



## ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในยางพาราที่ติดตาแบบ homograft และ heterograft

### Morphological Characteristics, Hydrogen Peroxide Content and Antioxidant Enzyme Activity in Rubber Homograft and Heterograft

ลักษณพร ศรียะพันธ์<sup>1,2</sup>, ชัญญานุช อุดมทรัพย์<sup>1</sup>, จรัสศรี นवलศรี<sup>1</sup>, ณ์ฐฎากร วรธัฐสิน<sup>3</sup> และ กรกช นาคคอง<sup>1\*</sup>  
Laksanaporn Sriyapunt<sup>1,2</sup>, Chanyanut Audomsap<sup>1</sup>, Charassri Nualsri<sup>1</sup>, Natthakorn Woraathasin<sup>3</sup> and Korakot Nakkanong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> สาขาวิชานวัตกรรมเกษตรและการจัดการ (พืชศาสตร์) คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

<sup>1</sup> Agricultural Innovation and Management Division (Plant Science), Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Songkhla, 90110

<sup>2</sup> ศูนย์วิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

<sup>2</sup> Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/MHESI), Bangkok 10900

<sup>3</sup> ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี อ.เมือง จ.ปัตตานี 94000

<sup>3</sup> Department of Technology and Industry, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani Campus, Pattani, 94000

\* Corresponding author: korakot\_nick@yahoo.com

Received 25 April 2023; Revised 08 October 2023; Accepted 01 November 2023

#### บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์พืชเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มจำนวน และรักษาพันธุกรรมของพืช สำหรับยางพารามีการขยายพันธุ์หลายวิธี เช่น เพาะเมล็ด เสียบยอด หรือติดตา ซึ่งวิธีการติดตาเขียวเป็นวิธีที่มีการใช้ และมีประสิทธิภาพมากที่สุด อย่างไรก็ตาม ความเข้ากันได้ของต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีจึงเป็นสิ่งสำคัญ การติดตาทำให้เกิดความเครียดออกซิเดชัน พืชมีกลไกในการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันความเสียหาย การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีของยางพาราที่ผ่านการติดตา โดยเปรียบเทียบการติดตายางพาราแบบ homograft (RRIM 600 / RRIM 600) และ heterograft (RRIM 600 / PB5/51) พบว่า การติดตายางพาราแบบ heterograft มีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาสูงกว่า homograft ที่ 81.58 % และมีการแตกยอดใหม่ที่ 6 วัน มีความสูงยอดใหม่ เส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่ม และจำนวนใบสูงกว่า homograft ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 ให้ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 3 และ 7 แต่ลดลงมากในวันที่ 14 และ 21 หลังการติดตา นอกจากนี้ ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD APX CAT และ POD มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีกิจกรรมของเอนไซม์ APX CAT และ POD มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังนั้น กิ่งพันธุ์ดีที่เข้ากันได้ส่งผลให้ยางพารามีการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีที่ดีขึ้น

**คำสำคัญ:** ยางพารา, ต้นตอ, กิ่งพันธุ์ดี, สัณฐานวิทยา, Reactive oxygen species

#### Abstract

Plant propagation is one of processes to increase plant number and to be used for plant genetic conservation. Para rubber is propagated by many methods such as seeds, cleft grafting or budding. Budding is widely and effectively used for para rubber tree propagation. However, there could be problems with graft compatibility between rootstock and scion. The grafting healing process may trigger oxidative stress. Plants have mechanisms for producing antioxidants to prevent damage of plant tissues at budding sites. The aim of this study was to investigate morphological and biochemical responses of budded para rubbers by comparing the homograft budding (RRIM 600 / RRIM 600) with heterograft budding (RRIM 600 / PB5/51) of rubber. The results showed that heterograft gave a higher percentage of budding success than homograft at 81.58% and shorter new shoot formation times at 6 days. The higher average new-shoot height, canopy diameter and average number of leaves were obtained from homograft. RRIM 600 / RRIM 600 was likely to increase H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> while RRIM 600 / PB5/51 showed the increasing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> after 3-7 days of budding but greatly reduced after 14-21 days. In addition, RRIM 600 / RRIM 600 showed the decrease of SOD APX CAT and POD activities while RRIM 600 / PB5/51 showed the increase of

APX, CAT and POD activities. Therefore, the compatibility between scion and rootstock could possibly affect morphological and biochemical responses.

**Keywords:** Para rubber, Rootstock, Scion, Morphology, Reactive oxygen species

## บทนำ

ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ปัจจุบันการปลูกยางพาราได้ขยายไปยังภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศ ไม่ว่าจะเป็นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ จากเดิมที่มีการปลูกกันมากในภาคใต้ การปลูกยางพาราสามารถทำได้โดยวิธีการติดตาเขียวซึ่งต้องอาศัยเมล็ดพันธุ์จำนวนมากเพื่อใช้เป็นต้นตอ ในปี 2545 ประเทศไทยต้องใช้ต้นพันธุ์ยางสำหรับปลูกไม่ต่ำกว่า 35 ล้านต้น (Songkhla Rubber Research Center and Suratthani Rubber Research Center, 2003) ดังนั้นเมล็ดพันธุ์จึงมีความสำคัญต่อการเพาะปลูกยางพาราเป็นอย่างมาก ปัจจุบันต้นตอที่ได้จากการปลูกด้วยเมล็ดพันธุ์ยางที่เก็บรวบรวมในสวนยางของเกษตรกรซึ่งส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ RRIM 600 ที่มีความอ่อนแอต่อโรคใบร่วง โรคเส้นดำ โรครากแดง โรครากสีน้ำตาล และโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรครากขาว (Rubber Research Institute, 2012) การเขาทำลายของโรครากขาวส่งผลให้ยางพารายืนต้นตายทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตยางพาราเป็นอย่างมาก (Jantarapratin et al., 1995) ดังนั้นการเลือกใช้ต้นตอของยางพาราที่มีความแข็งแรง ระบบรากเจริญเติบโตดี และสามารถทนทานต่อโรคและสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างมากต่อการปลูกสร้างสวนยางพารา (Wongvarodom, and Lerslerwong, 2013) ยางพาราพันธุ์ PB5/51 เป็นยางพาราพันธุ์พื้นเมืองที่มีความทนทานต่อโรครากขาว (Nakkanong and Nualsri, 2014) อีกทั้งยังเป็นยางพาราพันธุ์พื้นเมืองที่สถาบันวิจัยยางแนะนำให้ใช้ เพราะสามารถใช้เป็นต้นตอหรือต้นกล้าที่ได้ดีกว่าเมล็ดพันธุ์อื่น (Thongneangam, 2007) เนื่องจากมีระบบรากลึก และพัฒนาการดี (Cherngchalard, 2012) แต่อย่างไรก็ตามต้นตอของยางพาราพันธุ์พื้นเมืองอาจมีพันธุกรรมแตกต่างจากยางพาราพันธุ์ดีที่นิยมปลูกกันทั่วไปในปัจจุบัน อาจมีผลต่อความสามารถในการเข้ากันไครระหว่างต้นตอ และกิ่งตายางพาราพันธุ์ดี ซึ่งส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตน้ำยางของยางพารา Abbas และ Ginting (1981) กล่าวว่าต้นตอมีอิทธิพลมากต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตน้ำยาง Goncalves และ Martin (2002) พบว่า ผลผลิตของยางพารามีความแตกต่างกันประมาณ 18-20 เปอร์เซ็นต์จากการใช้ต้นตอพันธุ์ต่าง ๆ

การติดตายางพาราส่งผลให้เกิดบาดแผลบริเวณลำต้น ความเครียดจากบาดแผลส่งผลต่อสมดุลการถ่ายเทออกซิเจนภายในไมโทคอนเดรีย และคลอโรพลาสต์ มีการถ่ายเทออกซิเจนออกไปยังโมเลกุลของออกซิเจนมากเกินไป ส่งผลให้มี reactive oxygen species (ROS) (Lukazuk and Ciereszko, 2012) เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide;  $O_2^{\cdot-}$ ), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide;  $H_2O_2$ ) และไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radical;  $OH^{\cdot}$ ) เพิ่มมากขึ้น ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ (León et al., 2001) ในภาวะปกติพืชจะมีความสมดุลระหว่างการสร้างและการกำจัด ROS แต่เมื่อตกอยู่ในสภาวะเครียดจากการสูญเสียออกซิเจน (oxidative stress) เกิดความไม่สมดุลต่อการกำจัด ROS ส่งผลให้เกิดการออกซิเดชันของโปรตีน และไขมัน ตลอดจนการทำลายโครงสร้างสารพันธุกรรม (Sangsanga, 2014) ทั้งหมดนี้ส่งผลให้เนื้อเยื่อเกิดการตายรวมทั้งเนื้อเยื่อท่อลำเลียงระหว่างต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้ (Gainza et al., 2015) แต่พืชมีกลไกในการกำจัด ROS โดยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เช่น SOD, APX, CAT และ POD เป็นต้น จากการศึกษาของ Chen และคณะ (2016) ในการทาบกิ่งพันธุ์พันธุ์ Jingganghongnuo ลงบนต้นตอจำนวน 13 พันธุ์ เพื่อตรวจสอบความเข้ากันไครระหว่างกิ่งพันธุ์ดีและต้นตอ พบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, APX, CAT และ POD สูงที่สุดในต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีที่มีความเข้ากันไครได้ ซึ่งมีลักษณะของรอยต่อที่เรียบ และมีใบสีเขียวเข้ม แต่ในต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีที่เข้ากันไม่ได้จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, APX, CAT และ POD ต่ำกว่า โดยลักษณะของต้นตอที่เข้ากันไม่ได้จะมีรอยขรุขระบริเวณรอยต่อ รวมทั้งใบแสดงอาการเหลืองอย่างเห็นได้ชัด โดยส่วนใหญ่การประเมินการตอบสนอง และความสามารถในการเข้ากันไครระหว่างต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดี นิยมใช้ผลผลิตน้ำยางที่เป็นตัวชี้วัดที่สำคัญ จึงทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการตรวจยางพาราสามารถเก็บผลผลิตได้ ซึ่งใช้ระยะเวลา 6-8 ปี การศึกษาตัวชี้วัดอื่นที่จะสามารถประเมินการตอบสนองตั้งแต่ระยะแรกของการติดตาจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการช่วยลดระยะเวลาการศึกษาให้สั้นลง ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความสำเร็จหลังการติดตา จำนวนวันที่แตกยอดใหม่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ปริมาณของ  $H_2O_2$  และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลังการติดตา ในยางพาราที่ติดตาแบบ homograft และ heterograft เพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่เหมาะสมสำหรับต่อยอดการวิจัย และพัฒนาการผลิตยางพาราย่างยั่งยืนได้

## วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมตัวอย่างในการทดลองและการติดตายางพารา

เก็บรวบรวมเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 และพันธุ์ PB5/51 เพาะเมล็ดเพื่อใช้เป็นต้นตอในการติดตา ทำการบำรุงรักษาต้นตอของยางพาราโดยการใส่ปุ๋ย กำจัดวัชพืช และรดน้ำ วันละ 2 ครั้ง เพื่อเตรียมต้นตอให้มีความสมบูรณ์สำหรับการติดตา เมื่อต้นยางพารามีอายุ 6-8 เดือน ขนาดของลำต้นมีเส้นผ่านศูนย์กลางไม่น้อยกว่า 1 เซนติเมตร ที่ระดับความสูงจากพื้นดิน 10 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรง และโคนรากไม่คดงอ จึงสามารถใช้เป็นต้นตอในการติดตาได้ จากนั้นทำการติดตายางพาราด้วยวิธีการติดตาเขียว โดยมียางพาราพันธุ์ RRIM 600 และ PB 5/51 เป็นต้นตอ และยางพาราพันธุ์ RRIM 600 เป็นกิ่งพันธุ์ดี ทำการเปรียบเทียบประชากรสองกลุ่มระหว่างระหว่างการติดตาแบบ homograft (RRIM 600 / RRIM 600) และ heterograft (RRIM 600 / PB5/51) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) โดยมีทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของข้อมูลด้วยโปรแกรม R version 2.14.2 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's

Multiple Range Test (DMRT) ทำการทดลองในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง มีนาคม พ.ศ. 2563 ณ โรงเรียนปลูกพืชทดลอง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

## 2. การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างเปลือกยางพาราบริเวณส่วนที่มีการติดตาในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 วัน หลังการติดตา เปรียบเทียบกับวันที่ไม่ได้ทำการติดตา (control) โดยเก็บตัวอย่างหอดวอย อะลูมิเนียมฟอยล์แล้วแชงลงในไนโตรเจนเหลวทันที ย้ายตัวอย่างไปจัดเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ผลการทดลองต่อไป

## 3. การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตา จำนวนวันแตกตาของยอดใหม่ และการ เจริญเติบโตหลังการติดตา

หลังติดตาไปแล้วเป็นเวลา 21 วัน ทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงสีของแผ่นตา โดยแผ่นตาที่มีสีเขียวคือติดตาสำเร็จ ในทางกลับกัน แผ่นตาที่เปลี่ยนเป็นสีดำ หรือสีน้ำตาลแสดงว่าติดตาไม่สำเร็จ ใช้มีดกรีดพลาสติกบริเวณด้านตรงข้ามออก ปลอ่ยไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนทำการตัดต้นเดิมทิ้ง ทำการวัดเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาตามสมการ

$$\text{Percentage of budding success} = \frac{\text{Number of successful grafts}}{\text{Total number of grafted rootstocks}} \times 100$$

และเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตหลังจากตัดยอดต้นต่อเดิมทิ้ง โดยตรวจสอบจำนวนวันแตกตาใหม่ ความยาวของยอดใหม่ที่เกิดขึ้น เส้นผ่านศูนย์กลางของทรงพุ่ม และจำนวนใบทั้งหมด ทุก ๆ 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 2 ทรีตเมนต์ โดยมีทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ความแปรปรวนของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี T-test

## 4. วิธีการสกัดพีชและวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

นำชิ้นส่วนลำต้นบริเวณที่ติดตา ปริมาณ 0.2 กรัม ใส่ในโกร่งบดด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด เติม reaction mixture ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร (ประกอบด้วย 0.1% w/v trichloroacetic acid (TCA) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร, 1 โมลาร์ potassium iodide (KI) ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และ 10 มิลลิโมลาร์ potassium phosphate buffer pH 7 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Junglee และคณะ (2014) ทำการผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 xg เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายส่วนใสใส่ลงในหลอดใหม่ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เทียบกับสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกันระหว่างการติดตาแบบ homograft และ heterograft ของวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังการติดตา วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 2 ทรีตเมนต์ โดยมีทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ความแปรปรวนของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี T-test

## 5. วิธีการสกัดพีชและวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

### 5.1 วิธีสกัดเอนไซม์จากตัวอย่างพีช

ทำการชั่งชิ้นส่วนลำต้นบริเวณที่ติดตา ปริมาณ 0.2 กรัม ใส่ในโกร่งบดด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Fernández-garcía และคณะ (2004) เติม potassium phosphate buffer pH 7.2 เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และ 1% PVP ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่ลงในหลอดใหม่ นำไปวิเคราะห์ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ เปรียบเทียบกันระหว่างการติดตาแบบ homograft และ heterograft ของวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังการติดตา โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 2 ทรีตเมนต์ โดยมีทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ความแปรปรวนของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี T-test

### 5.2 การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD

ทำการเตรียม substrate mixture ประกอบด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Potassium Phosphate buffer pH 7.2, 2 มิลลิโมลาร์ EDTA, 9.9 มิลลิโมลาร์ L-methionine, 55 ไมโครโมลาร์ NBT และ 0.025% Triton-X100 และทำการผสม 1 มิลลิโมลาร์ riboflavin ในอัตราส่วน 1:100 เติมลงในเพลท 96 หลุม ปริมาตรหลุมละ 200 ไมโครลิตร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Beyer และ Fridovich (1987) เติมสารละลายส่วนใสที่ได้จากการสกัดพีช ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำตัวอย่างไว้ในที่มืดสำหรับชุดควบคุม และให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 15 วัตต์ สำหรับตัวอย่างที่ใช้วัดการเกิดปฏิกิริยา วัดการเกิดสีของ NBT-diformazan ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader ทุกนาที่ตั้งแต่เวลาที่ 1 จนหยุดปฏิกิริยา รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition)

### 5.3 การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ APX

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ APX เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของ ascorbate ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Nakano และ Asada (1981) เตรียมสาร substrate mixture ประกอบด้วย 50 มิลลิโมลาร์ potassium phosphate buffer pH 7, 0.25 มิลลิโมลาร์ ascorbic acid และ 10 มิลลิโมลาร์ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร เติมสารละลายส่วนใสปริมาณ 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetics ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร ทุก ๆ 15 วินาที เป็นเวลา 150 วินาที คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต่อกรัมของพีช โดยใช้ค่า extinction coefficient สำหรับวัดกิจกรรมของเอนไซม์ คือ 2.8 มิลลิโมลาร์ต่อเซนติเมตร

#### 5.4 การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ CAT เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ 240 นาโนเมตร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Aebi และ Lester (1984) ทำการเตรียม substrate mixture ประกอบด้วย 50 มิลลิโมลาร์ potassium phosphate buffer pH 7 และ 10 มิลลิโมลาร์ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร เติมนสารละลายส่วนใสที่ได้จากการสกัดพืช ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetics ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร ทุก ๆ 15 วินาที เป็นเวลา 90 วินาที คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต่อกรัมของพืช โดยใช้ค่า extinction coefficient คือ 0.0436 มิลลิโมลาร์ต่อเซนติเมตร

#### 5.5 การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ POD

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ POD เป็นการวัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสง tetraguaiacol ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Dias และ Costa (1983) ทำการเตรียม substrate mixture ประกอบด้วย 50 มิลลิโมลาร์ potassium phosphate buffer pH 7, 1% guaiacol และ 10 มิลลิโมลาร์ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ปริมาตร 950 ไมโครลิตร เติมนสารละลายส่วนใส ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบ kinetics ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ทุก ๆ 10 วินาที เป็นเวลา 60 วินาที คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต่อกรัมของพืชโดยใช้ค่า extinction coefficient คือ 26.6 มิลลิโมลาร์ต่อเซนติเมตร

### ผลการทดลอง

#### 1. การตรวจสอบความสำเร็จหลังการติดตา และจำนวนวันแตกยอดใหม่

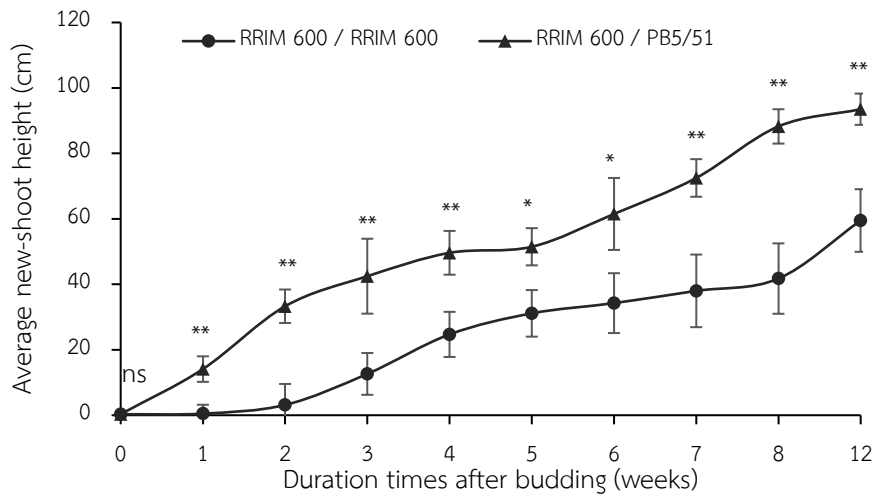
การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาหลังจากติดตาเป็นเวลา 28 วัน โดยพิจารณาจากสีของแผ่นตา พบว่าการติดตา แบบ heterograft ให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาส่งกว่าการติดตាយางพาราแบบ homograft โดยการติดตายางพาราด้วยแผ่นตาพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 ให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตา 81.58% ตามด้วย RRIM 600 / RRIM 600 ให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตา 78.38% สำหรับจำนวนวันแตกยอดใหม่ พบว่าการติดตายางพาราพันธุ์ RRIM 600/ PB5/51 แตกยอดใหม่เร็วกว่า RRIM 600 / RRIM 600 ที่ 6 วัน ในขณะที่ RRIM 600 / RRIM 600 ใช้เวลา 9 วันในการแตกยอดใหม่ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาลักษณะของยอดที่แตกใหม่ มีความสมบูรณ์และแข็งแรงไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ RRIM 600/ PB5/51 จะมียอดใหม่ที่เจริญเติบโตกว่าเล็กน้อย (Figure 1) และรอยประสานระหว่างแผ่นกิ่งตากับต้นตอของ RRIM 600 / PB 5/51 มีรอยประสานเรียบกลืนกันมากกว่า RRIM 600 / RRIM 600



Figure 1 Characteristic of shoots from homograft budding (RRIM 600 / RRIM 600) (A) and heterograft budding (RRIM 600 / PB5/51) (B) of Para rubber after budding for 28 days

#### 2. การตรวจสอบการเจริญเติบโตหลังการติดตา

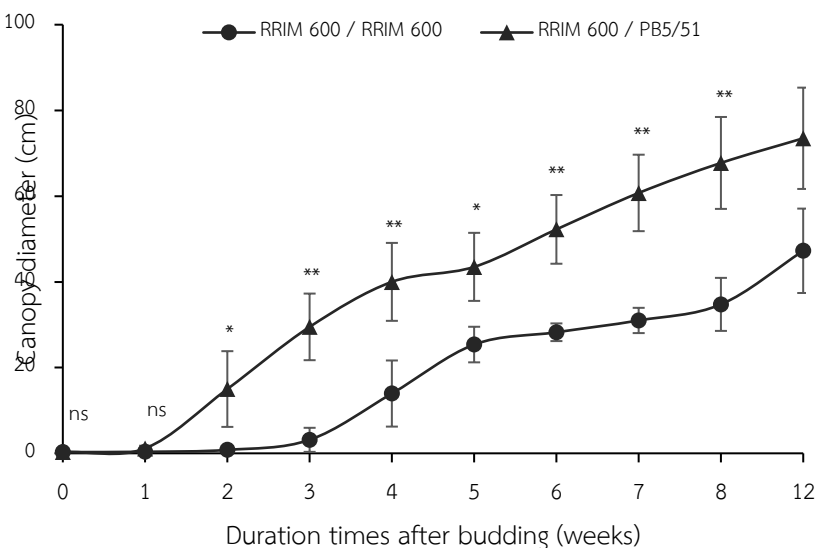
ความสูงของยอดใหม่หลังการติดตาโดยวัดจากแผ่นตาถึงปลายยอด พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีความสูงยอดมากกว่า RRIM 600 / RRIM 600 ทุกสัปดาห์ โดยที่ RRIM 600 / RRIM 600 มีความสูงของยอดใหม่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 1-2 สัปดาห์แรก แต่ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีความสูงของยอดใหม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากสัปดาห์ที่ 2 พบว่ายางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 และ RRIM 600 / PB5/51 มีความสูงของยอดใหม่เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีความสูงของยอดใหม่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย และค่อนข้างคงที่ในช่วงสัปดาห์ที่ 2-5 แต่หลังจากสัปดาห์ที่ 5 ความสูงของยอดใหม่จึงค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้ง ในทางกลับกัน ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 ที่มีความสูงเพิ่มขึ้นมากในช่วงสัปดาห์ที่ 2-4 และคงที่ในสัปดาห์ที่ 4-8 และเพิ่มขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 12 ซึ่งหลังจากติดตาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 ให้ความสูงยอดใหม่เฉลี่ยสูงสุด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p \leq 0.01$ ) ทางสถิติ (Figure 2)



**Figure 2** Effect of rootstocks on average new-shoot height of Para rubber after budding for 12 weeks (bar=SD, ns = not significant difference, \* = significant difference at  $p \leq 0.05$ , \*\* = significant difference at  $p \leq 0.01$ )

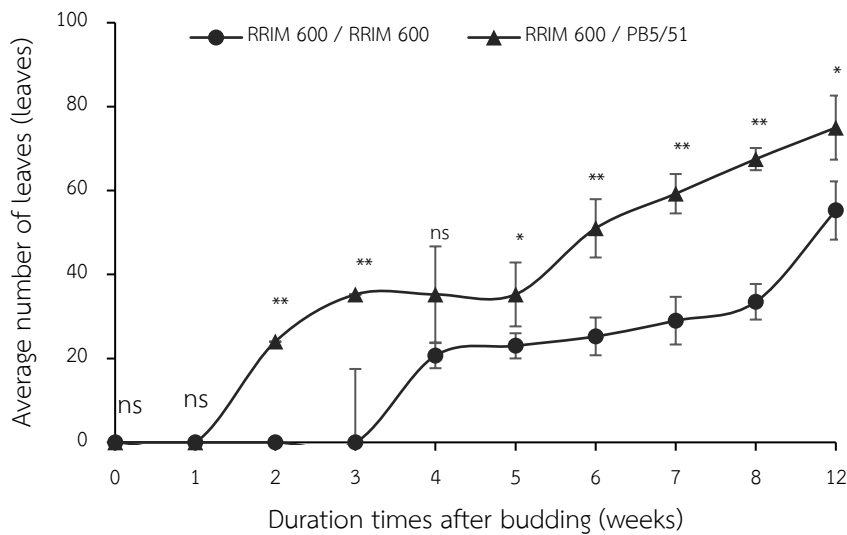
จากการตรวจสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่มของยอดใหม่ พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีเส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่มมากกว่า RRIM 600 / RRIM 600 ทุกสัปดาห์ ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยใน 3 สัปดาห์แรก และมีขนาดเพิ่มขึ้นมากในช่วง 3-5 สัปดาห์ จากนั้นคงที่ในช่วง 5-8 สัปดาห์ และเพิ่มขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 12 ในขณะที่ ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่มเพิ่มขึ้นอย่างมากตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์ที่ 4 จากนั้นคงที่ในช่วง 4-5 สัปดาห์ และเพิ่มขึ้นอีกครั้งตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 เป็นต้นไป ซึ่งหลังจากติดตามเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 ให้เส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่มเฉลี่ยสูงสุด แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) (Figure 3)

ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 เริ่มมีใบในสัปดาห์ที่ 4 หลังจากตัดต้นต่อเดิมทิ้ง ในขณะที่ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 เริ่มมีใบที่ 4 สัปดาห์ แต่เมื่อเริ่มแตกใบใหม่ จำนวนใบเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และคงที่ในช่วงสัปดาห์ที่ 4-8 และเพิ่มขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 12 สำหรับยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 พบว่าเริ่มแตกใบใหม่ในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากตัดต้นต่อเดิมทิ้ง และคงที่ในช่วง 3-5 สัปดาห์ เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป พบว่ายางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีจำนวนใบเพิ่มขึ้นอีกครั้ง นอกจากนี้ พบว่า ที่ 12 สัปดาห์ ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ทางสถิติ (Figure 4)



**Figure 3** Effect of rootstocks on canopy diameter of Para rubber after budding for 12 weeks

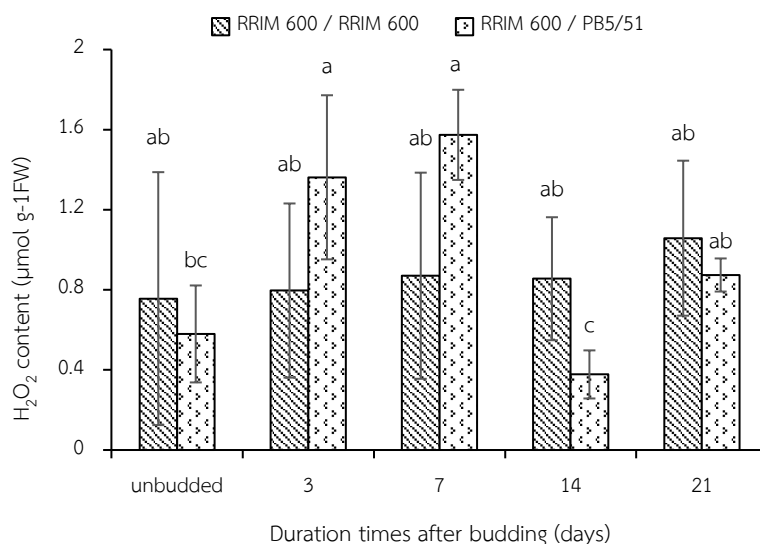
(bar=SD, ns = not significant difference; \* = significant difference at  $p \leq 0.05$ ; \*\* = significant difference at  $p \leq 0.01$ )



**Figure 4** Effects of scions and rootstocks on average number of leaves of Para rubber after budding for 12 weeks (bar=SD, ns = not significant difference, \* = significant difference at  $p < 0.05$ , \*\* = significant difference at  $p < 0.01$ )

### 3. ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของยางพาราแต่ละพันธุ์ภายหลังการติดตา

ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในต้นที่ไม่ได้ติดตาเป็นผลมาจากความแตกต่างของพันธุ์ ส่วนในต้นที่ทำการติดตาเป็นผลที่เกิดร่วมกันระหว่างพันธุ์ และความเครียดที่เกิดจากการติดตา จากการทดลองพบว่า ยางพาราที่ไม่ได้ทำการติดตามีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่แตกต่างกัน หลังการติดตา พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในทุกวันที่มีการตรวจสอบ แต่มีปริมาณใกล้เคียงกับวันที่ไม่ได้ทำการติดตา ในขณะที่ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้นมากในวันที่ 3 และ 7 หลังการติดตา และลดลงอย่างมากในวันที่ 14 และ 21 หลังการติดตา จนมีปริมาณน้อยกว่า RRIM 600 / RRIM 600 ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในวันที่ 14 แต่ไม่แตกต่างกันในวันที่ 21 หลังการติดตา จากปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ายางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 เกิดความเครียดออกซิเดชันในวันที่ 3 และ 7 หลังการติดตา เนื่องจากการมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สูงกว่าวันที่ไม่ได้ทำการติดตาเป็นอย่างมาก ในขณะที่ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 พบว่าไม่เกิดความเครียดออกซิเดชันเนื่องจากมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ค่อนข้างคงที่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ไม่ได้ทำการติดตา (Figure 5)



**Figure 5** Effects of scions and rootstocks on  $H_2O_2$  content of Para rubber after budding for 21 days (bar=SD, ns = not significant difference; \* = significant difference at  $p < 0.05$ )

### 4. กิจกรรมของเอนไซม์ SOD APX CAT และ POD

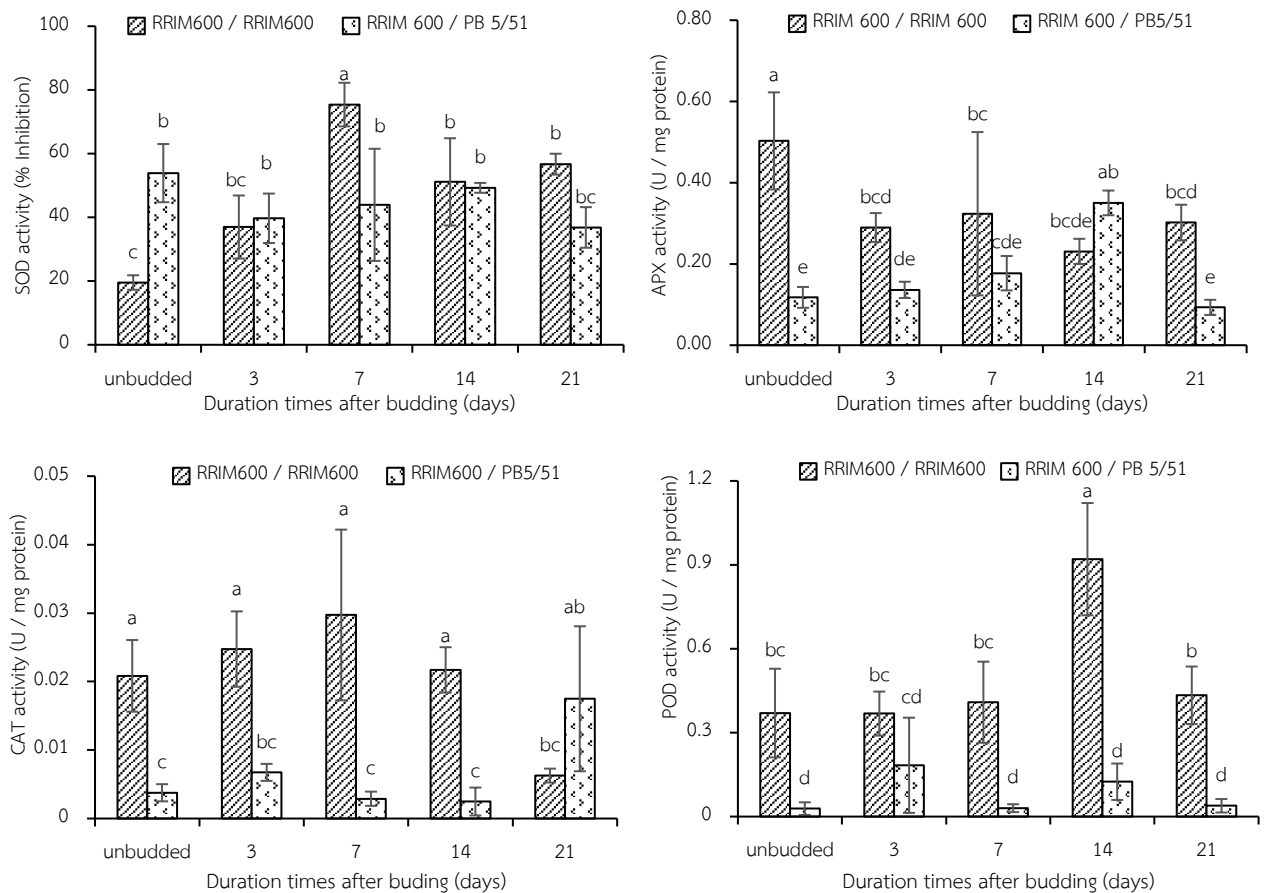
กิจกรรมของเอนไซม์ในต้นที่ไม่ได้ติดตาเป็นผลมาจากความแตกต่างของพันธุ์ ส่วนในต้นที่ทำการติดตาเป็นผลที่เกิดร่วมกันระหว่างพันธุ์ และความเครียดที่เกิดจากการติดตา เมื่อพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์ SOD พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 7 หลังการติดตา และลดลงเล็กน้อยหลังจากวันที่ 7 ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ SOD ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB 5/51 มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย โดยชุดควบคุมของต้นต่อที่ไม่ได้ติดตาให้กิจกรรมของเอนไซม์

SOD สูงสุด อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองสายพันธุ์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ SOD ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB 5/51 สูงกว่า RRIM 600 / RRIM 600 หลังการติดตา 3 วัน แต่ตั้งแต่วันที่ 7 เป็นต้นไป RRIM 600 / RRIM 600 ให้กิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงกว่า RRIM 600 / PB 5/51 (Figure 6)

เมื่อพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์ APX พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีแนวโน้มลดลง โดยมีกิจกรรมสูงสุดในต้นที่ไม่มีการติดตา ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ APX ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB 5/51 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 14 และลดต่ำลงในวันที่ 21 หลังการติดตา อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองสายพันธุ์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ APX ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 สูงกว่า RRIM 600 / PB 5/51 หลังการติดตา 3 7 และ 21 วัน แต่ RRIM 600 / PB 5/51 ให้กิจกรรมของเอนไซม์ APX สูงกว่า RRIM 600 / RRIM 600 ที่ 14 วันหลังการติดตา (Figure 6)

เมื่อพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์ CAT พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีกิจกรรมสูงสุดที่ 7 วัน และลดลงอย่างมากในวันที่ 21 หลังการติดตา ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ CAT ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB 5/51 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 หลังการติดตา อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองสายพันธุ์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ CAT ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 สูงกว่า RRIM 600 / PB 5/51 ทั้งต้นที่ไม่ได้ทำการติดตา และหลังการติดตา 3 จนถึง 14 วัน แต่ RRIM 600 / PB 5/51 ให้กิจกรรมของเอนไซม์ CAT สูงกว่า RRIM 600 / RRIM 600 ที่ 21 วันหลังการติดตา (Figure 6)

เมื่อพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์ POD พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีกิจกรรมสูงสุดที่ 14 วัน และลดลงอย่างมากในวันที่ 21 หลังการติดตา ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ POD ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB 5/51 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 3 หลังการติดตา และลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการติดตา อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองสายพันธุ์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ POD ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 สูงกว่า RRIM 600 / PB 5/51 ในทุกวันที่ตรวจสอบ (Figure 6)



**Figure 6** Effect of rootstocks on SOD, APX, CAT and POD activity of Para rubber after budding for 21 days (bar=SD, ns = not significant difference; \* = significant difference at  $p < 0.05$ )

## วิจารณ์

การพิจารณาเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาชี้ให้เห็นว่าการติดตายางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาสูงกว่าในยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 ที่เป็นการติดตาแบบ homograft ความสำเร็จในการติดตาที่ต่างกันอาจเป็นเพราะช่วงเวลาในการติดตาที่แตกต่างกัน ในช่วงเช้า ช่วงสาย และเที่ยงวันของวันที่ทำการติดตา มีสภาพของอุณหภูมิ ความชื้น และสภาพอากาศแตกต่างกันในระหว่างที่ทำการติดตา จึงอาจส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาได้ (Vršič et al.,

2015) อีกทั้งยังพาราแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการสร้างแคลลัสซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการเกิดรอยต่อที่สมบูรณ์ต่างกัน (Wattanaphoot, 1999) แต่เมื่อพิจารณาจำนวนวันในการแตกตาของยอดใหม่ พบว่า ไม่สอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาม แต่สอดคล้องกับผลการเจริญเติบโต ในทางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีการแตกตาของยอดใหม่เร็วที่สุด โดยใช้ระยะเวลา 6 วัน ในการแตกยอดใหม่ รวมทั้งมีการเจริญเติบโตดีกว่า RRIM 600 / RRIM 600 ไม่ว่าจะมีความยาวของยอดใหม่ เส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่ม และจำนวนใบ รวมทั้งมีปัจจัยอื่นที่อาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพาราหลังการติดตาม (Trincheria et al., 2013) รวมไปถึงความสามารถในการดูดซับสารอาหารของต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดี (Martinez-Ballesta et al., 2010) และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Porika et al., 2016) สำหรับพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 พบว่า มีการเจริญเติบโตน้อยกว่า และใช้ระยะเวลาในการแตกตานาน สอดคล้องกับการรายงานของ Sangsil (2015) และ Prabpree (2019) ที่พบว่าในการติดตามพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีการเจริญเติบโต และพัฒนาการของต้นน้อยที่สุด นอกจากนี้ ในบางช่วงของการเจริญเติบโตของพาราทั้งสองสายพันธุ์จะพบว่า ค่อนข้างคงที่ เนื่องจากพารากำลังพัฒนาเข้าสู่การสร้งยอด (ฉัตร) ที่ 2 จึงต้องมีการสะสมอาหาร เพื่อการเจริญเติบโต และการแบ่งเซลล์เพื่อพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (Kaveeta, 2016) โดยพาราแต่ละพันธุ์มีระยะเวลาในการสร้างฉัตรใหม่ที่แตกต่างกันไป การเจริญเติบโตของพาราหลังการติดตาม พบว่า การเลือกใชพาราพันธุ์ PB5/51 ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองมาเป็นต้นตอในการติดตามมีผลต่อการเจริญเติบโตของแผนตาพันธุ์ดี RRIM 600 ที่พัฒนาเป็นยอดใหม่อย่างเห็นได้ชัด แสดงว่าพาราพันธุ์ PB5/51 สามารถสร้างเนื้อเยื่อเจริญและมัดท่อลำเลียง เพื่อเชื่อมประสานรอยต่อระหว่างต้นตอและแผนตาพันธุ์ดีได้ ส่งผลให้กิ่งพันธุ์ดีที่ติดตามเขาด้วยกันมีการเจริญเติบโตที่ดี รวมทั้งพาราพันธุ์ PB5/51 ยังมีระบบรากที่ลึก และมีพัฒนาการของรากที่ดีอีกด้วย (Cherngchalard, 2012) จากการทดลองสามารถจำแนกความสามารถในการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีโดยใช้เกณฑ์ของการเจริญเติบโตหลังการติดตามได้เป็น 2 แบบ ได้แก่ แบบที่มีความสามารถในการเข้ากันได้ดี (compatible combinations) คือ พาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 และแบบที่มีความสามารถในการเข้ากันได้น้อย (less compatible combinations) ได้แก่ พาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600

ROS เป็นอนุมูลอิสระที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลส่งสัญญาณในการตอบสนองของพืช (Sewelam et al., 2016) แต่ในขณะเดียวกันที่ความเข้มข้นสูง ROS สามารถสร้างความเสียหายแก่องค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ และส่งผลให้เซลล์ตายได้ (cell apoptosis) (Orozco-Cardenas and Ryan, 1999) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็น ROS ที่พบในเซลล์ทั้งในสภาวะปกติและสภาวะเครียด การที่มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากกว่าค่าในระดับปกติ จึงเป็นสิ่งที่บ่งชี้ว่าพืชเกิดความเครียดออกซิเดชัน (Sharma et al., 2012) Slesak และคณะ (2008) พบว่า การเกิดบาดแผลทำให้มีการสะสมปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในพืชขบวนการน้ำชนิดหนึ่ง (คอมิลลิโมลาร์ on iceplant) เพิ่มมากขึ้น Irisarri และคณะ (2015) รายงานว่า ปริมาณ ROS ที่เพิ่มขึ้นอย่างมากหลังจากที่มีการตอกกิ่งพันธุ์ลงบนต้นตอควินซ์ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วงคือ ช่วงแรกเป็นการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล ซึ่งเกิดขึ้นในวันที่ 3 หลังการตอกกิ่ง และช่วงที่ 2 เกี่ยวข้องกับความสามารถในการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี ซึ่งเกิดขึ้นในวันที่ 7 หลังการตอกกิ่ง สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า ก่อนการติดตามพาราแต่ละพันธุ์มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อทำการติดตาม พาราที่มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในวันที่ 3 และ 7 หลังการติดตามในพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 ซึ่งอาจบ่งชี้ถึงการตอบสนองต่อความเครียดในช่วงแรกที่เกิดจากการสร้างบาดแผลและการปรับตัวเข้าหากันของต้นตอ ทั้งนี้ในกิ่งพันธุ์ดีต่างสายพันธุ์ และหลังจากวันที่ 7 เป็นต้นไป จะพบว่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลดลงเป็นอย่างมาก อาจบ่งชี้ถึงความเครียดที่น้อยลงในระยะการตอบสนองที่สองซึ่งแสดงถึงความเข้ากันได้ดีของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี และยังสอดคล้องกับการเจริญเติบโตที่เพิ่มมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 หรือหลังจากวันที่ 14 ของการติดตาม ในการทาบกิ่งเมลอนพันธุ์ Avara ลงบนต้นตอพักทอง 2 สายพันธุ์ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีบริเวณรอยต่อ พบว่า หลังการทาบกิ่งในต้นที่มีความเข้ากันไม่ได้มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่าในต้นที่เข้ากันได้ (Aloni et al., 2008) ความเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นทำให้พืชเกิดภาวะเสียสมดุลของปฏิกิริยาแสงและปฏิกิริยาการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ จึงมีอิเล็กตรอนจากกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนส่งให้กับออกซิเจนได้มากขึ้น ทำให้เกิดสารจำพวก ROS มากขึ้น (Mittler et al., 2004) ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้โครงสร้างเซลล์เสียหาย เนื้อเยื่อที่อยู่บริเวณรอยประสานจึงไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็น ROS ที่สามารถเคลื่อนที่ผ่านช่องโปรตีนแควพอรินในเยื่อหุ้มเซลล์ได้ จึงทำหน้าที่เป็นสารสื่อสัญญาณในการควบคุมกระบวนการทางชีวเคมี และกระตุ้นให้เซลล์สามารถทนทานต่อความเครียดที่เกิดขึ้นได้ (Sharma et al., 2012) อย่างไรก็ตามเซลล์พืชต้องมีกระบวนการในการรักษาสมดุลระหว่างการสร้าง ROS และการกำจัด ROS ที่เกิดขึ้น เพื่อไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ โดยการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เปลี่ยน ROS ให้เป็นสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ จากการศึกษาของ Chen และคณะ (2016) ในการตอกกิ่งพันธุ์ดีลงบนต้นตอจำนวน 13 พันธุ์ พบว่า ในต้นที่เข้ากันได้จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, APX, CAT และ POD สูงกว่าในต้นที่เข้ากันไม่ได้ Xu และคณะ (2015) พบว่าในการทาบกิ่งแตงกวาลงบนต้นตอพักทอง เพื่อศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาในการเข้ากันได้ และเข้ากันไม่ได้ของต้นกล้าแตงกวา ในต้นที่เข้ากันได้มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, APX, CAT และ POD สูงกว่าในต้นที่เข้ากันไม่ได้เป็นอย่างมาก SOD เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระตัวแรกที่ทำหน้าที่กำจัดซูเปอร์ออกไซด์ โดยการเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และออกซิเจน APX, CAT และ POD เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อปกป้องเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเมื่อพืชได้รับความเครียด (Sewelam et al., 2016) ซึ่งจากการทดลอง จะพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD มีแนวโน้มลดลงซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในขณะที่ APX, CAT และ POD มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในแต่ละวันของการติดตามในพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 แต่อาจจะแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย โดยเฉพาะกิจกรรมของเอนไซม์ APX ที่สอดคล้องกับปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ APX มีผลต่อการลดลงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งในพืชต่างชนิดกันมีกิจกรรมของเอนไซม์ต่างกัน อาจสรุปได้ว่าเอนไซม์ APX มีประสิทธิภาพในการยับยั้งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากกว่าเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ในพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 ใน



การทดลองการทาบกิ่งมะเขือเทศพันธุ์ Fanny ลงบนต้นตอพันธุ์ AR-9704 เพื่อศึกษาการพัฒนาของเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อ พบว่า ในวันที่ 8 หลังจากการทาบกิ่งเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อมีการสร้างท่อลำเลียงน้ำเพื่อเชื่อมต่อระหว่างต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีเกิดขึ้น และพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ APX, CAT และ POD เพิ่มขึ้นทั้งในต้นตอ และกิ่งพันธุ์ดีเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ทาบกิ่ง อีกทั้งปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่า มีปริมาณสูงที่สุดที่ 8 วันหลังจากการทาบกิ่งเช่นเดียวกัน (Fernández-garcía *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม ยางพาราพันธุ์ RRIM 600/ RRIM 600 ที่ถูกจัดว่ามีความเข้ากันได้ต่ำ แต่กลับมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่อนข้างคงที่ และสูงกว่ายางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 ในทุกช่วงเวลา โดยเฉพาะ POD อาจเนื่องมาจากยางพาราพันธุ์ RRIM 600 เป็นพันธุ์ที่มีการปรับตัวได้ดีในเกือบทุกพื้นที่ และทนทานต่อการกรีดได้ดีมากกว่ายางพาราพันธุ์อื่น ๆ อยู่แล้ว (Rubber Research Institute, 2016) ซึ่ง POD เป็นเอนไซม์ที่สำคัญต่อการสลายแลค และซ่อมแซมผนังเซลล์ (Sharma *et al.*, 2012) พิจารณาได้จากกรณีที่ RRIM 600 ที่ไม่ได้ติดตา มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่มากอยู่แล้ว นอกจากนี้ กิจกรรมของเอนไซม์ที่มีความแตกต่างกันเล็กน้อยอาจถูกยับยั้งการทำงานโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Kitajima, 2008) จึงส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ต่างกับเอนไซม์ตัวอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่ามีหลายงานวิจัยที่พบว่า ความเข้ากันได้ดีของต้นตอกับกิ่งพันธุ์มักจะส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ต่างๆ เพิ่มขึ้น (Xu *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016) แต่อาจจะไม่ได้มีความชัดเจนมากนักเมื่อเทียบกับการแสดงออกทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาการเจริญเติบโต ดังนั้นหากต้องการจะตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ อาจต้องมีการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดอื่นๆ เพิ่มเติมต่อไป

## สรุป

ยางพาราส่วนใหญ่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการติดตาเขียว แต่อย่างไรก็ตาม สิ่งที่ต้องคำนึง คือ ความเข้ากันได้ของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดี โดยสามารถตรวจสอบได้จากเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตา การเจริญเติบโตหลังการติดตา ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, APX, CAT และ POD จากการศึกษา พบว่า ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / PB5/51 มีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาสูงกว่าในยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 และมีการเจริญเติบโตดีกว่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 / RRIM 600 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ RRIM 600 / PB5/51 เพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 3 และ 7 แล้วลดลงในวันที่ 14 และ 21 หลังการติดตา เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ APX, CAT และ POD เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า กิ่งพันธุ์ดีที่เข้ากันได้ ส่งผลให้ยางพารามีการตอบสนองทางสัณฐานวิทยา และกิจกรรมของเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีแนวโน้มลดลง

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยบัณฑิตศึกษาด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร จากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2563 และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษาวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม ขอขอบคุณศูนย์วิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร และทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 3 และห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก (ห้องชีวโมกุล) คณะทรัพยากรธรรมชาติ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา

## เอกสารอ้างอิง

- Abbas, B.S. and Ginting, S. 1981. Influence of rootstock and scion on girth increment in rubber trees. Buletin Balai Penelitian Perkebunan Medan. 12: 145-152.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121-126.
- Aloni, B., Kami, L., Deventurero, G., Levin, Z., Cohen, R., Katzir, N., Lotan-Pompan, M., Edelstein, M., Aktas, H., Turhan, E., Joel, D.M., Hoerv, C. and Kapulnik, Y. 2008. Physiological and biochemical changes at the rootstock-scion interface in graft combinations between *Cucurbita* rootstocks and a melon scion. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 83: 777-783.
- Beyer, W.F. and Fridovich, I. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Anal Biochem 161: 559-566.
- Chen, Z., Zhao, J., Qin, Y. and Hu, G. 2016. Study on the graft compatibility between 'Jingganghongnuo' and other litchi cultivars. Scientia Horticulturae 199: 56-62.
- Cherngchalard, K. 2012. Selection of Rubber Clones for Rootstock and Genetically Analysis Using DNA Markers. Master Thesis. Prince of Songkla University.
- Dias, M.A. and Costa, M.M. 1983. Effect of low salt concentrations on nitrate reductase and peroxidase of sugar beet leaves. Journal of Experimental Botany 34: 537-543.
- Fernández-garcía, N., Carvajal, M. and Olmos, E. 2004. Graft union formation in tomato plants: peroxidase and catalase involvement. Annals of Botany 93: 53-60.
- Gainza, F., Opazo, I. and Muñoz, C. 2015. Graft incompatibility in plants: metabolic Changes during formation and establishment of the rootstock/scion union with emphasis on *Prunus* species. Chilean Journal of Agricultural Research 75: 28-34.
- Goncalves, P.S. and Martins, A.L.M. 2002. Combining ability effects of clonal rootstocks and scions in rubber trees (*Hevea*). Crop Breeding and Applied Biotechnology 3: 445-452.

- Irisarri, P., Binczycki, P., Errea, P., Martens, H.J. and Pina, A. 2015. Oxidative stress associated with rootstock-scion interactions in pear/quince combinations during early stages of graft development. *Journal of Plant Physiology* 176: 25-35.
- Jantarapratin, A., Sittiphol, B., Pattanakul, P., Janruang, N. and Supphol, P. 1995. Screening for resistance to white root disease of rubber stock. *In Full Report* (ed. Jantarapratin, A.) pp. 30-39. Songkhla: Songkhla Rubber Research Center, Rubber Research Institute.
- Junglee, S., Urban, L., Sallanon, H. and Lopez-Lauri, F. 2014. Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. *American Journal of Analytical Chemistry* 5: 730-736.
- Kaveeta, L. 2016. Plant structure. Bangkok: Department of Botany, Faculty of Science Kasetsart University.
- Kitajima, S. 2008. Peroxide-mediated inactivation of two chloroplastic peroxidase, ascorbate peroxidase and 2-Cys peroxiredoxin. *Photochemistry and Photo-biology* 84: 1404-1409.
- León, J., Rojo, E. and Sánchez-Serrano, J. J. 2001. Wound signaling in plant. *Journal of Experiment Botany* 52: 1-9.
- Łukazuk, E. and Ciereszko, I. 2012. Biological diversity – from cell to ecosystem. Białystok: Polish Botanical Society.
- Martínez-Bellesta, M.C., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C. and Carvajal, M. 2010. Physiological aspects of rootstock-scion interactions. *Scientia Horticulturae* 127: 112-118.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Breusegem, F.V. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *TRENDS in Plant Science* 9: 490-498.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22: 867-280.
- Nakkanong, K. and Nualsri, C. 2014. Research of Expression of white root resistance related genes in rubber tree. Songkhla: Faculty of Natural Resources Prince of Songkla University.
- Orozco-Cardenas, M. and Ryan, C.A. 1999. Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 6553-6655.
- Porika, H.K., Nimbolkar, P.K., Rajashekar, B. and Hussain, S. F. 2016. Graft compatibility-incompatibility in fruit crops: Mechanism and determination techniques. *The Asian Journal of Horticulture* 11: 252-260.
- Prabpree, A. 2019. Expression Profile of Phenylpropanoid Related Genes on Compatibility of Rubber Tree Rootstock-scion. Master Thesis. Prince of Songkla University.
- Rubber Research Institute. 2012. Data of Para Rubber. Bangkok: Rubber Division, Department of Agriculture.
- Rubber Research Institute. 2016. Para Rubber Bulletin. Para Rubber Electronic Bulletin 25: 2-41.
- Sangsanga, T. 2014. PGPR: The role in promoting and protecting plant under stress conditions. *Thai Science and Technology Journal*: 553-570.
- Sangsil, P. 2015. The Relationship between PAL Gene Expression and Phenolic Compounds in Compatibility of Different Rubber Rootstock-scion. Master Thesis. Prince of Songkla University.
- Sewelam, N., Kazan, K. and Schenk, P.M. 2016. Global plant stress signalling: reactive oxygen species at the cross-road. *Frontiers in Plant Science* 7: 1-21.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage and antioxidant defenses mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 2012: 1-26
- Slesak, I., Slesak, H., Libik, M. and Miszalski, Z. 2008. Antioxidant response system in the short-term post-wounding effect in *Mesembryanthemum crystallinum* leaves. *Journal of Plant Physiology* 165: 127-137.
- Songkhla Rubber Research Center and Suratthani Rubber Research Center. 2003. Production of Rubber in South. Bangkok: Rubber Division, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- Thongneangam, O. 2007. Growing media and Preparation of Planting Material. Bangkok: Rubber Division, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- Trincherá, A., Pandozy, G.S., Rinaldi, P., Crinó, Temperini O. and Rea, E. 2013. Graft union formation in artichoke grafting onto wild and cultivated cardoon: an anatomical study. *Journal of Plant Physiology* 170: 1569-1578.
- Vrčič, S., Pulko, B. and Kocsis, L. 2015. Factors influencing grafting success and compatibility of grape rootstocks. *Scientia Horticulturae* 181: 168-173.
- Wattanaphoot, N. 1999. Plant Propagation. Bangkok: OS printing house.
- Wongvarodom, V. and Lerslerwong, L. 2013. Research of Preliminary Study for Development of Rubber Rootstock Seed Production. Songkhla: Faculty of Natural Resources Prince of Songkla University
- Xu, Q., Guo, S.R., Li, H., Du, N.S., Shu, S. and Sun, J. 2015. Physiological aspects of compatibility and incompatibility in grafted cucumber seedlings. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 140: 299-307.