดเล็กลง ชืดมากขึ้น เส้นกลางใบหักเป็นคลื่น และขอบใบม้วนงออย่างชัดเจน อีกทั้งยังพบว่าใบที่โตเต็มที่ที่อายุ 14-21 วัน ยังคงมีอาการขาดธาตุสังกะสีปรากฏอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 18 และ 19) ส่วนมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น เมื่อเข้าสู่วันที่ 10-21 วันหลังจากย้ายปลูก ใบอ่อนเริ่มมีขนาดเล็กลง ชืดมากขึ้น และขอบใบค่อนข้างม้วนงอ และพบว่าใบที่โตเต็มที่ที่อายุ 14-21 วัน ยังคงมีอาการขาดธาตุสังกะสีปรากฏอย่างชัดเจนเช่นเดียวกับพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 17) แสดงให้เห็นว่า มันสำปะหลังแสดงอาการขาดธาตุสังกะสีที่ใบอ่อนก่อน โดยเฉพาะมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่แสดงอาการขาดธาตุสังกะสีเร็วกว่าพันธุ์ห้วยบง 80

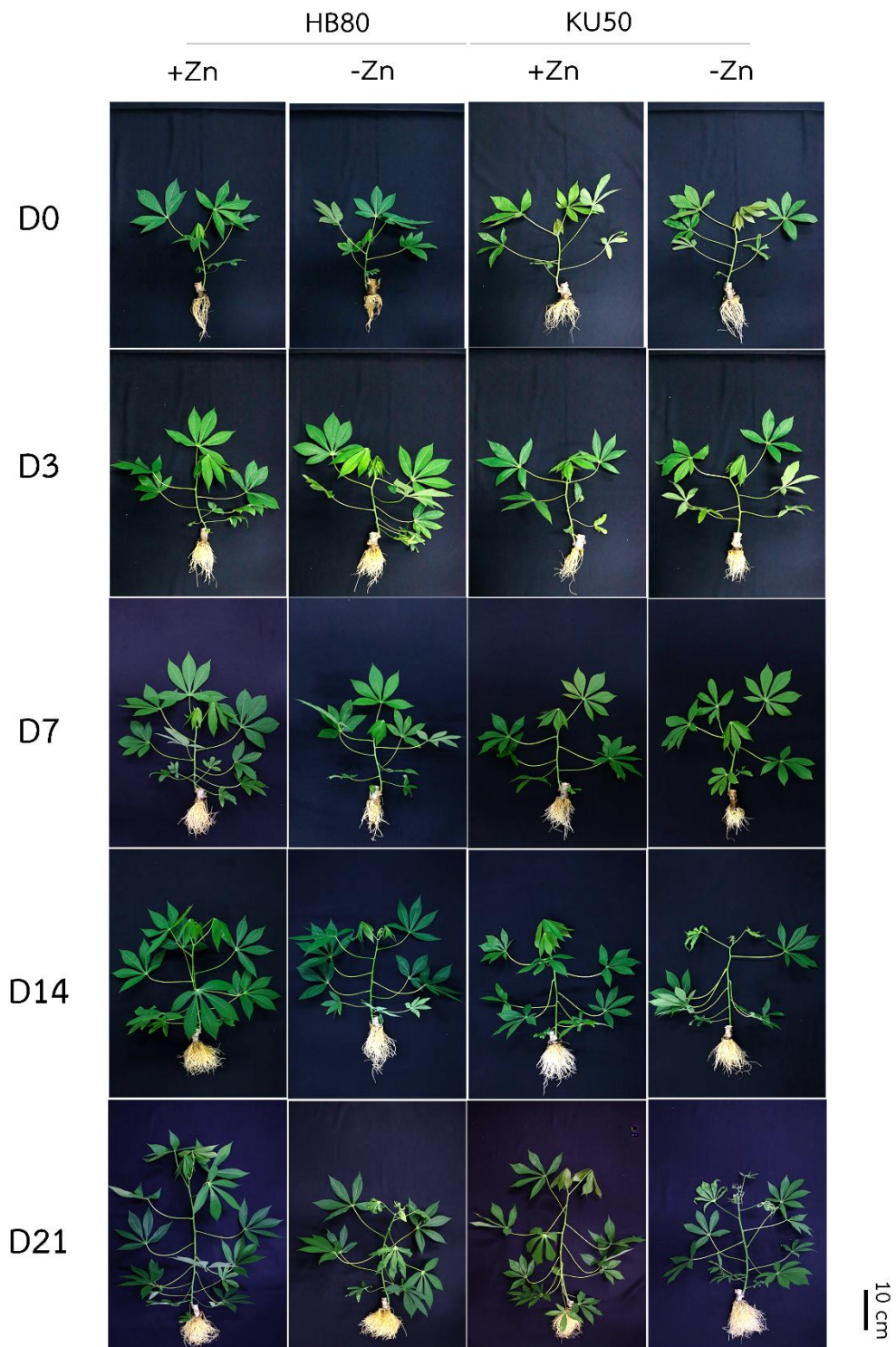
สำหรับความสูงของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าความสูงของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7 และ 14 วัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนความสูงของต้นมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 21 วันนั้น พบว่าต้นมันสำปะหลังมีความสูงลดลงอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 20a)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของรากและส่วนเหนือดินของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าน้ำหนักแห้งของรากมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ไม่มีแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินที่อายุ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 20b และ c) จึงกล่าวได้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์

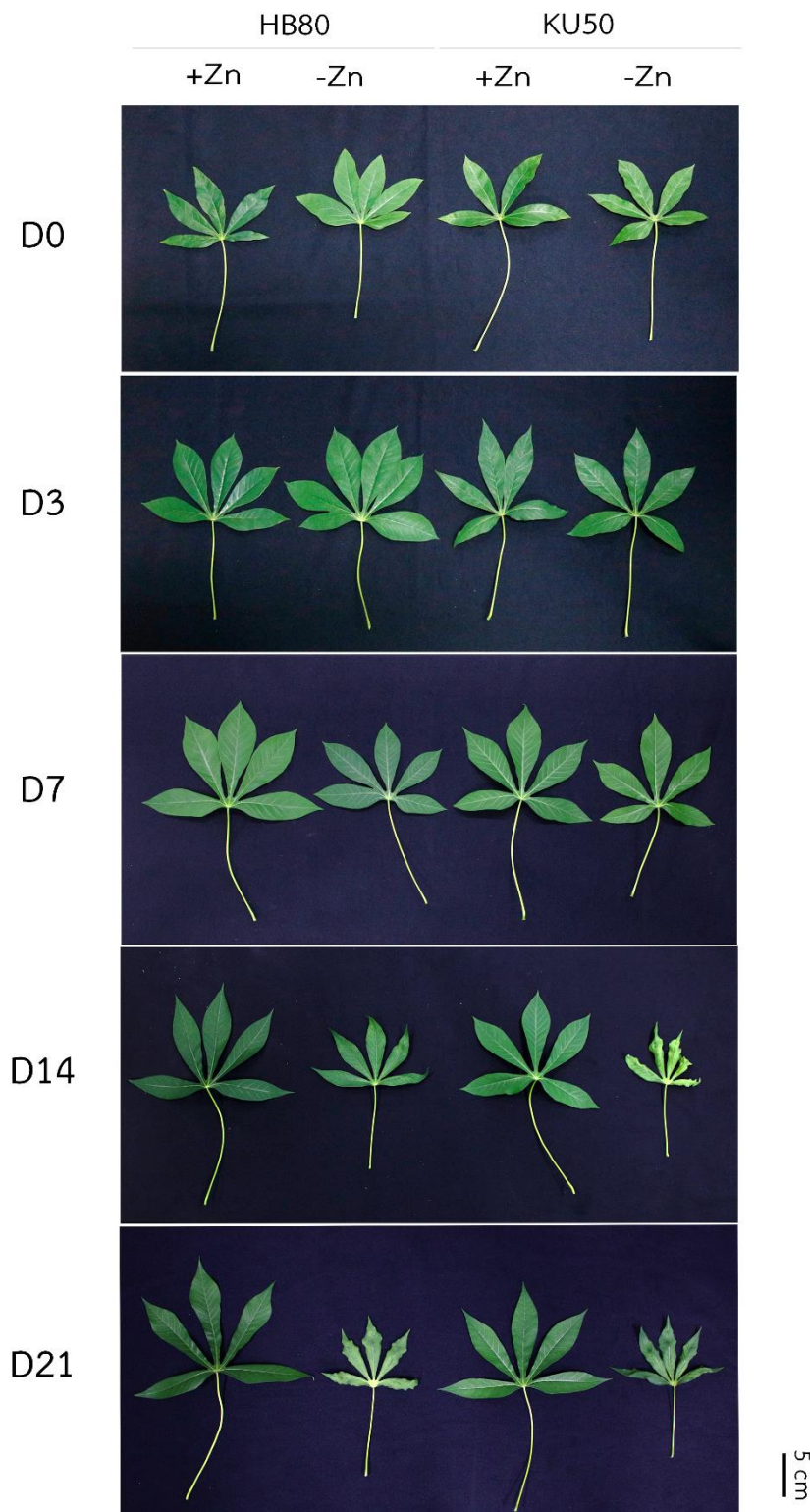
การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอในใบมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 21a) ขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์บีและคลอโรฟิลล์รวมที่พบในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่อายุ 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้นลดลงอย่างชัดเจน ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์บีและคลอโรฟิลล์รวมในใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีเริ่มลดลงที่อายุ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 21b และ c) แสดงให้เห็นว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มากกว่าพันธุ์ห้วยบง 80

การวัดประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในระบบแสงสองของการสังเคราะห์ด้วยแสงในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่วันที่ 7 ขณะที่ใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 เริ่มมีประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดลดลงที่ช่วงอายุ 14 และ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 22) อาจกล่าวได้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของระบบแสงสองในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มากกว่าพันธุ์ห้วยบง 80 อีกทั้งยังพบว่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 23)

เมื่อพิจารณาอัตราการคายน้ำในไขมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าอัตราการคายน้ำของไขมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่อายุ 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน ขณะที่ไขมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เริ่มมีอัตราการคายน้ำลดลงที่อายุ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 24) สำหรับการวัดการชักนำการเปิดปากใบ พบว่ามันสำปะหลังที่อายุ 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีทั้งสองพันธุ์ มีการชักนำการเปิดปากใบลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 25) แสดงว่าต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 14 และ 21 วัน มีแนวโน้มปิดปากใบค่อนข้างสูง ทำให้ลดอัตราการคายน้ำ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำภายในต้นมันสำปะหลัง อีกทั้งยังพบว่าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปากใบของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน ขณะที่พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปากใบค่อนข้างคงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 26) และพบว่าความต้านทานการเปิดปากใบของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ที่อายุ 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มสูงขึ้น ขณะเดียวกันมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีความต้านทานการเปิดปากใบค่อนข้างคงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 27) เมื่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณปากใบมันสำปะหลังมีแนวโน้มลดลง จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงของต้นมันสำปะหลังลดลงภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี



รูปที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ HB80 และ KU50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 21 วัน (D0, 3, 7, 14, 21)



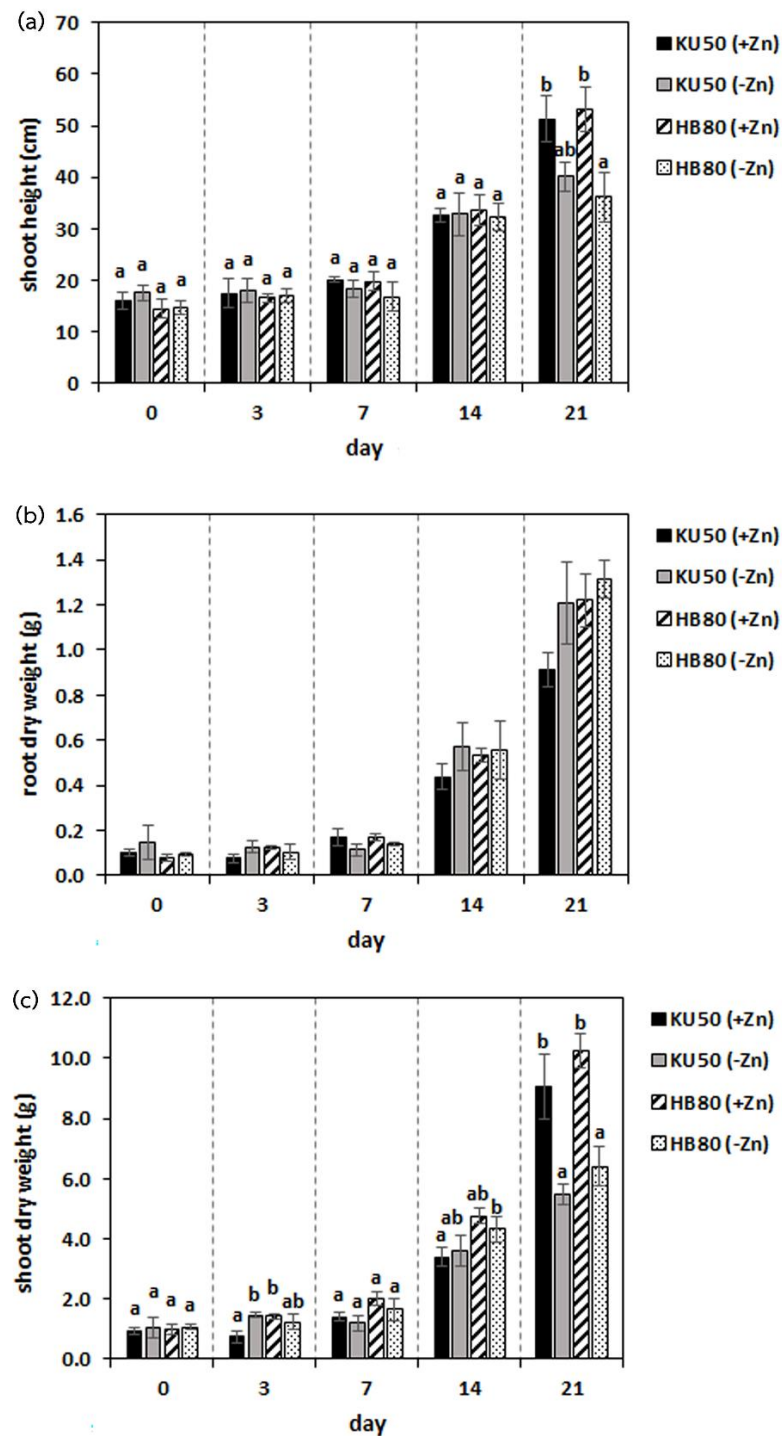
รูปที่ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ (YFEL) มันสำปะหลังพันธุ์ HB80 และ KU50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน (D0, 3, 7, 14, 21)



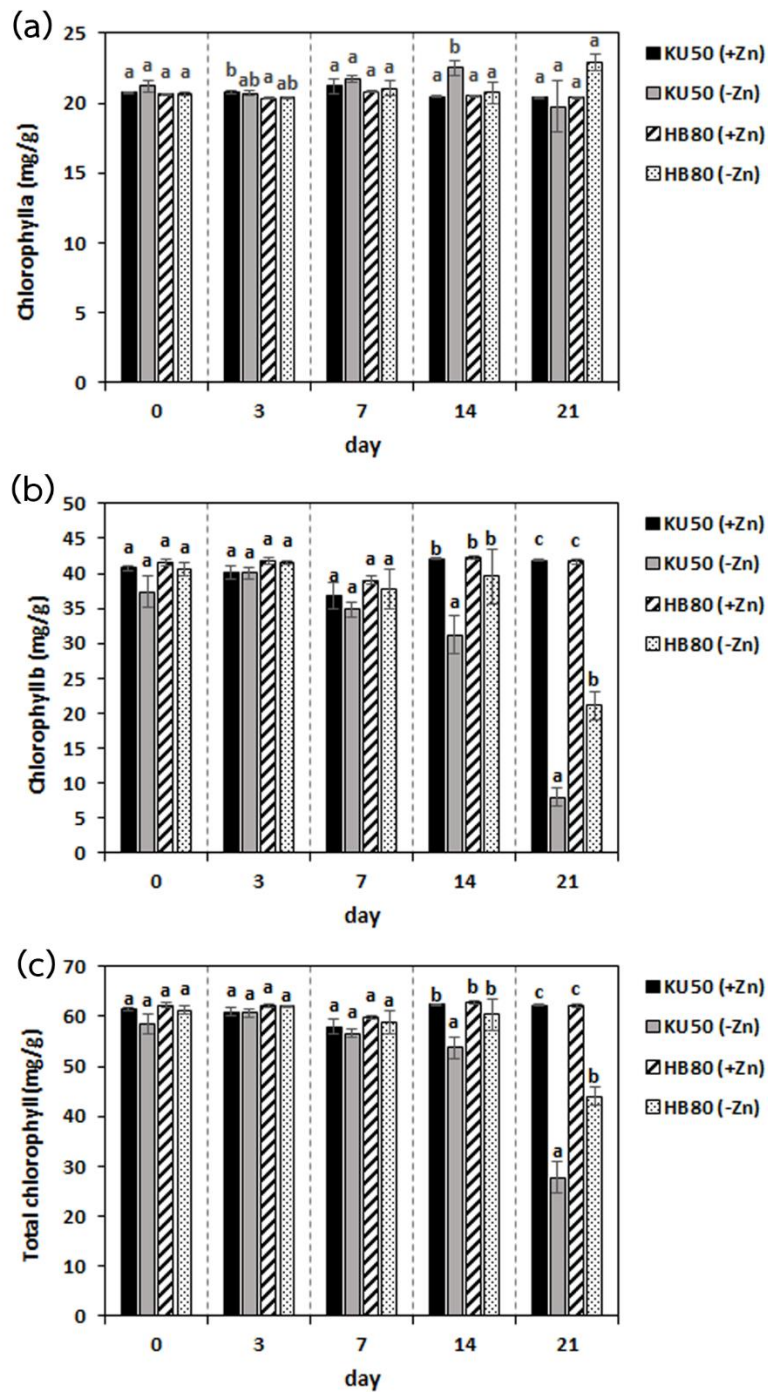
รูปที่ 18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 อายุ 21 วัน ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี



รูปที่ 19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 อายุ 21 วัน ที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

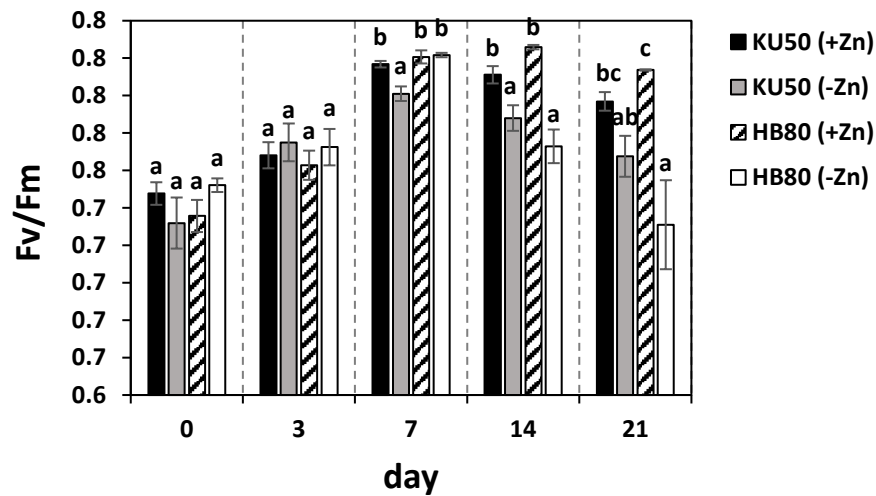


รูปที่ 20 ความสูงของลำต้น (a), น้ำหนักแห้งของราก (b) และน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน (c) ของมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



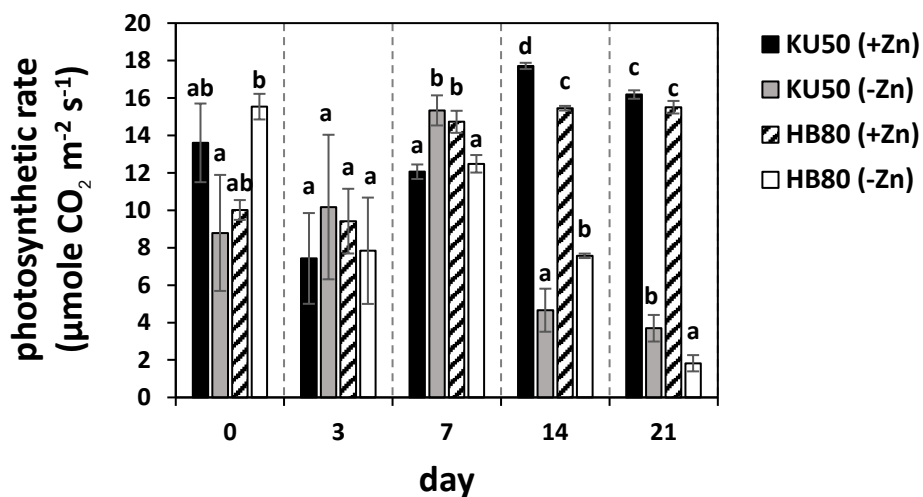
รูปที่ 21 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมันสำปะหลัง

ของมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



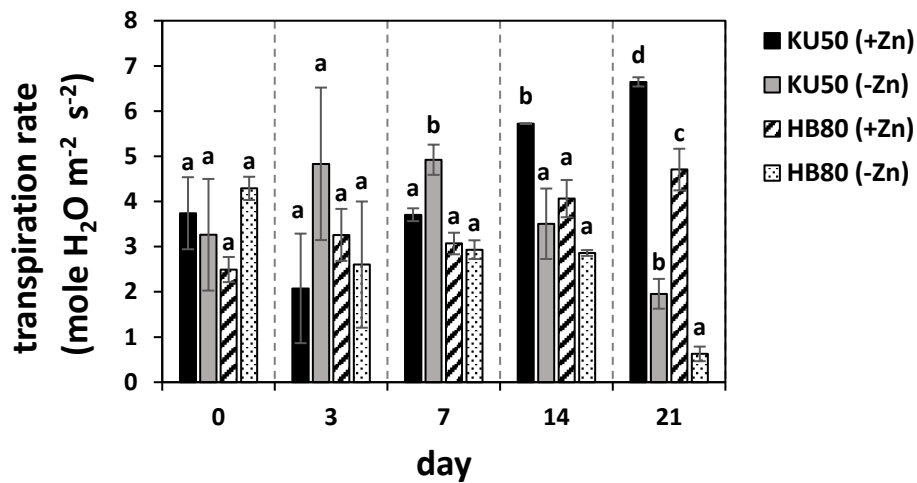
รูปที่ 22 ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในระบบแสงสองของใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



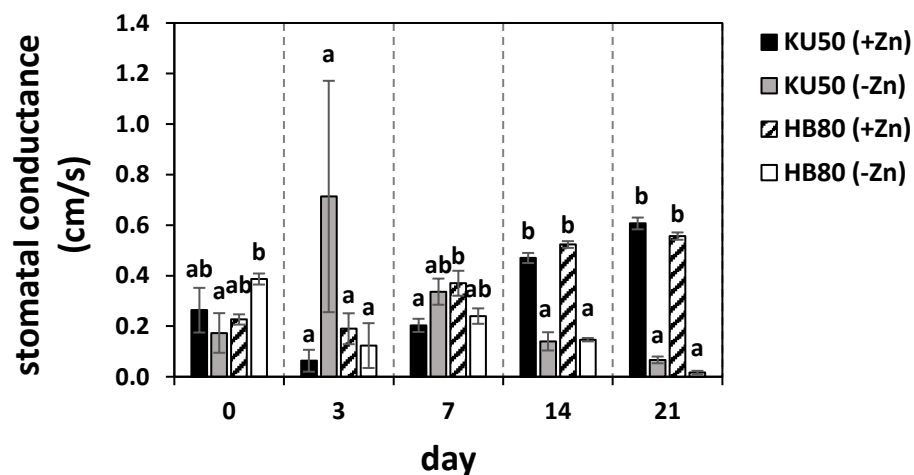
รูปที่ 23 อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



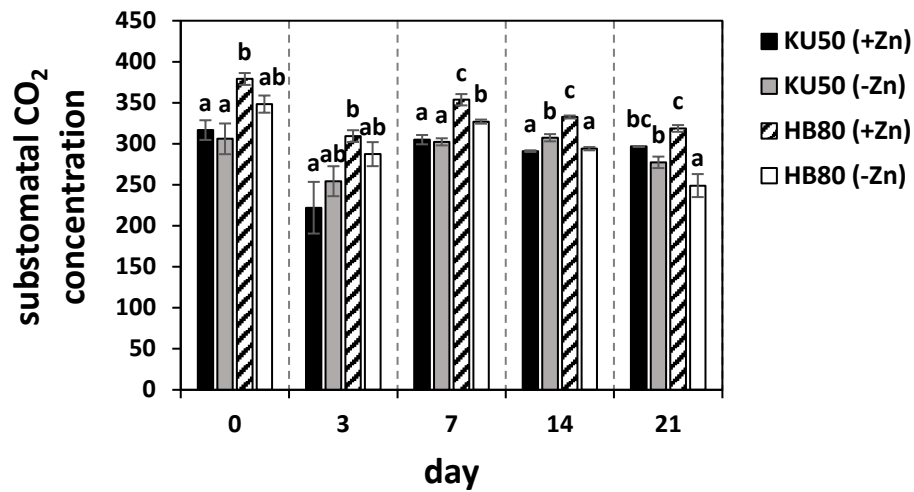
รูปที่ 24 อัตราการคายน้ำของใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



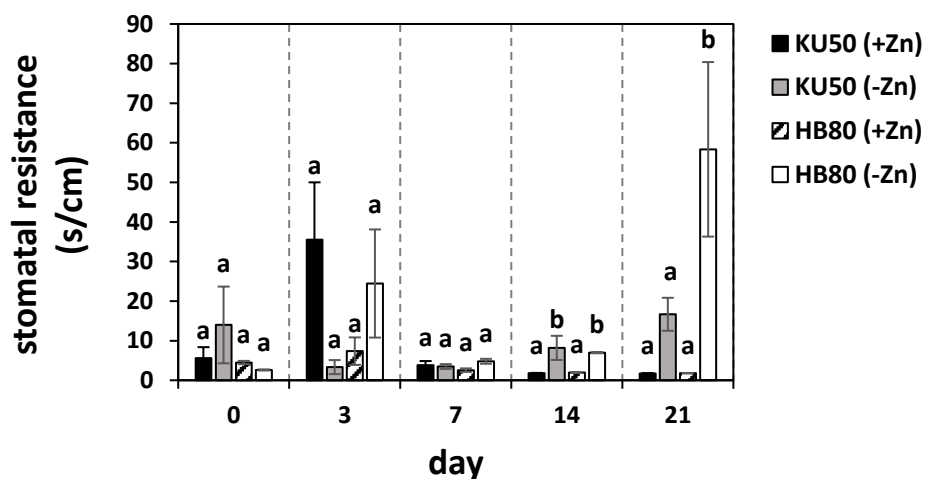
รูปที่ 25 การชักนำการเปิดปากใบของมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



รูปที่ 26 ความเข้มข้นของคาร์บอนไดร็อกไซด์ที่ปากใบของมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



รูปที่ 27 ความต้านทานการเปิดปากใบในใบของมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ

4.2 การสะสมธาตุอาหารในรากและใบมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

ธาตุอาหารแต่ละชนิดจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง สำหรับธาตุสังกะสีนั้นจัดเป็นธาตุโลหะชนิดหนึ่งที่มีบทบาทในกระบวนการต่าง ๆ ของพืช เมื่อมันสำปะหลังมีอาการขาดธาตุสังกะสี จะส่งผลกระทบต่อกระบวนการสะสมธาตุสังกะสีหรือธาตุโลหะชนิดอื่น ๆ และธาตุอาหารหลักบางชนิด ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าอาจมีการเปลี่ยนแปลงการสะสมธาตุสังกะสีเกิดขึ้นภายในต้นมันสำปะหลัง รวมถึงธาตุโลหะต่าง ๆ ที่พืชดูดซึมผ่านโปรตีนลำเลียงชนิดเดียวกันหรือมีการดูดซึมในรูปของ $Metal^{+}, 2+$ เช่นเดียวกับธาตุสังกะสี ได้แก่ Zn^{2+} , $Fe^{2+, 3+}$, $Cu^{+}, 2+$ และ Mn^{2+} รวมถึงธาตุฟอสฟอรัสที่มีการรายงานไว้ว่า ถ้าพืชเจริญเติบโตภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี จะมีการลำเลียงธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น (Barben et al., 2010; Cakmak & Marschner, 1986) ผู้วิจัยจึงวิเคราะห์ธาตุสังกะสี เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และฟอสฟอรัสในรากและใบของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ดังนี้

การสะสมธาตุอาหาร ได้แก่ ธาตุสังกะสี เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และฟอสฟอรัสในรากมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีและสภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 28-32) พบว่า การสะสมธาตุสังกะสี แมงกานีส และฟอสฟอรัสในรากของมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับธาตุฟอสฟอรัสนั้นมีแนวโน้มการสะสมธาตุดังกล่าวเพิ่มขึ้นในรากตามการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ อาจกล่าวได้ว่า รากมันสำปะหลังแต่ละช่วงอายุมีการสะสมธาตุทั้งสามชนิดค่อนข้างคงที่ (รูปที่ 28, 30, 32) ส่วนการสะสมธาตุเหล็กในรากของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มการสะสมธาตุเหล็กลดลงตั้งแต่ช่วงอายุ 14 และ 21 วัน คิดเป็นร้อยละ 43 และ 56 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี และคิดเป็นร้อยละ 30 และ 41 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า การสะสมธาตุเหล็กในรากมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีทั้งสองพันธุ์มีแนวโน้มลดลงตามช่วงอายุ (รูปที่ 29)

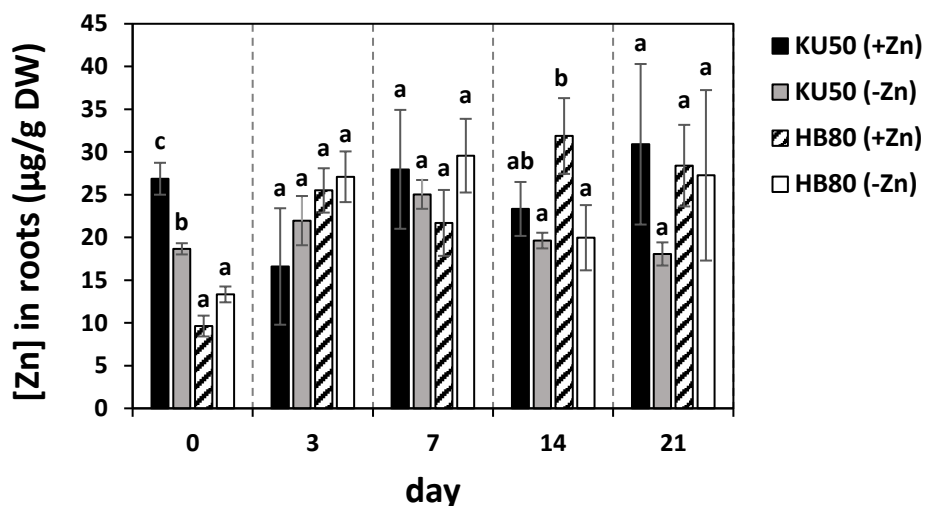
อย่างไรก็ตามพบว่าการสะสมธาตุทองแดงในรากมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออายุ 21 วัน คิดเป็นร้อยละ 62 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี และคิดเป็นร้อยละ 69 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี จึงสรุปได้ว่า มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มการสะสมธาตุเหล็กในรากลดลงตั้งแต่ช่วงอายุ 14 วันเป็นต้นไป แต่มีแนวโน้มการสะสมธาตุทองแดงในรากเพิ่มขึ้นที่อายุ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 29 และ 31)

สำหรับการสะสมธาตุสังกะสี เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และฟอสฟอรัสในไขมันสำปะหลัง พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีและสภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 33-37) พบว่า การสะสมธาตุเหล็กและทองแดงในใบของมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 34 และ 36) สำหรับการสะสมธาตุสังกะสีในใบของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่ช่วงอายุ 7, 14 และ 21 วัน คิดเป็นร้อยละ 61, 71 และ 74 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ตามลำดับ ขณะที่การสะสมธาตุสังกะสีในใบของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่ช่วงอายุ 7, 14 และ 21 วัน คิดเป็นร้อยละ 15, 56 และ 71 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ตามลำดับ แสดงว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อการสะสมธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มากกว่ามันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 (รูปที่ 33)

อย่างไรก็ตามการสะสมธาตุแมงกานีสในใบของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงอายุ 14 และ 21 วัน คิดเป็นร้อยละ 45 และ 61 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี และคิดเป็นร้อยละ 44 และ 59 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ตามลำดับ แสดงว่า สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อการสะสมธาตุแมงกานีสในใบมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ (รูปที่ 35) อีกทั้งยังพบว่า การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในใบของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงอายุ 21 วัน คิดเป็นร้อยละ 25 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี และพันธุ์ห้วยบง 80 มีแนวโน้มในการสะสมธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงอายุ 14 และ 21 วัน คิดเป็นร้อยละ 25 และ 33 ของต้นมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ตามลำดับ ดังนั้นสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในใบมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ และมีผลต่อการสะสมธาตุฟอสฟอรัสในใบของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 มากกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (รูปที่ 37) จึงสรุปได้ว่า มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์ห้วยบง 80 ที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีนั้น มีแนวโน้มการสะสมธาตุสังกะสีในใบลดลงตั้งแต่ช่วงอายุ 7 วันเป็นต้นไป แต่มีแนวโน้มการสะสมธาตุแมงกานีสในใบเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงอายุ 14 วันเป็นต้นไป ขณะเดียวกันมีแนวโน้มการสะสมธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่อายุ 21 วัน และมีแนวโน้มการสะสมธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นในใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ตั้งแต่ 14 วันเป็นต้นไป

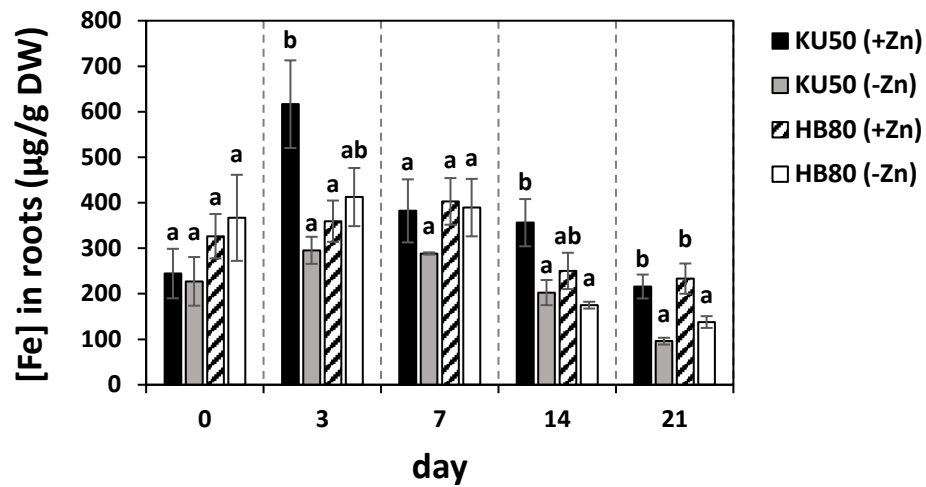
จากการวิเคราะห์การสะสมธาตุอาหารในรากและใบของมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ สรุปได้ว่า ต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีการเปลี่ยนแปลงการสะสมธาตุอาหารต่าง ๆ ทั้ง

ในรากและใบ โดยเฉพาะปริมาณการสะสมธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลังที่ลดลงจริงภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ขณะเดียวกันมีการสะสมธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีอีกด้วย ส่วนการสะสมธาตุโลหะชนิดอื่น ๆ มีปริมาณการสะสมเพิ่มขึ้นหรือลดลงแตกต่างกัน



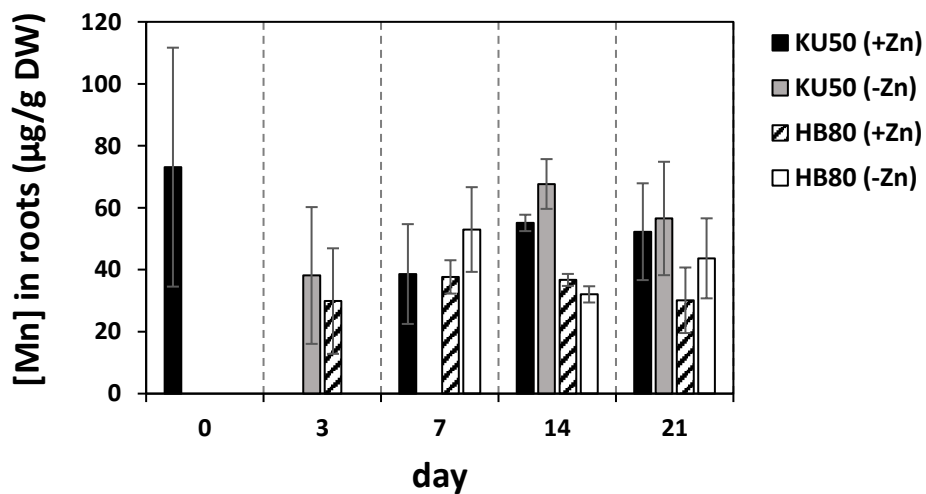
รูปที่ 28 การสะสมธาตุสังกะสีในรากมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



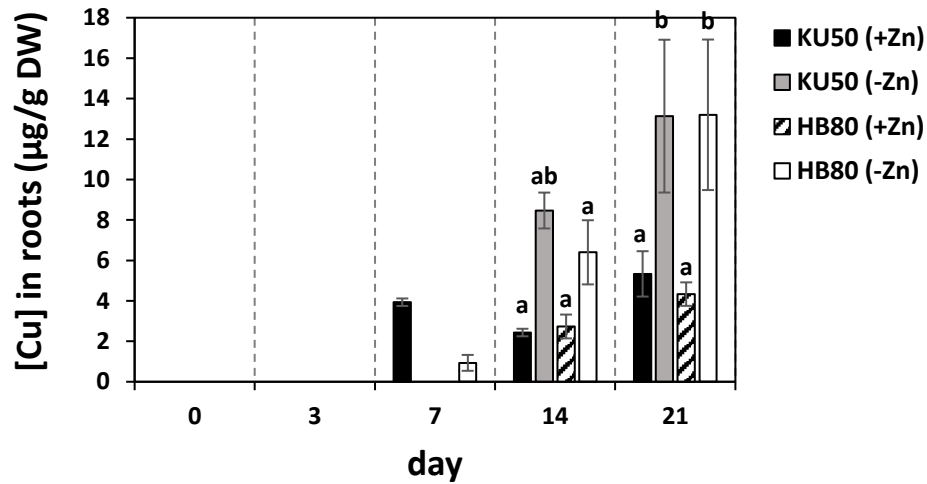
รูปที่ 29 การสะสมธาตุเหล็กในรากมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



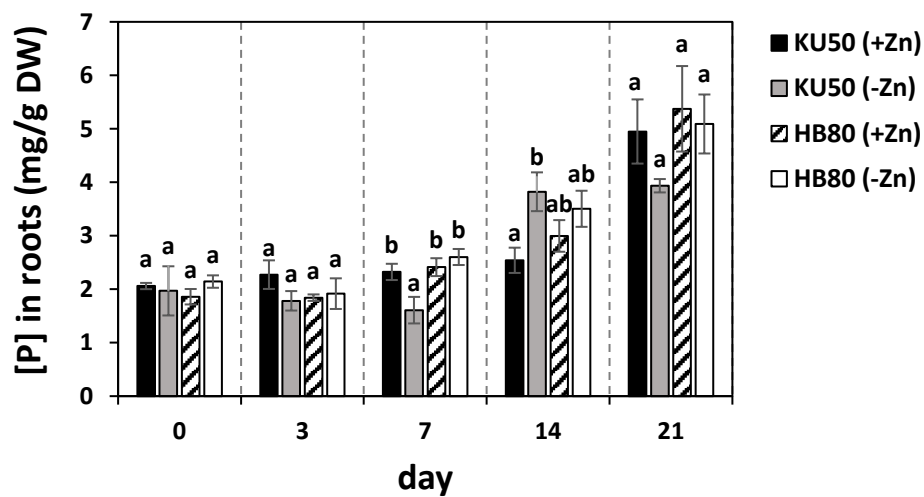
รูปที่ 30 การสะสมธาตุแมงกานีสในรากมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



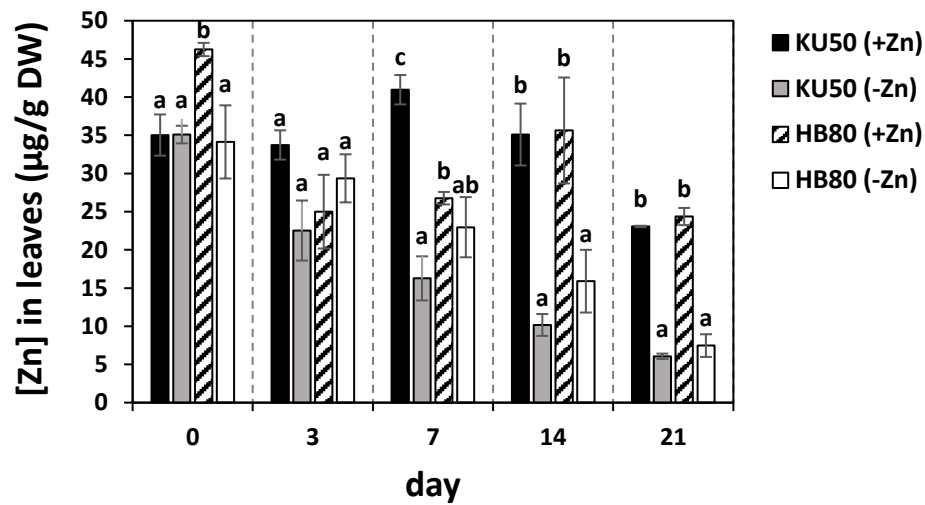
รูปที่ 31 การสะสมธาตุทองแดงในรากมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



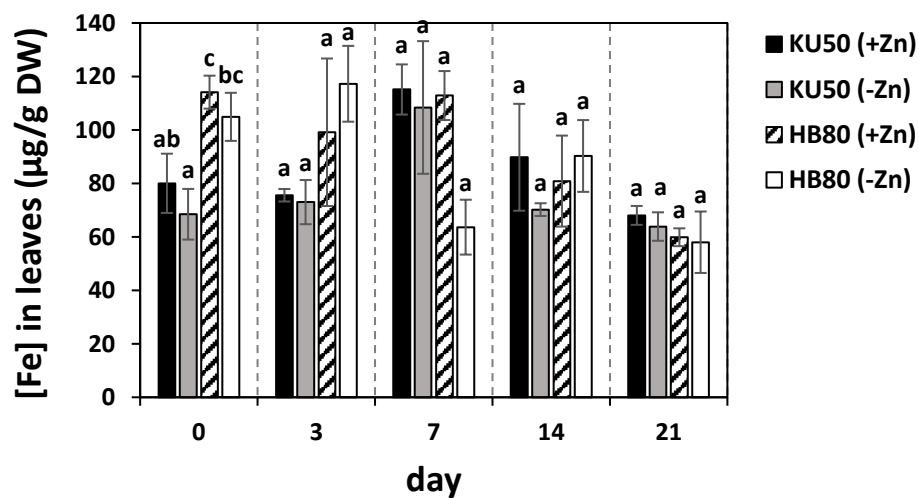
รูปที่ 32 การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในรากมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



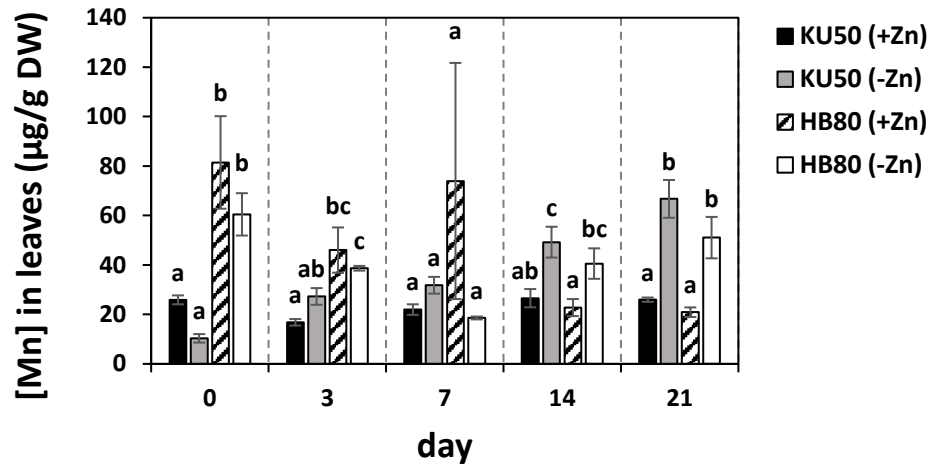
รูปที่ 33 การสะสมธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



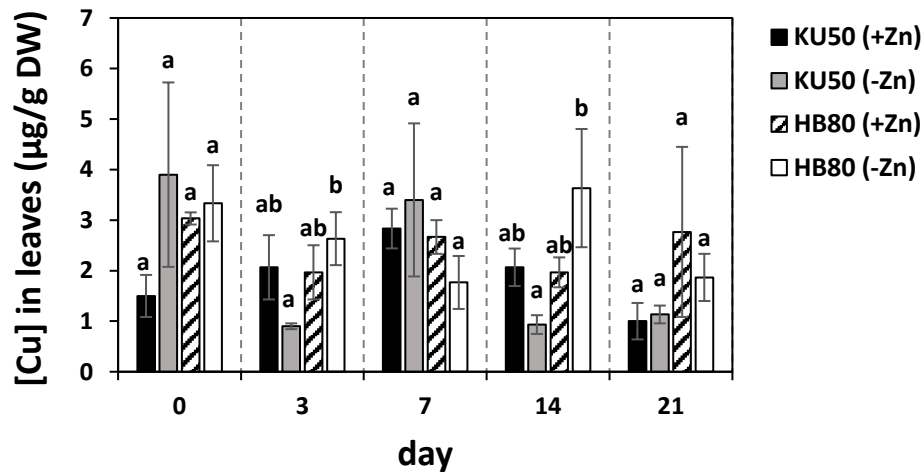
รูปที่ 34 การสะสมธาตุเหล็กในใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



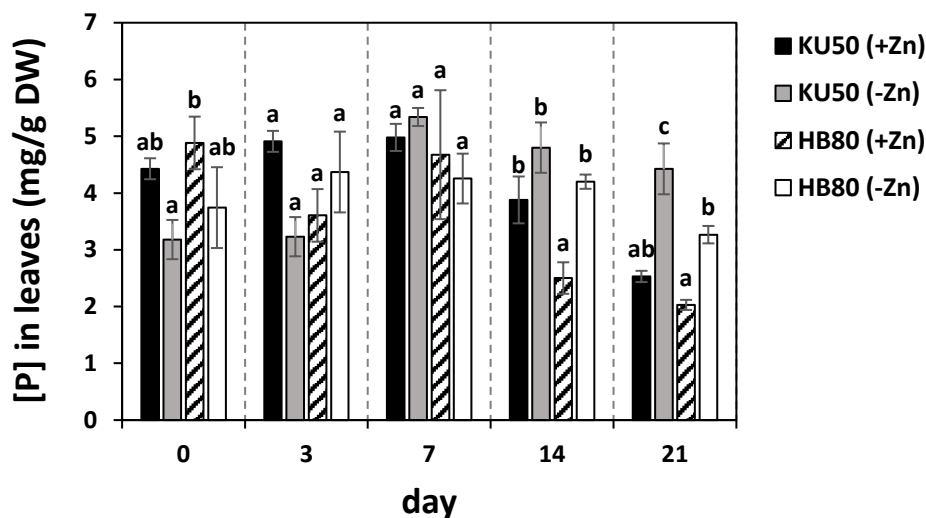
รูปที่ 35 การสะสมธาตุแมงกานีสในใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



รูปที่ 36 การสะสมธาตุทองแดงในใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ



รูปที่ 37 การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในใบมันสำปะหลัง

พันธุ์ KU50 และ HB80 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์และระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ

4.3 การระบุกลุ่มยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง

โดยใช้ชีวสารสนเทศ

การสืบหายีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังนั้น นับว่าเป็นการศึกษาที่สำคัญอย่างยิ่งที่จะนำไปสู่ความเข้าใจในเชิงของกลไกการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง เนื่องจากการศึกษาในระดับอนุชีววิทยาของยีนและโปรตีนดังกล่าว จะช่วยยืนยันบทบาทหน้าที่และการทำงานที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังได้ ผู้วิจัยจึงระบุยีนและทำนายการควบคุมการทำงานของยีนในระดับโปรโมเตอร์ โดยพบว่าการวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ จะช่วยทำนายการควบคุมการทำงานของยีนที่มีตำแหน่งจับของ transcription factors ต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นตำแหน่งจับของ transcription factors ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองความเครียดของพืช ฮอโมนพืช รวมทั้งตำแหน่ง zinc deficiency response element (ZDRE) ที่เกี่ยวข้องกับการขาดธาตุสังกะสีด้วย นอกจากการควบคุมการทำงานในระดับโปรโมเตอร์แล้ว ยังมีการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังร่วมกับอะราบิโดพซิสและข้าว ดังต่อไปนี้

กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์หรือ (ZIPs)

จากการสืบหาพบว่ามียีน *MeZIP* ทั้งหมด 12 ยีน บนจีโนมของมันสำปะหลัง โดยพบการกระจายตัวของ Exon จำนวน 2-12 ตำแหน่ง, Intron จำนวน 1-11 ตำแหน่ง จะเห็นได้ว่าโครงสร้างของยีนในกลุ่มเดียวกัน จะมีจำนวน Exon และ Intron คล้ายกัน และจากการทำนายตำแหน่งของโปรตีน ZIP พบว่าอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane) ทั้งนี้มีบางส่วนพบบริเวณคลอโรพลาสต์อีกด้วย ได้แก่ *MeZIP4*, *MeZIP6* และ *MeIRT3* และมีจำนวนกรดอะมิโนประมาณ 336-480 ตัว ยกเว้น *MeZIP29* มีจำนวนกรดอะมิโนเพียง 276 ตัว โดยมี Transmembrane (TM) domain จำนวน 6-9 ตำแหน่ง (ตารางที่ 5 และรูปที่ 38)

สำหรับการทำนายตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP* พบว่ายีนส่วนใหญ่มีตำแหน่ง cis-acting element ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช โดยเฉพาะตำแหน่ง ERE ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อฮอร์โมนเอทิลีน ยกเว้น *MeIRT1* และ *MeZIP29* ไม่พบตำแหน่ง ERE บนโปรโมเตอร์ ทั้งนี้ยีน *MeZIP8* พบตำแหน่ง ERE มากถึง 14 ตำแหน่ง อย่างไรก็ตามยีน *MeZIP8* ไม่มีตำแหน่งอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช แสดงว่ามีการควบคุมการทำงานเฉพาะฮอร์โมนเอทิลีนบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP8* และพบตำแหน่ง ABRE ที่เกี่ยวข้องกับกรดแอบไซซิกทั้งหมด 8 ยีน ยกเว้นบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP3*, *MeZIP8*, *MeIAR1* และ *MeZIP29* สำหรับตำแหน่ง TGA ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนออกซินพบบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP1*, *MeIRT1* และ *MeZIP29* รวมถึงตำแหน่ง CGTCA และ TGACG motif ที่เกี่ยวข้องกับเมทิลแจสโมเนต จะพบได้บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP2*, *MeZIP4*, *MeZIP5*, *MeIRT3* และ *MeZIP29* ตำแหน่ง GARE motif ซึ่งเกี่ยวข้องกับจิบเบอเรลลินพบบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP1*, *MeZIP2*, *MeZIP6* และ *MeZIP29* รวมถึงพบตำแหน่ง TCA-element ที่เกี่ยวข้องกับกรดซาลิไซลิกบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP5*, *MeIAR1* และ *MeZIP29* อีกทั้งพบว่า *MeZIP1*, *MeZIP3* และ *MeZIP29* มีตำแหน่งจับ TC-rich repeats ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียด ประเด็นหนึ่งที่น่าสนใจคือยีน *MeZIP3*, *MeZIP4*, *MeZIP6* และ *MeIRT3* มีตำแหน่ง ZDRE ซึ่งเกี่ยวข้องกับการขาดธาตุสังกะสีด้วย จึงแสดงให้เห็นว่ายีนกลุ่มนี้มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง (ตารางที่ 6)

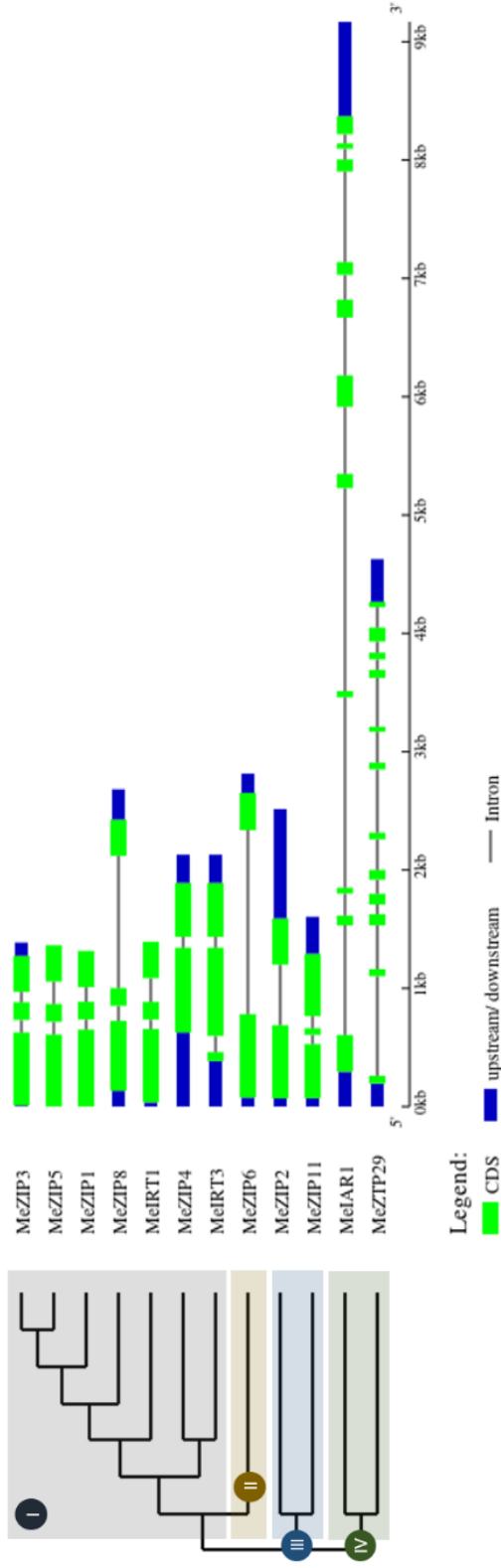
ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีน *MeZIP* พบว่าโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ดังกล่าวนี้ สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม (I-VI) โดยกลุ่ม I ประกอบด้วย *MeZIP1*, *MeZIP8*, *MeZIP3*, *MeZIP5*, *MeIRT1*, *MeZIP4* และ *MeIRT3*, กลุ่ม II ประกอบด้วย *MeZIP6*, กลุ่ม III ประกอบด้วย *MeZIP2* และ *MeZIP11* และกลุ่ม IV ประกอบด้วย *MeIAR1* และ *MeZIP29* (รูปที่ 39) อีกทั้งยังพบว่า กลุ่ม ZIP ของมันสำปะหลัง, อะราบิดอปซิส และข้าว มีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกัน

สำหรับการวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีนกลุ่ม MeZIP (Functional annotation) บนฐานข้อมูล PANTHER, PFAM, InterPro, KOG, GO และ TIGRFAMs พบว่า MeZIPs เป็นกลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะบนเยื่อหุ้มเซลล์ โดยเฉพาะธาตุสังกะสีและเหล็ก (Zinc/iron transporter) ทั้งนี้ยังพบว่า MeZIP6 เกี่ยวข้องกับคลอโรพลาสต์อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทำนายตำแหน่งที่พบโปรตีน MeZIP6 อยู่บริเวณคลอโรพลาสต์ (ตารางที่ 5) ในขณะที่ MeZIP1 พบว่าเกี่ยวข้องกับระบบแสงที่ 1 (photosystem I) ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง MeZIP1 จึงจัดเป็นโปรตีนลำเลียงธาตุสังกะสีที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงด้วย (ตารางที่ 7)

ดังนั้นการระบุยีน *MeZIP* จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อวิเคราะห์การทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เนื่องจาก ZIP เป็นกลุ่มโปรตีนที่มีบทบาทหลักในการลำเลียงธาตุโลหะบนเยื่อหุ้มเซลล์ของพืช จากข้อมูลข้างต้นจึงยืนยันได้ว่า MeZIP มีบทบาทโดยตรงในการลำเลียงธาตุสังกะสีและมีความสัมพันธ์ต่อกลไกเชิงสรีรวิทยาบางอย่างในมันสำปะหลัง

ตารางที่ 5 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยีน ZIP

Gene name	Locus name	No. of Exons	Protein length	No. of TMHs	Subcellular localization
1. <i>MeZIP1</i>	Manes.16G047600.1	3	368	7	plasma membrane
2. <i>MeZIP2</i>	Manes.01G170500.1	2	336	9	plasma membrane
3. <i>MeZIP3</i>	Manes.03G075600.1	3	356	7	plasma membrane
4. <i>MeZIP4</i>	Manes.16G080800.2	2	390	6	plasma membrane/chloroplast
5. <i>MeZIP5</i>	Manes.07G085500.1	3	354	7	plasma membrane
6. <i>MeZIP6</i>	Manes.18G141500.1	2	339	8	plasma membrane/chloroplast
7. <i>MeZIP8</i>	Manes.09G089600.1	3	348	7	plasma membrane
8. <i>MeZIP11</i>	Manes.03G140100.1	3	346	9	plasma membrane
9. <i>MeIRT1</i>	Manes.S009200.1	3	358	9	plasma membrane
10. <i>MeIRT3</i>	Manes.16G080800.1	3	424	6	plasma membrane/chloroplast
11. <i>MeIAR1</i>	Manes.15G138800.1	11	480	7	plasma membrane
12. <i>MeZTP29</i>	Manes.06G166500.1	12	276	8	plasma membrane



รูปที่ 38 โครงสร้างของยีน ZIP ในมันสำปะหลัง

โดยมีองค์ประกอบของ exon (CDS), UTR (upstream/downstream) และ intron ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (I-IV) ตามการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดย MeZIP แทนยีน ZIP ในมันสำปะหลัง

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน ZIP ในมันสำปะหลัง
กำหนดให้

สีเหลือง แทน กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองภายใต้สภาวะความเครียด

สีส้ม แทน กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีนกลุ่ม ZIP
ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

สีเขียว แทน กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช

	Stress responsive (TC-rich repeats)	Zn deficiency (ZDRE)	Phytohormone responsive						
			ABRE	ERE	CGTCA-motif	TGACG-motif	TGA-element	GARE-motif	TCA-element
<i>MeZIP1</i>	1		1	1			1	1	
<i>MeZIP2</i>			1	5	1	1		1	
<i>MeZIP3</i>	1	1		7					
<i>MeZIP4</i>		1	3	3	1	1			
<i>MeZIP5</i>			1	5	2	2			1
<i>MeZIP6</i>		1	1	3				1	
<i>MeZIP8</i>				14					
<i>MeZIP11</i>			2	7					
<i>MeIRT1</i>			2				1		
<i>MeIRT3</i>		1	2	3	1	1			
<i>MeIAR1</i>				7					1
<i>MeZTP29</i>	1				2	2	4	1	1

หมายเหตุ

ABRE: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อกรดแอบไซซิก

ERE: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเอทิลีน

CGTCA-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมทิลแจสโมนेट

TGACG-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมทิลแจสโมนेट

TGA-element: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อออกซิน

GARE-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อจิบเบอเรลลิน

TCA-element: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อกรดซาลิไซลิก

กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น *chelates* (YSLs)

จากการสืบหาพบว่ามียีน *MeYSL* ทั้งหมด 8 ยีน บนจีโนมของมันสำปะหลัง โดยพบการกระจายตัว Exon จำนวน 6-7 ตำแหน่ง, Intron จำนวน 5-6 ตำแหน่ง จะเห็นได้ว่าโครงสร้างของยีนในกลุ่มเดียวกัน จะมีจำนวน Exon และ Intron คล้ายกัน และจากการทำนายตำแหน่งของโปรตีน YSL พบว่าอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane) และมีจำนวนกรดอะมิโนประมาณ 625-714 ตัว โดยมี Transmembrane (TM) domain จำนวน 12-15 ตำแหน่ง (ตารางที่ 8 และรูปที่ 40)

สำหรับการทำนายตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL* ไม่พบตำแหน่ง ZDRE ที่เกี่ยวข้องกับการขาดธาตุสังกะสี แต่พบว่ายีนส่วนใหญ่มีตำแหน่ง cis-acting element ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช โดยเฉพาะ *MeYSL3* พบตำแหน่ง ERE ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อฮอร์โมนเอทิลีนมากถึง 12 ตำแหน่ง อย่างไรก็ตามไม่พบตำแหน่ง ABRE ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อฮอร์โมนในกลุ่มยีนนี้ นอกจากนี้ยังพบว่ายีน *MeYSL8* ไม่มีตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดและฮอร์โมนพืชเลย ส่วนตำแหน่ง CGTCA และ TGACG motif ที่เกี่ยวข้องกับเมทิลแจสโมเนตนั้น พบบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL1*, *MeYSL2*, *MeYSL4* และ *MeYSL7* ขณะที่ตำแหน่ง TGACG motif ไม่พบบนยีน *MeYSL7* แต่พบว่ามีตำแหน่ง GARE-motif บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL7* เท่านั้น และยังพบตำแหน่ง TGA บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL2*, *MeYSL4*, และ *MeYSL6* ส่วนตำแหน่ง TCA-element ที่เกี่ยวข้องกับการดิวซิไลติกพบบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL1*, *MeYSL4* และ *MeYSL6* (ตารางที่ 9)

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น *chelates* (YSLs; Yellow stripe-like proteins) พบว่าโปรตีน YSL จากมันสำปะหลัง อาราบิโดพซิส และข้าว สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม (I-V) โดยกลุ่ม I ประกอบด้วย *MeYSL1*, *MeYSL2* และ *MeYSL3*, กลุ่ม II ประกอบด้วย *MeYSL4*, กลุ่ม III ประกอบด้วย *MeYSL5*, *MeYSL6*, *MeYSL7* และ *MeYSL8* อย่างไรก็ตามกลุ่ม IV และ V ไม่พบ *MeYSL* มีเพียง YSL จากข้าวเท่านั้นที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ (รูปที่ 41)

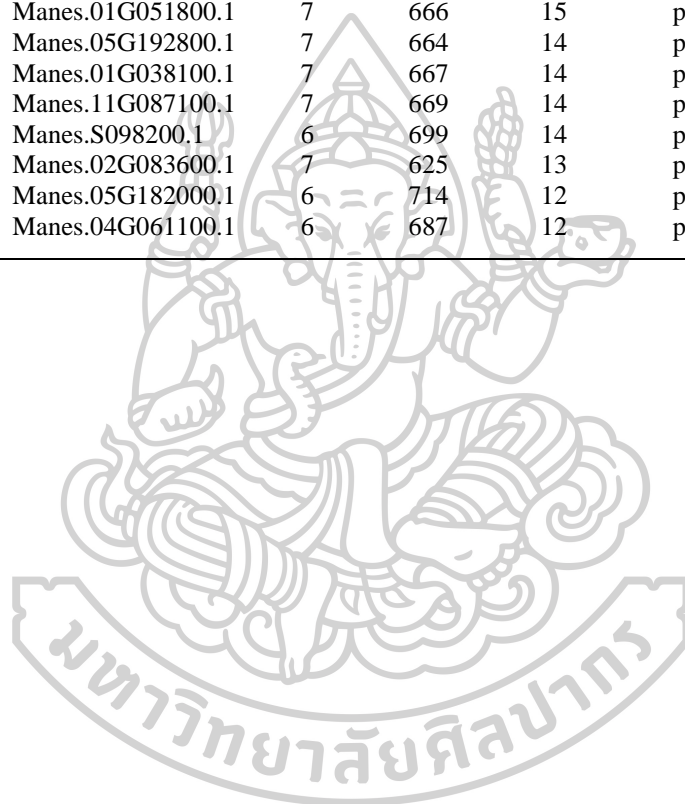
สำหรับการวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีนกลุ่ม *MeYSL* (Functional annotation) บนฐานข้อมูล PANTHER, PFAM, TIGRFAMs, GO และ InterPro พบว่า *MeYSLs* เป็นกลุ่มโปรตีน Oligopeptide transporter (OPT) ที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะบนเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่า *MeYSL6* มีความเกี่ยวข้องกับ cytochrome b complex ในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transport chain) บนเยื่อหุ้มชั้นในของไมโทคอนเดรียด้วย (ตารางที่ 10)

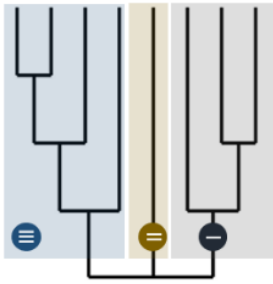
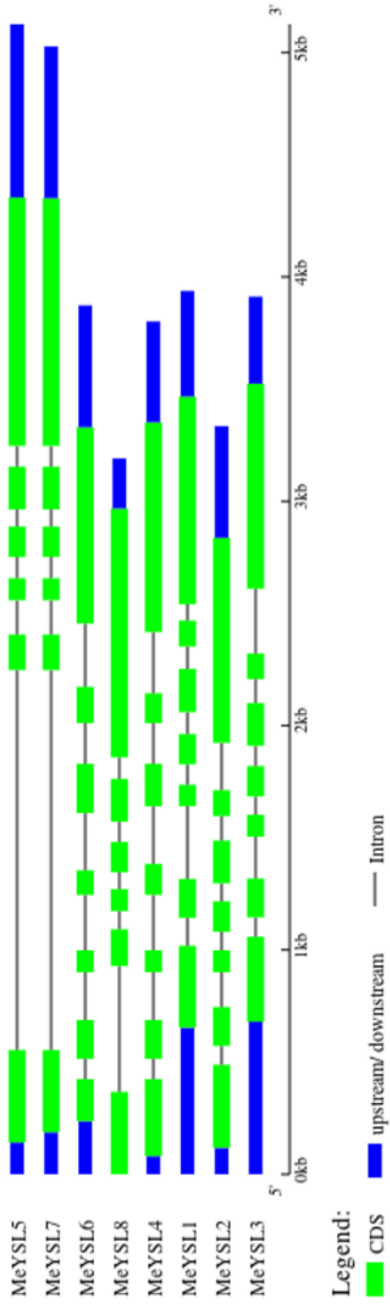
จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ข้อมูลทางชีวสารสนเทศของยีน *MeYSL* ทำให้ทราบบทบาทหน้าที่เบื้องต้นของยีน จึงง่ายต่อการจำแนกกลุ่มยีน รวมทั้งทำให้เกิดความเข้าใจต่อกระบวนการที่อาจ

เกี่ยวข้องต่อการลำเลียงธาตุสังกะสีรวมถึงกลไกทางสรีรวิทยามากยิ่งขึ้น และพบการทำนายของข้อมูลบางอย่างที่เป็นลักษณะเฉพาะของยีนบางยีนอีกด้วย ดังนั้นการระบุยีน *MeYSL* ในมันสำปะหลังจึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลในการทดลองถัดไป

ตารางที่ 8 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยีน *YSL*

Gene name	Locus name	No. of Exons	Protein length	No. of TMHs	Subcellular localization
1. <i>MeYSL1</i>	Manes.01G051800.1	7	666	15	plasma membrane
2. <i>MeYSL2</i>	Manes.05G192800.1	7	664	14	plasma membrane
3. <i>MeYSL3</i>	Manes.01G038100.1	7	667	14	plasma membrane
4. <i>MeYSL4</i>	Manes.11G087100.1	7	669	14	plasma membrane
5. <i>MeYSL5</i>	Manes.S098200.1	6	699	14	plasma membrane
6. <i>MeYSL6</i>	Manes.02G083600.1	7	625	13	plasma membrane
7. <i>MeYSL7</i>	Manes.05G182000.1	6	714	12	plasma membrane
8. <i>MeYSL8</i>	Manes.04G061100.1	6	687	12	plasma membrane





รูปที่ 40 โครงสร้างของยีน YSL ในมันสำปะหลัง

โดยมีองค์ประกอบของ exon (CDS), UTR (upstream/downstream) และ intron ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (I-III) ตามการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดย MeYSL แทนยีน YSL ในมันสำปะหลัง

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน YSL ในมันสำปะหลัง กำหนดให้

สีเขียว แทน กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองภายใต้สภาวะความเครียด
 สีส้ม แทน กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช

	Stress responsive (TC-rich repeats)	Phytohormone responsive						
		ABRE	ERE	CGTCA-motif	TGACG-motif	TGA-element	GARE-motif	TCA-element
<i>MeYSL1</i>			1	2	2			2
<i>MeYSL2</i>			4	1	1	1		
<i>MeYSL3</i>			12					
<i>MeYSL4</i>			9	1	1	1		1
<i>MeYSL5</i>	1		7					
<i>MeYSL6</i>			5			1		1
<i>MeYSL7</i>	1		1	2			1	
<i>MeYSL8</i>								

หมายเหตุ

ABRE: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อกรดแอบไซซิก

ERE: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเอทิลีน

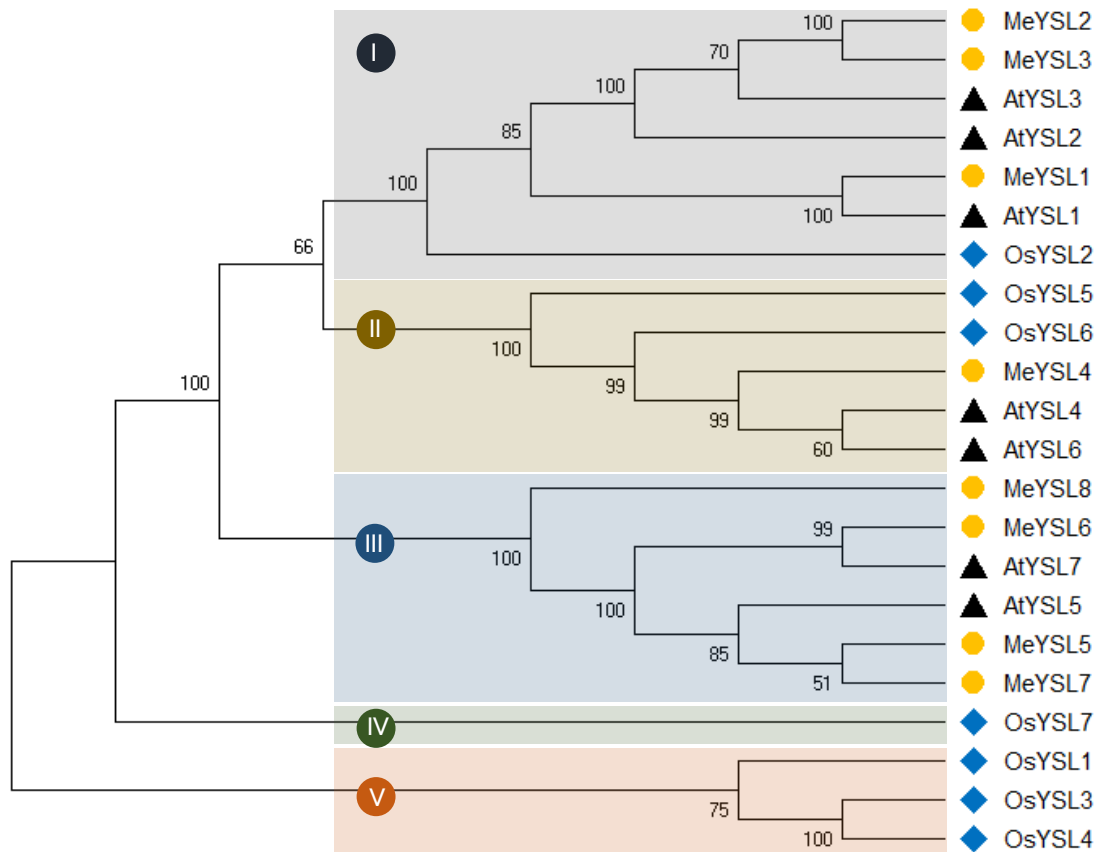
CGTCA-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมทิลแจสโมเนต

TGACG-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมทิลแจสโมเนต

TGA-element: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อออกซิน

GARE-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อจิบเบอเรลลิน

TCA-element: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อกรดซาลิไซลิก



รูปที่ 41 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีน YSL ในมันสำปะหลัง อะราบิดอพิซิส และข้าว ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม (I-V) ตามการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้โปรแกรม MEGA X ด้วยวิธี neighbor-joining (NJ) 1000 bootstrap replicates (วงกลมสีเหลือง แสดงถึงกลุ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง สามเหลี่ยมสีดำ แสดงถึงกลุ่มโปรตีนในอะราบิดอพิซิส และสี่เหลี่ยมข้าว หลามตัด แสดงถึงกลุ่มโปรตีนในข้าว)

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีน YSL (functional annotation)

ด้วยฐานข้อมูล PANTHER, PFAM, TIGRFAMs, GO และ InterPro

Database	Database ID	Functional annotation	Gene name									
			MeYSL1	MeYSL2	MeYSL3	MeYSL4	MeYSL5	MeYSL6	MeYSL7	MeYSL8		
PANTHER	PTHR31645:SF8	METAL-NICOTIANAMINE TRANSPORTER YSL3		✓	✓							
PANTHER	PTHR31645:SF11	METAL-NICOTIANAMINE TRANSPORTER YSL1		✓								
TIGRFAMs	TIGR00728	OPT_sfam: oligopeptide transporter, OPT superfamily	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
InterPro	IPR004813	Oligopeptide transporter, OPT superfamily	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
InterPro	IPR008027	Cytochrome b-c1 complex subunit 9							✓			
PFAM	PF03169	OPT	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
GO	GO:0055085	transmembrane transport	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
GO	GO:0005750	mitochondrial respiratory chain complex III							✓			
GO	GO:0005743	mitochondrial inner membrane							✓			
GO	GO:0006122	mitochondrial electron transport, ubiquinol to cytochrome c							✓			

กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน (MTP)

พบว่ามียีน *MeMTP* ทั้งหมด 12 ยีน บนจีโนมของมันสำปะหลัง โดยโครงสร้างของยีนพบการกระจายตัว Exon จำนวน 1-12 ตำแหน่ง, Intron จำนวน 1-11 ตำแหน่ง และมีบางยีนไม่พบ Intron อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าโครงสร้างของยีนในกลุ่มเดียวกัน จะมีจำนวน Exon และ Intron คล้ายกัน จากการทำนายตำแหน่งของโปรตีน MTP พบว่าส่วนใหญ่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) และเยื่อหุ้มแวคิวโอล (tonoplast) ยกเว้น *MeMTP4* และ *MeMTP8* ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (ER membrane) และ *MeMTP6* ที่พบว่าอยู่บริเวณไมโทคอนเดรียด้วย สำหรับจำนวนกรดอะมิโนมีประมาณ 351-876 ตัว โดยมี Transmembrane (TM) domain จำนวน 4-13 ตำแหน่ง และมีบางตัวที่ไม่พบ Transmembrane (TM) domain (ตารางที่ 11 และรูปที่ 42)

การวิเคราะห์ Cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeMTP* พบว่ายีน *MeMTP* ยังมีตำแหน่งจับของ Transcription factors บนโปรโมเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองความเครียดในพืช ได้แก่ ตำแหน่ง TC-rich repeats ซึ่งพบบนยีน *MeMTP1*, *MeMTP2* และ *MeMTP3* จำนวน 1-2 ตำแหน่ง และพบตำแหน่งจับของ Transcription factors บนโปรโมเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองฮอร์โมนพืช ได้แก่ ตำแหน่ง ABRE ที่เกี่ยวข้องกับกรดแอบไซซิก ซึ่งพบบนยีน *MeMTP1*, *MeMTP2*, *MeMTP3*, *MeMTP5*, *MeMTP6*, *MeMTP9*, *MeMTP10* และ *MeMTP12* จำนวน 1-3 ตำแหน่ง และพบบนยีน *MeMTP11* จำนวน 5 ตำแหน่ง สำหรับตำแหน่ง ERE ที่เกี่ยวข้องกับเอทิลีนนั้น พบบนยีน *MeMTP* ทั้ง 12 ยีน จำนวน 1-9 ตำแหน่ง ยกเว้น *MeMTP4* ที่พบจำนวน 13 ตำแหน่ง ส่วนตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับเมทิลแจสโมเนต ได้แก่ CGTCA-motif และ TGACG-motif ซึ่งพบบนยีน *MeMTP2*, *MeMTP5*, *MeMTP6*, *MeMTP7*, *MeMTP8*, *MeMTP9*, *MeMTP10* และ *MeMTP11* จำนวน 1-3 ตำแหน่ง โดยพบจำนวนตำแหน่งดังกล่าวเท่ากันในแต่ละยีน สำหรับตำแหน่ง TGA-element ที่เกี่ยวข้องกับออกซิน พบบนยีน *MeMTP2*, *MeMTP5*, *MeMTP6*, *MeMTP7* และ *MeMTP10* จำนวน 1-2 ตำแหน่ง ส่วนตำแหน่ง GARE-motif ที่เกี่ยวข้องกับจิบเบอเรลลิน พบบนยีน *MeMTP5*, *MeMTP7* และ *MeMTP10* จำนวนยีนละ 1 ตำแหน่ง (ตารางที่ 12)

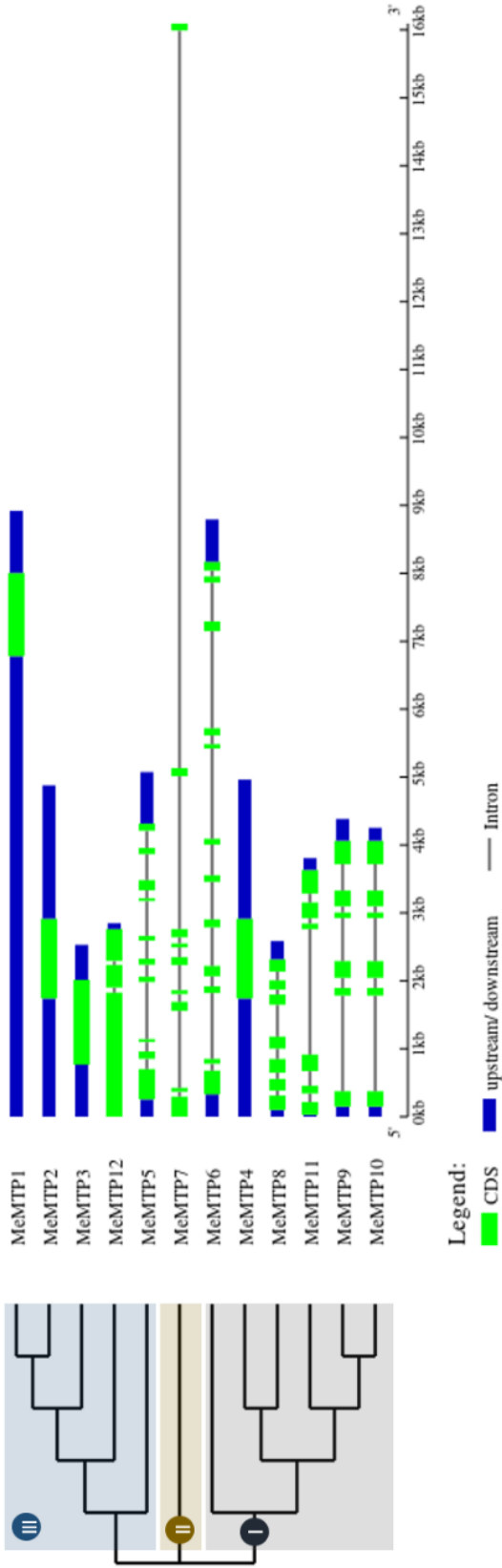
ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีน *MeMTP* พบว่าโปรตีน *MeMTP* สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (I-III) โดยกลุ่ม I (Mn-CDF) ประกอบด้วย *MeMTP4*, *MeMTP6*, *MeMTP8*, *MeMTP9* และ *MeMTP10* กลุ่ม II (Zn/Fe-CDF) ได้แก่ *MeMTP7* และกลุ่ม III (Zn-CDF) ประกอบด้วย *MeMTP1*, *MeMTP2*, *MeMTP3*, *MeMTP5* และ *MeMTP12* จะเห็นได้ว่า *MeMTP* จัดอยู่ในกลุ่ม (clade) เดียวกับ *AtMTP* ยกเว้น *MeMTP4* ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *OsMTP4* แสดงให้เห็นว่า MTP ถูกอนุรักษ์ไว้และเป็นไปได้ว่า MTP มีวิวัฒนาการร่วมในพืชใบเลี้ยงคู่และพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (รูปที่ 43)

สำหรับการวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีนกลุ่ม MeMTP (functional annotation) บนฐานข้อมูล PANTHER, PFAM, KOG, GO และ KEGGORTH พบว่า MeMTP เป็นกลุ่มโปรตีนลำเลียงธาตุสังกะสีบนเยื่อหุ้มเซลล์หรือโปรตีนที่ดูดซึมไอออนที่มีประจุบวก ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม cation diffusion facilitator (CDF) นอกจากนี้ยังพบว่า MeMTP6, MeMTP8, MeMTP9, MeMTP10 และ MeMTP11 เป็นโปรตีนที่มีบทบาทในการลำเลียงธาตุเหล็กอีกด้วย (ตารางที่ 13)

การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของยีน *MeMTP* ทำให้ทราบความสัมพันธ์ของยีนและบ่งชี้ถึงการทำงานของยีนได้ ส่วนใหญ่กลุ่มยีนกลุ่มนี้มีบทบาทในการลำเลียงไอออนของธาตุที่มีประจุเป็นบวกบนเยื่อหุ้มเซลล์ จึงเป็นประโยชน์ในการจำแนกหน้าที่ของยีน *MeMTP* เพื่อใช้ศึกษาการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีต่อไป

ตารางที่ 11 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับยีน *MTP*

Gene name	Locus name	No. of Exons	Protein length	No. of TMHs	Subcellular localization
1. <i>MeMTP1</i>	Manes.05G016000.1	1	407	6	plasma membrane/tonoplast
2. <i>MeMTP2</i>	Manes.01G239300.3	1	390	6	plasma membrane/tonoplast
3. <i>MeMTP3</i>	Manes.02G000600.1	1	415	6	plasma membrane/tonoplast
4. <i>MeMTP4</i>	Manes.15G105000.1	1	404	5	ER membrane/tonoplast
5. <i>MeMTP5</i>	Manes.09G035800.1	10	404	6	plasma membrane/tonoplast
6. <i>MeMTP6</i>	Manes.05G065800.1	12	499	0	plasma membrane/mitochondria/tonoplast
7. <i>MeMTP7</i>	Manes.03G080500.1	9	351	4	plasma membrane
8. <i>MeMTP8</i>	Manes.08G042500.1	7	407	5	ER membrane/tonoplast
9. <i>MeMTP9</i>	Manes.S031300.1	6	413	4	plasma membrane/tonoplast
10. <i>MeMTP10</i>	Manes.16G046900.1	6	402	5	plasma membrane/tonoplast
11. <i>MeMTP11</i>	Manes.10G037600.1	6	394	4	plasma membrane/tonoplast
12. <i>MeMTP12</i>	Manes.S020800.1	3	876	13	plasma membrane/tonoplast



รูปที่ 42 โครงสร้างของยีน MTP ในมันสำปะหลัง

โดยมีองค์ประกอบของ Exon (CDS), UTR (upstream/downstream) และ intron ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (I-IV) ตามการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดย MemTP แทนยีน MTP ในมันสำปะหลัง

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน *MTP* ในมันสำปะหลัง
กำหนดให้

สีเหลือง แทน กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองภายใต้สภาวะความเครียด
สีเขียว แทน กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องการควบคุมการตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช

	Stress responsive (TC-rich repeats)	Phytohormone responsive						
		ABRE	ERE	CGTCA-motif	TGACG-motif	TGA-element	GARE-motif	TCA-element
<i>MeMTP1</i>	1	3	9					
<i>MeMTP2</i>	2	2	2	1	1	2		
<i>MeMTP3</i>	1	2	3					
<i>MeMTP4</i>			13					
<i>MeMTP5</i>		2	3	2	2	1	1	
<i>MeMTP6</i>		1	2	2	2	1		
<i>MeMTP7</i>			1	2	2	1	1	
<i>MeMTP8</i>			7	3	3			
<i>MeMTP9</i>		1	2	2	2		1	
<i>MeMTP10</i>		3	3	2	2	2	1	2
<i>MeMTP11</i>		5	8	1	1			
<i>MeMTP12</i>		1	8					

หมายเหตุ

ABRE: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อกรดแอบไซซิก

ERE: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเอทิลีน

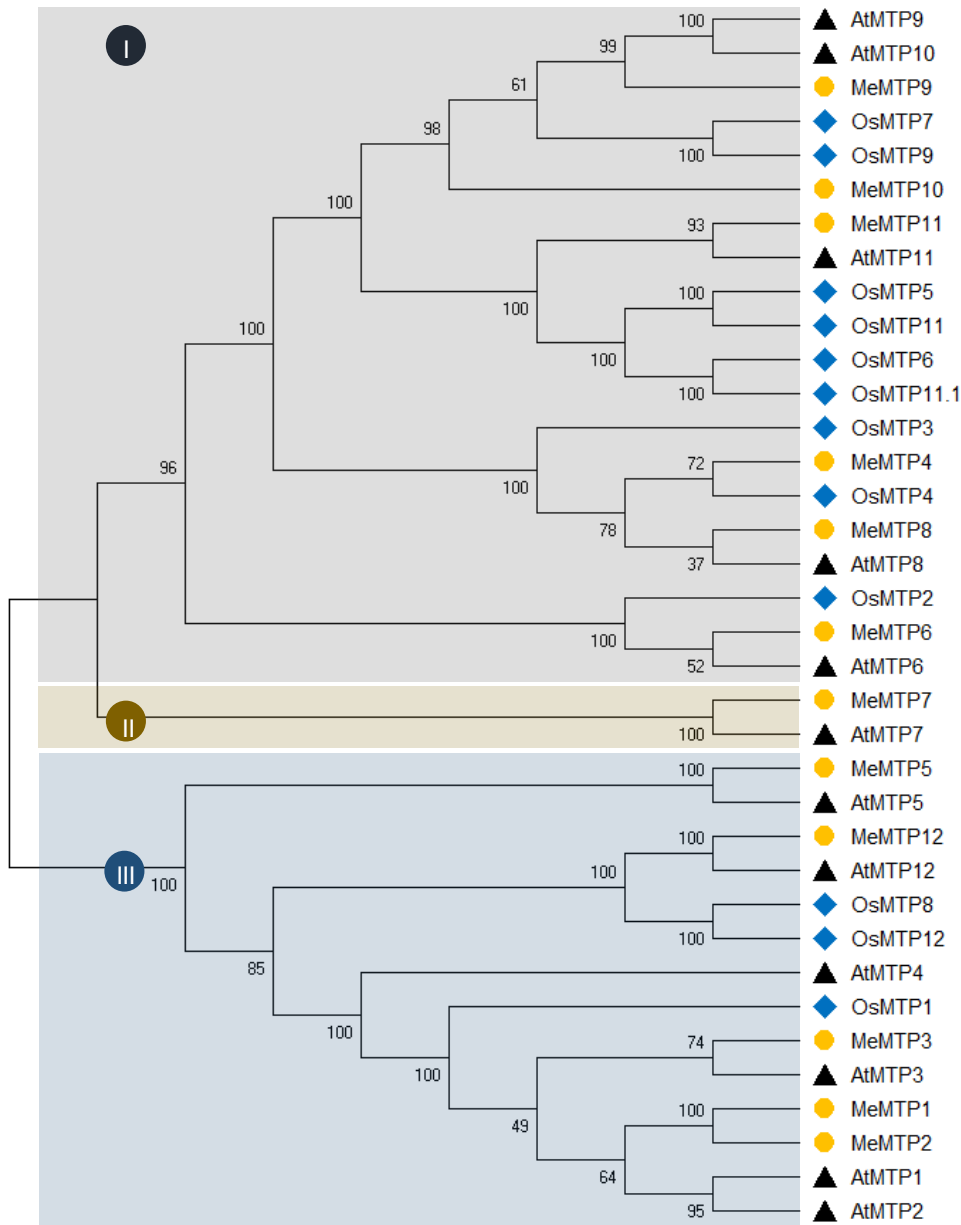
CGTCA-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมทิลแจสโมนेट

TGACG-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมทิลแจสโมนेट

TGA-element: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อออกซิน

GARE-motif: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อจิบเบอเรลลิน

TCA-element: กลุ่ม cis-acting elements ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อกรดซาลิไซลิก



รูปที่ 43 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีน MTP ในมันสำปะหลัง อะราบิโดพซิส และข้าว ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (I-III) ตามการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้โปรแกรม MEGA X ด้วยวิธี neighbor-joining (NJ) 1000 bootstrap replicates (วงกลมสีเหลือง แสดงถึงกลุ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง สามเหลี่ยมสีดำ แสดงถึงกลุ่มโปรตีนในอะราบิโดพซิส และสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัด แสดงถึงกลุ่มโปรตีนในข้าว)

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีน MTP (functional annotation)

ด้วยฐานข้อมูล PANTHER, PFAM, KOG, GO และ KEGGORTH

Database	Database ID	Functional annotation	Gene name												
			MeMTP1	MeMTP2	MeMTP3	MeMTP4	MeMTP5	MeMTP6	MeMTP7	MeMTP8	MeMTP9	MeMTP10	MeMTP11	MeMTP12	
PANTHER	PTHR11562	CATION EFFLUX PROTEIN/ ZINC TRANSPORTER	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PANTHER	PTHR11562	METAL TOLERANCE PROTEIN				✓	✓	✓		✓	✓		✓		
PANTHER	PTHR11562: SF18	MITOCHONDRIAL METAL TRANSPORTER 1-RELATED						✓							
PANTHER	PTHR11562: SF13	ZINC TRANSPORTER 7													✓
PFAM	PF01545	Cation efflux family	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PFAM	PF16916	Dimerization domain of Zinc Transporter				✓		✓				✓	✓		
KOG	KOG1482	Zn ²⁺ transporter	✓	✓	✓										
KOG	KOG1484	Putative Zn ²⁺ transporter MSC2 (cation diffusion facilitator superfamily)		✓		✓									✓
KOG	KOG1485	Mitochondrial Fe ²⁺ transporter MMT1 and related transporters (cation diffusion facilitator superfamily)						✓		✓	✓	✓	✓		
GO	GO:0006812	The directed movement of cations, atoms or small molecules with a net positive charge, into, out of or within a cell, or between cell, by means of some agent such as a transporter or pore.	✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
GO	GO:0016021	The component of a membrane consisting of the gene products and protein complexes having at least some part of their peptide sequence embedded in the hydrophobic region of the membrane.			✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓
KEGGORTH	K14689	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 2		✓	✓										
KEGGORTH	K14692	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 5/7						✓							✓
KEGGORTH	K14696	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 9								✓					

4.4 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

จากผลการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาพบว่า มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีแนวโน้มตอบสนองต่อการขาดธาตุสังกะสีมากกว่าพันธุ์ห้วยบง 80 ผู้วิจัยจึงวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เพื่อให้เข้าใจบทบาทหน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี โดยใช้เทคนิคเรียลไทม์พีซีอาร์ มีผลการวิเคราะห์ดังนี้

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ในมันสำปะหลัง (MeZIPs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

จากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน MeZIPs ทั้งหมด 10 ยีนในใบและรากมันสำปะหลังพบว่า MeZIPs แต่ละยีนมีแนวโน้มแสดงออกค่อนข้างมากในใบมันสำปะหลังที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยเฉพาะยีน MeZIP1, MeZIP2, MeZIP4, MeZIP5, MeZIP6, MeZIP8 และ MeIRT3 (รูปที่ 44a, b, 45a-c, 46a และ 47) ขณะเดียวกัน MeZIP1 และ MeZIP4 มีการแสดงออกมากในรากมันสำปะหลังที่อายุ 7 และ 14 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 48a และ 49a)

สำหรับยีน MeZIP1 มีการแสดงออกมากทั้งในใบและรากมันสำปะหลังที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี โดยในใบที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน มีแนวโน้มแสดงออกมากขึ้นเป็น 1, 2 และ 3 เท่าของการแสดงออกในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีตามลำดับ (รูปที่ 44a) ขณะที่ในรากที่อายุ 7 และ 14 วันนั้น ยีน MeZIP1 มีแนวโน้มแสดงออกมากขึ้นเป็น 3 และ 2 เท่าของการแสดงออกในรากมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีตามลำดับ (รูปที่ 48a)

เมื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีน MeZIP2 มีแนวโน้มแสดงออกในรากของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีลดลง (รูปที่ 48b) โดยเฉพาะที่อายุ 14 วัน ขณะที่ในใบนั้น MeZIP2 เริ่มมีแนวโน้มการแสดงออกมากตั้งแต่อายุ 7 วันเป็นต้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 44b)

ส่วน MeZIP3 แสดงออกมากในใบของมันสำปะหลังที่อายุ 7 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 44c) เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ทั้งนี้ยีน MeZIP3 มีค่าการแสดงออกในรากไม่แตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 48c)

สำหรับ MeZIP4 แสดงออกมากในใบที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เป็น 6, 4 และ 1 เท่าของการแสดงออกในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีตามลำดับ (รูปที่ 11) ขณะที่ในรากแสดงออกมากในช่วงอายุ 7 และ 14 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุ

สังกะสี เป็น 6 และ 3 เท่าของการแสดงออกในรากมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีตามลำดับ (รูปที่ 15)

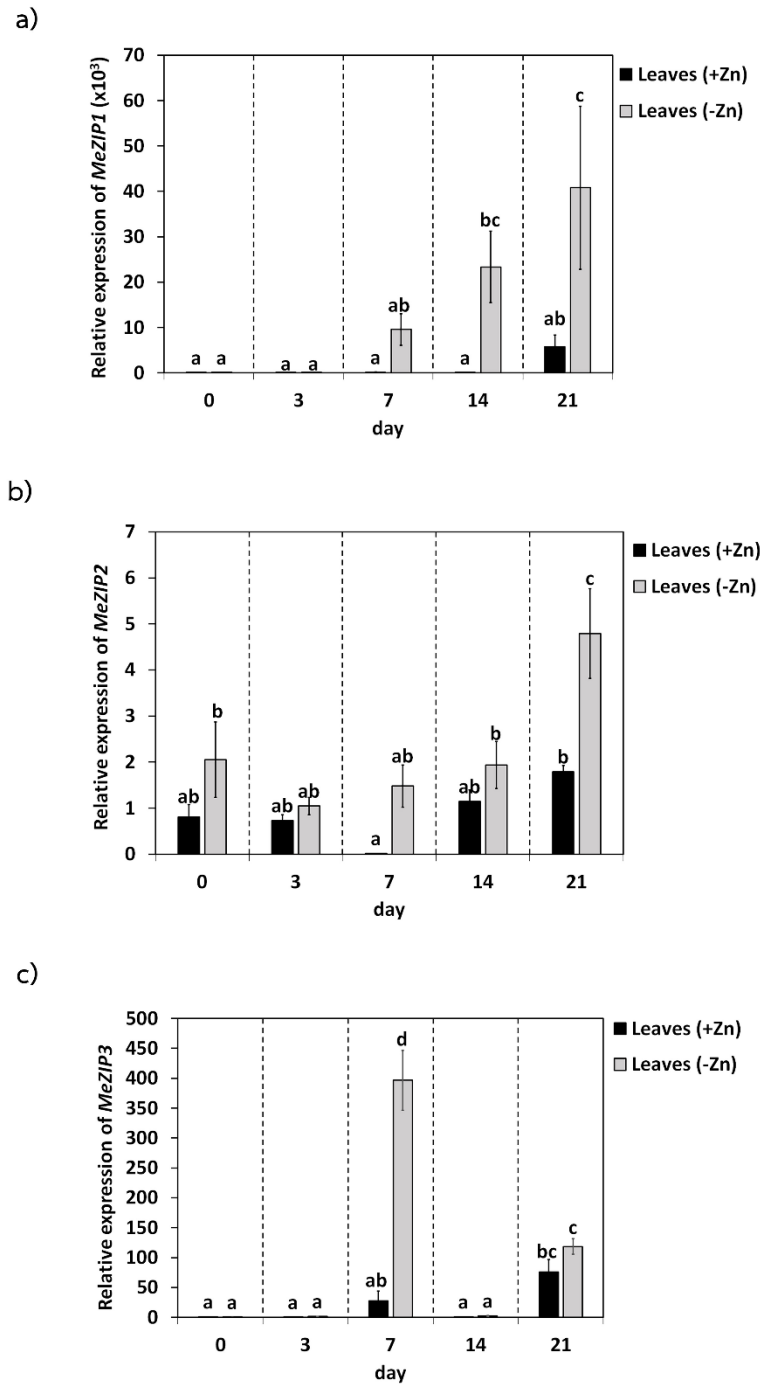
การแสดงออกของยีน *MeZIP5* มีแนวโน้มแสดงออกมากในใบที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เป็น 2, 4 และ 3 เท่าของการแสดงออกในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีตามลำดับ (รูปที่ 45b) ขณะที่ในรากแสดงออกมากที่อายุ 7 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี คิดเป็น 4 เท่าของการแสดงออกในรากมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีตามลำดับ (รูปที่ 49b)

ยีน *MeZIP6* มีแนวโน้มแสดงออกมากขึ้นในใบตามอายุของมันสำปะหลัง แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 45c) ขณะที่การแสดงออกของ *MeZIP6* มีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 3 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 49c)

สำหรับยีน *MeZIP8* มีการแสดงออกมากในใบที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 46a) ทั้งนี้ยีน *MeZIP8* มีค่าการแสดงออกในรากไม่แตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 50a)

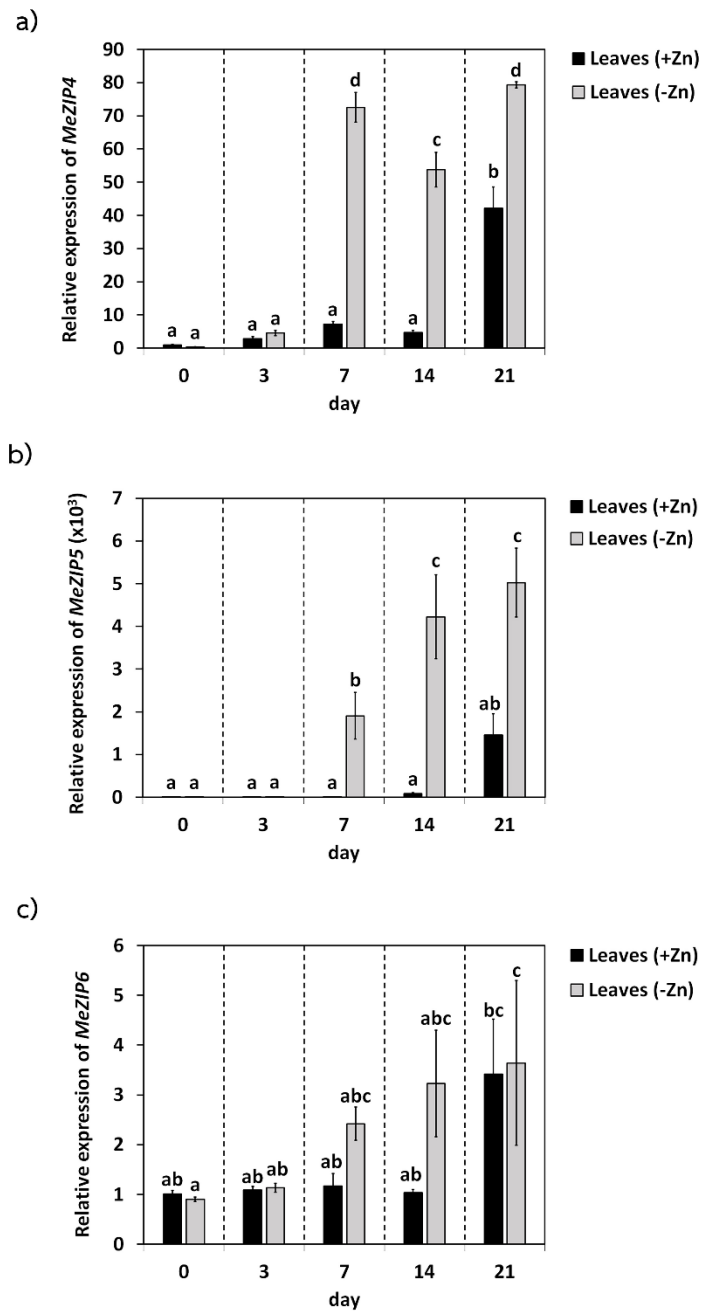
ยีน *MeZIP11* มีการแสดงออกในใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 46b) ส่วน *MeZIP11* มีแนวโน้มแสดงออกลดลงในรากที่อายุ 3 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 50b)

สำหรับการแสดงออกของยีน *MeIRT* พบว่ายีน *MeIRT1* มีการแสดงออกมากในใบที่อายุ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 46c) ส่วนในรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 50c) นอกจากนี้ยังพบว่ายีน *MeIRT3* มีการแสดงออกมากในใบที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี คิดเป็น 5, 6 และ 1 เท่าของการแสดงออกในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสีตามลำดับ (รูปที่ 47) ขณะที่ในรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 51)



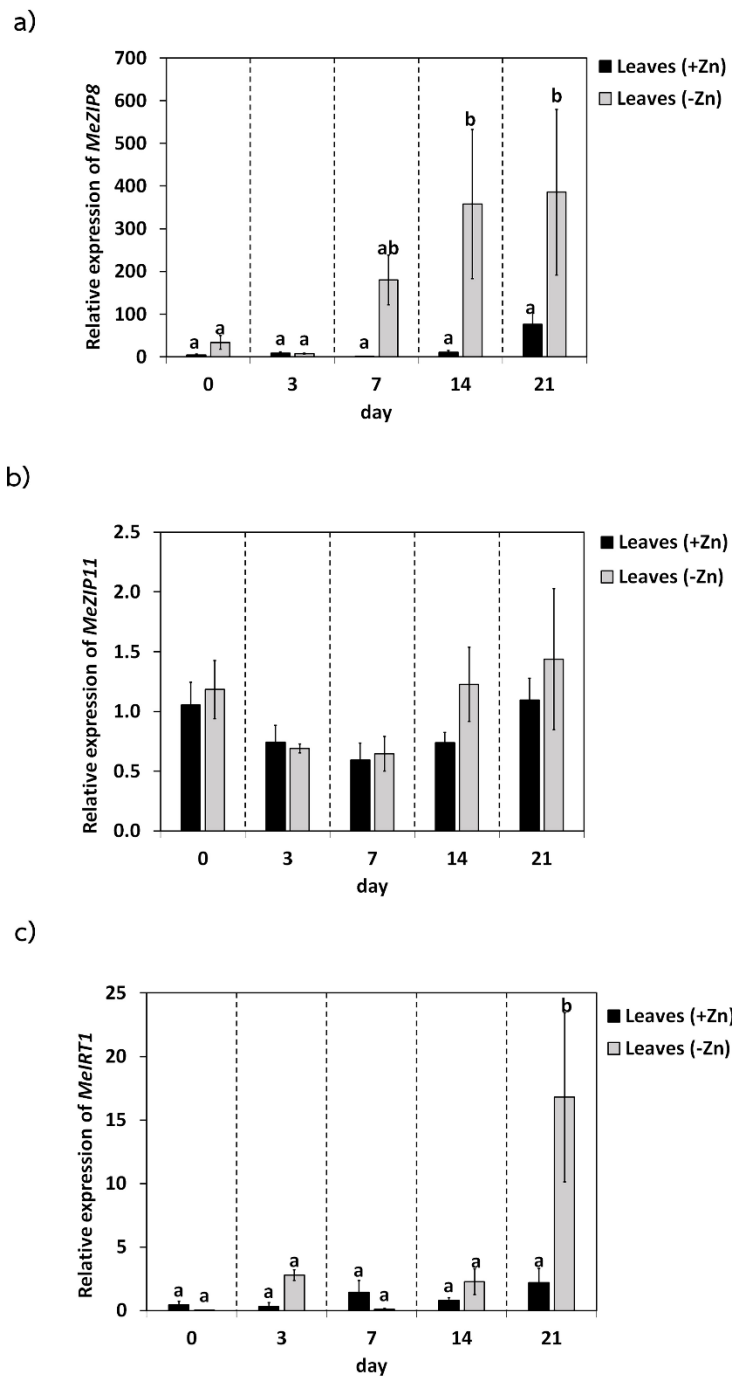
รูปที่ 44 การแสดงออกของยีน *MeZIP1-3* ในใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



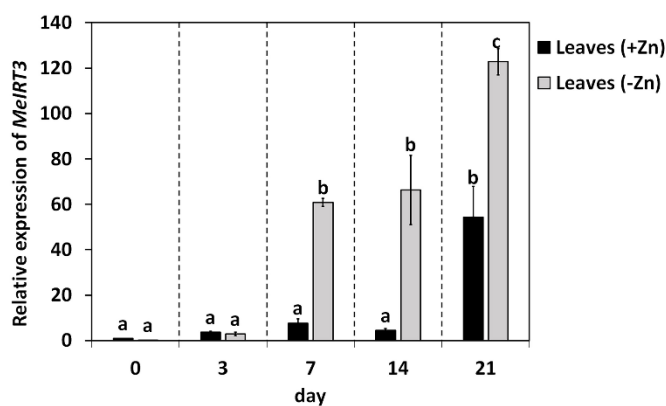
รูปที่ 45 การแสดงออกของยีน *MeZIP4-6* ในใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



รูปที่ 46 การแสดงออกของยีน *MeZIP8*, *11* และ *MeIRT1* ในใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

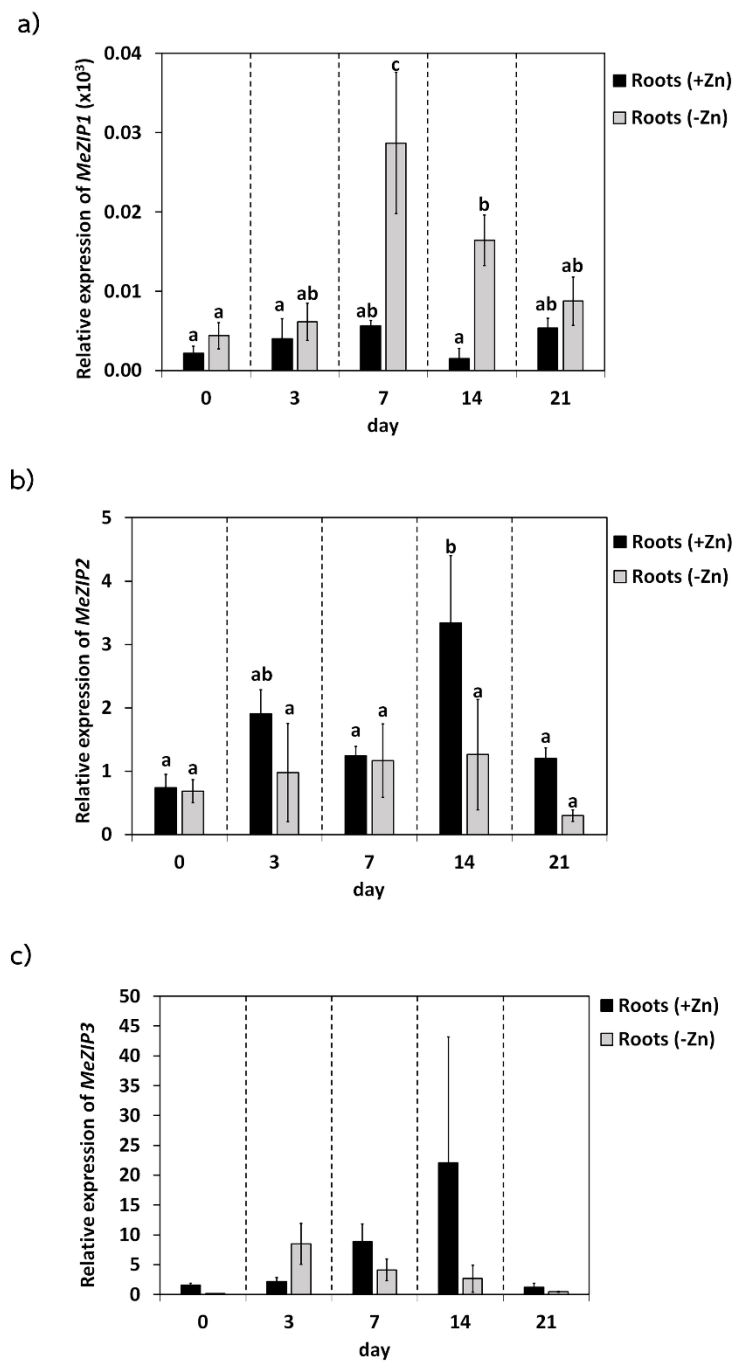
ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



รูปที่ 47 การแสดงออกของยีน *MeIRT3* ในใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

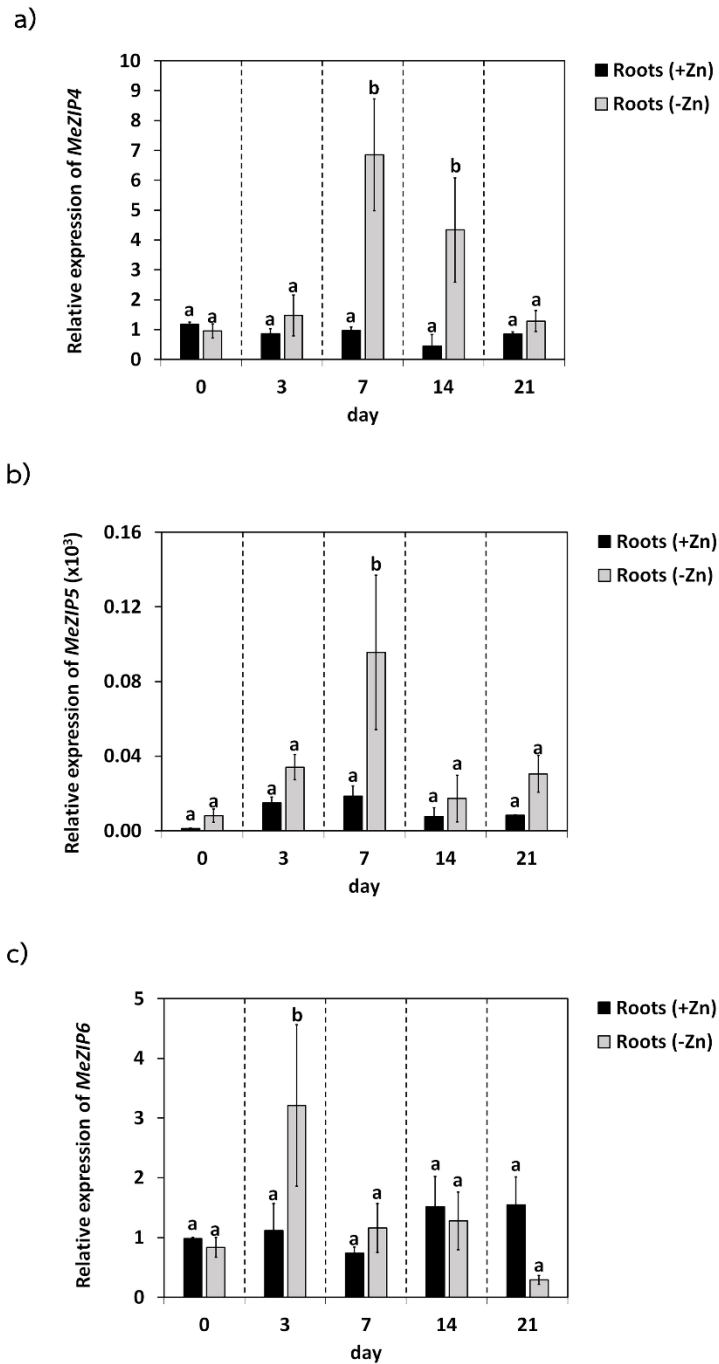
ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล $\text{mean} \pm \text{SE}$ จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta\text{Ct})}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม





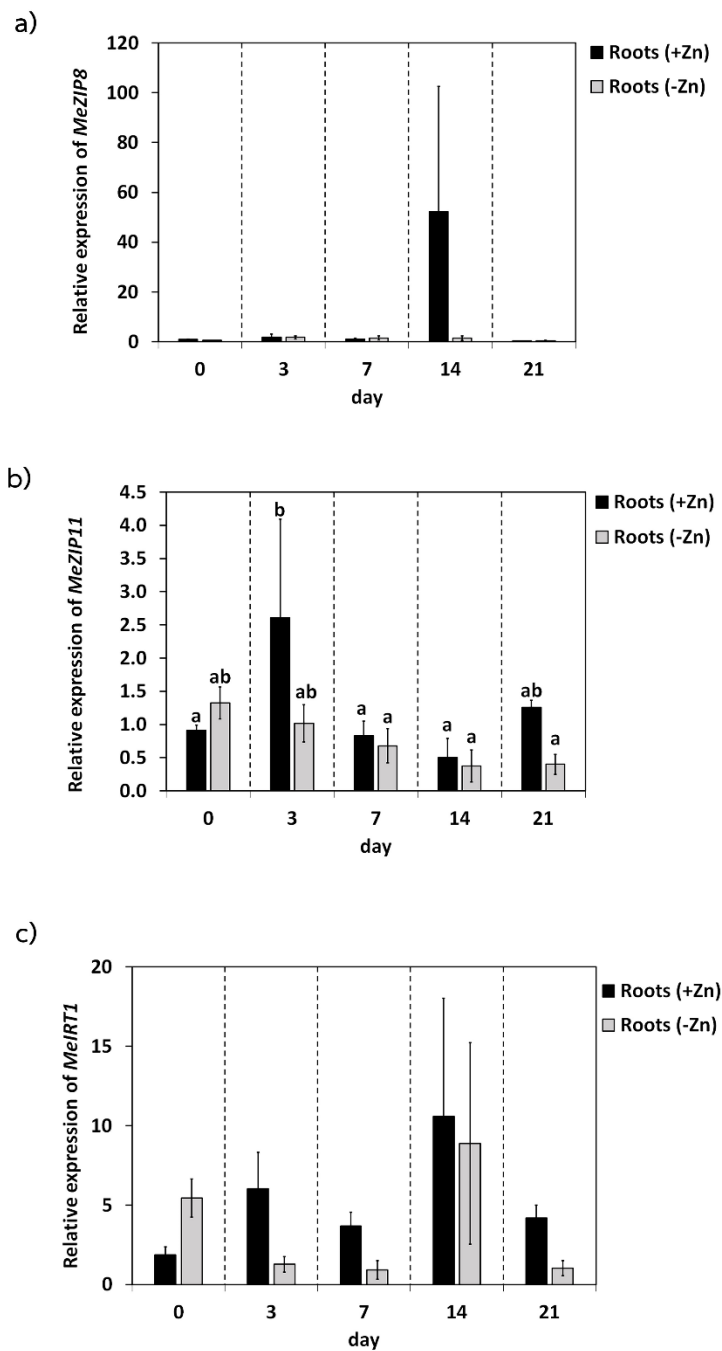
รูปที่ 48 การแสดงออกของยีน *MeZIP1-3* ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างรากที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



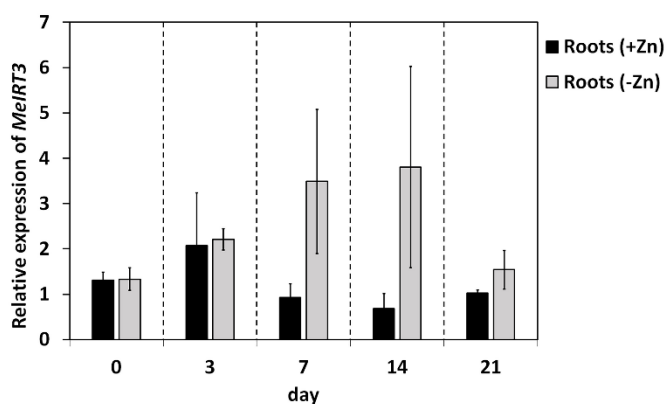
รูปที่ 49 การแสดงออกของยีน *MeZIP4-6* ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างรากที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



รูปที่ 50 การแสดงออกของยีน *MeZIP8*, *11* และ *MeIRT1* ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างรากที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



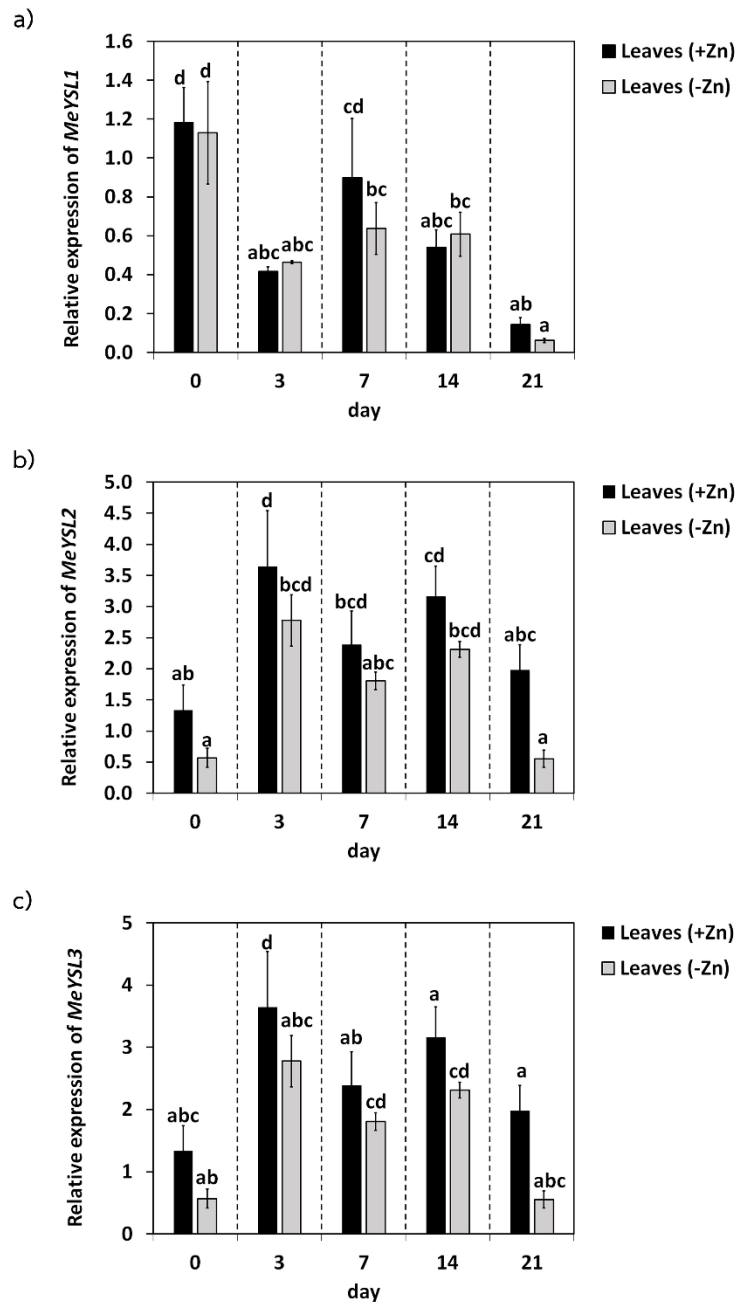
รูปที่ 51 การแสดงออกของยีน *MeIRT3* ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างรากที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น *chelates* ในมันสำปะหลัง (*MeYSLs*) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

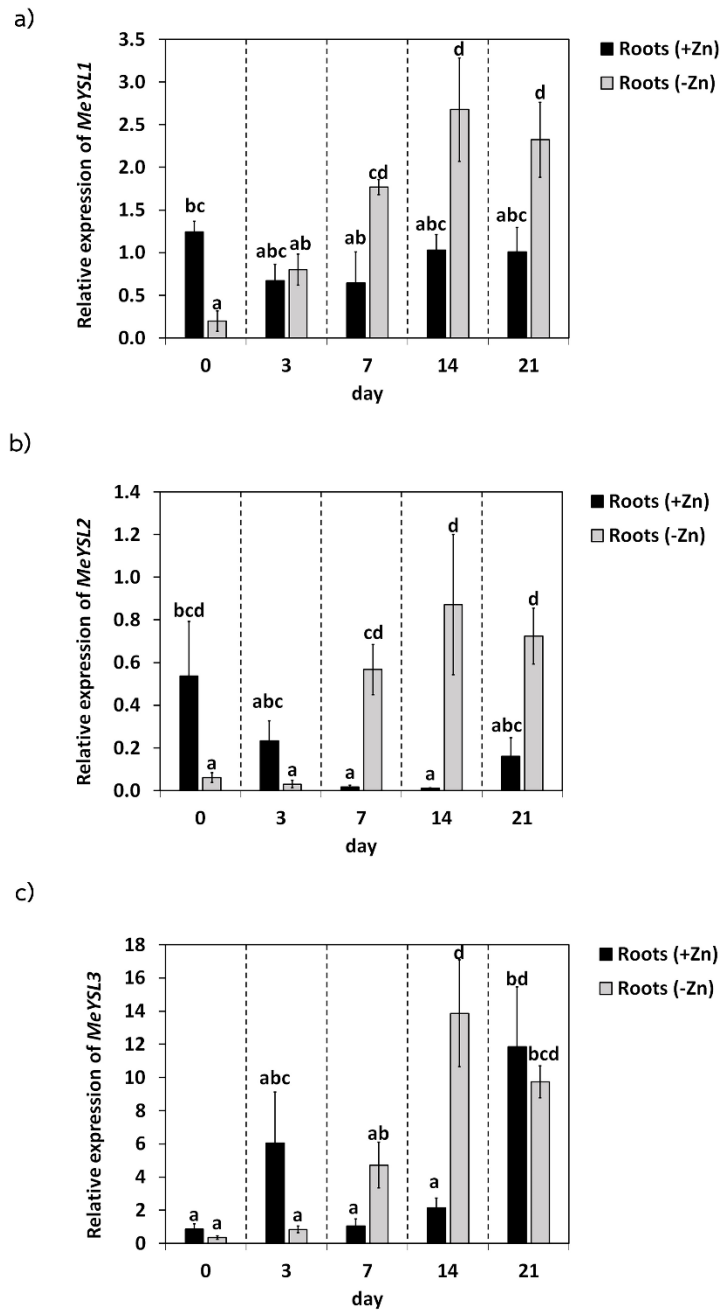
จากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *MeYSLs* ทั้งหมด 3 ยีนในใบและรากมันสำปะหลัง พบว่าการแสดงออกของยีน *MeYSL1*, 2 และ *MeYSL3* ในใบของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะที่อายุ 7 วัน ยีน *MeYSL1* มีการแสดงออกค่อนข้างลดลง และที่อายุ 21 วัน ยีน *MeYSL2* และ *MeYSL3* มีการแสดงออกลดลงค่อนข้างชัดเจน (รูปที่ 52)

นอกจากนี้ยีน *MeYSL1* และ *MeYSL2* ยังมีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี คิดเป็น 1-2 เท่าของการแสดงออกในรากภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 53a, b) ขณะที่ในรากที่อายุ 7 และ 14 วัน *MeYSL3* มีการแสดงออกมากภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี คิดเป็น 4 และ 6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 53c)



รูปที่ 52 การแสดงออกของยีน *MeYSL1-3* ในใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



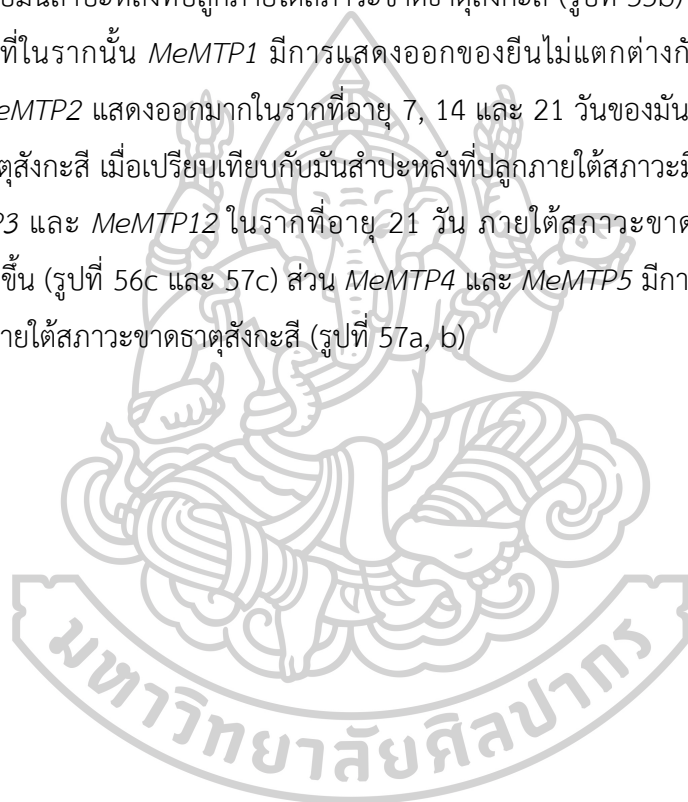
รูปที่ 53 การแสดงออกของยีน *MeYSL1-3* ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

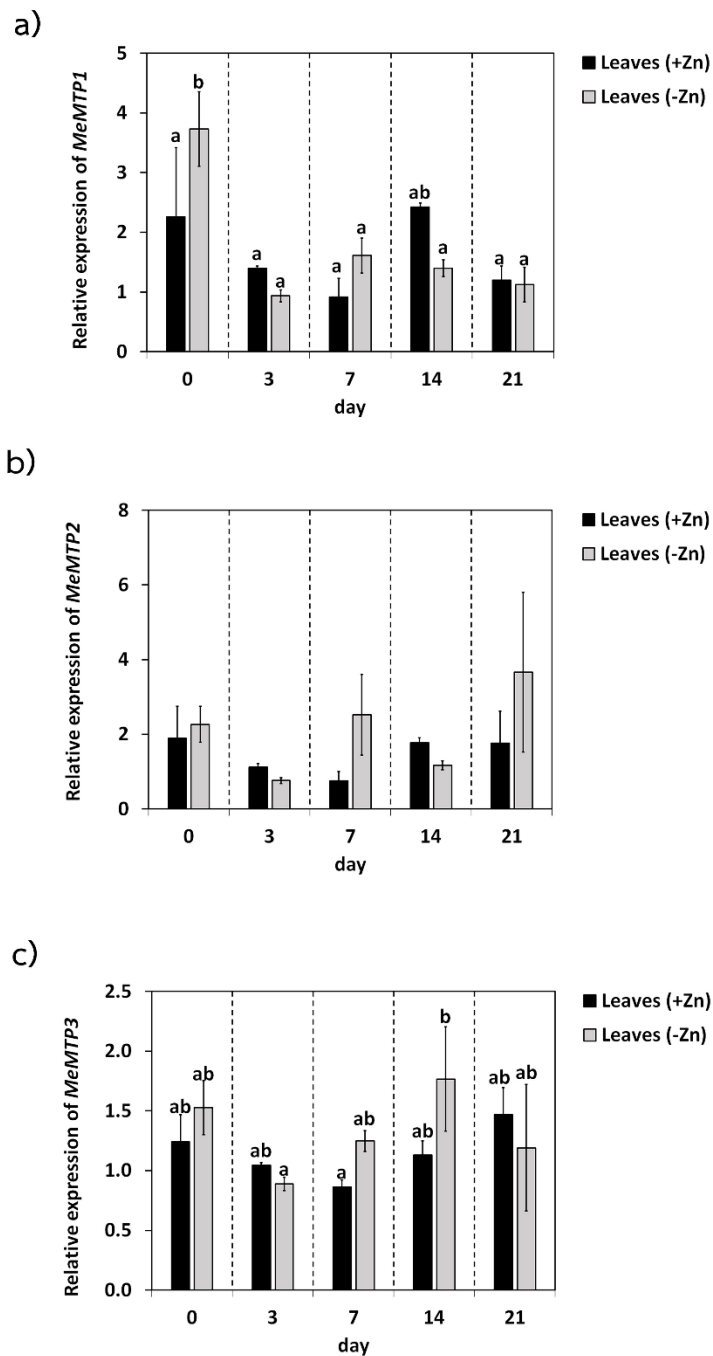
ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างราก ที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม

**การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน
ในมันสำปะหลัง (MeMTPs) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี**

พบว่ายีนส่วนใหญ่มีการแสดงออกไม่แตกต่างกันในใบ เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี โดยเฉพาะยีน *MeMTP2* และ *MeMTP12* ที่มีการแสดงออกของยีนในใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 54b และ 55c) ยกเว้น *MeMTP3* และ *MeMTP4* ที่มีแนวโน้มแสดงออกมากในใบของมันสำปะหลังที่อายุ 7 และ 14 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 54c และ 55a) ขณะที่ *MeMTP5* มีแนวโน้มแสดงออกลดลงเล็กน้อยในช่วงอายุ 3 วันเป็นต้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 55b)

ขณะที่ในรากนั้น *MeMTP1* มีการแสดงออกของยีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 56a) สำหรับยีน *MeMTP2* แสดงออกมากในรากที่อายุ 7, 14 และ 21 วันของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 56b) ส่วน *MeMTP3* และ *MeMTP12* ในรากที่อายุ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มแสดงออกเพิ่มขึ้น (รูปที่ 56c และ 57c) ส่วน *MeMTP4* และ *MeMTP5* มีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 14 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 57a, b)

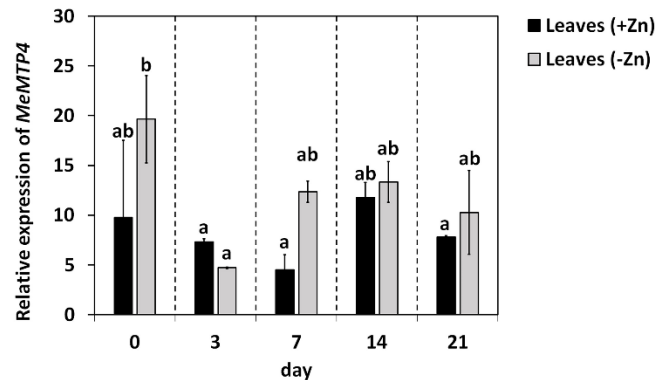




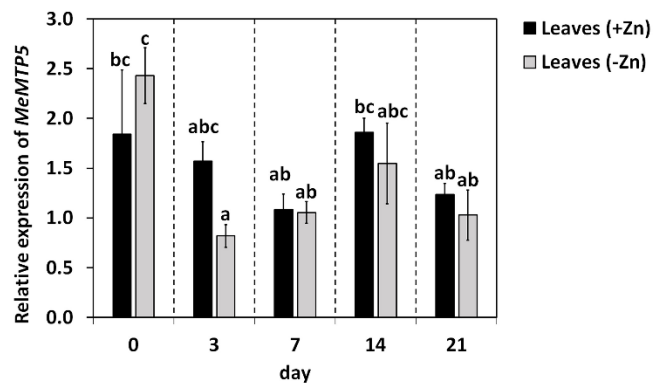
รูปที่ 54 การแสดงออกของยีน *MeMTP1-3* ในใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม

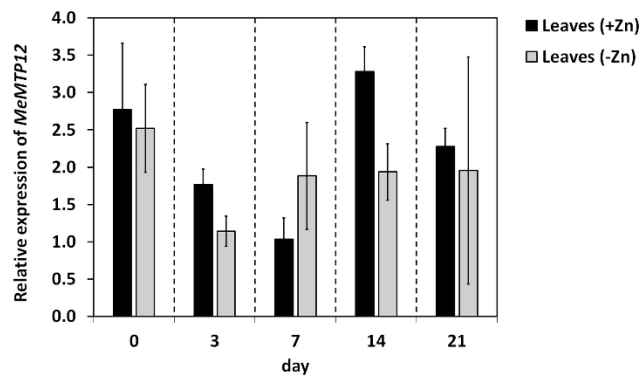
a)



b)

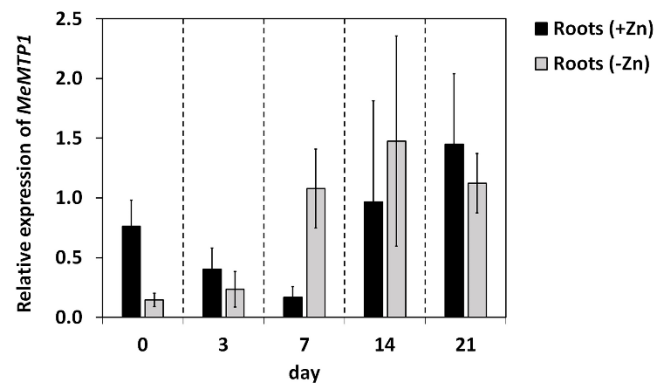


c)

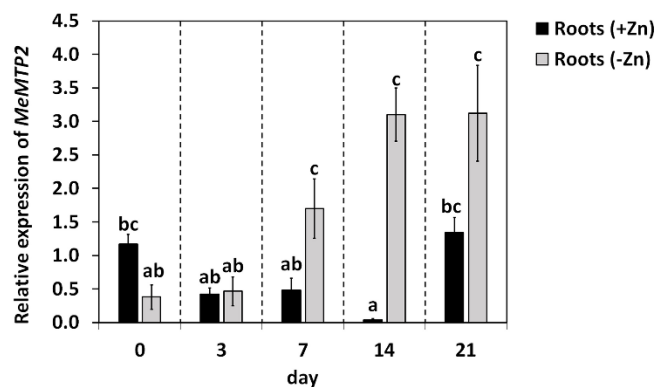


รูปที่ 55 การแสดงออกของยีน *MeMTP4-5* และ *MeMTP12* ในใบมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างใบที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม

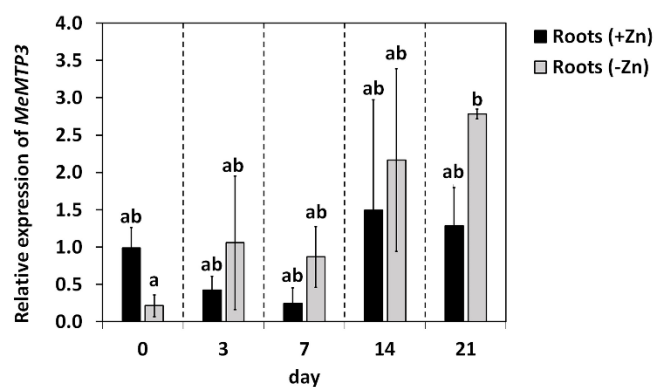
a)



b)

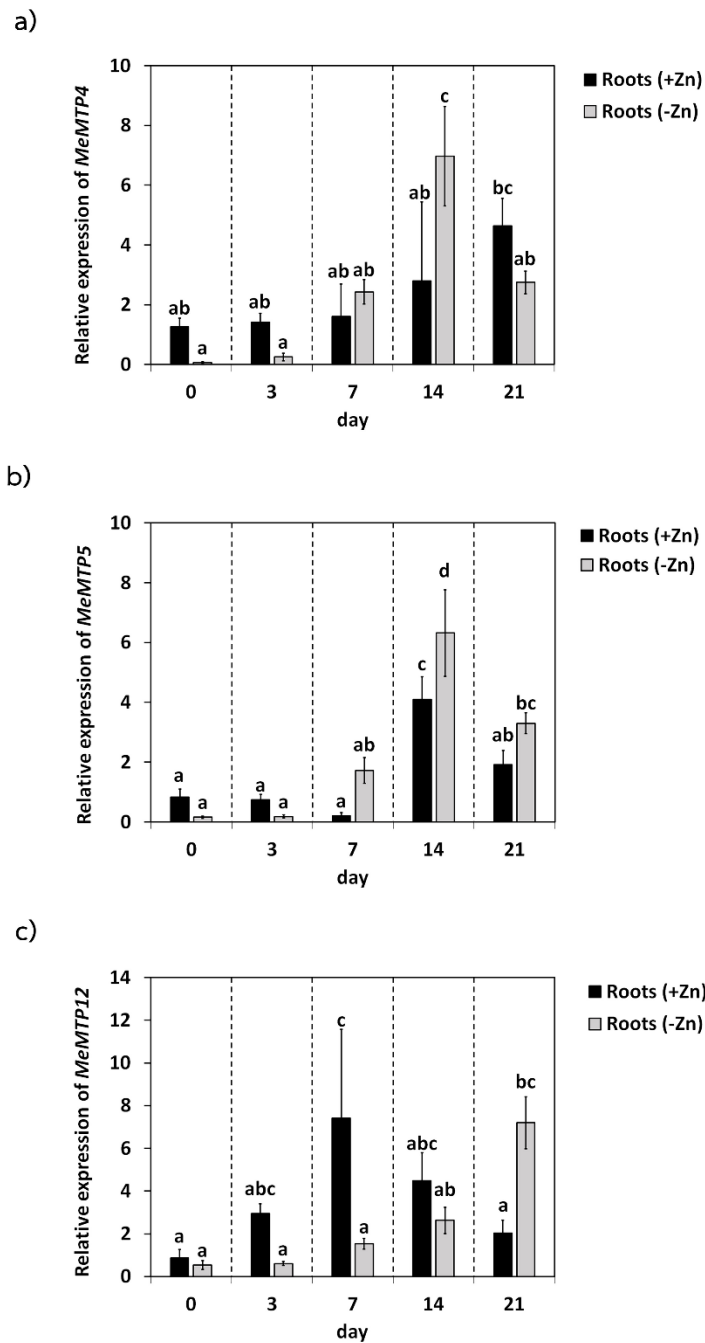


c)



รูปที่ 56 การแสดงออกของยีน *MeMTP1-3* ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50

ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างรากที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม



รูปที่ 57 การแสดงออกของยีน *MeMTP4-5* และ *MeMTP12* ในรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสี (+Zn) และขาดธาตุสังกะสี (-Zn) ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างสภาวะในช่วงอายุเดียวกันด้วย One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan test จากข้อมูล mean \pm SE จำนวน 3 ซ้ำ แสดงค่าเป็น relative expression ด้วยสูตร $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ ซึ่งมี *18S rRNA* และ *EF1- α* เป็นยีนอ้างอิง และตัวอย่างรากที่อายุ 0 วัน ภายใต้สภาวะได้รับธาตุสังกะสีเป็นตัวอย่างควบคุม

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

5.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของพืชภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีผลมาจากกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นภายในพืช ไม่ว่าจะเป็นความสัมพันธ์ของน้ำและพืช การลำเลียงธาตุอาหารขึ้นสู่ยอด รวมถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช เนื่องจากธาตุสังกะสีเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช แม้พืชจะต้องการธาตุในปริมาณน้อย แต่ถ้าหากขาดบางธาตุ เช่น ธาตุสังกะสี ก็อาจส่งผลกระทบต่อผลผลิตในอนาคตได้ จะเห็นได้ว่าธาตุสังกะสีมีบทบาทที่สำคัญต่อสรีรวิทยาของพืช เมื่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชเปลี่ยนไป อาจทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง ในงานวิจัยนี้ใช้มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุประมาณ 7-8 วัน หลังจากย้ายปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เริ่มมีอาการขีดระหว่างเส้นกลางใบของใบอ่อน เมื่อเข้าสู่อายุประมาณ 21 วัน มีน้ำหนักและความสูงของส่วนเหนือดินลดลงอย่างชัดเจน

มีการรายงานก่อนหน้านี้ว่าส่วนใหญ่ต้นมันสำปะหลังที่ปลูกบริเวณที่มีดินสภาพเป็นด่าง รวมถึงดินที่มีแคลเซียมหรือแมกนีเซียมคาร์บอเนตสูง ใบมันสำปะหลังจะแสดงอาการขาดธาตุสังกะสี เนื่องจากความสามารถในการดูดซึมธาตุสังกะสีบริเวณรากลดลง (Howeler, 1995; Watananonta et al., 2004) ทั้งนี้มีการศึกษาอิทธิพลของธาตุที่มีปริมาณแตกต่างกัน (micronutrient mixture) ซึ่งมีผลต่อน้ำหนักและปริมาณแป้งในมันสำปะหลังที่ปลูกในดินที่มีแคลเซียม พบว่าน้ำหนักและปริมาณแป้งในมันสำปะหลังมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เมื่อมีการใส่ปุ๋ยที่มีธาตุจาก 0-30 kg/ha ตามลำดับ (Suganya et al., 2020) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอาการขาดธาตุสังกะสีในต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 พันธุ์ระยอง 9 และพันธุ์ CM38-125-77 หลังจากปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุอาหารในดินที่ระยะย้ายปลูก 30 วัน และ 60 วัน พบว่ามันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ตอบสนองต่อการขาดธาตุสังกะสีมากที่สุด ซึ่งมีอาการขาดธาตุสังกะสีอย่างชัดเจน โดยมีอาการใบขีดเหลืองเป็นจุดสีขาวระหว่างเส้นใบ ขนาดแฉกของใบเริ่มเล็กลง และมีใบม่วงอ และพบว่ามันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีแนวโน้มตอบสนองต่อการให้สารละลายธาตุสังกะสีทางใบมากที่สุด (Janket et al., 2018) แสดงให้เห็นว่าธาตุสังกะสีมีความจำเป็นต่อการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลัง โดยเฉพาะมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่มีแนวโน้มตอบสนองต่อการขาดธาตุสังกะสีมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ

เนื่องจากธาตุสังกะสีมีบทบาทเป็น co-enzyme ในเอนไซม์หลายชนิด อาทิ RNA polymerase, alcohol dehydrogenase, carbonic anhydrase, Cu/Zn-superoxide

dismutase, ligases, isomerases, oxidoreductases, hydrolases, transferases, และ lyases เป็นต้น (Lee and Lim, 2008; Andreini et al., 2009; McCall et al., 2000; Alscher et al., 2002) ดังนั้นอาการขาดธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังจึงส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมต่าง ๆ ภายในเซลล์ โดยมีการรายงานพบว่าพืชที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลทำให้ carbonic anhydrase activity ลดลงอย่างชัดเจน (Escudero-Almanza et al., 2012) เพราะธาตุสังกะสีเป็น cofactor หลายชนิด ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในใบพืช (Xing et al., 2016) สอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้นที่พบว่าอาการขาดธาตุสังกะสีมีผลทำให้ต้นมันสำปะหลังมีการเจริญเติบโตลดลง

จากการรายงานเกี่ยวกับการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน พบว่าธาตุสังกะสีเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ทริปโตเฟน (tryptophan) ที่ใช้สำหรับสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซินในพืช (Begum et al., 2016; Zhao, 2012) จึงเป็นไปได้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีในต้นมันสำปะหลัง จะส่งผลการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน ทำให้เกิดผลกระทบต่อกระบวนการเจริญและพัฒนาเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง อีกทั้งยังพบว่าการส่งสัญญาณออกซิน (auxin signaling) ภายในต้นมันสำปะหลัง มีผลการเปลี่ยนแปลงไปเป็นรากสะสมอาหารด้วย (Rüscher et al., 2021) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าความสูงและน้ำหนักแห้งส่วนยอดของต้นมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าธาตุสังกะสีมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน ซึ่งมีผลการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์

การศึกษาปัจจัยทางด้านสรีรวิทยาของพืชมีความจำเป็นในการนำไปใช้วิเคราะห์ผลกระทบที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสง เมื่อพิจารณาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์และคลอโรฟิลล์รวมที่พบในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่อายุ 14 วันเริ่มลดลงอย่างชัดเจน ขณะที่ใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 มีปริมาณคลอโรฟิลล์และคลอโรฟิลล์รวมลดลงที่อายุ 21 วัน ซึ่งมีการรายงานว่ามันสำปะหลังที่มีอาการขาดธาตุสังกะสี จะมีลักษณะซีดระหว่างเส้นกลางใบของใบ (Howeler, 2002) ทำให้มีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิลดลงถึงร้อยละ 50-70 อาจเป็นเพราะการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์และโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ที่เปลี่ยนแปลงไป (Alloway, 2008) ในทางกลับกันพบว่าการเพิ่มปุ๋ยที่มีธาตุสังกะสีเป็นองค์ประกอบทางใบให้กับพืช จะช่วยให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังที่เคยมีรายงานในข้าว (Mathpal et al., 2015) อีกทั้งยังพบว่าการเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีมีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญพัฒนาส่วนเหนือดินของมันสำปะหลังในระยะแรกเริ่มของการเจริญพัฒนามากกว่าส่วนรากของมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (Khongchui

et al., 2014) แสดงให้เห็นว่ามันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีอาจส่งผลต่อการยับยั้งการสร้างคลอโรฟิลล์ในแผ่นใบ จึงทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงอย่างชัดเจน

จากผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในระบบแสงสอง อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง การชักนำการเปิดปากใบ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดร็อกไซด์ที่ปากใบของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีทั้งสองพันธุ์ มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน โดยเฉพาะที่อายุ 14 และ 21 วัน ซึ่งมีการรายงานว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในระบบแสงสอง (maximum quantum efficiency of photosystem 2; PS2) โดยมีอิทธิพลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และการปลดปล่อยพลังงานฟลูออเรสเซนส์ในระบบแสงสอง รวมถึงการชักนำการเปิดปากใบด้วย (stomatal conductance) (Jin and Wang, 2015) ก่อนหน้านี้มีการศึกษาอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในใบส้มที่แสดงอาการขาดธาตุสังกะสีในระดับที่แตกต่างกัน พบว่าใบส้มที่มีอาการขาดธาตุสังกะสีในระดับที่รุนแรง มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวม และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงอย่างชัดเจน (Fei et al., 2016) และยังมีรายงานว่าต้นทานตะวันที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และธาตุสังกะสี จะมีการปลดปล่อยอิเล็กตรอน (relative electron flux) ในระบบแสงสองลดลง (Ohnishi et al., 2021) ดังนั้นอาจทำให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงมีประสิทธิภาพลดลงด้วย

สำหรับอัตราการคายน้ำ (transpiration rate) ของใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มลดลงที่อายุ 14 วัน ขณะที่อัตราการคายน้ำของใบมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 เริ่มมีอัตราการคายน้ำที่ลดลงอย่างชัดเจนที่อายุ 21 วัน จากการศึกษาสภาวะขาดธาตุสังกะสีในกะหล่ำปลีแดงพบว่า กะหล่ำปลีแดงที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีอัตราการคายน้ำลดลงร้อยละ 30 เมื่อเปรียบเทียบกับกะหล่ำปลีแดงที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (Hajiboland & Amirzad, 2010) ในทางกลับกันมีการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในปุ๋ย จะมีแนวโน้มทำให้อัตราการคายน้ำของใบ ช่อดอก และเมล็ดข้าวโพดเพิ่มขึ้น (Liu et al., 2016) และเมื่อพ่นสารละลายที่มีธาตุสังกะสีที่แตกต่างกันบนใบส้มที่แสดงอาการขาดธาตุสังกะสี พบว่าใบส้มมีอัตราการคายน้ำเพิ่มมากขึ้น (Fu et al., 2016) แสดงให้เห็นว่าการขาดธาตุสังกะสีอาจมีผลต่ออัตราการคายน้ำของมันสำปะหลัง โดยเฉพาะมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50

เมื่อวัดการชักนำการเปิดปากใบ (stomatal conductance) บริเวณแผ่นใบของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าต้นมันสำปะหลังที่อายุ 14 และ 21 วัน มีประสิทธิภาพการชักนำการเปิดปากใบลดลงอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับความเข้มข้นของคาร์บอนไดร็อกไซด์ที่ปากใบ (substomatal CO₂ concentration) โดยเฉพาะพันธุ์ห้วยบง 80 ที่พบว่าความต้านทานการเปิดปากใบ (substomatal resistance) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอีกด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับ

มันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี จึงเป็นไปได้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีอาจส่งผลให้เกิดความเครียดในต้นมันสำปะหลัง จึงทำให้ต้นมันสำปะหลังลดการเปิดปากใบ เพื่อรักษาสมดุลน้ำภายในเซลล์ โดยก่อนหน้านี้นี้มีการศึกษาผลของการใส่ปุ๋ยที่มีธาตุสังกะสีและความเครียดจากสภาวะขาดน้ำของต้นถั่วเขียว พบว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีในต้นถั่วเขียวทำให้มีประสิทธิภาพในการใช้น้ำ (water use efficiency) ลดลง และตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำด้วยกระบวนการ osmotic adjustment มากขึ้น เนื่องจากต้นถั่วเขียวมีการเจริญเติบโตและการชักนำการเปิดปากใบลดลง (Khan et al., 2004) ในทางตรงกันข้ามมีการศึกษาผลกระทบความเป็นพิษของธาตุสังกะสีต่อต้นปิตชูการ์ภายใต้ระบบไฮโดรโปนิคส์ พบว่าต้นปิตชูการ์มีความสามารถในการชักนำการเปิดปากใบลดลงร้อยละ 76 (Sagardoy et al., 2010) จึงเป็นไปได้ว่าพืชที่ปลูกภายใต้สภาวะความเครียดจากธาตุสังกะสี ไม่ว่าจะ เป็นสภาวะขาดธาตุสังกะสีหรือความเป็นพิษของธาตุสังกะสีอาจมีผลต่อการเปิดปากใบเพื่อรักษาสมดุลน้ำในเซลล์ แสดงให้เห็นว่าต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี อาจมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากเกิดความเครียดจากการขาดธาตุสังกะสีและมีผลกระทบต่อกระบวนการชักนำการเปิดปากใบ

ดังนั้นการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อสรีรวิทยาของต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี จึงมีความจำเป็นเพื่อใช้ในการยืนยันการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี จากข้อมูลข้างต้นจึงทำให้ทราบว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลกระทบต่อกระบวนการเจริญและพัฒนาของมันสำปะหลัง และอาจกล่าวได้ว่ามันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ทนต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสีมากกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50

5.2 การสะสมธาตุอาหารในรากและใบมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

เนื่องจากพืชต้องการจุลธาตุเพียงเล็กน้อยเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ดังนั้นถ้าขาดจุลธาตุใด จุลธาตุหนึ่งไป จึงมีผลกระทบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมต่าง ๆ ยิ่งไปกว่านั้นอาจส่งผลกระทบต่อธาตุอาหารบางชนิดได้ จุลธาตุจึงมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นอย่างยิ่ง ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยพบว่า การสะสมธาตุสังกะสีในรากและใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น รากมันสำปะหลังในแต่ละช่วงอายุมีการสะสมธาตุสังกะสีค่อนข้างคงที่ทั้งสองพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่ามีการรักษาสมดุลของการดูดซึมธาตุสังกะสีบริเวณรากของมันสำปะหลังได้ดี ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าธาตุสังกะสีเป็นธาตุที่เคลื่อนที่ได้น้อย จึงเกิดการย้ายของธาตุสังกะสีจากรากสู่ยอดของต้นมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีน้อยมาก

ขณะที่การสะสมธาตุสังกะสีในใบของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มลดลงน้อยกว่าพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูก

ภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี โดยมีปริมาณธาตุสังกะสีในใบที่อายุ 7 วันเป็นต้นไปน้อยกว่า 25 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบว่ามันสำปะหลังที่มีอาการขาดธาตุสังกะสีอย่างรุนแรงจะมีปริมาณธาตุสังกะสีในใบตำแหน่งที่สามถึงสี่นับจากปลายยอดน้อยกว่า 25 ไมโครกรัมต่อกรัม (Howeler, 2014) ดังนั้นในช่วงอายุ 1-7 วันหลังจากย้ายปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ต้นมันสำปะหลังยังไม่แสดงอาการขาดธาตุสังกะสี อาจเป็นเพราะธาตุสังกะสีภายในลำต้นยังมีเพียงพอต่อการนำไปใช้ในการเจริญและพัฒนาของต้นมันสำปะหลัง ทั้งนี้สภาวะขาดธาตุสังกะสีอาจมีผลต่อการสะสมธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มากกว่าพันธุ์ห้วยบง 80 โดยมีการรายงานว่ามันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ซึ่งมีพ่อแม่พันธุ์เหมือนกับพันธุ์ห้วยบง 80 มีปริมาณธาตุอาหารในใบและให้ผลผลิตสูงกว่ามันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 (วิจิตรา มหาอุตม์, 2547) จึงเป็นไปได้ว่ามันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 นั้น จะมีความสามารถในการตอบสนองต่อการให้ปุ๋ยได้ดี ดังนั้นอาจสรุปได้ว่ามันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ทนต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสีมากกว่ามันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50

การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในรากมันสำปะหลัง พบว่ารากมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ มีแนวโน้มสะสมธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุมากขึ้น อย่างไรก็ตามการสะสมธาตุฟอสฟอรัสในรากของต้นมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่ามีการสะสมธาตุฟอสฟอรัสในรากอย่างต่อเนื่องเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุมากขึ้น สำหรับการสะสมธาตุฟอสฟอรัสในใบมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงอายุ 14 และ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อการสะสมธาตุฟอสฟอรัสในใบมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ ซึ่งมีการศึกษาการดูดซึมฟอสเฟตของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโปนิคส์ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีจะกระตุ้นให้มีการลำเลียงฟอสเฟตผ่านโปรตีนลำเลียง PHT1 บริเวณชั้นอพิเตอร์มิสเข้าสู่ไซเล็มของรากผักกาดหอม (Bouain et al., 2014) และยังพบการดูดซึมฟอสเฟตเพิ่มขึ้นโดยผ่านโปรตีนลำเลียงภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีในฝ้ายและข้าวบาร์เลย์อีกด้วย (Cakmak & Marschner, 1986; Huang et al., 2000) ทั้งนี้อาจส่งผลทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ เนื่องจากมีการลำเลียงธาตุฟอสฟอรัสจำนวนมากขึ้นสู่ยอดของพืชที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (Mousavi, 2011)

อย่างไรก็ตามลักษณะอาการขาดธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลังที่พบ ซึ่งมีลักษณะซีดระหว่างเส้นกลางใบของใบอ่อนนั้นสอดคล้องกับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการขาดธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ (Howeler, 2002) อีกทั้งยังมีการรายงานว่าใบมันสำปะหลังที่โตเต็มที่ภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี มีการสะสมธาตุฟอสฟอรัสประมาณ 27-211 มิลลิกรัม (Salvador et al., 2014) ขณะที่การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในใบมันสำปะหลังที่อายุ 14 และ 21 วัน

ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็น 4-5 มิลลิกรัม จึงยืนยันได้ว่าไขมันสำปะหลังมีอาการขาดธาตุสังกะสีและไม่เกิดจากความเป็นพิษของธาตุฟอสฟอรัสแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าการให้ธาตุฟอสฟอรัสในปริมาณมาก จะลดประสิทธิภาพในการละลายและการเคลื่อนย้ายของธาตุสังกะสีภายในเซลล์ ตลอดจนการลำเลียงธาตุดังกล่าวขึ้นสู่ยอดอีกด้วย (Broadley et al., 2012; Hafeez et al., 2013; Singh et al., 2005) กล่าวได้ว่าธาตุสังกะสีกับธาตุฟอสฟอรัสในพืชมีผลในเชิงลบต่อกัน หรือเรียกอีกอย่างว่า antagonism state (Mousavi, 2011)

จากการศึกษาก่อนหน้านี้มีการรายงานว่า สภาวะขาดธาตุสังกะสีเกิดการกระตุ้นการควบคุมในระดับทรานสคริปชันของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงฟอสเฟต ขณะเดียวกันสภาวะขาดธาตุฟอสฟอรัสก็ส่งผลกระทบต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของธาตุเหล็กและสังกะสีด้วย (Bustos et al., 2010; Van De Mortel et al., 2006) และยังพบว่า การลำเลียงธาตุเหล็กในข้าวถูกควบคุมโดยสภาวะการขาดธาตุฟอสฟอรัสและสังกะสี (Saenchai et al., 2016) ทั้งนี้มีรายงานที่พบว่าโปรตีน PHR1 เป็น transcription factor ที่มีบทบาทในการควบคุมสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงฟอสเฟต สังกะสี และเหล็กในพืช ซึ่ง PHR1 มีหน้าที่หลักในการควบคุมการแสดงออกของโปรตีน PHT1 และ PHO1; H1 ส่งผลให้พืชมีการดูดซึมฟอสเฟตมากขึ้น ขณะเดียวกัน PHR1 ก็มีบทบาทในการกระตุ้นโปรตีน ZIP2 และ ZIP4 เพื่อช่วยในการดูดซึมธาตุสังกะสี อีกทั้งยังพบว่า PHR1 ยังมีบทบาทในการกระตุ้นการทำงานของ FER1 ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของธาตุเหล็กอีกด้วย อย่างไรก็ตามเมื่อพืชอยู่ในสภาวะมีธาตุสังกะสีเพียงพอ จะส่งผลยับยั้งการทำงานของ PHR1 ทำให้พืชมีการรักษาสมดุลของธาตุฟอสฟอรัส เหล็ก และสังกะสีได้ (X. Xie et al., 2019) จึงเป็นไปได้ว่าไขมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี อาจกระตุ้นการทำงานของ PHR1 ทำให้เกิดการดูดซึมฟอสเฟตมากขึ้นในใบของมันสำปะหลังที่อายุ 14 และ 21 วัน อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงฟอสเฟตในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เช่น ยีน *PHT* เป็นต้น

การสะสมธาตุเหล็กในรากมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีทั้งสองพันธุ์มีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ส่วนการสะสมธาตุเหล็กในใบมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีทั้งสองพันธุ์นั้นค่อนข้างคงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่าต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสียังมีปริมาณธาตุเหล็กในใบเพียงพอต่อการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามการสะสมธาตุเหล็กในรากของมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มลดลงตามช่วงอายุ อาจเนื่องมาจากพืชส่วนใหญ่มีการดูดซึมธาตุสังกะสีผ่านโปรตีนลำเลียงชนิดเดียวกันกับการดูดซึมธาตุเหล็กบนเยื่อหุ้มเซลล์ของราก (Mousavi et al., 2012) จึงอาจทำให้โปรตีนลำเลียงธาตุโลหะบางชนิดที่ดูดซึมธาตุโลหะในรูป $Metal^{2+}$ พยายามที่จะดูดซึมเฉพาะบางธาตุ อาทิ โปรตีนลำเลียง OsIRT1 มี

ส่วนช่วยในการลำเลียงธาตุสังกะสีและเหล็กบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์รากในข้าว (Ishimaru et al., 2006) และมีการรายงานว่า PtZIP7 ในต้น poplar มีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสี แมงกานีส และเหล็ก บริเวณรากของต้น poplar อีกทั้งยังพบว่า PtIRT1 ใน poplar มีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสี และเหล็กภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีและเหล็กบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของรากอีก (Fu et al., 2017)

ทั้งนี้มีการศึกษาโปรตีนลำเลียง IRT1 ในอะราบิโดพซิส พบว่าโปรตีนดังกล่าวมีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสี แมงกานีส โคบอลต์ และธาตุแคดเมียม โดยปกกลไกการควบคุมในระดับทรานสคริปชันที่ช่วยในกระบวนการ phosphorylation และ vacuole degradation เพื่อกระตุ้นการลำเลียงธาตุโลหะที่นอกเหนือจากธาตุเหล็กในไซโตพลาซึม รวมถึงควบคุมการดูดซึมธาตุเหล็กให้เหมาะสม และยังช่วยลด reactive metals ในแวคิวโอลอีกด้วย จึงเป็นไปได้ว่าโปรตีนลำเลียงบางชนิดในต้นมันสำปะหลังอาจพยายามลำเลียงธาตุสังกะสีไปใช้มากกว่าธาตุเหล็ก ส่งผลให้บริเวณรากของต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีอาจมีการดูดซึมธาตุเหล็กลดลง ขณะเดียวกันอาจมีการรักษาสมดุลของธาตุโลหะโดยอาศัยเอนไซม์ CIPK23 และ IDF1 ในกระบวนการ phosphorylation (Dubeaux et al., 2018)

นอกจากนี้ข้อมูลรายงานว่าฮอร์โมนออกซินมีบทบาทในการกระตุ้นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมธาตุเหล็กบริเวณรากของอะราบิโดพซิสอีกด้วย (Rai et al., 2021) จากข้อมูลที่พบว่าธาตุสังกะสีเป็นองค์ประกอบหนึ่งในการสังเคราะห์ทรिโบเตเฟน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซินนั้น เป็นไปได้ว่าต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี จะมีปริมาณออกซินภายในต้นมันสำปะหลังลดลง จึงลดการส่งสัญญาณออกซิน ซึ่งส่งผลต่อการลำเลียงธาตุเหล็กบริเวณราก ดังนั้นจึงทำให้ต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 14 และ 21 วัน มีแนวโน้มการสะสมธาตุเหล็กในรากลดลงได้ แต่สมมติฐานเหล่านี้ยังคงต้องทำการวิจัยเพื่อพิสูจน์เพิ่มเติมในอนาคต

การสะสมธาตุแมงกานีสในรากมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ส่วนการสะสมธาตุแมงกานีสในใบของมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงอายุ 14 และ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 35) จะเห็นได้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลกระทบต่อ การสะสมธาตุแมงกานีสในใบมันสำปะหลัง ซึ่งมีการรายงานว่าธาตุสังกะสีมีความสามารถในการจำกัดการเคลื่อนย้าย (translocation) ของปริมาณธาตุแมงกานีสที่มากเกินไปที่จะถูกลำเลียงขึ้นสู่ยอด รวมถึงการลดความเป็นพิษของธาตุแมงกานีสในพืชอีกด้วย (Soltangheisi et al., 2014) อีกทั้งยังพบว่าการดูดซึมธาตุแมงกานีสในข้าวและมันฝรั่งจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อมีการเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในสารละลายธาตุอาหาร (Barben et al., 2010; Yoshiaki & Ando, 1968) ดังนั้นในทางกลับกันจึงเป็นไปได้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีอาจ

ส่งผลให้เกิดการเคลื่อนย้ายธาตุแมงกานีสขึ้นสู่ยอดมากกว่าปกติ อย่างไรก็ตามยังมีการรายงานว่าการดูดซึมธาตุสังกะสีและธาตุแมงกานีสผ่านโปรตีนลำเลียงชนิดเดียวกัน ซึ่งควบคุมด้วยยีน *AhNRAMP1* ในต้นถั่วลิสง อาจมีส่วนช่วยในการกระตุ้นการลำเลียงธาตุแมงกานีสได้ (Wang et al., 2019) อีกทั้งยังพบว่าธาตุแมงกานีสมีส่วนรบกวนการดูดซึมธาตุเหล็กด้วย (Gayomba et al., 2015) จึงเป็นไปได้ว่าแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของการสะสมธาตุแมงกานีสในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 14 และ 21 วัน อาจมีผลทำให้รากมันสำปะหลังที่อายุดังกล่าวมีการสะสมธาตุเหล็กลดลงตามไปด้วย

การสะสมธาตุทองแดงในรากมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่อายุ 14 และ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ส่วนการสะสมธาตุทองแดงในใบของมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลกระทบต่อ การสะสมธาตุทองแดงในรากมันสำปะหลัง ซึ่งมีการรายงานว่าเมื่อเกิดสภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) พืชจะสร้างเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) ที่มีธาตุทองแดงและธาตุสังกะสีเป็นโคแฟกเตอร์ ซึ่งมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ reactive oxygen species (ROS) ในเซลล์ (Yruela, 2005) กล่าวได้ว่าแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของการสะสมธาตุทองแดงในรากมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น อาจเป็นผลมาจากสภาวะความเครียด จึงทำให้มีการสร้างเอนไซม์ที่มีธาตุทองแดงและธาตุสังกะสีเป็นองค์ประกอบดังกล่าวในรากมันสำปะหลัง

จากข้อมูลที่พบว่า IRT1 เป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการลำเลียงธาตุเหล็กนั้น ทั้งนี้ยังมีการรายงานว่า ต้นอะราบิโดพซิสที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุโลหะ ได้แก่ ธาตุสังกะสี เหล็ก และธาตุทองแดง มีผลต่อการควบคุมการกระตุ้นและยับยั้งการทำงานของโปรตีน IRT1 เพื่อรักษาสมดุลของธาตุโลหะภายในต้นอะราบิโดพซิส จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าโปรตีน COPT2, FRO4 และ FRO5 มีบทบาทในการดูดซึมธาตุทองแดง โดยการควบคุมของกลุ่มโปรตีน FIT ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของธาตุเหล็กและสังกะสีร่วมกับ bHLH 1b ซึ่งเป็น transcription factors ที่ช่วยกระตุ้นการดูดซึมธาตุทองแดงภายใต้สภาวะขาดธาตุเหล็ก (Rai et al., 2021) ทั้งนี้การทำงานของกลุ่มโปรตีนที่มีบทบาทเป็น transcription factors มีความสัมพันธ์กันทั้งในเชิงลบและเชิงบวก โดยเฉพาะ FIT ซึ่งถูกกระตุ้นภายใต้สภาวะขาดธาตุเหล็ก จะมีบทบาทเชิงบวกในการกระตุ้น NAS ซึ่งเป็นโปรตีนที่ควบคุมสมดุลของธาตุเหล็กและสังกะสีภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (Rai et al., 2021) (รูปที่ 8) จึงเป็นไปได้ว่าต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี จะมีกลไกการรักษาสมดุลของธาตุเหล็ก ทองแดง และสังกะสี โดยอาศัยกลุ่มโปรตีน FIT ซึ่งส่งผลต่อการทำงานของโปรตีน COPT2 จึง

อาจทำให้มีการดูดซึมธาตุทองแดงมากขึ้นในรากของมันสำปะหลังที่อายุ 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี แต่ข้อสันนิษฐานนี้ยังต้องทำการพิสูจน์ต่อไป

ดังนั้นจึงยืนยันได้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการสะสมธาตุอาหารต่าง ๆ ทั้งในรากและใบมันสำปะหลัง รวมถึงการกระตุ้นและยับยั้งการลำเลียงธาตุ เพื่อรักษาสมดุลของธาตุในพืช เนื่องจากปฏิสัมพันธ์ของธาตุอาหารแต่ละชนิดมีส่วนช่วยในกระบวนการต่าง ๆ ทั้งในทางตรงและทางอ้อม ตลอดจนการดูดซึมและลำเลียงธาตุภายในเซลล์พืช ธาตุสังกะสีจึงเป็นจุลธาตุที่มีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาต้นมันสำปะหลัง

5.3 การระบุกลุ่มยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีโดยใช้ชีวสารสนเทศ

การศึกษาบทบาทและการทำงานของยีนจำเป็นต้องอาศัยการวิเคราะห์เชิงชีวสารสนเทศเพื่อบ่งชี้หน้าที่ของยีนเบื้องต้น จะนำไปสู่ความเข้าใจในเชิงกลไกการควบคุมและรักษาสมดุลในระดับอณูชีววิทยามากขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการสืบหายีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง เพื่อระบุยีนและทำนายการควบคุมของยีนในระดับโปรโมเตอร์ ตลอดจนศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง พบกลุ่มยีนและโปรตีนที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลธาตุโลหะในพืช ได้แก่ กลุ่มยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (ZIPs; zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like protein) กลุ่มยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates (YSLs; yellow stripe-like proteins) รวมทั้งกลุ่มยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน (MTPs; metal tolerance proteins หรือ CDFs; cation diffusion facilitators) (D. Li et al., 2015; Lubkowitz, 2011; Palmgren & Axelsen, 1998; Rensing et al., 1997; Ricachenevsky et al., 2013a)

กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์หรือ (ZIPs)

สำหรับกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์หรือ ZIPs บนจีโนมของมันสำปะหลังนั้น พบทั้งหมด 12 ยีน โดยลำดับเบสของยีนทั้ง 12 ยีน สอดคล้องกับลำดับเบสบนจีโนมของข้าวและอะราบิดอปซิส ทั้งนี้ยังมีการรายงานบนจีโนมของส้มพบ ZIP ทั้งหมด 12 ยีน (Fu et al., 2017) ขณะที่ในข้าวโพดพบ 9 ยีน (S. Li et al., 2013) ผลการวิเคราะห์พบว่า *MeZIP1*, *3*, *5* และ *MeIRT1* อยู่ในกลุ่มเดียวกัน (รูปที่ 39) อีกทั้งยังพบว่ามีความตำแหน่งและจำนวน exons เท่ากัน จึงเป็นไปได้ว่ายีนดังกล่าวอาจมีบทบาทที่ใกล้เคียงกัน

การวิเคราะห์ความยาวของโปรตีน MeZIPs ซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโนประมาณ 336-480 ตัว ยกเว้น MeZIP29 ที่มีกรดอะมิโนเพียงแค่ 276 ตัว และพบว่ามีความถี่ของ exons มากที่สุดในกลุ่มโปรตีน MeZIP บนจีโนมมันสำปะหลัง อย่างไรก็ตามจำนวน exons ของยีนในกลุ่ม I (MeZIP1, 3, 4, 5, 8, MeIRT1 และ MeIRT3), กลุ่ม II (MeZIP6) และกลุ่ม III (MeZIP2 และ MeZIP11) เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เนื่องจากโครงสร้างของยีนคล้ายคลึงกัน ประกอบไปด้วย exons 2-3 exons จึงเป็นไปได้ว่าอาจมีบทบาทที่คล้ายกัน และอาจเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ทดแทนกันได้ อีกทั้งยังพบว่าการทำนายตำแหน่งของโปรตีน MeZIP ส่วนใหญ่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่า MeZIP4, MeZIP6 และ MeIRT3 อยู่ที่คลอโรพลาสต์อีกด้วย โดยเฉพาะ MeZIP6 ซึ่งผลการทำนายหน้าที่ของโปรตีน (function annotation) ด้วย PANTHER พบว่าเป็นโปรตีนลำเลียงธาตุสังกะสีบนคลอโรพลาสต์ ทั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานที่พบว่าไอออนของธาตุสังกะสีถูกดูดซึมผ่านโปรตีน ZIP4 และ ZIP6 เข้าสู่เซลล์ใบ (Kaur & Garg, 2021) อีกทั้งยังมีการรายงานว่า ZmZIP5 และ ZmZIP7 มีตำแหน่งอยู่บริเวณคลอโรพลาสต์ในใบข้าวโพดด้วย (S. Li et al., 2013; Mondal et al., 2014) รวมถึง AtZIP4 ที่อยู่บริเวณคลอโรพลาสต์ของอะราบิโดพซิส (N. Grotz et al., 1998) แสดงให้เห็นว่า MeZIP4, MeZIP6 และ MeIRT3 อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยาที่เกิดขึ้นบริเวณคลอโรพลาสต์ เช่น การลำเลียงธาตุสังกะสีเข้าหรือออกบริเวณคลอโรพลาสต์ เป็นต้น ขณะเดียวกัน MeZIP1 มีการทำนายว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยเฉพาะในระบบแสงที่ 1 (ตารางที่ 7) จึงเป็นไปได้ว่า MeZIP1 ก็อาจมีบทบาทที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้น จะเห็นได้ว่าโปรตีนกลุ่ม MeZIP ไม่ได้มีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีบนเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น

สำหรับการวิเคราะห์ตำแหน่งจับของ transcription factor บนโปรโมเตอร์ของยีน MeZIP พบว่า MeZIP3, MeZIP4, MeZIP6 และ MeIRT3 มีตำแหน่ง ZDRE ซึ่งเกี่ยวข้องกับการขาดธาตุสังกะสี จึงเป็นไปได้ว่ายีนดังกล่าวจะมีบทบาทในการควบคุมการดูดซึมธาตุสังกะสีภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง มีการศึกษา cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน NtZIP11 ในยาสูบ พบตำแหน่ง ZDRE บนลำดับเบส (RTGTGACAY) แต่ขาดเพียงสองเบสสุดท้าย คือ A และ Y (R = G หรือ A, Y = T หรือ C) (Weremczuk et al., 2020) ซึ่งตำแหน่ง ZDRE นั้น เป็นตำแหน่งจับของ basic-region leucine zipper (bZIP) ได้แก่ bZIP19 และ bZIP23 ซึ่งเป็น transcription factor ที่มีผลต่อการแสดงออกของยีน AtZIP ในอะราบิโดพซิส (Assunção et al., 2010) และยังพบว่า bZIP19/23 เป็น transcription factors ที่มีบทบาทหลักในการควบคุมการทำงานของยีน AtZIP4 ในอะราบิโดพซิส (Castro et al., 2017) ทั้งนี้ยังมีรายงานก่อนหน้านี้ว่าการแสดงออกของยีน AtZIP1, AtZIP4 และ AtZIP5 เพิ่มขึ้นในต้นอ่อนอะราบิโดพซิสที่มีการกลายพันธุ์ของยีน bzip19/23 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (Lilay et al., 2019) จึงยืนยันได้ว่าการทำงานของ

bZIP19/23 มีผลต่อการแสดงออกของยีนกลุ่ม ZIP ดังนั้นการพบตำแหน่ง ZDRE บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP3*, *MeZIP4*, *MeZIP6* และ *MeIRT3* จึงบ่งชี้ว่ายีนเหล่านี้อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง

อีกทั้งยังพบตำแหน่ง TC-rich repeats ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดของพืชบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP1*, *MeZIP3* และ *MeZIP29* แสดงให้เห็นว่ายีนทั้งสามมีบทบาทในการควบคุมการลำเลียงธาตุภายใต้สภาวะความเครียด จึงอาจมีบทบาทในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะความเครียดที่เกิดจากการขาดธาตุสังกะสี ทั้งนี้การรายงานก่อนหน้านี้พบการทำนาย cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *StZIP* ในมันฝรั่งว่ามีตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับ abiotic stress และพบตำแหน่ง TC-rich repeats บนโปรโมเตอร์ของยีนกลุ่ม *StZIP* ด้วย (R. Yu et al., 2020)

อย่างไรก็ตามส่วนใหญ่ตำแหน่งจับของ transcription factor บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP* พบว่ามีตำแหน่งเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช ซึ่งก่อนหน้านี้มีการทำนาย cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *StZIP* ในมันฝรั่งพบว่าส่วนใหญ่มีตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืชเช่นเดียวกัน (R. Yu et al., 2020) จากการวิเคราะห์พบตำแหน่ง ABRE และ ERE ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเอทิลีนตามลำดับ ซึ่งพบตำแหน่ง ERE บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP8* มากถึง 14 ตำแหน่ง ดังนั้นยีน *MeZIP8* อาจถูกกระตุ้นหรือยับยั้งโดย transcription factor บางตัวที่สามารถจับบนตำแหน่ง ERE ได้ ทั้งนี้มีการศึกษาการแสดงออกของยีน *StZIP12* ในต้นมันฝรั่งที่มีการเจริญเติบโตภายใต้การให้ฮอร์โมนเอทิลีน พบว่าการแสดงออกของยีนดังกล่าวเพิ่มขึ้น ดังนั้นฮอร์โมนเอทิลีนจึงมีผลต่อการตอบสนองต่อยีน *StZIP12* ในมันฝรั่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *StZIP* ในมันฝรั่งที่พบตำแหน่ง ERE บนโปรโมเตอร์ของยีน *StZIP12* ด้วย (R. Yu et al., 2020) อีกทั้งยังพบว่ามีรายงานการทำนายตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *NtZIP11* ในยาสูบพบตำแหน่ง ABRE ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเอทิลีน (Weremczuk et al., 2020) และยังสอดคล้องกับการรายงานที่พบตำแหน่ง ABRE บนโปรโมเตอร์ของยีน *MnZIP4-5* และ *MnIRT1* ในมันฝรั่งอีกด้วย (Fan et al., 2018) แสดงให้เห็นว่าการควบคุมการทำงานของยีนกลุ่ม *MeZIP* บนโปรโมเตอร์อาจมีความสัมพันธ์กับฮอร์โมนเอทิลีนและกรดแอบไซซิก เนื่องจากยีนส่วนใหญ่มีตำแหน่ง ERE และ ABRE บนโปรโมเตอร์

สำหรับตำแหน่ง CGTCA- และ TGACG-motif ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมทิลแจสโมเนตพบบนโปรโมเตอร์ของ *MeZIP2*, *MeZIP4-5*, *MeIRT3* และ *MeZIP29* จึงอาจเป็นยีนที่ถูกกระตุ้นหรือยับยั้งโดย transcription factor ที่ทำงานร่วมกันบนตำแหน่งทั้งสองตำแหน่ง และอาจทำให้ยีนเหล่านี้มีบทบาทในการควบคุมการทำงานเกี่ยวกับเมทิลแจสโมเนต ทั้งนี้มีการรายงานพบว่าตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *NtZIP11* ในยาสูบมีตำแหน่ง CGTCA-motif เช่นกัน

(Weremczuk et al., 2020) จึงมีความเป็นไปได้ว่ายีน *MeZIP2*, *4*, *5*, *29* และ *MeIRT3* จะถูกควบคุมด้วย transcription factors ที่มีตำแหน่งจับ CGTCA- และ TGACG-motif ที่เกี่ยวข้องกับเมทิลแจสโมเนตในมันสำปะหลัง

ส่วนตำแหน่ง TGA ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนออกซินพบบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP1*, *MeIRT1* และ *MeZIP29* แสดงว่ายีนดังกล่าวอาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนออกซิน ทั้งนี้มีการรายงานการทำนายตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *NtZIP11* ในยาสูบพบตำแหน่ง TGA เช่นกัน (Weremczuk et al., 2020) และยังพบว่า *MeZIP1* มีตำแหน่ง GARE ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนจิบเบอเรลลินบนโปรโมเตอร์ด้วย การแสดงออกของยีน *MeZIP1* จึงอาจถูกควบคุมด้วยสัญญาณฮอร์โมนออกซินและจิบเบอเรลลิน นอกจากนี้ยังพบตำแหน่ง GARE บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP2*, *MeZIP6* และ *MeZIP29* และมีการรายงานที่พบตำแหน่ง GARE บนโปรโมเตอร์ของยีน *MnZIP5* ในมันเบอรี่อีกด้วย (Fan et al., 2018) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีน ZIP มีการควบคุมโดยโปรโมเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน ซึ่งมีการรายงานก่อนหน้านี้ว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีลดการสร้างฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในข้าวโพด (Sekimoto et al., 1997) ดังนั้นการทำงานของยีน *MeZIP1-2*, *MeZIP6* และ *MeZIP29* อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน

อีกทั้งยังพบตำแหน่ง TCA ที่เกี่ยวข้องกับกรดซาลิไซลิกบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP5*, *MeIAR1* และ *MeZIP29* อาจเป็นไปได้ว่าการแสดงออกของยีนเหล่านี้จะถูกควบคุมด้วยกรดซาลิไซลิก โดยมีการรายงานการศึกษาตำแหน่งดังกล่าวบนโปรโมเตอร์ของยีน *StZIP* ในมันฝรั่ง ซึ่งพบบนโปรโมเตอร์ของยีน *StZIP11-12*, *StZIP16* และ *StZIP22* (R. Yu et al., 2020) และยังมีการรายงานว่ากรดซาลิไซลิกมีผลต่อการดูดซึมไอออนของธาตุสังกะสีอีกด้วย (Quaglia et al., 2022) จึงแสดงให้เห็นว่าการทำงานของยีน *MeZIP5*, *MeIAR1* และ *MeZIP29* อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกรดซาลิไซลิกในมันสำปะหลัง

ดังนั้นการพบตำแหน่ง cis-acting element ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช ไม่ว่าจะเป็นฮอร์โมนเอทิลีน กรดแอบไซซิก เมทิลแจสโมเนต ออกซิน จิบเบอเรลลิน หรือกรดซาลิไซลิกบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP* อาจใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถบ่งชี้ถึงการควบคุมที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีได้ เนื่องจากการควบคุมการทำงานของยีนที่มีตำแหน่งจับของ transcription factors ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชบางชนิด อาจส่งผลต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของยีนกลุ่ม *MeZIP* ได้

กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates (YSLs)

สำหรับกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates ในจีโนมมันสำปะหลัง พบทั้งหมด 8 ยีน แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม (clades) โดยลำดับเบสทั้ง 8 ยีนอ้างอิงกับลำดับ

เบสของข้าวและอะราบิโดพซิส ซึ่งสอดคล้องกับในอะราบิโดพซิสที่พบ *AtYSL* ทั้งหมด 8 ยีน (Lubkowitz, 2011) และการรายงานก่อนหน้านี้พบว่าการระบุยีน *BrrOPT* ในผักกาด (*Brassica rapa* var. *rapa*) มีทั้งหมด 28 ยีน โดยแบ่งเป็น *BrrOPT* 15 ยีน และ *BrrYSL* 13 ยีน (Pu et al., 2018) ขณะที่จีโนมของ *Brachypodium distachyon* ซึ่งเป็นพืชตระกูลหญ้าชนิดหนึ่ง พบยีน *BdYSL* มากถึง 19 ยีน (Yordem et al., 2011) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีน *YSL* มีบทบาททั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ และมักพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเป็นจำนวนมาก ซึ่งการทำงานของโปรตีน *YSL* ในพืชใบเลี้ยงคู่และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีลักษณะที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะพืชตระกูลหญ้าต้องอาศัย phytosiderophores (PS) จับกับไอออนของธาตุเหล็กเพื่อดูดซึมธาตุเหล็กในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Yordem et al., 2011) จึงอาจส่งผลต่อจำนวน *YSL* ที่พบต่างกัน

การวิเคราะห์ความยาวของโปรตีน *MeYSL* ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่คล้ายคลึงกัน รวมทั้งจำนวน exons ด้วย การทำนายตำแหน่งโปรตีน *MeYSL* นั้น พบอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ทั้งหมด สำหรับการทำนายหน้าที่ของยีนทั้ง 8 ยีนด้วยฐานข้อมูล PFAM, TIGRFAMs และ InterPro พบว่าเป็นกลุ่มยีน *OPT oligopeptide transporter* ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบว่า *YSL* เป็นกลุ่มยีนที่จัดอยู่ใน *oligopeptide transporter family* (Pu et al., 2018)

จากการทำนายบนฐานข้อมูล GO ยังวิเคราะห์ว่า *MeYSL* ทั้ง 8 ยีนมีบทบาทเป็น transmembrane transport จึงสนับสนุนข้อมูลที่พบว่า *MeYSL* มี transmembrane domains 12-15 ตำแหน่ง ซึ่งสอดคล้องกับการทำนาย transmembrane domains ของ *AtYSL* ที่พบว่ามี 15 ตำแหน่ง (DiDonato Jr et al., 2004) จึงยืนยันได้ว่าโปรตีน *MeYSL* ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์

ผลการทำนายระบุว่า *MeYSL1-3* มีบทบาทเป็น metal-nicotianamine (Metal-NA) transporter โดยมีการรายงานว่าส่วนใหญ่การแสดงออกของยีน *YSL* นั้น บ่งชี้ว่ายีน *YSL* เกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุโลหะที่รวมตัวกับ nicotinamine (NA) ในรูปของ metal-NA ในเนื้อเยื่อหลายชนิด เช่น ราก ยอด ลำต้น ดอก ผล รวมถึงเมล็ดด้วย (DiDonato Jr et al., 2004; Waters et al., 2006) แสดงว่ายีน *MeYSL1-3* มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัย complex ที่เป็น chelate จริง มีการรายงานที่พบว่า *AhYSL3.1* ในถั่วลิสง จัดเป็นโปรตีนลำเลียงธาตุทองแดงในรูปของ Cu-NA (Dai et al., 2018) ในงานวิจัยนี้พบว่า *MeYSL1-3* จัดอยู่ในกลุ่ม (clade) เดียวกัน จึงเป็นไปได้ว่าอาจมีบทบาทหน้าที่คล้ายกัน ขณะเดียวกัน *MeYSL6* มีการทำนายว่า มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการถ่ายเทออกซิเจนตรอนบริเวณเยื่อหุ้มชั้นในของไมโทคอนเดรีย ทั้งนี้มีการตรวจสอบพบ NA ในไมโทคอนเดรียของอะราบิโดพซิสด้วย (Haydon et al., 2012) อาจเป็นไปได้ว่า *MeYSL6* จะมีบทบาทในการควบคุมการลำเลียงธาตุเหล็กบริเวณไมโทคอนเดรียของมันสำปะหลัง

สำหรับการวิเคราะห์ตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL* พบว่า ส่วนใหญ่มีตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองฮอร์โมนพืช โดยเฉพาะตำแหน่ง ERE ซึ่งเกี่ยวข้องกับ

ฮอโมนเอทิลีนที่พบบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL3* มากถึง 12 ตำแหน่ง ทั้งนี้ไม่พบตำแหน่งจับอื่นบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL3* จึงกล่าวได้ว่าการแสดงออกของยีน *MeYSL3* อาจมีการควบคุมการกระตุ้นหรือยับยั้งที่เกี่ยวข้องกับฮอโมนเอทิลีน ทั้งนี้ยังพบตำแหน่งอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองฮอโมนพืช ไม่ว่าจะเป็นตำแหน่ง CGTCA, TGACG, TGA, GARE หรือ TCA บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL* แสดงให้เห็นว่าบทบาทของยีนกลุ่มนี้อาจควบคุมด้วย transcription factors ที่เกี่ยวข้องับสัญญาณของฮอโมนหลายชนิด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่ามีตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองฮอโมนบนโปรโมเตอร์ของยีนกลุ่ม *StYSL* ในมันฝรั่ง โดยเฉพาะตำแหน่ง ERE ที่เกี่ยวข้องับฮอโมนเอทิลีน ซึ่งพบมากเป็นลำดับที่สองรองจากตำแหน่ง ABRE ที่เกี่ยวข้องับกรดแอบไซซิก (Wu et al., 2021) สำหรับตำแหน่ง ABRE ไม่พบบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeYSL* ในมันสำปะหลัง ส่วน *MeYSL8* ไม่มีตำแหน่ง cis-acting element ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองฮอโมนพืช

อย่างไรก็ตามการสืบหายีน *MeYSL* ที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี อาจต้องคำนึงถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการทำงานของยีนดังกล่าว โดยเฉพาะการควบคุมในระดับทรานสคริปชัน รวมถึงการแสดงออกของยีน เพื่อเชื่อมโยงกลไกการทำงานของยีน ตลอดจนลักษณะเฉพาะของยีน *YSL* ที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการลำเลียงธาตุโลหะที่รวมตัวเป็น chelate

กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออน (MTP)

สำหรับกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออนพบ *MeMTP* ทั้งหมด 12 ยีน โดยลำดับเบสทั้ง 12 ยีนอ้างอิงกับลำดับเบสของข้าวและอะราบิดอพซิส ซึ่งการรายงานก่อนหน้านี้พบว่ามี *MTP* 12 ยีนทั้งในจีโนมของข้าวและอะราบิดอพซิส (Gustin et al., 2011a; Kawachi et al., 2008; Montanini et al., 2007) และพบ 26 ยีนในยาสูบ (Liu et al., 2019) อาจเป็นไปได้ว่ายีนกลุ่มนี้จะมีการเกิด gene duplication และมีบทบาทแตกต่างกันในแต่ละยีน ส่วนใหญ่โครงสร้างของยีน *MeMTP* ประกอบด้วย exon 1-12 ตำแหน่ง ซึ่ง *MeMTP9* และ *MeMTP10* มีลำดับเบสคล้ายกันถึง 90% และมีจำนวน exon เท่ากัน ส่วนใหญ่ *MeMTP* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับอะราบิดอพซิส ยกเว้น *MeMTP4* ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *OsMTP4* แสดงให้เห็นว่า *MeMTP* อาจมีวิวัฒนาการร่วมกับอะราบิดอพซิสและข้าว

จากความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถจำแนกโปรตีน MTP ได้ 3 กลุ่ม (รูปที่) ซึ่งโปรตีน *MeMTP* ทั้ง 12 โปรตีนอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *AtMTP4* ยกเว้น *MeMTP4* ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *OsMTP4* ซึ่งไม่ได้จัดอยู่ในกลุ่ม Zn-CDF ทั้งนี้มีรายงานว่า *MTP4* บนจีโนมของต้น poplar มีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสี เหล็ก และแมงกานีส (Gao et al., 2020) แต่ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีการจัด *MTP4* ไว้ในกลุ่ม Mn-CDF บนจีโนมของข้าวและข้าวสาลี (Chen et al., 2013; Vatansever et al.,

2017) อย่างไรก็ตามมีการทำนายยืนยันว่า MeMTP4 มีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่า MTP4 มีบทบาทในการลำเลียงธาตุที่แตกต่างกันตามชนิดของพืช

การวิเคราะห์ความยาวของโปรตีน MeMTP ซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโนประมาณ 351-876 ตัว ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มแวคิวโอล ยกเว้น MeMTP4 และ MeMTP8 อยู่บริเวณเยื่อหุ้ม ER ทั้งนี้ยังพบว่า MeMTP มี transmembrane domain ประมาณ 4-6 ตำแหน่ง ยกเว้น MeMTP6 ที่ไม่พบ transmembrane domain แสดงว่าโปรตีนดังกล่าว อาจไม่ได้อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ จากข้อมูลการทำนายตำแหน่งของโปรตีน MeMTP6 เป็นไปได้ว่า MeMTP6 อาจทำงานอยู่บริเวณไมโทคอนเดรีย ขณะเดียวกัน MeMTP12 มี transmembrane domain มากถึง 13 ตำแหน่ง แสดงให้เห็นว่า MeMTP12 อาจมีบทบาทที่แตกต่างจาก MeMTP อื่น ๆ ซึ่งจากการรายงานในพืชชนิดอื่น ๆ พบว่า MTP12 มี transmembrane domain เป็นจำนวนมาก เช่นเดียวกัน (Fujiwara et al., 2015; Gao et al., 2020; Liu et al., 2019; Vatansever et al., 2017) อย่างไรก็ตามโปรตีน MTP ในพืชส่วนใหญ่มี transmembrane domain ประมาณ 6 ตำแหน่ง (Arrivault et al., 2006; Fujiwara et al., 2015; Gustin et al., 2011a; Kawachi et al., 2008; Liu et al., 2019) ซึ่งสอดคล้องกับการทำนายของ Gene Ontology (GO) ที่พบว่า MeMTP จัดเป็น transmembrane proteins ที่มีบทบาทในการลำเลียงไอออนบวกของธาตุ และยังพบว่าการทำนายหน้าที่ของโปรตีนด้วย PANTHER, PFAM, KOG และ KEGGORTH ยืนยันว่า MeMTP จัดอยู่ในกลุ่ม cation diffusion facilitator (CDF) จึงเป็นไปได้ว่า MeMTP จะมีบทบาทในการลำเลียงไอออนของธาตุสังกะสีจริง

สำหรับการวิเคราะห์ตำแหน่ง cis-acting element บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeMTP* พบว่าส่วนใหญ่มีตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองฮอร์โมนพืช โดยเฉพาะตำแหน่ง ERE ที่พบทั้ง 12 ยีน และพบว่า *MeMTP4* มีมากถึง 13 ตำแหน่ง ดังนั้นการทำงานของยีน *MeMTP4* อาจควบคุมด้วยสัญญาณฮอร์โมนเอทิลีน มีการศึกษาว่าพบตำแหน่ง ERE บนโปรโมเตอร์ของยีน *TaMTP1A* และ *TaMTP4D* ในข้าวสาลี (Vatansever et al., 2017) เนื่องจากตำแหน่ง ERE เป็นตำแหน่งจับของ ethylene responsive factor (ERF) ซึ่งเป็น transcription factor ที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนเอทิลีน (Binder, 2020) และยังมีรายงานว่าพืชที่ปลูกภายใต้สภาวะความเครียดจากธาตุโลหะ จะสร้างฮอร์โมนเอทิลีนเพิ่มมากขึ้น (Keunen et al., 2016) แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน *MeMTP* อาจมีผลมาจากการทำงานของ ERF บนตำแหน่งจับ ERE ของโปรโมเตอร์

นอกจากนี้ยังพบตำแหน่ง TGA บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeMTP2*, *MeMTP5-7* และ *MeMTP10* แสดงว่าการแสดงออกของยีนเหล่านี้อาจถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนออกซิน และออกซินอาจมีบทบาทในการกระตุ้นการดูดซึมธาตุสังกะสีผ่านโปรตีนลำเลียง MeMTP เนื่องจากธาตุสังกะสีเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ทริปโตเฟนที่ใช้ในการผลิตฮอร์โมนออกซิน (Keunen et al., 2016)

(Begum et al., 2016) อีกทั้งยังพบตำแหน่ง TC-rich ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองความเครียดในพืชบนโปรโมเตอร์ของยีน *MeMTP1-3* อีกด้วย บ่งชี้ว่ายีน *MeMTP* อาจถูกควบคุมด้วย transcription factor บนตำแหน่งจับที่หลากหลาย

การศึกษาข้อมูลทางชีวสารสนเทศของกลุ่มยีนและโปรตีน ZIP, YSL และ MTP บนจีโนมมันสำปะหลัง ทำให้ทราบบทบาทและหน้าที่เบื้องต้นของโปรตีน จึงสามารถใช้ในการวิเคราะห์กลไกเบื้องต้นในการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังได้ และในอนาคตจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในความสัมพันธ์ของ *MeZIP*, *MeYSL* และ *MeMTP* เพราะเป็นไปได้ว่ากลุ่มยีนหรือโปรตีนทั้งสามกลุ่มนี้อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีร่วมกัน อาทิ การรายงานก่อนหน้านี้ที่ทำนายความสัมพันธ์ของกลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะในอะราบิโดพซิสพบว่า การแสดงออกของยีน *AtHMA3* ขึ้นกับการทำงานร่วมกันของ *AtYSL2*, *AtMTP1*, *AtZIP3*, *AtZIP4* รวมถึง *bZIP19* ด้วย (Pita-Barbosa et al., 2019) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีนหรือโปรตีน *ZIP*, *YSL* และ *MTP* ในมันสำปะหลังอาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกัน

5.4 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

การสืบหากกลุ่มยีนที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังบอกได้เพียงแค่อข้อมูลเบื้องต้นที่แสดงบนฐานข้อมูลทางชีวสารสนเทศเท่านั้น ดังนั้นการศึกษารูปแบบการแสดงออกของกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีจะมีส่วนช่วยในการยืนยันบทบาทหน้าที่ของยีน และนำไปสู่ความเข้าใจในกลไกการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสี ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยมียีนทั้งหมด 3 กลุ่ม ดังนี้

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ในมันสำปะหลัง (*MeZIPs*) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

ZIPs เป็น transmembrane proteins ที่มีบทบาทหลักในการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ รวมถึงธาตุโลหะที่มีประจุเป็น divalent cation อาทิ เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และ แคดเมียม เพื่อเข้าสู่ไซโตพลาสซึมของเซลล์ราก (Ajeesh Krishna et al., 2020; L. Kumar et al., 2016) จากการทำนายก่อนหน้านี้ผู้วิจัยพบตำแหน่งของโปรตีน *MeZIPs* ส่วนใหญ่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ จึงเป็นไปได้ว่า *MeZIPs* จะมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของมันสำปะหลัง ดังนั้นผู้วิจัยจึงวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีน *MeZIP 10* ยีนที่เกี่ยวข้องกับการ

ลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เพื่อยืนยันว่ากลุ่มยีน *MeZIPs* นี้มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง

จากการรายงานก่อนหน้านี้พบว่ายีนกลุ่ม *AtZIPs* มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสีในต้นอะราบิโดพซิส (Grotz & Guerinot, 2006; Sichul Lee et al., 2010) จึงเป็นไปได้ว่า *MeZIPs* จะมียีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง ซึ่งผลการทดลองในงานวิจัยนี้พบยีน *MeZIPs* หลายยีนที่มีการแสดงออกค่อนข้างมากในใบมันสำปะหลังที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยเฉพาะยีน *MeZIP1*, *MeZIP2*, *MeZIP4*, *MeZIP5*, *MeZIP6*, *MeZIP8* และ *MeIRT3* และยังพบว่า *MeZIP1* และ *MeZIP4* มีการแสดงออกมากในรากมันสำปะหลังที่อายุ 7 และ 14 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 58) แสดงให้เห็นว่าส่วนใหญ่ยีนกลุ่ม *MeZIPs* มีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

สอดคล้องกับการรายงานที่พบว่า *ZmZIP5*, *ZmZIP8* และ *ZmIRT1* มีการแสดงออกมากในยอดของข้าวโพดที่อายุ 96 ชั่วโมง หรือ 3 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (S. Li et al., 2013) อีกทั้งยังพบว่า *PtZIP1*, *PtZIP2*, *PtZIP5*, *PtZIP6* และ *PtZIP7* มีการแสดงออกมากในใบส้มที่อายุ 7, 12 และ 20 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ขณะเดียวกัน *PtZIP1*, *PtZIP2*, *PtZIP3*, *PtZIP5*, *PtZIP6*, *PtZIP9* และ *PtIRT1* มีการแสดงออกมากในรากของส้มที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีอีกด้วย (Fu et al., 2017) แสดงให้เห็นว่าส่วนใหญ่ยีนกลุ่ม *ZIPs* มีบทบาทในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณส่วนเหนือดินและรากของพืชที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี อย่างไรก็ตามยีน *MeZIPs* อาจมีแนวโน้มที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณใบมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เนื่องจากส่วนใหญ่ *MeZIPs* แสดงออกมากในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี หรือที่เรียกว่า tissue-specific expression

ขณะเดียวกันจะเห็นได้ว่าส่วนใหญ่ยีน *MeZIPs* มีการแสดงออกมากในมันสำปะหลังที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยสอดคล้องกับการสะสมธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลัง ซึ่งพบว่าเริ่มมีปริมาณธาตุสังกะสีลดลงที่อายุ 7 วันเช่นกัน จึงเป็นไปได้ว่ายีนกลุ่ม *MeZIPs* โดยเฉพาะ *MeZIP1*, *MeZIP2*, *MeZIP4*, *MeZIP5*, *MeZIP6*, *MeZIP8* และ *MeIRT3* นั้น อาจมีบทบาทหลักในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีที่ใบมันสำปะหลัง

จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกลุ่มโปรตีน ZIP ในมันสำปะหลัง อะราบิโดพซิส และข้าว บ่งชี้ได้ว่าโปรตีนส่วนใหญ่ที่อยู่กลุ่ม (clade) เดียวกัน จัดเป็น orthologs กัน อาจมีบทบาทการทำงานเหมือนกัน อาทิ การศึกษาการเพิ่มการแสดงออกของยีน *OsZIP4* ในข้าวพบว่า *OsZIP4* มีการแสดงออกมากในส่วนยอดของข้าวภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (Ishimaru et al., 2007) จึงเป็นข้อมูลที่ยืนยันได้ว่ายีน *MeZIP4* ที่มีการแสดงออกมากและจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *OsZIP4* นั้น อาจ

ทำงานบริเวณใบมันสำปะหลังเช่นเดียวกับการทำงานของ *OsZIP4* และยังสอดคล้องกับการวิเคราะห์ตำแหน่ง cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP4* ที่พบตำแหน่ง ZDRE ซึ่งเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสี รวมทั้งการทำนายตำแหน่งของโปรตีน *MeZIP4* ที่พบบริเวณคลอโรพลาสต์สามารถยืนยันตำแหน่งการทำงานของ *MeZIP4* ที่ใบหรือส่วนเหนือดินของต้นมันสำปะหลังได้

MeZIP2 เริ่มมีแนวโน้มการแสดงออกมากในใบตั้งแต่อายุ 7 วันเป็นต้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี มีการรายงานก่อนหน้านี้พบว่า *AtZIP2* มีบทบาทในการควบคุมการเคลื่อนย้ายธาตุแมงกานีสและสังกะสีจากชั้นสตีลสูงชั้นไซเลมพารงโคมาของรากอะราบิโดพซิส เพื่อลำเลียงธาตุดังกล่าวขึ้นสู่ยอดของต้นอะราบิโดพซิส ซึ่งการแสดงออกของยีน *AtZIP2* ในรูปแบบการแสดงออกของ GUS นั้น มีการแสดงออกอย่างชัดเจนบริเวณ primary root elongation แต่มีการแสดงออกลดลงในชั้นสตีลของ lateral roots อย่างไรก็ตามไม่มีการแสดงออกของ GUS ในส่วนยอดของอะราบิโดพซิส (Milner et al., 2013) เมื่อ *MeZIP2* บริเวณรากมีการแสดงออกลดลง มันสำปะหลังที่ปลูกในสภาวะขาดธาตุสังกะสี จะมีการดูดซึมธาตุสังกะสีบริเวณรากลดลง ขณะเดียวกัน *MeZIP2* อาจมีส่วนช่วยในการลำเลียงธาตุสังกะสีเข้าสู่ไซเลมพารงโคมา ส่งผลต่อการนำธาตุสังกะสีไปใช้ในส่วนยอด ดังนั้นจึงมีการแสดงออกของ *MeZIP2* ในใบมาก และมีการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณใบของมันสำปะหลังมากยิ่งขึ้น

ส่วน *MeZIP3* แสดงออกมากในใบของมันสำปะหลังที่อายุ 7 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ซึ่งมีการรายงานก่อนหน้านี้พบว่าการแสดงออกของยีนกลุ่ม ZIP ในต้นอ่อนของข้าวโพดที่มีการแสดงออกมากในส่วนยอดและรากที่ย้ายสู่สภาวะขาดธาตุสังกะสี 6 ชั่วโมง บ่งชี้ว่า ZIP มีบทบาทสำคัญในระยะต้นอ่อนของข้าวโพด (S. Li et al., 2013) ดังนั้นในระยะแรกเริ่มของต้นมันสำปะหลังที่กำลังเจริญเติบโตในช่วง vegetative stage จึงมีการแสดงออกของยีน *MeZIP3* ในใบมันสำปะหลังที่อายุ 7 วัน เพื่อลำเลียงธาตุสังกะสีไปใช้ประโยชน์บริเวณใบมันสำปะหลัง จะเห็นได้ว่าการแสดงออกของยีน *MeZIP3* สอดคล้องกับการวิเคราะห์ตำแหน่ง cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP3* ที่พบตำแหน่ง ZDRE ซึ่งเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสี

สำหรับ *MeZIP5* แสดงออกมากในรากมันสำปะหลังที่อายุ 7 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ซึ่งสอดคล้องกับ *PtZIP5* ที่แสดงออกมากในรากของส้มที่อายุ 7 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีเช่นกัน (Fu et al., 2017) ทั้งนี้ยีน *MeZIP5* มีแนวโน้มแสดงออกมากในใบมันสำปะหลังที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกในสภาวะปกติ ซึ่งมีการรายงานที่ *ZmZIP5* ในข้าวโพดมีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีและเหล็กจากรากขึ้นสู่ยอดของต้นข้าวโพดที่มีการเพิ่มการแสดงออกของยีน *ZmZIP5* ขณะเดียวกันก็มีการศึกษาการ

ลดการแสดงออกของยีน *ZmZIP5* ด้วยกระบวนการ RNAi ทำให้การสะสมธาตุสังกะสีและเหล็กในเมล็ดของข้าวโพดลดลง (S. Li et al., 2019) และยังพบว่าการเพิ่มการแสดงออกของยีน *OsZIP5* ในต้นข้าว ทำให้ความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในส่วนยอดของต้นข้าวลดลง แต่ช่วยเพิ่มการสะสมธาตุดังกล่าวในส่วนราก (Sichul Lee et al., 2010) จึงเป็นไปได้ว่า *MeZIP5* ในมันสำปะหลังอาจมีบทบาทการทำงานเพื่อดูดซึมธาตุสังกะสีในช่วงอายุ 7 วันบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของราก และในใบที่ช่วงอายุ 7-21 วัน หลังจากต้นมันสำปะหลังได้รับการปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ส่วนการแสดงออกของยีน *MeZIP5* ในใบภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น จะเห็นได้ว่า *MeZIP5* มีการแสดงออกมากในใบที่ช่วงอายุ 7-21 วัน ซึ่งสอดคล้องกับอาการขาดธาตุสังกะสีบริเวณใบของมันสำปะหลังที่เริ่มปรากฏในช่วงอายุ 7 วัน แสดงว่า *MeZIP5* อาจมีส่วนช่วยในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในใบที่อายุตั้งแต่ 7 วัน หลังจากต้นมันสำปะหลังได้รับการปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ดังนั้น *MeZIP5* อาจมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีจากรากขึ้นสู่ยอดของต้นมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

การแสดงออกของ *MeZIP6* นั้น พบว่ามีแนวโน้มแสดงออกมากในใบมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ ขณะที่การแสดงออกของ *MeZIP6* ในราก มีการแสดงออกมากในรากมันสำปะหลังที่อายุ 3 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกในสภาวะปกติ บ่งชี้ว่ามีการดูดซึมธาตุสังกะสีที่บริเวณรากในช่วงอายุ 3 วันหลังจากปลูกมันสำปะหลังในสภาวะขาดธาตุสังกะสี ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ตำแหน่ง cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeZIP6* ที่พบตำแหน่ง ZDRE ซึ่งเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสี และยังมีรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่าการแสดงออกของยีน *OsZIP6* และ *OsZIP8* ในข้าวจีโนไทป์ *Swarna* มีการแสดงออกมากในรากภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีและเหล็ก อย่างไรก็ตามต้นข้าวจีโนไทป์ *Kalanamak* ที่ปลูกในสภาวะขาดธาตุสังกะสีและเหล็กมีการสะสมธาตุสังกะสีและเหล็กสูงในเมล็ด โดยมีการแสดงออกของยีน *OsZIP6* และ *OsZIP8* มากทั้งในรากและยอดของต้นข้าว รวมทั้งมีการเคลื่อนย้ายธาตุสังกะสีและเหล็กไปยังเมล็ดข้าว (Pradhan et al., 2020)

สำหรับ *MeIRT1* ที่มีการแสดงออกมากในใบของมันสำปะหลังที่อายุ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น เป็นไปได้ว่า *MeIRT1* อาจมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในส่วนใบมันสำปะหลัง ทั้งนี้มีการรายงานว่า *OsIRT1* ในข้าวมีส่วนช่วยกระตุ้นการสะสมธาตุในเมล็ดด้วย (S. Lee & An, 2009) และมีการรายงานการเพิ่มการแสดงออกของยีน *AtIRT1* ในอะราบิดอพซิสที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุเหล็ก พบว่าต้นอะราบิดอพซิสมีความเข้มข้นของธาตุสังกะสีและแคดเมียมมากขึ้น (Connolly et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าต้นอะราบิดอพซิสที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *irt1* ซึ่งปลูกในสภาวะขาดธาตุเหล็กนั้น มีการสะสมธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นทั้ง

ในยอดและราก ขณะที่ความเข้มข้นของธาตุเหล็กนั้นลดลง (Quintana et al., 2022) จึงยืนยันได้ว่า MeIRT1 อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีจริง

ส่วน *MeIRT3* ที่มีการแสดงออกมากในใบของมันสำปะหลังที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น สอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่ายีน *AtIRT3* มีการแสดงออกมากในส่วนยอดของอะราบิโดพซิสที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ซึ่งมีการแสดงออกมากกว่าในส่วนราก ทั้งนี้ยังมีการศึกษาการเพิ่มการแสดงออกของยีน *AtIRT3* ในต้นอะราบิโดพซิส ส่งผลให้มีการสะสมธาตุสังกะสีในส่วนยอด และมีการสะสมธาตุเหล็กในรากของอะราบิโดพซิสมากขึ้น (Lin et al., 2009) จึงยืนยันได้ว่า *MeIRT3* อาจมีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีรวมถึงเหล็กในต้นมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี และยังสอดคล้องกับการวิเคราะห์ตำแหน่ง cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน *MeIRT3* ที่พบตำแหน่ง ZDRE ซึ่งเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสีด้วย

จากการศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนกลุ่ม *MeZIPs* จึงยืนยันได้ว่าการทำงานของ *MeZIPs* เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีจริง ทั้งนี้มีรูปแบบการแสดงออกของยีนแต่ละยีนแตกต่างกันไป ซึ่งส่วนใหญ่พบว่ายีนที่มีการแสดงออกมากในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มักแสดงออกมากตั้งแต่ต้นมันสำปะหลังอายุ 7 วันขึ้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี จึงสอดคล้องกับการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ซึ่งเริ่มแสดงอาการขาดธาตุสังกะสีโดยมีลักษณะขีดระหว่างเส้นกลางใบที่ใบอ่อนประมาณวันที่ 7 หลังย้ายปลูก แสดงให้เห็นว่าการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีจากรากขึ้นสู่ยอดของต้นมันสำปะหลัง อาจควบคุมด้วยยีนกลุ่ม *MeZIPs*

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates ในมันสำปะหลัง (*MeYSLs*) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

YSLs เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุโลหะที่มีคุณสมบัติเป็น chelates โดยลำเลียง nicotianamine metal complex (metal-NA) ไปยังช่องว่างระหว่างเซลล์และการลำเลียงในลักษณะ long-distance mobilization (Lubkowitz, 2011) ดังนั้นผู้วิจัยจึงศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน *MeYSL* ในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีทั้งหมด 3 ยีน ได้แก่ *MeYSL1*, *MeYSL2* และ *MeYSL3* ซึ่งสอดคล้องกับการทำนายหน้าที่ของยีนด้วยชีวสารสนเทศที่พบว่าทั้ง 3 ยีนนี้มีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะที่อยู่ในรูป metal-NA

จากการระบุกลุ่มยีน *MeYSLs* ในมันสำปะหลังโดยใช้ชีวสารสนเทศ สามารถจำแนกยีน *MeYSLs* ที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีได้ 3 ยีน คือ *MeYSL1*, *MeYSL2* และ

MeYSL3 ทั้งนี้ยังไม่สามารถยืนยันบทบาทในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีได้อย่างแท้จริง ผู้วิจัยจึงจำเป็นต้องศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนดังกล่าว เพื่อยืนยันกลไกเบื้องต้นที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในต้นมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

การที่พืชนำธาตุโลหะไปใช้ผ่านโปรตีนลำเลียง YSL นั้น ต้องอาศัย complex ที่ประกอบไปด้วย phytosiderophores (PS) และ nicotianamine (NA) ไม่ว่าจะเป็นการใช้ PS ร่วมกับไอออนของธาตุโลหะในพืชตระกูลหญ้า (Metal-PS) หรือการดูดซึมธาตุโลหะร่วมกับ NA (Metal-NA) ที่มีคุณสมบัติเป็น chelates ภายใต้สภาวะขาดธาตุบางชนิด (Colangelo & Guerinot, 2006) อย่างไรก็ตามการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัย Metal-PS ผ่านโปรตีน YSL นั้น ส่วนใหญ่พบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อาทิ พืชหญ้า และข้าว เป็นต้น สำหรับในมันสำปะหลังยังไม่พบการรายงานดังกล่าว ดังนั้นการศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน *MeYSLs* จะช่วยให้เกิดความเข้าใจกลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมากยิ่งขึ้น

จากรูปแบบการแสดงออกของยีนที่พบว่า การแสดงออกของยีน *MeYSL1*, *2* และ *MeYSL3* ในใบของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้ยีน *MeYSL1* และ *MeYSL2* ยังมีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ขณะที่ *MeYSL3* มีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 7 และ 14 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เมื่อเปรียบเทียบกับต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี (รูปที่ 58) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีน *MeYSL1*, *MeYSL2* และ *MeYSL3* อาจมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในรากของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยการรายงานก่อนหน้านี้พบว่า การขาดธาตุสังกะสีหรือการมีธาตุสังกะสีมากเกินไป จะส่งผลทำให้ปริมาณ NA ในต้นขาดลดลง (Zhang et al., 2017) นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มขึ้นของ NA ในพืช จะส่งผลให้ธาตุเหล็กและสังกะสีในข้าว ถั่วเหลือง และมันฝรั่งเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Nozoye, 2018) และยังพบว่า ในระยะการแตกตาของต้นแอปเปิ้ลจะมีการสะสม NA มาถึงร้อยละ 49 (R. Xie et al., 2020) เป็นไปได้ว่า *MeYSL1*, *MeYSL2* และ *MeYSL3* อาจพยายามควบคุมการดูดซึมธาตุสังกะสีบริเวณรากของต้นมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตบริเวณส่วนเหนือดิน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีหรือมีธาตุสังกะสีน้อยมาก

อย่างไรก็ตามพบการรายงานการแสดงออกของยีน *AtYSL1* และ *AtYSL3* มากทั้งในใบและรากของต้นอะราบิโดพซิสที่ได้รับการกลายพันธุ์ ซึ่งปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุเหล็ก ส่งผลทำให้ปริมาณธาตุเหล็กในใบลดลง ขณะที่ปริมาณธาตุสังกะสี แมงกานีส และทองแดงในใบเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบการรายงานว่า *AtYSL1* และ *AtYSL3* มีบทบาทในการลำเลียงธาตุทองแดงและสังกะสีบริเวณเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงด้วย (Waters et al., 2006) แสดงให้เห็นว่าการทำงานของยีน *YSL1* และ *YSL3* นั้น มีความเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี จึงเป็นไปได้ว่า *MeYSL1*, *MeYSL2*

และ *MeYSL3* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม (clade) เดียวกัน อาจมีบทบาทในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

จากการรายงานก่อนหน้านี้พบว่า การลำเลียงธาตุเหล็กและสังกะสีในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่นในข้าวโพดนั้น พบว่ามีการลำเลียงธาตุเหล็กในรูปของ Fe-PS ผ่านโปรตีน *ZmYSL1* (Curie et al., 2008) อย่างไรก็ตามมีการรายงานการแสดงออกของโปรโมเตอร์ของยีน *AtYSL2* ในอะราบิดอปซิสที่ได้รับการถ่ายยีน พบว่า *AtYSL2* มีการแสดงออกลดลงอย่างชัดเจน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีและธาตุเหล็ก โดยการทำงานของ *AtYSL2* ไม่ได้ควบคุมการดูดซึมไอออนของธาตุเหล็กหรือทองแดงในรูปของ Metal-PS แต่สามารถควบคุมการดูดซึมไอออนของธาตุเหล็กในรูปของ Metal-NA ได้ ทั้งนี้ยังพบว่าการแสดงออกของยีน β -glucuronidase ที่บ่งชี้ว่ามีการแสดงออกของ *AtYSL2* บริเวณ endodermis และ pericycle ของรากอีกด้วย (Schaaf et al., 2005) แสดงให้เห็นว่า *MeYSL2* ในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี อาจมีบทบาทในการควบคุมการรักษาสมดุลของธาตุโลหะผ่านการลำเลียงในรูปของ Metal-NA ในรากของมันสำปะหลัง

มีการศึกษาการลำเลียงธาตุสังกะสีในถั่วอัลฟัลฟา (*Medicago sativa*) ที่ได้รับการให้ธาตุสังกะสีผ่านทางใบพบว่า *MsZIP1-7*, *MsZIF1*, *MsMTP1*, *MsYSL1*, *MsHMA4*, and *MsNAS1* มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี โดยมีการแสดงออกของยีน *MsZIP2*, *MsHMA4*, and *MsNAS1* มากขึ้นในส่วนเหนือดิน และ *MsZIP2* and *MsHMA4* มีการแสดงออกมาในรากของต้นถั่ว ส่งผลให้มีการสะสมธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นทั้งบริเวณส่วนเหนือดินและราก (Cardini et al., 2021) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่ผู้วิจัยได้ศึกษาในข้างต้นนั้น ไม่ว่าจะเป็น *MeZIP* หรือ *MeYSL* อาจมีความสัมพันธ์ในการควบคุมการทำงานที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่า YSL ยังคงมีบทบาทยังไม่ชัดเจน ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตต่อไป

การศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน *MeYSLs* เป็นการยืนยันบทบาทและหน้าที่เบื้องต้นของยีน เพื่อสนับสนุนการวิเคราะห์กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง จึงทำให้เกิดความเข้าใจในกลไกการรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ในอนาคตอาจต้องมีการศึกษาในระดับ functional analysis ในแต่ละยีนให้มีความจำเพาะสืบต่อไป

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุโลหะโดยอาศัยการแพร่ของไฮโดรเจนไอออนในมันสำปะหลัง (*MeMTPs*) ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

แม้ว่าจะมีการระบุกลุ่มยีนที่มีบทบาทโดยตรงในการดูดซึมธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังดังกล่าวมาข้างต้นแล้วนั้น การวิเคราะห์กลไกการรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่ปลูก

ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีจำเป็นต้องเข้าใจภาพรวมของการลำเลียงธาตุสังกะสี รวมทั้งธาตุอื่น ๆ ที่อาจมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน ดังนั้นจึงมีการศึกษาการแสดงออกของยีน *MeMTPs* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการลำเลียงไอออนของธาตุโลหะหนักออกจากไซโตพลาซึมไปยังออร์แกเนลล์ต่าง ๆ เพื่อเป็นการยืนยันบทบาทหน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ให้เกิดความเข้าใจและเชื่อมโยงการทำงานในระดับยีน รวมถึงระดับโปรตีนสืบต่อไป

สำหรับการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *MeMTPs* นั้น ผู้วิจัยวิเคราะห์ทั้งหมด 6 ยีน ซึ่งจัดเป็นยีนที่อยู่ในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสี พบว่าส่วนใหญ่ยีนมีการแสดงออกไม่แตกต่างกันในใบ เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี ยกเว้น *MeMTP3* ที่มีแนวโน้มแสดงออกมากใบของมันสำปะหลังอายุ 7 และ 14 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ขณะที่ *MeMTPs* บางยีนแสดงออกมากในรากของมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 58) จากรายงานก่อนหน้านี้นี้มีการเพิ่มการแสดงออกของยีน *AtZIP1* และ *AtMTP1* ในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ส่งผลให้มีการสะสมธาตุสังกะสีในรากของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้น แต่ขนาดและผลผลิตของมันสำปะหลังลดลง เนื่องจากอาการขาดธาตุสังกะสีที่เกิดขึ้นบริเวณส่วนเหนือดิน (Gaitán-Solís et al., 2015a) แสดงให้เห็นว่า *MTP1* อาจมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในพืช และเป็นไปได้ว่าอาจมีการทำงานร่วมกันระหว่าง *ZIP1* และ *MTP1* ในพืช ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

การแสดงออกของยีน *MeMTP1* ในรากมันสำปะหลังไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แสดงว่าอาจไม่ได้มีบทบาทหลักในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณรากของมันสำปะหลัง ทั้งนี้จากการทำนายหน้าที่ของยีน *MeMTPs* บนฐานข้อมูลต่าง ๆ พบว่ายีนมีบทบาทในการควบคุมการรักษาสมดุลธาตุที่มีประจุเป็น Metal^{2+} (cation) โดยควบคุมการดูดซึมและลำเลียงไอออนต่าง ๆ ออกจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่ง ซึ่งมีการรายงานการเพิ่มการแสดงออกของยีน *OsMTP1* ในต้นยาสูบที่ปลูกภายใต้สภาวะที่มีความเป็นพิษของธาตุแคดเมียม พบว่าต้นยาสูบมีความเครียดจากธาตุแคดเมียมลดลงเนื่องจากต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนมีปริมาณ vacuolar thiol เพิ่มขึ้น จึงบ่งชี้ว่าต้นยาสูบมีการรักษาสมดุลธาตุแคดเมียมบริเวณแวคิวโอล (Das et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของยีน *OsMTP1* ช่วยให้ต้นข้าวทนต่อสภาวะเครียดจากธาตุสังกะสี แคดเมียม และนิกเกิลได้ (Yuan et al., 2012) แสดงให้เห็นว่า *MTP1* มีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี แคดเมียม และนิกเกิล เพื่อลดความเป็นพิษที่เกิดจากการสะสมธาตุต่าง ๆ ได้ จึงเป็นไปได้ว่า *MeMTP1* อาจมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของธาตุต่าง ๆ ภายในเนื้อเยื่อของมันสำปะหลัง ซึ่งอาจมีบทบาทอยู่บริเวณเยื่อหุ้มแวคิวโอลตามการทำนายตำแหน่งของ *MeMTP1*

สำหรับ *MeMTP2* มีการแสดงออกมากในรากของมันสำปะหลังที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยรายงานก่อนหน้านี้นี้มีการศึกษาการแสดงออกของ *mtp2* ในต้นอะ

ราบิตอพซิส พบว่า *MTP2* มีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีจากรากขึ้นสู่ยอด เมื่อมีการสะสมธาตุสังกะสีในส่วนยอดของต้นอะราบิโดพซิสพันธุ์กลายลดลง (Scott A Sinclair et al., 2018) จึงเป็นไปได้ว่า *MeMTP2* อาจมีส่วนช่วยในการลำเลียงธาตุสังกะสีจากบริเวณรากขึ้นสู่ยอดของมันสำปะหลัง เนื่องจากการทำงานของยีนสอดคล้องกับลักษณะอาการขาดธาตุสังกะสีที่ปรากฏตามสัณฐานวิทยาของต้นมันสำปะหลังที่อายุ 7-21 วัน ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่า *MTP2* อาจมีบทบาทในการรักษาสมดุลธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ทั้งนี้การแสดงผลของยีน *MeMTP2* ไม่มีผลต่อปริมาณธาตุสังกะสีที่พบในรากมันสำปะหลัง จึงเป็นไปได้ว่า *MTP2* อาจมีบทบาทที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด

ส่วนการแสดงผลของ *MeMTP3* ในใบและรากภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มแสดงผลมากกว่าเล็กน้อย โดยเฉพาะในใบที่อายุ 7 และ 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะมีธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่า *MeMTP3* อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในใบ มีการรายงานการศึกษา *AtMTP3* ในอะราบิโดพซิสด้วยวิธี RNAi พบว่า *AtMTP3* มีบทบาทกระตุ้นการสะสมธาตุสังกะสีในส่วนเหนือดินของต้นอะราบิโดพซิสและต้นอ่อนของอะราบิโดพซิสที่เจริญเติบโตในสภาวะที่มีธาตุสังกะสีมากเกินไปและขาดธาตุเหล็ก กล่าวได้ว่า *MTP3* มีบทบาทตอบสนองต่อการทนต่อสภาวะธาตุสังกะสีที่มีมากเกินไปและควบคุมสมดุลของธาตุสังกะสีในต้นพืช (Arrivault et al., 2006)

สำหรับ *MeMTP4*, *MeMTP5* และ *MeMTP12* มีการแสดงผลในทุกสภาวะในใบของมันสำปะหลังทุกช่วงอายุ จึงเป็นไปได้ว่า *MeMTP4*, *MeMTP5* และ *MeMTP12* มีการแสดงผลที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อของมันสำปะหลัง (tissue-specific expression) ดังเช่นการศึกษาการแสดงผลของยีน *NtMTPs* ในเนื้อเยื่อแต่ละส่วนของยาสูบ พบว่า *NtMTP* แต่ละยีนมีการแสดงผลที่จำเพาะในแต่ละเนื้อเยื่อ อาทิ *NtMTP9.1* และ *NtMTP9.2* แสดงออกมากในดอกอ่อนของยาสูบ แต่ไม่พบการแสดงผลในบริเวณเนื้อเยื่ออื่น ๆ (Liu et al., 2019) ทั้งนี้ยังพบว่าในรากของมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีนั้น ยีน *MeMTP12* มีการแสดงผลมากในช่วงอายุ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี แสดงให้เห็นว่า *MeMTP12* อาจมีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีในรากมันสำปะหลังที่มีการปลูกภายใต้การขาดธาตุสังกะสีมาก ๆ จึงพยายามรักษาสมดุลธาตุสังกะสีในต้นมันสำปะหลัง

อย่างไรก็ตามมีการรายงานก่อนหน้านี้พบว่ามี *MTP* บางยีนมีการแสดงผลมากภายใต้สภาวะที่มีความพิษของธาตุสังกะสีหรือมีธาตุสังกะสีมากเกินไป (Gupta et al., 2016) จึงเป็นไปได้ว่า *MeMTP* อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับทั้งสองสภาวะ ไม่ว่าจะเป็นสภาวะขาดธาตุสังกะสีหรือสภาวะที่มีความพิษของธาตุสังกะสี ดังนั้นการแสดงผลของยีน *MTP* บ่งชี้ว่ายีนส่วนใหญ่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับ

กับการรักษาสมดุลของธาตุโลหะต่าง ๆ ซึ่งจะช่วยให้พืชทนต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากธาตุโลหะได้ จึงเป็นไปได้ว่า *MeMTP* อาจมีบทบาทในการรักษาสมดุลของธาตุโลหะในมันสำปะหลัง

ถ้ากล่าวถึงความสัมพันธ์ของยีน *ZIP* กับ *MTP* นั้น ยีนทั้งสองกลุ่มอาจมีบทบาทการทำงานร่วมกัน โดยมีการรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่าต้นอะราบิดอปซิสที่ได้รับการถ่ายยีน *NgMTP1* มีการสะสมธาตุสังกะสีในใบเพิ่มขึ้น และยังพบว่ามีการแสดงออกของยีน *AtZIP4* และ *AtZIP5* เพิ่มขึ้นในยอดอีกด้วย ขณะที่ในรากของอะราบิดอปซิสที่ได้รับการถ่ายยีนพบการแสดงออกของยีน *AtZIP3* และ *AtZIP9* มากขึ้นในสภาวะขาดธาตุสังกะสี (N. Grotz et al., 1998; Gustin et al., 2009; Ricachenevsky et al., 2013a; H. Wintz et al., 2003) นอกจากนี้ยังพบการทำงานร่วมกันของ *AtZIP1* และ *AtMTP1* ในมันสำปะหลังที่ได้รับการถ่ายยีน โดยพบการเปลี่ยนแปลงของการสะสมธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่ได้รับการถ่ายยีน (Gaitán-Solis et al., 2015a) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีน *ZIP* และ *MTP* มีความสัมพันธ์ที่เกี่ยวกับการลำเลียงธาตุสังกะสี จึงเป็นไปได้ว่า *MeZIP* และ *MeMTP* ในมันสำปะหลังอาจมีการทำงานร่วมกัน

จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี ยืนยันบทบาทของยีนแต่ละยีนได้ว่าการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณใบหรือรากของต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี จึงเป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์กลไกการลำเลียงธาตุสังกะสี รวมทั้งธาตุอื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน อย่างไรก็ตามบทบาทของยีนอาจจะยังไม่ชัดเจนมากพอในแต่ละยีน ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาในรูปแบบของ functional analysis เพื่อระบุหน้าที่อย่างละเอียด นอกจากนี้การวิเคราะห์ในระดับ transcriptomic อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยให้ระบุกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีได้

5.5 การวิเคราะห์กลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี

จากการสืบหายีนและศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังทั้งหมด 3 กลุ่มยีน ซึ่งประกอบไปด้วย กลุ่ม *MeZIPs* (*ZIP1*, *ZIP2*, *ZIP3*, *ZIP4*, *ZIP5*, *ZIP6*, *ZIP8*, *ZIP11*, *IRT1* และ *IRT3*) กลุ่ม *MeYSLs* (*YSL1*, *YSL2* และ *YSL3*) และกลุ่ม *MeMTPs* (*MTP1*, *MTP2*, *MTP3*, *MTP4*, *MTP5* และ *MTP12*) รวม 19 ยีน ดังนั้นผู้วิจัยสามารถวิเคราะห์กลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีได้ ดังนี้

ต้นมันสำปะหลังที่เจริญเติบโตตั้งแต่อายุ 7 วันเป็นต้นไป หลังจากย้ายปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีการสะสมธาตุสังกะสีในใบที่โตเต็มที่ (YFEL) ลดลง แสดงให้เห็นว่าต้นมันสำปะหลังมีการขาดธาตุสังกะสีจริง เมื่อผู้วิจัยวิเคราะห์การแสดงออกของยีนทั้ง 3 กลุ่มยีนในใบและรากของต้นมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี พบว่ายีนส่วนใหญ่มีการแสดงออกในใบมากกว่าราก

โดยแสดงออกมากที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป กล่าวได้ว่ามีการควบคุมการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณไขมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป

ยีน *ZIP1*, *ZIP2*, *ZIP4*, *ZIP5*, *ZIP6*, *ZIP8* และ *IRT3* มีการแสดงออกมากในใบที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป (รูปที่ 58) ซึ่งการทำนายตำแหน่งของโปรตีน ZIP ส่วนใหญ่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ยกเว้น *ZIP4*, *ZIP6* และ *IRT3* ไม่มีอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น แต่พบว่าอยู่บริเวณคลอโรพลาสต์ด้วย จึงยืนยันได้ว่า *ZIP4* และ *ZIP6* ทำหน้าที่หลักในการลำเลียงธาตุสังกะสีที่ใบของมันสำปะหลัง ส่วน *ZIP1* และ *ZIP4* มีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 7 และ 14 วัน ขณะที่บางยีนมีการแสดงออกมาก ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเท่านั้น ได้แก่ *ZIP3* มีแสดงออกมากในใบที่อายุ 7 วัน *ZIP5* มีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 7 วัน และ *ZIP6* มีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 3 วัน การแสดงออกของยีนดังกล่าวสอดคล้องกับการทำนายการควบคุมการทำงานของยีนในระดับทรานสคริปชัน โดยพบว่ายีน *ZIP3*, *ZIP4*, *ZIP6* และ *IRT3* มีตำแหน่ง ZDRE ซึ่งเป็นตำแหน่ง cis-acting element ที่ควบคุมการทำงานของโปรโมเตอร์ของยีนในการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสี บ่งชี้ว่าเมื่อต้นมันสำปะหลังมีการสะสมธาตุสังกะสีลดลงที่อายุ 7 วัน ยีนเหล่านี้จึงได้รับสัญญาณให้มีบทบาทในการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีในไขมันสำปะหลังที่ปลูกในสภาวะขาดธาตุสังกะสี นอกจากนี้ยังพบตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองฮอร์โมนพืชบนโปรโมเตอร์ของยีนด้วย แสดงให้เห็นว่าการทำงานของยีนกลุ่ม ZIP ในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี อาจมีการกระตุ้นการควบคุมในระดับโปรโมเตอร์ของยีนส่งผลต่อการแสดงออกของยีนมากขึ้น

ส่วนยีน *YSL1*, *YSL2* และ *YSL3* มีการแสดงออกมากในรากมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป (รูปที่ 58) แสดงว่ายีนทั้งสามมีบทบาทควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณรากของมันสำปะหลัง ซึ่งสอดคล้องกับการทำนายตำแหน่งของโปรตีน YSL ที่พบว่ามีตำแหน่งอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ จึงเป็นไปได้ว่า *YSL1*, *YSL2* และ *YSL3* อาจมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมไอออนของธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของรากมันสำปะหลังร่วมกับ *ZIP1*, *ZIP4*, *ZIP5* และ *ZIP6* ซึ่งมีการแสดงออกมากบริเวณรากมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีเช่นกัน

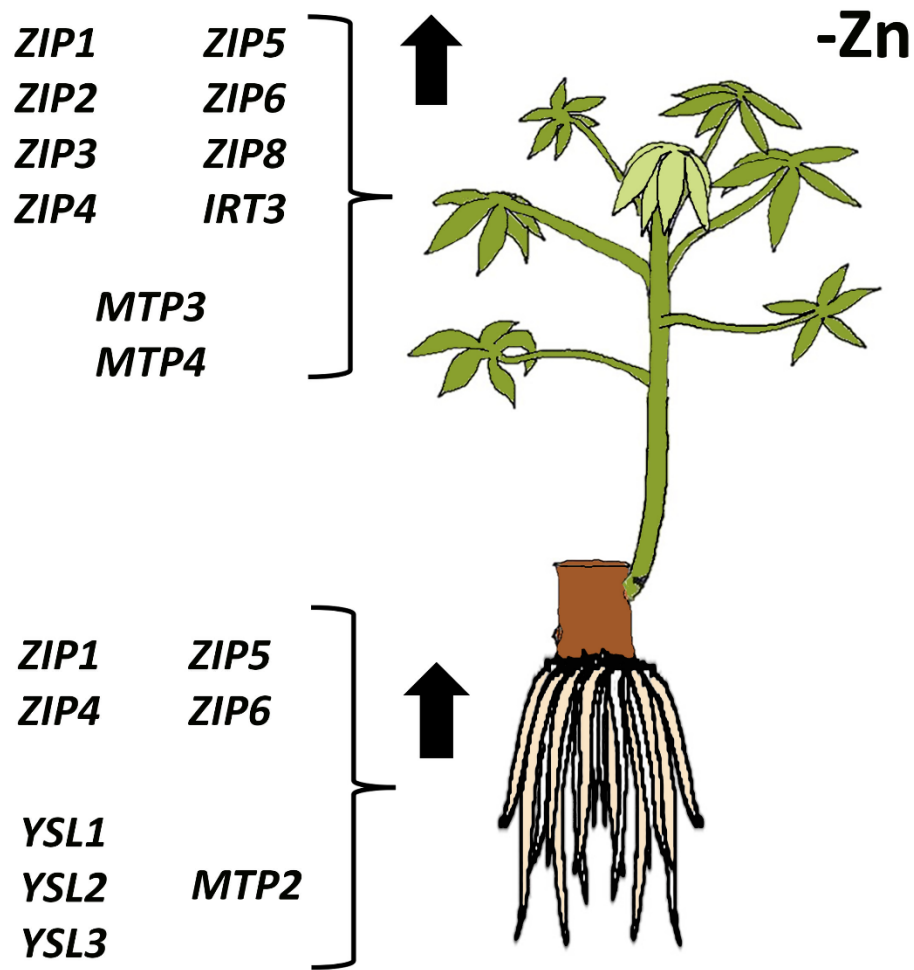
นอกจากนี้ยีน *MTP3* และ *MTP4* ยังมีแนวโน้มแสดงออกมากในไขมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7 วันเป็นต้นไปอีกด้วย (รูปที่ 58) แสดงว่า *MTP3* และ *MTP4* มีบทบาทหลักที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณใบ ซึ่งการทำนายตำแหน่งของโปรตีน *MTP3* นั้นอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มแวคิวโอล ส่วน *MTP4* อยู่บนเยื่อหุ้ม ER และเยื่อหุ้มแวคิวโอล จึงเป็นไปได้ว่าทั้งสองยีนนี้จะมีส่วนร่วมในการรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีระหว่างเซลล์หรืออแกเนลล์ต่าง ๆ และยังพบว่า *MTP2* มีการแสดงออกมากในรากที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป แสดงว่า *MTP2* นั้นทำงานบริเวณรากของมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีจริง อีกทั้งยังสอดคล้องกับการทำนายตำแหน่งของโปรตีน *MTP2* ที่พบว่าทำงานอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ จึงเป็นไปได้ว่า *MTP2*

อาจเกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของรากมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีร่วมกับ YSL1, YSL2, YSL3, ZIP1, ZIP4, ZIP5 และ ZIP6 ที่กล่าวมาข้างต้น

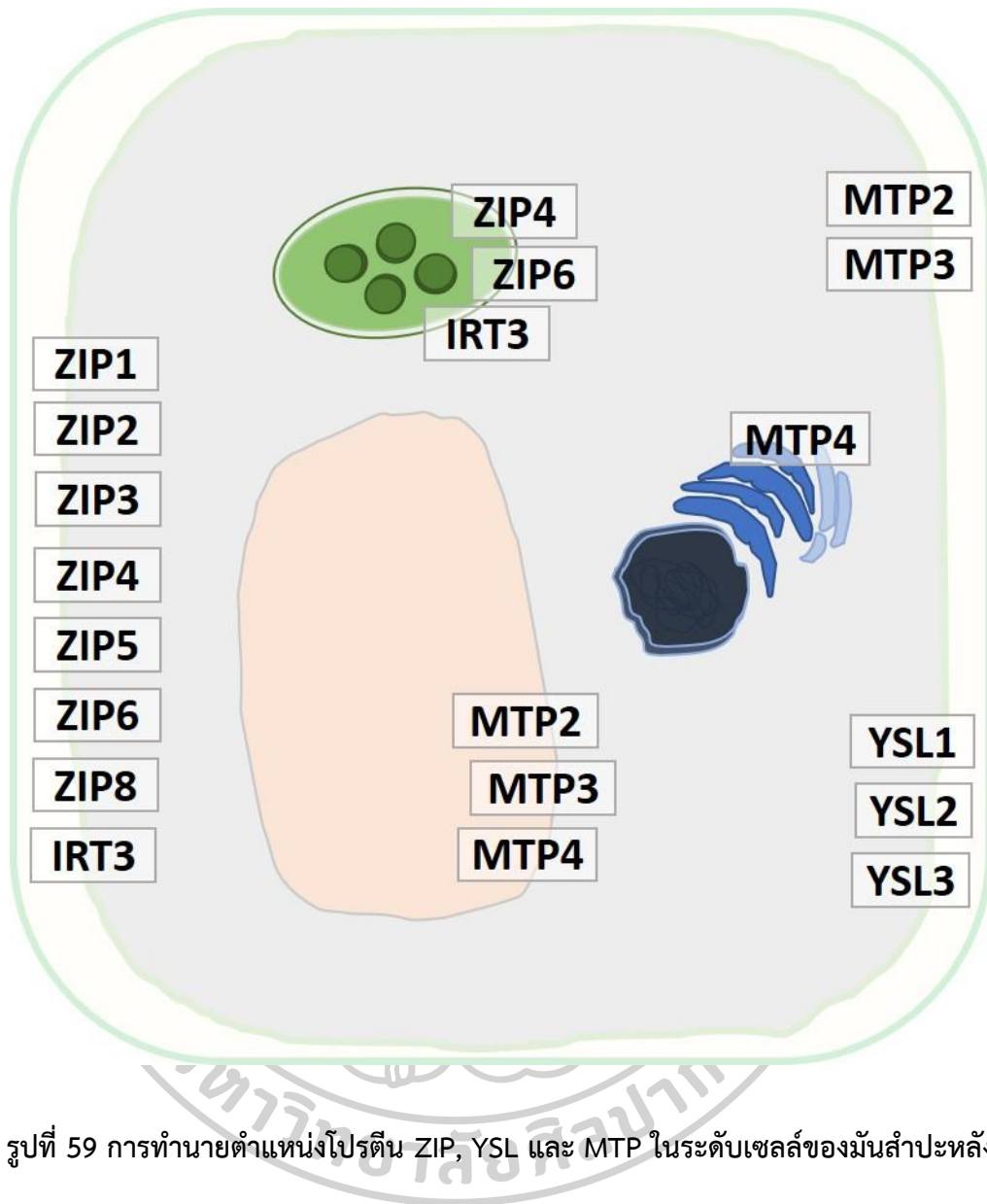
สำหรับ *MTP2* นั้นพบอยู่บนเยื่อหุ้มแควิวโกลด้วย แสดงให้เห็นว่า *MTP2* มีบทบาทในการรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีบริเวณแควิวโกลของเซลล์รากมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี กล่าวได้ว่า *MTP2* อาจมีบทบาทในการลำเลียงไอออนของธาตุสังกะสีเข้าหรือออกจากแควิวโกลที่เซลล์ราก เนื่องจากที่ ณ เวลาเดียวกันใบมันสำปะหลังขาดธาตุสังกะสี ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าต้นมันสำปะหลังจะมีการตอบสนองต่อการลำเลียงธาตุสังกะสีจากรากขึ้นสู่ยอดมากขึ้น อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของตำแหน่งการทำงานของยีนในระดับเซลล์และเนื้อเยื่อ

เมื่อมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมากขึ้นตั้งแต่ 7 วันเป็นต้นไป ไม่ว่าจะเป็น *ZIP* หรือ *MTP* ก็ตามสามารถบ่งชี้ได้ว่าภายในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีความพยายามในการลำเลียงธาตุสังกะสีเกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับอาการขาดธาตุสังกะสีที่ปรากฏขึ้นที่ใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงอย่างชัดเจนที่อายุ 14 วัน ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลัง ทำให้ความสูงและน้ำหนักของส่วนเหนือดินลดลงอย่างชัดเจนที่อายุ 21 วัน แสดงให้เห็นว่าธาตุสังกะสีมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลัง

ดังนั้นการสืบหายีนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในครั้งนี้จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการวิเคราะห์กลไกการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี เพราะยีนบางยีนอาจมีความสัมพันธ์กันหรืออาจมีส่วนช่วยในการควบคุมการทำงานร่วมกัน เพื่อรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีและธาตุอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกันในมันสำปะหลัง



รูปที่ 58 ภาพรวมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในใบและรากมันสำปะหลังพันธุ์ KU50 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (-Zn)
(ลูกศร แทน ยีนมีการแสดงออกมาก)



รูปที่ 59 การทำนายตำแหน่งโปรตีน ZIP, YSL และ MTP ในระดับเซลล์ของมันสำปะหลัง

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

เมื่อปลูกมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์ พบอาการขาดธาตุสังกะสีบนใบมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และห้วยบง 80 ที่อายุ 7-8 วัน หลังจากย้ายปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยเริ่มมีอาการซีดระหว่างเส้นกลางใบของใบอ่อน เมื่อเข้าสู่อายุ 21 วัน มีน้ำหนักแห้งและส่วนสูงของส่วนเหนือดินลดลงอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังที่ปลูกในสภาวะปกติ

การวิเคราะห์ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงของมันสำปะหลังที่อายุ 14 และ 21 วัน พบว่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในระบบแสงสอง รวมถึงปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ อัตราการคายน้ำ การชกน้ำการเปิดปากใบ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดร์ออกไซด์ที่ปากใบของมันสำปะหลังทั้งสองพันธุ์ลดลงอย่างชัดเจน ขณะที่ความต้านทานการเปิดปากใบในใบมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าสภาวะขาดธาตุสังกะสีมีผลทำให้มันสำปะหลังมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาเปลี่ยนแปลงไป

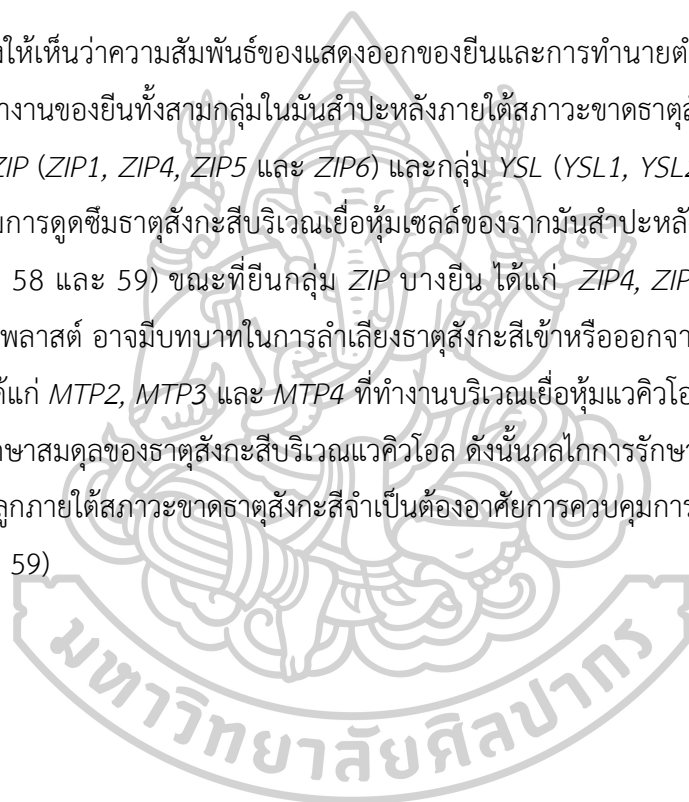
การระบุกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในมันสำปะหลัง โดยอ้างอิงจากอะราบิโดพซิสและข้าว จากการสืบหาพบ *MeZIP* 12 ยีน *MeYSL* 8 ยีน และ *MeMTP* 12 ยีน ในแต่ละยีนที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน จะมีโครงสร้างของยีนคล้ายคลึงกัน การทำนายบทบาทหน้าที่ของยีนนั้นส่วนใหญ่เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสี มีการวิเคราะห์ตำแหน่ง cis-acting elements บนโปรโมเตอร์ของยีน พบว่ายีนทั้งสามกลุ่มมีตำแหน่งเกี่ยวข้องการตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชบนโปรโมเตอร์ ยกเว้นยีนกลุ่ม *MeZIP* ที่พบว่ามีตำแหน่ง ZDRE ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะขาดธาตุสังกะสีด้วย และส่วนใหญ่โปรตีนทั้งสามกลุ่มทำงานอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ มีเพียงบางโปรตีนที่อยู่บริเวณคลอโรพลาสต์ เยื่อหุ้ม ER และเยื่อหุ้มแวคิวโอล

การวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีนในใบและรากมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยวิเคราะห์การแสดงออกของยีนทั้งหมด 19 ยีน ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมการลำเลียงธาตุสังกะสี ได้แก่ กลุ่ม *MeZIPs* (*ZIP1*, *ZIP2*, *ZIP3*, *ZIP4*, *ZIP5*, *ZIP6*, *ZIP8*, *ZIP11*, *IRT1* และ *IRT3*) กลุ่ม *MeYSLs* (*YSL1*, *YSL2* และ *YSL3*) และกลุ่ม *MeMTPs* (*MTP1*, *MTP2*, *MTP3*, *MTP4*, *MTP5* และ *MTP12*) พบว่า *MeZIPs* ส่วนใหญ่แสดงออกในใบมากกว่ารากที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี โดยแสดงออกมากในใบที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป ขณะที่ยีนกลุ่ม *MeYSLs* ทั้งสามยีนแสดงออกมากในรากที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป ยีนกลุ่ม *MeMTPs* มีการแสดงออกไม่ต่างกันมากนัก มี *MTP3* และ *MTP4* ที่มีแนวโน้มแสดงออกมากในใบที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป ส่วน

MTP2 แสดงออกมากในรากของมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีที่อายุ 7 วันเป็นต้นไป (รูปที่ 58)

เมื่อวิเคราะห์การทำนายตำแหน่งการทำงานของโปรตีนร่วมกับรูปแบบการแสดงออกของยีนข้างต้น จะเห็นได้ว่าการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการลำเลียงธาตุสังกะสีในใบและรากมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี มีบทบาทการทำงานอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (รูปที่ 58 และ 59) นอกจากนี้ยังมีบางยีนที่ทำงานอยู่บริเวณเยื่อหุ้มอแกแนลล์ต่าง ๆ ได้แก่ คลอโรพลาสต์ (*ZIP4*, *ZIP6* และ *IRT3*), แควิวโอล (*MTP2*, *MTP3* และ *MTP4*) และเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (*MTP4*) (รูปที่ 59)

แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ของการแสดงออกของยีนและการทำนายตำแหน่งของโปรตีน บ่งชี้ถึงกลไกการทำงานของยีนทั้งสามกลุ่มในมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีได้ การแสดงออกของยีนกลุ่ม *ZIP* (*ZIP1*, *ZIP4*, *ZIP5* และ *ZIP6*) และกลุ่ม *YSL* (*YSL1*, *YSL2* และ *YSL3*) มีบทบาทในการควบคุมการดูดซึมธาตุสังกะสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของรากมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสี (รูปที่ 58 และ 59) ขณะที่ยีนกลุ่ม *ZIP* บางยีน ได้แก่ *ZIP4*, *ZIP6* และ *IRT3* ที่ทำงานบริเวณคลอโรพลาสต์ อาจมีบทบาทในการลำเลียงธาตุสังกะสีเข้าหรือออกจากคลอโรพลาสต์ รวมถึงกลุ่ม *MTP* ได้แก่ *MTP2*, *MTP3* และ *MTP4* ที่ทำงานบริเวณเยื่อหุ้มแควิวโอล อาจมีส่วนช่วยในการควบคุมการรักษาสมดุลของธาตุสังกะสีบริเวณแควิวโอล ดังนั้นกลไกการรักษาสมดุลธาตุสังกะสีในมันสำปะหลังที่ปลูกภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีจำเป็นต้องอาศัยการควบคุมการทำงานของยีนเหล่านี้ (รูปที่ 58 และ 59)



ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารสูตร Hoagland

องค์ประกอบของอาหารสูตร Hoagland

องค์ประกอบ	น้ำหนักโมเลกุล (กรัม/โมล)	ความเข้มข้น ของสาร (1X)	ความเข้มข้น ของสาร (200X)	¹ ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
Stock solution 1				
แคลเซียมไนเตรท	236.200	2.500 mM	0.500 M	118.10
Stock solution 2				
โพแทสเซียมซัลเฟต	174.300	1.250 mM	0.250 M	43.56
แมกนีเซียมซัลเฟต	246.500	1.000 mM	0.200 M	49.29
Stock solution 3				
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต	136.100	0.250 mM	0.050 M	6.80
Stock solution 4				
โพแทสเซียมซัลเฟต	174.300	0.125 mM	0.025 M	4.36
Stock solution 6				
7% เหล็ก ดีทีพีเอ		0.0001925%	0.0385%	5.50
องค์ประกอบ	น้ำหนักโมเลกุล (กรัม/โมล)	ความเข้มข้น ของสาร (1X)	ความเข้มข้น ของสาร (2000X)	¹ ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
²Stock solution 5				
โพแทสเซียมคลอไรด์	74.550	0.130 μ M	0.026 mM	0.0194
แมงกานีสซัลเฟต	169.000	2.250 μ M	0.450 mM	0.76
กรดบอริก	61.830	12.500 μ M	2.500 mM	1.55
ซิงค์ซัลเฟต	287.500	2.500 μ M	0.500 mM	1.45
คอปเปอร์ซัลเฟต	249.680	0.250 μ M	0.050 mM	0.125
โซเดียมโมลิบเดต	241.900	0.100 μ M	0.020 mM	0.05
¹ ปริมาณสารที่ต้องชั่ง (กรัม) ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ณ ความเข้มข้นของสาร 200X หรือ 2000X ² การเตรียม Stock solution 5 ที่ใช้สำหรับปลูกมันสำปะหลังภายใต้สภาวะขาดธาตุสังกะสีจะไม่เติมซิงค์ซัลเฟตลงไป				

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติทางสรีรวิทยาของม้าสำปะหลัง

ความสูงของส่วนเหนือดิน

day	Descriptives							
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	16.1667	2.77909	1.60451	9.2630	23.0703	14.00	19.30
0-KU	3	17.6000	2.38956	1.37961	11.6640	23.5360	15.00	19.70
0+HB	3	14.4667	3.08599	1.78170	6.8006	22.1327	12.30	18.00
0-HB	3	14.7000	2.35160	1.35769	8.8583	20.5417	12.30	17.00
Total	12	15.7333	2.62863	0.75882	14.0632	17.4035	12.30	19.70
3+KU	3	17.4333	4.93390	2.84859	5.1769	29.6898	12.20	22.00
3-KU	3	18.0000	3.82230	2.20681	8.5049	27.4951	13.60	20.50
3+HB	3	16.6333	1.50444	0.86859	12.8961	20.3706	15.20	18.20
3-HB	3	17.0333	2.54231	1.46780	10.7179	23.3488	14.10	18.60
Total	12	17.2750	2.99124	0.86350	15.3745	19.1755	12.20	22.00
7+KU	3	20.2000	0.70000	0.40415	18.4611	21.9389	19.40	20.70
7-KU	3	18.3000	2.82135	1.62891	11.2914	25.3086	15.70	21.30
7+HB	3	19.8667	3.30051	1.90555	11.6678	28.0656	16.20	22.60
7-HB	3	16.8667	4.90034	2.82921	4.6935	29.0398	12.00	21.80
Total	12	18.8083	3.13295	0.90440	16.8178	20.7989	12.00	22.60
14+KU	3	32.6667	2.28546	1.31951	26.9893	38.3441	31.20	35.30
14-KU	3	32.9333	7.22657	4.17226	14.9815	50.8851	26.80	40.90
14+HB	3	33.5000	5.15655	2.97714	20.6904	46.3096	28.20	38.50
14-HB	3	32.3333	4.47474	2.58349	21.2175	43.4492	29.70	37.50
Total	12	32.8583	4.37253	1.26224	30.0802	35.6365	26.80	40.90
21+KU	3	51.3333	7.68266	4.43559	32.2485	70.4181	42.80	57.70
21-KU	3	40.1333	4.80139	2.77208	28.2060	52.0606	36.00	45.40
21+HB	3	53.0667	7.40428	4.27486	34.6734	71.4599	45.20	59.90
21-HB	3	36.1667	8.46896	4.88956	15.1286	57.2047	27.00	43.70
Total	12	45.1750	9.71205	2.80363	39.0043	51.3457	27.00	59.90

น้ำหนักแห้งของราก

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	0.102067	0.0292057	0.0168619	0.029516	0.174618	0.0732	0.1316
0-KU	3	0.146933	0.1302971	0.0752270	-0.176743	0.470609	0.0638	0.2971
0+HB	3	0.080900	0.0238388	0.0137634	0.021681	0.140119	0.0661	0.1084
0-HB	3	0.093433	0.0089891	0.0051898	0.071103	0.115763	0.0840	0.1019
Total	12	0.105833	0.0635290	0.0183392	0.065469	0.146198	0.0638	0.2971
3+KU	3	0.075900	0.0296582	0.0171232	0.002225	0.149575	0.0434	0.1015
3-KU	3	0.126067	0.0442615	0.0255544	0.016115	0.236018	0.0824	0.1709
3+HB	3	0.127167	0.0113037	0.0065262	0.099087	0.155247	0.1173	0.1395
3-HB	3	0.104400	0.0612590	0.0353679	-0.047776	0.256576	0.0671	0.1751
Total	12	0.108383	0.0411736	0.0118858	0.082223	0.134544	0.0434	0.1751
7+KU	3	0.171367	0.0666938	0.0385057	0.005690	0.337043	0.1078	0.2408
7-KU	3	0.113167	0.0510890	0.0294962	-0.013745	0.240079	0.0800	0.1720
7+HB	3	0.168167	0.0265255	0.0153145	0.102274	0.234060	0.1384	0.1893
7-HB	3	0.140533	0.0101120	0.0058382	0.115414	0.165653	0.1314	0.1514
Total	12	0.148308	0.0451183	0.0130245	0.119642	0.176975	0.0800	0.2408
14+KU	3	0.437867	0.0963150	0.0556075	0.198607	0.677126	0.3292	0.5127
14-KU	3	0.568567	0.1836208	0.1060135	0.112427	1.024706	0.4114	0.7704
14+HB	3	0.533933	0.0554008	0.0319856	0.396310	0.671556	0.4787	0.5895
14-HB	3	0.555233	0.2259199	0.1304349	-0.005983	1.116450	0.3966	0.8139
Total	12	0.523900	0.1432234	0.0413450	0.432900	0.614900	0.3292	0.8139
21+KU	3	0.915333	0.1304027	0.0752880	0.591395	1.239271	0.8248	1.0648
21-KU	3	1.208267	0.3166939	0.1828433	0.421555	1.994978	0.9377	1.5566
21+HB	3	1.219600	0.2090370	0.1206876	0.700323	1.738877	1.0032	1.4204
21-HB	3	1.313933	0.1392489	0.0803954	0.968020	1.659847	1.2207	1.4740
Total	12	1.164283	0.2391025	0.0690230	1.012365	1.316202	0.8248	1.5566

น้ำหนักแห้งของส่วนเนื้อดิน

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	0.9468	0.19721	0.11386	0.4569	1.4367	0.72	1.10
0-KU	3	1.0526	0.58062	0.33522	-0.3897	2.4949	0.57	1.69
0+HB	3	1.0006	0.29339	0.16939	0.2718	1.7295	0.69	1.28
0-HB	3	1.0711	0.12184	0.07034	0.7684	1.3738	0.93	1.15
Total	12	1.0178	0.29879	0.08625	0.8280	1.2076	0.57	1.69
3+KU	3	0.7421	0.30928	0.17857	-0.0262	1.5104	0.43	1.05
3-KU	3	1.4620	0.15420	0.08903	1.0789	1.8450	1.29	1.60
3+HB	3	1.4197	0.18394	0.10620	0.9627	1.8766	1.21	1.56
3-HB	3	1.2372	0.42878	0.24756	0.1721	2.3024	0.91	1.72
Total	12	1.2152	0.38793	0.11199	0.9688	1.4617	0.43	1.72
7+KU	3	1.4156	0.27650	0.15964	0.7288	2.1025	1.14	1.69
7-KU	3	1.1926	0.44292	0.25572	0.0923	2.2929	0.91	1.70
7+HB	3	1.9973	0.40384	0.23316	0.9941	3.0005	1.74	2.46
7-HB	3	1.6646	0.65295	0.37698	0.0426	3.2866	1.13	2.39
Total	12	1.5676	0.50430	0.14558	1.2471	1.8880	0.91	2.46
14+KU	3	3.3837	0.54347	0.31377	2.0336	4.7338	2.94	3.99
14-KU	3	3.5948	0.90449	0.52221	1.3480	5.8417	3.04	4.64
14+HB	3	4.7563	0.42826	0.24726	3.6924	5.8201	4.31	5.17
14-HB	3	4.3201	0.71840	0.41477	2.5355	6.1047	3.55	4.97
Total	12	4.0137	0.81346	0.23483	3.4969	4.5306	2.94	5.17
21+KU	3	9.0557	1.88374	1.08758	4.3762	13.7351	6.95	10.59
21-KU	3	5.4826	0.62476	0.36070	3.9306	7.0346	4.79	6.00
21+HB	3	10.2376	0.98044	0.56606	7.8021	12.6732	9.36	11.29
21-HB	3	6.4057	1.13310	0.65420	3.5909	9.2204	5.60	7.70
Total	12	7.7954	2.27371	0.65636	6.3507	9.2400	4.79	11.29

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอในใบมันสำปะหลัง

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	20.7324	0.07693	0.04441	20.5413	20.9235	20.66	20.81
0-KU	3	21.1919	0.73823	0.42622	19.3580	23.0258	20.42	21.89
0+HB	3	20.6350	0.10637	0.06141	20.3708	20.8993	20.56	20.76
0-HB	3	20.6625	0.25315	0.14615	20.0337	21.2914	20.50	20.95
Total	12	20.8055	0.41177	0.11887	20.5438	21.0671	20.42	21.89
3+KU	3	20.7453	0.20716	0.11960	20.2307	21.2599	20.58	20.98
3-KU	3	20.6848	0.27530	0.15894	20.0009	21.3687	20.38	20.92
3+HB	3	20.3537	0.17154	0.09904	19.9276	20.7798	20.24	20.55
3-HB	3	20.4396	0.01568	0.00905	20.4006	20.4785	20.42	20.45
Total	12	20.5558	0.23693	0.06839	20.4053	20.7064	20.24	20.98
7+KU	3	21.1900	0.94048	0.54299	18.8537	23.5263	20.11	21.82
7-KU	3	21.7138	0.36760	0.21223	20.8007	22.6270	21.46	22.13
7+HB	3	20.8314	0.17457	0.10079	20.3978	21.2651	20.69	21.03
7-HB	3	21.0566	0.97055	0.56035	18.6456	23.4675	20.46	22.18
Total	12	21.1980	0.69057	0.19935	20.7592	21.6367	20.11	22.18
14+KU	3	20.4518	0.08442	0.04874	20.2421	20.6615	20.39	20.55
14-KU	3	22.5184	0.94207	0.54390	20.1782	24.8586	21.82	23.59
14+HB	3	20.4993	0.11517	0.06649	20.2132	20.7854	20.39	20.62
14-HB	3	20.7339	1.35893	0.78458	17.3582	24.1097	19.45	22.16
Total	12	21.0509	1.13861	0.32869	20.3274	21.7743	19.45	23.59
21+KU	3	20.3813	0.03183	0.01838	20.3022	20.4603	20.36	20.42
21-KU	3	19.7423	3.21981	1.85896	11.7438	27.7407	16.24	22.57
21+HB	3	20.4072	0.09642	0.05567	20.1676	20.6467	20.35	20.52
21-HB	3	22.9034	1.12576	0.64996	20.1069	25.6999	21.94	24.14
Total	12	20.8585	1.92748	0.55642	19.6339	22.0832	16.24	24.14

ปริมาณคลอโรฟิลล์พีในใบมันสำปะหลัง

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	40.7231	0.65310	0.37707	39.1008	42.3455	40.06	41.37
0-KU	3	37.4015	4.07793	2.35440	27.2714	47.5317	33.64	41.74
0+HB	3	41.5985	0.93464	0.53962	39.2767	43.9202	40.58	42.41
0-HB	3	40.5434	1.65089	0.95314	36.4424	44.6444	38.67	41.79
Total	12	40.0666	2.55188	0.73666	38.4452	41.6880	33.64	42.41
3+KU	3	40.1546	1.54599	0.89257	36.3142	43.9951	38.43	41.42
3-KU	3	40.0224	1.59086	0.91848	36.0705	43.9743	38.61	41.75
3+HB	3	41.7922	0.71847	0.41481	40.0074	43.5770	40.96	42.24
3-HB	3	41.5600	0.28396	0.16394	40.8546	42.2654	41.27	41.84
Total	12	40.8823	1.30396	0.37642	40.0538	41.7108	38.43	42.24
7+KU	3	36.7471	3.36710	1.94399	28.3827	45.1114	34.24	40.58
7-KU	3	34.8666	1.77807	1.02657	30.4496	39.2836	32.87	36.29
7+HB	3	39.0520	0.91682	0.52933	36.7745	41.3295	38.00	39.67
7-HB	3	37.7479	4.96560	2.86689	25.4126	50.0831	32.01	40.63
Total	12	37.1034	3.13370	0.90462	35.1123	39.0944	32.01	40.63
14+KU	3	42.1145	0.11061	0.06386	41.8398	42.3893	42.01	42.23
14-KU	3	31.2179	4.86091	2.80644	19.1428	43.2931	25.66	34.67
14+HB	3	42.2690	0.27073	0.15631	41.5965	42.9415	41.97	42.50
14-HB	3	39.6410	6.78173	3.91544	22.7943	56.4878	32.69	46.24
Total	12	38.8106	5.90112	1.70351	35.0612	42.5600	25.66	46.24
21+KU	3	41.8749	0.15807	0.09126	41.4822	42.2675	41.69	41.97
21-KU	3	7.9531	2.30462	1.33057	2.2281	13.6781	5.58	10.19
21+HB	3	41.6872	0.64207	0.37070	40.0922	43.2822	40.95	42.10
21-HB	3	21.1600	3.48685	2.01314	12.4982	29.8219	19.00	25.18
Total	12	28.1688	15.13879	4.37019	18.5501	37.7875	5.58	42.10

ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในใบ

Descriptives									
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
0+KU	3	61.4555	0.57625	0.33270	60.0241	62.8870	60.87	62.03	
0-KU	3	58.5934	3.34034	1.92854	50.2956	66.8913	55.53	62.16	
0+HB	3	62.2335	0.84044	0.48523	60.1457	64.3212	61.33	63.00	
0-HB	3	61.2059	1.40598	0.81174	57.7133	64.6986	59.63	62.32	
Total	12	60.8721	2.14981	0.62060	59.5062	62.2380	55.53	63.00	
3+KU	3	60.8999	1.33893	0.77303	57.5739	64.2260	59.41	62.00	
3-KU	3	60.7072	1.31588	0.75972	57.4384	63.9761	59.53	62.13	
3+HB	3	62.1459	0.54923	0.31710	60.7815	63.5103	61.51	62.51	
3-HB	3	61.9995	0.27220	0.15715	61.3233	62.6757	61.72	62.26	
Total	12	61.4381	1.07534	0.31042	60.7549	62.1214	59.41	62.51	
7+KU	3	57.9370	2.43050	1.40325	51.8993	63.9747	56.07	60.68	
7-KU	3	56.5804	1.41344	0.81605	53.0692	60.0916	55.01	57.75	
7+HB	3	59.8834	0.74487	0.43005	58.0330	61.7338	59.02	60.36	
7-HB	3	58.8044	3.99564	2.30689	48.8787	68.7302	54.19	61.13	
Total	12	58.3013	2.45692	0.70925	56.7403	59.8624	54.19	61.13	
14+KU	3	62.5663	0.12153	0.07016	62.2644	62.8682	62.43	62.65	
14-KU	3	53.7363	3.91965	2.26301	43.9994	63.4733	49.25	56.48	
14+HB	3	62.7683	0.38334	0.22132	61.8160	63.7206	62.36	63.11	
14-HB	3	60.3750	5.42450	3.13184	46.8998	73.8502	54.85	65.69	
Total	12	59.8615	4.77247	1.37769	56.8292	62.8938	49.25	65.69	
21+KU	3	62.2561	0.12624	0.07288	61.9425	62.5697	62.11	62.33	
21-KU	3	27.6954	5.51233	3.18255	14.0020	41.3888	21.82	32.75	
21+HB	3	62.0944	0.54651	0.31553	60.7367	63.4520	61.47	62.46	
21-HB	3	44.0634	3.38703	1.95550	35.6496	52.4773	41.23	47.82	
Total	12	49.0273	15.25738	4.40443	39.3332	58.7214	21.82	62.46	

ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุดในระบบแสงสอง

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	0.747667	0.0104403	0.0060277	0.721732	0.773602	0.7407	0.7597
0-KU	3	0.731889	0.0236416	0.0136495	0.673160	0.790618	0.7060	0.7523
0+HB	3	0.735667	0.0148812	0.0085917	0.698700	0.772634	0.7250	0.7527
0-HB	3	0.752111	0.0063099	0.0036430	0.736436	0.767786	0.7477	0.7593
Total	12	0.741833	0.0156325	0.0045127	0.731901	0.751766	0.7060	0.7597
3+KU	3	0.768111	0.0121167	0.0069956	0.738012	0.798211	0.7583	0.7817
3-KU	3	0.775000	0.0174770	0.0100903	0.731585	0.818415	0.7627	0.7950
3+HB	3	0.762778	0.0135168	0.0078039	0.729200	0.796355	0.7497	0.7767
3-HB	3	0.772444	0.0168402	0.0097227	0.730611	0.814278	0.7540	0.7870
Total	12	0.769583	0.0138010	0.0039840	0.760815	0.778352	0.7497	0.7950
7+KU	3	0.816778	0.0030246	0.0017462	0.809264	0.824291	0.8133	0.8190
7-KU	3	0.801000	0.0067412	0.0038921	0.784254	0.817746	0.7933	0.8060
7+HB	3	0.820667	0.0060645	0.0035013	0.805602	0.835732	0.8170	0.8277
7-HB	3	0.821667	0.0020276	0.0011706	0.816630	0.826703	0.8203	0.8240
Total	12	0.815028	0.0096205	0.0027772	0.808915	0.821140	0.7933	0.8277
14+KU	3	0.811111	0.0080300	0.0046361	0.791163	0.831059	0.8057	0.8203
14-KU	3	0.788000	0.0118369	0.0068340	0.758596	0.817404	0.7760	0.7997
14+HB	3	0.825889	0.0020367	0.0011759	0.820829	0.830948	0.8237	0.8277
14-HB	3	0.772889	0.0155647	0.0089863	0.734224	0.811554	0.7553	0.7850
Total	12	0.799472	0.0231924	0.0066951	0.784736	0.814208	0.7553	0.8277
21+KU	3	0.796889	0.0086045	0.0049678	0.775514	0.818264	0.7870	0.8027
21-KU	3	0.767556	0.0189571	0.0109449	0.720464	0.814648	0.7457	0.7787
21+HB	3	0.813667	0.0005774	0.0003333	0.812232	0.815101	0.8133	0.8143
21-HB	3	0.731000	0.0411920	0.0237822	0.628673	0.833327	0.6907	0.7730
Total	12	0.777278	0.0382524	0.0110425	0.752973	0.801582	0.6907	0.8143

อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	13.6033	3.63926	2.10113	4.5629	22.6438	9.50	16.44
0-KU	3	8.7900	5.36916	3.09989	-4.5477	22.1277	3.21	13.92
0+HB	3	10.0167	0.91571	0.52869	7.7419	12.2914	9.41	11.07
0-HB	3	15.5367	1.18500	0.68416	12.5930	18.4804	14.35	16.72
Total	12	11.9867	4.00655	1.15659	9.4410	14.5323	3.21	16.72
3+KU	3	7.4267	4.19946	2.42456	-3.0054	17.8587	3.12	11.51
3-KU	3	10.1733	6.68872	3.86174	-6.4424	26.7890	2.85	15.96
3+HB	3	9.4200	2.99406	1.72862	1.9823	16.8577	6.20	12.12
3-HB	3	7.8367	4.92100	2.84114	-4.3878	20.0611	2.65	12.44
Total	12	8.7142	4.33039	1.25008	5.9628	11.4656	2.65	15.96
7+KU	3	12.0600	0.67268	0.38837	10.3890	13.7310	11.31	12.61
7-KU	3	15.3367	1.39307	0.80429	11.8761	18.7972	14.00	16.78
7+HB	3	14.7267	1.02031	0.58908	12.1921	17.2613	13.62	15.63
7-HB	3	12.4833	0.81070	0.46806	10.4694	14.4972	11.78	13.37
Total	12	13.6517	1.70194	0.49131	12.5703	14.7330	11.31	16.78
14+KU	3	17.7133	0.28676	0.16556	17.0010	18.4257	17.41	17.98
14-KU	3	4.6600	1.99276	1.15052	-0.2903	9.6103	3.00	6.87
14+HB	3	15.4533	0.21362	0.12333	14.9227	15.9840	15.21	15.61
14-HB	3	7.5667	0.20526	0.11851	7.0568	8.0766	7.34	7.74
Total	12	11.3483	5.70071	1.64565	7.7263	14.9704	3.00	17.98
21+KU	3	16.1833	0.39145	0.22600	15.2109	17.1557	15.90	16.63
21-KU	3	3.6967	1.23087	0.71064	0.6390	6.7543	2.44	4.90
21+HB	3	15.5067	0.58046	0.33513	14.0647	16.9486	14.94	16.10
21-HB	3	1.8267	0.75082	0.43349	-0.0385	3.6918	1.16	2.64
Total	12	9.3033	6.90580	1.99353	4.9156	13.6911	1.16	16.63

อัตราการคายน้ำ

Descriptives									
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
0+KU	3	3.7400	1.38025	0.79689	0.3113	7.1687	2.15	4.63	
0-KU	3	3.2633	2.13940	1.23518	-2.0512	8.5779	0.86	4.96	
0+HB	3	2.4933	0.48232	0.27847	1.2952	3.6915	1.97	2.92	
0-HB	3	4.2900	0.44508	0.25697	3.1843	5.3957	3.85	4.74	
Total	12	3.4467	1.31581	0.37984	2.6106	4.2827	0.86	4.96	
3+KU	3	2.0767	2.09872	1.21170	-3.1368	7.2902	0.85	4.50	
3-KU	3	4.8333	2.92292	1.68755	-2.4276	12.0943	2.34	8.05	
3+HB	3	3.2600	0.99685	0.57553	0.7837	5.7363	2.14	4.05	
3-HB	3	2.6033	2.41914	1.39669	-3.4061	8.6128	0.75	5.34	
Total	12	3.1933	2.18373	0.63039	1.8059	4.5808	0.75	8.05	
7+KU	3	3.7067	0.24583	0.14193	3.0960	4.3173	3.43	3.90	
7-KU	3	4.9233	0.57951	0.33458	3.4837	6.3629	4.39	5.54	
7+HB	3	3.0700	0.41328	0.23861	2.0434	4.0966	2.73	3.53	
7-HB	3	2.9333	0.35921	0.20739	2.0410	3.8257	2.63	3.33	
Total	12	3.6583	0.89520	0.25842	3.0896	4.2271	2.63	5.54	
14+KU	3	5.7233	0.00577	0.00333	5.7090	5.7377	5.72	5.73	
14-KU	3	3.5067	1.34968	0.77924	0.1539	6.8595	1.97	4.50	
14+HB	3	4.0633	0.71396	0.41220	2.2898	5.8369	3.31	4.73	
14-HB	3	2.8600	0.11136	0.06429	2.5834	3.1366	2.74	2.96	
Total	12	4.0383	1.28702	0.37153	3.2206	4.8561	1.97	5.73	
21+KU	3	6.6467	0.17673	0.10203	6.2076	7.0857	6.53	6.85	
21-KU	3	1.9567	0.57073	0.32951	0.5389	3.3744	1.31	2.39	
21+HB	3	4.7067	0.79758	0.46048	2.7254	6.6880	3.80	5.30	
21-HB	3	0.6267	0.27934	0.16128	-0.0673	1.3206	0.38	0.93	
Total	12	3.4842	2.48862	0.71840	1.9030	5.0654	0.38	6.85	

การชักนำการเปิดปากใบ

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	0.2633	0.15308	0.08838	-0.1169	0.6436	0.09	0.38
0-KU	3	0.1733	0.13577	0.07839	-0.1639	0.5106	0.03	0.30
0+HB	3	0.2267	0.03512	0.02028	0.1394	0.3139	0.19	0.26
0-HB	3	0.3867	0.03786	0.02186	0.2926	0.4807	0.36	0.43
Total	12	0.2625	0.12174	0.03514	0.1852	0.3398	0.03	0.43
3+KU	3	0.0633	0.07506	0.04333	-0.1231	0.2498	0.02	0.15
3-KU	3	0.7133	0.79286	0.45776	-1.2563	2.6829	0.15	1.62
3+HB	3	0.1900	0.10583	0.06110	-0.0729	0.4529	0.07	0.27
3-HB	3	0.1233	0.15373	0.08876	-0.2586	0.5052	0.02	0.30
Total	12	0.2725	0.44103	0.12732	-0.0077	0.5527	0.02	1.62
7+KU	3	0.2033	0.04509	0.02603	0.0913	0.3153	0.16	0.25
7-KU	3	0.3367	0.08963	0.05175	0.1140	0.5593	0.28	0.44
7+HB	3	0.3700	0.08544	0.04933	0.1578	0.5822	0.29	0.46
7-HB	3	0.2400	0.05292	0.03055	0.1086	0.3714	0.18	0.28
Total	12	0.2875	0.09343	0.02697	0.2281	0.3469	0.16	0.46
14+KU	3	0.4700	0.03464	0.02000	0.3839	0.5561	0.43	0.49
14-KU	3	0.1400	0.06245	0.03606	-0.0151	0.2951	0.07	0.19
14+HB	3	0.5233	0.02309	0.01333	0.4660	0.5807	0.51	0.55
14-HB	3	0.1467	0.01155	0.00667	0.1180	0.1754	0.14	0.16
Total	12	0.3200	0.18839	0.05438	0.2003	0.4397	0.07	0.55
21+KU	3	0.6067	0.04041	0.02333	0.5063	0.7071	0.57	0.65
21-KU	3	0.0667	0.02309	0.01333	0.0093	0.1240	0.04	0.08
21+HB	3	0.5567	0.02517	0.01453	0.4942	0.6192	0.53	0.58
21-HB	3	0.0167	0.01155	0.00667	-0.0120	0.0454	0.01	0.03
Total	12	0.3117	0.28415	0.08203	0.1311	0.4922	0.01	0.65

ความเข้มข้นของคาร์บอนไดร็อกไซด์ที่ปากใบ

Descriptives									
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
0+KU	3	316.6667	20.79263	12.00463	265.0149	368.3184	293.00	332.00	
0-KU	3	306.0000	32.41913	18.71719	225.4664	386.5336	271.00	335.00	
0+HB	3	379.0000	12.52996	7.23418	347.8738	410.1262	367.00	392.00	
0-HB	3	348.3333	18.14754	10.47749	303.2523	393.4143	335.00	369.00	
Total	12	337.5000	35.33862	10.20138	315.0469	359.9531	271.00	392.00	
3+KU	3	222.0000	54.58022	31.51190	86.4152	357.5848	159.00	255.00	
3-KU	3	254.3333	31.65965	18.27871	175.6864	332.9803	221.00	284.00	
3+HB	3	309.3333	12.42310	7.17248	278.4727	340.1940	295.00	317.00	
3-HB	3	287.3333	25.38372	14.65530	224.2767	350.3900	259.00	308.00	
Total	12	268.2500	45.44152	13.11784	239.3778	297.1222	159.00	317.00	
7+KU	3	305.0000	9.84886	5.68624	280.5341	329.4659	294.00	313.00	
7-KU	3	302.3333	7.50555	4.33333	283.6885	320.9782	295.00	310.00	
7+HB	3	353.6667	11.93035	6.88799	324.0300	383.3033	340.00	362.00	
7-HB	3	327.0000	4.35890	2.51661	316.1719	337.8281	322.00	330.00	
Total	12	322.0000	22.84334	6.59430	307.4860	336.5140	294.00	362.00	
14+KU	3	291.0000	1.73205	1.00000	286.6973	295.3027	289.00	292.00	
14-KU	3	307.3333	7.63763	4.40959	288.3604	326.3062	299.00	314.00	
14+HB	3	332.6667	3.05505	1.76383	325.0775	340.2558	330.00	336.00	
14-HB	3	294.0000	3.46410	2.00000	285.3947	302.6053	290.00	296.00	
Total	12	306.2500	17.60746	5.08284	295.0628	317.4372	289.00	336.00	
21+KU	3	296.6667	0.57735	0.33333	295.2324	298.1009	296.00	297.00	
21-KU	3	277.3333	12.09683	6.98411	247.2831	307.3835	268.00	291.00	
21+HB	3	318.6667	7.09460	4.09607	301.0427	336.2906	311.00	325.00	
21-HB	3	249.0000	24.26932	14.01190	188.7117	309.2883	229.00	276.00	
Total	12	285.4167	29.29927	8.45797	266.8008	304.0325	229.00	325.00	

ความต้านทานการเปิดปากใบ

Descriptives									
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
0+KU	3	5.6226	4.75962	2.74797	-6.2010	17.4461	2.63	11.11	
0-KU	3	13.9766	16.79116	9.69438	-27.7350	55.6882	3.33	33.33	
0+HB	3	4.4857	0.71849	0.41482	2.7009	6.2706	3.85	5.26	
0-HB	3	2.6020	0.24233	0.13991	2.0000	3.2040	2.33	2.78	
Total	12	6.6717	8.72694	2.51925	1.1269	12.2166	2.33	33.33	
3+KU	3	35.5556	25.01851	14.44444	-26.5939	97.7050	6.67	50.00	
3-KU	3	3.3289	3.07292	1.77415	-4.3047	10.9624	0.62	6.67	
3+HB	3	7.3606	6.01416	3.47228	-7.5794	22.3006	3.45	14.29	
3-HB	3	24.4444	23.64866	13.65356	-34.3021	83.1910	3.33	50.00	
Total	12	17.6724	20.21433	5.83537	4.8288	30.5159	0.62	50.00	
7+KU	3	3.8391	1.76996	1.02189	-0.5577	8.2359	2.78	5.88	
7-KU	3	3.4798	1.04867	0.60545	0.8748	6.0848	2.27	4.17	
7+HB	3	2.5543	0.77703	0.44862	0.6241	4.4846	2.04	3.45	
7-HB	3	4.7967	1.07115	0.61843	2.1358	7.4576	3.57	5.56	
Total	12	3.6675	1.33839	0.38636	2.8171	4.5179	2.04	5.88	
14+KU	3	1.7650	0.17180	0.09919	1.3382	2.1918	1.64	1.96	
14-KU	3	8.1830	5.28678	3.05232	-4.9501	21.3160	5.00	14.29	
14+HB	3	1.9541	0.13270	0.07662	1.6244	2.2838	1.82	2.08	
14-HB	3	6.9841	0.27493	0.15873	6.3012	7.6671	6.67	7.14	
Total	12	4.7215	3.77368	1.08937	2.3239	7.1192	1.64	14.29	
21+KU	3	1.7033	0.14275	0.08242	1.3487	2.0579	1.54	1.79	
21-KU	3	16.6667	7.21688	4.16667	-1.2611	34.5944	12.50	25.00	
21+HB	3	1.7989	0.08212	0.04741	1.5949	2.0029	1.72	1.89	
21-HB	3	58.3333	38.18813	22.04793	-36.5312	153.1979	25.00	100.00	
Total	12	19.6255	29.32424	8.46518	0.9938	38.2573	1.54	100.00	

ปริมาณธาตุสังกะสีในใบ

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	35.0333	4.67047	2.69650	23.4312	46.6354	30.90	40.10
0-KU	3	35.1000	1.99249	1.15036	30.1504	40.0496	32.80	36.30
0+HB	3	46.2333	1.50444	0.86859	42.4961	49.9706	44.50	47.20
0-HB	3	34.1333	8.29478	4.78899	13.5280	54.7387	24.60	39.70
Total	12	37.6250	6.68691	1.93034	33.3763	41.8737	24.60	47.20
3+KU	3	33.7333	3.32466	1.91949	25.4744	41.9922	30.20	36.80
3-KU	3	22.5333	6.80612	3.92952	5.6260	39.4407	15.90	29.50
3+HB	3	25.0000	8.35165	4.82183	4.2534	45.7466	17.50	34.00
3-HB	3	29.3667	5.45191	3.14766	15.8234	42.9100	24.00	34.90
Total	12	27.6583	6.96203	2.00977	23.2349	32.0818	15.90	36.80
7+KU	3	40.9667	3.32916	1.92209	32.6966	49.2368	37.30	43.80
7-KU	3	16.2667	5.00133	2.88752	3.8427	28.6907	12.80	22.00
7+HB	3	26.7667	1.41539	0.81718	23.2506	30.2827	25.90	28.40
7-HB	3	22.9667	6.82520	3.94053	6.0119	39.9214	16.80	30.30
Total	12	26.7417	10.21741	2.94951	20.2498	33.2335	12.80	43.80
14+KU	3	35.1000	7.01641	4.05093	17.6703	52.5297	27.00	39.30
14-KU	3	10.1667	2.47857	1.43101	4.0095	16.3238	8.40	13.00
14+HB	3	35.6333	12.01263	6.93550	5.7923	65.4744	28.40	49.50
14-HB	3	15.9000	7.11407	4.10731	-1.7723	33.5723	8.30	22.40
Total	12	24.2000	13.64031	3.93762	15.5334	32.8666	8.30	49.50
21+KU	3	23.0667	0.15275	0.08819	22.6872	23.4461	22.90	23.20
21-KU	3	6.0667	0.61101	0.35277	4.5488	7.5845	5.40	6.60
21+HB	3	24.3667	1.95021	1.12596	19.5221	29.2113	22.40	26.30
21-HB	3	7.4667	2.57358	1.48586	1.0735	13.8598	4.50	9.10
Total	12	15.2417	8.99004	2.59520	9.5297	20.9537	4.50	26.30

ปริมาณธาตุสังกะสีในราก

Descriptives									
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
0+KU	3	26.867	3.2347	1.8676	18.831	34.902	24.9	30.6	
0-KU	3	18.667	1.1372	0.6566	15.842	21.492	17.4	19.6	
0+HB	3	9.633	2.1079	1.2170	4.397	14.870	7.2	10.9	
0-HB	3	13.333	1.6042	0.9262	9.348	17.318	11.8	15.0	
Total	12	17.125	7.0122	2.0243	12.670	21.580	7.2	30.6	
3+KU	3	16.600	11.8051	6.8157	-12.725	45.925	5.0	28.6	
3-KU	3	21.967	4.9923	2.8823	9.565	34.368	17.8	27.5	
3+HB	3	25.500	4.4933	2.5942	14.338	36.662	21.8	30.5	
3-HB	3	27.100	5.1391	2.9670	14.334	39.866	21.2	30.6	
Total	12	22.792	7.4864	2.1611	18.035	27.548	5.0	30.6	
7+KU	3	27.967	12.0500	6.9571	-1.967	57.901	14.2	36.6	
7-KU	3	25.033	2.9195	1.6856	17.781	32.286	23.2	28.4	
7+HB	3	21.700	6.6813	3.8575	5.103	38.297	14.5	27.7	
7-HB	3	29.567	7.4661	4.3106	11.020	48.114	23.8	38.0	
Total	12	26.067	7.4846	2.1606	21.311	30.822	14.2	38.0	
14+KU	3	23.333	5.4647	3.1551	9.758	36.908	17.1	27.3	
14-KU	3	19.633	1.5885	0.9171	15.687	23.579	17.8	20.6	
14+HB	3	31.867	7.6788	4.4333	12.792	50.942	24.9	40.1	
14-HB	3	19.967	6.6108	3.8168	3.544	36.389	16.1	27.6	
Total	12	23.700	7.1479	2.0634	19.158	28.242	16.1	40.1	
21+KU	3	30.900	16.2687	9.3927	-9.514	71.314	20.0	49.6	
21-KU	3	18.067	2.3459	1.3544	12.239	23.894	15.5	20.1	
21+HB	3	28.400	8.2656	4.7721	7.867	48.933	19.2	35.2	
21-HB	3	27.267	17.2758	9.9742	-15.649	70.182	11.0	45.4	
Total	12	26.158	11.8955	3.4339	18.600	33.716	11.0	49.6	

ปริมาณธาตุเหล็กในใบ

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	80.0333	19.20035	11.08533	32.3370	127.7296	60.90	99.30
0-KU	3	68.4667	16.40772	9.47300	27.7076	109.2257	58.40	87.40
0+HB	3	114.1333	10.69268	6.17342	87.5713	140.6954	101.80	120.80
0-HB	3	104.9000	15.57915	8.99463	66.1992	143.6008	89.90	121.00
Total	12	91.8833	23.45130	6.76981	76.9831	106.7836	58.40	121.00
3+KU	3	75.5667	4.05010	2.33833	65.5057	85.6277	71.50	79.60
3-KU	3	73.0000	14.30420	8.25853	37.4664	108.5336	56.60	82.90
3+HB	3	99.1333	47.78915	27.59108	-19.5815	217.8482	52.50	148.00
3-HB	3	117.2667	24.56305	14.18148	56.2487	178.2847	96.10	144.20
Total	12	91.2417	30.40701	8.77775	71.9220	110.5614	52.50	148.00
7+KU	3	115.1333	16.25249	9.38338	74.7599	155.5067	96.70	127.40
7-KU	3	108.4000	42.96429	24.80544	1.6708	215.1292	82.70	158.00
7+HB	3	112.8667	15.86579	9.16012	73.4539	152.2795	97.90	129.50
7-HB	3	63.6333	17.77339	10.26147	19.4818	107.7849	50.70	83.90
Total	12	100.0083	31.21534	9.01109	80.1751	119.8416	50.70	158.00
14+KU	3	89.7667	34.62027	19.98802	3.7651	175.7682	52.00	120.00
14-KU	3	70.2000	4.12432	2.38118	59.9546	80.4454	65.70	73.80
14+HB	3	80.8667	29.47700	17.01855	7.6417	154.0916	61.60	114.80
14-HB	3	90.2667	23.24658	13.42142	32.5190	148.0144	71.30	116.20
Total	12	82.7750	23.45224	6.77008	67.8742	97.6758	52.00	120.00
21+KU	3	68.0333	6.12563	3.53663	52.8164	83.2502	61.00	72.20
21-KU	3	63.8667	9.21213	5.31863	40.9825	86.7509	54.10	72.40
21+HB	3	59.8667	5.78302	3.33883	45.5008	74.2325	55.10	66.30
21-HB	3	58.0000	19.90201	11.49043	8.5607	107.4393	35.50	73.30
Total	12	62.4417	10.79903	3.11741	55.5803	69.3030	35.50	73.30

ปริมาณธาตุเหล็กในราก

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	244.4000	94.17425	54.37153	10.4582	478.3418	166.10	348.90
0-KU	3	227.1667	92.57609	53.44883	-2.8051	457.1384	132.50	317.50
0+HB	3	326.3667	84.54681	48.81312	116.3407	536.3926	234.60	401.10
0-HB	3	366.8333	163.81246	94.57717	-40.0994	773.7661	220.50	543.80
Total	12	291.1917	113.85255	32.86640	218.8532	363.5301	132.50	543.80
3+KU	3	616.6000	166.81316	96.30962	202.2131	1030.9869	509.50	808.80
3-KU	3	295.4333	51.48168	29.72296	167.5458	423.3209	252.00	352.30
3+HB	3	359.4333	78.55096	45.35142	164.3019	554.5647	279.30	436.30
3-HB	3	412.4667	110.75659	63.94535	137.3320	687.6013	309.00	529.30
Total	12	420.9833	157.10373	45.35194	321.1644	520.8023	252.00	808.80
7+KU	3	382.1667	119.98301	69.27222	84.1123	680.2210	279.80	514.20
7-KU	3	288.5000	4.27902	2.47049	277.8703	299.1297	285.50	293.40
7+HB	3	402.9333	88.73975	51.23392	182.4916	623.3751	302.00	468.70
7-HB	3	389.2667	109.32842	63.12079	117.6798	660.8535	324.90	515.50
Total	12	365.7167	91.94932	26.54348	307.2949	424.1385	279.80	515.50
14+KU	3	356.1667	89.94745	51.93118	132.7248	579.6085	279.10	455.00
14-KU	3	202.5333	47.94125	27.67889	83.4407	321.6260	150.60	245.10
14+HB	3	250.1667	69.07752	39.88192	78.5686	421.7647	206.40	329.80
14-HB	3	174.9000	12.91666	7.45743	142.8132	206.9868	160.10	183.90
Total	12	245.9417	89.41767	25.81266	189.1284	302.7549	150.60	455.00
21+KU	3	215.9000	45.45998	26.24633	102.9711	328.8289	171.00	261.90
21-KU	3	95.8333	12.89044	7.44230	63.8117	127.8550	85.90	110.40
21+HB	3	233.2333	57.58649	33.24757	90.1806	376.2861	167.80	276.20
21-HB	3	137.8000	22.41584	12.94179	82.1160	193.4840	112.00	152.50
Total	12	170.6917	67.43721	19.46745	127.8441	213.5392	85.90	276.20

ปริมาณธาตุแมงกานีสในใบ

Descriptives									
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
0+KU	3	25.9000	3.13209	1.80831	18.1195	33.6805	22.30	28.00	
0-KU	3	10.3333	2.96873	1.71399	2.9586	17.7081	7.80	13.60	
0+HB	3	81.4667	32.41856	18.71687	0.9345	161.9988	62.60	118.90	
0-HB	3	60.4667	14.83251	8.56355	23.6207	97.3127	45.10	74.70	
Total	12	44.5417	33.00624	9.52808	23.5705	65.5128	7.80	118.90	
3+KU	3	16.8000	2.28692	1.32035	11.1190	22.4810	14.20	18.50	
3-KU	3	27.2667	5.85263	3.37902	12.7279	41.8054	20.80	32.20	
3+HB	3	46.0333	15.83993	9.14519	6.6848	85.3819	27.80	56.40	
3-HB	3	38.6667	1.64418	0.94927	34.5823	42.7510	36.80	39.90	
Total	12	32.1917	13.71863	3.96023	23.4753	40.9081	14.20	56.40	
7+KU	3	21.9667	3.70720	2.14035	12.7575	31.1759	17.70	24.40	
7-KU	3	31.8000	5.86600	3.38674	17.2280	46.3720	26.20	37.90	
7+HB	3	73.9667	82.72571	47.76171	-131.5354	279.4687	13.30	168.20	
7-HB	3	18.5667	1.00167	0.57831	16.0784	21.0549	17.60	19.60	
Total	12	36.5750	42.27757	12.20448	9.7131	63.4369	13.30	168.20	
14+KU	3	26.5667	6.39557	3.69248	10.6792	42.4541	21.10	33.60	
14-KU	3	49.2333	10.80247	6.23681	22.3985	76.0682	38.30	59.90	
14+HB	3	22.7667	5.97188	3.44787	7.9317	37.6016	16.00	27.30	
14-HB	3	40.5667	10.67583	6.16369	14.0464	67.0869	30.70	51.90	
Total	12	34.7833	13.40609	3.87001	26.2655	43.3012	16.00	59.90	
21+KU	3	25.9667	1.51767	0.87623	22.1966	29.7368	24.60	27.60	
21-KU	3	66.7333	13.25531	7.65296	33.8053	99.6614	53.70	80.20	
21+HB	3	20.9000	3.38674	1.95533	12.4869	29.3131	17.00	23.10	
21-HB	3	51.0667	14.50287	8.37324	15.0395	87.0938	36.40	65.40	
Total	12	41.1667	21.27727	6.14222	27.6477	54.6856	17.00	80.20	

ปริมาณธาตุทองแดงในใบ

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	1.5000	0.72111	0.41633	-0.2913	3.2913	0.70	2.10
0-KU	3	3.9000	3.16070	1.82483	-3.9516	11.7516	0.60	6.90
0+HB	3	3.0333	0.20817	0.12019	2.5162	3.5504	2.80	3.20
0-HB	3	3.3333	1.30512	0.75351	0.0912	6.5754	2.10	4.70
Total	12	2.9417	1.75782	0.50744	1.8248	4.0585	0.60	6.90
3+KU	3	2.0667	1.10151	0.63596	-0.6696	4.8030	1.00	3.20
3-KU	3	0.9000	0.10000	0.05774	0.6516	1.1484	0.80	1.00
3+HB	3	1.9667	0.92916	0.53645	-0.3415	4.2748	0.90	2.60
3-HB	3	2.6333	0.90738	0.52387	0.3793	4.8874	1.60	3.30
Total	12	1.8917	0.97836	0.28243	1.2700	2.5133	0.80	3.30
7+KU	3	2.8333	0.68069	0.39299	1.1424	4.5243	2.30	3.60
7-KU	3	3.4000	2.62298	1.51438	-3.1158	9.9158	0.60	5.80
7+HB	3	2.6667	0.57735	0.33333	1.2324	4.1009	2.00	3.00
7-HB	3	1.7667	0.90738	0.52387	-0.4874	4.0207	0.80	2.60
Total	12	2.6667	1.38586	0.40006	1.7861	3.5472	0.60	5.80
14+KU	3	2.0667	0.64291	0.37118	0.4696	3.6637	1.60	2.80
14-KU	3	0.9333	0.32146	0.18559	0.1348	1.7319	0.70	1.30
14+HB	3	1.9667	0.51316	0.29627	0.6919	3.2414	1.40	2.40
14-HB	3	3.6333	2.02567	1.16952	-1.3987	8.6654	2.00	5.90
Total	12	2.1500	1.37939	0.39820	1.2736	3.0264	0.70	5.90
21+KU	3	1.0000	0.62450	0.36056	-0.5513	2.5513	0.50	1.70
21-KU	3	1.1333	0.30551	0.17638	0.3744	1.8922	0.80	1.40
21+HB	3	2.7667	2.91433	1.68259	-4.4729	10.0063	0.70	6.10
21-HB	3	1.8667	0.80829	0.46667	-0.1412	3.8746	1.00	2.60
Total	12	1.6917	1.51325	0.43684	0.7302	2.6531	0.50	6.10

ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในใบ

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	4.4278	0.31996	0.18473	3.6329	5.2226	4.09	4.73
0-KU	3	3.1803	0.59884	0.34574	1.6927	4.6679	2.75	3.86
0+HB	3	4.8826	0.80281	0.46350	2.8883	6.8768	4.20	5.77
0-HB	3	3.7431	1.23296	0.71185	0.6802	6.8059	2.33	4.58
Total	12	4.0584	0.96811	0.27947	3.4433	4.6735	2.33	5.77
3+KU	3	4.9101	0.33385	0.19275	4.0808	5.7394	4.55	5.21
3-KU	3	3.2306	1.79081	1.03392	-1.2180	7.6792	2.16	5.30
3+HB	3	3.6061	1.07944	0.62321	0.9246	6.2876	2.38	4.42
3-HB	3	4.3702	0.11008	0.06356	4.0967	4.6437	4.25	4.47
Total	12	4.0293	1.13292	0.32705	3.3094	4.7491	2.16	5.30
7+KU	3	4.9797	0.41279	0.23833	3.9542	6.0051	4.71	5.45
7-KU	3	5.3394	0.27550	0.15906	4.6550	6.0238	5.14	5.65
7+HB	3	4.6754	1.96697	1.13563	-0.2108	9.5616	2.51	6.36
7-HB	3	4.2549	0.75978	0.43866	2.3675	6.1423	3.63	5.10
Total	12	4.8123	1.01314	0.29247	4.1686	5.4561	2.51	6.36
14+KU	3	3.8785	0.71511	0.41287	2.1021	5.6550	3.13	4.56
14-KU	3	4.7999	0.76809	0.44345	2.8919	6.7080	3.98	5.50
14+HB	3	2.5024	0.48088	0.27764	1.3078	3.6969	2.18	3.06
14-HB	3	4.1998	0.21725	0.12543	3.6601	4.7395	4.04	4.45
Total	12	3.8452	1.01284	0.29238	3.2016	4.4887	2.18	5.50
21+KU	3	2.5306	0.17162	0.09908	2.1042	2.9569	2.43	2.73
21-KU	3	4.4257	0.77560	0.44779	2.4990	6.3524	3.54	4.97
21+HB	3	2.0292	0.15352	0.08863	1.6478	2.4105	1.85	2.13
21-HB	3	3.2669	0.26581	0.15346	2.6066	3.9272	3.04	3.56
Total	12	3.0631	1.00918	0.29133	2.4219	3.7043	1.85	4.97

ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในราก

Descriptives								
day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+KU	3	2.0594	0.10142	0.05856	1.8075	2.3114	1.95	2.15
0-KU	3	1.9688	0.79629	0.45974	-0.0093	3.9469	1.09	2.64
0+HB	3	1.8597	0.25029	0.14451	1.2379	2.4814	1.63	2.13
0-HB	3	2.1430	0.20059	0.11581	1.6447	2.6413	1.92	2.30
Total	12	2.0077	0.38468	0.11105	1.7633	2.2522	1.09	2.64
3+KU	3	2.2725	0.46292	0.26727	1.1226	3.4225	1.88	2.78
3-KU	3	1.7830	0.31518	0.18197	1.0001	2.5659	1.60	2.15
3+HB	3	1.8420	0.10535	0.06082	1.5803	2.1037	1.73	1.93
3-HB	3	1.9170	0.49632	0.28655	0.6841	3.1500	1.63	2.49
Total	12	1.9537	0.37851	0.10927	1.7132	2.1941	1.60	2.78
7+KU	3	2.3234	0.26320	0.15196	1.6696	2.9772	2.09	2.61
7-KU	3	1.6082	0.42998	0.24825	0.5401	2.6764	1.24	2.08
7+HB	3	2.4126	0.28963	0.16722	1.6932	3.1321	2.21	2.75
7-HB	3	2.6024	0.25981	0.15000	1.9570	3.2478	2.31	2.80
Total	12	2.2367	0.47792	0.13796	1.9330	2.5403	1.24	2.80
14+KU	3	2.5407	0.40947	0.23641	1.5235	3.5578	2.09	2.89
14-KU	3	3.8226	0.62828	0.36274	2.2619	5.3834	3.36	4.54
14+HB	3	2.9965	0.51238	0.29582	1.7237	4.2693	2.67	3.59
14-HB	3	3.5040	0.58492	0.33770	2.0510	4.9570	2.85	3.97
Total	12	3.2160	0.68753	0.19847	2.7791	3.6528	2.09	4.54
21+KU	3	4.9496	1.03986	0.60036	2.3664	7.5327	4.05	6.09
21-KU	3	3.9351	0.21614	0.12479	3.3981	4.4720	3.73	4.16
21+HB	3	5.3738	1.38491	0.79958	1.9335	8.8141	4.43	6.96
21-HB	3	5.0900	0.95550	0.55166	2.7165	7.4636	4.46	6.19
Total	12	4.8371	1.02038	0.29456	4.1888	5.4854	3.73	6.96

ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP1 ในใบ

Descriptives								
ZIP1L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.441087	0.6919589	0.3995027	-0.277834	3.160009	1.0000	2.2386
3+Zn	3	23.857090	15.1100560	8.7237949	-13.678370	61.392550	14.8568	41.3017
7+Zn	3	135.378231	140.5699515	81.1580994	-213.816887	484.573349	50.7277	297.6436
14+Zn	3	14.526852	4.4983826	2.5971424	3.352251	25.701454	11.1997	19.6449
21+Zn	3	5790.389399	4426.7551342	2555.7882684	-5206.279971	16787.058768	1784.9125	10543.2692
0-Zn	3	23.167882	20.9860055	12.1162759	-28.964245	75.300010	6.7957	46.8257
3-Zn	3	14.143817	9.1840015	5.3023857	-8.670508	36.958141	8.6939	24.7472
7-Zn	3	9562.602170	5944.1626861	3431.8639269	-5203.516523	24328.720864	4304.3565	16012.2236
14-Zn	3	23335.579483	13645.9924881	7878.5174364	-10562.945071	57234.104037	10307.7606	37525.4294
21-Zn	3	40795.970387	31058.4076081	17931.5799931	-36357.391220	117949.331993	15495.6863	75458.5271
Total	30	7969.705640	16089.8830229	2937.5972931	1961.644579	13977.766700	1.0000	75458.5271

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP1 ในราก

Descriptives								
ZIP1R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	2.164454	1.5489233	0.8942713	-1.683285	6.012192	1.0000	3.9224
3+Zn	3	4.003469	4.3798263	2.5286939	-6.876623	14.883560	0.9827	9.0266
7+Zn	3	5.649048	1.1647225	0.6724528	2.755717	8.542379	4.3935	6.6943
14+Zn	3	1.512630	2.2434923	1.2952809	-4.060514	7.085774	0.0638	4.0969
21+Zn	3	5.372113	2.1492961	1.2408967	0.032966	10.711261	3.6099	7.7666
0-Zn	3	4.381541	2.8799103	1.6627170	-2.772553	11.535635	1.9776	7.5734
3-Zn	3	6.128345	4.0459520	2.3359315	-3.922356	16.179047	3.3661	10.7725
7-Zn	3	28.684347	15.4453021	8.9173493	-9.683910	67.052605	15.4054	45.6345
14-Zn	3	16.449650	5.5228182	3.1886006	2.730209	30.169091	10.3360	21.0778
21-Zn	3	8.757538	5.2634828	3.0388732	-4.317678	21.832754	2.9401	13.1903
Total	30	8.310313	9.4102076	1.7180610	4.796484	11.824143	0.0638	45.6345

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP2 ในใบ

Descriptives								
ZIP2R								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.663997	0.3284858	0.1896513	-0.152007	1.480001	0.3436	1.0000
3+Zn	3	1.718906	0.5879750	0.3394675	0.258295	3.179517	1.3332	2.3956
7+Zn	3	1.115996	0.2353969	0.1359065	0.531237	1.700754	0.9422	1.3839
14+Zn	3	3.004771	1.6574623	0.9569363	-1.112593	7.122136	1.2778	4.5826
21+Zn	3	1.080938	0.2586918	0.1493558	0.438312	1.723564	0.8086	1.3234
0-Zn	3	0.617232	0.2850598	0.1645793	-0.090896	1.325360	0.3637	0.9258
3-Zn	3	0.879907	1.2141028	0.7009626	-2.136092	3.895905	0.0510	2.2735
7-Zn	3	1.050347	0.9079210	0.5241884	-1.205054	3.305747	0.4178	2.0907
14-Zn	3	1.136192	1.3582733	0.7841995	-2.237946	4.510330	0.1311	2.6814
21-Zn	3	0.268831	0.1416718	0.0817942	-0.083101	0.620764	0.1141	0.3921
Total	30	1.153712	1.0269311	0.1874911	0.770249	1.537174	0.0510	4.5826

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP2 ในราก

Descriptives								
ZIP2L								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.809027	0.4575132	0.2641454	-0.327499	1.945553	0.2870	1.1401
3+Zn	3	0.730074	0.2153794	0.1243494	0.195042	1.265106	0.5623	0.9730
7+Zn	3	0.012704	0.0095974	0.0055411	-0.011138	0.036545	0.0022	0.0210
14+Zn	3	1.145913	0.4334617	0.2502592	0.069134	2.222691	0.7374	1.6006
21+Zn	3	1.788282	0.2305129	0.1330867	1.215656	2.360908	1.5616	2.0224
0-Zn	3	2.051086	1.4128812	0.8157273	-1.458706	5.560877	1.1033	3.6750
3-Zn	3	1.043949	0.3266534	0.1885934	0.232497	1.855401	0.8255	1.4195
7-Zn	3	1.480396	0.7949008	0.4589362	-0.494247	3.455039	0.5899	2.1185
14-Zn	3	1.935405	0.8872413	0.5122490	-0.268624	4.139435	0.9267	2.5950
21-Zn	3	4.793746	1.6880349	0.9745874	0.600434	8.987057	2.8448	5.7927
Total	30	1.579058	1.4223894	0.2596916	1.047929	2.110187	0.0022	5.7927

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP3 ในใบ

Descriptives								
ZIP3L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.017057	0.2575535	0.1486986	0.377259	1.656856	0.7685	1.2827
3+Zn	3	0.329053	0.2909468	0.1679782	-0.393699	1.051805	0.0462	0.6275
7+Zn	3	27.416186	29.0304633	16.7607458	-44.699482	99.531855	7.5578	60.7334
14+Zn	3	0.633703	0.3837327	0.2215482	-0.319542	1.586947	0.2406	1.0073
21+Zn	3	76.165639	35.7371048	20.6328271	-12.610251	164.941529	35.3190	101.6687
0-Zn	3	0.178313	0.1239129	0.0715412	-0.129504	0.486129	0.0960	0.3208
3-Zn	3	1.457605	0.4452868	0.2570864	0.351452	2.563759	1.1090	1.9592
7-Zn	3	396.530503	86.8272650	50.1297448	180.839619	612.221386	302.4388	473.5603
14-Zn	3	2.040447	1.2430853	0.7176956	-1.047548	5.128442	1.2701	3.4745
21-Zn	3	118.371904	22.4569009	12.9654978	62.585870	174.157939	101.3549	143.8253
Total	30	62.414041	#####	22.4092632	16.581952	108.246130	0.0462	473.5603

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP3 ในราก

Descriptives								
ZIP3R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.573712	0.4973445	0.2871420	0.338240	2.809184	1.0000	1.8828
3+Zn	3	2.135828	1.2558151	0.7250452	-0.983789	5.255446	0.9728	3.4674
7+Zn	3	8.839882	5.2016713	3.0031863	-4.081786	21.761549	2.8532	12.2543
14+Zn	3	22.070099	36.5847251	21.1222009	-68.811397	112.951594	0.6208	64.3128
21+Zn	3	1.205637	1.2123936	0.6999758	-1.806116	4.217390	0.2037	2.5534
0-Zn	3	0.147403	0.0461667	0.0266543	0.032718	0.262087	0.1181	0.2006
3-Zn	3	8.477181	5.8629403	3.3849701	-6.087170	23.041532	1.8755	13.0769
7-Zn	3	4.133197	3.1094666	1.7952514	-3.591147	11.857540	1.5922	7.6006
14-Zn	3	2.682602	3.9301521	2.2690743	-7.080436	12.445641	0.3952	7.2207
21-Zn	3	0.459015	0.0882618	0.0509579	0.239761	0.678270	0.3719	0.5484
Total	30	5.172455	11.8383574	2.1613785	0.751940	9.592971	0.1181	64.3128

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP4 ในใบ

ZIP4L Descriptives								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.011874	0.2230466	0.1287760	0.457796	1.565953	0.7950	1.2406
3+Zn	3	2.791523	1.1940909	0.6894087	-0.174763	5.757809	1.4837	3.8236
7+Zn	3	7.221025	1.4375562	0.8299735	3.649937	10.792113	6.0116	8.8104
14+Zn	3	4.641404	1.3320068	0.7690345	1.332516	7.950292	3.1081	5.5125
21+Zn	3	42.072212	11.1545076	6.4400580	14.362878	69.781545	30.5548	52.8243
0-Zn	3	0.317496	0.1751957	0.1011493	-0.117714	0.752707	0.2159	0.5198
3-Zn	3	4.535961	1.3933248	0.8044364	1.074750	7.997171	3.0582	5.8258
7-Zn	3	72.527922	7.7340583	4.4652606	53.315456	91.740388	63.6041	77.2893
14-Zn	3	53.768013	9.0255303	5.2108923	31.347353	76.188673	45.8838	63.6126
21-Zn	3	79.272624	1.6580725	0.9572886	75.153744	83.391505	77.6036	80.9195
Total	30	26.816005	31.0198039	5.6634154	15.233020	38.398990	0.2159	80.9195

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP4 ในราก

ZIP4R Descriptives								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.169470	0.1470070	0.0848746	0.804285	1.534656	1.0000	1.2626
3+Zn	3	0.859911	0.3027029	0.1747656	0.107956	1.611867	0.5108	1.0492
7+Zn	3	0.968112	0.2064695	0.1192052	0.455213	1.481011	0.8338	1.2059
14+Zn	3	0.447148	0.6679829	0.3856601	-1.212213	2.106510	0.0112	1.2162
21+Zn	3	0.845930	0.1347577	0.0778024	0.511173	1.180686	0.7328	0.9950
0-Zn	3	0.953656	0.4180289	0.2413491	-0.084785	1.992097	0.6240	1.4239
3-Zn	3	1.474885	1.1915081	0.6879175	-1.484985	4.434756	0.2403	2.6180
7-Zn	3	6.848780	3.2391481	1.8701230	-1.197710	14.895270	4.5542	10.5541
14-Zn	3	4.337385	3.0202713	1.7437544	-3.165384	11.840155	1.8682	7.7049
21-Zn	3	1.282391	0.6047824	0.3491713	-0.219972	2.784753	0.6346	1.8322
Total	30	1.918767	2.3279612	0.4250256	1.049492	2.788042	0.0112	10.5541

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP5 ในใบ

Descriptives								
ZIP5L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.377575	0.3665953	0.2116539	0.466902	2.288248	1.0000	1.7321
3+Zn	3	1.752152	0.7349974	0.4243509	-0.073683	3.577987	1.1623	2.5755
7+Zn	3	0.125129	0.0393695	0.0227300	0.027329	0.222928	0.0894	0.1673
14+Zn	3	84.033665	31.8722493	18.4014517	4.858609	163.208722	47.5085	106.2044
21+Zn	3	1455.990247	869.7075450	502.1258852	-704.483064	3616.463558	539.8597	2270.3137
0-Zn	3	2.472215	0.5925127	0.3420874	1.000331	3.944098	2.1131	3.1561
3-Zn	3	8.270713	2.8398228	1.6395725	1.216203	15.325224	6.2581	11.5190
7-Zn	3	1906.055445	942.1656605	543.9595977	-434.413803	4246.524693	1289.4478	2990.5824
14-Zn	3	4224.384093	1699.5569689	981.2396735	2.450534	8446.317653	2772.1654	6093.6424
21-Zn	3	5024.959391	1394.8389995	805.3106718	1559.987231	8489.931552	3977.9514	6608.3721
Total	30	1270.942063	1957.0096305	357.2994400	540.182657	2001.701468	0.0894	6608.3721

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP5 ในราก

Descriptives								
ZIP5R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.317723	0.3802102	0.2195145	0.373228	2.262217	1.0000	1.7390
3+Zn	3	14.992408	5.4874407	3.1681754	1.360850	28.623966	9.9912	20.8624
7+Zn	3	18.664475	9.3382219	5.3914249	-4.532954	41.861904	12.4536	29.4035
14+Zn	3	7.696938	8.1480184	4.7042606	-12.543862	27.937738	2.6962	17.0991
21+Zn	3	8.285201	0.5838424	0.3370816	6.834856	9.735546	7.8073	8.9359
0-Zn	3	8.047126	6.1740714	3.5646018	-7.290117	23.384370	3.3160	15.0313
3-Zn	3	34.146580	11.7384254	6.7771830	4.986715	63.306445	20.6426	41.9096
7-Zn	3	95.638387	71.6166981	41.3479199	-82.267354	273.544127	33.3476	173.8884
14-Zn	3	17.298846	21.6337252	12.4902371	-36.442306	71.039999	4.0968	42.2655
21-Zn	3	30.512259	17.0724441	9.8567802	-11.898043	72.922562	10.8053	40.8080
Total	30	23.659994	33.5459409	6.1246228	11.133734	36.186255	1.0000	173.8884

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP6 ในใบ

Descriptives								
ZIP6L								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.009324	0.1175583	0.0678723	0.717293	1.301355	0.8967	1.1313
3+Zn	3	1.088466	0.1228367	0.0709198	0.783323	1.393609	0.9660	1.2117
7+Zn	3	1.173369	0.4312375	0.2489751	0.102116	2.244622	0.8914	1.6698
14+Zn	3	1.032575	0.1182070	0.0682468	0.738933	1.326218	0.9013	1.1307
21+Zn	3	3.418658	1.9045394	1.0995863	-1.312480	8.149796	2.2295	5.6153
0-Zn	3	0.901362	0.0836773	0.0483111	0.693496	1.109228	0.8458	0.9976
3-Zn	3	1.133661	0.1581399	0.0913021	0.740820	1.526502	0.9620	1.2734
7-Zn	3	2.421210	0.5804025	0.3350955	0.979411	3.863010	1.8498	3.0102
14-Zn	3	3.225257	1.8516872	1.0690721	-1.374589	7.825103	1.7924	5.3161
21-Zn	3	3.641970	2.8571064	1.6495512	-3.455475	10.739416	1.2645	6.8116
Total	30	1.904585	1.5164592	0.2768663	1.338330	2.470840	0.8458	6.8116

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP6 ในราก

Descriptives								
ZIP6R								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.984935	0.0323246	0.0186626	0.904637	1.065234	0.9478	1.0070
3+Zn	3	1.113290	0.7845964	0.4529869	-0.835756	3.062335	0.4129	1.9612
7+Zn	3	0.737507	0.1778666	0.1026913	0.295662	1.179352	0.6345	0.9429
14+Zn	3	1.513306	0.8864689	0.5118031	-0.688805	3.715417	0.8531	2.5209
21+Zn	3	1.543420	0.8137801	0.4698362	-0.478122	3.564961	0.9736	2.4754
0-Zn	3	0.835994	0.2934493	0.1694230	0.107025	1.564962	0.4999	1.0414
3-Zn	3	3.207917	2.3432553	1.3528791	-2.613051	9.028886	0.9003	5.5853
7-Zn	3	1.157427	0.7072507	0.4083314	-0.599481	2.914335	0.5954	1.9516
14-Zn	3	1.276642	0.8368931	0.4831805	-0.802315	3.355600	0.5882	2.2081
21-Zn	3	0.288789	0.1268659	0.0732461	-0.026363	0.603941	0.1495	0.3978
Total	30	1.265923	1.0844922	0.1980003	0.860967	1.670879	0.1495	5.5853

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP8 ในใบ

ZIP8L	Descriptives							
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	4.525710	3.2945873	1.9021309	-3.658499	12.709918	1.0000	7.5260
3+Zn	3	8.905453	4.6263690	2.6710354	-2.587085	20.397991	5.1556	14.0754
7+Zn	3	0.627042	0.5069967	0.2927147	-0.632408	1.886491	0.1951	1.1852
14+Zn	3	10.811767	6.4368798	3.7163343	-5.178329	26.801863	3.3792	14.5581
21+Zn	3	75.863904	48.4314587	27.9619157	-44.446509	196.174317	45.0338	131.6861
0-Zn	3	33.512338	27.8990000	16.1074951	-35.792620	102.817296	16.8176	65.7201
3-Zn	3	7.252405	1.8878021	1.0899230	2.562844	11.941965	5.1106	8.6746
7-Zn	3	180.254055	#####	58.2207557	-70.249638	430.757749	109.7005	295.7531
14-Zn	3	358.248895	#####	174.7018922	-393.432678	#####	133.7225	702.3594
21-Zn	3	385.796523	#####	193.9689333	-448.784437	#####	190.4333	773.7310
Total	30	106.579809	#####	34.6624761	35.687086	177.472533	0.1951	773.7310

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP8 ในราก

ZIP8R	Descriptives							
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.903031	0.2832937	0.1635597	0.199290	1.606772	0.5840	1.1251
3+Zn	3	1.877456	2.1162108	1.2217949	-3.379503	7.134415	0.4089	4.3031
7+Zn	3	1.123489	0.4914997	0.2837675	-0.097464	2.344442	0.5561	1.4200
14+Zn	3	52.190410	87.1652713	50.3248928	-164.340128	268.720947	0.0611	152.8184
21+Zn	3	0.407880	0.0589555	0.0340380	-0.261427	0.554334	0.3570	0.4725
0-Zn	3	0.571334	0.1322973	0.0763819	0.242689	0.899978	0.4885	0.7239
3-Zn	3	1.737056	1.0447979	0.6032143	-0.858366	4.332478	0.7850	2.8548
7-Zn	3	1.506702	1.3605909	0.7855375	-1.873193	4.886597	0.2514	2.9525
14-Zn	3	1.480680	1.4238922	0.8220845	-2.056465	5.017824	0.4765	3.1102
21-Zn	3	0.478252	0.2352030	0.1357945	-0.106025	1.062529	0.2614	0.7283
Total	30	6.227629	27.7082648	5.0588139	-4.118807	16.574065	0.0611	152.8184

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP11 ในใบ

ZIP11L Descriptives								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.054402	0.3292857	0.1901132	0.236411	1.872393	0.7557	1.4075
3+Zn	3	0.742279	0.2450421	0.1414751	0.133561	1.350998	0.4985	0.9885
7+Zn	3	0.591898	0.2502236	0.1444667	-0.029692	1.213488	0.3269	0.8241
14+Zn	3	0.738000	0.1483727	0.0856630	0.369422	1.106578	0.6302	0.9072
21+Zn	3	1.094494	0.3185566	0.1839187	0.303156	1.885833	0.7971	1.4307
0-Zn	3	1.182440	0.4200936	0.2425412	0.138870	2.226011	0.8915	1.6641
3-Zn	3	0.689980	0.0656654	0.0379119	0.526858	0.853102	0.6478	0.7656
7-Zn	3	0.645840	0.2526978	0.1458952	0.018103	1.273576	0.4696	0.9354
14-Zn	3	1.226734	0.5351834	0.3089883	-0.102735	2.556204	0.7138	1.7817
21-Zn	3	1.435583	1.0212244	0.5896042	-1.101279	3.972445	0.7368	2.6076
Total	30	0.940165	0.4615600	0.0842689	0.767816	1.112514	0.3269	2.6076

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน ZIP11 ในราก

ZIP11R Descriptives								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.907333	0.1390501	0.0802806	0.561913	1.252752	0.7474	1.0000
3+Zn	3	2.610371	2.5618686	1.4790955	-3.753663	8.974406	0.6728	5.5150
7+Zn	3	0.828642	0.3808597	0.2198895	-0.117465	1.774750	0.3960	1.1133
14+Zn	3	0.500311	0.4982437	0.2876611	-0.737395	1.738017	0.0465	1.0334
21+Zn	3	1.257710	0.1867956	0.1078465	0.793684	1.721736	1.1385	1.4730
0-Zn	3	1.324184	0.4186239	0.2416926	0.284264	2.364103	0.9706	1.7864
3-Zn	3	1.018956	0.4849983	0.2800139	-0.185846	2.223759	0.4639	1.3612
7-Zn	3	0.677513	0.4451221	0.2569913	-0.428232	1.783257	0.1704	1.0035
14-Zn	3	0.376466	0.4152679	0.2397550	-0.655117	1.408048	0.0135	0.8293
21-Zn	3	0.399796	0.2621617	0.1513592	-0.251450	1.051042	0.1145	0.6300
Total	30	0.990128	0.9726530	0.1775813	0.626934	1.353323	0.0135	5.5150

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *IRT1* ในใบ

Descriptives								
IRT1L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0+Zn	3		
3+Zn	3	0.325335	0.4933740	0.2848496	-0.900274	1.550944	0.0213	0.8946
7+Zn	3	1.414435	1.6482783	0.9516339	-2.680115	5.508985	0.0071	3.2278
14+Zn	3	0.802507	0.3472541	0.2004872	-0.060120	1.665134	0.4281	1.1140
21+Zn	3	2.188648	1.9553024	1.1288944	-2.668592	7.045889	0.1125	3.9950
0-Zn	3	0.020455	0.0096231	0.0055559	-0.003451	0.044360	0.0098	0.0286
3-Zn	3	2.791619	0.7266588	0.4195367	0.986498	4.596739	1.9672	3.3391
7-Zn	3	0.102061	0.1373766	0.0793144	-0.239201	0.443324	0.0180	0.2606
14-Zn	3	2.267717	1.7497899	1.0102417	-2.079002	6.614436	1.2408	4.2881
21-Zn	3	16.794852	11.5162807	6.6489277	-11.813175	45.402879	3.6992	25.3435
Total	30	2.714974	5.7950681	1.0580298	0.551060	4.878888	0.0071	25.3435

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *IRT1* ในราก

Descriptives								
IRT1R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0+Zn	3		
3+Zn	3	6.030875	3.9949273	2.3064724	-3.893075	15.954825	1.6499	9.4722
7+Zn	3	3.678024	1.5205468	0.8778881	-0.099224	7.455272	2.1108	5.1471
14+Zn	3	10.605368	12.8472447	7.4173602	-21.308957	42.519693	0.5285	25.0722
21+Zn	3	4.175702	1.4118452	0.8151292	0.668484	7.682919	2.7847	5.6075
0-Zn	3	5.449265	2.0628126	1.1909654	0.324955	10.573576	4.0583	7.8193
3-Zn	3	1.274055	0.8607650	0.4969629	-0.864204	3.412313	0.6865	2.2621
7-Zn	3	0.921929	1.0143249	0.5856207	-1.597794	3.441651	0.3060	2.0926
14-Zn	3	8.878165	10.9979343	6.3496603	-18.442219	36.198548	2.4237	21.5769
21-Zn	3	1.027186	0.8087658	0.4669412	-0.981900	3.036272	0.2032	1.8199
Total	30	4.391892	5.6778732	1.0366331	2.271739	6.512044	0.2032	25.0722

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *IRT3* ในใบ

Descriptives								
IRT3L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.947665	0.0718876	0.0415043	0.769086	1.126244	0.8657	1.0000
3+Zn	3	3.766251	0.6288395	0.3630606	2.204127	5.328375	3.0482	4.2187
7+Zn	3	7.643436	3.1863225	1.8396241	-0.271828	15.558699	5.3054	11.2727
14+Zn	3	4.470383	1.4077233	0.8127494	0.973405	7.967362	2.9163	5.6600
21+Zn	3	54.353605	23.2791614	13.4402301	-3.475038	112.182248	30.7574	77.3023
0-Zn	3	0.145185	0.0873358	0.0504233	-0.071769	0.362139	0.0573	0.2320
3-Zn	3	2.961675	1.3128806	0.7579920	-0.299701	6.223051	1.7709	4.3696
7-Zn	3	60.865807	3.1354322	1.8102426	53.076962	68.654652	57.4193	63.5494
14-Zn	3	66.355083	26.4493576	15.2705437	0.651237	132.058930	48.1416	96.6932
21-Zn	3	122.811902	9.9176034	5.7259310	98.175209	147.448594	111.7825	130.9955
Total	30	32.432099	41.4868756	7.5744325	16.940645	47.923553	0.0573	130.9955

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *IRT3* ในราก

Descriptives								
IRT3R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.307047	0.3051919	0.1762026	0.548908	2.065186	1.0000	1.6103
3+Zn	3	2.069218	2.0277148	1.1707017	-2.967905	7.106341	0.7260	4.4017
7+Zn	3	0.930937	0.5208342	0.3007038	-0.362887	2.224761	0.3414	1.3287
14+Zn	3	0.682198	0.5777798	0.3335813	-0.753087	2.117482	0.0663	1.2122
21+Zn	3	1.030602	0.1028151	0.0593604	0.775195	1.286009	0.9163	1.1156
0-Zn	3	1.333963	0.4309298	0.2487974	0.263474	2.404452	0.9055	1.7673
3-Zn	3	2.212346	0.4030185	0.2326828	1.211193	3.213500	1.7510	2.4961
7-Zn	3	3.487680	2.7531030	1.5895047	-3.351406	10.326767	0.4257	5.7588
14-Zn	3	3.804802	3.8413182	2.2177861	-5.737561	13.347166	1.0706	8.1966
21-Zn	3	1.541034	0.7411712	0.4279154	-0.300138	3.382205	0.7162	2.1512
Total	30	1.839983	1.7296641	0.3157920	1.194116	2.485850	0.0663	8.1966

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน YSL1 ในใบ

Descriptives								
YSL1L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.180621	0.3152523	0.1820110	0.397491	1.963751	0.9972	1.5446
3+Zn	3	0.416892	0.0416825	0.0240654	0.313347	0.520437	0.3710	0.4525
7+Zn	3	0.899336	0.5257979	0.3035696	-0.406818	2.205491	0.4968	1.4942
14+Zn	3	0.539543	0.1586259	0.0915827	0.145494	0.933592	0.3575	0.6483
21+Zn	3	0.141963	0.0620279	0.0358118	-0.012122	0.296049	0.0918	0.2113
0-Zn	3	1.129447	0.4553415	0.2628915	-0.001684	2.260578	0.7243	1.6222
3-Zn	3	0.463041	0.0126342	0.0072944	0.431656	0.494427	0.4488	0.4730
7-Zn	3	0.637406	0.2288840	0.1321462	0.068827	1.205986	0.3764	0.8039
14-Zn	3	0.607728	0.1947553	0.1124420	0.123929	1.091527	0.4417	0.8221
21-Zn	3	0.061499	0.0177943	0.0102735	0.017296	0.105703	0.0478	0.0816
Total	30	0.607748	0.4234628	0.0773134	0.449624	0.765871	0.0478	1.6222

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน YSL1 ในราก

Descriptives								
YSL1R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.244847	0.2138814	0.1234845	0.713536	1.776158	1.0000	1.3952
3+Zn	3	0.669733	0.3349434	0.1933796	-0.162313	1.501778	0.2889	0.9186
7+Zn	3	0.648112	0.6262959	0.3615921	-0.907694	2.203917	0.1651	1.3557
14+Zn	3	1.030867	0.3151711	0.1819641	0.247938	1.813795	0.7766	1.3835
21+Zn	3	1.007951	0.4983863	0.2877435	-0.230110	2.246011	0.5046	1.5013
0-Zn	3	0.198540	0.2038794	0.1177098	-0.307925	0.705004	0.0572	0.4323
3-Zn	3	0.800263	0.3155944	0.1822085	0.016283	1.584243	0.5590	1.1574
7-Zn	3	1.769761	0.1536614	0.0887164	1.388045	2.151477	1.6086	1.9146
14-Zn	3	2.676082	1.0503064	0.6063947	0.066976	5.285187	1.9844	3.8847
21-Zn	3	2.322936	0.7637487	0.4409505	0.425679	4.220192	1.8563	3.2043
Total	30	1.236909	0.8749112	0.1597362	0.910212	1.563606	0.0572	3.8847

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน YSL2 ในใบ

Descriptives								
YSL2L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.334118	0.7068759	0.4081150	-0.421859	3.090095	0.8562	2.1461
3+Zn	3	3.637140	1.5561699	0.8984551	-0.228600	7.502880	2.4054	5.3861
7+Zn	3	2.387797	0.9359377	0.5403639	0.062799	4.712795	1.5130	3.3747
14+Zn	3	3.159835	0.8514483	0.4915839	1.044720	5.274949	2.1980	3.8170
21+Zn	3	1.977735	0.7044192	0.4066966	0.227860	3.727609	1.1712	2.4724
0-Zn	3	0.569370	0.2622472	0.1514085	-0.082088	1.220828	0.2998	0.8237
3-Zn	3	2.777127	0.7155427	0.4131188	0.999621	4.554634	1.9554	3.2624
7-Zn	3	1.806991	0.2405976	0.1389091	1.209313	2.404668	1.5980	2.0700
14-Zn	3	2.311187	0.2194306	0.1266883	1.766091	2.856283	2.1722	2.5641
21-Zn	3	0.552771	0.2387651	0.1378511	-0.040355	1.145896	0.3788	0.8250
Total	30	2.051407	1.1735899	0.2142672	1.613181	2.489633	0.2998	5.3861

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน YSL2 ในราก

Descriptives								
YSL2R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.536048	0.4448534	0.2568362	-0.569029	1.641126	0.1131	1.0000
3+Zn	3	0.233548	0.1619334	0.0934923	-0.168717	0.635813	0.1236	0.4195
7+Zn	3	0.017375	0.0144438	0.0083392	-0.018505	0.053256	0.0019	0.0304
14+Zn	3	0.009842	0.0042925	0.0024783	-0.000821	0.020505	0.0066	0.0147
21+Zn	3	0.160123	0.1526630	0.0881400	-0.219113	0.539358	0.0403	0.3320
0-Zn	3	0.061528	0.0396326	0.0228819	-0.036925	0.159980	0.0230	0.1022
3-Zn	3	0.030455	0.0302705	0.0174767	-0.044741	0.105651	0.0051	0.0640
7-Zn	3	0.567715	0.2041485	0.1178652	0.060582	1.074848	0.3562	0.7636
14-Zn	3	0.871400	0.5701668	0.3291859	-0.544973	2.287773	0.2318	1.3264
21-Zn	3	0.723151	0.2268419	0.1309673	0.159644	1.286657	0.4952	0.9489
Total	30	0.321118	0.3794231	0.0692729	0.179440	0.462797	0.0019	1.3264

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน YSL3 ในใบ

Descriptives								
YSL3L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.628684	0.3375202	0.1948674	-0.209762	1.467131	0.3405	1.0000
3+Zn	3	1.167533	0.3546021	0.2047296	0.286652	2.048413	0.8336	1.5397
7+Zn	3	0.239101	0.1092564	0.0630792	-0.032307	0.510509	0.1303	0.3488
14+Zn	3	0.124328	0.0265697	0.0153400	0.058326	0.190331	0.1073	0.1549
21+Zn	3	0.137018	0.0591559	0.0341537	-0.009934	0.283969	0.0696	0.1800
0-Zn	3	0.308308	0.2966149	0.1712507	-0.428524	1.045141	0.0846	0.6448
3-Zn	3	0.633254	0.1710670	0.0987655	0.208300	1.058208	0.5267	0.8306
7-Zn	3	0.867190	0.5280992	0.3048982	-0.444682	2.179061	0.4381	1.4570
14-Zn	3	0.877122	0.3687879	0.2129198	-0.038998	1.793242	0.4988	1.2356
21-Zn	3	0.677187	0.0501662	0.0289635	0.552568	0.801807	0.6267	0.7270
Total	30	0.565973	0.4130845	0.0754186	0.411724	0.720221	0.0696	1.5397

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน YSL3 ในราก

Descriptives								
YSL3R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.857430	0.5441598	0.3141708	-0.494338	2.209198	0.2562	1.3161
3+Zn	3	6.042873	5.3484098	3.0879058	-7.243314	19.329059	2.6575	12.2088
7+Zn	3	1.050571	0.7554299	0.4361476	-0.826021	2.927163	0.1784	1.4975
14+Zn	3	2.153050	0.9813567	0.5665865	-0.284775	4.590876	1.1893	3.1511
21+Zn	3	11.860972	6.2425277	3.6041251	-3.646326	27.368271	7.6572	19.0339
0-Zn	3	0.351290	0.1725698	0.0996332	-0.077397	0.779977	0.2103	0.5437
3-Zn	3	0.839827	0.3438190	0.1985040	-0.014266	1.693921	0.5698	1.2269
7-Zn	3	4.718572	2.3749479	1.3711768	-1.181126	10.618269	2.2053	6.9254
14-Zn	3	13.864653	5.5677415	3.2145371	0.033616	27.695690	7.4747	17.6728
21-Zn	3	9.735816	1.6528378	0.9542663	5.629939	13.841692	7.9463	11.2052
Total	30	5.147505	5.5841218	1.0195165	3.062360	7.232651	0.1784	19.0339

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *MTP1* ในใบ

Descriptives								
MTP1L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0+Zn	3		
3+Zn	3	1.396117	0.0715303	0.0412981	1.218426	1.573808	1.3532	1.4787
7+Zn	3	0.912673	0.5449301	0.3146156	-0.441009	2.266354	0.3420	1.4276
14+Zn	3	2.419973	0.1214205	0.0701022	2.118348	2.721598	2.3440	2.5600
21+Zn	3	1.199255	0.4055542	0.2341469	0.191802	2.206708	0.9087	1.6626
0-Zn	3	3.730081	1.0753787	0.6208702	1.058692	6.401470	2.7100	4.8533
3-Zn	3	0.933730	0.1796136	0.1037000	0.487546	1.379915	0.7956	1.1368
7-Zn	3	1.611116	0.5060293	0.2921562	0.354069	2.868162	1.0430	2.0134
14-Zn	3	1.398923	0.2424002	0.1399498	0.796768	2.001078	1.1368	1.6150
21-Zn	3	1.121624	0.5037212	0.2908236	-0.129689	2.372937	0.7581	1.6966
Total	30	1.698593	1.0711884	0.1955713	1.298604	2.098581	0.3420	4.8533

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *MTP1* ในราก

Descriptives								
MTP1R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0+Zn	3		
3+Zn	3	0.401898	0.3070483	0.1772744	-0.360852	1.164648	0.1932	0.7545
7+Zn	3	0.169167	0.1545786	0.0892460	-0.214828	0.553161	0.0682	0.3471
14+Zn	3	0.966056	1.4649771	0.8458049	-2.673149	4.605261	0.0486	2.6556
21+Zn	3	1.450258	1.0178569	0.5876599	-1.078239	3.978755	0.7855	2.6220
0-Zn	3	0.145432	0.0942375	0.0544080	-0.088667	0.379531	0.0755	0.2526
3-Zn	3	0.234804	0.2583872	0.1491799	-0.407065	0.876673	0.0788	0.5331
7-Zn	3	1.076995	0.5721582	0.3303357	-0.344325	2.498315	0.4281	1.5091
14-Zn	3	1.474308	1.5249531	0.8804321	-2.313886	5.262502	0.2297	3.1754
21-Zn	3	1.122221	0.4318720	0.2493414	0.049391	2.195050	0.6520	1.5011
Total	30	0.780182	0.8280127	0.1511737	0.470997	1.089367	0.0486	3.1754

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *MTP2* ในใบ

Descriptives								
MTP2L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0+Zn	3		
3+Zn	3	1.117158	0.1714459	0.0989844	0.691263	1.543054	0.9701	1.3054
7+Zn	3	0.756554	0.4154581	0.2398648	-0.275501	1.788610	0.5004	1.2359
14+Zn	3	1.767168	0.2416764	0.1395319	1.166810	2.367525	1.5553	2.0304
21+Zn	3	1.755868	1.4841846	0.8568944	-1.931051	5.442787	0.5829	3.4244
0-Zn	3	2.265574	0.8257951	0.4767730	0.214186	4.316963	1.4368	3.0884
3-Zn	3	0.758740	0.1351548	0.0780317	0.422997	1.094483	0.6473	0.9091
7-Zn	3	2.521926	1.8699189	1.0795982	-2.123211	7.167062	1.2602	4.6702
14-Zn	3	1.166929	0.2073361	0.1197056	0.651878	1.681981	0.9519	1.3656
21-Zn	3	3.664087	3.7026201	2.1377087	-5.533732	12.861905	0.4807	7.7274
Total	30	1.766361	1.5197612	0.2774692	1.198873	2.333849	0.4807	7.7274

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *MTP2* ในราก

Descriptives								
MTP2R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0+Zn	3		
3+Zn	3	0.422440	0.1549716	0.0894729	0.037470	0.807411	0.3223	0.6009
7+Zn	3	0.479049	0.3068109	0.1771373	-0.283111	1.241210	0.2713	0.8314
14+Zn	3	0.040293	0.0268803	0.0155193	-0.026481	0.107068	0.0137	0.0675
21+Zn	3	1.338181	0.3969886	0.2292015	0.352007	2.324356	0.9050	1.6847
0-Zn	3	0.378425	0.3184632	0.1838648	-0.412682	1.169531	0.1881	0.7461
3-Zn	3	0.464070	0.3699969	0.2136178	-0.455053	1.383194	0.1723	0.8802
7-Zn	3	1.700675	0.7691323	0.4440588	-0.209956	3.611306	0.8782	2.4021
14-Zn	3	3.099961	0.6854609	0.3957510	1.397181	4.802740	2.5294	3.8603
21-Zn	3	3.122427	1.2349582	0.7130034	0.054620	6.190233	2.1244	4.5035
Total	30	1.221407	1.1758842	0.2146861	0.782325	1.660490	0.0137	4.5035

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *MTP3* ในใบ

Descriptives								
MTP3L	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	1.239502	0.3930378	0.2269205	0.263142	2.215862	1.0000	1.6931
3+Zn	3	1.043213	0.0430944	0.0248806	0.936160	1.150265	0.9993	1.0854
7+Zn	3	0.863597	0.1016281	0.0586750	0.611139	1.116055	0.7875	0.9790
14+Zn	3	1.128904	0.2072506	0.1196562	0.614065	1.643743	0.9551	1.3583
21+Zn	3	1.467155	0.3947364	0.2279011	0.486576	2.447735	1.0118	1.7116
0-Zn	3	1.527197	0.3910711	0.2257850	0.555723	2.498672	1.0770	1.7823
3-Zn	3	0.889023	0.0976430	0.0563742	0.646465	1.131582	0.7941	0.9891
7-Zn	3	1.247924	0.1517223	0.0875969	0.871025	1.624823	1.0728	1.3390
14-Zn	3	1.765419	0.7547937	0.4357803	-0.109592	3.640431	1.1103	2.5908
21-Zn	3	1.190303	0.9159930	0.5288488	-1.085150	3.465756	0.4750	2.2227
Total	30	1.236224	0.4588129	0.0837674	1.064900	1.407547	0.4750	2.5908

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการแสดงออกของยีน *MTP3* ในราก

Descriptives								
MTP3R	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0+Zn	3	0.987548	0.4734553	0.2733496	-0.188580	2.163677	0.4466	1.3263
3+Zn	3	0.421542	0.3252177	0.1877646	-0.386344	1.229428	0.0581	0.6851
7+Zn	3	0.248658	0.3541502	0.2044687	-0.631100	1.128416	0.0066	0.6551
14+Zn	3	1.492295	2.5634262	1.4799948	-4.875609	7.860198	0.0101	4.4523
21+Zn	3	1.283230	0.8900567	0.5138745	-0.927794	3.494253	0.3124	2.0608
0-Zn	3	0.214259	0.2553356	0.1474181	-0.420029	0.848548	0.0600	0.5090
3-Zn	3	1.057363	1.5531811	0.8967295	-2.800953	4.915679	0.1237	2.8503
7-Zn	3	0.869052	0.7037777	0.4063263	-0.879229	2.617333	0.3212	1.6628
14-Zn	3	2.167224	2.1208260	1.2244594	-3.101199	7.435648	0.6318	4.5871
21-Zn	2	2.785055	0.0936813	0.0662427	1.943361	3.626748	2.7188	2.8513
Total	29	1.096332	1.2867143	0.2389369	0.606892	1.585772	0.0066	4.5871

MeZIP3

```

1      10     20     30     40     50     60     70     80     90     100    110    120    130
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

131    140    150    160    170    180    190    200    210    220    230    240    250    260
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

261    270    280    290    300    310    320    330    340    350    360    370    380    390
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

391    400    410    420    430    440    450    460    470    480    490    500    510    520
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

521    530    540    550    560    570    580    590    600    610    620    630    640    650
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
                                     CACAGGTA TAGTTTCA TAGGTTGCTTT
                                     CAGGGGTTAGTTTCA TAGGTTGCTTT
                                     CaaGGaTAGTTTCA TAGGTTGCTTT

651    660    670    680    690    700    710    720    730    740    750    760    770    780
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CTTTTTAGTGATTA CTCTGTTCTGTTGATATTCATCCCTGTTTGGATTGTAGCTCTGTTTTCTGTTAGTGAGGTTTTGGAGTGGGATTGTGTTCCATTTCAGTGATATAGGGATTCA
CTTTTTAGTGATTA CTCTGTTCTGTTGATATTCATCCCTGTTTGGATTGTAGCTCTGTTTTCTGTTAGTGAGGTTTTGGAGTGGGATTGTGTTCCATTTCAGTGATATAGGGATTCA
CTTTTTAGTGATTA CTCTGTTCTGTTGATATTCATCCCTGTTTGGATTGTAGCTCTGTTTTCTGTTAGTGAGGTTTTGGAGTGGGATTGTGTTCCATTTCAGTGATATAGGGATTCA

781    790    800    810    820    830    840    850    860    870    880    890    900    910
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TTGGAGCTTCTGAAAGCGTAAACACATTAAGCCCTTGTAGCAGCCTCACTTTCATCAATCTTTGAAAGCATGGGACTTGGTGGTTCAGGATTTTCAGATTTAATTCATTT
TTGGAGCTTCTGAAAGCGTAAACACATTAAGCCCTTGTAGCAGCCTCACTTTCATCAATCTTTGAAAGCATGGGACTTGGTGGTTCAGGATTTTCAGATTTAATTCATTT
TTGGAGCTTCTGAAAGCGTAAACACATTAAGCCCTTGTAGCAGCCTCACTTTCATCAATCTTTGAAAGCATGGGACTTGGTGGTTCAGGATTTTCAGATTTAATTCATTT

911    920    930    940    950    960    970    980    990    1000   1010   1020   1030   1040
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
GCGAAATCTCAATTTAATCATAAATACATGAATATATGCATCATCTGCTTGAGGCAAAATTAAGTCTCAGGAGTAGCCGTTATGGTATATTTTTCATGACACCTCCACAGGAAATAGC

1041   1050   1060   1070   1080   1090   1100   1110   1120   1130   1140   1150   1160   1170
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
AATCGAATAGGAAATACAAAGTTACGATAGGATACACACCTCACTAGTGAAGGAGTCTGAACTCAGCAGCTGCCGGATATTAATATACATGACCTTTGTTGATCTACTTGTGAGAT

1171   1180   1190   1200   1210   1220   1230   1240   1250   1260   1270   1280   1290   1300
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TTTATGATTTCAAAATGCATCCATTTTAGGTTGCAGCTTGGTGCATGATTCACCTGTTTGGCATAGGCTTTATGCTTTGCTTGCATGAGGAGTATGCTCCACCGTCAATTAATATAGTT

1301   1310   1320   1330   1340   1350   1360   1370   1380   1386
MeZIP3gDNA |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
MeZIP3fseq |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
Consensus  |-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TTCACTTTTAGAAATACCCAGTTTGGTTTGATATGACTTTATGTTGAAAGGCTAAGATATGATACCATTTATTTTACTCTA

```



MeZIP6

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130
MeZIP6gDNA	ATAGACTCGCCGAGTCTTCTCCCTCTCGTCTTCCCAATCCCTAGAACAAACCCCTCGTGTCTCTCTTTTCCATGGCAGTATCACCCGTTTGGCTTACCCACACGGCTAGAGCCCTCAGCTGCCG													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	131	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260
MeZIP6gDNA	GGACAGCAGGGCGGCTACCCATCTGAGCTATCTCTGTCTTATATATCTTTACACAGCGTTTGGGCATCTCTTCTCCGTACTCTTAGCTCGATATTTTACGGACAGCCCTTTACGACAGGGC													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	261	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390
MeZIP6gDNA	ATTCTTGTGATTAAGTCTTGTGCGCGGTGTAATCTTGTCCACCTCTTGGTTACAGTCTCTCTGATGCTTATGATGCTCTCCGATTTGTCAGGTGGCTTAAACATCTTGGAGAGACTTCCCTT													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	391	400	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	510	520
MeZIP6gDNA	TTGCGGATTTGGTACCTTGGTGGCGCTTGGCTTCTTATCGTGGATTTAACCCAGGTGGCAGTGGAGCATAGTCATGGTCATGGCGGGAGATGAACAGAGTGGAGTATATCCCGTTGG													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	521	530	540	550	560	570	580	590	600	610	620	630	640	650
MeZIP6gDNA	GACACAGGGAGAAATTTGGGAAAGAGGTGGGAGATTTGTCAGAGTTGATTTGGTGAAGAGGGGGAGGAGATTTGATGACCTAAGACAGAGATTTGTTCCACGGTTTGGAAATGGGATT													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	651	660	670	680	690	700	710	720	730	740	750	760	770	780
MeZIP6gDNA	ATATTTACCTCGGTAAATTTGAGTAACTATGGGTATGTCACAGATCAGTGCACATAGGCCCTTGTGCTCTTCCGTTCCACAGATCTCGAGGGATGGGCTCGGTGGCTGATTTGCTC													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	781	790	800	810	820	830	840	850	860	870	880	890	900	910
MeZIP6gDNA	AGGTATGCTTACCTTTTGTATTTTACTTTTATTAATTAATTTGTCGGATTCGATGTTTGTGGGAGATGATATATATATTTTATTACAGAGATTAAGTTTTTATTTTGTAT													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	911	920	930	940	950	960	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040
MeZIP6gDNA	ATTACCAAAATTCACAGTAAATTTGAAATTCAGGATTAATCGTAAACCCCTATCGATTTTAAATTAATTCACACTAGATCTCATTTAAAGAAATCTAATGTTCTCATTAATATTTAAAA													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1041	1050	1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120	1130	1140	1150	1160	1170
MeZIP6gDNA	TGAGTTTTTAAATGAATTTAGTAGTCTAAATTTACCTAAAGAGTTGATCTAATGATATTAATCTAGAGATTTCAATTAATTTATCTATCACCTTGAATTTAAAGTAGA													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1171	1180	1190	1200	1210	1220	1230	1240	1250	1260	1270	1280	1290	1300
MeZIP6gDNA	GATAAAATGGTATTTTAAAGGATCAAACTGAGTAAAGTCCCTCTTTTCATTTAGCCATTAACCTTCCCTTCCACTCTCAGTGCACAAACCCATATGGAAGAGATCTTTC													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1301	1310	1320	1330	1340	1350	1360	1370	1380	1390	1400	1410	1420	1430
MeZIP6gDNA	ATCTATCACATATATACACATCCAGCCATATTTTCTGCTTAGATCACTAGATACATCTTTAGTCAAAACTATAGGCTATTATAGGCAATTTCAAGTGTATTAAGAGTTGA													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1431	1440	1450	1460	1470	1480	1490	1500	1510	1520	1530	1540	1550	1560
MeZIP6gDNA	GGGATGCAATTTATCTCTTTGACGTCARAAATTTTCAATATGATTTATGCTCTAATCTTAATCCATCTTTCGCTTGAATTTCAAGGACTGTTTATCTTTATTTCTTTT													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1561	1570	1580	1590	1600	1610	1620	1630	1640	1650	1660	1670	1680	1690
MeZIP6gDNA	AATCTTAAATCTTTCAGAGTCTTGAATCTTGGACATGACAAATTTGATGCAATATTTTATTTGCACTAATGGAGTGGATGATTAATACATGCTTTCATTAATACATT													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1691	1700	1710	1720	1730	1740	1750	1760	1770	1780	1790	1800	1810	1820
MeZIP6gDNA	GGTATTTATGTTTGTGCGACATAGCATAAATATCAATTAATATTAATTAATCAACTCTCAATGCTAAGATCAAAATACACACTATATGATGACAGTATATCATTTG													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1821	1830	1840	1850	1860	1870	1880	1890	1900	1910	1920	1930	1940	1950
MeZIP6gDNA	GATCGAGGAAACAAAGACAGCTATAGGTTAAGTCAACGTCAGTGTCTTCTAGTACCAGCAAAACACCCAAATCCCATACTATTTCTCCATTTCCAGTAGTCAACTCCACACTC													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	1951	1960	1970	1980	1990	2000	2010	2020	2030	2040	2050	2060	2070	2080
MeZIP6gDNA	AAATATAGTCCCACTCAGCTCAGTGAATATTTACTGAGATATTTTCTTCCATCAGTTCACCTTCGATTTGGAGTGGACACAAACACTTGGAGCTCATTTCAACTTAGGTT													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	2081	2090	2100	2110	2120	2130	2140	2150	2160	2170	2180	2190	2200	2210
MeZIP6gDNA	GAACTGGATGAGAAACACTCCCTTCACGCTAGAGCAATGGCTACATGACTTGGATCTTCATTTGTCGAATGCAATCTTATAACTAAGCATGCATATTAACAGAGAGTGAAC													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	2211	2220	2230	2240	2250	2260	2270	2280	2290	2300	2310	2320	2330	2340
MeZIP6gDNA	GGAGCACTTGTGTTGCTTACTTATCTTATGATGCTTGAATATGTTGAGAGCAAACTAATATCTTTATATGCAATGCTTTAGCTACACATATACATGAGATATTTGGGATTTGAGGCA													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	2341	2350	2360	2370	2380	2390	2400	2410	2420	2430	2440	2450	2460	2470
MeZIP6gDNA	GGATTTAGCTTTGGACAGTGGCTACATGTCTCATGTTCTCAGTACACACCATAGGGATAGTGGGATGATTTGTTTCATGACAGGATGATGACATTAATCCAAATGCTTGATTA													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	2471	2480	2490	2500	2510	2520	2530	2540	2550	2560	2570	2580	2590	2600
MeZIP6gDNA	TGGAGGATATTGGGTCCTATCTCGGCATACTATATACATGGCTTGTGATCTCATAGCTTGTATTTTCCATACAGGTTGATGATTTCTCATCTACTCCATGGTGAAGAGACATCTTCAT													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	2601	2610	2620	2630	2640	2650	2660	2670	2680	2690	2700	2710	2720	2730
MeZIP6gDNA	TGCTTACTGTTGGCTTACTGCAATGTCATACTTGGCTTGGCTTAGAGTTTATGTTTGTCTCTGAGATGCATGTAATCAAAATCAATGGCTCGTGTAGCTCAATTAACAACTTA													
MeZIP6f seq													
Consensus													
	2731	2740	2750	2760	2770	2780	2790	2800	2810	2814				
MeZIP6gDNA	TACAAATTCAACATGTTCTATATCAGCATCCAGGTTGTCATACAGGAGGATTAATCATAGTGAATATATATACAA													
MeZIP6f seq													
Consensus													

MeIRT1

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130
MeIRT1gDNA	AAATATTCCAAATCGCCAGAAAGAACATACCARTGGCTACTTTCARATAGTTCATCTAAGCTCATCTCAATCATCTTCATCATCTCCATCTCCACATCCAAAGCCATATCACATCCGAGC													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	131	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260
MeIRT1gDNA	AATGCAGACAGAACAAATATCTTGCARTGATAAARAAGAGCTTGCACCTAAGATATTGCCACTGTGTCARTCTTAGTACACAGATGATAGGTGATAGGAGCTCCCTCTTTTACACATTCART													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	261	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390
MeIRT1gDNA	TCCTGCTTAATCCAGAAAAGACCTATTGTATCGTTAARACGTTTGCAGCAGGATTAATCTTGCARCTGGTTTTATGCACGTTTTGCCTGATCTTCCGACATGTTATCGCAGCTGCTTAAG													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	391	400	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500	510	520
MeIRT1gDNA	GAARATCCATGGCACAGTTCCATTTACTGGATTCTTGGCTATGTTGTCTGCTATAGGACACTGATGGTGGATCTATGGCCACTAGATTTATAGCACAGATGATAGTGTGGTATAGATCCAG													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	521	530	540	550	560	570	580	590	600	610	620	630	640	650
MeIRT1gDNA	CTGCAGAGTGAAGTTGTTTCATAGAGTAGAGAGTGGGTTGTAGAGGTACAGGACATTTTCATGGTCAATTTTCATGATCTAAGCTGCAGTGGTGACACACARTGCTTCGATACAGAGTTAT													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	651	660	670	680	690	700	710	720	730	740	750	760	770	780
MeIRT1gDNA	TGGCATGGTAAATAGATTTTCTAAGACTCTTTTTTAAATATACATTTTTTAAATATAGCTTAGTTTAAATGTTCTGTAGGACTGGAACTGGAACTATTGTTCAATCAGTAGTATGGTCTC													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	781	790	800	810	820	830	840	850	860	870	880	890	900	910
MeIRT1gDNA	TCATATGGAGCTCCACACACACTTGCAGTACAAAGGCTAGTGGCTGCTTTGCTCCATCAARTGTTGAGGAAATGGGCTTGGTGGTGCATCTCCAGGTTAATTTTACATAAATTTTAT													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	911	920	930	940	950	960	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040
MeIRT1gDNA	TTAATATAATATAAARAAGATTACGATGCGCAGGACTTTCACATCCTCAATTAATATTTTAAATCTGCTATGTTGAARACATATCACTTATTTGATAAATCAATATGGAATATTTTG													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	1041	1050	1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120	1130	1140	1150	1160	1170
MeIRT1gDNA	AAGGTATTAGACATTGAAGGATTAATTTTAACTGTGATAAARACAGGCAGAAATACAGCTTTAAGAGAGATAGCATGGCATTTTCTCTCAGTACACACCCATTTGGAATAGCACTTGGATTGGA													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	1171	1180	1190	1200	1210	1220	1230	1240	1250	1260	1270	1280	1290	1300
MeIRT1gDNA	TTATCCACACCTACAAAGAAATAGTCTACTGCTTAAATCACCGTTGGATTACTTAATGCATCATCAGCTGGGCTTTGATCTACATGGCCTGGTGTATCTCTCTGCTGATTTTATGGTCCCA													
MeIRT1Fseq													
Consensus													
	1301	1310	1320	1330	1340	1350	1360	1370	1380	13092				
MeIRT1gDNA	AGCTACACGAGGCATTAGCTTCAGATTAATGTTATATTGCAGTCTTTTGGGTGCTGGTGGATGCTGTTATGGCTAATGGGCATGA													
MeIRT1Fseq													
Consensus													



MeYSL3

```
1      10     20     30     40     50     60     70     80     90    100    110    120    130
MeYSL3_gDNA | TATTATCTTACTGCAATTTAGCAGCTGTGTTTACTTCTTTCAGTACTACTACTAGTGGGCTTTTCATCCCGAATTTCCCTATTGGGTTGGATGGACCTTCTCTATTG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
131     140     150     160     170     180     190     200     210     220     230     240     250     260
MeYSL3_gDNA | GTTATATATCAGGTTGGATTTCCAGTTCATGTACAGCTGGTCTTTGGCTACAGAAATATGTCCAGGCTGTTGATTTCCAGATATCATTGGGGTGTCTTTGTTGGCATTA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
261     270     280     290     300     310     320     330     340     350     360     370     380     390
MeYSL3_gDNA | ATGCTATCTGATTAATTTGGAGGCTCATAGGCTGTTGTTTTCCTTACAGCAGGACGCTTTGGGCTATCCAGAAACATATACCCAGCTTGGCTGATTTGATGTTT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
391     400     410     420     430     440     450     460     470     480     490     500     510     520
MeYSL3_gDNA | CACTTTTCCGCTGACCTGGAGGTTGTTTGGGCGGACCTTTTATGTTGATTTCTTTCAGAAATGTTCCAGTTGGATTTGTGATCATTTCAATGTTCTGATATTCC
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
521     530     540     550     560     570     580     590     600     610     620     630     640     650
MeYSL3_gDNA | ACCAAGAGAGAGAAACACAGCAGGAGGATATTAAGGATTTTTTTTTCTTTTCTTTCTTTAGTCTTTTAGTATTTAGCAATTTACCTCATATTTAGATCAACATGTTTC
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
651     660     670     680     690     700     710     720     730     740     750     760     770     780
MeYSL3_gDNA | TATATATGTTGTTTAGAGAGATTTGGATATATATATGGGATGTGACAGAGAGATGAGAGAAATTCAGATTTGGATGGAGATTTGGAGAGATGGGATGACCCAGAGATA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
781     790     800     810     820     830     840     850     860     870     880     890     900     910
MeYSL3_gDNA | TGAGTAAATTTGCCATGACAAACAGATCAACATTAAGGACTCATACAGTATAGCAATTTGGATTCATATACAGTGTGATTCAGTGAAGCTAAGCTACACAGGACTAGTCCATCTGAA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
911     920     930     940     950     960     970     980     990    1000    1010    1020    1030    1040
MeYSL3_gDNA | CGTTTCTGCTCTACGCTGGCTTTGTTTATAGAACAGACAGACCTCCAGAGGCTGGATAGTACAGCTCATTCACCTCACAGAAATACCAATATCAACTTGTCTGTGCTGT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1041    1050    1060    1070    1080    1090    1100    1110    1120    1130    1140    1150    1160    1170
MeYSL3_gDNA | TATATATCTCTCTCCAGGTTGGATTTGATCTTATGCTACTTTAGTAAATATGATCATTTTGTGCTCATTTATTAACCATGGATTCAGGTTGGCTTATCTCTGCGG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1171    1180    1190    1200    1210    1220    1230    1240    1250    1260    1270    1280    1290    1300
MeYSL3_gDNA | ATTGACAGAGAAACATATGACAGCTGGGTTGATACAAAGGAAATCTCCGACAGCAAAAGACCTGGATTTGGATGCTGGTTCTCTCTTACAGCTTTTGTGATTTGCTGCC
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1301    1310    1320    1330    1340    1350    1360    1370    1380    1390    1400    1410    1420    1430
MeYSL3_gDNA | TTGGTCTCTCCAGGAGAAATATTTCCCTTTATCCGTTGGATGATGTTTCTATGATTTCTTTCTCTCAGTTTATGGAGTCAGGTTTCTGATTTATTCATACCTCGAA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1431    1440    1450    1460    1470    1480    1490    1500    1510    1520    1530    1540    1550    1560
MeYSL3_gDNA | TGACTTTAGCAGAAATAGCAATATTTCTCTTAGAATGGATATCTGATTTCTTGTGTACAGATATGATACAGTATACAAATTAATCTCTTAGGATGACATGCGGCTTC
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1561    1570    1580    1590    1600    1610    1620    1630    1640    1650    1660    1670    1680    1690
MeYSL3_gDNA | TCCATCTGGGTTCCATCTCCAGGAGATAGATTCAGTATGCTTCATATATGATGATGATGATGAAATTTGATTTGGATTTTACCTTCCAGCTTTGGATTTGGAGCTGGAAACCTG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1691    1700    1710    1720    1730    1740    1750    1760    1770    1780    1790    1800    1810    1820
MeYSL3_gDNA | GGTATAGGTTCCATGATTTCTTCATCAGCTTCTGCGGCTTCTTCAGTGGTTTACAGTGGTGGAGCAATTTGGATTTGCTCATCCAGCTTTGGATTTGGAGCTGGAAACCTG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1821    1830    1840    1850    1860    1870    1880    1890    1900    1910    1920    1930    1940    1950
MeYSL3_gDNA | TGAGTCCCTCCTTTTGTTCAGGATTTGATGCTAAATGATGATTTCCATCAGCTATGATGAAATTTGGATTTTACCTTGTATTCAGATGACATGTTGGAGCAGGA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
1951    1960    1970    1980    1990    2000    2010    2020    2030    2040    2050    2060    2070    2080
MeYSL3_gDNA | ATGATCTGTTCCCATCTGATGATTTGCTTGTGCTTGGCGCATCTTCTGCGGAAATATGTGGCCATATAGAGGCTTAGAGAAATTTGTTCCCTGCTTCTACTGAAAGCAGTATG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2081    2090    2100    2110    2120    2130    2140    2150    2160    2170    2180    2190    2200    2210
MeYSL3_gDNA | GGAGTAAATGTTAGAGTCCATAGAAATAGAGCTTTAGATACATCTCTGAGAGTCTCTCACTTTCCAGCTTGGAGATTCAGAGCTCTCAATATCTCTTTATCCGGTT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2211    2220    2230    2240    2250    2260    2270    2280    2290    2300    2310    2320    2330    2340
MeYSL3_gDNA | TTATTTATGCTGATCCAGGATGGCTACATTTCCAGATCTGATTTCTCAGTACAGTATTTCTCAGTACAGTACCTCCAGAGCAGAGATGGAGATTTGAAACATGATGATTTAGTACGATG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2341    2350    2360    2370    2380    2390    2400    2410    2420    2430    2440    2450    2460    2470
MeYSL3_gDNA | TCGGTTGAGCTCTCCAGGTTTCCAGCTTATGCAATACATCCAGAGCAATGGAGCAATTTCTGCTACTTCTGCTGACCTTACATGATTTTGCACACTCCAT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2471    2480    2490    2500    2510    2520    2530    2540    2550    2560    2570    2580    2590    2600
MeYSL3_gDNA | TTTTGTGCACTATATGAGCACTAGTCTAGAGCAGGATATATATATATGTTTATTCATCAGCAGCAGATAGATGATTTGTTCTATCAGTACAGTATGATTTGTTT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2601    2610    2620    2630    2640    2650    2660    2670    2680    2690    2700    2710    2720    2730
MeYSL3_gDNA | ATGATGCACTATCAGATAGCAGATCAGATGATTTAGAGAAATAGGTTTCTAGAGAGCAATTCATTTGGAGAGCTTTAGAGTACAGGCTTCCATCTTCAATCATATGTA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2731    2740    2750    2760    2770    2780    2790    2800    2810    2820    2830    2840    2850    2860
MeYSL3_gDNA | TCCATCATGTTTCCAGCAGAGTGGTACTAGCTAGTGTGCTTACTTCTGACCTCTCAGCTTCCAGCCTATGGCTGGCTTACAGTCAATGATGGCTTATACATAGGAA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2861    2870    2880    2890    2900    2910    2920    2930    2940    2950    2960    2970    2980    2990
MeYSL3_gDNA | GGTGCTCTCTGCTTCCGCTTCCAGGAGAGACAGCTGTTGACAGGCTTTGGCTTGGCTGATTAAGCATAGTTCCATCTCTGATTTGATGATTTTCAAGCTGGT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
2991    3000    3010    3020    3030    3040    3050    3060    3070    3080    3090    3100    3110    3120
MeYSL3_gDNA | CATACACTCTCTCTCTGCTGATGCTTCTAGCAGGCAATGGATGATAGGCTGTTGTTGAGCTCCTACTCTTTCTTTCTAGAGGCTTTGATGGGAAACCCCATGGAG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
3121    3130    3140    3150    3160    3170    3180    3190    3200    3210    3220    3230    3240    3250
MeYSL3_gDNA | ATGACAGGCTCATATGCACTATACAGAAATGGGATTTCTGGTCCAGGTTTTCTGCTCCAGGCTTTCCCTCCAGGCTGCTGAGCTTTGATGGGTTTCCCTTCCGATTTTCCCATTT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
3251    3260    3270    3280    3290    3300    3310    3320    3330    3340    3350    3360    3370    3380
MeYSL3_gDNA | GGTGAGATCTATCCCAAAATTTGGCAATGATACCTTCCATGGCTATGGCTGCTGCTTCCCTGATGGGCTTACTTCAGATCATGATGATGATGGGAGCTGATTTGTTGATGG
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
3381    3390    3400    3410    3420    3430    3440    3450    3460    3470    3480    3490    3500    3510
MeYSL3_gDNA | CACAGCAACAGAAAGAGGCTGATGGTTCTGCTGGCTTGGCTGATTCGGAGATGTTATGATCTCTCTCATCTCTCAGTACATAGATTCATCTCATATGCA
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
3511    3520    3530    3540    3550    3560    3570    3580    3590    3600    3610    3616
MeYSL3_gDNA | TGATTTCAATGAAATCTATCTGAGCAGATCTAGTGTATTCAGGCAATCAGTATTAAGAGTAAACAAATATAGGATGATTAAGAGT
MeYSL3_seq   |
Consensus   | .....
```


รายการอ้างอิง

- Ajeesh Krishna, T. P., Maharajan, T., Victor Roch, G., Ignacimuthu, S., & Antony Ceasar, S. (2020). Structure, Function, Regulation and Phylogenetic Relationship of ZIP Family Transporters of Plants. *Frontiers in Plant Science*, 11. doi:10.3389/fpls.2020.00662
- Alloway, B. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ Geochem Hlth* 31: 537–548. In.
- Arrivault, S., Senger, T., & Krämer, U. (2006). The Arabidopsis metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply. *The Plant Journal*, 46(5), 861-879.
- Assunção, A. G., Herrero, E., Lin, Y.-F., Huettel, B., Talukdar, S., Smaczniak, C., . . . Schat, H. (2010). Arabidopsis thaliana transcription factors bZIP19 and bZIP23 regulate the adaptation to zinc deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(22), 10296-10301.
- Bamrungsetthapong, T., Vichukit, V., & Nakasathien, S. (2010). Cloning and molecular characterization of the zinc transporter (ZIP) gene from cassava. *Kasetsart J.(Nat. Sci.)*, 44, 891-901.
- Barben, S. A., Hopkins, B. G., Jolley, V. D., Webb, B. L., & Nichols, B. A. (2010). Phosphorus and zinc interactions in chelator-buffered solution grown Russet Burbank potato. *Journal of Plant Nutrition*, 33(4), 587-601.
- Begum, M. C., Islam, M., Sarkar, M. R., Azad, M. A. S., Huda, A. N., & Kabir, A. H. (2016). Auxin signaling is closely associated with Zn-efficiency in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Interactions*, 11(1), 124-129.
- Binder, B. M. (2020). Ethylene signaling in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 295(22), 7710-7725.
- Blindauer, C. A., & Schmid, R. (2010). Cytosolic metal handling in plants: determinants for zinc specificity in metal transporters and metallothioneins. *Metallomics*, 2(8), 510-529.
- Bouain, N., Kisko, M., Rouached, A., Dauzat, M., Lacombe, B., Belgaroui, N., . . . Abdelly,

- C. (2014). Phosphate/zinc interaction analysis in two lettuce varieties reveals contrasting effects on biomass, photosynthesis, and dynamics of Pi transport. *BioMed Research International*, 2014.
- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., & Zhao, F. (2012). Function of nutrients: micronutrients. In *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (pp. 191-248): Elsevier.
- Bustos, R., Castrillo, G., Linhares, F., Puga, M. I., Rubio, V., Pérez-Pérez, J., . . . Paz-Ares, J. (2010). A central regulatory system largely controls transcriptional activation and repression responses to phosphate starvation in *Arabidopsis*. *PLoS genetics*, 6(9), e1001102.
- Byrne, D. (1984). Breeding cassava. *Plant breeding reviews*, 2, 73-134.
- Cakmak, I., & Marschner, H. (1986). Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotton. I. Zinc deficiency-enhanced uptake rate of phosphorus. *Physiologia Plantarum*, 68(3), 483-490.
- Cardini, A., Pellegrino, E., White, P. J., Mazzolai, B., Mascherpa, M. C., & Ercoli, L. (2021). Transcriptional Regulation of Genes Involved in Zinc Uptake, Sequestration and Redistribution Following Foliar Zinc Application to *Medicago sativa*. *Plants (Basel)*, 10(3). doi:10.3390/plants10030476
- Castro, P. H., Lilay, G. H., Muñoz-Mérida, A., Schjoerring, J. K., Azevedo, H., & Assunção, A. G. (2017). Phylogenetic analysis of F-bZIP transcription factors indicates conservation of the zinc deficiency response across land plants. *Scientific Reports*, 7(1), 1-14.
- Ceballos, H., Ramirez, J., Bellotti, A. C., Jarvis, A., & Alvarez, E. (2011). Adaptation of cassava to changing climates. *Crop adaptation to climate change*, 411-425.
- Chen, Z., Fujii, Y., Yamaji, N., Masuda, S., Takemoto, Y., Kamiya, T., . . . Maeshima, M. (2013). Mn tolerance in rice is mediated by MTP8. 1, a member of the cation diffusion facilitator family. *Journal of Experimental Botany*, 64(14), 4375-4387.
- Chou, K.-C., & Shen, H.-B. (2010). Plant-mPLOC: a top-down strategy to augment the power for predicting plant protein subcellular localization. *PLoS one*, 5(6), e11335.

- Colangelo, E. P., & Guerinot, M. L. (2006). Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 322-330.
- Connolly, E. L., Fett, J. P., & Guerinot, M. L. (2002). Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. *The Plant cell*, 14(6), 1347-1357.
- Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M., . . . Mari, S. (2008). Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Annals of Botany*, 103(1), 1-11.
doi:10.1093/aob/mcn207
- Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M., . . . Mari, S. (2009). Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Annals of Botany*, 103(1), 1-11.
- Dai, J., Wang, N., Xiong, H., Qiu, W., Nakanishi, H., Kobayashi, T., . . . Zuo, Y. (2018). The Yellow Stripe-Like (YSL) Gene Functions in Internal Copper Transport in Peanut. *Genes*, 9(12), 635. doi:10.3390/genes9120635
- Das, N., Bhattacharya, S., & Maiti, M. K. (2016). Enhanced cadmium accumulation and tolerance in transgenic tobacco overexpressing rice metal tolerance protein gene OsMTP1 is promising for phytoremediation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105, 297-309. doi:<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.049>
- Desbrosses-Fonrouge, A.-G., Voigt, K., Schröder, A., Arrivault, S., Thomine, S., & Krämer, U. (2005). Arabidopsis thaliana MTP1 is a Zn transporter in the vacuolar membrane which mediates Zn detoxification and drives leaf Zn accumulation. *FEBS letters*, 579(19), 4165-4174.
- Dhir, B. (2021). 8 - Role of transporters of copper, manganese, zinc, and nickel in plants exposed to heavy metal stress. In A. Roychoudhury, D. K. Tripathi, & R. Deshmukh (Eds.), *Metal and Nutrient Transporters in Abiotic Stress* (pp. 145-168): Academic Press.
- DiDonato Jr, R. J., Roberts, L. A., Sanderson, T., Eisley, R. B., & Walker, E. L. (2004). Arabidopsis Yellow Stripe-Like2 (YSL2): a metal-regulated gene encoding a plasma membrane transporter of nicotianamine-metal complexes. *The Plant*

Journal, 39(3), 403-414.

- Ding, Z., Zhang, Y., Xiao, Y., Liu, F., Wang, M., Zhu, X., . . . Peng, M. (2016). Transcriptome response of cassava leaves under natural shade. *Scientific Reports*, 6(1), 1-14.
- Dubeaux, G., Neveu, J., Zelazny, E., & Vert, G. (2018). Metal Sensing by the IRT1 Transporter-Receptor Orchestrates Its Own Degradation and Plant Metal Nutrition. *Molecular Cell*, 69(6), 953-964.e955.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.02.009>
- Escudero-Almanza, D. J., Ojeda-Barrios, D. L., Hernández-Rodríguez, O. A., Chávez, E. S., Ruíz-Anchondo, T., & Sida-Arreola, J. P. (2012). Carbonic anhydrase and zinc in plant physiology. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(1), 140.
- Fan, W., Liu, C., Cao, B., Qin, M., Long, D., Xiang, Z., & Zhao, A. (2018). Genome-wide identification and characterization of four gene families putatively involved in cadmium uptake, translocation and sequestration in mulberry. *Frontiers in Plant Science*, 9, 879.
- Fei, X., FU, X.-z., WANG, N.-q., XI, J.-l., Huang, Y., Wei, Z., . . . PENG, L.-z. (2016). Physiological changes and expression characteristics of ZIP family genes under zinc deficiency in navel orange (*Citrus sinensis*). *Journal of integrative agriculture*, 15(4), 803-811.
- Fu, X.-Z., Xing, F., Cao, L., Chun, C.-P., Ling, L.-L., Jiang, C.-L., & Peng, L.-Z. (2016). Effects of Foliar Application of Various Zinc Fertilizers with Organosilicone on Correcting Citrus Zinc Deficiency. *HortScience*, 51, 422-426. doi:10.21273/HORTSCI.51.4.422
- Fu, X.-Z., Zhou, X., Xing, F., Ling, L.-L., Chun, C.-P., Cao, L., . . . Peng, L.-Z. (2017). Genome-wide identification, cloning and functional analysis of the zinc/iron-regulated transporter-like protein (ZIP) gene family in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.). *Frontiers in plant science*, 8, 588.
- Fujiwara, T., Kawachi, M., Sato, Y., Mori, H., Kutsuna, N., Hasezawa, S., & Maeshima, M. (2015). A high molecular mass zinc transporter MTP 12 forms a functional heteromeric complex with MTP 5 in the Golgi in *Arabidopsis thaliana*. *The FEBS journal*, 282(10), 1965-1979.
- Gaitán-Solís, E., Taylor, N. J., Siritunga, D., Stevens, W., & Schachtman, D. P. (2015a). Overexpression of the transporters AtZIP1 and AtMTP1 in cassava changes zinc

- accumulation and partitioning. *Frontiers in Plant Science*, 6.
doi:10.3389/fpls.2015.00492
- Gaitán-Solís, E., Taylor, N. J., Siritunga, D., Stevens, W., & Schachtman, D. P. (2015b). Overexpression of the transporters AtZIP1 and AtMTP1 in cassava changes zinc accumulation and partitioning. *Frontiers in plant science*, 6, 492.
- Gao, Y., Yang, F., Liu, J., Xie, W., Zhang, L., Chen, Z., . . . Yao, Y. (2020). Genome-wide identification of metal tolerance protein genes in *Populus trichocarpa* and their roles in response to various heavy metal stresses. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1-25.
- Gayomba, S. R., Zhai, Z., Jung, H.-i., & Vatamaniuk, O. K. (2015). Local and systemic signaling of iron status and its interactions with homeostasis of other essential elements. *Frontiers in Plant Science*, 6, 716.
- Grotz, N., Fox, T., Connolly, E., Park, W., Guerinot, M. L., & Eide, D. (1998). Identification of a family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 7220-7224.
- Grotz, N., Fox, T., Connolly, E., Park, W., Guerinot, M. L., & Eide, D. (1998). Identification of a family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(12), 7220-7224.
doi:10.1073/pnas.95.12.7220
- Grotz, N., & Guerinot, M. L. (2006). Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1763(7), 595-608.
- Gupta, N., Ram, H., & Kumar, B. (2016). Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(1), 89-109.
- Gustin, J. L., Loureiro, M. E., Kim, D., Na, G., Tikhonova, M., & Salt, D. E. (2009). MTP1-dependent Zn sequestration into shoot vacuoles suggests dual roles in Zn tolerance and accumulation in Zn-hyperaccumulating plants. *The Plant Journal*, 57(6), 1116-1127.

- Gustin, J. L., Zanis, M. J., & Salt, D. E. (2011a). Structure and evolution of the plant cation diffusion facilitator family of ion transporters. *BMC evolutionary biology*, *11*(1), 1-13.
- Gustin, J. L., Zanis, M. J., & Salt, D. E. (2011b). Structure and evolution of the plant cation diffusion facilitator family of ion transporters. *BMC evolutionary biology*, *11*(1), 76.
- Hafeez, B., Khanif, Y., & Saleem, M. (2013). Role of zinc in plant nutrition-a review. *Journal of Experimental Agriculture International*, 374-391.
- Hajiboland, R., & Amirazad, F. (2010). Growth, photosynthesis and antioxidant defense system in Zn-deficient red cabbage plants. *Plant, Soil and Environment*, *56*(5), 209-217.
- Haydon, M. J., Kawachi, M., Wirtz, M., Hillmer, S., Hell, R., & Krämer, U. (2012). Vacuolar nicotianamine has critical and distinct roles under iron deficiency and for zinc sequestration in Arabidopsis. *The Plant cell*, *24*(2), 724-737.
- Hernandez-Garcia, C. M., & Finer, J. J. (2014). Identification and validation of promoters and cis-acting regulatory elements. *Plant Science*, *217-218*, 109-119.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.12.007>
- Howeler. (1995). *Mineral nutrition of cassava*. Paper presented at the Mineral Nutrient Disorders of Root Crops in the Pacific. Proc. Workshop held in Nuku'alofa, Kingdom of Tonga.
- Howeler. (2002). Cassava mineral nutrition and fertilization. *Cassava: Biology, production and utilization*, 115-147.
- Howeler. (2014). Sustainable soil and crop management of cassava in Asia: a reference manual. In: International Center for Tropical Agriculture (CIAT).
- Howeler, R., Edwards, D., & Asher, C. (1982). Micronutrient deficiencies and toxicities of cassava plants grown in nutrient solutions. I. Critical tissue concentrations. *Journal of Plant Nutrition*, *5*(8), 1059-1076.
- Hu, B., Jin, J., Guo, A.-Y., Zhang, H., Luo, J., & Gao, G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, *31*(8), 1296-1297.
- Huang, C., Barker, S. J., Langridge, P., Smith, F. W., & Graham, R. D. (2000). Zinc deficiency up-regulates expression of high-affinity phosphate transporter genes

- in both phosphate-sufficient and-deficient barley roots. *Plant physiology*, 124(1), 415-422.
- Ishimaru, Y., Masuda, H., Suzuki, M., Bashir, K., Takahashi, M., Nakanishi, H., . . . Nishizawa, N. K. (2007). Overexpression of the OsZIP4 zinc transporter confers disarrangement of zinc distribution in rice plants. *Journal of Experimental Botany*, 58(11), 2909-2915.
- Ishimaru, Y., Suzuki, M., Tsukamoto, T., Suzuki, K., Nakazono, M., Kobayashi, T., . . . Takahashi, M. (2006). Rice plants take up iron as an Fe³⁺-phytosiderophore and as Fe²⁺. *The Plant Journal*, 45(3), 335-346.
- Janket, A., Vorasoot, N., Toomsan, B., Kaewpradit, W., Banterng, P., Kesmala, T., . . . Jogloy, S. (2018). Seasonal Variation in Starch Accumulation and Starch Granule Size in Cassava Genotypes in a Tropical Savanna Climate. *Agronomy*, 8(12), 297. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2073-4395/8/12/297>
- Käll, L., Krogh, A., & Sonnhammer, E. L. (2007). Advantages of combined transmembrane topology and signal peptide prediction—the Phobius web server. *Nucleic acids research*, 35(suppl_2), W429-W432.
- Kaur, H., & Garg, N. (2021). Zinc toxicity in plants: a review. *Planta*, 253(6), 129. doi:10.1007/s00425-021-03642-z
- Kawachi, M., Kobae, Y., Mimura, T., & Maeshima, M. (2008). Deletion of a histidine-rich loop of AtMTP1, a vacuolar Zn²⁺/H⁺ antiporter of *Arabidopsis thaliana*, stimulates the transport activity. *Journal of Biological Chemistry*, 283(13), 8374-8383.
- Keunen, E., Schellingen, K., Vangronsveld, J., & Cuypers, A. (2016). Ethylene and metal stress: small molecule, big impact. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-18.
- Khan, H., McDonald, G., & Rengel, Z. (2004). Zinc fertilization and water stress affects plant water relations, stomatal conductance and osmotic adjustment in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant and Soil*, 267(1), 271-284.
- Khatun, M., Hossain, M., Bari, M., Abdullahil, K. M., Parvez, M., Alam, M., & Kabir, A. (2018). Zinc deficiency tolerance in maize is associated with the up-regulation of Zn transporter genes and antioxidant activities. *Plant Biology*, 20(4), 765-770.

- Khongchiu, P., Vichukit, V., Kongsila, P., Kermanee, P., Wongkeaw, A., & Nakasathien, S. (2014). A Preliminary Study on Expression of Zinc Transporter Gene of Cassava Grown in Nutrient Solutions with some Physiological and Biochemical Responses. *Agriculture and Natural Resources*, 48(4), 515-524.
- Kobae, Y., Uemura, T., Sato, M. H., Ohnishi, M., Mimura, T., Nakagawa, T., & Maeshima, M. (2004). Zinc transporter of Arabidopsis thaliana AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis. *Plant and Cell Physiology*, 45(12), 1749-1758.
- Krämer, U. (2005). MTP1 mops up excess zinc in Arabidopsis cells. *Trends in plant science*, 10(7), 313-315.
- Krämer, U., Talke, I. N., & Hanikenne, M. (2007). Transition metal transport. *FEBS letters*, 581(12), 2263-2272.
- Kumar, L., Meena, N. L., & Singh, U. (2016). Zinc transporter: mechanism for improving Zn availability. *Biofortification of Food Crops*, 129-146.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547.
- Lee, S., & An, G. (2009). Over-expression of OsIRT1 leads to increased iron and zinc accumulations in rice. *Plant Cell Environ*, 32(4), 408-416. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.01935.x
- Lee, S., Jeong, H. J., Kim, S. A., Lee, J., Guerinot, M. L., & An, G. (2010). OsZIP5 is a plasma membrane zinc transporter in rice. *Plant molecular biology*, 73(4-5), 507-517.
- Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., Van de Peer, Y., . . . Rombauts, S. (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Res*, 30(1), 325-327. doi:10.1093/nar/30.1.325
- Li, D., Xu, X., Hu, X., Liu, Q., Wang, Z., Zhang, H., . . . Liu, H. (2015). Genome-wide analysis and heavy metal-induced expression profiling of the HMA gene family in *Populus trichocarpa*. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1149.
- Li, S., Liu, X., Zhou, X., Li, Y., Yang, W., & Chen, R. (2019). Improving zinc and iron

- accumulation in maize grains using the zinc and iron transporter ZmZIP5. *Plant and Cell Physiology*, *60*(9), 2077-2085.
- Li, S., Zhou, X., Huang, Y., Zhu, L., Zhang, S., Zhao, Y., . . . Chen, R. (2013). Identification and characterization of the zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like protein (ZIP) gene family in maize. *BMC plant biology*, *13*(1), 1-14.
- Lilay, G. H., Castro, P. H., Campilho, A., & Assunção, A. G. (2019). The Arabidopsis bZIP19 and bZIP23 activity requires zinc deficiency—insight on regulation from complementation lines. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1955.
- Lin, Y. F., Liang, H. M., Yang, S. Y., Boch, A., Clemens, S., Chen, C. C., . . . Yeh, K. C. (2009). Arabidopsis IRT3 is a zinc-regulated and plasma membrane localized zinc/iron transporter. *New Phytologist*, *182*(2), 392-404.
- Liu, J., Gao, Y., Tang, Y., Wang, D., Chen, X., Yao, Y., & Guo, Y. (2019). Genome-wide identification, comprehensive gene feature, evolution, and expression analysis of plant metal tolerance proteins in tobacco under heavy metal toxicity. *Frontiers in genetics*, *10*, 1-20.
- Lubkowitz, M. (2011). The Oligopeptide Transporters: A Small Gene Family with a Diverse Group of Substrates and Functions? *Molecular Plant*, *4*(3), 407-415. doi:<https://doi.org/10.1093/mp/ssr004>
- Ma, L., & Li, G. (2019). Auxin-Dependent Cell Elongation During the Shade Avoidance Response. *Frontiers in Plant Science*, *10*. doi:10.3389/fpls.2019.00914
- Mathpal, B., Srivastava, P. C., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2015). Improving key enzyme activities and quality of rice under various methods of zinc application. *Physiol Mol Biol Plants*, *21*(4), 567-572. doi:10.1007/s12298-015-0321-3
- Menguer, P. K., Farthing, E., Peaston, K. A., Ricachenevsky, F. K., Fett, J. P., & Williams, L. E. (2013). Functional analysis of the rice vacuolar zinc transporter OsMTP1. *Journal of Experimental Botany*, *64*(10), 2871-2883.
- Milner, M. J., Seamon, J., Craft, E., & Kochian, L. V. (2013). Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis. *Journal of Experimental Botany*, *64*(1), 369-381.

- Mondal, T. K., Ganie, S. A., Rana, M. K., & Sharma, T. R. (2014). Genome-wide analysis of zinc transporter genes of maize (*Zea mays*). *Plant molecular biology reporter*, 32(2), 605-616.
- Montanini, B., Blaudez, D., Jeandroz, S., Sanders, D., & Chalot, M. (2007). Phylogenetic and functional analysis of the Cation Diffusion Facilitator (CDF) family: improved signature and prediction of substrate specificity. *BMC genomics*, 8(1), 107.
- Moreira, A., Moraes, L. A., & dos Reis, A. R. (2018). The molecular genetics of zinc uptake and utilization efficiency in crop plants. In *Plant micronutrient use efficiency* (pp. 87-108): Elsevier.
- Mousavi, S. R. (2011). Zinc in crop production and interaction with phosphorus. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(9), 1503-1509.
- Mousavi, S. R., Galavi, M., & Rezaei, M. (2012). The interaction of zinc with other elements in plants: a review. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(24), 1881-1884.
- Nakandalage, N., Nicolas, M., Norton, R. M., Hirotsu, N., Milham, P. J., & Seneweera, S. (2016). Improving rice zinc biofortification success rates through genetic and crop management approaches in a changing environment. *Frontiers in Plant Science*, 7, 764.
- Nozoye, T. (2018). The Nicotianamine Synthase Gene Is a Useful Candidate for Improving the Nutritional Qualities and Fe-Deficiency Tolerance of Various Crops. *Frontiers in Plant Science*, 9. doi:10.3389/fpls.2018.00340
- Ohnishi, M., Furutani, R., Sohtome, T., Suzuki, T., Wada, S., Tanaka, S., . . . Miyake, C. (2021). Photosynthetic parameters show specific responses to essential mineral deficiencies. *Antioxidants*, 10(7), 996.
- Palmgren, M. G., & Axelsen, K. B. (1998). Evolution of P-type ATPases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1365(1-2), 37-45.
- Peabody, M. A., Laird, M. R., Vlasschaert, C., Lo, R., & Brinkman, F. S. (2016). PSORTdb: expanding the bacteria and archaea protein subcellular localization database to better reflect diversity in cell envelope structures. *Nucleic acids research*, 44(D1), D663-D668.
- Pita-Barbosa, A., Ricachenevsky, F. K., Wilson, M., Dottorini, T., & Salt, D. E. (2019).

- Transcriptional plasticity buffers genetic variation in zinc homeostasis. *Scientific Reports*, 9(1), 1-11.
- Pradhan, S., Pandit, E., Pawar, S., Pradhan, A., Behera, L., Das, S., & Pathak, H. (2020). Genetic regulation of homeostasis, uptake, bio-fortification and efficiency enhancement of iron in rice. *Environmental and Experimental Botany*, 177, 104066.
- Pu, Y., Yang, D., Yin, X., Wang, Q., Chen, Q., Yang, Y., & Yang, Y. (2018). Genome-wide analysis indicates diverse physiological roles of the turnip (*Brassica rapa* var. *rapa*) oligopeptide transporters gene family. *Plant diversity*, 40(2), 57-67.
- Quaglia, M., Troni, E., D'Amato, R., & Ederli, L. (2022). Effect of zinc imbalance and salicylic acid co-supply on *Arabidopsis* response to fungal pathogens with different lifestyles. *Plant Biology*, 24(1), 30-40.
- Quintana, J., Bernal, M., Scholle, M., Holländer-Czytko, H., Nguyen, N. T., Piotrowski, M., . . . Krämer, U. (2022). Root-to-shoot iron partitioning in *Arabidopsis* requires IRON-REGULATED TRANSPORTER1 (IRT1) protein but not its iron (II) transport function. *The Plant Journal*, 109(4), 992-1013.
- Rai, S., Singh, P. K., Mankotia, S., Swain, J., & Satbhai, S. B. (2021). Iron homeostasis in plants and its crosstalk with copper, zinc, and manganese. *Plant Stress*, 1, 100008. doi:<https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100008>
- Rensing, C., Mitra, B., & Rosen, B. P. (1997). The *zntA* gene of *Escherichia coli* encodes a Zn (II)-translocating P-type ATPase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(26), 14326-14331.
- Rhizopoulou, S., & Psaras, G. K. (2003). Development and Structure of Drought-tolerant Leaves of the Mediterranean Shrub *Capparis spinosa* L. *Annals of Botany*, 92(3), 377-383.
- Ricachenevsky, F. K., Menguer, P. K., Sperotto, R. A., & Fett, J. P. (2015). Got to hide your Zn away: molecular control of Zn accumulation and biotechnological applications. *Plant Science*, 236, 1-17.
- Ricachenevsky, F. K., Menguer, P. K., Sperotto, R. A., Williams, L. E., & Fett, J. P. (2013a). Roles of plant metal tolerance proteins (MTP) in metal storage and potential

- use in biofortification strategies. *Frontiers in Plant Science*, 4, 144-144.
doi:10.3389/fpls.2013.00144
- Ricachenevsky, F. K., Menguer, P. K., Sperotto, R. A., Williams, L. E., & Fett, J. P. (2013b). Roles of plant metal tolerance proteins (MTP) in metal storage and potential use in biofortification strategies. *Frontiers in Plant Science*, 4, 144.
- Rüscher, D., Corral, J. M., Carluccio, A. V., Klemens, P. A. W., Gisel, A., Stabolone, L., . . . Zierer, W. (2021). Auxin signaling and vascular cambium formation enable storage metabolism in cassava tuberous roots. *Journal of Experimental Botany*, 72(10), 3688-3703. doi:10.1093/jxb/erab106
- Sadeghzadeh, B., & Rengel, Z. (2011). Zinc in soils and crop nutrition. *The molecular and physiological basis of nutrient use efficiency in crops*, 335-375.
- Saenchai, C., Bouain, N., Kisko, M., Prom-u-thai, C., Dumas, P., & Rouached, H. (2016). The Involvement of OsPHO1;1 in the Regulation of Iron Transport Through Integration of Phosphate and Zinc Deficiency Signaling. *Frontiers in Plant Science*, 7. doi:10.3389/fpls.2016.00396
- Sagardoy, R., Vázquez, S., Florez-Sarasa, I., Albacete, A., Ribas-Carbó, M., Flexas, J., . . . Morales, F. (2010). Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytologist*, 187(1), 145-158.
- Salvador, E., Steenkamp, V., & McCrindle, C. (2014). Production, consumption and nutritional value of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) in Mozambique: An overview. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 6, 29-38. doi:10.5897/JABSD2014.0224
- Schaaf, G., Schikora, A., Häberle, J., Vert, G., Ludewig, U., Briat, J.-F., . . . von Wirén, N. (2005). A Putative Function for the Arabidopsis Fe-Phytosiderophore Transporter Homolog AtYSL2 in Fe and Zn Homeostasis. *Plant and Cell Physiology*, 46(5), 762-774. doi:10.1093/pcp/pci081
- Sekimoto, H., Hoshi, M., Nomura, T., & Yokota, T. (1997). Zinc deficiency affects the levels of endogenous gibberellins in *Zea mays* L. *Plant and Cell Physiology*, 38(9), 1087-1090.

- Shackelford, G. E., Haddaway, N. R., Usieta, H. O., Pypers, P., Petrovan, S. O., & Sutherland, W. J. (2018). Cassava farming practices and their agricultural and environmental impacts: a systematic map protocol. *Environmental Evidence*, 7(1), 30.
- Sinclair, S. A., & Krämer, U. (2012). The zinc homeostasis network of land plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(9), 1553-1567.
- Sinclair, S. A., Senger, T., Talke, I. N., Cobbett, C. S., Haydon, M. J., & Krämer, U. (2018). Systemic upregulation of MTP2-and HMA2-mediated Zn partitioning to the shoot supplements local Zn deficiency responses. *The Plant cell*, 30(10), 2463-2479.
- Singh, B., Natesan, S. K. A., Singh, B., & Usha, K. (2005). Improving zinc efficiency of cereals under zinc deficiency. *Current science*, 36-44.
- Soltangheisi, A., Rahman, Z. A., Ishak, C. F., Musa, H., & Zakikhani, H. (2014). Interaction effects of zinc and manganese on growth, uptake response and chlorophyll content of sweet corn (*Zea mays* var. *saccharata*). *Asian Journal of Plant Sciences*, 13(1), 26-33.
- Stanton, C., Sanders, D., Krämer, U., & Podar, D. (2022). Zinc in plants: Integrating homeostasis and biofortification. *Molecular Plant*, 15(1), 65-85. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.12.008>
- Takahashi, R., Bashir, K., Ishimaru, Y., Nishizawa, N., & Nakanishi, H. (2012). The role of heavy-metal ATPases, HMAs, in zinc and cadmium transport in rice. *Plant Signal Behav* 7: 1605–1607. In.
- Van De Mortel, J. E., Almar Villanueva, L., Schat, H., Kwekkeboom, J., Coughlan, S., Moerland, P. D., . . . Aarts, M. G. (2006). Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant physiology*, 142(3), 1127-1147.
- Vatansever, R., Filiz, E., & Eroglu, S. (2017). Genome-wide exploration of metal tolerance protein (MTP) genes in common wheat (*Triticum aestivum*): insights into metal homeostasis and biofortification. *Biometals*, 30(2), 217-235.
- Wang, N., Qiu, W., Dai, J., Guo, X., Lu, Q., Wang, T., . . . Zuo, Y. (2019). AhNRAMP1

- enhances manganese and zinc uptake in plants. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 415.
- Watananonta, W., Vongkasem, W., Klakhaeng, K. I., & Howeler, R. H. (2004). The use of farmer participatory approach in the development of technologies to control erosion for sustainable cassava production in Thailand.
- Waters, B. M., Chu, H. H., Didonato, R. J., Roberts, L. A., Easley, R. B., Lahner, B., . . . Walker, E. L. (2006). Mutations in *Arabidopsis* yellow stripe-like1 and yellow stripe-like3 reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds. *Plant physiology*, *141*(4), 1446-1458. doi:10.1104/pp.106.082586
- Weremczuk, A., Papierniak, A., Kozak, K., Willats, W. G., & Antosiewicz, D. M. (2020). Contribution of NtZIP1-like, NtZIP11 and a WAK-pectin based mechanism to the formation of Zn-related lesions in tobacco leaves. *Environmental and Experimental Botany*, *176*, 104074.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2011). Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. *Frontiers in Plant Science*, *2*, 80.
- Wintz, H., Fox, T., Wu, Y.-Y., Feng, V., Chen, W., Chang, H.-S., . . . Vulpe, C. (2003). Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(48), 47644-47653.
- Wintz, H., Fox, T., Wu, Y. Y., Feng, V., Chen, W., Chang, H. S., . . . Vulpe, C. (2003). Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis. *J Biol Chem*, *278*(48), 47644-47653. doi:10.1074/jbc.M309338200
- Xie, R., Zhao, J., Lu, L., Brown, P., Lin, X., Webb, S. M., . . . Tian, S. (2020). Seasonal Zinc Storage and a Strategy for Its Use in Buds of Fruit Trees. *Plant physiology*, *183*(3), 1200-1212. doi:10.1104/pp.19.01563
- Xie, X., Hu, W., Fan, X., Chen, H., & Tang, M. (2019). Interactions Between Phosphorus, Zinc, and Iron Homeostasis in Nonmycorrhizal and Mycorrhizal Plants. *Frontiers in Plant Science*, *10*. doi:10.3389/fpls.2019.01172
- Yordem, B. K., Conte, S. S., Ma, J. F., Yokosho, K., Vasques, K. A., Gopalsamy, S. N., & Walker, E. L. (2011). *Brachypodium distachyon* as a new model system for

- understanding iron homeostasis in grasses: phylogenetic and expression analysis of Yellow Stripe-Like (YSL) transporters. *Annals of Botany*, 108(5), 821-833.
- Yoshiaki, I., & Ando, T. (1968). Interaction between manganese and zinc in growth of rice plants. *Soil Science and Plant Nutrition*, 14(5), 201-206.
- Yruela, I. (2005). Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 145-156.
- Yu, C. S., Chen, Y. C., Lu, C. H., & Hwang, J. K. (2006). Prediction of protein subcellular localization. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 64(3), 643-651.
- Yu, R., Chang, Y., Song, Y., Tian, T., Wang, H., & Gao, G. (2020). Genome-wide identification and expression analysis of the zinc transporter protein zip family in potato (*Solanum tuberosum*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 24(6), 1533-1542.
- Yuan, L., Yang, S., Liu, B., Zhang, M., & Wu, K. (2012). Molecular characterization of a rice metal tolerance protein, OsMTP1. *Plant cell reports*, 31(1), 67-79.
- Zhang, Y., Wang, Y., Ding, Z., Wang, H., Song, L., Jia, S., & Ma, D. (2017). Zinc stress affects ionome and metabolome in tea plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 111, 318-328. doi:<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.12.014>
- Zhao, Y. (2012). Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Mol Plant*, 5(2), 334-338. doi:10.1093/mp/sss104
- กรมพัฒนาที่ดิน, ก. ส. (2561). น้ำมันรำพืช. .
กรมวิชาการเกษตร. (2561). จำแนกพันธุ์น้ำมันรำพืช. .
มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย. (2561). พันธุ์มันสำปะหลัง ห้วยบง ๘๐.
วิจิตรา มหาอุตม์. (2547). การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและปริมาณธาตุอาหารหลักและรองที่พบในใบและในดิน ที่มีผลต่อผลผลิตและเปอร์เซ็นต์แป้งของหัวมันสำปะหลังสดพันธุ์ระยอง 5 และพันธุ์ห้วยบง 60. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2558). น้ำมันรำพืชพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50. .
อรุณี วงศ์ราชน. (2549). วงจรมันสำปะหลังและการดำเนินธุรกิจมันสำปะหลังผ่านระบบสหกรณ์. In เอกสารประกอบการบรรยาย วิชาการและระบบบัญชีธุรกิจมันสำปะหลัง.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ณัฐลิตา พยัพ
วัน เดือน ปี เกิด	11 มิถุนายน 2538
สถานที่เกิด	จังหวัดสุพรรณบุรี
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) เกียรตินิยมอันดับ 2
ที่อยู่ปัจจุบัน	91/1 ม.2 ตำบลดอนมะสังข์ อำเภอเมืองฯ จังหวัดสุพรรณบุรี
ผลงานตีพิมพ์	<ul style="list-style-type: none">- Payap, N. and Yookongkaew, N. (2019). Dynamic of mineral accumulation and tissue-specific expression of mineral nutrient uptake genes in cassava. In: 21st National Genetics Conference, Pattaya, Chon Buri, Thailand, June 20-22.- Payap, N., Rujikiadtichok, T. and Yookongkaew, N. (2021). Identification and transcriptional analysis of the metal tolerance protein (MTP) gene family in cassava under zinc deficiency. Proceedings of the 8th International Conference on Food, Agriculture and Biotechnology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Thailand, August 5-6.
รางวัลที่ได้รับ	<ul style="list-style-type: none">- รางวัลการนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ ประเภทสาขา Agriculture & Applied Genetics ในงานประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 21- รางวัลศิษย์เก่าดีเด่นระดับปริญญาตรี สาขาชีววิทยา ผู้ทำชื่อเสียงให้แก่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร- รางวัลพระจันทร์เพชรผู้สร้างคุณประโยชน์ให้แก่มหาวิทยาลัยศิลปากรและสังคม ปีการศึกษา 2560