รายงานการวิจัย

การพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์ไม้ผลเศรษฐกิจด้วยวิธีการติดตาต่อกิ่งในหลอดทดลอง

Development Tehnique for Propagation of Economic Fruit Crops by Means of In Vitro Young Grafting

โดยทุนอุดหนุนการวิจัยและพัฒนาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

มงคล แซ่หลิม

สมปอง เตชะโต

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตหาดใหญ่

017298

17 ส.ค. 2535

บทคัดย่อภาษาไทย

จากการศึกษาการติดตาขนาดเล็กส้มจุกและส้มโชกุนบนต้นตอส้มสปีชีส์ต่างๆ และอายุต่างๆกันในหลอดทดสอบทำการเลี้ยงดูในสภาพต่าง ๆ พบว่าการติดตาส้มจุกบนต้นตอส้มจี๊ดให้ผลสำเร็จสูงกว่าส้มโชกุน การติดตาส้มจุกบนต้นตอสปีชีส์ต่างๆพบว่าต้นตอส้มจี๊ดและส้มเขียวหวานให้ผลสำเร็จSTG เฉลี่ย 34 และ 51 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับใกล้เคียงกันเหมาะที่จะใช้เป็นต้นตอในขณะที่มะนาวให้ผลสำเร็จ STG ต่ำ สำหรับอายุต้นตอที่เหมาะสมให้ผลสำเร็จ STG สูงสุดคือ 6-7 วันเป็นไปในทำนองเดียวกันทุกสปีชีส์ที่ทดสอบ ตายอดส้มที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกให้ผลสำเร็จ STG ต่ำกว่าตายอดที่เตรียมในหลอดทดสอบเล็กน้อยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังจากติดตาแล้วเลี้ยงต้นติดตาในที่มืดเป็นเวลา 9 วัน ก่อนจึงนำไปเลี้ยงในที่มีแสงให้ผลสำเร็จ STG สูงสุด เป็นไปในทำนองเดียวกันกับต้นตอสองสปีชีส์ที่ทดสอบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการเลี้ยงในสภาพอื่น ๆ ระดับการเป็นโรคของส้มจุกมีผลต่อความสำเร็จ STG กล่าวคือต้นส้มจุกที่เป็นโรคน้อยให้ผลสำเร็จ STG 25-35 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ต้นที่เป็นโรคปานกลางให้ผลสำเร็จ STG ในช่วง 15-20 เปอร์เซ็นต์ ตำแหน่งของตาที่ติดบนต้นตอในลักษณะวางบนฐานสามเหลี่ยมแนวตั้งหรือวางบนฐานสามเหลี่ยมแนวนอนไม่มีความแตกต่างทางสถิติต่อผลสำเร็จ STG อย่างไรก็ตามการทรีตตายอดด้วยอุณหภูมิ 38±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์ให้ผลสำเร็จ STG เฉลี่ย 61.6 เปอร์เซ็นต์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการติดตาทันทีหลังจากตัดแยกตายอดส้มจุกแล้ว ส่วนการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต GA_3 ให้ผลสำเร็จ STG ไม่มีความแตกต่างกับการไม่ใช้ ต้นติดตามีการเจริญเติบโตสร้างข้อ 6-8 ข้อหลังจากย้ายลงดินปลูกเป็นเวลา 3 เดือน

จากการศึกษาเทคนิคการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดสอบนั้นในขั้นต้นสามารถชักนำยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารสูตรดัดแปลง MS ร่วมด้วย BA เข้มข้น 25-50 ไมโครโมลาร์ สำหรับการยืดยาวของยอดเป็นไปได้ดีเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ลดความเข้มข้น BA ลงเป็น 1 ไมโครโมลาร์ ยอดที่ได้เมื่อนำไปเป็นกิ่งเลี้ยงต่อบนต้นตอพะวาด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน 3 วิธี พบว่าการต่อกิ่งภายใต้การเคลือบด้วยพาราฟลาส์แบบเสียบลิ่มให้ความมีชีวิตของกิ่งเลี้ยง และการต่อกิ่งสำเร็จ 100 และ 78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ทุกวิธีการต่อกิ่งที่ไม่เคลือบให้ผลสำเร็จต่ำมากถึงไม่สำเร็จเลย การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ GA_3 เข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ช่วยส่งเสริมผลสำเร็จการต่อกิ่งให้สูงขึ้นเล็กน้อยไม่มีความแตกต่างกับการไม่ใช้ ต้นต่อกิ่งที่ได้เมื่อย้ายลงดินปลูกภายใต้สภาพการควบคุมความชื้นที่เหมาะสมมีอัตราการรอดชีวิต 14 เปอร์เซ็นต์

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

In vitro shoot tip grafting(STG) of Neck Orange and Shogun was investigated. The results showed that STG of Neck Orange on Calamondin gave the higher percent STG than Shogun. Among rootstock test, Mandalin gave the highest average STG success of 51 percent, followed by Calamondin which provided an average STG success of 34 percent. The formerly mentioned rootstock at 6-7 day-old seedlings provided the most effective on STG success. Shoot tips excised from field grown Neck Orange plants gave STG success slightly lower than in vitro grown plants but without significant difference. After STG, cultures of grafted plants under dark condition for 9 days provided the highest STG success for both rootstock test. Shoot tips collected from mald infectious plants gave a higher STG success at ranging from 25 to 35 percent while moderate infectious plants gave 15 to 20 percent. A high temperature of 38±1 °C provided STG success 61.6 percent significant difference to non treatment. In case of application GA_3 to the wound before STG, it was found that STG success was slightly increased but not significant difference to control. Vitro-STG plants could produce 6-8 nodes after transferring to soil for 3 months.

In vitro grafting of mangosteen was also investigated. First of all mangosteen seeds were cultured to induce multiple shoots. The seeds were cultured on modified MS medium with 25-50 uM BA. For elongation of the shoots, seed-derived multiple shoots must be transferred to the medium with decrement concentration BA to 1 uM. A great number of shoots were sufficient to use for grafting. Among three methods of grafting technique, namely cleft grafting, saddle grafting, and whip grafting, it was proved that cleft grafting gave the highest success with 78 percent. In all cases a high success grafting with 100 percent of this plant was enhanced by wrapping with melted Paraplast. In addition, phytohormone, BA and GA_3 at 200 uM could slightly promote grafting success. Survival of vitro-grafted plants when transfer to soil was 14 percent.

สารบัญเรื่อง

เนื้อหา	หน้า
คำย่อ	1
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อภาษาไทย	3
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	4
บทนำ	5
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	8
วิธีการศึกษา	11
ผลการทดลอง	16
การศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้าส้มจุก	16
การศึกษาเปรียบเทียบต้นตอสปีชีส์ต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อ STG	17
การศึกษาอายุต้นตอส้มต่อความสำเร็จ STG	18
การศึกษาชนิดและประเภทของตาส้มพันธุ์ดีต่อความสำเร็จ STG	22
การศึกษาต้นพันธุ์ส้มจุกที่เก็บรวบรวมตาต่อความสำเร็จ STG	23
การศึกษาตำแหน่งการวางตาต่อความสำเร็จ STG	24
การศึกษาสภาพการเลี้ยงภายหลังติดตาต่อความสำเร็จ STG	25
การศึกษาการทรีตตายอดส้มจุกที่อุณหภูมิ 38±1 °ซ ต่อความสำเร็จ STG	27
การศึกษาผลของ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อความสำเร็จ STG	27
การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าหลังย้ายปลูก	29
การศึกษาการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงมังคุด	29
การศึกษาเทคนิคต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง	32
การศึกษาวิธีการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง	33
การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อความสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุด	34
การศึกษาต้นต่อกิ่งมังคุดหลังจากย้ายลงดินปลูก	35
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	44

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อิทธิพลของต้นตอส้มสปีชีส์ต่าง ๆ ที่มีต่อความสำเร็จในการทำ STG ในหลอดทดลอง	18
2	แสดงอิทธิพลของชนิดและอายุต้นตอที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ STG	20
3	อิทธิพลของพันธุ์ส้มที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาบนต้นตอส้มจี๊ดหลังจากทำการติดตาแล้วเป็นเวลา 4 สัปดาห์	22
4	อิทธิพลของตายอดจากแปลงปลูกและในหลอดทดลองที่มีต่อเปอร์เซ็นต์ STG	22
5	อิทธิพลของส้มจุกต้นต่าง ๆ ในแปลงปลูกต่อผลสำเร็จ STG	23
6	ผลของตำแหน่งการวางตาส้มจุกบนต้นตอส้มเชียวหวานต่อผลสำเร็จ STG	24
7	อิทธิพลของต้นตอและเวลาการเลี้ยงต้นติดตาในที่มืดต่อผลสำเร็จ STG	25
8	ผลการเตรียมตายอดส้มจุกที่อุณหภูมิ 27± 1 °ซ และ 38± 1 °ซ ต่อผลสำเร็จ STG	27
9	ผลของ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อความสำเร็จในการติดตาในหลอดทดลอง	27
10	การเจริญเติบโตและพัฒนาการของกิ่งพันธุ์ส้มจุกที่ได้จากการทำ STG แล้วนำออกไปติดตาต่อกิ่งกับต้นตอในเรือนเพาะชำ	29
11	ผลของไซโตไคนินที่มีต่อการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุด	30
12	ผลของ BA ต่อจำนวนการสร้างและอัตราการเจริญของยอดรวม	31
13	เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุดและมะพูดบนต้นตอพะวา เปรียบเทียบระหว่างการเคลือบและไม่เคลือบพาราฟลาสต์	32
14	ผลของการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวา 3 วิธีการต่อเปอร์เซ็นต์ต่อกิ่งสำเร็จ	33
15	ผลของ BA หรือ GA_3 ระดับความเข้มข้น 100 มก/ล ต่อความสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง	34
16	ผลของ BA หรือ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อผลสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง	35

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 แสดงวิธีการวางตาส้มจุกบนต้นตอส้มเขียวหวาน 12
2 ขั้นตอนการเตรียมตายอดที่อุณหภูมิ 38± 1 °ซ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 13
3 ผลของ NAA และ BA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการชักนำยอดรวม จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้าส้มจุกในหลอดทดลอง 16
4 ยอดรวมที่ชักนำจากการเลี้ยงชิ้นส่วนข้อต้นกล้าส้มจุก 17
5 ต้นตอส้มเขียวหวานอายุ 4, 6 และ 8 วันหลังจากงอก(ซ้าย-ขวา) 19
6 อิทธิพลของชนิดต้นตอส้มอายุต่าง ๆ ที่มีต่อความสำเร็จ STG 21
7 อิทธิพลของส้มจุกต้นต่าง ๆ ที่มีต่อผลสำเร็จ STG 23
8 การสร้างแคลลัสตรงรอยต่อระหว่างตาและต้นตอเมื่อวางตาบนฐานสามเหลี่ยม 24
9 ผลของต้นตอและการเลี้ยงต้นติดตาในที่มืดต่อผลสำเร็จ STG 26
10 วิธีการติดตาส้มจุกขนาดเล็กบนต้นตอส้มเขียวหวานในหลอดทดลอง 28
11 การชักนำยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุดในอาหารสูตรดัดแปลง MS เติม BA เข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ 31
12 การต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาโดยใช้เทคนิคการหุ้มรอยต่อด้วยพาราฟลาสต์ 32
13 เทคนิคการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาในหลอดทดสอบ 36

คำย่อ

BA	:	6-Benzyladenine
DMSO	:	Dimethyl sulfoxide
GA_3	:	Gibberellic acid
IAA	:	3-Indoleacetic acid
IBA	:	3-Indolebutylic acid
2i-P	:	Dimethylallylamino purine
KN	:	Kinetin
MS	:	Murashige & Skoog medium
NAA	:	Naphthalene -1- acetic acid
STG	:	Shoot tip grafting

บทนำ

ส้มจุก (Citrus reticulata Blanco) จัดอยู่ในกลุ่มแมนดาริน เป็นไม้ผลพื้นเมืองทางภาคใต้ของประเทศไทยและในปัจจุบันได้กลายเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของท้องถิ่นภาคใต้ แหล่งปลูกดั้งเดิมอยู่ที่อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลาต่อมาได้กระจายไปปลูกในแหล่งอื่นๆ ของภาคใต้ จังหวัดที่ปลูกมากรองลงมาคือนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และยะลา พื้นที่ปลูกส้มจุกแต่ละแห่งในปัจจุบันลดลงอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะที่อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลาเหลือพื้นที่ปลูกเพียง 300 ไร่ ทั้งนี้เนื่องมาจากสาเหตุของโรคต้นทรุดโทรมซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัส โรคนี้ติดไปกับชิ้นส่วนพืชที่ใช้ขยายพันธุ์ไม่ว่าเป็นตาขนาดใหญ่ที่ติดบนต้นตอ อย่างไรก็ตามการติดตาขนาดเล็กส้มจุกในหลอดทดลอง(shoot tip grafting; STG) นั้นช่วยให้ผลิตต้นส้มปลอดโรคไวรัสได้เนื่องจากชิ้นส่วนของตาที่นำมาติดมีขนาดเล็ก ไม่มีการแพร่กระจายของไวรัสสาเหตุของโรคทริสติซาไวรัส (citrus tristezs virus; CTV) การใช้เทคนิคดังกล่าวจะมีประสิทธิภาพมากขึ้น หากใช้ชิ้นส่วนตาขนาดเล็กจากต้นกล้าที่ทำการทวีจำนวนในหลอดทดลองด้วยการเพาะเลี้ยงนิวเซลลัสหรือไข่อ่อน ตลอดจนเมล็ด ทั้งนี้เพราะไม่มีการถ่ายทอดโรคนี้ผ่านชิ้นส่วนทั้ง 3 (Navarro, 1981) ดังนั้นการใช้ชิ้นส่วนดังกล่าวมาทำการเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนับเป็นการช่วยผลิตต้นปลอดโรคได้เช่นเดียวกัน จากการศึกษาการขยายพันธุ์ส้มในหลอดทดลองพบว่าสามารถที่จะทำได้ง่ายภายใต้การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เช่นการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้าส้มจี๊ดภายในหลอดทดลองในสภาพที่เหมาะสมสามารถที่จะขยายพันธุ์ส้มจี๊ดได้ถึง 275 ต้นภายในเวลา 9 สัปดาห์ (Sim et al., 1989) อย่างไรก็ตามชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในส้มแต่ละพันธุ์แตกต่างกันออกไป จำเป็นต้องมีการดัดแปลงเพื่อขยายพันธุ์ไว้ใช้ในกรรมวิธีการผลิตส้มปลอดโรคต่อไป ในอนาคตอันใกล้นี้การใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่กล่าวแล้วข้างต้นให้ต้นกล้าที่มีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นติดตา (อายุนับจากปลูกจนตกผล) นอกจากนี้การใช้ต้นตอที่มีความสามารถทนทานต่อโรคช่วยเพิ่มความแข็งแรงและภูมิคุ้มกันให้กับต้นส้มจุก การติดตาส้มจุกโดยใช้ตาจากต้นส้มจุกที่เป็นโรคมาติดบนต้นตอส้มต่างๆจึงมีความจำเป็นในขั้นต้น สำหรับส้มโชกุนก็จัดอยู่ในพวกเดียวกันการปลูกจนถึงปัจจุบันยังไม่พบปัญหาการปลูกเหมือนส้มจุกทั้งนี้เพราะเป็นพืชใหม่ อย่างไรก็ตามการศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการติดตาขนาดเล็กในหลอดทดลองร่วมกันไปกับส้มจุกจะเป็นประโยชน์ยิ่งต่อไปในอนาคต

การติดตาส้มขนาดเล็กในหลอดทดลองนั้นต้นตอนับว่ามีความสำคัญต่อผลสำเร็จเพราะพันธุ์ส้มที่แตกต่างกันจะมีปัญหาการเข้ากันไม่ได้ (incompatibility)ในการติดตา ทำให้ไม่สามารถติดตาได้สำเร็จ อย่างไรก็ตามมีรายงานการใช้ส้มเชียวหวาน ส้มจี๊ด และส้มโอเป็นต้นตอได้สำเร็จภายใต้สภาพการเลี้ยงที่เหมาะสมขึ้นกับชนิดของต้นตอ (Jaruwan and Tontyaporn, 1990) สำหรับวิธีการติดตาที่ให้ผลสำเร็จสูงคือการติดตาแบบสามเหลี่ยมด้านข้างลำต้นของต้นตอ (Su, 1984) ซึ่งวิธีการนี้นิยมใช้กันในปัจจุบัน ขนาดของแผล 0.5 มม หลังจากวางตาลงบนฐาน

สามเหลี่ยมของต้นตอแล้วตัดชิ้นส่วนของตอปิดทับอีกครั้งหนึ่ง วิธีนี้ช่วยป้องกันไม่ให้ส่วนตาพันธุ์ดีแห้งตาย Navarro และ Juarez (1977) รายงานการใช้เทคนิคการผลิตส้มที่ปลอดโรคด้วยวิธีการติดตาขนาดเล็กในหลอดทดลอง ก่อนการติดตานำต้นพืชที่เป็นโรคไปอบความร้อนนาน 2-4 สัปดาห์ แล้วตัดแยกยอดขนาด 0.14-0.18 มม ต่อลงบนต้นตออายุ 2 สัปดาห์ ต่อมาในปี 1981 Navarro และคณะรายงานการผลิตส้มปลอดโรคไวรัสและตรงตามพันธุ์ในประเทศสเปน ว่ามีขั้นตอนการผลิตดังนี้

1. การคัดเลือกต้นแม่พันธุ์ที่ดี
2. การตรวจดูความแข็งแรงของต้นแม่พันธุ์รวมถึงการตรวจไวรัส
3. การติดตาต่อกิ่งในหลอดทดลอง
4. การตรวจไวรัสในต้นที่ติดตาต่อกิ่งแล้วอีกครั้ง
5. การขยายพันธุ์บนต้นตอปลอดไวรัส

การติดตาส้มในหลอดทดสอบในประเทศสเปนใช้ชิ้นส่วนปลายยอดขนาด 0.1-0.2 มม ซึ่งประกอบด้วย apical meristem และ leaf primordia 3 อัน จากต้นแม่พันธุ์ที่แสดงอาการเป็นโรคเลี้ยงดูในเรือนเพาะชำที่ควบคุมอุณหภูมิในช่วง 27-32 °ซ เมื่อนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาทำ STG ประสบความสำเร็จถึง 38% ได้ต้นกล้าปลอดโรคมากกว่า 70% (Navarro et al., 1981) นอกจากนี้เขาได้รายงานปัจจัยที่มีต่อผลสำเร็จในการทำ STG ว่าประกอบด้วยชนิดและอายุต้นตอที่เหมาะสม สภาพแวดล้อมการเลี้ยง สำหรับอายุต้นตอที่เหมาะสมในการศึกษาของเขาคืออายุ 2 สัปดาห์หลังจากงอก

Jaruwan and Tontyaporn (1990) ได้รายงานการติดตาส้มเขียวหวานบนต้นตอส้ม 2 ชนิดในหลอดทดสอบ คือ ส้มซ่า (Citrus aurantium) และส้มพันธุ์คลีโอพัตรา (C. reshi Hort. ex Tanaka) พบว่าต้นตอที่เตรียมติดตาควรเลี้ยงในที่มีการให้แสงประสบผลสำเร็จได้ดีกว่าการเลี้ยงในสภาพมืด(etiolate) สำหรับการเตรียมต้นตอมะนาวเขารายงานว่าต้นตออายุ 3 สัปดาห์ และเลี้ยงในสภาพให้แสงประสบผลสำเร็จสูงกว่า ส่วนต้นตอส้มโออายุ 2 สัปดาห์เลี้ยงในสภาพมืดมีขนาดพอเหมาะในการทำ STG อย่างไรก็ตามสำหรับสภาพแวดล้อมการเลี้ยงหลังการติดตาต่อกิ่ง ควรให้แสง 750 ลักซ์ ต้นติดตาสามารถเจริญเติบโตดี

Jonard และคณะ (1983)รายงานว่าการเตรียมยอดท้อเพื่อใช้ขยายพันธุ์ในหลอดทดลองโดยการทรีตสารไซโตไคนิน และหยอดสาร DIECA ที่รอยต่อตรงส่วนยอดสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากยอดกิ่งพันธุ์ดีทำให้การเกิดสีน้ำตาลของกิ่งพันธุ์ดีลดลงถึงไม่มี และช่วยส่งเสริมการประสานตัวของรอยต่อด้วย

จากความเป็นไปได้ของวิธีการดังกล่าว การนำตายอดส้มจุกจากต้นที่มีอาการเป็นโรคมาตัดแยกตาขนาดเล็กแล้วติดบนต้นตอส้มต่างๆ โดยพัฒนาเทคนิคที่เหมาะสมช่วยผลิตต้นส้มจุกพันธุ์ดีปลอดโรคนับเป็นการแก้ปัญหาการปลูกส้มจุกได้

มังคุด (Garcinia mangostana Linn.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย การพัฒนาการผลิตเพื่อการส่งออกนั้นมีความจำเป็นต้องปรับปรุงคุณภาพให้ดีขึ้น การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดให้ผลผลิตค่อนข้างช้า และไม่ทนต่อความแห้งแล้ง ดังนั้นการหาพืชใกล้เคียงที่ทนต่อความแห้งแล้งเป็นต้นตอช่วยให้การผลิตมังคุดในสภาพแห้งแล้งบางจังหวัดของภาคใต้เป็นไปได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้คาดว่าจะสามารถร่นระยะเวลาการให้ผลผลิตได้ด้วย การใช้เทคนิคการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่ทำกันอยู่ประสบปัญหาการเข้ากันไม่ได้ของเนื้อไม้อันเนื่องมาจากยางสีเหลือง (gumborge) ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคการต่อกิ่งในระยะต้นกล้าอ่อนคาดว่าช่วยแก้ปัญหาได้ นอกจากนี้การชักนำยอดรวมมังคุดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดแล้วชักนำให้แต่ละยอดสร้างรากเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์คาดว่าจะให้ต้นมังคุดที่มีรูปทรงเตี้ย และตกผลเร็วกว่าต้นกล้าที่ได้จากการปลูกด้วยเมล็ดโดยตรง

การต่อกิ่งไม้ผลเพื่อร่นระยะเวลาในหลอดทดลอง ประสบความสำเร็จพอสมควรในไม้ผลเมืองหนาวเช่น แพร์(Zhao, et al., 1991) และแอ๊ปเปิล(Wu, 1990) ต้นตอที่ใช้ได้จากการเพาะเมล็ดพันธุ์พื้นเมือง หรือกิ่งชำที่ได้จากวิธีการไมโครคัตติงในหลอดทดลองเพราะในพืชดังกล่าวการชักนำรากจากชิ้นส่วนข้อทำได้ง่าย กล่าวคือในไม้ผลจำพวกแพร์สามารถชักนำรากได้ภายในเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากจุ่มแช่ยอดในสารละลาย IBA 100 มก/ล นาน 25 ชม (Zhao, et al., 1991) ในทำนองเดียวกับแอ๊ปเปิลสามารถชักนำรากได้โดยนำส่วนลำต้นที่ชักนำจากยอดแขนงไปจุ่มแช่ในสารละลายออกซินระดับความเข้มข้นสูง แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ลดความเข้มข้นของออกซินลง(Wang, 1990) ออกซินที่มีประสิทธิภาพชักนำการสร้างรากได้ผลดีถึง 90% คือ IAA และ/หรือ IBA (Wu, 1990)

ในพืชสกุล (Garcinia) ซึ่งประกอบด้วย มังคุด มะพูด และพะวา เป็นต้น จัดเป็นไม้ผลยืนต้นที่มีเนื้อไม้แข็ง และมีอนุภาคของยาง (gum) จำนวนมากแตกต่างจากไม้ผลเมืองหนาวพวกท้อ แพร์ และพลัม เป็นปัญหาสำคัญในต่อกิ่งในหลอด นอกจากนี้การสร้างรากของพืชสกุลนี้ทำได้ลำบากและใช้เวลานาน สมปอง และวันทนา (2531) และ Goh และคณะ (1988) รายงานการชักนำสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด และชิ้นส่วนใบ ดังนั้นการใช้ยอดแขนงที่ชักนำคาดว่ามีปริมาณของอนุภาคยางน้อยลง ช่วยส่งเสริมผลสำเร็จการต่อกิ่งในหลอดให้สูงขึ้น เนื่องจากมังคุดเป็นพืชใหม่ไม่มีรายงานการศึกษาการต่อกิ่งในหลอดทดลองมาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้ได้พัฒนาการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลองโดยการใช้สารแอนติออกซิแดนซ์ล้างอนุภาคยางก่อนต่อกิ่งแล้วพัฒนาเทคนิคการต่อกิ่งด้วยวิธีการต่างๆ ร่วมด้วยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและระดับความเข้มข้นต่างๆ ในอันที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการต่อกิ่งในหลอดทดลองให้สูงขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัสดุอุปกรณ์ในการติดตาส้มจุกในหลอดทดลอง

1.1. การเตรียมต้นตอส้ม

เลือกผลส้มที่ใช้เป็นต้นตอซึ่งมีลักษณะสมบูรณ์ นำมาล้างสิ่งสกปรกที่ผิวออกให้หมด ผ่าผลส้มและเลือกเอาเฉพาะเมล็ดที่สมบูรณ์ออกมาทำการล้างด้วยผงซักฟอกก่อน 1-2 ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดฟองผงซักฟอก ผึ่งเมล็ดที่ล้างสะอาดแล้วให้แห้ง แล้วนำเมล็ดมาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกจนหมดนำเมล็ดที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดแล้วมาแช่ในยากันราเป็นเวลา 30 นาทีหลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำเมล็ดจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดอีกครั้งในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมด้วยทวีน 20เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำเมล็ดดังกล่าวไปล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อในตู้ย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ (laminar flow hood) 5 ครั้งจนสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ออกหมด หว่านเมล็ดที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อแล้วดังกล่าวในอาหารสูตรพื้นฐาน MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งบรรจุอยู่ในหลอดทดลองขนาดเล็กปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อหลอดทดลอง นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มืดหรือภายใต้ความเข้มแสง 750 ลักซ์ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เมล็ดส้มเริ่มงอก หลังจากเมล็ดงอกเป็นเวลาต่างๆ นำมาใช้เป็นต้นตอสำหรับทำ STG ต่อไป

1.2. การเตรียมตาขนาดเล็กส้มจุกและส้มโชกุน

1.2.1 การเตรียมตาของส้มพันธุ์ดีจากแปลงปลูก

ใช้ตายอดจากส้มจุก และส้มโชกุน ซึ่งทำการดูแลรักษาในแปลง ก่อนนำตายอดมาใช้ทำการฉีดพ่นกิ่งที่จะใช้ตาของส้มจุกด้วยยากันราทุก 2 วัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ นำกิ่งส้มจุก และส้มโชกุนมาตัดแต่งให้เหลือข้อขนาดเล็ก 2-3 ข้อ นำไปแช่ในยากันราเป็นเวลา 30 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนดังกล่าวไปฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมด้วย ทวีน 20 เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 ครั้ง จนสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ออกหมด (ในขั้นตอนนี้ต้องทำภายในตู้ย้ายเลี้ยง) นำกิ่งตาส้มมาตัดแยกเฉพาะตายอดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ ตายอดที่ตัดมีขนาด 0.2-0.5 มม ประกอบด้วย apical meristem และ leaf primordia 2-4 อัน

เนื่องจากส้มจุกมีอาการของโรคต้นทรุดโทรมรุนแรง บางช่วงมีอัตราการแตกตาข้างและตายอดต่ำมาก ดังนั้นจึงนำกิ่งส้มจุกที่แสดงอาการเป็นโรคจากแปลงปลูกมาติดตาต่อกิ่งกับส้มจุก

ขนาดอายุ 2-3 ปี ในแปลงขยายพันธุ์กลางแจ้ง เมื่อกิ่งส้มจุกยืดยาวประมาณ 1 ฟุต ริดใบทิ้งจนหมดเพื่อให้ยอดแตกใหม่ในขณะเดียวกันดูแลรักษาให้ปุ๋ย และสารกำจัดศัตรูพืชทุกสัปดาห์จนกิ่งส้มที่นำมาใช้ทำ STG แตกยอดอ่อนมีขนาดพอเหมาะ จึงนำไปฟอกฆ่าเชื้อและตัดส่วนปลายยอดด้วยวิธีการที่กล่าวแล้วข้างต้น

1.2.2 การเตรียมตาพันธุ์ดีของส้มจุกในหลอดทดลอง

เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของกิ่งพันธุ์ดีที่ใช้ทำ STG ทำการขยายพันธุ์ส้มจุกโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มจุกที่ได้จากการเพาะเมล็ดในหลอดทดลอง ยอดรวมที่ชักนำจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ นำมาตัดแยกตายอดให้มีขนาดตามต้องการด้วยวิธีการข้างต้นโดยไม่ต้องผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ การศึกษานี้ทำเฉพาะส้มจุกเท่านั้น

2. การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์สำหรับการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง

2.1. การเตรียมต้นตอ

โดยทั่วไปพืชในสกุลนี้มีพะวา และมะพูดที่นิยมนำมาทำเป็นต้นตอสำหรับการต่อกิ่งมังคุดจากการศึกษาเบื้องต้น พบว่าพะวามีความเหมาะสมที่ใช้เป็นต้นตอทั้งนี้เพราะต้นตอพะวาสามารถเพาะได้ง่ายและขยายพันธุ์ได้รวดเร็วในหลอดทดลอง ส่วนมะพูดมีระยะการพักตัวนาน เมื่อนำมาเพาะในหลอดทดลองมีการปนเปื้อนสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์

แกะเมล็ดพะวาจากผลสด ล้างเมล็ดด้วยผงซักฟอกที่มีฤทธิ์เป็นกลางพร้อมลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้วล้างด้วยน้ำประปาหลายครั้ง นำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ร่วมด้วยทวีน 20 เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 20 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งในตู้ย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใช้ปากคีบย้ายเมล็ดไปเลี้ยงบนอาหารในหลอดทดลองเลี้ยงบนอาหารสูตรพื้นฐานและสูตรดัดแปลง MS ร่วมด้วย BA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 20 ถึง 50 ไมโครโมลาร์ ในสภาพมืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงในสภาพการให้ความเข้มแสง 2,500-3,000 ลักซ์ อีกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ คัดเลือกต้นตอขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 มม ใช้เป็นต้นตอต่อไป

2.2. การเตรียมกิ่งเลี้ยงมังคุดในหลอดทดสอบ

นำเมล็ดมังคุดที่แกะจากผลสดมาทำการล้างด้วยผงซักฟอกที่มีฤทธิ์เป็นกลาง พร้อมทั้งแกะเนื้อผลที่ติดกับเมล็ดออกให้หมด จุ่มเมล็ดในสารละลายของยากันราและแบคทีเรียซึ่งประกอบด้วยมาโคเซ็บ 1,000 มก/ล ผสมสเตร็บโตมายซิน 500 มก/ล เป็นเวลา 30 นาที ฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมด้วยทวีน 20 เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง จึงนำ

เมล็ดมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ดัดแปลงเพื่อชักนำการสร้างยอดรวมจำนวนมาก ไว้ใช้เป็นกิ่งเลี้ยงสำหรับเสียบยอด สำหรับกลุ่มตารวมที่มีการยืดยาวช้านั้นหลังจากตัดยอดหลักไปใช้เป็นกิ่งเลี้ยงแล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำการยืดยาวของยอด หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 3-6 สัปดาห์ตรวจเลือกเมล็ดที่งอกมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นประมาณ 1-3 มม หรืออาจโตถึง 5 มม มาใช้เตรียมตัดเป็นกิ่งเลี้ยงต่อบนต้นตอพะวาต่อไป

3. อาหารสังเคราะห์และการเตรียม

3.1. <u>อาหารเพาะเลี้ยงเมล็ดต้นตอ และต้นติดตาส้ม</u>

เป็นอาหารสูตรพื้นฐาน MS ที่ลดความเข้มข้นขององค์ประกอบลงครึ่งหนึ่งปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

3.2. <u>อาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นกล้าส้มจุก</u>

เป็นอาหารพื้นฐาน MS ร่วมด้วย NAA เข้มข้น 0.1 และ 0.5 มก/ล แต่ละระดับความเข้มข้นของ NAA ใช้ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 มก/ล

3.3. <u>อาหารเพาะเลี้ยงเมล็ดพะวา</u>

เป็นอาหารสูตรดัดแปลง MS เติม BA ระดับความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ เพื่อเตรียมต้นตอต่อกับกิ่งยอดหลักมังคุด และ BA ระดับความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ สำหรับเตรียมต้นตอพะวากับยอดรวมมังคุด

3.4. <u>อาหารชักนำยอดรวมมังคุด</u>

เป็นอาหารสูตรดัดแปลง MS เติม BA หรือ KN ระดับความเข้มข้นต่างๆ

3.5. <u>อาหารชักนำการยืดยาวของยอดรวมมังคุด</u>

เป็นอาหารสูตร 3.4 ร่วมด้วย BA เข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์และ GA_3 เข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์

3.6. <u>อาหารเลี้ยงต้นต่อกิ่งมังคุด</u>

เป็นสูตรพื้นฐาน MS เติม NAA เข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์

สูตรอาหารทั้งหมดมีรายละเอียดองค์ประกอบดังแสดงในภาคผนวกที่ 1 ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารทั้งหมดให้มีค่า 5.8 หน่วย pH เติมผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์สำหรับอาหารพื้นฐานและ 0.9 เปอร์เซ็นต์สำหรับอาหารดัดแปลง หลอมวุ้นให้เข้ากันดีแบ่งถ่ายใส่ขวดหรือหลอดทดสอบ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอ 1.05 กก/ตร.ซม เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้จนเย็นจึงนำไปใช้ในการทดลอง

วิธีการศึกษา

1. การศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆของต้นกล้าส้มจุก

ในการศึกษานี้ใช้ชิ้นส่วนยอด ข้อลำต้น และข้อใบเลี้ยงต้นกล้าอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในหลอดทดลอง ทำการเลี้ยงชิ้นส่วนดังกล่าวในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นกล้าส้มจุก(3.2) แต่ละหน่วยทดลองทำ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 25 หลอด หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ตรวจนับจำนวนยอดเพื่อหาระดับความเข้มข้นของ NAA และ BA ที่เหมาะสมต่อการทวีจำนวนยอดไว้ใช้เป็นกิ่งเลี้ยงสำหรับตัดแยกเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดต่อไป

2. การศึกษาเปรียบเทียบต้นตอส้มสปีชีส์ต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการทำ STG

ในการศึกษานี้ใช้ส้มจี๊ด ส้มเชียวหวาน และมะนาว เป็นต้นตอสำหรับทำ STG ต้นตอดังกล่าวได้จากการเพาะเมล็ดในหลอดทดลอง หลังจากต้นกล้ามีอายุ 7 วัน หลังจากงอกในสภาพที่มืดจึงนำมาใช้เป็นต้นตอ .สำหรับกิ่งตาส้มจุกได้จากแปลงปลูก ทำการติดตาบนต้นตอแต่ละพันธุ์ที่ทดสอบ 2 ชุดการทดลองแต่ละชุดทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ต้น ตรวจผลความสามารถในการติดตาขนาดเล็กในหลอดทดลอง เปรียบเทียบกันหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด

3. การศึกษาอายุของต้นตอส้มต่อความสำเร็จ STG

ใช้ต้นตอส้มจี๊ด ส้มเชียวหวาน และมะนาวอายุ 4, 6, และ 8 วันหลังงอกซึ่งมีความสูงใกล้เคียงกันโดยเฉลี่ย 2.5, 3.5, และ 4.5 เซนติเมตร ตามลำดับ จากที่เพาะในหลอดทดลองมาวางในจานเพาะเชื้อซึ่งรองด้วยกระดาษกรองที่อบฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อป้องกันชิ้นส่วนของพืชแห้งควรใช้พาสเจอร์ไปเปตดูดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วใส่ในจานเพาะเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรองอบฆ่าเชื้อจนกระดาษกรองมีความชุ่มชื้นอย่างทั่วถึง จากนั้นใช้มีดผ่าตัดตัดส่วนยอดและใบเลี้ยงของต้นตอทิ้งไป และถ้ารากมีความยาวมากก็ทำการตัดจนเหลือความยาวของรากพอสมควร จากนั้นจึงเฉือนบริเวณปลายยอดของต้นตอให้เป็นรูปสามเหลี่ยมมุมฉากภายใต้กล้องตัดแยกสองตา

นำชิ้นส่วนของตาจากแปลงปลูกมาตัดแยกตาแล้ว นำไปวางบนรอยเฉือนของต้นตอที่เตรียมไว้จากนั้นจึงนำต้นตอที่ติดตาเรียบร้อยแล้วใส่กลับเข้าไปเลี้ยงในหลอดทดลองตามเดิม แล้วนำต้นติดตาไปดูแลในสภาพภายใต้สภาพห้องเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นเวลา 2 วัน หลังจากนั้นจึงนำในเลี้ยงภายใต้แสงที่มีความเข้ม 750 ลักซ์ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วจึงนำไปเลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง 1500 ลักซ์ อีกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วทำการตรวจผลความสามารถในการติดตาบนต้นตอส้มอายุต่างๆ เปรียบเทียบกันจากเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาในช่วงเวลาดังกล่าว

4. การศึกษาชนิดและประเภทของตาส้มพันธุ์ดีต่อความสำเร็จ STG

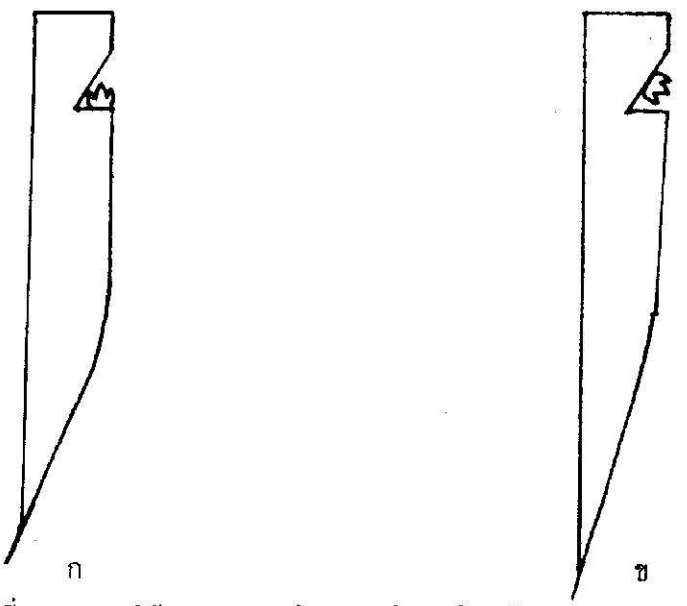
ในการศึกษานี้ใช้ตาส้มจุกและส้มโชกุนติดบนต้นตอส้มจี๊ดอายุ 1 สัปดาห์หลังจากงอก ประเภทตาของส้มที่ใช้มี 2 ประเภท คือตาที่ได้จากแปลงปลูก และตาจากยอดรวมในหลอดทดลอง สำหรับส้มโชกุนนั้นใช้ตาที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูก ส่วนส้มจุกใช้ตาจากทั้ง 2 แหล่ง หลังจากติดตาแล้วนำไปเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงตรวจผลความสำเร็จ STG จากเปอร์เซ็นต์การแตกของใบใหม่จากตาที่ติด

5. การศึกษาต้นพันธุ์ส้มจุกที่เก็บรวบรวมตาต่อความสำเร็จ STG

เลือกต้นส้มจุกจากแปลงปลูกที่แสดงอาการเป็นโรคต้นทรุดโทรมเล็กน้อย จนถึงปานกลางจำนวน 4 ต้นคือต้นหมายเลข 8/1, 10/1, 8/4, และ 5/2 พร้อมกับเก็บกิ่งตามาตัดแยกตาแล้วติดบนต้นตอส้มเขียวหวาน แต่ละต้นที่ทดสอบทำ 2 ชุดการทดลองแต่ละชุดการทดลองทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ต้น หลังจากติดตาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ตรวจผลสำเร็จ STG เปรียบเทียบกันในแต่ละต้นพันธุ์โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด

6. การศึกษาตำแหน่งการวางตาต่อความสำเร็จ STG

ใช้ตาส้มจุกจากแปลงปลูกมาตัดแยกแล้วติดบนต้นตอส้มเขียวหวาน วิธีการวางตาส้มจุกแตกต่างกัน 2 แบบดังนี้คือ 1) วางบนฐานสามเหลี่ยมแนวตั้ง (ภาพที่ 1ก) และ 2) วางบนฐานสามเหลี่ยมแนวนอน (ภาพที่ 1ข) หลังจากเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเหมาะสมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ตรวจผลสำเร็จ STG เปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด



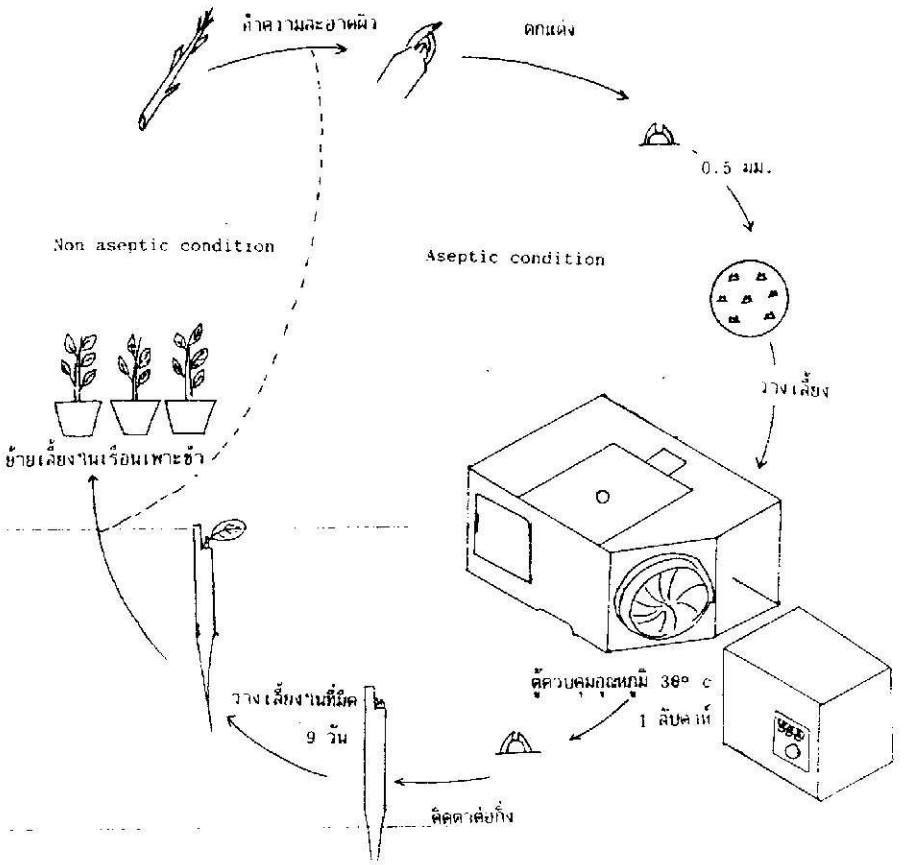
ภาพที่ 1 แสดงวิธีการวางตาส้มจุกบนต้นตอส้มเขียวหวาน

7. การศึกษาสภาพการเลี้ยงภายหลังติดตาต่อผลสำเร็จ STG

ในการทดลองนี้ใช้ต้นตอส้มเชียวหวาน และส้มโอแทนส้มจี๊ดทั้งนี้เพราะไม่ใช่ฤดูกาลส้มจี๊ด นำเมล็ดส้มทั้งสองชนิดมาเตรียมเพาะตามวิธีการเดียวกับการเตรียมต้นตอส้มทั่วไป เมื่อต้นกล้ามีอายุ 1 สัปดาห์ หลังจากงอกในที่มืดจึงนำมาใช้เป็นต้นตอติดด้วยตาพันธุ์ดีส้มจุกที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูก หลังจากติดตาเรียบร้อยแล้วนำไปเก็บที่มืดเป็นเวลา 7, 8, 9, 12 และ 15 วัน แต่ละหน่วยทดลองทำ 2 ชุดการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ต้นหลังจากเก็บในที่มืดตามเวลาดังกล่าวแล้วนำมาเลี้ยงภายใต้การให้แสง 2500 ลักซ์ ช่วงแสงวโมงจนครบ 5 สัปดาห์ แล้วตรวจผลความสำเร็จการติดตาในหลอดทดลองเปรียบเทียบโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด

8. การศึกษาการทรีตตายอดส้มจุกที่อุณหภูมิ 38+1องศาเซลเซียสต่อผลสำเร็จ STG

ในการศึกษานี้เตรียมตายอดส้มจุกด้วยวิธีการ 2 วิธี คือตัดแยกตาขนาดเล็กเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรพื้นฐาน MS ที่ลดความเข้มขององค์ประกอบลงครึ่งหนึ่งของสูตรปกติซึ่งบรรจุในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม นำตาไปเลี้ยงที่อุณหภูมิปกติ 27±1 และ 38±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์หลังจากนั้นนำไปติดบนต้นตอส้มเชียวหวานแต่ละอุณหภูมิที่ทดสอบทำ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ต้น เลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมข้างต้นเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตรวจผลสำเร็จการติดตาในหลอดทดสอบเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด สำหรับวิธีการเตรียมตายอดที่อุณหภูมิ 38±1 องศาเซลเซียสแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเตรียมตายอดที่อุณหภูมิ 38±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์

9. การศึกษาผลของ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อผลสำเร็จ STG

การศึกษานี้ใช้ GA_3 ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 200, 250 และ 300 ไมโครโมลาร์ มาทาหรือจุ่มรอยแผลของต้นตอส้มเขียวหวานแล้วทิ้งไว้ 2-3 นาทีจนสารละลาย GA_3 ถูกดูดซึมเข้าสู่แผล จึงนำตายอดส้มจุกมาติด แต่ละระดับความเข้มข้นของ GA_3 ทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ต้น หลังจากติดตาและเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ตรวจผลสำเร็จการติดตาเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด

10. การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของต้นติดตาหลังย้ายปลูก

ย้ายต้นกล้าที่ติดตาในหลอดได้สำเร็จหลังจากสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งมีข้อเพียงข้อเดียวและใบแก่เต็มที่ไปปลูกในเรือนระแนง เพื่อป้องกันการเหี่ยวของต้นกล้าทำการคลุมต้นกล้าด้วยถุงพลาสติค ร่วมด้วยการให้น้ำแบบพ่นฝอยเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อต้นกล้าตั้งตัวแล้วแกะถุงพลาสติคที่คลุมออก ให้น้ำด้วยวิธีการรดน้ำธรรมดา ตรวจวัดการเจริญเติบโตโดยวัดความสูง และจำนวนข้อที่พัฒนาหลังจากเลี้ยงเป็นช่วง ๆ

11. การศึกษาการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุด

เลี้ยงเมล็ดมังคุดในอาหารสูตรดัดแปลง MS เติม BA หรือ KN 4 ระดับความเข้มข้น คือ 1, 10, 20,และ 50 ไมโครโมลาร์ แต่ละชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทำการเลี้ยง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 เมล็ด เปรียบเทียบการสร้างยอดรวมจากหน่วยทดลองข้างต้นหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์

สำหรับเมล็ดที่งอกยอดหลักเพียงยอดเดียวหลังจากตัดแยกยอดไปชักนำราก หรือต่อกิ่งบนต้นตอพะวาแล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมร่วมด้วย BA ระดับความเข้มข้นข้างต้น ทำการตรวจผลการสร้างยอดรวมหลังจากเลี้ยงต่อไปอีกเป็นเวลา 3 สัปดาห์

12. การศึกษาเทคนิคต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง

ในการวิจัยนี้ใช้กิ่งเลี้ยงมังคุดในหลอดทดลอง และกิ่งเลี้ยงมะพูดที่ชักนำนอกหลอด(กิ่งเลี้ยงมะพูดได้จากการชักนำให้มีการแตกตาด้านข้างจากต้นกล้านอกหลอดภายใต้การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินชนิด และระดับความเข้มข้นต่างๆ ฉีดพ่นเป็นเวลา 8 สัปดาห์ นำกิ่งที่แตกจากต้นกล้ามาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเตรียมใช้เป็นกิ่งเลี้ยง) นำกิ่งเลี้ยงของพืชทั้งสองมาต่อบนต้นตอพะวาโดยวิธีการเสียบลิ่ม(cleft grafting)ใช้ใบมีดผ่าตัดเฉือนต้นตอเป็นรูปตัววีลึก 5 มม ล้างยางบริเวณรอยตัดด้วยกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มก/ล ซับรอยตัดให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่อบฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงนำเอากิ่งเลี้ยงมังคุดที่เตรียมไว้ มาตัดแต่งเพื่อให้สามารถวางได้สนิทกับรอยบากบนต้นตอแล้วเคลือบด้วยพาราฟลาสต์เหลว หลอมที่อุณหภูมิ 37-45 °ซ เปรียบเทียบกับ

หน่วยทดลองที่ไม่มีการเคลือบด้วยพาราฟลาสต์ นำต้นที่ได้ไปเลี้ยงในที่มีความเข้ม 750 ลักซ์เป็นเวลา 2 สัปดาห์แรก แล้วจึงทำการย้ายไปเลี้ยงในที่มีความเข้มแสงเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ วิเคราะห์ผลความแตกต่างระหว่างสองปัจจัยโดยอาศัยแผนการทดลอง split plot design ในที่นี้ให้ชนิดของกิ่งเลี้ยง คือมังคุด และมะพูดเป็น main plot วิธีการเคลือบคือ เคลือบ และไม่เคลือบเป็น sub plot แต่ละหน่วยทดลองทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ต้นตรวจผลความสำเร็จหลังจากการต่อกิ่งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ขึ้นไป

13. <u>การศึกษาวิธีการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง</u>

การศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบวิธีการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวา 3 วิธีคือ

13.1 วิธีต่อกิ่งแบบเสียบลิ่ม(cleft grafting)

13.2 วิธีต่อกิ่งแบบเข้าเดือย(saddle grafting)

13.3 วิธีต่อกิ่งแบบเข้าลิ้น(whip grafting)

ในการต่อกิ่งด้วยวิธีการต่างๆ ข้างต้นใช้ต้นตอพะวาที่เลี้ยงดูในอาหารร่วมด้วย BA เข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์อายุ 4 สัปดาห์หลังจากการต่อกิ่งด้วยวิธีการต่างๆ แล้วล้างยางบริเวณรอยต่อด้วยกรดแอสคอร์บิค 200 มก/ล จากนั้นหุ้มด้วยพาราฟลาสต์เลี้ยงภายใต้การให้แสงความเข้ม 2,500 ลักซ์เป็นเวลา 14 ชั่วโมงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ตรวจผลความสำเร็จในการต่อกิ่งจากการประสานของรอยต่อและความมีชีวิตของยอด แต่ละวิธีการที่ศึกษาทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ต้น วิเคราะห์ผลความแตกต่างของแต่ละวิธีโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด

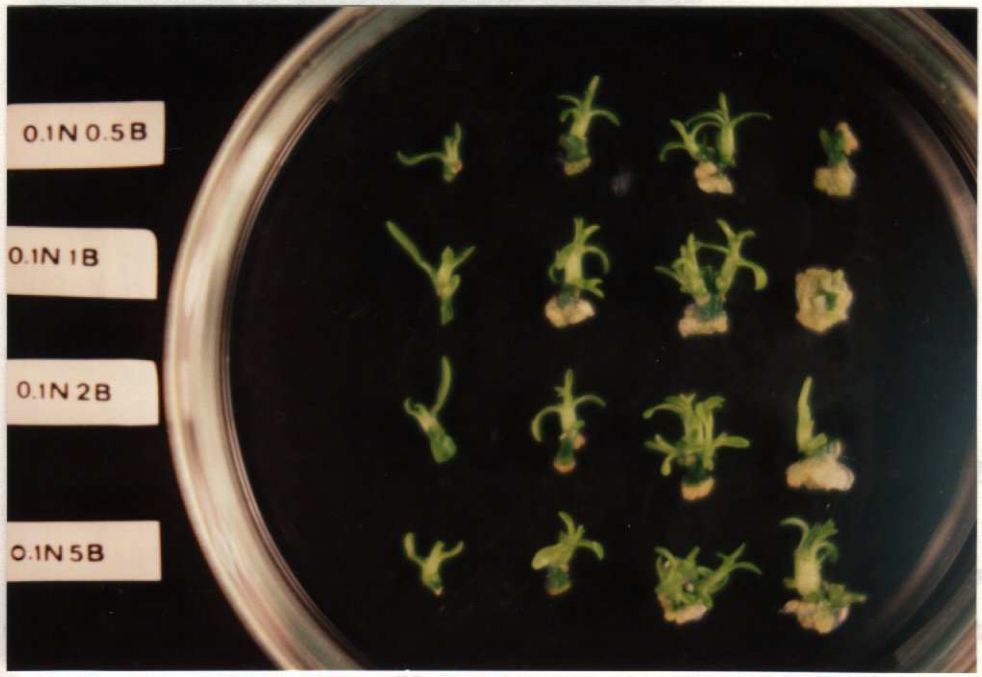
14. <u>การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อความสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุด</u>

การทดลองนี้ศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดคือ BA และ GA_3 3 ระดับความเข้มข้นคือ 100, 200, และ 300 ไมโครโมลาร์ หลังจากทำแผลกิ่งเลี้ยงและต้นตอและล้างรอยแผลด้วยกรดแอสคอร์บิคแล้ว ซับด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อให้แห้ง นำต้นตอและกิ่งเลี้ยงไปจุ่มแช่ในสารละลาย BA และ GA_3 เป็นเวลา 1 นาที ให้รอยแผลสัมผัสกับสารละลายทิ้งไว้จนสารละลายถูกดูดเข้าสู่แผลจนแห้ง ต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาจากนั้นเคลือบด้วยพาราฟลาสต์ นำไปเลี้ยงในสภาพที่เหมาะสม หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ตรวจผลสำเร็จการต่อกิ่งจากแต่ละชนิดและระดับความเข้มข้นของ BA และ GA_3 (แต่ละชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ต้น)

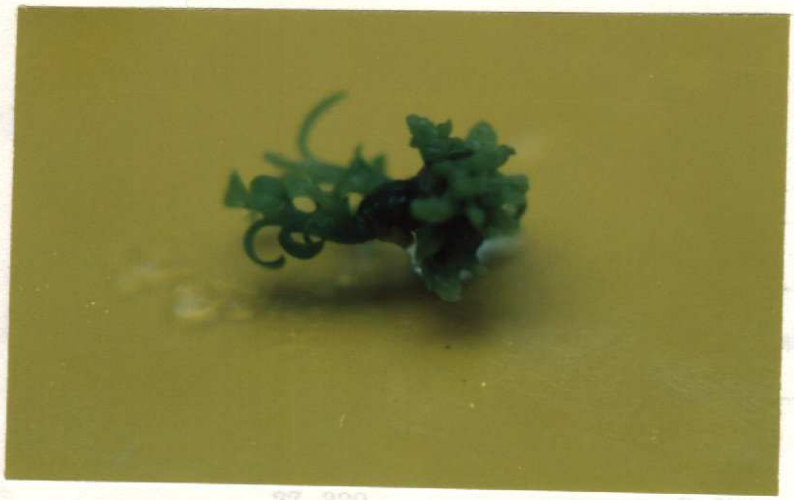
ผลการทดลอง

1. การศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆของต้นกล้าส้มจุก

ในระหว่างชิ้นส่วนทั้งหมดที่ทำการทดสอบพบว่าลำต้นข้อที่ 1 นับจากใบเลี้ยงขึ้นไปให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ข้อใบเลี้ยง ข้อลำต้นที่ 2 และชิ้นส่วนปลายยอด(ภาพที่ 3) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมคือ NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตดังกล่าวสามารถชักนำการสร้างยอดรวมได้ 90 เปอร์เซ็นต์การเพิ่มความเข้มข้น NAA จาก 0.1 เป็น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลชักนำการสร้างยอดรวมได้ใกล้เคียงกันแต่ต้องลดความเข้มข้นของ BA ลงเป็น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในทำนองเดียวกับจำนวนยอดรวมที่สร้าง พบว่า NAA และ BA ระดับความเข้มข้นข้างต้นสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของลำต้นข้อที่ 1 สร้างยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 5.6 ยอดต่อข้อ 1 ข้อ ชิ้นส่วนที่สร้างยอดรวมรองลงมาคือ ข้อใบเลี้ยง ข้อลำต้นที่ 2 และปลายยอดตามลำดับ การใช้ BA ระดับความเข้มข้นสูงกว่านี้มีผลทำให้อัตราการยืดยาวของยอดรวมแต่ละยอดลดลง จึงทำให้การตัดแยกเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดมาใช้ในทำ STG ลำบาก (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 ผลของ NAA และ BA ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำยอดรวมจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้าส้มจุกในหลอดทดลอง



ภาพที่ 4 ยอดรวมที่ชักนำจากการเลี้ยงชิ้นส่วนข้อต้นกล้าส้มจุก

2. <u>การศึกษาเปรียบเทียบต้นตอส้มสปีชีส์ต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการทำ STG</u>

จากการติดตาขนาดเล็กส้มจุกบนต้นตอสปีชีส์ต่าง ๆในหลอดทดสอบ และตรวจผลหลังจากติดตาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าส้มจี๊ดให้ผลสำเร็จในการติดตาขนาดเล็กสูงสุด 68 เปอร์เซ็นต์รองลงมาได้แก่ส้มเขียวหวานร้อยละ 51 และต้นตอมะนาวให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาขนาดเล็กต่ำสุด ทำนองเดียวกับอัตราการเจริญเติบโตของตาที่ทำการติดบนต้นตอส้มจี๊ดมีการยืดยาวสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ต้นตอส้มเขียวหวาน และต้นตอมะนาวตามลำดับ(ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 อิทธิพลของต้นตอส้มพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อความสำเร็จในการทำ STG ในหลอดทดลอง (ทำการตรวจผลหลังจาก STG เป็นเวลา 8 สัปดาห์)

ต้นตอส้ม	%ต้นติดตา	ความยาวกิ่งตาหลังจากติด (มม)
ส้มจี๊ด	68.305[a]	7.687[a]
มะนาว	27.330[c]	3.400[b]
ส้มเขียวหวาน	51.257[b]	4.500[b]
cv(%)	11.46	23.20

source	df	ms	F	prob.>F
%ต้นติดตา				
ต้นตอ	2	1694.728	53.867	0.00001**
error	9	31.461		
ความยาวกิ่งตา				
ต้นตอ	2	19.835	13.645	0.0018**
error	9	1.454		

3. การศึกษาอายุของต้นตอส้มต่อความสำเร็จ STG

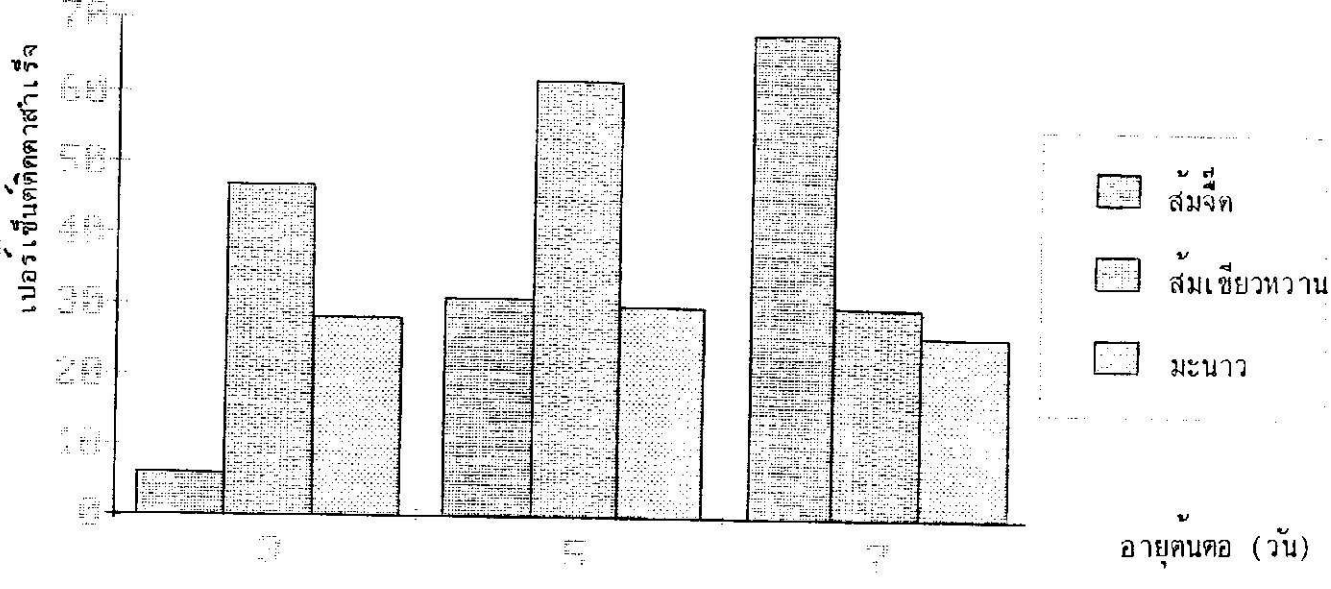
จากการศึกษาต้นตอส้มพันธุ์และอายุต่างๆกัน พบว่าต้นตอส้มทุกสปีชีส์อายุ 6-7 วัน (มีความสูงโดยเฉลี่ย 3.5-4 เซ็นติเมตร) ให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จของการติดตาสูงกว่าต้นตอที่มีอายุ 4-5 วัน(ความสูงเฉลี่ย 3 เซ็นติเมตร) และต้นตอที่มีอายุ 3 และ 8 วัน (ความสูงเฉลี่ย 2 และ 6เซ็นติเมตร) ตามลำดับ(ภาพที่ 5 ตารางที่ 2)

ภาพที่ 5 ต้นตอส้มเขียวหวานอายุ 4, 6, และ 8 วันหลังจากงอก

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

ตารางที่ 2 แสดงอิทธิพลของชนิด และอายุต้นตอ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ STG

ชนิด	อายุ (วัน)	ขนาดความสูงของต้นตอ (ซม)	เปอร์เซ็นต์ต้นติดตาได้สำเร็จ (%)
	3	2	5.50
ส้มจี๊ด	5	3	30.50
	7	4	68.31
เฉลี่ย			34.77
F-test			*
	4	2.5	46.4
ส้มเขียวหวาน	6	3.5	61.6
	8	4.5	47.2
เฉลี่ย			51.73
F-test			ns
	4	2.5	28.00
มะนาว	6	3.5	29.60
	8	4.5	20.00
เฉลี่ย			25.87
F-test			ns



ภาพที่ 6 อิทธิพลของชนิดต้นตอส้มอายุต่างๆ ที่มีต่อผลสำเร็จ STG

จากตารางที่ 2 ภาพที่ 6 พบว่าการใช้ต้นตอส้มจี๊ดอายุ 7 วันให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จเท่ากับ 68.31 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้ต้นตอที่มีอายุ 5 วัน ให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จเท่ากับ 30.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นตอส้มจี๊ดอายุ 3 วันให้ผลสำเร็จต่ำสุด 5.50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับต้นตอส้มเขียวหวานและมะนาวให้ผลสำเร็จ STG ในทำนองเดียวกันคือต้นตออายุ 6 วันดีที่สุด ต้นตออ่อนหรือแก่กว่านี้ให้ผลสำเร็จ STG ลดลง

4. การศึกษาชนิดและประเภทของตาส้มพันธุ์ดีต่อความสำเร็จ STG

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการติดตาขนาดเล็กระหว่างพันธุ์ส้มโชกุนและส้มจุก พบว่าพันธุ์ส้มมีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการติดตาด้วยเช่นกัน และจากการศึกษานี้พบว่าพันธุ์ส้มโชกุนให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อิทธิพลของพันธุ์ส้มที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาบนต้นตอส้มจี๊ดหลังจากทำการติดตาแล้วเป็นเวลา 4 สัปดาห์

พันธุ์	จำนวนต้นที่ทำการติดตา (ต้น)	เปอร์เซ็นต์การติดตาได้สำเร็จ* (%)
ส้มโชกุน	100	30.30
ส้มจุก	200	37.48

*เฉลี่ยจากเปอร์เซ็นต์การติดตาได้สำเร็จจากตาในหลอดทดสอบและในแปลง

จากตารางที่ 3 พบว่าการติดตาส้มพันธุ์โชกุนบนต้นตอส้มจี๊ดให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จเท่ากับ 30.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการติดตาส้มจุกบนต้นตอส้มจี๊ดจะให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จเท่ากับ 37.48 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าส้มโชกุนเล็กน้อย

จากการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ชิ้นส่วนตาจากสองแหล่ง พบว่าการใช้ชิ้นส่วนของตาส้มจุกในหลอดทดสอบให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จมากกว่าตาที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 อิทธิพลของตายอด และตาข้าง ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการติดตาบนต้นตอส้มจี๊ด หลังจากการทำการติดตาได้ 4 สัปดาห์

ประเภทของตา		จำนวนต้นที่ทำการติดตา (ต้น)	เปอร์เซ็นต์การติดตาได้สำเร็จ (%)
ส้มโชกุน	ในหลอด	-	-
	ในแปลง	100	30.30
ส้มจุก	ในหลอด	100	82.75
	ในแปลง	100	22.20

- ไม่ได้ทำการทดลอง

5. การศึกษาต้นพันธุ์ส้มจุกที่เก็บรวบรวมตาต่อความสำเร็จ STG

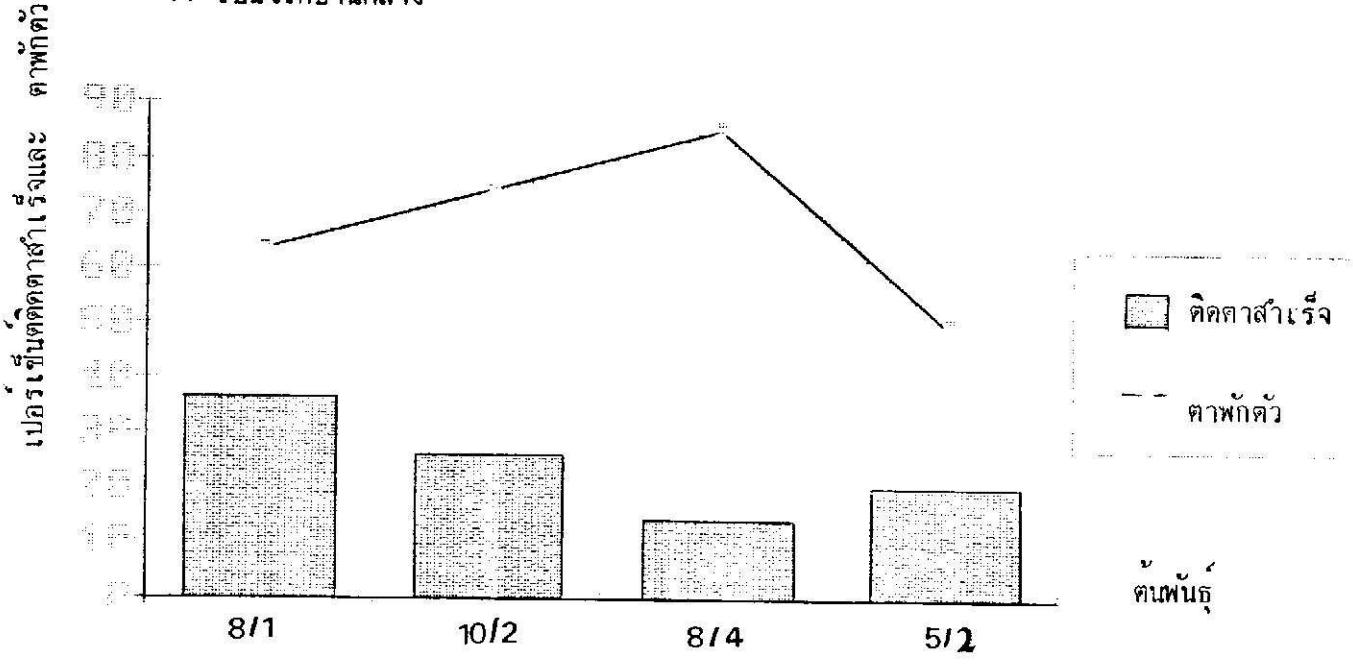
จากการติดตาส้มจุกต้นพันธุ์ต่างที่เก็บรวบรวมจากแปลงบนต้นตอส้มเขียวหวานพบว่าต้นพันธุ์ที่มีอาการโรคเล็กน้อย ให้เปอร์เซ็นต์การติดตาสำเร็จสูงกว่าต้นพันธุ์ที่แสดงอาการโรครุนแรง (ตารางที่ 5 ภาพที่ 7)

ตารางที่ 5 อิทธิพลของส้มจุกต้นต่างๆ ในแปลงปลูกต่อผลสำเร็จ STG

หมายเลขต้นพันธุ์	ความรุนแรงของโรค	เปอร์เซ็นต์ติดตาสำเร็จ	เปอร์เซ็นต์ตาพักตัว
8/1	+	36.65	63.34
10/2	+	25.89	74.11
8/4	++	14.55	85.45
5/2	+	20.00	50.00
F-test		ns	ns
cv(%)		68.33	16.39

\+ เป็นโรคน้อย

++ เป็นโรคปานกลาง



ภาพที่ 7 อิทธิพลของส้มจุกต้นต่างๆ ที่มีต่อผลสำเร็จ STG

6. การศึกษาตำแหน่งการวางตาต่อความสำเร็จ STG

จากการศึกษาการวางตาบนต้นตอ 2 ตำแหน่งพบว่าให้ผลสำเร็จ STG ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลของตำแหน่งการวางตาส้มจุกบนต้นตอส้มเขียวหวานต่อผลสำเร็จ STG

ตำแหน่งการวาง	เปอร์เซ็นต์ติดตาสำเร็จ	เปอร์เซ็นต์ตาพักตัว
ฐานสามเหลี่ยมแนวตั้ง	28.06	71.93
ฐานสามเหลี่ยมแนวนอน	24.30	75.70
F-test	ns	ns
cv(%)	38.99	30.26

จากตารางที่ 9 พบว่าการวางตาในลักษณะวางตั้งบนฐานสามเหลี่ยมให้เปอร์เซ็นต์ติดตาสำเร็จสูงกว่าทั้งนี้เพราะการประสานของเนื้อเยื่อเจริญเป็นไปได้ดีกว่าตามหลักของแรงโน้มถ่วงผลที่ตามมาคือมีการสร้างแคลลัสเชื่อมตรงรอยต่อได้ดีกว่าการวางตาในอีกลักษณะหนึ่ง (ภาพที่ 8)

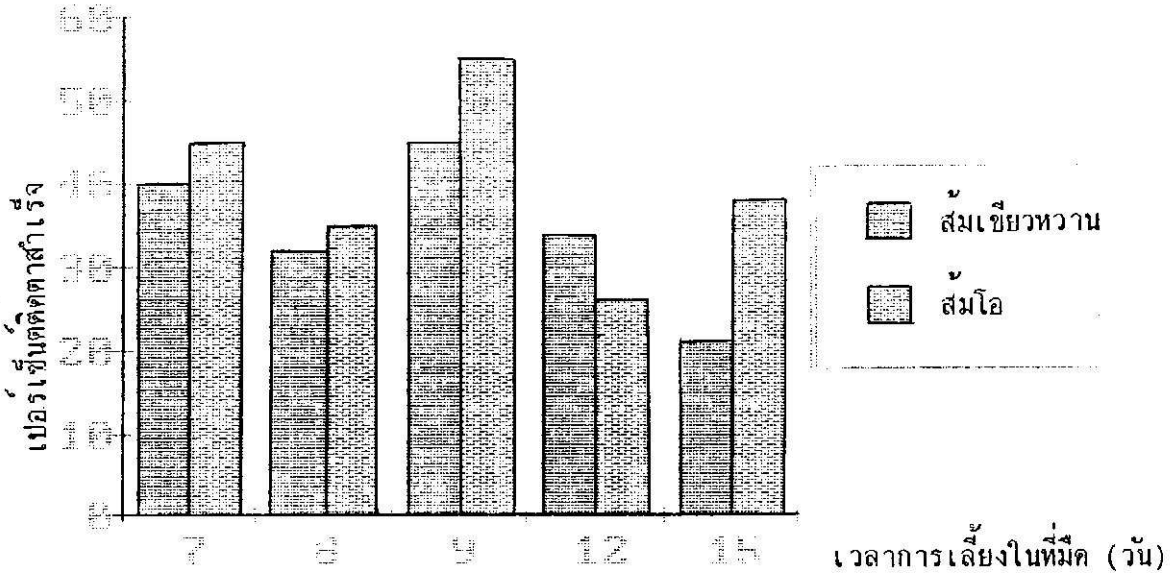
ภาพที่ 8 การสร้างแคลลัสตรงรอยต่อระหว่างตาและต้นตอเมื่อวางตาบนฐานสามเหลี่ยมแนวตั้ง

7. การศึกษาสภาพการเลี้ยงภายหลังติดตาต่อผลสำเร็จ STG

จากผลการเลี้ยงต้นติดตาในสภาพที่มืดเป็นเวลาต่างๆ หลังจากติดตาเรียบร้อยแล้ว พบว่าเวลามีผลต่อความสำเร็จในการติดตาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<.05$) การทรีตในที่มืดเป็นเวลา 9 วันให้ผลสำเร็จการติดตาสูงสุดเป็นไปในทำนองเดียวกันทั้งส้มโอ และส้มเขียวหวาน หลังจาก 9 วันความสำเร็จในการติดตาลดลง (ตารางที่ 7) อย่างไรก็ตามต้นตอส้มทั้งสองพันธุ์ที่ทดสอบให้ผลความสำเร็จในการติดตาในหลอดทดสอบโดยเฉลี่ยแตกต่างกันเล็กน้อยกล่าวคือ ต้นตอส้มโอให้ผลสูงกว่าต้นตอส้มเขียวหวาน (ตารางที่ 7 ภาพที่ 9)

ตารางที่ 7 อิทธิพลของต้นตอและเวลาการเลี้ยงต้นติดตาในที่มืดต่อผลสำเร็จ STG (ตรวจผลหลังจากทำ STG เป็นเวลา 5 สัปดาห์)

ชนิดต้นตอ	จำนวนวันที่ทรีตในที่มืด	%ต้นติดตา
ส้มเขียวหวาน	7	40a
	8	32b
	9	45a
	12	34bc
	15	21c (cv = 10.82)
เฉลี่ย		34.4
ส้มโอ	7	45b
	8	36c
	9	55a
	12	26d
	15	38bc (cv = 10.95
เฉลี่ย		39.8



ภาพที่ 9 ผลของต้นตอและการเลี้ยงต้นติดตาในที่มืดต่อผลสำเร็จ STG

8. การศึกษาการทรีตตายอดส้มจุกที่อุณหภูมิ 38+1องศาเซลเซียสต่อผลสำเร็จ STG

จากวิธีการเตรียมตายอดทั้ง 2 วิธีพบว่าการทรีตยอดที่อุณหภูมิ 38±1 องศาเซลเซียสให้ผลสำเร็จ STG 61.6 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเลี้ยงตายอดไว้ที่อุณหภูมิธรรมดาซึ่งให้ผลสำเร็ STG เพียง 26.4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลการเตรียมตายอดส้มจุกที่อุณหภูมิ 27±1 และ 38±1 องศาเซลเซียสต่อผลสำเร็จSTG

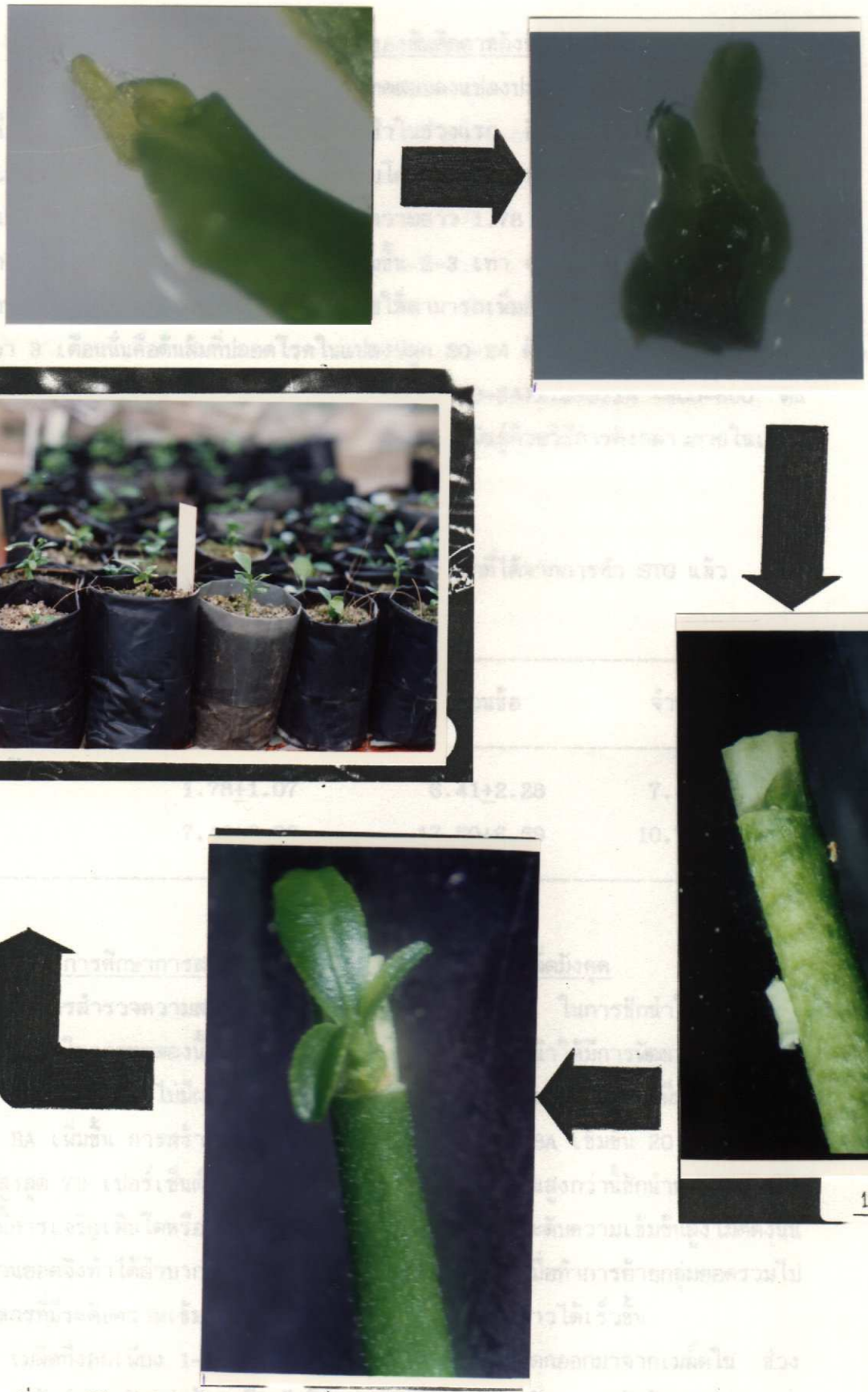
การเตรียมตายอด	เปอร์เซ็นต์ติดตาสำเร็จ
27±1 องศาเซลเซียส	26.40
38± องศาเซลเซียส	61.60
F-test	*
cv(%)	33.15

9. การศึกษาผลของ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อผลสำเร็จ STG

จากการใช้ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า GA_3 ระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นมีผลส่งเสริมความสำเร็จการติดตาในหลอดทดสอบให้สูงขึ้นเปรียบเทียบกับการไม่ใช้ (ตารางที่ 9) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 9 ผลของ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อความความสำเร็จในการติดตาในหลอดทดสอบ

ความเข้มข้น GA_3 (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์ติดตาสำเร็จ
100	46.5
200	30.4
300	41.2
F-test	ns
cv(%)	25.99



ภาพที่ 10 วิธีการติดตาส้มจุกขนาดเล็กบนต้นตอส้มเชียงหวานในหลอดทดลอง

10. การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของต้นติดตาหลังย้ายปลูก

การย้ายต้นส้มที่ผ่านการติดตาในหลอดทดสอบลงแปลงปลูกให้ผลสำเร็จสูง 100% ภายใต้การให้น้ำแบบพ่นหมอกต้นกล้ามีการเจริญเติบโตช้าในช่วงแรก อันเนื่องมาจากการย้ายเลี้ยงที่เรียกว่า transplanting shock การเจริญเติบโตเป็นไปอย่างรวดเร็วหลังจากย้ายเลี้ยง 3 สัปดาห์ ในช่วงเวลานี้กิ่งตาที่พัฒนามาจากตาที่ติดมีความยาว 1.78 ซม มีข้อ 6.41 ข้อ ต่อมาอีก 3 สัปดาห์การเจริญเติบโตและพัฒนาการของข้อเพิ่มขึ้น 2-3 เท่า (ตารางที่ 10) หากช่วยขยายพันธุ์ในเรือนเพาะชำโดยการเสียบกิ่งขนาดเล็กช่วยให้สามารถเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ได้ 5-6 เท่าในเวลา 3 เดือนนั่นคือต้นส้มที่ปลอดโรคในแปลงปลูก 20-24 ต้นจากติดตา 1 ต้นในเวลา 1 ปี อย่างไรก็ตามในปีถัดมาสามารถเพิ่มจำนวนได้มากถึง (20-24)x(5-6)x4 =400-600 ต้น หากผลิตต้นที่ปลอดโรคในหลอด 100 ต้นแล้วทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการดังกล่าวภายในเวลา 2 ปี สามารถผลิตวัสดุปลอดโรคได้ 40,000-60,000 ต้น

ตารางที่ 10 การเจริญเติบโตและพัฒนาการของกิ่งพันธุ์ส้มจุกที่ได้จากการทำ STG แล้วนำออกไปติดตาต่อกิ่งกับต้นตอในเรือนเพาะชำ

อายุกิ่งพันธุ์ (เดือน)	ความสูง (ซม)	จำนวนข้อ	จำนวนใบ
3	1.78±1.07	6.41±2.28	7.41±2.00
6	7.43±3.22	17.50±6.59	10.79±4.92

11. การศึกษาการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุด

ผลการสำรวจความสามารถของไซโตไคนินทั้งสองชนิด ในการชักนำให้มีการพัฒนายอดรวมจากเมล็ดในการทดลองนี้พบว่า ไซโตไคนินในรูป BA ชักนำให้มีการพัฒนาของยอดรวมและตายอดได้ในขณะที่ KN ไม่มีผล (ตารางที่ 11) การสร้างยอดรวมดังกล่าวเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น การสร้างยอดรวมในอาหารสังเคราะห์ที่มี BA เข้มข้น 20 มก/ล ชักนำยอดรวมได้สูงสุด 73 เปอร์เซ็นต์(ภาพที่ 11) BA ระดับความเข้มข้นสูงกว่านี้ชักนำยอดรวมได้ลดลงนอกจากนี้การเจริญเติบโตหรือการยืดยาวของยอดเมื่อใช้ BA ระดับความเข้มข้นสูงไม่ดีดังนั้นการนับจำนวนยอดจึงทำได้ลำบาก (ตารางที่ 11) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการย้ายกลุ่มยอดรวมไปเลี้ยงบนอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ BA ต่ำจะช่วยให้มีการยืดยาวได้เร็วขึ้น

เมล็ดที่งอกเพียง 1-2 ต้นหลังจากการตัดยอดชุดแรกที่แตกออกมาจากเมล็ดใน ช่วง 3 สัปดาห์แรกแล้วทำการตัดแบ่งย้ายเลี้ยงไปในสูตรอาหารเดิมที่มีระดับความเข้มข้นของ BA แตก

ต่างกันพบว่าให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ ระดับความเข้มข้นของ BA ต่ำ ๆ ส่งเสริมการสร้างยอด และการเจริญของยอดเป็นไปได้ดี (ตารางที่ 12) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การชักนำให้เกิดยอดรวมในไม้ผลยืนต้นจากเมล็ดประสบผลสำเร็จโดยการใช้ BA ระดับความเข้มข้นสูงในอาหารเริ่มแรก แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมที่ลดความเข้มข้น BA ลงเพื่อชักนำการยืดยาวของยอดช่วยให้สามารถเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ได้เร็วยิ่งขึ้น จากการทดลองนี้จึงชี้ให้เห็นว่าวิธีการดังกล่าวสามารถช่วยขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นมังคุดเพื่อรองรับการเสียบยอดในหลอดทดสอบที่จะกระทำต่อไป นอกจากนี้แล้วยังสามารถชักนำการสร้างรากจากยอดในสูตรอาหารเดิมที่มีผงถ่าน 0.25 เปอร์เซ็นต์ IAA 10 ไมโครโมลาร์ และ BA 1 ไมโครโมลาร์ รากงอกจากฐานลำต้นที่ตัดย้ายภายใน 2 อาทิตย์ได้เป็นต้นกล้าสมบูรณ์สามารถย้ายลงดินปลูกได้ (ภาคผนวกที่ 2)

ตารางที่ 11 ผลของไซโตไคนินที่มีต่อการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุด

	0	1	10	20	50
			(ไมโครโมลาร์)		
การชักนำยอดรวม					
Kinetin	no	no	no	no	no
BA	no	yes	yes	yes	yes
อัตราการสร้างยอดรวม (%)					
Kinetin	-	-	-	-	-
BA	-	27.9	43.2	72.9	20.8
การเพิ่มจำนวนและการเจริญของยอด*					
BA	-	ไม่ดี	ปานกลาง	ดี	-
จำนวนของยอดเฉลี่ย**					
BA	-	4	6.2	10.5	3

*ทำการเลี้ยงเมล็ดบนอาหารดังกล่าวข้างต้นเป็นเวลา 3 สัปดาห์ การเจริญของยอดเปรียบเทียบกันในระหว่างยอดที่สร้างจากการเลี้ยงชั่วแรก

**จำนวนยอดเฉลี่ยนับภายหลังจากทำการเลี้ยง 3 สัปดาห์ บนอาหารใส่แต่ละสูตรข้างต้น

ตารางที่ 12 ผลของ BA ต่อจำนวนการสร้าง และอัตราการเจริญของยอดรวม (ตรวจผล 3 สัปดาห์หลังจากทำการย้ายเลี้ยง)

ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	จำนวนยอดเฉลี่ยที่ความยาว 0.1-0.5 ซม.	0.5-1 ซม.	1-2 ซม.
0*	-	-	-
1	5	4	3
10	9.5	5	-
20	18	5	-
50**	20	-	-

*เกิดยอดเพียงยอดเดียวในสูตรอาหารเริ่มแรก

**ตายอดมีขนาดเล็กมากเกิดเป็นกระจุกบริเวณผิวเมล็ด

ภาพที่ 11 การชักนำยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุดในอาหารสูตรดัดแปลง MS เติม BA เข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์

12. การศึกษาเทคนิคต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง

การต่อกิ่งด้วยวิธีการเคลือบพาราพลาสต์ให้ผลสำเร็จ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในมังคุดและมะพูดสูงกว่าการต่อกิ่งด้วยวิธีการไม่เคลือบ ในหน่วยทดลองที่ไม่มีการเคลือบให้ผลสำเร็จในการต่อกิ่งมะพูดร้อยละ 20.82 ในขณะที่มังคุดจะไม่ประสบผลเลย (ตารางที่ 13 ภาพที่ 12)

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุดและมะพูดบนต้นตอพะวา เปรียบเทียบระหว่างการเคลือบและไม่เคลือบพาราพลาสต์

กิ่งเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การต่อกิ่ง			
	เคลือบ	ไม่เคลือบ	เฉลี่ย	F-test
มะพูด	100	20.82	60.41	*
มังคุด	100	0	50.00	*
เฉลี่ย	100	10.41		
F-test	ns	*		

ภาพที่ 12 การต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาโดยใช้เทคนิคการหุ้มรอยต่อด้วยพาราพลาสต์

จากตารางที่ 13 พบว่าพาราพลาสต์มีผลช่วยลดอัตราการคายน้ำของรอยแผลที่เกิดจากการต่อกิ่ง นอกจากนี้อาจช่วยดูดซับอนุภาคยางที่บริเวณรอยต่อ และยังพบว่าการใช้พาราพลาสต์ที่หลอมที่อุณหภูมิสูง 37-45 °ซ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์บริเวณรอยต่อ หรือยับยั้งการสร้างและไหลของอนุภาคของยางได้ดี ผลดีของพาราพลาสต์อีกประการหนึ่งคือเมื่อเย็นตัวลงช่วยตรึงรอยต่อให้คงตัว ไม่มีการเคลื่อนของกิ่งเลี้ยงช่วยให้การประสานของรอยต่อระหว่างต้นตอและกิ่งเลี้ยงเป็นไปได้สูง

13. การศึกษาวิธีการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง

จากการศึกษาวิธีการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาทั้ง 3 วิธี พบว่าให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ วิธีการต่อกิ่งแบบเสียบลิ่มให้ผลสำเร็จการต่อกิ่งในหลอดทดลองสูงสุด 78 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการต่อกิ่งแบบเข้าลิ้นและแบบเข้าเดือยให้ผลสำเร็จ 67 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ผลของการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวา 3 วิธีการต่อเปอร์เซ็นต์ต่อกิ่งสำเร็จ

วิธีการต่อกิ่ง	เปอร์เซ็นต์ต่อกิ่งสำเร็จ
แบบเสียบลิ่ม	78.23
แบบเข้าลิ้น	67.46
แบบเข้าเดือย	55.23
F-test	ns
cv(%)	14.17

ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดมะพูดและพะวาในหลอดทดสอบนั้น ประสบปัญหาปนเปื้อนสูง เมล็ดงอกช้ามากโดยเฉพาะเมล็ดมะพูดต้องใช้เวลา 3-6 เดือนจึงจะงอกทั้งในหลอดทดสอบและในแปลงปลูก ขนาดของลำต้นก็เป็นปัญหาในการเสียบยอดในหลอดทดสอบ ต้นพะวามีขนาดเล็กกว่ามังคุดมาก ทำให้การดำเนินการในช่วงแรกประสบปัญหาการเสียบยอดในหลอดทดสอบในช่วงแรกจึงทำได้เฉพาะมังคุดกับมังคุด

14. การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อความสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุด

จากการใช้ BA หรือ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทรีตรอยแผลต้นตอและกิ่งเลี้ยงก่อนต่อกิ่งในหลอดทดลองพบว่า GA_3 ให้ผลสำเร็จ 81 เปอร์เซ็นต์สูงกว่าการใช้ BA ซึ่งให้ผลสำเร็จ 78 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต สำหรับการต่อกิ่งที่ไม่มีการใช้สารทรีตให้ผลสำเร็จ 78 เปอร์เซ็นต์(ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ผลของ BA หรือ GA_3 ระดับความเข้มข้น 100 มก/ลต่อความสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง

สารควบคุมการเจริญเติบโต	เปอร์เซ็นต์ต่อกิ่งสำเร็จ
BA	78.74
GA_3	81.80
F-test	ns

สำหรับระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองชนิดที่ใช้ก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ การเพิ่มระดับความเข้มข้น BA ช่วยส่งเสริมผลสำเร็จในการต่อกิ่งให้สูงขึ้น อย่างไรก็ตามที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 200 มก/ลไม่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ต่อกิ่งสำเร็จเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 ผลของ BA และ GA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆต่อผลสำเร็จในการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลอง

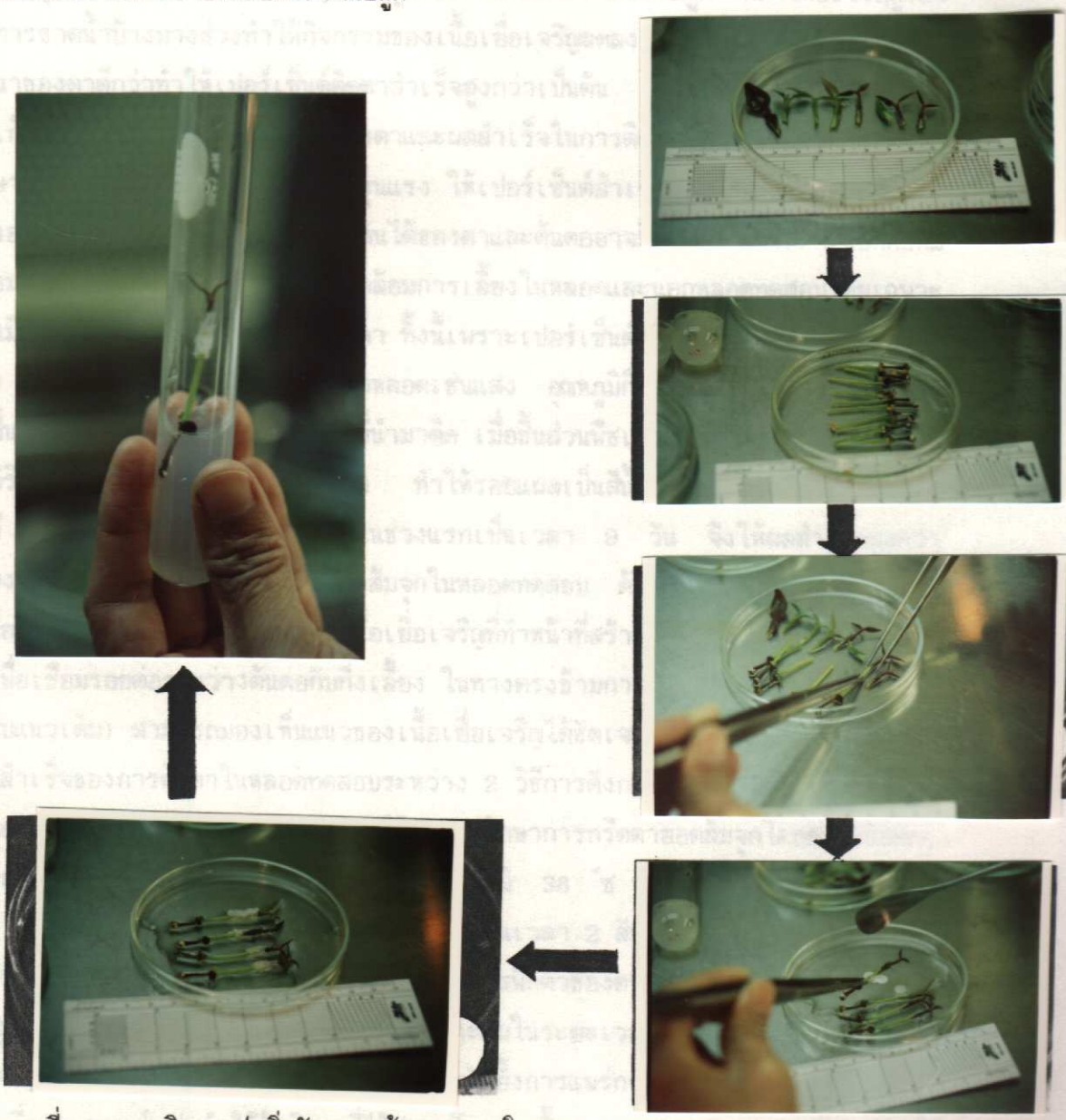
สารควบคุมการเจริญเติบโต	ระดับความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์ต่อกิ่งสำเร็จ
	0	78.23
	100	77.80
BA	200	81.50
	300	76.93
F-test		ns
	100	82.69
GA_3	200	81.36
	300	81.36
F-test		ns

15. การศึกษาต้นต่อกิ่งมังคุดหลังย้ายลงดินปลูก

นำต้นมังคุดที่ได้จากการต่อกิ่งบนต้นตอพะวาในหลอดทดสอบ ซึ่งเลี้ยงดูภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงความเข้มแสง 2500 ลักซ์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์จำนวน 161 ต้นไปเลี้ยงในเรือนเพาะชำที่มีการควบคุมการให้น้ำระบบพ่นหมอกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นต่อกิ่งตายเป็นจำนวนมากเนื่องมาจากความชื้นสูงมากทำให้เกิดการเน่า เมื่อถอนต้นที่ตายมาดูสังเกตพบว่ารากไม่มีการเจริญเติบโต และแผ่กระจายเหมือนต้นกล้ามังคุดที่ได้จากการทำไมโครคัตติงในหลอดทดสอบแม้ว่าการศึกษานี้ให้ผลสำเร็จการต่อกิ่งในหลอดทดสอบสูง ดังผลที่เสนอในตารางที่กล่าวมาแล้วก็ตาม เมื่อย้ายต้นกล้าไปปลูกในเรือนระแนงระบบรากของพะวาได้รับการกระทบกระเทือนทำให้เกิดการฝ่อของรากซึ่งเป็นธรรมชาติของพืชในสกุลนี้ การเจริญเติบโตต่อไปได้ด้วยรากชุดใหม่ที่สร้างจากเมล็ดหรือเกิดออกมาจากส่วนใดส่วนหนึ่งของรากแก้วเดิม ดังนั้นการชักนำการสร้างรากที่แข็งแรงก่อนการย้ายปลูก หรือการใช้สารชักนำการสร้างรากในระหว่างที่มีการย้ายลงดินปลูกนับว่ามีความสำคัญ และต้องมีการศึกษาเพื่อให้วิธีการต่อกิ่งในหลอดทดสอบเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และเนื่องจากการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาแล้วทำการตัดแยกเมล็ดพะวาทิ้ง เป็นผลทำให้

การเจริญเติบโตของต้นพะวาหยุดชะงักการเจริญเติบโตทางลำต้นและรากก็อาจเป็นได้ จากการสังเกตรากของต้นกล้าพบว่าโดยส่วนใหญ่หยุดชะงักการเจริญเติบโต ไม่มีการแผ่กระจายแม้จะเลี้ยงในอาหารที่มีออกซินชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนั้นการต่อกิ่งแล้วคงเหลือเมล็ดเอาไว้ระยะหนึ่งก่อนน่าจะให้ผลดีกว่าและจะได้ทำการศึกษาต่อไป

แม้ว่าได้เพาะเลี้ยงเมล็ดพะวาในอาหารสูตรพื้นฐานและสูตรดัดแปลง MS ร่วมด้วย BA ระดับความเข้มข้นสูงก็ตามการเจริญเติบโตของต้นกล้าวัดจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางยังคงมีขนาดเล็กกว่ากิ่งเลี้ยงมังคุดเล็กน้อย และยังคงเป็นปัญหาสำคัญในการต่อกิ่งในหลอดทดสอบ นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารที่มี BA ระดับความเข้มข้นสูงมีผลยับยั้งการเจริญของรากซึ่งมีผลต่อความสำเร็จในการย้ายต้นต่อกิ่งลงดินปลูก



ภาพที่ 13 เทคนิคการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาในหลอดทดสอบ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองทำการติดตาขนาดเล็กของส้มโชกุนและส้มจุก บนต้นตอส้มจี๊ดที่มีอายุและขนาดความสูงแตกต่างกันในหลอดทดลอง พบว่าการใช้ชิ้นส่วนตาของส้มจุกให้เปอร์เซ็นต์การติดตาสูงกว่าส้มโชกุน และการใช้ชิ้นส่วนตาจากหลอดทดสอบให้เปอร์เซ็นต์การติดตาสำเร็จสูงกว่าการใช้ตาจากแปลงปลูก ในกรณีอายุและขนาดของต้นตอพบว่าความสูงเฉลี่ย 4-5 เซนติเมตร อายุ 1 สัปดาห์ให้เปอร์เซ็นต์การติดตาได้สำเร็จสูงกว่าต้นตอขนาด และอายุอื่นๆผลสำเร็จในการติดตาที่ได้ในการศึกษานี้มีความปรวนแปรค่อนข้างสูง บางการทดลองสูงแต่ในบางการทดลองต่ำ ทั้งนี้มีสาเหตุจากหลายประการ ที่สำคัญคือ ฤดูกาลการเก็บตาจากแปลงปลูก กล่าวคือช่วงฤดูร้อนต้นส้มมีการขาดน้ำบ้างบางช่วงทำให้กิจกรรมของเนื้อเยื่อเจริญลดลง ส่วนช่วงปลอดฝนในฤดูฝนการพัฒนาของตาดีกว่าทำให้เปอร์เซ็นต์ติดตาสำเร็จสูงกว่าเป็นต้น อาการโรคต้นทรุดโทรมของต้นแม่ที่เก็บกิ่งตาก็มีผลต่อความแข็งแรงของตาและผลสำเร็จในการติดตาในหลอดทดสอบ จากการศึกษานี้พบว่าต้นพันธุ์ที่มีอาการของโรครุนแรง ให้เปอร์เซ็นต์สำเร็จการติดตาต่ำกว่าต้นพันธุ์ที่มีอาการของโรคอ่อนๆ ความสามารถเข้ากันได้ของตาและต้นตออาจมีผลแต่สามารถคัดเลือกตอที่มีความเหมาะสมได้ นอกจากนี้สภาพแวดล้อมการเลี้ยงในหลอดและนอกหลอดทดสอบโดยเฉพาะความชื้นมีผลมากต่อความสำเร็จในการติดตา ทั้งนี้เพราะเปอร์เซ็นต์ตาที่แห้งตายหลังจากติดตาในหลอดสูง อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมนอกหลอดเช่นแสง อุณหภูมิก็มีผลเช่นเดียวกันเนื่องจากวิธีการนี้เป็นการสร้างแผลให้กับต้นตอและตาที่นำมาติด เมื่อชิ้นส่วนพืชเกิดแผลและได้รับแสงเป็นการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันการสร้างสารฟีโนล ทำให้รอยแผลเป็นสีน้ำตาลการประสานตัวของรอยแผลไม่มี ดังนั้นการเลี้ยงต้นติดตาในที่มืดในช่วงแรกเป็นเวลา 9 วัน จึงให้ผลสำเร็จสูงกว่าการเลี้ยงในที่มีแสงทันทีเนื่องจากการติดตาส้มจุกในหลอดทดสอบ ด้วยวิธีวางตายอดส้มจุกบนฐานสามเหลี่ยมประสบปัญหาการสัมผัสกันของเนื้อเยื่อเจริญที่ทำหน้าที่สร้างกลุ่มมัดท่อน้ำท่ออาหาร และแคลลัสเพื่อเชื่อมรอยต่อระหว่างต้นตอกับกิ่งเลี้ยง ในทางตรงข้ามการวางตายอดในแนวนอน(แนวตั้งฉากกับแนวเดิม) สามารถมองเห็นแนวของเนื้อเยื่อเจริญได้ชัดเจนกว่าจึงได้ศึกษาเปรียบเทียบผลความสำเร็จของการติดตาในหลอดทดสอบระหว่าง 2 วิธีการดังกล่าวพบว่าให้ผลสำเร็จการติดตาในหลอดทดสอบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การศึกษาการทรีตตายอดส้มจุกโดยความร้อนต่อความสำเร็จในการทำ SIG การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 38 °ซ กับตาส้มจุกที่ตัดแยกให้เหลือ apical dome และ leaf primordia 2-3 อันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ มีผลส่งเสริมความสำเร็จการติดตาในหลอดทั้งนี้เพราะอุณหภูมิสูงมีผลต่อการพักตัวของตา ขบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ถูกจำกัด เมื่อได้รับอุณหภูมิการเลี้ยงเหมาะสมในระยะเวลาต่อมาตายอดก็มีความพร้อมในการเจริญเติบโต นอกจากนี้วิธีการดังกล่าวช่วยยับยั้งการแพร่กระจายไวรัสสาเหตุโรคไปยังยอดแขนงที่แตกออกมาใหม่ ทำให้ต้นติดตาที่ได้ปลอดโรคมากขึ้น

ในกรณีการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลองนั้น มีความจำเป็นต้องชักนำกิ่งเลี้ยงมังคุดให้มีขนาดเหมาะสมสำหรับต่อกับต้นตอพะวา กิ่งเลี้ยงสามารถชักนำได้จากชิ้นส่วนที่เป็นไปได้ในตอนนี้คือกิ่งเลี้ยงที่ชักนำจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด เนื่องจากเมล็ดมังคุดมีลักษณะเป็นแบบอะโปมิค (apomict) กล่าวคือ ในเนื้อเยื่อเมล็ดสามารถพัฒนาให้ต้นกล้าจำนวนมากมายจากเซลล์ทุกเซลล์ หากมีอาหารเลี้ยงต้นอ่อนเหล่านั้นที่เพียงพอ การเพาะเมล็ดในดินในสภาพการปลูกธรรมชาติที่เป็นอยู่ชักนำให้เกิดต้นกล้าเพียงต้นเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องจากการแก่งแย่งกันของต้นอ่อนในเมล็ดต้นกล้าต้นแรกที่งอกออกมาไปยับยั้งการงอกของต้นอื่นที่งอกออกมา การเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์ร่วมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินในรูป BA อัตราความเข้มข้น 20-50 ไมโครโมลาร์ ช่วยกระตุ้นให้ต้นอ่อนและแต่ละต้นที่ประกอบอยู่ในเมล็ดมีศักยภาพที่จะงอกได้ ในขณะที่ BA ในระดับความเข้มข้นต่ำ 1 ไมโครโมลาร์ ให้อัตราการสร้างยอดรวมที่ด้อยกว่าแต่ส่งเสริมการยืดยาวของยอดดีกว่า ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุดในอาหารสังเคราะห์เติม BA 25-50 ไมโครโมลาร์เพื่อชักนำยอดรวมระยะหนึ่งก่อนแล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ลดความเข้มข้น BA ลงเป็น 1 ไมโครโมลาร์ช่วยส่งเสริมการยืดยาวของยอดสามารถผลิตยอดจำนวนมากเพื่อใช้ในการต่อกิ่งมังคุดได้เพียงพอ มีรายงานผลความสามารถในการชักนำยอดรวมจากเมล็ดมังคุดจากหลายห้องปฏิบัติการ (Goh et al., 1988; ธิดารัตน์ น้อยรักษา 2533) อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวเป็นไปในทำนองเดียวกัน แตกต่างกันบ้างที่การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต Goh และคณะ (1988) ชักนำยอดรวมจากเมล็ดมังคุดโดยใช้ BA ร่วมกับ NAA นอกจากกิ่งเลี้ยงที่ได้จากการเพาะเมล็ดแล้ว การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนก็ให้กิ่งเลี้ยงขนาดเหมาะสมอีกด้วยแต่มีข้อจำกัดว่าอัตราการทวีจำนวนต่ำ ใบอ่อนที่ให้ความสามารถการสร้างยอดรวมเป็นใบอ่อนสีแดงเท่านั้น ผู้วิจัยเองได้ใช้ความพยายามเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำยอดรวมจากใบโดยการดัดแปลงสูตรอาหารและสภาพการเลี้ยงที่เหมาะสม จนถึงปัจจุบันสามารถชักนำยอดรวมจากชิ้นส่วนใบอ่อนได้ประสิทธิภาพสูงกว่าการศึกษาที่ผ่านมา นับเป็นแนวทางการเพิ่มกิ่งเลี้ยงที่มีความเหมาะสมในการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลองต่อไป จากการศึกษาพัฒนาเทคนิคการต่อกิ่งมังคุดด้วยเทคนิค micrografting หรือ young grafting มาจนถึงปัจจุบันพบว่าโดยทฤษฎีแล้ว สามารถที่จะกระทำได้ แต่ในทางปฏิบัติต้องพบปัญหาอุปสรรคพอสรุปได้ดังนี้คือ

1. <u>ข้อจำกัดของต้นตอ</u> จากการเพาะเลี้ยงต้นตอ 2 ชนิด เพื่อใช้ต่อกิ่งมังคุด คือ ต้นตอมะพูดและต้นตอพะวา พบว่าต้นตอทั้ง 2 ชนิดมีนิสัยการเจริญเติบโตที่ต่างกันมาก ในกรณีของมะพูดมีปัญหาการปนเปื้อนร้อยละ 80-100 ไม่สามารถแก้ปัญหาได้แม้ว่าได้มีการใช้ยากันรา หรือแบคทีเรีย การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อหรือในแปลงงอกได้ช้ามาก อายุจากเพาะเมล็ดถึงงอก 3-8 เดือน และจะทะยอยงอกมีอัตราการงอกไม่สม่ำเสมอ การใช้ชิ้นส่วนของลำต้นใบมาขยายพันธุ์ในหลอดทดลองไม่ได้ผล จากผลดังกล่าวจึงไม่สามารถนำมะพูดมาทำต้นตอต่อกิ่งกับมังคุดได้ สำหรับพะวานั้นสามารถแก้ปัญหาการปนเปื้อนได้ร้อยละ 100 จากการลอกเปลือกหุ้มเมล็ด

ชั้นนอกออกก่อนทำการเพาะในสภาพปลอดเชื้อ เมล็ดงอกได้เร็วมาก (เร็วกว่ามังคุด) แต่เนื่องจากขนาดของต้นเล็กกว่ามังคุดมาก จึงทำให้การต่อกิ่งเป็นไปในลักษณะที่ไม่สมดุลย์ (กิ่งเล็กมีขนาดโตกว่าต้นตอ) แม้ว่ามีการพัฒนาการเพาะเมล็ดพะวาในหลอดทดลองในอาหารที่มีความเข้มข้นของไซโตไคนินในอัตราความเข้มข้น 20-50 ไมโครโมลาร์ ให้ขนาดลำต้นของพะวามีขนาดใหญ่ขึ้นสามารถต่อกิ่งด้วยมังคุดได้ดีก็ตามปัญหาที่ตามมาของการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารที่มีไซโตไคนินเข้มข้นสูง คือการพัฒนายอดรวมจากเมล็ดพะวาอันเนื่องมาจากสารควบคุมการเจริญเติบโตทำให้พัฒนาการของรากไม่มีส่งผลให้เปอร์เซ็นต์สำเร็จการย้ายปลูกต่ำ

2. <u>ข้อจำกัดการแห้งของรอยต่อ</u> หลังจากทำการต่อกิ่งมังคุด หรือมะพูดบนต้นตอพะวาแล้ว และเลี้ยงดูภายใต้สภาพความชื้นสูง 90-95% ก็ตามอัตราการดูดน้ำของรากพะวาในช่วงแรกต่ำเนื่องจากมีการเคลื่อนย้ายจึงกระทบกระเทือน ผลที่ตามมาคือการคายน้ำของรอยแผลที่เกิดบริเวณรอยต่อทำให้มีการสูญเสียน้ำมาก เซลล์บริเวณรอยต่อจะเหี่ยวเกิดการแยกตัวของเซลล์บริเวณรอยต่อการต่อกิ่งจึงไม่ประสบผลสำเร็จ การใช้พาราพลาสต์เป็นตัวหุ้มรอยแผลที่ต่อเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวที่เกิดขึ้น ให้ผลดีดังแสดงในรายละเอียดข้างต้นพอสรุปได้ดังนี้

พาราพลาสต์ช่วยตรึงรอยต่อให้แน่นไม่มีการเคลื่อนตัวของต้นตอและกิ่งเลี้ยง

พาราพลาสต์ช่วยลดการคายน้ำของรอยแผลที่เกิดจากการต่อกิ่ง

พาราพลาสต์ช่วยลดการสร้างอนุภาคยางให้น้อยลง

3. <u>ข้อจำกัดการประสานตัวของเนื้อไม้ภายหลังจากต่อกิ่ง</u> เนื่องจากกิ่งเลี้ยงและต้นตอที่นำมาต่อกิ่งเป็นพืชคนละสปีชีส์กันและเป็นพืชที่มีอนุภาคของยางมากแม้ในต้นกล้า ดังนั้นอนุภาคของยาง และลักษณะทางสรีรวิทยาของต้นที่แตกต่างกันเป็นผลให้การประสานของรอยต่อเข้ากันได้ไม่ดีเท่าที่ควร มงคลและคณะ (2532) ศึกษาการเข้ากันได้หรือไม่ได้ในพืชตระกูลนี้หลังจากการขยายพันธุ์ไม่อาศัยเพศนอกหลอดทดสอบพบว่า เซลล์บริเวณรอยต่อของต้นตอพะวามีการพัฒนาเนื้อเยื่อเจริญช้ากว่าต้นตอมะพูด ในทางตรงข้ามเมื่อใช้กิ่งเลี้ยงพะวาต่อบนต้นตอมะพูดอัตราการสร้างเยื่อเจริญเป็นไปได้ดีส่งผลให้กิ่งเลี้ยงพะวาเจริญเติบโตได้ดีด้วย

การต่อกิ่งโดยอาศัยต้นตอกลาง (intermediated rootstock) มีรายงานว่าสามารถแก้ปัญหาได้ในพืชบางชนิด ในการศึกษานี้ก็เช่นเดียวกันหากประสบปัญหาการต่อกิ่งมังคุดกับพะวา การต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอกลางมะพูดที่ต่อกับพะวาก่อนแล้วช่วยให้ประสิทธิภาพการต่อกิ่งมังคุดในหลอดทดลองเป็นไปได้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากการเพาะเลี้ยงมะพูดในหลอดทดสอบไม่ประสบผลดังนั้นการใช้ตอกลางยังคงไม่ประสบผลสำเร็จ

การใช้ BA และ GA_3 ทาหรือจุ่มแช่แผลของต้นตอและกิ่งเลี้ยงพบว่าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการต่อกิ่งให้สูงขึ้นทั้งนี้เพราะสารควบคุมการเจริญเติบโตช่วยส่งเสริมการสร้างแคลลัสบริเวณแผลเพิ่มการประสานของรอยต่อให้เป็นไปได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น เช่นออกซินในรูปต่างๆคาดว่าให้ผลดีเช่นเดียวกัน

นอกจากเทคนิคการต่อกิ่งในหลอดทดสอบจะเป็นแนวทางในการร่นระยะเวลาการตกผลของไม้ผลทั่วไปแล้ว ต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ สามารถออกดอกและติดผลเร็วกว่าการปลูกด้วยเมล็ดทั้งนี้เพราะในทางทฤษฎีแล้วการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปลดระยะการเป็นหนุ่มสาว ทำให้การเจริญเติบโตทางลำต้นสั้นลง ในการศึกษานี้ได้ตัดแยกยอดแต่ละยอดที่พัฒนามาจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมังคุดมาชักนำรากด้วยวิธีการที่เรียกว่าไมโครคัตติง หรือ in vitro microcutting หลังจากนั้นย้ายต้นกล้าที่มีรากแล้วไปดูแลในเรือนเพาะชำเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตเปรียบเทียบกับต้นกล้า ที่ได้จากการปลูกด้วยเมล็ดต่อไป การใช้เทคนิคดังกล่าวทำให้การขยายพันธุ์มังคุดด้วยเทคนิค micropropagation เป็นไปได้สูง นอกจากจะช่วยขยายพันธุ์มังคุดแล้ว การศึกษาการร่นระยะเวลาการให้ผลผลิต การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์มังคุดในหลอดทดลองตลอดจนการชักนำการกลายพันธุ์เพื่อผลิตมังคุดพันธุ์ใหม่ ภายใต้การใช้เทคนิคดังกล่าวมีโอกาสเป็นไปได้สูงในอนาคตอันใกล้นี้

เอกสารอ้างอิง

ธิดารัตน์ น้อยรักษา 2533 การขยายพันธุ์มังคุดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สมปอง เดชะโต และ วันทนา เอ้งย่อง 2531 การขยายพันธุ์มังคุดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ว.สงขลานครินทร์ 10 : 7 -11.

Chatisathian J. and Tontyaporn S. 1990. In Vitro Culture to Produce Disease - Free Citrus in Thailand. Asia - Pacific International Conference on Citrus Rehabilitation. 4-10 February 1990. (Sheet)

Goh, H.K.L., Rao, A.N., and Loh, G.S. 1988. In vitro plantlet formation in mangosteen (Garcinia mangostana L.). Ann. Bot., 62:87-93.

Jaruwan, C. and Tontyaporn, S. 1990. In vitro culture to produce disease-free citrus in Thailand. Asia-Pacific International Conference on Citrus Rehabilitation. 4-10 February 1990. (sheet)

Jonard R., Hugard J. Macheix J.J., Martinez J., Chancel L.M., Poessel J.L. and Uillemur P. 1983. In Vitro Micrografting and Its Applications to Fruit Science Scientia Horticulture, 20 : 147-159.

Murashige, T., Bitters, W.P., Rangan, T.S., Nauer, E.M., Roistacher, C.N. and Holliday,D.B. 1972. A technique of shoot-apex grafting and its utilization towards recovering virus citrus clones. HortScience, 7 : 118-119.

Nauer, E.M., Roister, C.N., Carson, T.L. and Murashige, T. 1983. In vitro shoot-tip grafting to eliminate citrus viruses and virus like pathogens produced uniform budlines. HortScience, 18 : 308-309

Navarro, L. 1981. Citrus Shoot-tip Grafting In Vitro (STG) and Its Applications : A Review. Proc. Int. Soc. Citriculture 1 : 452-456.

Navarro, L. 1981. Citrus shoot-tip grafting in vitro(STG) and its application. A review. Proc. Inst. Soc. Citriculture. pp. 70-73.

Navarrol, L. 1981. Citrus shoot-tip grafting in vitro (STG) and its application. A review. Proc. Int. Soc. Citriculture, 1 : 452-456.

Navarro, L., Roistacher,C.N.and Murashige,T. 1975. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus free citrus. J.Am. Soc. HortScience, 100 : 471-479.

Navarro, L. and Juarez J. 1977. Elimination of Citrus Pathogens in Propagative Budwood II. In Vitro Propagation Proc. Int. Soc. Citriculture 3 : 973-987.

Navarro, L., Ballester J.F., Juarez J., Pina J.A., Arregui J.M. and Bono R. 1981. Development of a Program for Disease-Free Citrus Budwood in Spain. Proc. Int. Soc. Citriculture 1 : 70-73.

Navarro, L., et al. 1981. Development of a program for disease-free citrus budwood in Spain. Proc. Int. Soc. Citriculture. 70-73 pp.

Navarro, L.,Ballester,J.F., Juarez, J., Pina, J.A., Arrgeui, J. M. and Bono, R. 1981. Development of a program for disease-free citrus bud wood in Spain. Proc. Int. Soc. Citricultrue, : pp 70-73.

Quak, F. 1977. Meristem culture and virus free plants. In J. Reinert Y.P.S. Bajai (ed), Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Springer Verlag, Heidelberg. pp 147-159.

Shu-Ching,S. and Millikan,D.F. 1980. In vitro micrografting of apple shoot-tip. HortScience, 15 : 741-746

Sim, G.E., Goh, C.J., and Loh, C.S. 1989. Micropropagation of Citrus mitis Blanco: Multiple-bud formation from shoot and root explants in the presence of 6-benzylaminopurine. Plant Science, 59:203-210.

Su, H.J. and Chu, J. Y. 1984. Modified Technique of Citrus Shoot - Tip Grafting and Rapid Propagation Method to Obtain Citrus Budwoods Free of Citrus Viruses and Libukin

Organism. Proc. Int. Soc. Citriculture 1 : 332-334.

Wang, J. 1990. Apple: Shoot tip and embryo culture. In Chen, Z. et al. (eds) Handbook of Plant Cell Culture. McGraw-Hill, New York. 506 P.

Wu, J. 1990. Crabapple (Malus prunifolia) : anther culture. In Chen, Z. et al. (eds) Handbook of Plant Cell Culture. McGraw-Hill, New York. 506 P.

Zhao, H. and Gu, N. 1990. Pear. In Chen, Z. et al. (eds) Handbook of Plant Cell Culture. McGraw-Hill, New York. 506 P.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 สูตรอาหารสังเคราะห์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สูตรอาหารพื้นฐาน Murashige & Skoog(MS)

องค์ประกอบ	ปริมาณสารที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2 2H_2O$	440.00
$MgSO_4 7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
H_3BO_3	6.20
KI	0.83
$MnSO_4 1H_2O$	16.90
$ZnSO_4 7H_2O$	10.60
$CuSO_4 5H_2O$	0.025
$NaMoO_4 2H_2O$	0.25
$CoCl_2 6H_2O$	0.025
$FeSO_4 7H_2O$	27.80
Na_2EDTA	37.30
อินทรียสาร	
Myo-inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
PyridoxineHCL	0.50
ThiamineHCL	0.10
Glycine	2.00
Sucrose	30,000.00
ผงวุ้น	7,000.00
pH	5.7

สูตรอาหารดัดแปลงของ Murashige & Skoog

องค์ประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2 2H_2O$	440.00
$MgSO_4 7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
H_3BO_3	12.40
KI	1.70
$MnSO_4 1H_2O$	33.80
$ZnSO_4 7H_2O$	21.00
$CuSO_4 5H_2O$	0.05
$NaMoO_4 2H_2O$	0.50
$CoCl_2 6H_2O$	0.05
$FeSO_4 7H_2O$	13.90
Na_2EDTA	18.60
อินทรียสาร	
Myo-inositol	500.00
Nicotinic acid	0.50
PyridoxineHCL	0.50
ThiamineHCL	5.00
Glycine	2.00
Sucrose	30,000.00
ผงวุ้น	9,000.00
pH	5.7

สูตรอาหาร MT

องค์ประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2 2H_2O$	440.00
$MgSO_4 7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
H_3BO_3	6.20
KI	0.83
$MnSO_4 1H_2O$	16.50
$ZnSO_4 7H_2O$	10.60
$CuSO_4 5H_2O$	0.025
$NaMoO_4 2H_2O$	0.25
$CoCl_2 6H_2O$	0.025
$FeSO_4 7H_2O$	27.80
Na_2EDTA	37.30
อินทรียสาร	
Nicotinic acid	2.462
PyridoxineHCl	2.467
ThiamineHCl	10.119
Glycine	1.953
Folic acid	0.098
Riboflavin	0.098
Biotin	0.098
Ascorbic acid	5.284
Sucrose	30,000.00
ผงวุ้น	7,000.00
pH	5.7

ภาคผนวกที่ 2 การย้ายต้นกล้ามังคุดจากวิธีการไมโครคัตติงลงแปลงปลูก

ตารางที่ 1 ผลของการย้ายต้นกล้ามังคุดที่ชักนำรากในหลอดทดสอบ และต้นกล้าที่ยังไม่มีราก ไปปลูกในแปลงปลูกต่อการตั้งตัวของต้นกล้า

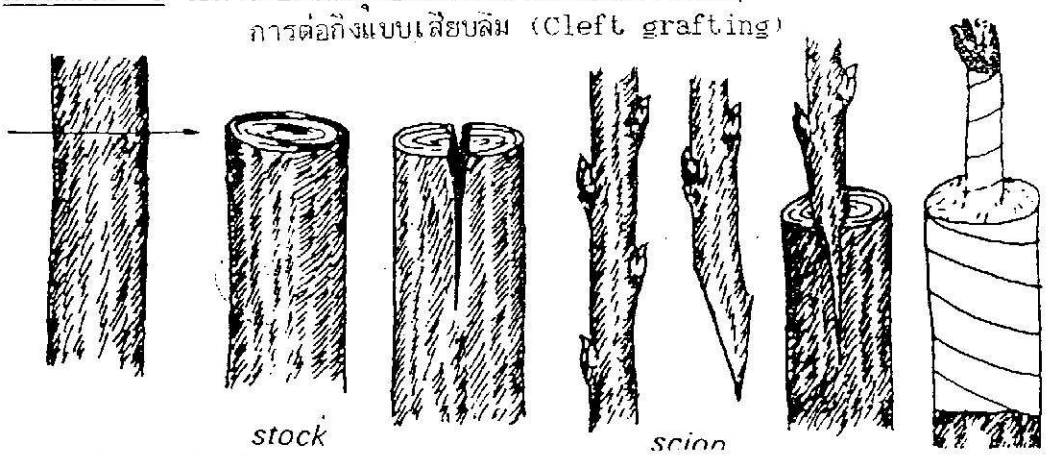
หน่วยทดลอง	จำนวน(ต้น)	เปอร์เซ็นต์ตั้งตัวเฉลี่ยของต้นกล้า
ต้นกล้ามีรากจากหลอดทดลอง	200	79.42[a]
ต้นกล้าชักนำรากนอกหลอดทดลอง		
-ใช้เซราดิกเบอร์ 1	100	65.16[b]
-ใช้เซราดิกเบอร์ 2	100	62.15[b]
-ใช้เซราดิกเบอร์ 3	100	67.83[b]

ตัวเลขที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์โดย DMRT

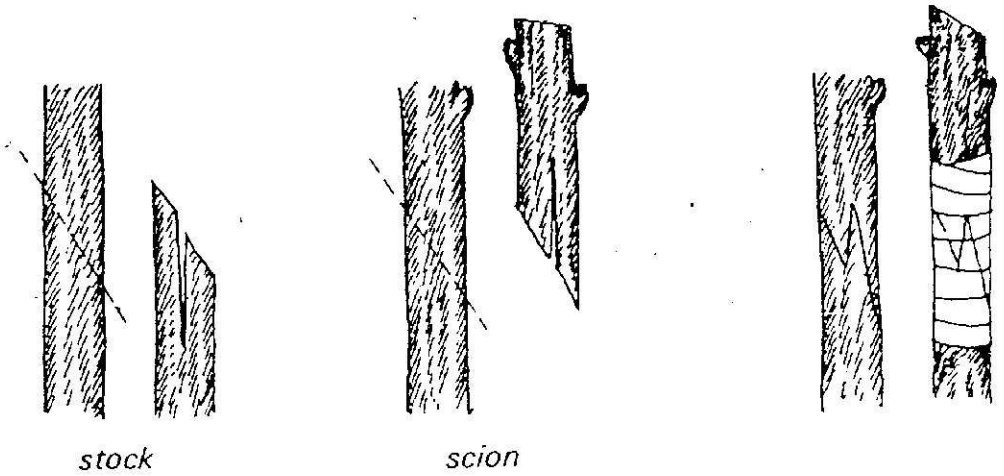
ภาพที่ 1 ต้นกล้ามังคุดที่รอดชีวิตและตั้งตัวได้หลังจากย้ายปลูกลงดินเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ภาคผนวกที่ 3 วิธีการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาด้วยวิธีการต่างๆ

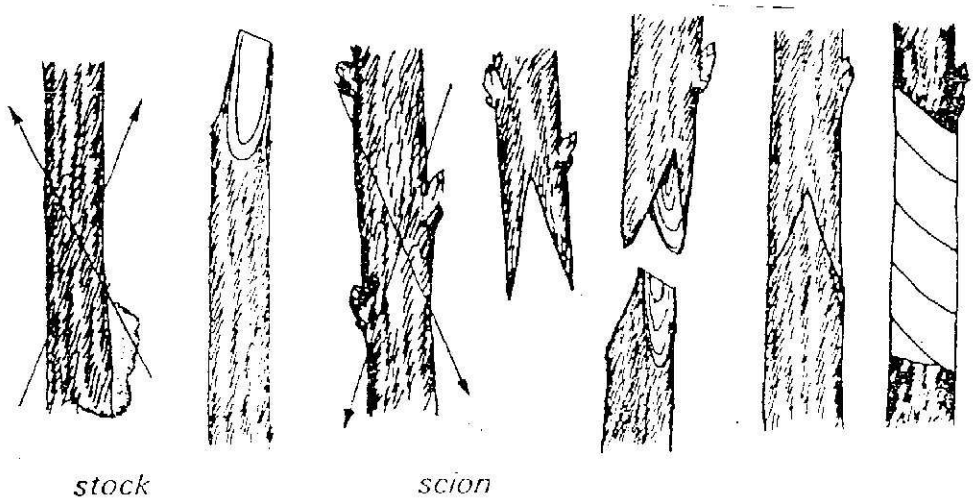
การต่อกิ่งแบบเสียบลิ่ม (Cleft grafting)



การต่อกิ่งแบบเสียบลิ่ม



การต่อกิ่งแบบเสียบลิ้น



การต่อกิ่งแบบเข้าเดือย

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 สูตรอาหารสังเคราะห์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สูตรอาหารพื้นฐาน Murashige & Skoog(MS)

องค์ประกอบ	ปริมาณสารที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2 2H_2O$	440.00
$MgSO_4 7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
H_3BO_3	6.20
KI	0.83
$MnSO_4 1H_2O$	16.90
$ZnSO_4 7H_2O$	10.60
$CuSO_4 5H_2O$	0.025
$NaMoO_4 2H_2O$	0.25
$CoCl_2 6H_2O$	0.025
$FeSO_4 7H_2O$	27.80
Na_2EDTA	37.30
อินทรียสาร	
Myo-inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
PyridoxineHCL	0.50
ThiamineHCL	0.10
Glycine	2.00
Sucrose	30,000.00
ผงวุ้น	7,000.00
pH	5.7

สูตรอาหารดัดแปลงของ Murashige & Skoog

องค์ประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2 2H_2O$	440.00
$MgSO_4 7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
H_3BO_3	12.40
KI	1.70
$MnSO_4 1H_2O$	33.80
$ZnSO_4 7H_2O$	21.00
$CuSO_4 5H_2O$	0.05
$NaMoO_4 2H_2O$	0.50
$CoCl_2 6H_2O$	0.05
$FeSO_4 7H_2O$	13.90
Na_2EDTA	18.60
อินทรียสาร	
Myo-inositol	500.00
Nicotinic acid	0.50
PyridoxineHCL	0.50
ThiamineHCL	5.00
Glycine	2.00
Sucrose	30,000.00
ผงวุ้น	9,000.00
pH	5.7

สูตรอาหาร MT

องค์ประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2 2H_2O$	440.00
$MgSO_4 7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
H_3BO_3	6.20
KI	0.83
$MnSO_4 1H_2O$	16.50
$ZnSO_4 7H_2O$	10.60
$CuSO_4 5H_2O$	0.025
$NaMoO_4 2H_2O$	0.25
$CoCl_2 6H_2O$	0.025
$FeSO_4 7H_2O$	27.80
Na_2EDTA	37.30
อินทรียสาร	
Nicotinic acid	2.462
PyridoxineHCl	2.467
ThiamineHCl	10.119
Glycine	1.953
Folic acid	0.098
Riboflavin	0.098
Biotin	0.098
Ascorbic acid	5.284
Sucrose	30,000.00
ผงวุ้น	7,000.00
pH	5.7

ภาคผนวกที่ 2 การย้ายต้นกล้ามังคุดจากวิธีการไมโครคัตติงลงแปลงปลูก

ตารางที่ 1 ผลของการย้ายต้นกล้ามังคุดที่ชักนำรากในหลอดทดสอบ และต้นกล้าที่ยังไม่มีราก ไปปลูกในแปลงปลูกต่อการตั้งตัวของต้นกล้า

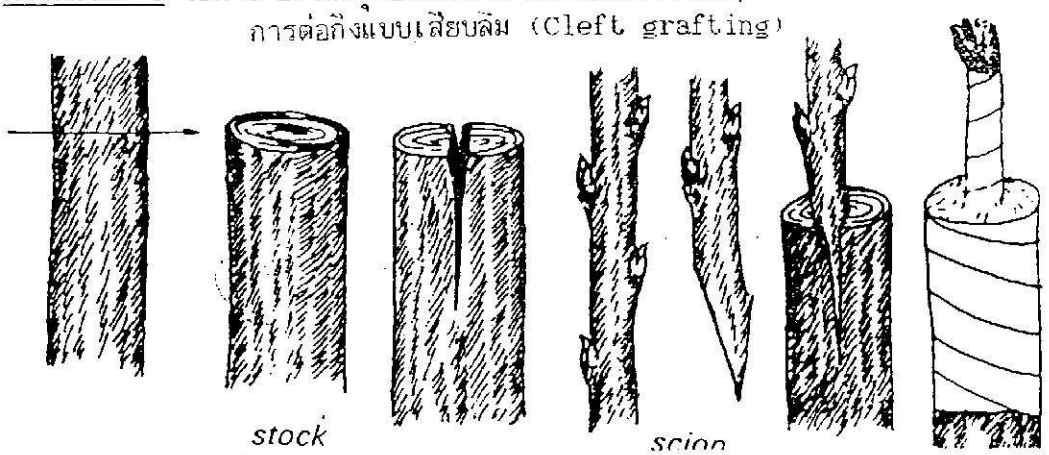
หน่วยทดลอง	จำนวน(ต้น)	เปอร์เซ็นต์ตั้งตัวเฉลี่ยของต้นกล้า
ต้นกล้ามีรากจากหลอดทดลอง	200	79.42[a]
ต้นกล้าชักนำรากนอกหลอดทดลอง		
-ใช้เซราดิกเบอร์ 1	100	65.16[b]
-ใช้เซราดิกเบอร์ 2	100	62.15[b]
-ใช้เซราดิกเบอร์ 3	100	67.83[b]

ตัวเลขที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์โดย DMRT

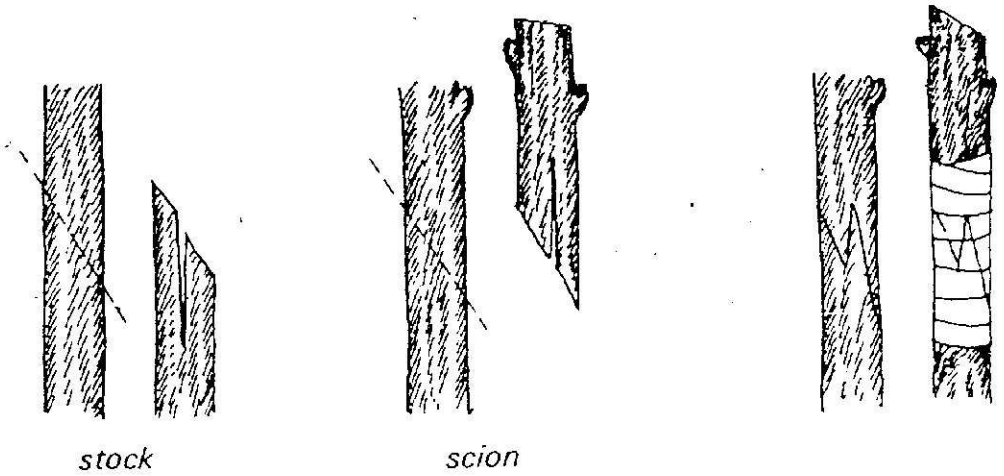
ภาพที่ 1 ต้นกล้ามังคุดที่รอดชีวิตและตั้งตัวได้หลังจากย้ายปลูกลงดินเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ภาคผนวกที่ 3 วิธีการต่อกิ่งมังคุดบนต้นตอพะวาด้วยวิธีการต่างๆ

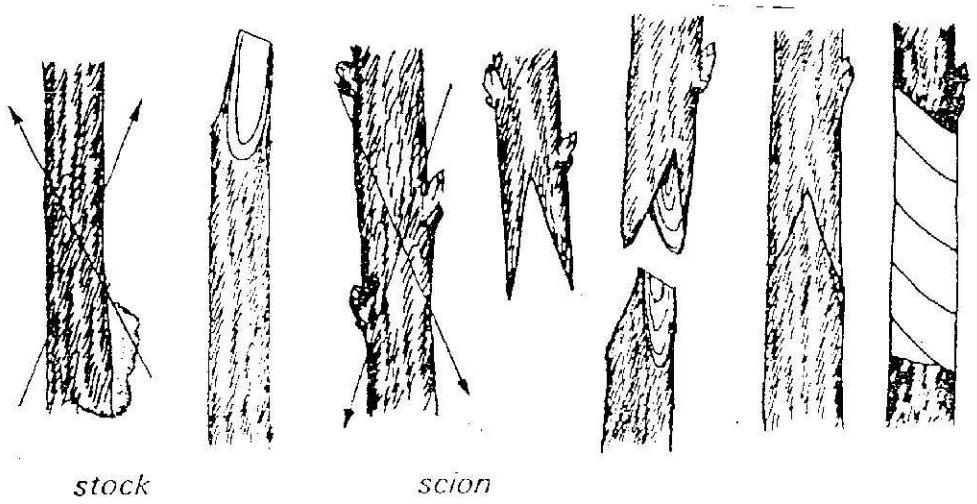
การต่อกิ่งแบบเสียบลิ่ม (Cleft grafting)



การต่อกิ่งแบบเสียบลิ่ม



การต่อกิ่งแบบเสียบลิ้น



การต่อกิ่งแบบเข้าเดือย