การพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์ผักหวานป่า

(*Melientha suavis* Pierre)

Phonekeo Anousack

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2560

การพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์ผักหวานป่า

(*Melientha suavis* Pierre)

PHONEKEO ANOUSACK

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....

(อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น)

วันที่ 24 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2560

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ)

วันที่ 24 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2560

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี)

วันที่ 24 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2560

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ)

วันที่ 24 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2560

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 24 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2560

ชื่อเรื่อง การพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์ผักหวานป่า (*Melientha suavis* Pierre)

ชื่อผู้เขียน Miss Phonekeo Anousack

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์ผักหวานป่าทั้งวิธีการเตรียมความพร้อมเมล็ดก่อนเพาะ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งในการเพาะเมล็ดได้ทำการหาวิธีการกระตุ้นการงอกของเมล็ดให้มีความงอกที่สูง งอกเร็ว และมีการเจริญของต้นกล้าที่ดี วิธีการกระตุ้นการงอกของเมล็ดผักหวานป่า ทำโดยนำเมล็ดระยะสุกแก่เต็มที่ (เปลือกผลสีเหลือง) มาแกะเนื้อผลออกล้างทำความสะอาดและผึ่งเมล็ดในที่ร่มจนแห้ง ทำการแช่เมล็ดในสารละลายไคโตซาน (20, 40 และ 80 mg/l) และ GA_3 (250, 500 และ 1,000 mg/l) เทียบกับชุดควบคุม คือ การไม่แช่และการแช่เมล็ดในน้ำ ระยะเวลาในการแช่เมล็ด 12 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาเพาะในทรายโดยฝังกลบเมล็ดให้ลึก 2 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 และ 1,000 mg/l ช่วยส่งเสริมให้เมล็ดผักหวานป่ามีการงอกรากที่ดี ให้ค่าดัชนีความเร็วในการงอกและเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่สูง ส่วนการแช่เมล็ดในสารละลายไคโตซาน ความเข้มข้น 20 และ 40 mg/l ช่วยให้เมล็ดผักหวานป่ามีค่าดัชนีความเร็วในการงอกที่สูง แต่ไม่มีผลการส่งเสริมการเกิดยอดที่เพิ่มขึ้น ในกรณีการเพิ่มปริมาณยอดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เริ่มจากการเตรียมต้นอ่อน (embryo) ปลอดเชื้อที่ได้จากเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อพื้นผิวแล้ว ทำการแกะเอาเฉพาะส่วนต้นอ่อน เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 30 วัน จากนั้นตัดส่วนยอดขนาดความยาว 1 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA (0, 1 และ 2 mg/l) ร่วมกับ GA_3 (0, 0.5, 1 และ 2 mg/l) เพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดและการยืดของยอดผักหวานป่า ทำการบันทึกผลการเจริญของยอดหลังจากเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 60 วัน ผลการวิจัยพบว่าการเพิ่มปริมาณยอดผักหวานป่าสามารถทำได้โดยการเลี้ยงยอดในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/l มีผลทำให้เพิ่มปริมาณยอดได้สูงสุดถึง 5.44 ยอด รองมาคือ การเลี้ยงยอดในอาหารที่เติม BA (1 และ 2 mg/l) ร่วมกับ GA_3 (0.5 และ 1 mg/l) และ การให้ BA ร่วมกับ GA_3 อย่างละ 2 mg/l มีผลต่อจำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น คือให้จำนวนยอด 3.77-4.55 ยอด ส่วนการเลี้ยงยอดในอาหารที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.5 mg/l ช่วยในการยืดของยอดที่เร็ว มีการเจริญของยอดดี คือมีการแผ่ของแผ่นใบที่ดี ยอดไม่อวบอ้วน

และไม่ฉ่ำน้ำ ซึ่งเป็นลักษณะของยอดที่เหมาะสมสำหรับการนำไปชักนำให้เกิดรากเพื่อออกปลูก

จากการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยงของต้นอ่อน (Hypocotyl) ทำการทดลองโดยการตัดชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงตามขวางและให้มีความหนา 1 มิลลิเมตร ทำการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP (0, 1, 2, 2.5 และ 3 mg/l) ร่วมกับ NAA (0 และ 0.5 mg/l) ผลการวิจัยพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ในความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ NAA ในความเข้มข้น 0.5 mg/ l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสต่อพื้นที่ได้ 100 % ลักษณะของแคลลัส เป็นสีเขียวครีม เกาะกันเป็นก้อนแน่น และหลังการเกิดแคลลัสที่อายุ 30 วัน ได้ทำการย้ายอาหารใหม่เพื่อดูการเจริญและพัฒนาของแคลลัสในอาหารสูตรเดิม ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ในความเข้มข้น 2.5 mg/l มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 100 % และมีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส 1.66 ยอด ภายใน 30 วันหลังย้ายแคลลัส

คำสำคัญ: การขยายพันธุ์, การงอกของเมล็ด, ไคโตซาน, สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช, ผักหวานป่า

Title	PROPAGATION TECHNIQUE IMPROVEMENT ON *Melientha suavis* Pierre
Author	Miss Phonekeo Anousack
Degree	Master of Science in Horticulture
Advisor Committee Chairperson	Dr. Pranom Yangkhamman

ABSTRACT

This research aimed to improve propagation technique on *Melientha suavis* Pierre. Both seed priming technique and In vitro propagation were done. The seed priming technique can enhance high and fast seed germination as well as good seedling growth and so may solve the problems of low seed germination and slow shoot emergence in *Melientha suavis* Pierre. Pulp of ripening fruits was extracted and cleaned in water then seeds were dried under shading. Soaking dry seed in each concentrations of chitosan (20, 40 and 80 mg/l) and GA_3 (250, 500 and 1,000 mg/l). Dry seed without priming and hydro-priming were used for control treatments. The soaking time was 12 hours. Then seeds were sown under sand at 2 cm. depth. The results show that 500 and 1,000 mg/l GA_3 soaking treatments enhanced the speed of germination index and shoot emergence. Whereas, 20 and 40 mg/l chitosan soaking treatments also enhanced the high speed of germination index but these treatments had no affect on high shoot emergence when compared to GA_3

In vitro technique was used for shoot multiplication. Embryos were cultured on MS medium for 30 days, then 1 cm. of seedling shoots were transferred on MS medium supplemented with BA (0, 1, 2 mg/l) and GA_3 (0, 0.5, 1 and 2 mg/l). The shoot growth was analyzed at 60 days. The results showed that the highest shoot number (5.44 shoots) was obtained on MS medium supplement with 1 mg/l BA. While, the combination of BA (1 and 2 mg/l) and GA_3 (0.5 and 1 mg/l) as well as 2 mg/l BA combined with 2 mg/l GA_3 also increased shoot multiplication (3.77-4.55 shoots). Whereas, the longest shoots and normal growth of shoots were obtained on MS medium supplemented with 0.5 mg/l GA_3. Henceforth, these shoots were

suitable for root induction.

The callus induction and shoot regeneration were studied in this research. Hypocotyl of seedling was cut into 1 mm. thickness and they were used as explants for callus induction. The explants were cultured on MS medium supplemented with BAP (0, 1, 2, 2.5 and 3 mg/l) and NAA (0 and 0.5 mg/l). The results showed that the highest percentage of callus induction per area of explant (100 %) was obtained on MS medium supplement with 3 mg/l BA combined with 0.5 mg/l NAA. The light-green color and compact callus was obtained within 30 days. After that the calluses were transferred on the new medium having same level and kind of plant growth regulators. The growth and development of callus were examined. The result showed that 100 % of shoot regeneration was obtained on MS medium supplement with 2.5 mg/l BAP and average of shoot number per callus was 1.66 shoots. The regenerated shoots were obtained within 30 days after culture callus in new medium.

Key words: Propagation, Seed germination, Chitosan, Plant growth regulators, *Melientha suavis*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของ อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา เอื้ออำนวยสถานที่ในการทดลอง ให้คำปรึกษาในการจัดหาวัสดุอุปกรณ์สำหรับทำงานวิจัย และให้คำแนะนำตั้งแต่เริ่มต้นการวิจัยตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี กรรมการที่ปรึกษาในการให้ความรู้ คำปรึกษาและข้อแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอน และให้วิชาความรู้ตลอดระยะเวลาในการศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณ กรมความร่วมมือระหว่างประเทศ ที่ได้ให้โอกาส ให้ทุนการศึกษาในครั้งนี้จนสำเร็จไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ญาติมิตรและเพื่อนพ้องทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจเสมอมา

Phonekeo Anousack

ตุลาคม 2560

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

สารบัญภาพผนวก

บทที่ 1
บทนำ

ผักหวานป่าเป็นพืชที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจสามารถสร้างรายได้ให้เกษตรกรปีละประมาณ 25 ล้านบาท (พนม, 2553) ผักหวานป่าถูกนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวางมากขึ้น เนื่องจาก ให้คุณค่าทางอาหารสูง (ณัฏฐากร และบัณฑิต, 2552) นอกจากการนำไปใช้เป็นอาหารแล้ว ยังสามารถผลิตเป็นชาพร้อมดื่ม ซึ่งชาผักหวานป่าสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาใบหม่อน และชาดอกคำฝอย ป้องกันหลอดเลือดหัวใจ ลดระดับคอเลสเตอรอล ลดการเกิดริ้วรอยแห่งวัย ช่วยเพิ่มพลังงานในเซลล์ (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2558)

การขยายพันธุ์ผักหวานป่าที่นิยมคือการเพาะเมล็ด แต่ปัญหาการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดคือทำได้ในฤดูเดียว และช่วงเวลาที่เมล็ดสุกแก่สั้น คือเฉพาะช่วงเมษายน-พฤษภาคม (ณัฏฐากร และบัณฑิต, 2552) นอกจากนี้เมล็ดยังมีการเสื่อมสภาพที่เร็ว ซึ่งหลังเก็บเมล็ดมาแล้วต้องทำการเพาะภายใน 7 วัน เมล็ดจึงจะคงมีความงอกที่สูง แต่หลังจากนั้นเมล็ดจะสูญเสียความงอกอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ นอกจากนี้เมล็ดผักหวานป่าที่เพาะจากเมล็ดยังมีการงอกยอดที่ช้าซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 เดือน จึงจะโผล่ยอดพ้นดินและพัฒนาเป็นต้นต่อไป เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงนำเทคนิคการเตรียมความพร้อมเมล็ดก่อนเพาะ โดยวิธีการกระตุ้นการงอกด้วยการแช่เมล็ดในสารละลายที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดมาใช้เพื่อส่งเสริมให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่สูงขึ้นและช่วยกระตุ้นให้มีการงอกยอดที่เร็วและสม่ำเสมอ

เนื่องจากการขยายพันธุ์ผักหวานป่าโดยการเพาะเมล็ดมีข้อจำกัดในเรื่องของช่วงเวลาการสุกแก่ของเมล็ด ทำให้ไม่สามารถผลิตต้นกล้าได้ต่อเนื่องและมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นจึงได้นำวิธีการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อมาใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นให้ได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็วและสามารถผลิตต้นกล้าได้ตามความต้องการ แต่อย่างไรก็ตามในการขยายพันธุ์ผักหวานโดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อยังคงมีปัญหาคือ มีการเจริญของยอดช้า ต้นฉ่ำน้ำไม่สมบูรณ์ เปอร์เซ็นต์การตายสูง และไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ (พินิจ และคณะ, 2539) ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาเทคนิควิธีการขยายพันธุ์ผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว และคาดว่าจะสามารถผลิตต้นกล้าได้ปริมาณที่มาก มีการเจริญของต้นที่ดีและแข็งแรง สามารถผลิตต้นกล้าได้ทุกช่วงเวลาตามความต้องการของเกษตรกร ซึ่งจะช่วยให้สามารถวางแผนการผลิตผักหวานป่าให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาดในอนาคตได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าผักหวานป่า
2. เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ต้นกล้าผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบวิธีการกระตุ้นการงอกของเมล็ดที่ให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงและมีการเจริญของต้นกล้าที่ดี
2. ทราบวิธีการเพื่อเพิ่มปริมาณต้นและรากที่เหมาะสมในสภาพปลอดเชื้อ
3. สามารถขยายต้นได้ในปริมาณที่มากรวดเร็วและผลิตได้ตลอดปี

ขอบเขตของการวิจัย

1. พัฒนาวิธีการกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้า
2. พัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณต้นโดยการชักนำให้เกิดยอดและรากในสภาพปลอดเชื้อ

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

ความสำคัญ

ผักหวานป่าเป็นพืชสมุนไพรที่จัดเป็นกลุ่มพืชผักพื้นบ้านที่มีการนิยมเพื่อการบริโภคมาก เป็นไม้ยืนต้นที่มีอายุยืนยาวนานเป็นร้อยๆ ปี ใช้ประโยชน์ในส่วนของใบอ่อน ยอดอ่อน และช่อผล สำหรับการบริโภค เพราะผักหวานป่ามีรสชาติที่ อร่อย หวาน มัน กรอบ ปลอดภัยจากสารพิษ สามารถนำไปประกอบอาหารได้เกือบทุกอย่าง และอุดมด้วยคุณค่าทางอาหารที่เป็นประโยชน์ ดังเช่น มีสารเบต้าแคโรทีน วิตามินซี และวิตามินบี 2 เป็นต้น นอกจากนั้นยังมี สรรพคุณทางสมุนไพรคือใช้ เป็นยาลดไข้ โดยการใช้รากมาต้มน้ำดื่ม (จำรัส, 2558)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ผักหวานป่า (*Melientha suavis* Pierre) จัดอยู่ในวงศ์ Opiliaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีความสูง 5-15 เมตร เนื้อไม้แข็ง เปลือกของลำต้นเมื่ออายุน้อยผิวเปลือกเรียบ สีเทาอมเขียว แต่เมื่ออายุมากขึ้นเปลือกจะแตกเป็นร่องรูปสี่เหลี่ยม สีเทาอ่อนอมน้ำตาล (ณัฏฐากร และบัณฑิต, 2552) แต่อย่างไรก็ตาม ผักหวานป่าที่พบโดยทั่วไปมักมีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก หรือเป็นไม้พุ่ม เนื่องจากมีการหักกิ่ง เด็ดยอด เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดอ่อนสำหรับใช้บริโภค (พนม, 2553)

ใบ เป็นใบเดี่ยว (Simple leaf) ออกเรียงสลับกัน ใบอ่อนรูปร่างแคบรี ปลายใบแหลม สีเขียวอมเหลืองและเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่ออายุมากขึ้น ใบแก่เต็มที่รูปรีกว้างถึงรูปไข่หรือไข่กลับและมีสีเขียวเข้ม เนื้อใบกรอบ ขอบใบเรียบ ปลายใบมน บางครั้งพบปลายใบแหลม มีขนาดกว้าง 2.5-5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 6-12 เซนติเมตร (ณัฏฐากร และบัณฑิต, 2552)

ดอก ผักหวานป่ามีการออกดอกเพศผู้และเพศเมีย แยกต้น (Dioecious) ลักษณะช่อดอกเป็นแบบช่อแยกแขนง (Panicle) คล้ายช่อดอกมะม่วงหรือลำไย ยาวประมาณ 7-12 เซนติเมตร ดอกเป็นดอกเดี่ยว หรือเป็นกลุ่ม มีประมาณ 3-5 ดอก ดอกเพศเมียออกเป็นช่อดอกจำนวนมากรวมกันเป็นกระจุกตามลำต้นและกิ่ง ดอกเพศผู้เป็นช่อเดี่ยว มี 2-3 ช่อในกระจุกเดียวกัน เกิดตามปลายกิ่งปะปนกับยอดอ่อนที่แตกใหม่มาพร้อมๆ กัน ช่อดอกใช้เป็นอาหาร เกษตรกรสามารถเก็บขายได้ในราคาเดียวกันกับยอดอ่อน ผักหวานป่าออกดอกประมาณเดือนธันวาคม- มีนาคม (ณัฏฐากร และบัณฑิต, 2552)

โครงสร้างของดอกเพศเมีย (Pistillate flower) ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง (Sepal) สีเขียว มีขนาดใหญ่จำนวน 5 กลีบขนาดเท่าๆ กันเรียงอยู่โดยรอบดอก ถัดไปเป็นกลีบดอก (Petal) มีขนาดเล็กมาก สีขาวถึงสีเหลืองอ่อน ชั้นในสุดเป็นเกสรเพศเมีย (Pistils) ประกอบด้วยรังไข่ (Ovary) ขนาดใหญ่ 1 อัน รังไข่เชื่อมติดกับก้านเกสรเพศเมีย (Ovary and Style fuse) ปลายยอดเกสรแยก (Stigma free) ยอดเกสรเพศเมีย (Stigma) มีสีเหลืองเป็นกระจุกอยู่บนรังไข่ รังไข่ตั้งอยู่เหนือวงกลีบ (Superior ovary) รังไข่ตั้งตรง (Orthotropous) ภายในมีไข่ใบเดียวติดอยู่บนฐานของรังไข่ (Basal placentation) (จำนรรจ์ และแก้วนภา, 2550)

โครงสร้างของดอกเพศผู้ (Staminate flower) ประกอบด้วย กลีบเลี้ยงสีเหลืองอมเขียวเรียงตัวกันอยู่ระหว่างกลีบดอก ถัดมาเป็นกลีบดอกสีเขียว กลีบดอกเรียงจรดกัน (valuate) ชั้นในสุดเป็นเกสรเพศผู้ (Androecium) ประกอบด้วยอับเรณู (Anther) 4 กลุ่ม ติดอยู่บนก้านชูเกสรเพศผู้ (Filament) ที่สั้นมาก โดยก้านเกสรติดอยู่ด้านหลังของเรณู (Dorsifix) 1 ก้านเกสรมี 1 กลุ่มเรณู (Monad) (จำนรรจ์ และแก้วนภา, 2550)

ผล ผักหวานป่าออกผลเป็นช่อตามลำต้นเหมือนผลของมะไฟ หรือลางสาด เป็นผลเดี่ยว (Simple fruit) แบบ Drup ภายในมีเมล็ดเดี่ยว ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองถึงเหลืองอมส้ม ผลมีขนาดประมาณ 1.5-2.5 เซนติเมตร ผลสุกแก่ประมาณเดือนเมษายน-พฤษภาคม (จำนรรจ์ และแก้วนภา, 2550)

การปลูกผักหวานป่า

ขั้นตอนการเตรียมดินและการเพาะเมล็ดผักหวานป่า

ถุงบรรจุสำหรับการเพาะเมล็ดควรเป็นถุง พลาสติกดำขนาด 4×4 นิ้ว ไม่เจาะรูระบายน้ำตรงก้นถุง เพื่อป้องกันรากแทงลงดิน วัสดุที่ใช้ในการเพาะควรเป็นทรายล้วนๆ ฝังเมล็ดเป็นแถวให้ลึกประมาณ 2 เซนติเมตร แปลงเพาะเมล็ดควรมีความชื้นพอประมาณ หลังจากทำการเพาะเมล็ดไปได้ 20-30 วัน รากของผักหวานป่าจะงอกออกมาจากเมล็ดก่อนแล้วจึงแตกใบอ่อนและใช้เวลาอย่างน้อย 75 วัน จึงจะได้ต้นสูง 5-10 เซนติเมตร การปลูกผักหวานป่าควรเตรียมหลุมปลูกในช่วงเดือนเมษายน - พฤษภาคม ขุดหลุมขนาด 30×30×30 เซนติเมตร หรือ 50×50×50 เซนติเมตร ควรปลูกในระยะ 1.5×1.5 เมตร หรือ 2-3×2-3 เมตรเพื่อสะดวกในการดูแล (หนึ่งฤทัย, 2551) ผักหวานป่าเป็นพืชที่สามารถปลูกเจริญเติบโตได้ดีและงอกงามเร็วในดินที่มีอินทรียวัตถุตามธรรมชาติ (ฮิวมัส) สูง การปลูกผักหวานป่าสามารถทำได้ 2 ลักษณะ คือ

1. การปลูกเป็นพืชแซมในสวน เนื่องจากผักหวานป่าชอบร่มเงาโดยให้ได้รับแสงประมาณ 50% จึงต้องอาศัยร่มเงาของต้นไม้อื่น เช่น ต้นมะขามเทศ ต้นชะอม สะเดา น้อยหน่า เป็นต้น เพื่อช่วยให้ต้นปรับตัวและมีการเจริญเติบโตดีในช่วงระยะแรกหลังย้ายปลูก

2. ปลูกในพื้นที่โล่งแจ้ง วิธีนี้เกษตรกรจะต้องทำร่มให้ในระยะแรกโดยปลูกไม้ทำร่มเงา เช่น ชะอม สะเดา ทองหลาง เพื่อให้ผักหวานป่าต้นเล็กๆ เจริญงอกงามในระยะแรกหลังย้ายปลูก

การดูแลรักษา

การให้น้ำหลังการปลูก

ควรให้น้ำในช่วงแรกๆ ทุกวันหรือวันเว้นวันโดยให้ดินมีความชื้น หลังจากผักหวานตั้งตัวได้ ควรให้น้ำสัปดาห์ละ 1-2 ครั้ง และหลังปลูก 2-3 ปี ต้นจะเจริญเติบโตและสามารถหาเลี้ยงตัวเองได้ แต่ต้องมีการให้น้ำทุก 7 วัน

การให้ปุ๋ย

การให้ปุ๋ยควรใส่ปุ๋ยคอก ซึ่งถ้าให้ดีควรเป็นมูลวัว หรือปุ๋ยชีวภาพ ควรให้ปีละ 2 ครั้ง โดยโรยรอบๆ ทรงพุ่ม

การกำจัดวัชพืช

ควรใช้วิธีการตัดหญ้ามากกว่าดายหญ้าเพราะการดายหญ้าจะทำให้ระบบรากระทบกระเทือน เศษวัชพืชที่ตัดออกควรนำมาคลุมดินบริเวณโคนต้น

การผลิตยอดอ่อน

โดยปกติผักหวานป่าจะมียอดอ่อนให้รับประทานจำนวนมากในช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม แต่เกษตรกรสามารถชักนำให้เกิดยอดเร็วขึ้นเพื่อเก็บยอดนอกฤดูกาลได้คือ ตั้งแต่เดือนธันวาคม- ต้นเดือนมีนาคม จะได้ราคาสูงถึงกิโลกรัมละ 200-300 บาท ช่วงเดือนมิถุนายน-สิงหาคม จะจำหน่ายได้ราคา 120-200 บาท/กิโลกรัม (อภิชาติ และพัชรี, ม.ป.ป) หนึ่งฤทัย (2551) ได้แนะนำเทคนิคการทำผักหวานป่านอกฤดู โดยการรูดใบออกจากต้นให้หมดและนำฟางหรือหญ้ามาคลุมโคนต้น ทำการรดน้ำให้ดินมีความชื้น จากนั้นผักหวานป่าจะแตกยอดออกมาใหม่หลังการรูดใบประมาณ 15 วัน ซึ่งการทำเช่นนี้จะสามารถเก็บยอดผักหวานได้ตลอดทั้งปี สำหรับการให้น้ำจะให้ระยะ 5-7 วัน ต่อครั้งในช่วงฤดูแล้ง ถ้าเป็นช่วงฤดูฝนจะดูสภาพอากาศและความชื้นของดิน

การขยายพันธุ์ผักหวานป่า

การขยายพันธุ์พืช หมายถึง กระบวนการที่เพิ่มปริมาณต้นให้มากขึ้น เพื่อเป็นการกระจายพันธุ์พืชหรือเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิต ทั้งนี้รวมถึงการผลิตต้นพันธุ์พืชพันธุ์ดีชนิดต่างๆ สำหรับปลูกเป็นการค้าด้วย การขยายพันธุ์ผักหวานป่าทำได้หลายวิธี เช่น การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด การตอนกิ่ง และการเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น

การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (Seed propagation)

การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดมีความสำคัญในด้านการปรับปรุงพันธุ์และเป็นการขยายพันธุ์พืชแบบอาศัยเพศโดยธรรมชาติที่สมบูรณ์ ได้ความหลากหลายทางพันธุกรรม การขยายพันธุ์พืชด้วยการใช้เมล็ด มีข้อดี คือ ทำได้ง่ายและได้ต้นในปริมาณมาก ต้นมีรากแก้ว ทนแล้งได้ดี อายุยืน ให้ผลลิตนาน แต่ในกรณีผักหวานป่ามีข้อจำกัด คือ เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำและเมล็ดมีการสูญเสียความงอกอย่างรวดเร็ว ซึ่งหลังเก็บเกี่ยวเมล็ดมาต้องรีบเพาะภายในสัปดาห์แรก เมล็ดจึงจะยังคงความมีชีวิตและความงอกที่สูง จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการศึกษาวิจัยกรรมวิธีการเพาะและปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดผักหวานป่า เพื่อทราบข้อมูลที่เหมาะสมในการงอกที่ดีของเมล็ดผักหวาน ดังนี้

จำลอง และปิยะวุฒิ (2537) รายงานว่าระยะการสุกแก่ของเมล็ดที่เหมาะสมในการเพาะ คือ เมื่อผลของผักหวานป่าเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจะเป็นระยะที่เมล็ดงอกได้เร็วและมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของต้นกล้าที่สูง การเตรียมเมล็ดก่อนเพาะโดยการแกะเอาเนื้อผลออกก่อนจะช่วยให้เมล็ดที่เพาะมีความงอกที่สูง 80% ขึ้นไป

ทวีศักดิ์ (2537) รายงานว่าวัสดุที่ใช้ในการเพาะเมล็ดผักหวานป่าควรใช้ทรายล้วนๆ เมื่อเพาะเมล็ดได้ 20 -30 วัน รากผักหวานป่าจะงอกออกมาจากเมล็ดก่อน และจะเริ่มเห็นใบอ่อนแตกออกมาแต่ต้องใช้เวลาอย่างน้อย 40 วันหลังเพาะ นอกจากนี้ประสิทธิ์ และฉันทนา (2539) ยังรายงานว่าการใช้ทรายอย่างเดียวเป็นวัสดุเพาะทำให้เมล็ดผักหวานมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงถึง 92%

จินตนา (2538) ศึกษาผลของวัสดุปลูก 3 ชนิดคือ ดินลูกรัง ทรายหยาบ และอินทรียวัตถุ(เศษซากพืช) ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักหวานป่า โดยผสมวัสดุทั้ง 3 ชนิด เข้าด้วยกันได้วัสดุปลูก 8 สูตร คือ ใช้ดินลูกรัง ทรายหยาบ และอินทรียวัตถุ อัตราส่วน 1:1:1, 1:1:2, 1:3:1, 1:3:2, 3:1:1, 3:1:2, 3:3:1 และ 3:3:2 โดยปริมาตร จากผลที่ได้พบว่าการใช้ดินลูกรัง ทรายหยาบและอินทรียวัตถุอัตราส่วน 1:1:1 โดยปริมาตร มีผลต่อความงอกของเมล็ดสูงสุด คือ 85% มีความสูงต้น จำนวนใบ และความยาวรากดีที่สุด

ยิ่งยง และวันชาติ (2537) ศึกษาผลของแสงและความลึกของการเพาะเมล็ด ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักหวานป่า ผลที่ได้พบว่าการเพาะปลูกในระดับความลึก 1 เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางเมล็ดและการเพาะเมล็ดภายใต้สภาพการพรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง 1 และ 2 ชั้น มีผลต่อการงอกที่สูง คือ 78-83 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการเพาะในที่กลางแจ้งซึ่งมีความงอกเพียง 21 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การพรางแสงยังช่วยให้ต้นกล้าผักหวานป่ามีการเจริญในด้านความสูงต้นที่ดี

การตอนกิ่งผักหวานป่า (Air layering)

การตอนกิ่งเป็นการขยายพันธุ์ของเกษตรกรที่ต้องการปลูกผักหวานป่าในเชิงพาณิชย์ซึ่งมีข้อดี คือ ต้นโตและให้ผลิตเร็ว คือใช้เวลาปลูกเพียง 2 ปีเท่านั้นก็สามารถที่จะเก็บยอดขายได้แล้ว ซึ่งเร็วกว่าการปลูกด้วยการเพาะเมล็ด ซึ่งจะต้องใช้เวลาในการปลูก 3-4 ปี จึงจะให้ผลผลิตได้ แต่ราคาต้นพันธุ์กิ่งตอนจะแพง ประมาณราคากิ่งตอนละ 200-300 บาท เมื่อเทียบกับราคาต้นพันธุ์จากการเพาะเมล็ดที่มีราคาประมาณ 15 บาท (สำเนียง และศักดิ์สิทธิ์, 2559)

การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue culture)

การขยายพันธุ์โดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อมีความสำคัญและเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชที่ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ต้นพันธุ์พืชที่ผลิตได้จะปลอดโรคและมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ คือ มีลักษณะตรงตามพันธุ์ถ้าใช้ชิ้นส่วนพืชที่พัฒนาเป็นต้นโดยตรง เช่น ตายอด ตาข้าง เป็นต้น แต่อาจมีลักษณะกลายจากต้นแม่ไปได้ถ้าต้นพืชที่ได้ถูกชักนำมาจากกลุ่มก้อนเซลล์ที่เรียกว่าแคลลัส (Callus) ซึ่งอาจเกิดจากการใช้สารควบคุมการเจริญในการชักนำให้เกิดกลุ่มก้อนเซลล์ปริมาณมากก่อนชักนำให้เกิดยอด ความสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์และการเจริญเติบโตของพืช เช่น ชนิดของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง รวมทั้งสภาพแวดล้อมที่ให้ในการเลี้ยง เช่น แสง อุณหภูมิ ปริมาณ ชนิดของธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต (จำนรรจ์ และแก้วตา, 2550)

การขยายพันธุ์ผักหวานป่าโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในปัจจุบันยังไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากมีปัญหาทั้งในด้านการเพิ่มปริมาณยอดและราก ดังงานวิจัยของ พินิจ และคณะ (2539) ศึกษาการเลี้ยงปลายยอดต้นอ่อน (Embryo) จากเมล็ดโดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-5 mg/l พบว่าต้นเจริญได้ดีในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0-2 mg/l หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน มีการแตกตาเล็กๆ แต่ยอดไม่ยืด และเมื่อเลี้ยงยอดเป็นเวลา 90 วัน ยอดมีการแตกตามากสุด 5 ตา ในขณะที่พบต้นตายมีลักษณะเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในอาหารที่เติม BA ความ

เข้มข้น 5 mg/l แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงยอดจากต้นเจริญเต็มที่ ในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/l มีการแตกยอดใหม่สูงสุด 5 ยอด แต่ยอดไม่ยืดและมีลักษณะยอดฉ่ำน้ำ

พรอนันต์ และสุทธพงษ์ (2551) ศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดและตาข้าง ในอาหารเพิ่มจำนวนยอด สูตร MS และ WPM ที่เติม BAP ในความเข้มข้น 0-4 mg/l พบว่า ต้นเจริญได้ดีในอาหารสูตร MS และ WPM ที่ไม่เติม BAP แต่ไม่มีการแตกยอดใหม่ ในระยะเวลาศึกษาผล 9 เดือนให้อัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อสูงสุด คือ 90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคืออาหารสูตร MS ไม่เติม BAP ให้อัตราการรอดชีวิต 75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบผักหวานป่าเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร WPM เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0-1 mg/l ภายในเวลา 1-2 สัปดาห์ สามารถเกิดแคลลัสได้ทุกสูตร น้ำหนักแคลลัสมากสุดในอาหารสูตร WPM เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.2 mg/l ลักษณะแคลลัสเกาะกันแน่นเป็นก้อนแข็งสีเขียว เขียวอมเหลือง ไปจนถึงสีเหลือง

พีระวุฒิ (2537) ศึกษาการพัฒนาเทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของผักหวานป่า ผลที่ได้พบว่า การตัดแยกชิ้นส่วนต้นอ่อนจากเมล็ดอ่อนและเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ BAP ความเข้มข้น 0-0.2 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทุกสัดส่วนความเข้มข้นที่เติม 2,4-D และ BAP แต่ยังไม่มีการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัส ส่วนการพัฒนาของรากในต้นอ่อน (embryo) จากการเพาะเมล็ดจะพบเฉพาะในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองชนิด

อรพิน (2557) ศึกษาเกี่ยวกับผลของ BA และ IBA ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการเกิดรากของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ส่วนยอดจากต้นอ่อนที่เพาะเมล็ดมาเลี้ยง ผลการวิจัยพบว่าหลังเลี้ยงยอดผักหวานป่าเป็นเวลา 90 วัน ในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 mg/l มีผลต่อจำนวนยอดมากที่สุดเฉลี่ย 5.40 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการให้ BA ความเข้มข้น 2-8 mg/l มีผลต่อการยืดของยอดไม่ดี คือมีลักษณะหน่ออวบอ้วนสั้น เมื่อเทียบกับยอดที่เลี้ยงในอาหารไม่เติมสารควบคุมการเจริญ จะมีลักษณะยอดแข็งแรงไม่อวบน้ำ แต่ไม่มีการแตกยอด ส่วนในกรณีการชักนำให้เกิดราก โดยเลี้ยงยอดที่สมบูรณ์ขนาด 1.5 เซนติเมตร ในอาหารที่เติม IBA ในทุกระดับความเข้มข้น (0-2 mg/l) ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากใหม่ได้

สารเร่งและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

ไคโตซาน (Chitosan)

สารไคโตซานเป็นโพลิเมอร์ชีวภาพที่พบได้ในส่วนที่เป็นผนังของเชื้อราเช่น *Fusarium soloni* หรือแมลง ซึ่งเป็นอนุพันธ์ไคติน ไคโตซานมีองค์ประกอบของไนโตรเจนซึ่งมีผลต่อการกระตุ้น

การเจริญเติบโตของพืช โดยมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช เช่น เร่งอัตราการเติบโต ช่วยลดเวลาการเพาะปลูกลงและทำให้ได้ผลิตเร็วกว่าปกติ สร้างความแข็งแรงของพืชในการต้านลมและทนต่อสภาวะภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงได้ดีขึ้น (นวลใจ และคณะ, 2555) ไคโตซานจะช่วยกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัว ได้แก่ ยีนที่สร้าง phenylalanine ammonialyase (PAL) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างสารประกอบฟีนอล เช่น ลิกนิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ และ phytoalexin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ มีผลต่อการกระตุ้นให้เซลล์พืชแข็งแรงและทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคและแมลงได้ดีขึ้นจากปกติที่ไม่มีการให้ไคโตซาน นอกจากนี้ไคโตซานยังช่วยส่งเสริมการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดินทำให้ลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช (วรรณิศา และพรไพรินทร์, 2559; ละอองศรี, 2558)

การให้ไคโตซานสามารถกระตุ้นการสร้างรงควัตถุได้ เนื่องมาจากไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โดยไนโตรเจนมีส่วนช่วยในการแบ่งเซลล์และเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้ยังช่วยให้ระบบรากแข็งแรง ส่งผลต่อการดูดซึมน้ำและอาหารของพืชทำให้พืชมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและส่งเสริมความแข็งแรงแก่พืช (นุชนาฎ, 2560) การแช่เมล็ดด้วยไคโตซานช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ดให้ดีขึ้น และเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ (Lipase activity) GA_3 และ IAA (Zhou et al., 2002, cited in Guan et al., 2009) มีรายงานผลวิจัยการนำไคโตซานมาใช้เพื่อกระตุ้นการงอกเมล็ด ดังเช่น

บัณฑิตา และคณะ (2550) ได้ศึกษาผลของสารละลายไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดแพงพวยลูกผสม พบว่าสารละลายไคโตซานส่งเสริมให้เมล็ดแพงพวยมีค่าดัชนีความเร็วในการงอกและความสูงของต้นกล้าดีกว่าเมล็ดที่ไม่ได้แช่สารละลายไคโตซาน และการแช่สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 20 และ 40 mg/l ส่งเสริมให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่สูง คือ 83.3 และ 86.7 % และมีความสูงของต้นกล้าเท่ากับ 6.82 และ 3.32 เซนติเมตร ตามลำดับ

จุฬารัตน์ และศศิธร (2552) ได้ศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตองโดยแช่เมล็ดในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8 และ 10 g/l ก่อนนำไปเพาะ พบว่าข้าวที่แช่ด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 8 g/l มีอัตราการงอกที่สูง คือ 94.6 % ส่วนความเข้มข้นที่มีผลทำให้ความยาวรากและลำต้นที่สูงคือ 10 g/l และ 2 g/l ตามลำดับ

บุญมี และคณะ (2556) ได้กระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พริกหวานด้วยสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.5 % และพบว่าเมล็ดพันธุ์มีการงอกและความเร็วในการงอกของที่ดี ต้นกล้ามีความแข็งแรงมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการกระตุ้นการงอกหลังการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์เป็นเวลา 10 วัน

Hameed et al. (2014) ได้นำสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.10, 0.25 และ 0.50 % มาใช้ในการกระตุ้นการงอกเมล็ดข้าวสาลีโดยการแช่เมล็ด พบว่าการงอกของเมล็ดข้าวสาลี ที่แช่สารละลายไคโตซานทุกความเข้มข้นมีผลต่อคุณภาพต้นกล้าที่ดี คือ มีค่าดัชนีความเร็วในการงอก เปอร์เซ็นต์การงอก และความแข็งแรงของต้นกล้าที่สูง เมล็ดงอกเร็ว รวมทั้งมีผลต่อความยาวยอดและรากเพิ่มขึ้นอย่างแตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้กระตุ้นด้วยสารละลายไคโตซาน

อินทร์ธัชว์ และคณะ (2558) ได้นำไคโตซานมาผสมกับดินปลูกต้นกล้ามะเขือเทศในถาดหลุมเพาะ พบว่า ปริมาณการใช้ไคโตซานชนิดผงที่มีความเข้มข้น 1 % มีผลต่อความสูงของต้นกล้า ที่ 2, 3

และ 4 สัปดาห์ เท่ากับ 6.71, 11.65, 21.10 เซนติเมตร ตามลำดับ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งดีกว่าใช้สารไคโตซานในความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 %

ไซโตไคนิน (Cytokinins)

ไซโตไคนินเป็นฮอร์โมนพืชที่พบครั้งแรกในน้ำมะพร้าว โดยนำมาใช้กระตุ้นการแบ่งเซลล์พืช และต่อมาถูกค้นพบว่าเป็นสาร 6-furfuryladenine มีสูตรโครงสร้างแบบพูริน (Purine) จากคุณสมบัติที่สามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์ได้จึงเรียกสารนี้ว่า ไคเนติน (Kinetin) หลังจากนั้นก็มีผู้พบสารที่มีสูตรโครงสร้างและคุณสมบัติคล้ายกับไคเนตินอีกหลายชนิด จึงรวมเรียกสารเหล่านี้ว่า "ไซโตไคนิน" สารไซโตไคนินที่พบในพืชอีกตัว ได้แก่ ซีเอติน (Zeatin) พบครั้งแรกในเมล็ดข้าวโพดอ่อน นอกจากนี้ยังพบว่า ซีเอตินและอนุพันธ์พบมากในน้ำมะพร้าวอ่อน แหล่งสร้างไซโตไคนินในพืชพบอยู่ที่ปลายราก ปมราก และพบทั่วไปในต้นพืช เป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก นอกจากนี้ยังพบในรูปสารอิสระในส่วนของเอมบริโอ (Embryo) และผลที่กำลังเจริญเติบโต (พัชรา, 2555) สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนินที่สังเคราะห์และนิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ 6-benzyladenin (BA) และ 6-benzylaminopurine (BAP)

สารกลุ่มไซโตไคนินได้ถูกนำมาใช้ผสมในสูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อช่วยในการแบ่งเซลล์ ทำให้มีการเจริญเติบโตของแคลลัส ช่วยกระตุ้นแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้น และสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ มีงานวิจัยที่กล่าวถึงกลไกการทำงานไซโตไคนินว่ามีแนวโน้มความสัมพันธ์กับกรดนิวคลีอิค อย่างไรก็ตามกลไกการทำงานของไซโตไคนินยังไม่เด่นชัด แต่พบว่าไซโตไคนินมีผลให้เกิดการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนมากขึ้นในเซลล์พืช โดยพบว่าหลังจากให้ไซโตไคนินกับเซลล์พืชแล้วจะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณของ m-RNA, t-RNA และ r-RNA (นพดล, 2537)

จันทร์วิภา และคณะ (2558) ศึกษาผลของ BAP, kinetin และ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของใบไม้สีทอง (*Bauhinia aureifolia* K.) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การเลี้ยงตายอด บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1 mg/l ให้จำนวนยอดสูงสุด 4.8 ยอดต่อชิ้นส่วน และให้จำนวนข้อ 3.8 ข้อต่อชิ้นส่วน และในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความ เข้มข้น 2 mg/l ให้จำนวนยอด สูงสุด 3.5 ยอดต่อชิ้นส่วน และให้จำนวนข้อสูงสุด 3.4 ข้อต่อชิ้นส่วน

วันเพ็ญ (2551) ได้ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ของหญ้าแพงโกล่าในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 mg/l เวลา 60 วัน ให้จำนวน 19.9 ยอด และการให้ kinetin ในความเข้มข้น 3 mg/l เวลา 60 วัน ให้จำนวนยอดสูงสุด 4.1 ยอด

ออกซิน (Auxins)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่อยู่ในกลุ่มออกซินได้แก่ Indole-3-butyric acid (IBA), Naphthalene acetic acid (NAA) , 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) , 4-chlorophenoxy acetic acid (4-CPA), 3-amino-2,5-dichlorobenzoic acid (chloramben), 2-methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid (dicamba) และ 4-chloro-2-methylphenoxy acetic acid (MCPA) (กนกวรรณ, 2554)

ออกซินมีคุณสมบัติทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์ (Cell enlargement) ที่มีผลต่อการเจริญของอวัยวะอื่น เช่น ทำให้เกิดการขยายตัวของใบ นอกนั้นยังทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ได้ในบางกรณี เช่น กระตุ้นการแบ่งเซลล์ของแคมเบียม กระตุ้นให้เกิดรากในต้นที่ปักชำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำสารกลุ่มออกซิน มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อกระตุ้นให้เกิดกลุ่มเซลล์หรือ แคลลัส (Callus) และเกิดรากของชิ้นส่วนพืชอีกด้วย

สารที่นิยมใช้ในการเร่งราก คือ NAA และ IBA ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดนี้จัดว่าเป็นออกซินอย่างอ่อน มีพิษต่อพืชน้อย รากที่เกิดขึ้นจากการใช้สาร 2 ชนิดนี้จึงมักไม่มีอาการผิดปกติ แต่ในกรณีที่ใช้ NAA และ IBA ในอัตราที่สูงจะเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำให้รากผิดรูปร่างไปได้ ดังนั้นในการนำสารกลุ่มออกซิน มาใช้จึงต้องใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสม และนอกจากนี้การจะประสบความสำเร็จ ในด้านการชักนำแคลลัส หรือการกระตุ้นให้เกิดรากของพืชยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องอีก ได้แก่ ชนิดพืชที่ตอบสนองต่อสารแต่ละชนิด และความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตามตัวอย่างงานวิจัยดังนี้

San José et al. (2012) ศึกษาผลของ Indole-3-Butyric Acid (IBA) ต่อการเกิดรากใน *glutinosa* โดยใช้อาหารสูตร MS ที่เติม IBA ในความเข้มข้น 0 และ 0.1 mg/l เป็นเวลา 7 วัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IBA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 70 % การเกิดยอด 47 % ความยาวราก 29 มิลลิเมตร ความยาวยอด 23 มิลลิเมตร

Thakur and Kanwar (2008) ศึกษาการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของสาลี่ *(Pyrus pyrifolia)* และทำการชักนำให้เกิดรากโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25 , 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/l ร่วมกับ IBA ในระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2 mg/l ผลการชักนำให้เกิดราก พบว่า NAA ความเข้มข้น 0.125 และ 0.25 mg/l และการให้ IBA ความเข้มข้น 0.5-2.0 mg/l สามารถกระตุ้นการเกิดของรากดี นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ NAA ร่วมกับ IBA ในความเข้มข้น 0.125 และ 0.25 mg/l สามารถกระตุ้นให้สาลี่มีการเกิดรากสูงถึง 81 %

Ansar et al. (2009) ศึกษาความเข้มข้นของออกซิน IBA และ NAA ต่อการเกิดรากของ Olive (*Olea europaea* L.) cv. 'Moraiolo' พบว่าการให้ IBA ความเข้มข้น 1.5 mg/l มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก 86.67 % จำนวนรากเฉลี่ย 5.03 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 4.95 เซนติเมตร

Rehman et al. (2014) ศึกษาการขยายพันธุ์สาลี่ (*Pyrus pyrifolia*) โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร ½ MS, MS และ WPM ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA โดยใช้ความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 2.0 mg/l พบว่า สูตรอาหาร ½ MS ที่เติม IBA ในความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 mg/l มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูง มีจำนวนรากเฉลี่ย 1.98-2.60 ราก และความยาวรากเฉลี่ย 19.60-23.30 มิลลิเมตร นอกนั้นยังพบว่าสูตรอาหาร ½ MS ที่เติม NAA ในความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูง มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.98-3.26 ราก และความยาวรากเฉลี่ย14.30-18.97 มิลลิเมตร

นาตยา และคณะ (2557) ศึกษาผลของออกซิน ได้แก่ 2,4-D, IAA, IBA ที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/l ต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นกล้าหนอนตายหยาก ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า เมล็ดหนอนตายหยากมีการตอบสนองต่อออกซินทุกชนิด โดยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีผลต่อการพัฒนาของเมล็ดที่นำมาเพาะเลี้ยงได้แตกต่างกันไป เช่น การพัฒนาไปเป็นยอด ราก และแคลลัส การเติม IBA มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ดี และต้นกล้าที่เจริญในอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.4 mg/l มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 4.0 ราก

ผลของสารกลุ่มไซโตไคนินและออกซินต่อการเปลี่ยนแปลงและการเจริญของเนื้อเยื่อพืช

Wang et al. (2002) ศึกษาการขยายพันธุ์กุหลาบ พบว่า การเพิ่มปริมาณยอดกุหลาบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ในความเข้มข้น 2 mg/l ร่วมกับ NAA ในความเข้มข้น 0.05 mg/l สามารถขยายปริมาณต้นได้ดีประมาณ 4-6 เท่าของยอดที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญในระยะเวลาการขยายต้น ทุก 45 วัน

อนุพันธ์ และพันธิตรา (2549) ได้ศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อกระเจียวขาวที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นในสภาพปลอดเชื้อในอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BAP, Kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 mg/l เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 mg/l สามารถเกิดยอดได้ 2.7 ยอด ในการชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงในอาหารที่เติมสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA, IAA และ IBA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 mg/l พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 mg/l กระตุ้นให้กระเจียวขาวเกิดราก 8.06 ราก ในกรณีการศึกษาผลของสารกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BAP ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0 และ 5.0 mg/l ร่วมกับสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0

และ 2.0 mg/l ในอาหารสูตร MS พบว่า ไม่มีความแตกต่างในการใช้สารทั้งสองกลุ่มร่วมกัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการเลี้ยงกระเจียวขาวในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5.0 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด 2.88 ยอด ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 8.33 ราก

พันธิตรา และคณะ (2555) ศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อขมิ้นขาวในอาหารสูตร MS ที่เติม BA, Kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0 และ 5.0 mg/l เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 5.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 2.7 ยอด และจำนวนราก 7.3 ราก และการเลี้ยงยอดในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 mg/l พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากสุด 3.6 ยอด ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากมากสุด 8.2 ราก

สุรีย์รัตน์ (2534) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอ่อนของสะเดา โดยแยกเลี้ยงส่วนปลายยอด ข้อและตาข้างของต้นอ่อนสะเดา บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ในความเข้มข้น 0, 0.5, 5, 10 และ 50 μM พบว่า สูตร MS ที่เติม BAP ในความเข้มข้น 50 μM กระตุ้นให้สร้างยอด และในอาหารที่เติม BAP ในความเข้มข้น 10 μM ร่วมกับ NAA ในความเข้มข้น 0.5 μM สามารถชักนำให้เกิดรากที่มีลักษณะดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ IBA

สารจิบเบอเรลลิน (Gibberellins)

จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) เป็นกลุ่มของฮอร์โมนพืชที่มีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่พบในเชื้อราบางชนิด สาหร่าย เฟิร์นและพืชชั้นสูงทุกชนิด จิบเบอเรลลินมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชมากมาย เช่น การส่งเสริมการยืดตัวของลำต้น กระตุ้นการงอกของเมล็ด การพัฒนาของผลและเมล็ด จิบเบอเรลลิน ถูกสร้างขึ้นในส่วนของพืชแตกต่างกัน ได้แก่ ในเมล็ดขณะกำลังพัฒนา ในเอ็มบริโอขณะกำลังงอก เนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอด และยังพบในผลที่กำลังพัฒนา (กนกวรรณ, 2555)

จิบเบอเรลลินมีผลต่อการงอกของเมล็ด คือ กระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และการยืดขยายของเซลพืช ทำให้รากแรกเกิด (Radicle) สามารถดันทะลุเอนโดสเปิร์ม เปลือกหุ้มเมล็ด (Seed coat) หรือเยื่อหุ้มผล (Fruit coat) ได้ นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ เช่น amylase เพื่อย่อยสารอาหารโมเลกุลใหญ่พวกแป้งที่อยู่ในส่วนสะสมอาหารของเมล็ด ไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า (นพดล, 2537) มีรายงานการใช้ GA_3 เพื่อกระตุ้นการงอกเมล็ดพืชต่างๆ ดังเช่น

Bachelard (1968) ศึกษาการกระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วยการแช่เมล็ด Eucalypt 2 ชนิด คือ *Eucalyptus regnan* และ *Eucalyptus pauciflora* ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 50 mg/l ช่วยให้มีการยืดยาวของยอด Eucalypt ทั้ง 2 ชนิด เพิ่มขึ้นมากกว่าเมล็ดที่ไม่แช่สารละลาย GA_3

Anderson et al. (2009) รายงานว่าการแช่เมล็ด Penstemon ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l มีผลต่อการงอกของเมล็ดที่เร็ว และความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นเป็น 1,000 mg/l มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่สูงและเมล็ดงอกเร็ว แต่การให้ความเข้มข้นที่สูง 1,500 mg/l จะมีผลทำให้ความงอกลดลง

เทียนนุช และคณะ (2559) ได้ศึกษาผลของ GA_3 ต่อการงอกของเมล็ดกีวีฟรุต และพบว่าเมล็ดกีวีพันธุ์ Hayward ที่แช่ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l นาน 30 นาที มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกที่สูง ส่วนเมล็ดกีวีพันธุ์ Hort 16A ที่แช่ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 1,500 mg/l นาน 30 และ 60 นาที มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด

พรทิพย์ และคณะ (2558) ได้ศึกษาผลของ GA_3 ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าสวีทเมล่อนและแตงไทยในสภาพเค็ม ผลที่ได้พบว่าเมล็ดที่แช่ด้วยสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 100 และ 200 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอกมากกว่าเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่น

ผลของสารไซโตไคนินและจิบเบอเรลลินต่อการเปลี่ยนแปลงและการเจริญของเนื้อเยื่อพืช

Reza et al. (2014) ศึกษาอิทธิพลของไซโตไคนินร่วมกับ GA_3 เพื่อเพิ่มปริมาณยอดชาและการยืดตัวของชาโคลนอิหร่าน 100 โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผลที่ได้พบว่า การให้ BAP ความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.5 mg/l มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุดเฉลี่ย 7.3 ยอด และมีการยืดของยอดที่ดีกว่าความเข้มข้นอื่นๆ

Pawłowska (2011) รายงานว่าการเลี้ยงยอดกุหลาบในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 μM ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 1.5 μM ช่วยเพิ่มปริมาณยอดกุหลาบ *Rosa canina* และ *R. rubiginosa* ได้ประมาณ 4.1 ยอด ในช่วง 5 สัปดาห์ แต่มีผลต่อการแตกยอดที่ต่ำใน *R. agrestis* และ *R. dumails* คือมีจำนวนยอด 1.9-2.9 ยอด ดังนั้นแสดงว่า การตอบสนองของพืชต่อสารควบคุมการเจริญขึ้นกับพันธุ์พืชด้วย

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส (Callus induction) และการเกิดยอด (Shoot regeneration)

ดนุพงศ์ และคณะ (2557) ศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆของต้นอ่อนยางพาราในสภาพปลอดเชื้อพบว่าชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสได้ดีในสภาพที่มีแสงคือ ลำต้นอ่อนเหนือใบเลี้ยง โดยเลี้ยงการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 mg/l ซึ่งพบว่ามีการเกิดของ

แคลลัส 87.50 % และชิ้นส่วนเที่เกิดแคลลัสได้ดีในสภาพที่ไม่มีแสง คือ เมล็ดอ่อน ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 7 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 %

มนฑล และคณะ (2557) ศึกษาผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในมะรุม ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 และ 4.0 mg/l พบว่า มะรุมที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ TDZ 0.5 mg/l มีอัตราการเกิดแคลลัส 100 % มีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 5.35 กรัม แคลลัสมีสีขาวและเกาะกันอย่างหลวมๆ

ยงศักดิ์ และอัญชลี (2558) ศึกษาผลของ 2,4-D และ kinetin เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.1-0.5 mg/l พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/l ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.1-0.5 mg/l เกิดแคลลัสได้ดี แคลลัสที่ได้มีทั้งลักษณะหลวมอวบน้ำและลักษณะรวมเป็นกลุ่มก้อนจับตัวกันแน่น

Sirigiri et al. (2014) ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ ของ *Canthium parviflorum* Lamk ในอาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน คือ การให้ 2,4-D ร่วมกับ NAA, IBA, BA และ Kinetin ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ให้ BA ในความเข้มข้น 2 mg/l แคลลัสเป็นก้อนหลวมสีเขียวครีม และ ในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/l แคลลัสเป็นก้อนหลวมสีครีม และการเลี้ยงชิ้นส่วนใบในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 mg/l ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/l มีผลต่อการเกิดแคลลัสเป็นก้อนแน่นสีเขียว

ปิยะพร และนุชมะณี (2547) ศึกษาอิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัสของผักชีช้าง (*Asparagus racemosus*) พบว่า เนื้อเยื่อใบอ่อนและข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l และในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 90 % และ 80 % ตามลำดับ ส่วนการกระตุ้นแคลลัสให้เกิดยอด พบว่า การเติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l มีเปอร์เซ็นต์ การเกิดยอด 100 % แต่ในทุกสูตรอาหารพบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาการกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าผักหวานป่าในสภาพโรงเรือน

วัสดุและอุปกรณ์

1. เมล็ดผักหวานที่สุกแก่เต็มที่ (เปลือกผลสีเหลือง)
2. กระถางขนาด 8 นิ้ว
3. ทราย
4. สารเคมีกระตุ้นการงอกเมล็ด ได้แก่ GA_3 และ Chitosan

วิธีการดำเนินการวิจัย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยนำเมล็ดระยะสุกแก่ คือ ลักษณะเปลือกผลเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแล้ว มาทำการล้างเนื้อผลออกด้วยน้ำสะอาดและผึ่งเมล็ดให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นนำเมล็ดมาทำการทดลองกระตุ้นการงอกด้วยการแช่เมล็ดในสารละลายไคโตซาน ความเข้มข้น 20, 40 และ 80 mg/l การแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 mg/l เปรียบเทียบกับการแช่เมล็ดในน้ำ และการไม่แช่เมล็ด รวมเป็น 8 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 8 ซ้ำๆ ละ 10 เมล็ด ระยะเวลาในการแช่เมล็ด 12 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาเพาะในกระถางโดยใช้ทรายเป็นวัสดุเพาะโดยฝังกลบเมล็ดให้ลึก 2 เซนติเมตร

สิ่งทดลองที่ 1: เมล็ดแห้ง

สิ่งทดลองที่ 2: แช่เมล็ดด้วยน้ำ

สิ่งทดลองที่ 3: แช่เมล็ดด้วยสารละลาย ไคโตซาน ความเข้มข้น 20 mg/l

สิ่งทดลองที่ 4: แช่เมล็ดด้วยสารละลาย ไคโตซาน ความเข้มข้น 40 mg/l

สิ่งทดลองที่ 5: แช่เมล็ดด้วยสารละลาย ไคโตซาน ความเข้มข้น 80 mg/l

สิ่งทดลองที่ 6: แช่เมล็ดด้วยสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 250 mg/l

สิ่งทดลองที่ 7: แช่เมล็ดด้วยสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l

สิ่งทดลองที่ 8: แช่เมล็ดด้วยสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์การงอกรากของเมล็ดที่ 7-21 วันหลังเพาะ โดยคำนวณจาก (จำนวนเมล็ดที่งอกราก × 100)/จำนวนเมล็ดทั้งหมดที่เพาะ
2. ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด (Speeds of Germination Index; SGI) ที่ 7-21 วันหลังเพาะ โดยคำนวณจากผลรวมของ (จำนวนเมล็ดที่งอกรากในแต่ละวันที่ตรวจนับ/วันที่ตรวจนับหลังเพาะ)
3. เปอร์เซ็นต์การงอกยอดที่ 30-60 วันหลังเพาะ โดยคำนวณจาก (จำนวนเมล็ดที่งอกยอด × 100)/จำนวนเมล็ดทั้งหมดที่เพาะ
4. การเจริญเติบโตของต้นกล้า ได้แก่ การวัดความยาวรากที่ 7-21 วันหลังเพาะ และการวัดความยาวยอดที่ 30-60 วันหลังเพาะ

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis System) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ

วัสดุและอุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนพืชที่ใช้เพื่อศึกษาได้แก่ ต้นอ่อนจากเมล็ดในระยะสุกแก่

2. อุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่ เครื่องชั่ง เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) แท่งแก้วคนสารละลาย บีกเกอร์ (beaker) และ ไปเปท (pipette)

3. อุปกรณ์สำหรับปฏิบัติงานในสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar flow) จานแก้ว (Petridish) มีดผ่าตัด ปากคีบ (forceps) และ ตะเกียงแอลกอฮอล์

4. สารเคมีต่างๆได้แก่

4.1 สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite)

4.2 สารเคมีสำหรับปรับค่าความเป็นกรด-เป็นด่าง (pH) ได้แก่ HCl และ NaOH ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

4.3 สารเคมีที่ชักนำให้เพิ่มปริมาณและการพัฒนาของยอด ได้แก่ BA และ GA_3

4.4 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ สูตรอาหาร MS หรือ Murashige and skoog (1962) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหาร MS หรือ Murashige and skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (mg/l)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4.H_2O$	6.9
$ZnSO_4.H_2O$	6.14
KI	0.83
$Na_2MoO.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Na_2EDTA	37.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Myo-inositol	100
Sucrose	30,000

วิธีการดำเนินการวิจัย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 2 ปัจจัย (Factorial in CRD) ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 คือ การให้สาร BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1 และ 2 mg/l และปัจจัยที่ 2 คือ การให้สาร GA_3 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2 mg/l รวมเป็น 12 สิ่งทดลอง (Treatments) ในแต่ละสิ่งทดลองมีจำนวน 10 ซ้ำ (ยอด)

ทำการทดลอง โดยการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดผักหวานป่า ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้น 10 % (v/v) เป็นเวลา 15 นาที และความเข้มข้น 5 % (v/v) เป็นเวลา 10 นาที ล้าง

เมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง เลี้ยงต้นอ่อนลงอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญ จนกระทั่งยอดมีการเจริญเติบโตปกติในระยะเวลา 30 วัน หลังจากนั้นตัดยอดที่มีขนาดความยาว 1 เซนติเมตร มาเลี้ยงในอาหารแต่ละสิ่งทดลองเพื่อศึกษาการเจริญของยอด ดังนี้

สิ่งทดลอง 1: MS + 0 mg/l BA+0 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 2: MS + 1 mg/l BA+0 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 3: MS + 2 mg/l BA+0 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 4: MS + 0 mg/l BA+0.5 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 5: MS + 1 mg/l BA+0.5 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 6: MS + 2 mg/l BA+0.5 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 7: MS + 0 mg/l BA+1 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 8: MS + 1 mg/l BA+1 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 9: MS + 2 mg/l BA+1 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 10: MS + 0 mg/l BA+2 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 11: MS + 1 mg/l BA+2 mg/l GA_3

สิ่งทดลอง 12: MS + 2 mg/l BA+2 mg/l GA_3

การบันทึกข้อมูล

1. จำนวนยอด
2. ความยาวยอด

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis System) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 3 ศึกษาวิธีการชักนำให้เกิดกลุ่มเซลล์ หรือ แคลลัส (Callus) และการเกิดยอดของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ

วัสดุและอุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนพืชที่ใช้เพื่อศึกษาได้แก่ ต้นอ่อนจากเมล็ด

2. อุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่ เครื่องชั่ง เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) แท่งแก้วคนสารละลาย บีกเกอร์ (beaker) และ ไปเปท (pipette)

3. อุปกรณ์สำหรับปฏิบัติงานในสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar flow) จานแก้ว (Petridish) มีดผ่าตัด ปากคีบปลายแหลม (forceps) และ ตะเกียงแอลกอฮอล์

4. สารเคมีต่างๆได้แก่

4.1 สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite)

4.2 สารเคมีสำหรับปรับค่าความเป็นกรด-เป็นด่าง (pH) ได้แก่ HCl และ NaOH ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

4.3 สารเคมีที่ชักนำให้เกิดแคลลัส (Callus) และยอด ได้แก่ BAP และ NAA

วิธีการดำเนินงานวิจัย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 2 ปัจจัย (Factorial in CRD) ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 คือ การให้สาร BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 2.5 และ 3 mg/l และปัจจัยที่ 2 คือ การให้สาร NAA ในระดับความเข้มข้น 0 และ 0.5 mg/l รวมเป็น 10 สิ่งทดลอง (Treatments) แต่ละสิ่งทดลองมีจำนวน 6 ซ้ำ

ทำการทดลอง โดยนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาตัดส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงตามขวางเป็นชิ้นส่วนขนาดความหนา 1 มิลลิเมตร จากนั้นวางบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส ดังนี้

สิ่งทดลอง 1: MS + 0 mg/l BAP+ 0 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 2: MS + 1 mg/l BAP + 0 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 3: MS + 2 mg/l BAP + 0 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 4: MS + 2.5 mg/l BAP + 0 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 5: MS + 3 mg/ BAP + 0 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 6: MS + 0 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 7: MS + 1 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 8: MS + 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 9: MS + 2.5 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA

สิ่งทดลอง 10: MS + 3 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อพื้นที่ของชิ้นส่วน
2. เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดอ่อน โดยคำนวณจาก
   (จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด × 100)/จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่เลี้ยง
3. ลักษณะของแคลล้ส

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis System) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาการกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าผักหวานป่าในสภาพโรงเรือน

การศึกษาการกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าผักหวานป่าในสภาพโรงเรือน โดยการแช่เมล็ดนาน 12 ชั่วโมง ในสารละลาย ไคโตซาน และ GA_3 ทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ การแช่เมล็ดด้วยน้ำ และการไม่แช่เมล็ด (เมล็ดแห้ง) จากนั้นทำการปลูกในทรายโดยการฝังกลบเมล็ดลึก 2 เซนติเมตร ได้ผลการทดลองดังนี้

เปอร์เซ็นต์การงอกรากของเมล็ด

จากผลการทดลอง พบว่าในทุกสิ่งทดลองเมล็ดเริ่มงอกรากที่ 7 วันหลังเพาะ และค่าเปอร์เซ็นต์การงอกรากของเมล็ดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นการงอกเมล็ดด้วยการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l และ ไคโตซานความเข้มข้น 20 และ 40 mg/l ช่วยกระตุ้นให้เมล็ดมีการงอกรากที่สูง คือ 90-92.5 % ในขณะเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการกระตุ้นการงอกมีเปอร์เซ็นต์การงอกรากต่ำสุด คือ 80% ที่ 21 วันหลังเพาะ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การงอกรากของเมล็ดผักหวานป่าที่ 7-21 วันหลังเพาะ

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การงอกรากของเมล็ด		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1. ไม่แช่เมล็ด	71.25	80.00	80.00
2. แช่เมล็ดในน้ำ	76.25	86.25	87.50
3. แช่เมล็ดด้วย ไคโตซาน ความเข้มข้น 20 mg/l	86.25	92.50	92.50
4. แช่เมล็ดด้วย ไคโตซาน ความเข้มข้น 40 mg/l	82.50	91.25	92.50
5. แช่เมล็ดด้วย ไคโตซาน ความเข้มข้น 80 mg/l	77.50	85.00	87.50
6. แช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 mg/l	76.25	86.25	86.25
7. แช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l	86.25	87.50	87.50
8. แช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l	82.50	90.00	90.00
ค่าเฉลี่ย	79.84	87.34	87.97
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	ns	ns
CV.(%)	15.77	15.36	15.32

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด (Speeds of Germination Index; SGI)

ผลของไคโตซาน และ GA_3 ต่อค่าดัชนีความเร็วในการงอกพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือ การแช่เมล็ดด้วยสารละลายไคโตซาน 20 และ 40 mg/l ให้ค่าดัชนีการงอกที่สูง คือ 1.86 และ 1.81 ตามลำดับ และการแช่เมล็ดด้วยสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 และ 1000 mg/l ให้ค่าดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดที่สูง คือ 1.85 และ 1.83 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการแช่เมล็ดด้วยไคโตซาน 20 - 40 mg/l และ การแช่เมล็ดด้วย GA_3 500 - 1,000 mg/l มีผลต่อการงอกรากที่เร็วและแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม ทั้งการแช่เมล็ดด้วยน้ำและไม่แช่เมล็ด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด (Speeds of Germination Index; SGI) ผักหวานป่า

สิ่งทดลอง	ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด
1. ไม่แช่เมล็ด	1.52^{c}
2. แช่เมล็ดด้วยน้ำ	1.70^{b}
3. แช่เมล็ดด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 20 mg/l	1.86^{a}
4. แช่เมล็ดด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 40 mg/l	1.81^{a}
5. แช่เมล็ดด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 80 mg/l	1.70^{b}
6. แช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 mg/l	1.68^{b}
7. แช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l	1.85^{a}
8. แช่เมล็ดด้วย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l	1.83^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	**
CV.(%)	14.54

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %
ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ความยาวราก

ผลของความยาวรากที่ 7-21 วันหลังเพาะ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสิ่งทดลอง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการกระตุ้นการงอกด้วยการแช่เมล็ดในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 40 mg/l ช่วยกระตุ้นให้เมล็ดมีความยาวรากสูงสุด คือ 8.75 เซนติเมตร ในขณะที่เมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการกระตุ้นการงอกมีความยาวรากต่ำสุด คือ 6.54 เซนติเมตร ที่ 21 วันหลังเพาะ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ความยาวรากผักหวานป่าที่ 7-21 วันหลังเพาะ

สิ่งทดลอง	ความยาวราก (เซนติเมตร)		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1. ไม่แช่เมล็ด	1.40	4.27	6.54
2. แช่เมล็ดด้วยน้ำ	1.61	5.03	7.90
3. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 20 mg/l	1.64	5.09	8.46
4. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 40 mg/l	1.53	5.14	8.75
5. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 80 mg/l	1.47	4.58	7.98
6. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 mg/l	1.51	4.86	7.47
7. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l	1.81	5.30	8.50
8. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l	1.59	5.15	8.19
ค่าเฉลี่ย	1.57	4.93	7.97
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	ns	ns
CV.(%)	23.21	18.97	19.16

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เปอร์เซ็นต์การงอกยอด

เมล็ดเริ่มงอกยอดที่ 30 วันหลังเพาะ และค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดตั้งแต่ 30-60 วันหลังเพาะ มีความแตกต่างกันทางสถิติ การกระตุ้นการงอกด้วยการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 mg/l ให้ผลเปอร์เซ็นต์การงอกยอดที่สูงสุด คือ 88.75 % และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับสิ่งทดลองอื่นๆ ยกเว้นที่แช่เมล็ดใน GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การงอกยอดผักหวานป่าที่ 30-60 วันหลังเพาะ

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การงอกยอด			
	30 วัน	37 วัน	44 วัน	60 วัน
1. ไม่แช่เมล็ด	20.00^{bc}	28.75^{c}	36.25^{cd}	60.00^{c}
2. แช่เมล็ดด้วยน้ำ	25.00^{bc}	37.50^{bc}	43.75^{bc}	68.75^{bc}
3. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 20 mg/l	25.00^{bc}	35.00^{bc}	47.50^{bcd}	65.00^{bc}
4. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 40 mg/l	13.75^{c}	26.25^{c}	31.25^{d}	63.75^{bc}
5. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 80 mg/l	31.26^{b}	38.75^{bc}	51.25^{bc}	65.00^{bc}
6. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 mg/l	28.75^{b}	46.25^{b}	47.50^{bcd}	60.00^{c}
7. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l	53.75^{a}	63.75^{a}	65.00^{ab}	78.75^{ab}
8. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l	52.50^{a}	63.75^{a}	72.50^{a}	88.75^{a}
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	**	**	**	**
CV.(%)	41.16	37.03	36.51	25.52

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ความยาวยอด

ผลของความยาวยอดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสิ่งทดลอง เมื่อบันทึกผลตั้งแต่ 30-60 วันหลังเพาะ อย่างไรก็ตามการกระตุ้นการงอกเมล็ดด้วยการแช่ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l มีผลต่อการเจริญด้านความยาวยอดสูงสุด คือ 4.30 เซนติเมตร (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ความยาวยอดผักหวานป่าที่ 30-60 วันหลังเพาะ

สิ่งทดลอง	ความยาวยอด (เซนติเมตร)			
	30 วัน	37 วัน	44 วัน	60 วัน
1. ไม่แช่เมล็ด	1.84	2.84	3.60	3.66
2. แช่ด้วยน้ำ	2.56	3.12	3.10	3.41
3. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 20 mg/l	2.14	3.28	3.69	3.77
4. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 40 mg/l	1.85	2.83	3.35	3.50
5. แช่ด้วยไคโตซาน ความเข้มข้น 80 mg/l	1.89	3.09	3.60	3.66
6. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 250 mg/l	2.59	3.27	3.38	3.40
7. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l	2.65	3.77	4.01	4.04
8. แช่ด้วย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l	2.90	3.48	3.43	4.30
ค่าเฉลี่ย	2.30	3.21	3.52	3.72
การทดสอบทางสถิติ (F-test)	ns	ns	ns	ns
CV.(%)	41.04	26.27	24.05	22.49

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการกระตุ้นการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าผักหวานป่าในสภาพโรงเรือนในครั้งนี้พบว่าการกระตุ้นการงอกเมล็ดผักหวานป่าโดยการแช่ในสารละลาย GA_3 ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 mg/l ช่วยให้เมล็ดผักหวานป่ามีการงอกรากที่ดีโดยให้ค่าดัชนีความเร็วในการงอกที่สูง และพบว่า GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุดและดีกว่าชุดควบคุมทั้งที่ไม่ผ่านการกระตุ้นการงอกและที่ผ่านการกระตุ้นการงอกด้วยการแช่น้ำ ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bachelard (1968) ที่ทำการกระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วยการแช่เมล็ด Eucalypt 2 ชนิด คือ *Eucalyptus regnan* และ *Eucalyptus pauciflora* ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 50 mg/l ช่วยให้มีการยืดยาวของยอด Eucalypt ทั้ง 2 ชนิด เพิ่มขึ้นมากกว่าเมล็ดที่ไม่แช่สารละลาย GA_3 งานวิจัยของ Anderson et al. (2009) ที่ทำการกระตุ้นการงอกโดยการแช่เมล็ด *Penstemon* ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l มีผลต่อการงอกของเมล็ดที่เร็ว และการเพิ่มความเข้มข้น GA_3 เป็น 1,000 mg/l มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่สูงขึ้นรวมทั้งมีการงอกที่เร็ว นอกจากนี้ เทียนนุช และคณะ (2559) ยังได้รายงานถึงผลของ GA_3 ต่อการงอกของเมล็ดกีวีฟรุต พันธุ์ Hayward ที่แช่ GA_3 ความเข้มข้น 500 mg/l นาน 30 นาที มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูง ส่วนเมล็ดพันธุ์ Hort 16A ที่แช่ GA_3 ความเข้มข้น 1,500 mg/l นาน 30 และ 60 นาที มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด

จากผลการวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นการงอกโดยการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ช่วยให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ดีขึ้น มีการงอกที่เร็ว และมีการเจริญของต้นกล้าที่ดี ซึ่ง GA_3 เป็นสารควบคุมการเจริญของพืชกลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellins; GA_3) ที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชมากมาย เช่น การส่งเสริมการยืดตัวของลำต้น กระตุ้นการงอกของเมล็ด การพัฒนาของผลและเมล็ด จิบเบอเรลลิน ถูกสร้างขึ้นในส่วนของพืชแตกต่างกัน ได้แก่ ในเมล็ดขณะกำลังพัฒนา ในเอ็มบริโอขณะกำลังงอก เนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอด และยังพบในผลที่กำลังพัฒนา (กนกวรรณ, 2555) เนื่องจาก GA_3 เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ GA_3 ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นของเซลล์ ทำให้เซลล์สามารถขยายตัวและมีผลทำให้เซลล์มีรูปร่างยืดยาวขึ้น GA_3 มีผลต่อการงอกของเมล็ด คือ สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และยืดขยายของเซลล์ที่ต้นและราก โดยเฉพาะการเจริญของรากแรกเกิด (Radicle) เมื่อมีการยืดขยายของเซลล์ที่รากจะช่วยให้รากสามารถดันทะลุเอนโดสเปิร์ม เปลือกหุ้มเมล็ด (Seed coat) หรือเยื่อหุ้มผล (Fruit coat) ได้ และเมื่อเกิดการงอก GA_3 จะช่วยให้มีการยืดยาวของยอดและมีผลต่อการแผ่ขยายของใบได้ดีด้วย GA_3 มีกลไกการทำงานที่เกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ดและการเจริญของพืช ดังเช่น GA_3 จะกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ amylase เพื่อย่อยสลายแป้งที่โมเลกุลใหญ่ให้เป็นน้ำตาลที่โมเลกุลเล็ก และช่วยส่งเสริมให้มีการเคลื่อนย้ายสารอาหารไปยังส่วน

ต่างๆ ของต้นพืชเมื่อเกิดกระบวนการงอกของเมล็ดและในระหว่างการเจริญเติบโตของต้นอ่อน โดยกลไกการกระตุ้นให้สร้างเอนไซม์ amylase ซึ่งจัดเป็นโปรตีนนี้จะมี GA_3 เป็นตัวควบคุมการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ผ่านทางการสังเคราะห์ RNA (นพดล, 2537; สุธิดา, 2552)

การใช้สารไคโตซานในการกระตุ้นการงอกให้ผลดีต่อการงอกรากที่เร็ว ซึ่งผลที่ได้พบว่า การกระตุ้นการงอกโดยการแช่เมล็ดในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 20 และ 40 mg/l ช่วยให้เมล็ดผักหวานป่ามีค่าดัชนีความเร็วในการงอกที่สูง และดีกว่าชุดควบคุมทั้งที่ไม่ผ่านการกระตุ้นการงอกและที่ผ่านการกระตุ้นการงอกด้วยน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hameed et al. (2014) ที่ได้นำสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.10, 0.25 และ 0.50 % มาใช้ในการกระตุ้นการงอกเมล็ดข้าวสาลีโดยการแช่เมล็ด ซึ่งพบว่าการงอกของเมล็ดข้าวสาลีที่แช่สารละลายไคโตซานทุกความเข้มข้นมีผลต่อคุณภาพต้นกล้าที่ดี คือ มีค่าดัชนีความเร็วในการงอก เปอร์เซ็นต์การงอก และความแข็งแรงของต้นกล้าที่สูง เมล็ดงอกเร็ว รวมทั้งยังมีผลต่อความยาวยอดและรากที่เพิ่มขึ้นอย่างแตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้กระตุ้นด้วยสารละลายไคโตซาน งานวิจัยของบุญมี และคณะ (2556) ได้ทดลองกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พริกหวานด้วยสารละลายไคโตซาน และพบว่าไคโตซานช่วยให้เมล็ดพันธุ์มีการงอกและความเร็วในการงอกของที่ดี ต้นกล้ามีความแข็งแรงมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการกระตุ้นการงอกหลังจากการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์เป็นเวลา 10 วัน นอกจากนี้ในงานวิจัยของ บัณฑิตา และคณะ (2550) ได้ศึกษาผลของสารละลายไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดแพงพวยลูกผสม พบว่าสารละลายไคโตซานส่งเสริมให้เมล็ดแพงพวยมีค่าดัชนีความเร็วในการงอก และความสูงของต้นกล้าดีกว่าเมล็ดที่ไม่ได้แช่สารละลายไคโตซาน และการแช่สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 20 และ 40 mg/l ส่งเสริมให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกของต้นกล้าที่สูง

จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น พบว่ายังไม่มีการเปรียบเทียบระหว่างการใช้ไคโตซานกับ GA_3 ในการกระตุ้นการงอกในพืชอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองในครั้งนี้สามารถกล่าวได้ว่าการแช่เมล็ดผักหวานป่าด้วยสารละลายไคโตซานมีผลต่อการเจริญของราก คือให้ค่าดัชนีการงอกที่สูงกว่าชุดควบคุม ซึ่งจากผลที่ได้นี้อาจเป็นเพราะไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โดยไนโตรเจนมีส่วนช่วยในการแบ่งเซลล์ นอกจากนี้ยังช่วยให้ระบบรากแข็งแรง ส่งผลต่อการดูดซึมน้ำและอาหารของพืช ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและแข็งแรง (นุชนาฎ, 2560; นวลใจ และคณะ, 2555) ซึ่งการแช่เมล็ดด้วยไคโตซานช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ดให้ดีขึ้น และเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ (Lipase activity) GA_3 และ IAA (Zhou et al., 2002 cited in Guan et al., 2009) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการงอกของเมล็ด

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาผลของสารละลาย BA ร่วมกับ GA_3 ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของผักหวานป่าหลังเลี้ยงยอดในอาหารแต่ละสิ่งทดลองเป็นเวลา 60 วัน ผลที่ได้พบว่า

จำนวนยอดของผักหวานป่า

หลังการเลี้ยงยอดผักหวานป่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ GA_3 เป็นเวลา 60 วัน ผลการทดลอง พบว่าการให้ BA และ GA_3 มีปฏิสัมพันธ์กันต่อจำนวนยอด โดยการให้ BA ความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0-1 mg/l และการให้ BA ความเข้มข้น 2 mg/l ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.5-2 mg/l มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของยอดที่สูง ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า การให้ BA ที่ความเข้มข้นที่สูง (2 mg/l) ควรใช้ร่วมกับ GA_3 ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 0.5-2 mg/l ในขณะที่การให้ BA ที่ความเข้มข้นต่ำ (1 mg/l) สามารถให้เฉพาะ BA อย่างเดียว หรือให้ร่วมกับ GA_3 ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 0.5-1 mg/l จะให้ผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดได้สูงเฉลี่ย 3.77-5.44 ยอด

ในกรณีที่พิจารณาปัจจัยการให้ BA พบว่า การให้ BA ในความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนยอดเฉลี่ยที่สูง คือ 4.00 และ 3.66 ยอด ตามลำดับ โดยผลที่ได้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการไม่ให้ BA ซึ่งให้จำนวนยอดเฉลี่ยที่ต่ำ คือ 1.14 ยอด ในขณะที่พิจารณาปัจจัยการให้ GA_3 ต่อจำนวนยอด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางด้านสถิติ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลของ BA และ GA_3 ต่อจำนวนยอดผักหวานป่าหลังเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 60 วัน

GA_3 (mg/l)	BA (mg/l) 0	1	2	ค่าเฉลี่ย
0	1.00^{d}	5.44^{a}	2.77^{bc}	**3.07**
0.5	1.22^{cd}	4.55^{a}	3.77^{ab}	**3.18**
1	1.55^{cd}	3.88^{ab}	4.33^{ab}	**3.25**
2	1.88^{cd}	2.11^{cd}	3.77^{ab}	**2.59**
ค่าเฉลี่ย	**1.14^{B}**	**4.00^{A}**	**3.66^{A}**	
การทดสอบทางสถิติ (F-test)				
GA_3	ns			
BA	**			
GA_3 × BA	**			
CV.(%)	54.09			

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ค่าเฉลี่ยผลของ BA ในแนวนอน ค่าเฉลี่ยผลของ GA_3 ในแนวตั้ง และค่าเฉลี่ยผลของปฏิสัมพันธ์ในตารางที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ความยาวยอดของผักหวานป่า

ในกรณีการศึกษาผลของ BA และ GA_3 ต่อความยาวยอดหลังเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 60 วัน พบว่า การให้ BA และ GA_3 ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันต่อความยาวยอดทางด้านสถิติ

ในกรณีพิจารณาปัจจัยการให้ BA ต่อความยาวยอด พบว่าการไม่ให้ BA มีผลต่อความยาวยอดที่สูง คือ 22.51 มิลลิเมตร และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กับการให้ BA ที่ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l ซึ่งมีความยาวยอดต่ำกว่า คือ 16.09 และ 12.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ในขณะที่เมื่อพิจารณาปัจจัยการให้ GA_3 ต่อความยาวยอด พบว่า การให้ GA_3 ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2 mg/l มีผลต่อการยืดของยอดที่เพิ่มขึ้น คือ มีความยาวยอด 20.79 และ 18.85 มิลลิเมตร และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กับการไม่ให้ GA_3 รวมทั้งการให้ GA_3 ความเข้มข้น 1 mg/l ซึ่งจากผลการให้ GA_3 ความเข้มข้น 1 mg/l มีผลต่อความยอดที่ต่ำเนื่องจากมีการร่วงของใบและเกิดการหักของยอด จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าถ้าต้องการจะให้ยอดมีการยืดที่

เพิ่มขึ้นควรลดการให้ BA หรือ ไม่ให้ BA เลย และหรือควรให้ GA_3 ความเข้มข้นที่ 0.5 mg/l (ตารางที่ 8 และภาพที่ 1)

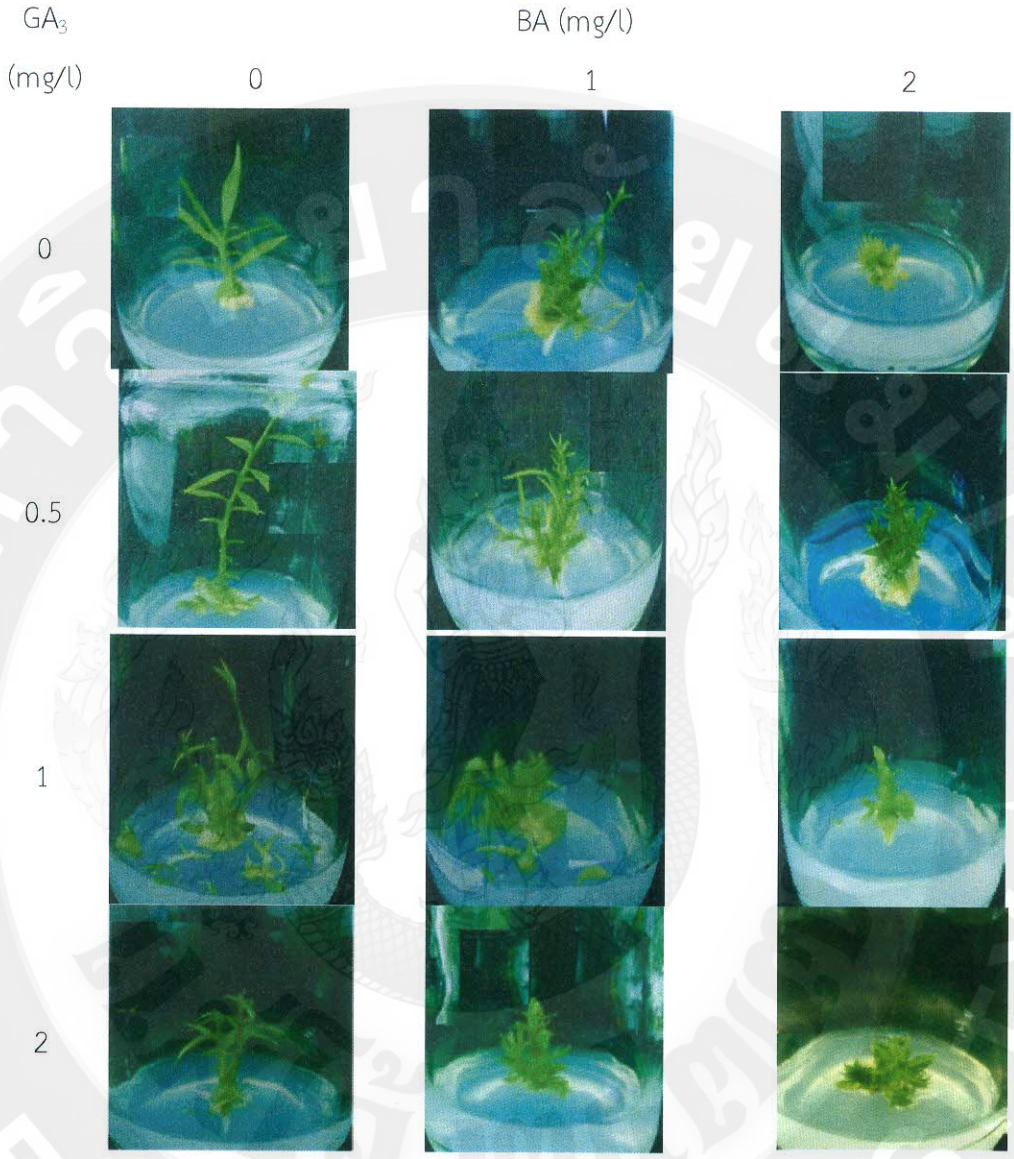
ตารางที่ 8 ผลของ BA และ GA_3ต่อความยาวยอดผักหวานป่า (มิลลิเมตร) หลังเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 60 วัน

GA_3 (mg/l)	BA (mg/l) 0	1	2	ค่าเฉลี่ย
0	17.29	15.79	9.37	**14.15^{B}**
0.5	28.07	18.66	15.65	**20.79^{A}**
1	19.21	12.30	11.48	**14.33^{B}**
2	25.46	17.59	13.51	**18.85^{A}**
ค่าเฉลี่ย	**22.51^{A}**	**16.09^{B}**	**12.50^{B}**	
การทดสอบทางสถิติ (F-test)				
GA_3	**			
BA	**			
$GA_3 \times BA$	ns			
CV.(%)	47.75			

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ค่าเฉลี่ยผลของ BA ในแนวนอน ค่าเฉลี่ยผลของ GA_3 ในแนวตั้ง และค่าเฉลี่ยผลของปฏิสัมพันธ์ในตารางที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 1 การเจริญของยอดผักหวานป่าหลังเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ GA_3 เป็นเวลา 60 วัน

วิจารณ์ผลการทดลอง

การเพิ่มปริมาณยอดของผักหวานป่าในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดี และในการทดลองนี้ พบว่า การเลี้ยงยอดผักหวานป่าในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/l มีผลต่อจำนวนยอดสูงสุด คือ 5.44 ยอด ทั้งนี้เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน ที่มีหน้าที่หลักคือกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ แต่ทั้งนี้สัดส่วนไซโตไคนินและออกซินในชิ้นส่วนพืชที่สูงหรือต่ำต่างกันก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของพืชที่แตกต่างกันไป กล่าวคือการให้ไซโตไคนินเพิ่มมากกว่าออกซิน และอยู่ในสัดส่วนที่เหมาะสมในพืชนั้นๆ จะมีผลต่อการแบ่งเซลล์และการพัฒนาไปเป็นตา ลำต้นและใบได้ ซึ่งโดยธรรมชาติในอวัยวะพืชที่มีอายุน้อย เช่น เมล็ด ผล ใบอ่อน และบริเวณปลายรากจะมีไซโตไคนินสูง เมื่อมีการให้สารไซโตไคนินจากภายนอกแก่พืชจนทำให้ความเข้มข้นภายในสูงเกินไปจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ยอดจะมีลักษณะหนาและสั้น เนื่องจากการยืดยาวของเซลล์จะถูกยับยั้งแต่จะมีการขยายขนาดเซลล์ไปด้านข้าง ซึ่งจะเห็นได้จากงานทดลองนี้ที่การเลี้ยงยอดผักหวานป่าในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l ลักษณะยอดจะสั้นและมีขนาดอวบอ้วนกว่ายอดที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม BA

ดังนั้นจากเหตุผลดังกล่าวได้สนับสนุนผลการวิจัยในครั้งนี้และมีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่จะกล่าวต่อไปในด้านการให้ BA มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดผักหวานป่าและการยืดของยอด กล่าวคือ การยืดของยอดจะมีมากในอาหารที่ไม่เติม BA หรือใน BA ความเข้มข้นที่ต่ำ ในขณะที่ความยาวของยอดจะลดลงเมื่อให้ BA ในระดับที่สูงขึ้น มีรายงานผลการตอบสนองของยอดผักหวานป่าต่อ BA แต่ละระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นกับที่มาของชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยงที่ต่างกันด้วย ดังเช่น ในงานวิจัยของปรานอม และคณะ (2539) ที่ให้ BA ความเข้มข้น 2 mg/l มีผลต่อการเกิดตาเล็กๆ ของผักหวานป่าหลังเลี้ยงยอดจากต้นอ่อนบนอาหารเป็นเวลา 60 และ 90 วัน บงกชกรณ์ (2544) รายงานผลการเลี้ยงยอดผักหวานป่าที่เจริญจากต้นอ่อนในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 mg/l ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.2 ยอด ในขณะที่การเลี้ยงยอดที่ได้จากต้นที่เจริญเต็มที่จะตอบสนองต่อการให้ BA ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นคือ 0.5 mg/l แต่มีการเกิดยอดเพียง 1-2 ยอด นอกจากนี้พินิจ และคณะ (2539) ได้รายงานผลการชักนำให้เกิดยอดจากต้นอ่อนที่ได้จากระยะผลสุกแก่ต่างกันมีการตอบสนองต่อการเพิ่มปริมาณยอดต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้นของ BA หลังเลี้ยงในอาหาร 90 วัน ดังเช่น การเลี้ยงยอดจากต้นที่เจริญจากต้นอ่อนที่ได้จากระยะผลสีเขียวอ่อนในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ให้จำนวนยอดสูงสุด 8 ยอด ในขณะเดียวกันพบว่าการเลี้ยงยอดจากต้นอ่อนที่ได้จากระยะผลสุกและก่อนสุกให้จำนวนยอดเพียง 3.3 และ 3.5 ยอด ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการเลี้ยงต้นอ่อนจากเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-5 mg/l พบว่าต้นเจริญได้ดีในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0-2 mg/l ในขณะที่อรพิน (2557)

รายงานผลของการเลี้ยงยอดของผักหวานป่าจากยอดที่เจริญจากต้นอ่อนในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4 mg/l มีจำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ย 5.4 ยอดหลังเลี้ยงในอาหาร 90 วัน

จิบเบอเรลลินเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่สามารถส่งเสริมการยืดยาวของลำต้นและการแบ่งเซลล์ได้ ซึ่งในธรรมชาติพบว่าเมล็ดและใบที่มีอายุน้อยสามารถสังเคราะห์จิบเบอเรลลินได้แต่ไม่มีการลำเลียงออกจากเมล็ด และจะพบปริมาณจิบเบอเรลลินในระดับที่สูงในเมล็ดที่ยังพัฒนาไม่เต็มที่ การตอบสนองของพืชต่อสารจิบเบอเรลลินแตกต่างกันในแต่ละพืช และในบางพืชการตอบสนองต่อสารจิบเบอเรลลินน้อยมากหรือไม่เกิดเลยซึ่งอาจเป็นเพราะในพืชมีจิบเบอเรลลินปริมาณที่พอเหมาะอยู่แล้ว (นพดล, 2537) จากผลการวิจัยครั้งนี้ที่นำ GA_3 มาใช้ร่วมกับ BA เพื่อเพิ่มปริมาณยอดและการยืดของยอด พบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่จะกล่าวต่อไปในด้านการช่วยเพิ่มปริมาณยอด คือ การให้ BA ที่ความเข้มข้นที่สูง (2 mg/l) เมื่อใช้ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.5-2 mg/l และการให้ BA ที่ความเข้มข้นต่ำ (1 mg/l) ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.5-1 mg/l จะให้ผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดได้สูงเฉลี่ย 3.77-4.55 ยอด แต่ในด้านความยาวยอดไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อใช้ GA_3 ร่วมกับ BA ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Reza et al. (2014) ที่รายงานผลของการให้สารไซโตไคนินร่วมกับ GA_3 เพื่อเพิ่มปริมาณยอดชาและการยืดตัวของยอดชา Clone Iran 100 และพบว่าการให้ BAP ในความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.5 mg/l มีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุดเฉลี่ย 7.3 ยอด และพบว่ามีการยืดของยอดที่ดีกว่าความเข้มข้นอื่นๆ ทั้งนี้ผลวิจัยที่ได้ไม่สอดคล้องกันอาจเป็นเพราะยอดอ่อนผักหวานที่นำมาเลี้ยงเพื่อการศึกษาครั้งนี้ได้มาจากยอดอ่อนที่เจริญมาจากคัพภะซึ่งคาดว่าน่าจะมีระดับจิบเบอเรลลินที่สูงอยู่แล้ว หรืออาจเป็นเพราะเป็นพืชต่างชนิดกันการตอบสนองต่อ GA_3 ต่างกัน ซึ่งในผักหวานอาจมีการตอบสนองที่ต่ำจึงไม่มีความแตกต่างในด้านการยืดของยอดที่ชัดเจน ดังในงานวิจัยของ Pawłowska (2011) ที่เลี้ยงยอดกุหลาบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 μM ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 1.5 μM ช่วยเพิ่มปริมาณยอดกุหลาบ *Rosa canina* และ *R. rubiginosa* ได้ประมาณ 4.1 ยอด ในช่วง 5 สัปดาห์ แต่มีผลต่อการแตกยอดที่ต่ำใน *R. agrestis* และ *R. dumails* คือมีจำนวนยอด 1.9-2.9 ยอด

จากงานวิจัยในครั้งนี้ยังพบว่าการให้ GA_3 เพียงอย่างเดียวให้ผลด้านการยืดที่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม และระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 0.5 mg/l มีผลต่อการยืดของยอดที่ดีและมีการเจริญของยอดที่ปกติคือมีการแผ่ของแผ่นใบที่ดี ยอดไม่อวบอ้วนและไม่ฉ่ำน้ำ ดังนั้นผลที่ได้แสดงให้เห็นว่ายอดผักหวานป่ามีการตอบสนองต่อ GA_3 ที่ให้ในอาหารในด้านการยืดของยอด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Reza et al. (2014) ที่มีการให้ GA_3 เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.5 mg/l มีการยืดของยอดที่ดีแต่ไม่มีการแตกยอด

การทดลองที่ 3 ศึกษาวิธีการชักนำให้เกิดกลุ่มเซลล์ หรือ แคลลัส (Callus) และการเกิดยอดของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่ตัดตามขวางเป็นชิ้นส่วนขนาดความหนา 1 มิลลิเมตร มาเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 30 วัน ได้ผลการพัฒนาของและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การเกิดกลุ่มเซลล์ หรือ แคลลัส (Callus)

จากผลการให้ BAP และ NAA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อพื้นที่ พบว่า การให้ BAP ร่วมกับ NAA มีปฏิสัมพันธ์กัน ซึ่งการให้ BAP ความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับการให้ NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l และการให้ BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 - 0.5 mg/l ให้ผลที่ดีต่อการเกิดแคลลัส 84-100 % ต่อพื้นที่

เมื่อพิจารณาปัจจัยการให้ BAP ต่อการเกิดแคลลัส พบว่าการให้ BAP ความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ 2.5 และ 3 mg/l มีผลต่อการเกิดแคลลัสต่อพื้นที่สูงขึ้น คือ 88.67 และ78.67 % ซึ่งมีความความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการให้ BAP ที่ความเข้มข้น 0-2 mg/l

เมื่อพิจารณาปัจจัยการให้ NAA ต่อการเกิดแคลลัส พบว่าการให้ NAA มีผลต่อการเกิดแคลลัสที่เพิ่มขึ้น คือ 68.07 % ต่อพื้นที่ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่ให้ NAA ที่เกิดแคลลัส 41.29% ต่อพื้นที่

จากการบันทึกลักษณะของแคลลัส พบว่าในอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 1-3 mg/l ร่วมกับการให้และไม่ให้ NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส และลักษณะของแคลลัส เป็นสีเขียวครีมเกาะกันเป็นก้อนแน่น แต่ในกรณีไม่ให้สารควบคุมการเจริญเติบโต รวมทั้งการให้เฉพาะ NAA พบว่าชิ้นส่วนไม่สามารถเกิดแคลลัสได้ และมีการตายของชิ้นส่วน คือ ลักษณะชิ้นส่วนเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลของ BAP และ NAA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่อพื้นที่หลังเลี้ยงชิ้นส่วนพืชเป็นเวลา 30 วัน

NAA (mg/l)	BAP (mg/l) 0	1	2	2.5	3	ค่าเฉลี่ย
0	0.00^{g}	41.13^{df}	23.00^{f}	84.00^{abc}	57.33^{de}	**41.29^{B}**
0.5	0.00^{g}	70.33^{cd}	76.67^{bcd}	93.33^{ab}	100^{a}	**68.07^{A}**
ค่าเฉลี่ย	**0.00^{C}**	**56.23^{B}**	**49.83^{B}**	**88.67^{A}**	**78.67^{A}**	
การทดสอบทางสถิติ (F-test)						
NAA	**					
BAP	**					
BAP × NAA	**					
CV.(%)	59.04					

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ค่าเฉลี่ยผลของ BAP ในแนวนอน ค่าเฉลี่ยผลของ NAA ในแนวตั้ง และค่าเฉลี่ยผลของปฏิสัมพันธ์ในตารางที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนแคลลัส

จากผลการให้ BAP และ NAA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากแคลลัส พบว่า การให้ BAP ร่วมกับ NAA มีปฏิสัมพันธ์กัน ซึ่งกรณีการให้ BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l มีผลต่อการเกิดยอด 100% แต่เมื่อให้ร่วมกับ NAA จะมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเป็น 33.33 %

เมื่อพิจารณาปัจจัยการให้ BAP ต่อการเปอร์เซ็นต์เกิดยอด พบว่าการให้ BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l มีผลต่อการเกิดยอดสูงที่สุด คือ 66.67 % ซึ่งมีความความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการให้ BAP ระดับอื่นยกเว้นที่ 1 mg/l

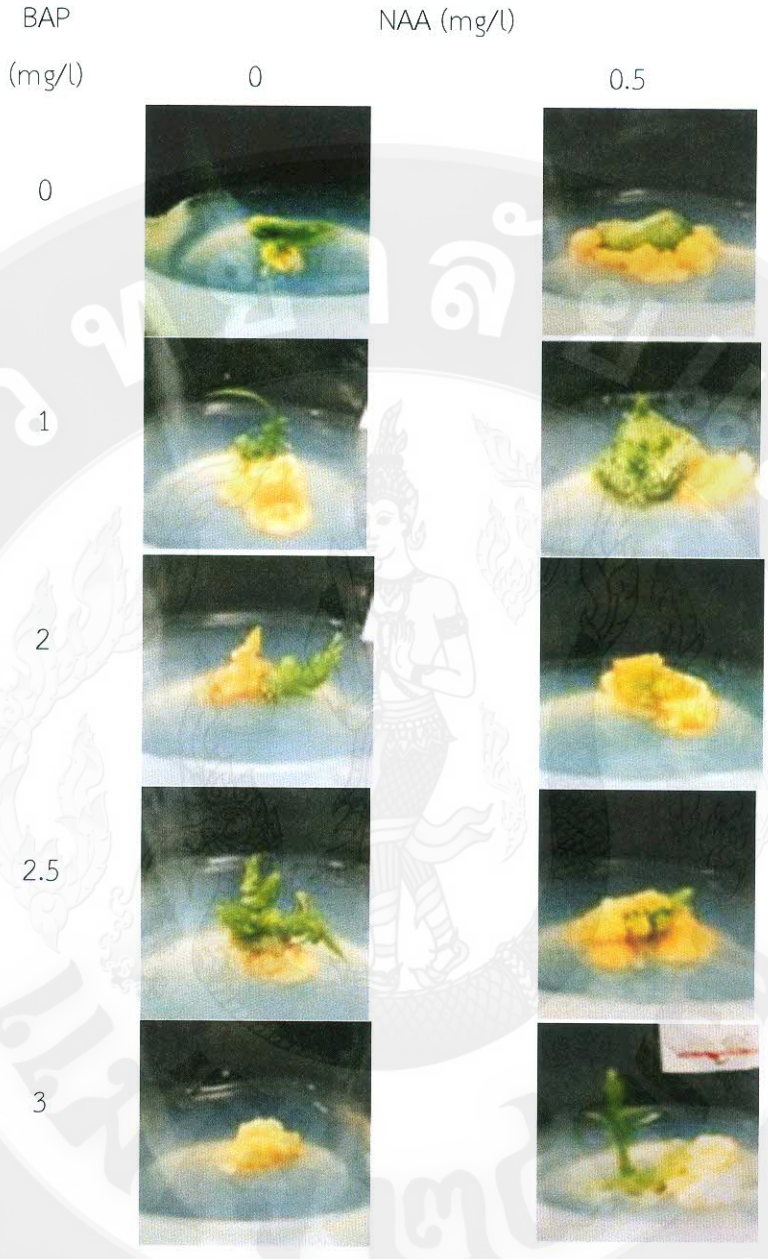
จากการพิจารณาปัจจัยการให้ NAA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด พบว่าการไม่ให้ NAA มีผลต่อการเกิดยอดที่เพิ่มขึ้น คือ 40 % ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการให้ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/l ที่มีการเกิดยอด 20 % (ตารางที่ 10 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 10 ผลของ BAP ร่วมกับ NAA ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากแคลลัส

NAA (mg/l)	BAP (mg/l)					ค่าเฉลี่ย
	0	1	2	2.5	3	
0	0.00^{b}	50.00^{b}	50.00^{b}	100^{a}	0.00^{b}	40^{A}
0.5	0.00^{b}	33.33^{b}	0.00^{b}	33.33^{b}	33.33^{b}	20^{B}
ค่าเฉลี่ย	0.00^{C}	41.67^{AB}	25.00^{BC}	66.67^{A}	16.67^{BC}	
การทดสอบทางสถิติ (F-test)						
NAA	**					
BAP	**					
BAP × NAA	**					
CV.(%)	59.04					

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ค่าเฉลี่ยผลของ BAP ในแนวนอน ค่าเฉลี่ยผลของ NAA ในแนวตั้ง และค่าเฉลี่ยผลของปฏิสัมพันธ์ในตารางที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 2 การเจริญของแคลลัสและการเกิดยอดผักหวานป่าหลังเลี้ยงส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP และ NAA เป็นเวลา 60 วัน

จำนวนยอดจากชิ้นส่วนแคลลัส

จากผลการให้ BAP และ NAA ต่อจำนวนยอด พบว่า การให้ BAP ร่วมกับ NAA มีปฏิสัมพันธ์กัน ในกรณีการให้ BAP ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/l มีผลต่อจำนวนยอดเฉลี่ยที่สูงคือ 1.66 ยอด แต่เมื่อให้ร่วมกับ NAA จะมีผลทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยลดลงเป็น 0.33 ยอด

เมื่อพิจารณาผลของการให้ BAP ต่อจำนวนยอด พบว่าการให้ BAP ความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ ตั้งแต่ 1-2.5 mg/l มีผลต่อจำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น ซึ่งมีความความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่ให้ BAP และการให้ BAP ที่ความเข้มข้น 3 mg/l และจากการพิจารณาปัจจัยการให้ NAA ต่อจำนวนยอด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ผลของ BAP ร่วมกับ NAA ต่อจำนวนยอดจากชิ้นส่วนแคลลัส

NAA (mg/l)	BAP (mg/l)					ค่าเฉลี่ย
	0	1	2	2.5	3	
0	0.00^{b}	0.83^{ab}	0.83^{ab}	1.66^{a}	0.00^{b}	**0.66**
0.5	0.00^{b}	1.00^{ab}	0.00^{b}	0.33^{b}	0.33^{b}	**0.33**
ค่าเฉลี่ย	**0.00^{b}**	**0.91^{A}**	**0.41^{AB}**	**1.00^{A}**	**0.16^{B}**	
การทดสอบทางสถิติ (F-test)						
NAA	ns					
BAP	*					
BAP × NAA	**					
CV.(%)	154.05					

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ค่าเฉลี่ยผลของ BAP ในแนวนอน ค่าเฉลี่ยผลของ NAA ในแนวตั้ง และค่าเฉลี่ยผลของปฏิสัมพันธ์ในตารางที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

วิจารณ์ผลการทดลอง

BAP เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มของไซโตไคนิน มีหน้าที่หลักคือ กระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ นิยมนำมาใช้ในการชักนำยอดและเพิ่มปริมาณยอดในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ส่วน NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินมีคุณสมบัติทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์ (Cell enlargement) และยังทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ได้ในบางกรณี สารกลุ่มออกซิน เช่น NAA นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อกระตุ้นให้เกิดกลุ่มเซลล์ หรือ แคลลัส (Callus) แต่อย่างไรก็ตามในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของพืชจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสัดส่วนของสารไซโตไคนินและออกซินภายในพืช ซึ่งจะมีผลต่อการแบ่งเซลล์และเกิดกลุ่มก้อนของเซลล์เมื่อมีปริมาณสารออกซินสูงกว่าไซไคนิน และการพัฒนาไปเป็นต้นพืชจะเกิดขึ้นเมื่อปริมาณของสารไซโตไคนินสูงกว่าออกซิน ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวสอดคล้องกับผลจากการทดลองครั้งนี้ รวมทั้งงานวิจัยดังกล่าวต่อไปนี้

ในกรณีการชักนำให้เกิดกลุ่มเซลล์ หรือ แคลลัส (Callus) ของชิ้นส่วนใต้ใบเลี้ยงของผักหวานป่า โดยหลังการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารเป็นเวลา 30 วัน พบว่า การให้ BAP ร่วมกับ NAA มีผลต่อการเกิดแคลลัสที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการให้ BAP ความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสต่อพื้นที่ได้สูงสุด คือ 100 % รองมา คือ ในอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสต่อพื้นที่ได้ 93.33 % ในขณะที่การให้ BAP เพียงอย่างเดียวก็สามารถกระตุ้นการเกิดแคลลัสได้แต่เปอร์เซ็นต์ต่อพื้นที่ต่ำกว่าการใช้ร่วมกัน แต่อย่างไรก็ตามชิ้นส่วนที่เลี้ยงไม่สามารถเกิดแคลลัสได้ในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ มนฑล และคณะ (2557) ที่ได้รายงานผลการชักนำตาข้างให้เกิดแคลลัสในมะรุม เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l มีผลต่อการเกิดแคลลัส 100 % งานวิจัยของ ปิยะพร และนุชมะณี (2547) ที่ศึกษาอิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัสของผักชีช้าง (*Asparagus racemosus*) พบว่าเนื้อเยื่อใบอ่อนและข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 80 % แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลที่ได้ไม่มีความสอดคล้องกันในกรณีการเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ซึ่งในผักชีช้างสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 90 % ในขณะที่ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยงของผักหวานป่าจากการทดลองในครั้งนี้

ในกรณีการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัส (Callus) เมื่อทำการเลี้ยงชิ้นส่วนแคลลัสในอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l เป็นเวลา 30 วัน มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดในผักหวานป่าได้สูงสุด คือ 100% และมีผลต่อการเพิ่มของจำนวนยอดต่อแคลลัส คือ ให้จำนวนยอด 1.66 ยอด ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับงานของ พันทิวา และขวัญเดือน (2560) ที่ทำการศึกษาในข้าวเจ้า

หอมนิล โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัส บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/l สามารถชักนำให้เกิดการสร้างต้นใหม่ได้สูงสุด เท่ากับ 75 % และได้จำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัสเท่ากับ 5.5 ต้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปิยะพร และนุชมะณี (2547) ที่ทำการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสในผักชีช้าง (*Asparagus racemosus*) โดยการเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l มีการเกิดยอด 100 %

งานวิจัยในครั้งนี้สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของต้นอ่อนผักหวานป่าและกระตุ้นให้แคลลัสมีการพัฒนาเป็นยอดได้ในอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l ซึ่งให้ผลต่างจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่สามารถชักนำชิ้นส่วนของผักหวานป่าให้เกิดแคลลัสได้ แต่ไม่พบว่าสามารถกระตุ้นแคลลัสให้มีการพัฒนาเป็นยอดได้ ดังเช่น งานวิจัยของ พีระวุฒิ (2537) ที่สามารถชักนำแคลลัสจากส่วนต้นอ่อนผักหวานป่าได้ในอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0-0.2 mg/l พรอนันต์ และสุทธพงษ์ (2551) ศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบผักหวานป่าเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร WPM เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0-1 mg/l ภายในเวลา 1-2 สัปดาห์ สามารถเกิดแคลลัสได้ทุกสูตร ซึ่งจากผลดังกล่าวพบว่าความสำเร็จในการชักนำยอดจากแคลลัส ขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง การเลือกใช้ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำแคลลัสและยอด

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการกระตุ้นการงอกเมล็ดผักหวานป่าโดยการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีความเหมาะสมที่สุดในการช่วยส่งเสริมให้เมล็ดผักหวานป่า มีการงอกรากที่ดี มีผลต่อค่าดัชนีความเร็วในการงอกและเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่สูง และมีการเจริญของต้นกล้าที่ดี

การเพิ่มปริมาณยอดผักหวานป่าโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้โดยการเลี้ยงยอดในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/l มีผลทำให้เพิ่มปริมาณยอดได้สูงสุดถึง 5.44 ยอด รองมาคือการเลี้ยงยอดในอาหารเติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/l และ การให้ BA ร่วมกับ GA_3 อย่างละ 2 mg/l มีผลต่อจำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น คือให้จำนวนยอด 3.77-4.55 ยอด ส่วนในกรณีการยืดของยอดควรเลี้ยงยอดในอาหารที่เติม GA_3 ความเข้มข้น 0.5 mg/l ช่วยในการยืดของยอดที่เร็ว มีการเจริญของยอดดี คือ มีการแผ่ของแผ่นใบที่ดี ยอดไม่อวบอ้วนและไม่ฉ่ำน้ำ หรือการเลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตก็สามารถให้มีการยืดของยอดได้ดี แต่จะช้ากว่าการให้ GA_3 ซึ่งเป็นลักษณะของยอดที่เลี้ยงในอาหารดังกล่าวเหมาะสมสำหรับการนำไปชักนำให้เกิดรากต่อไป

การชักนำให้เกิดแคลลัสในผักหวานป่าสามารถทำได้โดยการใช้ชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่ตัดตามขวาง ให้มีความหนา 1 มิลลิเมตร เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสต่อพื้นที่ได้สูงสุด คือ 100 % รองมา คือ การเลี้ยงในอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l และการให้เฉพาะ BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสต่อพื้นที่ได้ 93.33 และ 84 % ซึ่งใช้เวลาในการชักนำให้แคลลัส 30 วัน

การชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสในผักหวานป่าสามารถทำได้โดยการย้ายชิ้นส่วนแคลลัสลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.5 mg/l สามารถชักนำการเกิดยอดได้สูงสุด คือ 100% และมีจำนวนยอดต่อแคลลัส 1.66 ยอด

บรรณานุกรม

กนกวรรณ เสรีภาพ. 2554. **คู่มือประกอบสื่อการสอน วิชาชีววิทยา เรื่อง ออกซิน**. สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐานและคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์.

_____. 2555. **คู่มือประกอบสื่อการสอน วิชาชีววิทยา เรื่อง จิบเบอเรลลิน** สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐานและคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์.

จันทร์วิภา บุญอินทร์, ศาลักษณ์ พรรณศิริ และมณฑล จำเริญพฤกษ์. 2558. ผลของ BAP, kinetin และ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของใบสีทองในสภาพปลอดเชื้อ. น. 553-558. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 53 พ.ศ. 2558.** 3-6 กุมภาพันธ์ 2558. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จำนรรจ์ เพียรอนุรักษ์ และแก้วนภา กิตติบรรพช. 2550. ชีพลักษณ์ ลักษณะดอกและผล และความสำเร็จการสืบพันธุ์ของผักหวานป่า. ใน **รายงานผลการวิจัยประจำปี พ.ศ. 2550 เล่มที่ 3**. สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้, กรมป่าไม้.

จำรัส ปุ๋ยกระโทก. 2558. **ชาผักหวานป่า**. สำนักงานเกษตรอำเภอบ่อทอง จังหวัดชลบุรี.

จำลอง เจียมจำนรรจา และปิยะวุฒิ พูลสงวน. 2537. การวิจัยและพัฒนาการเพาะปลูกผักหวานป่าเชิงพาณิชย์. ใน **การสัมมนาผลการดำเนินงานโครงการวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**. 16-19 พฤษภาคม 2537. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินตนา ศรีศันสนัย. 2538. **ผลของวัสดุปลูกต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักหวานป่า**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฬารัตน์ ไชยนันท์ และศศิธร วงศ์เรือง. 2552. ศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตองและการยับยั้งของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 17(1), 78-86.**

ณัฏฐากร เสมสันทัด และบัณฑิต โพธิ์น้อย. 2552. **ศึกษาลักษณะทั่วไปของผักหวานป่า**. กลุ่มงานวนวัฒนวิจัย สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้.

ดนุพงศ์ วรรณพงศ์, สุมมา นีระ และสุภัทร์ อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2557. ผลของ 2, 4-D ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆของยางพาราในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารแก่นเกษตร, 42** (ฉบับพิเศษ 3), 391-396.

ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. 2537. **การขยายพันธุ์ผักหวานป่า**. มูลนิธิพัฒนาเกษตรกร และ ชุมชนกองทุนเผยแพร่ความรู้ทางการเกษตร.

เทียนนุช ทองอยู่, ชินพันธ์ ธนารุจ, เสกสันต์ อุสสหตานนท์, วรินทร์ สุทนต์ และประนอม ยังคำมั่น. 2559. การศึกษาผลของ GA_3 ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของ กีวี พันธุ์ Hayward' and 'Hort 16A. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์,** 3(ฉบับพิเศษ 1), 5-8.

นาตยา มนตรี, กีรติ ข่อยแก้ว, สุกัญญา แสนภักดี และอัญจนา จันทร์ปะทิว. 2557. ผลของออกซิน ต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นกล้าหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารแก่นเกษตร**, 42(ฉบับพิเศษ 3), 335-340.

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. **ฮอร์โมนพืชสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์รั้วเขียว.

นวลใจ โคตรแสง, กชพรรณ วงศ์เจริญ และคมสัน นามตะดุ. 2555. **การประยุกต์ใช้ไคตินและไคโตซานในด้านการเกษตร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์.

นุชนาฏ ตันวรรณ, ศุภชัย อำคา, กนกกร สินมา และกษิดิ์เดช ธีรนิตยาธาร. 2560. ผลของไคโตซานเพื่อเพิ่มผลผลิตและปริมาณสารทุติยภูมิในข้าว.**วารสารแก่นเกษตร**, 45 (ฉบับพิเศษ 1), 1322-1327.

บงกชกรณ์ อาณานุการ. 2544. **การเพาะเลี้ยงผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ**.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บัณฑิตา ยงค์, วัชรา ทะมะละ และอภิรดี อุทัยรัตนากิจ. 2550. ผลของสารไคโตซานต่อการงอกเมล็ดแพงพวยลูกผสม. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, 38(6), 193-196.

บุญมี ศิริ, อรนุช เดียมขุนทด และพจนา สีขาว. 2556. การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกหวานที่ผ่านการกระตุ้นการงอกโดยวิธีการเร่งอายุ. **วารสารแก่นเกษตร**, 41(ฉบับพิเศษ 1), 250-256.

ปิยะพร แสนสุข และนุชมะณี สุดดี. 2547. อิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัสและยอดของผักชีช้าง. **วารสารวิจัย มข.**, 9(2), 31-39.

ปรานอม พฤฒพงษ์, ฉลองชัย แบบปะเสริฐ และพินิจ กรินท์ธัญญกิจ. 2539. การศึกษาการขยาย พันธุ์ผักหวานป่าด้วยวิธีจุลภาค. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการ พ.ศ. 2539 ครั้งที่ 34.** ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประสิทธิ์ โนรี และฉันทนา สีผึ้ง. 2539. ศึกษาวิธีการเพาะเมล็ดผักหวานป่า. ใน **รายงานผลการวิจัยประจำปี พ.ศ. 2539.** เชียงใหม่: สำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

พนม เกิดแสง. 2553. **การปลูกและการขยายพันธุ์ผักหวานป่า**. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรทิพย์ พรสุริยา, ปราโมทย์ พรสุริยา และกมลชัย เกลี้ยงเกลา. 2558. ผลของจิบเบอเรลลิคแอซิคต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าสวีทเมล่อนและแตงไทยในสภาพความเค็ม. น. 320-328 ใน **การประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์แห่งชาติครั้งที่ 12**. 9-11 มิถุนายน 2558 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาลำปาง.

พรอนันต์ บุญก่อน และสุทธพงษ์ ขวดแก้ว. 2551. **การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผักหวานป่า**. สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง.

พัชรา ลิมปนะเวช. 2555. **คู่มือสื่อการสอนวิชา ชีววิทยา**. โดยความร่วมมือระหว่าง สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐาน และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์.

พันธิตรา กมล, อุรัสยาน์ บูลย์ประมุข และอนุพันธ์ กงบังเกิด. 2555. ศึกษาผลของไซโตไคนิน และออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงขมิ้นขาว. **วารสารพฤกษศาสตร์ไทย**, 4(ฉบับพิเศษ), 87-92.

พันทิวา ทีรวม และขวัญเดือน รัตนา. 2560. การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ของข้าวเจ้าหอมนิล. **วารสารแก่นเกษตร**, 45(ฉบับพิเศษ 1), 1052-1059.

พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์. 2537. **การพัฒนาเทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของผักหวานป่า.** ภาควิ ชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พินิจ กรินห์ธัญญกิจ, ฉลองชัย แบบประเสริฐ และปรานอม พภฺฒพงศ์. 2539. การศึกษาการขยายพันธุ์ผักหวานป่าด้วยด้วยวิธีจุลภาค. น. 229-232 ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการ พ.ศ. 2539 ครั้งที่ 34.** ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มนฑล สงวนเสริมศรี, นิภาพร พิมเสน, พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ และภพเก้า พุทธรักษ์. 2557. ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในมะรุม (*Moringa olefera* Lam.) **วารสารนเรศวรพะเยา**, 7(3), 243-251.

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. 2558. ศึกษาผลของ 2, 4-D และ KINETIN ชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** 4(3), 227-235.

ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา และวันชาติ นิติพันธ์. 2537. ผลของแสงและความลึกของการเพาะต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกล้าผักหวานป่า. ใน **รายงานผลวิจัยประจำปี พ.ศ. 2537.** กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2558. **ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชาผักหวานป่า.** สำนักจัดการเทคโนโลยีและนวัตกรรม.

สำเนียง เกิดไทย และศักดิ์สิทธิ์ กลางพงศ์. 2559. **เกษตรกรเจ้าของศูนย์เรียนรู้การเพิ่มประสิทธิ ภาพ**

การผลิตสินค้าเกษตร (ยางพาราและเกษตรผสมผสาน).

สุรีย์รัตน์ คิ้วฮก. 2534. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอ่อนของสะเดา**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน.

สุธิดา คงทอง. 2552. ไคติน-ไคโตซาน. **วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา**, 3(1), 1-7.

วรรณิศา ปัทมะภูษิต และพรไพรินทร์ รุ่งเจริญทอง. 2559. ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและปริมาณกรดซาลิไซลิกในพริกขี้หนู. **วารสารแก่นเกษตร**, 44(ฉบับพิเศษ 1), 141-146.

วันเพ็ญ เหลืองประเสริฐ. 2551. **ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ของหญ้าแพงโกล่าในสภาพปลอดเชื้อ**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

หนึ่งฤทัย แพรสีทอง. 2551. **ผักหวานบ้าน-ผักหวานป่า: คู่มือการเพาะปลูกเพื่อการค้าอย่างมืออาชีพ.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: ก.พ (1996) จำกัด.

ละอองศรี ศิริเกษร. 2558. ผลของการใช้ไคโตซานและแคลเซียมเคลือบผลต่อการหลุดร่วงของผลกล้วยหอมทองระหว่างการสุก. ใน **รายงานวิจัยประจำปี พ.ศ. 2558.** นนทบุรี: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

อนุพันธ์ กงบังเกิด และพันธิตรา กมล. 2549. ศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงกระเจียวขาว. **NU Science Journal**, 2(2), 183-201.

อภิชาติ ศรีสอาด และพัชรี สำโรงเย็น. ม.ป.ป. **การปลูกผักหวานป่านอกฤดู**. สมุทรสาคร: สำนักพิมพ์นาคา อินเตอร์-มีเดียร์ จำกัด.

อรพิน เสละคร. 2557. ผลของ BA และ IBA ต่อการเพิ่มปริมาณหน่อและการออกรากของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ. **ราชภัฏเพชรบูรณ์สาร**, 16(1), 86-93.

อินทร์ธัชว์ ศรีบุตต์, วีรยุทธ สีหานู และอนันต์สิทธิ์ มีเพียร. 2558. ผลของอัตราไคโตซานที่ผสมกับดินปลูกต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศในถาดหลุมเพาะ.**วารสารแก่นเกษตร**, 43(ฉบับพิเศษ 1), 907-910.

Anderson, M. M., Nereu, A. S., Erin, E. B. & Ellen, T. P. 2009. Gibberellin Acid promotes seed Germination in *Penstemon* digitalis cv. Husker Red. **HortScience**, 44(3), 870-87.

Ansar, A., Touqeeer, A., Nadeem, A. A. & Ishfaq, A. H. 2009. Effect of different concentrations of auxins on in vitro rooting of olive cultivar Moraiolo. **Pakistan Journal of Botany**, 41(3), 1223-1231.

Bachelard, B. E. 1968. Effects of seed treatments with gibberellic acid on subsequent

growth of some Eucalypt seedlings. **New Phytol.**, 67, 595-604.

Guan, Y., HU, J., Wang, X. & Shao, C. 2009. **Journal Zhejiang University Science B**, 10(6), 427-433.

Thakur, A. & Kanwar, J. S. 2008. Micropropagation of 'Wild pear' *Pyrus pyrifolia* (Burm F.) Nakai. II. Induction of Rooting. **Not. Bot. Hort. Agrobot**. Cluj., 36(2), 104-111.

Hameed, A., Sheikh, M. A., Hameed, A., Farooq, T., Basra, S. M. A. & Jamil, A. 2014. Chitosan seed priming improves seed germination and seedling growth in wheat *(Triticum aestivum* L.) under osmotic stress induced by polyethylene glycol. **The Philippine Agricultural Scientist**, 97(3), 294-299..

Pawłowska, B. 2011. The effect of BA and GA_3 on the shoot multiplication of *in vitro* cultures of Polish wild roses. **Folia Horticulturae**, 23(2), 145-149.

Rehman, H. U., Gill, M. I. S., Sidhu, G. S. & Dhaliwal, H. S. 2014. Micropropagation of Kainth (*Pyrus pashia*) an important rootstock of pear in northern subtropical region of india. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, 2(2), 188-196.

Reza, A. G., Gonbad Uma, R. S., Maheran, A. A. & Rosfarizan, M. 2014. Influence of Cytokinins in Combination with GA_3 on Shoot Multiplication and Elongation of Tea Clone Iran 100. **The Scientific World Journal**, 2014, 1-9.

San José, M. C., Romero, L. & Janeiro, L. V. 2012. Effect of Indole-3-butyric acid on root formation in *Alnus glutinosa* microcuttings. **Silva Fennica**, 46(5), 643–654.

Sirigiri, C. K., Kokkanti, M. & Naragani, K. 2014. An efficient protocol devised for rapid callus induction from leaf explants of *Canthium parviflorum* Lamk. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Reseach**, 25(1), 111-113.

Wang, G. Y., Yuan, M. F. & Hong, Y. 2002. In vitro flower induction in roses. In Vitro Cellular **Developmental Biology-Plant,** 38(5), 513-518.

ต้นฉบับไม่มีหน้านี้

ภาพผนวก

1. • ผลระยะสุกแก่ (เปลือกผลสีเหลือง) เดือนเมษายน-พฤษภาคม

2. • แกะเนื้อผลออกและล้างน้ำให้สะอาด

3. • เพื่อผึ่งเมล็ดในที่ร่มให้แห้ง (ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน)

4. • กระตุ้นการงอกเมล็ดด้วยการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 1,000 mg/l (ใช้เวลา 12 ชั่วโมง)

5. • เพาะเมล็ดในทราย โดยฝังกลบเมล็ดให้ลึก 2 เซนติเมตร

6. • เมล็ดเริ่มงอกรากที่ 7 วันหลังเพาะเมล็ด

7. • เมล็ดเริ่มงอกยอดที่ 30 วันหลังเพาะ

ภาพผนวก 1 ขั้นตอนการกระตุ้นการงอกและการเพาะเมล็ดผักหวานป่า

1. • ฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดผักหวานป่า ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 10 % (v/v) เป็นเวลา 15 นาที และความเข้มข้น 5 % (v/v) เป็นเวลา 10 นาที

2. • ล้างเมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง

3. • เลี้ยงคัพภะลงอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญ เป็นระยะเวลา 30 วัน

4. • ตัดยอดที่มีขนาดความยาว 1 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหาร MS + 1 mg/l BA

5. • ตัดย้ายชิ้นส่วนยอดลงอาหารใหม่ทุก 2 เดือน ในอาหาร MS + 1 mg/l BA (เพิ่มปริมาณยอดเฉลี่ย 5.44 ยอด)

ภาพผนวก 2 ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดผักหวานในสภาพปลอดเชื้อ

1. • ฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดผักหวานป่า ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 10 % (v/v) เป็นเวลา 15 นาที และความเข้มข้น 5 % (v/v) เป็นเวลา 10 นาที

2. • ล้างเมล็ดด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง

3. • เลี้ยงคัพภะลงอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญ เป็นระยะเวลา 30 วัน

4. • ตัดส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงตามขวางเป็นชิ้นส่วนขนาดความหนา 1 มิลลิเมตร วางบนอาหาร MS + 2.5 mg/l BAP เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส (ใช้ระยะเวลา 30 วัน)

5. • ย้ายชิ้นที่เกิดแคลลัสลงอาหารใหม่ทุก 1 เดือน ในอาหาร MS + 2.5 mg/l BA เพื่อชักนำให้เกิดยอด

6. • ตัดย้ายชิ้นส่วนยอดลงอาหารใหม่ทุก 2 เดือน ในอาหาร MS + 1 mg/l BA (เพิ่มปริมาณยอดเฉลี่ย 5.44 ยอด)

ภาพผนวก 3 ขั้นตอนการชักนำแคลลัสและยอดผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	Miss Phonekeo Anousack	
เกิดเมื่อ	8 กุมภาพันธ์ 2525	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2543	มัธยมศึกษาตอนปลายชัยบูลี
	พ.ศ. 2554	ปริญญาตรี สาขาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุพานุวงศ์ สาธารณรัฐ ประชาธิปไตย ประชาชนลาว
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2555-ปัจจุบัน	อาจารย์ที่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุพานุวงศ์ สาธารณรัฐ ประชาธิปไตย ประชาชนลาว
	อีเมล	phonekeo82@hotmail.com