รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

แผนงานวิจัย แผนบูรณาการวิจัยและพัฒนาพืชสวนสร้างรายได้เพื่อความมั่นคงและยั่งยืน

โครงการวิจัย ศึกษาศักยภาพการผลิตมะละกอจากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการค้า (โครงการวิจัยเดี่ยว)

กิจกรรม เปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของมะละกอที่ปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการปลูกจากเมล็ดพันธุ์ดี

ชื่อการทดลอง เปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของมะละกอที่ปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการปลูกจากเมล็ดพันธุ์ดี

ชื่อการทดลอง Comparison of yield and quality of papaya grown from tissue culture and seedling plant

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นายธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์ สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผู้ร่วมงาน

นางสาวณัฐรดา โสพิลา	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
นายพฤกษ์ คงสวัสดิ์	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
นางสาวประภาพร ฉันทานุมัติ	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
นางนิตยา คงสวัสดิ์	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
นางปราณี เถาว์โท	สังกัด ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

บทคัดย่อ

ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ดำเนินการศึกษาศักยภาพการผลิตมะละกอจากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการค้า เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตต้นพันธุ์มะละกอพันธุ์ดีของกรมวิชาการเกษตรด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำสู่การผลิตมะละกอพันธุ์ดีในเชิงการค้า การเตรียมชิ้นส่วนพืชโดยนำตาข้างจากต้นพันธุ์ดี มีลักษณะตรงตามพันธุ์ ในสภาพแปลงปลูกที่ให้ผลผลิตแล้ว เป็นต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดมะละกอสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้แตกตาข้าง นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมาของมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล จำนวน 62, 61 และ 33 ชิ้น ตามลำดับ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. ต่อลิตร นาน 2

เดือน พบว่า พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล มีการเกิดยอด จำนวน 100, 200 และ 50 ยอด มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลให้มะละกอทั้ง 3 พันธุ์ เกิดความเสียหายร้อยละ 100 จึงได้ปรับปรุงกระบวนการฟอกชิ้นส่วนพืชใหม่ เพื่อหาวิธีการที่จะให้ได้เนื้อเยื่อที่ปลอดจากเชื้อโรค โดยนำเมล็ดจากต้นพันธุ์คัดเลือกพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย มาเพาะและปลูกลงกระถางในสภาพโรงเรือน เมื่อมะละกอเริ่มออกดอก อายุประมาณ 6-7 เดือนหลังปลูก คัดต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้ต้นมะละกอแตกตาข้าง นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมาตัดแต่งชิ้นส่วนที่ไม่ต้องการออก เหลือเฉพาะตาข้างมาเพาะเลี้ยงตามขั้นตอนเพิ่มปริมาณต้นบนอาหาร พบว่า มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 90 แต่ยังมีเชื้อแบคทีเรียแฝงอยู่ และพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $NaH_2PO_4H_2O$ 170 มก.ต่อลิตร เหมาะสำหรับมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ มีการตอบสนองต่ออาหารสูตรนี้ได้ดี เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 20 ขวด และนำไปขยายเพิ่มปริมาณได้ 150 ขวด (ขวดละ 4 ยอด) และพันธุ์ปลักไม้ลายสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น แต่ยอดที่ได้มีความผิดปกติ ใบมีอาการฉ่ำน้ำ ทำให้ไม่เจริญเติบโต

Abstract

Si Sa Ket Horticultural Research Center had conducted on study of potential papaya production for commercial through tissue culture. The development of method could offer mass propagation for commercial of good papaya varieties of the Department of Agriculture. Lateral buds of field grown mature plants with good characteristics, fruit production and hermaphrodrite were cut for one meter high from stem base to produce lateral buds. After budding, the first to fourth node from apical shoots were cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg NAA, 0.5 mg BA. The nodes from ‘Khaek Dam Si Sa Ket’, ‘Pluk Mai Lai’ and ‘Khaek Nuan’ were 62, 61 and 33 pieces, respectively. After two months, shoot multiplication of ‘Khaek Dam Si Sa Ket’, ‘Pluk Mai Lai’ and ‘Khaek Nuan’ were found 100, 200 and 50 shoots, respectively. Bacterial contamination affected all three varieties shoots and damaged 100 percent of plantlets. The new sterile technique was developed for contamination free. Seeds from selected plant of ‘Khaek Dam Si Sa Ket’ and ‘Pluk Mai Lai’ were sawed and potted in the greenhouse. After six to seven months planting, papaya produced flowers and hermaphrodrite plants were cut for one meter high to produce lateral buds. The first to fourth node from lateral buds were cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg NAA, 0.5 mg BA, 80 mg Adenine sulfate and 170 mg NaH_2PO_4. It was found that the bacterial contamination was reduced 90 percent in ‘Khaek Dam Si Sa Ket’ but still found latent bacteria. The result revealed that this media was suitable for ‘Khaek Dam Si Sa Ket’, Its produced three shoots per

piece. Twenty bottles without contamination could be multiplied for 150 bottles (4 shoots per bottle). Multiplication shoots were 3 per piece in 'Pluk Mai Lai'. The shoots were abnormal and the leaves were succulent. They could not growth.

คำนำ

มะละกอ (*Carica papaya* L.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการผลิตมะละกอได้เป็นอันดับ 8 ของโลก มีปริมาณผลผลิต 212,000 ตัน มูลค่า1,925 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2553 และ 2554 มีปริมาณการส่งออกมะละกอสด 630 และ 995 ตัน มูลค่า 27 และ 50 ล้านบาท ตามลำดับ (สิริกุล, 2557) การผลิตมะละกอของไทยเริ่มมีการปรับเปลี่ยนเป็นการปลูกเพื่อการค้ามากขึ้น รัชนี (2546) มะละกอที่ปลูกด้วยเมล็ดจะพบต้นตัวเมีย ต้นตัวผู้ และต้นกระเทย มีความแปรปรวนของสายพันธุ์ ทั้งในเรื่องความอ่อนแอต่อโรคและคุณภาพของผล การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะสามารถขยายต้นพันธุ์ดีได้ในปริมาณมากและตรงตามพันธุ์ เกษตรกรไม่ต้องลงทุนดูแลต้นมะละกอหลายต้นก่อนการตัดเพื่อคัดเลือกเพศ ทำให้ประหยัดต้น พันธุ์และค่าปฏิบัติดูแลอย่างมาก ในต่างประเทศมักจะพัฒนาพันธุ์มะละกอควบคู่กับการขยายพันธุ์โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์ลูกผสมที่ได้ เพื่อลดขั้นตอนในการสร้างพันธุ์แท้ที่ต้องใช้เวลานานไม่น้อยกว่า 7- 8 ปี (Unknown, 2009) และมีการปลูกมะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอในเชิงการค้ามากขึ้น เช่น เรดเลดี้ (RED LADY) Taiwan 786 (ลูกผสมเบอร์ 786) (นิรนาม, 2558) ในประเทศไทยเริ่มมีการผลิตมะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ มะละกอพันธุ์ Taiwan 786 จำหน่ายที่ราคาต้นละ 75 บาท ซึ่งเกษตรกรมีความต้องการสูงมากและยังไม่เพียงพอ

รัชนี (2546) ได้ศึกษาวิธีการผลิตมะละกอแขกดำท่าพระคุณภาพโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า อาหารสูตร MS สามารถเพิ่มปริมาณต้นมะละกอได้มากที่สุดได้ต้นเฉลี่ย 15.40 ต้นต่อยอด และเป็นอาหารสูตรชักนำให้ออกรากมากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายมากที่สุด Rajeevan (1983) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของมะละกอพันธุ์ Coorg Honey Dew พบว่าอาหารสูตร MS เติม NAA 0.5 – 10 μm และ ไคนีติน 25–50 μm. เติม BA 2 μm เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอด อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิด

รากดีที่สุด คือ อาหารสูตร MS เติม Indole butyric acid (IBA) 10 μm Saker (1999) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของมะละกอพันธุ์ Hony Dew พบว่า อาหารสูตร MS เติม Naphthalene acetic acid (NAA) 0.5 มก. ต่อลิตร เติม benzyle adenine (BA) 0.5 มก. ต่อลิตร เติมน้ำตาล 50 กรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 20.0±0.95 ยอด และเกิดรากยาว 4.00±0.25 เซนติเมตร และอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากดีที่สุด คือ อาหารสูตร MS เติม NAA 2 มก. ต่อลิตร หรือ Indole butyric acid (IBA) 0.6 มก. ต่อลิตร เติม adenine sulfate 60 มก. ต่อลิตร เกิดราก 75% มีความยาวรากถึง 3.15 เซนติเมตร Reuveni (1990) ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของมะละกอจากต้นสมบูรณ์เพศในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA 0.5 มก. ต่อลิตร และ NAA 0.1 มก. ต่อลิตร พบว่าอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากดีที่สุด คือ อาหารสูตร MS เติม adenine sulfate 160 มก. ต่อลิตร อาหารชักนำให้ต้นยืดตัว คือ MS เติมไคนีติน 1.0 มก. ต่อลิตร เติม NAA 0.05 มก. ต่อลิตร และก่อนออกปลูกในอาหารสูตร ½ macroelements MS เติม IBA 1.0 มก. ต่อลิตร การปลูกต้นมะละกอเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจจะมีความยุ่งยากในขั้นตอนการผลิตและเตรียมต้นพันธุ์ก่อนปลูกลงแปลงมากกว่าการปลูกจากเมล็ดทั่วไป แต่มีข้อดี คือ ได้ต้นพันธุ์ที่มีขนาดต้นเท่ากัน ผลผลิตมีขนาดและคุณภาพเหมือนกัน ต้นทุนการผลิตอาจลดลงจากการใช้ปุ๋ย สารเคมี และระยะเวลาปลูกที่สั้นลง

ด้วยเหตุนี้ จึงมีความจำเป็นต้องศึกษากระบวนการผลิตต้นกล้ามะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างจริงจัง โดยเฉพาะมะละกอพันธุ์การค้าหลักของไทย คือ พันธุ์แขกดำ พันธุ์แขกนวล และพันธุ์ปลักไม้ลาย เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตต้นพันธุ์มะละกอพันธุ์ดีของกรมวิชาการเกษตรด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำสู่การผลิตมะละกอพันธุ์ดีในเชิงการค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ต้นแม่พันธุ์ มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ พันธุ์ปลักไม้ลาย และพันธุ์แขกนวล
2) สารเคมีและเครื่องแก้ว
3) ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ
4) ชั้นวางขวดทดลองติดตั้งระบบไฟฟ้า
5) หม้อนึ่งความดัน
6) วัสดุการเกษตร เช่น กระถาง ดินผสม ปุ๋ยเคมี

วิธีการ

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของมะละกอที่ปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปลูกจากเมล็ดพันธุ์ดี

1. การเตรียมชิ้นส่วนพืช

1.1 คัดเลือกต้นมะละกอ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล ต้นสมบูรณ์เพศที่มีลักษณะดีเด่นและความทนทานโรคจุดวงแหวน ตัดตาข้างต้นกล้ามะละกอจากปลายยอดจนถึงข้อที่ 4 ตัดใบออก นำมาล้างด้วยน้ำผสมน้ำยาล้างจานและน้ำไหล หลังจากนั้นจุ่มแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาที แล้วฟอกด้วย Clorox 10% และ 5% ผสม Tween 20 1 - 2 หยด นาน 15 และ 5 นาทีตามลำดับ โดยเขย่าขวดเป็นครั้งคราว หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่ง 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนที่ฟอกแล้ว ตัดแต่งส่วนที่ถูก Clorox ทำลายออก ตัดเป็นท่อนๆ แต่ละท่อนจะมีตาข้างที่อยู่บริเวณก้านใบ นำมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

1.2 นำเมล็ดมะละกอจากต้นที่พันธุ์ดี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย ฟอกฆ่าเชื้อและเพาะในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ต้นมะละกอแยกออกเป็น 2 ส่วน คือ ตัดส่วนปลายยอดนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เพื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัสและพัฒนาให้เป็นยอด ส่วนโคนต้นที่ถูกตัดปลายยอดออก เลี้ยงเพื่อให้แตกเป็นยอดอ่อน แล้วตัดยอดนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารและเหลือไว้ 1 ยอด นำออกปลูกอนุบาลในโรงเรือน เมื่อต้นมะละกอพร้อมปลูก ย้ายลงปลูกในกระถางเพื่อรอตรวจสอบเพศ หากเป็นต้นสมบูรณ์เพศ จะนำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใช้เป็นยอดพันธุ์ดีในการเสียบยอดบนต้นตอที่ได้จากการเพาะเมล็ดต่อไป

2. ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS นำวิธีของ รัชนี (2546) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอแขกดำท่าพระมาปรับใช้ โดยนำชิ้นส่วนพืชที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $NaH_2PO_4H_2O$ 170 มก. หลังจากครบ 1 เดือน ย้ายเนื้อเยื่อใส่สูตรเดิมอีกครั้ง แล้วย้ายใส่สูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. และ BA 0.1 มก. ต่อลิตร 1 ครั้ง หลัง จากนั้นย้ายใส่สูตร MS ที่เติม kinetin 0.5 มก. ต่อลิตร เพื่อให้ต้นยืดตัวประมาณ 1 เดือน ย้ายใส่อาหารสูตรออกรากคือ MS ที่เติม IBA 2 มก. ต่อลิตร หลังจากนั้น 5 วัน ย้ายเนื้อเยื่อใส่ในอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนจนออกราก แล้วนำมาเลี้ยงในห้องที่ อุณหภูมิ 25 °C ได้รับแสง 1,500 ลักซ์ จำนวน 16 ชั่วโมงต่อวัน

การบันทึกข้อมูล

1. อัตราการตอบสนองของอาหารแต่ของมะละกอแต่ละพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. ปัญหาที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2560 – กันยายน 2562 ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ปี 2560 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เตรียมชิ้นส่วนพืชโดยนำตาข้างจากต้นพันธุ์ดีในสภาพแปลงปลูก เนื่องจากเป็นต้นที่มีลักษณะพันธุ์ดี ตรงตามพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตแล้ว และเป็นต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดมะละกอสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้แตกตาข้าง นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมาของมะละกอทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล จำนวน 62, 61 และ 33 ชิ้น ตามลำดับ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. ต่อลิตร นาน 2 เดือน พบว่า พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล มีการเกิดยอด จำนวน 100, 200 และ 50 ยอด มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (ภาพผนวกที่ 2 ง) ส่งผลให้มะละกอทั้ง 3 พันธุ์ เกิดความเสียหายร้อยละ 100 ดังตารางที่ 1 การคัดเลือกต้นพันธุ์ดีในสภาพแปลงปลูก พบว่าชิ้นส่วนพืชจากต้นที่คัดเลือกไว้มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียสูง การเตรียมชิ้นส่วนมะละกอเพื่อนำมาใช้ในการเริ่มต้นขยายพันธุ์ ควรดูแลรักษาต้นแม่พันธุ์ให้ปลอดจากเชื้อโรคให้มากที่สุด เนื่องจากมะละกอที่เก็บมาจากแปลงปลูกมีแบคทีเรียแฝงจำนวนมาก และบางครั้งเป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตช้ากว่าจะแสดงอาการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก็ใช้เวลานานกว่า 3 เดือน จึงปรับวิธีการเตรียมต้นแม่พันธุ์ โดยนำเมล็ดมะละกอจากต้นที่คัดเลือก 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย ฟอกฆ่าเชื้อและเพาะในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ต้นมะละกอแยกออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนปลายยอดตัดนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เพื่อกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณยอด ส่วนโคนต้นที่ถูกตัดปลายยอดออก เลี้ยงเพื่อให้แตกเป็นยอดอ่อน แล้วตัดยอดนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารและเหลือไว้ 1 ยอด พบว่า วิธีนี้มีการปนเปื้อนเชื้อราบนเมล็ดที่เพาะบนอาหารและปนเชื้อแบคทีเรียบนยอดที่ตัดนำมาเลี้ยงบนอาหาร ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชไม่สามารถเจริญเติบโตต่อได้

ปี 2561 ได้ปรับวิธีการเตรียมชิ้นส่วนพืชจากต้นแม่พันธุ์ โดยการนำเมล็ดจากต้นพันธุ์คัดเลือก จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย มาเพาะและปลูกลงกระถางในสภาพโรงเรือน มีการปฏิบัติดูแลตามหลักวิชาการ เมื่อมะละกอเริ่มออกดอก อายุประมาณ 6-7 เดือน คัดต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้ต้นมะละกอแตกตาข้าง จากการเพาะมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษทั้งหมด 50 ต้น พบเป็นมะละกอต้นตัวเมีย จำนวน 20 ต้น ต้นสมบูรณ์เพศ (ต้นกะเทย) จำนวน 30 ต้น คิดเป็นสัดส่วนเพศเท่ากับ 2 ต่อ 3 มะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายทั้งหมด 50 ต้น พบมะละกอเป็นต้นตัวเมีย จำนวน 20 ต้น ต้นสมบูรณ์เพศ (ต้นกะเทย) จำนวน 30 ต้น คิดเป็นสัดส่วนเพศเท่ากับ 2 ต่อ 3 นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมา เพาะเลี้ยงตามขั้นตอนเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. ต่อลิตร นาน 2 เดือน พบว่ามะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 50 ซึ่งการเกิดยอดขนาดเล็กของมะละกอทั้ง 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น

การตอบสนองต่อสูตรอาหาร 1/2MS เติม BA 0.5 มก. ต่อลิตร ของมะละกอแต่ละพันธุ์ หลังเลี้ยงบนอาหาร นาน 2 เดือน พบว่า พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ แตกยอด ร้อยละ 0.96 ยังไม่แตกยอด ร้อยละ 20.19 เกิดยอดขนาดเล็ก แต่ใบและยอดมีสีเหลือง สีน้ำตาลและตาย ร้อยละ 78.85 พันธุ์ปลักไม้ลาย เกิดยอดใหม่ ร้อยละ 57.11

เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น ยังไม่แตกยอดและเหลืองตาย ร้อยละ 42.80 ดังตารางที่ 2 และยังพบว่ามะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายมีการแตกยอดหนาแน่นกว่าพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ

ปี 2562 ได้นำยอดมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นแม่พันธุ์ในกระถางที่ปลูกในโรงเรือนจนกระทั่งออกดอกและเลือกชิ้นส่วนจากต้นสมบูรณ์เพศ จำนวน 14 ยอด และตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากยอดลงมาตัดแต่งชิ้นส่วนที่ไม่ต้องการออกเหลือเฉพาะตาข้างมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $NaH_2PO_4H_2O$ 170 มก. ต่อลิตร นาน 2 เดือน พบว่า การใช้ส่วนยอดมะละกอมาเพาะเลี้ยง เกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 100 ส่วนการใช้ชิ้นส่วนตาข้างของมะละกอพันธุ์แขกดำสรีสะเกษ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 90 แต่ยังมีเชื้อแบคทีเรียแฝงอยู่ และพบมีการตอบสนองต่ออาหารสูตรนี้ได้ดี สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ ซึ่งสอดคล้องกับ รัชนี (2546) พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอแขกดำท่าพระด้วยอาหารสูตร MS สามารถเพิ่มปริมาณต้นมะละกอได้มากที่สุด และจากการเตรียมชิ้นส่วนพืชด้วยวิธีนี้เพาะเลี้ยงตามขั้นตอนไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 20 ขวด (20 ชิ้น) และสามารถนำไปขยายเพิ่มปริมาณได้ 150 ขวด ขวดละ 4 ยอด ส่วนมะละกอพันธุ์ปลักไม้ลาย พบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ร้อยละ 50 การใช้ส่วนของยอดประมาณเดือนที่ 3 จะพบอาการชิ้นส่วนพืชมีน้ำเยิ้มออกมา และพบว่ามะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายไม่ตอบสนองต่ออาหารสูตรนี้ โดยยอดที่แตกใหม่จะมีลักษณะผิดปกติ ใบมีอาการฉ่ำน้ำ ทำให้ไม่เจริญเติบโต และเดือนกันยายน 2562 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออยู่ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณต้นและยืดต้น

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ได้วิธีการเตรียมชิ้นส่วนพืชให้ปลอดโรคโดยการนำเมล็ดจากต้นพันธุ์คัดเลือกพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย มาเพาะและปลูกลงกระถางในสภาพโรงเรือน คัดเลือกเพศเมื่อมะละกอเริ่มออกดอก ประมาณ 6-7 เดือนหลังปลูก คัดต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้ต้นมะละกอแตกตาข้าง นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมาตัดแต่งชิ้นส่วนที่ไม่ต้องการออกเหลือเฉพาะตาข้างมาเพาะเลี้ยงตามขั้นตอนเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $NaH_2PO_4H_2O$ 170 มก. ต่อลิตร ซึ่งเหมาะสำหรับมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น และพันธุ์ปลักไม้ลาย เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น สำหรับมะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายและพันธุ์แขกนวลควรศึกษาพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอด และควรศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการผลิตมะละกอจากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการค้าต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้กระบวนการผลิตต้นกล้าที่เหมาะสมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และได้ต้นพันธุ์มะละกอเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อใช้ขยายผลสู่หน่วยงานราชการและเอกชนที่ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะทำงานศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ตลอดจนบุคลากรทุกคนที่ให้ความร่วมมือในการดำเนินงานจนสามารถทำให้งานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2558**.** มะละกอ เรดเลดี้ (RED LADY) มะละกอลูกผสมเบอร์ 786 เป็นพืชแซมในสวนยางพารา. ระบบจัดการความรู้ สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง. สืบค้นจาก: http://km.rubber.co.th/index.php?option=com_content&view=article&id=1762:-red-lady-786-&catid=40:2011-05-11-03-00-30&Itemid=103 (ก.ค. 2558).

รัชนี ศิริยาน วิไลวรรณ ประสาทศรี พุทธปราณี ดีเลิศ. 2546. มะละกอ. เอกสารวิชาการเรื่องเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. พิมพ์ครั้งที่ 1. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. หน้า 116-120.

รัชนี ศิริยาน วิไลวรรณ ประสาทศรี. 2546. ศึกษาวิธีการผลิตมะละกอแขกดำท่าพระคุณภาพโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ผลงานฉบับเต็ม. กรมวิชาการเกษตร.

สิริกุล วะสี. 2557. มะละกอพืชความหวังใหม่ของเกษตรกร. สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สวก.). 32 หน้า

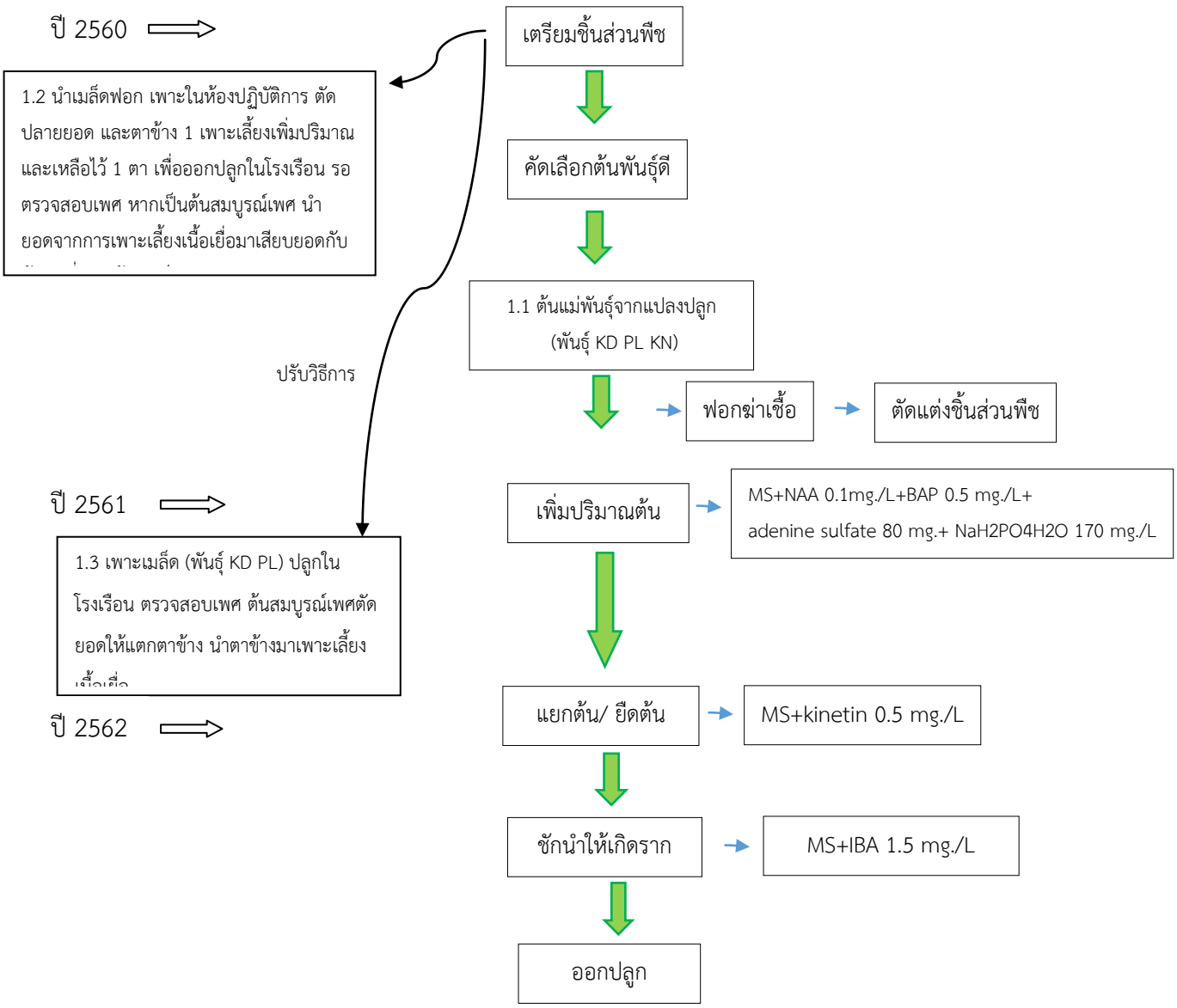
Rajeevan, M.S., and R.M. Pandy. 1983. PROPAGATION OF PAPAYA THROUGH TISSUE CULTUREISHS Acta Hort 131: In Vitro Culture, XXI IHC

Reuveni, O., D.R. Shlesinger, and U. Lavi. 1990. In vitro clonal propagation of dioecious *Carica papaya* Plant Cell, Tissue and Organ Culture. January 1990, Volume 20, Issue 1, pp. 41-46.

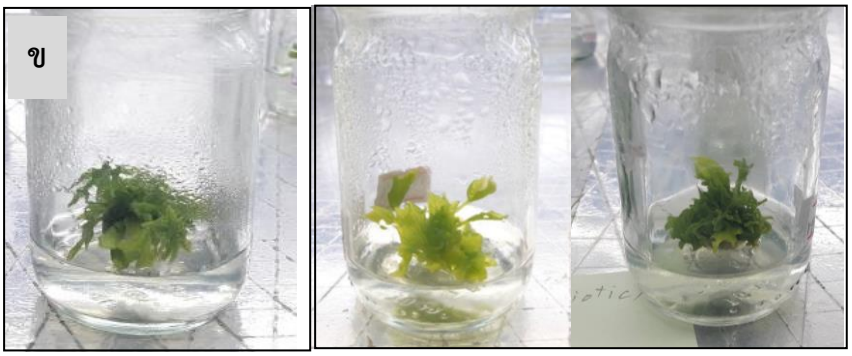
Saker, M.M., S.A. Bekheet, H.S. Taha, and A.A. Reda. 1999. In vitro Propagation of Papaya (*Carica papaya* L.)

Unknown. 2009. Breeding the industry to grow bigger and better. Papaya Australia Annual Industry Report 2008.2009. Horticulture Australia by jlhd32, from http://www.docstoc.com/docs/104460759/Papaya---Horticulture-Australia

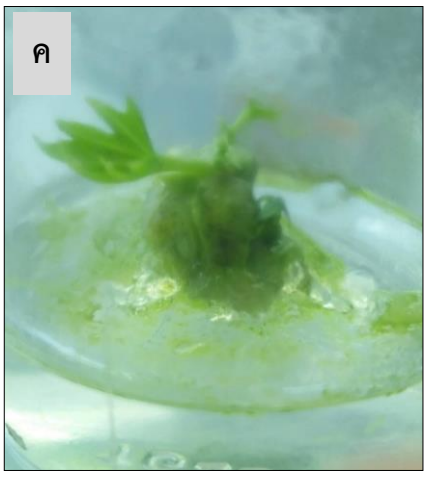
ภาคผนวก

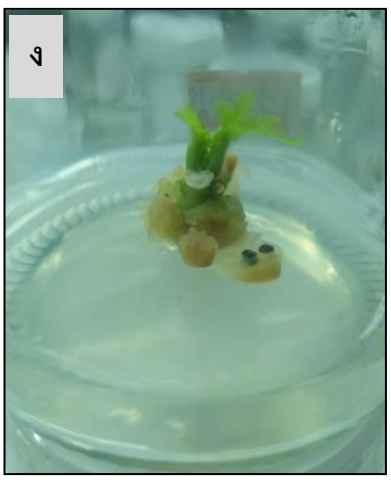


ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอ



แขกดำศรีสะเกษ





ภาพผนวกที่ 2 ก. การอนุบาลต้นแม่พันธุ์มะละกอในโรงเรือนเพื่อคัดต้นสมบูรณ์เพศ

ข. ต้นมะละกอที่เลี้ยงบนอาหารสูตรเพิ่มปริมาณ (MS + NAA 0.1 มก. + BA 0.5 มก. + adenine sulfate 80 มก. + $NaH_2PO_4H_2O$ 170 มก. ต่อลิตร)

ค. การปนเปื้อนเชื้อของชิ้นส่วนยอดมะละกอหลังการเพาะเลี้ยง 3 เดือน

ง. การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียจากชิ้นส่วนพืช หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

ตารางผนวกที่ 1 จำนวนยอดจากการเตรียมชิ้นส่วนมะละกอโดยการเก็บตาข้างจากต้นแม่พันธุ์ในสภาพแปลงปลูกเพื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก.

พันธุ์	จำนวน (ขวด)	เวลาหลังเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช					ร้อยละความเสียหาย
		1 เดือน			2 เดือน		
	(1 ชิ้นต่อขวด)	การแตกยอด (ยอด)	การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย	จำนวนยอด (ยอด)	การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย	จำนวนยอด (ยอด)	
			จำนวนยอด (ยอด)	คงเหลือ	จำนวนยอด (ยอด)	คงเหลือ	
แขกดำศรีสะเกษ	62	100	28	75	75	0	100
ปลักไม้ลาย	61	200	102	98	98	0	100
แขกนวล	33	50	30	20	20	0	100

BA 0.5 มก. ต่อลิตร เมื่อเดือนกรกฎาคม 2560

ตารางผนวกที่ 2 การตอบสนองต่อสูตรอาหาร 1/2MS เติม BA 0.5 มก. ต่อลิตร ของมะละกอแต่ละพันธุ์ เมื่อเดือนพฤษภาคม 2561

พันธุ์	พัฒนาการของยอด	ร้อยละ	ลักษณะอาการ/สีของใบหรือยอด	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้น
แขกดำศรีสะเกษ	แตกยอด	0.96	เขียว	3
	ยังไม่แตกยอด	20.19	เขียว	0
	เกิดยอดขนาดเล็ก	78.85	เหลือง/น้ำตาล/ ตาย	0
ปลักไม้ลาย	แตกยอด	57.11	เขียว	3
	ยังไม่แตกยอด	42.80	เหลือง/ตาย	0

หมายเหตุ : ยอดอ่อนมะละกอแสดงอาการใบเหลืองและซีด