



รายงานการวิจัย
เรื่อง
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพื้นเมือง
Tissue Culture of Native Plants

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุบล สมทรง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

2556

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงาน
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
(วช.)

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ความหลากหลายทางชีวภาพของโลกโดยเฉพาะด้านพันธุ์พืชกำลังลดลงอย่างมาก ตามจำนวนป่าไม้ที่ถูกทำลายให้เหลือพื้นที่น้อยลง ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่เหลือพื้นที่ของป่าไม้เพียงร้อยละ 33.44 ของพื้นที่ประเทศ (สำนักแผนงานและสารสนเทศ, 2554) ประกอบกับระบบการปลูกพืชในปัจจุบัน ส่วนใหญ่เป็นการปลูกพืชแบบเชิงเดี่ยว ทำให้พันธุ์พืชอื่น ๆ เช่น พืชดั้งเดิมในท้องถิ่น หรือพืชที่นำมา ใช้ประโยชน์เชิงเศรษฐกิจน้อย ถูกทอดทิ้งหรือถูกทำลายไป เพื่อไม่ให้เกิดการเจริญเติบโตของพืชปลูก ถ้าไม่มีการอนุรักษ์หรือนำพืชเหล่านี้มาขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนมากขึ้น จะทำให้พันธุ์พืชสูญหายไปเรื่อย ๆ แหล่งในการคัดเลือกพันธุ์พืชเพื่อใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร เครื่องนุ่งห่ม ยารักษาโรค ที่อยู่อาศัย ตลอดจนวัตถุดิบทางด้านอุตสาหกรรมย่อมลดลงไปด้วย (อุบล สมทรง, 2540) และในอนาคตอาจเกิดวิกฤติด้านพืชอาหาร หรือพืชที่ใช้ประโยชน์อื่น ๆ ถูกทำลายโดยศัตรูได้ง่ายขึ้นเพราะมีฐานทางพันธุกรรม แคบลง ดังนั้น จึงสมควรส่งเสริมการนำพืชพื้นเมืองหรือพืชในท้องถิ่นต่าง ๆ ที่กำลังมีจำนวนน้อยลง หรือมีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์มาขยายพันธุ์ให้มีจำนวนมากขึ้นด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพราะเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชที่ทำให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนมากในเวลารวดเร็ว และนำไปปลูกในสภาพธรรมชาติ เพื่อคืนความหลากหลายทางชีวภาพให้กับประเทศ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นพืชอาหาร หรือพืชสมุนไพรต่อไปได้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อสำหรับชิ้นส่วนต่าง ๆ ของมันเสา และส้มซ่า
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอดจากส่วนต่าง ๆ ของมันเสา และส้มซ่า
3. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำรากของมันเสา และส้มซ่า
4. เพื่อศึกษาวิธีการย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติของต้นมันเสา และส้มซ่า

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ของพันธุ์พืชพื้นเมือง 2 ชนิด ในจังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ได้แก่ มันเสา และส้มซ่า โดยเริ่มต้นตั้งแต่การฟอกฆ่าเชื้อจนถึงการย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ทราบเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง และสัสมำตั้งแต่การฟอกฆ่าเชื้อจนถึงย้ายออกปลูกในสภาพแปลงธรรมชาติ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชพื้นเมืองชนิดอื่นๆ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับพืช 2 ชนิดนี้
2. นำผลวิจัยไปขยายพันธุ์มันสำปะหลังและสัสมำหรือพืชอื่น ๆ ในท้องถิ่นเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์พืชไม่ให้สูญหายไป
3. เป็นแหล่งรวบรวมพันธุ์พืชพื้นเมืองที่ใกล้สูญพันธุ์ในท้องถิ่นทั้งในสภาพปลอดเชื้อและแปลงรวบรวมพันธุ์

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. เอกสารที่เกี่ยวข้อง

ในการดำเนินการวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพื้นเมืองครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้องกับพืชที่ทำการวิจัยได้แก่ มันเสา ส้มซ่า ในด้านชีววิทยา แหล่งที่พบ การขยายพันธุ์ ประโยชน์และความสำคัญ และนำผลการศึกษาเบื้องต้นของพืชทั้งสองชนิด ตลอดจนแนวคิดหลักการ และขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อทำให้การศึกษาวิจัยพืชพื้นเมืองทั้งสองชนิดนี้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ดังนี้

1.1 มันเสา (Man soa, Winged yam, Greater yam, Water yam, White yam, Purple yam) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dioscorea alata* Linn. มีชื่ออื่น ๆ คือ มันหลวง มันหวาย ฯลฯ อยู่ในวงศ์ Dioscoriaceae (เต็ม สมิตินันท์, 2523 ; แยม มันพื้นบ้าน, 2550; University of Georgia, 2012) เป็นไม้เถาไม่มีเนื้อไม้ มีหัวใต้ดินพอกเดียวกับกลอย ลำต้นเป็นเถา มักจะยาวเลื้อยไปตามต้นไม้อื่นได้สูงและไกล อาจมีความยาวถึง 10 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวรูปหัวใจแคบๆ มีก้านใบยาวออกตรงกันข้าม มีเส้นใบออกจากฐานใบหลายเส้นยาวไปถึงปลายใบ เนื้อใบบาง ช่อดอกส่วนมากแยกเพศหรือแยกอยู่คนละต้น ช่อดอกย่น ดอกขนาดเล็กค่อนข้างแน่น ดอกเพศผู้แบบ panicle มีกลิ่นหอมแรงกว่าดอกเพศเมียซึ่งเป็นแบบ spike ผลแห้งแบบแคปซูลมี 3 ซีก สันนิษฐานว่ามีถิ่นดั้งเดิมในเมืองไทยหรือพม่า แล้วจึงแพร่ไปทั่วเอเชีย ส่วนใหญ่มีหัวขนาดใหญ่ จึงเรียกว่า Greater yam หัวมีรูปทรงต่างกันออกไป ทั้งแบบยาวตรง กลมรี นิ้วมือ ตัวยู ฯลฯ ซึ่งเคยมีคนค้นพบถึง 72 แบบ จึงเรียกชื่อไปตามลักษณะหัว มันเสามีทั้งคาร์โบไฮเดรต และโปรตีนสูงกว่ามันชนิดอื่น ๆ อีกทั้งยังมีฟอสฟอรัส แคลเซียม และเบต้าแคโรทีน (ก่องกานดา ชยามฤต, 2541; แยม มันพื้นบ้าน, 2550; K.A.Langeland and H.M.Cherry, 2008) ในประเทศไทยมีการนำมาทำอาหารได้หลายแบบ เช่น ดมь ย่างจิ้ม น้ำตาล ดมь น้ำตาล แกงบวด หรือแกงเลียงปลาอย่าง มีสรรพคุณเป็นสมุนไพร ขับพยาธิ รักษาโรคเรื้อน ริดสีดวงทวาร รับประทานหลังฝน霪จากอาการไอเป็นเลือด โรคไตและม้ามอักเสบ (ชุมชนบ้านเขาหิน, 2550; นิรนาม, 2554)

ในต่างประเทศมีรายงานว่ามันเสามีแหล่งกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Anonymous, 2012) พบทั่วไปในเขตร้อนของอเมริกาใต้ แอฟริกา ออสเตรเลีย สเปน ในอเมริกามีการนำเข้าปลูกเป็นไม้ประดับจากพ่อค้าชาวโปรตุเกสและสเปน มีการนำไปใช้ประโยชน์เป็นพืชอาหาร เช่น

นำไปทำขนมหวาน ไอศกรีม สวิสโรลทาร์ท ลูกกี้ เค้ก และขนมอบอื่นๆ มีการนำไปใช้ประโยชน์เป็นยาพื้นบ้านในการระบายและขับพยาธิ แก้ไข้ โกโนเรีย เรื้อน เนื้องอก แผลอักเสบ (University of Georgia, 2012) ในประเทศฟิลิปปินส์รายงานพบสารฟีนอลิกมีฤทธิ์เป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ (antioxidants) มีสารโสมโนเอสโตรเจนลดมะเร็งเต้านม มีสารป้องกันไตและตับ มีโปรตีนไดออสโครีน (dioscorin) ช่วยควบคุมความดัน รักษาโรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันและมะเร็ง ฯลฯ

(Anonymous, 2011)

จากการศึกษาฐานวิทยาศาสตร์ของเมล็ดแป้งพืชหัวของ กล้วยา สุกธิ เชื้อนาถ ทิพย์พรรณ สดากกร และกาญจนา โพธิ์เงิน (2550) พบว่ามันเสจากนครนายกมีเมล็ดแป้งรูปกึ่งสามเหลี่ยมด้านหนึ่งโค้งขนาด 28.4 x 29.3 ไมครอน และจากการศึกษามันสกุลเดียวกับมันเสในไต้หวัน คือ *Dioscorea batatas* โดย Wen – chi Hou, Fen g – Lin Hsu และ Mei – Hsiecn Lee (2002) พบว่าสารที่สกัดจากสารเมื่อกลั่นตัวมันชนิดนี้มีคุณสมบัติเป็นแอนติเรดิคัล (antiradicals) และแอนติออกซิแดนซ์

มันเสเจริญเติบโตบนดินร่วนปนทรายตามชายเขาหรือริมธารน้ำ ส่วนการขยายพันธุ์หรือการปลูกมันชนิดนี้ ส่วนใหญ่ยังไม่มีการปลูกอย่างจริงจัง มักจะเก็บหัวตามป่า ซึ่งขยายพันธุ์โดยเมล็ด (ไม้ดอกหอมของไทย, 2550) จากประสบการณ์ของผู้วิจัย ได้นำส่วนหัวใต้ดินมาเพาะในกระถางทราย รดน้ำให้ชุ่มวันละ 1 – 2 ครั้ง หัวจะสามารถงอกเป็นต้นใหม่ได้โดยใช้เวลาประมาณ 7 – 10 วัน แต่ปัจจุบันมันเสลดจำนวนลงมาก เนื่องจากพื้นที่ป่าถูกทำลายเพื่อการเพาะปลูกพืชอาหารและคนรุ่นหลังไม่ทราบถึงประโยชน์ของพืชชนิดนี้จึงตัดทิ้งหรือขุดทิ้งไป ทำให้มีจำนวนน้อยลงและมีแนวโน้มจะสูญพันธุ์ได้

1.2 ส้มซ่า (*Citrus medica* L. var. *linetta* Risso) อยู่ในวงศ์ Rutaceae ชื่อท้องถิ่นอื่น เช่น มะขุน มะนาวควาย ส้มมะงั่ว เป็นไม้พุ่มขนาดกลาง ใบขนาดกลางค่อนข้างหนา มีหูใบเล็ก ตรงโคนใบคล้ายส้มจุก เป็นใบเดี่ยว เวียนสลับ ดอกแยก 5 กลีบ โดยออกดอกตามยอดกิ่งตอนต้นฤดูฝน สีขาวคล้ายดอกแก้ว ผลมีทรงกลมโตกว่าผลมะกรูดเล็กน้อย ผิวหยาบขรุขระค่อนข้างหนา สรรพคุณทางยาผิวสุกรสเปรี้ยวหอม ใช้ทำยาหอม แก้ลมวิงเวียน หน้ามืดตาลาย และแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ น้ำในผลรสเปรี้ยวอมหวาน กัดฟอกเสมหะ แก้ไอ ฟอกโลหิต ใบใช้รักษาโรคผิวหนัง (วังตะไคร้, 2548 ; สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2550) คนในจังหวัดเพชรบุรีใช้ผิวส้มซ่าชอยเป็นชันเล็ก ๆ ใส่ในหมึกกรอบทำให้มีรสชาติดีขึ้น นอกจากนี้ยังนำผลมารับประทานเป็นผลไม้ นำใบมาใส่ต้มหรือแกงแทนใบมะกรูด (ไสว แจ่มแจ้ง, 2550, ตุลาคม 2) การขยายพันธุ์ดั้งเดิม โดยเพาะเมล็ดตอนกิ่ง ทาบกิ่ง (วังตะไคร้, 2548)

1.3 หลักการและขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชแบบไม่ใช้เพศวิธีหนึ่ง ที่สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมากในเวลารวดเร็วและตรง

ตามพันธุ์ เป็นที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด และได้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับการผลิตไม้ผลและไม้ป่า ตลอดจนสมุนไพรต่าง ๆ (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2541 ; อุบล สมทรง, 2544) ขั้นตอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการขยายพันธุ์ทั่ว ๆ ไป จะเริ่มจากการคัดเลือกชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยง ล้างเอาคราบฝุ่นออกด้วยน้ำและสบู่ แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อหรือสารเคมีต่าง ๆ ล้างออกด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้ออีก 3 – 5 ครั้ง ย้ายลงเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรต่าง ๆ ตามวัตถุประสงค์ที่จะชักนำให้เกิดแคลลัส ยอด ต้น หรือราก โดยสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายและรู้จักกันดีคือสูตรของ Murashige and Skoog (MS) และเมื่อพืชมีรากสมบูรณ์แล้วจึงย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก โดยมีการอนุบาลไว้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อและเรือนเพาะชำก่อนที่จะนำไปปลูกในสภาพธรรมชาติต่อไป (อุบล สมทรง, 2544)

2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้งสองชนิดนี้ยังไม่มีรายงานการวิจัยมาก่อน แต่จากการศึกษาและทดลองในเบื้องต้นของผู้วิจัยได้นำปลายยอดมันเสาทิ้งออกจากหัวซึ่งเพาะในกระถางทรายมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10-15 เปอร์เซ็นต์ และนำมาเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่ผสมด้วยสาร Benzyl aminopurine. (BAP) 1-2 มก./ลิตร สามารถชักนำยอดใหม่ได้ภายใน 4 – 5 สัปดาห์ แต่ยังไม่ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณและชักนำรากสำหรับย้ายออกปลูกที่สมบูรณ์ ส่วนสัมผัสสามารถนำมาเมล็ดมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อ และตัดส่วนยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BAP 1-2 มก./ลิตร ทำให้เกิดยอดใหม่ได้ แต่ยังคงหาสูตรที่เพิ่มปริมาณและชักนำให้เกิดราก หรือนำส่วนอื่น ๆ นอกจากเมล็ดมาเพาะเลี้ยงต่อไป

ดังนั้นในการวิจัยขั้นต่อไปจึงนำเอกสารที่เกี่ยวข้องกับผลการวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับพืชเป้าหมายหลักของงานวิจัยครั้งนี้มาเป็นแนวทางดังต่อไปนี้

ปี พ.ศ. 2543 ไพโรจน์ ทับพงศ์ ได้นำหัวกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับมันเสามาเพาะให้แตกยอดในกระถางดิน จากนั้นนำยอดที่มีความยาวประมาณ 1 – 1.5 ซม. มาล้างด้วยสบู่ชันโลท ให้สะอาด นำไปแช่ยากันรา ประมาณ 30 นาที ล้างออกด้วยน้ำสะอาด นำไปแช่สารละลายคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ ผสม Tween – 20 จำนวน 2 – 3 หยด เป็นเวลา 10 นาที และ 5 นาที ตามลำดับ แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 20 นาที นำไปตัดแต่งชิ้นส่วน แล้วเลี้ยงในอาหาร MS 5 ดำรับ ที่ผสมสาร BAP ตั้งแต่ 1.5 - 3.0 มก./ลิตร และผสมผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ผลปรากฏว่าอาหารสูตร MS + BAP.15 มก./ลิตร + ผงถ่าน ชักนำยอดได้ดีที่สุด ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.33 ยอด ในเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนดำรับที่ให้ความยาวยอดดีที่สุด

คือ MS + BAP 1.5 มก./ลิตร ไม่ผสมผงถ่าน ให้ความยาวยอดเฉลี่ย 5.50 ซม. และเมื่อนำยอดไปเลี้ยงชักนำราก ในอาหาร 2 คำรับ พบว่า อาหารที่ชักนำรากและให้ความยาวรากดีที่สุดคือ MS + ผงถ่าน 0.2% โดยได้ความยาวรากเฉลี่ย 5.91 ซม. และจำนวนรากเฉลี่ย 2.16 ราก/ต้น

ประพันธ์ ปัญญาบาล (2544) ได้ทดลองหาสูตรอาหารและชิ้นส่วนที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบุก (*Amorphophallus* sp.) 5 ชนิด ผลปรากฏว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบบุก 3 ชนิด ได้แก่ บุกเชียงดาว บุกห้างฉัตร บุกคางคก ได้ดีคือสูตร MS+2,4-D 0.25 มก./ลิตร แต่ไม่สามารถชักนำแคลลัสจากใบบุกแดงและบุกยูนาน จากนั้นนำแคลลัสของบุกเชียงดาวเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมขวดใหม่ พบว่าเกิดเป็นต้นใหม่ 1-3 ต้น/ขวด และสามารถย้ายออกปลูกภายนอกได้ง่าย รอดตายทั้งหมดและตั้งตัวได้ใน 1 สัปดาห์ และเซลล์บุกที่เลี้ยงในอาหารเหลว จะเกิดเป็นหัวเล็ก ๆ ขนาด 2-5 มม. จำนวน 36-80 หัว ใน 1 สัปดาห์

สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตระกูลส้ม (*Citrus* sp.) หรือพืชที่อยู่ในวงศ์ Rutaceae ได้มีผู้วิจัยได้ศึกษาและประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงหลายชนิด เช่น อัจฉริยา มณีน้อย(2538) ได้เพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนของส้มโอพันธุ์ทองดีที่ตัดเอาปลายเอ็มบริโอออกบนอาหารสูตร Murashige และ Tucker หรือ MT (1969) ดัดแปลง พบว่า อาหารที่เติม BA (Benzyl adenine) เข้มข้น 20 มก./ลิตร หรือ 2,4-D เข้มข้น 0.01 มก./ลิตร เพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่งร่วมกับ Malt Extract เข้มข้น 500 มก./ลิตร และ/หรือ ซูโครสเข้มข้น 50 ก./ลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส และเมื่อนำแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารที่เติม BA เข้มข้น 5 มก./ลิตร ร่วมกับ 2,4-D เข้มข้น 0.1 มก./ลิตร สามารถพัฒนาเป็นกลุ่มใบเลี้ยงได้ และกลุ่มใบเลี้ยงทั้งที่ได้จากเมล็ดอ่อนและแคลลัสชนิดย่อย สามารถพัฒนาเป็นต้นและรากได้บนอาหารที่เติม BA เข้มข้น 5 มก./ลิตร ร่วมกับ GA₃ เข้มข้น 4 มก./ลิตร

นอกจากนี้ สุภาพ สุนทรนันท์ (2546) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส้มโอ โดยเริ่มจากการนำยอดส้มโอที่สมบูรณ์ ตัดให้มีความยาว 1.5 ซม. ตัดใบออกให้หมด ทำความสะอาด โดยการเปิดน้ำสะอาดไหลผ่าน หลังจากนั้นจุ่มในเอทานอล 70% นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วจึงฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์เข้มข้น 15 % ประมาณ 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดแต่งส่วนโคนออกให้เหลือความยาวของยอดประมาณ 0.8-1 ซม. นำไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.4 มก./ลิตร ใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 2000 Lux. นาน 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยทุก 2-3 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ สูตรเดิม และเมื่ออายุ 2 เดือน เปลี่ยนอาหารใหม่ สูตร MS ที่เติม BA 0.4 มก./ลิตร + GA₃ 0.2 มก./ลิตร และเปลี่ยนอาหารใหม่สูตรเดิมทุก 2-3 สัปดาห์ จะได้ยอดที่สมบูรณ์ ส่วนการเพิ่มจำนวนยอดส้มโอ ครั้งแรกจะใช้อาหารสูตร MS + BA 0.4 มก./ลิตร นานประมาณ 3 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนอาหารใหม่สูตรเดิม หลัง 6 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารอีกครั้งโดยใช้สูตร MS + BA 0.4 มก./ลิตร และ GA₃ 2

มก./ลิตร ประมาณ 3 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนอาหารใหม่สูตรเดิมพร้อมตัดแบ่งยอดส้มโอที่แตกใหม่ลงอาหารขวดใหม่สูตรเดิม จนได้ยอดตามต้องการ จึงเปลี่ยนอาหารเพื่อชักนำรากในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS + NAA 0.5 มก./ลิตร ประมาณ 20-25 วัน จะเริ่มออกราก และเมื่ออายุ 60 วัน รากจะยาวสมบูรณ์ แล้วนำไปย้ายปลูก โดยล้างวันออก จุ่มรากในสารกันราอาลีเอท 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร 5 นาที จุ่มรากในฮอร์โมนกลุ่มออกซิน(เซราคิกส์ เบอร์ 2) แล้วใส่ถุงดำขนาด 3 x 4 นิ้ว ที่มีวัสดุปลูก ดิน : จีเล้าแกลบ : ปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1 : 1 : 1 โดยปริมาตร รดน้ำพอชุ่ม ใช้ถุงพลาสติกใส ขนาด 3 x 4 นิ้ว ครอบและคลุมปากถุงให้แน่นเพื่อป้องกันการคายน้ำประมาณ 1 เดือน นำถุงพลาสติกใสออก รดน้ำตามปกติ จะได้กล้าส้มโอที่แข็งแรง เจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมปกติได้

วิภารัตน์ รัตนะ (2542) นำเมล็ดมะตูม (*Aegle marmelos* Correa.) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Rutaceae เช่นเดียวกับส้มมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 10 % นาน 15 นาที แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 30 วัน ได้นำชิ้นส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ยอด ลำต้น ขอบใบเลี้ยง และราก ของกล้ามะตูม ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BAP 0 2 4 6 8 และ 10 มก./ลิตร ภายหลังการเลี้ยง 30 วันพบว่าส่วนขอบใบเลี้ยงที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BAP 2 มก./ลิตร ให้ค่าเฉลี่ยยอดมากที่สุด 28.75 ยอด และเมื่อนำยอดที่ได้จากขอบใบเลี้ยงมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 30 วัน ก่อนนำมาเพิ่มปริมาณยอด ในอาหารสูตร MS + BAP 1 2 3 และ 4 มก./ลิตร ภายหลังเลี้ยง 10 วัน พบว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BAP 2 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุดคือ 20.50 ยอด และพบว่าสามารถชักนำรากได้ 85% เมื่อเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MS + NAA 1 มก./ลิตร + IBA 1 มก./ลิตร นอกจากนี้ยังได้ทดลองเก็บรักษาปลายยอดมะตูมในอาหาร MS ผสม mannitol, sucrose และ paclobutazol ระดับต่าง ๆ พบว่าหลังเลี้ยงนาน 180 วัน สูตรอาหารสูตร MS + mannitol 10 กรัม/ลิตร เนื้อเยื่อมีการรอดชีวิตสูงสุด 90% ส่วนการเก็บรักษาในอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ภายใน 24 ชั่วโมง เนื้อเยื่อมีชีวิตรอดได้เพียง 4 ชั่วโมง

นาคยา มนตรี และคณะ (2543) ได้ทดลองเลี้ยงตาข้างมะขามป้อม ซึ่งอยู่ในวงศ์ Rutaceae จากต้นที่เจริญเต็มที่แล้วในอาหารสูตร MS + BA 0 – 10 มก./ลิตร พบว่าอาหารสูตร MS + BA 2 มก./ลิตร เท่านั้นทำให้ตาข้างพัฒนาเป็นยอดได้ ส่วนการนำชิ้นส่วนของต้นกล้าได้แก่ ยอด ใบเลี้ยงใต้ใบเลี้ยง และราก ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 2 มก./ลิตร พบว่าส่วนใต้ใบเลี้ยงให้ยอดสูงสุด และนำไปเพิ่มปริมาณยอดในอาหารสูตร MS + BA หรือ KN (kinetin) 0 – 10 มก./ลิตร พบว่า BA 4 มก./ลิตร เพิ่มปริมาณยอดสูงสุด และเมื่อนำยอดมาชักนำรากในอาหารสูตร MS + IBA หรือ NAA 0 – 10 มก./ลิตร หรือสูตรที่ลดความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) และโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) จากปกติจนถึงไม่มีเลย พบว่าสูตรอาหารที่ไม่มี NH_4NO_3 และ KNO_3 ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากสูงสุด

ศรีสุดา เจนจางวังก์ (2543) ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิวเซลล์ส สัมโซกบนอาหารสูตร MT (1969) ที่เติม KN เข้มข้น 0 – 2 มก./ลิตร ร่วมกับ IAA เข้มข้น 0 – 1 มก./ลิตร พบว่าใน 90 วัน เนื้อเยื่อนิวเซลล์สที่เลี้ยงในอาหารสูตรไม่เติม KN มีเปอร์เซ็นต์พัฒนาไปเป็นนิวเซลล์าเอ็มบริโอ (nucellar embryo) และ planlet ตามลำดับ สูงกว่าที่เติม KN เมื่อนำ nucellar embryo เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากบนอาหารสูตร MT ที่เติม KN ความเข้มข้น 0 – 10 มก./ลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอาหารสูตรที่เติม KN เข้มข้น 10 มก./ลิตร เกิดยอดมากที่สุดเฉลี่ย 7.14 ยอด/ชิ้นส่วน แต่ยอดมีขนาดเล็กและสั้นเฉลี่ย 0.75 ซม. และเพื่อนำยอด มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MT + IBA 2 มก./ลิตร เป็นเวลา 30 วัน สามารถชักนำรากได้มากที่สุดเฉลี่ย 2.6 รากต่อยอด และพบว่าเมื่อเลี้ยงยอดบนวัสดุต่างๆ ร่วมกับ IBA เข้มข้น 4 มก./ลิตร เป็นเวลา 45 วัน ยอดที่เลี้ยงบนรังบวมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด 90% และรากที่เจริญบนแคลบดิบมีรากแขนงจำนวนน้อยที่สุด ส่วนยอดที่เลี้ยงบนวุ้นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 80% มีจำนวนราก และความยาวรากไม่แตกต่างกับรากที่เจริญบนรังบวม และเมื่อย้ายสัมโซกนอกปลูกในสภาพธรรมชาติปรากฏว่าต้นสัมโซกรอดชีวิต 100% หลังย้ายปลูก 50 วัน

และในปีเดียวกัน วิสุทธิ พงษ์ศิริศักดิ์ (2543) ได้เพาะเมล็ดที่โตเต็มที่จากผลแก่ของส้มฟริมองท์ บนอาหารสูตร MT (1969) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่า zygotic embryo เริ่มพัฒนาส่วนรากออกจากเมล็ดหลังจากเลี้ยงไว้ 14 – 20 วัน และพัฒนาเป็นส่วนยอดหลังเลี้ยงได้ 34 – 50 วัน ส่วน nucellar embryo เริ่มมีการพัฒนาส่วนยอดก่อนเมื่อเลี้ยงได้ 120 – 165 วัน และเริ่มพัฒนาส่วนของรากเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 165 – 225 วัน ส่วนการเลี้ยง nucellus ของเมล็ดอ่อน บนอาหารสูตร MT(1969)ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 120 วัน พบว่า NAA ที่เติม 1 มก./ลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเอ็มบริอยด์ (embryoid) สูงสุด คือ 50% และเมื่อเลี้ยง embryoid เพื่อเพิ่มปริมาณยอด บนอาหารสูตร MS และ MT ที่เติม BA เข้มข้นระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 120 วัน พบว่า embryoid ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BA 10 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 5.0 ยอด และที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MT + BA 8 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 13.8 ยอด ส่วนการชักนำรากพบว่าอาหารสูตร MS + NAA 2 มก./ลิตร ชักนำรากได้ 100% ใน 60 วัน และรอดชีวิต 95% ส่วนการชักนำรากบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตโดยวางบนรังบวมให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด 57.14% และรอดชีวิต 80% แต่ยอดที่วางเลี้ยง บนขาน้อยไม่มีการเกิดรากในทุกความเข้มข้นของ BA

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ยืนต้นบางชนิด เช่น ในปี พ.ศ. 2544 ปัญจรัตน์ จินตนา ไพโรจน์ ชัยเลิศพญา และประสิทธิ์ เพียรอนุรักษ์ ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ชิงชัน พบว่าการใช้น้ำยาไฮเตอร์ (6% sodium hypochlorite) ที่มีความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 10

นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อประมาณ 85% การชักนำยอดโดยใช้อาหารสูตร MS+BAP 20 μ M ภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,500 Lux. เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้ได้ยอดสูงสุดเฉลี่ย 4.75 ยอด ในเวลา 3-4 สัปดาห์ และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหาร MS+BAP เข้มข้น 30 และ 40 μ M ในระยะเวลา 3 สัปดาห์ และพบว่าการใช้ GA₃ 0.6 μ M ในอาหาร MS ที่ผสม BAP 20 μ M ที่สามารถทำให้ยอดยึดตัวได้ดี ส่วนการชักนำรากจากยอดโดยใช้อาหาร MS+NAA 1 μ M +IBA 1 μ M และผสมน้ำตาล 2% สามารถชักนำรากภายใน 3 สัปดาห์

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- 1) สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS ได้แก่ KNO_3 NH_4NO_3 $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ฯลฯ
- 2) สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เอทิลแอลกอฮอล์ (เอทานอล) 70 และ 95 % สารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน
- 3) สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ Benzyl aminopurine (BAP) Indole acetic acid (IAA) Naphthalene acetic acid (NAA) Indole butyric acid (IBA)
- 4) เครื่องแก้วต่าง ๆ ได้แก่ ขวดแก้วสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ บีกเกอร์ กระบอกตวง จานแก้ว เพาะเชื้อ ฯลฯ
- 5) หม้อนึ่งความดันไฟฟ้า
- 6) เตาแก๊ส
- 7) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 8) ตู้ปลอดเชื้อ ห้องปลอดเชื้อ และห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- 9) เครื่องชั่งไฟฟ้า
- 10) ตู้เก็บสารเคมี ตู้เย็น
- 11) ชั้นวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- 12) โรงเรือนอนุบาลต้นไม้
- 13) วัสดุสำหรับย้ายปลูก ได้แก่ ทราย ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ ถ่านแกลบ ดิน ถุงดำ ขนาด 3 x 4 นิ้ว

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

3.2.1.1 การฟอกฆ่าเชื้อมันเสา โดยนำหัวมันเสามาเพาะในกระถางทราย รดน้ำให้ชุ่มพอดีทุกวัน จนงอกเป็นเถาใหม่ ตัดปลายเถาหรือปลายยอดขนาดประมาณ 4.5 ซม. มาล้างน้ำสบู่ชั้นไลต์เอคราปฟูละอองออก แช่สารป้องกันกำจัดราแมนโคเซบ (mancozeb 80% W.P.) 10 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นถึงนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

1) สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (โซเดียมไฮโปคลอไรท์/ไฮคลอร์ , ai : sodium hypochlorite 10%) 1.0% 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

2) สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 10 นาที และ 0.5 % 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

3) ฟอกด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

4) ฟอกด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

5) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

โดยทุกวิธีการใช้ tween – 20 หยดในขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2 – 3 หยด

มีการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเป็นสิ่งที่ทดลอง (4 สิ่งทดลอง) แต่ละสิ่งทดลองมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ส่วนตายอดหรือตาข้าง 1 ชิ้น จากนั้นจึงตัดชิ้นส่วนเป็นท่อนขนาด 0.5 – 1.0 ซม. ให้แต่ละท่อนมีตาข้างหรือตาดอกอย่างน้อย 1 ตา นำไปวางเลี้ยงบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอุณหภูมิ 25 – 28 องศาเซลเซียส ให้แสงความเข้ม 1,835 – 3,000 Lux. เป็นเวลา 14 ชั่วโมง ต่อวัน ตรวจสอบโดยนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อแต่ละวิธีการ หลังจากฟอกฆ่าเชื้อเวลา 7 14 21 และ 28 วัน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้ F-Test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

3.2.1.2 การฟอกฆ่าเชื้อสั้มซ่า ได้แก่ การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดและปลายยอด โดยการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดโดยผ่าครึ่งผลแก่ของสั้มซ่า (ภาพที่ 1 A) แล้วนำเมล็ดมาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

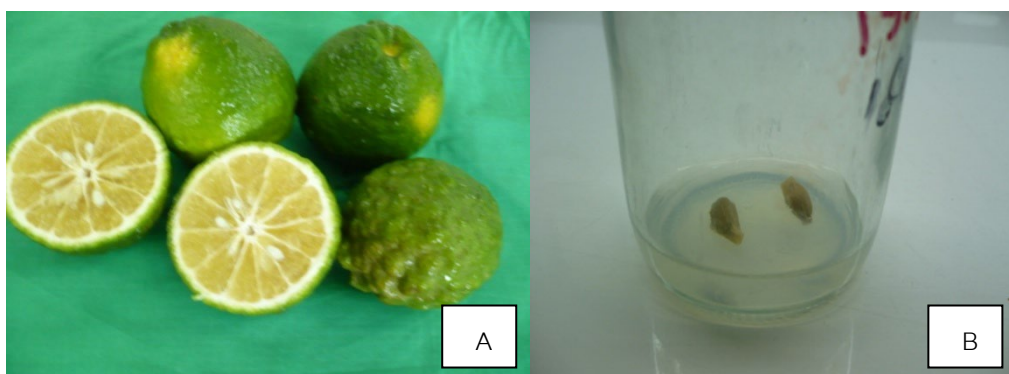
1) นำเมล็ดจุ่มเอทานอล 95% 1 – 2 นาที ใช้ปากคีบนำเมล็ดลงเปลวไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ ทิ้งให้เปลวไฟดับ

2) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

3) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

4) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 2) - 4) ใช้ tween - 20 หยดใส่ขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2-3 หยด จากนั้นนำเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ วางเลี้ยงในอาหารสูตร MS ขวดละ 2 เมล็ด (ภาพที่ 1 B) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด นำไปวางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสง 1,835 – 3,000 Lux. เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และเปอร์เซ็นต์การตายของเมล็ดในเวลา 7 14 21 และ 28 วัน นำไปหาค่าเฉลี่ย และนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT



ภาพที่ 1 ผลส้มซ่า (A) และลักษณะการวางเมล็ดในขวดอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (B)

สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อส่วนของปลายยอด โดยนำปลายยอดที่เพิ่งแตกใหม่ตามธรรมชาติ หรือจากปลายยอดที่เกิดจากการนำกิ่งของส้มซ่ามาปักชำให้แตกยอดใหม่ นำมาแช่ในสารกันรา ประมาณ 20 – 30 นาที ล้างน้ำสะอาด แล้วนำไปฟอกด้วยสารเคมีตามวิธีการดังนี้

1) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

2) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

3) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% และ 0.5% เป็นเวลา 10 นาที และ 5 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

4) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

5) ฟอกด้วยสารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซินหรือเพนิซิลิน 500 มก./ลิตร 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

ทุกวิธีใช้ทวิน – 20 หยดในขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2-3 หยด จากนั้นตัดปลายยอดหรือดาข้างขนาดประมาณ 1 ซม. วางเฉียงในสูตร MS ขวดละ 1 ชิ้น โดยวางแผนทดลองแบบ CRD ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเป็นสิ่งทดลองซึ่งมี 5 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด

นำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดและดาข้างนี้ไปวางเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสง 1,835 – 3,000 Lux. เป็นเวลา 14 ชั่วโมง ต่อวัน ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนในเวลา 7 14 21 และ 28 วัน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.2 ศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอด

3.2.2.1 ศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอดมันเส้า วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้สูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเป็นสิ่งทดลองโดยในเบื้องต้นวางแผนไว้ 8 สูตร หรือ 8 สิ่งทดลอง ทำสิ่งทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด นำยอดมันเส้าที่รอดจากการฟอกฆ่าเชื้อในการทดลองที่ 1 มาตัดเป็นข้อ ๆ ให้มีขนาด 1 ซม. แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ขวดละ 1 ชิ้น ดังนี้

สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร

สูตร 5 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร

สูตร 6 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 7 อาหาร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 8 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

แต่ละสูตรเติมผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) 0.1% เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัย พบว่าชิ้นส่วนของมันเสาสีน้ำตาลหลังเลี้ยงในอาหารที่ไม่ใส่ผงถ่าน ทำให้ต้นชะงักการเจริญ บั่นทอนการเจริญและพัฒนาหลังการเพาะเลี้ยง และนับจำนวนยอด จำนวนข้อ เมื่อเลี้ยงไปประมาณ 6–8 สัปดาห์ นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย F – Test และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.2.2 ศึกษาสูตรที่ใช้ชักนำยอดล้มชำ โดยชิ้นส่วนล้มชำที่จะนำมาชักนำยอด มี 2 ส่วนที่สำคัญคือ ส่วนของต้นกล้าที่ได้จากการออกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ (ได้แก่ ใบเลี้ยงปลายยอด และข้อใบเลี้ยง) และส่วนของปลายยอดจากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติหรือปลายยอดใหม่จากกิ่งปักชำที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อในการทดลองที่ 3.2.1.2

สำหรับส่วนของกล้าที่ได้จากการออกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้สูตรอาหารเป็นสิ่งทดลอง ทั้งหมด 14 สิ่งทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 2 ขวด แต่ละขวดใช้ชิ้นส่วนของกล้า 1 ชิ้น ซึ่งมี 3 ชุด คือชุดที่ใช้ใบเลี้ยงตัดครึ่งตามขวาง ชุดที่ใช้ปลายยอดความยาวประมาณ 0.5 – 1.0 ซม. และชุดที่ใช้ข้อใบเลี้ยงความยาว 0.5 – 1.0 ซม. ส่วนยอดจากต้นเจริญในสภาพธรรมชาติหรือกิ่งปักชำที่รูดมาจากการฟอกฆ่ามาตัดให้มีความยาว 0.5 – 1.0 ซม. โดยสูตรอาหารหรือสิ่งทดลองมีดังนี้

สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร

สูตร 5 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 6 อาหาร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 7 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 8 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 9 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0.5 มก./ลิตร

สูตร 10 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 1.5 มก./ลิตร

สูตร 11 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 2.0 มก./ลิตร

สูตร 12 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 13 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 1.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 14 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

หลังการเพาะเลี้ยงบนทีกการเจริญ พัฒนาของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ และนับจำนวนยอดที่เกิดขึ้นส่วน และวัดความยาวยอด หลังจากเลี้ยงไปประมาณ 6 – 8 สัปดาห์ นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.3 ศึกษาสูตรอาหารสำหรับชักนำราก

3.2.3.1 ศึกษาสูตรอาหารสำหรับชักนำรากมันเส้า

วางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้สูตรอาหารชักนำรากเป็นสิ่งทดลองจำนวน 4 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลองมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ชิ้นส่วนข้อลำต้นยาวประมาณ 1.5 – 2.0 ซม. จำนวน 2 ชิ้น โดยมีสิ่งทดลองดังต่อไปนี้

สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร MS + NAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร MS + NAA 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS + NAA 2.0 มก./ลิตร

(ทุกสูตรใส่ผงถ่านกัมมันต์ 0.1%)

หลังจากเพาะเลี้ยง บนทีกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก หลังเพาะเลี้ยงไปประมาณ 1 เดือน นำค่าเฉลี่ยดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.3.2 ศึกษาสูตรอาหารสำหรับการชักนำรากส้มซ่า

วางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้สูตรอาหารเป็นสิ่งทดลองมี 6 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ชิ้นส่วนยอดที่ชักนำได้ในการทดลองที่ 3.2.2 จำนวน 4 ยอด แต่ละยอดตัดให้มีความยาวประมาณ 1.0 – 1.5 ซม. โดยสูตรอาหารที่ใช้ชักนำรากมีดังนี้

สูตร 1 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + IBA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + IBA 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS ที่ไม่มี NH_4NO_3 และ KNO_3

สูตร 5 อาหาร MS ที่ไม่มี NH_4NO_3 และ KNO_3 + IBA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 6 อาหาร MS ที่ไม่มี NH_4NO_3 และ KNO_3 + IBA 1.0 มก./ลิตร

หลังการเพาะเลี้ยง บนทีกจำนวนวันที่ออกราก เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก ความยาวรากหลังการเพาะเลี้ยง 1-2 เดือน จากนั้นนำค่าเฉลี่ยเหล่านี้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี DMRT

3.2.4 ศึกษาวิธีการย้ายปลูกในสภาพแปลงธรรมชาติ

3.2.4.1 การย้ายปลูกต้นมันเสา นำขวดเพาะเลี้ยงต้นมันเสาที่ออกรากดีแล้วไปปรับสภาพอุณหภูมิและความชื้น โดยวางขวดนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 1 สัปดาห์ นำต้นมันเสาออกมาล้างวันที่รากออกให้หมด นำไปทดลองปลูกในถุงวัสดุปลูกต่าง ๆ กัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ถุง ๆ ละ 1 ต้น สิ่งทดลองใช้วัสดุปลูกดังนี้

- 1) ใช้ทรายอย่างเดียว
- 2) ใช้ทรายผสมถ่านกลบอัตราส่วน 1:1
- 3) ใช้ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1
- 4) ใช้ถ่านกลบอย่างเดียว

หลังย้ายปลูกในถุงวัสดุต่าง ๆ รดน้ำให้ชุ่ม ทำกระโจมควบคุมความชื้นประมาณ 2-4 สัปดาห์ นับเปอร์เซ็นต์การรอดของกล้ามันเสาหลังย้ายปลูก 1 และ 2 เดือน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

3.2.4.2 การย้ายปลูกสั้มซ่า นำขวดเพาะเลี้ยงสั้มซ่าที่ออกรากดีแล้วไปปรับสภาพอุณหภูมิและความชื้นนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 1 สัปดาห์ นำออกไปล้างวันที่รากให้สะอาด นำไปทดลองปลูกในถุงคำที่มีวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ใช้แผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ถุง ๆ ละ 1 ต้น ดังนี้

- 1) ใช้ถ่านกลบอย่างเดียว
- 2) ใช้ถ่านกลบผสมทรายอัตราส่วน 1:1
- 3) ใช้ถ่านกลบผสมดินอัตราส่วน 1:1
- 4) ใช้กาบมะพร้าวสับผสมถ่านกลบและดินอัตราส่วน 1:1:1

หลังการย้ายปลูกในถุงคำที่มีวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ดังกล่าว นำเข้ากระโจมพลาสติก ควบคุมความชื้นเป็นเวลาประมาณ 2-4 สัปดาห์ แล้วจึงเปิดกระโจม นับเปอร์เซ็นต์การรอดตาย นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

จากนั้นนำต้นมันเสา และสั้มซ่าที่รอดชีวิตไปปลูกในแปลงธรรมชาติ ที่โครงการศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ มูลนิธิชัยพัฒนา ต.ท่าแร่ อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี และมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี วิทยาเขตโป่งสลอด อ.บ้านลาด จ. เพชรบุรี เพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดตาย และเป็นแหล่งสาธิตการปลูกมันเสา และสั้มซ่าในสภาพธรรมชาติต่อไป

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- 1) สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS ได้แก่ KNO_3 , NH_4NO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ฯลฯ
- 2) สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เอทิลแอลกอฮอล์ (เอทานอล) 70 และ 95 % สารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน
- 3) สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ Benzyl aminopurine (BAP) Indole acetic acid (IAA) Naphthalene acetic acid (NAA) Indole butyric acid (IBA)
- 4) เครื่องแก้วต่าง ๆ ได้แก่ ขวดแก้วสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปีกเกอร์ กระจกตวง จานแก้วเพาะเชื้อ ฯลฯ
- 5) หม้อนึ่งความดันไฟฟ้า
- 6) เตาแก๊ส
- 7) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 8) ตู้ปลอดเชื้อ ห้องปลอดเชื้อ และห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- 9) เครื่องชั่งไฟฟ้า
- 10) ตู้เก็บสารเคมี ตู้เย็น
- 11) ชั้นวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- 12) โรงเรือนอนุบาลต้นไม้
- 13) วัสดุสำหรับย้ายปลูก ได้แก่ ทราย ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ ถ่านแกลบ ดิน ถุงดำ ขนาด 3 x 4 นิ้ว

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

3.2.1.1 การฟอกฆ่าเชื้อมันเสา โดยนำหัวมันเสามาเพาะในกระถางทราย รดน้ำให้ชุ่มพอดีทุกวัน จนงอกเป็นเถาใหม่ ตัดปลายเถาหรือปลายยอดขนาดประมาณ 4.5 ซม. มาล้างน้ำสบู่ชันไธท์เอคราฟฟูละอองออก แช่สารป้องกันกำจัดราแมนโคเซบ (mancozeb 80% W.P.) 10 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นจึงนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

1) สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (โซเดียมไฮโปคลอไรท์/ไฮคลอร์ , ai : sodium hypochlorite 10%) 1.0% 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

2) สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 10 นาที และ 0.5 % 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

3) ฟอกด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

4) ฟอกด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

5) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

โดยทุกวิธีการใช้ tween – 20 หยดในขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2 – 3 หยด

มีการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเป็นสิ่งที่ทดลอง (4 สิ่งทดลอง) แต่ละสิ่งทดลองมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ส่วนตายอดหรือตาข้าง 1 ชิ้น จากนั้นจึงตัดชิ้นส่วนเป็นท่อนขนาด 0.5 – 1.0 ซม. ให้แต่ละท่อนมีตาข้างหรือตายอดอย่างน้อย 1 ตา นำไปวางเลี้ยงบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอุณหภูมิ 25 – 28 องศาเซลเซียส ให้แสงความเข้ม 1,835 – 3,000 Lux. เป็นเวลา 14 ชั่วโมง ต่อวัน ตรวจสอบโดยนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อแต่ละวิธีการ หลังจากฟอกฆ่าเชื้อเวลา 7 14 21 และ 28 วัน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

3.2.1.2 การฟอกฆ่าเชื้อสั้มซ่า ได้แก่ การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดและปลายยอด โดยการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดโดยผ่าครึ่งผลแก่ของสั้มซ่า (ภาพที่ 1 A) แล้วนำเมล็ดมาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

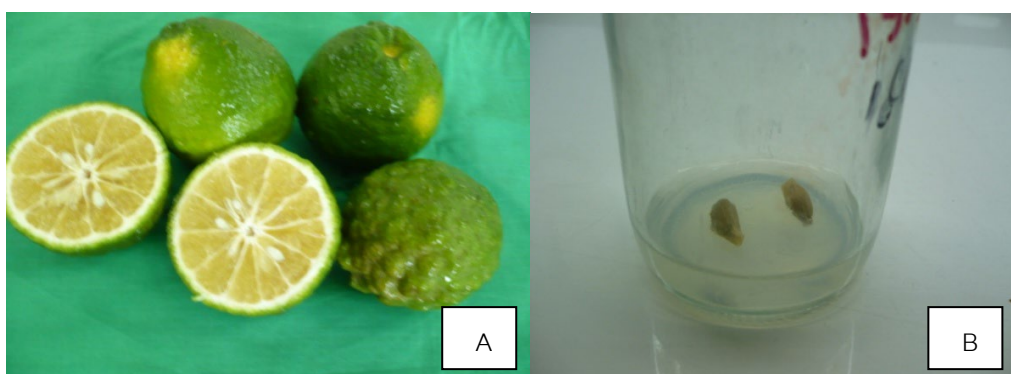
1) นำเมล็ดจุ่มเอทานอล 95% 1 – 2 นาที ใช้ปากคีบนำเมล็ดลงเปลวไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ ทิ้งให้เปลวไฟดับ

2) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

3) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

4) นำเมล็ดฟอกฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 2) - 4) ใช้ tween - 20 หยดใส่ขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2-3 หยด จากนั้นนำเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ วางเลี้ยงในอาหารสูตร MS ขวดละ 2 เมล็ด (ภาพที่ 1 B) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด นำไปวางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสง 1,835 – 3,000 Lux. เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และเปอร์เซ็นต์การตายของเมล็ดในเวลา 7 14 21 และ 28 วัน นำไปหาค่าเฉลี่ย และนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT



ภาพที่ 1 ผลส้มซ่า (A) และลักษณะการวางเมล็ดในขวดอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (B)

สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อส่วนของปลายยอด โดยนำปลายยอดที่เพิ่งแตกใหม่ตามธรรมชาติ หรือจากปลายยอดที่เกิดจากการนำกิ่งของส้มซ่ามาปักชำให้แตกยอดใหม่ นำมาแช่ในยาต้านรา ประมาณ 20 – 30 นาที ล้างน้ำสะอาด แล้วนำไปฟอกด้วยสารเคมีตามวิธีการดังนี้

1) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที

2) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที

3) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% และ 0.5% เป็นเวลา 10 นาที และ 5 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที

4) ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที

5) ฟอกด้วยสารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซินหรือเพนนิซิลิน 500 มก./ลิตร 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที

ทุกวิธีใช้ทวิน – 20 หยดในขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2-3 หยด จากนั้นตัดปลายยอดหรือตาข้างขนาดประมาณ 1 ซม. วางเฉียงในสูตร MS ขวดละ 1 ชิ้น โดยวางแผนทดลองแบบ CRD ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเป็นสิ่งทดลองซึ่งมี 5 สิ่งทดลองๆละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด

นำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดและตาข้างนี้ไปวางเฉียงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสง 1,835 – 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมง ต่อวัน ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนในเวลา 7 14 21 และ 28 วัน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.2 ศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอด

3.2.2.1 ศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอดมันเส้า วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้สูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเป็นสิ่งทดลองโดยในเบื้องต้นวางแผนไว้ 8 สูตร หรือ 8 สิ่งทดลอง ทำสิ่งทดลอง 4 ซ้ำๆละ 5 ขวด นำยอดมันเส้าที่รอดจากการฟอกฆ่าเชื้อในการทดลองที่ 1 มาตัดเป็นข้อๆให้มีขนาด 1 ตา แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ขวดละ 1 ชิ้น ดังนี้

สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร

สูตร 5 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร

สูตร 6 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 7 อาหาร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 8 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

แต่ละสูตรเติมผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) 0.1% เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัย พบว่าชิ้นส่วนของมันเสาสรางสารสีน้ำตาลหลังเลี้ยงในอาหารที่ไม่ใส่ผงถ่าน ทำให้ดินชะงักการเจริญ บั่นทอนการเจริญและพัฒนาหลังการเพาะเลี้ยง และนับจำนวนยอด จำนวนข้อ เมื่อเลี้ยงไปประมาณ 6–8 สัปดาห์ นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย F – Test และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.2.2 ศึกษาสูตรที่ใช้ชักนำยอดล้มชำ โดยชิ้นส่วนล้มชำที่จะนำมาชักนำยอด มี 2 ส่วนที่สำคัญคือ ส่วนของต้นกล้าที่ได้จากการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ (ได้แก่ ใบเลี้ยงปลายยอด และข้อใบเลี้ยง) และส่วนของปลายยอดจากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติหรือปลายยอดใหม่จากกิ่งปักชำที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อในการทดลองที่ 3.2.1.2

สำหรับส่วนของกล้าที่ได้จากการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้สูตรอาหารเป็นสิ่งที่ทดลอง ทั้งหมด 14 สิ่งทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 2 ขวด แต่ละขวดใช้ชิ้นส่วนของกล้า 1 ชิ้น ซึ่งมี 3 ชุด คือชุดที่ใช้ใบเลี้ยงตัดครึ่งตามขวาง ชุดที่ใช้ปลายยอดความยาวประมาณ 0.5 – 1.0 ซม. และชุดที่ใช้ข้อใบเลี้ยงความยาว 0.5 – 1.0 ซม. ส่วนยอดจากต้นเจริญในสภาพธรรมชาติหรือกิ่งปักชำที่รูดมาจากการฟอกฆ่ามาตัดให้มีความยาว 0.5 – 1.0 ซม. โดยสูตรอาหารหรือสิ่งทดลองมีดังนี้

สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร

สูตร 5 อาหาร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 6 อาหาร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 7 อาหาร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 8 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 9 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0.5 มก./ลิตร

สูตร 10 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 1.5 มก./ลิตร

สูตร 11 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 2.0 มก./ลิตร

สูตร 12 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 13 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 1.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 14 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร

หลังการเพาะเลี้ยงบนทีกการเจริญ พัฒนาของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ และนับจำนวนยอดที่เกิดขึ้นส่วน และวัดความยาวยอด หลังจากเลี้ยงไปประมาณ 6 – 8 สัปดาห์ นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.3 ศึกษาสูตรอาหารสำหรับชักนำราก

3.2.3.1 ศึกษาสูตรอาหารสำหรับชักนำรากมันเส้า

วางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้สูตรอาหารชักนำรากเป็นสิ่งทดลองจำนวน 4 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลองมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ชิ้นส่วนข้อลำต้นยาวประมาณ 1.5 – 2.0 ซม. จำนวน 2 ชิ้น โดยมีสิ่งทดลองดังต่อไปนี้

สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร MS + NAA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร MS + NAA 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS + NAA 2.0 มก./ลิตร

(ทุกสูตรใส่ผงถ่านกัมมันต์ 0.1%)

หลังจากเพาะเลี้ยง บนทีกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก หลังเพาะเลี้ยงไปประมาณ 1 เดือน นำค่าเฉลี่ยดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.2.3.2 ศึกษาสูตรอาหารสำหรับการชักนำรากส้มซ่า

วางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้สูตรอาหารเป็นสิ่งทดลองมี 6 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ชิ้นส่วนยอดที่ชักนำได้ในการทดลองที่ 13.2.2 จำนวน 4 ยอด แต่ละยอดตัดให้มีความยาวประมาณ 1.0 – 1.5 ซม. โดยสูตรอาหารที่ใช้ชักนำรากมีดังนี้

สูตร 1 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร 2 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + IBA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 3 อาหาร $\frac{1}{2}$ MS + IBA 1.0 มก./ลิตร

สูตร 4 อาหาร MS ที่ไม่มี NH_4NO_3 และ KNO_3

สูตร 5 อาหาร MS ที่ไม่มี NH_4NO_3 และ KNO_3 + IBA 0.5 มก./ลิตร

สูตร 6 อาหาร MS ที่ไม่มี NH_4NO_3 และ KNO_3 + IBA 1.0 มก./ลิตร

หลังการเพาะเลี้ยง บนทีกจำนวนวันที่ออกราก เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก ความยาวรากหลังการเพาะเลี้ยง 1-2 เดือน จากนั้นนำค่าเฉลี่ยเหล่านี้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี DMRT

3.2.4 ศึกษาวิธีการย้ายปลูกในสภาพแปลงธรรมชาติ

3.2.4.1 การย้ายปลูกต้นมันเสา นำขวดเพาะเลี้ยงต้นมันเสาที่ออกรากดีแล้วไปปรับสภาพอุณหภูมิและความชื้น โดยวางขวดนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 1 สัปดาห์ นำต้นมันเสาออกมาล้างวันที่รากออกให้หมด นำไปทดลองปลูกในถุงวัสดุปลูกต่าง ๆ กัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ถุง ๆ ละ 1 ต้น สิ่งทดลองใช้วัสดุปลูกดังนี้

- 1) ใช้ทรายอย่างเดียว
- 2) ใช้ทรายผสมถ่านกลบอัตราส่วน 1:1
- 3) ใช้ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1
- 4) ใช้ถ่านกลบอย่างเดียว

หลังย้ายปลูกในถุงวัสดุต่าง ๆ รดน้ำให้ชุ่ม ทำกระโจมควบคุมความชื้นประมาณ 2-4 สัปดาห์ นับเปอร์เซ็นต์การรอดของกล้ามันเสาหลังย้ายปลูก 1 และ 2 เดือน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

3.2.4.2 การย้ายปลูกสั้มซ่า นำขวดเพาะเลี้ยงสั้มซ่าที่ออกรากดีแล้วไปปรับสภาพอุณหภูมิและความชื้นนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 1 สัปดาห์ นำออกไปล้างวันที่รากให้สะอาด นำไปทดลองปลูกในถุงคำที่มีวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ใช้แผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ถุง ๆ ละ 1 ต้น ดังนี้

- 1) ใช้ถ่านกลบอย่างเดียว
- 2) ใช้ถ่านกลบผสมทรายอัตราส่วน 1:1
- 3) ใช้ถ่านกลบผสมดินอัตราส่วน 1:1
- 4) ใช้กาบมะพร้าวสับผสมถ่านกลบและดินอัตราส่วน 1:1:1

หลังการย้ายปลูกในถุงคำที่มีวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ดังกล่าว นำเข้ากระโจมพลาสติก ควบคุมความชื้นเป็นเวลาประมาณ 2-4 สัปดาห์ แล้วจึงเปิดกระโจม นับเปอร์เซ็นต์การรอดตาย นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

จากนั้นนำต้นมันเสา และสั้มซ่าที่รอดชีวิตไปปลูกในแปลงธรรมชาติ ที่โครงการศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ มูลนิธิชัยพัฒนา ต.ท่าแร่ อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี และมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี วิทยาเขตโป่งสลอด อ.บ้านลาด จ. เพชรบุรี เพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดตาย และเป็นแหล่งสาธิตการปลูกมันเสา และสั้มซ่าในสภาพธรรมชาติต่อไป

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชพื้นเมือง 2 ชนิด ได้แก่ มั่นเส้า และ ส้มซ่า ตั้งแต่วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำยอด การชักนำราก และการย้ายออกปลูกในสภาพแปลง ปรากฏผลดังนี้

4.1 ผลการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

4.1.1 ผลการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อของมั่นเส้า จากการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดมั่นเส้าด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5 วิธีการ คือ 1) ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที 2) ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที ตามด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5% 5 นาที 3) ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 15 นาที 4) ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 10 นาที และ 5) ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 20 นาที โดยการฟอกฆ่าเชื้อทุกวิธีการใช้ tween -20 จำนวน 2-3 หยด หลังการฟอกฆ่าเชื้อทุกวิธีการ ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที เมื่อตรวจนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของมั่นเส้าหลังฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน พบว่ามั่นเส้าที่ฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 20 นาที จะให้ผลดีที่สุดโดยจะมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด โดยหลังการฟอกฆ่าเชื้อ 21 วัน มีการปนเปื้อน 20 % รองลงมา คือ การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 15 นาที การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที และ 0.5% 5 นาที การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 10 นาที และใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที ซึ่งมีการปนเปื้อน 50 55 60 และ 85 % ตามลำดับ โดยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนหลังฟอกฆ่าเชื้อที่ 7 14 และ 28 วัน ไม่ต่างกันทางสถิติ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของมันเสาล้างการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของมันเสาล้าง			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
1. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 10 นาที	50	70	85 ^a	85
2. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 10 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5% 5 นาที	30	50	55 ^{ab}	80
3. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 15 นาที	40	45	50 ^{ab}	55
4. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 10 นาที	55	60	60 ^{ab}	70
5. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 20 นาที	20	20	20 ^b	40
F-test	ns	ns	*	ns
CV. (%)	54.19	58.44	47.33	41.77

หมายเหตุ : หลังการฟอกฆ่าเชื้อทุกวิธีการ ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ ประมาณ 5 นาที

ns หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4.1.2 ผลการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดส้มซ่า จากการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดส้มซ่า 4 วิธีการ คือ

1) ใช้จุ่มเอทานอล 95 % 1-2 นาที แล้วเผาไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ 2) ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 10 นาทีแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที 3) ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที และ 4) ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที โดยการวิธีที่ 2-4 ใช้ทวิน-20 2-3 หยด เมื่อตรวจนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเมล็ดส้มซ่า หลังฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ได้ผลดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด หลังการฟอกฆ่าเชื้อที่ 28 วัน โดยมีการปนเปื้อน 27.50 % รองลงมาคือการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 10 นาที และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 15 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที มีการปนเปื้อน 32.50 % ส่วนการจุ่มเมล็ดด้วยเอทานอล 95 % 1-2 นาที แล้วเผาไฟด้วยตะเกียง

แอลกอฮอล์มีการปนเปื้อนมากที่สุด 95 % โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเมล็ดส้มซ่าหลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเมล็ดส้มซ่า			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
1. จุ่มเอทานอล 95 % 1-2 นาที แล้วเผาด้วยเปลวตะเกียงแอลกอฮอล์	67.50 ^a	90.00 ^a	95.00 ^a	95.00 ^a
2. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 10 นาที	15.00 ^b	15.00 ^b	32.50 ^b	32.50 ^b
3. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % 15 นาที	20.00 ^b	32.50 ^b	32.50 ^b	32.50 ^b
4. ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % 10 นาที	0.00 ^b	15.00 ^b	27.50 ^b	27.50 ^b
F-test	**	**	**	**
CV.(%)	44.70	39.16	28.39	28.39

หมายเหตุ : วิธีฟอกฆ่าเชื้อที่ 2-4 ผสมทวิน -20 2-3 หยด และล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

จะเห็นได้ว่าการใช้สาร โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0-1.5% เป็นเวลา 10-15 นาที ให้ผลในการฟอกฆ่าเชื้อดีกว่าการจุ่มเมล็ดในเอทานอล 95%แล้วเผาด้วยเปลวตะเกียงแอลกอฮอล์ ต่างจากการทดลองของวิภารัตน์ รัตนะ(2542) ที่นำเมล็ดมะตูมซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับส้มซ่ามาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ (มีสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นองค์ประกอบประมาณ 6%) 10% นาน 15 นาที ได้ปลอดเชื้อและนำไปเลี้ยงให้เจริญและพัฒนาได้

4.1.3 ผลการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อยอดส้มซ่าที่ได้จากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติ จากการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดส้มซ่าที่นำมาจากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติโดยนำมาแช่ในสารกันราประมาณ 30 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นฟอกด้วยสารเคมี 5 วิธีการ คือ 1) ใช้โซเดียมไฮโป

คลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 10 นาที 2) ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % เป็นเวลา 15 นาที 3) ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0 % และ 0.5 % เป็นเวลา 10 และ 5 นาที ตามลำดับ 4) ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที 5) ใช้สารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน 500 มก./ลิตร 10 นาที โดยทุกวิธีการใช้ tween-20 หยดในขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2-3 หยด และหลังการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อทุกวิธีการล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที เมื่อตรวจนับการปนเปื้อนหลังการฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน พบว่าการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 10 นาที และการใช้โซเดียม 1.5% เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที ฟอกฆ่าเชื้อได้ดีที่สุด มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด 30.00 % หลังการฟอกฆ่าเชื้อ 28 วัน รองลงมาได้แก่การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% เป็นเวลา 15 นาที และการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% และ 0.5% เป็นเวลา 10 และ 5 นาที ซึ่งมีการปนเปื้อน 50% และ 55% ตามลำดับ ส่วนการใช้สารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน 500มก./ลิตร มีการปนเปื้อนมากที่สุด 100% หลังการฟอกฆ่าเชื้อ 28 วัน โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนยอดสัมผัสจากธรรมชาติหลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ เป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนยอดสัมผัส			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
1.ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที	20 ^b	25 ^b	30 ^c	30 ^c
2. ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 15 นาที	30 ^b	45 ^b	55 ^b	50 ^{bc}
3. ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0%และ 0.5% 10 และ 5 นาที ตามลำดับ	20 ^c	45 ^b	45 ^{bc}	55 ^b
4. ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 10 นาที	10 ^c	30 ^b	30 ^c	30 ^c
5. ใช้สารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน 500 มก./ลิตร 10 นาที	95 ^a	95 ^a	100 ^a	100 ^a
F-test	**	**	**	**
CV.(%)	40.41	35.32	28.85	30.57

หมายเหตุ : ทุกวิธีการทำหลังจากแช่สารกันรา 0.2% 30 นาที และ หยด -2tween-20 2-3 หยด แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

การทดลองฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดส้มซ่าจากธรรมชาติค่อนข้างสอดคล้องกับการทดลองของสุภาพ สุนทรนนท์ (2546) ที่พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อยอดส้มโอโดยจุ่มในเอทานอล 70% นาน 1 นาที แล้วออกด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วจึงฟอกตามด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 15% 10 นาที ทำให้ยอดปลอดเชื้อและเจริญพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ในเวลา 6 สัปดาห์ ต่างกันที่การฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดส้มซ่ามีการแช่สารกันราแทนการแช่ในเอทานอล 70 %

4.2. ผลการศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอด

4.2.1 ผลการศึกษาสูตรอาหารในการชักนำยอดมันเส้า หลังจากนำชิ้นส่วนปลายยอดและข้อมันเส้าที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ จำนวน 8 สูตร เพื่อชักนำยอด ได้แก่ 1) MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2) MS + BAP 0.5 มก./ลิตร 3) MS + BAP 1.0 มก./ลิตร 4) MS + BAP 1.5 มก./ลิตร 5) MS + BAP 2.0 มก./ลิตร 6) MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร 7) MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร 8) MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร หลังการเลี้ยงบนอาหารสูตรดังกล่าวนี้เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ นับจำนวนข้อ และยอดรวมของมันเส้าที่เลี้ยง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ผลปรากฏดังนี้

4.2.1.1 จำนวนข้อของมันเส้า หลังการเลี้ยงที่ 6 สัปดาห์ อาหารสูตร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร ให้จำนวนข้อเฉลี่ยมากที่สุดคือ 4.38 ข้อ รองลงมาคือสูตร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร ให้จำนวนข้อเฉลี่ย 3.0 ข้อ ส่วนสูตรอื่น ๆ ให้จำนวนข้อเฉลี่ย 2.38-2.83 ข้อ โดยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) แต่หลังการเลี้ยง 8 สัปดาห์ สูตรอาหารที่ให้จำนวนข้อมากที่สุด คือ MS + BAP 1.5 มก./ลิตร ให้จำนวนข้อ 5.80 ข้อ รองลงมาคือ MS + BAP 1.0 มก./ลิตร ให้จำนวนข้อ 5.40 ข้อ ส่วนสูตรที่เหลือให้จำนวนข้อ 2.45-5.08 ข้อ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนข้อของม้นเสาล้างเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	จำนวนข้อของม้นเสา	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	2.73 ^b	3.63 ^{cd}
2. MS + BAP 0.5 มก./ลิตร	2.38 ^b	3.63 ^{cd}
3. MS + BAP 1.0 มก./ลิตร	2.83 ^b	5.40 ^{ab}
4. MS + BAP 1.5 มก./ลิตร	2.70 ^b	5.80 ^a
5. MS + BAP 2.0 มก./ลิตร	3.00 ^b	3.78 ^{cd}
6. MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร	2.50 ^b	2.45 ^d
7. MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร	4.38 ^a	5.08 ^{abc}
8. MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร	2.83 ^b	4.13 ^{bc}
F-test	**	**
CV. (%)	16.83	16.92

หมายเหตุ : อาหารทุกสูตรเติมผงถ่านกัมมันต์ 0.1 %

** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4.2.1.2 จำนวนยอดของม้นเสา หลังการเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ 8 สูตร เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ นับจำนวนยอดรวมของแต่ละต้นในอาหารแต่ละสูตร นำไปหาค่าเฉลี่ย และนำค่าเฉลี่ยยอดรวมไปวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย F-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT พบว่าที่ 6 สัปดาห์ สูตรอาหารที่ชักนำยอดมากที่สุด คือสูตร MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร ให้จำนวนยอด 1.65 ยอด รองลงมา คือสูตร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.48 ยอด ส่วนสูตรอื่น ๆ ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.08-1.40 ยอด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สัปดาห์ที่ 8 สูตรอาหารที่ชักนำยอดรวมได้มากที่สุดคือสูตร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร ให้ยอดรวมเฉลี่ย 2.23 ยอด รองลงมา คือ สูตร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร และ MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร โดยให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.85 และ 1.78 ยอดตามลำดับ ส่วนสูตรอื่น ๆ ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.38-1.70

ยอด โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 2

ตารางที่ 5 จำนวนยอดของมันเสาหลังเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	จำนวนยอดของมันเสา	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	1.38	1.45 ^b
2. MS + BAP 0.5 มก./ลิตร	1.08	1.38 ^b
3. MS + BAP 1.0 มก./ลิตร	1.40	2.23 ^a
4. MS + BAP 1.5 มก./ลิตร	1.10	1.85 ^{ab}
5. MS + BAP 2.0 มก./ลิตร	1.08	1.45 ^b
6. MS + BAP 0.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร	1.65	1.70 ^{ab}
7. MS + BAP 1.5 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร	1.48	1.78 ^{ab}
8. MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร	1.40	1.40 ^b
F-test	ns	*
CV. (%)	20.06	19.26

หมายเหตุ : อาหารทุกสูตรเติมผงถ่านกัมมันต์ 0.1 %

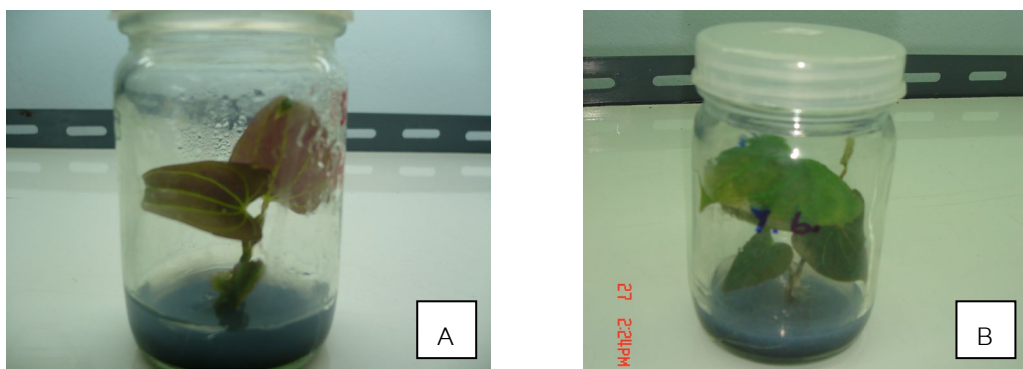
ns หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

จากผลการชักนำยอดของมันเสาจะเห็นได้ว่าสูตรอาหารที่ชักนำจำนวนยอดมากที่สุดคือสูตร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร ซึ่งให้จำนวนยอด 2.23 ยอด และเมื่อเพิ่มปริมาณ BAP เป็น 2.0 มก./ลิตร จำนวนยอดจะลดลงเป็น 1.45 ยอด สอดคล้องกับการทดลองของไพโรจน์ ทับพงษ์(2543) ที่ทดลองเลี้ยงตาข้างของกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst) ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับมันเสา ในอาหารสูตร MS ที่ผสม BAP ตั้งแต่ 1.5-3.0 มก./ลิตร พบว่าอาหารสูตร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร ชักนำยอดได้สูงสุดได้ 1.33 ยอดในเวลา 8 สัปดาห์ แต่เมื่อใช้ BAP ปริมาณสูงขึ้น จำนวนยอดจะลดลงเช่นเดียวกัน และทำนองเดียวกันอาหารสูตร MS + BAP 1.5 มก./ลิตร ทำให้ได้จำนวนข้อของกลอย

และมันเสามากหรือยาวที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS + BAP ที่มากกว่าหรือน้อยกว่า 1.5 มก./ลิตร



ภาพที่ 2 การแตกยอดของมันเสาล้างฟอกมาเชื้อ 10 วัน (A) และการแตกยอดในอาหารสูตรชักนำยอด หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (B)

4.2.2 การชักนำยอดของส้มซ่า หลังจากนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ยอด ใบเลี้ยง และข้อใบเลี้ยงของต้นกล้าส้มซ่าซึ่งเพาะในสภาพปลอดเชื้อและส่วนยอดของส้มซ่าจากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติมาเลี้ยงบนอาหาร 14 สูตร โดยใช้สารควบคุมการเจริญ BAP และ BAP ร่วมกับ IAA ในอัตราต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ มีการตรวจนับจำนวนยอดและวัดความยาวยอดที่เจริญในอาหารแต่ละสูตร นำไปหาค่าเฉลี่ย และนำค่าเฉลี่ยดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT ได้ผลดังนี้

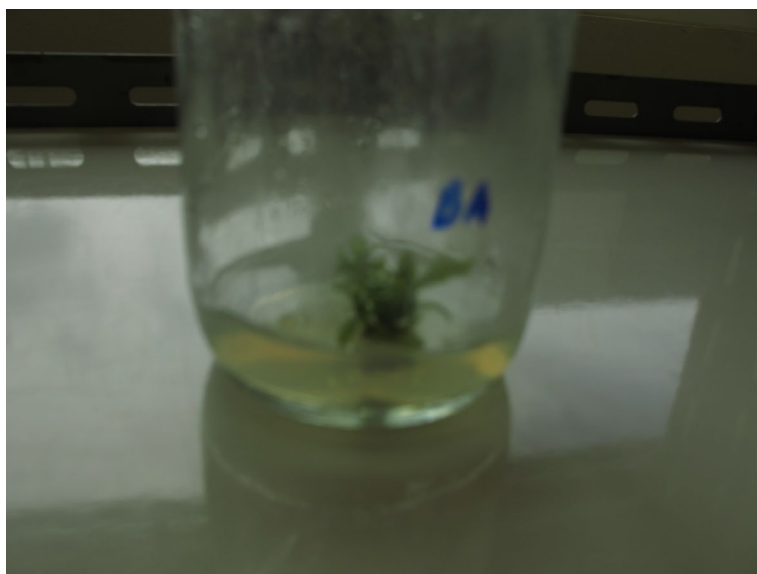
4.2.2.1 จำนวนยอดของส้มซ่าที่ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของต้นกล้าที่งอกในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากเลี้ยงส่วนต่างๆของต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในอาหาร 14 สูตรเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่ชักนำส่วนยอดของต้นกล้าส้มซ่าได้จำนวนยอดมากที่สุดได้แก่ สูตร MS + BAP 1.0 มก./ลิตร ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 3.10 และ 3.70 ยอด รองลงมาคือสูตร MS + BAP 2.0 มก./ลิตร + IAA 0.5 มก./ลิตร ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 2.80 และ 3.60 ยอด ส่วนสูตรอื่นๆ ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.00-2.60 ยอด ในสัปดาห์ที่ 6 และ 1.00-3.10 ยอด ในสัปดาห์ที่ 8 ตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 6 และภาพที่ 3

ตารางที่ 6 จำนวนยอดสัมผัสที่ได้จากการชักนำส่วนยอดของต้นกล้าสัมผัสที่ออกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง(สูตรอาหาร)	จำนวนยอดสัมผัสที่ชักนำจากส่วนยอด	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	1.30 ^b	1.40 ^b
2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	2.90 ^a	2.90 ^b
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	3.10 ^a	3.70 ^a
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	1.00 ^b	1.30 ^b
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร	2.60 ^a	1.50 ^b
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.40 ^a	2.90 ^b
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.80 ^a	3.60 ^a
8. ¹ / ₂ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	1.10 ^b	3.10 ^b
9. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	1.00 ^b	1.50 ^b
10. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	1.10 ^b	1.20 ^b
11. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	1.00 ^b	1.00 ^b
12. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.00 ^b	1.00 ^b
13. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.00 ^b	1.00 ^b
14. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.00 ^b	1.00 ^b
F-test	**	**
CV. (%)	45.98	34.45

หมายเหตุ : ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวนิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 3 ลักษณะการแตกยอดของสั้มซ่าในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรที่ 7 (MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

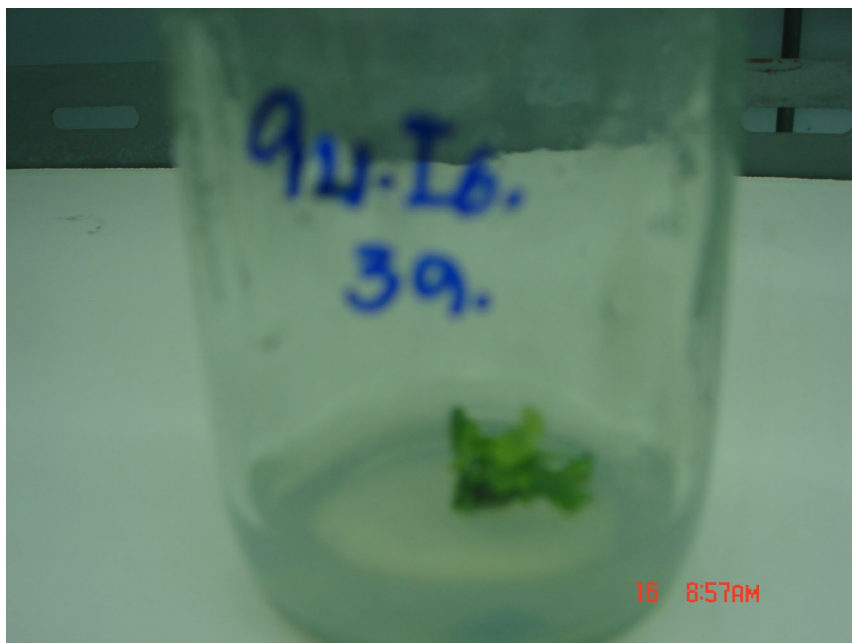
สำหรับสูตรอาหารที่สามารถชักนำยอดจากส่วนใบเลี้ยงของต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดได้ในภายใน 6-8 สัปดาห์ มี 8 สูตร โดยสูตรที่ชักนำจำนวนยอดมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 ได้แก่ สูตร MS+BAP 0.5 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.70 และ 2.40 ยอด รองลงมาได้แก่สูตร $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ให้จำนวนยอด 1.10 ยอด ในสัปดาห์ที่ 6 และสูตร $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร ให้จำนวนยอด 1.4 ยอด ในสัปดาห์ที่ 8 ส่วนสูตรอื่นๆ ให้จำนวนยอด 0.10 – 0.60 ยอด ในสัปดาห์ที่ 6 และจำนวนยอด 0.60 – 1.20 ยอด ในสัปดาห์ที่ 8 โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 7 และภาพที่ 4

ตารางที่ 7 จำนวนยอดสั้มซ่าที่ได้จากการชักนำส่วนใบเลี้ยงของต้นกล้าสั้มซ่าที่งอกจากเมล็ด หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง(สูตรอาหาร)	จำนวนยอดสั่มชำที่ชักนำจากใบเลี้ยง	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	0.00 ^c	0.00 ^c
2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	1.70 ^a	2.40 ^a
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	0.00 ^c	1.40 ^b
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	0.10 ^c	0.10 ^c
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.10 ^c	0.02 ^c
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.60 ^{bc}	0.60 ^{bc}
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.40 ^c	0.60 ^{bc}
8. ¹ / ₂ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	1.10 ^b	1.20 ^b
9. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
10. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
11. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	0.00 ^c	1.00 ^c
12. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
13. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
14. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
F-test	**	**
CV. (%)	142.63	126.60

หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวนิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 4 การแตกยอดของสั้มซ่าจากใบเลี้ยงของต้นกล้าสั้มซ่าที่งอกจากเมล็ดในอาหารชักนำยอดสูตรที่ 6 (MS+BAP 1.0 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร) เป็นเวลา 3 เดือน

สำหรับสูตรอาหารที่ชักนำส่วนข้อใบเลี้ยงของต้นกล้าสั้มซ่าที่งอกจากเมล็ดได้จำนวนยอดมาก ที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 ได้แก่สูตร MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร ให้จำนวนยอด 6.20 และ 6.40 ยอด ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 รองลงมาได้แก่สูตร MS+BAP 2.0 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก. ให้จำนวนยอด 4.60 และ 4.70 ยอด ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 ส่วนสูตรอื่นๆ ให้จำนวนยอด 1.40 – 4.40 ในสัปดาห์ที่ 6 และ 1.70 – 3.70 ยอด ในสัปดาห์ที่ 8 ตามลำดับ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 8 และภาพที่ 5

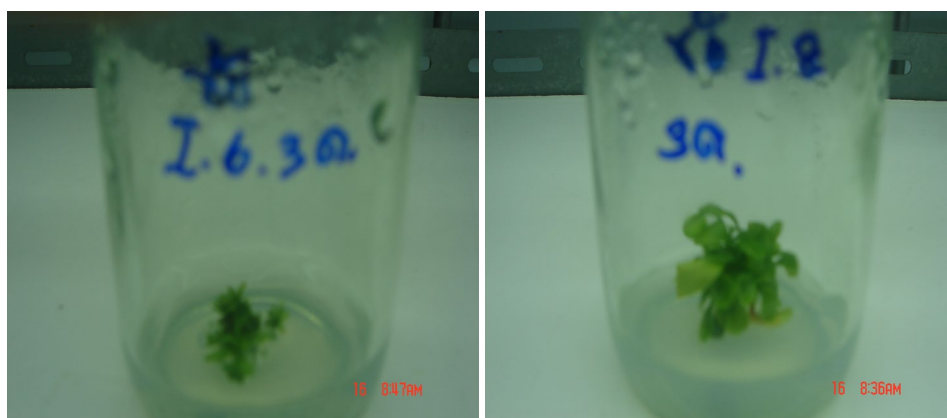
ตารางที่ 8 จำนวนยอดสั้มซ่าที่ได้จากการชักนำส่วนข้อใบเลี้ยงของต้นกล้าสั้มซ่าที่งอกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

จำนวนยอดสั้มซ่าที่ชักนำจากข้อใบเลี้ยง

สิ่งทดลอง(สูตรอาหาร)	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	1.40 ^f	1.40 ^f
2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	3.10 ^{cd}	3.20 ^{de}
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	1.94 ^{ef}	4.80 ^b
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	1.90 ^{ef}	2.10 ^{ef}
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	3.60 ^c	3.60 ^{cd}
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	6.20 ^a	6.40 ^a
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	4.40 ^b	4.70 ^{bc}
8. $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	3.40 ^c	3.70 ^{bcd}
9. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	2.50 ^{de}	3.10 ^{de}
10. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	1.70 ^{ef}	1.80 ^f
11. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	2.20 ^{ef}	2.30 ^{ef}
12. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.70 ^{ef}	1.70 ^f
13. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.00 ^{ef}	2.00 ^{ef}
14. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.80 ^{ef}	1.80 ^f
F-test	**	**
CV. (%)	142.63	126.60

หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



A

B

ภาพที่ 5 การแตกยอดของส้มซ่าที่ได้จากข้อใบเลี้ยงหลังเลี้ยงในอาหารชักนำยอดสูตรที่ 6 (MS+BAP 1.0 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร:ภาพ A) และสูตรที่ 8 ($1/2$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต :ภาพ B) เป็นเวลา 3 เดือน

จะเห็นได้ว่าอาหาร 14 สูตร สามารถชักนำยอดหรือต้นจากส่วนยอดและข้อใบเลี้ยงของต้นกล้าส้มซ่าที่งอกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อได้ทุกสูตร และพบว่ามีอาหารเพียง 8 สูตร ที่ชักนำต้นจากใบเลี้ยงได้ในเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนสูตรอื่นๆอีก 6 สูตร ไม่สามารถชักนำยอดได้ แต่เมื่อเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 5 เดือน มีบางชิ้นส่วนในสูตรอาหาร 6 สูตรที่เจริญและพัฒนาเป็นยอดเล็กๆ และบางสูตรนอกจากแตกยอดเล็กๆ แล้วมีการออกรากด้วยด้วย เช่น สูตร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต แสดงให้เห็นว่าแต่ละชิ้นส่วนของพืชมีศักยภาพในการเจริญและพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยชิ้นส่วนยอดมีเนื้อเยื่อเจริญ ส่วนข้อใบเลี้ยงก็มีเนื้อเยื่อเจริญของตาข้างที่พร้อมจะแตกยอดใหม่อยู่แล้ว แต่ใบเลี้ยงไม่มีส่วนของเนื้อเยื่อเจริญอยู่เลย จึงจำเป็นต้องใช้เวลาปรับสภาพนานกว่าและตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างจากยอดและข้อใบเลี้ยง สอดคล้องกับการศึกษาของ Anushri Vibha Dhawan.P. (2000: p 402-528) ที่พบว่าอายุของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยงในอาหารมีความสำคัญ โดยพืชที่นำชิ้นส่วนอ่อนๆ มาเลี้ยงจะตอบสนองดีกว่า แต่จำนวนยอดรวมที่ชักนำได้จากยอดและข้อใบเลี้ยงของส้มซ่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงยอดและข้อใบเลี้ยงของมะตูมซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกันโดยวิภารัตน์ รัตนะ (2542) จะพบว่าแตกต่างกันมาก เพราะการเลี้ยงข้อใบเลี้ยงของมะตูมในอาหาร MS+BAP 2 มก./ลิตร จะได้จำนวนยอดเฉลี่ย 28.75 ยอด ในเวลา 30 วัน และการเลี้ยงยอดมะตูมในอาหารสูตรเดียวกัน ให้จำนวนยอดใหม่ 20.50 ยอด หลังการเลี้ยง 10 วันเท่านั้น

4.2.2.2 จำนวนยอดส้มซ่าที่ได้จากการเลี้ยงยอดที่นำมาจากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติ
หลังการเลี้ยงยอดส้มซ่าที่นำมาจากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติมาเลี้ยงในอาหาร 14 สูตร เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำยอดมากที่สุด ได้แก่ สูตร $1/2$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร ได้จำนวนยอด 2.60 และ 2.90 ยอด รองลงมาคือสูตร MS+BAP 2.0 มก./ลิตร ได้จำนวนยอด 1.90 ยอด ในสัปดาห์ที่ 6 และสูตร $1/2$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร ได้จำนวนยอด 2.30 ยอด ในสัปดาห์ที่ 8 ส่วนสูตรอื่นๆ ชักนำยอดเฉลี่ย 1.00 -1.80 ยอด ในเวลา 6

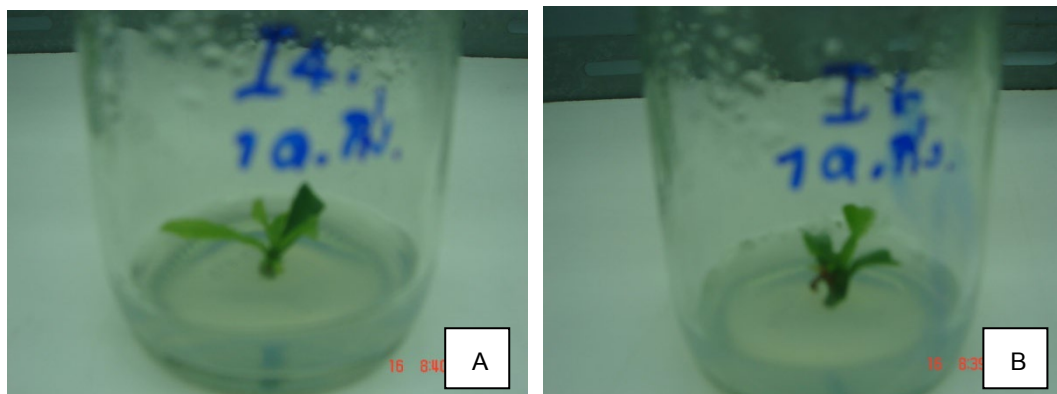
สัปดาห์ และให้จำนวนยอดเฉลี่ย 0.70 – 2.10 ยอด ในเวลา 8 สัปดาห์ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 9 และภาพที่ 6

ตารางที่ 9 จำนวนยอดสัปดาห์ที่ชักนำจากปลายยอดสัปดาห์ที่นำจากยอดที่เจริญในสภาพธรรมชาติ หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	จำนวนยอดสัปดาห์ที่ชักนำจากยอดในธรรมชาติ	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	1.00 ^d	1.00 ^d
2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	1.80 ^{bc}	1.90 ^{bc}
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	1.80 ^{bc}	0.90 ^{de}
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	1.90 ^{bc}	1.50 ^{cd}
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.30 ^{bcd}	1.50 ^{cd}
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.50 ^{bcd}	1.40 ^{cde}
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.10 ^d	0.70 ^e
8. $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	1.20 ^{cd}	1.00 ^{de}
9. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	1.60 ^{bcd}	1.00 ^{de}
10. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	1.30 ^{bcd}	1.80 ^{bc}
11. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	1.00 ^d	2.10 ^{bc}
12. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.60 ^a	2.90 ^a
13. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.50 ^{bcd}	2.30 ^{ab}
14. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	1.10 ^d	1.10 ^{de}
F-test	**	**
CV. (%)	28.58	32.69

หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 6 ยอดสั่มชำจากธรรมชาติที่เลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดสูตรที่ 4 (MS+BAP 2.0 มก./ลิตร : ภาพA) และสูตรที่ 6 (MS+BAP 1.0 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร: ภาพ B) เป็นเวลา 1 เดือน

4.2.2.3 ความยาวยอดของสั่มชำที่ได้จากเลี้ยงส่วนต่างๆของต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากเลี้ยง ส่วนยอด ใบเลี้ยง และข้อใต้ใบเลี้ยงในอาหาร 14 สูตร เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำยอดของต้นกล้าสั่มชำได้ความยาวยอดมากที่สุด ได้แก่สูตร $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร ให้ความยาวยอด 9.40 และ 10.36 มม. รองลงมาได้แก่สูตร $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร ให้ความยาวยอด 7.40 มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ และสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ให้ความยาวยอด 10.06 มม. ในเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนสูตรอาหารอื่นๆ ให้ความยาวยอด 4.25 – 7.35 มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ และให้ความยาวยอด 4.95 -7.96 มม. ในเวลา 8 สัปดาห์ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในเวลา 6 สัปดาห์ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ความยาวยอดสั้มซ่า (มม.) ที่ชักนำจากยอดของต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง(สูตรอาหาร)	ความยาวยอดสั้มซ่า (มม.) ที่ชักนำจากยอด	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	6.95 ^{AB}	10.06 ^{ab}
2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	6.27 ^B	7.96 ^{abcd}
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	5.36 ^B	5.42 ^{de}
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	7.35 ^{AB}	7.53 ^{bcde}
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	5.20 ^B	8.36 ^{abc}
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	4.58 ^B	5.50 ^{de}
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	4.72 ^B	5.27 ^{de}
8. $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	6.83 ^{AB}	6.32 ^{cde}
9. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	5.50 ^B	5.85 ^{cde}
10. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	5.68 ^B	6.35 ^{cde}
11. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	9.40 ^A	10.36 ^a
12. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	4.25 ^B	4.95 ^e
13. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	5.80 ^B	6.12 ^{cde}
14. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	7.40 ^B	7.50 ^{bcde}
F-test	*	**
CV. (%)	34.25	27.07

หมายเหตุ: * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่และพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมี

ความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำใบเลี้ยงของต้นกล้าสั้มซ่าได้ความยาวมากที่สุดได้แก่สูตร $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งให้ความยาวยอด 5.10 มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ แต่ให้ความยาวยอด 1.10 ยอด ในเวลา 8 สัปดาห์ เนื่องจากการตายของต้นเกิดขึ้นหลัง 6 สัปดาห์ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้การวิเคราะห์ผลทางสถิติมีความคลาดเคลื่อนไปบ้าง รองลงมาคือสูตร MS+BAP 0.5 มก./ลิตร ให้ความยาวยอด 1.69 ยอด ในเวลา 6 สัปดาห์ และ 2.85 มม. ในเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนสูตรอาหาร

อื่นๆ ให้ความยาวยอดเฉลี่ย 0.60 -0.90 มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ และ 0.60-2.00 มม. ในเวลา 8 สัปดาห์ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ความยาวยอดของสั้มซ่า (มม.) ที่ได้จากการชักนำใบเลี้ยงของต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง(สูตรอาหาร)	ความยาวยอดสั้มซ่า (มม.) ที่ชักนำจากใบเลี้ยง	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	0.00 ^c	0.00 ^c
2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	1.69 ^b	2.85 ^{ab}
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	0.00 ^c	2.28 ^{ab}
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	0.80 ^{bc}	2.00 ^{ab}
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.60 ^{bc}	0.60 ^{bc}
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.60 ^{bc}	0.80 ^{bc}
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.90 ^{bc}	1.00 ^{bc}
8. ¹ / ₂ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	5.10 ^a	1.10 ^{bc}
9. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
10. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
11. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.64 ^c
12. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
13. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
14. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	0.00 ^c	0.00 ^c
F-test	**	**
CV. (%)	132.26	153.34

หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

และสูตรอาหารที่ชักนำข้อใบเลี้ยงของต้นกล้าสั้มซ่าที่งอกจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ให้ความยาวยอดมากที่สุดได้แก่ สูตร MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร ให้ความยาวยอด 5.94 และ 9.47 มม. รองลงมาคือสูตร MS+BAP 1.0 มก./ลิตร ให้ความยาวยอด 5.99 มม. และ 8.06

มม.ในเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ ส่วนสูตรอื่นๆ ให้ความยาวยอดที่ 2.00-6.73 มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ และ 2.09-8.93 มม. ในเวลา 8 สัปดาห์ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ความยาวยอดของสั้มซ่า (มม.) ที่ได้จากการชักนำข้อใบเลี้ยงของต้นกล้าสั้มซ่าที่งอกในสภาพปลอดเชื้อ หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆเป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง(สูตรอาหาร)	ความยาวยอดสั้มซ่า (มม.)ที่ชักนำจากข้อใบเลี้ยง	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	5.53 ^{ab}	8.93 ^a
2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	6.73 ^a	6.79 ^b
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	5.99 ^a	8.06 ^{ab}
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	2.61 ^d	2.77 ^{ef}
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	5.94 ^a	9.47 ^a
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.36 ^d	2.42 ^{ef}
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	5.20 ^{abc}	5.42 ^c
8. $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	2.55 ^d	3.18 ^{def}
9. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	2.00 ^d	2.09 ^f
10. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	2.56 ^d	2.58 ^{ef}
11. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	3.60 ^{cd}	3.78 ^{de}
12. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร	2.84 ^d	3.11 ^{def}
13. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.40 ^d	2.53 ^{ef}
14. $\frac{1}{2}$ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	3.95 ^{bcd}	4.31 ^{cd}
F-test	**	**
CV. (%)	35.01	22.96

หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4.2.2.4 ความยาวยอดของสั้มซ่าที่ได้จากการเลี้ยงยอดสั้มซ่าจากต้นที่เจริญในธรรมชาติ

หลังการเลี้ยงยอดสั้มซ่าที่นำจากต้นที่เจริญในธรรมชาติมาเลี้ยงในอาหาร 14 สูตร เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำยอดให้มีความยาวมากที่สุดได้แก่สูตร MS+BAP 0.5 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร 9.66 และ 5.56 มมในเวลา 6 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ รองลงมาได้แก่สูตร

$\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ให้ความยาวยอด 5.80 มม. และคือสูตร $\frac{1}{2}$ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร ให้ความยาวยอด 5.29 มม. ในเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนสูตรอื่นๆ ให้ความยาวยอด 1.75-3.25 มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ และ 1.75-4.97 มม. ในเวลา 8 สัปดาห์ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 13 และภาพที่ 7



ภาพที่ 7 การแตกยอดของสั้มซ่าที่นำมาจากสภาพธรรมชาติหลังเลี้ยงในอาหารชักนำยอดสูตรที่ 5 (MS+BAP 0.5 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร) เป็นเวลา 48 วัน

ตารางที่ 13 ความยาวยอดของสั้มซ่า (มม.) ที่ได้จากการชักนำยอดสั้มซ่าที่เจริญในสภาพธรรมชาติ หลังเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สิ่งทดลอง (สูตรอาหาร)	ความยาวยอดสั้มซ่า (มม.) จากสภาพธรรมชาติ	
	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
1. MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	3.25 ^{cd}	3.15 ^{cde}

2. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	3.09 ^{cd}	3.66 ^{abcd}
3. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	2.50 ^{cd}	2.21 ^{de}
4. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	1.75 ^{cd}	2.40 ^{de}
5. MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	9.66 ^a	5.56 ^a
6. MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.72 ^{cd}	4.97 ^{abc}
7. MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.63 ^{cd}	4.30 ^{abcd}
8. ¹ / ₂ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	5.80 ^b	1.75 ^e
9. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร	3.01 ^{cd}	3.95 ^{abcd}
10. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร	2.72 ^{cd}	5.29 ^{ab}
11. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร	2.70 ^{cd}	3.25 ^{bcd}
12. ¹ / ₂ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร+IAA 0.5 มก./ลิตร	2.88 ^{cd}	3.35 ^{bcd}
13. ¹ / ₂ MS+BAP 1.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	2.70 ^{cd}	4.52 ^{abc}
14. ¹ / ₂ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร	3.78 ^c	4.09 ^{abcd}
F-test	**	**
CV. (%)	29.87	37.74

หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4.3. ผลการศึกษาสูตรอาหารในการชักนำราก

4.3.1 ผลการชักนำรากของมันเส้า หลังจากนำชิ้นส่วนข้อลำต้นมันเส้าที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำราก 4 สูตร ได้แก่ 1) MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2) MS + NAA 0.5 มก./ลิตร 3) MS + NAA 1.0 มก./ลิตร 4) MS + NAA 2.0 มก./ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นนำต้นมาล้างรากและนับจำนวนรากและวัดความยาวราก นำไปหาค่าเฉลี่ย แล้วนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT พบว่าสูตร

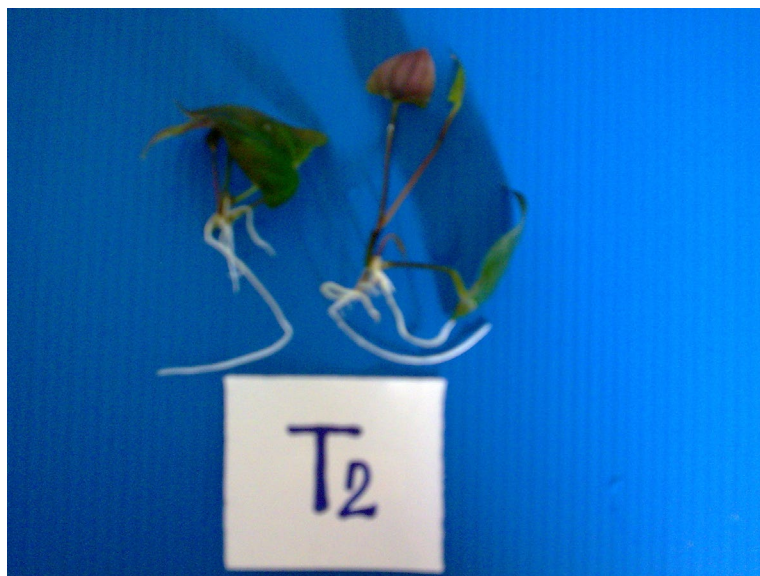
อาหารที่ชักนำรากได้จำนวนรากมากที่สุดได้แก่ สูตร MS+NAA 0.5 มก./ลิตร ได้จำนวนราก 3.41 ราก/ต้น รองลงมาคือสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตร MS+NAA 1.0 มก./ลิตร ได้จำนวนราก 2.75 และ 2.20 ราก/ต้น ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ให้จำนวนรากน้อยที่สุด ได้แก่ สูตร MS+NAA 2.0 มก./ลิตร ได้จำนวนราก 1.90 ราก/ต้น โดยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำรากมันเสมาแล้วให้ความยาวมากที่สุดได้แก่สูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งให้ความยาวราก 5.62 ซม. รองลงมาได้แก่สูตร MS+NAA 0.5 มก./ลิตร และสูตร MS+NAA 1.0 มก./ลิตร ให้ความยาวราก 3.67 และ 2.45 ซม. ตามลำดับ และสูตรที่ให้ ความยาวรากน้อยที่สุดคือสูตร MS+NAA 2.0 มก./ลิตร ซึ่งให้ความยาวราก 1.82 ซม. โดยแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 14 และภาพที่ 8

ตารางที่ 14 จำนวนรากและความยาวราก (ซม.)ของมันเสาลังการเลี้ยงในอาหาร 4 สูตร เป็นเวลา 1 เดือน

สิ่งทดลอง(สูตรอาหาร)	จำนวนราก	ความยาวราก (ซม.)
1.MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต	2.75 ^{ab}	5.62 ^a
2.MS+NAA 0.5 มก./ลิตร	3.41 ^a	3.67 ^b
3.MS+NAA 1.0 มก./ลิตร	2.20 ^{bc}	2.45 ^{bc}
4.MS+NAA 2.0 มก./ลิตร	1.90 ^c	1.82 ^c
F-test	**	**
CV. (%)	17.62	25.82

หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 8 ลักษณะการแตกรากของมันเสาที่เลี้ยงในอาหารสูตรชักนำรากสูตรที่ 2 (MS+NAA 0.5 มก./ลิตร)

4.3.2 ผลการชักนำรากของสั้มซ่า หลังจากนำยอดสั้มซ่าที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อชักนำรากในอาหารสูตรชักนำรากจำนวน 6 สูตรได้แก่ 1) $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2) $\frac{1}{2}$ MS + IBA 0.5 มก./ลิตร 3) $\frac{1}{2}$ MS + IBA 1.0 มก./ลิตร 4) MS ไม่ใส่สาร NH_4NO_3 และ KNO_3 5) MS ไม่ใส่สาร NH_4NO_3 และ KNO_3 + IBA 0.5 มก./ลิตร 6) MS ไม่ใส่สาร NH_4NO_3 และ KNO_3 + IBA 1.0 มก./ลิตร หลังจากนั้นตรวจนับจำนวนวันที่ออกราก เปอร์เซ็นต์การออกรากจนครบ 2 เดือน แล้วจึงนำต้นที่ออกรากมาล้างวันออก นับจำนวนราก วัดความยาวราก นำไปหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-test จากนั้นวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ผลปรากฏว่ามีอาหาร 4 สูตร ที่สามารถชักนำให้สั้มซ่าออกรากได้คือสูตรที่ 1-4 ซึ่งสูตรอาหารที่ชักนำรากได้เร็วที่สุดคือสูตรที่ 4 ที่ใช้ MS ไม่ใส่ NH_4NO_3 และ KNO_3 ชักนำให้ออกรากในเวลา 23.33 วัน รองลงมาคือสูตรที่ 3 และ 2 ส่วนสูตรที่ชักนำรากช้าที่สุดคือสูตรที่ 1 ที่ใช้ $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งออกรากในเวลา 38.89 วัน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) แต่สูตรที่ 1 นี้ มีเปอร์เซ็นต์การออกรากมากที่สุดเมื่อตรวจนับเป็นเวลา 1 เดือน และ 2 เดือน เท่ากับ 73.43 และ 91.68 % ตามลำดับ และมีจำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด คือมีจำนวนราก 1-3 ราก (เฉลี่ย 1.45 ราก) ความยาวราก 0.3-10.5 ซม. (เฉลี่ย 3.02 ซม.) รองลงมาคือสูตรที่ 2 และ 3 ส่วนสูตรที่ 4 ให้เปอร์เซ็นต์การออกรากน้อยที่สุดคือ 8.75 และ 11.25 % ในเวลา 1 และ 2 เดือน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังตารางที่ 15 และภาพที่ 9

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์การออกราก จำนวนราก และความยาวรากของส้มซ่า หลังเลี้ยงในอาหาร
สูตรต่างๆ เป็นเวลา 1 และ 2 เดือน

สิ่งทดลอง	จำนวน วันที่ออก ราก	เปอร์เซ็นต์การออกราก		จำนวนราก	ความยาว ราก (ซม.)
		1 เดือน	2 เดือน		
1. ½MS ไม่ใส่สารควบคุม การเจริญเติบโต	38.89 ^a	73.43 ^a	91.68 ^a	1.45	3.02 ^A
2. ½MS+IBA 0.5 มก./ลิตร	29.70 ^b	61.25 ^a	76.56 ^b	1.25	2.80 ^A
3. ½MS+IBA 1.0 มก./ลิตร	24.58 ^b	59.37 ^a	59.75 ^c	1.12	2.18 ^{AB}
4. MS ไม่ใส่ NH ₄ NO ₃ และ KNO ₃	23.33 ^b	8.75 ^b	11.25 ^d	1.00	1.22 ^B
F-test	**	**	**	ns	*
CV. (%)	16.54	19.67	13.87	22.38	35.54

หมายเหตุ: ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่และพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมี
ความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 9 ลักษณะและความยาวรากของสั้มซ่าหลังเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 (1/2MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต) เป็นเวลา 2 เดือน

4.4 ผลการศึกษาการย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ

4.4.1 ผลการย้ายปลูกมันเสา หลังจากนำต้นมันเสาที่ออกรากแล้วย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก 4 ชนิด คือ 1) ใช้ทรายอย่างเดียว 2) ใช้ทรายผสมถ่านแกลบอัตราส่วน 1:1 3) ใช้ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 4) ใช้ถ่านแกลบอย่างเดียว พบว่าการย้ายปลูกในวัสดุสองชนิดแรกคือทรายอย่างเดียว และทรายผสมถ่านแกลบอัตราส่วน 1:1 มีการรอดตาย 100% หลังการย้ายปลูก 2 เดือน ส่วนการย้ายปลูกในทรายผสมขุยมะพร้าว มีการรอดตาย 95% หลังการย้ายปลูก 2 เดือน และการย้ายปลูกในถ่านแกลบอย่างเดียว มีการรอดตาย 92.5% หลังการย้ายปลูก 2 เดือน ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของมันเสาหลังการย้ายปลูกในวัสดุ 4 ชนิด เป็นเวลา 2 เดือน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การรอดตายของมันเสา
-----------	-------------------------------

1.ใช้ทรายอย่างเดียว	100.0 ^a
2.ใช้ทรายผสมถ่านแกลบอัตราส่วน 1:1	100.0 ^a
3.ใช้ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1	95.0 ^{ab}
4.ใช้ถ่านแกลบอย่างเดียว	92.5 ^b
F-test	*
CV. (%)	3.94

หมายเหตุ: * หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4.4.2 ผลการย้ายปลูกลำไส้ หลังจากการย้ายลำไส้ที่ออกรากปลูกในวัสดุ 4 ชนิด คือ 1) ใช้ถ่านแกลบอย่างเดียว 2) ใช้ถ่านแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 3) ใช้ถ่านแกลบผสมดินอัตราส่วน 1:1 และ 4) ใช้กาบมะพร้าวสับผสมถ่านแกลบและดินอัตราส่วน 1:1:1 ผลปรากฏว่าหลังการย้ายปลูก 1 เดือน การย้ายปลูกในวัสดุที่ 2 3 และ 4 มีการรอดตาย 100% ต่างกับวัสดุชนิดที่ 1 คือการใช้ถ่านแกลบอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% คือ ซึ่งมีการรอดตาย 92.5% และหลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าการย้ายปลูกในวัสดุชนิดที่ 2 3 และ 4 ยังคงมีการรอดตาย 100% ซึ่งต่างกับการย้ายปลูกในถ่านแกลบอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยมีการรอดตายเพียง 47.5% ดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 เปอร์เซนต์การรอดตายของลำไส้หลังการย้ายปลูกในวัสดุ 4 ชนิด เป็นเวลา 1 และ 2 เดือน

สังเกต	เปอร์เซนต์การรอดตายของลำไส้หลังการย้ายปลูก
--------	--

	1 เดือน	2 เดือน
1.ใช้ถ่านแกลบอย่างเดียว	92.5 ^b	47.5 ^b
2.ใช้ถ่านแกลบผสมทรายอัตราส่วน 1:1	100.0 ^a	100.0 ^a
3.ใช้ถ่านแกลบผสมดินอัตราส่วน 1:1	100.0 ^a	100.0 ^a
4.ใช้กากมะพร้าวสับผสมถ่านแกลบและดินอัตราส่วน 1:1:1	100.0 ^a	100.0 ^a
F-test	**	**
CV. (%)	2.55	2.88

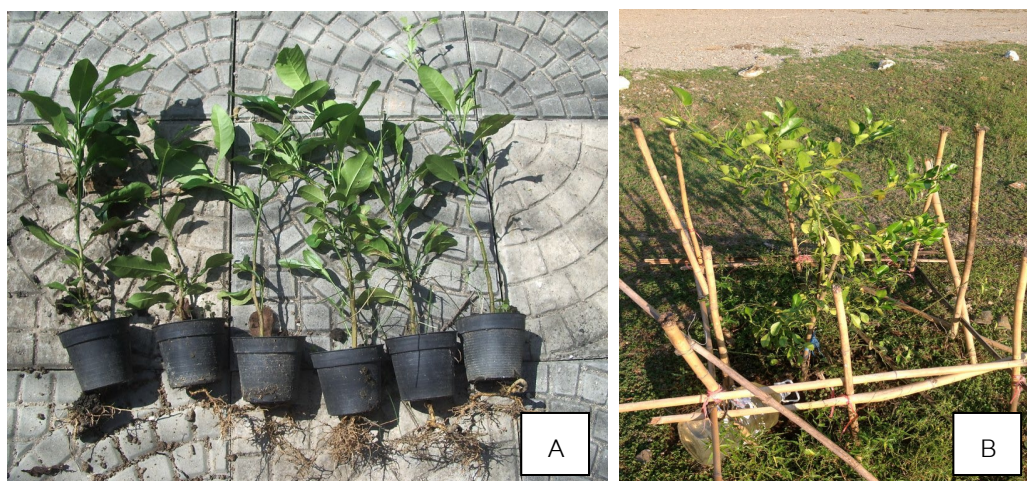
หมายเหตุ: ** หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่อยู่หลังค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

จากการย้ายปลูkmันเสาและส้มซ่าในวัสดุชนิดต่างๆ จะเห็นได้ว่าช่วงแรกของการย้ายปลูกลงในวัสดุทุกชนิดจะมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อใช้เวลานานขึ้นเป็น 2 เดือน การย้ายปลูกลงในถ่านแกลบจะมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายน้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าถ่านแกลบเป็นวัสดุที่ร่วนซุยระบายน้ำได้ดีมากทำให้แห้งเร็วปริมาณน้ำอาจไม่เพียงพอในการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองชนิดนี้เมื่อถาดันมีการเจริญเติบโตมากขึ้นจะมีความต้องการน้ำและธาตุอาหารมากขึ้น ประกอบกับปริมาณธาตุอาหารในถ่านแกลบจะมีอยู่น้อยเมื่อเทียบกับวัสดุปลูกที่มีทรายหรือดินปนทรายซึ่งอุ้มน้ำมากกว่าและมีความอุดมสมบูรณ์ มีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมกับการละลายของธาตุอาหาร (pH ประมาณ 5.5-6.5) ต่างจากถ่านแกลบซึ่งมีธาตุอาหารจำป็นค่อนข้างน้อยและค่า pH ประมาณ 6.0-6.8 (สำนักสำรวจและวิจัยทรัพยากรดิน, 2554; อิทธิสุนทรันนทกิจ, 2551: หน้า 1-2) และถ้าเป็นถ่านแกลบใหม่จะมี pH ประมาณ 8.72 (สุนิสา แซ่ตัน, 2555: หน้า 18) ซึ่งไม่เหมาะในการละลายของธาตุอาหารที่พืชจะนำไปใช้ได้ เมื่อพืชได้รับน้ำและธาตุอาหารไม่เพียงพอจึงมีการเจริญเติบโตไม่ดีและตายไปในที่สุด

หลังจากนั้นนำต้นมันเสาและส้มซ่าที่รอดตายในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ไปปลูกลงในแปลงสภาพธรรมชาติที่โครงการศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มูลนิธิชัยพัฒนา ต.ท่าแร่ อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี และวิทยาเขตโป่งสลอด มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ต.หนองกะปูล อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี พบว่าส้มซ่ามีอัตราการรอด 100% ในทุกสถานที่ (ภาพที่ 10) ส่วนมันเสามีการรอดตาย 100% ในสภาพพื้นที่ของคณะเทคโนโลยีการเกษตร และวิทยาเขตโป่งสลอด (ภาพที่ 11) แต่ในพื้นที่ศูนย์สาธิตพืช

ไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ต้นมันเสาค่อยๆ ตายไป อาจเนื่องจากในพื้นที่ศูนย์พืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มีลักษณะเนื้อดินเป็นดินเหนียว การระบายน้ำไม่ดีและค่อนข้างเป็นดินเค็ม มีน้ำขังเป็นบางช่วงเวลา จึงทำให้หัวมันเสาค่อยๆ ตายไปในที่สุด สอดคล้องกับรายงานของไม้ดอกหอมของไทย (2550) ที่รายงานว่ามันเสาเจริญเติบโตบนดินร่วนปนทรายตามชายเขาหรือริมธารน้ำ และไม่มีรายงานเจริญในสภาพพื้นที่ที่เป็นดินเหนียวและมีน้ำขัง ดังภาพที่ 12 นอกจากนี้ยังพบว่ามันเสาที่ย้ายปลูกลงในถุงดำเมื่อทิ้งไว้จะมีการสร้างหัวใต้ดินได้ ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 10 ต้นส้มซ่าหลังย้ายปลูกลงในกระถางประมาณ 6 เดือน (A) และหลังปลูกลงที่พื้นที่วิทยาเขตโป่งสลอด เป็นเวลา 3 เดือน (B)





ภาพที่ 11 การเจริญของมันเสาลงย้ายปลูกในถุงดำภายในเรือนเพาะชำ (A) และการเจริญในพื้นที่วิทยาเขต โป่งสลอด (B) เป็นเวลาประมาณ 2 เดือน



ภาพที่ 12 ต้นมันเสาที่พบในวิทยาเขตโป่งสลอด ต.หนองกะปูลอ. บ้านลาด จ. เพชรบุรี



ภาพที่ 13 หัวของมันเสาที่สร้างในดินผสมในถุงดำหลังย้ายปลูก 3 เดือน

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลวิจัย

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพื้นเมือง 2 ชนิด ได้แก่ มันเสา และส้มซ่า โดยเริ่มตั้งแต่วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ การศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอด การศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำราก จนถึงการใช้ขอยกปลูกในสภาพแปลง สรุปผลการวิจัยได้ดังนี้

1. การฟอกฆ่าเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อมันเสาด้วยการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 20 นาที เป็นวิธีการที่มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด (20.00 %) หลังจากฟอกฆ่าเชื้อ 28 วัน ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดส้มซ่าด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด (27.50 %) หลังการฟอกฆ่าเชื้อ 28 วัน และการฟอกฆ่าเชื้อยอดส้มซ่าที่เจริญในสภาพธรรมชาติด้วยการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0-1.5 % เป็นเวลา 10 นาที มีการปนเปื้อนเพียง 30.00 % หลังฟอกฆ่าเชื้อ 28 วัน

2. การศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำยอด ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเสา สูตรอาหารที่ชักนำมันเสาให้จำนวนข้อและยอดมากที่สุด คือ MS+BAP 1.0-1.5 มก./ลิตร ที่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ 0.1 % ทำให้ได้จำนวนข้อ 5.40 และ 5.80 ข้อ จำนวนยอด 2.23 และ 1.85 ยอด ตามลำดับ ในเวลา 8 สัปดาห์

ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำยอดจากส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มซ่าที่เพาะในสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ ยอด ใบเลี้ยง ข้อใบเลี้ยง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีความแตกต่างกัน โดยข้อใบเลี้ยงให้จำนวนยอดมากที่สุดหลังเลี้ยงใน MS+BAP 1.0+IAA 0.5 มก./ลิตร (6.40 ยอด) ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำยอดต้นกล้าให้แตกยอดได้มากที่สุดคือสูตร MS+BAP 1.0 มก./ลิตร และ MS+BAP 2.0 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร ให้จำนวนยอด 3.70 และ 3.60 ยอด ตามลำดับ และสูตรอาหารที่ชักนำใบเลี้ยงให้มีการแตกยอดได้มีเพียง 8 สูตร จากทั้งหมด 14 สูตร โดยสูตรที่ให้จำนวนยอดมากที่สุดคือสูตร MS+BAP 0.5 มก./ลิตร (2.40 ยอด) สำหรับสูตรอาหารที่ชักนำยอดจากต้นในธรรมชาติได้ดีคือ MS ที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ($\frac{1}{2}$ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร) ได้จำนวนยอด 2.90 ยอด

ในด้านความยาวของยอดส้มซ่าพบว่าสูตรอาหารที่ชักนำยอดแล้วให้ความยาวมากที่สุดคือสูตร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต (ความยาว 10.06 มม.) สูตรที่ชักนำข้อใบเลี้ยงแล้วได้ความยาวยอดมากไม่แตกต่างทางสถิติคือสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต และ MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร (ความยาว 8.90 และ 9.07 มม. ตามลำดับ) ส่วนความยาวยอดจากใบเลี้ยง อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต มีความยาวมากที่สุด 5.10

มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ และสูตรอาหารที่ชักนำยอดจากต้นในธรรมชาติได้ความยาวมากที่สุดใช้เวลา 8 สัปดาห์ (ความยาว 5.56 มม.) คือสูตร MS+BAP 0.5 มก./ลิตร +IAA 0.5 มก./ลิตร

3. การศึกษาสูตรอาหารที่ชักนำราก สูตรอาหารที่ชักนำรากมันเสาและให้จำนวนรากและความยาวรากมากที่สุดภายใน 1 เดือน คือสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ใส่ฟงกานัมมันต์ 0.1 % โดยมีจำนวนราก 2.75 ราก ความยาวราก 5.62 ซม. ส่วนการชักนำรากสัปดาห์ในอาหาร 6 สูตร พบอาหารเพียง 4 สูตร เท่านั้นที่ชักนำรากได้ โดยอาหารสูตร 1-2MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ให้เปอร์เซ็นต์การออกรากมากที่สุด 91.68 % ในเวลา 2 เดือน และมีความยาวรากมากที่สุด 3.02 ซม.

4. การย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ การย้ายมันเสาออกปลูกในทรายอย่างเดียว ทรายผสมถ่านแกลบอัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 95-100 % หลังจากย้ายปลูก 2 เดือน และเช่นเดียวกับสัปดาห์ การย้ายปลูกสัปดาห์พบว่า การย้ายปลูกในถ่านแกลบผสมทรายอัตราส่วน 1:1 ถ่านแกลบผสมดินอัตราส่วน 1:1 กาบมะพร้าวสับผสมถ่านแกลบและผสมดินอัตราส่วน 1:1:1 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตาย 100 % หลังจากย้ายปลูก 2 เดือน โดยการใช้แกลบอย่างเดียวให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายน้อยที่สุด และเมื่อนำมันเสาและสัปดาห์ไปปลูกในสภาพแปลงในธรรมชาติของคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ศูนย์พืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ต.ท่าแร่ อ. บ้านแหลม จ. เพชรบุรี และวิทยาเขตโป่งสลอด มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี พบว่าสัปดาห์มีการรอดตาย 100 % ในทุกสถานที่ แต่มันเสาไม่สามารถเจริญในพื้นที่ของศูนย์พืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาการใช้สูตรอาหารอื่นๆ เช่น สูตร WPM (Woody Plant Medium) ในการชักนำยอดและรากของสัปดาห์ หรือใช้อาหารสูตร MS ที่เติมสารส่งเสริมการเจริญเติบโต สารอินทรีย์เชิงซ้อน เช่น น้ำมะพร้าว เคซีนไฮโดรไลเสท มอลท์เอ็กแทรกซ์ เพื่อให้สามารถชักนำยอดหรือรากดีขึ้น นอกจากนั้นอาจช่วยให้ต้นที่ชักนำได้มีความสมบูรณ์มากขึ้น
2. ในการศึกษาครั้งต่อไป ก่อนการตัดแบ่งยอดสัปดาห์ไปชักนำราก ควรมีการทดลองย้ายเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตหรือใส่สารจิบเบอเรลลิน (Gibberellin) เป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนเพื่อให้ยอดมีการเจริญยืดยาวมากขึ้น ตัดแบ่งได้สะดวกขึ้นและอาจส่งผลให้การออกรากดีขึ้น
3. ควรมีการศึกษาการเจริญเติบโตของมันเสาและการสร้างหัวใต้ดินในพื้นที่ต่างๆ กัน หรือในวัสดุที่แตกต่างกัน เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปส่งเสริมการปลูกในเชิงพาณิชย์ต่อไป

บรรณานุกรม

- ก่องกานดา ชยามฤต. (2541). **คู่มือจำแนกพรรณไม้**. กรุงเทพฯ : ไคมอนด์ พรินติ้ง จำกัด.
- ชุมชนบ้านเขาคิน. (2550). ความหลากหลายและการใช้ประโยชน์พรรณพืชและสมุนไพรในป่าชุมชนบ้านเขาคิน [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.nsrui.ac.th/science/project/web/varied1.htm> [2551, สิงหาคม 24].
- เต็ม สมิตินันท์. (2523). **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย** (ชื่อพฤกษศาสตร์ – ชื่อพื้นเมือง) กรุงเทพฯ : ฟีนีพับลิชชิง.
- นาคยา มนตรี ชูพงศ์ กุศลมาลนันท์ สุรศักดิ์ นิลนันทน์ สุริยา ดันตวิวัฒน์ และพรชัย จุฑามาศ. (2543). “การขยายพันธุ์มะขามป้อมในสภาพปลอดเชื้อ” ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38, 1 – 4 กุมภาพันธ์ 2543, น.49, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ร่วมกับกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฯ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ทบวงมหาวิทยาลัย (Abstract).
- นิรนาม. (2554). **ตำรับยาไทย** [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://tra.sci.ku.ac.th/modes/2grupivo6iydK556> [2554, มีนาคม 5].
- ประพันธ์ ปัญญาบาล. (2544). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบุก. รายงานผลการวิจัยภายใต้โครงการพัฒนาการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ในสถาบันราชภัฏ (พวส.) พ.ศ.2540 – 2544, สำนักงานสภาสถาบันราชภัฏ กระทรวงศึกษาธิการ.
- ปัญจรัตน์ จินตนา ไพโรจน์ ชัยเลิศพงษา และประสิทธิ์ เพ็ชรอนันท์. (2544). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ชิงชัน ในเอกสารการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาการจัดการทรัพยากรสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ร่วมกับกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฯ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.
- ไพโรจน์ ทับพงษ์. (2543). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต**. สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.
- ภทริยา สุทธิเชื่อนาค ทิพย์พรรณ สดาก และกัญญา โป๊ะเงิน. (2550). **ศึกษาสัณฐานวิทยาของเม็ดแป้งในพืชหัว**. [ออนไลน์] . เข้าถึงได้จาก <http://www.dao.go.th/birdo/result47/pattareeya2.htm> [2551, กรกฎาคม 12].
- ไม้ดอกหอมของไทย. (2550). **สารานุกรมสำหรับเยาวชน เล่ม 22** [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://kanchanapisek.or.th/kp6/Book22/chapter4/fzz-4-14.htm#sect2> [2551, ตุลาคม 15].
- แยม มั่นพินบ้าน. (2550). **แยม มั่นพินบ้าน** [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก

- <http://www.paktho.ac.th/student/m62549/usa/potato%html.html> [2552, สิงหาคม 24].
- วังตะไคร้.(2548). **พรรณไม้งามที่วังตะไคร้** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://www.wangtakrai.com//panmai/detail> [2552, กันยายน 5].
- วิภารัตน์ รัตนะ. (2545). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเก็บรักษาพันธุ์มะตูม ในสภาพปลอดเชื้อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิสุทธิ พงษ์ศิริศักดิ์. (2543). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิวเคลัสและการขยายพันธุ์ส้มพริ้มองที่ในสภาพปลอดเชื้อ** วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน.ภาควิชาพืชสวน.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. (2541). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. อุดรธานี: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.
- ศรีสุดา เจนจาววงศ์. (2543). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิวเคลัสส้มโกลูก วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**.
- สถาบันแพทย์แผนไทย. (2550). **สมุนไพรต้นไม้ตามทศ**. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://ittm.atam.moph.go.th/data_articles/directtree_08.htm [2552, กันยายน 5].
- สำนักแผนงานและสารสนเทศ. 2554. **ข้อมูลและสถิติกรมป่าไม้ 2554. กรมป่าไม้**. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.forestinfo>. Forest.go.th./content/file/ebook 2554.pdf [2556, มีนาคม 3].
- สำนักสำรวจทรัพยากรดิน. (2554). **ลักษณะและสมบัติของชุดดินภาคกลาง ชุดดินเพชรบุรี**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://www.illdd.go.th/thaisoils_museum/pf_desc/central/pb.htm [2555, มกราคม 8].
- ไสว แจ่มแจ้ง.(2550,ตุลาคม 2) **หัวหน้า, โครงการศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ มูลนิธิชัยพัฒนา ต.ท่าแร่ อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี, สัมภาษณ์**.
- สุภาพ สุนทรนนท์. (บก.). (2546). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส้มโอ**. ในเอกสารวิชาการ เรื่องเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์การเกษตร.
- สุนิสา แซ่ตัน. (2555). **ผลของการเพาะเมล็ดตะบูนดำในวัสดุที่ต่างกัน**. ปัญหาพิเศษ ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

- อัจฉริยา มณีน้อย และสุรวิษ วรรณไกรโรจน์. (2538). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส้มโอ ในรายงานการ
ประชุมวิชาการ, 28-33. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ร่วมกับกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฯ
กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ทบวงมหาวิทยาลัย.
- อิทธิสุนทร นันทกิจ. (2551). การปลูกพืชในวัสดุปลูก(Substrate Culture). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้
จาก<http://www.kmitl.ac.th~kasoil/hyframe/substrate.html> [2555, มกราคม 8].
- อุบล สมทรง. (2544). เอกสารประกอบการสอนวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชเพื่อการเกษตร.
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏเพชรบุรี.
- อุบล สมทรง. (2540). “ความหลากหลายทางชีวภาพและการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช” วารสาร
วิทยาศาสตร์ ฉบับสัปดาห์วิทยาศาสตร์(ส่วนภูมิภาค) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สถาบันราชภัฏเพชรบุรี : 78-84.
- Anonymous.(2012). **Flora of North America**. [Online]. Available: http://www.efloras.org/flora_taxon.aspx.flora_id=i&taxon_id200088084 [2012, April 7].
- Anonymous. (2011).**Philippine Medicinal Plants**. [Online].Available:
<http://stuartxchange.com/Ubi.html> [2012, April 7].
- Anushri Varshney and Vibha Dhawan P. (2000). Micropropagation of Ornamental Plants. **Plant
Tissue Culture Concept and Laboratory Exercised, 2nd Edition**. CRC
Press,LLG,USA [2011, March 13].
- K.A.Langeland and H.M. Cherry. (2008). **Identification and Biology of Nonnative Plants in
Florida Natural Areas,2nd edition**. [online]. Available: [http://www.Fleppc.org/id_book
Dioscorea alata pdf](http://www.Fleppc.org/id_book_Dioscorea_alata.pdf) [2012, April 7].
- Trigiano,R.N.,&Gray,D.J.(Eds.).(2002). **Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory
Exercised, 2nd Edition**. CRC Press,LLG,USA.
- University of Georgia. (2012). **Dioscorea alata L**. [Online]. Available
:http://en.wikipedia.org/wiki/Dioscorea_alata. [2012, April 23].
- Wen-Chi Hou,Feng-Lin Hsu and Hsieh Lee. (2002). **Yam(Dioscorea batatus)Tuber Mucilage
Exhibited Antioxidant Activities in Vitro**. Graduate Institue of Pharmcognosy
Science,Teipe,Taiwan.