

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

4.1 การจัดเตรียมต้นเสาวรสที่ใช้สำหรับการทดลอง

4.1.1 ในการจัดเตรียมต้นเสาวรสให้มีความเหมาะสมและมีจำนวนที่เพียงพอต่อการทำการทดลอง ได้ดำเนินการปลูกเลี้ยงและเพิ่มจำนวนต้นเสาวรส โดยทำการนำยอดเสาวรสหวานที่มีความสมบูรณ์ และไม่มีอาการของโรคจากไวรัส มาทำการต่อยอด (grafting) โดยใช้ต้นเสาวรสปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเมล็ดทำหน้าที่เป็น ต้นตอ (stock or rootstock) ทำการปลูกเลี้ยงไว้ในโรงเรือนเพื่อการอนุบาลพืช ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (ภาพที่ 2) และในโรงเรือนของสถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพที่ 3) ซึ่งในปัจจุบันยังคงเพาะเลี้ยงและดูแลอย่างต่อเนื่อง โดยต้นเสาวรสที่ได้จะใช้สำหรับการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของต้นอ่อนเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินต่อการเกิดรากและการเจริญของต้นอ่อนเสาวรส และต้นเสาวรสที่ผ่านการตรวจสอบและยืนยันการปลอดโรคจะถูกใช้สำหรับการจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานปลอดโรคไวรัสผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ภาพที่ 2 การปลูกเลี้ยงต้นเสาวรสที่ใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการทดลองโดยทำการปลูกเลี้ยงในโรงเรือนเพื่อการอนุบาลพืช คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน



ภาพที่ 3 การปลูกเลี้ยงต้นเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการทดลอง โดยทำการปลูกเลี้ยงในโรงเรือนของสถานีเกษตรหลวงปางดะ จังหวัดเชียงใหม่

4.1.2 ในส่วนของยอดจากต้นเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 จำนวน 9 ตัวอย่าง จากการศึกษาในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ที่ได้รับการตรวจยืนยันการปลอดไวรัส ด้วยวิธี ELISA (ปิยะมาศ และคณะ, 2558) ได้ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ 6-benzylaminopurine (BAP) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการย้ายเปลี่ยนลงในอาหารใหม่ในทุกๆ 4 สัปดาห์ เพื่อทำการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนให้มีปริมาณมากพอสำหรับการจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานปลอดโรคไวรัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการเพาะเลี้ยง ณ ห้องวิจัยการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยปัจจุบันมีจำนวนต้นอ่อนที่ปลอดโรคที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจำนวน 35 ต้น แต่ต้นอ่อนมากกว่า 91.43 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถเกิดรากได้เอง

4.2 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของต้นอ่อนเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

4.2.1 ผลการศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงและปริมาณซูโครสที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของต้นอ่อนเสาวรส

ในการทดลองทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดเสาวรสในอาหารเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน (รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1 และภาคผนวก) เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรส โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 4 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ใช้เป็นยอดเริ่มต้นในเพาะเลี้ยงเพื่อการทดสอบสูตรอาหาร

ตารางที่ 1 สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษา

สูตรอาหารเพาะเลี้ยง	รายละเอียด *
MS [15]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตรมาตรฐาน MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมซูโครสที่ 15 กรัมต่อลิตร
MS [30]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตรมาตรฐาน MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร
MS [60]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตรมาตรฐาน MS ที่เติมซูโครสที่ 60 กรัมต่อลิตร
MSB [30]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตรมาตรฐาน MS โดยมีการใช้สารในกลุ่มวิตามินตามอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 และเติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร
MSD [30]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตรมาตรฐาน MS โดยมีการใช้ FeNa-EDDHA แทนการใช้ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และเติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (Van der Salm <i>et al.</i> , 1994)
B5 [30]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 (Gamborg <i>et al.</i> , 1968) ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร
WPM [30]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Lloyd & McCown woody plant (Lloyd and McCown, 1981) ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร

หมายเหตุ * องค์ประกอบของอาหารแต่ละสูตรแสดงในภาคผนวก

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีการเติมซูโครสในปริมาณที่แตกต่างกัน ได้แก่ อาหารสูตร MS [15] อาหารสูตร MS [30] และ อาหารสูตร MS [60] มีการเติมซูโครสที่ 15 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่า อาหารทั้ง 3 สูตรสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อส่วนยอดของเสาวรสมิการเจริญของยอดโดยมีการเพิ่มความยาวยอดและจำนวนใบได้ โดยในช่วง 4 สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง การเจริญเติบโตของยอดในด้านการเพิ่มความยาวยอดเกิดขึ้นอย่างช้าๆ แต่ยอดส่วนใหญ่มีการเจริญและพัฒนาในส่วนของใบที่สามารถสังเกตเห็นได้ โดยมีขนาดของใบที่ใหญ่ขึ้น และมีใบใหม่เกิดขึ้น 1-2 ใบ (ภาพที่ 5 และ 6) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ยอดมีเจริญโดยมีความยาวยอดเพิ่มขึ้นและมีการพัฒนาโดยมีจำนวนใบที่เกิดใหม่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 7) และสามารถสังเกตเห็นการเจริญเติบโตและการพัฒนาอย่างชัดเจนในสัปดาห์ที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 5 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 2 สัปดาห์



ภาพที่ 6 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 7 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์



ภาพที่ 8 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารทดสอบสูตรต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 2 การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 15 30 และ 60 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอด (ยอด)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบ)
MS [15]	2.0 ± 0.8^a	1.5 ± 0.2^b	9.5 ± 2.3^a
MS [30]	1.0 ± 0^b	1.8 ± 0.2^a	8.2 ± 0.8^b
MS [60]	1.0 ± 0^b	1.8 ± 0.3^a	7.1 ± 0.8^c
CV	0.49	0.15	0.21
F-test	*	*	*

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SD โดยค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test

จากผลการทดลองในภาพที่ 8 และ ตารางที่ 2 พบว่า

- (1) การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดเสาวรสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 15 กรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.0 ยอด ซึ่งมากกว่าจำนวนยอดเฉลี่ยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ
- (2) การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ให้ยอดที่มีความยาวเฉลี่ย 1.8 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 15 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีความยาวเฉลี่ย 1.5 เซนติเมตร
- (3) ในส่วนของการเจริญของใบ พบว่า ยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่เติมซูโครสที่ 15 กรัมต่อลิตรมีจำนวนใบสูงที่สุด คือ 9.5 ใบ ซึ่งมีจำนวนใบที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 และ 60 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ยอดที่ได้จากอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนใบ 8.2 ใบ มีขนาดใบที่มีขนาดใหญ่ หนา และแข็งแรงกว่า ใบของยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 15 และ 60 กรัมต่อลิตร
- (4) ในการเพาะเลี้ยง พบว่า มีการเกิดใบที่มีสีเหลือง โดยพบมากในยอดที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีการเติมซูโครสที่ 60 กรัมต่อลิตร โดยใบสีเหลืองเหล่านี้จะหลุดร่วงง่าย ทำให้ยอดที่ได้ไม่แข็งแรง
- (5) ยอดที่ทำการเพาะเลี้ยงทั้งหมดไม่มีการเกิดราก แสดงให้เห็นว่า ในการเพาะเลี้ยงยอดของเสาวรสเพื่อการขยายพันธุ์พืช จำเป็นต้องมีขั้นตอนในการชักนำราก ภายหลังจากที่ยอดมีการเจริญและพัฒนาได้ตามที่ต้องการแล้ว

ในการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสในอาหารสูตรที่มีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน จำนวน 5 สูตร ได้แก่ (1) อาหารสูตร MS [30] (2) อาหารสูตร MSB [30] (3) อาหารสูตร MSD [30] (4) อาหารสูตร B5 [30] และ (5) อาหารสูตร WPM [30] โดยอาหารทั้ง 5 สูตรมีการเติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการเพาะเลี้ยงแสดงในภาพที่ 9 และ ตารางที่ 3 โดย

- (1) ในด้านการเพิ่มจำนวนยอด พบว่า การเพาะเลี้ยงอาหารทั้ง 5 สูตร มีจำนวนยอดที่ใกล้เคียงกัน โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD [30] มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.5 ยอด
- (2) ในด้านความยาวยอด พบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSD [30] ให้ยอดที่มีความยาวเฉลี่ย 2.1 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS [30] ให้ยอดที่มีความยาวเฉลี่ย 1.8 เซนติเมตร
- (3) ในส่วนของการเจริญของใบ พบว่า ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS [30] มีจำนวนใบสูงที่สุด คือ 8.2 ใบ ซึ่งมีจำนวนใบที่แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับยอดที่ได้จากอาหารสูตร MSD [30] มีจำนวนใบ 7.7 ใบ อย่างไรก็ตาม เมื่อสังเกต

ลักษณะของใบ พบว่า ใบของยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSD [30] มีขนาดใบที่ใหญ่หนา และแข็งแรงกว่า ใบของยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS [30]

- (4) ยอดที่ทำการเพาะเลี้ยงทั้งหมดไม่มีการเกิดราก จึงจำเป็นต้องมีขั้นตอนในการชักนำราก ภายหลังจากที่ยอดมีการเจริญและพัฒนาได้ตามที่ต้องการแล้ว

จากผลการทดลองสูตรอาหารที่สามารถเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ยอดที่ดี คือ อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตร MS (Van der Salm et al. 1994) ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (MSD [30]) โดยยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีการเจริญของยอดที่ดี มีความยาวยอดที่สูงน่าพอใจ และมีความแข็งแรง มีจำนวนใบที่มาก ใบขนาดใหญ่ หนา และแข็งแรง อีกทั้งยังมีการเกิดใบสีเหลืองเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 8 และ ตารางที่ 3) ดังนั้นในการทดลองต่อไปจะใช้สูตรอาหารสูตรนี้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสถต่อไป อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงยังคงมีจำนวนของยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต่ำ ซึ่งสามารถส่งเสริมการเพิ่มปริมาณยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้โดยการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่เหมาะสมลงในอาหารในระหว่างการเพาะเลี้ยง

ตารางที่ 3 การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสถที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่แตกต่างกัน โดยอาหารทุกสูตรเติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอด (ยอด)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบ)
MS [30]	1.0 ± 0 ^c	1.8 ± 0.2 ^b	8.2 ± 0.8 ^a
MSB [30]	1.3 ± 0.5 ^b	1.6 ± 0.2 ^b	7.5 ± 1.2 ^b
MSD [30]	1.5 ± 0.7 ^a	2.1 ± 0.1 ^a	7.7 ± 1.8 ^{ab}
B5 [30]	1.0 ± 0 ^c	1.3 ± 0.3 ^c	5.5 ± 1.2 ^c
WPM [30]	1.3 ± 0.5 ^b	1.3 ± 0.2 ^c	4.9 ± 1.4 ^c
CV	0.38	0.22	0.25
F-test	*	*	*

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD โดยค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test

4.2.2 ผลการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอด การเพิ่มปริมาณยอด และการเจริญของต้นอ่อนเสาวรส

ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของเสาวรสบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลงจากสูตร MS (Van der Salm *et al.*, 1994) ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (MSD [30]) ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด 6-benzylaminopurine (BAP) และ thaidizuron (TDZ) ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอด การเพิ่มปริมาณยอด และการเจริญของต้นอ่อนเสาวรส

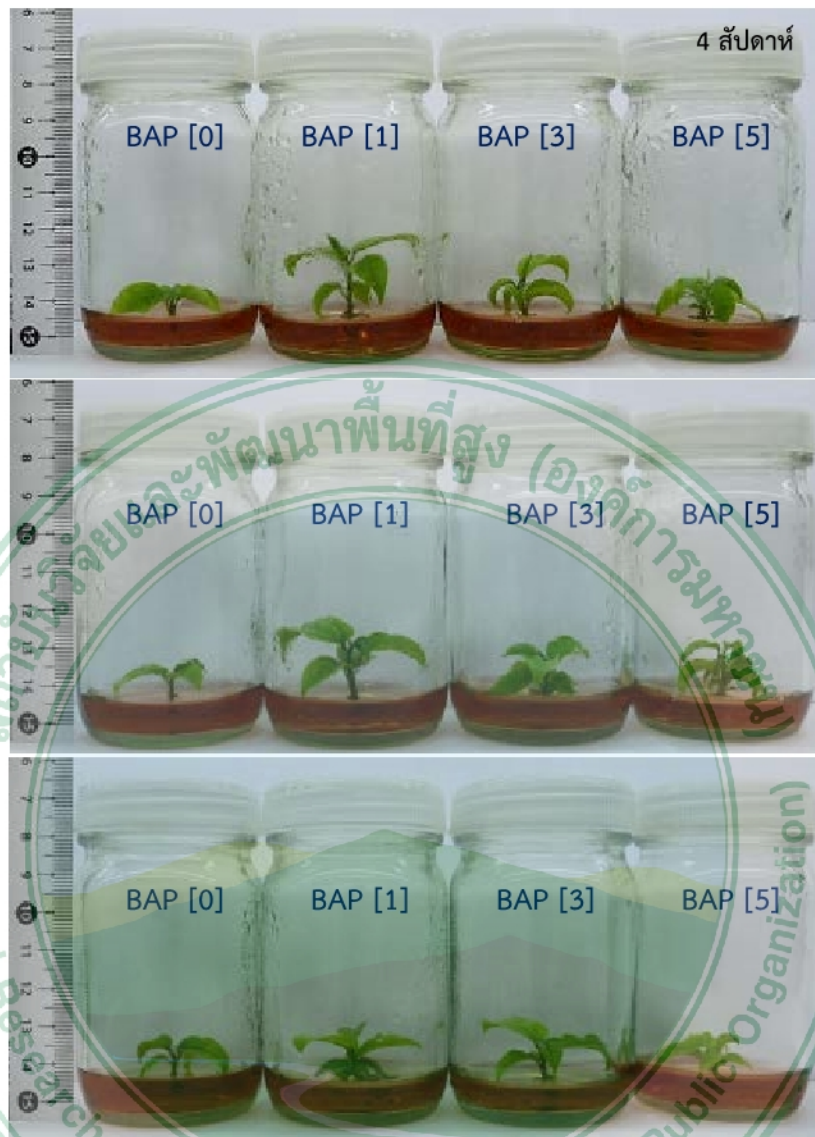
สูตรอาหารเพาะเลี้ยง	รายละเอียด *
BAP [0]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน)
BAP [1]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติม BAP ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
BAP [3]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติม BAP ที่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร
BAP [5]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติม BAP ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
TDZ [0]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน)
TDZ [1]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
TDZ [3]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ ที่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร
TDZ [5]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติม TDZ ที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดยอดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า BAP มีผลในการส่งเสริมการชักนำให้เกิดยอดและการเจริญเติบโตของยอดเสาวรส (ตารางที่ 5 ภาพที่ 9 และ 10) โดยการเติม BAP ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้เกิดยอด 1.9 ยอด และมีจำนวนใบ 11.4 ใบ อย่างไรก็ตามยอดที่ได้มีความยาวยอด 2.5 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงที่เติม BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความยาวยอด 3.8 เซนติเมตร) โดยเมื่อสังเกตขนาดของใบ ความสูงและความแข็งแรงของยอด พบว่า ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่เติม BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีใบขนาดใหญ่ แข็งแรง และมีสีเขียว และยอดมีความยาวยอดและความแข็งแรงของยอด

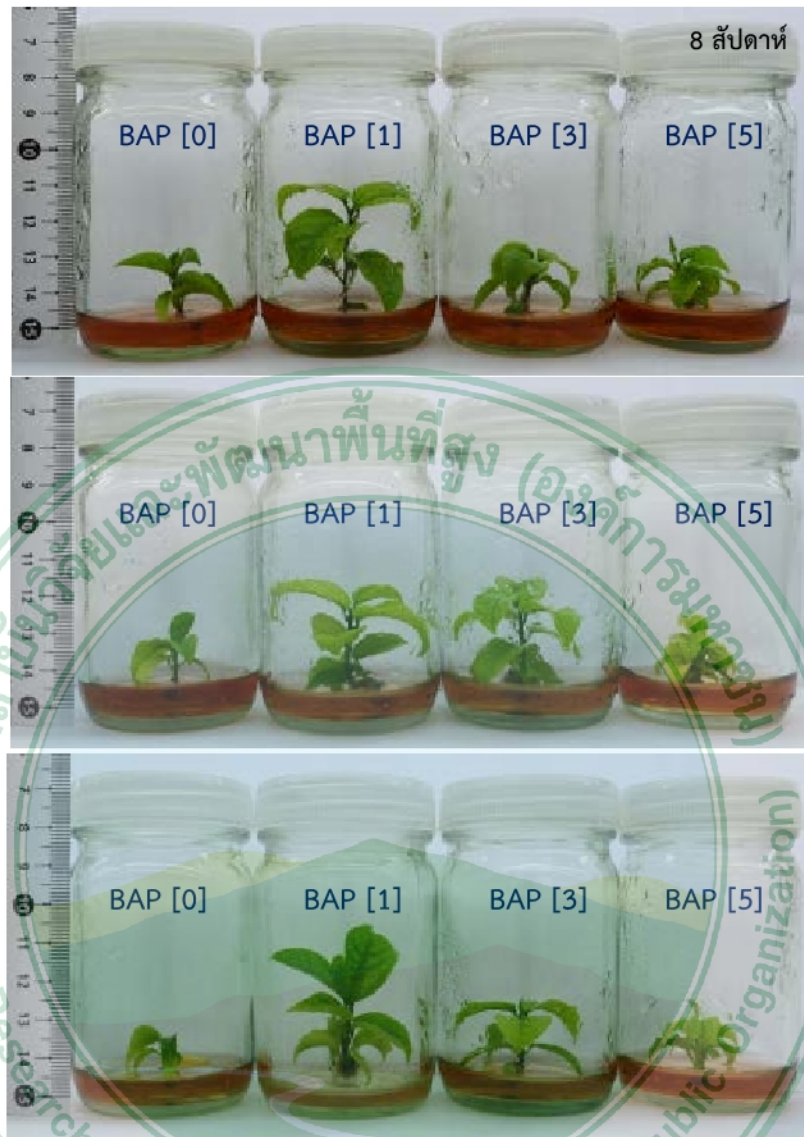
ตารางที่ 5 การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอด (ยอด)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบ)
BAP [0]	1.0 ± 0^b	2.2 ± 0.2^d	4.6 ± 1.5^c
BAP [1]	1.7 ± 0.5^a	3.8 ± 0.7^a	7.2 ± 1.3^b
BAP [3]	1.7 ± 0.5^a	2.9 ± 0.4^b	8.0 ± 1.8^b
BAP [5]	2.0 ± 0.5^a	2.5 ± 0.2^c	11.4 ± 2.1^a
CV	0.34	0.26	0.38
F-test	*	*	*

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SD โดยค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test



ภาพที่ 9 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติม ซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 10 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติม ซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ในการเพาะเลี้ยงที่มีการเติม TDZ พบว่า การเติม TDZ มีผลในการส่งเสริมการชักนำให้เกิดยอดของเสาวรส (ตารางที่ 6 ภาพที่ 11 และ 12) โดยการใช้ TDZ ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ 4.2 ยอด อย่างไรก็ตามยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีขนาดเล็ก และไม่มีการเจริญเติบโตต่อเพื่อเกิดเป็นยอดที่สมบูรณ์ เมื่อพิจารณาในด้านการเจริญเติบโตของยอด พบว่า ยอดเสาวรสที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ มีจำนวนใบที่มากกว่ายอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม TDZ (TDZ [0]) แต่ใบที่ได้มีขนาดเล็กและในการเพาะเลี้ยงที่มีการเติม TDZ ที่ความเข้มข้นสูง พบการเกิดใบสีเหลือง ในส่วนของความยาวและความแข็งแรงของยอด พบว่า ยอดเสาวรสที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม TDZ มีความยาวที่มากกว่าและความแข็งแรงของยอดที่ดีกว่ายอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ

ตารางที่ 6 การชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด TDZ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอด (ยอด)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบ)
TDZ [0]	1.0 ± 0^c	2.2 ± 0.2^a	4.6 ± 1.5^c
TDZ [1]	1.9 ± 0.6^b	1.5 ± 0.2^b	8.8 ± 3.1^b
TDZ [3]	4.2 ± 1.2^a	1.2 ± 0.1^c	15.4 ± 5.8^a
TDZ [5]	1.5 ± 0.4^{bc}	1.4 ± 0.2^b	6.2 ± 3.6^c
CV	0.68	0.26	0.64
F-test	*	*	*

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SD โดยค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test



ภาพที่ 11 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติม ซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด TDZ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 12 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่เติมซูโครสที่ความเข้มข้นที่ 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด TDZ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

4.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินต่อการชักนำให้เกิดรากของต้นอ่อนเสาวรส

ในการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการเกิดราก ได้ทำการทดลองโดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดทดลอง ในชุดทดลองที่ 1 ได้ทำการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสที่มีความยาวยอดประมาณ 2 เซนติเมตร บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD และ อาหารสูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ผลจากการศึกษาในข้อ 3.1) ในที่นี้ให้ชื่อแทนอาหารเพาะเลี้ยงดังกล่าวว่า อาหารสูตร MSD⁺ และ อาหารสูตร MS⁺ ตามลำดับ และมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่ 0.5, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยง ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในชุดทดลองที่ 2 นำยอดเสาวรสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD และ อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่ 0.5, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ รายละเอียดอาหารทดสอบในชุดทดลองที่ 1 และ 2 แสดงในตารางที่ 7

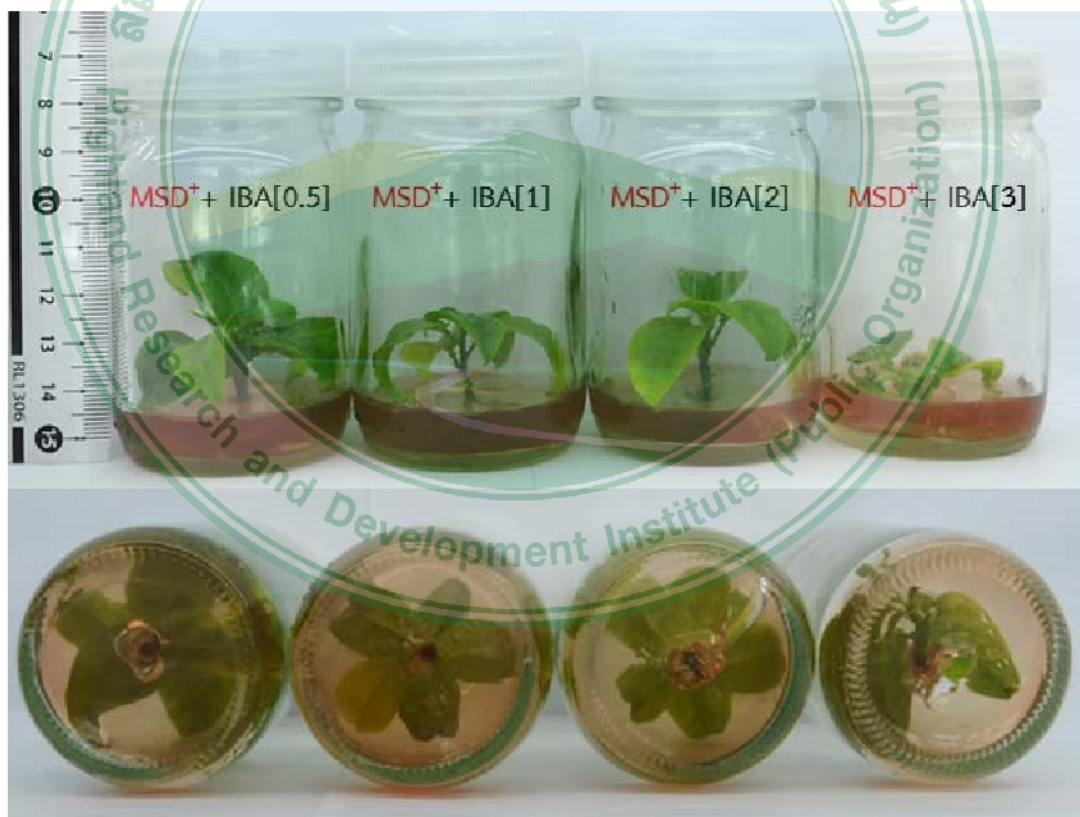
ในชุดทดลองที่ 1 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรบนอาหารสูตร MSD⁺ (อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่มีการเติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่มีการเติม IBA ที่ความเข้มข้น 0.5–3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงจำนวนมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีการเกิดราก (ตารางที่ 8 และ ภาพที่ 13) โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD⁺ ที่มีการเติม IBA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD⁺+IBA [2]) มีจำนวนยอดที่เกิดราก สูงสุด 20 เปอร์เซ็นต์ แต่วากที่เกิดขึ้นเป็นรากขนาดเล็ก และมีเพียง 1–2 ราก และพบการเกิดแคลลัสขนาดเล็กเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ของยอดที่เพาะเลี้ยง โดยการเกิดแคลลัสซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่พึงประสงค์พบมากในการเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MSD⁺ ที่มีการเติม IBA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD⁺+IBA [3]) โดยมีจำนวนยอด 30 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเกิดแคลลัส อย่างไรก็ตามแคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก (เส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 1 เซนติเมตร) (ตารางที่ 8 และ ภาพที่ 13) เมื่อพิจารณาการเจริญของลำต้นและใบสังเกตเห็นว่า การเพาะเลี้ยงยอดเสาวรบนอาหารสูตร MSD⁺ ที่มีการเติม IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD⁺+IBA [0.5]) มีลำต้นขนาดใหญ่และมีใบสีเขียวขนาดใหญ่ และมีจำนวนใบมากกว่าในการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงยอดเสาวรบนอาหารสูตร MSD⁺ ที่มีการเติม IBA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD⁺+IBA [3]) ซึ่งยอดที่ได้มีขนาดเล็ก ลำต้นเตี้ย และมีใบขนาดเล็ก (ภาพที่ 13)

ตารางที่ 7 สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการ
เกิดรากของต้นอ่อนเสาวรส

สูตรอาหาร	อาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้	ความเข้มข้นของออกซิน ชนิด IBA ที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
<u>ชุดทดลองที่ 1</u>		
MSD ⁺ +IBA [0.5]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร	0.5
MSD ⁺ +IBA [1]	ไซโตไคนิน ชนิด BAP 1	1
MSD ⁺ +IBA [2]	มิลลิกรัมต่อลิตร	2
MSD ⁺ +IBA [3]		3
MS ⁺ +IBA [0.5]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร	0.5
MS ⁺ +IBA [1]	ไซโตไคนิน ชนิด BAP 1	1
MS ⁺ +IBA [2]	มิลลิกรัมต่อลิตร	2
MS ⁺ +IBA [3]		3
<u>ชุดทดลองที่ 2</u>		
MSD +IBA [0.5]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร	0.5
MSD +IBA [1]		1
MSD +IBA [2]		2
MSD +IBA [3]		3
MS +IBA [0.5]	อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร	0.5
MS +IBA [1]		1
MS +IBA [2]		2
MS +IBA [3]		3

ตารางที่ 8 ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมไฮโดรโคติน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD⁺) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)

อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอดที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดที่เกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)
MSD ⁺ +IBA [0.5]	0	0
MSD ⁺ +IBA [1]	0	0
MSD ⁺ +IBA [2]	20	10
MSD ⁺ +IBA [3]	10	30



ภาพที่ 13 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมไฮโดรโคติน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD⁺) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)

ในขณะที่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสบนอาหารสูตร MS⁺ (อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่มีการเติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่มีการเติม IBA ที่ความเข้มข้น 0.5–3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงจำนวนมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่มีการเกิดราก และยอดเกือบทั้งหมดมีการเกิดแคลลัสที่บริเวณปลายเนื้อเยื่อที่สัมผัสกับอาหารเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 14) ซึ่งแคลลัสที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร MSD⁺ (ภาพที่ 13) โดยในการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสบนอาหารสูตร MS⁺ ที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS⁺+IBA [0.5]) มีจำนวนยอดที่เกิดราก สูงสุด 30 เปอร์เซ็นต์ รากที่เกิดขึ้นเป็นรากที่มีขนาดยาว และแข็งแรง อย่างไรก็ตามพบจำนวนยอดที่เกิดแคลลัส 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 14) และเมื่อพิจารณาการเจริญของลำต้นและใบ สังเกตเห็นว่า การเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสบนอาหารสูตร MS⁺+IBA [0.5] มีลำต้นและใบสีเขียวขนาดใหญ่ และมีจำนวนใบมากกว่าในการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS⁺+IBA [3] ซึ่งพบว่า ยอดที่ทำการเพาะเลี้ยงทั้งหมดมีการเกิดแคลลัสขนาดใหญ่ที่บริเวณปลายเนื้อเยื่อที่สัมผัสกับอาหารเพาะเลี้ยง โดยมียอดเสาวรสบนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเกิดราก อีกทั้งมีการหลุดร่วงของใบเกิดขึ้น (ภาพที่ 14)

ในชุดทดลองที่ 2 ได้ทำการย้ายยอดเสาวรสบนอาหารกึ่งแข็งสูตรที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการเจริญของยอดมาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ชนิด IBA เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก โดยในกรณีที่ย้ายมาเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MSD ที่มีการเติม IBA พบว่า มียอดที่เกิดรากในปริมาณต่ำ โดยยอดเสาวรสบนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MSD ที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MSD+IBA [1]) มีจำนวนยอดที่เกิดราก สูงสุด 20 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อพิจารณาการเจริญของลำต้นและใบ สังเกตเห็นว่า การเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสบนอาหารสูตร MSD+IBA [0.5] ยอดที่ได้มีลำต้นและมีใบสีเขียวขนาดใหญ่ อย่างไรก็ตามอาหารเพาะเลี้ยงสูตรดังกล่าวชักนำให้ยอดเกิดรากได้เพียง 10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10 และ ภาพที่ 15)

ตารางที่ 9 ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมไฮโดรโคติน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS^+) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)

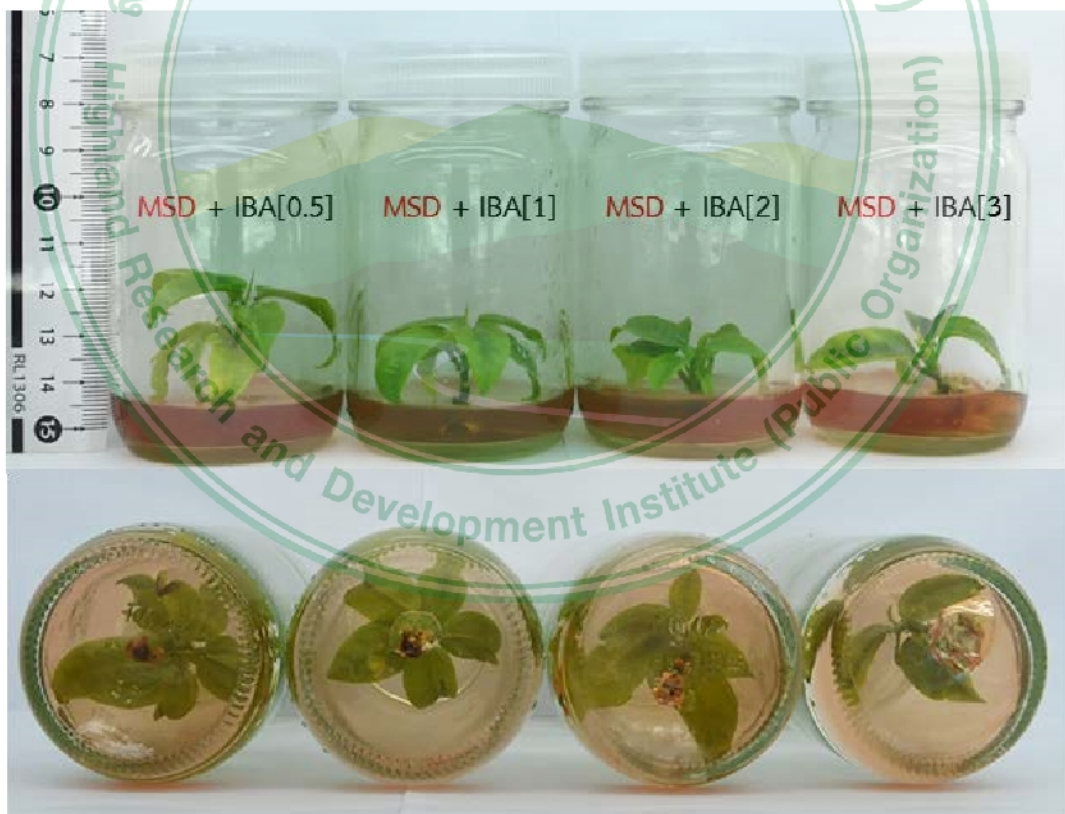
อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอดที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดที่เกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)
MS^+ +IBA [0.5]	30	50
MS^+ +IBA [1]	10	80
MS^+ +IBA [2]	20	80
MS^+ +IBA [3]	10	100



ภาพที่ 14 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมไฮโดรโคติน ชนิด BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS^+) ร่วมกับออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 1)

ตารางที่ 10 ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสวนพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)

อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอดที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดที่เกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)
MSD + IBA [0.5]	10	0
MSD + IBA [1]	20	0
MSD + IBA [2]	0	0
MSD + IBA [3]	10	20



ภาพที่ 15 ตัวอย่างของยอดเสาวรสวนพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)

ในขณะที่เมื่อใช้อาหารสูตร MS ที่มีการเติม IBA พบว่า ในการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้นที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [0.5]) มีจำนวนของยอดที่เกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11) รากที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มีมากกว่า 2 ราก รากมีความยาว และแข็งแรง โดยยอดที่เกิดรากเกือบทั้งหมด (6 ใน 7 ยอด) เป็นการเกิดเฉพาะรากโดยไม่มีการเกิดแคลลัสร่วมด้วย ซึ่งต้นอ่อนเสาวรสที่ได้เหล่านี้มีการเจริญของลำต้นที่แข็งแรง มีใบขนาดใหญ่และมีสีเขียว (ภาพที่ 16) ในส่วนของการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [1]) และการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้นที่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [2]) ต่างมีจำนวนยอดที่เกิดราก 60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11) ซึ่งรากที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่ ยาว และแข็งแรง โดยในกรณีของการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS +IBA [1] ยอดที่เกิดรากมีการเกิดแคลลัสขนาดเล็กร่วมด้วย (ภาพที่ 17) และมียอดจำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เกิดเฉพาะแคลลัสโดยไม่มีการเกิดราก ในขณะที่การเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS +IBA [2] มีทั้งยอดที่มีการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัส และยอดที่มีการเกิดเฉพาะราก (ภาพที่ 18) ในกรณีที่ใช้อาหารสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้นที่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [3]) พบว่า มีจำนวนยอดที่เกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งรากที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่และมีปริมาณมากกว่ารากที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงที่สภาวะอื่นๆ อย่างไรก็ตามยอดที่เกิดรากเกือบทั้งหมด เป็นการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัสขนาดใหญ่ โดยมียอดเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเกิดเฉพาะราก (ตารางที่ 11 และ ภาพที่ 19)

ตารางที่ 11 ผลของการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม ออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้ เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)

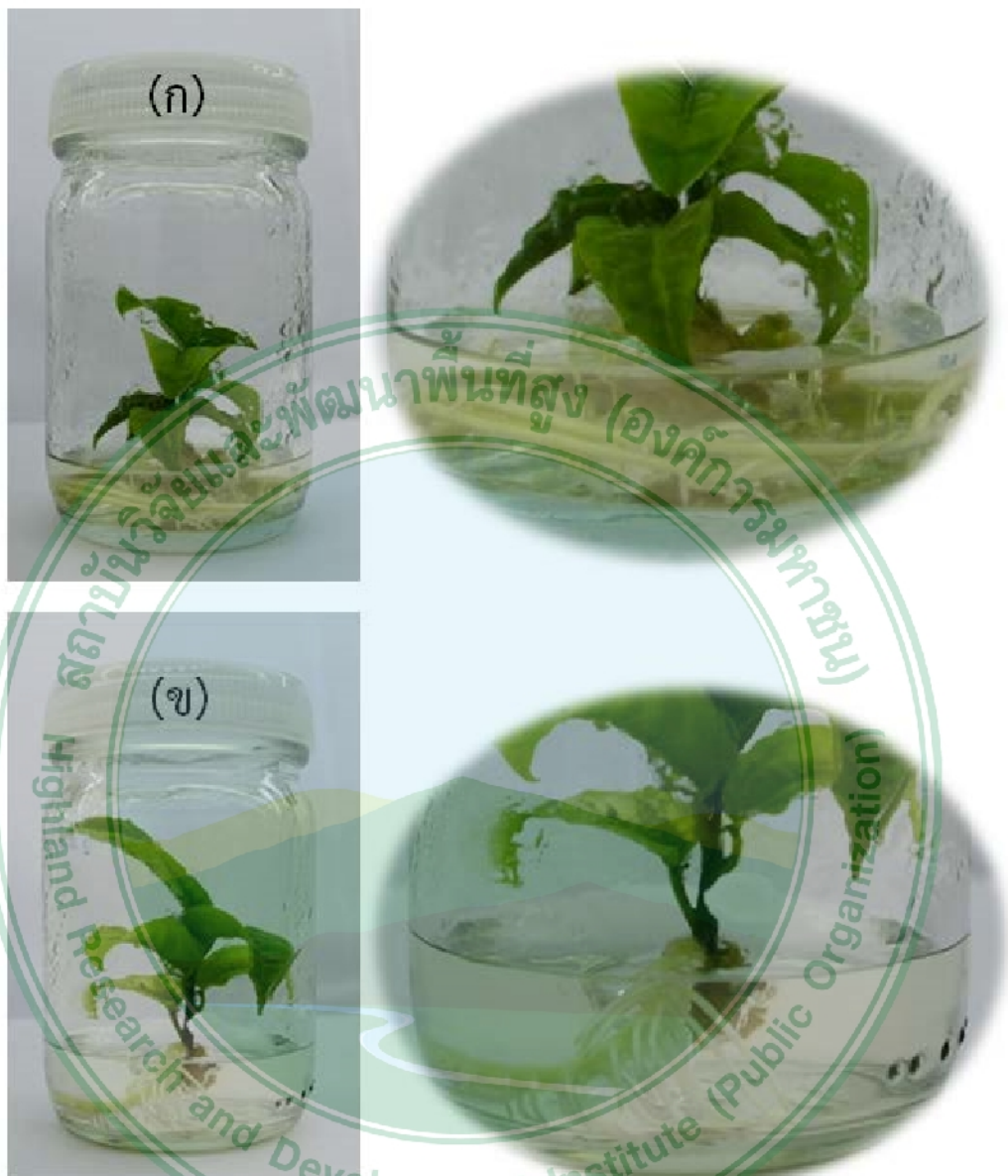
อาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนยอดที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดที่เกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)
MS +IBA [0.5]	70	10
MS +IBA [1]	60	70
MS +IBA [2]	60	60
MS +IBA [3]	70	80



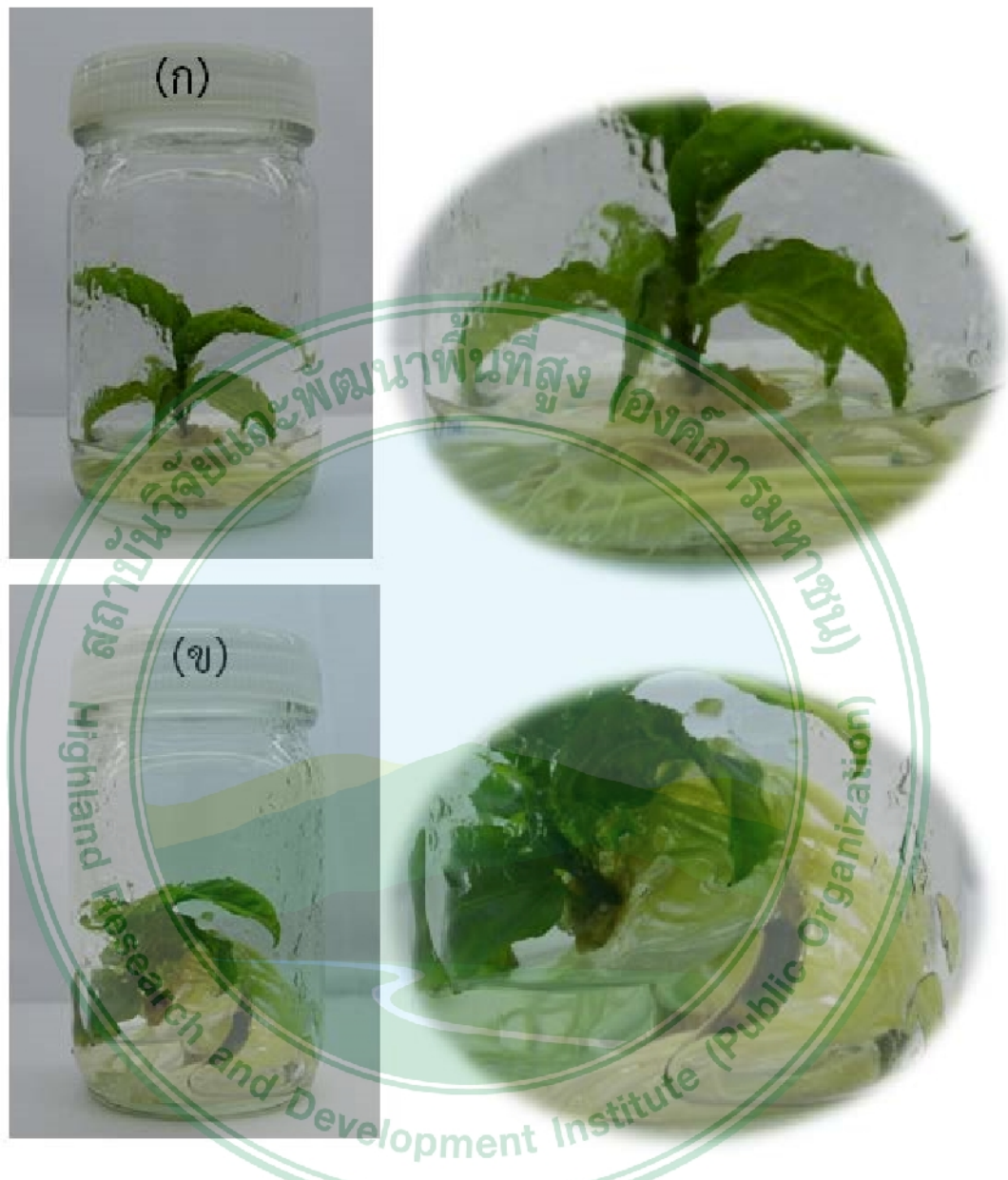
ภาพที่ 16 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [0.5]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2)



ภาพที่ 17 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [1]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2) โดย (ก) และ (ข) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัส



ภาพที่ 18 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [2]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2) โดย (ก) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัส และ (ข) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากโดยไม่มีการเกิดแคลลัส



ภาพที่ 19 ตัวอย่างของยอดเสาวรสหวานพันธุ์เบอร์ 2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมออกซิน ชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS +IBA [3]) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อการชักนำให้เกิดราก (ชุดทดลองที่ 2) โดย (ก) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัส และ (ข) เป็นตัวอย่างยอดที่มีการเกิดรากโดยไม่มีการเกิดแคลลัส

4.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัสมีขั้นตอนดังแสดงในภาพที่ 20 โดยในการเพาะเลี้ยงใช้ยอดเสาวรสที่ผ่านการคัดเลือกจากแปลงเกษตรกร เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง ซึ่งยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ที่ผ่านการคัดเลือกเป็นยอดที่มีความสมบูรณ์ และไม่มีอาการของโรคไวรัส และผ่านการตรวจสอบเพื่อยืนยันการปลอดจากไวรัส PWV โดยการตรวจเชื้อด้วยเทคนิค ELISA

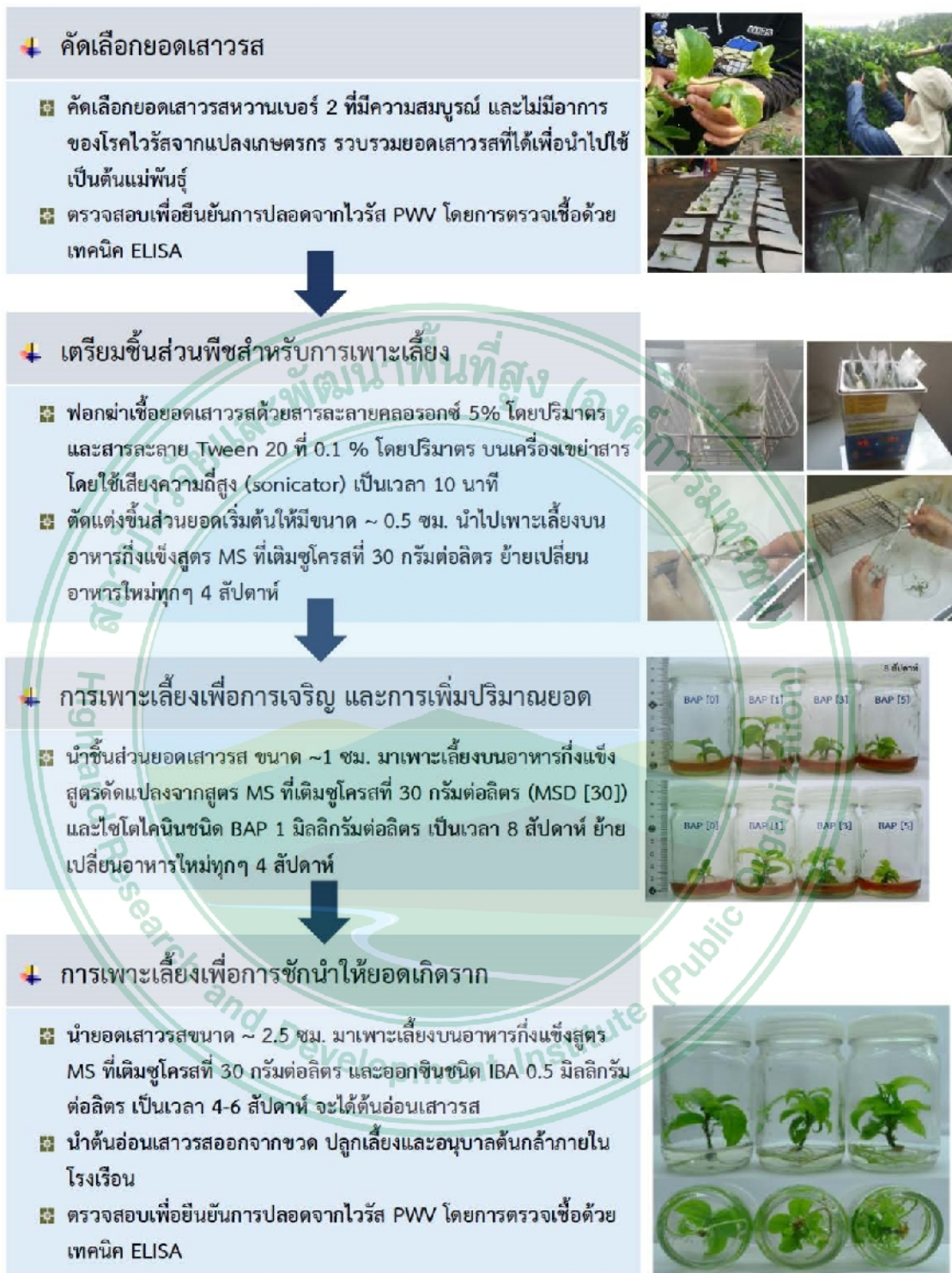
ในขั้นตอนการเตรียมชิ้นส่วนพืชสำหรับการเพาะเลี้ยงทำตามวิธีของ ปิยะมาศ และคณะ (2558) โดยนำยอดเสาวรสดังกล่าวมาทำการล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชเพื่อให้ได้เนื้อเยื่อที่สะอาดและปลอดเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยง ในการฟอกฆ่าเชื้อยอดเสาวรสใช้สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5% โดยปริมาตร และสารละลาย Tween 20 ที่ความเข้มข้น 0.1 % โดยปริมาตร ทำการเขย่าเพื่อผสมสารบนเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 10 นาที ควบคุมอุณหภูมิของเครื่อง sonicator ในระหว่างใช้งานให้อยู่ในช่วง 45 ± 2 องศาเซลเซียส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำความสะอาดและมีรายงานการวิจัยเสนอว่าการใช้อุณหภูมิสูง ในช่วง 30 – 46 องศาเซลเซียส สามารถช่วยลดการปนเปื้อนของไวรัสบางชนิดได้ (Cieslinska, 2007; Ahmed *et al.*, 2012; Milosevic *et al.*, 2012) ตั้งแต่ขั้นตอนนี้เป็นต้นไป ดำเนินการในตู้ปลอดเชื้อโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ โดยนำยอดอ่อนเสาวรสมาล้างสารฟอกฆ่าเชื้อออกโดยแช่ในน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที ย้ายยอดไปวางผึ่งบนจานแก้วให้แห้งพอสมควร แล้วทำการตัดแต่งชิ้นส่วนยอดเริ่มต้นให้มีขนาดความสูงของยอดประมาณ 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำชิ้นส่วนยอดเริ่มต้นไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร ย้ายเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยในขั้นตอนนี้อาจใช้เวลา 6–10 สัปดาห์ เนื้อเยื่อจะมีความสูงประมาณ 1–2 เซนติเมตร และมีใบอ่อน จำนวน 2–6 ใบ ความแตกต่างของระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเป็นผลเนื่องมาจากขนาดของเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่ใช้เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้น โดยในกรณีที่ใช้นเนื้อเยื่อปลายยอดที่มีขนาดเล็กจะส่งผลให้เนื้อเยื่อที่ได้มีโอกาสในการปลอดไวรัสที่สูงกว่าการใช้เนื้อเยื่อปลายยอดที่มีขนาดใหญ่กว่า อย่างไรก็ตามการใช้เนื้อเยื่อเริ่มต้นขนาดเล็กจะทำให้การเจริญและการพัฒนาของเนื้อเยื่อต้องใช้เวลามากกว่าการใช้เนื้อเยื่อเริ่มต้นที่มีขนาดใหญ่กว่า

ต่อมาในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดเพื่อการเจริญ และการเพิ่มปริมาณยอด ทำการย้ายชิ้นส่วนยอดที่มีความสูง (ความยาวยอด) ประมาณ 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อส่งเสริมการเจริญและการพัฒนาของยอด ได้แก่ อาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลงจากสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (MSD [30]) และไซโตไคนินชนิด BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการย้ายเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ยอดเสาวรสที่เพาะเลี้ยงจะมีความยาวยอดในช่วง 2.5–4 เซนติเมตร โดยยอดส่วนใหญ่ไม่มีการเจริญของราก ยกเว้นในกรณีของยอดที่มีการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน โดยมีการตัดแต่งเนื้อเยื่อและมีการย้ายเนื้อเยื่อ (subculture) เป็นเวลา มากกว่า 16 สัปดาห์ เพื่อทำการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณยอด จึงทำให้ยอดเหล่านี้มีอายุมาก จึงมีโอกาสทำให้มีการเกิดและการพัฒนาของรากเกิดขึ้นได้เองโดยไม่ต้องมีการชักนำด้วยสาร

ควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามการเกิดรากในกรณีดังกล่าวนี้ไม่ได้เกิดกับยอดทั้งหมด โดยไม่สามารถกำหนดการเกิดรากได้

ในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเพื่อการชักนำให้เกิดราก ทำโดยนำยอดเสาวรสที่มีความยาวยอดตั้งแต่ 2.5 เซนติเมตร ขึ้นไป มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อการชักนำให้เกิดราก ซึ่งได้แก่อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และออกซินชนิด IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 4-6 สัปดาห์ ยอดที่เพาะเลี้ยง มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ จะมีการเกิดราก โดยยอดที่เกิดรากเกือบทั้งหมด มีการเกิดเฉพาะราก (ไม่มีการเกิดแคลลัสร่วมด้วย) ต้นอ่อนเสาวรสที่ได้เหล่านี้มีการเจริญของลำต้นที่แข็งแรง และมีใบขนาดใหญ่และมีสีเขียว จากนั้นนำต้นอ่อนออกจากขวด ปลูกลงในวัสดุปลูกและอนุบาลต้นกล้าภายในโรงเรือน และทำการสุ่มตัวอย่างต้นอ่อนเสาวรสที่ได้ไปทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันการปลอดจากไวรัส PWV โดยการตรวจเช็คด้วยเทคนิค ELISA

ในกรณีที่ต้องการทำการปลูกลงเสาวรสโดยการต่อยอดเสาวรส (grafting) สามารถทำได้โดยใช้ยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยไม่จำเป็นต้องผ่านการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้ยอดเกิดราก ทำหน้าที่เป็นกิ่งพันธุ์ดี (scion) ได้ เนื่องจากในการเสียบยอดจะใช้เพียงส่วนของยอด อย่างไรก็ตามในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงยอดอาจเพิ่มเวลาในการเพาะเลี้ยงให้มากขึ้น เพื่อให้ได้ยอดเสาวรสที่มีขนาดและความสมบูรณ์ของยอดที่ดี และใช้ต้นเสาวรสปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเมล็ดทำหน้าที่เป็น ต้นตอ (stock or rootstock) ในระหว่างรอนยอดติดให้คลุมต้นเสาวรสด้วยถุงพลาสติก ใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน หลังจากแกะถุงพลาสติกออก นำถุงตาข่ายครอบที่ต้นเสาวรสเพื่อป้องกันแมลง และทำการเลี้ยงต้นเสาวรสจนเกิดใบใหม่ เมื่อต้นกล้าเสาวรสมีการเจริญมากขึ้นทำการเปลี่ยนลงในถุงดำขนาด 4x8 นิ้ว เลี้ยงต้นเสาวรสจนเกิดใบใหม่ โดยในการปลูกลงเลี้ยงต้นและอนุบาลต้นทำภายในโรงเรือนที่ควบคุมอย่างเหมาะสม (ปิยะมาศ และคณะ, 2558) ทำการสุ่มตัวอย่างต้นกล้าเสาวรสที่ได้ไปทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันการปลอดจากไวรัส PWV โดยการตรวจเช็คด้วยเทคนิค ELISA วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสและการผลิตต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส โดยการต่อยอดเสาวรส (grafting) แสดงในภาพที่ 21



ภาพที่ 20 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส



ภาพที่ 21 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสและการผลิตต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส โดยการต่อยอดเสาวรส (grafting)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและการเจริญของต้นอ่อนเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

จากผลการศึกษา พบว่า สูตรอาหารที่สามารถเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ยอดที่ดี คือ อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงจากสูตร MS (Van der Salm *et al.* 1994) ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (MSD [30]) โดยยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีการเจริญของยอดที่ดี มีความยาวยอดที่สูงน่าพอใจและมีความแข็งแรง มีจำนวนใบที่มาก ใบขนาดใหญ่ หนา และแข็งแรง อีกทั้งยังมีการเกิดใบสีเหลืองเพียงเล็กน้อย

ในเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสในอาหารสูตรดัดแปลงจากสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (MSD [30]) และมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ชนิด BAP หรือ TDZ ที่ความเข้มข้น 1–5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า มีผลในการส่งเสริมการชักนำให้เกิดยอดของเสาวรสเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่เติม BAP หรือ TDZ แต่ยังคงอยู่ในระดับที่ต่ำ แม้ว่าการเติม TDZ ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ 4.2 ยอด แต่ยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีขนาดเล็ก และไม่มีการเจริญเติบโตต่อเพื่อเกิดเป็นยอดที่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามการเติม BAP ให้ผลที่ชัดเจนในการส่งเสริมการเจริญของใบและยอดเสาวรส โดยการเติม BAP ที่ความเข้มข้น 1–3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่ส่งเสริมให้ยอดเสาวรสมิ้ใบที่แข็งแรง ขนาดใหญ่ และมีใบสีเขียว และมียอดที่มีความยาวยอดและมีความแข็งแรงของยอด ซึ่งในการศึกษาค้างนี้เลือกใช้ BAP ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสม เนื่องจากใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณที่ต่ำและให้ผลในการส่งเสริมให้ได้ยอดเสาวรสที่ดี โดยในการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรส พบว่า ยอดเสาวรสที่ทำการเพาะเลี้ยงเกือบทั้งหมดไม่มีการเกิดรากได้เอง ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนในการชักนำให้เกิดราก

5.2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินต่อการชักนำให้เกิดรากของต้นอ่อนเสาวรส

จากผลการศึกษา พบว่า อาหารเพาะเลี้ยง และ การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการชักนำให้ยอดที่เพาะเลี้ยงเกิดราก โดยในส่วนของการเพาะเลี้ยง พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงยอดเสาวรสเพื่อการเพิ่มปริมาณยอดและการเจริญของยอด เนื่องจากส่งเสริมการเจริญของยอดได้ดี แต่เมื่อนำมาใช้เพื่อการชักนำให้ยอดเสาวรสเกิดราก พบว่า ให้ผลการชักนำให้เกิดรากที่ต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ไม่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก มีความไวต่อการเกิดแคลลัสได้มากกว่าการใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MSD และการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการชักนำให้ยอดที่เพาะเลี้ยงเกิดราก โดยการเติมไซโตไคนินร่วมกับออกซิน มีแนวโน้มในการทำให้เกิดแคลลัส ในบางกรณีส่งผลทำให้ยอดมีการเจริญที่ลดลง และมีการหลุดร่วงของใบ

จากผลการศึกษา พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเสาวรสเกิดราก คือ อาหารสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินชนิด IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงยอดที่มีความยาวยอดประมาณ 2.5–3 เซนติเมตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถชักนำให้ยอดมีการเกิดรากได้ โดยมีจำนวนยอดที่เกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจำนวนรากที่เกิดขึ้นมีมากกว่า 2 รากต่อยอด รากมีความยาว และแข็งแรง โดยยอดที่เกิดรากเกือบทั้งหมด มีการเกิดเฉพาะราก (ไม่มีการเกิดแคลลัสร่วมด้วย) ต้นอ่อนเสาวรสที่ได้เหล่านี้มีการเจริญของลำต้นที่แข็งแรง และมีใบขนาดใหญ่และมีสีเขียว

5.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสาวรสเพื่อจัดเตรียมต้นกล้าแม่พันธุ์เสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคไวรัส มีขั้นตอนในการเพาะเลี้ยง ดังนี้คือ คัดเลือกยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ที่มีความสมบูรณ์ และปลอดโรคไวรัส เพื่อนำมาใช้เป็นต้นแม่พันธุ์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากนั้นทำการเตรียมชิ้นส่วนพืชสำหรับการเพาะเลี้ยง โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่เหมาะสม ตัดแต่งเนื้อเยื่อและนำเนื้อเยื่อที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง เมื่อเนื้อเยื่อมีการฟื้นตัวและมีการเจริญโดยมีการพัฒนาของยอดและใบอ่อน ทำการย้ายยอดอ่อนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อส่งเสริมการเจริญและการพัฒนาของยอด (อาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลงจากสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร (MSD [30]) และไซโตไคนินชนิด BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากนั้นทำการย้ายยอดที่มีความยาวยอดตั้งแต่ 2.5 เซนติเมตร ขึ้นไป มาเพาะเลี้ยงเพื่อการชักนำให้เกิดรากบนอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อการชักนำให้เกิดราก (อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร และออกซินชนิด IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยเมื่อยอดเสาวรสมีการเกิดราก จะทำให้ได้ต้นอ่อนเสาวรสที่สมบูรณ์ ทำการสุ่มตัวอย่างต้นอ่อนเสาวรสที่ได้ไปทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันการปลอดจากไวรัส PWV โดยการตรวจเชื้อด้วยเทคนิค ELISA (ภาพที่ 20) และในกรณีที่ต้องการทำการปลูกเลี้ยงเสาวรสโดยการต่อยอดเสาวรส (grafting) สามารถทำได้โดยใช้ยอดเสาวรสหวานเบอร์ 2 ปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยไม่จำเป็นต้องผ่านการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้ยอดเกิดราก ทำหน้าที่เป็นกิ่งพันธุ์ดี (scion) ได้ และใช้ต้นเสาวรสปลอดโรคที่ได้จากการเพาะเมล็ดทำหน้าที่เป็น ต้นตอ (stock or rootstock) (ภาพที่ 21)