

## การหาค่า LD<sub>50</sub> ของโซเดียมเอไซด์เพื่อใช้ในการคัดเลือกพันธุ์หนูถีรูงอีม่วง

### อะตราดัม และพลแควลัม

วราพงษ์ เสนะวระกุล<sup>1/</sup> รัตติกาล ปวงแก้ว<sup>2/</sup> ณุทนาก โคตรพรหม<sup>1/</sup>

การทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่า LD<sub>50</sub> ของโซเดียมเอไซด์เพื่อใช้ในการคัดเลือกพันธุ์หนูถีรูงอีม่วง อะตราดัม และพลแควลัม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 7 สิ่งทดลอง ได้แก่ สารโซเดียมเอไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 0 5 10 15 20 25 และ 30 มิลลิโมลาร์ จำนวน 3 ซ้ำ พบว่า ค่า LD<sub>50</sub> ของโซเดียมเอไซด์สำหรับหนูถีรูงอีม่วง อะตราดัม และพลแควลัม เท่ากับ 2.119 11.785 และ 12.726 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ สารโซเดียมเอไซด์มีผลทำให้หนูถีรูงอีม่วง อะตราดัม และพลแควลัม มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ผิดปกติและการตายมากขึ้น โดยพบว่าสารโซเดียมเอไซด์ ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้หนูทั้ง 3 ชนิดมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ และมีผลทำให้หนูทั้ง 3 ชนิดใช้ระยะเวลาในการงอกมากกว่า 7 วันและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการไม่ได้รับสารโซเดียมเอไซด์

คำสำคัญ : LD<sub>50</sub> โซเดียมเอไซด์ หนูถีรูงอีม่วง หนูอะตราดัม หนูพลแควลัม

เลขทะเบียนวิชาการ : 63(2)-0214-087

<sup>1/</sup> สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ อำเภอมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี

<sup>2/</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

## **LD<sub>50</sub> Value Determination of Sodium Azide for Selection in Purple Guinea Atratum and Plicatulum Grass**

Warapong Saenawerakul<sup>1/</sup> Rattikan Pongkaew<sup>2/</sup> Nuttanart Khotprom<sup>1/</sup>

The objective of this experiment was to determine LD<sub>50</sub> value of sodium azide for selection of purple guinea, atratum and plicatulum grass. The experiment was carried out in a completely randomized design (CRD) with seven treatments i.e. 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 mM of sodium azide and three replications. The result showed that the LD<sub>50</sub> of sodium azide in purple guinea, atratum and plicatulum grass were 2.119 11.785 and 12.726 mM, respectively. The sodium azide affected purple guinea, atratum and plicatulum grass with increasing the percentage of abnormal seed germination and dead seed. The concentration of sodium azide at 30 mM increased the percentage of dead seed more than 95 percent and delayed seed germination more than seven day in all grass seeds significantly when compared to the group without sodium azide.

**คำสำคัญ :** LD<sub>50</sub>, sodium azide, purple guinea grass, atratum grass, plicatulum grass

---

**Registered No. : 63(2)-0214-087**

<sup>1/</sup> Bureau of Animal Nutrition Development, Mueang, Pathum Thani

<sup>2/</sup> Nakhon Ratchasima Animal Nutrition Research and Development Center, Pak Chong, Nakhon Ratchasima

## บทนำ

จากการประเมินความต้องการพืชอาหารสัตว์เพื่อการเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทย พบว่ามีความต้องการไม่น้อยกว่า 13.11 ล้านตันน้ำหนักแห้งต่อปี แต่ผลผลิตที่ได้ในปัจจุบันมีเพียงครึ่งหนึ่งของความต้องการ (กังวาน และ วรพงษ์, 2555) โดยเฉพาะอุตสาหกรรมโคนมและโคเนื้อ มีความต้องการอาหารหยาบคุณภาพดีมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เพื่อลดต้นทุนการใช้อาหารขั้นที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งหญ้ากีนีสีม่วง หญ้าอะตราตัม และหญ้าปลัคคูลัม จัดเป็นหญ้าอาหารสัตว์ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 3.0 3.5 และ 2.0 ตันน้ำหนักแห้งต่อไร่ต่อปี ตามลำดับ (กรมปศุสัตว์, 2553) ทั้งยังขยายพันธุ์ได้ง่ายโดยใช้เมล็ด แต่ปัญหาที่พบคือ ปริมาณผลผลิตและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ลดลง เนื่องจากพันธุ์ดั้งเดิมไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งอย่างรุนแรงในปัจจุบันได้ ดังนั้นแนวทางที่เหมาะสมในการแก้ไขปัญหานี้ คือการปรับปรุงพันธุ์ให้พืชมีความทนทานกับสภาพแห้งแล้ง ซึ่งวิธีนี้มีความยั่งยืนกว่าการแก้ปัญหาโดยใช้การจัดการด้านการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์แบบทั่วไป เช่น การจัดการด้านเขตกรรม การให้น้ำ เป็นต้น

การปรับปรุงพันธุ์พืชสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การผสมพันธุ์แบบดั้งเดิม การชักนำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสีหรือสารเคมี ซึ่งการชักนำเมล็ดให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารโซเดียมเอไซด์ และคัดเลือกต้นตรวจสอบย้อนกลับลักษณะที่ต้องการ เป็นวิธีที่ประหยัด ขั้นตอนการปฏิบัติงานไม่ซับซ้อน มีความปลอดภัยสูงทั้งเป็นสารเคมีที่ไม่ก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ พืชที่กลายพันธุ์ด้วยสารโซเดียมเอไซด์ จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในลักษณะต่างๆ โดยไม่ทำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม พืชจึงมีโอกาสรอดชีวิตสูงจากการคัดเลือกด้วยวิธีนี้ (พิรณูช, ม.ป.ป.; Khan *et al.*, 2009) แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารโซเดียมเอไซด์เพื่อคัดเลือกพันธุ์พืชให้มีโปรตีนสูงขึ้น จะมีขั้นตอนที่สำคัญคือการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ จึงต้องทราบระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่เหมาะสม หากได้รับความเข้มข้นของสารที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เนื้อเยื่อพืชตายไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชได้ หรือต้นพืชที่ได้มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมต่ำและไม่ปรากฏลักษณะที่ต้องการได้

สารโซเดียมเอไซด์ (sodium azide) เป็นสารที่เหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม เช่น การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซม อีกทั้งยังสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสโดยการแทนที่ คาดว่ากลไกดังกล่าวอาจเกิดจากสารโซเดียมเอไซด์อยู่ในรูปของเหลว เมื่อในสภาพความเป็นกรดจะเกิดสารประกอบไฮโดรเจนเอไซด์ ( $\text{HN}_3$ ) เมื่อเข้าไปในเซลล์พืชแล้วจะชักนำให้เกิดสารประกอบที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ คือ azidoalanine (Al-Qurainy and Khan, 2009; Khan *et al.*, 2009) เพื่อหากระดับความเข้มข้นของสารโซเดียมเอไซด์ที่เหมาะสมในการปรับปรุงพันธุ์พืชนั้น นิยมใช้ระดับความเข้มข้นที่ทำให้มีอัตราการตายของพืช 50 เปอร์เซ็นต์ หรือค่า  $\text{LD}_{50}$  (50 % Lethal Dose) (Gnanamurthy *et al.*, 2011; Sani and Boureima, 2014) ซึ่งเป็นระดับที่มีความคาดหวังว่าสารดังกล่าวได้เข้าไปมีผลกระทบกับพืชแน่นอน จนทำให้พืชครึ่งหนึ่งไม่สามารถดำรงชีวิตได้ ส่วนพืชที่รอดชีวิตน่าจะปรากฏต้นที่มีลักษณะที่ต้องการ ทั้งนี้ในเมล็ดพืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อสารโซเดียมเอไซด์ที่แตกต่างกัน มักมีค่า  $\text{LD}_{50}$  ในช่วงความเข้มข้น 3-15 มิลลิโมลาร์ เช่น เมล็ดงา (11.94 มิลลิโมลาร์) เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง พันธุ์ SS1145B (3.08 มิลลิโมลาร์) เมล็ดถั่ว Cluster Bean (4.62 มิลลิโมลาร์) เมล็ด Musk Okra (15.38 มิลลิโมลาร์)

เมล็ด *Phyllanthus odontadenius* (10 มิลลิโมลาร์) เมล็ดข้าวพันธุ Inpago Unsoed 1 (8.84 มิลลิโมลาร์) (Mensah *et al.*, 2007; Mensah and Obadoni, 2007; Bhosle and Kothekar, 2010; Warghat *et al.*, 2011; Nakweti *et al.*, 2015; Herwibawa and Kusmiyati, 2017) ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงได้ทำการศึกษา ค่า LD<sub>50</sub> ของโซเดียมเอไซด์เพื่อใช้ในการคัดเลือกพันธุ์หญ้ากินีสีม่วง อะตราตัม และพลิแคทุล์

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา จ.นครราชสีมา ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2561 ถึงเดือนมกราคม 2562 รวมระยะเวลาดำเนินการ 12 เดือน

#### แผนการทดลอง

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองเบื้องต้น โดยใช้เมล็ดหญ้าอะตราตัมเป็นหญ้าตัวแทนในการทดสอบกับสารโซเดียมเอไซด์ ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0 3 6 9 12 และ 15 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ได้จากการตรวจเอกสารข้างต้น ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าระดับความเข้มข้น 0-15 มิลลิโมลาร์นั้น มีผลทำให้หญ้าอะตราตัมมีการตายน้อยกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งข้อมูลที่ได้ยังไม่สมบูรณ์ควรมีระดับความเข้มข้นของสารโซเดียมเอไซด์ที่ทำให้พืชทดสอบตายมากที่สุด ซึ่งหากข้อมูลไม่สมบูรณ์จะมีผลต่อความแม่นยำในการคำนวณค่า LD<sub>50</sub> (Bhar, 2004) จึงมีความจำเป็นในการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารโซเดียมเอไซด์ให้เหมาะสมกับการตอบสนองของเมล็ดหญ้าที่จะทำการทดลองคือ เมล็ดหญากินีสีม่วง อะตราตัม และพลิแคทุล์ ในการทดลองครั้งนี้จึงเลือกใช้ระดับความเข้มข้นของสารโซเดียมเอไซด์ 7 ระดับ ได้แก่ 0 5 10 15 20 25 และ 30 มิลลิโมลาร์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำการทดลองระดับละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ค่าสังเกตๆ ละ 100 เมล็ด รวมชนิดละ 21 ตัวอย่าง

#### การเตรียมสารละลายโซเดียมเอไซด์

สารโซเดียมเอไซด์จะผสมเป็นสารละลายเข้มข้น โดยแนะนำให้ใช้ที่ความเข้มข้น 250 มิลลิโมลาร์ แล้วค่อยเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ โดยขั้นตอนการเตรียมมีดังนี้

1. ชั่งสารโซเดียมเอไซด์ (NaN<sub>3</sub>, AR grade) 4.06 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร
2. เตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
  - 2.1 ชั่งสารไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ไดไฮเดรต (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) 8.72 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร
  - 2.2 ชั่งสารโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โมโนไฮเดรต (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O) 131.23 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร
- 2.3 นำสารละลายข้อ 2.1 ผสมกับสารละลาย 2.2 ผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มิลลิลิตร
3. การเตรียมสารละลายโซเดียมเอไซด์ 7 ระดับ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จากสารละลายโซเดียมเอไซด์เข้มข้น มีขั้นตอนการเตรียมการ ดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** วิธีการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ปริมาตรรวม 250 มิลลิลิตร

| ความเข้มข้นที่ต้องการ (มิลลิโมลาร์) | ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (250 มิลลิโมลาร์) (มิลลิลิตร) | ปริมาตรสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ข้อ 2.3) (มิลลิลิตร) | ขั้นตอนการปรับ pH          | ขั้นตอนการปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่น |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------|
| 0                                   | 0                                                                     | 25                                                  | เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร | ปรับปริมาตร                              |
| 5                                   | 5                                                                     | 25                                                  | ผสมสารละลายให้เข้ากัน      | สุดท้ายโดยใช้                            |
| 10                                  | 10                                                                    | 25                                                  | จากนั้นปรับ pH ของ         | ขวดปรับปริมาตร                           |
| 15                                  | 15                                                                    | 25                                                  | สารละลายที่ได้ให้มี        | ขนาด 250 มิลลิลิตร                       |
| 20                                  | 20                                                                    | 25                                                  | ค่า pH = 3 ด้วย            | และผสมสารละลาย                           |
| 25                                  | 25                                                                    | 25                                                  | กรดไฮโดรคลอริก             | ให้เข้ากัน                               |
| 30                                  | 30                                                                    | 25                                                  | (HCl) (1 นอร์มอล)          |                                          |

### ขั้นตอนการหาค่า LD<sub>50</sub>

การหาค่า LD<sub>50</sub> ในหนูแต่ละชนิด ปฏิบัติดังนี้

1. นำเมล็ดพันธุ์หนูชนิดละ 1,000 เมล็ดต่อตัวอย่าง (โดยการใช้น้ำหนักประมาณ 1,000 เมล็ดของหนูแต่ละชนิดเป็นเกณฑ์กำหนดการชั่งเมล็ดพันธุ์ คือ หนูกีนีสีม่วง 1 กรัม หนูอะตราตัม 3 กรัม และหนูฟลิแคพูล์ม 2 กรัม) ชั่งตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ทั้ง 3 ชนิด จำนวนชนิดละ 21 ตัวอย่าง เพื่อทดสอบ 7 สิ่งทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ (รวม 3 ชนิด จำนวน 63 ตัวอย่าง)

2. นำเมล็ดหนูแต่ละตัวอย่างแช่ในน้ำกลั่น นาน 4 ชั่วโมง เพื่อล้างสิ่งสกปรกจากเมล็ดและกระตุ้นการงอกของเมล็ดซึ่งระยะนี้เมล็ดจะมีความพร้อมในการดูดซึมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้ดีกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ในน้ำกลั่น (Mohr and Schopfer, 1995) จากนั้นซับน้ำส่วนเกินออกให้หมด นำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ กันตามสิ่งทดลองที่ได้รับ โดยแต่ละตัวอย่างใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แช่เมล็ดนาน 3 ชั่วโมง (แยกทำการทดลองในแต่ละชนิดหนู)

3. เมื่อครบกำหนด ล้างเมล็ดหนูด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 30 นาที และผึ่งเมล็ดให้แห้ง

4. นำเมล็ดแต่ละตัวอย่าง ไปเพาะในจานแก้ว จำนวน 3 จานแก้วๆ ละ 100 เมล็ด โดยรองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงตามคู่มือการทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ (พิมพ์พร, 2556)

### การบันทึกข้อมูลและเก็บตัวอย่าง

เก็บข้อมูล จำนวนเมล็ดที่งอกปกติ จำนวนเมล็ดที่ไม่งอก (ตาย) จำนวนเมล็ดที่งอกที่มีลักษณะผิดปกติ ระยะเวลาที่พัฒนาเป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ของเมล็ดที่งอกปกติ

### การวิเคราะห์ค่า LD<sub>50</sub> ของหนูแต่ละชนิด

นำข้อมูลความงอกของหนูแต่ละชนิด มาวิเคราะห์โดยใช้ระบบโพรบิท (Probit) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป และนำข้อมูลที่ได้เขียนเป็นกราฟ โดยกำหนดให้ แกน X คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เมล็ดได้รับ และแกน Y คือ ความน่าจะเป็นของอัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์เมล็ดไม่งอก) และแสดงค่า LD<sub>50</sub> โดยค่าความน่าจะเป็นของอัตราการตายเท่ากับ 0.5 (Bhar, 2004)

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เปรอร์เซ็นต์ความงอกผิดปกติ เปรอร์เซ็นต์การตาย ระยะเวลาที่พัฒนาเป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ของเมล็ดที่งอกปกติ โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### ผลกระทบของโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อความงอกของถั่วกานีสีม่วง อะตราดัม และพลีแคลูลัม

#### เปรอร์เซ็นต์ความงอกผิดปกติ

สารโซเดียมไฮดรอกไซด์มีผลให้ถั่วกานีสีม่วง อะตราดัมและพลีแคลูลัม มีความงอกที่ผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) โดยถั่วกานีสีม่วงมีอัตราการตายที่สูงมากตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์ ทำให้บางซ้ำไม่สามารถคำนวณค่าความงอกผิดปกติได้ จึงวิเคราะห์เฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 0-10 มิลลิโมลาร์ ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์พบความงอกผิดปกติสูงสุด 9.8 เปรอร์เซ็นต์และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการไม่ได้รับสาร สำหรับถั่วอะตราดัมและพลีแคลูลัมมีค่าความงอกที่ผิดปกติคล้ายกัน กล่าวคือเมื่อได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้พบเมล็ดที่งอกผิดปกติมากขึ้นด้วย โดยที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ถั่วอะตราดัม และพลีแคลูลัม มีค่าความงอกที่ผิดปกติสูงสุด 13.1 และ 17.7 เปรอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการไม่ได้รับสาร จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มากขึ้นส่งผลให้พืชสามารถงอกผิดปกติได้ และพบลักษณะผิดปกติปรากฏมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ได้รับซึ่งลักษณะการงอกที่ผิดปกติที่พบในการทดลองของถั่วทั้ง 3 ชนิดได้แก่ ไม่มีรากหรือรากกุดสั้น ต้นกล้ามีแต่รากไม่มียอด ใบมีสีซีดและรูปร่างผิดปกติ

**ตารางที่ 2** แสดงค่าเฉลี่ยเปรอร์เซ็นต์ความงอกที่ผิดปกติ เปรอร์เซ็นต์การตาย และระยะเวลาที่งอกของถั่วกานีสีม่วง อะตราดัม และพลีแคลูลัม เมื่อได้รับโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

| โซเดียมไฮดรอกไซด์ (mM) <sup>2</sup> | ถั่วกานีสีม่วง <sup>1</sup> |                   |                      | ถั่วอะตราดัม <sup>1</sup> |                   |                      | ถั่วพลีแคลูลัม <sup>1</sup> |                   |                      |
|-------------------------------------|-----------------------------|-------------------|----------------------|---------------------------|-------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------|----------------------|
|                                     | ความงอกผิดปกติ (%)          | การตาย (%)        | ระยะเวลาที่งอก (วัน) | ความงอกผิดปกติ (%)        | การตาย (%)        | ระยะเวลาที่งอก (วัน) | ความงอกผิดปกติ (%)          | การตาย (%)        | ระยะเวลาที่งอก (วัน) |
| 0                                   | 0.3 <sup>b</sup>            | 26.8 <sup>d</sup> | 2.4 <sup>c</sup>     | 0.2 <sup>b</sup>          | 7.4 <sup>f</sup>  | 2.2 <sup>e</sup>     | 0.4 <sup>b</sup>            | 8.0 <sup>g</sup>  | 2.2 <sup>d</sup>     |
| 5                                   | 1.0 <sup>b</sup>            | 82.1 <sup>c</sup> | 2.8 <sup>c</sup>     | 0.4 <sup>b</sup>          | 13.2 <sup>e</sup> | 2.9 <sup>e</sup>     | 0.6 <sup>b</sup>            | 17.7 <sup>f</sup> | 2.6 <sup>d</sup>     |
| 10                                  | 9.8 <sup>a</sup>            | 96.0 <sup>b</sup> | 6.3 <sup>b</sup>     | 1.3 <sup>b</sup>          | 38.8 <sup>d</sup> | 3.3 <sup>de</sup>    | 1.1 <sup>b</sup>            | 30.6 <sup>e</sup> | 4.2 <sup>c</sup>     |
| 15                                  | -                           | 98.3 <sup>a</sup> | 8.5 <sup>ab</sup>    | 3.0 <sup>b</sup>          | 56.4 <sup>c</sup> | 4.2 <sup>cd</sup>    | 3.1 <sup>b</sup>            | 46.8 <sup>d</sup> | 5.1 <sup>c</sup>     |
| 20                                  | -                           | 99.0 <sup>a</sup> | 8.6 <sup>ab</sup>    | 7.0 <sup>ab</sup>         | 82.0 <sup>b</sup> | 4.9 <sup>c</sup>     | 3.6 <sup>b</sup>            | 68.0 <sup>c</sup> | 7.1 <sup>b</sup>     |
| 25                                  | -                           | 99.4 <sup>a</sup> | 10.0 <sup>a</sup>    | 5.3 <sup>ab</sup>         | 83.4 <sup>b</sup> | 6.2 <sup>b</sup>     | 8.1 <sup>b</sup>            | 86.2 <sup>b</sup> | 8.0 <sup>ab</sup>    |
| 30                                  | -                           | 99.7 <sup>a</sup> | 10.6 <sup>a</sup>    | 13.1 <sup>a</sup>         | 95.3 <sup>a</sup> | 7.3 <sup>a</sup>     | 17.7 <sup>a</sup>           | 96.1 <sup>a</sup> | 8.4 <sup>a</sup>     |
| P-value                             | 0.041                       | 0.000             | 0.000                | 0.035                     | 0.000             | 0.000                | 0.001                       | 0.000             | 0.000                |

หมายเหตุ <sup>1</sup> = ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P-value < 0.05)

<sup>2</sup> = หน่วย mM หรือ มิลลิโมลาร์

สารโซเดียมไฮดรอกไซด์มีผลที่ทำให้ความงอกผิดปกติได้ในพืชวงศ์หญ้าหลายชนิด เช่น ข้าว หญ้า *Echinochloa crusgalli* และข้าวโพด เป็นต้น (Rao and Reddi, 1986; Abogadallah and Quick, 2009; Olawuyi and Okoli, 2017) สำหรับหญ้าน้ำส้มซ่า หญ้าอะตราบัมและพลีแคทูลัมที่ได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ในระดับความเข้มข้นที่มากเกินไป (10 30 และ 30 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ) จะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่รุนแรงจนไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ มักพบเมล็ดที่ตายเป็นจำนวนมาก สอดคล้องกับการทดลองของ Kannan *et al.* (2015) ที่ปรับปรุงพันธุ์หญ้าบาเฮีย (สกุล *Paspalum*) ด้วยสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ระดับ 3 5 และ 10 โมลาร์ โดยใช้เมล็ดในสภาพปลอดเชื้อพบว่า เมล็ดพันธุ์หญ้าบาเฮียที่ได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกและการพัฒนาของเซลล์ลดลง (Mostafa 2011; Saad-Allah *et al.*, 2014) แต่มีโอกาสพบต้นที่กลายพันธุ์มากยิ่งขึ้น และหากได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ในระดับที่มากเกินไปจะทำให้เซลล์ตาย เมล็ดไม่สามารถงอกเป็นต้นกล้าได้ (Khan *et al.*, 2009)

#### เปอร์เซ็นต์การตาย

สารโซเดียมไฮดรอกไซด์มีผลให้หญ้าน้ำส้มซ่า อะตราบัม และพลีแคทูลัม มีอัตราการตายที่คล้ายคลึงกัน (ตารางที่ 2) กล่าวคือเมื่อหญ้าทั้ง 3 ชนิดได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์จะมีเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้นจากกลุ่มที่ไม่ได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญ เปอร์เซ็นต์การตายจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เมล็ดหญ้าได้รับ และมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุด (มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์) เมื่อได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ โดยหญ้าน้ำส้มซ่า อะตราบัม พลีแคทูลัม มีการตอบสนองต่อสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ก่อให้เกิดเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุด 99.7 95.3 และ 96.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยในพืชหลายชนิดเช่น ข้าว หญ้าบาเฮีย และ หญ้า *Brachypodium distachyon* ซึ่งการได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ส่งผลให้เกิดความงอกลดลง (เปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มสูงขึ้น) เนื่องจากสารโซเดียมไฮดรอกไซด์มีผลในการยับยั้งเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการงอก เช่น catalase peroxidase cytochrome oxidase เป็นต้น อีกทั้งยังมีผลในการยับยั้งกระบวนการหายใจเพราะสารกลุ่มไฮดรอกไซด์ยับยั้งการให้พลังงาน (ATP) กับเซลล์ หากเซลล์ขาดพลังงานจะรบกวนกระบวนการต่างๆ จนไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ในที่สุด (Rao and Reddi, 1986; Engvild, 2005; Kannan *et al.*, 2015)

#### ระยะเวลาที่งอก

สารโซเดียมไฮดรอกไซด์ส่งผลให้หญ้าน้ำส้มซ่า อะตราบัม และพลีแคทูลัม ใช้ระยะเวลาในการงอกนานขึ้น (ตารางที่ 2) กล่าวคือเมื่อหญ้าน้ำส้มซ่า อะตราบัม และพลีแคทูลัมได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 15 และ 10 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ จะใช้ระยะเวลาในการงอกเพิ่มขึ้นจากกลุ่มที่ไม่ได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งระดับความเข้มข้นของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์สูงขึ้น ยิ่งส่งผลให้เมล็ดใช้ระยะเวลาในการงอกเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่อหญ้าน้ำส้มซ่า อะตราบัม และพลีแคทูลัมได้รับสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ จะใช้ระยะเวลางอกนานที่สุดคือ 10.6 7.3 และ 8.4 วัน ตามลำดับ อีกทั้งต้นกล้าของหญ้าทั้งสามชนิดที่งอกจากเมล็ดที่ได้รับมีความเข้มข้นสารโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น ต้นกล้าที่ได้จะมีการเจริญเติบโตช้า ใช้ระยะเวลาการพัฒนามาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์นาน มีอัตราการตายสูง อาจเนื่องมาจากสารโซเดียมไฮดรอกไซด์จะมีผลต่อเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดและราก โดยชักนำให้เกิดความเสียหายของโครโมโซมในลักษณะที่เรียกว่า chromosome bridge formation หมายถึง โครโมโซมคู่เหมือนไม่สามารถแยกออกจากกันได้ระหว่าง

การแบบเซลล์แบบไมโอซิสขั้นที่ 1 (Meiosis I) หรือแยกจากกันไม่สมบูรณ์ทำให้เกิดโครงสร้างคล้ายสะพาน ในระหว่างที่เซลล์กำลังแบ่งตัว จึงมีผลทำให้พืชแบ่งเซลล์ผิดปกติ แบ่งเซลล์ข้าง การเจริญของปลายยอด ปลายรากข้าง หากมีเนื้อเยื่อเจริญที่ผิดปกติเช่นนี้จำนวนมากจะส่งผลให้พืชตายได้ (แสงเดือน และคณะ, 2553; Saad-Allah *et al.*, 2014) แสดงให้เห็นว่าการใช้สารโซเดียมเอไซด์ในการปรับปรุงพันธุ์ ที่ไม่เหมาะสม ใช้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลให้ชิ้นส่วนของพืชที่ใช้มีเปอร์เซ็นต์การตายสูง การพัฒนา เป็นต้นกล้าที่ปกติมีน้อย จึงมีความจำเป็นที่ต้องเลือกใช้ความเข้มข้นให้เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด (Suzuki *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2009; Mostafa, 2011)

#### ค่า LD<sub>50</sub> ของสารโซเดียมเอไซด์สำหรับหญ้ากินีสีม่วง อะตราตัม และพลีแคลูลัม

จากภาพที่ 1 พบว่าหญ้ากินีสีม่วง (A) อะตราตัม (B) พลีแคลูลัม (C) มีค่า LD<sub>50</sub> เท่ากับ 2.119 11.785 และ 12.726 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ซึ่งค่า LD<sub>50</sub> ของสารโซเดียมเอไซด์สำหรับหญ้าอะตราตัมและ พลีแคลูลัมในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าการทดลองของ Kannan *et al.*, (2015) ที่พบว่าสารโซเดียมเอไซด์ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ เพียงพอในการชักนำให้หญ้าบาเฮียซึ่งอยู่ในสกุล *Paspalum* ให้เกิดการกลายพันธุ์ใน สภาพปลอดเชื้อ 27 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้นนี้มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง 66 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับการไม่ได้รับสาร

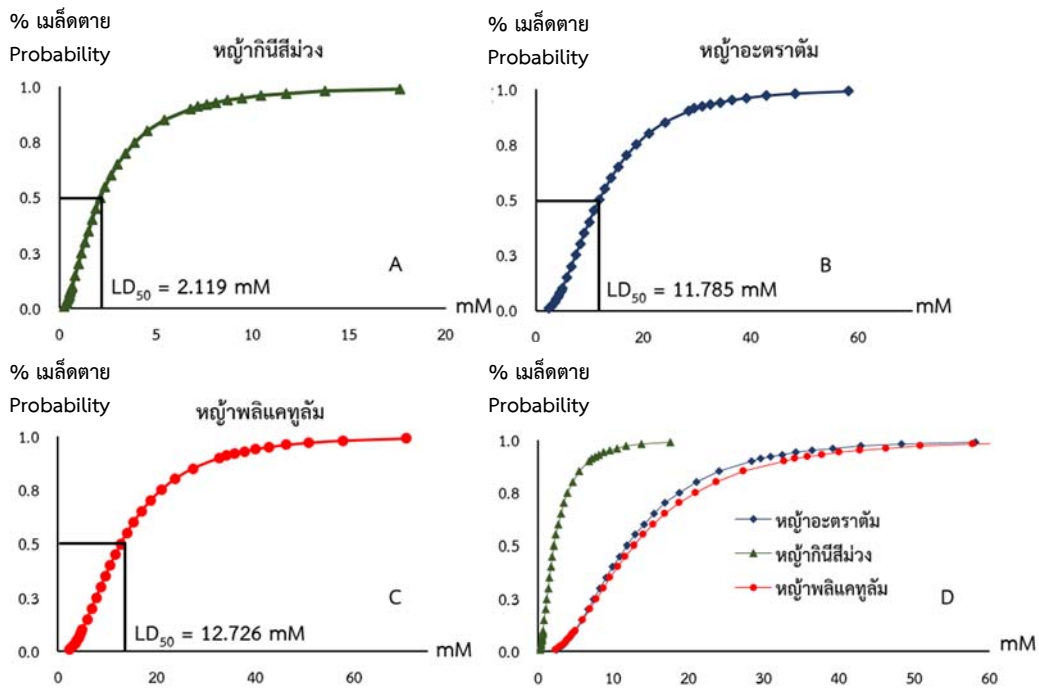
สำหรับการตอบสนองของหญ้าทั้ง 3 ชนิดต่อสารโซเดียมเอไซด์เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังแสดง ในภาพที่ 1-D แต่หญ้ากินีสีม่วงมีค่า LD<sub>50</sub> ที่ต่ำกว่าหญ้าอะตราตัมและพลีแคลูลัม อาจเป็นเพราะหญ้าทั้ง 2 ชนิดนี้ จัดอยู่ในสกุลเดียวกันคือ *Paspalum* ซึ่งมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูง (Birara *et al.*, 2013) ส่วนหญ้ากินีสีม่วง อยู่ในสกุล *Panicum* ซึ่งมีพันธุกรรมที่ต่างกับหญ้าทั้ง 2 ชนิดอย่างชัดเจน (สายัณห์, 2547; จิตราภรณ์, 2548)

สารโซเดียมเอไซด์มีผลที่รุนแรงกับหญ้ากินีสีม่วงมากกว่าหญ้าอะตราตัมและพลีแคลูลัม ซึ่งสังเกต ได้จากค่า LD<sub>50</sub> ที่ต่ำกว่านั้น อาจมีสาเหตุจากขนาดและความหนาของกาบหุ้มเมล็ดได้แก่ กาบบน (palea) และกาบล่าง (lemma) ของเมล็ดหญ้ากินีสีม่วงที่เล็กและบางกว่าหญ้าอะตราตัมและพลีแคลูลัม (ราชบัณฑิตยสถาน, 2541: Kalmbacher *et al.*, 1999; Hopkinson and English, 2005) จึงมีโอกาสดูดซึม และสัมผัสสารเคมีได้ดี จึงมีการตอบสนองที่รุนแรงกับสารโซเดียมเอไซด์ มีงานวิจัยหลายฉบับที่ใช้สารเคมี กับเมล็ดพันธุ์ซึ่งขนาดและความหนาของกาบหุ้มเมล็ดมีผลต่อการสัมผัสสารเคมี เช่น การใช้กรดซัลฟิวริก เข้มข้นในการทำลายการพักของเมล็ดหญ้าสกุล *Panicum* และ *Paspalum* พบว่าหญ้าสกุล *Panicum* ใช้ระยะเวลาแช่กรดซัลฟิวริกเข้มข้นน้อยกว่าหญ้าสกุล *Paspalum* (Smith, 1979; Flenniken and Fulbright, 1987; Usberti *et al.*, 2000; Usberti and Martins, 2007; Kannan *et al.*, 2015)

#### สรุปผลทดลอง

ค่า LD<sub>50</sub> ของโซเดียมเอไซด์ที่เหมาะสมในการใช้คัดเลือกพันธุ์หญ้ากินีสีม่วง อะตราตัม และพลีแคลูลัม คือ 2.119 11.785 และ 12.726 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ซึ่งใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อการคัดเลือกพันธุ์หญ้า ที่มีลักษณะดีเด่นในด้านต่างๆ ต่อไปในอนาคต เช่น มีความทนแล้งได้ดี มีโปรตีนสูงขึ้น เป็นต้น

การได้รับสารโซเดียมเอไซด์มีผลทำให้หญ้าทั้ง 3 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ความงอกผิดปกติและการตาย เพิ่มขึ้นและใช้ระยะเวลาในการงอกนานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการไม่ได้รับสาร



ภาพที่ 1 แสดงค่า LD<sub>50</sub> ของกล้วยากินสีม่วง (A) อะตราดัม (B) พลีแคทุลัม (C) และเปรียบเทียบการตอบสนองของกล้วยทั้งสามชนิดกับสารโซเดียมไฮไดรด์ (D)

### ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาเพิ่มเติมเรื่องการคัดเลือกพันธุ์กล้วยากินสีม่วง อะตราดัม และพลีแคทุลัม เพื่อให้ได้กล้วยที่มีลักษณะดีเด่นจากพันธุ์ดั้งเดิม โดยการนำเมล็ดพันธุ์กล้วยาแช่สารละลายโซเดียมไฮไดรด์ที่ระดับความเข้มข้นที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เกิดการตายที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ หรือค่า LD<sub>50</sub> จากนั้นนำเมล็ดที่ได้มาผ่านกระบวนการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสม เช่น การนำไปปลูกโดยแยกเป็น 1 ต้นต่อหลุม ในแปลงปลูกเพื่อทดสอบลักษณะต่างๆ เช่น การทนแล้ง ปริมาณโปรตีนในใบ ปริมาณผลผลิตและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ เป็นต้น ซึ่งหากพืชต้นใดที่ผ่านการทดสอบลักษณะต่างๆ และมีเกณฑ์ที่สูงจากชุดควบคุม (ต้นที่งอกจากเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมไฮไดรด์) จะแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมจากภายในและเป็นการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่ดีมีความเหมาะสมที่จะคัดเลือกเก็บไว้เพื่อดำเนินการพัฒนาพันธุ์ต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ กลุ่มวิจัยและพัฒนาการวิเคราะห์อาหารสัตว์ สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่สำหรับการทดลองและเตรียมสารเคมี ขอขอบคุณนางสาวจันทกานต์ อรณนันทน์ ผู้เชี่ยวชาญด้านการวิเคราะห์อาหารสัตว์และนางวลัยกานต์ เจียมเจตจรูญ หัวหน้ากลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ที่ช่วยเหลือและให้คำปรึกษาตลอดระยะเวลาการทดลอง

### เอกสารอ้างอิง

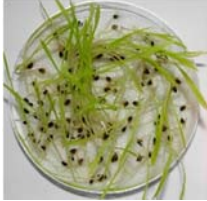
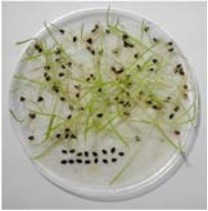
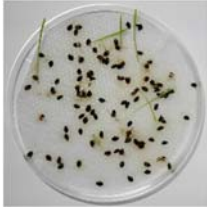
- กรมปศุสัตว์. 2553. พืชอาหารสัตว์พันธุ์ดี (พิมพ์ครั้งที่ 6). โรงพิมพ์ชุมนุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ
- กังวาน ธรรมแสง และ วรพงษ์ สุริยภัทร. 2555. ศักยภาพการผลิตพืชอาหารสัตว์และเมล็ดพันธุ์ในประเทศไทย. แก่นเกษตร. 40 (ฉบับพิเศษ 2): 37-42
- จิตรารณ วัชพันธุ์. 2548. หลักอนุกรมวิธานพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พิมพ์พร พลเสน. 2556. คู่มือการทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์. สำนักพัฒนาอาหารสัตว์. กรมปศุสัตว์
- พิรณ จอมพุก. มปป. การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ (mutation breeding). ใน เอกสารประกอบการอบรมหลักการปรับปรุงพันธุ์พืช รุ่นที่ 2. จัดโดยสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)
- ราชบัณฑิตยสถาน. 2541. ศัพท์พจนานุกรม อังกฤษ-ไทย ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. ห้างหุ้นส่วนจำกัด อรุณการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 331 น.
- สายัณห์ ทัดศรี. 2547. พืชอาหารสัตว์เขตร้อน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- แสงเดือน พลเยี่ยม กาญจนา รุ่งรักษานนท์ และ สมศักดิ์ อภิสิทธิ์วานิช. 2553. พฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48: สาขาพืช ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน. 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. 47-53.
- Abogadallah, G. M., and Quick, W. P. 2009. Vegetative salt tolerance of barnyard grass mutants selected for salt tolerant germination. *Acta physiologiae plantarum*. 31(4): 815-824.
- Al-Qurainy, F., and Khan, S. 2009. Mutagenic effects of sodium azide and its application in crop improvement. *World Applied Sciences Journal*. 6(12): 1589-1601.
- Birara, A., Muthuswamy, M., and Andargie, M. 2013. Effect of chemical mutation by sodium azide on quantitative traits variations in *Sesamum indicum* L. *Asian Journal of Biological Sciences*. 6: 356-62.
- Bhar, L. 2004. Probit Analysis. Available source: [https://www.researchgate.net/publication/308792349\\_PROBIT\\_ANALYSIS](https://www.researchgate.net/publication/308792349_PROBIT_ANALYSIS), January 1, 2019.
- Bhosle, S.S. and Kothekar, V.S., 2010. Mutagenic efficiency and effectiveness in cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.). *Journal of phytology*. 2(6): 21-27.
- Engvild, K. C. (2005). Mutagenesis of the model grass *Brachypodium distachyon* with sodium azide. Risoe-R-1510 (EN) Report, Risoe National Laboratory, Roskilde, Denmark.
- Flenniken, K. S., and Fulbright, T. E. 1987. Effects of temperature, light, and scarification on germination of brownseed paspalum seeds. *Journal of Range Management Archives*. 40(2): 175-179.
- Gnanamurthy, S., Dhanavel, D., and Chidambaram, A. L. A. 2011. Frequency in germination studies of chlorophyll mutants in effectiveness and efficiency using chemical mutagens. *Elixir Applied Botany*. 37A: 4083-4086.

- Herwibawa, B., and Kusmiyati, F. 2017. Mutagenic effects of sodium azide on the germination in rice (*Oryza sativa* L. cv. Inpago Unsoed 1). Jurnal Agroteknologi. 7(2): 9-14.
- Hopkinson, J. M., and English, B. H. 2005. Effects of severity of threshing damage on seed quality of Gatton panic (*Panicum maximum*). Tropical Grasslands. 39: 31-41.
- Kalmbacher, R. S., West, S. H., and Martin, F. G. 1999. Seed dormancy and aging in *triatra* *paspalum*. Crop science. 39(6): 1847-1852.
- Kannan, B., Davila-Olivas, N. H., Lomba, P., and Altpeter, F. 2015. *In vitro* chemical mutagenesis improves the turf quality of bahiagrass. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 120(2): 551-561.
- Khan, S., Al-Qurainy, F., and Anwar, F. 2009. Sodium azide: a chemical mutagen for enhancement of agronomic traits of crop plants. Environment We International Journal Science Technology. 4: 1-21.
- Mensah, J. K., and Obadoni, B. 2007. Effects of sodium azide on yield parameters of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). African Journal of Biotechnology. 6(6): 668-671.
- Mensah, J. K., Obadoni, B. O., Akomeah, P. A., Ikhajagbe, B., and Ajibolu, J. 2007. The effects of sodium azide and colchicine treatments on morphological and yield traits of sesame seed (*Sesame indicum* L.). African Journal of Biotechnology. 6(5): 534-538.
- Mohr, H. and Schopfer, P. 1995. Plant physiology. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 629 pp.
- Mostafa, G. G. 2011. Effect of sodium azide on the growth and variability induction in *Helianthus annuus* L. International Journal of Plant Breeding and Genetics. 5(1): 76-85.
- Nakweti, R. K., Franche, C., and Ndiku, S. L. 2015. Effects of sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) on seeds germination, plantlets growth and *In vitro* antimalarial activities of *Phyllanthus odontadenius* Mull. Arg. American Journal of Experimental Agriculture. 5(3): 226-238
- Olawuyi, O. J., and Okoli, S. O. 2017. Genetic variability on tolerance of maize (*Zea mays* L.) genotypes induced with sodium azide mutagen. Molecular Plant Breeding. 8(3): 27-37.
- Rao, D. R. M., and Reddi, T. S. 1986. Azide mutagenesis in rice. Proceedings: Plant Sciences. 96(3): 205-215.
- Saad-Allah, K. M., Hamouda, M., and Kasim, W. A. 2014. Effect of sodium azide on growth criteria, some metabolites, mitotic index and chromosomal abnormalities in *Pisum sativum* and *Vicia faba*. International Journal of agronomy and agricultural research. 4(4), 129-147.
- Sani, D. O., and Boureima, M. M. 2014. Effect of polyethylene glycol (PEG) 6000 on germination and seedling growth of pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] and  $\text{LD}_{50}$  for in vitro screening for drought tolerance. African Journal of Biotechnology. 13(37): 3742-3747.
- Smith, R. L. 1979. Seed dormancy in *Panicum maximum* Jacq. Tropical Agriculture, 56(3): 233-239.

- Suzuki, Y., Sano, Y., Ise, K., Matsukura, U., Aoki, N., and Sato, H. 2008. A rice mutant with enhanced amylose content in endosperm without affecting amylopectin structure. *Breeding Science*. 58(3): 209-215.
- Usberti, R., Usberti Jr, J. A., and Paterniani, R. S. 2000. Flowering cycle-related seed quality characteristics of 15 guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.) hybrids. *Seed science and technology*. 28(2): 437-443.
- Usberti, R., and Martins, L. 2007. Sulphuric acid scarification effects on *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* and *Panicum maximum* seed dormancy release. *Revista brasileira de sementes*. 29(2): 143-147.
- Warghat, A. R., Rampure, N. H., and Wagh, P. 2011. Effect of sodium azide and gamma rays treatments on percentage germination, survival, morphological variation and chlorophyll mutation in musk okra (*Abelmoschus moschatus* L.). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 3(5): 483-486.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ลักษณะต้นกล้าอายุ 10 วัน ของหญ้านิสีม่วง อะตราตัม และพลีแคทูลัม ที่ออกจากเมล็ดพันธุ์ที่ได้รับสารโซเดียมไฮไดรด์ที่ระดับต่างๆ

| สารโซเดียมไฮไดรด์<br>(มิลลิโมลาร์) | หญ้านิสีม่วง                                                                        | หญ้าอะตราตัม                                                                         | หญ้าพลีแคทูลัม                                                                        |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 0                                  |    |    |    |
| 5                                  |    |    |    |
| 10                                 |   |   |   |
| 15                                 |  |  |  |
| 20                                 |  |  |  |
| 25                                 |  |  |  |
| 30                                 |  |  |  |