พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณต้นมะละกอในสภาพปลอดเชื้อ

ณัฐกฤตา วิเศษสุมน

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร
พฤษภาคม 2566
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณต้นมะละกอในสภาพปลอดเชื้อ

ณัฐกฤตา วิเศษสุมน

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร
พฤษภาคม 2566
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

DEVELOPING MICROPROPAGATION TECHNIQUES FOR SHOOT MULTIPLICATION OF PAPAYA UNDER ASEPTIC CONDITION

NATTHAKRITTA WISESSUMON

A Thesis Submitted to University of Phayao

in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Master of Science Degree in Agricultural Science

May 2023

Copyright 2023 by University of Phayao

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณต้นมะละกอในสภาพปลอดเชื้อ

ของ ณัฐกฤตา วิเศษสุมน

ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร

ของมหาวิทยาลัยพะเยา

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิชาติ ชิดบุรี)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกัลยา ภู่ทอง)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ดร. ภาวินี จันทร์วิจิตร)

..... คณบดีคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก)

เรื่อง: พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณต้นมะละกอในสภาพปลอดเชื้อ

ผู้วิจัย: ณัฐกฤตา วิเศษสุมน, วิทยานิพนธ์: วท.ม. (วิทยาศาสตร์การเกษตร), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกัลยา ภู่ทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.ภาวินี จันทร์วิจิตร

คำสำคัญ: มะละกอ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การเพิ่มจำนวนยอด การชักนำราก

บทคัดย่อ

มะละกอเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องมีความต้องการผลผลิตปริมาณมาก การผลิตต้นพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการปลูกมะละกอ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการชักนำการเพิ่มปริมาณยอด และการชักนำรากของมะละกอด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยพบว่าขั้นตอนการฟอกที่เหมาะสมคือการแช่เมล็ดมะละกอด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง ฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุด การศึกษาผลของธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำรากของมะละกอพันธุ์ TA151 และ พันธุ์แขกดำ พบว่า มะละกอพันธุ์ TA151 ให้ความเข้มข้นของธาตุอาหาร MS เป็น 0.5 และ 1.0 เท่า ร่วมกับการใช้กลูโคส 1.5% ให้จำนวนยอดมากที่สุด ส่วนการปรับธาตุอาหาร MS เป็น 1.5 เท่า และใช้ซูโครส 3.0% ให้ความสูงยอดดีที่สุด แต่อย่างไรก็ตามการปรับธาตุอาหาร น้ำตาล และการเติม FeNa–EDDHA ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพันธุ์แขกดำ ส่วนการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช พบว่า การใช้ Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 1–Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพิ่มยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 ในขณะที่การเพิ่มยอดของพันธุ์แขกดำสามารถใช้สูตรอาหารที่เติม 6–Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 0.3 หรือ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้การเติม Kinetin ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างเดียว ให้จำนวนยอดได้สูงเช่นกัน ส่วนการชักนำรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่สว่าง ทำให้ต้นมะละกอมีจำนวนรากและความยาวรากดีที่สุด

Title: DEVELOPING MICROPROPAGATION TECHNIQUES FOR SHOOT MULTIPLICATION OF PAPAYA UNDER ASEPTIC CONDITION

Author: Natthakritta Wisessumon, Thesis: M.Sc. (Agricultural Science), University of Phayao, 2022

Advisor: Assistant Professor Sukalya Poothong , Ph.D. Co-advisor PAVINEE CHANVICHIT , Ph.D.

Keywords: Papaya Micropropagation Shoot multiplication and Rooting

ABSTRACT

Papaya is an important economic fruit plant because its high demand for papaya fruit. Mass production of high-quality papaya seedlings is a crucial step in papaya cultivation. This research aimed to study the proper condition for shoot multiplication and root induction of papaya using plant tissue culture technique. The suitable sterile technique for papaya seeds was soaked with 250 ppm GA_3 for 24 hours and sterilized with 4.5% NaOCl for 10 minutes. Then, sterilized seeds were cultured on ½ MS medium, which plants had the highest germination percentage. Next, the effects of nutrients and growth regulators on shoot multiplication and root induction of papaya TA151 cultivar and Khaek Dum cultivar were studied. Papaya TA151 cultivar had highest shoot multiplication when cultured with 0.5 MS and 1.0 MS medium, supplemented with 1.5% glucose. Moreover, the 1.5 MS medium, supplemented with 3.0% sucrose resulted in the highest shoot length. However, the medium modification, sugar and addition of FeNa-EDDHA had no effect on the growth of Khaek Dum cultivar. As for the study of plant growth regulators, it was found that 0.3 mg/l Thidiazuron (TDZ), supplemented with 0.1 mg/l 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) was the most suitable medium for shoot multiplication of papaya TA151 cultivar. While shoot multiplication of Khaek Dum cultivar was MS medium supplemented with 6-Benzylaminopurine (BAP) at a concentration of 0.3 or 0.6 mg/l and 0.1 mg/l NAA. In addition, medium supplemented with only 0.6 mg/l kinetin resulted in a high shoot multiplication as well. As for root induction, papaya Khaek Dum cultivar had the highest number of roots and root length when cultured on MS medium supplemented with 0.6 mg/l NAA in light condition.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ โครงการทุนพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (พวอ.) สำนักงานงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สัญญาทุนเลขที่ MSD61I0115 ที่มอบทุนการศึกษาในการเรียนและการทำวิจัยแก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกัลยา ภู่ทอง อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้ความรู้และคำแนะนำแนวทางการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนแนะนำทักษะความรู้ในการปฏิบัติงาน ขอขอบพระคุณ ดร.ภาวินี จันทร์วิจิตร ที่ช่วยตรวจสอบความถูกต้อง และชี้แนะแนวทางการแก้ไขของวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ ชิดบุรี จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลลานนา ที่ให้เกียรติเป็นประธานสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำปรึกษาพร้อมกับคำแนะนำในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ทุก ๆ ท่าน ที่ให้ความรู้ และแนะแนวทางการทำงานวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่อนุเคราะห์และให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ และพี่ ๆ เจ้าหน้าที่สำนักงานบุคลากรทุก ๆ ท่าน ที่อำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน และดำเนินงานทางด้านเอกสารต่าง ๆ ตลอดจนให้กำลังใจ รวมไปถึงขอขอบคุณรุ่นน้องคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่คอบช่วยเหลือในงานวิจัยด้านต่าง ๆ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณบิดา มารดา และผู้ปกครองที่ให้กำลังใจ คอยสนับสนุน เข้าใจ และให้โอกาสในการเรียนครั้งนี้ และทางผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา สถาบันในการศึกษา ที่สนับสนุนสถานที่ และทรัพยากรในการวิจัย

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะเป็นประโยชน์ไม่มากก็น้อยแก่ผู้ที่สนใจ หากว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ก็ขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ณัฐกฤตา วิเศษสุมน

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ที่มาและความสำคัญ 1

วัตถุประสงค์ 2

ขอบเขตการวิจัย 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

กรอบแนวคิดโครงการวิจัย 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

ลักษณะทางพฤษศาสตร์และคุณค่าทางโภชนาการของมะละกอ 5

การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 6

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 10

บทที่ 3 วิธีการทดลอง 15

การศึกษาการฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ 15

การศึกษาผลของธาตุอาหารพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อชักนำยอดของต้นมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 17

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 18
การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid: GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ 19
การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) 20
การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ 22
บทที่ 4 ผลการทดลอง 24
การศึกษาการฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ 24
การศึกษาผลของธาตุอาหารพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อชักนำยอดของต้นมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 29
การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 36
การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid: GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ 40
การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) 43
การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ 48
บทที่ 5 บทสรุป 51
สรุปผลการวิจัย 51
อภิปรายผลการวิจัย 52
การฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ 52
การศึกษาผลของธาตุอาหารพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อชักนำยอดของต้นมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 55

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 59

การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid; GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ 60

การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) 61

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ.....63

บรรณานุกรม 65

ภาคผนวก 73

ภาคผนวก ก ตารางแสดงสารที่ใช้ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS 74

ภาคผนวก ข ภาพต้นมะละกอ และภาชนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....75

ประวัติผู้วิจัย 76

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดงกรรมวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอ 16

ตาราง 2 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 18

ตาราง 3 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ 19

ตาราง 4 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ 20

ตาราง 5 แสดงกรรมวิธีที่ใช้การทดสอบการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ 22

ตาราง 6 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการชักนำการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ 23

ตาราง 7 ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหาร ร่วมกับ FeNa–EDDHA และน้ำตาล ต่อจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ในมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 32

ตาราง 8 ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหาร ร่วมกับ FeNa–EDDHA และน้ำตาล ต่อความสูงยอด (มิลลิเมตร) ในมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 33

ตาราง 9 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการควบคุมแสงสว่าง ต่อความยาวราก (เซนติเมตร) ของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 49

ตาราง 10 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการควบคุมแสงสว่าง ต่อจำนวนรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 50

ตาราง 11 ตารางสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS 74

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 กรอบแนวคิดในการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดและชักนำรากของมะละกอโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 4

ภาพ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30, 45 และ 60 วัน 27

ภาพ 3 เปอร์เซ็นต์การงอกของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30, 45 และ 60 วัน 28

ภาพ 4 ความเข้มข้นของธาตุอาหารสังเคราะห์สูตร MS น้ำตาล และ FeNa–EDDHA ต่อการเพิ่มยอด (A) และความสูง (B) ของมะละกอพันธุ์ TA151 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 31

ภาพ 5 ผลของความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับการเติมและไม่เติม FeNa–EDDHA และชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล ในมะละกอพันธุ์ TA151 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 34

ภาพ 6 ผลของความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับการเติมและไม่เติม FeNa–EDDHA และชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล ในมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อเพาะเลี้ยง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 35

ภาพ 7 สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP, TDZ และ Kinetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติม NAA ต่อการเพิ่มยอด (A) และความสูง (B) ของมะละกอพันธุ์ TA151 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 38

ภาพ 8 สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP, TDZ และ Kinetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติม NAA ต่อการเพิ่มยอด (A) และความสูง (B) ของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 39

ภาพ 9 มะละกอพันธุ์ TA151 ที่ทำการทดสอบชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเพิ่มจำนวนยอดของมะละกอ เมื่อทำการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 40

ภาพ 10 ผลของ GA_3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับวิธีการเติม GA_3 ที่แตกต่างกัน ต่อความสูงยอด (A) และจำนวนยอด (B) ของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 42

ภาพ 11 คะแนนคุณภาพโดยรวม (คะแนน) ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) 45

ภาพ 12 จำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) 46

ภาพ 13 ความสูงยอด (เซนติเมตร) ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) 46

ภาพ 14 จำนวนใบต่อยอด ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) 47

ภาพ 15 ต้นมะละกอพันธุ์แขกดำที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 47

ภาพ 16 ต้นมะละกอพันธุ์แขกดำที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 48

ภาพ 17 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอพันธุ์ TA151 (A) ลักษณะการงอกของต้นพืชมะละกอที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอ (B) ลักษณะเมล็ดมะละกอพันธุ์ TA151 ที่ ทำการแกะเปลือกหุ้มเมล็ด จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS 75

ภาพ 18 ลักษณะของภาชนะที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อทดสอบสภาวะ Photoautotrophic (A) ภาชนะปิดสนิทที่อากาศไม่สามารถผ่านได้ (B) ภาชนะที่มี Filter กรองขนาด 1 เซนติเมตร อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ 75

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

มะละกอ (Papaya) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carica papaya* L. อยู่ในวงศ์ Caricaceae ซึ่งมะละกอเป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี ขนาดใหญ่ สูง 2–8 เมตร มีถิ่นกำเนิดในอเมริกากลาง ถูกนำเข้าสู่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในสมัยกรุงศรีอยุธยา โดยผลดิบมีสีเขียว แต่เมื่อสุกแล้วเนื้อในจะมีสีเหลืองถึงส้ม นอกจากนี้มะละกอยังเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีความต้องการผลผลิตปริมาณมากสำหรับการบริโภคทั้งในประเทศและการส่งออก ซึ่งมะละกอเป็นพืชที่สามารถปลูกได้แทบทุกภาคของประเทศไทย แต่การผลิตในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ ประกอบกับปัจจุบันมีการกำหนดมาตรฐานมะละกอทั้งในระดับระหว่างประเทศและภูมิภาคอาเซียนแล้ว โดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรได้จัดทำมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง มะละกอ ขึ้นเพื่อให้มะละกอของไทยเป็นที่ยอมรับทั้งด้านคุณภาพ และความปลอดภัยในระดับชาติและระดับสากล โดยเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมปลูกมะละกอทั้งในรูปแบบพืชเชิงเดี่ยว และในลักษณะสวนผสมผสาน ซึ่งมีการปลูกทั้งมะละกอพันธุ์แขกดำ พันธุ์แขกนวล พันธุ์ฮอลแลนด์ (ปลักไม้ลาย) และพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งเป็นมะละกอที่กลายพันธุ์มาจากมะละกอพันธุ์แขกดำเป็นหลัก นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ต่างประเทศ เช่น พันธุ์ฮาวาย พันธุ์เรดเลดี้ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก แต่อย่างไรก็ตาม การผลิตมะละกอมีข้อจำกัดที่หลากหลาย ทั้งในเรื่องการผสมพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิต เนื่องจากมะละกอเป็นพืชที่แยกเพศคนละต้น และมีทั้งต้นที่มีดอกทั้งสองเพศในดอกเดียวหรือต้นกะเทย รวมทั้งปัญหาการระบาดของไวรัส ดังนั้นการเลือกแหล่งของต้นพันธุ์เพื่อใช้ในการปลูกมะละกอจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง โดยการปลูกมะละกอส่วนใหญ่นิยมขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัด รวดเร็ว และทำได้ง่ายในปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามเมล็ดพันธุ์มะละกอที่วางขายส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการขยายพันธุ์มะละกอในอีกรูปแบบหนึ่งที่ได้รับความนิยม คือ การขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการนำชิ้นส่วนพืชมาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์และมีการควบคุมสภาพแวดล้อม โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีแนวทางในการพัฒนาให้ได้ต้นพืชใหม่ได้สองวิธีหลัก คือ การทำออร์แกนโนเจเนซีส ซึ่งต้นที่ได้จะมีลักษณะคล้ายต้นจากการ

ปักชำ โดยได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืช และการชักนำการเกิดแคลลัส รวมทั้งการทำโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซีส ซึ่งการทำโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซีสจะได้เอ็มบริออยด์ซึ่งคล้ายต้นอ่อนจากเมล็ด โดยต้นพืชที่ได้จากการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถนำไปใช้ในการผลิตเมล็ดเทียม ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์มะละกอต่อไปได้ จากเหตุผลที่กล่าวมาแล้วทางผู้วิจัยจึงต้องการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณต้นมะละกอในสภาพปลอดเชื้อ

วัตถุประสงค์

1 เพื่อศึกษาการชักนำการเพิ่มปริมาณยอดของมะละกอด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2 เพื่อศึกษาการชักนำรากของมะละกอด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ขอบเขตการวิจัย

1 การศึกษาการฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ โดยใช้ชิ้นส่วนเมล็ดที่ทำการแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก ทำ Pre-treatment ทั้งหมด 2 วิธี คือ 1) การแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง และ 2) แช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการฟอกด้วย Mercuric chloride (HgCl) ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 และ 15 นาที และ Sodium hypochloride (NaOCl) ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS, 1/2MS, MS + GA_3 และ 1/2MS + GA_3 โดย GA_3 มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (%) และเปอร์เซ็นต์การงอก (%) ในวันที่ 30, 45 และ 60 วัน

2 การศึกษาผลของธาตุอาหารพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อการชักนำยอดของต้นมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ โดยนำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5 เท่า ร่วมกับการเติม Etylenendiamine • ferric (Fe-EDDHA) ความเข้มข้น 0 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Sucrose ความเข้มข้น 3% หรือ Glucose ความเข้มข้น 1.5% แล้วทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) และความสูงยอด (มิลลิเมตร)

3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ โดยนำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม 6-Benzylaminopurine (BAP), Thidiazuron (TDZ) และ Kinetin ความเข้มข้น 0, 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0

และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) และความสูงยอด (มิลลิเมตร)

4 การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid: GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ โดยใช้ชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS โดยมีวิธีการเติม 3 แบบ คือ 1) เติมพร้อมการทำอาหารสังเคราะห์ 2) เติมหลังการต้มอาหารสังเคราะห์ และ 3) กรอง GA_3 (Filter) ลงบนอาหารสังเคราะห์ภายหลังการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (Autoclave) ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) และความสูงยอด (มิลลิเมตร)

5 การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโต้ออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) โดยใช้ชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 0, 1.5, 3 และ 6% และ Glucose ความเข้มข้น 0, 1, 1.5 และ 3% นำมาเพาะเลี้ยงในภาชนะที่ปิดสนิท และภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกคะแนนคุณภาพโดยรวม (คะแนน) จำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ความสูงยอด (เซนติเมตร) และจำนวนใบต่อยอด (ใบต่อยอด)

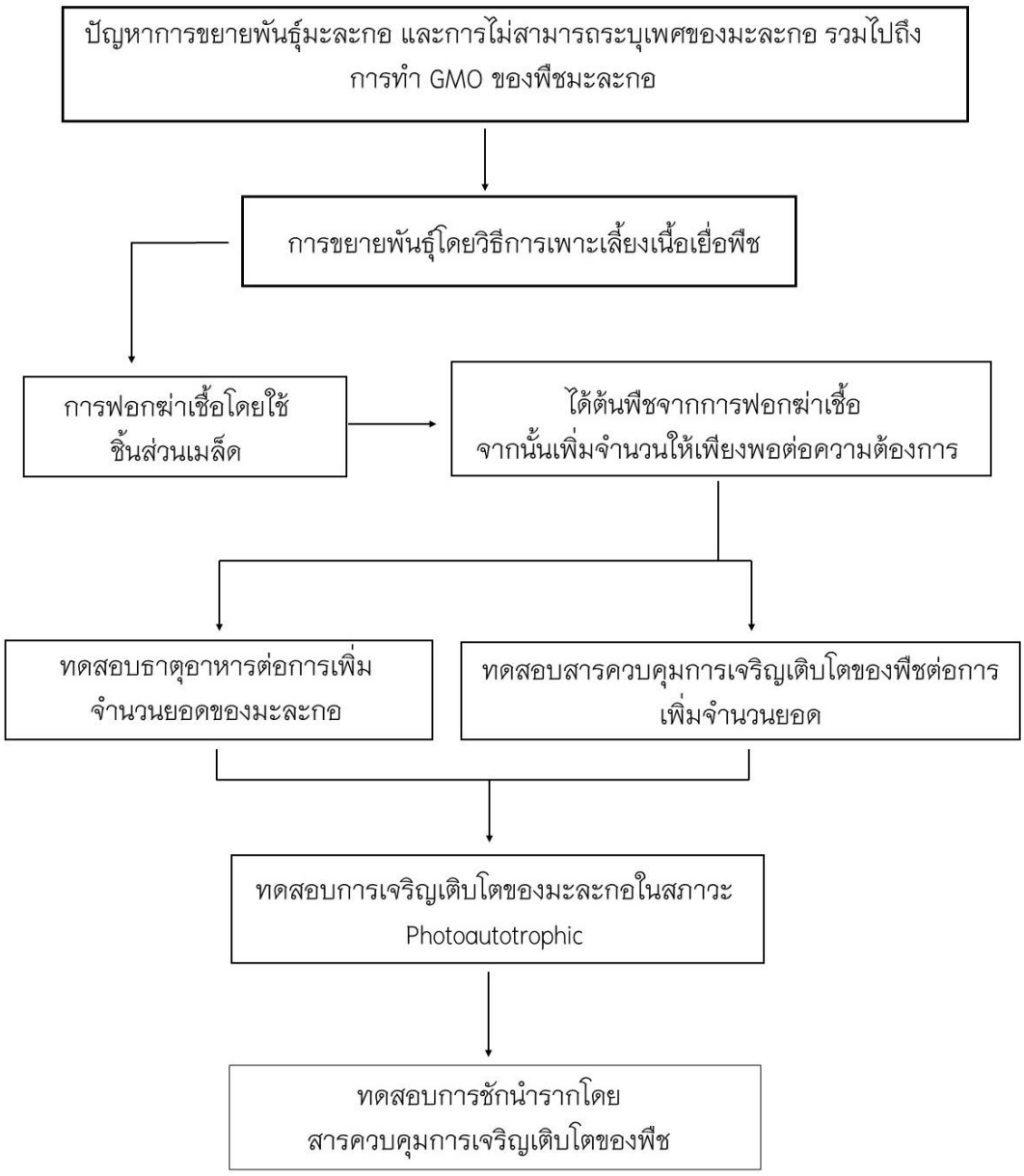
6 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Indole–3–butyric acid (IBA) และ 1–Naphthyl acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.3, 0.6 และ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่มีแสงสว่าง และเพาะเลี้ยงในที่มืด ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกจำนวนราก (รากต่อชิ้นส่วนพืช) และความยาวราก (เซนติเมตร)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1 ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับประเทศ

2 ได้กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นกล้าของมะละกอด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อให้ได้ต้นกล้าที่มีคุณภาพดี มีความสม่ำเสมอ ปลอดโรค และมีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร

กรอบแนวคิดโครงการวิจัย



ภาพ 1 กรอบแนวคิดในการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดและชักนำรากของมะละกอโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางพฤษศาสตร์และคุณค่าทางโภชนาการของมะละกอ

มะละกอ (*Carica papaya* L.) เส้นรอบวงของลำต้นประมาณ 18–20 เซนติเมตร ลำต้นมีสีน้ำตาลออกขาว ผิวลำต้นเรียบ ใบเดี่ยว การเรียงตัวของเส้นใบเป็นแบบร่างแหนิ้วมือ ปลายใบแหลม โคนใบรูปเงี่ยงใบหอก ขอบใบแฉกแบบนิ้วมือ เนื้อใบคล้ายกระดาษ ใบเรียงแบบตรงข้ามสลับตั้งฉาก ด้านบนแผ่นใบเกลี้ยง ใบกว้างประมาณ 25–60 เซนติเมตร ยาวประมาณ 36–72 เซนติเมตร ดอกเป็นช่อกระจุก ดอกเพศผู้และเพศเมียอยู่ต่างต้นกัน ดอกเพศผู้มีลักษณะกลีบดอกในตาดอกเรียงเวียน ดอกสมมาตรตามรัศมี วงกลีบดอกเชื่อมติดกันรูปดอกเข็ม กลีบดอกสีขาว กลีบดอก 5 กลีบ กลีบเลี้ยง 5 กลีบ และเกสรตัวผู้ 5 อัน ส่วนดอกเพศเมียมีลักษณะกลีบดอกในตาดอกเรียงเวียน ดอกสมมาตรตามรัศมี กลีบดอกแยกจากกัน กลีบดอกสีขาวเหลือง กลีบดอก 5 กลีบ กลีบเลี้ยง 5 กลีบ และเกสรตัวเมีย 5 อัน ผลมีเนื้อหลายเมล็ด ผลอ่อนสีเขียว ผลสุกสีส้มเหลือง ผลแก่สีส้ม เมล็ดมีจำนวนมาก รูปไข่ สีน้ำตาล ผิวขรุขระมีถุงเมือกหุ้ม (สถาบันวิจัยและพัฒนาชายแดนภาคใต้, 2559) มะละกอเป็นผลไม้ที่ประกอบไปด้วยสารอาหารนานาชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ไม่มีไขมันหรือคอเลสเตอรอล แคลอรี่ต่ำ และยังเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของวิตามินเอ วิตามินซี โพแทสเซียม โฟเลต และเส้นใยอาหาร (มหาวิทยาลัยมหิดล, 2560) นอกจากนี้ ในมะละกอยังมีสารพาเพน (Papain) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน จึงเป็นผลดีต่อกระบวนการย่อยสลายอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ และมีสารคาร์เพน (Carpain) ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าทำลายปรสิต และส่งผลดีต่อระบบประสาท (Dupagne and Hewitt, 2016) ผลและใบของมะละกอจึงมีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านต่าง ๆ และยังสามารถนำมาใช้รักษาบรรเทาอาการป่วยบางชนิดได้ เช่น ช่วยให้ประสาทผ่อนคลาย ช่วยขับปัสสาวะ ป้องกันและรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร การติดเชื้อและโรคพยาธิในลำไส้ และอาการปวดเส้นประสาทเนื่องจากมีหนอนพยาธิในระบบน้ำเหลือง (กรมประชาสัมพันธ์, 2565) มะละกอยังเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของหลายประเทศ เนื่องจากสามารถบริโภคได้ทั้งในรูปของผลดิบและผลสุก ในประเทศมีปริมาณผลผลิตเฉลี่ยปีละประมาณสองถึงสามแสนตัน ในปัจจุบันพื้นที่การปลูกมะละกอลดลงทุกปี เนื่องจากการผลิตมะละกอในหลายพื้นที่ประสบปัญหาการระบาดของโรคจุดวงแหวน ดังนั้นการพัฒนาสายพันธุ์

และการผลิตแหล่งพันธุ์มะละกอที่มีคุณภาพจึงมีความสำคัญต่อการผลิตมะละกอเป็นอย่างมาก (คิวยีลด์, 2563; มงคล ต๊ะอุ่น, และคณะ 2546)

การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การขยายพันธุ์มะละกอด้วยเมล็ดมีอัตราการงอกที่ค่อนข้างต่ำ แม้จะเป็นวิธีการที่นิยมใช้เพื่อปลูกและการผลิตมะละกอโดยทั่วไป แต่ในปัจจุบันวิธีการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในประเทศไทยได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก สามารถใช้ผลิตต้นพืชได้อย่างเพียงพอต่อการปลูกเชิงพาณิชย์ และมีต้นทุนที่ไม่แพง จึงเป็นอีกทางเลือกที่ใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณพืชให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว และได้ต้นพืชที่มีความสม่ำเสมอ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นการนำชิ้นส่วนของพืช เช่น ยอด เนื้อเยื่อเจริญ ตา เนื้อเยื่อหรือเซลล์พืชมาฟอกฆ่าเชื้อ และเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะควบคุม ซึ่งการฟอกฆ่าเชื้อที่พื้นผิวพืชโดยทั่วไปสามารถทำได้หลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการฟอกหรือล้างด้วยแอลกอฮอล์ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (คลอร็อกซ์) เป็นต้น (Trigiano and Gray, 1999) โดยการขยายพันธุ์หรือการเพิ่มจำนวน (Multiplication) จะเป็นขั้นตอนที่สำคัญหลังจากการฟอกชิ้นส่วนของพืชเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเรียบร้อยแล้ว

สูตรอาหารสังเคราะห์เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อหรือยอด (Anderson, 1980; Driver and Kuniyuki, 1984; Lloyd and McCown, 1980; Murashige and Skoog, 1962) ซึ่งสูตรอาหารสังเคราะห์ประกอบด้วยองค์ประกอบต่าง ๆ (ณัฏฐากร เสมสันทัด, 2552) ดังนี้

<u>ธาตุอาหาร</u>

ธาตุอาหารพืชเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืช ประกอบด้วย 17 ธาตุ ได้แก่ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) กำมะถัน (S) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) โบรอน (B) โมลิบดีนัม (Mo) คลอรีน (Cl) และนิเกิล (Ni) (ชนากานต์, 2557) ซึ่งการแบ่งกลุ่มของธาตุอาหารพืชมี 2 กลุ่ม ดังนี้

มหธาตุ (Macronutrient elements) หรือธาตุอาหารมหัพภาค คือ ธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมาก พืชไม่สามารถขาดได้ มีจำนวน 9 ธาตุ ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารโดยน้ำหนักแห้งเมื่อพืชเจริญเติบโตเต็มวัยสูงกว่า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้แก่ C, H, O ซึ่งได้จากน้ำและอากาศ อีกทั้ง N, P, K, Ca, Mg และ S

จุลธาตุ (Micronutrient elements) คือ ธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อย มีจำนวน 8 ธาตุ โดยที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารโดยน้ำหนักแห้งเมื่อพืชเจริญเติบโตเต็มวัยต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้แก่ Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Cl และ Ni

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชหรือฮอร์โมนเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสามารถลำเลียงไปยังอวัยวะเป้าหมายได้ในปริมาณน้อย แต่ส่งผลในด้านการส่งเสริมหรือยับยั้งการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาพืช พืชสร้างฮอร์โมนได้น้อย แต่มีปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นจึงมีการสกัดสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืชนำมาฉีดพ่นให้ต้นพืช เพื่อให้พืชมีลักษณะตามที่ต้องการ จึงได้มีการบัญญัติศัพท์ทางวิชาการขึ้นมาว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulators) โดยมีคุณสมบัติในการกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชได้ ซึ่งการเติบโตของพืชในทุกขั้นตอนล้วนแล้วแต่ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนทั้งสิ้น โดยปัจจุบันสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแบ่งตามคุณสมบัติที่มีต่อพืช 5 กลุ่ม คือ ออกซิน (Auxin) ไซโตไคนิน (Cytokinin) จิบเบอเรลลิน (Gibberellin) กรดแอบซิซิก (Abscisic acid) และเอทธิลีน (Ethylene)

วิตามิน

พืชสามารถสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ แต่เซลล์พืชที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องการวิตามินเพิ่ม โดยเฉพาะวิตามินบี 1 เพื่อช่วยในการพัฒนาให้พืชเป็นปกติ โดยวิตามินที่ใช้ เช่น วิตามินบี 1 (Thiamine 0.1–0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) วิตามินบี 5 (Pantothenic acid 0.5–2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) วิตามินเอ็ม (Folic acid 0.1–0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) วิตามินบี 2 (Riboflavin 0.1–10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) วิตามินเอช (Biotin 0.01–1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) และวิตามินอี (Tocopherol 1–50 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่วิตามินในอาหารสังเคราะห์นั้นมีเพียง Thiamine–HCl เท่านั้นที่มีความจำเป็น และเป็นที่ต้องการในการเจริญเติบโตหรือการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (Morphogenesis)

น้ำตาล

น้ำตาลเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารทุกสูตร เป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นมากต่อการเจริญเติบโต เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชยังไม่สามารถสังเคราะห์แสง หรือสามารถสังเคราะห์แสงในอัตราที่ต่ำ เพราะได้รับแสงน้อย และมีปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด น้ำตาลที่นิยมใช้ คือ ซูโครส (Sucrose) ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่พืชสังเคราะห์ได้เอง และมีความจำเป็นอย่างมากต่อเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิด โดยปกติมักใช้ในปริมาณ 1–5% และมีหลักฐานชี้ว่าการสร้างสารเมตาโบไลท์บางชนิดในเนื้อเยื่อที่เลี้ยงเป็นผลมาจากความเข้มข้นของซูโครส สำหรับน้ำตาล

ชนิดอื่น เช่น กลูโคส (Glucose) และฟรุคโตส (Fructose) ที่มีการใช้บ้าง ซึ่งปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของพืช โดยทั่วไปพืชจะเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อได้รับปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง หลังจากนั้นการเพิ่มปริมาณน้ำตาลจะไม่เป็นผลต่อต้นพืช อีกทั้งยังทำให้ต้นพืชลดการเจริญเติบโตได้ด้วย ซึ่งน้ำตาลจะเปลี่ยนรูปได้เมื่อถูกนึ่งฆ่าเชื้อ นอกจากนี้น้ำตาลโพลิแซ็คคาไรด์อาจเปลี่ยนเป็นโมโนแซ็กคาไรด์เมื่อเกิดการแยกสลายด้วยน้ำ (Hydrolysis)

<u>วุ้น (Agar)</u>

เนื้อเยื่อพืชส่วนมากจะเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีวุ้น ซึ่งมีหน้าที่ช่วยพยุงเนื้อเยื่อให้ตั้งอยู่ได้บนอาหาร ในกรณีที่เลี้ยงในอาหารเหลวจะวางบนเครื่องเขย่าหรือเลี้ยงบนสะพานกระดาษกรอง (Filter paper bridge) เพื่อให้เนื้อเยื่อได้รับอากาศเพียงพอ วุ้นเป็นส่วนประกอบของอาหารสังเคราะห์ที่แพงที่สุด ผลิตจากสาหร่ายทะเล ทำให้อาหารแข็งตัว วุ้นเป็นโพลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) มีโมเลกุลใหญ่ วุ้นที่มีคุณภาพสูง เช่น Difcoitek agar ซึ่งมีราคาแพงที่สุดและปราศจากสิ่งเจือปน ในห้องปฏิบัติการบางแห่งใช้วุ้นประกอบอาหารแทนได้ วุ้นจาก Difco bacto มักใช้ในปริมาณ 0.6–1.0% เหมาะสำหรับการเลี้ยงแคลลัส ส่วนอะกาโรสเจล (Agarose gel) หรือวุ้นสังเคราะห์ใช้เลี้ยงเซลล์เดี่ยวหรือโพรโทพลาสต์ วุ้นสังเคราะห์เหล่านี้จะทำให้เกิดปัญหาการฉ่ำน้ำ (Vitrification) ของเนื้อเยื่อพืชได้

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และการเพิ่มปริมาณต้นพันพันธุ์ที่ได้ โดยในปัจจุบันมีสูตรอาหารที่นิยมใช้หลายสูตรสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลากหลายสปีชีส์หรือพันธุ์ (Cultivars) โดยทั่วไปธาตุอาหารพืช (Mineral nutrition) เป็นส่วนประกอบอย่างหนึ่งในอาหารที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช การศึกษาผลของธาตุอาหารและการปรับปริมาณธาตุอาหารในยุคเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะใช้วิธีการแบบดั้งเดิมหรือ Aclassical approach โดยการใช้การออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) เป็นแผนการทดลองที่มีลักษณะง่าย เหมาะสำหรับหน่วยทดลองที่มีความสม่ำเสมอมาก หน่วยทดลองมีโอกาสได้รับทรีทเมนต์ใดทรีทเมนต์หนึ่งเท่ากัน แผนการทดลองเช่นนี้นิยมใช้ทดลองในห้องปฏิบัติการหรือเรือนทดลอง เพื่อทดสอบปัจจัยที่สนใจศึกษาโดยทำการทดสอบได้เพียงทีละหนึ่งถึงสองปัจจัยต่อหนึ่งการทดลอง โดยสูตรอาหารที่เป็นที่รู้จักในยุคเริ่มแรก และได้รับการพัฒนาโดยวิธีการศึกษาแบบนี้ ได้แก่ อาหารสูตร Murashige and Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM) และ Driver and Kuniyuki Walnut (DKW) (Driver and Kuniyuki, 1984; Lloyd and McCown, 1980; Murashige and Skoog, 1962) วิธีการนี้จะค่อนข้างจะไม่แม่นยำ เพราะการทำการทดลองเรื่องธาตุอาหาร ถ้าเปลี่ยนความเข้มข้นของธาตุ

ตัวใดตัวหนึ่งไปความต้องการธาตุอาหารตัวอื่น ๆ ก็อาจจะเปลี่ยนแปลงไปด้วยเช่นกัน เพราะการทดลองที่แยกธาตุอาหารเป็นทีละปัจจัยต่อการทดลองอาจจะไม่สอดคล้องกับความต้องการใช้ธาตุอาหารของพืชอย่างแท้จริง ในยุคปัจจุบันที่เทคโนโลยีและคอมพิวเตอร์ได้ถูกพัฒนามาอย่างก้าวหน้าและทันสมัยมากขึ้น การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็สามารถสร้างการศึกษาเพื่อพัฒนาสูตรอาหารอย่างมีระบบมากขึ้น (A systematic approach) เพื่อที่จะศึกษาผลของธาตุอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลปฏิสัมพันธ์ของธาตุอาหารที่ใช้ในการพัฒนาสูตรอาหาร ด้วยวิธีการสร้างรูปแบบการตอบสนองต่อหลายปัจจัยหรือธาตุอาหารหลายกลุ่มที่ได้จากการคำนวณความสัมพันธ์ตามหลักคณิตศาสตร์ วิธีการแสดงผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิวหรือ Response Surface Methodology (RSM) เป็นการออกแบบการทดลองอย่างหนึ่งที่สามารถทำได้ในเชิงปฏิบัติและมีประโยชน์ในการที่จะศึกษาผลของปัจจัยการทดลองที่มากกว่าสองปัจจัยขึ้นไปในการทำการทดลองหนึ่งครั้ง และเป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการสร้างแบบจำลอง (Model) และวิเคราะห์ผลซึ่งแสดงผลการตอบสนองหรือค่าตัวแปรตาม อันเป็นผลมาจากตัวแปรต้นต่าง ๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุดหรือระดับความเหมาะสมของตัวแปรต้นต่อค่าตัวแปรตามนั้น เมื่อทำการประมวลผลด้วยโปรแกรมทางสถิติจะสามารถสร้างกราฟโครงร่าง (Contour plot) และกราฟพื้นผิวตอบสนอง (Surface plot) (Montgomery, 2017) ในการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงได้มีการประยุกต์ใช้ RSM เพื่อศึกษาผลขององค์ประกอบที่สำคัญในอาหารเป็นปัจจัยการทดลองแล้วสร้างแบบจำลองในการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหาร หรือปัจจัยอื่น ๆ และการเจริญเติบโตของพืช (Halloran and Adelberg, 2011; Niedz and Evens, 2007; Niedz and Evens, 2008; Niedz, et al. 2014; Poothong and Reed, 2014; Reed, et al. 2013)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีขั้นตอนสุดท้าย คือ การย้ายปลูก (Transplantation) ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายของการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยทั่วไปก่อนการย้ายปลูกต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องทำการปรับสภาพ หรือที่เรียกว่า Acclimatization กระบวนการนี้เป็นการให้ต้นพันธุ์พืชค่อย ๆ ปรับสภาพให้คุ้นเคยต่อการที่ต้องเจริญเติบโตในที่ที่มีแสงและอุณหภูมิสูงขึ้น แต่มีความชื้นต่ำลง การขยายพันธุ์มะละกอด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้ทั้งแบบที่เป็นการชักนำการเกิดกระบวนการออร์แกนโนเจเนซีส (Organogenesis) ซึ่งเป็นวิธีการเพิ่มปริมาณต้นพืชที่คล้ายคลึงกับการปักชำทำได้ทั้งแบบที่ได้จากการนำชิ้นส่วนพืชไปชักนำให้เกิดยอดโดยตรง หรืออาจทำการชักนำการเกิดยอดผ่านชิ้นส่วนแคลลัสก่อน นอกจากนี้การเพิ่มจำนวนต้นมะละกอด้วยเทคนิคการ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถทำได้ด้วยการชักนำการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซีส ซึ่งจะได้เอ็มบริออยด์ที่มีโครงสร้างการพัฒนาของเนื้อเยื่อคล้ายกับเอ็มบริโอที่เจริญอยู่ในเมล็ดที่ได้มาจากการปฏิสนธิ

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการทดลองของ Nas และ Read (2004) ได้พัฒนาสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเฮเซลนัท (Hazelnut culture medium) โดยการทดสอบอาหารที่มีการปรับเปลี่ยนธาตุอาหารและสารประกอบอินทรีย์ จากการศึกษาการเจริญเติบโตของยอดลูกผสมเฮเซลนัท (*Corylus americana* x *Corylus avellana*) บนอาหารที่พัฒนามาจากอาหารสูตร MS, DKW, NN และ WPM พบว่า เมล็ดพืชมีการยืดยาวของยอดที่ได้และมีการเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุดบนอาหาร Nas and Read medium ซึ่งเป็นสูตรที่มีธาตุอาหารบางตัวสูงกว่าที่มีการใช้ในอาหารสูตรพื้นฐาน โดยมีความเข้มข้นของแมกนีเซียมซัลเฟตเพิ่มสูงเป็นสี่เท่า ($4\times MgSO_4.H_2O$) มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดฟอสเฟตเพิ่มสูงเป็นแปดเท่า ($8\times KH_2PO_4$) และมีความเข้มข้นของคอบเปอร์ซัลเฟตเพิ่มสูงเป็นหนึ่งร้อยเท่า ($100\times CuSO_4.5H_2O$) เมื่อเทียบความเข้มข้นของเกลือโดยใช้สูตรอาหาร MS เป็นสูตรพื้นฐาน (Nas and Read, 2004) ซึ่งจากงานวิจัยของ Niedz และ Evens (2007) ที่ได้ศึกษาผลของธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสของส้ม (Sweet orange) [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck 'Valencia'] โดยมีห้ากลุ่มของธาตุอาหารที่ใช้อาหารพื้นฐานสูตร MS ซึ่งประกอบไปด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช 14 ตัว เป็นปัจจัยการทดลองที่ถูกออกแบบชุดการทดลองโดยการใช้เทคนิค RSM (Niedz and Evens, 2007) จากการศึกษาผลการเจริญเติบโตของแคลลัส พบว่า มีค่าเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้นภายหลังการเพาะเลี้ยงไปได้สองสัปดาห์ และแอมโมเนียม ไนเตรต (NH_4NO_3) และธาตุเหล็ก (Fe) เป็นธาตุอาหารซึ่งเป็นองค์ประกอบในอาหารที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่สุด เพราะเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของปัจจัยทั้งสองการเจริญเติบโตของแคลลัสจะลดลง (Niedz and Evens, 2007) ต่อมา Brito และ Santos (2009) ได้ทำการปรับสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงมะกอก *Olea maderensis* (Lowe) Rivas Mart. และ del Arco โดยเริ่มต้นจากการปรับอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมะกอก (Olive medium หรือ OM) พบว่า การปรับเพิ่มความเข้มข้นของธาตุเหล็ก แมงกานีส และแมกนีเซียม เป็นสองเท่าจะสามารถช่วยให้ต้นมะกอกที่ได้มีลักษณะที่แข็งแรง และมีใบสีเขียวมากขึ้น ซึ่งน่าจะส่งผลไปถึงกระบวนการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ยังพบว่า ยอดใหม่ที่ได้ยังมีการยืดยาว (Shoot elongation) และการเพิ่มจำนวนยอด (Shoot multiplication) ได้ดีที่สุด

เมื่อเทียบกับอาหารสูตร OM (Brito and Santos, 2009) จากงานของ Halloran และ Adelberg (2011) ได้ทดลองใช้ A D-optimal design space ซึ่งเป็นโปรแกรมที่คล้ายคลึงกับ RSM เพื่อที่จะศึกษาผลของธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) ต่อการเจริญเติบโตของขมิ้น (*Curcuma longa* L.) ร่วมกับการปรับปริมาตรของอาหารที่ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และจำนวนของพืชที่เริ่มต้นเพาะเลี้ยงในอาหาร จากผลการศึกษาพบว่า การใช้พืชปลูกให้มีความหนาแน่นน้อย หรือใช้จำนวนพืชที่เริ่มต้นเพาะเลี้ยงในอาหารน้อย สัดส่วนของแอมโมเนียม (NH_4^+) ต่อโพแทสเซียม (K^+) ในอัตราส่วน 1:1 ร่วมกับการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักจะทำให้การขยายพันธุ์หรือการเพิ่มจำนวน (Shoot multiplication) และอัตราการอยู่รอดภายหลังการย้ายปลูกสูงขึ้น จากการศึกษาการดูดซึมธาตุอาหารภายในต้นพืช พบว่า แอมโมเนียม ไนเตรท และโพแทสเซียม มีผลเล็กน้อยต่อคุณภาพของต้นพันธุ์ที่ได้ ซึ่งจากผลที่ได้สามารถสะท้อนให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช (Mineral modification) และการดูดซึมหรือการนำธาตุอาหารไปใช้ประโยชน์ (Mineral utilization) การเพิ่มขึ้นของฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม และแมงกานีส (P, Ca, Mg และ Mn) มีส่วนช่วยในการเพิ่มปริมาณยอดใหม่ที่ได้ และยังส่งผลต่อคุณภาพของต้นกล้าภายหลังการย้ายปลูกและการปรับสภาพต้นกล้าในโรงเรือน (Acclimatization) (Halloran and Adelberg, 2011) ส่วน Greenway et al. (2012) ได้ทำการประเมินผลของสูตรอาหาร MS และ B5 เปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ได้มีการปรับสูตรของธาตุอาหารเพื่อใช้ในการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชต่างสปีชีส์ (ข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลือง ฝ้าย หัวหอม ยาสูบ องุ่น ราสพ์เบอรี่ และ เยอบีร่า) โดยได้พิจารณาผลของการปรับธาตุอาหารต่อการสร้างแคลลัส การสร้างพืชจากกลุ่มเนื้อเยื่อ (Plant regeneration) การเพิ่มจำนวน (Multiplication) การสร้างราก (Root formation) และการสร้างสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite production) (Greenway, et al. 2012) จากผลการศึกษาพบว่า มีช่วงกว้างของการตอบสนองของการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อขึ้นอยู่กับชนิดพืชแต่โดยรวมผลการศึกษาสะท้อนให้เห็นถึงความสำคัญและความจำเป็นของการปรับธาตุอาหารเพื่อการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Greenway et al. 2012) ในปี 2013 Reed et al. ได้ทำการศึกษาการปรับธาตุอาหารในอาหารสูตร MS ซึ่งเป็นสูตรอาหารพื้นฐานที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไป พบว่า สามารถพัฒนาการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มลูกแพร์ (Pears) ได้ โดยการใช้ RSM ในการออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ โดยสูตรธาตุอาหาร MS (MS Salt formulation) ไม่ได้เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงลูกแพร์ และมีการตอบสนองที่หลากหลายของสายพันธุ์แพร์ที่ได้มีการรวบรวมพันธุกรรมทั้งในด้านคุณภาพโดยรวม (Overall quality) การยืดยาว และ

การเพิ่มจำนวนของยอด (Shoot elongation and Multiplication) (Reed et al. 2013) โดยธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในปริมาณที่ไม่มากหรือน้อยจะถูกเรียกว่า Mesos ซึ่งเป็นกลุ่มของ $CaCl_2$, $MgSO_4$ และ KH_2PO_4 มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและคุณภาพของต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยพบว่า การเพาะเลี้ยงต้นพันธุ์ของแพร์บนอาหารสูตรที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของ Mesos จะมีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของ NH_4NO_3 มีแนวโน้มที่จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของยอด (Reed et al. 2013) ในการทำแบบจำลองการตอบสนองหรือการเจริญเติบโตของราสพ์เบอรี่ที่ถูกสร้างโดยหลัก Polynomial regression analysis ที่ได้จากการใช้ RSM จากการศึกษาของ Poothong and Reed (2014) ซึ่งเป็นการทดลองที่ใช้ทดสอบผลของธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับพืชทั้งหมด โดยจะแบ่งธาตุเหล่านี้ออกเป็น 5 กลุ่มหลัก และทำการทดสอบผลของกลุ่มธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของต้นพันธุ์เพื่อบ่งชี้ว่ากลุ่มของธาตุอาหารใดเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อราสพ์เบอรี่ จากการทดลองครั้งนี้ พบว่า การใช้เทคนิค RSM สามารถช่วยกำหนดหรือบ่งชี้ได้ว่า Mesos เป็นกลุ่มของธาตุอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นพันธุ์ราสพ์เบอรี่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากที่สุด (Poothong and Reed, 2014)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคที่เริ่มต้นด้วยการนำชิ้นส่วนของพืชมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชบนอาหารสังเคราะห์ที่มีสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตครบถ้วน และเจริญเติบโตในภาชนะปิด โดยการเพาะเลี้ยงที่มีการให้แสงร่วมกับการให้แหล่งคาร์บอนในอาหารสังเคราะห์เรียกว่าโฟโตมิกโซโทรฟิก (Photomixotrophic) จากการศึกษาพบว่า การเติมน้ำตาลซูโครสลงในอาหารสังเคราะห์ก่อให้เกิดการเจริญเติบโตทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติไปในช่วงการเพิ่มปริมาณต้น แต่การเติมซูโครสลงในอาหารสังเคราะห์ช่วยให้อัตราการรอดเมื่อทำการย้ายปลูกสูงขึ้น (Xiao, Niu and Kozai, 2011) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) จะเป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติมแหล่งคาร์บอนลงในอาหารสังเคราะห์หรือเติมในปริมาณน้อย จะสามารถชักนำหรือส่งเสริมให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ปกติ จากการศึกษาของ Martins et al. (2015) พบว่า การใช้ภาชนะที่ยอมให้ก๊าซแพร่ผ่านได้ร่วมกับการศึกษาผลของการปรับปริมาณน้ำตาลซูโครสในอาหารสังเคราะห์มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตราก โดยต้นพืชที่เพาะเลี้ยงในภาชนะที่มีอากาศผ่านเข้าออกและไม่มีน้ำตาลบนอาหารสังเคราะห์มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด และมีปริมาณการเกิดรากที่มากที่สุดด้วย (Martins, et al. 2015)

มีรายงานตั้งแต่ ปี 1978 เป็นต้นมาว่า มีการชักนำการเกิดต้นใหม่ของมะละกอได้ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Litz, RE and RA, 1978) ต่อมา Hossain et al. (1993) (Hossain, et al. 1993) ได้รายงานความสำเร็จของการชักนำการเกิดยอดโดยอ้อมจากก้านใบของมะละกอผ่านการชักนำการเกิดแคลลัส โดยการเพาะเลี้ยงก้านใบบนอาหารสูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.5–10.5 µM Naphthalene acetic acid (NAA) ร่วมกับ 0.5–5 µM Benzyl adenine (BA) จากนั้นนำแคลลัสที่มีลักษณะสีเขียวย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 µM ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 2 µM ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด จากนั้นนำยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อให้ยอดมีการยืดยาวของลำต้นต่อไป ต่อมาได้มีงานวิจัยอีกมากมายที่ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงมะละกอภายใต้สภาพปลอดเชื้อที่ใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นสูตรธาตุอาหารพื้นฐาน โดยทำการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มไซโตไคนินเพื่อชักนำการเกิดยอด โดยส่วนใหญ่จะพบว่า 6–Benzylaminopurine (BAP) หรือ BA และ Kinetin เป็นสารไซโตไคนินที่นิยมใช้ในการชักนำการเพิ่มจำนวนยอด ในขณะที่การชักนำการเกิดรากจะนิยมใช้สารในกลุ่มออกซิน ไม่ว่าจะเป็น Indole acetic acid (IAA) Indole–3–butyric acid (IBA) และ 1–Naphthalene acetic acid (NAA) ซึ่งความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้จะขึ้นอยู่กับพันธุ์ของมะละกอและวัตถุประสงค์ของงานวิจัย โดยชิ้นส่วนพืชที่นิยมใช้ในการศึกษา ได้แก่ ยอด ปลายยอด เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอด ใบ ก้านใบ เป็นต้น (Fitch, 2005) นอกเหนือไปจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณต้นพืชโดยการชักนำให้เกิดยอดใหม่แล้ว เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัส และการชักนำการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซีส (Somatic embryogenesis) หรือการเกิดเอ็มบริโอจากเซลล์ร่างกายได้

การเพิ่มจำนวนต้นพืชโดยการเพิ่มจำนวนยอดหรือการผลิตเอ็มบริออยด์สามารถนำไปใช้ในการผลิตเมล็ดเทียมต่อไปได้ ซึ่งการผลิตเมล็ดเทียมเป็นอีกรูปแบบหนึ่งของการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาเพื่อช่วยในการขยายพันธุ์พืชที่ยังมีข้อจำกัดอันจะส่งผลต่อการผลิต โดยการผลิตเมล็ดเทียม หมายถึง เมล็ดที่ไม่ได้เกิดจากการปฏิสนธิของไข่และสเปิร์ม แต่เป็นการใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์มาช่วยเพื่อสร้างเอ็มบริออยด์หรือโครงสร้างที่เหมือนเอ็มบริโอ ในขั้นตอนการผลิตเมล็ดเทียมจะเริ่มต้นจากการนำชิ้นส่วนของพืชมาเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้เอ็มบริออยด์จำนวนมากและเพียงพอต่อการผลิตเมล็ดเทียม จากนั้นก็นำเอ็มบริออยด์ไปผสมในอาหารเหลวที่มีการเติมธาตุอาหาร สารประกอบอินทรีย์ หรือแม้แต่

ฮอร์โมนพืชที่จำเป็นต่อการงอกและการพัฒนาของเอ็มบริออยด์ จากนั้นทำการเคลือบ และทำให้เอ็มบริออยด์ถูกห่อหุ้มด้วยเปลือกเมล็ดเทียมผ่านกระบวนการทำให้เกิดเป็นเม็ด หรือที่เรียกว่า Encapsulation โดยใช้สารที่ทำให้เกิดเจล เช่น โซเดียมอัลจีเนต เป็นต้น ในปัจจุบันมีการนำเทคนิคการทำเมล็ดเทียมไปประยุกต์ใช้เพื่อขยายพันธุ์พืชที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณด้วยวิธีการเพาะเมล็ดตามธรรมชาติ หรือแม้แต่การผลิตเมล็ดเทียมในกลุ่มพืชเศรษฐกิจที่มีความต้องการในการใช้ต้นพันธุ์จำนวนมาก และต้องการลักษณะของต้นใหม่ที่เหมือนต้นพันธุ์เดิมทุกประการ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการทำเมล็ดเทียมเพื่อใช้ในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชที่สามารถประหยัดพื้นที่การจัดเก็บได้เป็นอย่างดี การวิจัยทางด้านการผลิตเมล็ดเทียมมักทำวิจัยควบคู่มาพร้อมกับการศึกษาการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซีสหรือการเกิดยอด จากการศึกษาของ Cangahuala–Inocente et al. (2007) พบว่า สามารถทำการชักนำการเกิดเอ็มบริออยด์ได้โดยทำการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของต้นพืชบนอาหารสูตร LPm ที่มีการเติม Glutamic acid ที่ความเข้มข้น 8 mM ร่วมกับการใช้ 2,4–D ที่ความเข้มข้น 20 µM โดยการทำให้เกิดเป็นเมล็ดจะใช้ Pregerminated somatic embryos ในอาหารที่มีการเติมโซเดียมอัลจีเนตที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 0.5 µM ร่วมกับ GA_3 ที่ความเข้มข้น 1 µM (Cangahuala–Inocente, et al. 2007) ในปี 2012 Krishna and Thomas (2012) ได้พัฒนาเทคนิคการชักนำการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซีสของต้นอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) โดยชักนำการเกิดแคลลัสที่มีศักยภาพในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเอ็มบริออยด์ได้ จากการใช้ชิ้นส่วนของใบเลี้ยงมาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม 2,4–D ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำแคลลัสที่ได้ไปทำการชักนำให้เกิดเอ็มบริออยด์ เป็นเวลา 45 วัน ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า แคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดแคลลัสดีที่สุด โดยในขั้นตอนการทำเมล็ดเทียมได้ใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 3% เติม BA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้โซเดียมอัลจีเนตที่ความเข้มข้น 4% ทำการหยดเมล็ดเทียมลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 100 mM อย่างไรก็ตามการศึกษาการผลิตเมล็ดเทียมในพืชต่างชนิดย่อมจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้เทคนิคหรือวิธีการที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดต่อไป (Krishna and Thomas, 2012)

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

การศึกษาการฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ

นำเมล็ดมะละกอสายพันธุ์แขกดำที่ได้มาจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษมาทำการแกะเปลือกหุ้มเมล็ดมะละกอออก แล้วมาทำ Pre-treatment 2 แบบ คือ 1) การแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง และ 2) การแช่ด้วยน้ำเปล่า นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาฟอกด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ Mercuric chloride (HgCl) ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 และ 15 นาที และ Sodium hypochloride (NaOCl) ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชไปล้างด้วยน้ำ Distilled (DI) water จำนวน 3 ครั้ง โดยในขั้นตอนนี้ให้ทำภายใต้สภาพปลอดเชื้อในตู้ย้ายเนื้อเยื่อพืช แล้วนำเมล็ดมะละกอไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างกัน ได้แก่ MS, 1/2MS, MS + GA_3 และ 1/2MS + GA_3 โดยใช้ GA_3 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 1) เพื่อชักนำการงอกของเมล็ดมะละกอ แล้วเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชไว้ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่ทำการควบคุมความเข้มแสงที่ 1,000-2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน และควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน จากนั้นบันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกและการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ในวันที่ 30, 45 และ 60 ภายหลังการเพาะเลี้ยงเมล็ดมะละกอ โดยในการทดลองครั้งนี้ได้มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) มีทั้งหมด 24 กรรมวิธี ๆ ละ 10 ซ้ำ (ขวด) ในแต่ละซ้ำมี 10 เมล็ด

เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน คำนวณได้จากสมการ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน} = \frac{\text{ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการปนเปื้อน}}{\text{จำนวนขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งหมด}} \times 100$$

เปอร์เซ็นต์การงอก คำนวณได้จากสมการ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่มีงอก}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

ตาราง 1 แสดงกรรมวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอ

Treatment (Trt.)	Pre-treatment	กรรมวิธีในการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอ	สูตรอาหารสังเคราะห์
1	แช่เมล็ดมะละกอที่ทำการแกะเปลือกออกด้วย Gibberellic acid (GA_3) ที่ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง	0.1% mercuric chloride (HgCl) นาน 10 นาที	MS
2			1/2MS
3			MS + GA_3
4			1/2MS + GA_3
5		0.1% mercuric chloride (HgCl) นาน 15 นาที	MS
6			1/2MS
7			MS + GA_3
8			1/2MS + GA_3
9		4.5% sodium hypochlorite (NaOCl) นาน 10 นาที	MS
10			1/2MS
11			MS + GA_3
12			1/2MS + GA_3
13	แช่เมล็ดมะละกอที่ทำการแกะเปลือกออกด้วยน้ำเปล่า นาน 24 ชั่วโมง	0.1% mercuric chloride (HgCl) นาน 10 นาที	MS
14			1/2MS
15			MS + GA_3
16			1/2MS + GA_3
17		0.1% mercuric chloride (HgCl) นาน 15 นาที	MS
18			1/2MS
19			MS + GA_3
20			1/2MS + GA_3
21		4.5% sodium hypochlorite (NaOCl) นาน 10 นาที	MS
22			1/2MS
23			MS + GA_3
24			1/2MS + GA_3

การศึกษาผลของธาตุอาหารพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อชักนำยอดของต้นมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

โดยการนำชิ้นส่วนยอดมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ ที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อโดยการแช่ GA_3 ที่ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS เมื่อได้ต้นพืชแล้วนำไปเพิ่มจำนวนยอดโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่ทำการปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารทั้งหมด 3 ความเข้มข้น คือ 0.5, 1 และ 1.5 เท่าของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับการเติม Etylenendiamine • ferric (FeNA–EDDHA) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลทั้งหมด 2 ชนิด คือ ซูโครส (Sucrose) ความเข้มข้น 3% และกลูโคส (Glucose) ความเข้มข้น 1.5% (ตาราง 2) มีทั้งหมด 12 กรรมวิธี ๆ ละ 8 ซ้ำ ๆ ละ 4 ซ้ำย่อย (ต้นพืช) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในห้องที่ควบคุมแสงที่ 16 ชั่วโมงต่อวัน และอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการบันทึกผลการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ การเกิดยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) และความสูงยอด (มิลลิเมตร) โดยใช้เครื่อง Vernier caliper เป็นเครื่องมือในการวัดความสูงยอด วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) และทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Ducan's multiple range test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ตาราง 2 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

Trt.	ความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐาน MS (×MS)	Etylenediamine · Ferric (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของน้ำตาล (%)
1	0.5	0	Sucrose 3%
2	1	0	Sucrose 3%
3	1.5	0	Sucrose 3%
4	0.5	50	Sucrose 3%
5	1	50	Sucrose 3%
6	1.5	50	Sucrose 3%
7	0.5	0	Glucose 1.5%
8	1	0	Glucose 1.5%
9	1.5	0	Glucose 1.5%
10	0.5	50	Glucose 1.5%
11	1	50	Glucose 1.5%
12	1.5	50	Glucose 1.5%

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

โดยการนำชิ้นส่วนยอดมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้งหมด 2 กลุ่ม ได้แก่ 6–Benzylaminopurine (BAP), Thidiazuron (TDZ) และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารในกลุ่มออกซิน คือ 1–Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 3) มีทั้งหมด 12 กรรมวิธี ๆ ละ 8 ซ้ำ ๆ 4 ซ้ำย่อย (ต้นพืช) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในห้องที่ควบคุมแสงที่ 16 ชั่วโมงต่อวัน และอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized

design: CRD) จากนั้นทำการบันทึกผลการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ การเกิดยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) และความสูงยอด (มิลลิเมตร) แล้วทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Ducan's multiple range test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ตาราง 3 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

Trt.	สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	BAP	TDZ	Kinetin	NAA
1	0.3	0	0	0
2	0.6	0	0	0
3	0.3	0	0	0.1
4	0.6	0	0	0.1
5	0	0.3	0	0
6	0	0.6	0	0
7	0	0.3	0	0.1
8	0	0.6	0	0.1
9	0	0	0.3	0
10	0	0	0.6	0
11	0	0	0.3	0.1
12	0	0	0.6	0.1

การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid: GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ

ทำการเพาะเลี้ยงยอดมะละกอพันธุ์แขกดำบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ทั้งหมด 3 กรรมวิธี คือ การเติม GA_3 ในขณะที่ทำอาหารสังเคราะห์ เติมภายหลังจากการต้มอาหารสังเคราะห์แล้ว และทำการ Filter GA_3 ลงบนอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยมีความเข้มข้นทั้งหมด 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตาราง 4) แล้วทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely

randomized design: CRD) จำนวน 10 ซ้ำ (ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช) โดยในแต่ละซ้ำจะมี 6 ซ้ำย่อย (ต้นพืช) ทำการบันทึกความสูงของยอด (มิลลิเมตร) และจำนวนยอด (ยอดต่อยอด) แล้วทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Ducan's multiple range test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ตาราง 4 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ

Trt.	วิธีการในการใส่ GA_3	GA_3 (มิลลิกรัมต่อลิตร)
T1	พร้อมการทำอาหารสังเคราะห์	1
T2	พร้อมการทำอาหารสังเคราะห์	2
T3	พร้อมการทำอาหารสังเคราะห์	3
T4	ภายหลังต้มอาหารสังเคราะห์	1
T5	ภายหลังต้มอาหารสังเคราะห์	2
T6	ภายหลังต้มอาหารสังเคราะห์	3
T7	Filter ภายหลังการ Auto clave	1
T8	Filter ภายหลังการ Auto clave	2
T9	Filter ภายหลังการ Auto clave	3

การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition)

ทำการเพาะเลี้ยงยอดมะละกอพันธุ์แขกดำ บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีน้ำตาล 2 ชนิด ได้แก่ Sucrose ที่ระดับความเข้มข้น 1.5, 3 และ 6% และ Glucose ที่ระดับความเข้มข้น 1, 1.5 และ 3% โดยใช้ภาชนะที่ไม่มีตัวกรอง (Filter) และภาชนะที่มี Filter ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตรซึ่งอากาศสามารถผ่านเข้าได้ ชุดการทดลองควบคุม คือ กรรมวิธีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีน้ำตาล Sucrose 3% (ตาราง 5) ทำการเพาะเลี้ยงพืชเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) จำนวน 4 ซ้ำ (ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช) ซึ่งแต่ละซ้ำจะมี 3 ซ้ำย่อย (ต้นพืช) แล้วทำการบันทึกคะแนนคุณภาพโดยรวมของยอด การเกิดยอดใหม่ ความสูงของยอด

(เซนติเมตร) และจำนวนใบต่อยอด จากนั้นทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Ducan's multiple range test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

การวัดคุณภาพโดยรวมของต้นพืช โดยมีเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

1 คะแนน หมายถึง ต้นพืชที่มีการเจริญเติบโตไม่ดี และไม่มีการเกิดยอดใหม่

2 คะแนน หมายถึง ต้นพืชที่อาจจะมีแค่การเจริญเติบโตที่ดีเพียงอย่างเดียว แต่ไม่มีการเกิดยอดใหม่ หรือต้นพืชที่มีการเกิดยอดใหม่เป็นจำนวนมาก แต่มีการเจริญเติบโตที่ไม่ดีนัก

3 คะแนน หมายถึง ต้นพืชที่มีการเจริญเติบโตได้ดี และมีการเกิดยอดใหม่เป็นจำนวนมาก

ตาราง 5 แสดงกรรมวิธีที่ใช้การทดสอบการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ

Trt.	Sucrose (%)	Glucose (%)	ภาชนะฝาแบบต่าง ๆ
1	1.5	0	ภาชนะแบบฝาปิดสนิท
2	3	0	ภาชนะแบบฝาปิดสนิท
3	6	0	ภาชนะแบบฝาปิดสนิท
4	0	1	ภาชนะแบบฝาปิดสนิท
5	0	1.5	ภาชนะแบบฝาปิดสนิท
6	0	3	ภาชนะแบบฝาปิดสนิท
7	1.5	0	ภาชนะแบบที่ฝามี Filter
8	3	0	ภาชนะแบบที่ฝามี Filter
9	6	0	ภาชนะแบบที่ฝามี Filter
10	0	1	ภาชนะแบบที่ฝามี Filter
11	0	1.5	ภาชนะแบบที่ฝามี Filter
12	0	3	ภาชนะแบบที่ฝามี Filter

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ

ทำการเพาะเลี้ยงมะละกอพันธุ์แขกดำบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินทั้งหมดสองชนิด ได้แก่ Indole-3-butyric acid (IBA) และ 1-Naphthyl acetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.3, 0.6 และ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่มีแสงสว่าง และเพาะเลี้ยงในที่มืด (ตาราง 6) ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) จำนวน 4 ซ้ำ (ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช) โดยในแต่ละซ้ำจะมี 3 ซ้ำย่อย (ต้นพืช) แล้วทำการบันทึกการเกิดราก และความยาวราก จากนั้นทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Ducan's multiple range test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ตาราง 6 แสดงกรรมวิธีที่ใช้ในการทดสอบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการชักนำการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ

Trt.	สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)		สภาพแวดล้อมที่ควบคุม
	IBA	NAA	
1	0.3	0	เพาะเลี้ยงในที่สว่าง
2	0.6	0	เพาะเลี้ยงในที่สว่าง
3	0.9	0	เพาะเลี้ยงในที่สว่าง
4	0	0.3	เพาะเลี้ยงในที่สว่าง
5	0	0.6	เพาะเลี้ยงในที่สว่าง
6	0	0.9	เพาะเลี้ยงในที่สว่าง
7	0.3	0	เพาะเลี้ยงในที่มืด
8	0.6	0	เพาะเลี้ยงในที่มืด
9	0.9	0	เพาะเลี้ยงในที่มืด
10	0	0.3	เพาะเลี้ยงในที่มืด
11	0	0.6	เพาะเลี้ยงในที่มืด
12	0	0.9	เพาะเลี้ยงในที่มืด

บทที่ 4

ผลการทดลอง

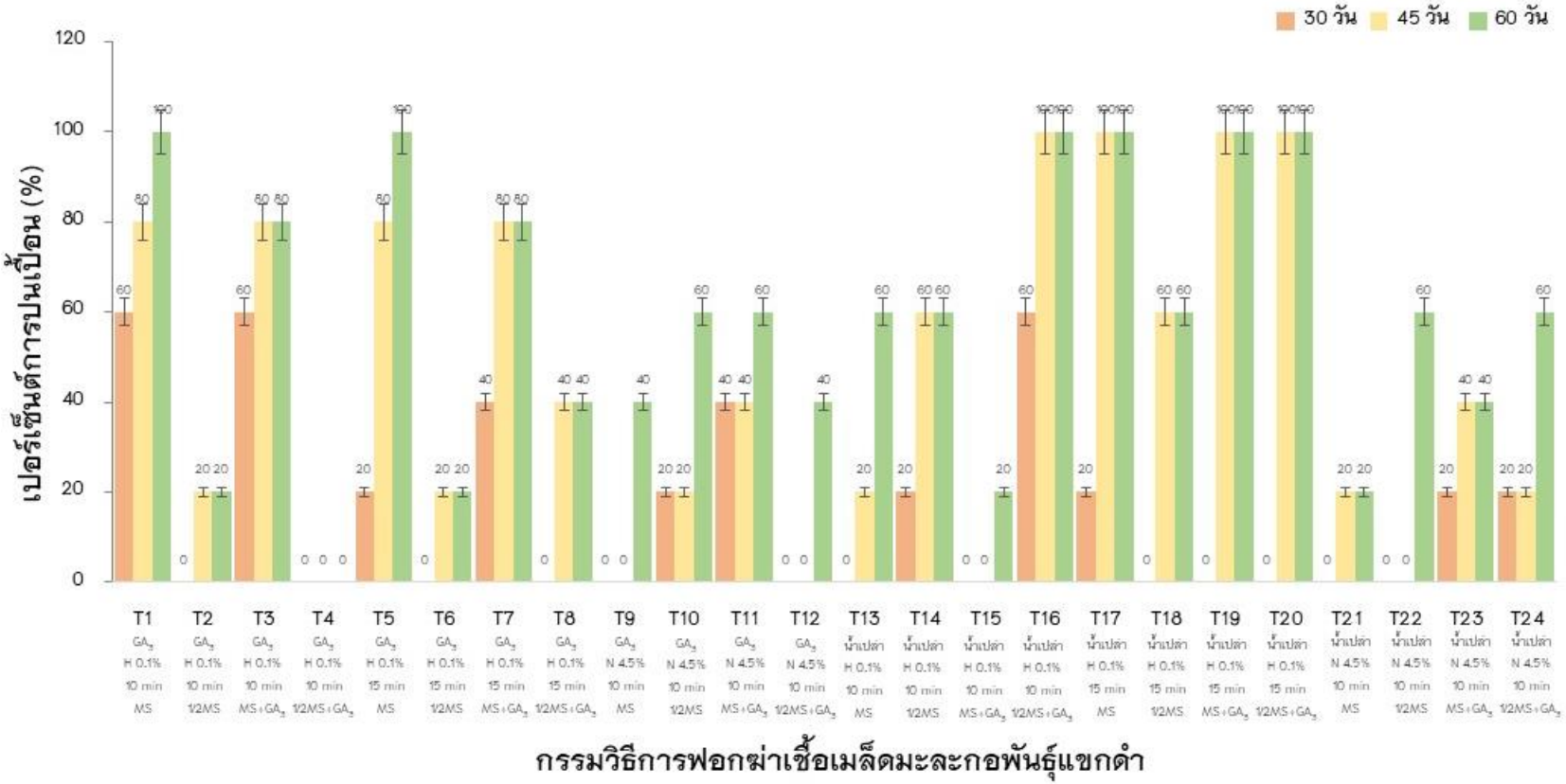
การศึกษาการฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ

การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอโดยมีการเปรียบเทียบการทำ pre-treatment 2 แบบ คือ 1) การแกะเปลือกเมล็ดมะละกอส่วนสีดำออกแล้วนำไปแช่ GA_3 ที่ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง และ 2) การแกะเปลือกเมล็ดมะละกอส่วนสีดำออกแล้วนำไปแช่น้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดด้วย HgCl ที่ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 และ 15 นาที และ NaOCl ที่ความเข้มข้นที่ 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS, 1/2MS, MS + GA_3 และ 1/2MS + GA_3 ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีการควบคุมแสงและอุณหภูมิ ทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (%) และ เปอร์เซ็นต์การงอก (%) ในวันที่ 30, 45 และ 60 เมื่อทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน พบว่า การทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 4) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุดที่ 0% ในวันที่ 30, 45 และ 60 ซึ่งดีที่สุด รองลงมาคือ การทำ Pre-treatment โดยการแช่น้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง ทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 15) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 0% ในวันที่ 30 และ 45 แต่ในวันที่ 60 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 20% ส่วนการทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS และ 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 9 และ 12) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 0% ในวันที่ 30 และ 45 แต่ในวันที่ 60 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 40% ขณะที่การทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 และ 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS (กรรมวิธีที่ 2 และ 6) และการทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (กรรมวิธีที่ 21) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 0% ในวันที่ 30 แต่ในวันที่ 45 และ 60 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 20% ส่วนการทำ Pre-treatment โดยการแช่

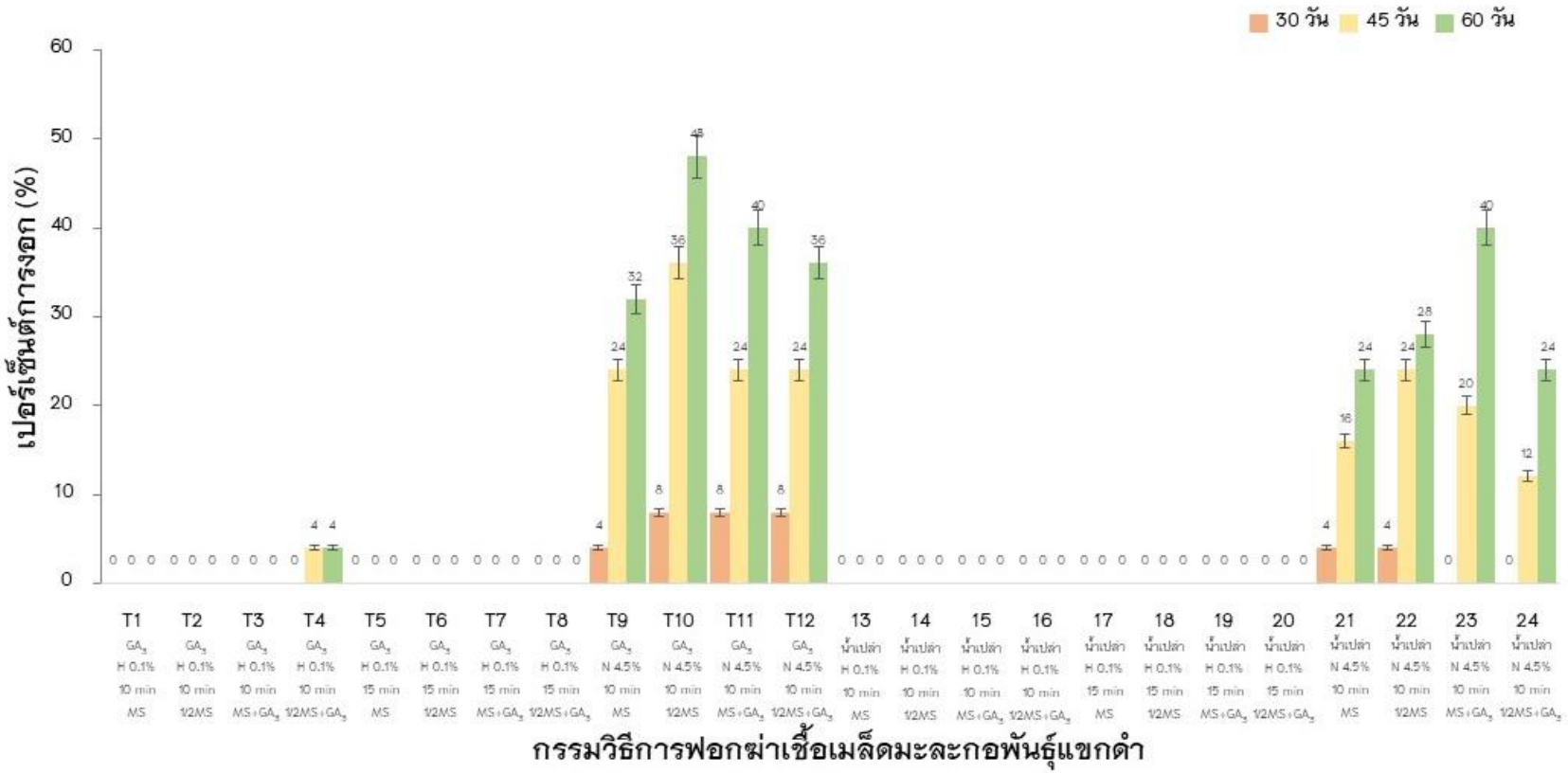
เมล็ดด้วยน้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS (กรรมวิธีที่ 22) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 0% ในวันที่ 30 และ 45 แต่ในวันที่ 60 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 60% ขณะที่การทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 8) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 0% ในวันที่ 30 แต่ในวันที่ 45 และ 60 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 40% ส่วนการทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 16) และการทำ Pre-treatment โดยการแช่น้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS, MS + GA_3 และ 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 17, 19 และ 20) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 100% ในวันที่ 45 และ 60 วัน ซึ่งมากที่สุด รองลงมาคือ การทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 และ 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (กรรมวิธีที่ 1 และ 5) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 80% ในวันที่ 45 แต่ในวันที่ 60 มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 100% ส่วนการทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 และ 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 3 และ 7) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่ 80% ในวันที่ 45 และ 60 (ภาพ 2)

จากการบันทึกเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่า เมื่อทำการ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมงแล้วทำการฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS (กรรมวิธีที่ 10) ในวันที่ 45 ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 36% แต่ในวันที่ 60 ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 48% ซึ่งมากที่สุด รองลงมาคือ การทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง และการทำ Pre-treatment โดยการแช่น้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 11 และ 23) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 40% เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน ส่วนการทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที

จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS และ 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 9 และ 12) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 32 และ 36% ตามลำดับ เมื่อทำการเพาเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน แต่เมื่อทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS, 1/2MS และ MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 1, 2 และ 3) การทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS, 1/2MS, MS + GA_3 และ 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 5, 6, 7 และ 8) และการทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่านาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 และ 15 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS, 1/2MS, MS + GA_3 และ 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 13-20) ไม่มีการงอกของต้นพืช แต่เมื่อทำ Pre-treatment โดยการแช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS + GA_3 (กรรมวิธีที่ 4) ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ 4% เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 45 และ 60 ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่มีการงอกของต้นพืช (ภาพ 3)



ภาพ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30, 45 และ 60 วัน



ภาพ 3 เปอร์เซ็นต์การงอกของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30, 45 และ 60 วัน

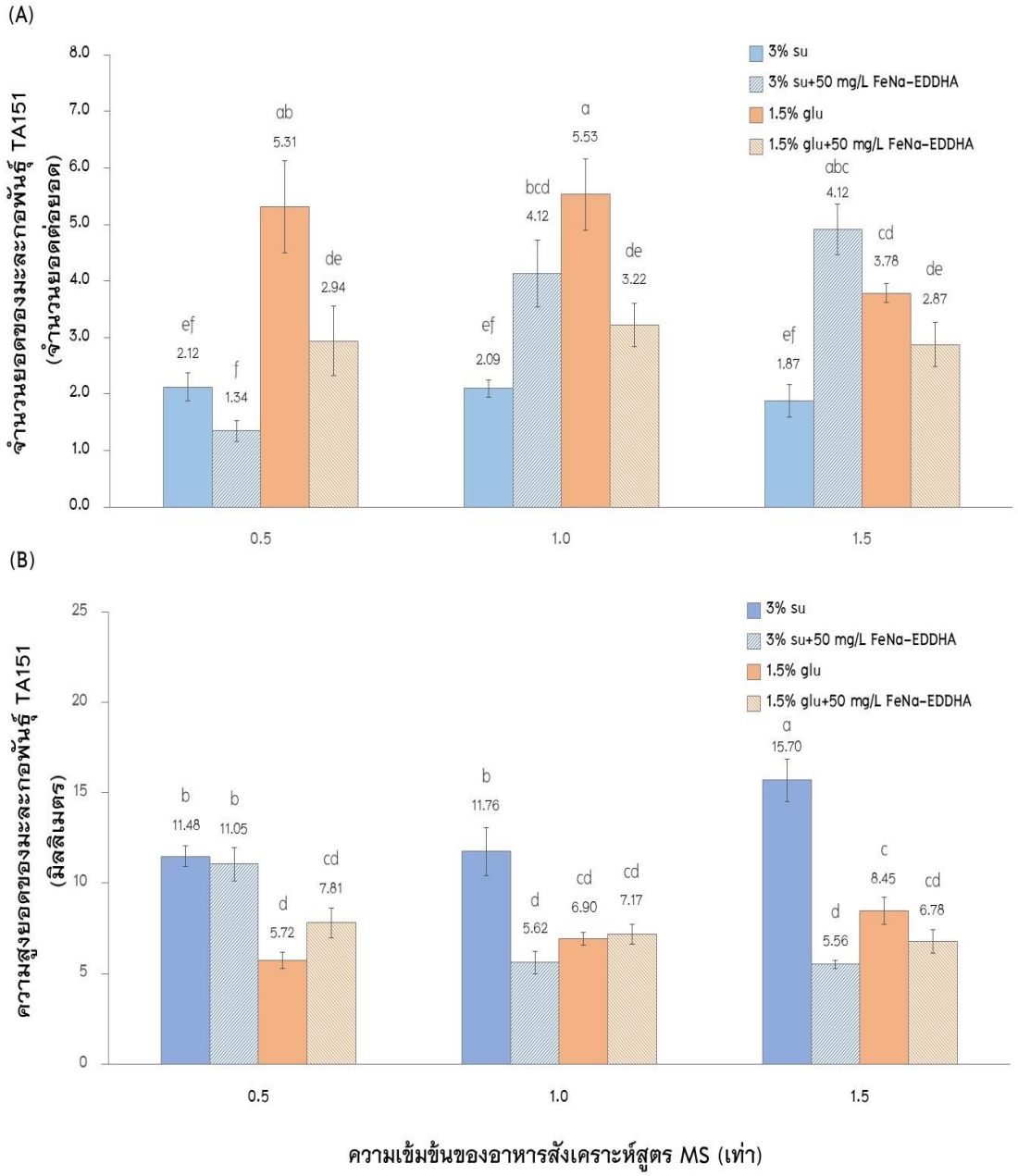
การศึกษาผลของธาตุอาหารพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อชักนำยอดของต้นมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

จากการศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5 เท่า ร่วมกับการเติมและไม่เติม FeNa-EDDHA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Sucrose ที่ความเข้มข้น 3% และ Glucose ที่ความเข้มข้น 1.5% ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) และความสูงยอด (มิลลิเมตร) ของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ โดยจำนวนยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1.0 เท่า ร่วมกับการเติม Glucose ความเข้มข้น 1.5% โดยไม่มีการเติม FeNa-EDDHA มีการเพิ่มจำนวนยอดดีที่สุดที่ 5.53 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 0.5 เท่า ร่วมกับการเติม Glucose ความเข้มข้น 1.5% โดยไม่มีการเติม FeNa-EDDHA ต้นพืชมีจำนวนยอดที่ 5.31 ยอดต่อชอ้นส่วนพืช และการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1.5 เท่า ร่วมกับการเติม FeNa-EDDHA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Sucrose ความเข้มข้น 3% ต้นพืชมีจำนวนยอดที่ 4.12 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 0.5 เท่า ร่วมกับการเติม FeNa-EDDHA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Sucrose ความเข้มข้น 3% ได้ต้นพืชมีจำนวนยอดน้อยที่สุด (1.34 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ภาพ 4A) ส่วนความสูงยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสูตรอาหาร MS ให้เป็น 1.5 เท่า และใช้ Sucrose ความเข้มข้น 3% โดยไม่มีเติม FeNa-EDDHA ให้ความสูงยอดโดยเฉลี่ยสูงสุด (15.70 มิลลิเมตร) ซึ่งดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 0.5 เท่า ร่วมกับการเติม Glucose ความเข้มข้น 1.5% และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1 และ 1.5 เท่า และ Sucrose ความเข้มข้น 3% ร่วมกับ FeNa-EDDHA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ต้นพืชมีความสูงยอดน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ (5.72, 5.62 และ 5.56 มิลลิเมตร ตามลำดับ) (ภาพ 4B)

ในขณะที่จำนวนยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่ใช้ความเข้มข้นของ MS เป็น 1.5 เท่า และ Sucrose ความเข้มข้น 1.5% โดยไม่เติม FeNa-EDDHA ให้จำนวนยอดมากที่สุด (2.59 ยอดต่อชิ้นส่วน) แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1.5% ร่วมกับการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% โดยไม่มีการเติม FeNa-EDDHA ต้นพืชให้จำนวนยอดน้อยที่สุด (1.31 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช)

(ตาราง 7) ส่วนความสูงยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ พบว่า ต้นพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 0.5 เท่า ร่วมกับ Sucrose ความเข้มข้น 3% และ FeNa–EDDHA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ต้นพืชที่มีความสูงยอดดีที่สุด (11.32 มิลลิเมตร) แต่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1 เท่า ร่วมกับ Sucrose ความเข้มข้น 3% ไม่เติม FeNa–EDDHA ต้นพืชมีความสูงยอดน้อยที่สุด (4.21 มิลลิเมตร) (ตาราง 8) ซึ่งในมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การปรับสูตรธาตุอาหาร น้ำตาล ร่วมกับการเติม FeNa–EDDHA ไม่มีผลต่อจำนวนยอดและความสูงยอด เนื่องจากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากการสังเกตมะละกอพันธุ์ TA151 ที่ได้จากการศึกษาความเข้มข้นของธาตุอาหารร่วมกับการเติม FeNa–EDDHA และน้ำตาล พบว่า อาหารที่ใส่ FeNa–EDDHA มีการเปลี่ยนสีกลายเป็นสีแดง ต้นพืชมีอาการฉ่ำน้ำ (Hyperhydricity) น้อยกว่าอาหารสังเคราะห์ที่ไม่มีการเติม FeNa–EDDHA ซึ่งอาการฉ่ำน้ำของต้นพืชส่วนใหญ่จะเกิดบริเวณต้นและใบที่สัมผัสกับอาหารสังเคราะห์ โดยลักษณะการเจริญเติบโตของต้นพืชนั้น ใบมีขนาดเล็ก แต่ในบางกรรมวิธีต้นพืชมีสีเหลือง (ภาพ 5) ส่วนในมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า เมื่อเติม FeNa–EDDHA อาหารเปลี่ยนเป็นสีแดง ลักษณะการเจริญเติบโตไม่ต่างกัน แต่การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม FeNa–EDDHA ต้นพืชมีลักษณะแคระแกร็น และมีการเจริญเติบโตน้อยกว่าต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่มีการเติม FeNa–EDDHA เพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ลักษณะใบของต้นพืชมีขนาดเล็กมาก และไม่สมบูรณ์ (ภาพ 6)



ภาพ 4 ความเข้มข้นของธาตุอาหารสังเคราะห์สูตร MS น้ำตาล และ FeNa-EDDHA ต่อการเพิ่มยอด (A) และความสูง (B) ของมะละกอพันธุ์ TA151 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ตาราง 7 ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหาร ร่วมกับ FeNa-EDDHA และน้ำตาล ต่อจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ในมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (เท่า)	FeNa-EDDHA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของน้ำตาล (%)	จำนวนยอดของแขกดำ (จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืช) Mean±SE
0.5	0	Sucrose 3%	2.13±0.39^{ns}
1.0	0	Sucrose 3%	1.56±0.62^{ns}
1.5	0	Sucrose 3%	1.31±0.43^{ns}
0.5	50	Sucrose 3%	1.91±0.39^{ns}
1.0	50	Sucrose 3%	1.66±0.40^{ns}
1.5	50	Sucrose 3%	2.03±0.54^{ns}
0.5	0	Glucose 1.5%	1.88±0.69^{ns}
1.0	0	Glucose 1.5%	1.47±0.36^{ns}
1.5	0	Glucose 1.5%	2.59±0.79^{ns}
0.5	50	Glucose 1.5%	1.38±0.43^{ns}
1.0	50	Glucose 1.5%	1.63±0.45^{ns}
1.5	50	Glucose 1.5%	1.94±0.45^{ns}

หมายเหตุ: ตัวเลข คือ ค่าเฉลี่ย ± SE, ns = Not significant

ตาราง 8 ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหาร ร่วมกับ FeNa-EDDHA และน้ำตาล ต่อความสูงยอด (มิลลิเมตร) ในมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (เท่า)	FeNa-EDDHA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของน้ำตาล (%)	ความสูงยอดของแขกดำ (มิลลิเมตร) Mean±SE
0.5	0	Sucrose 3%	10.09±1.81^{ns}
1.0	0	Sucrose 3%	4.21±1.67^{ns}
1.5	0	Sucrose 3%	7.71±2.42^{ns}
0.5	50	Sucrose 3%	11.32±1.88^{ns}
1.0	50	Sucrose 3%	9.01±2.08^{ns}
1.5	50	Sucrose 3%	8.75±2.04^{ns}
0.5	0	Glucose 1.5%	7.27±2.31^{ns}
1.0	0	Glucose 1.5%	9.96±2.46^{ns}
1.5	0	Glucose 1.5%	8.72±1.99^{ns}
0.5	50	Glucose 1.5%	7.60±2.38^{ns}
1.0	50	Glucose 1.5%	8.74±2.17^{ns}
1.5	50	Glucose 1.5%	9.38±2.24^{ns}

หมายเหตุ: ตัวเลข คือ ค่าเฉลี่ย ± SE, ns = Not significant

ภาพ 5 ผลของความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับการเติมและไม่เติม FeNa-EDDHA และชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล ในมะละกอพันธุ์ TA151 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

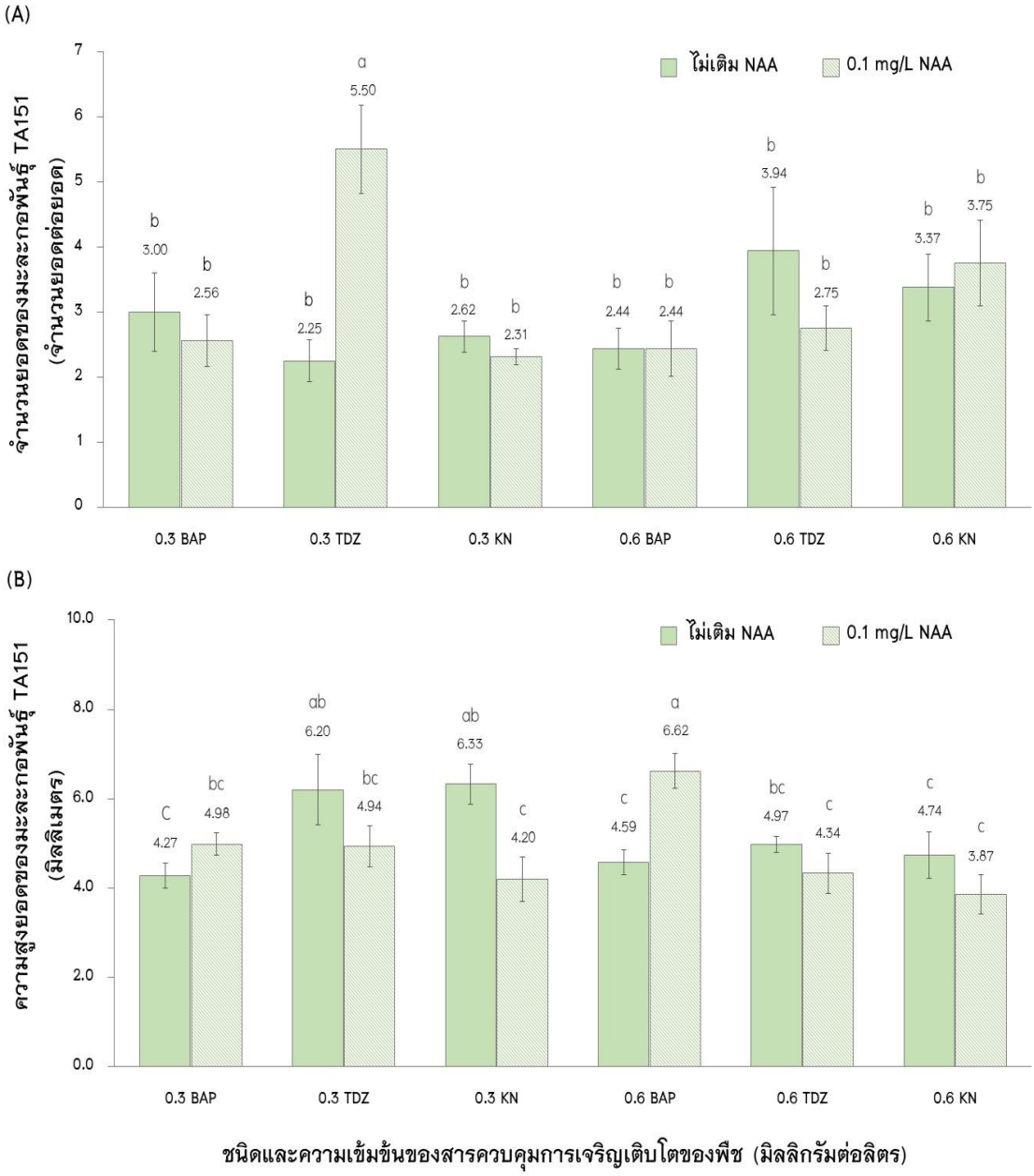
ภาพ 6 ผลของความเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับการเติมและไม่เติม FeNa–EDDHA และชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล ในมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อเพาะเลี้ยง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

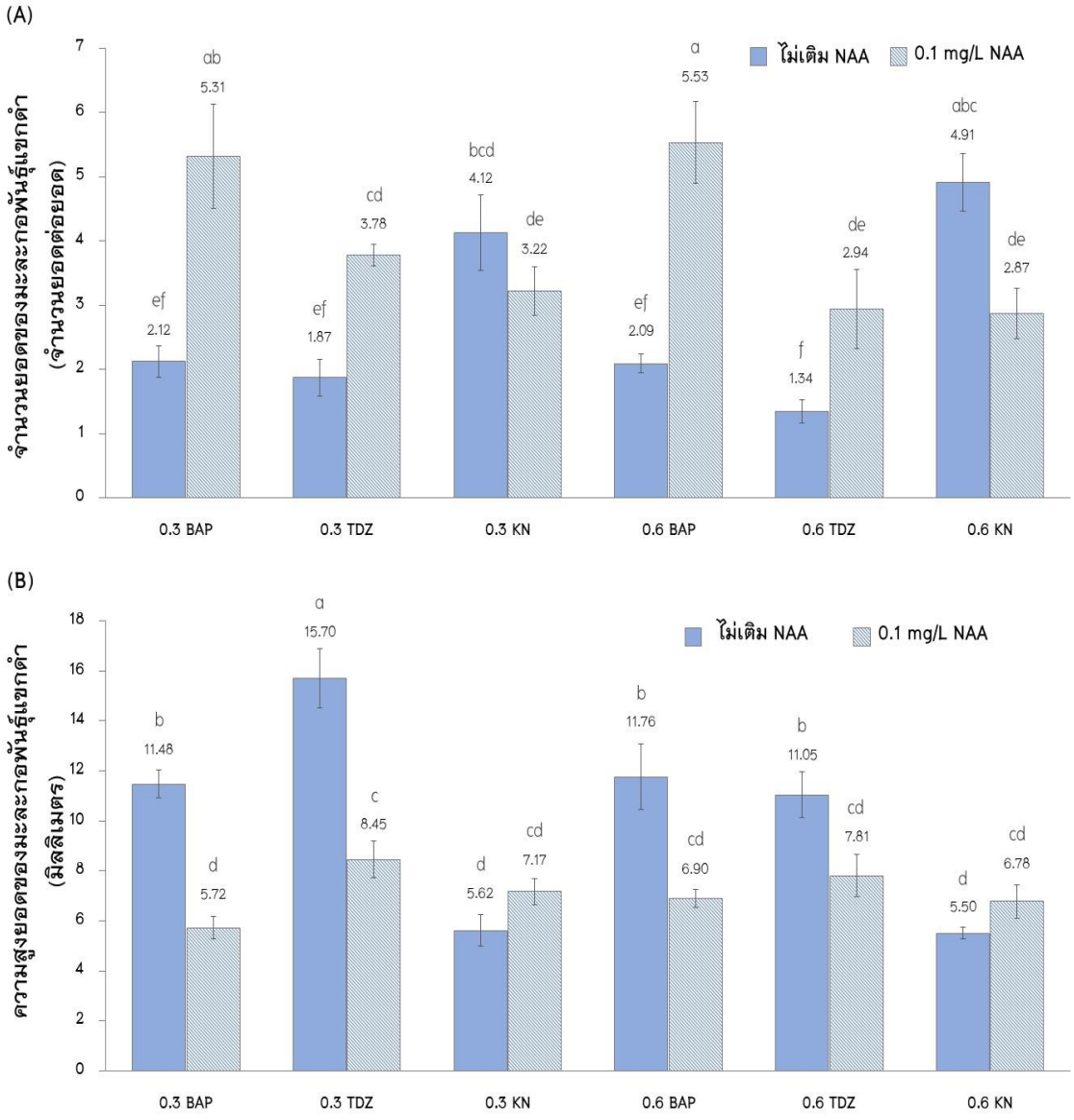
จากการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช คือ BAP, TDZ และ Kinetin ที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมและไม่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) และความสูงยอด (มิลลิเมตร) โดยในมะละกอพันธุ์ TA151 พบว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีผลต่อจำนวนยอด โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 ดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (5.50 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) (ภาพ 7A) ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงยอดสูงสุด (6.62 มิลลิเมตร) รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติม NAA ต้นพืชมีความสูง 6.33 และ 6.20 มิลลิเมตร ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Kinetin ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 ต้นพืชให้จำนวนยอดน้อยที่สุด (3.87 มิลลิเมตร) (ภาพ 7B) จากการสังเกตต้นมะละกอพันธุ์ TA151 ที่ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอด พบว่า ต้นพืชในทุกกรรมวิธีมีสีเขียว ต้นพืชมีการเกิดอาการฉ่ำน้ำในบริเวณโคนและใบที่สัมผัสอาหารสังเคราะห์ ต้นที่มีการเจริญเติบโตที่ดีมีใบที่ขนาดใหญ่กว่าต้นพืชที่มีการเจริญเติบโตไม่ค่อยดี (ภาพ 9)

สำหรับการเพิ่มยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงที่สุดที่ 5.53 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเท่ากับ 5.31 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Kinetin ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติม NAA ให้จำนวนยอดเท่ากับ 4.91 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งทั้งสามกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติม NAA

ต้นพืชให้จำนวนยอดน้อยที่สุด (1.12 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) (ภาพ 8A) ในเรื่องความสูงของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติม NAA ทำให้ความสูงยอดของมะละกอแขกดำมีค่าสูงสุด (15.70 มิลลิเมตร) ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ การใช้ BAP ความเข้มข้น 0.3 หรือ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือการใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติม NAA ให้ความสูงยอดโดยเฉลี่ย 11.48, 11.75 และ 11.05 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่เมื่อใช้ BAP ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือการใช้ Kinetin ความเข้มข้น 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติม NAA ต้นพืชมีความสูงยอดที่น้อยที่สุด (5.50–5.72 มิลลิเมตร) (ภาพ 8B)



ภาพ 7 สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP, TDZ และ Kinetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติม NAA ต่อการเพิ่มยอด (A) และความสูง (B) ของมะละกอพันธุ์ TA151 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์



ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มิลลิกรัมต่อลิตร)

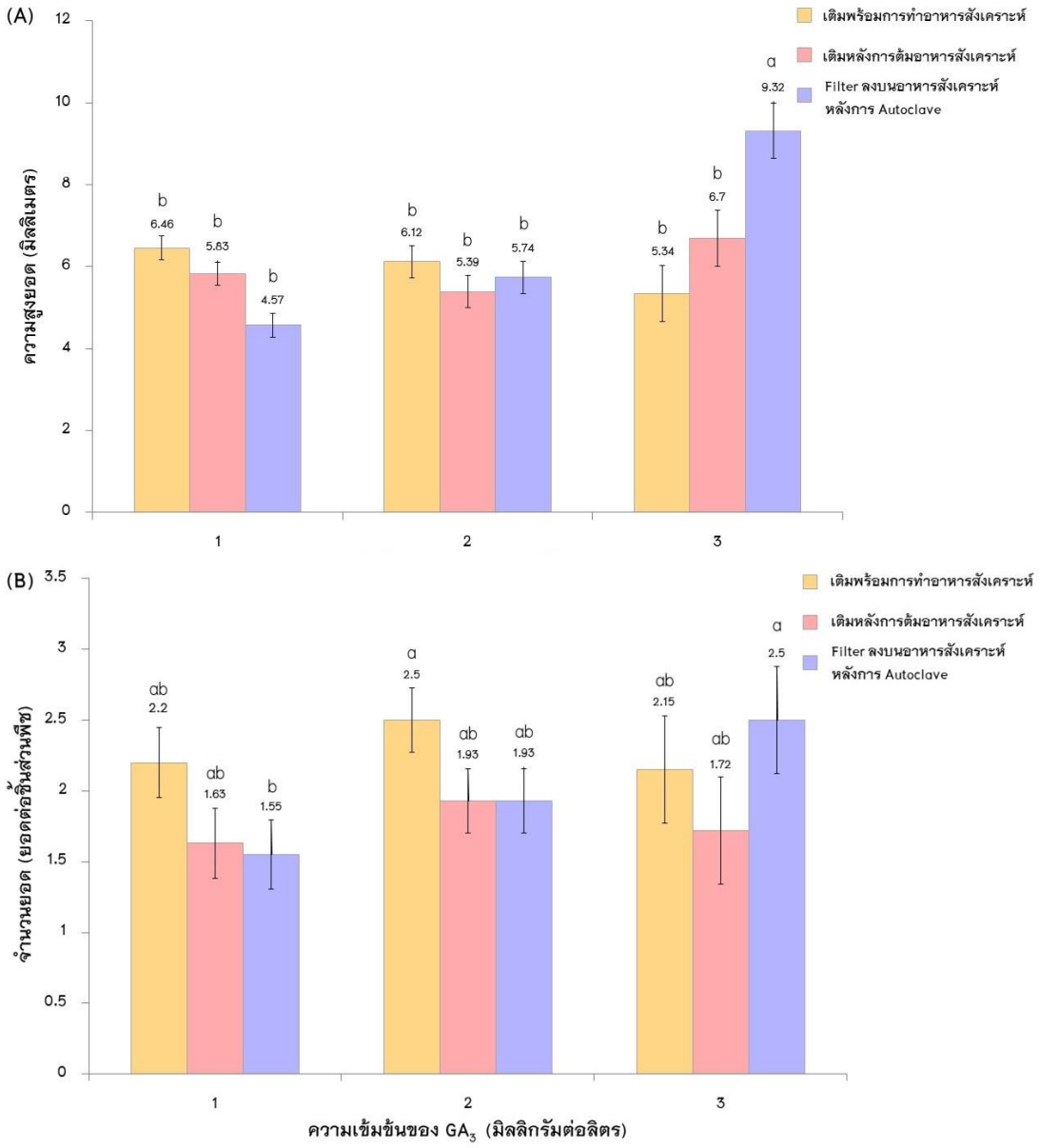
ภาพ 8 สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP, TDZ และ Kinetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการเติม NAA ต่อการเพิ่มยอด (A) และความสูง (B) ของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ภาพ 9 มะละกอพันธุ์ TA151 ที่ทำการทดสอบชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเพิ่มจำนวนยอดของมะละกอ เมื่อทำการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid: GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ

จากการศึกษาผลของ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ โดยใช้ GA_3 ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิธีการเติม GA_3 3 วิธี คือ 1) การเติมพร้อมการทำอาหารสังเคราะห์ 2) เติมภายหลังการต้มอาหารสังเคราะห์ และ 3) กรอง GA_3 (Filter) ลงบนอาหารสังเคราะห์ภายหลังการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (Autoclave) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึก ความสูงยอด (มิลลิเมตร) และจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) พบว่าในด้านความสูงยอดการเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ความเข้มข้นที่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยวิธีการ Filter GA_3 ลงบนอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการ

Autoclave แล้ว ต้นพืชมีความสูงยอดอยู่ที่ 9.32 มิลลิเมตร ซึ่งดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพ 10A) ส่วนในด้านจำนวนยอดของต้นมะละกอพันธุ์แขกดำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติม GA_3 หลังการต้มอาหารสังเคราะห์ และการเติม GA_3 ความเข้มข้นที่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีการ Filter GA_3 ลงบนอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการ Autoclave แล้ว ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด อยู่ที่ 2.50 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งดีที่สุด รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พร้อมการทำอาหารสังเคราะห์ ต้นพืชให้จำนวนยอดที่ 2.2 และ 2.15 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเติมหลังการต้มอาหารสังเคราะห์ ต้นพืชให้จำนวนยอดที่ 1.93 มิลลิเมตร และการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ที่ความเข้มข้น 3 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเติมภายหลังการต้มอาหารสังเคราะห์ ต้นพืชมีจำนวนยอดอยู่ที่ 1.72 และ 1.63 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งทั้ง 8 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย Filter GA_3 ลงบนอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการ Autoclave แล้ว ต้นพืชมีจำนวนยอดที่ 1.55 ยอดต่อยอด ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ภาพ 10B)



ภาพ 10 ผลของ GA_3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับวิธีการเติม GA_3 ที่แตกต่างกัน ต่อความสูงยอด (A) และจำนวนยอด (B) ของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition)

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของมะละกอแขกดำในสภาวะโฟโตออโตโทรฟิก โดยศึกษาผลของน้ำตาล 2 ชนิด คือ Sucrose ที่ความเข้มข้น 1.5, 3 และ 6% และ Glucose ที่ความเข้มข้น 1, 1.5 และ 3% โดยเพาะเลี้ยงในภาชนะที่ปิดสนิท และภาชนะที่มี Filter อากาศจึงสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกคะแนนคุณภาพโดยรวม (คะแนน) จำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ความสูงยอด (เซนติเมตร) และจำนวนใบต่อยอด (ใบ) โดยในด้านคะแนนคุณภาพโดยรวม พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงมะละกอแขกดำบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีคะแนนคุณภาพโดยรวมมากที่สุด (2.63 คะแนน) รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชให้คะแนนคุณภาพโดยรวมที่ 2.25 คะแนน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% และ Glucose ความเข้มข้น 1% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ต้นพืชมีคะแนนคุณภาพโดยรวมที่ 2.17 และ 2.04 คะแนน และการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีคะแนนคุณภาพโดยรวม 2.06 คะแนน ซึ่งทั้ง 5 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 6% เพาะเลี้ยงในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ส่งผลให้ต้นพืชมีคะแนนคุณภาพโดยรวมอยู่ 1.29 คะแนน ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพ 11)

จากการบันทึกจำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) พบว่า การเพาะเลี้ยงมะละกอแขกดำบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ Sucrose 3% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด (6.25 ยอดต่อยอด) เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3 และ 6% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนยอด 4.83 และ 4.75 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 1% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนยอด 4.58 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนยอด 4.08 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนยอด 3.89 ยอดต่อ

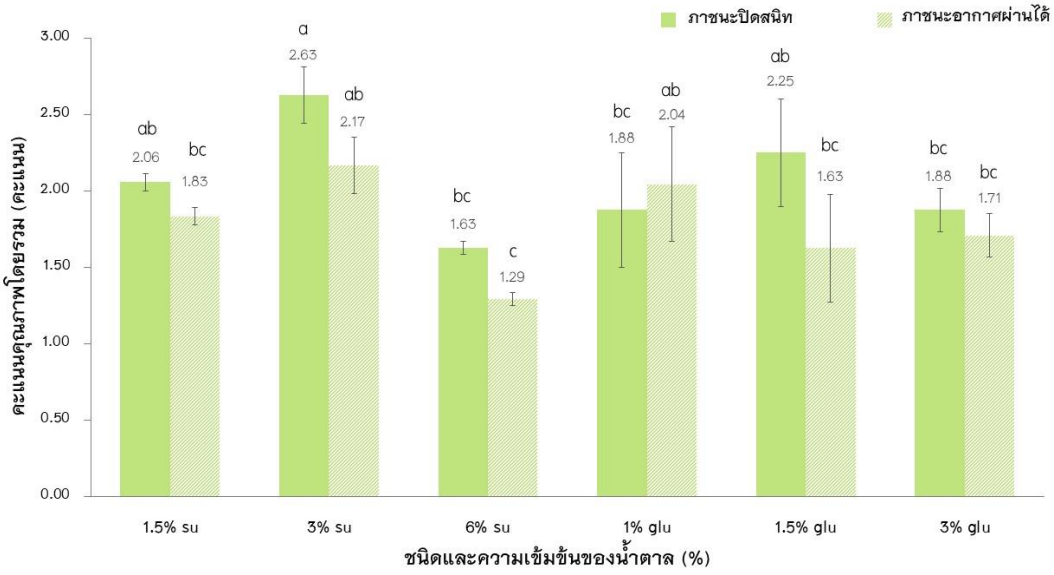
ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 6% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนยอด 3.83 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 3 และ 1% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนยอด 3.67 และ 3.58 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 3 และ 1.5% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนยอด 3.50 และ 3.08 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ซึ่งทั้ง 11 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ มีจำนวนยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำนั้นน้อยที่สุด (2.5 ยอดต่อยอด) (ภาพ 12)

จากการบันทึกความสูงของยอด (เซนติเมตร) พบว่า ต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 1.5% เพาะเลี้ยงในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ ต้นพืชมีความสูงยอด 0.95 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose 1.5, 1 และ 3% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ ต้นพืชมีความสูงยอด 0.92, 0.90 และ 0.90 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งดีที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 6% ในภาชนะที่อากาศผ่านเข้า-ออกได้ ต้นพืชมีความสูงยอดอยู่ที่ 0.49 เซนติเมตร ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพ 13)

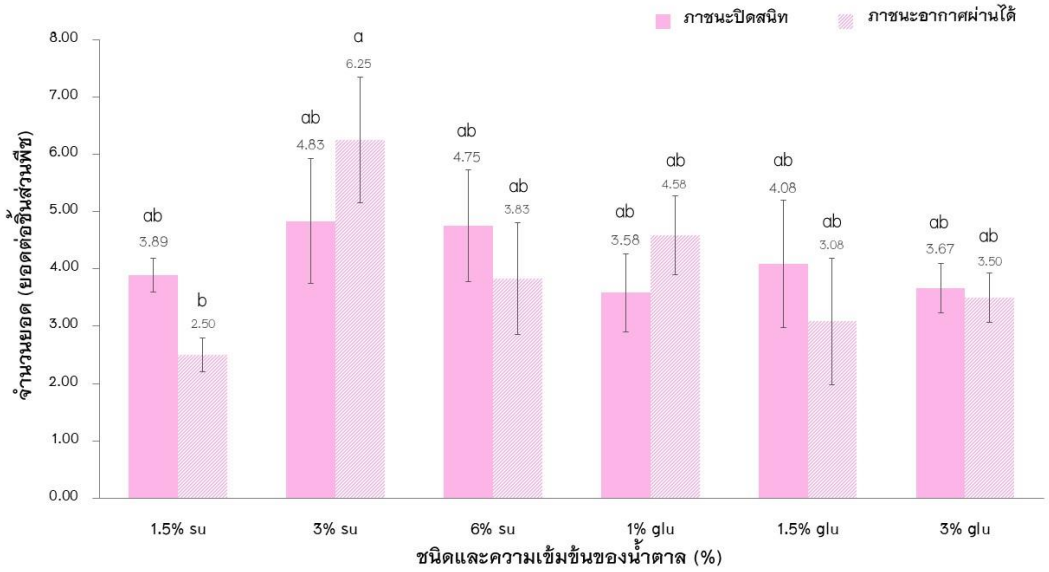
จากการบันทึกจำนวนใบต่อยอด (ใบ) ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า มะละกอพันธุ์แขกดำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ Glucose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะที่ปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอดมากที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (6.00 ใบต่อยอด) รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงต้นมะละกอพันธุ์แขกดำบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอดอยู่ที่ 5.81 ใบต่อยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ที่ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอดที่ 5.57 ใบต่อยอด ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอด 5.50 ใบต่อยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 6% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนใบ 5.43 ใบต่อยอด และการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 3, 1.5 และ 1% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ โดยต้นพืชมีจำนวนใบต่อ

ยอด 5.38, 4.77 และ 4.70 ใบต่อยอด ซึ่งทั้ง 8 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงต้นมะละกอพันธุ์แขกดำบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ Sucrose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะที่ปิดสนิท และการเติม Sucrose ความเข้มข้น 6% ในภาชนะที่อากาศผ่านเข้า–ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอดอยู่ที่ 3.78 และ 3.79 ใบต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพ 14)

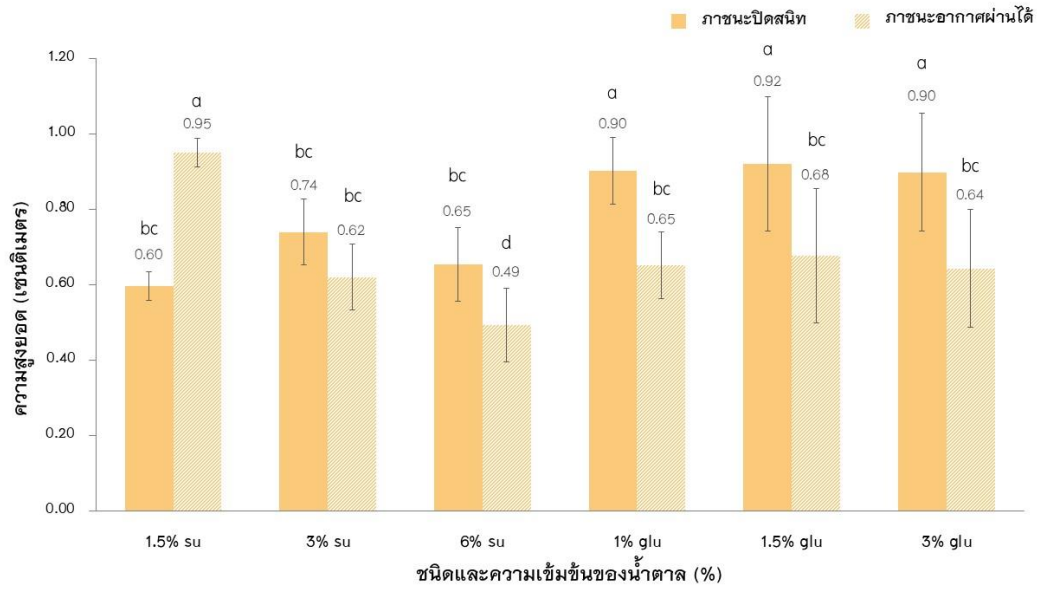
จากการสังเกตต้นมะละกอพันธุ์แขกดำที่ทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะ Photoautotrophic ต้นพืชมีลักษณะสีเขียว บางกรรมวิธีมีสีเขียวซีด และมีอาการฉ่ำน้ำในต้นพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงในภาชนะปิดสนิท บริเวณที่เกิด คือ บริเวณโคนและใบที่สัมผัสอาหารสังเคราะห์ มีการเกิดแคลลัส (Callus) เกือบทุกกรรมวิธี แต่กรรมวิธีที่เกิด Callus จะเป็นกรรมวิธีที่มีการเจริญเติบโตดี Callus มีลักษณะฟู สีขาว ซึ่งเป็น Callus ประเภท Friable callus และลักษณะใบมีขนาดเล็ก แต่ใบที่มีขนาดใหญ่จะมีอาการฉ่ำน้ำของต้นพืช (ภาพ 15 และ 16)



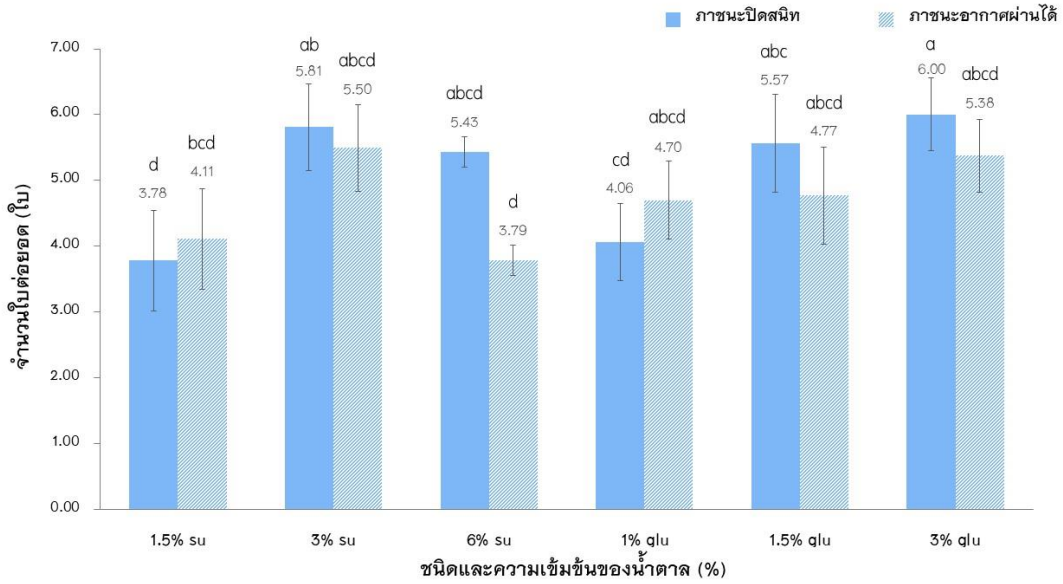
ภาพ 11 คะแนนคุณภาพโดยรวม (คะแนน) ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition)



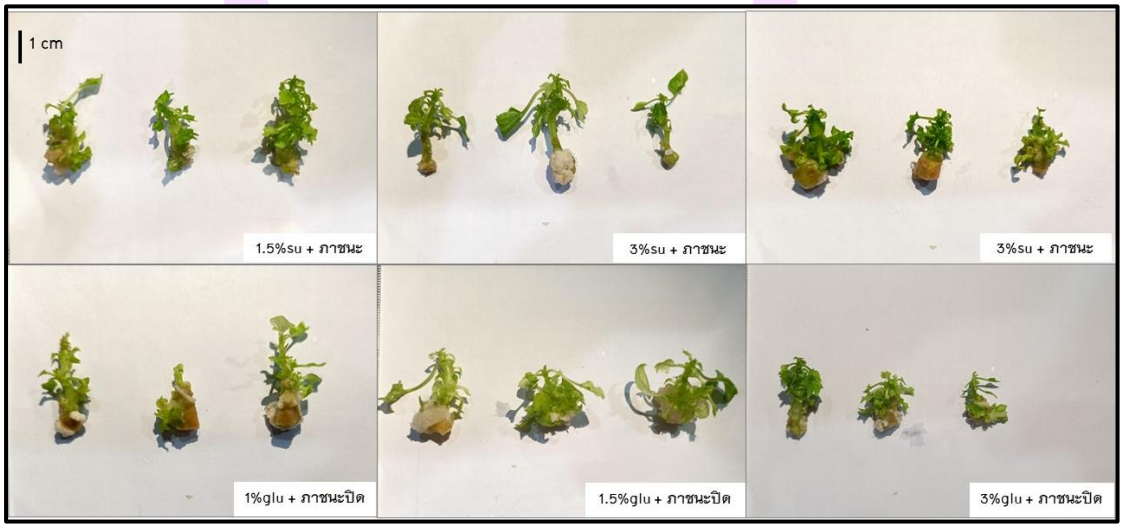
ภาพ 12 จำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition)



ภาพ 13 ความสูงยอด (เซนติเมตร) ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition)



ภาพ 14 จำนวนใบต่อยอด ของการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition)



ภาพ 15 ต้นมะละกอพันธุ์แขกดำที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ภาพ 16 ต้นมะละกอพันธุ์แขกดำที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ

การเพาะเลี้ยงต้นมะละกอแขกดำบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม IBA และ NAA ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยงใน 2 สภาพแวดล้อม คือ เพาะเลี้ยงในที่สว่างที่มีการควบคุมแสงที่ 16 ชั่วโมงต่อวัน และเพาะเลี้ยงในที่มืด พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่มีแสงสว่าง ต้นพืชมีความยาวราก 0.23 เซนติเมตร ซึ่งมากที่สุด แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่มีแสงสว่าง ต้นพืชมีความยาวรากน้อยที่สุด (0.05 เซนติเมตร) ซึ่งในการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม Auxin ต่อความยาวรากของต้นพืชไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตาราง 9) โดยต้นพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง มีจำนวนรากมากที่สุด (1.42 รากต่อชิ้นส่วนพืช) เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่มีแสงสว่าง ต้นพืชมีจำนวนราก 1.17 รากต่อชิ้นส่วนพืช ส่วนการเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม

IBA ความเข้มข้น 0.6, 0.3 และ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่มีแสงสว่าง ต้นพืชมีจำนวนรากอยู่ในช่วง 0.58, 0.25 และ 0.25 รากต่อชิ้นส่วนพืช (ตาราง 10) ขณะที่การเพาะเลี้ยงต้นมะละกอพันธุ์แขกดำบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่มีแสงสว่าง และการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม Auxin ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ไม่มีแสงสว่างทำให้ต้นพืชไม่มีการเกิดราก

ตาราง 9 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการควบคุมแสงสว่าง ต่อความยาวราก (เซนติเมตร) ของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ออกซิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)		สภาพแวดล้อมแสง	ความยาวราก (เซนติเมตร)
IBA	NAA		Mean ± SE
0.3	0	ให้แสง	0.13±0.10^{ns}
0.6	0	ให้แสง	0.05±0.05^{ns}
0.9	0	ให้แสง	0.14±0.15^{ns}
0	0.3	ให้แสง	-
0	0.6	ให้แสง	0.21±0.12^{ns}
0	0.9	ให้แสง	0.23±0.19^{ns}
0.3	0	ที่มืด	-
0.6	0	ที่มืด	-
0.9	0	ที่มืด	-
0	0.3	ที่มืด	-
0	0.6	ที่มืด	-
0	0.9	ที่มืด	-

หมายเหตุ: ตัวเลข คือ ค่าเฉลี่ย ± SE, ns = Not significant

ตาราง 10 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการควบคุมแสงสว่าง ต่อจำนวนรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ออกซิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)		สภาพแวดล้อมแสง	จำนวนราก (รากต่อชิ้นส่วนพืช)
IBA	NAA		Mean ± SE
0.3	0	ให้แสง	0.25±0.16^{ab}
0.6	0	ให้แสง	0.58±0.58^{ab}
0.9	0	ให้แสง	0.25±0.20^{ab}
0	0.3	ให้แสง	-
0	0.6	ให้แสง	1.42±0.80^{a}
0	0.9	ให้แสง	1.17±0.67^{ab}
0.3	0	ที่มืด	-
0.6	0	ที่มืด	-
0.9	0	ที่มืด	-
0	0.3	ที่มืด	-
0	0.6	ที่มืด	-
0	0.9	ที่มืด	-

หมายเหตุ: ตัวเลข คือ ค่าเฉลี่ย ± SE, ตัวอักษรภาษาอังกฤษ คือ ค่าแสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

1 การศึกษาการฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การแช่เมล็ดมะละกอด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm นาน 24 ชั่วโมง แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุด ส่วนการแช่เมล็ดมะละกอด้วยน้ำเปล่า นาน 24 ชั่วโมง แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ความเข้มข้น 4.5% นาน 10 นาที จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS + GA_3 พบว่าต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุดใน 60 วัน

2 จากการศึกษาความเข้มข้นของธาตุอาหารต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ พบว่า ในมะละกอพันธุ์ TA151 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ความเข้มข้น 1 เท่า ร่วมกับ Glucose ความเข้มข้น 1.5% ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ความเข้มข้น 1.5 เท่า ร่วมกับ Sucrose ความเข้มข้น 3% ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด ส่วนในมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารร่วมกับการเติม FeNa-EDDHA และน้ำตาล ไม่มีผลต่อจำนวนยอดและความสูงยอดของต้นพืช

3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ พบว่า การเพาะเลี้ยงมะละกอพันธุ์ TA151 บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด ส่วนมะละกอพันธุ์แขกดำเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติม NAA ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด

4 การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid: GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม GA_3

ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย Filter ลงบนอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการ Autoclave แล้ว พบว่า ต้นพืชมีจำนวนยอดและความสูงมากที่สุด

5 การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีคะแนนคุณภาพโดยรวมมากที่สุด ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีความสูงยอดและจำนวนใบต่อยอดมากที่สุด

6 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในที่สว่าง ต้นพืชมีจำนวนรากมากที่สุด แต่ในส่วนของความยาวรากนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

อภิปรายผลการวิจัย

การฟอกชิ้นส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ

จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การนำเมล็ดมะละกอแช่ GA_3 ที่ความเข้มข้น 250 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ HgCl ที่ความเข้มข้น 0.1% เป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS ที่มีการเติม GA_3 ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ 0% เป็นเพราะว่า HgCl เป็นสารสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง แต่เนื่องจากสารดังกล่าวเป็นสารก่อมะเร็ง ซึ่งมีอันตรายและมีวิธีการกำจัดสารที่ยาก จึงทำให้ไม่นิยมในการนำมาฟอกฆ่าเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามหากเป็นงานวิจัยที่ทำในพืชที่หายากและมีราคาแพงอาจจำเป็นต้องใช้สารดังกล่าว (รังสฤษดิ์ กาวีตัะ, 2541) ในงานวิจัยนี้ได้มีการนำ HgCl มาฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอ ซึ่งความเข้มข้นของ HgCl ที่ใช้อาจสูงมากเกินไปสำหรับการฟอกเมล็ดมะละกอจึงส่งผลให้เมล็ดที่ฟอกไม่งอก แต่เมื่อทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่า เมล็ดมะละกอที่ทำแช่เมล็ดด้วย GA_3 ที่ความเข้มข้น 250 ppm แล้วการฟอกฆ่าเชื้อโดย NaOCl ที่ความเข้มข้น 4.5% เป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 1/2MS ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุดในวันที่ 60 คือ 48% ซึ่งการเติม GA_3 มีผลต่อการงอกของเมล็ดเนื่องจาก GA_3 เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการงอกของเมล็ด (คณพล

จุฑามณี, 2564) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Deb et al. (2008) ที่ได้ทำศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของเมล็ดมะละกอ พบว่า การนำเมล็ดมะละกอแช่ใน GA_3 ที่ความเข้มข้น 150 ppm เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมล็ดมะละกอมีอัตราการงอกที่ดีที่สุด แต่เมื่อนำเมล็ดมะละกอแช่ใน GA_3 ที่ความเข้มข้น 200 ppm ต้นพืชมีความสูงยอดที่ดีที่สุด (Deb, et al. 2008) ซึ่งก่อนหน้านี้ในปี 2001 ได้มีการศึกษาการงอกของเมล็ดมะละกอหลากหลายสายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ และในสภาพแวดล้อมภายนอก ในการศึกษาได้มีการทำ Pre-treatment เช่นเดียวกัน คือการเมล็ดมะละกอแช่ใน GA_3 ที่ความเข้มข้น 200 ppm เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอ พบว่า การฟอกโดย HgCl มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่น้อยที่สุด (Bhattacharya and Khuspe, 2001) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Anandan et al. ในปี 2011 ได้การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดมะละกอโดยนำเมล็ดมะละกอมาล้างน้ำไหลผ่านเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปฟอกด้วย HgCl ที่ความเข้มข้น 0.1% เป็นระยะเวลา 2 นาที (Anandan, et al. 2011) ในปีเดียวกันนั้นก็ได้มีการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อและการงอกของเมล็ดมะละกอที่มีผลต่อแสง LEDs โดยในการวิจัยได้ศึกษามะละกอทั้งหมด 2 สายพันธุ์ คือ Rainbow และ Sunrise solo การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอโดยใช้ HgCl ที่ความเข้มข้น 0.1% ร่วมกับ Tween-20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 5 นาที ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอก 100% ทั้งสองสายพันธุ์ และมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน 0% และมีการใช้ NaOCl ที่ความเข้มข้น 4.5% ในพันธุ์ Rainbow และ Sunrise solo พบว่า ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่มากที่สุดเมื่อเทียบกับการฟอกฆ่าเชื้อในกรรมวิธีอื่น (Giang, et al. 2011) ต่อมาในปี 2012 ได้มีการศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อของกฤษณา (*Aquilaria malaccensis*) โดยใช้ชิ้นส่วนใบ ข้อ และเมล็ด ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ พบว่า การนำชิ้นส่วนใบ เมื่อทำการ Pre-treatment โดยการแช่ Banomyl ที่ความเข้มข้น 0.2% นาน 15 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl ที่ความเข้มข้น 0.1% นาน 15 วินาที ต้นพืชมีอัตราการรอดชีวิตดีที่สุด ส่วนชิ้นส่วนข้อนั้น พบว่า การนำชิ้นส่วนข้อมาทำ Pre-treatment จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl ที่ความเข้มข้น 0.1% นาน 30 วินาที ต้นพืชมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีที่สุด แต่ในชิ้นส่วนเมล็ดนั้น การนำเมล็ดทำการ Pre-treatment จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl ที่ความเข้มข้น 0.2% นาน 12 นาที พบว่า เมล็ดมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีที่สุด (Daud, Jayaraman and Mohamed, 2012) ในการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันฝรั่ง (*Potato Salanum Tuberosum* L.) สองสายพันธุ์ ในการเตรียมต้นพืชนั้นได้มีการฟอกฆ่าเชื้อ Sprouts โดยใช้ C_2H_5OH ความเข้มข้น 70% นาน 2 นาที จากนั้นฟอกด้วย HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 2-3 นาที (Koleva Gudeva, et al. 2012) นอกจากนี้ยังได้นำ HgCl ความเข้มข้น 0.1% นาน 5 นาที มาฟอกฆ่าเชื้อกล้วยเพื่อ

เตรียมชิ้นส่วนพืชสำหรับการศึกษาต่อไป (Hassan and Zayed, 2018) จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ดมะละกอการฟอกด้วย HgCl ให้เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยแต่อัตราการงอกนั้นต่ำ การที่เลือกใช้ NaOCl จึงเป็นอีกทางเลือกนึงในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช ซึ่งปี 2015 Munir et al. ได้มีการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนสตรอเบอรี่ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Chandler, Osogrande, Toro และ Islamabad local ทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชทั้งหมด 3 ชิ้นส่วน คือ Meristem ปล้อง และ ก้านใบ ซึ่งการนำชิ้นส่วน Meristem ของสตรอเบอรี่มาฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 0.5% นาน 15 นาที ต้นสตรอเบอรี่สายพันธุ์ Osogrande และ Toro ต้นพืชมีอัตราการรอดชีวิตดีที่สุด ที่ 75% ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนปล้องของสตรอเบอรี่ พบว่า การนำชิ้นส่วนพืชฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 0.5% นาน 15 นาที สตรอเบอรี่สายพันธุ์ Chandler ต้นพืชมีอัตราการรอดดีที่สุด ที่ 71% ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนก้านใบสตรอเบอรี่นั้น พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 0.5% นาน 10 นาที ต้นสตรอเบอรี่สายพันธุ์ Islamabad local มีอัตราการรอดชีวิตดีที่สุด ที่ 63% ในการบันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน พบว่า การนำชิ้นส่วน Meristem มาทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 1% นาน 10 นาที ต้นสตรอเบอรี่พันธุ์ Chandler และ Toro มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด ในชิ้นส่วนปล้องของสตรอเบอรี่ เมื่อทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 2.5% นาน 10 นาที พบว่า ต้นสตรอเบอรี่พันธุ์ Osogrande มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด ส่วนในชิ้นส่วนก้านใบนั้น เมื่อทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 1% นาน 15 นาที พบว่า ต้นสตรอเบอรี่สายพันธุ์ Toro มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่น้อยที่สุด (Munir, et al. 2015) ต่อมาในปี 2018 ได้มีการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดและก้านใบของกล้วยผา (*Ensete ventricosum* (Welw.) Chessman) ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ใช้กล้วยผาทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือ Mesena, Yanbule และ Endale ทำการฟอกฆ่าเชื้อยอดโดยใช้ NaOCl ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3% นาน 10 นาที และชิ้นส่วนก้านใบทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ NaOCl ที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% นาน 10 นาที พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดของกล้วยผานั้น เมื่อทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 2% นาน 10 นาที ต้นพืชมีความปลอดเชื้อและมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตดีที่สุดทั้ง 3 สายพันธุ์ แต่ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนก้านใบของกล้วยผานั้น พบว่า พันธุ์ Mesena และ พันธุ์ Endale ที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 0.5% นาน 10 นาที และกล้วยผาพันธุ์ Yanbule ที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น 1% นาน 10 นาที พบว่า ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อดีที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ดีที่สุดเช่นเดียวกัน (Zinabu, Gebre and Daksa, 2018) และในปี 2021 ได้มีการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของพญายอ (*Clinacantus nutans*) โดยเทคนิค

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อทั้งหมด 4 ชนิด คือ NaOCl ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 40% นาน 10 นาที *Rhizophora apiculate* Pyroligneous acid ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 40% นาน 7 นาที HgCl ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.4% นาน 1 ชั่วโมง และ Thiophanate-methyl ที่ความเข้มข้น 10, 30 และ 60% นาน 30 นาที พบว่า ต้นพืชที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl ที่ความเข้มข้น 0.2% นาน 1 ชั่วโมง ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยที่สุด ทั้งเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียและเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อรา และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตดีที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (Hashim, et al. 2021) นอกจากนี้ในการศึกษาการชักนำรากของมะละกอโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเตรียมต้นพืชก่อนนำมาศึกษาได้นำชิ้นส่วนยอดความยาว 5 มิลลิเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อด้วย Ethanol ความเข้มข้น 70% จากนั้นฟอกด้วย NaOCl ความเข้มข้น 1% นาน 10 นาที (Kataoka and Inoue, 1991) โดยจากการศึกษาได้มีการนำเมล็ดมะละกอแช่ GA_3 ความเข้มข้น 250 ppm เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ GA_3 ที่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ด พบว่า GA_3 มีผลต่อการงอกของเมล็ด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันฝรั่ง (*Salanum Tuberosum* L.) เมื่อนำหัวมันฝรั่งล้างทำความสะอาดด้วย GA_3 ที่ความเข้มข้น 2 ppm พบว่าหัวมันฝรั่งมีเปอร์เซ็นต์การงอกของ Sprouts ที่ 100% (Koleva Gudeva, et al., 2012)

การศึกษาผลของธาตุอาหารพืชในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ต่อชักนำยอดของต้นมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

จากการศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ พบว่า มะละกอพันธุ์ TA151 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1 เท่า โดยไม่มีการเติม FeNa-EDDHA ร่วมกับ Glucose ที่ความเข้มข้น 1.5% พบว่า ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต้นมะละกอพันธุ์ TA151 บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1.5 เท่า โดยไม่มีการเติม FeNa-EDDHA ร่วมกับ Sucrose ที่ความเข้มข้น 3% พบว่า ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Waidyaratne ที่การเพาะเลี้ยงต้นมะละกอพันธุ์ Horana papaya hybrid 01 บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้น 1.5 เท่าจากสูตรเดิม ร่วมกับ BAP ที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 (Waidyaratne and Samanmalie, 2022) แต่ในมะละกอพันธุ์แขกดำ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต้นมะละกอแล้ว พบว่า ต้นพืชไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งจำนวนยอดและความสูงยอด ซึ่งมะละกอทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน จากรายงานของ Chan and Teo พบว่า สายพันธุ์ของมะละกอเป็น

ปัจจัยที่สำคัญ และมีอิทธิพลต่อการตอบสนองหรือการเจริญเติบโตของมะละกอในสภาพปลอดเชื้อ (Chan and Teo, 1993) ต้นมะละกอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 1 เท่า ร่วมกับการใช้ Glucose ความเข้มข้น 1.5% ต้นพืชมีการเพิ่มจำนวนยอดใหม่ดีที่สุด การปรับความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการเกิดยอดของมะละกอ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ทำการศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นปาล์มสาคู โดยงานวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาโดยใช้อาหารพื้นฐานสูตร MS ความเข้มข้น 0.5 เท่าของ MS โดยใช้ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร และวุ้น 2.8 กรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มจำนวนต้นพืชให้เพียงพอต่อการทำการทดลอง จากนั้นทำการศึกษาผลของ Sucrose, Maltose, Glucose และ Fructose ที่ความเข้มข้น 30, 45 และ 60 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองพบว่า น้ำตาลแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นปาล์มสาคูที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเรื่องชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล ซึ่ง Sucrose ที่ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตดีที่สุด นอกจากนี้ภาชนะเพาะเลี้ยงยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ดี (Muslihatin and Ratnadewi, 2012) แต่รายงานของ Yu and Reed (1993) ได้มีการศึกษาชนิดของน้ำตาลต่อการเพิ่มจำนวนยอดของเฮสเซนัท (*Corylus avellana* L.) โดยทำการศึกษาเฮสเซนัททั้งหมด 2 สายพันธุ์ คือ Nonpareil และ Tonda Gentile Romana ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ทั้งหมด 2 สูตร คือ MWPMC (Qi-guang, et al. 1986) และ DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) ร่วมกับน้ำตาลทั้งหมด 5 ชนิด คือ Glucose, Fructose, Lactose, Sucrose และ Galactose ที่ความเข้มข้น 3% พบว่า การเพาะเลี้ยงต้นเฮสเซนัทบนอาหารสังเคราะห์สูตร MWPMC ที่มีการเติมน้ำตาล Lactose ที่ความเข้มข้น 3% ต้นพืชมีจำนวนยอดดีที่สุดทั้ง 2 สายพันธุ์ ส่วนความสูงยอดของต้นเฮสเซนัทนั้นการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติมน้ำตาล Glucose จะส่งผลให้ต้นพืชมีความสูงยอดที่ดีที่สุดทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงต้นเฮสเซนัทบนอาหารสังเคราะห์สูตร DKW พบว่า ต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติมน้ำตาล Glucose และ Lactose ที่ความเข้มข้น 3% ต้นพืชมีจำนวนยอดดีที่สุดทั้ง 2 สายพันธุ์ ส่วนความสูงยอดนั้นการเพาะเลี้ยงต้นเฮสเซนัทบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติมน้ำตาล Fructose ต้นพืชมีความสูงยอดดีที่สุดทั้ง 2 สายพันธุ์เช่นเดียวกัน จากนั้นนำต้นเฮสเซนัททั้ง 2 สายพันธุ์ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร DKW ที่มีการเติม Glucose ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 5% พบว่าต้นพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร DKW ร่วมกับการเติม Glucose ที่ความเข้มข้น 3% ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุดทั้ง 2 สายพันธุ์ (Yu

and Reed, 1993) แม้ว่าจากผลการทดลองครั้งนี้ไม่พบว่าการเติมธาตุเหล็กเสริมส่งผลกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือเพิ่มยอดมะละกอ แต่จากงานวิจัยที่ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบ Damark (*Rosa damascena* Mill.) พบว่า การปรับสูตรอาหาร MS ให้มีความเข้มข้น Ammonium nitrate (NH_4NO_3) และ Calcium chloride ($CaCl_2$) เพิ่มขึ้นเป็น 1.5 เท่า และเสริมธาตุเหล็กในรูปของ Ethylenediamine di–2–hydroxyphenyl acetate ferric (Fe–EDDHA) 20% สามารถเพิ่มจำนวนยอดให้ได้มากที่สุด คือ 10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช (Noodezh, Moieni and Baghizadeh, 2012) นอกจากนี้ยังมีการทดสอบธาตุ Fe–EDDHA ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของเฮเซลนัท (*C.avellana* L.x *C.americana* M. cv. Geneva) โดยใช้ชิ้นส่วนข้อ ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ Modified NCGR–COR (Yu and Reed, 1993, 1995) ที่มีการเติม Fe–EDDHA ความเข้มข้น 230 µM พบว่า ต้นพืชมีความสูงยอด จำนวนข้อต่อยอด และจำนวนยอดมากที่สุด และเมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร Modified NCGR–COR ที่มีการเติม Fe–EDDHA ความเข้มข้น 690 µM พบว่า ต้นพืชมีพื้นที่ใบและน้ำหนักแห้งต่อยอดมากที่สุด แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Modified NCGR–COR ที่มีการเติม Fe–EDTA ความเข้มข้น 690 µM ต้นพืชมีการเจริญเติบโตไม่ดีเท่ากับการใช้ Fe–EDDHA (Garrison, Dale and Saxena, 2013) ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาผลของ Fe–EDDHA ต่อการเพิ่มจำนวนยอด และการชักนำรากของ *Carlina onopordifolia* ทำการเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Fe–EDTA ความเข้มข้น 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีความสูงยอดและจำนวนรากมากที่สุด ซึ่งดีกว่าการเติม Fe–EDDHA ต่อมาในปี 2013 ได้มีการศึกษาการพัฒนาระบบ Photomixotrophic โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของ Persian walnut ซึ่งได้มีการศึกษาผลของสภาพแวดล้อม และการเติม Fe–EDDHA และ Fe–EDTA พบว่า การเพาะเลี้ยงต้นพืชในภาชนะที่ไม่มีอากาศผ่านเข้า–ออก ที่มีการเติม Fe–EDDHA ความเข้มข้น 79 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความสูงยอดและเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ที่มีการเติม Fe–EDDHA ความเข้มข้น 79 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีจำนวนใบมากที่สุด (Vahdati and Hassankhah, 2013) ก่อนหน้านี้ได้มีการทดสอบความเข้มข้นของ Fe–EDDHA และ Fe–EDTA ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่า เมื่อทดสอบจำนวนยอดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนความยาวยอด พบว่า เมื่อเติม Fe–EDTA ความเข้มข้น 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด แต่เมื่อเติม Fe–EDDHA ที่ความเข้มข้น 16.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความสูงยอดน้อยที่สุด (Trejgell, Libront and Tretyn, 2012) ต่อมาในปี 2021 ได้มีการศึกษาการใช้ Fe–EDDHA ในการเกิดเปอร์เซ็นต์การแตกตาข้างและเปอร์เซ็นต์การเกิดสารสีน้ำตาล พบว่า เมื่อทำการเติม Fe–EDDHA ความเข้มข้น 200

มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การแตกตาข้างสูงที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดสารสีน้ำตาลน้อยที่สุด แต่เมื่อไม่มีการเติม Fe-EDDHA ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การแตกตาข้างน้อยที่สุด และเปอร์เซ็นต์การเกิดสารสีน้ำตาลที่มากที่สุด (Moghaddam, et al. 2021) เช่นเดียวกับการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อชักนำรากของเชอรี่ที่มีการเติม Fe-EDDHA ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม IBA พบว่า การเติม Fe-EDDHA ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ต้นพืชมีจำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด แต่เมื่อลดความเข้มข้น IBA เป็น 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชจะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด (Ognjanov et al., 2014) ทั้งนี้ยังมีการนำ Fe-EDDHA และ Ascorbic acid มาชักนำการเกิดรากของต้นพืช พบว่า การเติม Fe-EDDHA ความเข้มข้น 280 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีการเกิดรากมากที่สุด ซึ่ง Fe-EDDHA มีผลต่อการชักนำรากของต้นพืชมากกว่า Ascorbic acid (Antonopoulou, et al. 2007) ต่อมาในปี 2014 ได้มีการศึกษาผลของ Fe-EDDHA และ Thiamine ต่อการชักนำรากของ New Iranian apple hybrid โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทำการเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร Linsmaier and Skoog (LS) ที่มีการเติม Thiamine ความเข้มข้น 2.4 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม Fe-EDDHA ความเข้มข้น 0.15 กรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร LS ที่มีการเติม Thiamine ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม Fe-EDDHA ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด (Tabalvandani, et al. 2014) อีกทั้งยังได้มีการศึกษาผลของธาตุเหล็ก และ Auxins ต่อการชักนำรากของ Citrus ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เมื่อทำการเพาะลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Fe-EDDHA ความเข้มข้น 5.6 ppm ร่วมกับการเติม NAA ความเข้มข้น 1 ppm พบว่าต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากมากที่สุด (Dimassi, et al. 2003) การทดสอบการเติมธาตุเหล็กต่อการเจริญเติบโตของพืชในสภาพปลอดเชื้อแล้วยังได้มีการศึกษาผลของสารละลายธาตุอาหารในระบบ Nutrient film technique (NFT) ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา โดยมีการศึกษาการเติม Fe-EDTA, Fe-DTPA และ Fe-EDDHA ความเข้มข้น EC 1, 2 และ 3 mS/cm ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตดอกโดยการใช้ Fe-EDTA ความเข้มข้น 2 mS/cm จะให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดอกและน้ำหนักของดอกดีที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกับ Fe-EDDHA ความเข้มข้น 3 mS/cm จึงควรเลือกใช้ Fe-EDTA มากว่า เนื่องจากมีราคาที่ต่ำกว่า Fe-EDDHA แต่หากมีวัตถุเพื่อผลิตหัวปทุมมา การใช้ Fe-EDTA และ Fe-DTPA ความเข้มข้น 3 mS/cm ให้น้ำหนักหัวดีที่สุด (กัญจนา แซ่เตียว, 2555) เช่นเดียวกับการศึกษาเหล็กคีเลตสังเคราะห์ต่อการเจริญเติบโตของต้นคะน้าที่ปลูกใน

สารละลาย พบว่า การเติม Fe-DTPA ความเข้มข้น 5.6% มีการเจริญเติบโตดีที่สุด แต่เมื่อไม่มีการเติมธาตุเหล็ก และเติม $FeSO_4$ ความเข้มข้น 20% พบว่าต้นพืชมีการแสดงอาการขาดธาตุเหล็ก (มนูญ ศิรินุพงศ์, และคณะ 2551) และได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยเหล็กคีเลตในการแก้ปัญหาการขาดธาตุเหล็กของถั่วลิสงที่ปลูกในดินชุดดินตาคลี พบว่า เมื่อบ่มดินเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ปุ๋ยคีเลตในรูป Fe-EDDHA มีปริมาณเหล็กที่มีประโยชน์มากที่สุด และเมื่อทดสอบในทดลองเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของปุ๋ยเหล็กคีเลต 3 รูป โดยใช้ถั่วลิสงพันธุ์กาฬสินธุ์ 2 การใส่ปุ๋ย Fe-DTPA ให้น้ำหนักแห้งของตอซัง ราก เมล็ด ปริมาณเหล็กที่พืชดูดใช้ และประสิทธิภาพการดึงดูดปุ๋ยของพืชมากที่สุด รองลงมาคือ Fe-EDDHA โดยการเติมปุ๋ย Fe-DTPA อัตราต่ำมีประสิทธิภาพสูงในการแก้ปัญหาขาดธาตุเหล็กของถั่วลิสง (พชร อริยะสกุล, ชัยฤกษ์ สุวรรณรัตน์ and จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข, 2551) จากการทดลองเมื่อมีการเติม FeNa-EDDHA ต้นพืชมีอาการฉ่ำน้ำที่น้อยกว่าการไม่เติม จึงมีความเป็นไปได้ว่า FeNa-EDDHA มีประสิทธิภาพในการช่วยลดการเกิดอาการฉ่ำน้ำในพืชได้

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโตไคนินที่มีผลต่อการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์ TA151 และพันธุ์แขกดำ พบว่า ต้นมะละกอพันธุ์ TA151 ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม TDZ ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้ NAA ความเข้มข้นที่ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเพิ่มจำนวนยอดดีที่สุด ส่วนการศึกษาในมะละกอแขกดำ พบว่า การปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS นั้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นพืช แต่เมื่อทำการทดสอบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอด พบว่า ต้นมะละกอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีการเพิ่มจำนวนยอดใหม่ดีที่สุด สำหรับการเพิ่มจำนวนยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำ การใช้ BAP ที่ความเข้มข้นต่ำเหมาะสมที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mondal et al. (1990) ที่ได้มีการศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของมะละกอ โดยใช้ชิ้นส่วนตาข้างในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่า ต้นพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดการชักนำการเกิดยอดใหม่ดีที่สุด (Mondal, Gupta and Mukherjee, 1990) ต่อมาในปี 2003 (Bhattacharya, et al. 2003) ได้มีการศึกษาการเพิ่ม

จำนวนยอดของมะละกอ 3 สายพันธุ์ คือ Honey Dew, Washington และ Co2 พบว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มจำนวนยอดใหม่และมีการเกิดยอดใหม่มากที่สุดทั้ง 3 สายพันธุ์ และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มจำนวนยอดใหม่และมีการเกิดยอดใหม่มากที่สุดทั้ง 3 สายพันธุ์ ต่อมาในปี 2013 (Mumo, et al. 2013) ได้มีการศึกษาการการชักนำการเกิดยอดของ Kenyan papaya โดยใช้ชิ้นส่วนปลายยอด พบว่า ต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีอัตราการเกิดยอดใหม่มากที่สุด และต้นพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้ NAA ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความสูงยอดดีที่สุด จากงานวิจัยที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหารสำหรับการเพิ่มปริมาณต้นมะละกอ คือ The proliferation medium (PPRM) คือ อาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร, BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, GA_3 ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Adenine sulphate ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเพิ่มจำนวนโดยเฉลี่ยมีสูงมากขึ้นเช่นเดียวกัน (González, Granero and Encina, 2021) เช่นเดียวกับรายงานของ Shekhawat et al. ที่ได้ทำการศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของเสาวรส (*Passiflora foetida* L.) ด้วยชิ้นส่วนข้อโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยนำข้อของต้นเสาวรสทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS กึ่งแข็งกึ่งเหลว ร่วมกับการเติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว พบว่า ต้นพืชมีจำนวนยอดดีที่สุด (Shekhawat, et al. 2015)

การศึกษาผลของจิบเบอเรลลิค แอซิด (Gibberellin acid; GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำ

การศึกษาความเข้มข้นของ GA_3 ต่อการเจริญเติบโตของมะละกอ พบว่า การเติม GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พร้อมกับการทำอาหารสังเคราะห์ และการเติม GA_3 ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการ filter ต้นพืชมีการเกิดยอดใหม่ดีที่สุด แต่เมื่อเติม GA_3 ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด จากงานวิจัยจะสังเกตได้ว่าความสูงยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำมีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่ง GA_3 ทำให้เซลล์พืชเกิดการยืดยาว (Cell elongation) โดยความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับมะละกอพันธุ์แขกดำ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของมะละกอ

(*Carica papaya* L.) พันธุ์ Horana papaya hybrid 01 โดยใช้ชิ้นส่วนยอด ได้มีการทดสอบความเข้มข้นของ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0, 0.15 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อความสูงยอดของมะละกอ พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ความเข้มข้น 1.5 เท่า ร่วมกับการเติม BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด (Waidyaratne and Samanmalie, 2022) ซึ่งก่อนหน้านี้ในปี 2007 ได้มีการศึกษาผลของ GA_3 ต่อความสูงยอดของต้นโกฐจุฬาพาไทย (*Artemisia vulgaris* L.) จากการใช้ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม GA_3 ความเข้มข้น 0, 0.82, 1.44, 2.89, 4.53 และ 5.78 µM พบว่า การเติม GA_3 ความเข้มข้น 1.44 µM ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การตอบสนองและความสูงยอดดีที่สุด ทั้งในชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ (Sujatha and Kumari, 2007) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pe´rez–Tornero et al. ในปี 2010 ได้มีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Lemon (*Cirtrus limon*) ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ โดยศึกษาผลของ BAP และ GA_3 ที่เติมลงบนอาหารสังเคราะห์ DKW ต่อความสูงยอดและจำนวนยอด พบว่า เมื่อเติม GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม BA ต้นพืชมีความสูงยอดดีที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่เติม GA_3 ในทั้ง 6 สายพันธุ์ อีกทั้ง GA_3 ยังส่งผลต่อจำนนวนยอดของต้นพืชอีกด้วยเพราะเมื่อเติม GA_3 ร่วมกับการเติม BAP ต้นพืชมีจำนวนยอดดีกว่าการที่ไม่เติม GA_3 ในทั้ง 6 สายพันธุ์ (Pérez–Tornero, Tallon and Porras, 2010) ในปี 2005 ได้มีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Sweet viburnum (*Viburnum oboratissimum*) พบว่า การเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม BA ร่วมกับการเติม GA_3 ความเข้มข้น 28 µM ต้นพืชมีจำนวนยอดและความสูงยอดดีที่สุด แต่เมื่อไม่เติม GA_3 ต้นพืชมีการเจริญเติบโตที่ไม่ดี ส่วนจำนวนราก พบว่า การเติม GA_3 ความเข้มข้น 14 µM ต้นพืชมีจำนวนรากมากที่สุด แต่เมื่อไม่ได้ทำการเติม GA_3 ต้นพืชมีจำนวนรากน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ (Schoene and Yeager, 2005)

การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก (Photoautotrophic condition)

การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์แขกดำภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรฟิก พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนยอดดีที่สุด จากการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของมะละกอแขกดำในสภาวะ Photoautotrophic พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชในภาชนะปิดสนิทต้นพืชมีอาการฉ่ำน้ำ เนื่องจากความชื้นภายในขวดเพาะเลี้ยงมีมากเกินไป และมากกว่าภาชนะที่มี

อากาศผ่านได้จึงทำให้ต้นพืชมีอาการฉ่ำน้ำในภาชนะปิดสนิทมากกว่าภาชนะที่อากาศสามารถผ่านได้ นอกจากนี้ในภาชนะปิดสนิทอาจมีการสะสมของแก๊สชนิดอื่นที่อาจจะส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของต้นพืชได้ เช่นเดียวกับการศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของต้นเฮลเซนัท (*Corylus avellana* L.) ทั้งหมด 2 สายพันธุ์ พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 3% ต้นพืชมีจำนวนยอดมากที่สุด (Yu and Reed, 1993) ในการศึกษาความเข้มข้นและชนิดของน้ำตาลต่อความสูงยอดและจำนวนใบต่อยอดของมะละกอ พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 1, 1.5 และ 3% ในภาชนะปิดสนิท และ Sucrose ความเข้มข้น 1.5% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด และต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Glucose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอดดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการพัฒนาระบบ Photomixotrophic ของ Persian walnut โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ต้นพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะปิดสนิท ต้นพืชมีความสูงยอดมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 3% ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอดมากที่สุด (Vahdati and Hassankhah, 2013) ก่อนหน้านี้ก็ได้มีการศึกษาการขยายพันธุ์ต้นตอส้มแบบจุลวิธีภายใต้สภาวะ Photoautotrophic โดยศึกษาทั้งหมด 2 กรรมวิธี โดยกรรมวิธีแรก คือ เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม Sucrose ความเข้มข้น 6% ร่วมกับ น้ำมะพร้าว ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ในภาชนะที่ปิดสนิท และกรรมวิธีที่ 2 คือ เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติมน้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเจาะรูที่ฝาขนาด 0.5 เซนติเมตร พบว่า กรรมวิธีที่ 2 นั้นต้นพืชมีการเจริญเติบโตดีกว่ากรรมวิธีแรกอย่างเห็นได้ชัด โดยความสูงของยอดอยู่ที่ 2 เซนติเมตร และมีจำนวนใบ 5 ใบต่อยอด (จารุวรรณ จาติเสถียร, 2548) ต่อมาในปี 2015 ได้มีการศึกษาผลของความแตกต่างของ Photoautotrophic และ Photomixotrophic และการเติม IBA ในมะละกอ (*Carica papaya* L. var. Red maradol) โดยศึกษา IBA ที่ความเข้มข้น 0 และ 9.8 M และ Sucrose ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 27 วัน ในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้า–ออกได้ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์ที่ไม่มีการเติม IBA และ Sucrose ต้นพืชมีความสูงยอดดีที่สุด แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 9.8 M ร่วมกับการเติม Sucrose ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตรและไม่เติม Sucrose ต้นพืชมีจำนวนใบต่อยอดดีที่สุด (Pérez et al., 2015)

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ต่อการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ

การศึกษาผลของสารในกลุ่ม Auxins ต่อการชักนำรากของมะละกอ พบว่า การเติม IBA ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.6 และ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร และการเติม NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 และ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในที่สว่าง ต้นพืชมีการเกิดราก โดยการเติม NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 และ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความยาวรากและจำนวนรากดีที่สุด แต่เมื่อทำการลดความเข้มข้นของ NAA ลงเหลือ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชไม่มีการเกิดราก ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นที่ใช้นี้ต่ำเกินไปสำหรับการชักนำการเกิดรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Yu et al. ในปี 2000 ที่ศึกษาการชักนำยอดของมะละกอโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยศึกษาความเข้มข้นของ IBA ต่อการชักนำรากของมะละกอ พบว่า IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 0.5 และ 1 สัปดาห์ และต้นพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 0.5 สัปดาห์ โดยทำการเพาะเลี้ยงในที่มืด พบว่า ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ 100% จึงทราบได้ว่า IBA ส่งผลต่อการเกิดรากของต้นพืช จากการทดลองการเพาะเลี้ยงในที่มืด พบว่า เมื่อนำต้นพืชไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสงสว่างต้นพืชตาย และไม่มีการเกิดราก เป็นเพราะเมื่อต้นพืชไม่ได้รับแสง พืชอาจมีกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ผิดปกติทำให้ต้นพืชตายได้ (Yu, et al. 2000) ต่อมาได้มีงานวิจัยของ Pe´rez-Tornero et al. ในปี 2010 ได้มีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Lemon (*Citris limon*) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร DKW ที่มีการเติม IBA ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และการเติม IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ต้นพืชให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ 100% เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร DKW ที่มีการเติม IBA และ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีจำนวนรากมากที่สุด แต่เมื่อเติม IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีความยาวรากมากที่สุด (Pérez-Tornero et al., 2010) ต่อมาในปี 2013 ได้มีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของมะละกอพันธุ์ Kanyan papaya (*Carica papaya* L.) โดยใช้ชิ้นส่วนปลายยอด พบว่า การใช้ IBA ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีจำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด แต่เมื่อไม่มีการเติม IBA ต้นพืชไม่มีการเกิดราก (Mumo et al., 2013) ต่อมาในปี 2015 ได้มีการศึกษาของ Pérez et al. ได้มีการเพาะเลี้ยงต้นมะละกอพันธุ์ Red Maradol บนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 9.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Sucrose ความเข้มข้น 0 และ 10 กรัมต่อลิตร ต้นพืชมี

ความยาวราก จำนวนราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด (Pérez et al., 2015) เช่นเดียวกับการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของมะละกอพันธุ์ Horana papaya hybrid 01 โดยใช้ชิ้นส่วนปลายยอด เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 0.5 เท่า ที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีจำนวนรากและความยาวรากดีที่สุด (Waidyaratne and Samanmalie, 2022) นอกจากนี้ยังได้มีการใช้ IBA ในการศึกษาการชักนำรากของมันฝรั่ง (*Viburnum oboratissimum*) โดยการเติม IBA ความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม GA_3 ความเข้มข้น 4.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นพืชมีจำนวนรากและเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด (Schoene and Yeager, 2005) ก่อนหน้านี้ในปี 1991 ได้มีการศึกษาการชักนำรากของมะละกอ โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 2500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวรากดีที่สุด แต่เมื่อไม่มีการเติม IBA ต้นพืชไม่มีการเกิดราก (Kataoka and Inoue, 1991) นอกจากการศึกษาการใช้ IBA แล้ว ยังมีการศึกษาการใช้ NAA ในการชักนำรากของต้นพืช ในปี 1984 ได้มีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Paradox walnut เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร WPM ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 5.59 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ 80% (Driver and Kuniyuki, 1984) ต่อมาในปี 2014 ได้มีการศึกษาการชักนำรากของเชอรี่โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งได้มีการเพิ่มจำนวนต้นพืชบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ognjanov et al. 2014) อีกทั้งยังมีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของมันฝรั่ง (*Salanum tuberosum* L.) โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และ ความยาวรากดีที่สุด (Koleva Gudeva et al. 2012) จากงานวิจัยส่วนใหญ่การศึกษาการชักนำรากการใช้ IBA ต้นพืชมีการเกิดรากมากที่สุด แต่ในการชักนำรากของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า การใช้ NAA ดีที่สุดในการชักนำราก

บรรณานุกรม

Anandan, R., Thirugnanakumar, S., Sudhakar, D. and Balasubramanian, P. (2011). *In vitro* organogenesis and plantlet regeneration of (Carica papaya L.). **Journal of Agricultural Technology,** 7(5), 1339–1348.

Anderson, W. C. (1980). Tissue culture propagation of red and black raspberries, Rubus idaeus and R. occidentalis. **Paper presented at the Symposium on Breeding and Machine Harvesting of Rubus** 112.

Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. and Papadakis, I. (2007). The effect of Fe–EDDHA and of ascorbic acid on in vitro rooting of the peach rootstock GF–677 explants. **Acta Physiologiae Plantarum**, 29, 559–561.

Bhattacharya, J. and Khuspe, S. (2001). *In vitro* and in vivo germination of papaya (Carica papaya L.) seeds. **Scientia Horticulturae,** 91(1–2), 39–49.

Bhattacharya, J., Renukdas, N., Khuspe, S. and Rawal, S. (2003). Multiple shoot regeneration from immature embryo explants of papaya. 47, 327–331.

Brito, G. and Santos, C. (2009). Basal medium improvement for routine micropropagation of Olea maderensis: physiological comparative studies. **Canadian journal of forest research,** 39(4), 814–822.

Cangahuala–Inocente, G. C., Dal Vesco, L. L., Steinmacher, D., Torres, A. C. and Guerra, M. P. (2007). Improvements in somatic embryogenesis protocol in Feijoa (Acca sellowiana (Berg) Burret): induction, conversion and synthetic seeds. **Scientia Horticulturae,** 111(3), 228–234.

Chan, L. and Teo, C. (1993). *In vitro* production of multiple shoots in papaya as affected by plant tissue maturity and genotype. **Mardi Research Journal,** 21, 105–111.

Daud, N. H., Jayaraman, S. and Mohamed, R. (2012). Methods Paper: An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of Aquilaria malaccensis from field sources into tissue culture. **Aspac J. Mol Biol Biotechnol,** 20, 55–58.

Deb, P., Das, A., Ghosh, S. and Suresh, C. (2008). Improvement of seed germination and seedling growth of papaya (Carica papaya L.) through different pre-sowing seed treatments. **Paper presented at the II International Symposium on Papaya** 851.

Dimassi, K., Chouliaras, V., Diamantidis, G. and Therios, I. (2003). Effect of iron and auxins on peroxidase activity and rooting performance of three citrus rootstocks in vitro. **Journal of plant nutrition,** 26(5), 1023-1034.

Driver, J. A. and Kuniyuki, A. H. (1984). In vitro propagation of Paradox walnut rootstock. **HortScience,** 19(4), 507-509.

Dupagne, D. and Hewitt, L. (2016). **คุณค่าทางโภชนาการของมะละกอ.** Retrieved from สืบค้นจาก https://www.pobpad.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B8%A5%E0%B8%B0%E0%B8%81%E0%B8%AD-%E0%B8%9C%E0%B8%A5%E0%B9%84%E0%B8%A1%E0%B9%89%E0%B8%82%E0%B8%B6%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%8A%E0%B8%B7%E0%B9%88%E0%B8%AD-%E0%B8%81%E0%B8%B1%E0%B8%9A

Fitch, M. M. (2005). 6.1 Carica papaya Papaya. **Biotechnology of fruit and nut crops**, 29, 174.

Garrison, W., Dale, A. and Saxena, P. K. (2013). Improved shoot multiplication and development in hybrid hazelnut nodal cultures by ethylenediamine di-2-hydroxy-phenylacetic acid (Fe-EDDHA). **Canadian journal of plant science,** 93(3), 511-521.

Giang, D. T., Van, P. T., Tanaka, M. and Teixeira da Silva, J. (2011). Sterilization and germination of papaya (Carica papaya L.) seed and response to LEDs. **Seed Science and Biotechnology**, 5(1), 56-58.

González, J. J. R., Granero, M. L. and Encina, C. L. (2021). *In Vitro* Long-Term Cultures of Papaya (Carica Papaya L.).

Greenway, M. B., Phillips, I. C., Lloyd, M. N., Hubstenberger, J. F. and Phillips, G. C. (2012). A nutrient medium for diverse applications and tissue growth of plant species *in vitro.* ***In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant,** 48(4), 403-410.

Halloran, S. M. and Adelberg, J. (2011). A macronutrient optimization platform for micropropagation and acclimatization: using turmeric (Curcuma longa L.) as a model plant. ***In Vitro* Cellular and Developmental Biology–Plant**, 47(2), 257–273.

Hashim, S. N., Ghazali, S. Z., Sidik, N. J., Chia–Chay, T. and Saleh, A. (2021). Surface sterilization method for reducing contamination of Clinacanthus nutans nodal explants intended for *in–vitro* culture. **Paper presented at the E3S Web of Conferences**.

Hassan, S. and Zayed, N. S. (2018). Factor controlling micropropagation of fruit trees: a review. **Science International**, 6(1), 1–10.

Hossain, M., Rahman, S., Islam, R. and Joarder, O. (1993). High efficiency plant regeneration from petiole explants of Carica papaya L. through organogenesis. **Plant Cell Reports**, 13(2), 99–102.

Kataoka, I. and Inoue, H. (1991). Rooting of tissue cultured papaya shoots under *ex vitro* conditions. **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, 35(2), 127–129.

Koleva Gudeva, L., Mitrev, S., Trajkova, F. and Ilievski, M. (2012). Micropropagation of Potato Solanum tuberosum L. **Electronic journal of Biology**, 8(3), 45–49.

Krishna Kumar, G. and Thomas, T. D. (2012). High frequency somatic embryogenesis and synthetic seed production in Clitoria ternatea Linn. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 110(1), 141–151.

Litz, R., RE, L. and RA, C. (1978). In vitro propagation of papaya.

Lloyd, G. and McCown, B. (1980). Commercially–feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot–tip culture. **Commercially–feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot–tip culture**, 30, 421–427.

Martins, J. P. R., Verdoodt, V., Pasqual, M. and De Proft, M. (2015). Impacts of photoautotrophic and photomixotrophic conditions on *in vitro* propagated Billbergia zebrina (Bromeliaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 123(1), 121–132.

Moghaddam, A. R. N., Bahram, A., Ahmad, B., Leila, S. and Ali, T. (2021). The First Successful Report: Control of Browning Problem in in vitro Culture of Iranian Seedless Barberry, a Medicinally Important Species. **Erwerbs–Obstbau**, 63(3), 319–329.

Mondal, M., Gupta, S. and Mukherjee, B. B. (1990). *In vitro* propagation of shoot buds of Carica papaya L.(Caricaceae) var. Honey Dew. **Plant Cell Reports,** 8, 609–612.

Montgomery, D. C. (2017). *Design and analysis of experiments*: John wiley and sons.

Mumo, N. N., Rimberia, F. K., Mamati, G. E. and Kihurani, A. W. (2013). *In vitro* regeneration of selected Kenyan papaya (Carica papaya L.) lines through shoot tip culture. **African journal of Biotechnology**, 12(49), 6826–6832.

Munir, M., Iqbal, S., Baloch, J. and Khakwani, A. (2015). *In vitro* explant sterilization and bud initiation studies of four strawberry cultivars. **Journal of Applied Horticulture**, 17(3).

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, 15(3), 473–497.

Muslihatin, W. and Ratnadewi, D. (2012). Effect of carbohydrate source on growth and performance of in vitro sago palm (Metroxylon sagu Rottb.) plantlets. **HAYATI Journal of Biosciences**, 19(2), 88–92.

Nas, M. N. and Read, P. E. (2004). A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. **Scientia Horticulturae**, 101(1–2), 189–200.

Niedz, R. P. and Evens, T. J. (2007). Regulating plant tissue growth by mineral nutrition. ***In Vitro* Cellular and Developmental Biology–Plant**, 43(4), 370–381.

Niedz, R. P. and Evens, T. J. (2008). The effects of nitrogen and potassium nutrition on the growth of nonembryogenic and embryogenic tissue of sweet orange (Citrus sinensis (L.) Osbeck). **BMC Plant Biology**, 8(1), 1–11.

Niedz, R. P., Hyndman, S. E., Evens, T. J. and Weathersbee, A. A. (2014). Mineral nutrition and in vitro growth of Gerbera hybrida (Asteraceae). ***In Vitro* Cellular and Developmental Biology–Plant**, 50(4), 458–470.

Noodezh, H. M., Moieni, A. and Baghizadeh, A. (2012). *In vitro* propagation of the Damask rose (Rosa damascena Mill.). ***In Vitro* Cellular and Developmental Biology–Plant**, 48, 530–538.

Ognjanov, V., Ljubojevic, M., Barac, G., Dulic, J., Pranjic, A. and Dugalic, K. (2014). Rapid propagation of sweet and sour cherry rootstocks. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj–Napoca**, 42(2), 488–494.

Pérez–Tornero, O., Tallon, C. and Porras, I. (2010). An efficient protocol for micropropagation of lemon (Citrus limon) from mature nodal segments. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 100(3), 263–271.

Pérez, L. P., Montesinos, Y. P., Olmedo, J. G., Sánchez, R. R., Montenegro, O. N., Rodriguez, R. B., . . . Gómez–Kosky, R. (2015). Effects of different culture conditions (photoautotrophic, photomixotrophic) and the auxin indole–butyric acid on the in vitro acclimatization of papaya (Carica papaya L. var. Red Maradol) plants using zeolite as support. **African journal of Biotechnology**, 14(35), 2622–2635.

Poothong, S. and Reed, B. M. (2014). Modeling the effects of mineral nutrition for improving growth and development of micropropagated red raspberries. **Scientia Horticulturae**, 165, 132–141.

Qi–guang, Y., Read, P. E., Fellman, C. D. and Hosier, M. A. (1986). Effect of cytokinin, IBA, and rooting regime on Chinese chestnut cultured *in vitro*. **HortScience,** 21(1), 133–134.

Reed, B. M., Wada, S., DeNoma, J. and Niedz, R. P. (2013). Improving *in vitro* mineral nutrition for diverse pear germplasm. ***In Vitro* Cellular and Developmental Biology–Plant**, 49(3), 343–355.

Schoene, G. and Yeager, T. (2005). Micropropagation of sweet viburnum (Viburnum odoratissimum). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture,** 83, 271–277.

Shekhawat, M. S., Kannan, N., Manokari, M. and Ravindran, C. (2015). *In vitro* regeneration of shoots and ex vitro rooting of an important medicinal plant Passiflora foetida L. through nodal segment cultures. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology,** 13(2), 209–214.

Sujatha, G. and Kumari, B. R. (2007). Effect of phytohormones on micropropagation of Artemisia vulgaris L. **Acta Physiologiae Plantarum**, 29, 189–195.

Tabalvandani, H., Yadollahi, A., Atashkar, D., Kalatejari, S. and Eftekhari, M. (2014). Optimized root production during micropropagation of new Iranian apple hybrid rootstock (AZ X M9): Effects of Fe–EDDHA and thiamine. **Int J Adv Biol Biom Res**, 2(10), 2659–2662.

Trejgell, A., Libront, I. and Tretyn, A. (2012). The effect of Fe–EDDHA on shoot multiplication and *in vitro* rooting of Carlina onopordifolia Besser. **Acta Physiologiae Plantarum**, 34, 2051–2055.

Trigiano, R. N. and Gray, D. J. (1999). Plant tissue culture concepts and laboratory exercises: **CRC press**.

Vahdati, K. and Hassankhah, A. (2013). Developing a photomixotrophic system for micropropagation of persian walnut. **Paper presented at the VII International Walnut Symposium** 1050.

Waidyaratne, S. and Samanmalie, L. (2022). *In vitro* Propagation of Carica papaya L. Variety 'Horana Papaya Hybrid 01'Using Shoot Tip. **World,** 10(1), 15–19.

Xiao, Y., Niu, G. and Kozai, T. (2011). Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 105(2), 149–158.

Yu, T.–A., Yeh, S.–D., Cheng, Y.–H. and Yang, J.–S. (2000). Efficient rooting for establishment of papaya plantlets by micropropagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 61, 29–35.

Yu, X. and Reed, B. M. (1993). Improved shoot multiplication of mature hazelnut (Corylus avellana L.) *in vitro* using glucose as a carbon source. **Plant Cell Reports**, 12, 256–259.

Yu, X. and Reed, B. M. (1995). A micropropagation system for hazelnuts (Corylus species). **HortScience**, 30(1), 120–123.

Zinabu, D., Gebre, E. and Daksa, J. (2018). Explants sterilization protocol for *in–vitro* propagation of elite enset (Ensete ventricosum (Welw.) Chessman) Cultivars. **Asian Journal of Plant Science and Research**, 8(4), 1–7.

กรมประชาสัมพันธ์. (2565). **ประโยชน์ของมะละกอ.** Retrieved from สืบค้นจาก https://www.prd.go.th/th/content/category/detail/id/9/iid/145362

กัญจนา แซ่เตียว. (2555). **ผลของสารละลายธาตุอาหารในระบบ NFT ต่อการเจริญเติบโตปทุมมา**. กรุงเทพฯ:สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. doi:https://doi.nrct.go.th/ListDoi/listDetail?Resolve_DOI=10.14457/KMITL.res.2012.120.

คณพล จุฑามณี. (2564). **สารควบคุมการเจริญเติบโต การตอบสนองทางสรีรวิทยา และการประยุกต์ใช้ในพืช.** มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์: ศูนย์รังสิต.

คิวยีลด์. (2563). **โรคของมะละกอ.** Retrieved from สืบค้นจาก https://www.qyield.com /article/view.php?id=20.

จารุวรรณ จาติเสถียร. (2548). การขยายพันธุ์ต้นตอซังส้มแบบจุลวิธีภายใต้สภาวะ Photoautotrophic. **รายงานผลการวิจัย กลุ่มงานวิจัยโรคไม้ผล พืชสวนอุตสาหกรรม และสมุนไพร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา.** กรมวิชาการเกษตร.

ณัฏฐากร เสมสันทัด. (2552). **คู่มือการฝึกอบรมหลักสูตรการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์ไม้ป่า.** กลุ่มงานวนวัฒนวิจัย สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้, 2552, (เอกสารไม่มีการตีพิมพ์).

พชร อริยะสกุล, ชัยฤกษ์ สุวรรณรัตน์ และ จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. (2551). ประสิทธิภาพของปุ๋ยเหล็กคีเลตในการแก้ปัญหาการขาดธาตุเหล็กของถั่วลิสงที่ปลูกในชุดดินตาคลี. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46, สาขาพืช. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์** ครั้งที่ 46, (หน้า 13–20). สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

มงคล ต๊ะอุ่น, สันติภาพ ปัญจพรรค์, สุทธิพงศ์ เปรื่องค้า และ พัชรี ธีรจินดาขจร. (2546). สภาพการปฏิบัติเพื่อการผลิตมะละกอของเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. **วารสารมหาวิทยาลัยขอนแก่น**, 8(1), 34–42.

มนูญ ศิรินุพงศ์, อมรรัตน์ หาญสุราษฎร์ และ สุจริต ส่วนไพโรจน์. (2551). เหล็กคีเลตสังเคราะห์ต่อการเจริญเติบโตของต้นคะน้าที่ปลูกในสารละลาย. **วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร**, 39(3), 405.

มหาวิทยาลัยมหิดล, (2560). **ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะละกอ**. Retrieved from สืบค้นจาก https://il.mahidol.ac.th/e-media/plants/webcontent3/interactive_key/key/describ/malako.htm

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. (2541). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค** (Vol. 2). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันวิจัยและพัฒนาชายแดนภาคใต้. (2559). **ลักษณะพฤษศาสตร์ของมะละกอ.** Retrieved from สืบค้นจาก srdi.yru.ac.th/bcqy/page/207/มะละกอ.html.

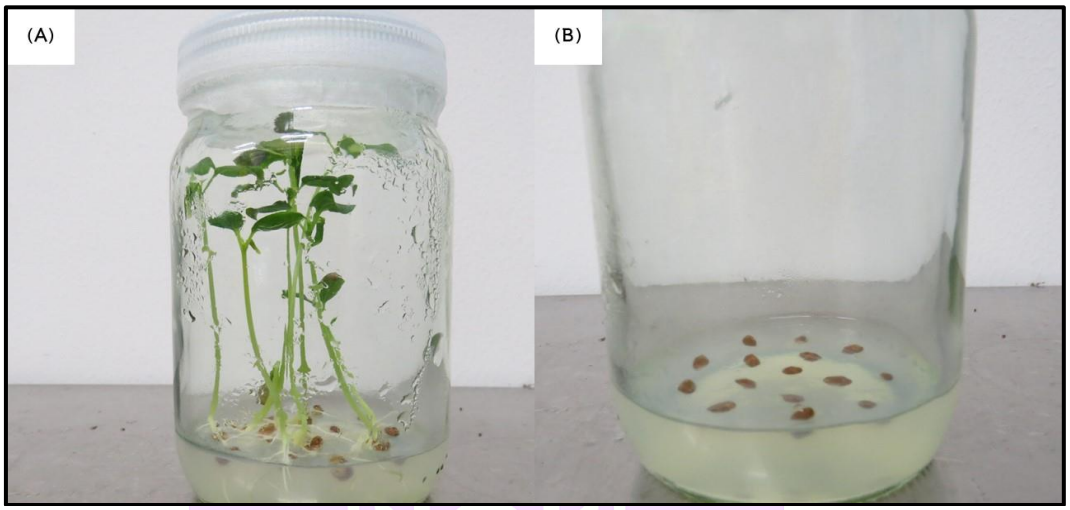
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ตารางแสดงสารที่ใช้ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS

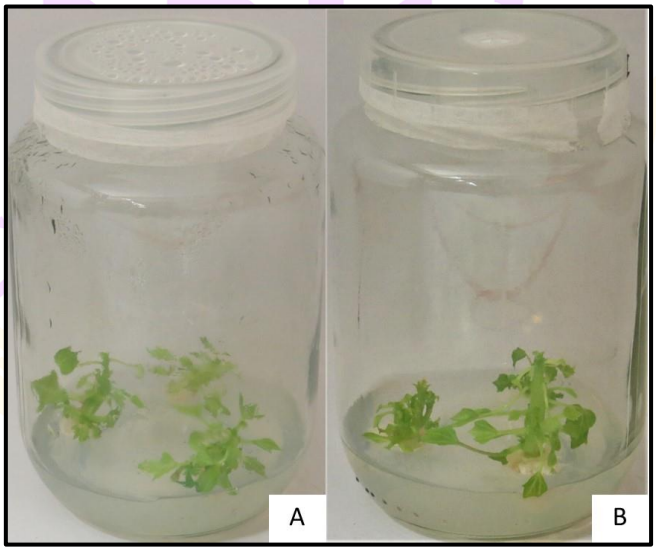
ตาราง 11 ตารางสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS

Stock	สารเคมีที่ใช้	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณที่ใช้ในอาหารสูตร MS ต่อ 1 ลิตร (มิลลิลิตร)
Stock A	NH_4NO_3	82.5 g	20 ml
Stock B	KNO_3	95.0 g	20 ml
Stock C	$CaCl_2.2H_2O$	44.0 g	10 ml
Stock D	KH_2PO_4	17.0 g	10 ml
Stock E	$MgSO_4.7H_2O$	37.0 g	10 ml
Stock F	$MnSO_4.H_2O$ $CuSO_4.5H_2O$ $ZnSO_4.7H_2O$	1.66 g 0.0025 g 0.860 g	10 ml
Stock G	KI $CoCl_2.6H_2O$ H_3BO_3 $Na_2MoO_4.2H_2O$	0.083 g 0.0025 g 0.620 g 0.025 g	10 ml
Stock H	$FeSO_4.7H_2O$ EDTA Na_2	2.78 g 3.724 g	10 ml
MS Vitamin	Thiamine HCL Glycine Myo-inositol Nicotinic acid Pyridoxine	0.04 0.2 0.01 0.05 0.05	10
FeNa-EDDHA	Etylenendiamine • ferric	0.05	ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ต้องการในอาหารสังเคราะห์
GA_3	Gibberellin acid	0.1	
BAP	6-Benzylaminopurine	0.1	
TDZ	Thidiazuron	0.1	
Kinetin	Kinetin	0.1	
NAA	1-Naphthaleneacetic acid	0.1	
IBA	Indole-3-butyric acid	0.1	

ภาคผนวก ข ภาพต้นมะละกอ และภาชนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ภาพ 17 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอพันธุ์ TA151 (A) ลักษณะการงอกของต้นพืชมะละกอที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะละกอ (B) ลักษณะเมล็ดมะละกอพันธุ์ TA151 ที่ทำการแกะเปลือกหุ้มเมล็ด จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS



ภาพ 18 ลักษณะของภาชนะที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อทดสอบสภาวะ Photoautotrophic (A) ภาชนะปิดสนิทที่อากาศไม่สามารถผ่านได้ (B) ภาชนะที่มี Filter กรองขนาด 1 เซนติเมตร อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ณัฐกฤตา วิเศษสุมน
วัน เดือน ปี เกิด	24 กันยายน 2538
สถานที่เกิด	พิษณุโลก
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2560 วท.บ. (เกษตรศาสตร์), มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	1/2 ถ.สันกลาง ซ.4 ต.ในเวียง อ.เมือง จ.แพร่ 54000
ผลงานตีพิมพ์	ณัฐกฤตา วิเศษสุมน และ สุกัลยา ภู่ทอง. (2565). ผลของธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำยอดของมะละกอโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. วารสารประชุมวิชาการโครงการประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย. 11(1), 824-833.
รางวัลที่ได้รับ	-