

การคัดเลือกสายพันธุ์ทับทิมและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อขยายพันธุ์ปลูกในประเทศไทย

Variety Selection of Pomegranate and Micropropagation for Cultivation in Thailand

วีระศรี เมฆตรง¹, ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์¹, สมศักดิ์ รุ่งอรุณ², นวลปรารงค์ ไชยตะขบ^{1,*}
ทัตไฉน จารุวัฒน์พันธ์³, สานิตย์ นิรพาธ⁴, วันเพ็ญ ศรีแก้ว⁴, ชยาญู ไชยประสพ⁴

¹ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

²สถานีวิจัยดอยปู่ย ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เชียงใหม่ 50200

³ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

⁴สถานีเกษตรหลวงปางดะ มูลนิธิโครงการหลวง เชียงใหม่ 50250

Weerasri Mektrong¹, Narongchai Pipattanawong¹, Somsak Rungaroon²,
Nuanprang Chaitakhob^{1,*}, Tassanai Jaruwattanaphan³, Sanit Nirapath⁴, Wanpen Srikaew⁴,
Chaya Chaiprasop⁴

¹Agricultural Research and Technology Transfer Center, Faculty of Agriculture
Kasetsart University, Bangkok 10900

²DoiPui Research Station, Agricultural Research and Technology Transfer Center, Faculty of Agriculture,
Kasetsart University, ChiangMai 50200

³Department of Horticultural, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

⁴Royal Agricultural Station Pangda, Royal Project Foundation, Chiang Mai 50250

Received 29 December 2022; Received in revised 5 July 2023; Accepted 12 July 2023

บทคัดย่อ

การคัดเลือกต้นพันธุ์ทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดีย ประเทศอิสราเอล ประเทศโครเอเชีย และประเทศสเปน และขยายพันธุ์จากต้นแม่พันธุ์ที่คัดเลือกแล้วด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ผลการศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2560 - เดือนกันยายน 2562 พบว่าสายพันธุ์จากประเทศอิสราเอล ประเทศโครเอเชีย และประเทศสเปน ยังไม่สามารถคัดเลือกได้เนื่องจากไม่มีการพัฒนาเข้าสู่ระยะการเจริญพันธุ์ การคัดเลือกต้นพันธุ์สายพันธุ์จากประเทศอินเดีย จากข้อมูลลักษณะทางกายภาพ (เจริญเติบโตดี, ติดดอกจำนวนมาก) และคุณภาพของผล (ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำ, สีน้ือ) คัดเลือกต้นพันธุ์ได้จำนวน 8 เบอร์ สำหรับใช้เป็นต้นแม่ในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้นที่คัดเลือก แบ่งเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของสีเนื้อ คือ กลุ่มที่มีเนื้อสีชมพู และกลุ่มที่มีเนื้อสีแดง โดยมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS; °Brix) อยู่ในช่วง 13.0 - 14.0

ข้อมูลลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นแม่พันธุ์ที่คัดเลือกได้ พบว่า ทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดียทั้ง 8 เบอร์ มีลักษณะสัณฐานวิทยาของใบเหมือนกันกล่าวคือ ใบเป็นรูปใบหอกกลับ ฐานใบเป็นรูปลิ้ม ปลายใบดิ่งแหลม ขอบใบเรียบ และแผ่นใบคล้ายกระดาษ ในขณะที่ความกว้างใบของหมายเลข I-17 และ I-18 มีค่าสูงกว่าเบอร์อื่น และ I-18 มีค่าความยาวเฉลี่ยใบสูงที่สุดเท่ากับ 54.32 มิลลิเมตร และสีของใบอยู่ในกลุ่มสีเขียว เมื่อพิจารณาลักษณะของกลีบดอก พบว่าพืชสร้างดอกที่บริเวณซอกใบ สีสกลีบดอกอยู่ในกลุ่มสีส้ม และขนาดเฉลี่ยของกลีบดอกค่อนข้างมีความแปรผันสูง เนื่องจากทับทิมเป็นพืชที่ทยอยสร้างดอก

การขยายพันธุ์ทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดียจากต้นแม่พันธุ์ที่คัดเลือกด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าในการเพิ่มจำนวนยอด อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L มีผลทำให้มีการแตกยอดใหม่ มีจำนวนข้อ และความสูงเพิ่มขึ้นสูงที่สุด ในการชักนำการเกิดราก พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25 mg/L มีการเกิดราก 65.63 - 96.88 เปอร์เซ็นต์ มีรากจำนวน 2-3 รากต่อต้น ความยาวเฉลี่ย 1-2 เซนติเมตร เมื่อออกปลูกทดสอบที่สถานีเกษตรหลวงปางดะและสถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลด พบว่า ที่อายุ 2 เดือนหลังย้ายปลูกลงแปลง ต้นกล้ามีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 พื้นที่ปลูก

คำสำคัญ: ทับทิม; การคัดเลือก; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

The selection of pomegranate plants from Indian, Israeli, Croatian, and Spanish fruits was continuously performed and micropropagation of those selected plants was investigated. The study was performed between October 2017 and September 2019. The results showed that the plants of Israeli, Croatian, and Spanish pomegranates could be grown in the highlands of Thailand, however, they failed to progress to the reproductive growth stage. Therefore, they were discarded. Only Indian pomegranate plants were selected. The physical characteristics (growth and flowering) and fruit qualities (total soluble solid: TSS, and aril color) were considerable for Indian pomegranate selection, and 8 plants were chosen. Those selected Indian pomegranates could be divided into 2 groups: pink and red aril with TSS in the range of 13.0-14.0 °Brix.

The botanical characteristics of selected plants revealed that those morphological leaves were similar; leaf shape is oblanceolate, leaf base is cuneate, leaf apex is apiculate, leaf is entire, and leaf texture is chartaceous. The leaf of I-17 and I-18 were wider than others. In addition, I-18 has the highest leaf length of 54.32 mm. The flower forms at the leaf axil. The petals are orange, and petal sizes varied because the flowers were gradually formed.

The selected Indian pomegranate plants were propagated using the plant tissue culture techniques. The highest number of shoots, number of nodes, and shoot height were observed on MS medium supplemented with 2 mg/L BA. Rooting percentages of 65.63-96.88, with 2-3 roots measuring 1-2 cm in length, occurred on MS medium supplemented with 0.25 mg/L NAA. The rooted plantlets of Indian pomegranate were transplanted at Pang-Da Royal Agricultural Station and Mae-Lod Royal Agricultural Research Station. A survival rate of 100% was found after transplantation for 2 months.

Keywords: Pomegranate; Selection; Tissue culture

1. บทนำ

ทับทิม (*Punica granatum* L.) ชื่อสามัญ ภาษาอังกฤษว่า pomegranate อยู่ในตระกูล Lythraceae เป็นผลไม้เก่าแก่ซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองของเปอร์เซีย มีถิ่นกำเนิดในประเทศอิหร่าน จากนั้นกระจายไปยังอัฟกานิสถาน ปากีสถานและอินเดียและกระจายต่อไปยังประเทศจีน เมดิเตอร์เรเนียน และประเทศอื่นๆ เช่น อเมริกา มีการปลูกมากในประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน เพื่อการรับประทาน ได้แก่ ประเทศตุนิเซีย ตุรเคีย อิสราเอล สเปน อิหร่าน และอินเดีย และขยายไปยังอเมริกา จีน ญี่ปุ่น เป็นต้น และยังมีการปลูกเป็นไม้ประดับในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ด้วย [1] โดยประเทศอินเดียเป็นแหล่งปลูกทับทิมที่สำคัญของโลก เป็นผลไม้ที่มีศักยภาพพืชหนึ่งเนื่องจากมีคุณสมบัติและใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ผลทับทิมอุดมด้วยคุณค่าทางอาหารและยา ผลที่มีคุณภาพถูกนำไปใช้ประโยชน์ทั้งผลสดและผลิตภัณฑ์แปรรูป และยังคงใช้เป็นสีย้อมธรรมชาติได้ด้วย พบบิแนร์ธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น มีโพลีฟีนอลมาก โดยเฉพาะ ellagic acid และ punicalgins ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพ โดย ellagic acid ถูกพบอยู่ในเยื่อหุ้มเมล็ด (aril) สีแดง นอกเหนือจากผลเบอร์รี่สีแดง [1; 2] ผลทับทิมมีลักษณะกลม ผิวเกลี้ยง คล้ายหนังหรือเปลือก ส่วนใหญ่สีเหลืองเคลือบด้วยสีชมพูหรือแดงบ้าง ส่วนที่นำมารับประทานอยู่ด้านในเรียกว่าเยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งเจริญมาจากก้านออวูล (funiculus) แล้วคลุมเมล็ดหรือบางส่วนของเมล็ดไว้ ใช้รับประทานสดหรือแปรรูปเป็นไซรัป น้ำผลไม้ แยม เยลลี่ ไวน์ น้ำส้มสายชู และผลไม้กวนแผ่น นอกจากนี้ยังใช้เพิ่มรสชาติและสีในเครื่องดื่ม [3] ลักษณะผลที่เหมาะสมกับการบริโภคผลสดควรเป็นพันธุ์ที่มีเมล็ดนิ่ม (soft seed) สามารถเคี้ยวกลืนได้โดยไม่ต้องคายเมล็ดทิ้ง ขนาดผลใหญ่ การออกดอกติดผลดี ส่วนพันธุ์ที่มีความเหมาะสมกับการแปรรูปเป็นน้ำผลไม้ จะมีรสเปรี้ยว เมล็ดแข็ง เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง

เลือดนกหรือแดงเข้ม [4] สำหรับทับทิมที่วางจำหน่ายเป็นการค้าในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากหลายประเทศ เช่น อินเดีย อิสราเอล และสเปน ซึ่งคุณลักษณะของสายพันธุ์ที่ต้องการของผู้บริโภคคือ เนื้อสีแดงจัด หนา เมล็ดเล็กและนิ่ม รสไม่ฝาด มีคุณภาพในการรับประทานสดดีกว่าพันธุ์พื้นเมือง

ทับทิมสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี สามารถเจริญเติบโตได้ในดินหลายประเภท โดยดินที่ปลูกควรมีการระบายน้ำดี เจริญเติบโตได้หลายสภาพอากาศ ในหุบเขาจนถึงที่สูง 1,800 เมตร เป็นไม้พุ่มผลัดใบในเขตอบอุ่น แต่ภายใต้เขตร้อนและกึ่งร้อน ต้นเขียวตลอดปีหรือผลัดใบบางส่วนขึ้นอยู่กับพันธุ์ อุณหภูมิที่ทนอยู่ได้ อยู่ระหว่าง -12 ถึง 44 องศาเซลเซียส [1] การขยายพันธุ์ของทับทิมทำได้โดยการเพาะเมล็ด แต่ก็มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำและได้ต้นกล้าที่มีลักษณะต้นแตกต่างกัน 50-75 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตต่ำ คุณภาพของผลไม่ดี จึงมีการขยายพันธุ์ด้วยปักชำกิ่ง โดยใช้กิ่งแก่อายุ 1 ปี ยาว 20-25 เซนติเมตร หรืออาจใช้กิ่งอ่อนที่จุ่มฮอร์โมน IBA และปลูกในที่มีการพ่นหมอก [1; 2] นอกจากนี้อาจใช้การตอน ทาบกิ่ง ดิดดา โดยเวลาประมาณ 90 วัน อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็เป็นวิธีขยายพันธุ์วิธีหนึ่งที่ปราศจากโรค ได้ต้นที่มีการเจริญเติบโตสม่ำเสมอ การออกดอกและผลเก็บเกี่ยวในเวลาใกล้เคียงกัน [1]

ดังนั้นทับทิม จึงเป็นอีกพืชหนึ่งที่สามารถเป็นแนวทางสร้างรายได้เพิ่มให้แก่เกษตรกร โดยเฉพาะทับทิมเมล็ดนิ่ม ซึ่งเป็นที่นิยมของผู้บริโภค แต่มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคัดเลือกต้นที่สามารถเจริญเติบโตได้ดี ให้ผลผลิตได้ สำหรับใช้เป็นต้นพันธุ์เพื่อขยายส่งเสริมให้เกษตรกรต่อไป วิธีขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชให้ มีลักษณะดีตรงตามพันธุ์ และมีจำนวนต้นปริมาณมาก รวมทั้งต้นพันธุ์ที่ได้ยังปลอดโรคและมีขนาดต้นสม่ำเสมออีกด้วย การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกต้นที่

มีลักษณะที่ดีจากต้นเพาะเมล็ดของทับทิมเมล็ดนิ่มสายพันธุ์จากต่างประเทศและขยายต้นพันธุ์ที่คัดเลือกได้เพื่อผลิตต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพดีจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การคัดเลือกต้นพันธุ์ทับทิม

ต้นพันธุ์จากการเพาะเมล็ดของทับทิมเมล็ดนิ่มจาก 4 ประเทศ ได้แก่ อินเดีย (180 ต้น) อิสราเอล (200 ต้น) โครเอเชีย (250 ต้น) สเปน (180 ต้น) อายุประมาณ 3 ปี ปลูก ณ สถานีวิจัยเกษตรหลวงปางดะ ในปี พ.ศ. 2560 ซึ่งมีลักษณะเป็นพื้นที่ลาดชัน ตั้งอยู่ในหุบเขา อยู่สูงจากระดับน้ำทะเล 720 เมตรจากระดับทะเลปานกลาง อุณหภูมิเฉลี่ยทั้งปี 23.0 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุด 35.00 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุด 9.5 องศาเซลเซียสในเดือนธันวาคม ปริมาณน้ำฝนทั้งปี 1,863.20 มิลลิเมตร (<http://www.royalprojectthailand.com/station-pangda>, 30 พฤศจิกายน 2565) [5] ในปี พ.ศ. 2561 คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีจากสายพันธุ์ของแต่ละประเทศให้ได้จำนวน 25 ต้น โดยพิจารณาจากการแตกกิ่งก้านดี ไม่แคระแกรน ทนโรคและแมลง มีการออกดอกติดผล จากนั้นคัดเลือกต้นพันธุ์ครั้งที่ 2 ให้ได้ต้นพันธุ์ที่มีลักษณะดี ให้เหลือสายพันธุ์ละ 5 ต้น ในปี พ.ศ. 2562 สำหรับใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ บันทึกข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดีย (เนื่องจากมีการออกดอกติดผลจนสามารถเก็บเกี่ยวผลได้) ได้แก่ ลักษณะใบ (ความกว้าง และความยาว) รูปร่างใบ ฐานใบ เนื้อใบ แผ่นใบ ขอบใบ สีใบ โดยศึกษาจากใบที่เจริญเติบโตเต็มที่จำนวน 20 ใบต่อต้น และลักษณะบางประการของดอก

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อ

ใช้ส่วนยอดของกิ่งทับทิม ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ของสายพันธุ์จากประเทศอินเดียที่คัดเลือกแล้วจำนวน 8 เบอร์ ห่อด้วยกระดาษและแช่น้ำแข็งให้ยู่

ในสภาพสด นำกลับมาห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ณ สถานีวิจัยดอยปู่ย จังหวัดเชียงใหม่ ล้างทำความสะอาดด้วยสบู่ ตัดใบทั้งหมดออก ตัดเป็นท่อน ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำชิ้นส่วนมาฟอกฆ่าเชื้อภายนอก ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ที่เติม tween 20 จำนวน 3 หยด แช่เป็นเวลา 20 นาที แล้วแช่ชิ้นส่วนในสารเมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ววางบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog) วางขวดเนื้อเยื่อไว้ที่อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสงความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 เดือน สังเกตการเจริญเติบโตและการปนเปื้อน จากนั้นในเบื้องต้นนำยอดทับทิมที่ได้และมีจำนวนข้อ 2-3 ข้อ เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.25 mg/L อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25 mg/L และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L วางขวดเนื้อเยื่อไว้ที่อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 1 เดือน บันทึกข้อมูลการชักนำยอด ได้แก่ จำนวนยอด จำนวนข้อ จำนวนราก และความยาวราก ทำ 5 ซ้ำๆ ละ 1 ชุดๆ ละ 4 ชิ้นส่วน

2.2.2 การเพิ่มจำนวนยอดทับทิม

ใช้ปลายยอดจากข้อของชิ้นส่วนจาก 2.2.1 ความยาว 1.5 เซนติเมตร ที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่เติมและเติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L วางขวดเนื้อเยื่อไว้ที่อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 1 เดือน บันทึกข้อมูลการชักนำยอด ได้แก่ จำนวนยอด ความสูงยอด และจำนวนข้อ ทำ 5 ซ้ำๆ ละ 1 ชุดๆ ละ 4 ชิ้นส่วน

2.2.3 การชักนำให้เกิดราก

นำปลายยอดทาบทิมของกิ่งที่เกิดจากข้อของต้นที่ได้จาก 2.2.2 ความยาว 1.5 เซนติเมตร (มีจำนวนข้อ 2-3 ข้อ) เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25 mg/l วางขวดเนื้อเยื่อไว้ในอุณหภูมิ 24±1 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 1 เดือน บันทึกข้อมูลการชักนำราก ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เกิดราก จำนวนราก ความยาวราก จำนวนข้อ และความยาวยอด ทำ 5 ซ้ำๆ ละ 1 ขวดๆ ละ 4 ซีนส่วน

2.2.4 การย้ายปลูกลงทาบทิมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในโรงเรือน

นำต้นเนื้อเยื่อทาบทิมที่มีรากสมบูรณ์มาย้ายปลูกลงในโรงเรือน โดยล้างรากด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ปลูกลงบนถาดเพาะที่บรรจุด้วยพีทมอส รดน้ำให้ชุ่ม คลุมถาดด้วยถุงพลาสติกใส มัดปากให้แน่นเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำถุงพลาสติกออก ย้ายปลูกลงถุงดำขนาด 6x8 นิ้ว วัสดุปลูกเป็น ดิน แกลบดำ ขุยมะพร้าว มูลวัวป่น และแกลบดิบ อัตราส่วน 1:1:1:0.5:0.5 แล้วรดน้ำทุกวัน เป็นเวลา 1 เดือน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต แล้วบันทึกการเจริญเติบโตทางลำต้น ได้แก่ ความสูง จำนวนกิ่งและจำนวนข้อ จำนวน 25 ต้น ตั้งแต่วันที่ 19 กันยายน 2562 ถึง 25 พฤษภาคม 2563 จากนั้นนำออกปลูกทดสอบที่สถานีเกษตรหลวงปางดะและสถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลด เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 สูตรอาหารด้วยวิธี t-test ในการเพิ่มจำนวนยอด ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การคัดเลือกต้นพันธุ์ทาบทิม

คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีของต้นพันธุ์จากประเทศอินเดีย ประเทศอิสราเอล ประเทศโครเอเชีย และประเทศสเปน จากแปลงรวบรวมพันธุ์ของสถานีเกษตรหลวงปางดะ โดยคัดเลือกไว้พันธุ์ละ 25 ต้น ลักษณะที่ใช้คัดเลือกคือ ไม่ทิ้งใบ มีทรงพุ่มขนาดใหญ่ ติดดอก ทั้งนี้เนื่องจากในแปลงรวมพันธุ์พบปัญหาที่เห็นได้ชัดเจนคือ ในช่วงเดือนพฤศจิกายนที่เริ่มเข้าทำงานทดลอง พบว่าต้นพันธุ์ส่วนใหญ่ใบร่วง ยกเว้นต้นพันธุ์จากประเทศอินเดีย มีใบร่วงน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับอีก 3 พันธุ์มีอาการใบร่วงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งบางต้นใบไม่ร่วงหมดยังเหลือมีใบแก่อยู่ช่วงปลายกิ่ง ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2560 พบว่าอยู่ในระยะแตกใบใหม่ แต่ละพันธุ์มีอัตราการแตกใบใหม่ได้ต่างกัน (เกณฑ์ในการบันทึกคือ 0 - 70 เปอร์เซ็นต์) พันธุ์จากประเทศอิสราเอลมีแนวโน้มว่าจะแตกใบใหม่ได้ช้ากว่าพันธุ์จากประเทศโครเอเชีย และพันธุ์จากประเทศสเปน ตามลำดับ

คัดเลือกต้นปี 2561 เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในช่วงเดือนเดียวกัน คือเดือนมีนาคม 2561 และเดือนมีนาคม 2562 พบว่าพันธุ์จากประเทศอินเดีย เจริญเติบโต มีการติดดอก 23 ต้นและส่วนใหญ่ดอกสามารถพัฒนาไปเป็นผลที่สมบูรณ์ได้จนถึงระยะเก็บเกี่ยวซึ่งอยู่ในช่วงเดือนสิงหาคม - กันยายน พ.ศ. 2561 พันธุ์จากประเทศอิสราเอล ประเทศโครเอเชีย และประเทศสเปน มีการเจริญเติบโตมากขึ้น ตามอายุต้นที่มากขึ้น ทั้งในเรื่องของความสูงต้นและปริมาณใบที่แตกใหม่ แต่ยังไม่พบการติดดอก

พันธุ์จากประเทศอินเดีย จากข้อมูลลักษณะทางกายภาพ (เจริญเติบโตดี, ติดดอกจำนวนมาก) และคุณภาพของผล (ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำ, สีเนื้อ) นำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกต้นพันธุ์ครั้งที่ 2 (ปี 2561) ไว้จำนวน 8 เบอร์ โดยมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS; °Brix) อยู่ในช่วง 13.0 - 14.0 และสามารถ แบ่งเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของสีเนื้อ คือ

กลุ่มที่มีเนื้อสีชมพู ได้แก่ I-7 และ I-18 และกลุ่มที่มีเนื้อสีแดง ได้แก่ I-4, I-6, I-17 และ I-19 (Table 1) สำหรับใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป การศึกษาลักษณะต่างๆ ทางลำต้นและคุณภาพของผลของพันธุ์ทับทิมพันธุ์ต่างๆ มีรายงานแล้ว ดังเช่น สุรินทร์ และคณะ [4] ทำการศึกษาพัฒนาพันธุ์ทับทิมเพื่อการบริโภคผลสดและแปรรูป ได้แก่ ลูกผสมของพันธุ์อติชัย ของพันธุ์ยูท่าห์สวีท และของพันธุ์ทองปลูกไว้ในสถานีวิจัยโครงการหลวงขุนห้วยแห่งที่ระดับความสูง 1,200 เมตร และที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ ที่ความสูง 700 เมตร เริ่มออกดอกในเดือนกุมภาพันธ์ จากต้นอายุ 2 ปี 10 เดือน มีการออกดอกชุดแรกในบางพันธุ์ เก็บเกี่ยวผลผลิตบางส่วนในเดือนมิถุนายน โดยจำนวนผลที่พัฒนามีไม่มาก ผลที่มีน้ำหนักมากที่สุดเท่ากับ 298 กรัม ผลที่มีขนาดใหญ่จะให้น้ำหนักเมล็ดมากด้วย เปลือกบาง น้ำหนักเบา มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 11.60 บริกซ์ บางพันธุ์มีค่าสูง 13.07 บริกซ์ มีเมล็ดค่อนข้างแข็ง แต่ทับทิมสำหรับการบริโภคผลสดควรมีลักษณะเมล็ดนิ่มหรือกึ่งนิ่ม อย่างไรก็ตามยังไม่มีหลักเกณฑ์ในการกำหนดความนิ่มของเมล็ด ต้นทับทิมพันธุ์ลูกผสมดังกล่าว มีการเจริญเติบโตเช่นเดียวกันทั้งสองแหล่งปลูกทดสอบ Bhagat et al. [3] ทำการศึกษาคุณภาพของผลทับทิมจำนวน 26 สายพันธุ์ เป็นเวลา 6 ปี พบว่า ทับทิมที่ปลูกในประเทศอินเดียสามารถจำแนกแยกได้จากรูปร่างของผล สีและความหนาของเปลือก สีของเยื่อหุ้มเมล็ด ความนิ่มของเมล็ด และรสชาติ โดย TSS มีค่าตั้งแต่ 11.2-17.4 เปอร์เซ็นต์ ขนาดผลมีน้ำหนักผล 118.0-244.6 กรัม เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีขาวชมพู และแดง โดยผลที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวถึงชมพูอ่อนจะมีค่า TSS 13.212 และน้ำหนักผล 184.637 กรัม และผลที่มี เยื่อหุ้มเมล็ดสีชมพูถึงแดง จะมีค่า TSS 13.730 และน้ำหนักผล 163.937 กรัม ทับทิมที่ปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่มีเยื่อหุ้มเมล็ด สีชมพูหรือแดง เนื่องจากมีสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งเป็นลักษณะที่ต้องการ การปรับปรุงคุณภาพของผลผลิต นอกจาก

พันธุ์ต่างๆ แล้วยังมีวิธีการอื่นจะทำให้เหมาะสมสำหรับการรับประทานหรือการแปรรูป เช่น การใช้สารเอทิฟอน การตัดแต่งดอกและผลอ่อน เพื่อให้ได้ผลคุณภาพดีและสม่ำเสมอ เป็นต้น โดยลักษณะของผลที่ไม่เป็นที่ต้องการ ได้แก่ การแตกของผล เยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีดำเนื่องจากการแตกภายในผล ผลเขียว ผลเป็นจุด ผลเน่า [1]

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบทับทิม ได้แก่ ลักษณะใบ (ความกว้าง และความยาว) รูปร่างใบ ฐานใบ เนื้อใบ แผ่นใบ ขอบใบ สีใบ โดยบันทึกจากใบที่เจริญเติบโตเต็มที่จำนวน 20 ใบต่อต้น และลักษณะบางประการของดอก พบว่า ทับทิมพันธุ์จากประเทศอินเดีย ต้นที่คัดเลือกไว้เบอร์ I-4, I-5, I-6, I-7, I-14, I-17, I-18 และ I-19 มีลักษณะสัณฐานวิทยาของใบเหมือนกันทุกเบอร์ กล่าวคือ รูปร่างใบเป็นรูปใบหอกกลับ ฐานใบเป็นรูปลิ้น ปลายใบติ่งแหลม ขอบใบเรียบ และแผ่นใบคล้ายกระดาษ ในขณะที่ความกว้างใบเฉลี่ยของหมายเลข I-17 และ I-18 มีค่าสูงกว่าเบอร์อื่น (16.26 และ 16.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ) และ I-18 มีค่าความยาวเฉลี่ยใบสูงที่สุดเท่ากับ 54.32 มิลลิเมตร และสีของใบอยู่ในกลุ่มสีเขียว

นอกจากนี้ จากการทดลองพบว่า ต้นทับทิมที่ปลูกสร้างดอกที่บริเวณซอกใบเช่นเดียวกันทั้งหมด สีสกลีบดอกอยู่ในกลุ่มสีส้ม (Figure 1) ขนาดเฉลี่ยของกลีบดอกค่อนข้างมีความแปรผันสูงเนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่างดอกในระยะเดียวกันได้ทั้งหมดเพราะทับทิมเป็นพืชที่ทยอยสร้างดอกและบางส่วนเริ่มมีการติดผลแล้ว

การเจริญเติบโตทางลำต้นของทับทิมมีระยะอย่างน้อย 1 ปี จึงออกดอก โดยออกดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือช่อกระจุก (cymose) เกิดในซอกใบ หรืออาจพบที่ปลายยอดบ้าง ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ลักษณะดอกมี 2 ชนิด คือดอกที่ทำหน้าที่เป็นดอกเพศเมีย มีรูปร่างคล้ายระฆัง เป็นดอกที่มีรังไข่สามารถพัฒนาเป็นผลได้ และดอกที่ทำหน้าที่เป็นดอกเพศผู้ มีลักษณะคล้ายทรงแจกัน (Figure 2) [4] ในเขตร้อน ดอกสามารถทยอยเกิดได้ตลอดปี ส่วนในเขตกึ่งร้อน ต้นจะมีการพักตัว จะเกิดดอก

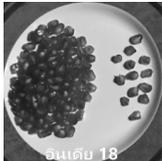
เพียงครั้งเดียวในปี ในพันธุ์ที่เป็นไม้ประดับจะเกิดดอกได้ถึง 3 ครั้งต่อปี ส่วนในเขตอบอุ่น การออกดอก 1 ครั้งในปี หรืออาจออกปีเว้นปี การออกดอกสามารถกระตุ้นได้ด้วยการฉีดพ่นฮอร์โมนที่เหมาะสม หลังจากใบร่วง 2-4 เดือน [1] ส่วน Melgarejo et al. [6] อธิบายลักษณะการเจริญเติบโตของต้นทับทิมพันธุ์ Mollar de Elche ซึ่งปลูกในประเทศสเปน ตามรูปแบบ BBCH โดยใช้ระบบตัวเลขตั้งแต่ระยะตายอดพักตัว (bud in winter dormancy) จนกระทั่งระยะใบร่วง (leaf fall) โดยมีระยะเวลา 498 วัน ทั้งนี้ระยะเวลาตั้งแต่ตายอดพักตัวและระยะแตกตาถึงระยะออกดอกใช้เวลา 219 และ 158 วัน ตามลำดับ ตั้งแต่ออกดอกจนกลีบดอกร่วง ใช้

เวลา 25 วัน และตั้งแต่ระยะออกดอก และติดผลจนถึงผลสุกแก่ ใช้เวลา 174 และ 142 วัน ตามลำดับ ผลเก็บเกี่ยวได้ประมาณ 135-180 วันหลังดอกบาน ส่วนปลายผลกลีบโค้งงอเข้า แข็งและแห้งเป็นระยะแก่ของผล การคัดเกรดของผลทำเพื่อการจำหน่ายในประเทศและส่งออก โดยผลที่ส่งออกจะมีขนาดน้ำหนัก ตั้งแต่ 300 ถึงมากกว่า 750 กรัม และที่จำหน่ายในประเทศอินเดีย มีน้ำหนักน้อยกว่า 300 กรัม การแปรรูปทำได้ในรูปแบบน้ำผลไม้ ไวน์ ไซรัป การส่งออก สามารถส่งไปยังตะวันออกกลาง เช่น ซาอุดีอาระเบีย กาตาร์ คูเวต และยุโรป เช่น เนเธอร์แลนด์ เยอรมันนี และอังกฤษ เป็นต้น [1]

Table 1 Characteristics of selected Indian pomegranates.

Plant no.	Aril colors	TSS (*Brix)	Plant growth	Aril and seed
I-4	red	14.0		
I-5	N/A	N/A		
I-6	red	14.0		
I-7	pink	13.6		
I-14	N/A	N/A		

Table 1 Characteristics of selected Indian pomegranates (Conts).

Plant no.	Aril colors	TSS (°Brix)	Plant growth	Aril and seed
I-17	red	14.0		
I-18	pink	13.0		
I-19	red	13.0		

N/A = Not available



Figure 1 Flowers and young fruits of selected Indian pomegranates number I-4 (scale bar = 3 cm).



Figure 2 Flowers of selected pomegranates: A) inflorescence, B) vase shaped flower, C) bell shaped flower, and D) pollinated flower.

3.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

หลังจากที่พอกฆ่าเชื้อภายนอกยอดทับทิมและนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่า มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียสูง และยอดทับทิมมีการเจริญเติบโตช้า เมื่อได้จำนวนยอดจากข้อที่เพียงพอจึงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์โดยการทดลองเบื้องต้นด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA, IBA และ BA เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ทับทิมแต่ละเบอร์มีการตอบสนองต่อ PGRs คล้ายกัน คือมีการเกิดรากในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25 mg/L โดยที่อัตราการเกิดรากของทับทิมอยู่ระหว่าง 60-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ย

0.37 ราก ความยาวรากเฉลี่ย 0.55 เซนติเมตร และมีจำนวนข้อเฉลี่ย 1.95 ข้อ และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.25 mg/L มีจำนวนรากเฉลี่ย 0.22 ราก ความยาวรากเฉลี่ย 0.16 เซนติเมตร และมีจำนวนข้อเฉลี่ย 1.97 ข้อ ส่วนต้นทับทิมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L ไม่ออกรากเลย แต่จะมีการเจริญเติบโตของยอดแทน จึงใช้อาหารสูตรนี้ในการเพิ่มปริมาณยอด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.80 ยอด ขณะที่อาหารสูตร NAA และ IBA มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.63 และ 3.52 ยอดตามลำดับ (Table 2)

Table 2 Shoot proliferation and rooting from nodal segments of selected Indian pomegranate.

MS medium with	Shoot number per plant	Node number per plant	Root number per plant	Root length (cm)
0.25 mg/L NAA	3.63b ^{1/}	1.95	0.37a	0.55a
0.25 mg/L IBA	3.52b	1.97	0.22a	0.16b
2.0 mg/L BA	5.80a	1.12	0.00b	0.00c
F-test	*	ns	*	*
CV (%)	32.33	39.96	33.85	36.83

^{1/} Means within column followed by the same letters were not significantly different at $P < 0.05$ level

Ns = non significantly different, * = significantly different ($p < 0.05$)

ในการทดลองสูตรอาหารเพิ่มจำนวนยอดทับทิมพบว่า ยอดทับทิมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS มีการเจริญเติบโตน้อยมาก จำนวนยอดไม่เพิ่มขึ้น ส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L ทับทิมมีการแตกยอดใหม่ จำนวนข้อ และความสูงเพิ่มขึ้นมากกว่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เพียงอย่างเดียว (Table 3) ทับทิมสามารถเกิดรากได้ในการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25 mg/L ในเวลา 1 เดือน พบว่า ทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดียทุกเบอร์ที่คัดเลือกไว้มีการตอบสนองต่ออาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA โดยมีอัตราการเกิดราก 65.63 - 96.88 เปอร์เซ็นต์ มีรากจำนวนเฉลี่ย 1.59-2.53 รากต่อต้น

ความยาวเฉลี่ย 0.93-1.31 เซนติเมตร ความสูงยอดเฉลี่ย 1.60-3.00 เซนติเมตร และมีจำนวนข้อเฉลี่ย 3.22-3.91 ข้อ (Table 4) หลังจากเพาะเลี้ยงต้นเนื้อเยื่อทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดียจำนวน 8 เบอร์ เป็นเวลา 1 เดือน จนมีรากสมบูรณ์ จึงนำมาย้ายปลูกลงในโรงเรือน พบว่า ต้นทับทิมมีอัตราการรอดชีวิตสูงเท่ากับ 90 - 100 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 1 เดือนหลังย้ายปลูกลงงูดำ และมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นเพิ่มขึ้น ได้แก่ ความสูง จำนวนกิ่ง และจำนวนข้อ ในระยะเวลา 8 เดือน (Figure 3) และเมื่อนำไปปลูกทดสอบในแปลงปลูกสถานีเกษตรหลวงปางตะและสถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลอด เป็นเวลา 2 เดือน ต้นทับทิมมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

Table 3 Shoot proliferation from nodal segments of selected Indian pomegranate.

Plant number	Shoot number per plant ^{1/}		Node number per plant [*]		Shoot length (cm) [*]	
	MS+BA 2 mg/L	MS	MS+BA 2 mg/L	MS	MS+BA 2 mg/L	MS
I-4	2.35 ± 1.14	1.00 ± 0.00	1.80 ± 0.41	1.00	1.98 ± 0.73	1.52 ± 0.02
I-5	2.40 ± 0.63	1.10 ± 0.10	3.55 ± 0.51	1.00	3.91 ± 1.04	1.50 ± 0.00
I-6	2.81 ± 1.87	1.20 ± 0.20	2.56 ± 1.37	1.00	2.82 ± 1.24	1.61 ± 0.11
I-7	2.70 ± 1.23	1.15 ± 0.15	2.30 ± 0.51	1.00	2.53 ± 1.02	1.55 ± 0.05
I-14	3.45 ± 0.94	1.25 ± 0.25	2.45 ± 1.04	1.00	2.70 ± 1.10	1.58 ± 0.08
I-17	2.30 ± 0.89	1.00 ± 0.00	2.20 ± 0.37	1.00	2.42 ± 0.69	1.65 ± 0.15
I-18	2.30 ± 0.82	1.00 ± 0.00	3.05 ± 0.37	1.00	3.36 ± 0.82	1.71 ± 0.21
I-19	1.75 ± 0.39	1.05 ± 0.05	2.35 ± 0.57	1.00	2.59 ± 0.78	1.59 ± 0.09

^{1/}Mean ± SD; * = significantly different (p<0.05)

Singh et al. (2010) [2] อธิบายว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเริ่มจากการคัดเลือกต้นพันธุ์ที่มีลักษณะดีหรือเมล็ดที่ดี ปราศจากโรคและแมลง โดยใช้ส่วนของพืชเป็นตาที่มีเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ส่วนของข้อสำหรับทับทิม การใช้ปลายยอด ตาข้างหรือส่วนของข้อเป็นส่วนของพืชที่ถูกใช้นำมาใช้อย่างกว้างขวางมากที่สุด

ปลายยอดของต้นที่ปลูกลงในแปลงก็สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและประสบความสำเร็จมากเช่นเดียวกับต้นในโรงเรือนเพาะชำ ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทับทิมจัดได้ว่ามีความยากระดับปานกลางเนื่องจากพบสารประกอบฟีนอลิกสูงจนทำให้อาหารเป็นสีน้ำตาล ต้นพืชมีเนื้อร้ายและปนเปื้อนจุลินทรีย์ ส่วน Pal et al. [1] อธิบายว่า

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัตถ์สามารถใช้ต้นพันธุ์จากส่วนของต้น ใบ ใบเลี้ยง ส่วนใต้ใบเลี้ยง และเอมบริโอ หรือ อับเรณู กลีบดอก แต่พบว่า ส่วนของพืชที่แก่จะทำให้เกิดส่วนที่เป็นสีน้ำตาลของตัวอย่างพืชและอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นปัญหาต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การใช้ส่วนของปลายยอดและข้อสามารถใช้ในการขยายพันธุ์ได้โดยเติม BAP ความเข้มข้น 1.0 mg/L และ NAA ความเข้มข้น 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดต้นได้จากตาข้างเช่นเดียวกับตายอด และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ด้วยการจุ่มใน IBA ความเข้มข้น 200-500 mg/L แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีออกซิน นอกจากนี้ยังมีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัตถ์พันธุ์ Ganesh ที่ปลูกในประเทศอินเดีย โดยใช้ส่วนกิ่งที่มีข้อของต้นที่โตเต็มที่แล้ว พบว่ามีการพัฒนาของยอดมากที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่มี zeatin riboside (ZR) ความเข้มข้น 2.0 mg/L แต่ยอดที่ได้ไม่มีการยืดยาวขึ้นจึงย้ายยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ลดความเข้มข้นของ ZR ลง ส่วน BA (benzyladenine) และ TZD (thidiazuton) ให้ประสิทธิภาพการแตกยอดน้อยกว่า และทำให้เกิดรากได้ถึง 86 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MS ความเข้มข้นครึ่งเท่า หรือ ½ MS (half strength) ที่มี IBA (indole-3-butyric acid) ความเข้มข้น 1.0 mg/L จากนั้นย้ายต้นที่ออกรากแล้วไปยังอาหารที่เติมออกซินแล้วจึงย้ายออกจากขวดเพื่อลงดินต่อไป [7] ส่วนหัตถ์พันธุ์ Males Yazdi ซึ่งเป็นพันธุ์ของประเทศอิหร่าน โดยใช้ส่วนปลายยอดและและยอดจากข้อ เปรียบเทียบสูตรอาหาร WPM (Woody Plant Medium) และ MS พบว่า WPM เป็นสูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพมากกว่า MS และเมื่อเติมไคเนติน (kinetin) ที่ความเข้มข้น 9.2 µM จะทำให้จำนวนยอดต่อต้น ความยาวยอด และจำนวนใบมากที่สุด

ที่สุด ส่วนการเกิดรากใช้สูตรอาหาร WPM ความเข้มข้นครึ่งเท่า ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 5.4 µM มีประสิทธิภาพทำให้เกิดรากมากที่สุด ต้นที่เกิดรากแล้วสามารถย้ายปลูกลงดินได้ และเป็นต้นปลอดโรค [8] สำหรับหัตถ์พันธุ์ Malas Saveh และ Yusef Khani ซึ่งเป็นพันธุ์ของประเทศอิหร่าน โดยใช้ส่วนปลายยอดและและยอดจากข้อ เปรียบเทียบสูตรอาหาร WPM และ MS พบว่า WPM เป็นสูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพมากกว่า MS และเมื่อเติมไคเนติน (kinetin) สำหรับพันธุ์ Malas Saveh และ Yusef Khani ที่ความเข้มข้น 4.7 และ 9.2 µM จะทำให้จำนวนยอดต่อต้น ความยาวยอด และจำนวนใบมากที่สุด ส่วนการเกิดรากใช้สูตรอาหาร WPM ครึ่งหนึ่ง ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 5.4 µM มีประสิทธิภาพทำให้เกิดรากมากที่สุด ต้นที่เกิดรากแล้วสามารถย้ายปลูกลงดินได้ ซึ่งการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้ได้ต้นที่มีความสม่ำเสมอ มีลักษณะการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน และมีลักษณะเหมือนต้นแม่ [9] Singh and Petal [10] รายงานว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 mg/L kinetin ความเข้มข้น 1.0 mg/L และ adenine sulphate ความเข้มข้น 40 mg/L สามารถชักนำให้มีจำนวนยอดและความยาวยอดสูงที่สุด โดยช่วงความเข้มแสงที่เหมาะสมคือ 3,000 Lux และ pH ของสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ 5.8 และในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหัตถ์ พันธุ์ Manfalouty และ Nab El-gamal ในอาหารสูตร MS, NN และ WPM พบว่าการใช้ BA ความเข้มข้น 1.0 mg/L สามารถเพิ่มอัตราการเพิ่มจำนวนยอดได้สูงที่สุดในระยะชักนำการเกิดราก NAA และ IBA ความเข้มข้น 0.25 mg/L สามารถชักนำการเกิดรากได้ดี แต่ต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับพันธุ์ [11]

Table 4 Root induction of the in vitro formed shoots of selected Indian pomegranate on MS medium supplemented with 0.25 mg/L NAA.

Plant numbers	Rooting (%)	Root number per plant	Root length (cm)	Node number	Shoot length (cm)
I-4	84.38b	2.25ab	1.20	3.25	2.20bc
I-5	75.00bc	2.22ab	1.30	3.72	3.00a
I-6	96.88a	2.25ab	1.31	3.50	2.65ab
I-7	65.63c	2.03ab	0.99	3.56	2.63ab
I-14	65.63c	1.59b	1.17	3.72	1.92cd
I-17	81.25b	2.25ab	0.93	3.22	2.33bc
I-18	78.13bc	2.00ab	1.07	3.91	1.60d
I-19	87.50ab	2.53a	1.18	3.38	2.64ab
Mean	79.30	2.14	1.14	3.53	2.37
F-test	*	*	ns	ns	*
CV (%)	29.86	31.96	37.91	17.09	21.14

^{1/} Means in the same column followed by a common letter were not significantly different at P < 0.05 level
 ns = non significantly different, * = significantly different (p≤0.05)

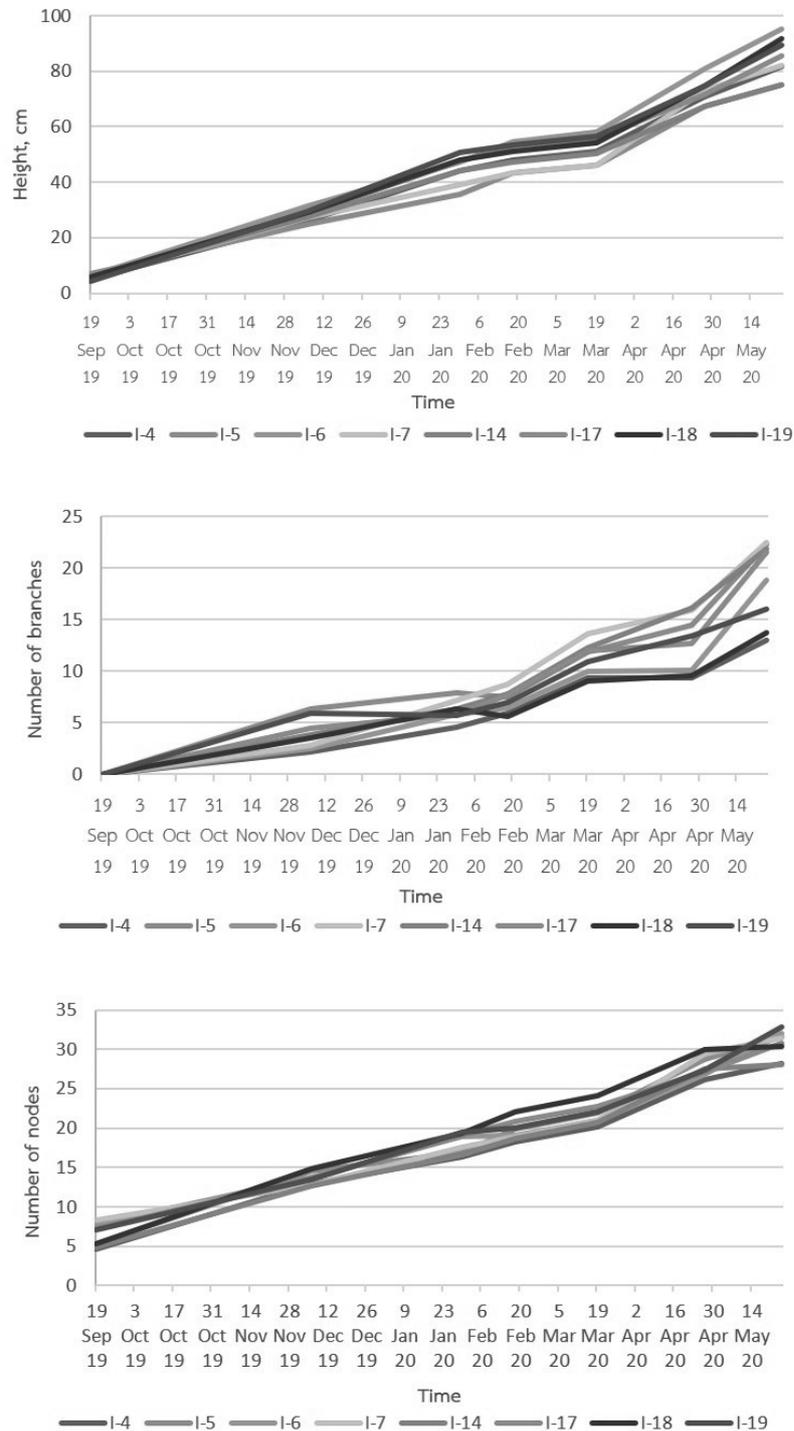


Figure 3 Height, number of branches and number of nodes of selected Indian pomegranates under greenhouse condition.

4. สรุป

1. สามารถคัดเลือกต้นพันธุ์ทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดีย โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของสีเนื้อ คือ กลุ่มที่มีเนื้อสีชมพู และกลุ่มที่มีเนื้อสีแดง โดยมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS; °Brix) อยู่ในช่วง 13.0 - 14.0

2. ทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดียทั้ง 8 เบอร์ มีลักษณะสัณฐานวิทยาของใบเหมือนกันกล่าวคือ ใบเป็นรูปใบหอกกลับ ฐานใบเป็นรูปลิ้น ปลายใบตั้งแหลม ขอบใบเรียบ และแผ่นใบคล้ายกระดาษ สีของใบอยู่ในกลุ่มสีเขียว สร้างดอกที่บริเวณซอกใบ สีกลิบดอกอยู่ในกลุ่มสีส้ม และขนาดเฉลี่ยของกลีบดอกค่อนข้างมีความแปรผันสูงเนื่องจากทับทิมเป็นพืชที่ทยอยสร้างดอก

3. การขยายพันธุ์ทับทิมสายพันธุ์จากประเทศอินเดียด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในการเพิ่มจำนวนยอด อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L สามารถชักนำให้ข้อมีการพัฒนาเป็นยอดใหม่ มีจำนวนข้อและความสูงเพิ่มขึ้นสูงสุด ส่วนการชักนำให้เกิดรากอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25 mg/L มีสามารถชักนำให้เกิดราก 65.63 - 96.88 เปอร์เซ็นต์ มีรากจำนวนเฉลี่ย 1.59-2.53 รากต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.93-1.31 เซนติเมตร หลังจากย้ายปลูกในโรงเรือนเพาะชำมีการรอดชีวิตสูงเท่ากับ 90 - 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อปลูกทดสอบในแปลงปลูกสถานีเกษตรหลวงปางดะและสถานีวิจัยโครงการหลวงแม่หลดต้นทับทิมมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเนื่องจากมีระยะเวลาจำกัด จึงควรมีการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตที่ปลูกในประเทศไทย รวมทั้งศึกษาสายพันธุ์ต่างๆ ให้มากขึ้น รวมทั้งการต้านทานโรค การแปรรูป การปลูกในแปลงใหญ่ การส่งเสริม การเกษตรกรรม วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว อาหารปลอดภัยและการจัดการสารตกค้างเพื่อการส่งออก และอื่นๆ เพื่อส่งเสริมการปลูกทับทิมต่อไปในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวงที่ให้ทุนอุดหนุนวิจัยในครั้งนี้

6. References

- [1] Pal, R.K., Babu K.D., Singh N.V., Maity A. and Gaikwad N., 2014, Pomegranate research in India - status and future challenges. *Progressive Horticulture* 46(2): 184-201.
- [2] Singh, S.K., Singh A., Singh N.V. and Ramajayam D., 2010, Pomegranate tissue culture and biotechnology. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 35-44.
- [3] Bhagat, S.K., Kherwar D. and Usha K., 2014, Diversity in fruit characteristics of pomegranate (*Punica granatum L.*). *Progressive Horticulture* 46(2): 248-253.
- [4] Nilsamranichit, S., Thongtham M.L.C., Mana K. and Chaiprasop C., 2001, Development research on the varietal improvement of pomegranate (*Punica granatum*) for fresh and processing products, Research Report, Royal Project Foundation, Chiang Mai, 97 p. (in Thai)
- [5] Royal Projection foundation, Available Source: <http://www.royalprojectthailand.com/station-pangda>, November 30, 2022. (in Thai)
- [6] Melgarejo, P., Martinez-valero R., Guilla-món J.M., Miró M. and Amorós A., 1997, Phenological stages of the pomegranate tree (*Punica granatum L.*). *Ann. Appl. Biol.* 130: 135-140.

- [7]. Naik, S.K., Patt nail S. and Chand P.K., 1999, *In vitro* propagation of pomegranate (*Punica granatum L. cv. Ganesh*) through axillary shoot proliferation from nodal segments of mature tree. *Scientia Horticulturae* 79: 175-183.
- [8] ValizadehKaji, B., Ershadi A. and Tohidfar M., 2013, *In vitro* propagation of pomegranate (*Punica granatum L.*) cv. 'Males Yazdi'. *Albanian J. Agric. Sci.* 12(1): 1-5.
- [9] ValizadehKaji, B., Ershadi A. and Tohidfar M., 2013, *In vitro* propagation of two Iranian commercial pomegranates (*Punica granatum L.*) cvs. 'Malas Saveh' and 'Yusef Khani'. *Physiol Mol Biol Plants* 19940: 597-603.
- [10] Singh, P and Patel R.M., 2014, Factors influencing *in vitro* growth and shoot multiplication of pomegranate. *The Bioscan.*, 9(3): 1031-1035.
- [11] Samir, Z., El-Agamy Rafat, Mostafa A.A., Mokhtar M. Shaaban and Marwa T. El-Mahdy., 2009, *In vitro* propagation of Manfalouty and Nab El-gamal pomegranate cultivars. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 5(6): 1169-1175.