



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 24 ฉบับที่ 2 มิถุนายน 2551

การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องจันตรมรดกและสีทนกล

อมรพรรณ พุปัญญา และฉันทนา สุวรรณธาดา.....81

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินว่านจูงนาง

อมรรัตน์ ทองแสน ฉันทนา สุวรรณธาดา และพรรัตน์ ศิริคำ.....87

สัณฐานวิทยาของเอื้องดิน

บุญปิยธิดา คล่องแคล่ว และฉันทนา สุวรรณธาดา.....93

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยากับการพัฒนาดอกของเอื้องพร้าว

วัชรภรณ์ ชนะเคน และพิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์.....99

การเปรียบเทียบผลผลิตของชมพู่พันธุ์ทับทิมจันทร์ในระบบรูปทรงต้น 4 แบบ

ด้วยการปลูกกระยะชิดในสองปีของการให้ผลผลิต

กวิศร์ วานิชกุล พนม สุทธิศักดิ์โสภณ และเพททาย กาญจนเกษร.....107

การใช้ความสมดุลธาตุอาหารเพื่อปรับปรุงผลผลิตและคุณภาพของส้มสายน้ำผึ้ง: 2. การประเมิน

ตำแหน่งใบส้มที่เหมาะสมสำหรับการเก็บตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช

ภาวินี จันทวิจิตร ธวัชชัย รัตน์เลิศ และนันทรัตน์ ศุภกานันต์.....117

ผลของสารล้างผิวต่ออายุการเก็บรักษาและคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะนาว

กฤษณชัย คลอดเพ็ง ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข และมณีนีฉัตร นิกรพันธุ์.....125

ผลของโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณสารคลอไรด์ไนโตรเจนในใบและยอดระหว่างการชักนำให้เกิด

ตาดอกของกิ่งตอนลำไยพันธุ์ดอ

เสาวมาลย์ วิจารณ์ และธนะชัย พันธุ์เกษมสุข.....133

ผลของรังสีอัลตราไวโอเลตซี (UV-C) ต่อการกลายพันธุ์ของกลีอกขิเนีย

ยุพภรณ์ ศิริโสม และสมปอง เตชะโต.....141

การใช้ EMS เพื่อชักนำการกลายพันธุ์ในกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร

ศิริกัญญา ม่วงสอน และสมปอง เตชะโต.....153

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ตีพิมพ์

บทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ

การเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษา เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ

2. การพิมพ์ พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษขนาด A 4 ด้วย ไมโครคอมพิวเตอร์โปรแกรม ไมโครซอฟท์เวิร์ด ตัวอักษร Cordia new ขนาด 14 ตัวอักษรต่อนิ้ว ความยาวไม่ควรเกิน 10 หน้า (รวมบทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ)

3. การเรียงลำดับเนื้อหา

3.1 ชื่อเรื่อง (Title) ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

3.2 ชื่อผู้เขียนและที่อยู่ เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

3.3 บทคัดย่อ (Abstract) ควรเป็นเนื้อหาที่สั้น ชัดเจนและเข้าใจง่าย โดยรวมเหตุผลในการศึกษาวิจัย อุปกรณ์ วิธีการ ตลอดจนผลการศึกษาและสรุปด้วย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ควรเกิน 200 คำ และให้ระบุคำสำคัญ (keywords) ไว้ท้ายบทคัดย่อแต่ละภาษาด้วย (บทความปริทัศน์อาจไม่ต้องมีบทคัดย่อ)

3.4 คำนำ (Introduction) แสดงความเป็นมาและเหตุผลที่นำไปสู่การศึกษาวิจัย อาจรวมการทบทวนเอกสาร (Review of Literature) และวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยได้ด้วย

3.5 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ให้อธิบายละเอียดวัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ ตลอดจนวิธีและแบบจำลองการศึกษาวิจัยที่ชัดเจน และสมบูรณ์

3.6 ผลการศึกษาหรือผลการทดลอง (Results) ให้บรรยายผลการศึกษาวิจัย พร้อมเสนอข้อมูลในรูปแบบ ตารางหรือภาพประกอบได้ โดยตารางหรือภาพ ให้จัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด

3.7 วิจารณ์ (Discussion) ควรเชื่อมโยงกับผลการศึกษาว่าสอดคล้องกับสมมติฐาน หรือแตกต่างไปจากผลงานวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่อย่างไรและด้วยเหตุใด โดยมีพื้นฐานการอ้างอิงที่เชื่อถือได้ วิจารณ์อาจนำไปรวมกับผลการศึกษาเป็นผลการศึกษาและวิจารณ์ (Results and Discussion)

3.8 สรุป (Conclusion) ควรสรุปผลที่ได้รับจากการศึกษาวิจัยว่าเป็นไปตามวัตถุประสงค์หรือไม่ พร้อมให้ข้อเสนอแนะ หรือระบุอุปสรรคและแผนงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป

4. กิตติกรรมประกาศ หรือ คำขอบคุณ (Acknowledgement)

อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือในงานวิจัย แต่ไม่ได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

5. เอกสารอ้างอิง (References)

5.1 ในเนื้อเรื่องไม่ควรอ้างอิงถึงเรื่องที่ไม่เกี่ยวข้องหรือห่างไกล ระบบที่ใช้อ้างอิงคือ ระบบชื่อ และปี (Name-and-year System) ในเอกสารภาษาไทย ให้ใช้ชื่อตัวและปี พ.ศ. เช่น สมชาย (2545) รายงานว่า...หรือ...(สมชาย, 2545) หากมีผู้เขียน 2 คน ให้ใช้ชื่อเป็น สมชาย และสมหญิง (2547) รายงานว่า...หรือ...(สมชาย และสมหญิง, 2547) และถ้ามีผู้เขียนตั้งแต่ 3 คนขึ้นไป ให้ใช้ชื่อคนแรกแล้วตามด้วยคำว่า และคณะ เช่น สมชาย และคณะ (2546) รายงานว่า...หรือ...(สมชาย และคณะ, 2546) ในกรณีเอกสารเป็นภาษาอังกฤษ ให้ใช้ชื่อสกุลและปี ค.ศ. เช่น Johny (2003)...หรือ...(Johny, 2003) ถ้าผู้เขียนมี 2 คน ให้ใช้ชื่อเป็น Johny and Walker (2004) ...หรือ...(Johny and Walker, 2004) หากมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้ชื่อเป็น Johny *et al.* (2005)...หรือ...(Johny *et al.*, 2005) สำหรับในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคนห้ามใช้คำว่า และคณะ หรือ *et al.*

5.2 ในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้เรียงลำดับเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษ โดยเรียงตามลำดับอักษรในแต่ละภาษา ตามรูปแบบการเขียนมีดังนี้

1) วารสาร (Journals)

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร (เขียนเต็มหรือย่อก็ได้) ปีที่(ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด.

วันทนา มุทิตา และ ญัฐา ควรประเสริฐ. 2547. เซลล์พันธุศาสตร์และการถ่ายทอดลักษณะของฟิวเซีย. วารสารเกษตร 20(1): 10-18.

Barcenas, N.M., T.R. Unruh and L.G. Neven. 2005. DNA diagnostics to identify internal feeders (Lepidoptera: Tortricidae) of pome fruits of quarantine importance. J. Econ. Entomol. 98(2): 299-306.

2) หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์. เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

จริยา วิสิทธิ์พานิช ชาศรี สิทธิกุล และ ยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2545. โรคและแมลงศัตรูลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง. ธมมวรรณการพิมพ์, เชียงใหม่. 308 หน้า.

Gullan, P.J. and P.S. Cranston. 2005. The Insects: An Outline of Entomology. 3rd ed. Blackwell Publishing, Malden. 505 pp.

3) เรื่องย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณานุกรม

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องย่อ. หน้า เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด. ใน: ชื่อบรรณานุกรม, (บ.ก.) ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์, เมืองที่พิมพ์.

ดำรง เวชกิจ และ สมบูรณ์ ทองสกุล. 2535. เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. หน้า 22-42. ใน: สุวัฒน์ วลัยอารีย์ (บ.ก.). แมลงและศัตรูศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร. ห้างหุ้นส่วนจำกัด โอเดียสแควร์, กรุงเทพฯ.

Kubo, T. 2003. Molecular analysis of the honeybee sociality. pp. 3-20. In: T. Kikuchi, N. Azuma and S. Higashi (eds.). Gene, Behaviors and Evolution of Social Insects. Hokkaido University Press, Sapporo.

4) วิทยานิพนธ์

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. ระดับวิทยานิพนธ์. สถาบันการศึกษา. เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

อภิรักษ์ มณีนพ. 2547. ผลของการใช้อินชอนต่อคุณภาพและสารพิษตกค้างหลังการเก็บเกี่ยวส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 100 หน้า.

5) เอกสารวิชาการอื่นๆ

ชื่อผู้เขียน หรือหน่วยงาน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องหรือชื่อหนังสือ. ประเภทของเอกสาร. สถาบันหรือหน่วยงานที่จัดพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด. ทวีศักดิ์ ชัยภาส. 2544. แมลงศัตรูปลาน้ำจืดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 126 หน้า.

6) สื่ออิเล็กทรอนิกส์

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: ชื่อWebsite (วันเดือนปีที่สืบค้นข้อมูล).

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548. การปลูกผักแบบไม่ใช้ดิน (ไฮโดรโปนิกส์). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.doe.go.th/proster/nondin/html> (21 เมษายน 2548).

Linardakis, D.K. and B.I. Manolis. 2005. Hydroponic culture of strawberries in perlite. (Online). Available: <http://www.schundler.com/strawberries.htm> (April 21, 2005).

การส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์

ให้ส่งต้นฉบับ 1 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล โดยส่งถึง บรรณานุกรมวารสารเกษตร งานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

ผู้จัดพิมพ์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Publisher	Faculty of Agriculture, Chiang Mai University
กำหนดการพิมพ์	วารสารราย 4 เดือน (3 ฉบับ/ปี)	Publication	Tri-annually
วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่วิทยาการด้านการเกษตร และสาขาที่เกี่ยวข้อง	Objective	To disseminate academic knowledge in agriculture and related fields
ที่ปรึกษา	คณบดีคณะเกษตรศาสตร์ รองคณบดีฝ่ายวิจัยและวิเทศสัมพันธ์	Consultants	Dean, Faculty of Agriculture Associate Dean for Research and International Relations Affairs
บรรณาธิการ	รศ. ศุภศักดิ์ ลิมปิติ	Editor	Supasark Limpiti, Assoc. Prof.
รองบรรณาธิการ	รศ. ดร. ไสว บุรณพานิชพันธุ์	Vice Editor	Sawai Buranapanichpan, Ph.D., Assoc. Prof.
กองบรรณาธิการ	รศ. ไพฑูรย์ รอดวินิจ	Editorial Board	Paitoon Rodvinij, Assoc. Prof.
ฝ่ายวิชาการ	รศ. ดร. บุญล้อม ชีวะอิสระกุล	(Academic)	Boonlom Cheva-Isarakul, Dr. Agr, Assoc. Prof.
	รศ. ดร. สมบัติ ศรีชูวงศ์		Sombat Srichuwong, Ph.D., Assoc. Prof.
	ผศ. วราภา คุณาพร		Warapa Kunaporn, Assist. Prof.
	รศ. ถนอม คลอดเพ็ง		Thanom Klodpeng, Assoc. Prof.
	รศ. ดร. ธวัชชัย รัตนซ์เลศ		Tavatchai Radanachaless, Dr. Agr., Assoc. Prof.
กองบรรณาธิการ	นางสาววิไลพร ธรรมตา	Editorial Board	Vilaiporn Thammata
ฝ่ายการจัดการ	นางสาวกมลวรรณ มโนแก้ว	(Management)	Kamonwan Manokaew
	นางสาวนพวรรณ นุบุญมา		Noppawan Nuboonma
	นางชโรชนีชัย ชัยมินทร์		Charochinee Chaimin
	นายกานต์ คงบรรทัด		Karn Khongbanthat
สำนักงานและ การติดต่อ	กองบรรณาธิการวารสารเกษตร งานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200 โทร. 0 5394 4089-92 ต่อ 11 โทรสาร 0 5394 4666 E-mail: agjournal@chiangmai.ac.th	Office and Inquiries	Editorial Board, Journal of Agriculture, Research and International Relations, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand Tel: 0 5394 4089-92 Fax: 0 5394 4666 E-mail: agjournal@chiangmai.ac.th
การขอรับ เป็นสมาชิก	ขอรับเป็นสมาชิกได้จากใบขอ รับเป็นสมาชิกท้ายเล่ม หรือติดต่อ กองบรรณาธิการโดยตรง	Membership	Apply through the membership form as attached herewith or contact directly to the Editorial Board
กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไข บทความที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร			The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for publishing

พิมพ์ที่โรงพิมพ์: ดาวคอมพิวกราฟิก 14 ถ. ศรีมังคลาจารย์ ซอยสายน้ำผึ้ง ต. สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50200 โทร. 08 6654 7376, 0 5388 1097

บทบรรณาธิการ

วารสารฉบับที่ 24(2) ประจำเดือน มิถุนายน-กันยายน 2551 สามารถออกตามกำหนดตามที่กองบรรณาธิการวารสารตั้งเป้าหมายไว้ ทั้งนี้ ก็ด้วยความร่วมมือจากผู้เขียน ที่ช่วยกันส่งเรื่องเข้ามา และผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน ที่ช่วยตรวจแก้ไขทันตามระยะเวลาการออกวารสาร จึงต้องขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

วารสารฉบับที่ 24(2) นี้ มีบทความจำนวน 10 เรื่อง ส่วนมากเป็นบทความวิชาการด้านพืชสวน แต่ในฉบับต่อไป คาดว่าจะมีบทความในสาขาวิชาอื่น ๆ ด้านเกษตรศาสตร์ส่งเข้ามาเพิ่มมากขึ้น ปัญหาของการออกวารสารให้ตรงเวลามักจะอยู่ที่การคอยเรื่องที่จะส่งมาลง ถ้ามีเรื่องส่งมาน้อย วารสารก็จะออกช้า เมื่อวารสารออกช้า ผู้เขียนก็จะไม่นิยมส่งเรื่องไปลง เป็นผลให้การออกวารสารช้าไปอีก วนเวียนเป็นวงจรเช่นนี้ ดังนั้น เราท่านทั้งหลายคงต้องร่วมมือกัน เพื่อรักษาวารสารทางวิชาการดี ๆ ให้ดำรงอยู่ได้ และเพื่อเป็นการยกระดับมาตรฐานทางวิชาการไปด้วย เนื่องจากวารสาร เป็นช่องทางสำคัญช่องทางหนึ่ง ที่จะทำให้นักวิชาการมีการเผยแพร่และแลกเปลี่ยนความรู้ระหว่างกัน

วารสารฉบับถัดไป คือฉบับที่ 24(3) มีกำหนดออกในเดือนตุลาคม 2551 นักวิจัยที่ประสงค์จะส่งบทความลงตีพิมพ์ เตรียมตัวล่วงหน้าได้แล้วครับ รีบส่งบทความแต่เนิ่น ๆ เพราะ การตรวจแก้บทความจากผู้ทรงคุณวุฒิ จะการจัดพิมพ์ต้องใช้เวลาระยะหนึ่ง หากท่านมีเวลาจำกัด (เช่นนักศึกษาบัณฑิตศึกษา) การส่งบทความกระชั้นกับกำหนดการออกวารสาร อาจทำให้ท่านพลาดการลงตีพิมพ์ได้

อนึ่ง ขอเรียนแจ้งข่าวเพิ่มเติมว่า ขณะนี้กองบรรณาธิการ กำลังปรับปรุง website ของวารสาร เพื่ออำนวยความสะดวกให้ท่านติดตามความคืบหน้าของการส่งบทความมาตีพิมพ์ และบริการอื่น ๆ สำหรับสมาชิกและผู้สนใจ คาดว่าจะให้บริการได้ในเวลาไม่นานนี้ เข้าไปดูได้ที่ www.agri.cmu.ac.th และคลิกที่ link วารสารเกษตร หากมีข้อติชมอย่างไร ส่งมาได้ทั้งที่กองบรรณาธิการ ผ่าน e-mail ของวารสารครับ

พบกันใหม่ฉบับหน้า

ศุภศักดิ์ ลิ้มปิติ

บรรณาธิการ

การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องจัตรมรกตและสิกุลคล

Chromosome Investigation of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie and *Malaxis latifolia* J. E. Sm.

อมรพรรณ ฟุปัญญา^{1/} และ จันทนา สุวรรณธาดา^{1,2/}

Amornphan Fupunya^{1/} and Chuntana Suwanthada^{1,2/}

Abstract: Root-tip chromosome investigations were carried out in *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie and *Malaxis latifolia* J. E. Sm., aiming at finding suitable durations of root-tip sampling, pre-treatment and staining. It was found that suitable times of root-tip sampling were at 11.00 am in *L. siamensis* and 7.00 am in *M. latifolia* while that of pre-treatment was 1 hour and 1 hour 30 minutes in *L. siamensis* and *M. latifolia* respectively. As for staining, the duration was best at 30 minutes in both species. Chromosome counts revealed $2n = 42$ in *L. siamensis* and $2n = 40$ in *M. latifolia*.

Keywords: *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie, *Malaxis latifolia* J. E. Sm., chromosome

บทคัดย่อ: ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องจัตรมรกตและสิกุลคลจากเนื้อเยื่อปลายรากโดยการหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายราก การหยุดวงจรเซลล์ และความยาวนานในการย้อมสี ผลปรากฏว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายรากของเอื้องจัตรมรกตคือเวลา 11.00 น. ของสิกุลคลคือเวลา 7.00 น. การหยุดวงจรเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับเอื้องจัตรมรกตคือการใช้ระยะเวลา 1 ชั่วโมง ในขณะที่สิกุลคลเป็น 1 ชั่วโมง 30 นาที ในการย้อมสีปลายรากนั้น การย้อมสีนาน 30 นาทีให้ผลดีที่สุดทั้งในเอื้องจัตรมรกตและสิกุลคล และจากผลการนับจำนวนโครโมโซมพบว่า เอื้องจัตรมรกตมีจำนวนโครโมโซม $2n = 42$ และสิกุลคล $2n = 40$

คำสำคัญ: เอื้องจัตรมรกต สิกุลคล โครโมโซม

^{1/}ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{2/}ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ 50220

^{1/}Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^{2/}Huai Hong Khrai Royal Development Study Centre, Doi Saket, Chiang Mai 50220, Thailand

คำนำ

กล้วยไม้ดินสกุล *Liparis* และสกุล *Malaxis* ที่พบในป่าทางภาคเหนือของประเทศไทยมีหลายชนิด ส่วนใหญ่พบเจริญเติบโตในพื้นที่ลาดชันบนภูเขาสูง โดยเฉพาะสกุล *Liparis* มักพบในบริเวณที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 1,000 เมตรขึ้นไป (อบจันท์, 2544) กล้วยไม้ดินดังกล่าวในชนิดเอื้องฉัตรมรกต (*L. siamensis* Rolfe ex Downie) และสีกันคล (*M. latifolia* J. E. Sm.) เป็นชนิดที่พบเจริญเติบโตในพื้นที่เสี่ยง กล่าวคือ ในพื้นที่ลาดชันของภูเขาสูงที่มีการชะล้างพังทลายของดินค่อนข้างสูง จึงได้มีการเก็บรวบรวมจากพื้นที่เจริญเติบโตในธรรมชาติมาอนุรักษ์พันธุ์กรรมไว้ที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ และได้มีการศึกษาลักษณะของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดนี้ การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ทั้งสองเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาลักษณะดังกล่าว เพื่อได้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาต่อเนื่องต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกต (ภาพที่ 1) และสีกันคล (ภาพที่ 2) จากเซลล์ของเนื้อเยื่อปลายรากด้วยวิธี Feulgen's squash ดัดแปลงโดยดวงทิพย์ (2539) ทดสอบการเก็บตัวอย่างปลายรากของพืชทดลองในเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00 และ 11.00 น. หยดวงซีฟของเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene (PDB) ที่อิ่มตัวในน้ำเป็นเวลา 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 1 ชั่วโมง 30 นาที, 2, 3 และ 5 ชั่วโมง หยดการทำงานของเซลล์ โดยแช่ในน้ำยาคาร์บอนนาน 5 นาที ย่อยแยกเซลล์ด้วย 1 N HCl ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที ย้อมสีเนื้อเยื่อใน carbol fuchsin นาน 30 นาที, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ขยี้ปลายรากแล้วศึกษาเซลล์ใต้กล้องจุลทรรศน์

ผลการศึกษา

การเก็บตัวอย่างราก

เนื้อเยื่อปลายรากของเอื้องฉัตรมรกตและสีกันคลที่เก็บตัวอย่างมาทดสอบในทุกช่วงเวลาที่กำหนดนั้นเนื้อเยื่อในทุกกรรมวิธีมีเซลล์ที่แบ่งตัวในระยะเมตาเฟส โดยเนื้อเยื่อของเอื้องฉัตรมรกตที่เก็บมาในเวลา 11.00 น. มีจำนวนเซลล์ที่แบ่งตัวในระยะเมตาเฟสมากที่สุด ส่วนของสีกันคลเป็นเวลา 7.00 น. ดังแสดงเซลล์ที่มีโครโมโซมอยู่ในระยะดังกล่าวไว้ใน ภาพที่ 3

การหยดวงซีฟเซลล์

เซลล์ของเอื้องฉัตรมรกตในกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธี 30 นาทีที่มีโครโมโซมที่ยังไม่หดตัว เมื่อเพิ่มเวลาการหยดวงซีฟเป็น 1 ชั่วโมง พบว่าได้เซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นและกระจาย ส่วนการเพิ่มระยะเวลาให้นานขึ้นเป็น 2, 3 และ 5 ชั่วโมง ทำให้โครโมโซมหดสั้นเกินไปจนมีลักษณะเกือบเป็นจุดดังเห็นได้จาก ภาพที่ 4

เซลล์ของสีกันคลที่ไม่ผ่านการหยดวงซีฟมีโครโมโซมอยู่ในลักษณะเป็นเส้นยาว เมื่อผ่านการหยดวงซีฟเป็นเวลานาน 30 นาทีและ 1 ชั่วโมง พบว่าโครโมโซมหดสั้นลง เมื่อเพิ่มเวลาให้เป็น 1 ชั่วโมง 30 นาที ได้เซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น กระจาย ส่วนการเพิ่มระยะเวลานานขึ้นเป็น 2, 3 และ 5 ชั่วโมง พบว่าโครโมโซมหดสั้นเกินไปดังแสดงใน ภาพที่ 5

การย้อมสีโครโมโซม

การย้อมสีโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกตและสีกันคลในทุกกรรมวิธี ให้เซลล์ที่มีโครโมโซมติดสีเข้มสม่ำเสมอและเห็นชัดเจน ดังแสดงใน ภาพที่ 6 และ ภาพที่ 7

จำนวนโครโมโซม

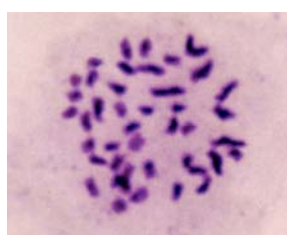
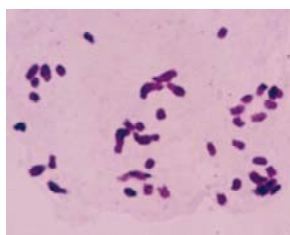
จากการนับโครโมโซมพบว่าเอื้องฉัตรมรกตมีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n = 42$ และสีกันคลมี $2n = 40$ (ภาพที่ 8)



Figure 1 Inflorescence of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie.



Figure 2 Inflorescence of *Malaxis latifolia* J. E. Sm.



Liparis siamensis Rolfe ex Downie *Malaxis latifolia* J. E. Sm.

Figure 3 Root-tip cells at metaphase.

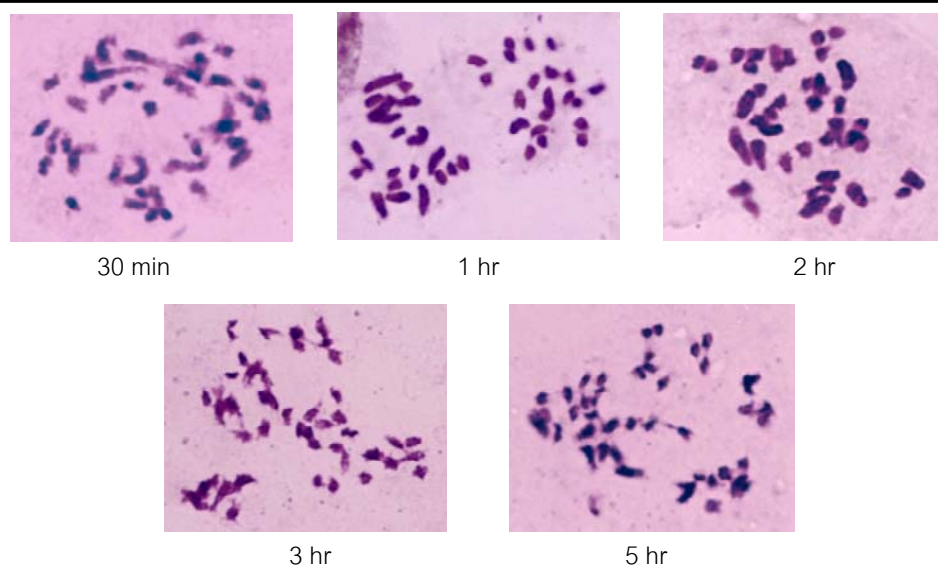


Figure 4 Root-tip chromosomes of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie pretreated at different durations.

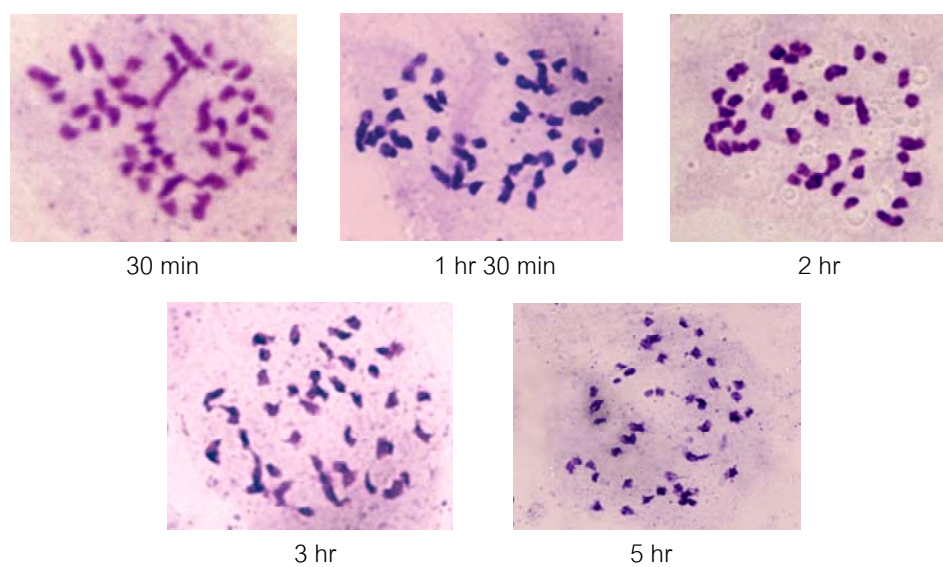


Figure 5 Root-tip chromosomes of *Malaxis latifolia* J. E. Sm. pretreated at different durations.

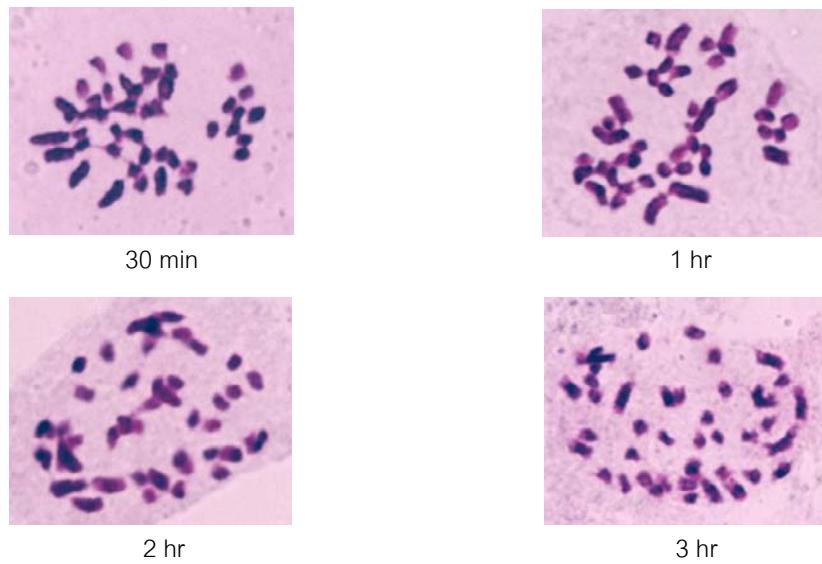


Figure 6 Root-tip chromosomes of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie from different staining durations.

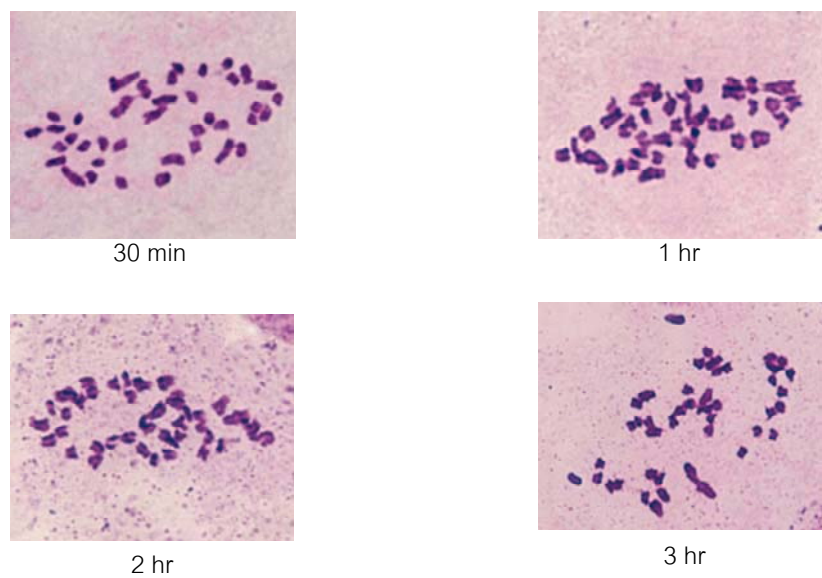
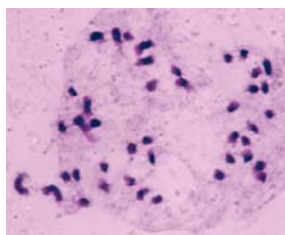


Figure 7 Root-tip chromosomes of *Malaxis latifolia* J. E. Sm. from different staining durations.



Liparis siamensis Rolfe ex Downie
 $2n = 42$



Malaxis latifolia J. E. Sm.
 $2n = 40$

Figure 8 Somatic chromosomes.

วิจารณ์

เทคนิคที่ได้จากการศึกษาโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกตและสีกุลคลครั้งนี้เป็นประโยชน์ในการใช้ศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาร์ิโอไทป์ของกล้วยไม้ทั้งสองชนิดที่กระจายพันธุ์ในสภาพทางนิเวศวิทยาที่แตกต่างกันและสามารถนำไปดัดแปลงใช้กับ *Liparis* และ *Malaxis* ชนิดอื่นๆ ด้วยเพื่อประโยชน์ในการใช้จำนวนโครโมโซมเป็นข้อมูลเสริมเพื่อช่วยในการวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชในกลุ่มดังกล่าวหรือเพื่อประโยชน์ในการวางแผนการผสมพันธุ์ข้ามชนิดในกลุ่มพืชเหล่านั้น

สรุป

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้เทคนิคที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกตและสีกุลคลตามวิธีการยี้เซลล์ โดยที่เอื้องฉัตรมรกตนั้นเก็บตัวอย่างปลายรากในเวลา 11.00 น. หยดวุ้นซีพเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ย้อมสีนาน 30 นาที ส่วนสีกุลคล

เก็บตัวอย่างปลายรากในเวลา 7.00 น. หยดวุ้นซีพเซลล์นาน 1 ชั่วโมง 30 นาที และย้อมสีนาน 30 นาที จากการนับจำนวนโครโมโซมของพืชทดลองทั้งสองพบว่า เอื้องฉัตรมรกตมีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n = 42$ และสีกุลคลมี $2n = 40$

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่สนับสนุนงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ดวงทิพย์ วิทย์ศักดิ์. 2539. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยาและเซลล์วิทยาของว่านสีทิศ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 105 หน้า.
- อบฉันท ไททอง. 2544. กล้วยไม้เมืองไทย. อัมรินทร์พรินต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 461 หน้า.

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินว่านจูงนาง

Isozyme Pattern Investigation of *Geodorum* spp.

อมรรัตน์ ทองแสน^{1/} จันทนา สุวรรณธาดา^{1,2/} และ พรรัตน์ ศิริคำ^{1,2/}
Amonrat Thongsan^{1/}, Chuntana Suwanthada^{1,2/} and Pornrat Sirikhum^{1,2/}

Abstract: Isozyme patterns of 7 ecotypes of *Geodorum* collected from Khun Mae Kwang National Reserved Forest were investigated via polyacrylamide gel electrophoresis technique using four enzyme systems, i.e. acid phosphatase, esterase, peroxidase and superoxide dismutase. Cluster analysis (UPGMA) of the band patterns could allocate 4 different groups of *Geodorum* relevant to 4 different ecotypes. Other 3 ecotypes could not be clearly separated since similarity, at the level of 20 %, occurred in some populations of different ecotypes.

Keywords: *Geodorum* spp., isozyme pattern

บทคัดย่อ: ศึกษาแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ว่านจูงนางที่รวบรวมจากพื้นที่ในเขตป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่งวง จำนวน 7 อีโคไทป์ ด้วยวิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยศึกษาในระบบเอนไซม์ 4 ระบบ คือ acid phosphatase, esterase, peroxidase และ superoxide dismutase แล้วนำแถบสีที่ปรากฏมาวิเคราะห์ด้วยวิธี UPGMA cluster analysis เพื่อจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าสามารถจัดกลุ่มว่านจูงนางออกได้เป็น 4 กลุ่ม อย่างชัดเจนตามอีโคไทป์ แต่อีก 3 กลุ่มมีความใกล้ชิดกันของประชากรบางต้นในอีโคไทป์ที่ต่างกัน

คำสำคัญ: ว่านจูงนาง รูปแบบไอโซไซม์

^{1/}ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{2/}ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ 50220

^{1/}Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^{2/}Huai Hong Khrai Royal Development Study Centre, Doi Saket, Chiang Mai 50220, Thailand

คำนำ

ว่านจูงนางเป็นกล้วยไม้ดินสกุล *Geodorum* พบในป่าผลัดใบ ป่าดงดิบ (สลิล และ นฤมล, 2545) ป่าผลัดใบขึ้นป่าดิบเขา (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2543) และ ป่าดิบชื้นทั่วไปของประเทศไทย (อบจันท์, 2544) จากการสำรวจว่านจูงนางในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่งวง พบว่ากล้วยไม้สกุลนี้มีควมหลากหลาย ในลักษณะทางสัณฐานวิทยา นอกจากนี้ ศลิษา และคณะ (2548) ได้นำว่านจูงนางดังกล่าวจำนวน 2 อีโคไทป์ มาศึกษาในรูปแบบไอโซไซม์ด้วยวิธีโพลีอครีลาไมด์ เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส พบว่า วิธีการดังกล่าวสามารถแยกความแตกต่างของต้นพืชออกเป็นกลุ่มได้อย่างชัดเจน จึงน่าจะนำวิธีการดังกล่าวมาศึกษาในอีโคไทป์อื่น ๆ ที่มีความแตกต่างกันในลักษณะทางสัณฐานและพฤติกรรม การเจริญเติบโต เพื่อประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลเสริมเพื่อการจำแนกชนิดและจำแนกพันธุ์ของกล้วยไม้ดินสกุลนี้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินว่านจูงนางจำนวน 7 อีโคไทป์ คือ GE01, GE02, GE03, GE04, GE05, GE06 และ GE07 ซึ่งเป็นอีโคไทป์ที่ปลูกเลี้ยงไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์กล้วยไม้ของศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้เทคนิคโพลีอครีลาไมด์ เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ดัดแปลงโดย พสุ (2546) และ เพิ่มพงษ์ (2531)

สกัดโปรตีนจากใบของพืชทดลองอีโคไทป์ละ 5 ต้น (1-5) ตันละ 0.5 กรัม สารสกัดประกอบด้วย Tris-HCl pH 7 0.2 โมล 3 มิลลิตร (มล.) EDTA 0.5 โมล 0.06 มล. polyvinylpyrrolidone-10 0.5 กรัม dithiothreitol 0.5 โมล 0.12 มล. และ β -mer-captoethanol 14.3 โมล 21 ไมโครลิตร

เอนไซม์ที่ใช้ทดสอบมี 4 ระบบ คือ acid phosphatase (ACP), esterase (EST), peroxidase

(POX) และ super-oxide dismutase (SOD) สีที่ใช้ย้อม คือ 0.05 M acetate buffer pH 4.8, fast garnet GBC disodium salt, disodium α -naphthyl acid phosphatase, 0.1 M phosphate-buffer pH 6.0, fast blue B salt, α -naphthyl acetate, 0.1 M Tris-buffer pH 4, 3-amino-9-ethylcarbazole, β -naphthol 3% H_2O_2 , 0.05 M sodium phosphate buffer pH 7.5, 4-nitro bluetetra- zoliumchloride, dithiothreitol, TEMED, และ riboflavin หาค่าระยะทางการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf) จากเจลที่ย้อมสีแล้ว เขียนแผนภาพไซโมแกรม และวิเคราะห์กลุ่มตัวอย่างหาค่าความสัมพันธ์จากแถบสีด้วย UPGMA cluster analysis ตามวิธีการของ Jaccard's similarity coefficient โดยใช้โปรแกรม SPSS

ผลการศึกษา

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์จากระบบเอนไซม์ 4 ระบบ คือ ACP, EST, POX และ SOD ในกล้วยไม้ว่านจูงนาง 7 อีโคไทป์ 35 ตัวอย่าง พบว่ามีการแสดงออกของเอนไซม์ทั้ง 4 ระบบ อย่างชัดเจน โดย ACP แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน 24 รูปแบบ มีค่า Rf ระหว่าง 0.24-0.37 (ภาพที่ 1A) EST แสดง 23 รูปแบบมีค่า Rf ระหว่าง 0.27-0.78 (ภาพที่ 1B) POX แสดง 16 รูปแบบ มีค่า Rf ระหว่าง 0.03-0.46 (ภาพที่ 1C) และ SOD แสดง 26 รูปแบบ มีค่า Rf ระหว่าง 0.03-0.84 (ภาพที่ 1D)

เมื่อวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 4 ระบบ จัดกลุ่มการกระจายตัวตามการเกิดและไม่เกิดแถบสีแล้ว เขียนแผนภาพเดนโดรแกรม (ภาพที่ 2) พบว่าที่ค่าความคล้ายคลึงกัน 20 % สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างพืชทดลองออกได้เป็นกลุ่มย่อย 8 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 GE04 (1-5) กลุ่มที่ 2 GE03 (1-5) กลุ่มที่ 3 GE02 (4-5) กลุ่มที่ 4 GE01 (1-5) และ GE02 (1-3) กลุ่มที่ 5 GE05 (1-5) และ GE06 (1) กลุ่มที่ 6 GE07 (1-5) กลุ่มที่ 7 GE06 (2-4) กลุ่มที่ 8 GE06 (5)

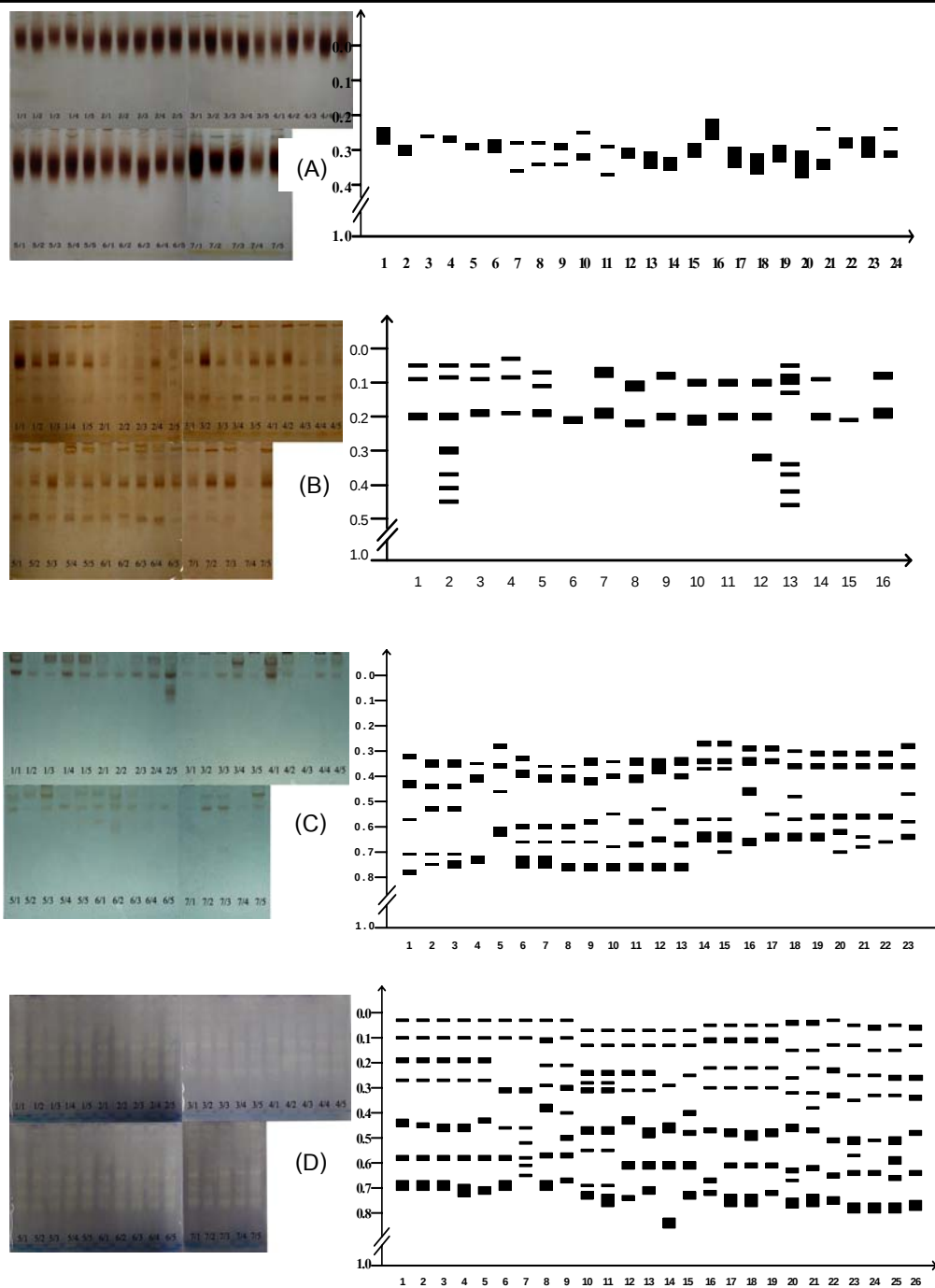


Figure 1 Banding patterns and zymograms of enzyme ACP (A), EST (B), POX (C) and SOD (D).

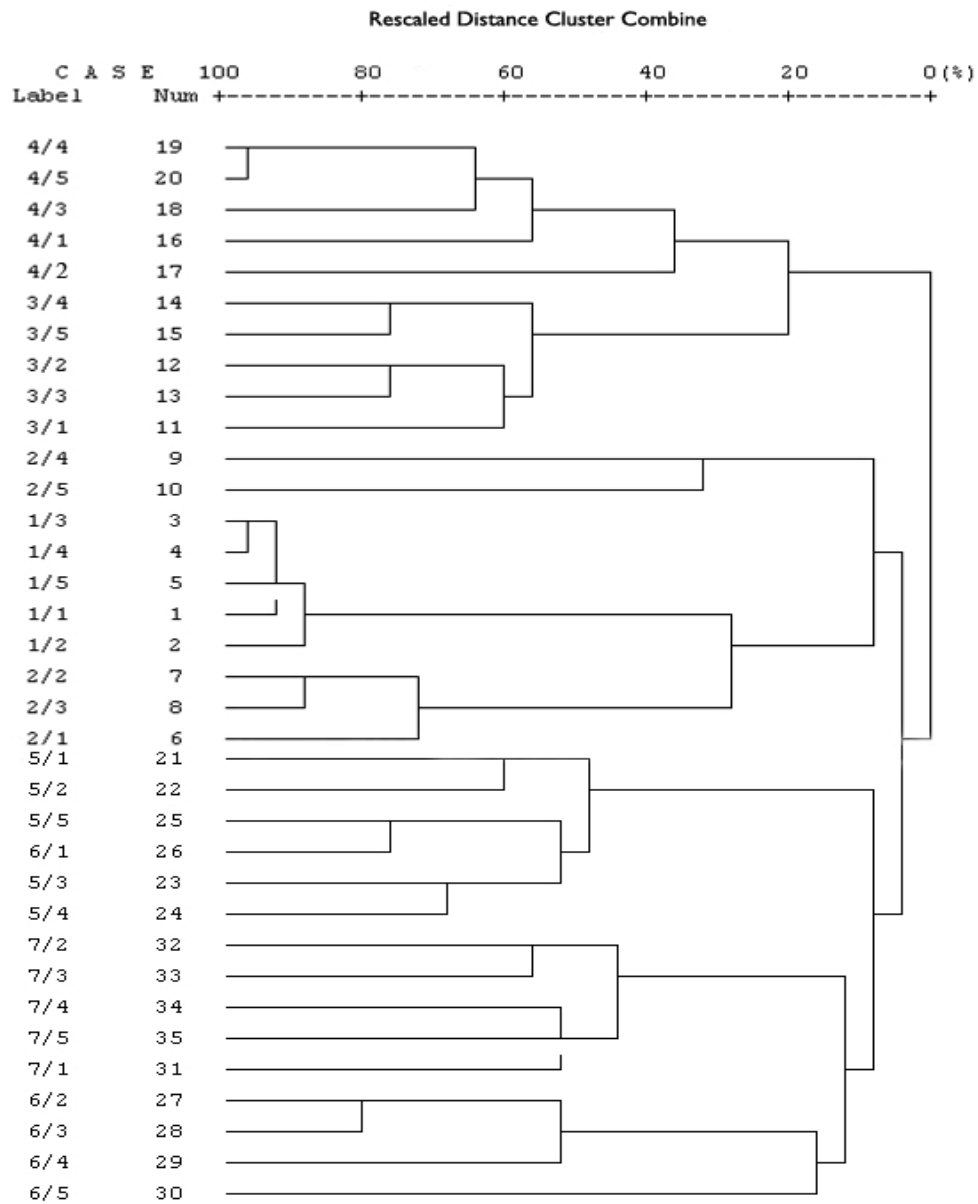


Figure 2 Dendrogram showing genetic relationship of *Geodorum* populations.

วิจารณ์

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินว่านจูงนาง 7 อีโคไทป์ ด้วยระบบเอนไซม์ ACP, EST, POX และ SOD พบว่า ปรากฏแถบสีของไอโซไซม์ที่ชัดเจนและมีรูปแบบที่แตกต่างกันมาก ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างแล้ว พบว่าที่ค่าความคล้ายคลึงกัน 20 % สามารถแยกกลุ่มของพืชทดลองออกได้เป็น 8 กลุ่ม โดยมีเพียง 4 กลุ่มที่แยกออกแล้วสอดคล้องกับการแยกกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน คือกลุ่มของ GE01, GE03, GE04 และ GE07 ส่วนอีก 4 กลุ่มนั้น พบว่ากลุ่มที่มีจำนวนประชากรมากกว่ากลุ่มอื่นคือ กลุ่มที่มี GE01 เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมีประชากรของ GE02 รวมอยู่ด้วย 3 ต้น ส่วนกลุ่มที่มีประชากรมากถัดไปคือกลุ่มที่มี GE05 5 ต้น และมี GE06 อยู่ 1 ต้น ทำให้ประชากรของ GE06 ที่ยังคงเป็นกลุ่มเดียวกันโดยระบบไอโซไซม์เหลือเพียง 4 ต้น ส่วน GE02 อีก 2 ต้นนั้นรูปแบบไอโซไซม์แยกออกไว้เป็นอีกกลุ่มต่างหาก โดยมีประชากรของกลุ่มน้อยที่สุด ซึ่งจากผลการทดลองนี้พอจะกล่าวได้ว่าการแยกกลุ่มว่านจูงนางโดยใช้รูปแบบไอโซไซม์สามารถแยกได้สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานของพืชในระดับหนึ่ง นอกจากนี้ยังพบว่าการแยกกลุ่มโดยใช้โปรตีนจากใบสามารถแสดงความผันแปรที่อาจจะมีในประชากรที่อยู่ในอีโคไทป์เดียวกัน

สรุป

จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ 4 ระบบ คือ ACP, EST, POX, และ SOD พบว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถแบ่งกลุ่มพืชทดลองโดยสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานออกได้เป็น 4 กลุ่ม และยังคงแสดงความคล้ายคลึงของต้นพืชที่เป็นอีโคไทป์ที่ต่างกันอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณยี่สิบการศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่สนับสนุนงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- พสุ สกุลอารีวัฒนา. 2546. สัณฐานวิทยาและรูปแบบไอโซไซม์ของพืชสกุลรองเท้านารีของไทย. วิทยานิพนธ์วิทยา-ศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 107 หน้า.
- เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. 2531. คู่มือปฏิบัติการเทคนิคทางอิเล็กโทรโฟเรซิสในการจำแนกพันธุ์พืช Vertical cylindrical gel, slab polyacrylamide gel. หน้า. 45-110. ใน: เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ เรื่อง เทคนิคทางอิเล็กโทรโฟเรซิสในการจำแนกพันธุ์พืช ณ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนเพาะปลูกพืชทดลอง, สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.
- ศลิษา รุจิณชัยกุล ฉันทนา สุวรรณธาดา และพรรัตน์ ศิริคำ. 2548. การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ว่านจูงนาง.วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 5-6 (พิเศษ): 681-684.
- สลิล สิทธิจักรธรรม และ นฤมล กฤษณชาญดี. 2545. คู่มือกล้วยไม้. สำนักพิมพ์สารคดี, กรุงเทพฯ. 248 หน้า.
- องค์การสวนพฤกษศาสตร์. 2543. เล่ม 6. กล้วยไม้ไทย โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ. 292 หน้า.
- อบฉันท ไทยทอง. 2544. กล้วยไม้เมืองไทย. อัมรินทร์ พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 461 หน้า.

สัณฐานวิทยาของเอื้องดิน

Morphology of *Spathoglottis pubescens* Lindl.

บุญปิยธิดา คล่องแคล่ว^{1/} และ จันทนา สุวรรณธาดา^{1,2/}

Boonpiyatida Klongklew^{1/} and Chuntana Suwanthada^{1,2/}

Abstract: Morphology of *Spathoglottis pubescens* Lindl. was studied. Characteristics of the bulb, leaf, inflorescence and floret were recorded focussing on detailed characters of floral parts. Records of variations in petal shape, especially the lips, of the plants distributed in clusters in the wild were also made, for the benefit of parental stock selection for further varietal improvement.

Keywords: *Spathoglottis pubescens* Lindl., morphology

บทคัดย่อ: ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเอื้องดินโดยการบันทึกลักษณะของหัว ใบ ช่อดอก และดอก โดยเน้นที่ลักษณะของดอกและส่วนประกอบของดอก พร้อมทั้งศึกษาความผันแปรของลักษณะของกลีบดอกโดยเฉพาะกลีบปากของต้นพืชที่พบกระจายพันธุ์เป็นกลุ่ม เพื่อประโยชน์ในการคัดเลือกต้นแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

คำสำคัญ: เอื้องดิน สัณฐานวิทยา

^{1/}ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{2/}ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ 50220

^{1/}Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^{2/}Huai Hong Khrai Royal Development Study Centre, Doi Saket, Chiang Mai 50220, Thailand

คำนำ

กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* เป็นกล้วยไม้ดินที่มีการนำออกจากแหล่งเจริญเติบโตในธรรมชาติเพื่อประโยชน์ในทางการค้าค่อนข้างมาก เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพปลูกเลี้ยงและมีศักยภาพในการผสมข้ามชนิดค่อนข้างสูง ชนิดของ *Spathoglottis* ที่พบในทางภาคเหนือของประเทศไทยคือ เอื้องหัวข้าวเหนียว (*S. affinis* de Vriese) บานดึก (*S. eburnea* Gagnep.) (อบจันทร์, 2543) และเอื้องดิน (*S. pubescens* Lindl.) (สลิล และ นฤมล, 2545) ทั้ง 3 ชนิดมีความคล้ายคลึงกันในลักษณะของหัว ช่อดอก และ ใบประดับของดอก แต่แตกต่างกันในลักษณะของกลีบปาก (Seidenfaden and Smitinand, 1961) จากการสำรวจพื้นที่ป่าทุ่งหญ้าและป่าเต็งรังที่เสื่อมโทรมของป่าสงวนแห่งชาติขุนแม้ว พบว่ามีเอื้องดินกระจายตัวในพื้นที่กว้าง ต้นพืชเหล่านี้มีลักษณะทางสัณฐานของต้นและดอกแตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลักษณะของกลีบดอก

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนประกอบของต้นเอื้องดินที่เก็บรวบรวมจากแหล่งเจริญเติบโต 7 แหล่ง ในป่าทุ่งหญ้าในเขตป่าสงวนแห่งชาติขุนแม้ว บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นพืช ได้แก่ ราก หัว ใบ ช่อดอก ดอกและผล ในระยะที่ต้นและดอกเจริญเติบโตเต็มที่ พร้อมทั้งวาดภาพลายเส้นประกอบ

ผลการศึกษา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเอื้องดินมีดังนี้

1. ราก เป็นระบบรากฝอยแบบรากดิน เจริญออกมาจากบริเวณฐานของหัว มีลักษณะกลม เรียวยาว สีขาวปนปลายรากมีขนละเอียดสั้นขนาดไล่เลี่ยกันจำนวนมาก
2. หัว เป็นลำต้นใต้ดินแปรรูปชนิดคอร์ม (corm) รูปร่างค่อนข้างกลมแบนหรือคล้ายรูปหัวใจ มีข้อปล้องเห็นได้ชัดเจน จำนวน 3-4 ปล้อง หัวที่มีอายุน้อยมี

ลักษณะกลมขนาดเล็ก สีครีม ผิวเรียบ เมื่อหัวมีอายุมากขึ้น จึงมีลักษณะแบนลง ผิวด้านนอกหุ้มด้วยส่วนของกาบใบที่มีลักษณะแห้งคล้ายเยื่อกระดาษ

3. ใบ เป็นใบเดี่ยว เจริญจากตายอด เรียงตัวแบบสลับ ใบเป็นรูปแถบ ขอบใบเรียบ จำนวน 2-3 ใบ ปลายเรียวแหลม โคนใบสอบเรียว แผ่นใบมีรอยพับจีบ

4. ช่อดอก เกิดจากตาข้างของหัว เป็นแบบช่อกระจุก ก้านช่อดอกมีสีเขียวอ่อนถึงสีน้ำตาลออกม่วงแดง ลักษณะแข็ง ตั้งตรง เรียวยาวปกคลุมด้วยขนละเอียด มีข้อปล้องเห็นชัดเจน โคนก้านดอกย่อยแต่ละก้านมีใบประดับรองรับสีน้ำตาลออกม่วง ดอกทยอยกันบานจากโคนช่อไปยังปลายช่อ

5. ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ก้านดอกมีสีเขียวอ่อนออกเหลือง กลีบเลี้ยงและกลีบดอกคล้ายกัน รูปแถบปลายแหลม สีเหลืองถึงเหลืองสด กลีบปาก 1 กลีบ มีลักษณะเด่น คือแยกออกเป็น 3 แฉก ประกอบด้วย หูกลิบบาก 2 แผ่น สีเหลืองมีแต้มเป็นเส้นสีแดง กลีบปากส่วนกลางรูปคล้ายช้อน โคนกลีบคอดกึ่ง มีหยักรูปซี่ฟันยื่นออกมาทั้งสองข้าง ตุ่มเนื้อเยื่อ 2 อัน พับตั้งขึ้น รูปครึ่งวงกลมถึงรูปสามเหลี่ยมและแบน สีเหลือง กลางกลีบมีสันนูนเป็นแนวยาว ปลายกลีบแผ่กว้างหรือเว้าเป็น 2 แฉก เส้าเกสร รูปร่างเรียวยาว สีเหลือง ยื่นโค้งมาข้างหน้า อับเรณู รูปร่างกลม สีเหลืองออกเขียว ภายในบรรจุกลุ่มเรณู 2 ชุด ชุดละ 4 กลุ่ม รูปร่างคล้ายกระบอง สีเหลือง รังไข่มี 1 ช่อง มีไข่อ่อนจำนวนมาก ติดกับผนังรังไข่แบบติดตามแนวตะเข็บ ตำแหน่งของรังไข่อยู่ต่ำกว่ากลีบเลี้ยง ยอดเกสรเพศเมีย มีลักษณะเป็นแฉง

6. ผล เป็นแบบแห้งแตก รูปขอบขนาน โคนผลสอบเรียว ปลายผลกว้าง เมล็ดขนาดเล็กมาก คล้ายแป้งหรือฝุ่น สีเหลืองอ่อน

ต้นพืชที่รวบรวมมาศึกษามีลักษณะทางสัณฐานโดยทั่วไปของต้น ใบ ดอก และผลดังรายงานไว้ข้างบน และแสดงรูปวาดไว้ในภาพที่ 1 แต่ในเรื่องของลักษณะของดอกและกลีบดอก พบว่า จากประชากรที่รวบรวมมาศึกษานั้นมีรูปร่างของกลีบเลี้ยงและกลีบดอก โดยเฉพาะกลีบปากแตกต่างกันในรายละเอียดค่อนข้างหลากหลาย ดังแสดงภาพวาดของดอกและกลีบปากไว้คู่กันในแต่ละแบบของดอกจากแบบ A ถึง J

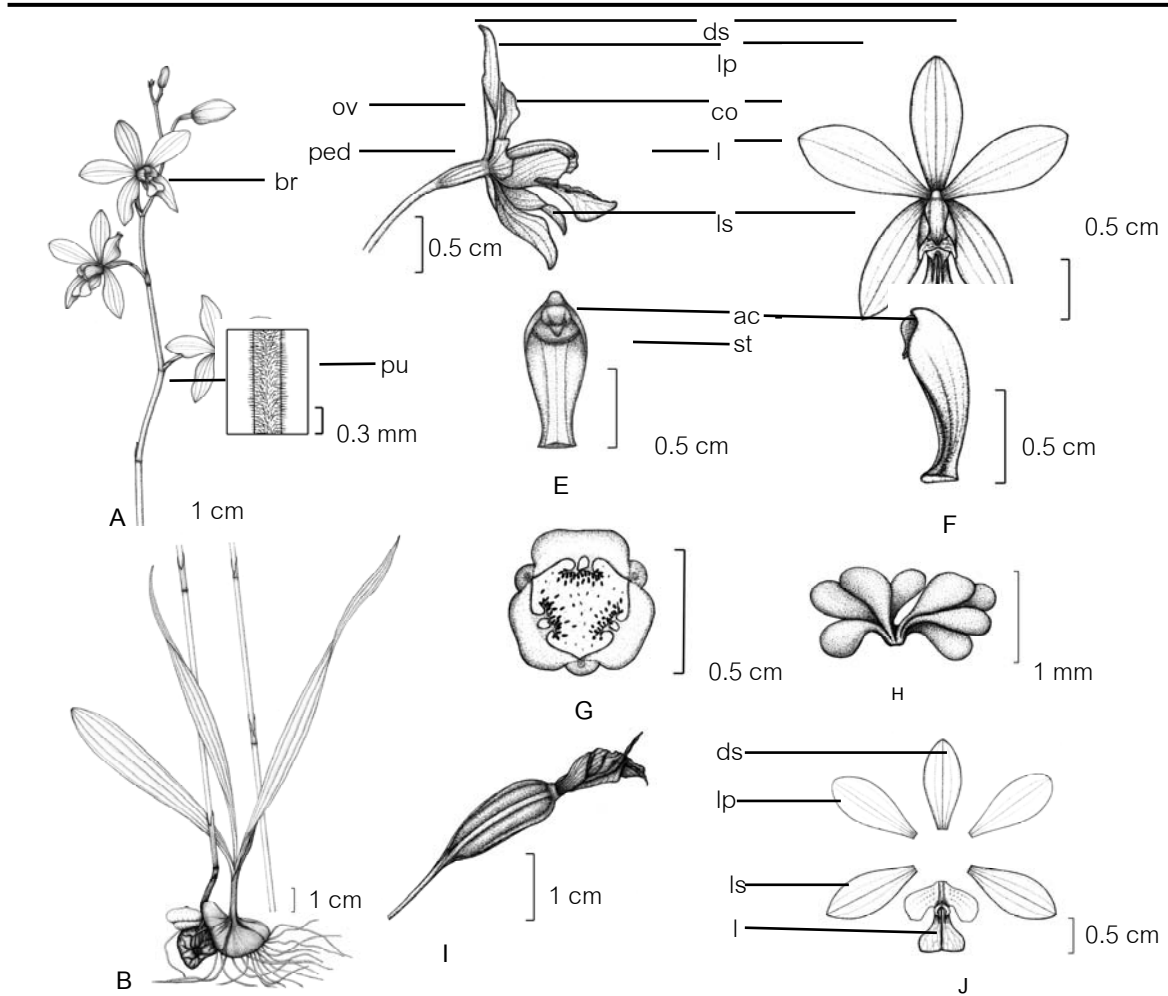


Figure 1 Illustrations showing morphology of the plant parts of *Spathoglottis pubescens* Lindl.

- | | | |
|-------------------------|--------------------------|--------------------|
| A = inflorescence | J = sepal, petal and lip | lp = lateral petal |
| B = root, corm and leaf | ac = anther cap | ls = lateral sepal |
| C and D = flower | br = bract | ov = ovary |
| E and F = column | co = column | ped = pedicel |
| G = fruit (x-sect.) | ds = dorsal sepal | pu = pubescence |
| H = pollinia | l = lip | st = stigma |
| I = fruit | | |

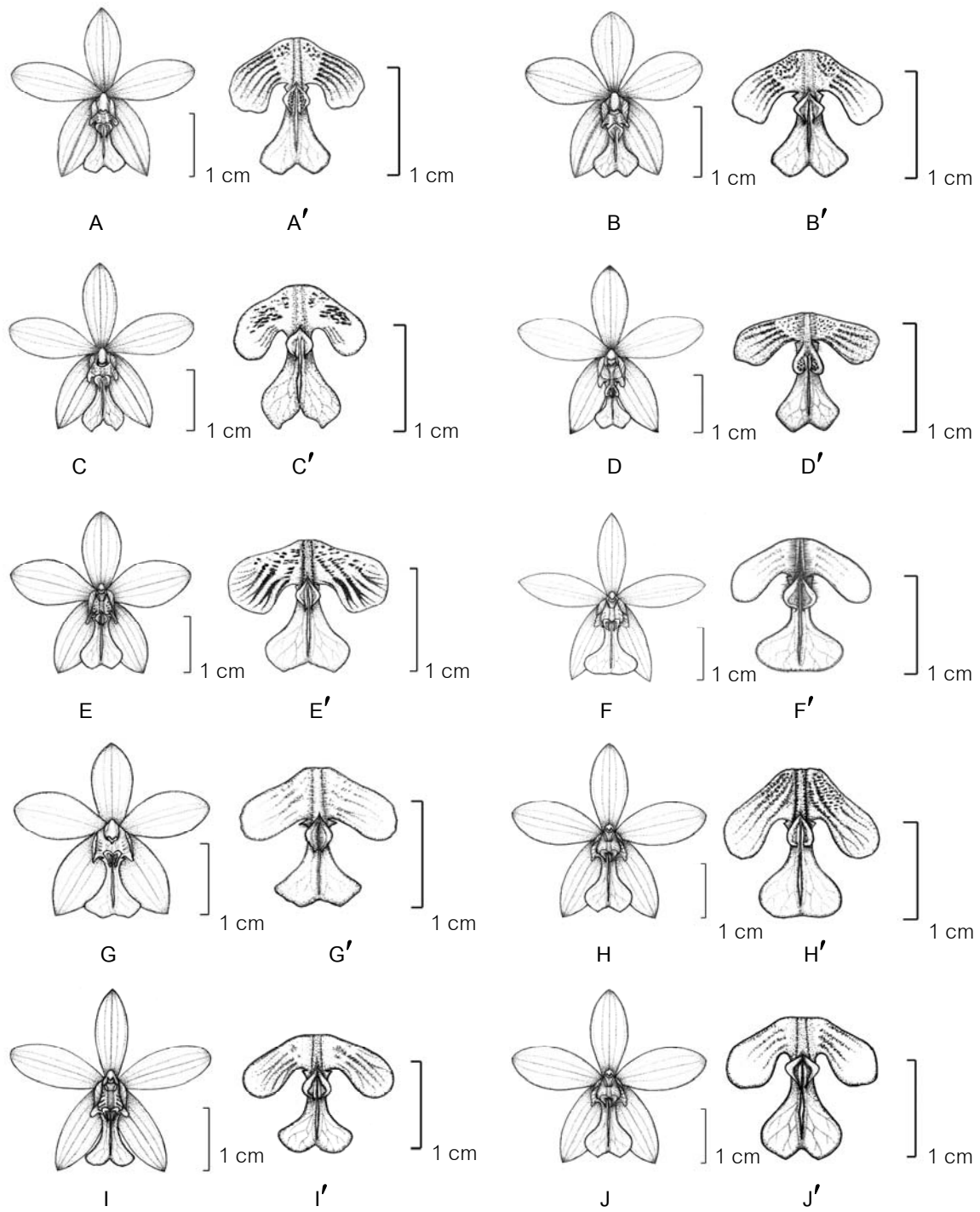


Figure 2 Patterns of flower (A-J) and lip (A'-J') of *Spathoglottis pubescens* Lindl.

วิจารณ์

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเอื้องดินที่เก็บรวบรวมจากแหล่งเจริญเติบโตในป่าทุ่งหญ้า 7 แห่ง ปรากฏว่า ประชากรที่รวบรวมมามีลักษณะของกลีบปากที่ค่อนข้างหลากหลายและมีความแตกต่างกันในรายละเอียด ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้แสดงถึงความผันแปรทางพันธุกรรมของประชากรที่กระจายอยู่ในแหล่งเจริญเติบโตเหล่านั้นว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง ควรจะต้องมีการอนุรักษ์เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไป และเพื่อจะได้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

สรุป

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเอื้องดินจากแหล่งกระจายพันธุ์ 7 แห่ง พบว่า มีลักษณะสัณฐานวิทยาของ ราก หัว ใบ และผล คล้ายคลึงกัน แต่มีความหลากหลายของลักษณะดอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลักษณะของกลีบปาก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณยี่สิบการศึกษาการพัฒนาช่วยฮ้องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่สนับสนุนงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- สลิล สิทธิจักรธรรม และ นฤมล กฤษณชาญดี. 2545. คู่มือกล้วยไม้. สำนักพิมพ์สารคดี, กรุงเทพฯ. 248 หน้า.
- อบฉันท ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้เมืองไทย. อัมรินทร์พรินต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 461 หน้า.
- Seidenfaden, G. and T. Smitinand . 1961. The Orchids of Thailand. A Preliminary List. The Siam Society, Bangkok. 870 pp.

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยากับการพัฒนาตาดอกของเอื้องพร้าว

Histological Study on Flower Bud Development of *Phaius tankervilleae* (Banks ex l' Heriter) Blume

วัชรภรณ์ ชนะเคน^{1/} และ พิมพีใจ อาภาวัชรุตม์^{1/}

Watcharaporn Chanaken^{1/} and Pimchai Apavatjirut^{1/}

Abstract: Histological study on *Phaius tankervilleae* (Banks ex l' Heriter) Blume flower bud development showed that when the bud at the base of its corm could be visualized in October (1st week), the inner tissue comprised a shoot apical meristem and a developed bract. In the 4th week more bract primordia were found. The flower primordia were initiated in the 5th week. Flower primordia subsequently developed into sepals, lip, petals, column in the 10th week and rostellum in the 12th week. At the end of the 12th week, pollen and stigma were not found.

Keywords: Histology, flower bud development, *Phaius tankervilleae*

บทคัดย่อ: การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยากับการพัฒนาตาดอกของเอื้องพร้าว พบว่าในระยะที่เริ่มเห็นตาดอกที่บริเวณโคนของหัวด้วยตาเปล่าในเดือนตุลาคม (สัปดาห์ที่ 1) ภายในตาดอกประกอบด้วย เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด และมีการพัฒนาใบประดับแล้ว ต่อมาพบจุดกำเนิดใบประดับเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 และเริ่มมีการเกิดของจุดกำเนิดดอกในสัปดาห์ที่ 5 ต่อมาจุดกำเนิดดอก มีการพัฒนาเป็นส่วนของกลีบนอก (sepal) กลีบปาก (lip) กลีบดอก (petal) และเส้าเกสร (column) ในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนเนื้อเยื่อผนังก้านเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย (rostellum) เกิดในสัปดาห์ที่ 12 โดยยังไม่พบการเกิดเกสรเพศผู้ และเพศเมีย

คำสำคัญ: เนื้อเยื่อวิทยา การพัฒนาตาดอก เอื้องพร้าว

^{1/}ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

คำนำ

กล้วยไม้ดินที่พบในประเทศไทยมีมากกว่า 200 ชนิด ใน 60 สกุล (จิตราพรรณ, 2539 อ้างโดย นิภาพร, 2541) มักพบขึ้นอยู่ตามพื้นที่ที่ปกคลุมด้วยอินทรีย์วัตถุ มีทั้งชนิดที่มีหัวอยู่ใต้ดิน เช่นกล้วยไม้ในสกุล *Habenaria*, *Pecteilis*, *Brachycorythis* และ *Nervilia* เป็นต้น บางชนิดมีหัวเจริญอยู่บนผิวดินเช่น *Eulophia*, *Spathoglottis* และ *Phaius* เป็นต้น (อบจันทร์, 2549) ในวงจรการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ การสร้างดอกเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญ (ลิลลี่, 2546) กล้วยไม้บางชนิดมีการเจริญของช่อดอกที่บริเวณปลายยอด บางชนิดเจริญจากตาข้าง เมื่อต้นพืชมีการพัฒนาถึงระยะเจริญพันธุ์ เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดทั้งของตาข้างและตายอดจะหยุดการสร้างใบ และเริ่มเปลี่ยนเป็นตาดอก โดยสร้างส่วนของดอกไปตามขั้นตอนการสร้างดอกของพืชแต่ละชนิด (พวงผกา, 2548; ลิลลี่, 2546 ; Esau, 1977) ซึ่งประกอบด้วย 2 กระบวนการใหญ่ ๆ คือ กระบวนการชักนำ และกระบวนการพัฒนาตาดอก (Hew and Yong, 2004) การเข้าใจขั้นตอนและเวลาที่ใช้ในการพัฒนาดอกเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญต่อการผลิตไม้ดอกที่จะนำไปใช้ประโยชน์ แต่การศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาตาดอกของกล้วยไม้ดินของประเทศไทยมีน้อยมาก จึงได้ทำการศึกษาครั้งนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของตาข้างเอื้องพร้าวทำโดย การเก็บตัวอย่างตาข้างของต้นพืชในช่วงที่มีการพัฒนาไปเป็นตาดอกซึ่งเริ่มเห็นได้ด้วยตาเปล่าในเดือนตุลาคม เก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยในแต่ละสัปดาห์เก็บตัวอย่าง 4 ชำ นำนเนื้อเยื่อมาตัดตามยาวและตามขวางตามวิธีการศึกษาเนื้อเยื่อแบบ paraffin embedding ของ Johansen (1940) โดยนำตัวอย่างขนาด กว้าง 0.25-0.3 ซม และยาว 0.5-0.7 ซม มาแช่ในน้ำยา FAA เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง นำเนื้อเยื่อมาผ่านขั้นตอนของการดึ่งน้ำออกจากเซลล์ โดยให้เนื้อเยื่อผ่านขั้นตอนของน้ำยาที่มีส่วนผสมของ ethyl alcohol และ tertiary butyl alcohol (TBA) จาก

ระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์รวมในน้ำยา 50, 70, 85 และ 95% ในแต่ละความเข้มข้นแช่เนื้อเยื่อพืชนาน 1 คืน จากนั้นนำไปแช่ในน้ำยา ที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์รวม 100% นาน 2 สัปดาห์ตามด้วย TBA 100% และน้ำยาที่ประกอบด้วย TBA และพาราฟินเหลว อัตราส่วน 1:1 นาน 2 คืน จึงนำเนื้อเยื่อไปผ่านขั้นตอนของการแทรกพาราฟินเข้าไปในเนื้อเยื่อ (infiltration) โดยการตัดเนื้อเยื่อของพืชลงไปในพาราฟินบริสุทธิ์หลอมเหลวแล้ว เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส จนกระทั่งพาราฟินแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อได้เต็มที่ โดยใช้เวลาประมาณ 1 เดือน จากนั้นนำเนื้อเยื่อมาฝังในพาราฟิน แล้วจัดตำแหน่งของเนื้อเยื่อให้อยู่ในตำแหน่งและระนาบที่ต้องการ นำแท่งพาราฟินที่ได้ไปตัดแต่งให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ให้ชิ้นส่วนพืชอยู่ตรงกลาง แล้วนำมาติดกับแท่งไม้ จากนั้นนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบล้อหมุน โดยตัดเนื้อเยื่อตามยาวหรือตามขวางให้หนา 13 ไมครอน นำแถบชิ้นส่วนพืช (paraffin ribbon) ที่ได้จากการตัดไปติดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ด้วยน้ำยายึดเนื้อเยื่อพืชซึ่งมีส่วนผสมของไซขาวและน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:49 มล. วางแผ่นสไลด์บนเครื่องอุ่นสไลด์ จนแถบชิ้นส่วนพืชแห้งและติดแน่นกับแผ่นสไลด์ ทั้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำแผ่นสไลด์ที่มีแถบชิ้นส่วนพืชติดอยู่ไปละลายพาราฟินออกจากเนื้อเยื่อ แล้วนำไปย้อมสี โดยใช้สี Dalafield's hematoxylin แล้วปิดแผ่นสไลด์ด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ยึดให้ติดกันด้วยแคนาดาบาลซัม เมื่อแผ่นสไลด์แห้งสนิท นำแผ่นสไลด์ดังกล่าวไปศึกษาเนื้อเยื่อใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพ

ผลการทดลอง

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาจากตาข้าง ในระยะที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยศึกษาทั้งตามยาวและตามขวาง พบว่าตาข้างของเอื้องพร้าวมีลำดับการพัฒนาดังนี้

สัปดาห์ที่ 1 ตาที่สังเกต พบว่าเริ่มเกิดในสัปดาห์ที่ 1 ในเดือนตุลาคมนี้เป็นตายอด (apical meristem) มีขนาดกว้างเพียง 0.25-0.3 ซม. ยาว 0.5-0.7 ซม. เมื่อนำตาดังกล่าวมาตัดพบว่าเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลาย มีลักษณะเป็นรูปโดมเตี้ย (ภาพที่ 1A) มีเซลล์

ต้นตัวอยู่อย่างหนาแน่น ด้านข้างเนื้อเยื่อปลายยอดนี้มีการเจริญของจุดกำเนิดใบประดับ และมีส่วนของใบประดับ (bract) ปรากฏอยู่แล้ว ต่อมาเมื่อนำตามาดัดในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 พบว่าเนื้อเยื่อมีการพัฒนาของตาคล้ายในสัปดาห์ที่ 1

สัปดาห์ที่ 4 ตาที่มีขนาดกว้าง 1.5-2 ซม. และยาว 1-1.5 ซม. พบว่าส่วนของยอด และใบประดับมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น และมีจำนวนใบประดับเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1B)

สัปดาห์ที่ 5 ตาที่มีขนาด กว้าง 2-2.5 ซม. ยาว 1.7-3 ซม. พบว่าโคนของตายอดมีความกว้างและสูงขึ้น นอกจากนี้ในตำแหน่งด้านข้างของยอดโคนหรือชอกใบประดับ มีกลุ่มเซลล์ต้นตัวเจริญอยู่หนาแน่น และกลุ่มเซลล์นี้เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้นของจุดกำเนิดดอก (floral primordia) (ภาพที่ 2A)

สัปดาห์ที่ 7 ตาที่มีขนาดกว้าง 1.8-2 ซม. และยาว 4.5-5.5 ซม. มีการเจริญของจุดกำเนิดดอก (floral primordia) และใบประดับรองดอกย่อย (bracteole) ซึ่งพบตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 (ภาพที่ 2B)

สัปดาห์ที่ 8 และ 9 ตาที่มีขนาดกว้าง 1.7-2 ซม. ยาว 5-6.5 ซม. และ กว้าง 1.7-2 ซม. ยาว 6-8.5 ซม. ตามลำดับ พบว่าเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดมีการเจริญสูงขึ้น จนเห็นเป็นลักษณะช่อดอก บริเวณด้านข้างของช่อ มีการเจริญของจุดกำเนิดดอกที่มีขนาดใหญ่เกิดขึ้นที่บริเวณชอกของใบประดับรองดอกย่อย แต่ยังไม่มีการพัฒนาของส่วนประกอบดอก (ภาพที่ 3A-B)

สัปดาห์ที่ 10 คือช่วงต้นเดือนธันวาคม ตาที่มีขนาดกว้าง 1.7-2.25 ซม. ยาว 10-11.5 ซม. มีการพัฒนาส่วนประกอบของดอกแรกที่โคนของช่อดอก คือมีการพัฒนาส่วนของกลีบนอก (sepal) กลีบปาก (lip) กลีบดอก (petal) และ เล้าเกสร (column) (ภาพที่ 4A-B)

สัปดาห์ที่ 12 ตาที่มีขนาด กว้าง 1.8-2.55 ซม. ยาว 12-15 ซม. พบว่าช่อดอกที่อยู่ด้านในของตามีความยาวเพิ่มขึ้นและมีจำนวนของจุดกำเนิดดอกเพิ่มขึ้นด้วย ดอกอ่อนที่เจริญอยู่ที่บริเวณโคนช่อ มีการพัฒนาส่วนประกอบของดอกแล้ว ซึ่งได้แก่ส่วนของ กลีบนอก กลีบปาก กลีบดอก และเล้าเกสร เห็นเป็นรูปร่างชัดเจน

กว่าในสัปดาห์ที่ 10 (ภาพที่ 5A-B) นอกจากนี้ยังพบว่า มีการเจริญในส่วนที่จะย่นออกมาจากส่วนฐานของเล้าเกสร ซึ่งจะพัฒนาต่อไปเป็นเนื้อเยื่อผนังกันเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย (rostellum) (ภาพที่ 5B) ในสัปดาห์นี้ยังไม่พบการสร้างเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย

วิจารณ์

การพัฒนาดอกของเลื่องพร้าว จากตาดอกที่มีขนาดที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าในสัปดาห์แรก ของเดือนตุลาคม จนถึงสัปดาห์ที่ 4 หลังจากนั้นพบว่า มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ใบประดับ และมีการยึดตัวของเนื้อเยื่อเจริญในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ของการสังเกต การพัฒนาดอกในช่วงดังกล่าว อาจอยู่ในระยะ ผ่านการชักนำแล้ว ซึ่งเป็นระยะที่พืชได้มีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการสร้างสารเมตาบอไลต์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ เพื่อสังเคราะห์ฮอร์โมนกระตุ้นการออกดอก (สมบุญ, 2548) ซึ่งต่อมาในสัปดาห์ที่ 5 เริ่มเห็นการพัฒนาของจุดกำเนิดดอก ที่เจริญบริเวณชอกของใบประดับ มีกลุ่มเซลล์ต้นตัวเจริญอยู่อย่างหนาแน่น และมีการพัฒนาของกลุ่มเซลล์ อย่างชัดเจนคือกลุ่มเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นในสัปดาห์ที่ 7 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงระยะนี้เป็น การเปลี่ยนแปลงในระยะ กำเนิดดอก (สมบุญ, 2548) และเป็นระยะที่ต้องระวังอย่างมากในการปลูกพืช คือหากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ตาดอกที่เกิดขึ้นอาจจะฝ่อ (โสระยา, 2544) ในสัปดาห์ที่ 8-9 เป็นระยะที่ช่อดอกมีจุดกำเนิดดอกมากขึ้น และมีการพัฒนาเพิ่มขึ้น แต่การพัฒนาส่วนประกอบของดอกยังไม่ชัดเจน จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 10-12 ซึ่งสังเกตเห็นได้ว่า ส่วนประกอบของดอกมีการพัฒนาเป็น กลีบนอก กลีบปาก กลีบดอก และ เนื้อเยื่อผนังกันเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย ตามลำดับ ลำดับการพัฒนาของดอกที่เกิดขึ้นคล้ายกับการพัฒนาดอกของกล้วยไม้ *Cattleya labiata* Lindl. ซึ่งศึกษาโดย Rotor and MacDaniels (1951) พบว่ากล้วยไม้ชนิดนี้มีการพัฒนาส่วนของกลีบนอก ตามด้วยส่วนของกลีบปาก กลีบดอก และเล้าเกสร ตามลำดับ

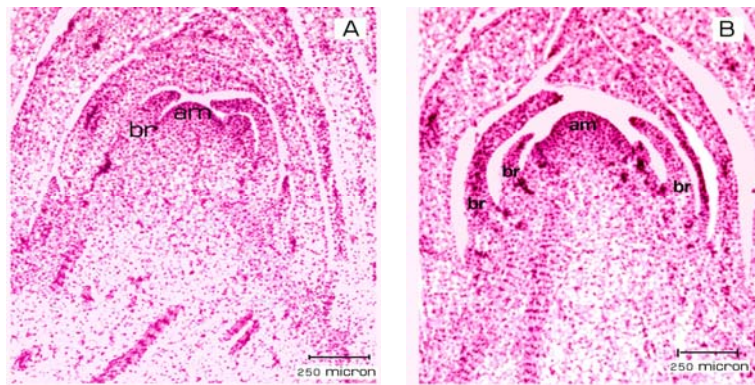


Figure 1 Longitudinal sections showing *Phaius tankervilleae* flower bud development in 1st and 4th week.

A = development of flower bud in 1st week (October)

B = development of flower bud in 4th week

am = apical meristem

br = bract

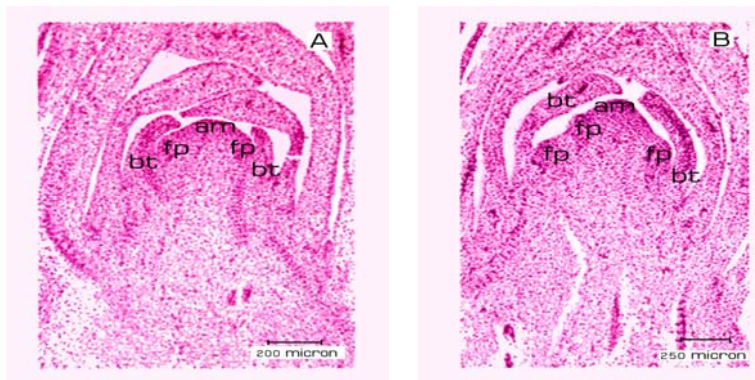


Figure 2 Longitudinal sections showing *Phaius tankervilleae* flower bud development in 5th and 7th week.

A = development of flower bud in 5th week

B = development of flower bud in 7th week

am = apical meristem

bt = bracteole

fp = floral primordium

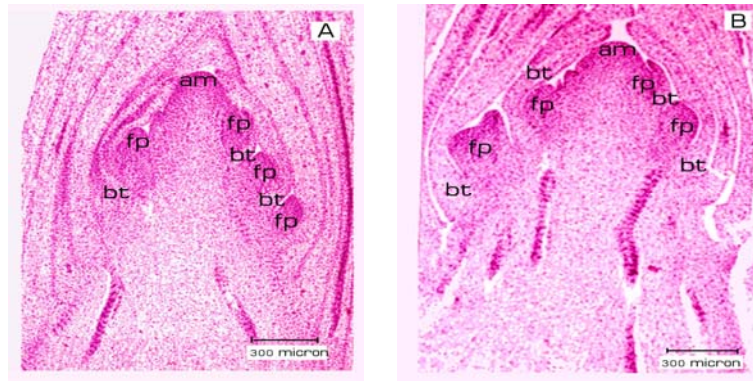


Figure 3 Longitudinal sections showing *Phaius tankervilleae* flower bud development in 8th and 9th week.

A = development of flower bud in 8th week

B = development of flower bud in 9th week

am = apical meristem

bt = bracteole

fp = floral primordium

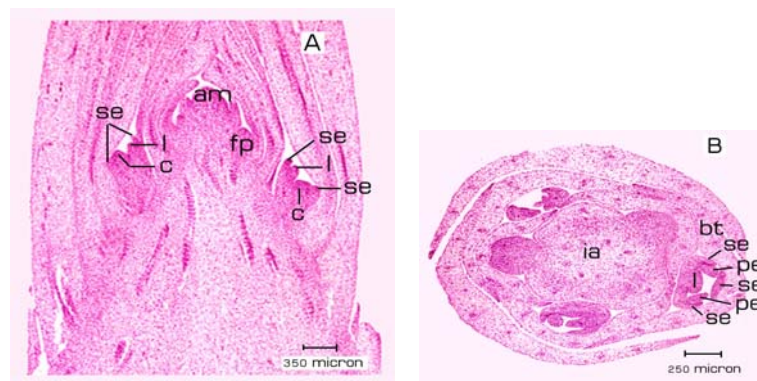


Figure 4 Development of *Phaius tankervilleae* flower bud in 10th week.

A = development of flower bud in 8th week

B = development of flower bud in 9th week

am = apical meristem

fp = floral primordium

pe = petal

bt = bracteole

ia = inflorescence axis

se = sepal

c = column

l = lip

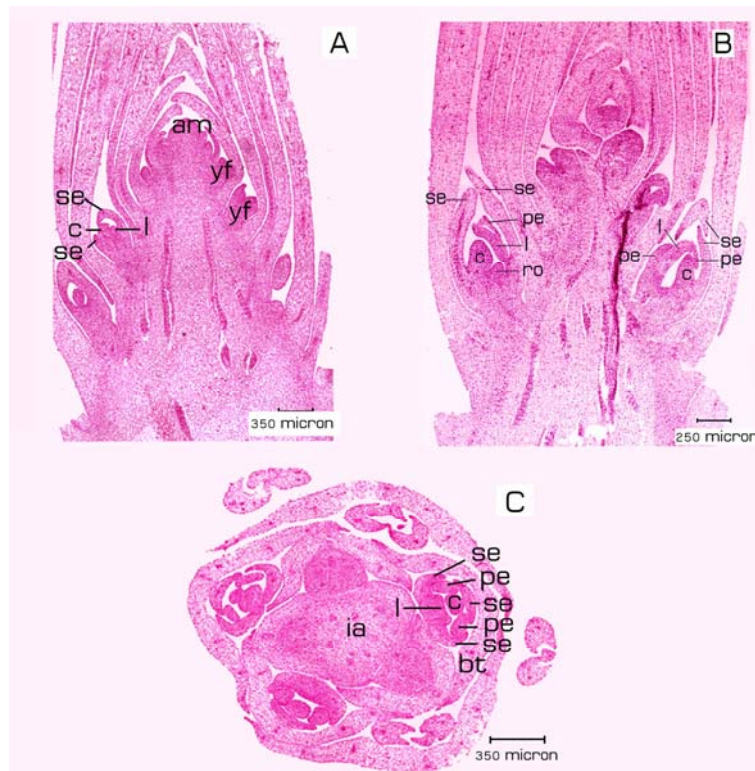


Figure 5 Development of *Phaius tankervilleae* flower bud in 12th week.

A = longitudinal section showing flower bud development in 12th week

B = longitudinal section at different plane showing flower bud development in 12th week

C = cross section showing flower bud development in 12th week

am = apical meristem

ia = inflorescence axis ro = rostellum

bt = bracteole

l = lip

se = sepal

c = column

pe = petal

yf = young flower

สรุป

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของตาดอกและการพัฒนาตาดอกของเอื้องพร้าว ดำเนินการโดยศึกษาจากตาข้างที่เกิดจากหัว เริ่มศึกษาตั้งแต่ระยะที่สามารถมองเห็นตาดังกล่าวด้วยตาเปล่าในเดือนตุลาคม พบว่าในระยะนี้ส่วนปลายยอดของตาเริ่มมีการพัฒนา คือมีการ

เจริญของเนื้อเยื่อเจริญไปเป็นจุดกำเนิดใบประดับ และจุดกำเนิดดอก ในสัปดาห์ที่ 5 ของการสังเกต พบว่าจุดกำเนิดดอกเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง ขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีกลุ่มเซลล์เจริญอยู่อย่างหนาแน่น การสังเกตในสัปดาห์ที่ 8 และ 9 พบว่ายังไม่มีการเกิดส่วนประกอบของดอก ต่อมาในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนของกลีบนอก กลีบดอก กลีบปาก และเส้าเกสรเริ่มมีการพัฒนา และในสัปดาห์ที่ 12 มีการ

พัฒนาส่วนประกอบของดอกที่ชัดเจน พร้อมทั้งมีการพัฒนาส่วนของเนื้อเยื่อผนังกันเกรสเพศผู้และเพศเมีย รวมระยะเวลาในการพัฒนาของดอกรตั้งแต่เริ่มเห็นด้วยตาเปล่าจนเกิดผนังกันเกรสเพศผู้ และเพศเมียคือ 12 สัปดาห์

เอกสารอ้างอิง

- นิภาพร ชัยหนู. 2541. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินบางชนิดในสกุลลิ้นมังกร และนางอ้ว. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 44 หน้า.
- พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง. 2548. กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชมีดอก. สำนักพิมพ์ท็อป, กรุงเทพฯ. 380 หน้า.
- ลิลลี่ กาวีตะ. 2546. การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 320 หน้า.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 252 หน้า.
- โสระยา ร่วมรังสี. 2544. สรีรวิทยาไม้ดอก. โอ.เอส.พรินติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 100 หน้า.
- อบฉันท ไทยทอง. 2549. กล้วยไม้เมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 11. อัมรินทร์พรินติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 461 หน้า.
- Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. John Wiley & Sons, New York. 550 pp.
- Hew, C. S. and J.W. H. Yong. 2004. The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry end ed. World Scientific Publishing Co., River Edge. 370 pp.
- Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York. 523 pp.
- Rotor, G., Jr. and L.H. MacDaniels. 1951. Flower bud differentiation and development in *Cattleya labiata* Lindl. American Journal of Botany 38: 147-152.

การเปรียบเทียบผลผลิตของชมพู่พันธุ์ทับทิมจันทร์
ในระบบรูปทรงต้น 4 แบบ ด้วยการปลูก
ระยะชิดในสองปีของการให้ผลผลิต

Yield Comparison of Java Apple cv. 'Thabthimchan'
in 4 Training Systems with High Density
Planting in Two Bearing Years

กวิศร์ วานิชกุล^{1/} พนม สุทธิศักดิ์โสภณ^{1/} และ เพทชาย กาญจนเกษร^{1/}
Kawit Wanichkul,^{1/} Phanom Sutthisaksopon^{1/} and Phethai Kanchanakesorn^{1/}

Abstract: Yield comparison of java apple (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & Perry) cv. 'Thabthimchan' in 4 training systems and high density planting was investigated at the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University from December 2003 to June 2006. The training systems included open center, slender spindle, palmette and Y-trellis. The results showed that yield, yield efficiency and yield density were higher in the first bearing year than in the second bearing year. Java apple trees trained as open center showed the highest yield, yield efficiency, yield density and cumulative yield followed by slender spindle, Y-trellis and palmette respectively.

Keywords: Training system, yield , java apple, Thabthimchan, *Syzygium samarangense*

^{1/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

^{1/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

* Corresponding author: Tel. 034-281084, E-mail address: agrkaw@ku.ac.th

บทคัดย่อ: เปรียบเทียบการให้ผลผลิตของชมพูพันธุ์ทับทิมจันทน์ในระบบรูปทรงต้น 4 แบบปลูกด้วยระยะขิดในสองปีของการให้ผลผลิต ที่แปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระหว่างเดือนธันวาคม 2546 ถึงมิถุนายน 2549 ประกอบด้วยระบบรูปทรงต้นแบบ open center, slender spindle, palmette และ Y-trellis พบว่าปีแรกของการให้ผลผลิตมีปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพของผลผลิต และความหนาแน่นของผลผลิตมากกว่าปีที่สอง โดยมีแนวโน้มว่าระบบรูปทรงต้นแบบ open center มีปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพผลผลิต ความหนาแน่นของผลผลิต และปริมาณผลผลิตสะสมตลอดสองปีของการให้ผลผลิตมากที่สุด รองลงมาได้แก่ slender spindle, Y-trellis และ palmette ตามลำดับ

คำสำคัญ: ระบบรูปทรงต้น ผลผลิต ชมพู ทับทิมจันทน์

คำนำ

การผลิตไม้ผลเขตร้อนในปัจจุบันนั้นมีการนำเทคนิคที่ใช้ในการผลิตไม้ผลเขตนานามาประยุกต์ใช้ได้แก่ การตัดแต่งกิ่งและจัดทรงต้น (Mohammed and Wilson, 1984) เป็นวิธีการที่นิยมมากที่สุดในการควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นไม้ผล (ประทีป, 2540; Elfving, 1988) มีการจัดทรงต้นไม้ผลเขตนานาหลายชนิด เช่น แอปเปิล ท้อ เชอร์รี่ และบ๊วย ด้วยระบบรูปทรงต้นแบบ slender spindle, palmette และ Y-trellis พบว่าในแอปเปิลการจัดระบบรูปทรงต้นแบบ slender spindle ในการปลูกระยะขิด ให้ผลผลิตมากกว่าระบบการปลูกแบบเก่าที่ใช้พื้นที่ในการปลูกมาก (Carbo *et al.*, 2000) ระบบรูปทรงต้นแบบ palmette เป็นระบบรูปทรงต้นที่ออกแบบมาเพื่อความสะดวก และประสิทธิภาพในการปฏิบัติงานในแปลงปลูก เพิ่มความหนาแน่นของพืชปลูกได้มากให้ผลผลิตได้เร็ว และได้ผลที่มีคุณภาพสูง (Corelli-Grappadelli, 2000) ระบบรูปทรงต้นแบบ Y-trellis เป็นระบบรูปทรงต้นที่มีพื้นที่ในการรับแสง และการกระจายของแสงเป็นไปอย่างทั่วถึง ทำให้พืชมีอาหารสะสมมาก ส่งผลให้ได้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพผลที่ดี (Rufato *et al.*, 2004)

สำหรับการศึกษาก่อนเกี่ยวกับการจัดทรงต้นไม้ผลเขตร้อนยังมีข้อมูลน้อย แต่สามารถนำผลงานวิจัยในไม้ผลเขตนานามาประยุกต์ใช้ได้ (กวิศร์, 2546; Mohammed and Wilson, 1984) โดยเฉพาะระบบรูปทรงต้นแบบใหม่ เช่น slender spindle, palmette และ Y-trellis ซึ่งเป็นระบบรูปทรงต้นที่มีประสิทธิภาพสูงนิยมใช้กับไม้ผลที่

ปลูกเป็นการค้า จึงทำการศึกษาค้นคว้าของระบบรูปทรงต้น 4 แบบ ในการปลูกระยะขิดที่มีต่อการให้ผลผลิตและประสิทธิภาพผลผลิตของชมพูพันธุ์ทับทิมจันทน์ เพื่อเพิ่มเติมข้อมูลทางวิชาการเกี่ยวกับการตัดแต่งและจัดทรงต้นในไม้ผลเขตร้อน ตลอดจนเป็นแนวทางในการคัดเลือกระบบรูปทรงต้นที่เหมาะสมกับการผลิตชมพูพันธุ์ทับทิมจันทน์ในประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้ต้นชมพูพันธุ์ทับทิมจันทน์อายุประมาณ 1 ปี 6 เดือน ที่จัดทรงต้นด้วยระบบรูปทรงต้น 4 แบบ คือ open center (ชุดควบคุม) slender spindle, palmette และ Y-trellis (ภาพที่ 1) ที่ปลูกในแปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม ปลูกเป็นแถวคู่และมีการจัดเรียงต้นในแถวคู่แบบสลับฟันปลา ระยะขิด มีระยะระหว่างต้น 4 เมตร ระหว่างแถว 2.3 เมตรและระยะระหว่างแถวคู่ 4.13 เมตร จัดสิ่งทดลองแบบ 2 X 4 factorial in completely randomized design (factorial in CRD) โดยปัจจัยแรก คือ ปีการผลิต ได้แก่ปีที่ให้ผลผลิตเป็นปีแรกและปีที่สอง และปัจจัยที่สองคือ ระบบรูปทรงต้น 4 แบบ ดังกล่าวข้างต้น ใน 1 ไร่มีต้น 3 ซ้ำ ๆ ละ 2 ต้น รวม 24 ต้น (ปีที่สองใช้ต้นชุดเดิม) ในปีที่มีการตัดแต่งกิ่งเล็กน้อยเพื่อการจัดรูปทรงต้นเท่านั้นแต่ในปีที่สองหลังจากเก็บเกี่ยวผลเสร็จมีการตัดแต่งกิ่งอย่างหนักในเดือนพฤษภาคมเพื่อจัดรูปทรงต้นและควบคุมขนาดของต้นให้เหมาะสมกับการปลูกระยะขิด ต้นชมพูที่ใช้ในการ

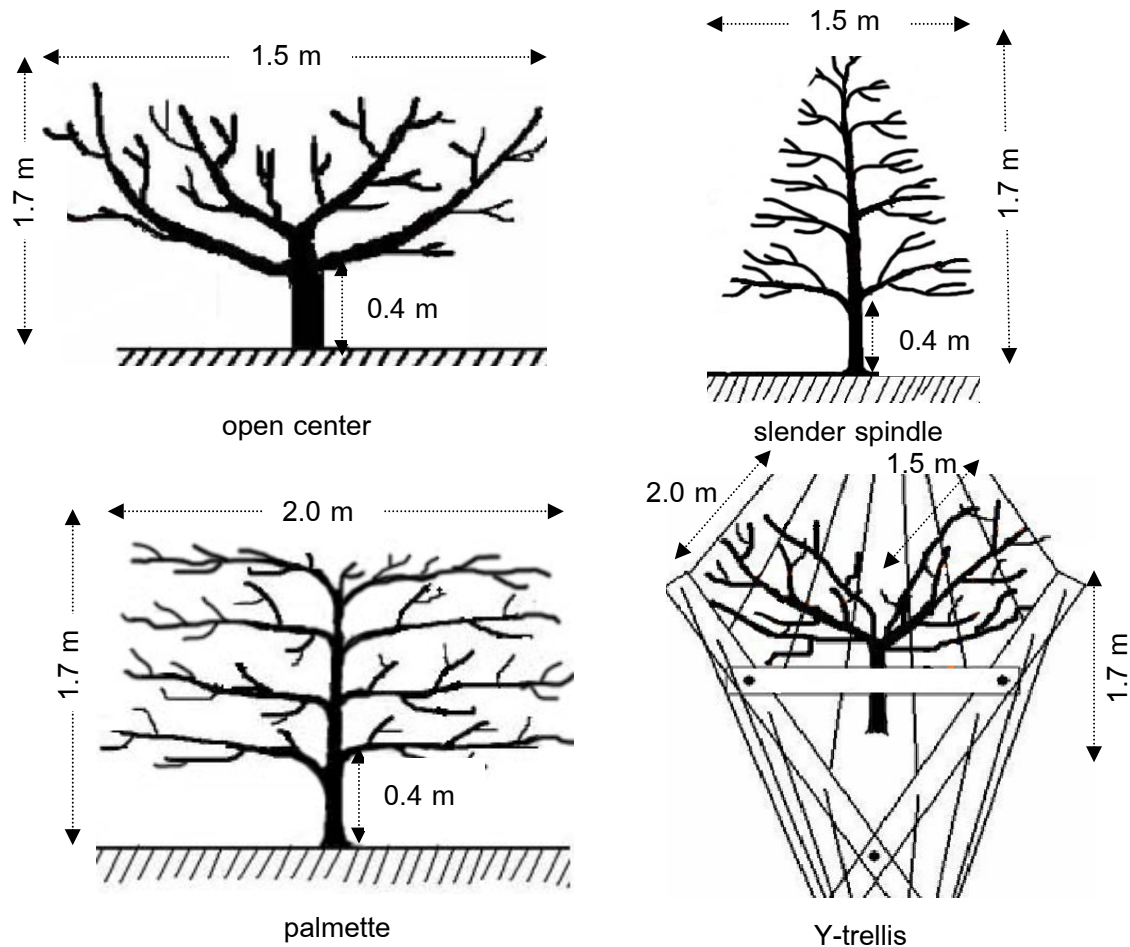


Figure 1 Training systems of java apple trees cv. 'Thabthimchan'

ทดลองเริ่มออกดอกในเดือนธันวาคม มีดอก 3 รุ่น ดอกรุ่นสุดท้ายเริ่มออกในเดือนมีนาคม ข้อมูลที่แสดงในการทดลองนี้เป็นข้อมูลรวมของผลผลิตจากดอกทั้ง 3 รุ่น

นำผลผลิตของชมพู่ทั้งสองปีการผลิต มาคำนวณน้ำหนักผลผลิตต่อต้น น้ำหนักผลผลิตต่อไร่ คำนวณค่าประสิทธิภาพของผลผลิต (yield efficiency)

[ประสิทธิภาพของผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้น = น้ำหนักผลรวม (กก.) / พื้นที่หน้าตัดลำต้น (ชม.²)] (Robinson and Lakso, 1991) ค่าความหนาแน่นของผลผลิต (yield density) [ความหนาแน่นของผลผลิต = จำนวนผล / พื้นที่หน้าตัดลำต้น (ชม.²)] (Barone *et al.*, 1995) และปริมาณผลผลิตสะสม (cumulative yield)

ผลการทดลอง

น้ำหนักผลผลิตต่อต้น

ระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ในปีที่สองของการให้ผลผลิตมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตต่อต้นน้อยกว่าปีแรกของการให้ผลผลิต พบว่าอิทธิพลร่วมของปีการผลิตและระบบรูปทรงต้นให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปีแรกของการให้ผลผลิตมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตต่อต้นมากกว่าปีที่สองของการให้ผลผลิต โดยระบบรูปทรงต้นแบบ open center และ slender spindle มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตต่อต้นใกล้เคียงกันและมากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบ palmette และ Y-trellis (ตารางที่ 1)

ปริมาณผลผลิตต่อไร่

ระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ในปีที่สองของการให้ผลผลิตมีปริมาณผลผลิตต่อไร่ต่ำกว่าปีแรกของการให้ผลผลิต และพบว่าอิทธิพลร่วมของปีการผลิตและระบบรูปทรงต้นให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปีแรกของการให้ผลผลิตมีค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตต่อไร่มากกว่าปีที่สองของการให้ผลผลิต และระบบรูปทรงต้นแบบ open center, slender spindle และ Y-trellis มีค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตต่อไร่ใกล้เคียงกัน และมากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบ palmette ซึ่งมีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด (ตารางที่ 1)

ประสิทธิภาพผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้น

ระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ในปีที่สองของการให้ผลผลิตมีประสิทธิภาพผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้นน้อยกว่าปีแรก พบว่าอิทธิพลร่วมของปีการผลิตและระบบรูปทรงต้นให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปีแรกของการให้ผลผลิตมีค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพของผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้นมากกว่าปีที่สองของการให้ผลผลิต โดยมีระบบรูปทรงต้นแบบ open center, slender spindle และ Y-trellis ให้ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพของผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้นใกล้เคียงกัน และมากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบ palmette ซึ่งมีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด (ตารางที่ 1)

ความหนาแน่นของผลผลิต

ระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ในปีที่สองของการให้ผลผลิตมีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของผลผลิตน้อยกว่าปีแรกของการให้ผลผลิต และอิทธิพลร่วมของปีการผลิตและระบบรูปทรงต้นให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปีแรกของการให้ผลผลิตมีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของผลผลิตมากกว่าปีที่สองของการให้ผลผลิต โดยระบบรูปทรงต้นแบบ open center, slender spindle และ Y-trellis มีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของผลผลิตใกล้เคียงกัน และมากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบ palmette ซึ่งมีค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของผลผลิตน้อยที่สุด (ตารางที่ 1)

ผลผลิตสะสม (cumulative yield)

ระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ในปีแรกและปีที่สองของการให้ผลผลิตมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตต่อต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตสะสมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน โดยระบบรูปทรงต้นแบบ open center มีปริมาณผลผลิตสะสมมากที่สุด (32.74 กิโลกรัมต่อต้น) รองลงมาคือ ระบบรูปทรงต้นแบบ slender spindle (28.88 กิโลกรัมต่อต้น) และ Y-trellis (24.21 กิโลกรัมต่อต้น) ตามลำดับ ส่วนระบบรูปทรงต้นแบบ palmette มีปริมาณผลผลิตสะสมน้อยที่สุด (18.34 กิโลกรัมต่อต้น) (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

การให้ผลผลิต ประสิทธิภาพของผลผลิต และความหนาแน่นของผลผลิตชมพูพันธุ์ทับทิมจันทร์ในปีแรกและปีที่สองของการให้ผลผลิต มีค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตต่อต้น ปริมาณผลผลิตต่อไร่ ประสิทธิภาพผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้น และความหนาแน่นของผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับอิทธิพลของระบบรูปทรงต้น และอิทธิพลร่วมระหว่างปีการผลิตกับระบบรูปทรงต้น (ตารางที่ 1) ซึ่งความแตกต่างของการให้ผลผลิต ประสิทธิภาพผลผลิตตลอดจนความหนาแน่นของผลผลิตชมพูทั้งสองปีของการให้ผลผลิตนั้นอาจเนื่องมาจากการตัดแต่งกิ่งอย่างหนักในต้นปีที่สองของการให้ผลผลิต ทำให้พืชสูญเสียกิ่งใบที่เป็นแหล่งสร้าง

Table 1 Effects of 4 training systems on yield per tree, yield per rai, yield efficiency and yield density of java apple cv. 'Thabthimchan' in two bearing years.

Training systems	Yield per tree (kg)			Yield per rai (kg)			Yield efficiency (kg fruit/cm ² TCA)			Yield density (no. fruit/cm ² TCA)		
	First	Second	Average	First	Second	Average	First	Second	Average	First	Second	Average
Open center	21.58	11.16	16.37a ^{1/}	1338.74	693.21	1015.96a ^{1/}	0.33	0.12	0.23a ^{1/}	2.79	1.38	2.08a ^{1/}
Slender spindle	20.03	8.85	14.44ab	1241.92	549.02	895.47a	0.29	0.09	0.19ab	2.37	1.00	1.68ab
Palmette	13.07	7.77	10.42c	655.45	482.09	568.77b	0.18	0.09	0.13b	1.56	0.99	1.27b
Y-trellis	13.01	11.20	12.10bc	806.42	694.83	750.63ab	0.21	0.13	0.17ab	1.84	1.29	1.56ab
Average	16.92a ^{1/}	9.74b		1010.63a ^{1/}	604.79b		0.25a ^{1/}	0.11b		2.14a ^{1/}	1.16b	
<i>F-test</i>												
Bearing year		**			**			**			**	
Training system		**			**			**			**	
Bearing year X Training system		**			**			**			**	
CV (%)		14.37			29.09			31.57			29.38	

**Significant difference at P<0.01

^{1/}Means in the same column or row followed by a common letter are not significantly different by Duncan's new multiple range test at P<0.01

Table 2 Effects of 4 training systems on yield and cumulative yield of java apple cv. 'Thabthimchan' in two bearing years.

Training systems	Yield per tree (kg)		Cumulative yield (kg)
	First bearing year	Second bearing year	
Open center	21.58a ^{2/}	11.16a ^{1/}	32.74a ^{1/}
Slender spindle	20.03a	8.85b	28.88ab
Palmette	10.57b	7.77b	18.34c
Y-trellis	13.01b	11.20a	24.21bc
<i>F</i> -test	**	*	*
CV (%)	21.58	10.43	19.94

*Significant difference at $P < 0.05$ **Significant difference at $P < 0.01$ ^{1/}Means in the same column followed by a common letter are not significantly different by Duncan's new multiple range test at $P < 0.05$ ^{2/}Means in the same column followed by a common letter are not significantly different by Duncan's new multiple range test at $P < 0.01$

และสะสมอาหาร (Bussi *et al.*, 2005; Marsal *et al.*, 2006) ตลอดจนเป็นตำแหน่งของตาออกซึ่งสามารถให้ผลผลิตได้ออกไป (Marini, 2003; Whiting *et al.*, 2005) เป็นจำนวนมากภายหลังจากการให้ผลผลิตในปีแรก โดยเฉพาะชมพูซึ่งเป็นไม้ผลที่มีการออกดอกติดผลตามกิ่งและลำต้น (เปรมปรี, 2545) จึงทำให้มีการสร้างกิ่งและใบใหม่ขึ้นมาทดแทนส่วนที่ตัดออกไปเพื่อรักษาความสมดุลของส่วนราก และส่วนเหนือดินซึ่งกิ่งและใบใหม่เหล่านี้ อาจไม่สามารถสร้างอาหารทดแทนที่สูญเสียไปในฤดูเดียวได้ทัน เช่นการตัดแต่งกิ่งอย่างหนักในมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย ทำให้มีการออกดอกเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการตัดแต่งปานกลางออกดอก 22 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ไม่ตัดแต่งออกดอกถึง 25 เปอร์เซ็นต์ (มนตรี, 2544) ส่งผลให้ไม่สามารถให้ผลผลิตได้อย่างเต็มที่ สอดคล้องกับ Robinson *et al.* (1993) ซึ่งรายงานไว้อย่างชัดเจนว่า ความแตกต่างของการให้ผลผลิตของแอปเปิลพันธุ์ Empire ในระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ตลอดระยะเวลา 14 ปีของการให้ผลผลิต เป็นผลมาจากการตัดแต่งกิ่งและ

จัดทรงต้น นอกจากนี้อีกสาเหตุหนึ่งของการที่ผลผลิตลดลงน่าจะมาจากการที่จำนวนดอกดอกต่อต้นลดลง (ข้อมูลจากการทดลองเดียวกันแต่มีได้นำเสนอในที่นี้) ในขณะที่พื้นที่การให้ผลยังคงเดิมโดยเฉพาะวิธีการคำนวณประสิทธิภาพของผลผลิตและความหนาแน่นของผลผลิตซึ่งใช้ค่าพื้นที่หน้าตัดของลำต้นเป็นตัวหาร ดังนั้นค่าตัวหารในปีที่สองจึงมากกว่าในปีแรก ส่วนการให้ผลผลิต ประสิทธิภาพของผลผลิตตลอดจนความหนาแน่นของผลผลิตที่แตกต่างกันในระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ทั้งสองปีของการให้ผลผลิตมีแนวโน้มว่า ระบบรูปทรงต้นแบบ open center เป็นระบบรูปทรงต้นที่มีปริมาณผลผลิตต่อต้น ปริมาณผลผลิตต่อไร่ ประสิทธิภาพของผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้น และความหนาแน่นของผลผลิตมากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบอื่น ๆ เช่นเดียวกับอิทธิพลร่วมระหว่างปีการผลิตกับระบบรูปทรงต้นซึ่งมีแนวโน้มว่า ระบบรูปทรงต้นแบบ open center มีค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตต่อต้น ปริมาณผลผลิตต่อไร่ ประสิทธิภาพ

ของผลผลิตต่อพื้นที่หน้าตัดลำต้น และความหนาแน่นของผลผลิตมากที่สุดตลอดสองปีของการให้ผลผลิต (ตารางที่ 1)

สำหรับปริมาณผลผลิตสะสม (cumulative yield) ของชมพูพันธุ์ทับทิมจันทิตลอดสองปีของการให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) ซึ่งการปลูกในระยะชิดนั้นทำให้ไม้ผลให้ผลผลิตได้เร็วและมีปริมาณผลผลิตสะสมที่ดีขึ้น (Robinson, 1992; Moreno et al., 1998) อย่างเช่น การผลิต loquat พันธุ์ Gold Nugget, Sayda และ Hafif Cukurgöbek ด้วยความหนาแน่นของพืชปลูกต่อหน่วยพื้นที่แตกต่างกันพบว่า การปลูกในระยะชิดมีการให้ผลผลิตได้เร็ว แม้ว่าปริมาณผลผลิตต่อต้นจะลดลงแต่มีปริมาณผลผลิตสะสมเพิ่มมากขึ้น (Polat et al., 2004) สอดคล้องกับการผลิตแอปเปิลพันธุ์ Empire ในระบบรูปทรงต้นแบบต่าง ๆ ตลอดระยะเวลา 14 ปีของการให้ผลผลิต แสดงให้เห็นว่าการปลูกพืชในระยะชิดสามารถให้ผลผลิตสะสมในปริมาณที่สูงซึ่งมีความสำคัญต่อการให้ผลผลิตในระยะยาว โดยมีแนวโน้มว่าตั้งแต่ปีที่ 6 ของการให้ผลผลิตระบบรูปทรงต้นแบบ Y-trellis มีปริมาณผลผลิตสะสมมากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบ slender spindle (Robinson, 1992) เช่นเดียวกับแอปเปิลพันธุ์ Jonagold และ Delicious ในระยะเวลา 8 ปีของการให้ผลผลิต (Robinson, 1997) และพันธุ์ Redchief Delicious ในระยะเวลา 10 ปีของการให้ผลผลิต (Robinson et al., 1991) ซึ่งมีแนวโน้มเป็นไปในแนวทางเดียวกันกล่าวคือระบบรูปทรงต้นแบบ Y-trellis สามารถให้ผลผลิตสะสมตลอดระยะเวลาการทดลองมากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบอื่น ๆ แต่จากการทดลองในครั้งนี้กลับพบว่า ระบบรูปทรงต้นแบบ open center มีปริมาณผลผลิตสะสมสองปีของการให้ผลผลิตมากที่สุด รองลงมาคือ ระบบรูปทรงต้นแบบ slender spindle, Y-trellis และ palmette ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งการที่ระบบรูปทรงต้นแบบ open center มีปริมาณผลผลิตสะสมสองปีของการให้ผลผลิตในปริมาณมาก เนื่องจากมีการให้ผลผลิตในปีแรกและปีที่สองของการให้ผลผลิตในปริมาณที่สูง ส่งผลให้มีปริมาณผลผลิตสะสมสองปีของการให้ผลผลิตมากตามไปด้วยเช่นเดียว

กับการทดลองของ De Salvador and Fideghelli (1993) ที่ทำการจัดระบบรูปทรงต้นแบบ bush (คล้ายแบบ open center) ในเนคทารีนพันธุ์ Weinberger และ Nectaross มีผลผลิตสะสมตั้งแต่ปีการผลิต 1988-1991 มากกว่าระบบรูปทรงต้นแบบ spindle และ V-shape ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากการทดลองที่กล่าวไปข้างต้นใช้เวลาในการบันทึกข้อมูลผลผลิตสะสมต่อเนื่องหลายปี ทำให้ลดความแปรปรวนของการให้ผลผลิตในแต่ละปีเนื่องจากสาเหตุต่าง ๆ ให้น้อยลงได้ซึ่งการเก็บข้อมูลต่อเนื่องเพียงสองปีอาจให้แนวโน้มของการให้ผลผลิตในระยะยาวไม่ชัดเจนนัก แต่ปริมาณผลผลิตสะสมก็สามารถบอกแนวโน้มของการให้ผลผลิตเพื่อเป็นแนวทางในการตัดสินใจเลือกระบบรูปทรงต้นในการผลิตได้ดีกว่าปริมาณผลผลิตในแต่ละปี (Robinson et al., 1993) คณะผู้วิจัยขอเสนอแนะว่าหากในอนาคตมีการศึกษาในเรื่องนี้ต่อไปควรมีการศึกษาเปรียบเทียบต้นทุนและผลตอบแทน เพื่อเป็นปัจจัยช่วยในการตัดสินใจเลือกใช้ทรงต้นที่ให้ผลกำไรสูงสุดต่อไป

สรุป

การเปรียบเทียบการให้ผลผลิตของชมพูพันธุ์ทับทิมจันทิในระบบรูปทรงต้น 4 แบบ ด้วยการปลูกระยะชิดมีผลผลิตต่อต้น ผลผลิตต่อไร่ ความหนาแน่นของผลผลิต และประสิทธิภาพของผลผลิตในปีแรกมากกว่าปีที่สองและระบบรูปทรงต้นแบบ open center มีแนวโน้มของผลผลิตสะสมสองปีของการผลิตมากที่สุด รองลงมาได้แก่ slender spindle Y-trellis และ palmette ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยมหา วิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- กวิศร์ วานิชกุล. 2546. การจัดทรงต้นและการตัดแต่งไม้ผล. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 213 หน้า.
- ประทีป ภูนาศล. 2540. การตัดแต่งกิ่ง. วารสารเคหการเกษตร 21(11): 53-59.
- เปรมปรี ณ สงขลา. 2545. ทับทิมจันทร์...สุดยอดชมพูแห่งปี. วารสารเคหการเกษตร 26 (2): 65-75.
- มนตรี อิศรไกรศีล. 2544. ผลของระดับการตัดแต่งกิ่งก่อนการใช้สารพาโคไลบิวทราโซลที่มีต่อการออกดอกนอกฤดูของมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 32 (1-4 พิเศษ): 13-16.
- Barone, E., T. Caruso, L. Di Marco and F. Sottile. 1995. Effect of orchard system on fruit quality of four early ripening peach cultivars: preliminary results. *Acta Hort.* 379: 49-57.
- Bussi, C., F. Lescourret, M. Genard and R. Habib. 2005. Pruning intensity and fruit load influence vegetative and fruit growth in early-maturing peach tree (cv. Alexandra). *Fruits* 60(2): 133-142.
- Carbo, J., G. Guanter, J. Bonany, J. Iglesias, R. Montserrat and R. Dalman, 2000. Comparative trials of different pruning and training systems on apple tree. National Meeting on Horticultural Science. Available: AGRIS Database. Accession no. IT2002060436 (July 4, 2005).
- Corelli-Grappadelli, L. 2000. The palmette training system. *Acta Hort.* 513: 329- 336.
- De Salvador, F.R. and C. Fiderghelli. 1993. Peach training systems to improve management efficiency and to reduce costs. *Acta Hort.* 349: 33-37.
- Elfving, D.C. 1988. Economic effects of excessive vegetative growth in deciduous fruit trees. *HortScience* 23: 461-463.
- Marini, R.P. 2003. Physiology of pruning fruit trees. (Online). Available: <http://www.ext.vt.edu/pubs/treefruit/422025/422-025.html>. (July 4, 2005).
- Marsal, J., G. Lopez, M. Mata and J. Girona. 2006. Branch removal and defruiting for the amelioration of water stress effects on fruit growth during stage III of peachfruit development. *Scientia Horticulturae* 108: 55-60.
- Mohammed, S. and L.A. Wilson. 1984. New techniques for tropical tree crop production. International Seminar on New Technologies in Food Production for the Eighties and Beyond-Agro-Tech' 83, St. Augustine (Trinidad and Tobago). Available: AGRIS Database. Accession no. TT8700441 (July 4, 2005).
- Moreno, J., F. Toribio and M.A. Manzano. 1998. Evaluation of palmette, marchand and vase training systems in cherry varieties. *Acta Hort.* 468: 485-489.
- Polat, A.A., C. Durgac, O. Kamiloglu and O. Caliskan. 2004. Effect of different planting densities on vegetative growth, yield and fruit quality of loquat. *Acta Hort.* 632: 189-195.
- Robinson, T. L. 1992. Performance of Y-shaped apple canopies at various angles in comparison with central leader trained trees. *Acta Hort.* 322: 79-86.

- Robinson, T. L. 1997. Interaction of tree form and rootstock on light interception, yield and efficiency of 'Empire', 'Delicious' and 'Jonagold' apple trees trained to different systems. *Acta Hort.* 451: 427-436.
- Robinson, T. L. and A.N. Lakso. 1991. Bases of yield and production efficiency in apple orchard systems. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116: 188-194.
- Robinson, T. L., A.N. Lakso and S.G. Carpenter. 1991. Canopy development, yield, and fruit quality of 'Empire' and 'Delicious' apple trees grown in four orchard production systems for ten years. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(2): 179 - 187.
- Robinson, T. L., J. Wünsche and A.N. Lakso. 1993. The influence of orchard system and pruning severity on yield, light interception, conversion efficiency, partitioning index and leaf area index. *Acta Hort.* 349: 123-127.
- Rufato, L., A.D. Rossi, L. Piccolotto, E. Parizoto and J.C. Fachinello. 2004. Evaluation of vegetative and productive responses of two peach training systems (Y system and central leader) in an ICM orchard. *Acta Hort.* 636: 711-715.
- Whiting, M. D., G. Lang and D. Ophardt. 2005. Rootstock and training system affect sweet cherry growth, yield and fruit quality. *HortScience* 40(3): 582-586.
-

การใช้ความสมดุลธาตุอาหารเพื่อปรับปรุงผลผลิตและคุณภาพ ของส้มสายน้ำผึ้ง: 2. การประเมินตำแหน่งใบส้มที่เหมาะสม สำหรับการเก็บตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช

Use of Nutrient Balance for Improving Fruit Yield and Quality of Tangerine (*Citrus reticulata* Blanco) cv. Sainampueng:

II. Assessment of Appropriate Tangerine-leaf Sampling Position for Nutrient Analysis

ภาวินี จันทวิจิตร^{1/} ธวัชชัย รัตนขเลศ^{1/} และ นันทรัตน์ สุภกานันต์^{2/}
Pavinee Chanvichit^{1/}, Tavatchai Radanachaless^{1/} and Nantarat Supakamnerd^{2/}

Abstract: The experiment aimed to study the effect of leaf position on leaf nutrient concentration of tangerine (*Citrus reticulata* Blanco) cv. Sainampueng in order to establish the appropriate index leaf for assessing plant nutrient status. Leaves at 90 days of age from non bearing twigs were sampled from the farmer's orchard in Fang district of Chiang Mai province. The first six leaves from around the canopy were sampled separately and composite leaf samples of the same leaf position were made. Subsequently, the concentrations of N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn and B of sampled leaves were analyzed. The results indicated that the third leaf from shoot apex should be sampled and used as index leaf to assess the nutrient status in plants since there was less variation of all nutrient concentrations in leaves.

Keywords: Tangerine cv. Sainampueng, nutrient concentration, leaf position

^{1/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ต. รอบเวียง อ. เมือง จ. เชียงราย 57000

^{1/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^{2/} Chiang Rai Horticulture Research Center, Chiang Rai 57000, Thailand

บทคัดย่อ: การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของตำแหน่งใบที่มีผลต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโบสลายน้ำผิวดิน เพื่อกำหนดตำแหน่งใบที่เหมาะสมสำหรับประเมินธาตุอาหารในต้นพืช เลือกช่อใบที่มีอายุ 90 วัน จากกิ่งที่ไม่มีการติดผล ของต้นส้มในสวนของเกษตรกร อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ใช้วิธีสุ่มเก็บตัวอย่างใบตำแหน่งที่ 1 - 6 โดยเก็บแยกแต่ละตำแหน่งจากปลายยอดรอบทรงพุ่ม แล้วนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง สังกะสี และโบรอนในโบสลายแต่ละตำแหน่ง ผลการทดลองชี้ว่าใบที่ 3 จากปลายยอดของช่อใบเป็นตำแหน่งที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวอย่างเพื่อประเมินระดับธาตุอาหารในต้นส้ม เนื่องจากความเข้มข้นของธาตุอาหารมีความแปรปรวนน้อย

คำสำคัญ: ส้มสายน้ำผึ้ง ความเข้มข้นของธาตุอาหาร ตำแหน่งใบ

คำนำ

การวิเคราะห์พืชเป็นการประเมินระดับของธาตุอาหารที่พืชได้รับจากดิน (อรุณศิริ และคณะ, 2546) โดยค่าที่วิเคราะห์ได้จะนำมาเทียบกับค่าวิกฤตมาตรฐาน หรือค่าวิเคราะห์มาตรฐานที่ได้รับความนิยมแพร่หลาย ซึ่งจะสามารถบอกให้ทราบถึงสถานะของธาตุอาหารในสวนไม้ผลนั้น ๆ (Kenworthy, 1973) ส่วนการวิเคราะห์สมบัติดินจะใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงดิน เพื่อให้ธาตุอาหารอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเท่านั้น (Chang *et al.*, 1996; Leece, 1976a, b) การนำผลการวิเคราะห์พืชมาใช้ร่วมกับผลการวิเคราะห์ดินจะให้ประโยชน์อย่างมากสำหรับใช้เป็นแนวทางในการจัดการปุ๋ยให้กับพืช (Righetti *et al.*, 1990)

การเก็บตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารสำหรับไม้ผล ต้องกำหนดไว้เป็นการเฉพาะว่าต้องเก็บส่วนใด (สุมิตรา และคณะ, 2541) ส่วนใหญ่มักเจาะจงที่จะใช้ใบ เนื่องจากเป็นศูนย์รวมของเมแทบอลิซึมที่สำคัญของพืช นอกจากนี้ใบพืชยังเป็นตัวแสดงที่ไวต่อการขาดธาตุอาหาร (อรุณศิริ และคณะ, 2546) และการเก็บใบไปวิเคราะห์ก็ไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตมากเท่ากับส่วนอื่น แต่วิธีการเก็บตัวอย่างใบเพื่อนำไปวิเคราะห์มีความแตกต่างกันไปในแต่ละพืช หลักสำคัญที่ใช้พิจารณาการเก็บตัวอย่างใบ คือควรมีความเข้มข้นของธาตุอาหารนั้น ๆ ใกล้เคียงกันหรือมีความแตกต่างกันค่อนข้างน้อย (สุมิตรา และคณะ, 2541) นันทรัตน์ (2549) แนะนำว่าควรเก็บใบส้มโชกุนก่อนที่จะมีการแตกใบใหม่ และเก็บใบ

ที่มีการขยายขนาดเต็มที่ ขณะที่ประเทศไต้หวัน การเก็บใบส้มเพื่อวิเคราะห์ต้องเก็บใบที่ 3 หรือ 4 จากยอดกิ่งที่ไม่ติดผลและแตกออกมาในช่วงฤดูใบไม้ผลิ และเก็บเมื่อใบนั้นมียุ 5 - 6 เดือน (Chang *et al.*, 1996) ส่วนในสหรัฐอเมริกาจะเก็บใบส้มที่อยู่กึ่งกลางของช่อใบ เมื่อใบมีอายุ 4 - 6 เดือน (Smith, 1966; Embleton *et al.*, 1973) ขณะที่กลุ่มต้นส้มเปลือกกลอน โดยเฉพาะส้มสายน้ำผึ้งในจังหวัดเชียงใหม่ มีการออกดอกติดผลตลอดทั้งปี (ภาวินี และวัชรชัย, 2551) และมีการแตกใบใหม่ทุก 2 - 3 เดือน การเก็บตัวอย่างใบอายุ 4 - 6 เดือนจากกิ่งที่ไม่มีดอกติดผล และไม่มีการแตกใบอ่อนจึงทำให้การเก็บตัวอย่างใบเป็นไปได้อย่างง่าย และไม่มีความไม่ชัดเจน การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินหาตำแหน่งใบที่เหมาะสมสำหรับการเก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ธาตุอาหาร

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชทดสอบเป็นส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ติดผลแล้ว อายุ 5 ปี ในสวนของเกษตรกร ต.แม่สุ่นน้อย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) มี 6 กรรมวิธี คือ ใบตำแหน่งที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 นับจากปลายยอด (ภาพที่ 1) จำนวน 5 ซ้ำ ให้ 1 ต้นแทน 1 ซ้ำ สอบถามข้อมูลการจัดการดินและปุ๋ย และข้อมูลผลผลิตจากเจ้าของสวนในรอบ 1 ปีที่ผ่านมา เก็บใบส้ม เมื่อวันที่ 21 พฤษภาคม 2548 ซึ่งเป็นระยะที่ใบส้มมีอายุประมาณ 3 เดือน เก็บ

รอบทรงพุ่มจากต้นที่คัดเลือกไว้ประมาณ 50 ใบ ลำงและเข้าตูบที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน บดละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.05 มิลลิเมตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณทั้งหมดที่มีอยู่ในใบของธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง สังกะสี และโบรอน รวม 10 ธาตุ โดยอ้างอิงวิธีของศรีสม (2544) พร้อมเก็บตัวอย่างดินภายใต้ทรงพุ่ม ที่ความลึก 2 ระดับ คือ 0 - 15 เซนติเมตร และ 15 - 30 เซนติเมตร ต้นละ 4 จดรอบทรงพุ่มจากต้นที่เก็บตัวอย่างใบในวันที่เก็บใบส้ม นำตัวอย่างดินที่ระดับความลึกเดียวกันทั้งหมดมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน นำมาตากให้แห้งในร่ม บด และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ไปวิเคราะห์หาความเป็นกรด-เบส (1:1, ดิน:น้ำ, pH meter) วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray II) ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (NH_4OAc 1 N) ปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (La_2O_3 5 %) ปริมาณเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสีที่เป็นประโยชน์ (DTPA) ปริมาณโบรอนที่เป็นประโยชน์ (CaCl_2 0.01 M) ส่วนการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในดินให้ร่อนดินผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตรก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (Walkley and Black) โดยอ้างอิงวิธีของนงลักษณ์ (2548) นำผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารมาหาความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยวิธี LSD ระยะเวลาการศึกษายู่งระหว่างวันที่ 21 พฤษภาคม - 31 ตุลาคม 2548

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของตำแหน่งใบต่อความเข้มข้นธาตุอาหารในใบส้มสายน้ำผึ้ง

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างใบส้มสายน้ำผึ้ง ตำแหน่งที่ 1 - 6 พบว่า ความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และโบรอนเพิ่มขึ้นตามตำแหน่งใบจากปลายกิ่ง (ตารางที่ 1) ขณะที่ธาตุแคลเซียม เหล็ก แมงกานีส และสังกะสีมีความเข้มข้นในใบลดลง ซึ่งต่างจากธาตุอาหารแมกนีเซียม และทองแดงที่ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบที่ตำแหน่งต่างกันมีความแตกต่างกัน

และไม่มีรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงที่แน่นอน ซึ่งอาจเป็นผลจากการพ่นแมกนีเซียมในช่วงสัปดาห์แรกของเดือนพฤษภาคม และการใช้สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ซึ่งมีส่วนผสมของทองแดงเป็นองค์ประกอบของเกษตรกร

ส่วนตำแหน่งใบที่เหมาะสมสำหรับการเก็บตัวอย่างพืชเพื่อนำมาวิเคราะห์ธาตุอาหาร พิจารณาได้จากปริมาณธาตุอาหารที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อย หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่ออายุใบมีการเปลี่ยนแปลงไป พบว่าความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจน และโพแทสเซียมค่อนข้างคงที่ในใบตำแหน่งที่ 1 - 5 ความเข้มข้นของธาตุฟอสฟอรัส และแมกนีเซียมค่อนข้างคงที่ในใบตำแหน่งที่ 1 - 4 ส่วนความเข้มข้นของ ธาตุแคลเซียมในใบตำแหน่งที่ 3 และ 4 ต่ำกว่าตำแหน่งที่ 1 และ 2 เล็กน้อย สำหรับความเข้มข้นของจุลธาตุต่าง ๆ ค่อนข้างแปรปรวนซึ่งอาจเนื่องมาจากการพ่นจุลธาตุทางใบ อย่างไรก็ตาม พบว่าความเข้มข้นของจุลธาตุเกือบทุกธาตุในใบตำแหน่งที่ 3 - 6 มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าใบตำแหน่งที่ 1 - 2 ดังนั้นเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบทุกธาตุ จะเห็นได้ว่าใบตำแหน่งที่ 3 จากปลายยอดของช่อใบน่าจะเหมาะสมที่จะสุ่มเก็บตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหาร สำหรับการประเมินระดับความสมบูรณ์ของต้นส้มมากกว่าใบตำแหน่งอื่น ๆ เพราะความเข้มข้นของธาตุอาหารส่วนใหญ่มีความแปรปรวนน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยในทุเรียน (สุมิตรา และคณะ, 2541) ส่วนอายุใบที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่าง นั้นทรันต์ (2547) แนะนำให้เก็บใบอายุประมาณ 60 - 90 วัน ขณะที่ นั้นทรันต์ และคณะ (2548) แนะนำการเก็บตัวอย่างใบเพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์ของต้นส้มโชกุน ควรเก็บเมื่อใบมีอายุ 2 - 4 เดือน แต่เนื่องจากส้มสายน้ำผึ้งมีการแตกใบใหม่ทุก 2 - 3 เดือน ดังนั้น การเก็บตัวอย่างใบเพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหาร จึงควรเก็บก่อนที่จะมีการแตกใบใหม่ คือ เก็บเมื่อใบมีอายุตั้งแต่ 60 - 90 วัน และเมื่อนำค่าความเข้มข้นในตำแหน่งใบที่ 3 มาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของส้มในฟลอริดา และได้หวั่น พบว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แต่ธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม และทองแดงมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐาน ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะดินมีธาตุโพแทสเซียมอยู่สูง (ตารางที่ 2) ต้นส้มดูดไปสะสมไว้ในเนื้อเยื่อมาก (luxury consumption)

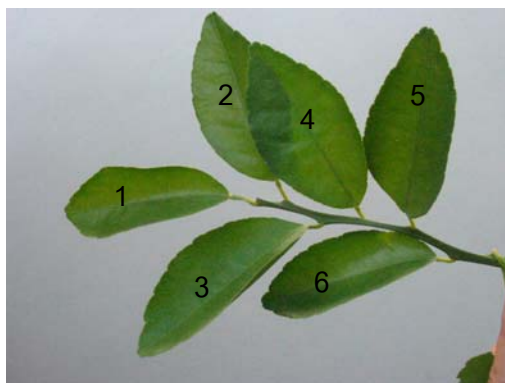


Figure 1 Leaf position of tangerine for nutrient concentration analysis.

Table 1 Concentration of elements in 90 day-old leaf of tangerine at different leaf position.

Leaf position	Concentration of macronutrient element (%) ^{1/}					Concentration of micronutrient element (ppm) ^{1/}				
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
1	2.53 b	0.154 cd	2.06 b	6.01 a	0.36 ab	122.08 a	62.61 ab	130.68 a	26.28 c	29.96 c
2	2.59 ab	0.152 d	2.08 b	5.89 a	0.35 ab	100.30 b	63.04 ab	120.08 a	24.01 d	43.32 b
3	2.80 ab	0.155 bcd	2.16 ab	5.28 b	0.35 ab	75.84 de	63.61 a	84.82 b	24.26 d	63.30 a
4	2.81 ab	0.160 abc	2.15 b	5.38 b	0.37 a	80.98 d	61.04 b	93.30 b	30.19 b	61.80 a
5	2.76 ab	0.163 a	2.29 ab	4.71 c	0.34 b	87.56 c	55.05 c	89.86 b	32.45 a	64.80 a
6	2.93 a	0.161 ab	2.47 a	4.57 c	0.31 c	73.58 e	47.35 d	62.03 c	30.88 ab	63.70 a
F - test	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
LSD _{0.05}	0.36	0.006	0.31	0.36	0.03	6.56	2.12	12.17	1.59	8.11
%CV	8.71	3.24	10.91	5.15	5.75	5.58	2.76	9.63	4.34	11.40
Adequate concentration										
Florida ^{2/}	2.5-2.7	0.12-0.16	1.2-1.7	3.0-4.9	0.3-0.49	60-120	25-100	25-100	5-16	36-100
Taiwan ^{3/}	2.9-3.1	0.12-0.18	1.4-1.7	2.5-4.5	0.26-0.5	60-120	25-200	25-100	5-16	25-150

^{1/} Means followed by different letters within columns are significantly different at the 5 % level by LSD^{2/} source: Alva and Tucker (1999)^{3/} source: Chang *et al.* (1992)

Table 2 Nutrient concentrations in soil at two depth levels and the standard value.

Nutrient	Soil nutrient concentration		Optimum concentration ^{1/}
	0-15 cm depth	15-30 cm depth	
pH	4.7	5.1	6 - 7
OM (%)	2.9	1.7	2.5 - 3.0
P (mg/kg)	337.0	91.0	26 - 42
K (mg/kg)	300.0	207.0	130
Ca (mg/kg)	918.0	1074.0	1040
Mg (mg/kg)	136.0	118.0	130
Fe (mg/kg)	213.0	124.8	11 - 16
Mn (mg/kg)	51.5	25.2	9 - 12
Cu (mg/kg)	6.0	2.9	0.9 - 1.2
Zn (mg/kg)	7.4	3.0	1.1 - 3.0
B (mg/kg)	0.35	0.39	0.6 - 3.0

^{1/} นันทวัฒน์ (2547)

(ยงยุทธ, 2543) ส่วนการที่ธาตุแคลเซียม และทองแดงมีค่าสูงอาจเป็นเพราะเกษตรกรมีการพ่นแคลเซียม และการใช้สารฆ่าราที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ

2. ความสัมพันธ์ของปริมาณธาตุอาหารในดินกับความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบ

จากการหาความสัมพันธ์ของธาตุอาหารในดิน (ตารางที่ 2) กับความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบ (ตารางที่ 1) พบว่าความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และโบรอนในใบกับความเข้มข้นในดินไม่มีความสัมพันธ์กัน (ภาพที่ 2) ส่วนธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม และสังกะสีในใบมีความเข้มข้นมากตามความเข้มข้นในดิน ซึ่งการที่ไม่มีความสัมพันธ์กันนี้ แสดงให้เห็นว่าในขณะที่ดินมีปริมาณธาตุอาหารเพียงพอกับความต้องการของพืช การให้ปุ๋ยมาก พืชก็ไม่สามารถดูดขึ้นไปใช้ได้ เป็นการสูญเสียโดยเปล่าประโยชน์

สรุป

ใบในตำแหน่งที่ 3 จากปลายยอดของช่อใบ (กรณีใบอายุประมาณ 90 วัน และเป็นกิ่งที่ไม่มีผล) เป็นใบที่เหมาะสมสำหรับสุ่มเป็นตัวอย่างใบส้มสายน้ำผึ้งสำหรับวิเคราะห์เพื่อบอกสถานะความสมบูรณ์ของต้นส้มและความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบมีความสัมพันธ์กับปริมาณธาตุอาหารในดินน้อยมาก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณศรีเย็น ทาวราช เจ้าของสวนส้มศรีเย็น ที่เอื้อเฟื้อส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ใช้ทดลอง พร้อมช่วยเหลือดูแลให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกต่าง ๆ แก่ผู้ทดลองเป็นอย่างดี

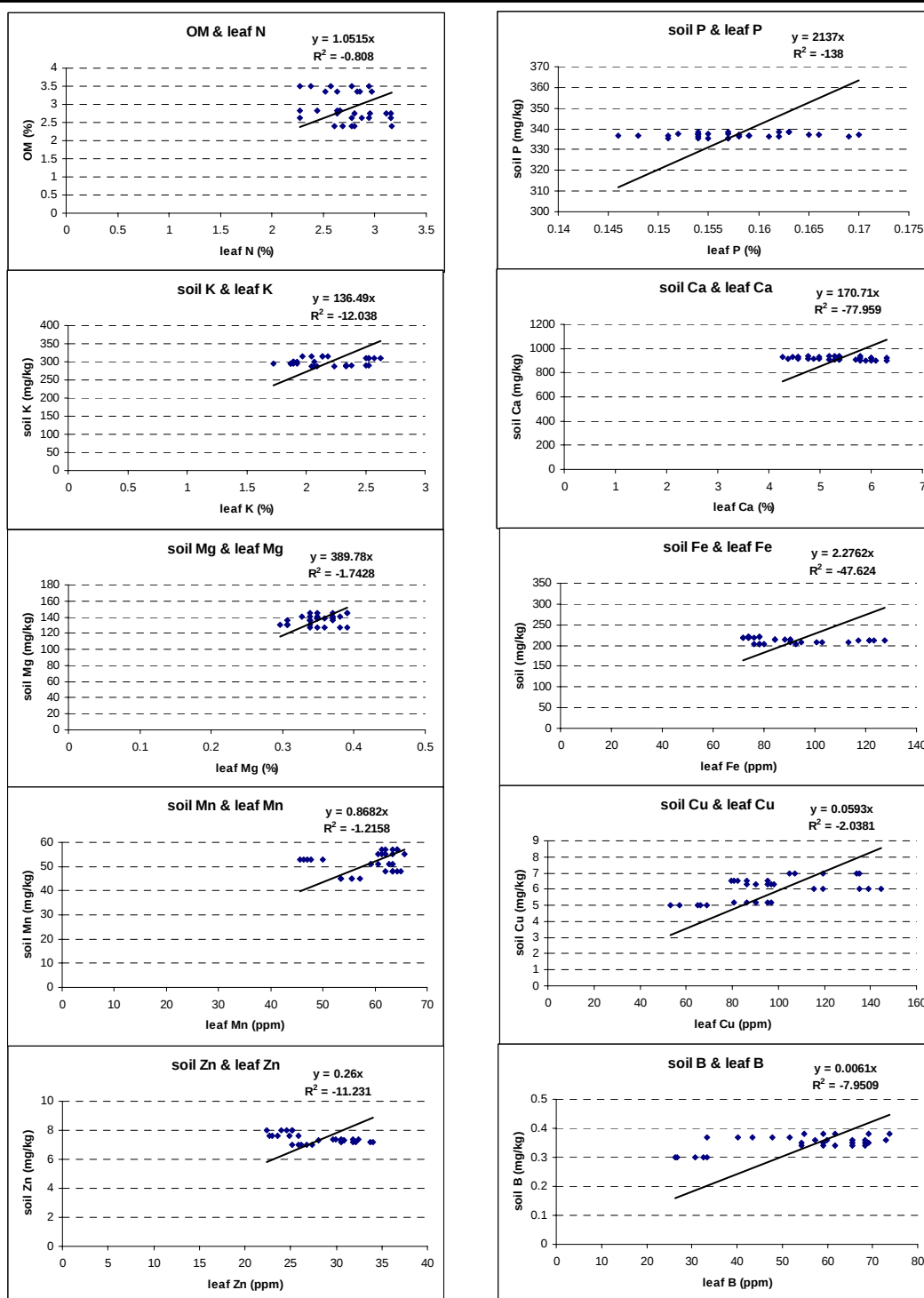


Figure 2 Relationship between soil nutrient concentrations and leaf nutrient concentrations in tangerine cv. Sainampueng.

เอกสารอ้างอิง

- ภาวินี จันทวิจิตร และ ธวัชชัย รัตน์เลิศ. 2551. การใช้ความสมดุลธาตุอาหารเพื่อปรับปรุงผลผลิตและคุณภาพของส้มสายน้ำผึ้ง : 1. ระบบการผลิตส้มสายน้ำผึ้งในจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร. 24(1): 59-69.
- นงลักษณ์ ปุโรณพงษ์. 2548. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 284 หน้า.
- นันทรัตน์ ศุภกานี. 2547. การจัดการดินและธาตุอาหารไม้ผล. ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย, เชียงราย. 31 หน้า.
- นันทรัตน์ ศุภกานี ปัญจพร เลิศรัตน์ และ สิริ สุวรรณเขตนิคม. 2548. การประเมินความต้องการธาตุอาหารของส้มโดยการวิเคราะห์พืช. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 102 หน้า.
- นันทรัตน์ ศุภกานี. 2549. การจัดการปุ๋ยในสวนส้ม. หน้า 74-94. ใน: เอกสารประกอบการสัมมนาทางวิชาการเรื่อง "ส้ม": มาตรฐานการตลาด. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ยงยุทธ โอสดสภา. 2543. ธาตุอาหารพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 424 หน้า.
- ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2544. การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 141 หน้า.
- สุมิตรา ภู่วโรดม นุกูล ถวิลถึง สมพิศ ไผ่เรียง พิมพ์เกษตรกรรม และ จิรพงษ์ ประสิทธิ์เชตร. 2541. ความต้องการธาตุอาหารและการแนะนำปุ๋ยในทุเรียน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 196 หน้า.
- อรุณศิริ กำลัง ยงยุทธ โอสดสภา วิสุทธิ วีรสาร และ จันทรจิรัส วีรสาร. 2546. การวิเคราะห์ใบเพื่อกำหนดแนวทางในการประเมินระดับธาตุอาหารและการใช้ปุ๋ยอย่างเหมาะสมสำหรับลิ้นจี่ที่ปลูกในเขตภาคกลางของประเทศไทย. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 203 หน้า.
- Alva, A.K. and D.P.H. Tucker. 1999. Soils and citrus nutrition. pp. 59-71. In: L.W. Timmer and L.W. Duncan (eds.). Citrus Health Management. APS Press, St. Paul.
- Chang, S.S., W.T. Huang, S. Lian and W.L. Wu. 1992. Research on soil testing and leaf diagnosis as guides to fertilization recommendation for citrus orchards in Taiwan. pp. 167-195. In: Annual Research Reports on Soils and Fertilizers No. 81. Provincial Department of Agriculture and Forestry, Taipei, Taiwan R.O.C.
- Chang, S.S., W.T. Huang, S. Lian, A.H. Chang and W.L. Wu. 1996. Research on leaf diagnosis criteria and its application to fertilization recommendations for citrus orchards in Taiwan. Paper presented at the FFTC-UPLB Training Course on Soil and Plant Analysis for Diagnosis of Fertilizer Recommendations. December 1-8, 1996. UPLB, Laguna, Philippines.
- Embleton, T.W., W.W. Jones, C.K. Labanauskas and W. Reuther. 1973. Leaf analysis as a diagnostic tool and guide to fertilization. pp. 183-210. In: W. Reuther (ed.). The Citrus Industry. Vol. III. University of California, Berkeley.
- Kenworthy, A.L. 1973. Leaf analysis as an aid in fertilizing orchards. pp. 381-392. In: L.M. Walsh and J.D. Beaton (eds.). Soil Testing and Plant Analysis. Rev. ed., SSSA, Madison.

- Leece, D.R. 1976a. Diagnosis of nutritional disorder of fruit trees by leaf and soil analysis and biochemical indices. J. Aust. Inst. Agric. Sci. 42: 3-19.
- Leece, D.R. 1976b. Diagnosis leaf analysis for stone fruit. 7. Effect of fertilizer nitrogen, phosphorus, and potassium on leaf composition of peach. Aust. J. Exp. Agric. Animal Husb. 16: 775-779.
- Righetti, T.L., K.L. Wilder and G.A. Cummings. 1990. Plant analysis as an aid in fertilizing orchards. pp. 563-601. *In*: R.L. Westerman (ed.). Soil Testing and Plant Analysis, 3rd ed. SSSA, Madison.
- Smith, P.F. 1966. Leaf analysis of citrus. pp. 208-228. *In*: N.F. Childers (ed.). Nutrition of Fruit Crops: Tropical, Sub-tropical, Temperate tree and small fruits. Rutgers State University, New Brunswick.
-

ผลของสารล้างผิวต่ออายุการเก็บรักษาและคุณภาพ หลังการเก็บเกี่ยวของมะนาว

Effects of Washing Agents on Shelf-life and Postharvest Qualities of Lime

ภกษณชัย คลอดเพ็ง^{1/} ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข^{1/} และมณีฉัตร นิกรพันธุ์^{1/}
Krissanachai Klodpeng^{1/}, Tanachai Pankasemsuk^{1/} and Maneechat Nikompun^{1/}

Abstract: The various washing agents were used to study their effects on shelf-life and postharvest qualities of lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle). Completely Randomized Design (CRD) with 4 replications was used in this study. The experiment consisted of 8 treatments (kind of washing agents) as following: no washing (control), distilled water, Clorox 1.0%, Clorox 1.5%, Clorox 2.0%, ozone 40 mg/hr, ozone 70 mg/hr and ozone 100 mg/hr. The results showed that lime washed with ozone at any concentrations had longer shelf-life (>27 days) and significantly difference when compared with the other washing agents and control. Clorox with every concentrations gave the shortest shelf-life (14-17 days) of lime. Moreover, lime washed with ozone gave the better postharvest qualities.

Keywords: Lime, shelf-life, postharvest quality, Clorox, ozone

บทคัดย่อ: สารล้างผิวผลไม้หลายชนิดได้ถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาผลกระทบทางด้านอายุการเก็บรักษาและคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะนาว (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (RCD) มี 4 ซ้ำ การทดลองประกอบด้วย 8 กรรมวิธีของการล้างผิว คือ ไม่มีการล้าง (ชุดควบคุม) การล้างด้วยน้ำกลั่น คลอโรกซ์ 1.0% คลอโรกซ์ 1.5% คลอโรกซ์ 2.0% สารละลายโอโซน 40 มิลลิกรัม/ชั่วโมง สารละลายโอโซน 70 มิลลิกรัม/ชั่วโมง และสารละลายโอโซน 100 มิลลิกรัม/ชั่วโมง ผลการการศึกษาพบว่า การล้างผลมะนาวด้วยสารละลายโอโซนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ การล้างด้วยสารล้างผิวชนิดอื่น ๆ รวมถึงชุดควบคุมด้วย โดยมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 27 วัน ในขณะที่การล้างผิวด้วยการคลอโรกซ์ทุกความเข้มข้นจะทำให้อายุการเก็บรักษาน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีอื่น ๆ โดยมีอายุการเก็บรักษาในช่วง 14-17 วัน นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อล้างผลมะนาวด้วยสารละลายโอโซนยังทำให้คุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวหลายอย่างของมะนาวดีกว่าการล้างผลด้วยสารล้างผิวชนิดอื่น ๆ เช่นเดียวกัน

คำสำคัญ: มะนาว อายุการเก็บรักษา คุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว คลอโรกซ์ โอโซน

^{1/}ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

คำนำ

มะนาว (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) เป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่คนไทยได้นิยมนำมาใช้ในการประกอบอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติ โดยมะนาวจะให้รสเปรี้ยวและมีกลิ่นหอม มะนาวมีอยู่มากมายหลายสายพันธุ์ เช่น มะนาวหนัง มะนาวไข่ มะนาวแป้น มะนาวพม่า มะนาวตาฮิติ และมะนาวหวาน เป็นต้น แต่ที่คนไทยนิยมปลูกและนำมาใช้ในการประกอบอาหารมากที่สุดได้แก่มะนาวแป้น เนื่องจากให้ผลดกและออกผลได้ตลอดปี มีผลขนาดปานกลาง ทรงมนแป้น เปลือกบางใสมีสีเขียวอมเหลือง ไม่ค่อยมีเมล็ดมาก มีน้ำมากและมีกลิ่นหอม (สุภกิจ, 2540)

การเก็บรักษาผลมะนาวหลังการเก็บเกี่ยวมาแล้วนับว่ามีปัญหาอยู่พอสมควร เนื่องจากจะมีเชื้อราและแบคทีเรียเข้าทำลายผล ทำให้ผลมีความเสียหายไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานเชื้อเหล่านี้สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่อยู่ในแปลงและภายหลังการเก็บเกี่ยว เช่น ในขณะคัดเลือกหรือบรรจุหีบห่อหรือขณะทำการขนส่งเชื้อเหล่านี้จะเข้าทำลายผลผ่านทางเลนติเซล รอยแตก รอยขีด หรือบาดแผลที่เกิดขึ้นขณะเก็บเกี่ยว มะนาวเป็นผลไม้ที่มีสารคิวตินเคลือบผิวอยู่ จึงช่วยในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ แต่ถ้าชั้นคิวตินบางส่วนถูกทำลายไป ทำให้เกิดช่องทางการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ง่ายขึ้น (จรัสแท้, 2544) การฆ่าเชื้อสาเหตุของโรคที่เกิดขึ้นหลังการเก็บเกี่ยวทำได้หลายวิธี เช่น การใช้น้ำยาฆ่าเชื้อหรือใช้โอโซนมาล้างผลก่อนทำการเก็บหรือบรรจุและขนส่ง ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษถึงผลของการใช้สารล้างต่าง ๆ ที่มีต่อคุณภาพและอายุในการเก็บรักษาของผลมะนาว

อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลมะนาวแป้นที่ได้ผ่านการคัดเลือกเป็นผลที่ปราศจากบาดแผลและมีเชื้อโรคเข้าทำลายมาผ่านการล้างผลตามกรรมวิธีต่าง ๆ โดยการแช่และไม่มีการขัดผิวไว้นาน 1 ชั่วโมง ฝั่งให้แห้งในร่มแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่ม

สมบูรณ์ (CRD) มี 4 ซ้ำ (replications) การทดลองประกอบด้วย 8 กรรมวิธี (treatments) คือ 1). ไม่ล้างผล (ชุดควบคุม) 2). ล้างด้วยน้ำกลั่น 3). ล้างด้วยคลอโรกซ์เข้มข้น 1.0% 4). ล้างด้วยคลอโรกซ์เข้มข้น 1.5% 5). ล้างด้วยคลอโรกซ์เข้มข้น 2.0% 6). ล้างด้วยโอโซนอัตรา 40 มิลลิกรัม/ชั่วโมง 7). ล้างด้วยโอโซนอัตรา 70 มิลลิกรัม/ชั่วโมง และ 8). ล้างด้วยโอโซนอัตรา 100 มิลลิกรัม/ชั่วโมง แล้วทำการบันทึกผลทุก ๆ 3 วันเป็นเวลา 27 วัน โดยทำการบันทึกค่าต่าง ๆ ต่อไปนี้

1. **อายุการเก็บรักษา (shelf-life)** การหาค่าอายุการเก็บรักษาเมื่อผลมะนาวมีสีน้ำตาลและเกิดโรคมากกว่าครึ่งหนึ่งของผลทั้งหมด

2. **เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก (loss in weight percentage)** โดยการชั่งน้ำหนัก

3. **การเกิดสีน้ำตาลที่ผิว (brown spot)** โดยการพิจารณาปริมาณสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นหลังการเก็บรักษา โดยให้คะแนนดังนี้คือ 0 = ไม่เกิดสีน้ำตาล 1 = มีสีน้ำตาล 0.01-5.00% 2 = มีสีน้ำตาล 5.01-25.00% 3 = มีสีน้ำตาล 25.01-50.00% 4 = มีสีน้ำตาล 50.01-80.00% และ 5 = มีสีน้ำตาล มากกว่า 80.00%

4. **การเน่าเสียเนื่องจากเชื้อโรคเข้าทำลาย (rot)** โดยพิจารณาปริมาณการเข้าทำลายของโรคที่ผิวของผล โดยการให้คะแนนเป็น 5 ระดับเช่นเดียวกับการเกิดสีน้ำตาลที่ผิว

5. **ความแน่นเนื้อ (firmness)** โดยวัด 3 จุดต่อผล โดยใช้เครื่อง Firmness tester และอ่านค่าเป็นกิโลกรัม

6. **การเปลี่ยนแปลงสีผิวของผล (colour change)** โดยใช้เครื่อง Chroma meter วัดสีเปลือกของผลบริเวณกึ่งกลางผล โดยแสดงผลค่า Chroma (C^*) และค่า Hue (h°)

7. **ปริมาณน้ำคั้น (juice quantity)** โดยนำผลมะนาวมาคั้นน้ำทั้งหมดแล้ววัดด้วยกระบอกตวง

8. **ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids: TSS)** นำน้ำมะนาวที่คั้นได้มาหยดลงบนปริซึมของเครื่อง Hand refractometer แล้วอ่านค่าออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์

9. **ปริมาณวิตามินซี (vitamin C)** นำน้ำมะนาวที่คั้นได้ 2 มิลลิลิตร เติมกรดเมตาฟอสฟอริก อะซิติก 5 มิลลิลิตร นำไปไตเตรทกับสารละลาย 2,6- ไดคลอโรอินโดฟินอล แล้วคำนวณตามวิธีของ AOAC (2000)

10. ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity: TA) โดยไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N และใช้ ฟีนอล์ฟทาลีน 1% (w/w) เป็นอินดิเคเตอร์ แล้วนำไป คำนวณหาปริมาณกรดโดยใช้สมมูลย์ของกรดซิตริก

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. อายุการเก็บรักษา

ผลมะนาวจะหมดอายุการเก็บรักษาเมื่อเชื้อราปรากฏให้เห็นที่ผล และผิวของสีผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากกว่า 50% ของจำนวนผลที่ทำการเก็บรักษา จากการศึกษาพบว่า ผลมะนาวที่ล้างด้วยสารละลายไฮโซนทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกัน แต่จะยืดการเก็บรักษาได้นานกว่าการล้างด้วยวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) ในขณะที่การล้างด้วยคลอริกซ์จะมีการอายุในการเก็บรักษาสั้นกว่าการล้างด้วยวิธีอื่น ๆ เนื่องจากไฮโซนเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ โดยทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าคลอรีน 52% จึงสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และสิ่งมีชีวิตที่แขวนลอยอยู่ในน้ำได้เป็นอย่างดี (ชมภูศักดิ์ และเทพนม, 2540) Hunt and Marinas (1999) พบว่า ระยะเวลาและความเข้มข้นของไฮโซนก็มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ส่วนการล้างผลมะนาวด้วยคลอริกซ์นั้น ถ้าหากมีการแช่ผลมะนาวไว้นานและความเข้มข้นของคลอริกซ์สูง จะเป็นการทำลายผิวของผลมะนาวทำให้เกิดความเสียหาย จึงเป็นสาเหตุให้น้ำเสียเร็วหรือมีอายุในการเก็บรักษาสั้นกว่าการล้างด้วยวิธีอื่น ๆ

2. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

พบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจะเพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธี เนื่องจากกระบวนการทางชีวเคมีของผลมะนาวยังคงเกิดขึ้นหลังจากเก็บเกี่ยว ทำให้ผลมะนาวสูญเสียน้ำหนักจากการคายน้ำและสูญเสียน้ำในกระบวนการหายใจ ผลของการล้างผลมะนาวในระยะ 3 วันแรกจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการล้างด้วยน้ำกลั่นและไม่ล้างผลจะมีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด รองลงไปคือการล้างด้วยไฮโซน และการล้างด้วยคลอริกซ์จะมีการ

สูญเสียน้ำหนักมากที่สุด แต่เมื่ออยู่ในช่วง 6-12 วันจะไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และจะเกิดความแตกต่างทางสถิติเกิดขึ้นอีกในช่วง 15-21 วัน ดังแสดงในตารางที่ 2 ในช่วงนี้การล้างผลด้วยไฮโซนจะมีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด ในขณะที่การล้างด้วยคลอริกซ์จะมีการสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากการล้างด้วยคลอริกซ์จะทำให้ชั้นไขหรือแวกซ์ธรรมชาติถูกทำลายลง จึงมีการสูญเสียน้ำได้ง่ายและมากขึ้น (สายชล, 2528) โดยไฮโซนจะมีผลในทางด้านนี้น้อยและจะมีในระยะแรกเท่านั้น ส่วนในระยะหลังไฮโซนมีการสลายตัวไปในชั่วระยะเวลาไม่นาน (Graham, 1997)

3. การเกิดสีน้ำตาลที่ผิว

จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นผลมะนาวจะเกิดสีน้ำตาลที่ผิวเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3) การล้างผลด้วยคลอริกซ์จะทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นเร็วกว่าการล้างด้วยวิธีอื่น ๆ โดยเริ่มเกิดขึ้นเมื่อเก็บรักษาได้เพียง 9 วัน และเกิดขึ้นมากกว่า 80% เมื่อเก็บไว้ถึง 21 วัน ในขณะที่การไม่ล้างผลและการล้างด้วยน้ำกลั่นจะเกิดขึ้นในวันที่ 18 และเกิดขึ้นมากกว่า 80% เมื่อเก็บไว้ 27 วัน ส่วนการล้างด้วยไฮโซนจะเริ่มเกิดขึ้นในวันที่ 24 ของการเก็บรักษา แต่จะเกิดไม่เกิน 25% เมื่อเก็บไว้ถึง 27 วันแล้วก็ตาม เนื่องจากการล้างด้วยคลอริกซ์เป็นการทำลายชั้นไขของผิวผลมากกว่าการล้างด้วยวิธีอื่น ๆ จึงทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นได้ง่ายและเร็ว และจะเกิดมากเมื่อมีการเก็บรักษาไว้ 21 วันขึ้นไป อย่างไรก็ตามพบว่า การล้างด้วยไฮโซนจะเก็บรักษาไว้ได้นาน ถึงแม้จะมีอายุการเก็บรักษาถึง 27 วันแล้ว การเกิดสีน้ำตาลก็ยังไม่มากและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการล้างด้วยวิธีอื่น ๆ

4. การเน่าเสียเนื่องจากโรคเข้าทำลาย

การเข้าทำลายของเชื้อโรคจะพบและรุนแรงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยพบว่าเมื่อล้างผลมะนาวด้วยคลอริกซ์ที่ความเข้มข้น 1% ผลจะเริ่มเน่าเมื่อเก็บรักษาไว้เพียง 12 วัน ส่วนที่ความเข้มข้น 2.0 และ 1.5% จะเริ่มเน่าเสียเมื่อเก็บรักษาไว้ 15 และ 18 วัน ตามลำดับ ส่วนการล้างผลด้วยวิธีอื่นจะไม่พบการเน่าเสียของผลมะนาวถึงแม้จะเก็บรักษาไว้ถึง 27 วันแล้วก็ตาม

Table 1 Effect of washing agents on shelf-life (days) of lime at room temperature.

Treatment	Shelf-life (day) ^{1/}
Control	18.75bc
Distilled water	21.75b
Clorox, 1.0 %	17.25cd
Clorox, 1.5 %	16.50cd
Clorox, 2.0 %	14.25d
Ozone, 40 mg/hr	27.00a
Ozone, 70 mg/hr	27.00a
Ozone, 100 mg/hr	27.00a
LSD _{0.05}	3.69
C.V. (%)	11.56

^{1/} Means with different letters within column are significantly difference at $P \leq 0.05$ by least significant difference.

Table 2 Effect of washing agents on loss in weight percentage of lime at room temperature.

Treatment	Shelf-life (day) ^{1/}								
	3	6	9	12	15	18	21	24	27
Control	4.02a	9.81a	14.10a	17.01a	21.11c	27.22c	29.20d	37.11a	42.71a
Distilled water	3.91a	9.69a	14.09a	16.01a	19.40b	26.91c	29.25e	39.24a	41.01a
Clorox, 1.0 %	5.13d	10.03a	16.12a	18.12a	22.53d	28.27e	31.02f	40.20a	45.32a
Clorox, 1.5 %	5.11d	10.51a	16.71a	18.31a	23.15e	28.21e	32.02g	40.24a	45.71a
Clorox, 2.0 %	5.16d	10.01a	15.41a	19.88a	23.33e	27.64d	33.01h	40.45a	46.83a
Ozone, 40 mg/hr	4.53b	9.21a	12.71a	15.72a	17.82a	22.76ab	28.15b	34.16a	39.61a
Ozone, 70 mg/hr	4.65b	9.01a	12.71a	15.11a	17.71a	22.57a	28.05a	34.01a	38.41a
Ozone, 100 mg/hr	4.86c	9.12a	12.91a	15.40a	17.91a	23.05b	28.73c	35.29a	38.41a
LSD _{0.05}	0.15	-	-	-	0.28	0.39	0.04	-	-
C.V. (%)	2.24	7.91	10.08	10.64	0.94	1.03	0.10	2.66	1.44

^{1/} Means with different letters within column are significantly difference at $P \leq 0.05$ by least significant difference.

ตาม ทั้งนี้เนื่องจากการล้างด้วยวิธีเหล่านี้ไม่เป็นการทำลายชั้นไขของผิวผลมะนาว และสามารถฆ่าเชื้อต่างๆ ที่อาจติดมาในขณะเก็บเกี่ยวได้ ส่วนการล้างด้วยคลอรีนคือการทำลายชั้นไขของผิวผลมะนาว ทำให้เชื้อโรคต่างๆ เข้าทำลายได้ง่ายขึ้น

5. ความแน่นเนื้อ

พบว่าความแน่นเนื้อของเปลือกผลมะนาวจะลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จากการศึกษาพบว่า การล้างด้วยวิธีการต่างๆ ไม่ทำให้ความแน่นเนื้อแตกต่างกันในระยะแรกของการเก็บรักษา จนกระทั่งถึงวันที่ 12 ของการเก็บรักษา การล้างด้วยไฮโซนที่ 40 มิลลิกรัม/ชั่วโมง ยังคงทำให้ผลมะนาวรักษาความแน่นเนื้อได้มากที่สุดคือ 2.79 กิโลกรัม ในขณะที่การล้างด้วยวิธีอื่นให้ผลไม่แตกต่างกัน เนื่องจากการล้างด้วยไฮโซนที่ 40 มิลลิกรัม/ชั่วโมง ทำให้เกิดสีน้ำตาลที่ผล (ตารางที่ 3) และการเน่าของผลต่ำที่สุด ส่วนในระยะหลังของการเก็บรักษาที่ 18 วันขึ้นไป มีการเน่าเสียของผลมะนาว โดยเฉพาะการล้างด้วยคลอรีนซึ่งไม่สามารถทำการทดสอบได้ การลดลงของความแน่นเนื้อเนื่องจากการสลายตัวของสารเพกตินซึ่งจะมีอยู่ในผลไม้ ขณะที่ผลไม้ยังไม่สุกสารเพกตินจะอยู่ในรูปของสารโปรเพกตินซึ่งไม่ละลายน้ำ แต่เมื่อผลสุกสารเพกตินจะอยู่ในรูปของกรดเพกติกซึ่งละลายน้ำได้ ประกอบกับสารโปรเพกตินมีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ เมื่อผลไม้สุกปริมาณแคลเซียมจะลดลง เป็นเหตุให้โครงสร้างของเซลล์มีการยืดเกาะกันหลวม ๆ จึงทำให้ความแน่นเนื้อลดลง (दनय, 2540; Van Buren, 1991)

6. การเปลี่ยนแปลงสีผิวของผล

การวัดการเปลี่ยนแปลงสีผิวของผลมะนาวจะใช้ความบริสุทธิ์สีสะท้อนออกมา [chroma (C*) : สีเทาจะมีค่าเป็นศูนย์] และค่าของสีที่สะท้อนจากวัตถุ [hue (h°) : มุม 90° เป็นกลุ่มสีเหลือง และมุม 180° เป็นกลุ่มสีเขียว] ซึ่งค่า chroma จะมีค่าเท่ากับ $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ส่วน hue จะมีค่าเท่ากับ $\tan^{-1}(a^*/b^*)$ เมื่อ a^* และ b^* คือ Chromatic coordinates จากการศึกษาพบว่า เมื่อเก็บรักษาผลมะนาวไว้นานขึ้นถึงแม้จะมีการล้างผลด้วยวิธีต่างๆ กันก็

ตาม สีของผลจะมีค่า chroma (C*) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่า hue (h°) มีค่าลดลง และเป็นที่น่าสังเกตว่าการเปลี่ยนแปลงค่า chroma (C*) เมื่อมีการล้างด้วยวิธีต่างๆ นั้นจะเกิดขึ้นทุก 6 วัน ในขณะที่ค่า hue (h°) จะมีความแตกต่างเกิดขึ้นในระยะหลังของการเก็บรักษา (ตารางที่ 4 และ 5) การที่ผลมะนาวมีการเปลี่ยนสีผิวเป็นสีเหลืองมากขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น เนื่องจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นสารสีเขียวและเกิดสารพวกคาโรทีนอยด์ซึ่งมีสีเหลืองเพิ่มขึ้น (จริงแท้, 2544) จากข้อมูลพบว่า เมื่อล้างผลมะนาวด้วยสารคลอรีนจะทำให้ผลมีสีเหลืองเร็วกว่าการล้างด้วยวิธีอื่นๆ

7. ปริมาณน้ำคั้น

การล้างผลมะนาวด้วยวิธีการต่างๆ ไม่ทำให้ปริมาณน้ำคั้นแตกต่างกันแต่อย่างใด เมื่อเก็บรักษาไว้ถึงวันที่ 18 ก็เริ่มมีการเน่าเสียเกิดขึ้น โดยเฉพาะการล้างด้วยคลอรีน 2.0% จึงทำให้ไม่สามารถทำการทดสอบได้ แต่จะพบว่าปริมาณน้ำคั้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นความแน่นเนื้อของผลลดลง ทำให้สามารถคั้นน้ำออกมาได้มากขึ้น ประกอบกับผนังเซลล์บางส่วนถูกย่อยสลายไป ทำให้น้ำตามผนังเซลล์ถูกคั้นออกมาได้มากขึ้น

8. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของผลมะนาวจะไม่ค่อยมีความเปลี่ยนแปลงมากนัก ถึงแม้จะเก็บรักษานานขึ้นก็ตาม เมื่อทำการล้างผลด้วยวิธีการต่างๆ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้จะมีความแตกต่างเฉพาะในช่วงแรก (3-6 วัน) ของการเก็บรักษาเท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากมะนาวเป็นไม้ผลกลุ่ม non-climacteric fruit ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำเพียงเล็กน้อยและต้องใช้เวลานานมากจึงจะมีการเปลี่ยนแปลง (दनय, 2534)

9. ปริมาณวิตามินซีและกรดที่ไคเตรทได้

การล้างผลมะนาวด้วยวิธีการต่างๆ ดังกล่าว ไม่ทำให้ปริมาณของวิตามินซีและปริมาณกรดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และระยะเวลาในการเก็บ

Table 3 Effect of washing agents on brown spot of lime at room temperature.

Treatment	Shelf-life (day) ^{1/}								
	3	6	9	12	15	18	21	24	27
Control	0	0	0	0	0	1.50	2.50	2.75	5.00c
Distilled water	0	0	0	0	0	0.25	0.25	1.50	5.00c
Clorox, 1.0 %	0	0	1.00	1.00	2.25	2.25	4.00	4.50	5.00c
Clorox, 1.5 %	0	0	1.00	1.00	2.25	2.50	5.00	5.00	5.00c
Clorox, 2.0 %	0	0	1.00	2.00	2.75	3.50	5.00	5.00	5.00c
Ozone, 40 mg/hr	0	0	0	0	0	0	0	0	1.75ab
Ozone, 70 mg/hr	0	0	0	0	0	0	0	0.25	1.25a
Ozone, 100 mg/hr	0	0	0	0	0	0	0	0.50	2.50b
LSD _{0.05}	-	-	-	-	-	-	-	-	0.76
C.V. (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	13.65

^{1/} Means with different letters within column are significantly difference at $P \leq 0.05$ by least significant difference.

Table 4 Effect of washing agents on colour change (chroma, C*) of lime at room temperature.

Treatment	Shelf-life (day) ^{1/}							
	3	6	9	12	15	18	21	24
Control	38.06d	34.81a	41.36c	45.27a	45.33bc	42.41a	41.75cd	43.95
Distilled water	32.98c	28.58a	36.47bc	44.94a	48.03c	41.48a	46.74d	41.43
Clorox, 1.0 %	27.88a	27.52a	29.36a	40.53a	37.76ab	39.03a	31.89a	-
Clorox, 1.5 %	32.81c	30.58a	34.29ab	42.61a	37.54ab	33.35a	34.46ab	-
Clorox, 2.0 %	28.60ab	29.08a	30.70ab	36.63a	38.43ab	35.03a	29.51a	-
Ozone, 40 mg/hr	29.78ab	29.27a	33.63ab	35.06a	41.19abc	42.50a	46.08d	46.98
Ozone, 70 mg/hr	31.90bc	32.50a	29.76a	39.09a	36.00a	40.58a	42.49cd	47.61
Ozone, 100 mg/hr	30.64abc	29.03a	34.51ab	39.93a	33.33a	41.70a	39.18bc	45.16
LSD _{0.05}	0.51	-	5.42	-	7.85	-	5.71	-
C.V. (%)	7.37	12.18	11.01	15.41	13.56	11.03	10.63	-

^{1/} Means with different letters within column are significantly difference at $P \leq 0.05$ by least significant difference.

Table 5 Effect of washing agents on colour change (hue, h°) of lime at room temperature.

Treatment	Shelf-life (day) ^{1/}							
	3	6	9	12	15	18	21	24
Control	98.71a	100.74a	96.72d	72.05a	87.79bc	94.52ab	94.32b	89.77
Distilled water	101.14a	102.71a	99.58abcd	76.17a	85.05c	100.60a	95.14b	95.13
Clorox, 1.0 %	99.66a	102.02a	97.33cd	73.65a	88.02bc	97.42ab	93.52b	-
Clorox, 1.5 %	99.86a	101.40a	98.39bcd	74.62a	82.11c	92.55b	84.73c	-
Clorox, 2.0 %	98.49a	102.81a	99.67abcd	73.34a	82.51c	84.42c	84.06c	-
Ozone, 40 mg/hr	102.20a	103.26a	101.16ab	78.27a	96.50a	99.42ab	95.69ab	96.25
Ozone, 70 mg/hr	101.86a	101.62a	102.48a	77.90a	93.26ab	99.64ab	94.85ab	95.19
Ozone, 100 mg/hr	102.30a	104.30a	100.58abc	80.26a	97.41a	102.22a	100.21a	95.33
LSD _{0.05}	-	-	2.96	-	0.56	4.96	3.41	-
C.V. (%)	2.66	1.44	2.04	6.07	5.05	6.97	4.63	-

^{1/} Means with different letters within column are significantly difference at $P \leq 0.05$ by least significant difference.

รักษาก็ไม่ทำให้ทั้งปริมาณวิตามินซีและปริมาณกรดเปลี่ยนแปลงไปมากนัก เนื่องจากมะนาวเป็นไม้ผลกลุ่ม non-climacteric fruit ซึ่งมีอัตราการหายใจและเบตาออกซิซึมภายในผลค่อนข้างคงที่จึงมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดและวิตามินซีในผลเกิดขึ้นน้อย (สายชล, 2528)

สรุป

การล้างผลมะนาวด้วยสารละลายไฮโซนาสามารถยืดอายุในการเก็บรักษาผลมะนาวได้นานกว่า 27 วัน ซึ่งนานกว่าการล้างผลด้วยคลอโรกซ์ น้ำกลั่นและไม่มี การล้างผล ที่มีอายุการเก็บรักษาได้เพียง 17, 22 และ 19 วันตามลำดับ และการล้างด้วยสารละลายไฮโซนายังรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะนาวได้ดีกว่าการล้างผลด้วยวิธี อื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็นคุณภาพในด้านการสูญเสีย

น้ำหนัก สีผิวของผล หรือการเน่าเสียของผลมะนาวในระหว่างการเก็บรักษา

เอกสารอ้างอิง

- จริงแท้ ศิริพานิช. 2544. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 396 หน้า.
- ชมภูศักดิ์ พูลเกษ และ เทพนม เมืองแมน. 2540. การใช้ไฮโซนาทางการแพทย์และสิ่งแวดล้อม: หลักการทฤษฎี และการประยุกต์ใช้. ไบรท์กรีน เทรดดิ้ง, กรุงเทพฯ. 136 หน้า.
- दनय नुनयकियरति. 2534. สรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของผักและผลไม้. ปาควิชาพืชสวน

- คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่. 220 หน้า.
- दनัย บุญยเกียรติ. 2540. สรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว
ของพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน คณะ
เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่. 226 หน้า.
- ศุภกิจ แก้วถนอม. 2540. การปลูกมะนาว. อักษร
สยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 72 หน้า.
- สายชล เกตุษา. 2528. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการ
เก็บเกี่ยวผักและผลไม้. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริม
และฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม.
364 หน้า.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis.
Association of Official Analytical Chemists,
Inc., Arlington, Virginia. 1298 pp.
- Graham, D.M. 1997. Use of ozone for food
processing. Food Technology 51: 72-75.
- Hunt, N.K. and B.J. Marinas, 1999. Inactivation of
Escherichia coli with ozone: chemicals and
inactivation kinetics. Water Research 33:
2633-2641.
- Van Buren, J.P. 1991. Function of pectin in plant
tissue structure and firmness. pp. 1-22. In:
R.H. Walter (ed.). The Chemistry and
Technology of Pectin. Academic Press,
Inc., New York.
-

ผลของโพแทสเซียมคลอเรตต่อปริมาณสารคล้ายไซโตไคนิน
ในใบและยอดระหว่างการชักนำให้เกิดตาดอก
ของกิ่งตอนลำไยพันธุ์ดอ

Effects of Potassium Chlorate on Cytokinin-like Substance
Contents in Leaf and Shoot During Flower Bud
Induction of Air-layered Longan cv. Daw

เสาวมัลย์ วิจารณ์^{1/} และ ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข^{1/}
Sawaman Wijarn^{1/} and Tanachai Pankasemsuk^{1/}

Abstract: Effects of potassium chlorate on cytokinin-like substance contents in leaves and shoots during flower bud induction of derooted air-layered longan cv. Daw were studied by using two years old air-layered longan. Completely randomized design was employed with four treatments, air-layered + tap water (R); air-layered + potassium chlorate (R+KClO₃); derooted air-layered + tap water (DR); derooted air-layered + potassium chlorate (DR+KClO₃), and four replications, ten trees per replication. The air-layered longans in all treatments were dipped into potassium chlorate (+KClO₃) solution at the concentration of 500 ppm or tap water for 24 hours then all of the air-layered longans were cultured in tap water throughout the study. The flower buds were investigated under light microscope on the 25 DAT in R+KClO₃ and DR+KClO₃ while R and DR did not developed any flower buds. Contents of cytokinin-like substances (CKs) in leaves and shoots of all treatments tended to be non-significant differences throughout the 25 days studied period. The contents of CKs in leaves and shoots within each treatment decreased as the studied time increased.

Keywords: Potassium chlorate, cytokinin-like substances, longan, flower induction, hormone

^{1/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของโพแทสเซียมคลอไรด์ต่อการชักนำการออกดอกและเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารคล้ายไซโตไคนินของกิ่งตอนลำไยพันธุ์ดอ อายุ 2 ปี ที่ไม่ตัดรากออก และที่ตัดรากออก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 4 กรรมวิธี ได้แก่ กิ่งตอนแช่น้ำประปา (R) กิ่งตอนแช่ในโพแทสเซียมคลอไรด์ ($R+KClO_3$) กิ่งตอนที่ตัดรากแช่น้ำประปา (DR) และ กิ่งตอนที่ตัดรากแช่ในโพแทสเซียมคลอไรด์ ($DR+KClO_3$) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ใช้กิ่งตอนจำนวน 10 กิ่งต่อ 1 ซ้ำ โดยการแช่ตัวอย่างกิ่งตอนลำไยในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 500 สดล. หรือน้ำประปา นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำกิ่งตอนเหล่านั้นไปเลี้ยงต่อในน้ำประปา พบว่า สามารถสังเกตเห็นตาของกิ่งตอนในกรรมวิธี $R+KClO_3$ และ $DR+KClO_3$ ภายใตกล้องจุลทรรศน์ในวันที่ 25 ของการศึกษา ส่วนกิ่งตอนแช่น้ำประปา (R) และกิ่งตอนที่ตัดรากแช่น้ำประปา (DR) แต่ไม่ได้แช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ไม่พบการพัฒนาของตาของกิ่งตอน ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินในใบและยอดของทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 25 วันที่ทำการศึกษา แต่ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินในแต่ละกรรมวิธีทั้งในใบและยอดส่วนใหญ่ลดลง เมื่อระยะเวลาการศึกษาเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: โพแทสเซียมคลอไรด์ ปริมาณสารคล้ายไซโตไคนิน ลำไย การชักนำให้ดอกออก ฮอริโมน

คำนำ

ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการปลูกลำไย คือ การออกดอกไม่สม่ำเสมอ หรือออกดอกปีเว้นปี ปัจจุบันปัญหาดังกล่าวหมดไปเนื่องจากการค้นพบสารโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ใช้บังคับลำไยให้ดอกนอกฤดูได้ สมมติฐานเกี่ยวกับการทำงานของคลอไรด์ที่ได้รับความเชื่อถือในกลุ่มนักสรีรวิทยาพืชขณะนี้ ได้แก่ การที่อนุมูลคลอไรด์ไปเปลี่ยนสมดุลของฮอริโมนภายในต้นพืช (ธนชัย, 2542) จากการศึกษาปริมาณฮอริโมนที่คาดว่าเกี่ยวข้องกับการออกดอกของลำไยส่วนใหญ่พบว่าปริมาณของไซโตไคนินจะสูง ในช่วงก่อนการออกดอก (Chen *et al.*, 1997; Hegele *et al.*, 2006) สำหรับลำไยหลังการได้รับสารโพแทสเซียมคลอไรด์แล้วปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงสัปดาห์สุดท้ายก่อนการออกดอก (ณัฐวดี, 2545) เช่นเดียวกับการศึกษาในมะกอก (olive) พบว่า ไซโตไคนินมีผลชักนำการออกดอกของมะกอก (Ulger *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม Dewitte *et al.* (1999) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฮอริโมนในยาสูบ แต่ไม่พบไซโตไคนิน (zeatin, dihydrozeatin, Isopentenyladenine) ในส่วนยอดระยะก่อนการออกดอกเลย นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของไซโตไคนินไรโบไซด์ (zeatinriboside, dihydrozeatin

riboside, isopentenyladenosine) ลดลง 3 เท่าในช่วงเวลาดังกล่าว

แหล่งของไซโตไคนินในพืชพบมากบริเวณปลายราก และสามารถเคลื่อนย้ายไปในส่วนของใบ ลำต้น และส่วนต่าง ๆ ของพืชโดยผ่านท่อลำเลียง (สมบุญ, 2548) แต่จากการศึกษาของ นิรมล (2548) ได้ทำการศึกษาศักยภาพการชักนำการออกดอกของกิ่งตอนลำไยพันธุ์ดอ ซึ่งเป็นการทำลายแหล่งที่พืชใช้สร้างไซโตไคนิน แล้วนำกิ่งไปจุ่มในสารโพแทสเซียมคลอไรด์ หลังจากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในน้ำประปา พบว่ากิ่งตอนที่ถูกตัดรากก่อนแช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์สามารถออกดอกได้ แสดงว่าไซโตไคนินที่รากอาจมีส่วนร่วมในการกระตุ้นการสร้างตาของกิ่งตอนลำไย เมื่อใช้สารโพแทสเซียมคลอไรด์กระตุ้นการออกดอก การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโพแทสเซียมคลอไรด์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของสารคล้ายไซโตไคนินในใบและยอดระหว่างการชักนำให้เกิดตาของกิ่งตอนด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ ของกิ่งตอนลำไยพันธุ์ดอ

อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้กิ่งตอนลำไยพันธุ์ดออายุ 2 ปี ปลูกในถุงพลาสติกดำขนาด 12.7×30.48 เซนติเมตร (5×12 นิ้ว) บรรจุทราย:เถ้าแกลบในอัตราส่วน 1:1 รดสารละลายธาตุอาหารสูตรรองค่า 1 และ ดอยค่า 2 อัตราส่วน 1:1 ปรับ

พีเอช 5.5-6.0 ทุก 3 วัน เป็นเวลา 1 เดือนก่อน
ทำการศึกษา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน
4 กรรมวิธี ได้แก่ กิ่งตอนแช่น้ำประปา (R) กิ่งตอนแช่ใน
โพแทสเซียมคลอไรด์ ($R+KClO_3$) กิ่งตอนที่ตัดรากแช่ใน
น้ำประปา (DR) และ กิ่งตอนที่ตัดรากแช่ในโพแทสเซียม
คลอไรด์ ($DR+KClO_3$) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ใช้กิ่งตอนจำนวน
10 กิ่งต่อ 1 ซ้ำ โดยนำกิ่งตอนในทุกกรรมวิธีไปล้างราก
และ/หรือ ตัดราก ก่อนนำไปแช่ในสารละลายโพแทสเซียม
คลอไรด์ 500 สดล. หรือน้ำประปา นาน 24 ชั่วโมง จากนั้น
จึงนำกิ่งตอนที่ผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ ไปเพาะเลี้ยงใน
น้ำประปา ทำการเก็บตัวอย่างทำการเก็บตัวอย่างใบย่อย
2 ใบจากใบประกอบชุดที่ 1 นับจากยอด และยอด (ความ
ยาว 5 เซนติเมตร) ของกิ่งตอนแต่ละกิ่งในทุกกรรมวิธีทุก
วันที่ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 วันหลังให้สารโพแทสเซียม
คลอไรด์ ตัดส่วนปลายยอดยาว 1-2 มิลลิเมตรไปศึกษา
การเปลี่ยนแปลงของตาที่ปลายยอดภายใต้กล้อง
จุลทรรศน์ตามวิธีของ จารุวรรณ (2550) และนำตัวอย่าง
ใบและยอด (จำนวน 5 กรัม) ไปวิเคราะห์ปริมาณสารคล้ำย
ไฮโดโคติน โดยวิธี soybean hypocotyl bioassay
ดัดแปลงมาจาก ณัฐวดี (2545) โดยทำการศึกษาที่แปลง
ทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2550 –
มกราคม 2551

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ
ของตาที่ยอดของกิ่งตอน พบว่า สามารถสังเกตเห็นการ
พัฒนาของตาเป็นตาดอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้
ในวันที่ 25 วันหลังให้โพแทสเซียมคลอไรด์ (ภาพที่ 1) ใน
กรรมวิธี $R+KClO_3$ และ $DR+KClO_3$ ซึ่งกิ่งตอนทั้งสอง
กรรมวิธีนี้มีการออกดอกให้สังเกตได้ด้วยตาเปล่าในวันที่
45-50 วันหลังให้โพแทสเซียมคลอไรด์ ในกรรมวิธี R และ
DR ซึ่งไม่ได้แช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์นั้นไม่
พบการพัฒนาของตาดอกทั้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์และ
ด้วยตาเปล่า แสดงให้เห็นว่าโพแทสเซียมคลอไรด์สามารถ
กระตุ้นให้เกิดการสร้างตาดอกได้โดยไม่ต้องอาศัยรากซึ่ง

เป็นแหล่งต้นกำเนิดหลักของไฮโดโคตินภายในกิ่งตอน
และการมีรากไม่ได้เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการชักนำการ
สร้างตาดอก

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ำยไฮ
โดโคตินทั้งในใบและยอด พบว่าปริมาณสารคล้ำยไฮโดโค
ตินทั้งในใบและในยอดของกิ่งตอนในกรรมวิธีต่าง ๆ ไม่
แตกต่างกันตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 1)
โดยปริมาณสารคล้ำยไฮโดโคตินในทุกกรรมวิธีมีแนวโน้ม
ลดลงทั้งในใบและยอด แต่ปริมาณสารคล้ำยไฮโดโคตินใน
ยอดมีแนวโน้มสูงกว่าปริมาณที่พบในใบ

เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร
คล้ำยไฮโดโคตินในใบระหว่างกรรมวิธีไม่มีความแตกต่าง
กันตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา สำหรับในยอด พบว่า
การลดลงของปริมาณสารคล้ำยไฮโดโคตินในทุกกรรมวิธี
มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการศึกษา โดย
กรรมวิธี $DR+KClO_3$ มีเปอร์เซ็นต์ของการลดลงมากกว่า
ในกรรมวิธีอื่น ๆ ที่ 5, 15, 20 และ 25 วัน หลังให้สาร
โพแทสเซียมคลอไรด์ (ตารางที่ 2)

การที่ปริมาณของสารคล้ำยไฮโดโคตินลดลงใน
 $R+KClO_3$ และ $DR+KClO_3$ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่กิ่งตอนมีการ
ชักนำให้ออกดอกด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ ผลการทดลอง
ที่ได้ไม่สอดคล้องกับรายงานของ ณัฐวดี (2545) ที่รายงาน
ว่าปริมาณสารคล้ำยไฮโดโคตินในยอดลำไยพันธุ์ดอที่ให้
โพแทสเซียมคลอไรด์จะเพิ่มขึ้นในช่วงก่อนการออกดอก
ในการศึกษาครั้งนี้ การตัดรากถือเป็นการทำลาย
แหล่งกำเนิดที่สำคัญของไฮโดโคตินของกิ่งตอน ซึ่งถ้าหาก
ไฮโดโคตินเป็นปัจจัยสำคัญของกระบวนการในการชักนำ
ให้เกิดตาดอกของลำไยโดยโพแทสเซียมคลอไรด์แล้ว กิ่ง
ตอนลำไยใน $DR+KClO_3$ ก็ไม่ควรจะสามารถออกดอกได้
รวมทั้งปริมาณของสารคล้ำยไฮโดโคตินใน $R+KClO_3$ ควร
มีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วยในช่วงเวลาที่มีการชักนำให้ออกดอก
แต่ผลการทดลองไม่พบการเพิ่มขึ้นของสารคล้ำยไฮโดโค
ตินในทุกกรรมวิธี ทั้งในพวกที่เกิดการพัฒนาของตาดอก
และไม่เกิดการพัฒนาของตาดอก ดังนั้นไฮโดโคติน จึงไม่
น่าจะเป็นปัจจัยสำคัญในการชักนำให้ลำไยออกดอกด้วย
โพแทสเซียมคลอไรด์ Sinlaphasomboon (2007) รายงาน
ว่า เมื่อให้โพแทสเซียมคลอไรด์กับกิ่งตอนลำไย จะมีการ
เปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณและชนิดของโปรตีนในใบของ

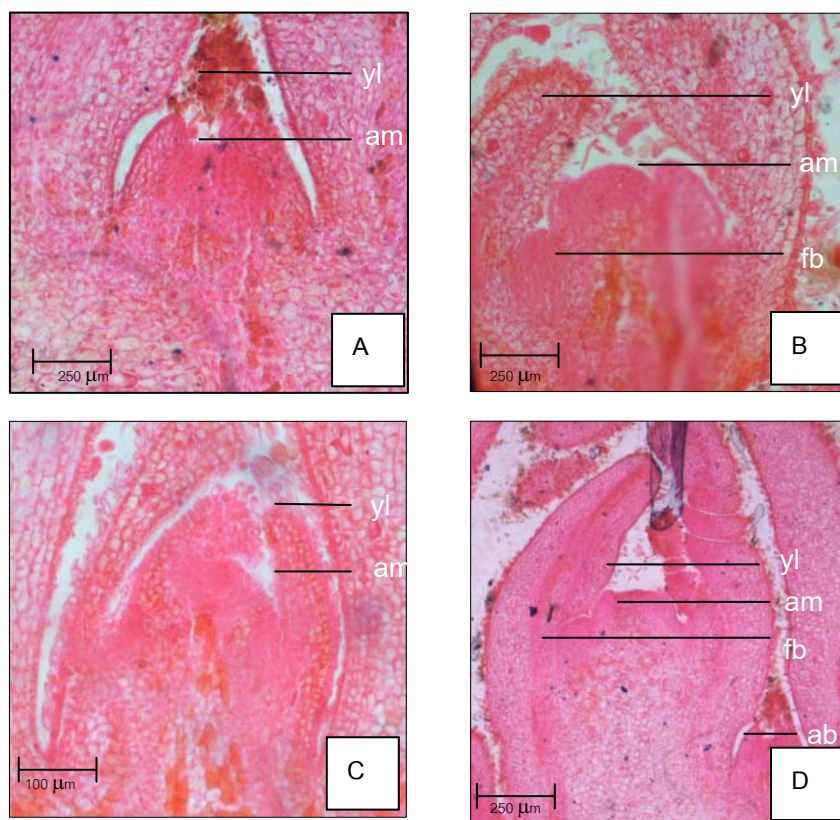


Figure 1 The terminal buds of two years old air-layered longan cv. Daw after potassium chlorate treatment for 24 hours and cultured in tap water for 25 days. Air-layered + tap water (R) (A), air-layered + 500 ppm potassium chlorate (R+KClO₃) (B), derooted air-layered + tap water (DR) (C) and derooted air-layered + 500 ppm potassium chlorate (DR+KClO₃) (D).
(ab = axillary bud, am = apical meristem, yl = young leaf, fb = floral bud)

Table 1 Cytokinin-like substance contents (CKs) (μg kinetin equivalent/gFW) of air-layered (R) and derooted air-layered (DR) longan cv. Daw, non-treated and treated with potassium chlorate ($+\text{KClO}_3$) at the concentration of 500 ppm.

Plant organs	Treatments	CKs (μg kinetin equivalent/gFW)						LSD _{0.05}
		Day (s) after treatment (DAT)						
		0	5	10	15	20	25	
Leaves	R	0.0757 A	0.0685 AB	0.0648 ABC	0.0585 BC	0.0604 BC	0.0510 C	0.0126
	R+KClO ₃	0.0735 A	0.0692 AB	0.0646 ABC	0.0623 ABC	0.0545 BC	0.0531 C	0.0136
	DR	0.0596	0.0569	0.0551	0.0527	0.0443	0.0490	NS
	DR+KClO ₃	0.0770 A	0.0713 AB	0.0647 B	0.0615 BC	0.0537 CD	0.0484 D	0.089
LSD _{0.05}		ns	ns	ns	ns	ns	ns	
Shoots	R	0.0893 A	0.0852 A	0.0796 AB	0.0718 BC	0.0672 C	0.0605 C	0.0115
	R+KClO ₃	0.0902 A	0.0846 A	0.0794 AB	0.0730 BC	0.0674 C	0.0626 C	0.0103
	DR	0.0879 A	0.0806 AB	0.0707 BC	0.0672 C	0.0631 C	0.0475 D	0.0126
	DR+KClO ₃	0.1122 A	0.0982 B	0.0895 B	0.0623 C	0.0557 CD	0.0450 D	0.0126
LSD _{0.05}		ns	ns	ns	ns	ns	ns	

ns: Non significant difference at $P \leq 0.05$ by LSD

NS: Non significant difference at $P \leq 0.05$ by LSD

A, B, C, D: Means within the same row followed by different letters were significantly different at $P \leq 0.05$ by LSD

ลำไยในช่วงก่อนการออกดอกซึ่งอาจจะเป็นปัจจัยหนึ่งในการชักนำให้ลำไยออกดอกด้วยโพแทสเซียมคลอเรต สำหรับกรณีที่ปริมาณไซโตไคนินในกรรมวิธีการต่างๆ ไม่แตกต่างกันทั้งตัดรากและไม่ตัดราก อาจเนื่องมาจากวิธีการที่ใช้วิเคราะห์ไม่ละเอียดพอสำหรับการวิเคราะห์สารในปริมาณที่ต่ำมาก และเป็นวิธีไม่สามารถจำแนกกลุ่มของสารไซโตไคนินได้ ดังนั้น การศึกษาในครั้งต่อไป ควรจะใช้วิธีการที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) หรือ วิธี

radioimmunoassay (RIA) สำหรับการลดลงของปริมาณสารคล้ายไซโตไคนินในทุกกรรมวิธี อาจเกิดจากการขาดสารอาหารของต้นด้วย เนื่องจากทำการเพาะเลี้ยงในน้ำประปาซึ่งไม่มีการเติมสารอาหารพืช ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปจึงควรมีการให้สารละลายธาตุอาหารกับพืชทางใบร่วมด้วย นอกจากนี้การใช้สารยับยั้งการสร้างไซโตไคนินกับกิ่งตอนหรือต้นลำไยที่มีการชักนำให้ออกดอกด้วยโพแทสเซียมคลอเรตก็น่าที่จะมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

Table 2 The changing percentage of cytokinin-like substances (CKs) (%) of air-layered (R) and derooted air layered (DR) longan cv. Daw, non-treated and treated with potassium chlorate (+KClO₃) at the concentration of 500 ppm.

Plant organs	Treatments	Changing percentage of (CKs) (%)						LSD _{0.05}
		Day (s) after treatment (DAT)						
		0	5	10	15	20	25	
Leaves	R	0	-9.11 A	-13.95 A	-22.59 AB	-19.49 AB	-32.27 B	13.14
	R+KClO ₃	0	-5.64	-11.98	-14.29	-25.70	-26.99	NS
	DR	0	-3.98	-6.86	-9.40	-24.28	-15.16	NS
	DR+KClO ₃	0	-7.38 A	-16.04 B	-19.93 B	-30.15 C	-37.24 C	7.88
LSD _{0.05}		-	ns	ns	ns	ns	ns	
Shoots	R	0	-4.44 aA	-10.81 B	-19.37 aC	-24.57 aD	-32.11 aE	4.03
	R+KClO ₃	0	-6.01 a	-11.59	-18.36	-24.62	-29.53 a	NS
	DR	0	-8.18 abA	-18.88 AB	-23.37 aAB	-27.52 aB	-44.76 abC	14.71
	DR+KClO ₃	0	-12.47 bA	-20.17 A	-44.34 bB	-50.24 bBC	-59.76 bC	13.60
LSD _{0.05}		-	4.39	ns	13.29	14.10	21.23	

ns: Non significant difference at $P \leq 0.05$ by LSD

NS: Non significant difference at $P \leq 0.05$ by LSD

a, b: Means within the same column followed by different letters were significantly different at $P \leq 0.05$ by LSD

A, B, C, D, E: Means within the same row followed by different letters were significantly different at $P \leq 0.05$ by LSD

สรุป

โพแทสเซียมคลอเรตสามารถชักนำกิ่งตอนลำไยพันธุ์ดอที่ไม่มีรากให้ออกดอกได้ และปริมาณสารคล้ำยไซโตไคนิน เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของสารคล้ำยไซโตไคนิน ในยอดและใบระหว่างกรรมวิธีส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกัน โดยปริมาณของสารคล้ำยไซโตไคนิน ในแต่ละกรรมวิธีทั้งในใบและยอดส่วนใหญ่มีปริมาณลดลงตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา ดังนั้นอาจสรุปได้ว่ากลไกการชักนำให้ลำไยออกดอกโดยโพแทสเซียมคลอเรตอาจมีได้หลายกระบวนการ และมีกระบวนการหนึ่งซึ่งไซโตไคนินไม่ใช่ปัจจัยสำคัญในการชักนำให้เกิดตาออก

เอกสารอ้างอิง

- จารุวรรณ สุขเกษม. 2550. การศึกษาลักษณะและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องน้ำตัน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 89 หน้า.
- ณัฐวดี วังสินธ์. 2545. ผลของโพแทสเซียมคลอเรตต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารคล้ำยจิบเบอเรลลิน สารคล้ำยไซโตไคนิน ไนโตรเจน และคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง ในช่วงก่อนออกดอกของยอดลำไยพันธุ์ดอ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 109 หน้า.

- ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข. 2542. ลำไยกับสารประกอบคลอไรด์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 53 หน้า.
- นิรมล มุลรัตน์. 2548. ผลของโปแตสเซียมคลอไรด์และรากต่อการออกดอกของลำไยพันธุ์ดอ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 33 หน้า.
- สมบุญ เตชะปัญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 252 หน้า.
- Chen, W.S., K.L. Huang and H.C. Yu. 1997. Cytokinins from terminal buds of *Euphoria longana* during different growth stages. *Physiol. Plant.* 99: 185-189.
- Dewitte, W., A. Chiappetta, A. Azmi, E. Witters, M. Strnad, J. Rembur, M. Noin, D. Chriqui and H. Van Onckelen. 1999. Dynamics of cytokinins in apical shoot meristems of a day-neutral tobacco during floral transition and flower formation. *Plant Physiol.* 119: 111-122.
- Hegele, M., F. Bangerth, D. Naphrom, P. Srumsiri and P. Manochai. 2006. Control of flower induction in tropical/subtropical fruit trees by phytohormones using in the example of longan and mango. *Acta Hort.* 727: 217-226.
- Sinlaphasomboon, T. 2007. Effect of potassium chlorate on proteins changes in longan leaves. Ph.D. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 95 pp.
- Ulger, S., S. Sonmez, M. Karkacier, N. Ertoy, O. Akdesir and M. Aksu. 2004. Determination of endogenous hormones, sugars and mineral nutrition levels during the induction, initiation and differentiation stage and their effects on flower formation in olive. *Plant Growth Regul.* 42: 89-95.
-

ผลของรังสีอัลตราไวโอเลตซี (UV-C) ต่อ การกลายพันธุ์ของกล็อกซิเนีย

Effect of Ultraviolet-C (UV-C) on Mutation of Gloxinia (*Sinningia speciosa*)

ยุพารณ์ ศิริโส^{1/} และ สมปอง เตชะโต^{1/}
Yupaporn Sirisom^{1/} and Sompong Te-chato^{1/}

Abstract: In this study, *in vitro* leaf explants of gloxinia (*Sinningia speciosa*) were treated with UV-C irradiation at dose 0-9 kJ/m², followed by culturing on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 1.0 mg/l indole acetic acid (IAA) and 5.0 mg/l kinetin (KN) for multiple shoots formation. After culture for 28 days, the LD₅₀ of UV-C irradiation was calculated to be 4.52 kJ/m² and multiple shoots formation in each treatment was significant different. *In vitro* flowering was found from petiole of leaf explants treated with 5.4 kJ/m² of UV-C but those flowers were malformed. While leaf laminar produced normal shoots. When each shoot obtained from UV-C irradiation was transferred to induced root on ½ MS medium for 14 days, followed by transferred to potted soil mixture for further 60 days, plant morphologies were observed. For plants obtained from irradiated leaf explant with UV-C, canopy width, leaf width, leaf length, flower diameter and flower length showed significant different while, stem height was not significant different. For floral morphologies, flower characteristics were altered in terms of petal color and thickness.

Keywords: Gloxinia (*Sinningia speciosa*), UV, mutation

^{1/} ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

^{1/} Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

บทคัดย่อ: จากการนำขึ้นส่วนใบกลีอกซีเนีย (*Sinningia speciosa*) มาฉายรังสี UV-C ปริมาณ 0 - 9 kJ/m² จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรชักนำยอดรวม Murashige and Skoog (MS) เติม indole acetic acid (IAA) 1 มล./ล. ร่วมกับ kinetin (KN) 5 มล./ล. หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า ที่ระดับรังสี UV-C 4.52 kJ/m² ให้อัตราการรอดชีวิตของขึ้นส่วนใบลดลงครึ่งหนึ่ง (LD₅₀) โดยความสามารถในการสร้างยอดรวมในแต่ละชุดทดลองมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบการสร้างดอกในหลอดทดลองจากขึ้นส่วนก้านใบที่ฉายรังสี UV-C ปริมาณ 5.4 kJ/m² แต่ดอกพัฒนาไม่สมบูรณ์ ในขณะที่ขึ้นส่วนใบพัฒนาเป็นยอดรวมตามปกติ เมื่อตัดยอดที่ได้จากการฉายรังสี UV-C ปริมาณต่างๆ มาชักนำรากบนอาหารสูตร ½ MS เป็นเวลา 14 วัน แล้วย้ายลงแปลงปลูกเป็นเวลา 60 วัน ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของต้น พบว่า ต้นที่ได้รับการฉายรังสี UV-C มีความกว้างทรงพุ่ม ความยาวและความกว้างใบ เส้นผ่านศูนย์กลางและความยาวดอกมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความสูงของลำต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สำหรับผลของรังสี UV-C ต่อลักษณะดอกนั้น พบว่า มีลักษณะดอกที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น สีดอกเข้มขึ้นหรืออ่อนลง กลีบดอกหนา สีแดงคล้ำอำมะหะยี่ เป็นต้น

คำสำคัญ: กลีอกซีเนีย (*Sinningia speciosa*) รังสีอัลตราไวโอเลต การกลายพันธุ์

คำนำ

กลีอกซีเนียเป็นไม้เนื้ออ่อนที่มีอายุอยู่ได้หลายฤดู จัดอยู่ในวงศ์ Gesneriaceae มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น *Sinningia eumorpha* (Saltao), *S. schiffneri*, *S. tubiflora* และ *S. speciosa* ซึ่งสายพันธุ์นี้นักปรับปรุงพันธุ์พืชนิยมนำมาใช้เป็นพ่อหรือแม่พันธุ์ ผลิตลูกผสมที่มีลักษณะของต้นและดอกที่สวยงาม แต่ต้องสั่งซื้อเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เพราะต้นกลีอกซีเนียที่ปลูกโดยทั่วไปเป็นลูกผสมชั่วแรก (F1 hybrid) ไม่เหมาะที่จะเก็บเมล็ดไปใช้ต่อเพราะจะขาดความสม่ำเสมอของลักษณะ และการเพาะเลี้ยงเมล็ดพันธุ์กลีอกซีเนียนั้นต้องใช้เวลาประมาณ 120-140 วันจึงจะออกดอก (ภาณุพงศ์, 2548) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เหมาะสมต่อการผลิตพืชแต่ละชนิดเรื่อยมาจนสามารถผลิตพืชได้ปริมาณมาก ในระยะเวลาอันสั้น นอกจากนี้ถ้าใช้ขึ้นส่วนที่ไม่เกี่ยวกับเพศพืชต้นใหม่ที่ได้จะมีความสม่ำเสมอ และมีลักษณะที่ตรงตามพันธุ์สูง อรุณี และสมปอง (2535) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กลีอกซีเนียโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าการวางเลี้ยงขึ้นส่วนก้านใบ และขึ้นส่วนใบบนอาหารสูตรมูราชิเกะ และสคูค (MS) ที่เติม Indoleacetic acid (IAA) เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin (KN) เข้มข้น 5 มก./ล. สามารถชักนำยอดรวมได้หลังจากวางเลี้ยงเป็น

เวลา 3 สัปดาห์สูงถึง 94-96 เปอร์เซ็นต์ และได้จำนวนยอดเฉลี่ย 17-25 ยอดต่อขึ้นส่วน ดังนั้นหากนำการใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยกับการชักนำการกลายพันธุ์ในพืช เพื่อส่งเสริมความแปรปรวนและการผลิตพืชให้ได้ลักษณะที่ต้องการ ก็จะช่วยทำให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ได้สะดวก และรวดเร็วยิ่งขึ้น กระบวนการชักนำการกลายพันธุ์มีหลักการ คือ การนำเอาชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ เช่น ใบ ช่อ แคลลัส มาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมไปจากเดิมโดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ เช่น สารเคมีก่อกลายพันธุ์ เอทิลมีเทนซัลโฟเนต ไดเอทิลซัลเฟต 5-โบรโมยูเรซิล รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ รังสีอัลตราไวโอเลต อนุภาคนิวตรอน อนุภาคไอออน เป็นต้น ในการชักนำการกลายพันธุ์โดยใช้รังสี ประสิทธิภาพสำเร็จในพืชหลายชนิด และยังสามารถส่งเสริมให้เกิดพืชสายพันธุ์ใหม่ได้อีกด้วย ตัวอย่างการใช้รังสีในไม้ดอก ไม้ประดับ เช่น ในรายงานของ ธนวัฒน์ และเดียนใจ (2549) ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อกลีอกซีเนีย พบว่า ปริมาณรังสี 40 เกรย์ ส่งผลให้ดอกจากปกติที่จะมีสีชมพูทั้งดอกกลับมีสีขาวบนนอกของกลีบดอกจางลงหรือสีดอกเข้มขึ้นแต่มีขนาดเล็กและรูปทรงดอกต่างไปจากเดิม นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้รังสีแกมมาในไม้ดอกอื่นๆ เพื่อส่งเสริมให้ สีดอก ลักษณะดอก ขนาด และรูปร่างดอก เปลี่ยนแปลงไป สามารถสร้างเป็นสายพันธุ์ทางการค้าได้ เช่น *Portulaca grandiflora*

(Wongpiyasatid and Hormchan, 2000) คาร์เนชั่น (Okamura *et al.*, 2003) กุหลาบ (Ibrahim *et al.*, 1998) ในพืชอื่นๆ เช่น องุ่น (Charbaji and Nabulsi, 1999) มันฝรั่ง (Al-Safadi *et al.*, 2000) ส่วนการใช้รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) พบรายงานในไม้ผล เช่น แอปเปิ้ล (Pinet-Leblay *et al.*, 1992) ในพืชสมุนไพร เช่น โหระพา (Park *et al.*, 2007) ส่วนการใช้รังสี UV ในไม้ดอก ไม้ประดับ ยังไม่มีรายงานการศึกษา

จากรายงานดังกล่าวข้างต้น เห็นได้ว่าการชักนำการกลายพันธุ์นั้นสามารถสร้างความแปรปรวนในต้นพืชทำให้เกิดลักษณะใหม่ ๆ ในไม้ดอก ไม้ประดับ ลักษณะใหม่ที่เกิดขึ้นนั้นสามารถเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจให้กับพืชชนิดนั้นได้ ดังนั้นในรายงานฉบับนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของรังสี UV ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะกลีอกซีเนียร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อประโยชน์ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ในทางการค้าในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพืช และสิ่งก่อกกลายพันธุ์

ในการศึกษานี้ใช้ใบอ่อนกลีอกซีเนีย อายุ 1 เดือนที่ได้จากการชักนำยอดรวมจากชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม indole acetic acid (IAA) 1 มล./ล. ร่วมกับ kinetin (KN) 5 มล./ล. ภายใต้การให้แสง นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสงประมาณ $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ อุณหภูมิ $26 \pm 2^\circ\text{C}$ และสิ่งก่อกกลายพันธุ์ที่ใช้คือ รังสี UV-C ที่ได้จากหลอดขนาด 40 วัตต์ ซึ่งใช้ฆ่าเชื้อในตู้ยาล้าง

วิธีการ

1. ศึกษาผลของปริมาณ และระยะเวลาการฉายรังสี UV-C ต่ออัตราการรอดชีวิต

นำชิ้นส่วนใบกลีอกซีเนีย มาวางบนจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร สูง 2-2.5 เซนติเมตร ใช้อาหารเหลวสูตร MS เติม IAA 1 มล./ล. และ KN 5 มล./ล. หยดเป็นชั้นบาง ๆ เพื่อป้องกันการแห้งของชิ้นส่วนพืช นำมาฉายรังสี UV-C ปริมาณ 0, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0, 3.6, 5.4, 7.2 และ 9.0 kJ/m^2 จากนั้น นำชิ้นส่วนใบที่ได้มาแช่ด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อจนแห้ง นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม IAA 1 มล./ล. และ KN 5 มล./ล. เลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ $26 \pm 2^\circ\text{C}$ องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้นจึงย้ายมาเลี้ยงในที่มืด ต่ออีกเป็นเวลา 14 วัน บันทึกอัตราการรอดชีวิต และหาปริมาณรังสีที่ยับยั้งอัตราการรอดชีวิตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50})

2. ศึกษาผลของรังสี UV-C ต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนใบกลีอกซีเนีย

ศึกษาเปรียบเทียบการพัฒนาของชิ้นส่วนใบในแต่ละปริมาณรังสี ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 30 วัน โดยดูลักษณะ และสีของแคลลัส เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน

3. ศึกษาผลของรังสี UV-C ต่อความผิดปกติของลักษณะทางสัณฐานในหลอดทดลอง และในแปลงปลูก

ศึกษาลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองจากการย้ายชิ้นส่วนใบ และก้านใบ จากต้นที่ได้รับรังสีปริมาณต่าง ๆ โดยวางเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดรวม MS เติม IAA 1 มล./ล. และ KN 5 มล./ล. และตัดยอดที่ได้จากการฉายรังสีส่วนหนึ่งไปชักนำจากบนอาหารสูตร 1/2MS ภายหลังจากการเพาะเลี้ยง 14 วัน ย้ายต้นกล้ากลีอกซีเนียไปอนุบาลในวัสดุปลูก เพอร์ไลต์: เวอร์มิคิวไลต์ (1:1) เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของต้น และดอก

ในการศึกษารังสีนี้ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 15 ใบ โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

ผลการทดลอง

1. ผลของรังสี UV-C ต่ออัตราการรอดของชิ้นส่วนใบกลีอกขิเนียในหลอดทดลอง

ภายหลังการฉายรังสี UV-C ปริมาณต่าง ๆ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวมเป็นเวลา 14 วัน พบว่า อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบลดลงตามปริมาณรังสีที่สูงขึ้น แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อศึกษาระดับปริมาณรังสี ที่ให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) พบว่า มีค่า 4.52 kJ/m^2 (ภาพที่ 1) ลักษณะของชิ้นส่วนใบที่รอดชีวิต คือ ใบเกิดการบวม ขอบใบจะม้วน และมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนชิ้นส่วนใบที่ตาย สีของใบจะเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ และไม่มี การม้วนของใบ แต่เมื่อวางชิ้นส่วนใบดังกล่าวเป็นเวลาประมาณ 30 วัน พบว่า เริ่มมีการสร้างแคลลัสขนาดเล็กขึ้นบริเวณขอบใบ ลักษณะแคลลัสเกาะตัวกันแน่น มีสีน้ำตาลเข้ม จนดำ และไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดรวมได้

2. ผลของรังสี UV-C ต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนใบกลีอกขิเนีย

ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 20 วัน ชิ้นส่วนใบกลีอกขิเนียเริ่มมีการสร้างแคลลัส ลักษณะของแคลลัสเมื่อเริ่มสร้างจะเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) มีสีเขียว ใส มีทั้งที่เกิดขึ้นบริเวณรอบ ๆ ขอบใบ บริเวณที่เกิดบาดแผล และเกิดกระจายทั่วไปบนใบ ซึ่งลักษณะของแคลลัสดังกล่าวจะเริ่มมีการพัฒนาเป็นแคลลัสที่เกาะตัวกันแน่น (compact callus) และมีสีเขียวเข้มมากขึ้น (ภาพที่ 2) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 30 วัน แคลลัสจากใบที่ได้รับรังสี UV-C ปริมาณ 0, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 และ 3.6 kJ/m^2 สามารถพัฒนาเป็นยอดรวมได้ตามปกติ แต่มีการพัฒนาช้ากว่า ชิ้นส่วนใบที่ไม่ได้ฉายรังสี ที่ปริมาณรังสี 5.4, 7.2 และ 9.0 kJ/m^2 แคลลัสมีการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเข้ม เริ่มเกิดเป็นกลุ่มแคลลัสสีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ และมีการตายของเซลล์บางส่วน แต่กลุ่มแคลลัสดังกล่าวสามารถพัฒนาไปเป็นยอดรวมได้ แต่มีจำนวนยอดรวมน้อย และ มีลักษณะผิดปกติ คือ ยอด และใบมีขนาดเล็ก สีมืดเขียว อ่อน และชืด (ภาพที่ 3) ส่วนชิ้นส่วนใบที่ไม่ได้ฉายรังสีมีการพัฒนาเป็นยอดตามปกติ ใบมีสีเขียวเข้ม และมีขนาด

ใหญ่ โดยมีความสามารถในการสร้างยอดรวม 96.67 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 21.63 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างกับชิ้นส่วนใบที่ฉายรังสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนที่ปริมาณรังสี 9.0 kJ/m^2 ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมน้อยที่สุดคือ 13.33 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 3.25 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วน (ตารางที่ 1)

3. ผลของรังสี UV-C ต่อความผิดปกติของลักษณะทางสัณฐานในหลอดทดลอง

เมื่อทำการเลี้ยงชิ้นส่วนใบ และก้านใบจากต้นที่ได้รับรังสีปริมาณต่าง ๆ บนอาหารสูตรชักนำยอดรวม (MS เต็ม IAA 1.0 mg/l และ KN 5.0 mg/l) พบว่า ชิ้นส่วนใบ และก้านใบ สามารถเจริญเป็นยอดรวมได้ตามปกติ แต่ลักษณะยอดที่เกิดขึ้นจากต้นที่ฉายรังสี มีใบขนาดใหญ่ และสีเขียวเข้มกว่าปกติ นอกจากนี้ยังพบการเกิดดอกในหลอดทดลอง จากชิ้นส่วนก้านใบจากต้นที่ฉายรังสีปริมาณ 5.4 kJ/m^2 ซึ่งลักษณะดอกที่เกิดขึ้นทั้งหมดเหมือนกัน คือ มีสีเขียว ประกอบด้วยก้านดอกกลีบเลี้ยง 5 กลีบ เมื่อผ่าดอกตามยาวเพื่อศึกษาลักษณะภายในของดอก พบว่า กลีบดอก เกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมีย ไม่มีการพัฒนา ส่วนชิ้นส่วนใบมีการพัฒนาเป็นยอดตามปกติ (ภาพที่ 4) เมื่อทำการย้ายดอกดังกล่าวบนอาหารสูตรชักนำยอดรวม โดยการวางทั้งดอก และแยกวางส่วนกลีบเลี้ยง พบว่า เมื่อวางทั้งดอก ส่วนก้านดอกมีการสร้างยอดรวมปกติ แต่ตรงบริเวณดอกเกิดเป็นสีน้ำตาลเข้ม และตาย ส่วนการแยกวางกลีบเลี้ยง ชิ้นส่วนพืช เกิดเป็นสีน้ำตาล และตายเช่นเดียวกัน

4. ผลของรังสี UV-C ต่อลักษณะทางสัณฐานของต้นกลีอกขิเนียภายหลังขยายพันธุ์ในสภาพที่ปลูกภายในแปลงปลูก

จากการนำต้นกลีอกขิเนียที่ได้รับรังสี และไม่ได้รับรังสี มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำราก ($1/2 \text{ MS}$) เป็นเวลา 14 วัน และย้ายลงแปลงปลูก หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลาประมาณ 60 วัน พบว่า ต้นกลีอกขิเนียที่ได้รับรังสี มีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี สังเกตได้จาก มีต้นขนาดเล็กกว่า และออกดอกช้ากว่าต้นปกติ ซึ่งต้นปกติมีลักษณะใบใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม ขอบใบหยัก ต้นที่ได้รับรังสี UV-C ปริมาณ 1.2, 1.8 และ 2.4 kJ/m^2

มีลักษณะใบ ขอบใบ และขนาดใบ คล้ายกับต้นปกติ และช่วงเวลาการออกดอกใกล้เคียงกัน แต่ต้นที่ได้รับรังสีในปริมาณสูงคือ 3.0, 3.6 และ 5.4 kJ/m² พบว่า บางต้นมีลำต้นมีลักษณะแคะแกร็น ใบมีขนาดเล็กกว่าปกติ บางใบหัก ใบมีขอบหยักน้อย (ภาพที่ 5) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานอื่น ๆ พบว่า ความกว้างทรงพุ่ม ความยาวและความกว้างใบ ในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความสูงของลำต้นนั้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 2)

สำหรับผลของรังสี UV-C ต่อการชักนำให้เกิดลักษณะการกลายพันธุ์ของส่วนดอกกลีอกซิเนียนั้น พบว่า มีลักษณะของดอกที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น จากปกติที่จะมีดอกเป็นสีแดงทั้งดอก กลีบดอกบาง กลีบดอกซ้อนกันมากกว่า 3 ชั้น แต่กลับพบว่า มีดอกที่มีสีเข้มขึ้น และมีลักษณะต่างไปจากเดิมหลายประการในต้นที่ได้รับรังสีปริมาณ 5.4 kJ/m² คือจากสีแดงปกติ เป็นสีแดงคล้ำก้ำมะหยี่ และมีกลีบดอกเพียงสองชั้น ดอกมีขนาดเล็ก กลีบดอกหนา มีบางดอก สีดอกอ่อนลง ขอบดอกหยัก และมีขอบสีขาว ห่างจากปลายกลีบดอกเข้ามาประมาณ 0.3 มิลลิเมตร ในขณะที่ดอกปกติมีขอบขาวเพียงเล็กน้อย หรือกลีบดอก มีสีเขียวตรงปลายกลีบดอกบางส่วน พบประมาณ 3-5 กลีบต่อจำนวนกลีบดอกทั้งหมด ส่วนดอกที่เกิดจากต้นที่ฉายรังสีปริมาณ 1.2, 1.8, 2.4 และ 3.0 kJ/m² มีลักษณะทางสัณฐานใกล้เคียงกับดอกปกติ (ภาพที่ 6)

วิจารณ์

จากการศึกษาผลของรังสี UV-C ต่อการกลายพันธุ์ของกลีอกซิเนียในหลอดทดลอง พบว่า ต้นส่วนใบกลีอกซิเนียที่ได้รับรังสี UV-C จะมีลักษณะเหี่ยวลง เมื่อเทียบกับต้นส่วนใบที่ไม่ได้รับรังสีซึ่งมีลักษณะใบเป็นปกติ เมื่อศึกษาถึงปริมาณรังสี UV-C ที่ทำให้อัตราการรอดชีวิตของต้นส่วนพืช 50% (LD_{50}) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม มีค่าประมาณ 4.52 kJ/m² ซึ่ง Leblay *et al.* (1992) ได้ศึกษาการใช้รังสีแกมมา และรังสี UV กับต้นส่วนใบแพร์ในหลอดทดลอง พบว่าค่า LD_{50} เมื่อใช้รังสี UV มีค่าประมาณ 125 J/m² ต้นส่วนใบที่ฉายรังสี UV ขอบใบ

เกิดการม้วนงอ และใบมีลักษณะเหี่ยวลงเช่นเดียวกับการศึกษานี้ แต่เมื่อพิจารณาถึงค่า LD_{50} พบว่ามีค่าต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพืชแต่ละชนิด มีการตอบสนองต่อรังสีต่างกัน ถึงแม้ว่าจะเป็นพืชชนิดเดียวกัน แต่มีระยะการพัฒนารวมขึ้นส่วนต่างกัน หรือมีอายุที่ต่างกัน การตอบสนองต่อรังสีก็อาจจะต่างกันด้วย เมื่อเพาะเลี้ยงต้นส่วนใบดังกล่าวเป็นเวลา 20 วัน ศึกษาลักษณะการพัฒนารวมของต้นส่วนใบ พบว่า ต้นส่วนใบที่ฉายรังสี UV-C มีการพัฒนาเป็นแคลลัส มีลักษณะเป็น friable callus มีสีเขียว ใส เกิดขึ้นบริเวณขอบใบ และบริเวณที่มีบาดแผล และมีการพัฒนาเป็น compact callus ซึ่งลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น อาจเป็นผลมาจากรังสี UV-C โดย Whittle and Johnston (2003) รายงานว่า รังสี UV มีผลทำให้เกิดความเสียหายกับดีเอ็นเอ รวมทั้งการเกิดความผิดปกติของเบสที่เป็นองค์ประกอบของดีเอ็นเอ เช่น การเกิดการจับกันเองของเบสไพริมิดีน (pyrimidine dimer) ในการศึกษาครั้งนี้รังสี UV-C อาจทำให้เกิดความเสียหายของเซลล์ ทำให้เซลล์อาจเกิดความผิดปกติ เกิดการเจริญเป็นกลุ่มแคลลัสแทนที่จะเจริญเป็นยอดรวมเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอด จากการฉายรังสี UV-C ที่มีปริมาณสูงคือ 5.4, 7.0 และ 9 kJ/m² เมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ระยะหนึ่งแคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม หรือดำ และมีการสร้างสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) โดยที่สารนี้อาจมีผลยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยที่ไม่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงต้นส่วนใบกลีอกซิเนียที่ไม่ได้รับการฉายรังสี ซึ่ง Park *et al.* (2007) รายงานว่า รังสี UV ส่งเสริมให้เกิดการสร้างสารชีวเคมีทุติยภูมิหลายชนิดเพิ่มขึ้น แต่ถ้าได้รับในปริมาณที่สูง และระยะเวลาเกินไป อาจส่งผลให้เกิดความเป็นพิษภายในเซลล์พืชได้ สอดคล้องกับการศึกษานี้คือ ต้นส่วนพืชที่ฉายรังสี UV-C ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้เซลล์บางส่วนตาย รวมทั้งมีผลยับยั้งความสามารถในการสร้างยอดรวม และจำนวนยอดรวมต่อหนึ่งต้นส่วน ลดลงด้วย

จากการย้ายเลี้ยงต้นส่วนใบ และต้นส่วนก้านใบที่ฉายรังสี UV-C ปริมาณต่าง ๆ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวม พบว่า ที่ปริมาณรังสี UV-C 5.4 kJ/m² ส่งเสริมให้ต้นส่วนก้านใบมีการพัฒนาเป็นดอก

Table 1 Percentage of multiple shoot formation of *Sinningia speciosa* after treating with UV-C radiation and cultured on regeneration medium.

Dose (kJ/m ²)	% Multiple shoot formation	Number of shoot / explant
0	96.67±1.96a ^{1/}	21.63±1.82a
1.2	80.00±5.32ab	16.50±1.82b
1.8	60.00±4.04cb	16.00±2.01b
2.4	40.00±3.71cd	15.75±1.31b
3.0	33.34±4.19d	11.25±1.35cb
3.6	31.67±3.16d	7.50±2.07cd
5.4	30.00±3.57d	3.50±1.76d
7.2	26.67±2.55d	3.25±0.98d
9.0	13.33±2.90d	3.25±0.98d
F-test	*	*
C.V. (%)	34.56	27.01

^{1/}Means within column not sharing letter in common are significantly different by DMRT (P≤0.05)

* Significant difference at P≤0.05

Table 2 Effect of UV-C radiation on plant growing after hardening for 60 days.

Dose (kJ/m ²)	Canopy width (cm)	Stem height (cm)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Floral diameter (cm)	Floral length (cm)
0	29.78a ^{1/}	0.99a	11.48a	14.20a	5.07a	4.15a
1.2	23.08b	0.99a	9.75b	12.40b	4.80a	4.02ab
1.8	22.10b	0.98a	8.23c	11.95c	4.65abc	3.68ab
2.4	20.50bc	0.97a	5.85d	7.73d	4.45abc	3.49ab
3.0	18.85bc	0.95a	5.03de	6.85d	4.18abc	3.50ab
3.6	18.75bc	0.94a	4.43e	6.43d	3.90bc	3.36ab
5.4	15.58c	0.93a	4.33e	6.20d	3.63c	3.23b
F-test	*	ns	*	*	*	*
C.V. (%)	18.75	14.75	10.48	9.26	15.73	13.16

^{1/}Means within column not sharing letter in common are significantly different by DMRT (P≤0.05)

*Significant difference at P≤0.05

^{ns}Not significant difference

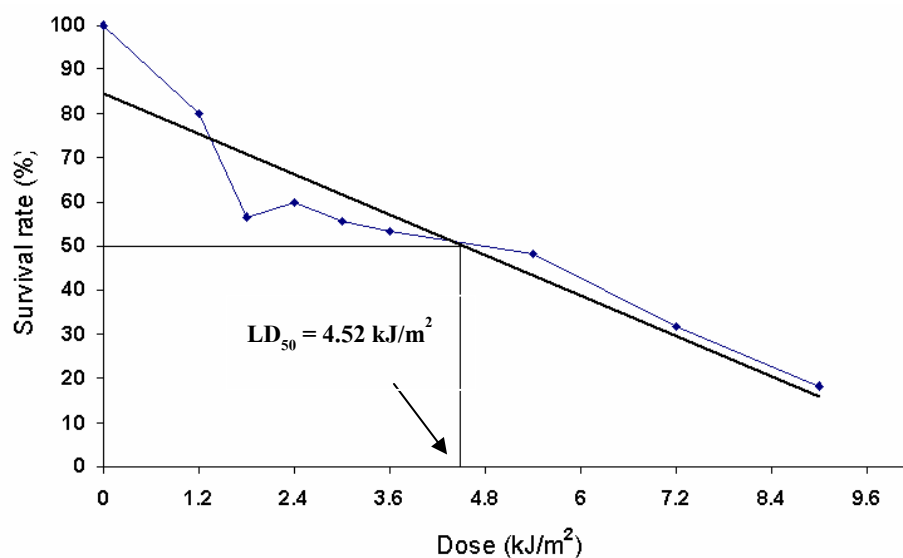


Figure 1 Survival percentage of leaf explants of *Sinningia speciosa* after treating with UV-C radiation for 2 weeks.

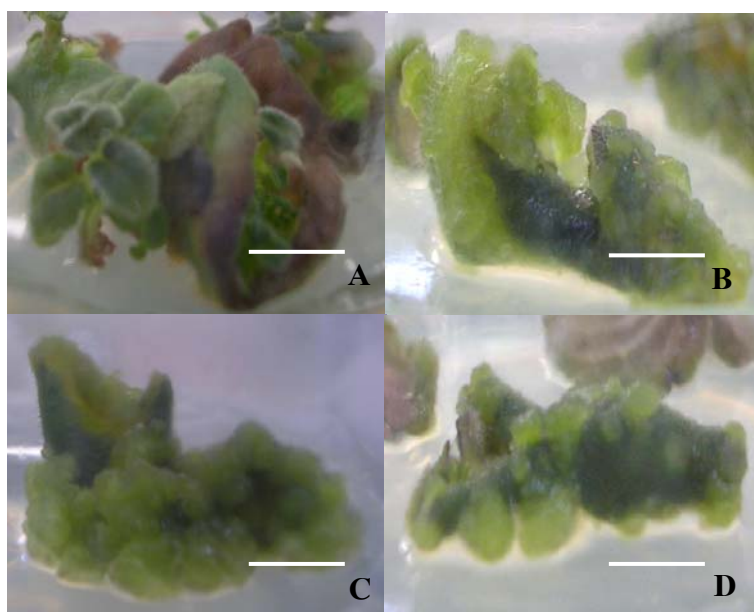


Figure 2 Callus formation from leaf explant after treated with various dose of UV-C radiation.

(A) 0 kJ/m², (B) 1.8 kJ/m², (C) 2.4 kJ/m² and (D) 5.4 kJ/m² (bar = 1.0 cm)

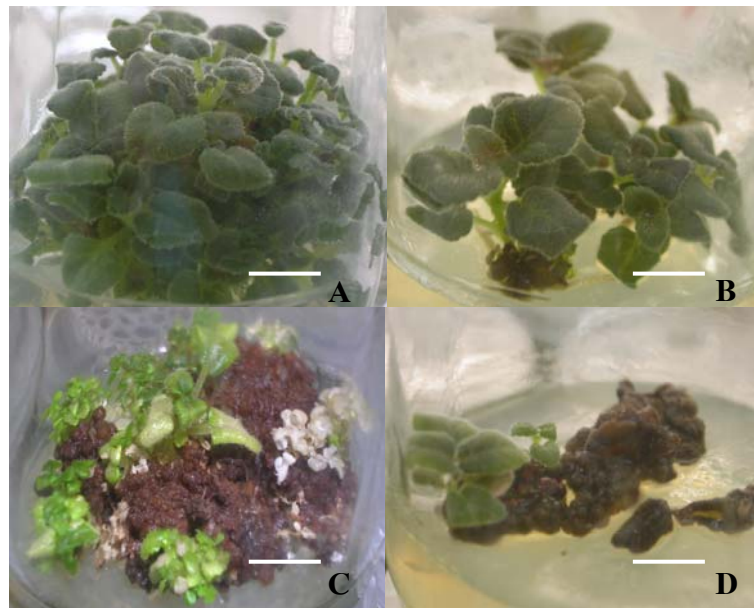


Figure 3 Shoot formation from cultured leaf after treating with various dose of UV-C radiation and cultured for 45 days.

(A) 0 kJ/m^2 , (B) 3.6 kJ/m^2 , (C) 5.4 kJ/m^2 and (D) 9.0 kJ/m^2 (bar = 1.0 cm)

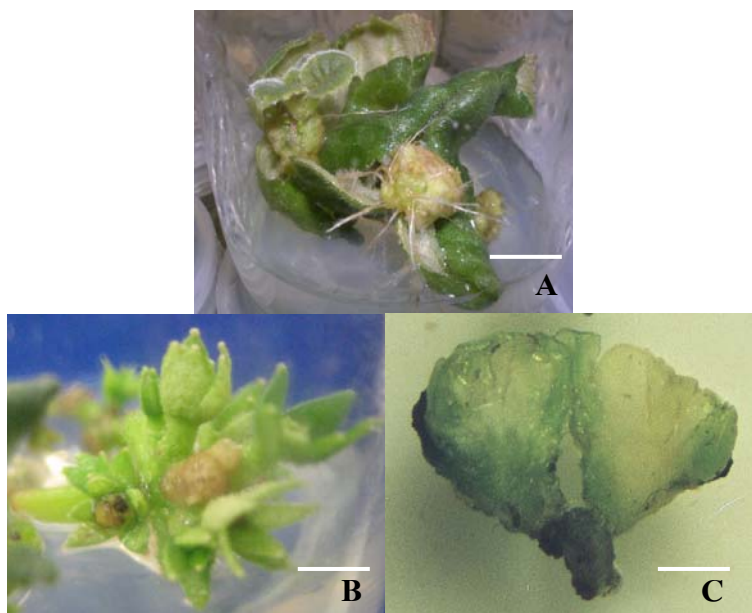


Figure 4 Regeneration of explants after treating with 5.4 kJ/m^2 UV-C radiation.

(A) leaf explant, (B) petiole explant and (C) longitudinal section of flower (bar = 0.5 cm)

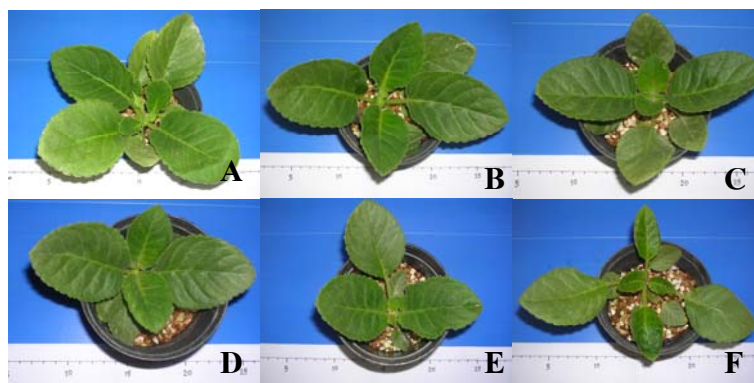


Figure 5 Plants morphology after treated with UV-C radiation and hardening for 60 days.

(A) 0 kJ/ m2, (B) 1.8 kJ/m2, (C) 2.4 kJ/ m2, (D) 3.0 kJ/m2, (E) 3.6 kJ/m2 and
(F) 5.4 kJ/m2



Figure 6 Different flower mutants. Top row: Parent cv. Quick red (red and double petals).

2nd, 3rd and Bottom row: flower mutants after treating with 3.0, 5.4 and 5.4
kJ/m2 UV-C radiation respectively (bar = 1 cm)

ในขณะที่ขึ้นส่วนใบพัฒนาเป็นยอดรวมปกติ ซึ่งการเกิดดอกของพืชแต่ละชนิดในหลอดทดลอง ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น ขึ้นส่วนพืช สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต รวมถึงสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง แต่ส่วนใหญ่ดอกที่ชักนำให้เกิดในหลอดทดลอง มักมีลักษณะผิดปกติ เช่น ละอองเกสรเป็นหมัน เช่น ในกล้วยไม้เหลืองจันทร์พญู (ปรัชพรณ, 2550) ในกล้วยไม้ *Dendrobium* สายพันธุ์ Madame Thong-In ดอกจะมีรูปร่างผิดปกติเมื่อย้ายลงอาหารเหลว (Sim *et al.*, 2007) เช่นเดียวกับการศึกษานี้ ดอกกลีอกซีเนียที่ชักนำได้มีการพัฒนาเพียงส่วนกลีบเลี้ยง แต่กลีบดอก เกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมีย ไม่พัฒนา ลักษณะดังกล่าวอาจเนื่องมาจากรังสี UV-C แต่รังสี UV-C ไปมีผลอย่างไรต่อการเกิดดอกในหลอดทดลองนั้น ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจส่งผลให้เซลล์พืชเกิดความผิดปกติ และอาจส่งผลกระทบต่อทางด้านสรีรวิทยา มีส่วนไปกระตุ้นให้ตาดอกมีการพัฒนาได้เร็วขึ้น ซึ่งต้องมีการศึกษาในระดับโมเลกุลต่อไป สำหรับผลของรังสี UV ต่อลักษณะการกลายพันธุ์ของต้นกลีอกซีเนียภายหลังออกปลูกในแปลงนั้น ส่วนใหญ่ต้นที่ได้รับรังสี มีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี และในต้นที่ได้รับรังสีในปริมาณสูง พบลักษณะต้นแคระแกร็น ใบมีรูปร่างผิดปกติ บางต้นไม่สามารถออกดอกได้ ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจาก ต้นพืชได้รับปริมาณรังสีในปริมาณที่สูงเกินไปจนทำให้เนื้อเยื่อพืชเสียหายมากจนไม่อาจออกดอกได้ (ธนวัฒน์ และเดือนใจ, 2549)

สรุป

การชักนำการกลายพันธุ์ในกลีอกซีเนียจากการใช้ขึ้นส่วนใบฉายรังสี UV-C พบว่า LD₅₀ มีค่า 4.52 kJ/m² เมื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานที่ผิดปกติในหลอดทดลอง พบว่า ที่ปริมาณรังสี 5.4 kJ/m² ขึ้นส่วนก้านใบมีการพัฒนาเป็นดอก แต่ไม่สมบูรณ์ ในขณะที่ขึ้นส่วนใบมีการพัฒนาเป็นยอดรวมตามปกติ เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของดอกภายในแปลงปลูก พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงหลายลักษณะ เช่น ดอกสีเข้มขึ้นหรืออ่อนลง กลีบดอกหนา กลีบดอกมีขอบสีขาว และบางดอกบริเวณปลายกลีบดอกมีสีเขียว ส่วนลำต้นมีลักษณะคล้ายกับต้น

ปกติ ทั้งนี้ลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงหลายลักษณะที่เกิดขึ้นนั้นอาจเป็นผลมาจากรังสีร่วมกับสิ่งแวดล้อม แต่บางลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงจากเดิมเล็กน้อย เช่น สีดอกเข้มขึ้นหรือจางลงเล็กน้อย อาจเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อมภายในแปลงปลูก ดังนั้นควรตรวจสอบทางด้านชีวเคมี เพื่อศึกษาว่าลักษณะที่กลายพันธุ์นั้นเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของยีนหรือไม่ เป็นต้น อย่างไรก็ตามมีการลักษณะกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นดังกล่าว อาจจะเป็นลักษณะการกลายพันธุ์ที่ยังไม่คงที่ ซึ่งจะต้องขยายพันธุ์ต่อไปเพื่อให้ได้พันธุ์ที่คงที่ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ในทางการค้าต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ธนวัฒน์ แก่นศักดิ์ศิริ และ เดือนใจ ไก่สกุล. 2549. ผลของรังสี แกมมา มาต่อกลิอกซีเนีย (*Sinningia speciosa*). วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ 5(1): 13-23.
- ปรัชพรณ หนูจีน. 2550. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์พญู (*Dendrobium fredericksianum* Rchb.f.) ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 53 หน้า.
- ภาณุพงศ์ ศรีอ่อน. 2548. กลีอกซีเนีย. เอกสารวิชาการ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 13 หน้า.
- อรุณี ม่วงแก้วงาม และ สมปอง เตชะโต. 2535. การขยายพันธุ์กลีอกซีเนียโดยไม่อาศัยเพศในหลอดทดลอง. วารสารเกษตร 20(6): 336-342.
- Al-Safadi, B, Z. Ayyoubi and D. Jawdat. 2000. The effect of gamma irradiation on potato microtuber production *in vitro* application of chemical mutagen. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 61(3): 183-187.
- Charbaji, T. and I. Nabulsi. 1999. Effect of low doses of gamma irradiation on *in vitro* growth of grapevine. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 57(2): 129-132.

- Ibrahim, R., W. Mondelaers and P.C. Debergh. 1998. Effect of X-irradiation on adventitious bud regeneration from *in vitro* leaf explants of *Rosa hybrida*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 54(1): 37-44.
- Luis, J.C., R. Matin Perez and F. Valdes Gonzalez. 2007. UV-B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary plants. Food Chemistry 101(3): 1211-1215.
- Okamura, M., N. Yasuno, M. Ohtsuka, A. Tanaka, N. Shikazono and Y. Hase. 2003. Wide variety of flower-color and -shape mutants regenerated from leaf cultures irradiated with ion beams. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 206: 574-578.
- Park, J.S., M.G. Choung, J.B Kim, B.S. Hahn, J.B. Kim, S.C. Bae, K.H. Roh, Y.H. Kim, C.I. Cheon, M.K. Sung and K.J. Cho. 2007. Genes up-regulated during red coloration in UV-B irradiated lettuce leaves. Plant Cell Reports 26(4): 507-516.
- Pinet-Leblay, C., F.X. Turpin and E. Chevreau. 1992. Effect of gamma and ultraviolet irradiation on adventitious regeneration from *in vitro* cultured pear leaves. Euphytica 62(3): 225-233.
- Sim, G.E., C.S. Loh and C.J. Goh. 2007. High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae). Plant Cell Reports 26(4): 383-393.
- Whittle, C.A. and M.O. Johnston. 2003. Male-biased transmission of deleterious mutations to the progeny in *Arabidopsis thaliana*. PNAS 100(7): 4055-4059.
- Wongpiyasatid, A. and P. Hormchan. 2000. New mutants of perennial *Portulaca grandiflora* through gamma radiation. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 34(3): 408-416.
-

การใช้ EMS เพื่อชักนำการกลายพันธุ์ใน กล้วยไม้เหืองจันทบูร

Use of EMS to Induce Mutation in *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.

ศิริัญญา ม่วงสอน^{1/} และ สมปอง เตชะโต^{1/}
Sirinya Muangsorn^{1/} and Sompong Te-chato^{1/}

Abstract: The study of optimum condition for EMS (ethylmethanesulphonate) to induced mutation in *Dendrobium friedericksianum* Rehb.f. was carried out using PLBs (protocorm-like bodies). PLBs were immersed in EMS at concentration of 0, 0.25, 0.5, 0.75 and 1% for 60 and 90 min then cultured on phytohormone-free MS medium for 14 days. The results revealed that EMS at concentration of 0.8% for 90 min decreased the survival rate of to 50% (LD₅₀) PLBs. After culturing survival PLBs for further 2 months the highest shoot formation at 15% was obtained from non treated PLBs while EMS at concentration of 0.75 and 1% for 90 min gave the lowest shoot formation at equal percentage (2%). In case of number of shoot/explant, EMS at concentration of 1% for 90 min gave the highest results (12 shoots/explant). Morphological observation revealed that EMS at concentration 1% for 60 min gave 10% albino plants and 1% EMS for 90 min gave three characteristics of chimera, sectorial, mericlinal and periclinal at frequency of 5, 15 and 11%, respectively. Chimeral leaves consisted of two colors, yellow and white. Isozyme markers could be assessed among the treatments with or without EMS.

Keywords: *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f., mutation, isozyme, esterase, EMS

^{1/} ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

^{1/} Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

บทคัดย่อ: ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้สาร EMS (ethylmethanesulphonate) เพื่อชักนำการกลายพันธุ์ในกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร โดยนำ PLBs (Protocom-like bodies) กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรมาจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 และ 90 นาที แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า หลังเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน PLBs ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ที่ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที ให้อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง จากนั้นศึกษาการเจริญและพัฒนาการของ PLBs ที่รอดชีวิต พบว่า ภายหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน ทริตเมนต์ที่ไม่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS (ชุดควบคุม) ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดสูงสุด คือ 15 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ทริตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดต่ำสุดเท่ากันคือ 2 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนพบว่า ทริตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนสูงสุดคือ 12 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน พบว่า ทริตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 นาที เกิดลักษณะต้นเผือกเป็นจำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ และที่ EMS ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที พบอาการใบต่าง 3 ลักษณะคือ ต่างเป็นบางส่วนของใบ (sectorial) ต่างตรงกลางใบ (mericlinal) และต่างบริเวณขอบใบ (periclinal) เป็นจำนวน 5, 15 และ 11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งลักษณะใบต่างที่เกิดขึ้นมีสีต่าง 2 สี คือ ใบด่างสีเหลืองและใบด่างสีขาว และเมื่อนำมาตรวจสอบการกลายพันธุ์ด้วยเทคนิคไอโซไซม์ พบว่าให้แถบเอนไซม์ที่แตกต่างกันระหว่างทริตเมนต์ที่จุ่มแช่และไม่จุ่มแช่ EMS

คำสำคัญ: กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร การกลายพันธุ์ ไอโซไซม์ เอสเตอเรส อีเอ็มเอส

คำนำ

กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. (วชิรพงศ์, 2548) เป็นกล้วยไม้พื้นเมืองที่ขึ้นอยู่ในป่าทั่วไป ทั้งป่าสูงและป่าต่ำที่เป็นป่าดิบทางภาคตะวันออกแถบจังหวัดจันทบุรี และตราด จัดเป็นกล้วยไม้สกุลหายาก ที่มีดอกสวยงาม และออกดอกเป็นช่อทั้งต้น กลับมีสีเหลืองสดเป็นมันคล้ายพลาสติก มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ดอกบานทนทาน ออกดอกปีละครั้งในช่วงเดือนมกราคม ถึงเดือนมีนาคม เหลืองจันทร์บูรที่พบในธรรมชาติ จะมีดอก 2 แบบ คือ ดอกสีเหลืองแถมสีม่วงแดง 2 แด้ม และดอกสีเหลืองทั้งดอก เรียกว่า ชนิดเหลืองปลอด ซึ่งในขณะนี้กำลังเป็นที่ต้องการของตลาดมาก (สำนักงานทางหลวงชนบทจังหวัดจันทบุรี, 2547) แต่เนื่องจากเหลืองจันทร์บูรเป็นกล้วยไม้หายาก มีราคาแพง จึงถูกลักลอบนำออกจากป่าเพื่อการค้านอกจากนี้เหลืองจันทร์บรยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำจึงมีโอกาสสูญพันธุ์สูง (สกุลรัตน์, 2548) ดังนั้นเพื่อป้องกันการสูญพันธุ์และสร้างสายพันธุ์ใหม่เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดจึงได้ทำการประยุกต์ใช้

เทคโนโลยีการกลายพันธุ์เพื่อเพิ่มความหลากหลายและขยายฐานทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ เหลืองจันทร์บูร และใช้เทคนิคทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาใช้ในการเพิ่มปริมาณให้ได้จำนวนมาก ซึ่งปัจจุบันพบว่าเทคนิคทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในการขยายพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์มากขึ้น ดังรายงานการเพาะเลี้ยงใบในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* และ *Aranda* สามารถชักนำให้เป็นต้นเป็นจำนวนมาก (Manorama et al., 1986 อ้างโดย Arditto and Ernst, 1993) การเพาะเลี้ยงปลายรากในกล้วยไม้สกุล *Cyrtopodium* สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้เช่นกัน (Sanchez, 1988) นอกจากนี้ยังสามารถนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมกับกระบวนการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อส่งเสริมความแปรผันและการผลิตพืชให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ ช่วยให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ได้สะดวกและรวดเร็วยิ่งขึ้น โดยกระบวนการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์มีหลักการ คือ การนำชิ้นส่วนพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ มาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปจากเดิมอย่างฉับพลัน โดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ในรูปของรังสี เช่น รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ หรือสารเคมี เช่น EMS

(ethylmethanesulphonate) ไดเอทิลซัลเฟต (DES: diethyl sulphate) 5-โบรมูเรซิล (5-bromouracil) เป็นต้น การใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการชักนำการกลายพันธุ์ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ EMS ตัวอย่างการใช้ EMS ในการชักนำการกลายพันธุ์ในไม้ดอกไม้ประดับ เช่น คาร์เนชั่น (Singh *et al.*, 2000) ขวอนชม (Wongsawad *et al.*, 2005) *Dendrobium* 'Sonia' (วัชรินทร์ และ กันยารัตน์, 2548) เป็นต้น ในการทดลองนี้ใช้ กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรมาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อให้ได้ลักษณะหรือสายพันธุ์ใหม่ ๆ เป็นการเพิ่มมูลค่าทางการตลาด และเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม นอกจากนี้ยังใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาและประยุกต์ใช้ปรับปรุงพันธุ์ในพืชอื่น ๆ ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพืชและสิ่งกักกลายพันธุ์

ใช้ PLBs ของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรอายุ 2 เดือน ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เติมน้ำ Phytigel ความเข้มข้น 0.17 เปอร์เซ็นต์ ปรับ pH 5.7 วางเลี้ยงภายใต้การให้แสง นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ อุณหภูมิ 26 ± 2 °C และสารละลาย EMS ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ชักนำการกลายพันธุ์

วิธีการ

1. การศึกษาความเข้มข้นของ EMS และระยะเวลาจุ่มแช่ต่ออัตราการรอดชีวิตของ PLBs กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร

นำ PLBs มาจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 และ 90 นาที โดยอินคิวบ์บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดกรองแยก PLBs ออกจากสารละลาย EMS ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อ จึงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยทำการทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 ชิ้น ภายหลังการเลี้ยง 14 วันบันทึกอัตรา

การรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงของ PLBs ในแต่ละความเข้มข้นและระยะเวลา โดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ตรวจสอบค่าความเข้มข้นของ EMS ที่ยับยั้งอัตราการรอดชีวิตได้ 50% หรือ LD₅₀

2. การตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมของต้นที่ได้จากการจุ่มแช่ EMS

2.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน

การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรที่ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วย EMS หลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 8 สัปดาห์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของใบ เช่น สีและรูปร่างของใบ ความสูงของลำต้น ตลอดจนพัฒนาการด้านอื่นๆ จำนวน 2 รุ่น (M1R1-M1R2, M1: PLBs ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ครั้งที่ 1 R1: ต้นที่พัฒนามาจาก PLBs ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ครั้งที่ 1 R2: ยอดรวมที่พัฒนามาจากต้น R1) เปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของ EMS

2.2 การตรวจสอบโดยใช้เทคนิคไอโซไซม์

นำใบอ่อนของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรที่ได้ภายหลังจากการทดลองในทุกทรีตเมนต์มาบดร่วมกับบัฟเฟอร์สำหรับสกัดเอนไซม์ในอัตราส่วน 1:5 น้ำหนัก/ปริมาตร ซึ่งสารสกัดเอนไซม์ประกอบด้วย Tris-HCl 0.5 M pH 7.5, PVP 2%, Na₂EDTA 2 mM และ 2 Mercapthoethanol 1% (เติมเมื่อบดตัวอย่างพืช) บดในโกร่งเย็นจนละเอียด จากนั้นจึงนำของเหลวที่ได้เทใส่ในหลอดเอฟเฟนดอร์ฟ นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนใส่ในหลอดเอฟเฟนดอร์ฟที่สะอาด แล้วนำมาแยกเอนไซม์ด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิสแนวตั้ง โดยใช้ตัวกลางหรือตัวค้ำจุนเป็นเจลโพลีอะคริลามิโดความเข้มข้น 10% โดยดูดสารละลายส่วนใสที่สกัดได้มา 15 ไมโครลิตร ผสมกับ bromophenol blue 2 ไมโครลิตร หยดใส่ร่องหีบแบนแผ่นเจลที่เตรียมไว้ แล้วแยกเอนไซม์ในสารละลายอิเล็กโตรดบัฟเฟอร์ภายใต้กระแสไฟฟ้าคงที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำแผ่นเจลมาย้อมสีเพื่อตรวจสอบเอนไซม์ 2 ระบบคือ peroxidase

(PER) และ α -esterase (EST) เปรียบเทียบความแตกต่างของ ไซโมแกรมในแต่ละความเข้มข้นของ EMS กับการไม่จุ่มแช่ EMS

ผลการศึกษา

1. การศึกษาความเข้มข้นของ EMS และระยะเวลาจุ่มแช่ต่ออัตราการรอดชีวิตของ PLBs กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร

จากการจุ่มแช่ PLBs กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรในสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00% นาน 60 และ 90 นาที แล้ววางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 7 วัน PLBs ที่ทุกระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการจุ่มแช่สารละลาย EMS มีสีซีดลงจากเดิมเล็กน้อย ภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จึงเริ่มบันทึกอัตราการรอดชีวิต พบว่า การจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ทุกระดับความเข้มข้น นาน 60 นาที มีอัตราการรอดชีวิตสูงเกิน 50% โดยให้อัตราการรอดชีวิตสูงถึง 100, 90, 80, 65 และ 55% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อจุ่มแช่นาน 90 นาที ที่ระดับความเข้มข้นของ EMS 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00% ให้อัตราการรอดชีวิตคือ 100, 85, 70, 60 และ 32% ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทุกทรีตเมนต์ (ตารางที่ 1) เมื่อนำมาเขียนกราฟ พบว่า ที่ความเข้มข้นของ EMS 0.8% ให้อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่ง (ภาพที่ 1) ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน PLBs จะเพิ่มจำนวนมาก โดย PLBs ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 1% นาน 90 นาที มีลักษณะฉ่ำน้ำและมีสีเขียวเข้มกว่าชุดควบคุมและทรีตเมนต์อื่น ๆ และเริ่มมีการแตกยอดอ่อน (ภาพที่ 2) เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การสลายยอดพบว่า ทรีตเมนต์ที่ไม่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS (ชุดควบคุม) ให้เปอร์เซ็นต์การสลายยอดสูงสุด คือ 15% ในขณะที่ทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.75 และ 1% นาน 90 นาทีให้เปอร์เซ็นต์การสลายยอดต่ำสุด คือ 2% และเมื่อพิจารณาในด้านจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนพบว่า ทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 1% นาน 90 นาที ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อ

ชิ้นส่วนสูงสุดคือ 12 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ ทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.5% นาน 90 นาที ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนคือ 10 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 2)

2. การตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมของต้นที่ได้จากการจุ่มแช่ EMS

2.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน

หลังจากทรีตด้วยสารละลาย EMS แล้วเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน ภายหลังจากทำการย้ายเพื่อชักนำ PLBs ชุดใหม่ ครั้งที่ 2 (M1R2) PLBs ที่เจริญเป็นต้นใน ทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 1% นาน 60 นาที เกิดลักษณะต้นเผือกเป็นจำนวน 10.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3, ภาพที่ 3) และที่ EMS ความเข้มข้น 1% นาน 90 นาที พบอาการใบต่าง 3 ลักษณะคือ ต่างเป็นบางส่วนของใบ (sectorial), ต่างตรงกลางใบ (mericlinal) และต่างบริเวณขอบใบ (periclinal) ซึ่งลักษณะใบต่างที่เกิดขึ้นปรากฏสีต่าง 2 สี คือ ใบต่างสีเหลืองและใบต่างสีขาวเป็นจำนวน 5.0, 15.0 และ 11.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3, ภาพที่ 3 A, 3B, 3C) สำหรับการเจริญเติบโตในด้านอื่น ๆ เช่น ความสูงของลำต้นหรือพื้นที่ใบ พบว่า ทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS จะเจริญเติบโตช้ากว่าทรีตเมนต์ที่ไม่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS (ตารางที่ 4)

2.2 การตรวจสอบโดยใช้เทคนิคไอโซไซม์

เมื่อย้อมสีเจลโพลีอะคริลาไมด์ที่ผ่านการแยกเอนไซม์ ด้วยระบบสีย้อมเอนไซม์ 2 ระบบ คือ ระบบเอนไซม์ PER และ EST ของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรที่มีลักษณะกลายไปจากเดิม 4 ลักษณะ คือ ต้นเผือก, ต้นที่มีใบต่างเป็นบางส่วนของใบ, ต่างตรงกลางใบ และต่างบริเวณขอบใบ พบว่า เมื่อย้อมสีด้วยระบบเอนไซม์ EST แผ่นเจลโพลีอะคริลาไมด์ให้การติดสีและการกระจายตัวของแถบเอนไซม์ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 4) โดยในชุดควบคุมมีรูปแบบเอนไซม์ 4 โซน คือ EST1, EST2, EST3 และ EST4 แต่ในโซน EST3 มีแถบเอนไซม์เพียง 3 แถบ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่มีลักษณะใบต่างเป็นบางส่วนของใบ, ต่างตรงกลางใบ และต่างบริเวณขอบใบ มีรูปแบบเอนไซม์ 4 โซน คือ EST1, EST2, EST3 และ EST4 โดยที่

Table 1 Survival rate of PLBs of *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. after treating with various concentration of EMS.

EMS (%)	Survival rate (%) ^{1/}	
	60 min	90 min
0.0	100a	100a
0.25	90ab	85ab
0.50	80ab	70abc
0.75	65ab	60bc
1.00	55b	32c
F-test	*	**
C.V. (%)	21.20	23.80

^{1/}Means within column not sharing letters in common are significantly different by DMRT

*Significant difference at ($P \leq 0.05$)

**Significant difference at ($P \leq 0.01$)

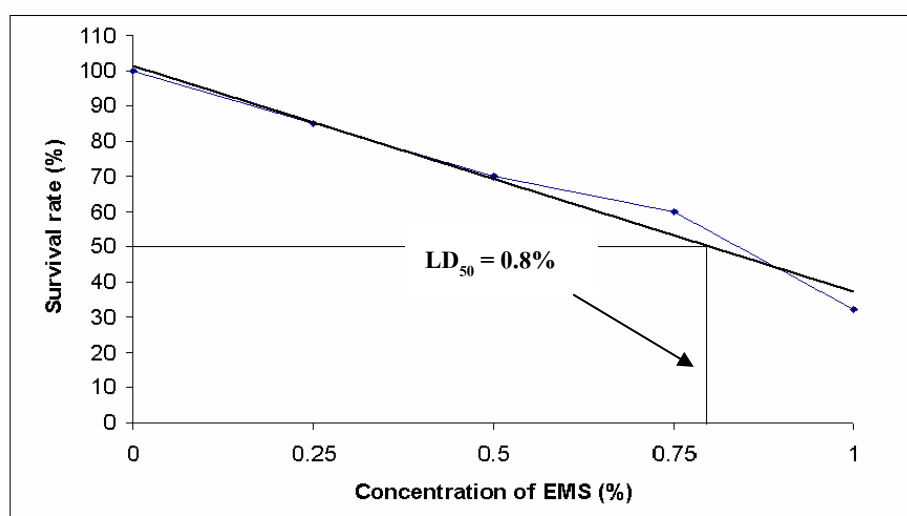


Figure 1 Survival percentage of PLBs of *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. after treating with EMS for 90 min and culture for 14 days.

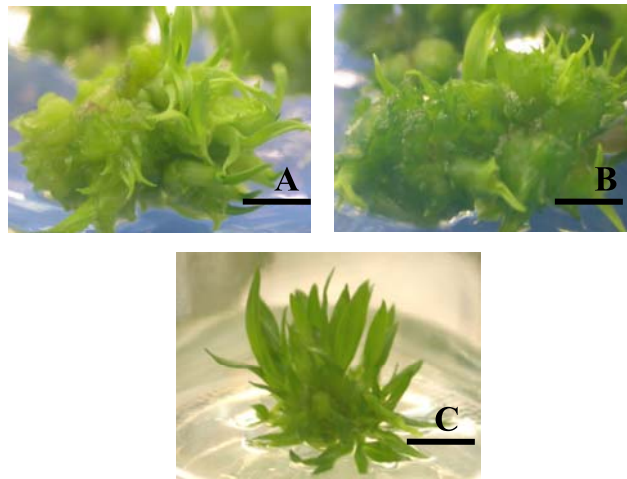


Figure 2 Morphological characteristics of PLBs of *Dendrobium fredericksianum* Rchb.f.

(A) PLBs formation without EMS (control) (B) PLBs formation after treating with 1% EMS for 90 min and cultured for 2 months (C) Multiple shoots formation from PLBs after treating with 1% EMS for 90 min and cultured for 3 months. (bar = 1 cm)

Table 2 Percentage of multiple shoots and number of shoots per explant of PLBs of *Dendrobium fredericksianum* Rchb.f. after treating with EMS and culture for 2 months.

EMS (%)	Multiple shoots (%)		Number of shoots/explant	
	60 min	90 min	60 min	90 min
0.00	15.00	15.00	7.25	7.25
0.25	12.00	8.00	3.00	8.66
0.50	7.00	4.00	4.28	10.50
0.75	5.00	2.00	7.50	7.00
1.00	3.00	2.00	7.33	12.00

Table 3 Effect of EMS on variation of morphological characteristics of *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.

Generation	Chimera/Mutant	Chimera color	Percentage
M1R1	-	-	-
M1R2	albino*	white	10.0
	sectorial**	yellow, white	5.0
	mericlinal **	yellow, white	15.0
	periclinal**		11.0

* PLBs treated with 1% EMS for 60 min

** PLBs treated with 1% EMS for 90 min

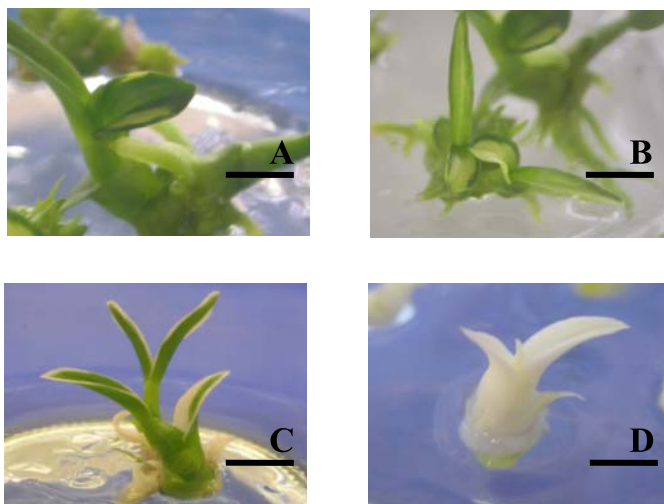


Figure 3 Leaf chimera characteristics obtained from treating with 1% EMS for 90 min after culture for 3 months.

(A) sectorial, (B) mericlinal, (C) periclinal and treating with 1% EMS for 60 min, (D) albino. (bar = 1 cm)

Table 4 Growth of *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. after treating with EMS for 2 months.

EMS (%)	Stem length (cm)		Leave area (cm ²)	
	60 min ^{1/}	90 min	60 min	90 min
0.00	1.38a	1.38a	0.584a	0.584a
0.25	1.19a	0.98ab	0.519a	0.414b
0.50	0.78a	0.86abc	0.322a	0.290bc
0.75	0.51b	0.68bc	0.485a	0.176cd
1.00	0.44b	0.36c	0.151a	0.110d
F-test	**	**	Ns	**
C.V. (%)	20.10	29.47	68.05	25.95

^{1/} Means within column not sharing letters in common are significantly different by DMRT

^{ns} Not significant difference

**Significant difference at $P \leq 0.01$

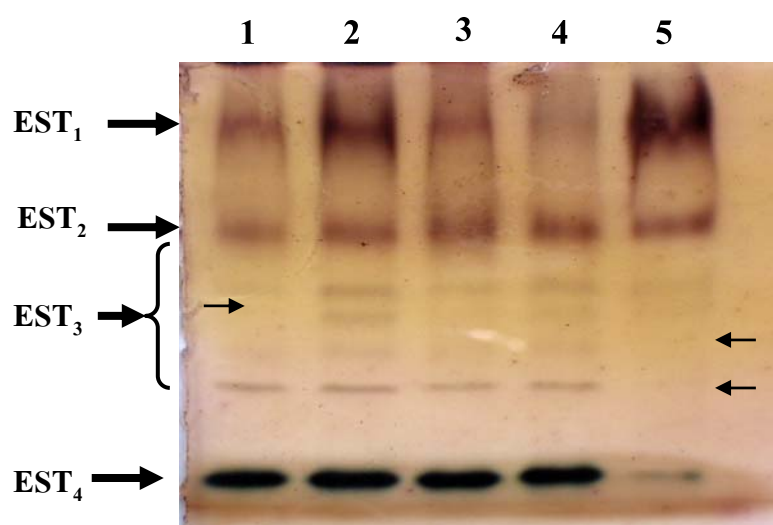


Figure 4 Zymogram patterns of PLBs after being treated with EMS, separated by 10% polyacrylamide gel and stained with EST (arrow show band deletion). (1) control, (2) sectorial, (3) periclinal, (4) mericlinal, (5) albino

EST3 มี 4 แถบเอนไซม์ ส่วนลักษณะต้นเผือก มีรูปแบบเอนไซม์ 4 โซน คือ EST1, EST 2, EST3 และ EST4 โดยที่ EST3 มี 2 แถบเอนไซม์

ลักษณะของเอนไซม์ในแต่ละโซนจะมีความชัดเจนของแถบเอนไซม์แตกต่างกันอาจเนื่องจากในต้นกล้วยไม้แต่ละลักษณะมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่ต่างกัน

วิจารณ์

จากการทดลองเมื่อนำ PLBs กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรมาจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1% เป็นเวลา 60 และ 90 นาที ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน พบว่า EMS ที่ความเข้มข้น 0.8% นาน 90 นาที ให้อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nuamjaroen (1998) ซึ่งได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้สาร EMS เพื่อชักนำให้ดอกคำฝอยเกิดการกลายพันธุ์ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำชิ้นส่วนใบมาจุ่มแช่ในสารละลาย EMS พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ การใช้สาร EMS ที่ความเข้มข้น 0.8% นาน 3 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง แต่เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการจุ่มแช่ พบว่า การศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการจุ่มแช่น้อยกว่า เพียง 90 นาที ทั้งนี้อาจเป็นเพราะใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นแตกต่างกัน โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้ PLBs ระยะที่ยังไม่สร้างใบเลี้ยงและมีกิจกรรมของเนื้อเยื่อเจริญสูงทำให้ EMS เข้าทำลายเนื้อเยื่อได้มากกว่าจึงใช้ระยะเวลาในการจุ่มแช่น้อยกว่าก็สามารถหาอัตราการรอดชีวิตที่ลดลงครึ่งหนึ่งได้ ดังรายงานการศึกษาของสมปอง และวิทยา (2542) พบว่า ชิ้นส่วนที่มีกิจกรรมของเนื้อเยื่อเจริญสูง เมื่อผ่านการจุ่มแช่ในสารละลาย EMS เนื้อเยื่อจะถูกทำลายเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงจึงมีอัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) และ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ สมปอง (2541) รายงานว่า ความเข้มข้นของสิ่งก่อกลายพันธุ์ที่ยับยั้งการสร้างแคลลัสหรือการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้จำนวนครึ่งหนึ่งหรือ 50% (LD_{50}) ถือว่าเป็นค่าในการประเมินความเข้มข้นที่เหนี่ยวนำการกลายพันธุ์

ทั้งนี้เพราะ ความเข้มข้นดังกล่าวสร้างความเสียหายและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับหน่วยพันธุกรรมอย่างน้อย 50% โดยในพืชแต่ละชนิดจะมีค่า LD_{50} แตกต่างกัน เพราะขึ้นอยู่กับชิ้นส่วน อายุของชิ้นส่วน ระยะเวลาในการจุ่มแช่ และ ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ในการจุ่มแช่ เช่นการศึกษาของธัญญาพร (2547) พบว่า ภายหลังจุ่มแช่ในดูลาแคลลัสของหน้าวัวพันธุ์โซนเตตด้วยสารละลาย EMS ที่ความเข้มข้น 0.725% นาน 90 นาที ให้อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ โดยเกิดลักษณะผิดปกติในรุ่น M1R2 วัชรินทร์ และกันยารัตน์ (2548) ศึกษาชักนำการกลายพันธุ์ของกล้วยไม้ *Dendrobium* 'Sonia' พบว่า EMS ที่ความเข้มข้น 1% ให้อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง สามารถชักนำให้เกิดลักษณะผิดปกติ และมีผลทำให้การเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ช้าลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุม Bhagwat and Duncan (1998) ศึกษาโดยนำชิ้นส่วนปลายยอด อายุ 4 สัปดาห์ ของกล้วยภายในหลอดทดลองมาจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 30 นาที พบค่า LD_{50} คือ ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลลาร์ ดังนั้นหากจุ่มแช่ PLBs กล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรด้วยสารละลาย EMS ที่ความเข้มข้น 0.8% นาน 90 นาที ทำให้ PLBs มีอัตราการรอดชีวิตลดลง 50% และ PLBs ที่รอดชีวิตมีแนวโน้มที่จะเจริญพัฒนาได้เป็นต้นกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรที่มีลักษณะกลายพันธุ์ไปจากเดิม

การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน หลังจากทรีตด้วยสารละลาย EMS แล้ววางบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน หลังจากทำการย้ายเพื่อชักนำ PLBs ชุดใหม่ ครั้งที่ 2 (M1R2) จึงตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน พบว่า PLBs ที่เจริญเป็นต้นในทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 1% นาน 60 นาที มีลักษณะผิดปกติ คือ เกิดลักษณะต้นเผือก และที่ความเข้มข้น EMS 1% นาน 90 นาที พบอาการใบด่าง 3 ลักษณะคือ ดังเป็นบางส่วนของใบ (sectorial), ด่างตรงกลางใบ (mericlinial) และด่างบริเวณขอบใบ (periclinial) ซึ่ง Ahloowalia and Maluszynski (2001) รายงานว่า ในกระบวนการตรวจสอบการกลายพันธุ์ของชิ้นส่วนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้เร็วกว่าชิ้นส่วนพืชใน

สภาพปกติ ทั้งนี้โดยกระบวนการย้ายชิ้นส่วนนั้นหลาย ๆ ครั้ง อาจพบลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ในรุ่นที่ V_3-V_4 (*in vitro_3* – *in vitro_4*) ธีัญญาพร (2547) พบว่าภายหลังจุ่มแช่ในดูลา แคลลัสหน้าวุ้นในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.75 % นาน 90 นาที ส่งผลให้ต้นหน้าวุ้นในรุ่น M1R 2 เกิดรูปร่าง ผิดปกติ คือ ใบติดกันเป็นจีบและใบบิดเบี้ยว และที่ความเข้มข้น 1 % นาน 90 นาที เกิดใบต่างบางส่วน ต่างการจัดกระจาย และต่างทั้งใบ Wongsawad *et al.* (2005) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในชวนชมโดยแช่ เมล็ดในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.3% นาน 2 ชั่วโมงทำให้ใบมีรูปร่างผิดปกติ และมีเส้นกลางใบ 2 เส้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Koh and Davies (2001) ที่พบว่า ภายหลังการจุ่มแช่เมล็ดของ *Tillandsia fasciculata* ในสารละลาย EMS เข้มข้น 1.2% (ปริมาตร/ ปริมาตร) นาน 22 ชั่วโมง แล้วนำมาเพาะเลี้ยง พบว่าต้น ใหม่ที่ได้มีอาการต่าง ทั้ง sectorial chimera และ mericlinal chimera แต่จากการศึกษาครั้งนี้ พบ ลักษณะ ที่ผิดปกติไป 4 ลักษณะ คือ ลักษณะต้นเผือกใบต่างเป็น บางส่วนใบ, ต่างตรงกลางใบ และต่างบริเวณขอบใบ ซึ่ง ลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้จะต้องทำการศึกษาต่อไป โดย ทำการตรวจสอบในระดับโปรตีนหรือดีเอ็นเอเพื่อเป็นการ ยืนยันผลว่าลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้ได้เกิดการกลาย พันธุ์ที่แตกต่างไปจากต้นเดิมซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการ ปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต

การตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยใช้เทคนิคไอโซไซม์ซึ่งในการศึกษานี้ใช้ระบบเอนไซม์ 2 ระบบ คือ PER และ EST พบว่า เมื่อย้อมสีด้วยระบบเอนไซม์ PER ไม่พบ การติดสีของแถบเอนไซม์ แต่เมื่อย้อมสีด้วยระบบเอนไซม์ EST แผ่นเจลให้การติดสีที่ดีที่สุด สามารถใช้เอนไซม์ระบบ EST แยกความแตกต่างระหว่างลักษณะที่ผิดปกติทั้ง 4 ลักษณะ กับชุดควบคุมได้ เช่นเดียวกับศิริลักษณ์ และ คณะ (2549) ได้ศึกษาเปรียบเทียบแบบแผนไอโซไซม์เพื่อ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในเอื้องสายสามสี และเอื้องสายแฉ่งโดยใช้ระบบเอนไซม์ 8 ระบบ คือ DIA, MDH, GOT, ME, SKD, POX, EST และ SOD พบว่า เอนไซม์ระบบ EST สามารถแสดงแบบแผนไอโซไซม์ที่ แตกต่างกันระหว่างเอื้องสายสามสีและเอื้องสายแฉ่งได้ดี ที่สุด ธีัญญาพร (2547) รายงานเช่นเดียวกันว่า เอนไซม์

ระบบ EST สามารถแยกลักษณะที่ผิดปกติของต้นหน้าวุ้น ที่ได้จากการทรีต EMS ได้ทั้ง 3 ลักษณะ คือ ใบต่าง บางส่วน ต่างการจัดกระจาย และต่างทั้งใบ ปนัย (2547) ใช้เอนไซม์ระบบ EST ในการตรวจสอบลักษณะที่ผิดปกติ ของหน้าวุ้นพันธุ์เซเนตที่ได้จากการจุ่มแช่ชิ้นส่วนข้อในสาร ละลาย EMS พบว่า เอนไซม์ระบบ EST สามารถแยก ความแตกต่างระหว่างลักษณะที่ผิดปกติที่เกิดจากการจุ่ม แช่ EMS กับไม่จุ่มแช่ EMS ได้ เช่นเดียวกับเครือมาศ (2547) ใช้เอนไซม์ระบบ EST ในการตรวจสอบความผัน แปรของนมตำเลียที่เกิดจากการจุ่มแช่ชิ้นส่วนข้อใน สารละลาย EMS พบว่า เอนไซม์ระบบ EST สามารถแยก ความแตกต่างระหว่างทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่กับไม่จุ่มแช่ EMS ได้

สรุป

การจุ่มแช่ PLBs กล้วยไม้เหลืองจินทบูรในสาร ละลาย EMS ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันคือ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1% เป็นเวลา 60 และ 90 นาที มีผลทำให้ PLBs มีสีซีดลงไปจากเดิมในทุกระดับความเข้มข้น ยกเว้นชุด ควบคุม และที่ความเข้มข้น 0.8% นาน 90 นาที ให้อัตรา การรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 2 เดือน พบว่า PLBs กล้วยไม้เหลืองจินทบูรที่ไม่จุ่มแช่ใน สารละลาย EMS ให้อัตราการสร้างยอดสูงสุดคือ 15% ในขณะที่ทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความ เข้มข้น 0.75 และ 1% ให้อัตราการสร้างยอดต่ำสุดคือ 2% เมื่อพิจารณาจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน พบว่า ทรีต เมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 1% นาน 90 นาที ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนสูงสุดคือ 12 ยอด ต่อชิ้นส่วน ภายหลังย้ายเพื่อชักนำให้เกิด PLBs ชุดใหม่ ครั้งที่ 2 (M1R2) พบว่า ที่ EMS ความเข้มข้น 1% นาน 60 นาที เกิดลักษณะผิดปกติ คือ เกิดลักษณะต้นเผือก 10% และที่ความเข้มข้น 1% นาน 90 นาที เกิดอาการใบต่าง 3 ลักษณะ คือ ต่างบางส่วนของใบ (sectorial) ต่างตรงกลาง ใบ (mericlinal) และ ต่างบริเวณขอบใบ (periclinal) เป็น จำนวน 5, 15 และ 11% ตามลำดับ เมื่อนำลักษณะที่ ผิดปกติไปตรวจสอบการกลายพันธุ์ด้วยเทคนิคไอโซไซม์ พบว่า สีย้อมระบบเอนไซม์เอสเตอเรส ให้การติดสีและการ

กระจายตัวของแถบเอนไซม์ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยในชุดควบคุมมีรูปแบบเอนไซม์ 4 โซน คือ EST1, EST2, EST3 และ EST4 แต่ในโซน EST3 มีแถบเอนไซม์เพียง 3 แถบ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่มีลักษณะใบต่างเป็นบางส่วนของใบ ต่างตรงกลางใบ และต่างบริเวณขอบใบ มีรูปแบบเอนไซม์ 4 โซน คือ EST1, EST2, EST3 และ EST4 โดยที่ EST3 มี 4 แถบเอนไซม์ ส่วนลักษณะต้นเผือก มีรูปแบบเอนไซม์ 4 โซน คือ EST1, EST 2, EST3 และ EST4 โดยที่ EST3 มี 2 แถบเอนไซม์

เอกสารอ้างอิง

- เครือมาศ รอดบน. 2547. ผลของอีเอ็มเอสต่อการเจริญและการผันแปรของนมตำเลียในหลอดทดลอง. รายงานการฝึกงานภาคสนามพืชศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 25 หน้า
- ธัญญาพร สุสานนท์. 2547. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในหน้าวัว (*Anthurium* spp.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 57 หน้า.
- ปณัย เรืองสังข์. 2547. ผลของ EMS และ Colchicine ต่ออัตราการรอดชีวิตและการเพิ่มชุดโครโมโซมของข้อหน้าวัวพันธุ์โชเนต. รายงานการฝึกงานภาคสนามพืชศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 20 หน้า.
- วชิรพงศ์ หวลบุตรตา. 2548. คู่มือคนรักต้นไม้: กล้วยไม้ไทย. สำนักพิมพ์บ้านและสวน, กรุงเทพฯ. 96 หน้า.
- วัชรินทร์ ชินกวิน และ กัณยารัตน์ สุไพบุลย์วัฒน. 2548. การทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายที่ชักนำให้กลายพันธุ์และเกิดการแปรปรวนสายพันธุ์ผ่านโปรโตพลาสต์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 10 หน้า.
- ศิริลักษณ์ อินทวงค์ วิวัฒน์ บัณฑิตย์ ณัฐา ควรประเสริฐ และ พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์. 2549. การเปรียบเทียบแบบแผนไอโซไซม์และเครื่องหมายอาร์เอพีดีเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในเอื้องสายสามสีและเอื้องสายแข็ง. วารสารสงขลานครินทร์ วท. 28(3): 531-537.
- สมปอง เตชะโต. 2541. การชักนำการกลายพันธุ์ในมังคุด: การตรวจสอบความเข้มข้นของสิ่งก่อกลายพันธุ์ต่อความสามารถในการสร้างแคลลัส. วารสารแก่นเกษตร 26: 184-194.
- สมปอง เตชะโต และ วิทยา พรหมมี. 2542. การชักนำการกลายพันธุ์ในมังคุด: ผลของสิ่งก่อกลายพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี และเนื้อเยื่อวิทยา. วารสารสงขลานครินทร์ วท. 21: 17-24.
- สกุลรัตน์ แสนปตะวงศ์. 2548. เทคนิคการแยกและการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์จากใบกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 71 หน้า.
- สำนักงานทางหลวงชนบทจังหวัดจันทบุรี. 2547. ราชมงคลรักษ์เหลืองจันทร์ ครั้งที่ 6. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.dor.go.th/~chanburi/news/detail.php?No=3> (25 มิถุนายน 2550).
- Ahloowalia, B.S. and M. Maluszynski. 2001. Induced mutations - a new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118: 167-173.
- Arditti, J. and R. Ernst. 1993. Micropropagation of Orchids. John Wiley and Sons, Inc., New York. 682 pp.
- Bhagwat, B. and E. J. Duncan. 1998. Mutation breeding of banana cv. Highgate (*Musa* spp., AAA group) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using chemical mutagens. *Scientia Horticulturae* 73: 11-22.
- Koh, Y.C. and F.T. Davies. 2001. Mutagenesis and *in vitro* culture of *Tillandsia fasciculata* Swartz var. *fasciculata* (Bromeliaceae). *Scientia Horticulturae* 87: 225-240.
- Nuamjaroen, P. 1998. Ethylmethanesulphonate induced variation and somaclonal variation of Safflower (*Carthamus tinctorius* Linn.)

- tissue culture. M.Sc. Thesis. Chulalongkorn University, Bangkok. 112 pp.
- Sanchez, M.I. 1988. Micropropagation of *Cyrtopodium* (Orchidaceae) through root tip culture. *Lindleyana* 3: 93-96.
- Singh, K. P., B. Singh, S. P. S. Raghava and C. S. Kalia. 2000. Induced flower colour mutations in carnation through *in vitro* application of chemical mutagen. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 60: 535-539.
- Wongsawad, P., C. Wongsawad, S. Mahadtanapuk, S. Kantawong, P. Chariyavidhawatt and T. Paratasilpin. 2005. Mutation in rice using ethyl methanesulphonate. Paper presented at 31st Congress on Science and Technology of Thailand, 18-20 October 2005, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima.
-

JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 24 No. 2 June 2008

Chromosome Investigation of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie and *Malaxis latifolia* J. E. Sm.

Amornphan Fupunya and Chuntana Suwanthada.....81

Isozyme Pattern Investigation of *Geodorum* spp.

Amonrat Thongsan, Chuntana Suwanthada and Pornrat Sirikhum.....87

Morphology of *Spathoglottis pubescens* Lindl.

Boonpiyatida Klongklew and Chuntana Suwanthada.....93

Histological Study on Flower Bud Development of *Phaius tankervilleae* (Banks ex l' Heriter) Blume

Watcharaporn Chanaken and Pimchai Apavatjirut.....99

Yield Comparison of Java Apple cv. 'Thabthimchan' in 4 Training Systems with High Density Planting
in Two Bearing Years

Kawit Wanichkul, Phanom Sutthisaksopon and Phethai Kanchanakesorn.....107

Use of Nutrient Balance for Improving Fruit Yield and Quality of Tangerine (*Citrus reticulata* Blanco)

cv. Sainampung: II. Assessment of Appropriate Tangerine-leaf Sampling Position for Nutrient Analysis

Pavinee Chanvichit, Tavatchai Radanachaless and Nantarat Supakamnerd.....117

Effects of Washing Agents on Shelf-life and Postharvest Qualities of Lime

Krissanachai Klodpeng, Tanachai Pankasemsuk and Maneechat Nikornpun.....125

Effects of Potassium Chlorate on Cytokinin-like Substance Contents in Leaf and Shoot During

Flower Bud Induction of Air-layered Longan cv. Daw

Sawaman Wijarn and Tanachai Pankasemsuk.....133

Effect of Ultraviolet-C (UV-C) on Mutation of Gloxinia (*Sinningia speciosa*)

Yupaporn Sirisom and Sompong Te-chato.....141

Use of EMS to Induce Mutation in *Dendrobium fredericksianum* Rchb.f.

Sirinya Muangsorn and Sompong Te-chato.....153

ISSN 0857-0841