รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช

Research and Development of Technique on Plant Genetic Resources Conservation

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย
นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
Ms. Kunyaporn Pipithsangchan

กรมวิชาการเกษตร

ปี พ.ศ. 2565

รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช

Research and Development of Technique on Plant Genetic Resources Conservation

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย
นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
Ms. Kunyaporn Pipithsangchan

กรมวิชาการเกษตร

ปี พ.ศ. 2565

คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชเป็นประเด็นสำคัญระดับโลก องค์การสหประชาชาติจัดทำเป้าหมายเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน (Sustainable Development Goals- SDG) ในข้อ 2 ขจัดความหิวโหยบรรลุความมั่นคงทางอาหาร 2.5 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อพันธุ์พืช ความสำคัญของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร ดังนั้นกรมวิชาการเกษตรจึงได้ดำเนินงานแผนงานวิจัยย่อยการอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืชในปี 2559-2564 โดยธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร จัดตั้งขึ้นในปี 2545 โดยสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทรงพระราชทานพระราชานุญาติให้อัญเชิญพระนามาภิไธยนามอาคารว่า “อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร” และให้อัญเชิญอักษรพระนามาภิไธย “สธ” ประดิษฐานเหนือชื่ออาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร ในวันที่ 9 กันยายน 2545 ดำเนินการโดยกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ปัจจุบันอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์พืชจำนวนมากกว่า 32,977 ตัวอย่างพันธุ์ มีห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5°C) ความชื้นสัมพัทธ์ 60% ขนาด 86 ตรม. สูง 24 เมตร มีศักยภาพเก็บรักษา 150,000 ตัวอย่าง ห้องนี้มีระบบจัดเก็บอัตโนมัติมีกำหนดในการปลูกฟื้นฟูทุก 5-10 ปี และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) มีศักยภาพการเก็บรักษา 40,000 ตัวอย่าง ขนาดห้อง 76 ตรม. สามารถเก็บได้นานกว่า 50 ปี มีห้องลดความชื้น (25°C, %RH 15%) สามารถลดความชื้นโดยไม่ใช้ความร้อน ด้วยเหตุนี้การศึกษาเทคนิคในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชให้มีความเหมาะสมต่อชนิดพืชนั้นจึงมีบทบาทสำคัญที่จะปกป้องและลดการสูญเสียดังกล่าว ตลอดจนเป็นการจัดการฐานพันธุกรรมของประเทศต่อไป โดยโครงการวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 กิจกรรม เป็นการศึกษาการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในรูปแบบการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สำหรับพืชประเภท orthodox seed หรือ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นภายในเมล็ดต่ำได้โดยไม่มีผลต่อความมีชีวิตของเมล็ด ชนิดพืชประเภทนี้จะทำการศึกษาการอนุรักษ์ในสภาพเมล็ดพันธุ์ ส่วนพืชประเภท recalcitrant seed หรือ เมล็ดที่ไม่สามารถทำให้แห้งและเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำได้ นอกจากนี้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญอื่นๆ เช่น ตายอด ตาข้าง ที่สามารถอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อการนำมาใช้ต่อยอดหรือใช้ประโยชน์จากทรัพยากรอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	3
ผู้วิจัย	4
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	5
บทนำ	6
บทคัดย่อ	9
1. กิจกรรมงานวิจัย 1 เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืช	
1.1 การทดลองที่ 1 เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา(*Plukenetia volubilis* L.) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	12
1.1 การทดลองที่ 2 เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็งเพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	29
1.1 การทดลองที่ 3 ความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันของเมล็ดพันธุ์งาภายหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง	61
1.1 การทดลองที่ 4 เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักโขม (*Amaranthus spp.*)ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	69
2. กิจกรรมงานวิจัย 2 เทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ	
2.1 การทดลองที่ 1 การขยายพันธุ์มันสาคู (*Maranta arundinacea* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อการอนุรักษ์	113
2.1 การทดลองที่ 2 การขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์	136
2.1 การทดลองที่ 3 การอนุรักษ์ขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) และตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ	149
2.1 การทดลองที่ 4 การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชสมุนไพร : ระย่อมน้อย (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz) ในสภาพปลอดเชื้อ	168
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	180
บรรณานุกรม	183
ภาคผนวก	196

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช ขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญด้านอนุรักษ์พันธุกรรม ผชช.ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ หัวหน้าการทดลอง ผู้ร่วมวิจัย คณะทำงาน และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ และหน่วยงานภายนอกทุกหน่วยงาน ที่มีส่วนสนับสนุนในการดำเนินงานโครงการวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดียิ่ง คณะวิจัยหวังว่าโครงการวิจัยนี้สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในการต่อยอดด้านอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในสภาพนอกธรรมชาติ (*ex situ* condition) ต่อไป

กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
หัวหน้าโครงการวิจัย

กรมวิชาการเกษตร

ผู้วิจัย
กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
Kunyaporn Pipithsangchan
สุพินญา บุญมานพ
Suphinya Bunmanop
ปาริฉัตร สังข์สะอาด
Parichart Sangkasa-ad
อัญชลี แก้วดวง
Anchalee Kaewdoung
พัฒน์นรี รักษ์คิด
Padnaree Rukkid
อัสนี ส่งเสริม
Assanee Songserm
สุกัลยา ศิริฟองนุกูล
Sukunlaya Sirifongnokul
พัชร ปิริยะวินิตร
Phatchara Piriyavinit
เสาวณี เดชะคำภู
Saowanee Dachakumpoo
ชลลดา สามพันพวง
Chollada Samphunphuang
ภัทรียา สุทธิเชื้อนาค
Patreeya Sudhishurnark
นิภาพร บัวอิ่น
Nipaporn Boain
อภิญญา วงศ์เปี้ย
Aphinya Wongpia
วรกิจ ห้องแซง
Worrakit Hongsaeng
สมใจ โควสุรัตน์
Somjai Kowasurat
ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ ที่ปรึกษา
khanitha Wongwathanarat, consultant

กรมวิชาการเกษตร

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (Sodium hypochlorite, NaOCl)
สารละลายเมอร์คิวลิกคลอไรด์ (Mercuric chloride, $HgCl_2$)
เบนซิลอะมิโนเพียวรีน (6-Benzylaminopurine, BA)
แนฟทาลีนแอซีติก (1-Naphthaleneacetic acid, NAA)
อาหารสูตรเอ็มเอส (Murashige and Skoog medium, MS medium)

IAA	Indole-3-Acetic Acid
IBA	Indole-3-Butyric Acid
BA	6-Benxylaninopurine
MS	Murashige and Skoog

กรดอินโดล-3-แอซีติก (Indole-3-acetic acid, IAA)
กรดอินโดล-3-บิวทีริก (Indole-3-butyric acid, IBA)

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

ประเทศไทยได้รับการจัดอันดับให้อยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงสุด8อันดับแรกของโลก เป็นแหล่งรวมสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตประมาณ 10% ถือว่าเป็นโอกาสของประเทศไทยในการที่จะใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพ โดยเฉพาะความหลากหลายของพันธุ์และชนิดพืชต่างๆ ทั้งพืชเศรษฐกิจ พืชผัก สมุนไพร จำนวนมาก และมีการนำมาใช้ประโยชน์ได้ตั้งแต่ส่วนใบ ผล เมล็ด และราก มาเป็นส่วนประกอบของอาหารหรือเป็นผักสดเพื่อรับประทานเป็นเครื่องเคียง เช่น ส่วนประกอบในเครื่องแกง ใช้แต่งรสชาติ แต่งกลิ่น แต่งสีสันให้อาหารมีความสวยงามและน่ารับประทานนอกจากนั้นพืชผักและสมุนไพรที่ใช้ในอาหารไทยส่วนใหญ่ ยังมีสรรพคุณทางยาที่ทำซึ่งมีโอกาสที่จะนำไปพัฒนาต่อไป แต่อย่างไรก็ตามการบริหารจัดการทรัพยากรธรรมชาติเหล่านี้มีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อไม่เชื้อพันธุกรรมสูญหายจากการทำเกษตรกรรมเชิงเดียว การปลูกพืชพันธุ์ดี หรือการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศโลก ปัจจัยของภาวะโลกร้อนที่ทวีความรุนแรงขึ้น เสี่ยงต่อการสูญหายของเชื้อพันธุกรรมเหล่านี้

กรมวิชาการเกษตร เล็งเห็นความสำคัญของการเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชไว้ให้ได้ยาวนานอันจะเป็นการป้องกันการเสื่อมพันธุกรรมหรือการสูญหายพันธุกรรมของพืช และเหมาะสำหรับนำออกมาใช้ประโยชน์ในการวิจัยและพัฒนาทั้งในปัจจุบันและอนาคตได้ทันทีจึงได้มีการจัดตั้ง "ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช" ภายใต้กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพโดยเก็บรักษาในรูปเมล็ดพันธุ์ (seed bank) ปัจจุบันอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์พืชจำนวนมากกว่า 32,977 ตัวอย่างพันธุ์ มีห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5°C) ความชื้นสัมพัทธ์ 60% ขนาด 86 ตรม. สูง 24 เมตร มีศักยภาพเก็บรักษา 150,000 ตัวอย่าง ห้องนี้มีระบบจัดเก็บอัตโนมัติมีกำหนดในการปลูกฟื้นฟูทุก 5-10 ปี และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) มีศักยภาพการเก็บรักษา 40,000 ตัวอย่าง ขนาดห้อง 76 ตรม. สามารถเก็บได้นานกว่า 50 ปี มีห้องลดความชื้น (25°C, %RH 15%) สามารถลดความชื้นโดยไม่ใช้ความร้อน ซึ่งส่วนใหญ่ที่เก็บรักษาเป็นพืชเศรษฐกิจและพืชอาหาร ตัวอย่างเช่น ข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วเขียว ฝ้าย รวมถึงพันธุ์พืชไร่และไม้ดอกชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังได้เก็บรวบรวมและอนุรักษ์พืชป่า พืชสายพันธุ์ใหม่ พืชหายาก และพืชสมุนไพรหลากหลายชนิดด้วย เช่น ถั่วพื้นบ้าน มะเขือพื้นบ้าน พริกพื้นบ้าน ฝาง ชุมเห็ดเทศ ฟ้าทะลายโจร เป็นต้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชในการเป็นศูนย์กลางด้านการเก็บรวบรวมและอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช เป็นการสะท้อนให้เห็นถึงความหลากหลายทางชีวภาพของทรัพยากรพืชในประเทศไทยอันเป็นรากฐานที่สนับสนุนให้เกิดความมั่นคงทางอาหารและเป็นแหล่งทรัพยากรอันทรงคุณค่าสำหรับวิจัยและพัฒนาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ นอกจากนั้นยังมีการศึกษาการเก็บรักษาพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (*in vitro* culture) โดยการลดการเจริญเติบโตให้ช้าลง (slow growth) ซึ่งจะช่วยยืดระยะเวลาการเปลี่ยนถ่ายอาหาร จัดเป็นการเก็บรักษาในระยะปานกลาง และการเก็บในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) ที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นการเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชในระยะยาว

ทั้งนี้วิธีการที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชขึ้นอยู่กับชนิดและประเภทของเชื้อพันธุกรรมพืชนั้นๆ ได้แก่ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นในเมล็ดได้ (orthodox seed) พืชประเภทนี้บางชนิดประสบปัญหาในเรื่องของการขาดข้อมูลในการจัดการด้านการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชให้สามารถเก็บรักษาได้ยาวนาน ซึ่งถ้าเก็บรักษาในสภาพที่ไม่เหมาะสมจะสูญเสียความงอก และเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว โดยปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ก่อนเก็บรักษา และอุณหภูมิในการเก็บรักษา ซึ่งระดับความชื้นในเมล็ดที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ในพืชน้ำมันระดับความชื้นที่เหมาะสมค่อนข้างต่ำกว่าพืชที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นงานวิจัยพื้นฐานด้านวิทยาการเมล็ดพันธุ์ยังคงมีความจำเป็นอย่างมาก เพื่อเติมเต็มและสนับสนุนการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชให้คงความมีชีวิตได้นานเพื่อการใช้ประโยชน์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชในอนาคต

สำหรับเนื้อเยื่อพืชที่ลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงไม่ได้ (recalcitrant seed) พืชประเภทนี้ที่ไม่สามารถเก็บรักษาได้ในสภาพของเมล็ดพันธุ์ได้ โดยเฉพาะพืชหายากใกล้สูญพันธุ์ พืชถิ่นเดิม เช่น มันพื้นเมือง พืชวงศ์ขิง และพืชสมุนไพร เป็นต้น จึงจำเป็นต้องใช้ชิ้นส่วนและเทคนิคอื่นๆ เช่น เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์และขยายพันธุ์พืชในปริมาณมากภายในระยะเวลาสั้น ช่วยลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากใช้พื้นที่น้อย และปลอดภัยจากสภาวะแวดล้อมจากธรรมชาติ ทั้งนี้ต้องมีการศึกษาวิธีการและสูตรอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมกับชนิดพืชเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์และพัฒนาต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1) เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสำหรับเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคา บวบหอม งา และผักโขม ภายใต้อุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างๆเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจัดการงานด้านการอนุรักษ์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

2) เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ และวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ (slow growth techniques) ใน มันสาคู มันขี้หนูขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย

ขอบเขตการศึกษา

เป็นงานวิจัยที่เน้นการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ดาวอินคา บวบหอม และผักโขม ซึ่งเป็นเมล็ดพันธุ์พืชที่สามารถลดความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์โดยยังคงความงอกและความมีชีวิต (Orthodox seed) โดยอาศัยพื้นฐานด้านเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ เพื่อการอนุรักษ์ภายใต้ระบบการจัดเก็บเมล็ดพันธุ์ปัจจุบันของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลางและระยะยาวตลอดจนวิธีการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) ส่วนเมล็ดงามีปริมาณไขมันในเมล็ดเป็นองค์ประกอบสูง จะส่งผลต่อเสื่อมสภาพเร็วกว่าเมล็ดที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก ทำให้อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ค่อนข้างสั้น โดยแต่ละสายพันธุ์มีองค์ประกอบของปริมาณไขมัน กรดไขมันที่สำคัญ และสารต้านอนุมูลอิสระต่างกัน ส่งผลต่อระยะเวลาในเก็บรักษาเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาพืชที่ไม่สามารถเก็บรักษาด้วยเมล็ดพันธุ์ได้ (recalcitrant seed) ได้แก่ มันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย โดยนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อและเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์ และอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ให้คงความมีชีวิตอยู่ได้ยาวนานและเพิ่มโอกาสในการนำไปพัฒนาสำหรับใช้ประโยชน์ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ประเด็นปัญหา	ประเด็นวิจัย	ผลผลิต (output)	ผลลัพท์ (outcome)	ผลกระทบ (impact)
ประเทศไทยมีความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมพืช ประกอบกับธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตรมีหน้าที่สำคัญในการเก็บรวบรวมและรักษาพันธุกรรมพืชเพื่อป้องกันไม่ให้สูญหาย ซึ่งยังขาดข้อมูลการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ให้เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด รวมทั้งยังขาดข้อมูลเชิงวิชาการของพืชเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช	วิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช 1.เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืชสำหรับพืชที่สามารถลดความชื้นในเมล็ดได้ 2. เทคนิคการการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อสำหรับพืชที่ไม่สามารถเก็บรักษาด้วยเมล็ดพันธุ์ได้	1. ได้เทคนิคในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเมล็ด (ดาวอินคา บวบหอม งา และผักโขม) 4 เทคนิค และได้เทคนิคในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ (มันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย) 4 เทคนิค 2. ได้ข้อมูลการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเมล็ด 4 ข้อมูล และในสภาพปลอดเชื้อ 4 ข้อมูล	1.ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ได้เทคนิคอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเมล็ด (ดาวอินคา บวบหอม งา และ ผักโขม) เพื่ออนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 4 เทคนิค และได้เทคนิคในการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด (มันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย) 4 เทคนิคเพื่อเก็บอนุรักษ์และรักษาไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สามารถนำไปพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ต่อไป 2. ธนาคารเชื้อพันธุ์พืชมีข้อมูลการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพเมล็ด 4 เทคนิค และในสภาพปลอดเชื้อ 4 เทคนิค	1.ธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ประโยชน์ในการเพิ่มประสิทธิภาพการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช โดยลดต้นทุนจากการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช 2.เชื้อพันธุกรรมพืชที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชสามารถนำมาใช้ประโยชน์ และเป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ หรือสร้างนวัตกรรมเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับชุมชน และเพื่อให้ตระหนักถึงความสำคัญของการอนุรักษ์และปกป้องคุ้มครองความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชในประเทศไทยมากยิ่งขึ้น 3.ต่อยอดเชิงธุรกิจชีวภาพนำไปสู่เป้าหมายที่ 1 และ 2 ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ประเทศไทยจัดอันดับให้อยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงเป็นอันดับ 8 ของโลก กรมวิชาการเกษตร เล็งเห็นความสำคัญของการเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชไว้ให้ได้ยาวนานเพื่อการป้องกันการเสื่อมหรือการสูญหายพันธุกรรมของพืชธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตรจึงเกิดขึ้น สำหรับโครงการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช มีวัตถุประสงค์ 1. เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคา บวบหอม งา และผักโขม ภายใต้อุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างๆเพื่องานด้านการอนุรักษ์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 2. เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ มันสาคู มันขี้หนูขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พรานและระย่อมน้อยแบ่งเป็น 2 กิจกรรม ดังนี้ กิจกรรมที่ 1: เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืช พบว่า เมล็ดพันธุ์ดาวอินคาที่ลดความชื้นในระดับต่างๆ เก็บรักษาอุณหภูมิห้อง 5 และ -10 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาผ่านไปมีความงอกลดลง โดยอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมื่อลดความชื้นในเมล็ดเหลือ 6 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่ามีความงอกมากกว่าร้อยละ 50 นานถึง 28 เดือน เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าลดความชื้นที่ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าทั้ง 3 ตัวอย่าง ที่ระดับความชื้น 6 - 8 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมที่สุดก่อนเก็บรักษา ในสภาพแปลงปลูก พบว่าบวบหอมยาวและบวบหอมสั้นเติบโตดีทุกระยะ แต่บวบหอมป่าเติบโตดีในระยะต้นกล้า งาทุกพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิต ความแข็งแรง และปริมาณน้ำมันงา สามารถเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งได้แต่ควรลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่าจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้น ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ผักโขมที่ 10% เมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิห้องยังมีความงอกสูงถึง 82% เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 18 เดือน กิจกรรมที่ 2 เทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำการเกิดยอด อาหารสูตร MS ที่เติมสารเบนซิลอะดีนิน (BA) ความเข้มข้น 0, 1.5 และ 3.0 mg/l ภายใต้สภาพแสงปกติและสภาพมืดให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่การเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสาร BA มีแนวโน้มชักนำการเกิดยอดได้ และการศึกษาเพิ่มปริมาณต้น พบว่าอาหาร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l อย่างเดียวชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 5.5 ยอด ส่วนการเกิดรากพบว่าอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนสามารถชักนำการเกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 4.6 ราก และยาวเฉลี่ย 4.49 เซนติเมตร การย้ายออกปลูกในโรงเรือน พบว่ารอด 100 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตต้นมันสาคูใช้สูตรอาหาร ½ MS เพาะเลี้ยงได้นานกว่าสูตรอื่นๆ เลี้ยงเป็นเวลานาน 5 เดือน มันขี้หนูสามารถขยายเพิ่มปริมาณได้โดยการใช้ส่วนของยอดในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + IAA 1 มก./ล. + BA 3 มก./ล. หลังจากนั้นชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IBA 2 มก./ล. (MSr) และสามารถเก็บรักษาได้นานสูงสุด 6 เดือน การเพาะเลี้ยงขิงพระพุทธบาทในอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสม คือ ½ MS หรือ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. และสูตรที่เหมาะสมสำหรับชะลอการเจริญเติบโตของตะไคร้พราน คือ ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้มากกว่า 8 เดือน สำหรับยอดระย่อมน้อยรอดชีวิตและเจริญเป็นต้นได้ 100% สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดยอด พบว่าเพาะเลี้ยงนาน 4 เดือนสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากถึง 12.6 ยอดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม IAA 0.1 มก/ล และ BA 3 มก/ล สำหรับการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของระย่อมน้อย พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงได้นานถึง 4 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

The Kingdom of Thailand is recorded as one of the area that the most biodiversity in the world representing 8% of the world's total. Department of Agriculture has concerned the significance of ex situ condition as genebank. The conservation of plant genetic diversity particularly food crops is an assurance for the national food security this project "Research and Development of Technology on Plant Genetic Resources Conservation" was conducted in the year of 2019 -2021. The project aimed to study appropriate seed conservation techniques for plant germplasm as the follows: (1) *Plukenetia volubilis* L., (2) *Luffa aegyptiaca*, (3) *Sesamum indicum* L., (4) *Amaranthus spp*. (5) *Maranta arundinacea* L., (6) *Plectranthus rotundifolius*, (7) *Zingiber tenuiscapus*, (8) *Zingiber citriodorum*, and (9) *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz in DOA genebank. The result showed that the moisture content (MC) of the Sacha Inchi seeds (1) conserved in 5 °C conservation room were 6% or lower and the germination test of the seed appeared more than 50% through 28 months. The optimum seed moisture content of all sponge gourd seeds (2) for cryopreservation was in the range of 6 – 8 %. The growth of sponge gourd in the field after seeds being stored in cryopreservation showed that Buab Hawm Yao and Buab Hawm San had good growth and showed normal morphological characteristics in all stages. Sesame (3) showed the results of the germination test, the vigour and oil content did not have any changes after being stored by cryopreservation technique. Seed MC should be reduced until 6 % or lower which could preserved longer than in medium term storage room (5° C) and long term storage (-10° C). The initial MC of amaranthus (4) was 10% at room temperature which appeared the germination test at 82% for 18 months preservation. For in vitro conservation, micropropagation technique of Arrowroot (5), shoot cultures were successfully established from rhizome buds on MS medium with BA in the dark and in the light condition and MS medium with 6.0 mg/L BA could induce highest shoot (5.5). MS Medium with no hormone could induce highest root (4.6) and root length (4.49 cm.). After being transplanted to the greenhouse, the survival rate was 100%. For slow growth technique, ½ MS could take 5 months. Housa potato (6) were successfully established from the shoot and then the root was induced and can be maintained for 6 months. For the zingibers, (7, 8) the optimum medium for (7) and (8) were ½ MS both with 15 g/L sucrose which could prolong for more than 8 months. For the medicinal plant, (9), the medium which could induce shoots was MS with 0.1 mg/L IAA and 3 mg/L BA. For the slow growth, medium could prolong culture for 4 months.

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 1
เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืช

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1

เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา (*Plukenetia volubilis* L.) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

Seed Conservation of *Plukenetia volubilis* L.

ชื่อผู้วิจัย

นิภาพร บัวอิ่น

Nipaporn Boain

กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์

Kunyaporn Pipithsangchan

เสาวณี เดชะคำภู

Saowanee Dachakumpoo

ชลลดา สามพันพวง

Chollada Samphunphuang

อภิญญา วงศ์เปี้ย

Aphinya Wongpia

กรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ (Key words)

ดาวอินคา, ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์, ความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์, การอนุรักษ์

Plukenetia volubilis L., Seed viability, Seed vigor, Conservation

บทคัดย่อ

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 โดยศึกษาระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา แบ่งเป็น 3 การทดลอง ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา คือ สภาพอุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 เดือน แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 3 ซ้ำ main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 ระดับ ได้แก่ 18 (เริ่มต้น), 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และ sub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 เดือน โดยเก็บข้อมูลความมีชีวิตและความแข็งแรงทุก 2 เดือน รวม 15 ระดับ พบว่า อัตราเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา และเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่ผ่านการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ในระดับต่างๆ เพื่อเก็บรักษาในที่สภาพอุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส นั้นมีอัตราลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้เหลือ 6 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่าได้โดยยังคงเก็บรักษาความมีชีวิตเกินร้อยละ 50 ได้ภายในระยะเวลา 28 เดือน

Abstracts

Conservation of Plukenetia Volubilis L. Seed was studied from October 2019 to September 2021. This research was studied on seed moisture content (%) and storage temperature which divided into three experiments according to storage condition; room temperature (25±2 ℃), 5 ℃ and -10 ℃ by using Split plot design with 3 replications. The Main plot was seed moisture content (%) at different levels; 18 (initial) 8, 6, and 4. The sub plot was 15 levels of storage period (months) and checked the seeds viability and vigor. The findings indicated that the longer storage time caused the decrease in viability and vigor of Plukenetia Volubilis L. seeds after being kept in in 5 ℃ and -10 ℃ storage room. It was also revealed that the seed moisture content can be reduced to 6% or lower for 5 ℃ storage. It can still remain over 50% of the seed viability and vigor after storage for 28 months.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันดาวอินคาเป็นพืชที่ได้รับความสนใจอย่างมากในประเทศไทย เนื่องจากในเมล็ดดาวอินคามีน้ำมันสูงถึง 54 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายสูง ได้แก่ กรดไขมันไม่อิ่มตัวโอเมก้า 3 มี 45 – 63 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นที่ร่างกายต้องการในปริมาณที่สูงกว่ากรดไขมันโอเมก้า 6 ซึ่งมี 34 – 39 เปอร์เซ็นต์ และโอเมก้า 9 มี 6 – 10 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบกรดไขมันไม่อิ่ม (Follegatti-Romero et al., 2009) และมีโปรตีนถึง 33 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยไอโอดีน วิตามินเอ และวิตามินอี (Fanali et al., 2011) ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีคุณสมบัติช่วยป้องกันโรคต่างๆ เช่น ช่วยลดคอเลสเตอรอล ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง ช่วยลดไตรกลีเซอไรด์ ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน ลดน้ำหนัก ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ต้านการอักเสบ โรคมะเร็ง และโรคข้ออักเสบ (Gogus and Smit, 2010) ฉะนั้นทั้งเมล็ดและน้ำมันดาวอินคาจึงเหมาะแก่การบริโภคอย่างยิ่ง

ดาวอินคาเข้าสู่ประเทศไทย โดยมีบริษัทเอกชนนำดาวอินคามาส่งเสริมการปลูกในประเทศไทยเมื่อไม่กี่ปีที่ผ่านมา โดยเริ่มจาการแจกเมล็ดพันธุ์ฟรีแล้วรับซื้อผลผลิตในราคาประกัน การปลูกดาวอินคามีข้อดีคือเก็บผลผลิตได้หลังจากปลูกเพียง 7 เดือน จนถึง 40-50 ปี หากมีการดูแลที่เหมาะสม ซึ่งทำให้เกษตรกรมองว่ามีรายได้ระยะยาว โดยภาคเอกชนได้มีการส่งเสริม เริ่มแรกที่จังหวัดหนองคาย และกระจายไปสู่ภูมิภาคต่างๆ ภาคเหนือที่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ น่าน และสุโขทัย ภาคอีสานที่จังหวัดขอนแก่น เลย และชัยภูมิ นอกจากนี้ยังขยายลงมาปลูกในหลายจังหวัดในภาคกลางและภาคตะวันตก อาทิ นครสวรรค์ ชัยนาท กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ลพบุรี นครปฐม ราชบุรี และเพชรบุรี ภาคตะวันออกที่จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด และภาคใต้ที่จังหวัดชุมพร และพบว่ามีพื้นที่ปลูกมากกว่า 10,000 ไร่ โดยมีบริษัทเอกชนในจังหวัดกำแพงเพชรส่งเสริมการปลูก และรับซื้อดาวอินคาชนิดกระเทาะเปลือกราคา 80 บาทต่อกิโลกรัม และแบบไม่กระเทาะเปลือก 35 บาทต่อกิโลกรัม โดยให้เกษตรกรทำสัญญากับบริษัทอย่างถูกต้องตามกฎหมาย (อุดมวิทย์ และคณะ, 2557)

สถานการณ์ปัจจุบันน่าเป็นห่วงว่ามีการโฆษณาชวนเชื่อให้เกษตรกรปลูกดาวอินคากันอย่างกว้างขวางจนเป็นกระแสว่าปลูกแล้วต้องดีต้องรวย ในขณะที่หน่วยงานของภาครัฐยังไม่เคยมีงานวิจัยในเรื่องดาวอินคาแต่อย่างใดทั้งเรื่องการปลูก หรือแม้แต่การผลิตเมล็ดดาวอินคา เกษตรกรได้ทำตามคำแนะนำของบริษัทเอกชนซึ่งมีการผลิตที่หลากหลายทั้งระยะการปลูก รูปแบบค้าง การใช้ปุ๋ย พันธุ์ที่ปลูก การจัดการปัญหาโรคและแมลงศัตรูต่างๆ วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว จนถึงการใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภคทั้งเมล็ดและน้ำมันดาว อินคายังขาดการศึกษาวิจัยอย่างชัดเจน ฉะนั้นภาครัฐต้องมีการวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิชาการแก่นักวิจัยและผู้สนใจปลูกดาวอินคาต่อไป โดยธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้มีการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมต่างๆ ซึ่งเมล็ดดาวอินคาเป็นพืชอีกตัวที่สมควรต้องมีฐานข้อมูลในธนาคารเชื้อพันธุ์ ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับระดับความชื้นที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์ระยะยาว โดยที่เมล็ดพันธุ์ยังคงความมีชีวิตและมีความแข็งแรงเป็นสำคัญ

เนื่องจากเมล็ดดาวอินคามีน้ำมันภายในเมล็ดถึง 54 เปอร์เซ็นต์ โดยปกติแล้วเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมัน จะเสื่อมความงอกในระยะเวลาอันสั้น ถ้าเก็บรักษาในสภาพอากาศไม่เหมาะสมจะสูญเสียความงอก และเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว ทำให้พบปัญหาในเรื่องอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น ซึ่งปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาคือความชื้นในเมล็ดพันธุ์ก่อนเก็บรักษา และอุณหภูมิในการเก็บรักษา โดยการลดความชื้นเมล็ดลง 1% จะทำให้เก็บรักษาได้ นานขึ้นเป็น 2 เท่า และการลดอุณหภูมิของห้องเก็บรักษาลง 10oF จะทำให้อายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ซึ่งจะใช้ได้ดีในช่วงของ อุณหภูมิระหว่าง 32oF – 122oF (Harrington, 1970) ระดับความชื้นในเมล็ดที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษายังแตกต่างกันไปตามชนิดพืชขึ้นอยู่กับปริมาณของโปรตีน คาร์โบไฮเดรท เซลลูโลส และน้ำมัน ที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ด การทดลองนี้จึงได้มุ่งทำการศึกษาถึงปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเก็บรักษา

เมล็ดพันธุ์ดาวอินคาภายใต้สภาพการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชให้มีอายุการเก็บรักษายาวนานที่สุดเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งของฐานพันธุกรรมดาวอินคาต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาภายในอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างๆ สำหรับอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

2. เพื่อศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาภายใต้อุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างๆ สำหรับอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

การทบทวนวรรณกรรม

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับดาวอินคา

ดาวอินคา เป็นพืชวงศ์ Euphorbiaceae เช่นเดียวกับ ยางพารา สบู่ดำ หรือมันสำปะหลัง ชื่อวิทยาศาสตร์คือ Plukenetia volubilis L. มีชื่อสามัญว่า sacha inchi, sacha peanut, mountain peanut, supua หรือ Inca peanut

ลักษณะทั่วไป ดาวอินคาเป็นไม้เถาทรงพุ่ม เจริญเติบโตสูง 2 - 3 เมตร เป็นพืชที่ต้องการแสงแดดและความชื้นสูง เป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปหัวใจ ปลายใบเรียวแหลม โคนใบตรงถึงรูปหัวใจ ขอบใบจักฟันเลื่อย ใบยาว 10 – 12 ซม. กว้าง 8 – 10 ซม. ก้านใบยาว 2 – 6 ซม. เริ่มออกดอกเมื่ออายุ 5 เดือนหลังจากปลูก และติดเมล็ดเมื่ออายุ 8 เดือน ดอกช่อแบบช่อกระจะ (raceme) ดอกแยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน ดอกเพศผู้ขนาดเล็ก สีขาว เรียงเป็นกระจุกตลอดความยาวช่อ ดอกเพศเมีย 2 ดอก อยู่ที่โคนช่อดอก มีผลเป็นแบบแคปซูล เส้นผ่าศูนย์กลาง 3 – 5 ซม. มี 4 – 7 แฉก ผลอ่อนสีเขียว และสีจะเข้มขึ้นตามอายุ ผลแก่มีสีน้ำตาลดำ มีเนื้อนุ่มๆ สีดำ คือเปลือกที่ครอบคลุมเมล็ดใน 3 ชั้น 1 ฝักมีเมล็ด 3 - 7 เมล็ด เมล็ดรูปไข่ สีน้ำตาลดำ ขนาดกว้าง 1.7 – 1.8 ซม. ยาว 2.0 – 2.2 ซม. เมล็ดหนัก 1.3 - 1.7 กรัม

ถิ่นกำเนิดและการกระจายพันธุ์ เป็นพืชเฉพาะถิ่นในป่าอะเมซอน แถบประเทศเปรู เติบโตในสภาพอากาศอุ่น (10 องศาเซลเซียส - 36 องศาเซลเซียส) จะเจริญเติบโตในระดับความสูงตั้งแต่ 100 เมตร ถึง 2000 เมตร จากระดับน้ำทะเล ช่วงชีวิต มีอายุถึง 10-50 ปี และเชื่อกันว่าพืชชนิดนี้มีอายุมากกว่า 3000 ปี การกระจายพันธุ์เริ่มจากจีนได้นำเมล็ดพันธุ์มาขยายเพิ่มเติมให้แก่หลายประเทศ รวมทั้งไทยเราด้วย เป็นที่รู้จักในประเทศไทยไม่เกิน 5 ปี โดยเริ่มปลูกที่จังหวัดหนองคาย และกระจายไปสู่ภูมิภาคต่างๆ ภาคเหนือที่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ น่าน และ สุโขทัย ภาคอีสานที่จังหวัดขอนแก่น เลย และชัยภูมิ นอกจากนี้ยังขยายลงมาปลูกในหลายจังหวัดในภาคกลางและภาคตะวันตก อาทิ นครสวรรค์ ชัยนาท กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ลพบุรี นครปฐม ราชบุรี และเพชรบุรี ภาคตะวันออกที่จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด และภาคใต้ที่จังหวัดชุมพร

องค์ประกอบทางเคมี และคุณประโยชน์ ด้วยน้ำมันจากเมล็ดดาวอินคา เป็นน้ำมันที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และเป็นที่นิยมมากขึ้น เนื่องจากมีกรดไขมันที่จำเป็นในปริมาณสูง น้ำมันมีกลิ่นหอม อ่อนๆ รสไม่ขม และเมล็ดดาวอินคาก็มีการทำเป็นขนมขบเคี้ยว เนื่องจากโปรตีนสูงถึง 27 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมัน สูงถึง 54 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวโอเมก้า 3 สูงถึง 45 – 63 เปอร์เซ็นต์ ชนิดกรดอัลฟาลิโนเลนิก (alpha-linolenic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันจาเป็นที่ร่างกายต้องการ ในปริมาณที่สูงกว่ากรดไขมันโอเมก้า 6 โอเมก้า 6 สูง 34 – 39 เปอร์เซ็นต์ คือกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และโอเมก้า 9 สูง 6 – 10 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบกรดไขมันไม่อิ่ม (Follegatti-Romero et al., 2009) นอกจากนี้ยังประกอบด้วยไอโอดีน วิตามินเอ และวิตามินอี (Fanali et al., 2011) เนื่องจากคุณสมบัติดังกล่าว มนุษย์จึงนำน้ำมันและโปรตีนจากเมล็ดดาวอินคามาบริโภคเป็นน้ำมันประกอบอาหาร ทำน้ำสลัด

กรมวิชาการเกษตร

นอกจากนี้ทุกส่วนของต้นดาวอินคาสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ยอดใบอ่อน และผลอ่อน สามารถนำไปประกอบอาหารเช่น ผัดแบบผักบุ้งไฟแดง หรือนำไปทำแกงเลียงก็ได้

ใบของต้นดาวอินคา โดยเฉพาะใบที่ยังไม่แก่มากนำมาหั่นแล้วผึ่งแดด 1–2 แดด นำไปต้มดื่มเป็นน้ำชา สามารถลดน้ำตาล และไขมันในเส้นเลือด หรือนำไปสกัดเป็นน้ำคลอโรฟิลล์

และเมล็ดดาวอินคาทำเป็นขนมขบเคี้ยว จากการศึกษาวิจัยของภาควิชาโภชนาวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าสามารถนำกากดาวอินคาที่เหลือจากการสกัดน้ำมันไปพัฒนาเป็นคุกกี้และผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวชนิดและนำดาวอินคามาคั่วบรรจุถุงออกสู่ท้องตลาด

การใช้เป็นยารักษาโรค ช่วยลดคลอเลสเตอรอล ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง ช่วยลดไตรกลีเซอไรด์ ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน ลดน้ำหนัก ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ต้านการอักเสบ โรคมะเร็ง และโรคข้ออักเสบ Gogus and Smit, 2010)

และเครื่องสำอางน้ำมันจากเมล็ดดาวอินคา มีทั้งรูปแบบที่บรรจุแคปซูล และบรรจุขวด ทำผลิตภัณฑ์เสริมความงามและ อาหารเสริมเช่น โฟมล้างหน้า สบู่ ครีมบำรุงผิว โลชั่น ที่ปัจจุบันมีความต้องการสูง เมื่อเหลือจากการบริโภคสามารถนำไปผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ กากเมล็ดและเปลือก นำไปทำเป็นปุ๋ยอินทรีย์ หรือเชื้อเพลิงอัดแท่ง (Zaccheria et al., 2012)

9.2 การเก็บรักษา และอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชมีวัตถุประสงค์ในการลดการสูญเสียเชื้อพันธุกรรม (genetic erosion) ของพืช ความนิยมของผู้บริโภคหรือความต้องการของตลาด ทำให้เกษตรกรเลือกปลูกพืชเฉพาะพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการของตลาดเท่านั้น เป็นสาเหตุให้พืชพันธุ์พื้นเมืองหรือพันธุ์ดีที่เสื่อมความนิยมต้องสูญหายไปจากแปลงปลูกของเกษตรกร ความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงลดลงไปซึ่งเป็นสัญญาณอันตรายว่า ในกรณีที่พันธุ์ที่ใช้ปลูกกันอย่างกว้างขวางและมีพันธุกรรมเหมือนกันนั้น (genetic uniformity) อ่อนแอต่อโรคหรือแมลงบางชนิด เมื่อเกิดการระบาดขึ้นมา ความสูญเสียก็จะเป็นไปอย่างกว้างขวางและรุนแรง การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเก่า ๆ ไว้จึงเป็นสิ่งสำคัญเพราะอาจจะต้องนำกลับมาใช้ใหม่ในกรณีที่จำเป็น

เมล็ดพันธุ์พืช (Seed) แบ่งเป็น ๒ จำพวก

1. Orthodox seed คือ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นได้ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จึงมักเก็บรักษาเมล็ดเหล่านี้ไว้ในสภาพนอกธรรมชาติ (*Ex situ*) ซึ่งแบ่งเป็น 2 แบบ คือ เมล็ด (seed gene bank) และ ต้น (plant field) เมล็ดในกลุ่มนี้ได้แก่ ข้าว ถั่ว พืชอาหารหลัก เป็นต้น

2. Recalcitrants seed คือ เมล็ดในกลุ่มที่ไม่สามารถลดความชื้นให้ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ได้เพราะว่าเมล็ดจะได้รับอันตราย ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดเหล่านี้มักเก็บไว้ในสภาพธรรมชาติ (*In situ*) ในสภาพแปลงปลูก (*Ex situ*) หรือเก็บในรูปของเนื้อเยื่อ (*In vitro*) เมล็ดในกลุ่มนี้ได้แก่พวก ส้ม มะม่วง ขนุน มะพร้าว เป็นต้น

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ สามารถเก็บได้ 3 ระยะ คือ

1. ระยะสั้น ความชื้นเมล็ด 11-12 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บได้นาน 3-5 ปี

2. ระยะปานกลาง ความชื้นเมล็ด 8 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บได้นาน 20 ปี

3. ระยะยาว ความชื้นเมล็ด 8 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้นาน 50 ปี หรือในสภาพเยือกแข็ง (-196 องสาเซลเซียส)

การเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์มี ๒ แบบ คือ

กรมวิชาการเกษตร

1. Base collection คือ การเก็บไว้ในรูประยะยาวของอุณหภูมิตั้งแต่ -10 องศาเซลเซียส ขึ้นไป ความชื้นในเมล็ด 5-7 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการแจกจ่าย

2. Active collection คือ การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อประกอบการเก็บแบบ Base collection ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นโดยเป็นการเก็บเพื่อแจกจ่ายแลกเปลี่ยนและอื่น ๆ

ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (Harrington, 1970)

การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ หรือการที่เมล็ดพันธุ์สูญเสียศักยภาพ หรือความแข็งแรงอันเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงในทางไม่ดีต่างๆที่เกิดขึ้นจนเมล็ดพันธุ์ตายไปในที่สุดมีผลต่ออายุการมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ (seed longevity) และส่งผลต่ออายุการเก็บรักษา ซึ่งปัจจัยที่เป็นตัวเร่งการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ เช่น

1. ข้อแตกต่างในเรื่องพันธุกรรม รูปร่างลักษณะโครงสร้าง และองค์ประกอบ ทางเคมี ทำให้เมล็ดพืชแต่ละชนิดมีช่วงอายุหรือธรรมชาติที่จะเก็บรักษาไว้ได้ แตกต่างกัน จัดประเภทกว้าง ๆ ได้เช่น ข้าว ผักกาดหัวและพืชตระกูลแตง จัดเป็น พวกที่สามารถเก็บรักษาได้ดี ฝ้าย ถั่วเขียว ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าวโพด จัดเป็น ระดับปานกลาง ส่วนพวกตระกูลถั่วมีน้ำมันในเมล็ดสูง เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสง รวมทั้งพืชผักบางชนิด เช่น หอมจัดเป็นพวกที่รักษาไว้ได้ยาก นอกจากนี้ ในพืช ชนิดเดียวกันที่เมล็ดมีขนาดใหญ่เล็กต่างกันไปตามสายพันธุ์จะมีอายุในการเก็บรักษาที่แตกต่างกันตามชนิดของพืช

2. ประวัติของเมล็ดพันธุ์ เป็นปัจจัยเบื้องต้นที่จะบอกให้ทราบว่าเมล็ดก่อนที่จะเก็บรักษา นั้นมีสภาพและความเป็นมาอย่างไร อันดับแรกคือระดับความ งอกและความแข็งแรงเบื้องต้น ซึ่งเป็นปฏิภาคกลับกับความเสื่อม และเป็นผลสะท้อนมาจากการปฏิบัติดูแลในระยะการปลูก การเก็บเกี่ยว จนถึงการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว นอกจากนั้น เป็นข้อ ปลีกย่อยที่สังเกตเห็นได้ เช่น มีเมล็ดแตกร้าวเสียหายหรือมีรอย ถลอก เนื่องจากการนวดหรือการปรังปรุงสภาพ มีความเหี่ยวย่น ของเปลือกเนื่องมาจากเมล็ดถูกฝน มีโรค แมลงหรือไข่ มีเมล็ดอ่อน สิ่งเจือปนหรือวัชพืช มีการคลุกสารเคมีในปริมาณสูง หรือมีสีสันหม่นหมองเนื่องจากอายุ บางกรณีประวัติอาจหมายรวมไปถึงชนิดของเมล็ด ตามที่ได้แยกกล่าวไว้ในข้อ 1 ซึ่งล้วน แล้วแต่มีผลกระทบต่อสภาพนิเวศน์ในการเก็บรักษาทำให้คุณภาพและอายุของเมล็ดพันธุ์แปรเปลี่ยนไป โดยปกติการเก็บ รักษาจะคัดเลือกจากเมล็ดพันธุ์ที่แก่เต็มที่ มีความสมบูรณ์ทาง กายภาพ สะอาด และมีความงอกเบื้องต้นสูง ซึ่งให้แนวโน้มที่ จะเก็บรักษาไว้ได้ดีกว่าเมล็ดที่ด้อยคุณลักษณะ

3. ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ และความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์เป็นปริมาณน้ำที่มิใช่องค์ประกอบทางเคมีที่สามารถขับออกจากเมล็ดได้ ถือว่าเป็นตัวแปรในสภาพการเก็บรักษาที่มีความสำคัญเป็นอันดับแรก เมล็ดที่มีความชื้นสูง จะมีการเผาผลาญอาหารสูงเพิ่มภาวะที่เป็นอันตรายกับตัว รวมทั้งชักนำให้โรคและแมลงเข้าทำลายจึงเสื่อมคุณภาพได้รวดเร็วกว่าเมล็ดที่แห้ง การเก็บรักษาจึงถือหลักการแรกคือ ทำเมล็ดให้แห้งโดยยึดกฎที่ใช้ ทั่ว ๆ ไปว่า “การลดความชื้นเมล็ดลง 1% จะทำให้เก็บรักษาได้ นานขึ้นเป็น 2 เท่า” ซึ่งจะใช้ได้ดีเมื่อเมล็ดมีความชื้นระหว่าง 5-14% ดังมีเกณฑ์ให้พิจารณาได้คร่าว ๆ ตามตารางที่ 1อย่างไรก็ตามเมล็ดพืชมีสภาพ Hygroscopic คือ สามารถที่จะรับหรือถ่าย ความชื้นให้กับบรรยากาศรอบ ๆ ตัวจนถึงภาวะสมดุล หากนำเมล็ดที่แห้งดีแล้วไปเก็บรักษาในภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูง เมล็ดก็จะดูดรับความชื้นเข้าไปและหากนำเมล็ดที่มี ความชื้นสูงไปเก็บไว้ในที่ที่มีความชื้นสัมพันธ์ของอากาศต่ำ เมล็ดก็จะคายความชื้นออก แต่เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพืชต่างชนิดไว้ที่สภาพความชื้นสัมพัทธ์เดียวกัน แต่ละชนิดจะมีจุดสมดุลความชื้นที่ไม่เท่ากัน ซึ่งจะเป็นเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของโปรตีน คาร์โบไฮเดรท เซลลูโลส และน้ำมัน ที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ด ดังนั้น เรื่องของความชื้นเพื่อการเก็บรักษาจึงต้องพิจารณาทั้ง 2 ประเด็นควบคู่กัน

4. อุณหภูมิ มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีภายในเมล็ด การเก็บรักษาในที่อุณหภูมิสูงจะเร่งกิจกรรมใน เมล็ดทำให้มีอัตราการหายใจสูง ผลที่ตามมาคือเมล็ดจะสูญเสียความงอกได้เร็ว ในเรื่องนี้มีกฎที่ใช้

กรมวิชาการเกษตร

ทั่ว ๆ ไปว่า “การลดอุณหภูมิของโรงเก็บลง 10 °F จะทำให้อายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ซึ่งจะใช้ได้ดีในช่วงของ อุณหภูมิระหว่าง 32°F – 122 °F เช่นกัน อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นที่มีต่ออายุในการเก็บรักษาสามารถ ชดเชยและสนับสนุนซึ่งกันและกัน เช่น เมล็ดที่มีความชื้นต่ำที่เก็บรักษาไว้ที่อากาศร้อนอาจจะมีชีวิตอยู่ได้นาน พอกันกับเมล็ดที่มีความชื้นสูง แต่เก็บในที่เย็น ในสภาพที่ทั้งร้อนและชื้นนอกจากจะไม่มีผลดีกับเมล็ดแล้ว กรณีที่ ความชื้นของเมล็ดสูงถึง 12-14% จะเอื้ออำนวยต่อการเจริญของเชื้อรารวมทั้งการเกิดพิษจากสารเคมีที่ใช้คลุกเมล็ด (ตารางที่ 2) สภาพที่ดีที่สุดสำหรับการเก็บรักษาคือ พยายามลดความชื้นของเมล็ดให้ต่ำแล้วเก็บในที่อากาศเย็น และ แห้ง ซึ่งยังมีกฎข้อสุดท้ายเพิ่มเติมอีกว่า สภาพเก็บรักษาดีที่สุดควรให้มีผลบวกของความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ (เป็น °F) ไม่เกิน 100 อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในเขตร้อนชื้น เช่นประเทศไทยให้มีคุณภาพดีได้ นานนับว่าเป็นเรื่องที่ท้าทาย เนื่องจากมีสภาพอากาศร้อนและความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง เมล็ดพันธุ์จึงมีอายุการ เก็บรักษาในสภาพท้องถิ่นที่ไม่มีการควบคุมสั้นกว่าในประเทศเขตอบอุ่น

แต่ปัจจัยหลักที่สำคัญ คือ ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ก่อนเก็บรักษา และอุณหภูมิในการเก็บรักษา (Ellis et al., 1985) การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์จะลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากความชื้นในเมล็ดพันธุ์ และ อุณหภูมิในการเก็บรักษา และการลดลงของความงอกมีผลเนื่องมากจากปฏิกิริยารีดักชั่น (reduction) ของเอนไซม์แอลฟ่าอะไมเลส (**α**-amylase) และปริมาณคาร์โบไฮเดรต การเพิ่มขึ้นของความชื้นและอุณหภูมิจะทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของดีเอ็นเอ และไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ขบวนการหายใจ และการเคลื่อนที่ของสารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้เกิดการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็ว (Mc Donald, 1999) ตามคำแนะนำของ FAO/IPGRI, 1994 ควรลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 3-7 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จะทำให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนาน

เมล็ดพันธุ์ที่จะเก็บรักษาไว้ได้นานจะต้องมีความชื้นในเมล็ดต่ำโดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์พืชที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่เป็นส่วนใหญ่ควรจะลดความชื้นภายในเมล็ดให้เหลือประมาณ 8-9 เปอร์เซ็นต์ เพราะเมล็ดที่มีความชื้นสูงจะมีอัตราการหายใจสูง มีการสะสมความร้อน และความชื้นจนอาจถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ได้ (จวงจันทร์, 2529) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในระยะยาว 10-20 ปี เมล็ดธัญพืชต้องมีความชื้นไม่เกิน 11 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพืชน้ำมันและเมล็ดพืชผักต้องมีความชื้นไม่เกิน 9 เปอร์เซ็นต์ (สาวิตรี และรุจิพร, 2541) ซึ่งสอดคล้องกับ Harrington (1972) รายงานว่าความชื้นที่ปลอดภัยต่อการเก็บรักษาสำหรับเมล็ดที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งควรมีความชื้นต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นไขมัน ควรมีความชื้นต่ำกว่า 6 เปอร์เซ็นต์

การเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคาที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 30 วัน ทำให้น้ำมันในเมล็ดมีการ Oxidation เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณ tocopherol สารตั้งต้นวิตามินอี ลดลงเล็กน้อยและพบว่าระหว่างการเก็บรักษานั้น มี Antioxidant capacity สูงขึ้น กรดไขมันตัวอื่นเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย จาก Alpha-linolenic acid หรือโอเมก้า 3 รวมตัวกับออกซิเจนมากกว่าตัวอื่น (Fausto et. al., 2014)

Amanda et.al (2015) ได้ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดดาวอินคาที่ความชื้นเริ่มต้น 7 เปอร์เซ็นต์ โดยการให้อุณหภูมิที่ต่างกัน ได้แก่ 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ด เมล็ดสามารถงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 25 ถึง 35 องศาเซลเซียส

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง เมล็ดพันธุ์ดาวอินคา

แบบและวิธีการทดลอง

1. การทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 สภาพ ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา คือ

- สภาพการเก็บรักษาที่ 1 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

- สภาพการเก็บรักษาที่ 2 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส

- สภาพการเก็บรักษาที่ 3 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ -10 องศาเซลเซียส

2. แผนการทดลอง แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split Plot Design จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย

2.1 Main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 ระดับ คือ

- 18 เปอร์เซ็นต์ (เริ่มต้น)

- 8 เปอร์เซ็นต์

- 6 เปอร์เซ็นต์

- 4 เปอร์เซ็นต์

2.2 Sub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 15 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 และ 28 เดือน

3. วิธีการทดลอง

เมล็ดพันธุ์ดาวอินคาจากแปลงเกษตรกร อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์ และยังไม่ผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์นำมาทดสอบหาความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้นก่อนนำไปลดความชื้น

1. ทำการทดสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์ ด้วยวิธีอบด้วยความร้อน (Air-Oven Method) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA), 2014 และประยุกต์ตามคู่มือการจัดการเมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์ของ Bioversity International /ILRI/FAO/CTA, 2006 มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบ คลุกเคล้าให้ทั่ว โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนานเกิน 3 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาเพื่อบดตัวอย่างละ ประมาณ 4-5 กรัม หรือจำนวนประมาณ 20-50 เมล็ดแล้วแต่ขนาดเมล็ด

1.2 การบดเมล็ด บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด แล้วแบ่งตัวอย่างที่บดแล้ว ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมกลม ก้นแบน ที่มีฝาปิดพอดี 2 ซ้ำ นำไปชั่งน้ำหนักพร้อมภาชนะ โดยใช้เครื่องชั่งที่อ่านค่าทศนิยมได้ 3 ตำแหน่ง แล้วนำเข้าอบความร้อน

1.3 การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบไฟฟ้า ที่มีช่องระบายลม และสามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยใช้อุณหภูมิในการอบ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วรีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโหลดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30-45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมทั้งเมล็ดและฝาปิดอีกครั้งหนึ่ง

1.4 การคำนวณผลการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และรายงานเพียงทศนิยมตำแหน่งเดียวเท่านั้น โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\frac{M2 - M3 \times 100}{M2 - M1}$$

ซึ่ง M1 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิด

M2 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดก่อนอบ

M3 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดหลังอบ

2. ทำการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ โดยใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธ์พืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ลดความชื้นให้ได้ระดับที่ 4, 6, และ 8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3. การเก็บรักษา นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับมาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกโดยมีการดูดอากาศออก และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส แต่ละห้องจำนวน 28 เดือน

4. ทำการเก็บข้อมูล เปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์และตรวจสอบความแข็งแรงโดยเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาในแต่ละห้อง ที่ระยะการเก็บรักษา คือ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 และ 28 เดือน โดยวิธีการดังต่อไปนี้

4.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ เพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ดาวอินคาโดยวิธีการเพาะทราย ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. เอาทรายใส่กระบะเพาะหรือกลองเพาะความงอก ให้ทรายมีความหนาประมาณ 2 นิ้ว
2. ปาดหนาทรายให้เรียบ
3. วางเมล็ด 5 แถว ๆ ละ 10 เมล็ด รวม 50 เมล็ด แล้วนำเอาทรายมาปิดหนาประมาณ 1-1.5 นิ้วโดยใช้ที่ปาด ๆ หน้าทรายให้เรียบ
4. ปิดฝาจนกระทงเมล็ดเริ่มงอก
5. เปิดฝา นำไปไว้ ในที่ถูกแดด 3 วัน คอยพ่นน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ
6. ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 14 วัน
7. การประเมินผลการทดสอบความงอก

➢ ต้นอ่อนปกติ (Normal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆ ครบถ้วน

➢ ต้นอ่อนผิดปกติ (abnormal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆไม่สมบูรณ์ หรือขาดหายไป หรือผิดปกติไปจากเดิม

➢ เมล็ดแข็ง (Hard Seedling) คือเมล็ดที่มีลักษณะแข็ง ผิวเปลือกไม่ดูดน้ำ หลังจากเสร็จสิ้นการทดสอบจะมีลักษณะคงเดิมทุกอย่าง

➢ เมล็ดสดที่ไม่งอก (Fresh ungerminated seed) คือเมล็ดที่ดูดน้ำและขยายพองมีขนาดเมล็ดโตขึ้นแต่ไม่มีส่วนใดงอกออกมาเลย

➢ เมล็ดที่ตาย (Dead seed หรือ Rotten seed) คือเมล็ดตายที่มีลักษณะเน่าเปื่อย มีราขึ้น และไม่งอก

การประเมินผลจะเริ่มทำในวันนับครั้งแรก โดยบันทึกและนับออกของต้นอ่อนปกติ และเมล็ดที่ตาย ส่วนที่เหลือจะนับไม่เกินวันนับครั้งสุดท้าย หลังจากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

$$\%\text{ความงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกปกติ} \times 100}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}}$$

4.2 การตรวจสอบความแข็งแรงโดยเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

นำเมล็ดในแต่ละกรรมวิธี ๆ ละ 50 เมล็ด ใส่ในตะแกรงลวด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ขาตะแกรงสูง 3.5 เซนติเมตร วางภายในกระป๋องที่บรรจุน้ำ 120 ซีซี. ปิดฝากระป๋องให้สนิทแล้วนำไปเร่งอายุในตู้อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014)

กรมวิชาการเกษตร

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์มาวิเคราะห์ความแปรปรวน ของ 3 สภาวะของอุณหภูมิการเก็บรักษา (Combine Analysis of Variance) เพื่อศึกษาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ของ 3 สภาวะอุณหภูมิการเก็บรักษา

ผลการวิจัย (Results)

ได้เมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่อายุการเก็บรักษานาน 28 เดือนที่สภาพอุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส และได้เก็บข้อมูลความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา พบว่า อัตราเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา และเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่ผ่านการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ในระดับต่างๆ เพื่อเก็บรักษาในที่สภาพอุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส นั้นมีอัตราลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา

ผลการทดลองพบว่า ในแต่ละสภาพอุณหภูมิการเก็บรักษา (อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ-10 องศาเซลเซียส) เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา (18, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์) และระยะเวลาในการเก็บรักษา (0-28 เดือน) มีปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กันอย่างมีนัยสำคัญ ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

เมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25±2 °C, ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5 %) ถ้าเมล็ดเชื้อพันธุ์ยังไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้น ซึ่งในการทดลองมีความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 18 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ได้ไม่ถึง 28 เดือน โดยเมล็ดเชื้อพันธุ์ยังคงความมีชีวิตอยู่ได้ มีความงอกเหลือเพียง 19 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นเหลือ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถเก็บได้ถึง 28 เดือน แต่มีความงอกเหลือเพียง 25 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นเหลือ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถเก็บได้นานถึง 28 เดือน แต่มีความงอกเหลือเพียง 41 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นเหลือ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 28 เดือน ยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1.1.1) ดังนั้นถ้าเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคามีความชื้นสูงคือ 18 เปอร์เซ็นต์ บรรจุในภาชนะที่ปิดสนิทก่อนนำมาเก็บรักษาจะทำให้สามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้นานขึ้น สอดคล้อง Jianfang *at al* (1998) ศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ป่าน งา ถั่วเหลือง และข้าวสาลี ชนิดละ 5 สายพันธุ์ ที่เหมาะสมในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (0-35 องศาเซลเซียส) เฉลี่ย 18 องศาเซลเซียส เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4-5 ปี พบว่า การสูญเสียความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ลดลงตามชนิดพืช พันธุ์และความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ การเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ในสภาพที่มีความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์สูงจะทำให้เมล็ดสูญเสียความมีชีวิตภายใน 4 ปี

ตารางที่ 1.1.1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 18 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 28 เดือน

ระยะเวลาการเก็บ	ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ (%) [1]

รักษา (เดือน)	4%	6%	8%	เริ่มต้น (18%)
0	94.00a	94.00a	94.00a	94.00a
2	85.33b	86.67b	88.00b	79.33b
4	84.00b	84.000bc	86.00b	78.67b
6	82.00bc	82.00c	84.67b	72.00c
8	79.33c	75.33d	74.00c	68.67d
10	72.00d	68.00e	68.00d	63.33e
12	66.00e	66.00ef	64.66de	59.33f
14	65.33ef	64.67f	62.00e	53.33g
16	64.67ef	63.33f	61.33e	52.67g
18	62.00fg	58.67g	57.33f	49.33h
20	59.33g	54.67h	55.33fg	48.00h
22	54.67h	54.67h	52.00gh	44.00i
24	54.67h	54.00h	50.00h	42.00i
26	54.00h	50.67i	44.00i	39.33j
28	48.66i	40.66j	24.67j	19.33k

CV(a)=2.45%, CV(b)=1.61%

(1) เปรียบเทียบทางด้านสถิติ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาเดียวกันและอายุการ เก็บรักษา 0-28 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

เมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ถ้าเมล็ดเชื้อพันธุ์ยังไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้น ซึ่งในการทดลองมีความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 18 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ภายในระยะเวลา 28 เดือน จากความงอกเริ่มต้น 94 เปอร์เซ็นต์ เหลือความงอก 40 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มลดลง ขณะที่เมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นทุกระดับ พบว่าภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 28 เดือน ยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ยังคงเหลือความงอก 51, 54 และ 61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 1.1.2) ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ก่อนการเก็บรักษาควรลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้ต่ำลงตั้งแต่ 8 เปอร์เซ็นต์ลงไป จะทำให้การเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น

ตารางที่ 1.1.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 18 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ (%) (1)			
	4%	6%	8%	18%(เริ่มต้น)
0	94.00a	94.00a	94.00a	94.00a

กรมวิชาการเกษตร

2	90.67b	90.67b	90.00b	83.33b
4	88.67bc	89.33bc	85.33c	78.67c
6	86.67cd	86.67c	84.00cd	77.33c
8	84.00d	82.00d	82.67d	72.67d
10	77.33e	73.33e	67.33e	62.00e
12	74.67e	69.33f	64.00f	55.33f
14	69.33f	68.00fg	63.33f	54.00f
16	68.67f	65.33gh	60.67g	52.67fg
18	68.67f	64.67h	60.00gh	50.00gh
20	66.67fg	64.00hi	58.00h	47.33hi
22	65.33g	64.00hi	58.00h	46.67i
24	64.67g	61.33ij	55.33i	46.67i
26	64.00gh	59.33j	54.00i	45.33i
28	61.33h	54.00k	50.67j	40.00j

CV(a)=2.45%, CV(b)=2.8%

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาเดียวกันและอายุการเก็บรักษา 0-28 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

สำนักวิชาการเกษตร

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่ระดับความชื้นเมล็ดเชื้อพันธุ์ 18, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ได้นาน 28 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ไม่แตกต่างกันคือ 46, 59, 63 และ 69 ตามลำดับ (ตารางที่ 1.1.3) และมีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 1.1.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 18 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ (%) (1)			
	4%	6%	8%	18%(เริ่มต้น)
0	94.00a	094.00a	94.00a	94.00a
2	92.00a	93.67a	91.33ab	89.33b
4	84.67b	89.33b	89.33b	84.00c
6	84.00b	88.67b	88.67b	82.67c
8	82.67bc	84.00c	83.00c	73.33d

10	80.00cd	75.33d	75.33d	68.67e
12	79.33d	74.67d	72.67de	66.00f
14	76.00e	73.33de	70.67e	65.33f
16	74.00ef	71.33ef	67.33f	64.00f
18	74.00ef	70.00fg	65.33fg	64.00 f
20	73.33ef	68.67gh	64.00gh	60.00g
22	72.67f	68.00gh	63.33gh	59.33gh
24	72.67f	68.00gh	62.67gh	57.33hi
26	72.00fg	67.33h	62.00hi	56.67i
28	69.33g	62.67i	59.33i	46.00j

CV(a)=2.45%, CV(b)=2.3%

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาเดียวกันและอายุการเก็บรักษา 0-28 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

ความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา

ผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา (18, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์) อุณหภูมิการเก็บรักษา (อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส -10 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาการเก็บรักษา (0-28 เดือน) มีปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กันอย่างมีนัยสำคัญต่อความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา

เมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25±2 ℃, ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5 %) ถ้าไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้น พบว่าสามารถเก็บได้ถึง 28 เดือน แต่มีความงอกเหลือเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นเหลือ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 28 เดือน ยังคงเปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 41, 49 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาที่ยังไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้นกลับมีความมีชีวิตอยู่ได้นานถึง 28 เดือน แต่มีความงอก 38 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นที่ระดับ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ยังคงมีแนวโน้มรักษาระดับเปอร์เซ็นต์ความงอกไว้ได้โดยเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 28 เดือน ยังมีความงอกอยู่ที่ 55, 58 และ 61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ทุกระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์สามารถเก็บรักษาได้ หลังผ่านการเร่งอายุเมล็ดเชื้อพันธุ์เพื่อทดสอบความแข็งแรงยังคงความงอก 49, 60, 69 และ 72 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 28 เดือน แต่ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 18, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มการลดลงของเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าทุกระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์(ตารางที่ 1.1.4)

อภิปรายผล (Discussion)

จากผลการทดลองที่ได้ข้อมูลมาระดับหนึ่งว่า อัตราเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความมีชีวิต และเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา นั้นมีอัตราลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอาจเนื่องจาก ในเมล็ดดาวอินคาด้วยมีปริมาณน้ำมันสูงถึง 54 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนสูงถึง 27 เปอร์เซ็นต์ (Hamaker *et al*., 1992. Follegatti-Romero *et al*., 2009) โดยพืชน้ำมันที่มีส่วนประกอบของน้ำมันสูง ไขมันจะถูกออกซิไดซ์เป็นกรดไขมันอิสระได้ง่าย (Clark, 1975) เช่นเดียวกับการทดลองของ Fausto

ศูนย์วิทยทรัพยากร

et.al., 2014 ทำการเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคาที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 30 วัน ทำให้น้ำมันในเมล็ดมีการ Oxidation เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณ tocopherol สารตั้งต้นวิตามินอี ลดลงเล็กน้อยและพบว่าระหว่างการเก็บรักษานั้น มี Antioxidant capacity สูงขึ้น กรดไขมันตัวอื่นเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย จาก Alpha-linolenic acid หรือโอเมก้า 3 รวมตัวกับออกซิเจนมากกว่าตัวอื่น ซึ่งกรดไขมันอิสระนี้มีผลต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยจะทำให้การงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง (Bewly, 1978) ซึ่งสอดคล้องการการทดลองโดยอัตราการงอกลดลงเรื่อยๆ ในทุกระยะของการเก็บรักษา เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูงจะทำให้เมล็ดพันธุ์มีเมตาบอริซึมสูง ส่งผลให้เมล็ดเกิดกิจกรรมต่างๆ ทางชีวเคมีในเมล็ดทำให้เกิดการสูญเสียอาหารสะสมรวมทั้งไขมัน จึงทำให้เกิดกรดไขมันอิสระ ซึ่งสะสมมากขึ้นตามอายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเมมเบรนและจะแสดงออกมาในรูปของค่าการนำไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้น โดยจะไปขัดขวางกิจกรรมของเอนไซม์ต่างๆ มีกิจกรรมลดลง เมล็ดพันธุ์มีการหายใจลดลง ส่งผลให้พลังงานในรูปเอทีพี (ATP) และอาหารที่ต้องใช้สำหรับเมล็ดที่กำลังงอกลดลงไปด้วย จึงทำให้เมล็ดมีความงอกและความแข็งแรงลดต่ำลง (ดวงจันทร์, 2529) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้

ตารางที่ 1.1.4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-18 เปอร์เซ็นต์ ก่อนเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 28 เดือน

สภาพการเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	4%	6%	8%	18%(เริ่มต้น)
อุณหภูมิห้อง					
	0	94.00a	94.00a	94.00a	94.00a
	2	88.67 b	88.00b	88.00b	79.33b
	4	86.67bc	84.67c	86.67b	76.67bc
	6	84.00cd	81.33d	82.67c	74.67cd
	8	82.00de	77.33e	77.33d	72.00d
	10	80.00ef	73.33f	72.00e	66.00 e
	12	78.67f	72.67f	68.00 f	63.33e
	14	74.67g	72.67f	65.33fg	58.00f
	16	72.00g	66.67g	63.33gh	53.33g
	18	68.67h	64.00gh	60.67h	49.33h
	20	66.67hi	62.67 hi	57.33 i	47.33 hi
	22	64.67ij	60.67ij	54.67ij	46.67hi
	24	64.67ij	58.00j	54.00j	45.3 i
	26	63.33j	53.33k	50.67 k	42.00j
	28	57.33k	48.6l7	41.33l	30.67k
5 องศาเซลเซียส					
	0	94.00a	94.00a	94.00a	94.00a
	2	89.33b	90.00b	89.33b	88.00b
	4	88.67b	89.33b	88.00bc	86.67b
	6	86.00c	84.67c	86.00c	81.33c
	8	85.33c	83.33c	82.00d	73.33d
	10	82.67d	80.67d	76.67e	70.00e
	12	79.33e	77.33e	74.67e	64.67f
	14	77.33e	75.33e	67.33f	58.67g
	16	72.67f	68.00f	65.33fg	56.67gh

กรมวิชาการเกษตร

	18	67.33g	64.67g	64.00gh	54.00 hi
	20	66.00gh	64.67g	61.33hi	52.67ij
	22	66.00gh	64.00g	59.33ij	50.67jk
	24	64.67hi	63.33g	58.67ij	48.00kl
	26	62.67ij	60.67h	56.67jk	46.67l
	28	60.67j	58.00i	55.33k	38.00m

สภาพการเก็บรักษา	**ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)**	**4%**	**6%**	**8%**	**18%(เริ่มต้น)**
-10 องศาเซลเซียส					
	0	94.00a	94.00a	94.00a	94.00a
	2	88.67b	90.00b	88.67b	85.33b
	4	86.67 b	88.67b	88.00b	80.00 c
	6	83.33c	84.67c	85.33c	79.33c
	8	82.67cd	82.67c	80.67d	76.00d
	10	80.67cd	79.33d	78.67d	74.67de
	12	80.00d	78.00d	73.33e	72.67e
	14	76.00e	74.67e	72.00e	66.67f
	16	76.00e	72.67ef	68.67f	65.33g
	18	75.33e	72.67ef	67.33fg	64.00gh
	20	75.33e	72.67ef	66.67fg	62.67h
	22	74.67ef	71.33fg	65.33gh	59.33i
	24	74.00ef	71.33fg	64.00 hi	58.67ij
	26	74.00ef	70.00fg	62.67i	56.67j
	28	72.00 f	69.33g	60.00 j	48.67k

CV(a)=2.87 %, CV(b)=1.88%

(1) เปรียบเทียบทางด้านสถมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมเดียวกัน และอายุการเก็บรักษา 0 - 28 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี LSD Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถบอกได้ว่าระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ก่อนการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาสามารถเก็บรักษาได้ภายในระยะเวลา 28 เดือน โดยเมล็ดที่มีความชื้น 18 เปอร์เซ็นต์ เก็บที่อุณหภูมิห้องมีความความงอกเพียงร้อยละ 19 และเมล็ดที่มีความชื้น 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เก็บที่อุณหภูมิห้องยังมีความความงอกสูงกว่าแต่เหลือไม่ถึงร้อยละ 50 ดังนั้นในการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคาให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน หรือในกรณีที่เกษตรกรต้องการเก็บรักษาไว้เพื่อทำพันธุ์ในฤดูปลูกถัดไปและเก็บรักษาพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องควรลดความชื้นของเมล็ดให้เหลือ 8 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการเก็บรักษาและเก็บไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาคุณภาพของเมล็ดเชื้อพันธุ์ ก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

การทดลองที่ 2

เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็งเพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

Cryopreservation Technique of *Sponge* Gourd *(Luffa aegyptiaca)* Seed Storage for Conservation and Utilization in Genebank

ชื่อผู้วิจัย

อัสนี ส่งเสริม

Assanee Songserm

กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์

Kunyaporn Pipithsangchan

เสาวณี เดชะคำภู

Saowanee Dachakumpoo

ชลลดา สามพันพวง

Chollada Samphunphuang

กรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ (Key words)

บวบหอม หมายถึง พืชวงศ์แตง (Cucurbitaceae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Luffa aegyptiaca* Mill. ชื่อสามัญว่า Sponge gourd มีชื่อเรียกตามแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกันไปเช่น ในภาคกลางรียกว่า บวบหอม บวบกลม ในภาคเหนือเรียก มะบวบ มะบวบอ้ม มะนอยอ้ม ในเขตมลายูทางภาคใต้ เรียก กะตอร่อ เป็นต้น

การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง หรือ Cryopreservation หมายถึง การเก็บรักษาตัวอย่างในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีอุณหภูมิที่ระดับ -196 องศาเซลเซียส

บทคัดย่อ (Abstracts)

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็งเป็นทางเลือกหนึ่งในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชที่ช่วยลดขั้นตอนการนำเมล็ดออกปลูกฟื้นฟูเพื่อต่ออายุและเพิ่มปริมาณ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อได้ข้อมูลระดับความชื้นของเมล็ดที่เหมาะสมและเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง (-196 องศา

เซลเซียส) สำหรับเป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชสกุลบวบและเป็นข้อมูลบันทึกในระบบฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมพืช ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการและแปลงปลูกฟื้นฟูพันธุกรรมพืชของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ปทุมธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 วางแผนการทดลองแบบ Split split plot design จำนวน 4 ซ้ำ Main plot เป็นพันธุ์บวบหอม จำนวน 3 ตัวอย่างพันธุ์ คือ บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า Sub plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ด คือ ความชื้นเริ่มต้น(Control) 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ Sub-subplot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0(Control) 7 และ 180 วัน ผลการทดลอง พบว่า เมื่อลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าให้มีระดับความชื้นที่ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ นั้น เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวและบวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดเริ่มต้น 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นของเมล็ด 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นของเมล็ดเริ่มต้นและ 4 เปอร์เซ็นต์ ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง สำหรับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน พบว่าความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง จากการทดลอง พบว่า ระดับความชื้นของเมล็ดที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่าง ในสภาพเยือกแข็ง ได้แก่ ระดับความชื้นในช่วง 6 - 8 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากบวบหอมมีความแข็งแรงมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นเริ่มต้น และ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเมล็ดบวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ไปปลูกทดสอบในสภาพแปลงปลูก พบว่า บวบหอมยาว และบวบหอมสั้นมีการเจริญเติบโตได้ดีทุกระยะ ตั้งแต่ ระยะต้นกล้า ระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น ระยะออกดอก ระยะติดผล จนถึงระยะเก็บเกี่ยว ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นสอดคล้องกับข้อมูลที่ปรากฏในคำบรรยายลักษณะพืช ในขณะที่ บวบหอมป่า มีการเจริญเติบโตได้ดีในระยะต้นกล้า และระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น แต่เมื่อเข้าสู่ระยะออกดอก จนถึงระยะติดผลและเก็บเกี่ยว พบว่า มีการเจริญเติบโตที่ล่าช้า ให้ผลผลิตน้อย และผลผลิตมีคุณภาพต่ำ

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Cryopreservation is an alternative technique for plant germplasm conservation that can lessen field regeneration process. This research aimed to investigate the optimum moisture content of sponge gourd seed for cryopreservation (-196 °C) that can be used as practical guideline in *luffa* spp. seed storage and as basic data for database recording. This research was conducted at laboratory section and regeneration field of Genebank and Microorganism Research and Development Group, Biotechnology Research and Development Office, Pathumthani from October 2018 to September 2021. Split split plot design with 4 replicates was applied in this study. Main plot was the sample of sponge gourd (*Luffa aegyptica*) comprising

Buab Hawm Yao, Buab Hawm San and Buab Hawm Pah. Sub plot was the percent of Seed Moisture Content (MC): (1) Initial MC% (Control), (2) 8%, (3) 6 % and (4) 4%. Sub-subplot was the storage time, namely 0 day, 7 days and 180 days. It was revealed that when stored all seeds in liquid nitrogen for 0, 7 and 180 days, Buab Hawm Yao and Buab Hawm San seeds with MC at Control 8 and 6 % showed no changes germination but their seeds with 4% of MC had declination of germination, meanwhile seed germination of Buab Hawm Pah seeds with MC at Control and 4% decreased. The findings indicated that seed vigor of all samples decreased after storing in liquid nitrogen for 0, 7 and 180 days. Due to the data of seed vigor, it can be assumed in this study that the optimum seed moisture content of all sponge gourd seeds was in the range of 6 – 8 %. The study about the growth of Buab Hawm Yao, Buab Hawm San and Buab Hawm Pah in the field after being stored in cryopreservation showed that Buab Hawm Yao and Buab Hawm San had good growth and showed normal morphological characteristics in all stages. On the other hand, Buab Hawm Pah had normal growth only from seedling stage to vegetative stage. It was found that Buab Hawm Pah showed reduction in plant growth, lower yield and inferior product quality in flowering and harvesting stages.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ (Introduction)

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

บวบหอมเป็นผักสวนครัวที่ปลูกกันทั่วไปในประเทศไทย สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น บริโภคผลสด ใช้ประโยชน์จากเส้นใย รวมถึงสรรพคุณด้านสมุนไพรรักษาโรค โดยเฉพาะสาระสำคัญที่พบในส่วนต่างๆของบวบหอม อาทิเช่น ยอดอ่อนของมีฤทธิ์ขับปัสสาวะและขับน้ำนม ใบมีสรรพคุณในการดับร้อนถอนพิษ แก้ไอ ขับเสมหะแก้อักเสบ น้ำจากใบสดใช้ทาแก้กลากบนหัวใบตากแห้งบดเป็นผงใช้ห้ามเลือด แต่ที่โดดเด่น คือ เมล็ด มีสาร Cucurbitacin B ซึ่งเป็นหนึ่งในสารที่ใช้กันมากในห้องทดลองเพื่อศึกษาวิจัยการยับยั้งของเนื้องอก และสาร Saponin ซึ่งมีจุดเด่นในการลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือด บำรุงกระดูก เสริมภูมิคุ้มกันและต้านเซลล์มะเร็งเช่นกัน

ปัจจุบัน ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ยังขาดแคลนข้อมูลการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชสกุลบวบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (-196 องศาเซลเซียส) ด้วยเหตุนี้ คณะวิจัยเล็งเห็นว่า การศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง นอกเหนือจากการเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ระยะปานกลาง (5 องศาเซลเซียส) และห้องอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ระยะยาว (-10 องศาเซลเซียส) น่าจะเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่งที่สามารถลดขั้นตอนการนำเมล็ดออกไปปลูกต่ออายุ เป็นการประหยัดพื้นที่และประหยัด

ค่าใช้จ่ายโดยเฉพาะค่าบำรุงรักษาห้องเย็นและค่าไฟ ซึ่งเป็นงบประมาณจำนวนมากในแต่ละปีได้ ทั้งยังเป็นการลดความเสี่ยงจากปัจจัยต่างๆ เช่น การล้มเหลวของระบบไฟฟ้า ภัยธรรมชาติ (อาทิ เช่น อุทกภัย) ได้อีกด้วย โดยสามารถประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติงานของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชในการเก็บรักษาพืชสกุลบวบอื่นๆ ได้ในเบื้องต้น ตลอดจนบันทึกเป็นข้อมูลในระบบฐานข้อมูลพันธุกรรมพืชของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชสำหรับการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ต่อไป

วัตถุประสงค์ที่ของงานวิจัย

เพื่อได้ข้อมูลระดับความชื้นของเมล็ดที่เหมาะสมและเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง (-196 องศาเซลเซียส) สำหรับเป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชสกุลบวบและเป็นข้อมูลบันทึกในระบบฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมพืช

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง (-196 องศาเซลเซียส) โดยการนำเทคนิคและวิธีการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งของพืชอื่นมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้อย่างเป็นระบบ

กรมวิชาการเกษตร

การทบทวนวรรณกรรม (งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ให้นำไปรวมในบทนำ)

พืชวงศ์แตง (Cucurbitaceae) มีการเพาะปลูกเพื่อเป็นแหล่งอาหารแก่มนุษย์มาเป็นเวลานานกว่า 10,000 ปี ลักษณะเด่น คือ มีลักษณะเป็นเถาเลื้อย มีมือเกาะช่วยพยุงลำต้น หรือ tendril ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกกันอยู่ในต้นเดียวตัวอย่าง พืชในวงศ์นี้ที่มีการเพาะปลูกอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ได้แก่ แตงกวา เมล่อน แตงไทย แตงโม ฟักทอง น้ำเต้า บวบ เป็นต้น พืชวงศ์แตงนับได้ว่าเป็นพืชที่มีความสำคัญพืชหนึ่งของโลก ส่วนใหญ่ปลูกไว้เพื่อรับประทานผล ในขณะที่ส่วนอื่นก็สามารถบริโภคได้ ไม่ว่าจะเป็น ดอก ใบ ยอดอ่อน รากสะสมอาหาร และเมล็ด เนื้อเยื่อส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารรสขมชื่อ terpenoid และ cucurbitacins ซึ่งพบว่าส่วนที่มีสารเหล่านี้ในปริมาณน้อย จะปลอดภัยต่อการบริโภคสด รวมถึงการแปรรูป หรือตากแห้ง นอกจากนี้ พืชวงศ์แตงมีประโยชน์ในด้านการรักษาโรค ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีการใช้มะระตากแห้งเพื่อรักษาอาการตกเลือด เก๊าท์ ข้ออักเสบ อาการผิดปกติของผิวหนัง แผลพุพอง และพยาธิ เป็นต้น ผลผลิตของพืชวงศ์แตงทั่วโลกตามรายงานตามสถิติของ FAO ในปี 2547 มีมากถึง 177 ล้านตัน จากพื้นที่เพาะปลูก 8.3 ล้านเฮกตาร์ ในเขตอบอุ่น มีการปลูกพืชวงศ์แตงปีละ 1 ครั้ง เนื่องจากมีฤดูปลูกที่ยาวนาน ขณะที่พืชวงศ์แตงในเขตร้อนสามารถปลูกได้ตลอดปี เฉพาะการปลูกแตงไทยเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์มีมากถึง 584,000 ตัน จากพื้นที่เพาะปลูก 608,000 เฮกตาร์

บวบ หรือ Loofah เป็นหนึ่งในพืชวงศ์แตงที่น่าสนใจ มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นของทวีปเอเชีย ประโยชน์ของบวบนอกจากบริโภคผล ยังมีประโยชน์อื่นๆ อีก อาทิเช่น การนำส่วนของใยหรือรังบวบ(ผลแก่)ของบวบหอมใช้ทำความสะอาดรถยนต์และเครื่องใช้ภายในครัวเรือนและใช้ประดิษฐ์เป็นเครื่องกรองของเครื่องจักรต่างๆ ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณด้านยารักษาโรค เช่น ยารักษาสตรีที่ตกเลือดริดสีดวงทวารหนักบิด เจ็บคอ เป็นต้น โดยบวบสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ บวบเหลี่ยม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Luffa acutangula Roxb. เป็นพืชฤดูเดียว (annual) ผลมีลักษณะเป็นเหลี่ยมหลายเหลี่ยมประมาณ 9-10 เหลี่ยม สีผล

แตกต่างกัน พบทั้งสีอ่อนจนถึงสีเขียวเข้ม ขนาดความยาวผลแตกต่างกันไป มีทั้งผลสั้นและผลยาว ดอกบานในเวลาตอนเย็น โดยบานตั้งแต่เวลา 17.30 น. เป็นต้นไป (เมฆ, 2541) นิยมบริโภคกันมากในประเทศฮ่องกง จีน อินเดีย และไทย เนื้อในผลอ่อนมีความนุ่ม ชุ่มน้ำ ใช้ ประกอบเป็นอาหาร เนื้อสดประกอบด้วยน้ำร้อยละ 95.4 สารประกอบน้ำตาลร้อยละ 3 และธาตุฟอสฟอรัสร้อยละ 0.024 (วันดี และคณะ, 2541) และบวบหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Luffa aegyptiaca Mill. มีชื่อเรียกตามแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกันไปเช่น ในภาคกลางเรียกว่า บวบหอม บวบกลม ในภาคเหนือเรียก มะบวบ มะบวบอ้ม มะนอยอ้ม ในเขตมลายูทางภาคใต้ เรียก กะตอร่อ เป็นต้น (วิทย์, 2542) ภายในผลเต็มไปด้วยเส้นใยที่เหนียวมาก มีลักษณะเป็นร่างแห ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ คือ ผลสด เส้นใยจากผล ยอดอ่อน และน้ำมันจากเมล็ดแก่ เมล็ดมีสาร Cucurbitacin B และ Saponin โดยสาร Cucurbitacin B นั้น เป็นหนึ่งในสารที่ใช้กันมากในห้องทดลองเพื่อศึกษาวิจัยการยับยั้งของเนื้องอก และพบว่าสามารถต้านเซลล์มะเร็งตับอ่อนและมะเร็งเต้านมและสาร Saponin มีจุดเด่นในการลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือด บำรุงกระดูก เสริมภูมิคุ้มกันและต้านเซลล์มะเร็งเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ยอดอ่อนของบวบหอมมีฤทธิ์ขับปัสสาวะและขับน้ำนมได้ และใบมีสรรพคุณในการดับร้อนถอนพิษ แก้ไอ ขับเสมหะ แก้อักเสบ น้ำจากใบสดใช้ทาแก้กลากบนหัวใบตากแห้งบดเป็นผงใช้ห้ามเลือด (วิทิต, 2552)

บวบหอม เป็นพืชผักฤดูเดียว เติบโตเป็นทอดยอด เป็นไม้เถาล้มลุก ลำต้นอ่อนและยอดจะมีขนที่อ่อนนุ่ม เมื่อลำต้นแก่ ขนก็จะหลุดร่วงไป ลักษณะลำต้นเป็นเถาเหลี่ยมมีความยาวประมาณ 7-10 เมตร และจะมีมือยึดเกาะเป็นเส้นยาวประมาณ 3 เส้น ใบ จะออกตรงข้ามกัน หลังใบจะมีสีเขียวแก่ ส่วนท้องใบมีสีเขียวอ่อน ความกว้างใบประมาณ 15-25 ซม. และยาวประมาณ 8-25 ซม. รอยเส้นใบนูนชัดเจนประมาณ 3-7 เส้น ก้านใบมีขนอ่อนนุ่มและเป็นเหลี่ยม ยาวประมาณ 4-9 ซม. ดอก จะมีทั้งดอกตัวผู้ และดอกตัวเมียในต้นเดียวกัน โดยดอกตัวเมียมักออกเป็นดอกเดี่ยว แต่บางครั้งอาจออกติดกับดอกตัวผู้ในช่อดอกเดียวกัน กลีบเลี้ยงจะแยกเป็น 5 กลีบ ผิวนอกจะปกคลุมไปด้วยขนอ่อนนุ่มสั้นๆ กลีบดอกมีสีเหลือง แต่ละกลีบจะมีรูปร่างกลมรี ตรงขอบมีรอยย่นเป็นคลื่น มีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 3-5 ซม. ผล มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ตรงปลายจะมีรอบกลีบเลี้ยงเหลืออยู่ ผลยาวประมาณ 16-60 ซม. กว้างประมาณ 5-10 ซม. ผลอ่อนจะเป็นสีเขียวและมีลายเป็นสีเขียวแก่ ผิวข้างนอกจะเป็นนวลขาว ส่วนผลแก่ จะเป็นสีเขียวแกมเหลือง หรือเขียวเข้มออกเทา เนื้อผลข้างในจะมีเส้นใยที่มีความเหนียวมากลักษณะเป็นร่างแห เมล็ดมีรูปร่างแบนรี ขนาดประมาณ 1.0 x 1.5 ซม. หนา 0.2 ซม. เปลือกของเมล็ดบวบหอมจะมีสีดำ ผิวเรียบ เปลือกแข็ง หนา และเป็นมัน รอบข้างเมล็ดมีแผ่นปีกสีดำ บาง ขนาดเล็กอยู่ (ปราณี, 2550) ผลบวบหอมบางสายพันธุ์จะมีรสขม เรียกว่า บวบขม โดยมีความยาวผลราว 10 ซม.

การเก็บรักษาพันธุกรรมในสภาพเยือกแข็งสามารถชะงักกระบวนการเคมีที่ส่งผลต่อการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ได้ ซึ่งการเก็บรักษาแบบนี้เป็นการหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลายและแบ่งเซลล์โดยสิ้นเชิง (Lambardi et al., 2005) โดยเยื่อหุ้มเซลล์ทำหน้าที่เสมือนกำแพงทางกายภาพปกป้ององค์ประกอบภายในของเซลล์เพื่อไม่ให้ถูกทำลายจากความเย็นต่ำกว่าระดับเยือกแข็ง (Engelmann, 200) เมื่อละลายเกล็ดน้ำแข็งออกเซลล์ยังคงมีชีวิตดังเดิม เมล็ดภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดไม่มีปฏิกิริยาการย่อยสลายเป็นผลทำให้ไม่มีการเสื่อมชีวิต (deterioration) และไม่มีความจำเป็นที่จะต้องนำเมล็ดไปปลูกเพื่อสืบทอดพันธุ์ ในช่วงเวลาของการเก็บรักษาพันธุ์แต่อย่างใด เป็นการลดปัญหาอันเนื่องจากการกลายพันธุ์ การผสมข้าม หรือข้อผิดพลาดจากการปฏิบัติงาน เมื่อใดต้องการทำพันธุ์สามารถนำไปปลูกได้ทันที การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนี้สามารถเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จำนวนมากได้ในพื้นที่จำกัด ไม่ต้องใช้กระแสไฟฟ้าเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย

ปัจจุบันมีงานวิจัยหลายงานที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็ง และส่วนใหญ่ประสบผลสำเร็จ อาทิ Dussert et al. (1997) ได้ศึกษาวิจัยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กาแฟในสภาพเยือกแข็ง

กรมวิชาการเกษตร

ผลการศึกษาพบว่าเมล็ดพันธุ์กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่ใช้ทดลองซึ่งผ่านกระบวนการ precooling ด้วยอุณหภูมิ –50 องศาเซลเซียส ก่อนการนำไปแช่ในไนโตนเจนเหลวนั้นมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง 70% และสามารถพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่ปกติ การทดลองนี้จึงเป็นการยืนยันว่าสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กาแฟในไนโตรเจนเหลวได้ทั้งเมล็ดโดยยังคงความมีชีวิต

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

1. ประเด็นวิจัย

ศึกษาข้อมูลระดับความชื้นของเมล็ดที่เหมาะสมและเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง (-196 องศาเซลเซียส) สำหรับเป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชสกุลบวบและเป็นข้อมูลบันทึกในระบบฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมพืช

2. สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และแปลงปลูกฟื้นฟูพันธุกรรมพืช กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ปทุมธานี

3. ระยะเวลาดำเนินงาน

เดือนตุลาคม 2561 - กันยายน 2564

4. วิธีการดำเนินการ

วางแผนการทดลองแบบ Split Split Plot Design จำนวน 4 ซ้ำ

- Main plot คือ พันธุ์บวบหอม จำนวน 3 ตัวอย่างพันธุ์ ได้แก่ บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า
- Sub plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ความชื้นเริ่มต้น (Control) 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์
- Sub sub plot ระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ระยะเวลา 0 (Control) 7 และ 180 วัน

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย มีดังนี้

4.1 รวบรวมเมล็ดพันธุ์บวบหอมสำหรับใช้ในการทดลอง

- ปลูกขยายเพื่อรวบรวมเมล็ดพันธุ์บวบหอมในแปลง เนื่องจากบวบเป็นพืชผสมข้าม ด้วยเหตุนี้ เพื่อหลีกเลี่ยงการปะปนสายพันธุ์และเพื่อให้ได้ปริมาณเมล็ดมากพอสำหรับการทดลอง จึงจำเป็นต้องช่วยในการผสม โดยระยะเวลาในการปลูกเพื่อรวบรวมเมล็ดพันธุ์ อย่างน้อย 60 วัน โดยให้ผลแห้งแก่เต็มที่ จึงเก็บเกี่ยวผลลิต

4.2 ทดสอบความงอกและทดสอบความแข็งแรงเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ก่อนการทดลอง ตามหลัก ISTA Rule

- ทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอม โดยวิธีเพาะระหว่างกระดาษ (Between paper- BP)
- วิธีทดสอบความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test- AA test)

4.3 ลดความชื้นเมล็ดพันธุ์บวบหอม โดยใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตรให้ได้ระดับความชื้นที่ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์

4.4 นำเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่ผ่านการลดความชื้นจนถึงระดับต่างๆ มาทดสอบสอบความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ตามหลัก ISTA Rule

4.5 เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่มีระดับความชื้นต่างๆ ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วัน

กรมวิชาการเกษตร

4.6 เพาะทดสอบความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์นำเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่ผ่านการแช่ในถังบรรจุไนโตรเจนเหลว โดยก่อนทำการทดสอบ ให้นำเมล็ดพันธุ์ออกมาละลายเกล็ดน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง

4.7 นำเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ออกปลูกเพื่อทดสอบเจริญเติบโตและการรอดชีวิต โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเกษตรเบื้องต้น

- นำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง มาหยอดเมล็ดลงในแปลงปลูกโดยตรง ปลูกแบบ Systematic Arrangement จำนวน 4 ซ้ำ เมื่อต้นกล้ามีอายุประมาณ 10-14 วัน ถอนแยกให้เหลือต้นที่สมบูรณ์ ระยะปลูก 90 x 90 ซม. ใช้ปุ๋ยคอกใส่ก้นหลุมก่อนปลูก บวบจะเลื้อยทอดยอดที่อายุประมาณ 15-20 วันหลังหยอดเมล็ด ทำค้างเป็นรูปสามเหลี่ยมหรือสี่เหลี่ยมเพื่อให้เถายึดเกาะ ระยะออกดอกเริ่มที่อายุประมาณ 42-70 วันหลังหยอดเมล็ด ระยะผลอ่อนเริ่มที่อายุ 63-91 วันหลังหยอดเมล็ด

- ระบบปลูกที่ใช้ในการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุลบวบตามการวางแผนปลูกทดสอบ (Test Design) ของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร มีรายละเอียดดังนี้

  - ระยะห่างระหว่างแถวปลูก 3 เมตร
  - ระยะห่างระหว่างต้น 1 เมตร
  - 1 ตัวอย่าง ประกอบด้วย 2 แปลง (ซ้ำ)
  - 1 แปลง (ซ้ำ) ประกอบด้วย 24 ต้น

- ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น โดยศึกษาลักษณะต่างๆ ได้แก่ ระยะการเจริญเติบโต (Vegetative Growth Stage) ระยะออกดอกและติดผล (Inflorescences and Fruit Stage) และระยะเก็บเกี่ยว (Harvesting Stage)

สำหรับรายละเอียดวิธีการทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง มีดังนี้

การทดสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์ ตามคำแนะนำของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (International Seed Testing Association - ISTA) โดยใช้ตู้อบความร้อน (Hot air oven) สรุปขั้นตอนได้ดังนี้

1. เคล้าเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง โดยระวังไม่ให้เมล็ดสัมผัสอากาศเป็นเวลานาน จากนั้นสุ่มเมล็ดมาเพื่อนำไปบด

2. บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด จากนั้นสุ่มเมล็ดที่บดแล้วตัวอย่างละประมาณ 4-5 กรัม นำมาบรรจุใส่กระป๋องอลูมิเนียมสำหรับทดสอบหาความชื้น จำนวนซ้ำละ 2 กระป๋อง

- นำตัวอย่างเข้าตู้อบความร้อนโดยใช้อุณหภูมิในการอบ 103± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ชั่วโมง เปิดฝากระป๋องบรรจุตัวอย่างบดขณะเข้าตู้อบโดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้กระป๋อง เมื่อครบกำหนดเวลาในการอบให้รีบปิดฝาครอบทันที จากนั้นนำกระป๋องที่บรรจุตัวอย่างบดออกจากตู้อบ แล้วนำมาเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 30 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนัก

สูตรคำนวณความชื้นของเมล็ด ดังนี้

$$\frac{M2 - M3}{M2 - M1} \times 100$$

โดย M1 คือ น้ำหนักหน่วยกรัม (ทศนิยมอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง) ของภาชนะและฝาปิด

M2 คือ น้ำหนักหน่วยกรัม (ทศนิยมอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง) ของภาชนะ ฝาปิด และเมล็ดก่อนอบ

M3 คือ น้ำหนักหน่วยกรัม (ทศนิยมอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง) ของภาชนะ ฝาปิด และเมล็ดหลังอบ

การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์

กรมวิชาการเกษตร

ใช้วิธีเพราะทดสอบความงอกของเมล็ดด้วยวิธี Between paper ตามคำแนะนำของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (International Seed Testing Association - ISTA) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. เตรียมเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองสำหรับเพาะทดสอบ

2. ใช้กระดาษเพาะความงอกหนา 2-3 ชั้น วางในกล่องพลาสติกสำหรับเพาะ ให้ความชื้นแก่กระดาษเพาะ จากนั้นเกลี่ยเมล็ดพันธุ์ให้กระจายและมีระยะห่างระหว่างเมล็ดสม่ำเสมอ เพาะจำนวน 100 เมล็ดต่อซ้ำ

3. ระยะเวลาในการทดสอบความงอก ประมาณ 12 วัน

4. ประเมินผลการทดสอบความงอก โดยตรวจสอบความงอกครั้งที่ 1 เมื่อต้นกล้ามีอายุ 4 วัน และครั้งที่ 2 เมื่อต้นกล้าอายุ 12 วัน โดยบันทึก และนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกปกติ} \times 100}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}}$$

การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test -AA test)

ใช้เมล็ดในการตรวจสอบความแข็งแรงอย่างน้อย 42 กรัม ใส่ในตะแกรงลวด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ขาตะแกรงสูง 3.5 เซนติเมตร วางภายในกระป๋องน้ำที่บรรจุน้ำ 120 ซีซี ปิดฝากระป๋องให้สนิท จากนั้นนำไปเร่งอายุในตู้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก

4.8 วิจารณ์ผลการทดลองและบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของบวบหอมที่ได้นำเมล็ดไปเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ลงสู่ฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมพืชของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ผลการวิจัย (Results)

1. การปลูกขยายเมล็ดพันธุ์บวบหอมในแปลงปลูกขยาย เพื่อรวบรวมเมล็ดเพื่อใช้ในการทดลอง โดยได้ดำเนินการดังนี้

- เตรียมเมล็ดพันธุ์บวบหอมเพื่อนำไปปลูกขยาย ได้แก่ บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า
- เพาะเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่เตรียมไว้ในกระบะเพาะขนาด 25 หลุม
- ดูแลรักษาต้นกล้าในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์
- บันทึกข้อมูลลักษณะต้นกล้าและความงอก
- เตรียมแปลงเพื่อปลูกขยายเมล็ดพันธุ์บวบหอม
- ย้ายกล้าบวบหอมจากโรงเรือนลงแปลงเพื่อปลูกขยาย ซึ่งตั้งอยู่ในบริเวณแปลงฟื้นฟูพันธุกรรมพืชของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร
- ดูแลรักษาต้นกล้าเพื่อรอการเจริญเติบโตจนถึงระยะเก็บเกี่ยวเมล็ด
- บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้อง เช่น วันที่ย้ายปลูก ลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางลักษณะ ศัตรูพืชที่พบ วันที่ให้ปุ๋ย ปัญหาและอุปสรรค เป็นต้น
- เก็บเกี่ยวผลบวบหอมแห้งที่ได้จากการปลูกขยาย
- ลดความชื้นผลบวบแห้งในห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (ความชื้นสัมพัทธ์ 15% อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 1: ข้อมูลแหล่งที่มาของเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองบวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า

ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์บวบหอม	แหล่งที่มา

กรมวิชาการเกษตร

1	บวบหอมยาว	ชะลอ การะเกด จุดเรียนรู้พลังงานชุมชน 70/2 ม.2 ต.ป่าคลอก อ. ถลาง จ.ภูเก็ต
2	บวบหอมสั้น	ดำรงค์ พ่อคำจันทร์ 112 ม.3 ต.พิมาน อ.นาแก จ. นครพนม
3	บวบหอมป่า	อ.วัฒนานคร จ.สระแก้ว

ภาพที่ 1: การเตรียมเพาะกล้าเมล็ดพันธุ์บวบหอม

ภาพที่ 2: การเตรียมแปลงสำหรับปลูกขยายเมล็ดพันธุ์บวบหอม

ภาพที่ 3: การย้ายต้นกล้าบวบหอมลงแปลง

ภาพที่ 4: แปลงปลูกขยายบวบหอมหลังย้ายกล้า

ภาพที่ 5: การดูแลรักษาต้นบวบ เช่น การให้ปุ๋ย การกำจัดวัชพืช

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 6: การจดบันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

ภาพที่ 8: ผลผลิตบวบหอมที่เก็บเกี่ยวได้

ภาพที่ 9: การลดความชื้นผลบวบหอมที่ได้จากการเก็บเกี่ยว
(ความชื้นสัมพัทธ์ 15% อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

2. การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์บวบหอมให้ได้ระดับที่ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขั้นตอนดังนี้

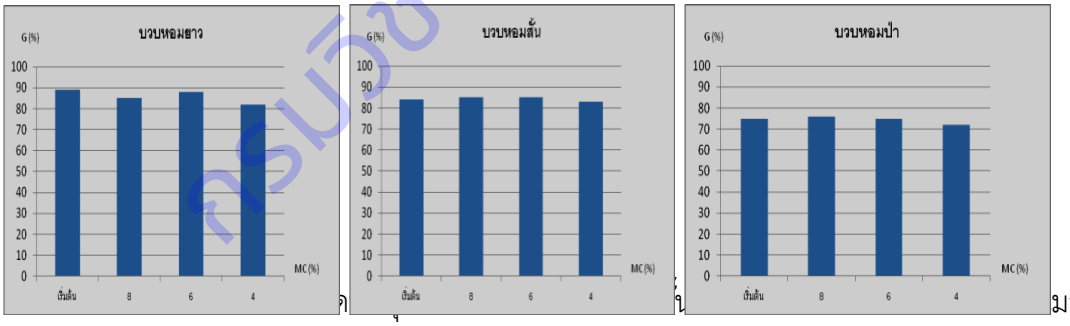
- ลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์บวบหอมให้ได้ระดับ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

- ทดสอบความงอกและความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test -AA test) ของเมล็ดพันธุ์บวบหอมหลังลดความชื้นให้ได้ระดับ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

ตารางที่ 2: ข้อมูลความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า หลังผ่านการลดความชื้นจนถึงที่ระดับ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์

ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์บวบหอม	ความชื้นของเมล็ด (%)	ความงอกของเมล็ด (%)
1	บวบหอมยาว	เริ่มต้น (12)	89
		8	85
		6	88
		4	82
2	บวบหอมสั้น	เริ่มต้น (10)	84
		8	85
		6	85
		4	83
3	บวบหอมป่า	เริ่มต้น (15)	75
		8	76
		6	75
		4	72

กรมวิชาการเกษตร

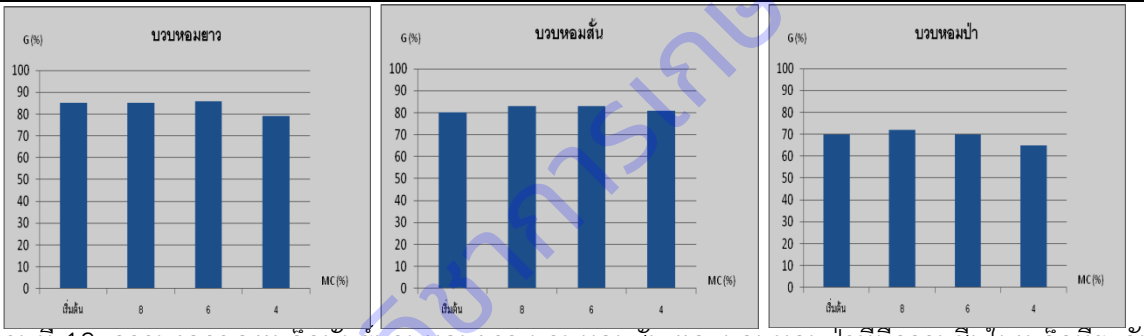


มล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ก่อนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

ภาพที่ 11: การเพาะทดสอบการงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอม โดยวิธี between paper

ตารางที่ 3: ข้อมูลความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นที่ระดับ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ หลังทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดด้วยวิธีเร่งอายุ

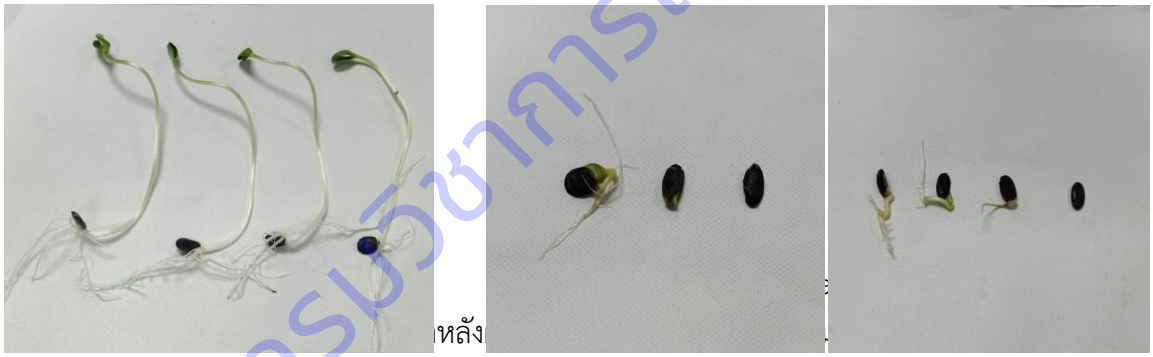
ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์บวบหอม	ความชื้นของเมล็ด (%)	ความงอกของเมล็ด (%)
1	บวบหอมยาว	เริ่มต้น (12)	85
		8	85
		6	86
		4	79
2	บวบหอมสั้น	เริ่มต้น (10)	80
		8	83
		6	81
		4	80
3	บวบหอมป่า	เริ่มต้น (15)	70
		8	72
		6	70
		4	65



ภาพที่ 12: ความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ หลังทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดด้วยวิธีเร่งอายุ

ภาพที่ 13: การทดสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test -AA test)

ภาพที่ 14: การทดสอบความงอกหลังผ่านการทดสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุ



หลัง

3. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง

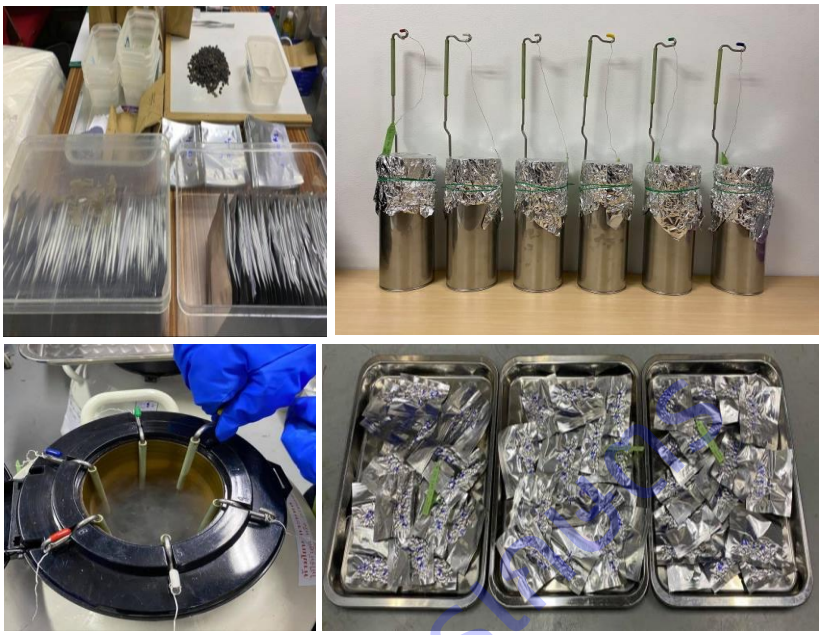
1. เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน

2. ทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน โดยวิธี Between paper ตามคำแนะนำของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (International Seed Testing Association - ISTA)

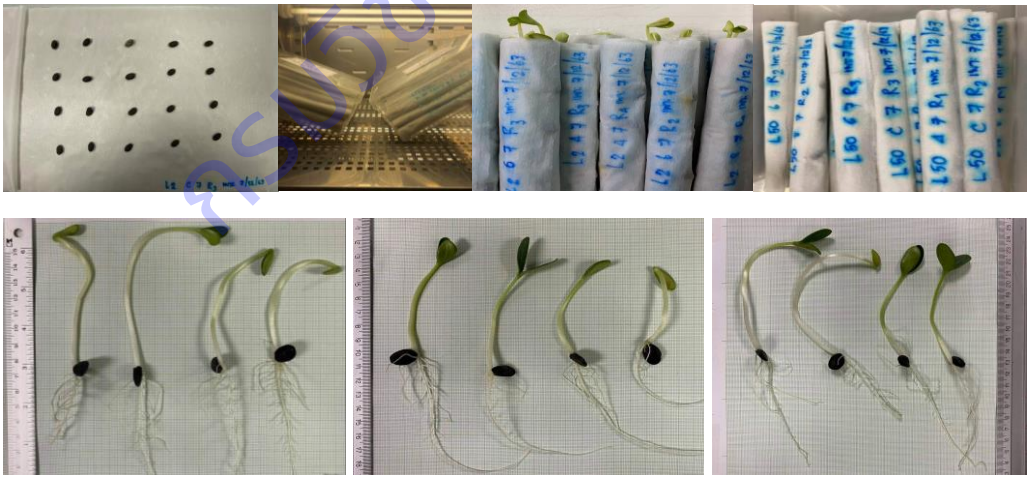
3. ทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน โดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test –AA test)

4. เตรียมพื้นที่และแปลงปลูกสำหรับการปลูกทดสอบเพื่อศึกษาเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

กรมวิชาการเกษตร



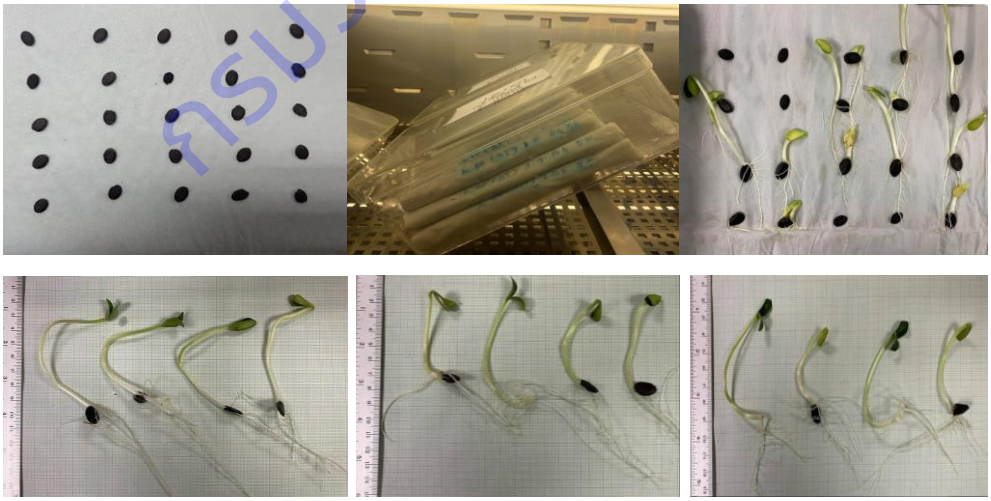
ภาพที่ 16: การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพเยือกแข็ง



บวบหอมยาว บวบหอมสั้น บวบหอมป่า

ภาพที่ 17: การเพาะทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน โดยวิธี Between paper

ภาพที่ 18: การทดสอบแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน โดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test –AA test)



ภาพที่ 19: การข บวบหอมยาว งผ่านการท บวบหอมสั้น เมล็ดพัน บวบหอมป่า บหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอรเซนต์ ซึ่งผ่านการเกบรกษาเนสภาพเยือกแข็ง เป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน โดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test –AA test)

กรมวิชาการเกษตร

จากตารางที่ 4 หลังเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วัน เมื่อนำมาทดสอบความงอกด้วยวิธี between paper ตากหลัก ISTA พบว่า เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น (control) เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 88.999 87.748 และ 86.999 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 8% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 85.748 84.496 และ 83.726 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 6% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 87.748 85.999 และ 86.739 ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 82.496 79.240 และ 78.496 ตามลำดับ

เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น (control) เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 84.496 82.998 และ 82.998 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 8% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 84.999 84.741 และ 83.741 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 6% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 84.999 84.493 และ 84.747 ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 82.744 80.485 และ 81.246 ตามลำดับ

เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น (control) เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 75.496 72.746 และ 70.496 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 8% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 75.497 74.491 และ 73.739 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 6% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 73.998 73.995 และ 73.738 ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 71.748 70.496 และ 69.248 ตามลำดับ

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่าง ในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วัน เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวและเมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น (control) 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในขณะที่เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นของเมล็ดเริ่มต้น (control) และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4: ข้อมูลความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นของเมล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วัน

ความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมหลังเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง(%)							
ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์	ระยะเวลาในการเก็บรักษา	ระดับความชื้น (%)				T-MEAN
			เริ่มต้น	8	6	4	

กรมวิชาการเกษตร

	บวบหอม	(วัน)					
1	บวบหอมยาว	0	88.999 a	85.748 a	87.748 a	82.496 a	86.248
		7	87.748 a	84.496 a	85.999 a	79.240 b	84.371
		180	86.999 a	83.746 a	86.739 a	78.496 b	83.995
2	บวบหอมสั้น	0	84.496 a	84.999 a	84.999 a	82.744 a	84.309
		7	82.998 a	84.741 a	84.493 a	80.485 b	83.179
		180	82.998 a	83.741 a	84.747 a	81.246 ab	83.183
3	บวบหอมป่า	0	75.496 a	75.479 a	73.998 a	71.748 a	74.185
		7	72.746 b	74.491 a	73.995 a	70.496 ab	72.932
		180	70.496 c	73.739 a	73.738 a	69.248 b	71.805
		M-MEAN	81.442	81.244	81.828	77.355	80.467

เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระยะเวลา 0 7 และ 180 วันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

การทดสอบความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test –AA test) ของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ภายหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วันเมื่อนำมาทดสอบความงอกด้วยวิธี between paper ตากหลัก ISTA พบว่าเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น (control) เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 85.494 81.740 และ 79.998 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 8% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 84.994 83.246 และ 82.496 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 6% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 85.492 82.739 และ 83.246 ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 79.496 74.998 และ 73.992 ตามลำดับ

เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น (control) เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 80.496 74.743 และ 72.746 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 8% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 82.744 80.496 และ 72.746 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 6% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 81.496 79.743 และ 80.243 ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 80.496 75.496 และ 74.740 ตามลำดับ

เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับเริ่มต้น (control) เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 70.242 64.491 และ 62.998 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 8% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 72.496 69.496 และ 67.495 ตามลำดับ เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ระดับ 6% เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 70.496 66.742 และ 68.247 ตามลำดับ และเมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้นของเมล็ดที่ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 65.246 59.992 และ 60.245 ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จากผลการทดลอง เมื่อทดสอบความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test –AA test) ของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ภายหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วัน โดยนำมาทดสอบความงอกด้วยวิธี between paper ตากหลัก ISTA พบว่า เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้น และเมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่ระดับความชื้นเริ่มต้น (control) 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน พบว่าความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5: ข้อมูลความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าที่มีความชื้นของเมล็ดที่ระดับ เริ่มต้น 8 6และ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วัน หลังทดสอบความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test –AA test)

ความงอกของเมล็ดพันธุ์บวบหอมหลังเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง(%)							
ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์บวบหอม	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	ระดับความชื้น (%)				T-MEAN
			เริ่มต้น	8	6	4	
1	บวบหอมยาว	0	85.494 a	84.994 a	85.492 a	79.496 a	83.869
		7	81.740 b	83.246 ab	82.739 b	74.998 b	80.681
		180	79.998 b	82.496 b	83.246 b	73.992 b	79.933
2	บวบหอมสั้น	0	80.496 a	82.744 a	81.496 a	80.496 a	81.308
		7	74.743 b	80.496 b	79.743 a	75.496 b	77.620
		180	72.746 b	79.246 b	80.243 a	74.740 b	76.744
3	บวบหอมป่า	0	70.242 a	72.496 a	70.496 a	65.246 a	69.620
		7	64.491 b	69.496 b	66.742 b	59.992 b	65.180
		180	62.998 b	67.495 c	68.247 b	60.245 b	64.747
		M-MEAN	74.772	78.079	77.605	71.633	75.552

เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ เริ่มต้น 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระยะเวลา 0 7 และ 180 วันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

4. การปลูกทดสอบเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

ผลการปลูกทดสอบเพื่อศึกษาเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น มีรายละเอียดดังนี้

4.1 ระยะต้นกล้า

พบว่า ต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 180 วัน มีลักษณะการเจริญเติบโตระยะต้นกล้าที่สมบูรณ์ โดยเมล็ดบวบหอมยาวและบวบหอมสั้นมีการงอกงอกเมล็ดครั้งแรกหลังเพาะอยู่ในช่วง 7-8 วัน บวบหอมป่ามีการงอกของเมล็ดครั้งแรกหลังเพาะอยู่ในช่วง 9 - 10 วัน ความงอกหลังเพาะ 14 วันคิดเป็นค่าเฉลี่ยที่ 69 เปอร์เซ็นต์ แบ่งเป็นบวบหอมยาวและบวบหอมสั้นมีค่าตั้งแต่ 75 – 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนบอบหอมป่ามีค่าตั้งแต่ 35 – 55 เปอร์เซ็นต์

ความยาวใบเลี้ยงเฉลี่ยของบวบทั้ง 3 ตัวอย่าง คือ 50.885 มิลลิเมตร ความกว้างใบเลี้ยงเฉลี่ยที่ 29.117 มิลลิเมตร สีใบเลี้ยงเป็นสีเขียว แบ่งเป็น บวบหอมยาว และบวบหอมสั้นมีสีเฉด Green Group 137B ในขณะที่บวบหอมป่ามีสีเฉด Green Group 137A ตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6: ข้อมูลลักษณะบวบหอมที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งระยะต้นกล้า

ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์บวบหอม	ความลื้นของเมล็ด	เมล็ดงอกครั้งแรกหลังเพาะ (วัน)	ความงอกหลังเพาะ 14 วัน (%)	ความยาวใบเลี้ยง (mm)	ความกว้างใบเลี้ยง (mm)	ขนาดใบเลี้ยง (อัตราส่วนระหว่างความยาว/ความกว้าง)	สีใบเลี้ยง	เฉดสีใบเลี้ยง
1	บวบหอมยาว	เริ่มต้น (12)	7	85	51.375	27.750	1.85	เขียว	Green Group 137B
		8	7	82	52.125	27.250	1.91	เขียว	Green Group 137B
		6	7	85	50.875	28.125	1.80	เขียว	Green Group 137B
		4	7	75	50.375	28.375	1.77	เขียว	Green Group 137B
2	บวบหอมสั้น	เริ่มต้น (12)	7	80	50.875	29.625	1.71	เขียว	Green Group 137A
		8	7	82	51.375	29.750	1.72	เขียว	Green Group 137A
		6	7	81	51.250	29.625	1.72	เขียว	Green Group 137A
		4	8	75	50.000	30.750	1.62	เขียว	Green Group 137A
3	บวบหอมป่า	เริ่มต้น (12)	9	45	51.000	29.375	1.72	เขียว	Green Group 137B
		8	9	55	50.125	29.250	1.71	เขียว	Green Group 137B
		6	9	48	50.875	29.875	1.54	เขียว	Green Group 137B
		4	10	35	50.375	30.375	1.65	เขียว	Green Group 137B
		ค่าเฉลี่ย	7.8	69	50.885	29.177	1.72		

ภาพที่ 20: การเพาะกล้าบวบหอมที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

สถาบันการเกษตร

ภาพที่ 21: การย้ายกล้าบวบหอมที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในสภาพแปลงปลูก
เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการรอดชีวิต

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 22: การปลูกบวบหอมที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในสภาพแปลงปลูก
เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการรอดชีวิต

4.2 ระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น

บวบหอมยาว บวบหอมสั้นและบวบหอมป่ามีลักษณะวิสัยการเจริญเติบโตเป็นแบบเลื้อย (Prostrate) รูปร่างใบเป็นแบบ Reniform หมายถึง ใบรูปร่างคล้ายไตหรือเมล็ดถั่วดำ โดยใบบวบหอมยาวมีสีลายจุดเป็นสีเขียวปนเงิน บวบทั้ง 3 ตัวอย่างมีขอบใบหยัก มีขนด้านหลังและด้านหน้าใบน้อย บวบหอมยาวและบวบหอมป่ามีแฉกใบลึก ในขณะที่บวบหอมสั้นมีแฉกใบตื้น ความยาวก้านใบเฉลี่ยที่ 6.183 เซนติเมตร ความยาวข้อเฉลี่ยของบวบทั้ง 3 ตัวอย่าง คือ 9.333 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเฉลี่ย คือ 5.156 มิลลิเมตร รูปร่างลำต้นมีลักษณะเหลี่ยม รายละเอียดตามตารางที่ 7

4.3 ระยะออกดอก

เมื่อเข้าสู่ระยะออกดอก พบว่า บวบหอมยาวและบวบหอมสั้น มีการพัฒนาในระยะออกดอกได้ดีและมีอัตราการติดดอกสูงกว่าบวบหอมป่า โดยบวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่าง มีอัตราดอกตัวผู้อยู่ที่ระดับสูง โดยทั่วไป เพศดอกของบวบ เป็นแบบ Monoecious หมายถึง ดอกแยกเพศอยู่ร่วมต้นเดียวกัน สีของกลีบดอก จัดอยู่ในกลุ่ม Yellow group ทั้งหมด โดยแบ่งออกเป็น กลุ่มที่ 1: Yellow group 12B ได้แก่ บวบหอมยาว กลุ่มที่ 2: Yellow group 7A ได้แก่ บวบหอมสั้น และ กลุ่มที่ 3: Yellow group 13B ได้แก่ บวบหอมป่า รายละเอียดตามตารางที่ 8

ตารางที่ 7: ข้อมูลประเมินบวบหอมระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น

ที่	ตัวอย่างพันธุ์	ความชื้นของเมล็ด	ลักษณะการเจริญเติบโต	ความยาวใบ (cm)	ความกว้างใบ (cm)	รูปร่างใบ	สีลายจุดบนใบ	ขอบใบ	ขนด้านหลังใบ	ขนด้านหน้าใบ	แฉกใบ	ความยาวก้านใบ (cm)	ความยาวข้อ (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (mm)	รูปร่างลำต้น
1	บวบหอมยาว	เริ่มต้น	เลื้อย	18.000	17.750	Reniform	เขียวปนเงิน	หยัก	น้อย	น้อย	ลึก	7.200	11.000	5.500	เหลี่ยม
		8		17.125	17.500							7.875	11.250	5.500	
		6		17.375	17.375							7.375	11.375	5.500	
		4		17.000	17.625							7.875	11.500	5.375	
2	บวบหอมสั้น	เริ่มต้น	เลื้อย	14.125	14.500	Reniform	เขียว	หยัก	น้อย	น้อย	ตื้น	6.000	9.250	5.375	เหลี่ยม
		8		13.875	14.250							6.000	9.000	5.375	
		6		13.375	14.000							6.250	9.000	5.625	
		4		13.875	14.125							6.000	9.000	5.500	
3	บวบหอมป่า	เริ่มต้น	เลื้อย	11.500	12.875	Reniform	เขียว	หยัก	น้อย	น้อย	ลึก	4.625	8.000	4.750	เหลี่ยม
		8		11.625	12.000							5.000	7.750	4.625	
		6		11.625	12.625							5.000	7.750	4.500	
		4		11.625	12.500							5.000	7.125	4.250	
ค่าเฉลี่ย				13.6	14.760							6.183	9.333	5.156	

ตารางที่ 8: ข้อมูลประเมินบวบหอมระยะออกดอก

ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์	อัตราดอกตัวผู้	สีของกลีบดอก	เพศดอก
1	บวบหอมยาว	สูง	Yellow Group 12B	Monoecious
2	บวบหอมสั้น	สูง	Yellow Group 7A	Monoecious

ศูนย์วิชาการเกษตร

3	บวบหอมป่า	สูง	Yellow Group 13B	Monoecious

4.3 ระยะระยะติดผลและระยะเก็บเกี่ยว

บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า มีความยาวผลเฉลี่ยที่ 96 43 และ 18 เซนติเมตร ตามลำดับ มีความกว้างผลเฉลี่ยที่ 5 6 และ 5 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม บวบหอมป่า มีผลผลิตน้อย อ่อนแอต่อไวรัส และมีขนาดผลเล็กกว่าขนาดปกติ เมื่อเทียบกับความยาวเฉลี่ยของบวบหอมป่าเดิมซึ่งอยู่ที่ประมาณ 74 เซนติเมตร ความกว้างผลเฉลี่ยประมาณ 5 เซนติเมตร ดังภาพที่ 23

บวบทุกตัวอย่างมีรูปร่างก้านผลกลม โดยความยาวก้านผลเฉลี่ย คือ 9 เซนติเมตร การแยกของก้านผลออกจากผลจัดอยู่ในระดับยาก บวบหอมยาวมีรูปร่างฐานผลส่วนดอกเป็นลักษณะแหลม แตกต่างจากบวบหอมสั้นและบวบหอมป่าที่มีลักษณะมน รูปร่างขั้วผลส่วนติดลำต้นมีลักษณะกลมทุกตัวอย่าง รูปร่างผลบวบหอมยาวเป็นรูปทรง Elongate slim หรือ รูปทรงไข่เรียวยาว ส่วนผลบวบหอมสั้นและบวบหอมป่าเป็นรูปทรง Elongate tapered หรือ รูปทรงกระบองสั้น รสชาติผลระยะผลอ่อนมีรสชาติหวาน ทุกตัวอย่างมีความแข็งเปลือกอยู่ที่ระดับปานกลาง

เมล็ดของบวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่าง จัดอยู่ในกลุ่มสีดำ (Black Group) แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1: Black Group 202A ได้แก่ บวบหอมยาว กลุ่มที่ 2: Black Group 203B ได้แก่ บวบหอมสั้น และกลุ่มที่ 3: Black Group 202A ได้แก่ บวบหอมสั้นความยาวเมล็ดเฉลี่ยที่ 10.66 มิลลิเมตร ความกว้างเมล็ดเฉลี่ยที่ 6.6 มิลลิเมตร น้ำหนัก 100 เมล็ด เฉลี่ย 9.03 กรัม รายละเอียดตามตารางที่ 9 และตารางที่ 10

ตารางที่ 9: ข้อมูลประเมินบวบหอมระยะติดผลและระยะเก็บเกี่ยว

ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์	ความยาวผล (cm)	ความกว้างผล (cm)	รูปร่างก้านผล	ความยาวก้านผล (cm)	การแยกของก้านผลออกจากผล	รูปร่างฐานผลส่วนดอก	รูปร่างขั้วผลส่วนติดลำต้น	รูปร่างผล	ร่องสันผล	รสชาติผล	ความแข็งเปลือก
1	บวบหอมยาว	96	5	กลม	8	ยาก	แหลม	กลม	Elongate slim	ไม่มี	หวาน	ปานกลาง
2	บวบหอมสั้น	43	6	กลม	9	ยาก	มน	กลม	Elongate tapered	ตื้น	หวาน	ปานกลาง
3	บวบหอมป่า	18	5	กลม	10	ยาก	มน	กลม	Elongate tapered	ตื้น	หวาน	ปานกลาง
ค่าเฉลี่ย		52.3	5.3		9							

ตารางที่ 10: ข้อมูลประเมินเมล็ดพันธุ์บวบหอม

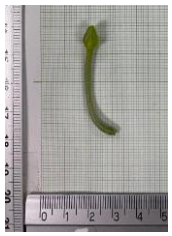
รหัส	ชื่อ	สีของเมล็ด	สีของเมล็ด	ความยาวเมล็ด (mm)	ความกว้างเมล็ด (mm)	น้ำหนัก 100 เมล็ด (Gram)
1	บวบหอมยาว	Black group 202 A	ดำ	12	7	8.6
2	บวบหอมสั้น	Black group 203 B	ดำ	10	7	11.2
3	บวบหอมป่า	Black group 202 A	ดำ	10	6	7.3
ค่าเฉลี่ย				10.66	6.6	9.03

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 23: บวบหอมป่าที่เมล็ดผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง(ซ้าย) บวบหอมป่าลักษณะปกติ (ขวา)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่11: ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของบวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า หลังการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็ง

ลำดับที่	ตัวอย่างพันธุ์	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของบวบหอม									
		ใบ		ดอก			ผล			เมล็ด	ภาพรวม
1	บอบหอมยาว	หน้าใบ	หลังใบ	ดอกตัวผู้	 ดอกตัวเมีย	ดอกบาน	ผลอ่อน	ภาพตัดขวาง	ผลแก่		
2	บวบหอมสั้น	หน้าใบ	หลังใบ	ดอกตัวผู้	ดอกตัวเมีย	ดอกบาน	ผลอ่อน	ภาพตัดขวาง	ผลแก่		
3	บวบหอมป่า	หน้าใบ	หลังใบ	ดอกตัวผู้	ดอกตัวเมีย	ดอกบาน	ผลอ่อน	ภาพตัดขวาง	ผลแก่		

กรมวิชาการเกษตร

อภิปรายผล (Discussion)

เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้นและบวบหอมป่า มีความชื้นของเมล็ดเริ่มต้นก่อนการทดลองอยู่ที่ระดับ 12 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งถือว่าค่อนข้างสูง เหมาะกับการนำมาทดลองเพื่อหาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง โดยนำมาลดจนเหลือระดับที่ต้องการศึกษา คือ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลอง สามารถสรุปประเด็นเกี่ยวกับระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง กล่าวคือ ระดับความชื้นที่เหมาะสมของเมล็ดพันธุ์บวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่าง สำหรับการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ได้แก่ ระดับความชื้นที่อยู่ในช่วงระหว่าง 6 ถึง 8 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากช่วงความชื้นดังกล่าว บวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่าง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังทดสอบความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุ มากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นเริ่มต้น (control) ซึ่งถือว่าสูงเกินไป ไม่เหมาะกับการเก็บรักษา และ มากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์ซึ่งถือว่าต่ำเกินไป โดยความชื้นในเมล็ดที่ต่ำเกินไป ส่งผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ สอดคล้องกับการทดลองของ Gonzales-Benito et al. (1997) ซึ่งทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจำนวน 4 สายพันธุ์ในไนโตรเจนเหลว โดยลดความชื้นเมล็ดพันธุ์จนต่ำที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ จากเดิมเมล็ดมีความชื้นเริ่มต้นสูงสุดที่ 15.6 เปอร์เซ็นต์ ผลปรากฏว่า ส่งผลให้เมล็ดฝ้ายมีความงอกลดลง

สำหรับการปลูกทดสอบเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเพื่อศึกษาการเจริฐเติบโตในสภาพแปลงปลูก โดยเก็บข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่า บวบหอมยาว และบวบหอมสั้น มีการเจริญเติบโตได้ดีทุกระยะ ตั้งแต่ ระยะต้นกล้า ระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น ระยะออกดอก ระยะติดผลจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ในขณะที่บวบหอมป่ากลับมีการเจริญเติบโตได้ดีเฉพาะในระยะต้นกล้าและระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น แต่เมื่อเข้าสู่ระยะออกดอกจนถึงระยะติดและเก็บเกี่ยว พบว่า มีการเจริญเติบโตที่ล่าช้าและให้ผลผลิตน้อย อีกทั้งยังอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไวรัส

ผลการปลูกทดสอบการเจริญเติบโตของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว และบวบหอมสั้นที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งซึ่งเจริญเติบโตได้ดีในทุกระยะนั้น สอดคล้องกับการทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในสภาพเยือกแข็ง และนำออกปลูกเพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต หลังจากเริ่มปลูกเป็นระยะเวลา 110 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว) ซึ่งพบว่า การเจริญเติบโตของต้นข้าวฟ่างที่เมล็ดผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ไม่แตกต่างจากการเจริญเติบโตของต้นข้าวฟ่างที่เมล็ดไม่ได้เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (Villalobos et al, 2019) สำหรับเมล็ดพันธุ์บวบหอมป่า ที่มีการเจริญเติบโตที่ล่าช้า และให้ผลผลิตน้อยนั้น อาจเป็นเพราะเมล็ดพันธุ์บวบหอมป่ามีความแข็งแรงเริ่มต้นต่ำกว่าบวบหอมยาวและบวบหอมสั้น ไม่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง แม้การทดสอบความงอกและความแข็งแรงในห้องปฏิบัติการจะมีผลการทดสอบที่ดี เจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ก็ตาม

การทดลองนี้ พิสูจน์ได้ว่า เมล็ดพันธุ์บวบหอมสามารถเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งได้ โดยเมล็ดพันธุ์ยังรอดชีวิต และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ยอมรับได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Kholina and Voronkova (2012) ซึ่งได้ทำการทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลถั่วที่มีสรรพคุณทางเภสัชในสภาพเยือกแข็งจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่า เมล็ดพันธุ์ทั้งหมดสามารถรอดชีวิตได้ในสภาพเยือกแข็ง ทั้งยังพบว่า ขนาดเมล็ดที่ใช้ในการทดลอง ไม่มีผลใดๆ ต่อการรอดชีวิต นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองเรื่อง เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมที่สำคัญของพืชผัก และไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด โดยคณะวิจัยได้ศึกษาหาเทคนิคและวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชผักและพืชตระกูลถั่วที่สำคัญทางเศรษฐกิจในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว จากการทดลองพบว่าสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืช โดยมีวิธีการเก็บที่ง่ายๆ คือ บรรจุเมล็ดนั้นลงในหลอดที่ทนต่อสภาพใต้จุดเยือกแข็ง (cryotube) แล้วจึงนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ที่ อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส เมื่อ

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ต้องการใช้ทำพันธุ์ก็นำออกมาจากถังไนโตรเจนเหลวไปเพาะปลูกได้ทันที ไม่จำเป็นต้องใช้วิธีการพิเศษในการละลายน้ำแข็ง เมล็ดต่างๆ ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ แมงลัก พริก มะเขือเทศ ข้าวโพดหวาน กระเจี๊ยบเขียว แตงกวา กวางตุ้ง ผักคะน้า และถั่วฝักยาว ล้วนรอดชีวิต (บัวหลวง, มณฑา และภาณี, 2542)

มีการทดลองการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ในสภาพเยือกแข็ง อีกหลายการทดลอง หนึ่งในนั้น คือการทดลองภาณี ทองพำนัก และคณะ (2549) ซึ่งได้ทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชพื้นบ้านและสมุนไพรในสภาพเย็นยิ่งยวดเป็นเวลา 4 ปี พบว่า เมล็ดที่เก็บรักษา ยังคงเจริญเติบโตเป็นต้นปกติ และอายุการพักตัวจะถูกทำลายไป เมื่อผ่านการเก็บรักษาในสภาพเย็นจัด โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมของเมล็ด เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว 15 พันธุ์ ไปปลูกเปรียบเทียบในแปลงทดลองระหว่างต้นแม่ และลูกชั่วที่1 ของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว -196 องศาเซลเซียส ไม่พบความแตกต่างของการเจริญเติบโตของต้นกล้าและการออดดอก หลังการเก็บเกี่ยว ไม่พบความแตกต่างของคุณภาพและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

Coelho et al. (2017) ที่ศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กาแฟ ซึ่งเป็นเมล็ดที่ไวต่อการลดความชื้นและการเก็บรักษา โดยวิธีแช่เมล็ดโดยตรงลงในไนโตรเจนเหลว ผู้วิจัยต้องการศึกษาข้อแตกต่างระหว่างการลดความชื้นเมล็ดด้วยวิธีการลดอย่างช้าและวิธีการลดอย่างรวดเร็ว ว่าวิธีใดส่งผลดีต่อการรอดชีวิตของเมล็ดกาแฟที่แช่ในสภาพเยือกแข็ง การทดลองพบว่า การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการลดอย่างรวดเร็วเหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กาแฟมากกว่า ถึงแม้จะพบว่า ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มีความทนทานต่อสภาพเยือกแข็งที่แตกต่างกัน แต่ทุกตัวอย่างสามารถเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งได้

Kaviani et al. (2009) ได้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ดอกลิลลี่ในสภาพเยือกแข็ง โดยมีการใช้ซูโครสความเข้มข้น 0.75 M ในสารละลาย MS ในขั้นตอน Osmoprotection เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและการใช้เทคนิค dehydration ผลการศึกษาพบว่า เมล็ดดอกลิลลี่ที่ผ่านกระบวนการเก็บในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นผ่านการ thawing ด้วย waterbath อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาทดสอบความงอกในอาหารแข็ง MS ที่มีส่วนประกอบซูโครซ 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 75%

Moraes et al (2019) ศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ชบาเมเปิ้ล (*Hibiscus acetosella*) ในสภาพเยือกแข็ง โดยทำการแช่เมล็ดชบาเมเปิ้ลที่มีระดับความชื้นของเมล็ดช่วงระหว่าง 6.65 – 7.7% ซึ่งประกอบด้วยเมล็ดที่ไม่ได้ถูกทำให้เกิดรอยแผลและเมล็ดที่ถูกทำให้เกิดรอยแผล (scarified seeds) ในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า เมล็ดชบาเมเปิ้ลทั้ง 2 แบบสามารถเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งได้ แต่เมล็ดที่ไม่ถูกทำให้เกิดรอยแผลจะมีการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ดีกว่า

โดยทั่วไป ธนาคารเมล็ดพันธุ์ หรือ Seed bank สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ประเภท orthodox ได้ระยะเวลายาวนานหากมีการจัดการที่ดี แต่อย่างไรก็ตามการสูญเสียความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ย่อมเกิดขึ้นได้หลายกรณีขึ้นอยู่กับชนิดพืช โดยเฉพาะพืชที่มีปริมาณน้ำมันภายในเมล็ดสูง ทางเลือกอีกทางหนึ่งคือการใช้อุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียสของไนโตรเจนเหลว เรียกว่า การเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง หรือ cryopreservation (Copeland et al., 1995) ด้วยเหตุนี้ ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นว่า การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมซึ่งเป็นพืชที่มีการเก็บรักษาเป็นตัวอย่างประเภท *ex situ* จำนวนมาก (Ebert et al, 2021) ในสภาพเยือกแข็ง จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ที่ช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการปลูกฟื้นฟูเพิ่มปริมาณและต่ออายุเชื้อพันธุ์พืช โดยเชื้อพันธุ์บวบหอมสามารถคงความมีชีวิตและสามารถเจริญเติบโตสภาพแปลงปลูก ตั้งแต่ระยะต้นกล้า จนกระทั่งระยะเก็บเกี่ยว ทั้งนี้ ปัจจัยสำคัญในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็ง คือ ระดับความชื้นที่เหมาะสม ผลของการทดลองของงานวิจัยนี้ เป็นผลการทดลองของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมที่ระยะเวลาสูงสุดที่ 180 วัน หากต้องการศึกษาผลการเก็บรักษาที่นานขึ้น สามารถต่อยอดงานวิจัยนี้ต่อไปในอนาคต ซึ่งอาจเพิ่มจำนวนตัวอย่างพันธุ์เพื่อการศึกษาเพิ่มเติม

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

สรุปผล

1. เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้นและบวบหอมป่า มีเปอร์เซ็นต์ความชื้น ความงอก และความแข็งแรงเริ่มต้น ดังนี้

1.1 ความชื้นของเมล็ด คือ 12 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

1.2 ความงอกของเมล็ด คือ 89 84 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

1.3 ความแข็งแรงของเมล็ด คือ 85 80 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2. เมื่อลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้น และเมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าให้มีระดับความชื้นที่ 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดพันธุ์บวบหอมที่มีระดับความชื้นต่างๆ มีความงอกและความแข็งแรงที่แตกต่างเมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 7 และ 180 วัน ดังนี้

2.1 ความงอกของเมล็ดพันธุ์

- เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาวและเมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้นที่มีระดับความชื้นเริ่มต้น (control) 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน

- เมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่มีระดับความชื้น 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นเริ่มต้น (control) และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง

2.2 ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว เมล็ดพันธุ์บวบหอมสั้น และเมล็ดพันธุ์บวบหอมป่าที่ระดับความชื้นเริ่มต้น (control) 8 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 0 7 และ 180 วัน พบว่าความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง

3. จากการทดลอง สามารถสรุปประเด็นเกี่ยวกับระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง กล่าวคือ ระดับความชื้นที่เหมาะสมของเมล็ดพันธุ์พันธุ์ทั้ง 3 ตัวอย่าง สำหรับการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ได้แก่ ระดับความชื้นที่ 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีความแข็งแรงมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นเริ่มต้น (control) และ 4 เปอร์เซ็นต์

4 เมื่อนำเมล็ดบวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ไปปลูกทดสอบในสภาพแปลงปลูก พบว่า

บวบหอมยาว และบวบหอมสั้นมีการเจริญเติบโตได้ดีทุกระยะ ตั้งแต่ ระยะต้นกล้า ระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น ระยะออกดอก ระยะติดผล จนถึงระยะเก็บเกี่ยว ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นสอดคล้องกับข้อมูลที่ปรากฏในคำบรรยายลักษณะพืช

บวบหอมป่า มีการเจริญเติบโตได้ดีในระยะต้นกล้า และระยะเจริญเติบโตด้านลำต้น แต่เมื่อเข้าสู่ระยะออกดอก จนถึงระยะติดและเก็บเกี่ยว พบว่า มีการเจริญเติบโตที่ล่าช้า ให้ผลผลิตน้อย และคุณภาพผลต่ำเมื่อเทียบกับผลบวบเดิม อีกทั้งยังอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไวรัส

ข้อเสนอแนะ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปต่อยอดศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบชนิดอื่น หรือ พืชวงศ์แตงอื่นๆ ในสภาพเยือกแข็ง เพื่อเพิ่มองค์ความรู้สำหรับการใช้ประโยชน์ในงานอนุรักษ์พันธุกรรมพืชต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 3

ความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันของเมล็ดพันธุ์งาภายหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

Viability and Oil Content of Sesame (Sesamum indicum L.) Seeds under Cryopreservation

กรมวิชาการเกษตร

ชื่อผู้วิจัย

นางสาวเสาวณี เดชะคำภู

Ms. Saowanee Dachakumpoo

นางสมใจ โควสุรัตน์

Mrs. Somjai Kowasurat

นางสาวพัฒน์นรี รักษ์คิด

Ms. Padnaree Rukkid

นางสาวพัชร ปิริยะวินิตร

Ms. Phatchara Piriyavinit

คำสำคัญ (Key words)

คำสำคัญ (TH) สภาพเยือกแข็ง เมล็ดเชื้อพันธุ์งา ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ ปริมาณน้ำมันในเมล็ดงา

คำสำคัญ (EN) Cryopreservation, Sesame Seeds, Seed Viability, Oil content

บทคัดย่อ (Abstracts)

การศึกษาความมีชีวิตระหว่างการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันงาภายหลังการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็ง ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างเดือนตุลาคม 2562-กันยายน 2563 โดยศึกษาระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดพันธุ์งาก่อนเก็บรักษา ซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการรักษาความมีชีวิตและปริมาณน้ำมันงาและส่งผลต่ออายุการเก็บรักษา โดยเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน วางแผนการทดลองแบบ Split Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ main plot คือ งาพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร 6 พันธุ์ ได้แก่ งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 และ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2 sub plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 ระดับ ได้แก่ 8 (เริ่มต้น), 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และ sub sub plot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา จำนวน 3 ระดับ คือ 0 วัน, 7 วัน และ 1 เดือน พบว่างาทุกพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิต ความแข็งแรง และปริมาณน้ำมันงา สามารถเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งได้แต่ควรลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่าจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้น

Abstracts

The study on cryopreservation of Sesamum indicum L. seed was carried out at Biotechnology Research and Development Office from October 2018 to September 2020. This research was conducted to study seed moisture content (%) which is the main factor affecting seed storage by comparison with ambient conditions for a period of 1 month. Split split plot design was laid out with 4 replicates of each condition. The main plot consisted of 6 certified sesame varieties of Department of Agriculture: 1) White-seeded cultivar “Roi et 1”, 2) White-seeded cultivar “Mahasarakhram 60”, 3) White-seeded cultivar “Ubonratchathani 2”, 4) Black-seeded cultivar “Ubonratchathani 3”, 5) Red-seeded cultivar “Ubonratchathani 1” and 6) Red-seeded cultivar “Ubonratchathani 2”. The sub plot consisted of 4 levels of seed moisture content (%): 8 (initial), 6, 4 and 2 and the sub sub plot consisted of 3 storage periods: 0 day, 7 days and 1 month. Seed viability by monitoring changes in percent of seed germination, seed

กรมวิชาการเกษตร

vigor and oil content were recorded. The result showed that all varieties of sesame could be kept in cryopreservation but the seed moisture content should be reduced to 6 percent or lower to maintain seed viability and oil content of sesame seeds.

บทนำ (Introduction)

งา (Sesamum indicum L.) เป็นพืชที่มีความสำคัญสำหรับการบริโภคมาช้านาน เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูง เมล็ดงาเป็นแหล่งของไขมัน โปรตีน แร่ธาตุ และวิตามินต่างๆ Borchani et al.(2010) รายงานว่าในเมล็ดงามีไขมันเป็นองค์ประกอบ 44-58 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 18-25 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 13.5 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าในน้ำมันงามีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึง 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย (essential fatty acid) คือ กรดลิโอเลอิค (linoleic) 35.9-47 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งช่วยป้องกันภาวะหลอดเลือดแข็งตัว ป้องกันโรคของหลอดเลือด หัวใจ และผิวหนัง และกรดโอเลอิค (oleic) 36-40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งช่วยป้องกันไม่ให้ระดับโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ในน้ำมันงายังมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชัน หรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) เป็นสารกลุ่มลิกแนน และโทโคฟอรอล (Elleuch et al., 2007, Lee et al., 2008) น้ำมันงาจึงไม่เกิดการเหม็นหืนง่าย มักใช้เป็นเป็นตัวเพิ่มความคงตัวในน้ำมันชนิดอื่น (Global AgriSysterms, 2010) ส่วนสารสำคัญที่พบมากที่สุดคือ สารเซซามิน (sesamin) จากรายงานการวิจัยพบว่าสารเซซามินมีคุณสมบัติทางชีวภาพสูง เช่น ช่วยกระตุ้นการเผาผลาญไขมัน ช่วยลดโคเลสเตอรอลทั้งในด้านการยับยั้งการสังเคราะห์ และดูดซึมโคเลสเตอรอล ช่วยลดไขมันในเลือด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น มีฤทธิ์ในการเพิ่มอัตราการกำจัดสารพิษ ต้านแบคทีเรีย ยาฆ่าแมลง (ศัลยา, 2547) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่แสดงว่าสารเซซามินมีฤทธิ์ในการป้องกันตับจากการถูกทำลายโดยเอทิลแอลกอฮอล์ มีฤทธิ์ในการป้องกันมะเร็ง และลดความดันโลหิต (ปรัชญา, 2560) ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้งาจึงเป็นพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย นอกจากการบริโภคโดยตรง ยังนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้อีกหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นอาหารเพื่อสุขภาพสำหรับคน อาหารสัตว์ ผลิตหรือสกัดเป็นยาคนและสัตว์ ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องสำอาง เช่น ครีมบำรุงผิว แชมพูและครีมนวด สบู่ ลิปสติก

แหล่งปลูกงาที่สำคัญของทั่วโลกจะพบในแถบเอเชียและแอฟริกา FAOSTAT (2017) รายงานผลผลิตจากทุกพื้นที่มีการเพาะปลูก พบว่า ในปี 2557 มีผลผลิตงาทั่วโลกประมาณ 6.9 ล้านตัน จากพื้นที่เก็บเกี่ยว 18 ล้านไร่ แหล่งผลิตงาของโลกที่สำคัญ เช่น แทนซาเนีย อินเดีย ซูดาน จีน พม่า ไนจีเรีย เป็นต้น ส่วนใหญ่มีการส่งออกไปยังยุโรปและอเมริกา สำหรับประเทศไทยในปีการเพาะปลูก 2558 มีพื้นที่ปลูกงาทั้งสิ้น 77,150 ไร่ ผลผลิตรวมประมาณ 6,030.33 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 100 กิโลกรัม/ไร่ พบว่าพื้นที่ปลูกงาลดลงจากปี 2557 ที่มีพื้นที่เพาะปลูกประมาณ 83,409.5 ไร่ ผลผลิตรวม 6,838.79 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 137 กิโลกรัม/ไร่ และในปี 2558 มีการส่งออกเมล็ดงาประมาณ 4,700 ตัน แต่มีการนำเข้าสูงถึง 11,000 ตัน ส่วนตลาดเมล็ดงาที่สำคัญของไทยได้แก่ ไต้หวัน ญี่ปุ่น สิงคโปร์ มาเลเซีย ออสเตรเลีย (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) แสดงความไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ภายในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากเกษตรกรไทยมักจะปลูกงาเป็นพืชเสริมหลังการปลูกพืชหลัก โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ที่แห้งแล้วมีน้ำน้อย เพราะงาเป็นพืชที่ปลูกง่าย ลงทุนน้อย ทนต่อสภาพแห้งแล้วได้ดี แต่ปัจจุบันสภาพอากาศค่อนข้างแปรปรวน ส่งผลให้ผลผลิตได้รับความเสียหาย และมีการแข่งขันจากพืชเศรษฐกิจอื่นมากขึ้น พื้นที่ปลูกงาจึงลดลง ปัจจุบันพื้นที่ที่มีการปลูกงา ได้แก่ นครสวรรค์ ลพบุรี เพชรบูรณ์ แม่ฮ่องสอน

กรมวิชาการเกษตร

เชียงใหม่ สุรินทร์ สุโขทัย ตาก พิจิตร น่านพะเยา ชัยนาท กาญจนบุรี เชียงราย สิงห์บุรี สุพรรณบุรี แพร่ ร้อยเอ็ด อุตรดิตถ์ อุทัยธานีและ พิษณุโลก งาที่ปลูกในประเทศไทยแบ่งตามสีของเมล็ดได้ 3 ชนิด คือ งาดำ งาขาว และงาดำ-แดง ในปี 2558 มีการปลูกงาดำและงาแดงเป็นส่วนใหญ่ งาขาวมีพื้นที่เพาะปลูกเพียง 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) ส่วนพันธุ์ที่ใช้เพาะปลูกมีอยู่หลายพันธุ์ พันธุ์พื้นเมือง เช่น งาดำบุรีรัมย์ งาดำนครสวรรค์ งาดำ-แดงพิษณุโลก งาดำ-แดงสุโขทัย เป็นต้น พันธุ์ที่เกิดจากการปรับปรุงพันธุ์ เช่น งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 งาแดงอุบลราชธานี1 งาดำอุบลราชธานี3 เป็นต้น

ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ได้มีการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์งาไว้จำนวนหลายสายพันธุ์ โดยการอนุรักษ์นอกจากจะเป็นการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมของงาให้คงอยู่แล้วเชื้อพันธุกรรมที่อนุรักษ์ไว้จะต้องมีคุณภาพโดยเฉพาะความมีชีวิตและความแข็งแรง เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อในอนาคต การที่เมล็ดงามีไขมันในเมล็ดเป็นองค์ประกอบสูงจะเกิดการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็วทำให้อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ค่อนข้างสั้น โดยทั่วไปเมล็ดพืชที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสูงจะเสื่อมสภาพเร็วกว่าเมล็ดที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก (วันชัย, 2538, วัลลภ, 2540) การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์นอกจากจะขึ้นอยู่กับสภาพการพัฒนาของเมล็ดตั้งแต่ในแปลงปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวและหลังเก็บเกี่ยว ตลอดจนสภาพอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในการเก็บรักษาแล้วแล้วยังขึ้นกับความแตกต่างระหว่างเมล็ดแต่ละเมล็ด ชนิด หรือพันธุ์พืช (Copeland and McDonald, 1985) ระหว่างการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์มีทั้งการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้าง สรีรวิทยา และชีวเคมี ซึ่งเกิดภายในเซลล์และในอวัยวะต่างๆภายในเมล็ด การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ได้แก่ การเสื่อมสภาพของผนังเมมเบรน การเปลี่ยนแปลงของไขมัน โปรตีน เอนไซม์ ขบวนการหายใจ ความผิดปกติของโครโมโซม และการเสื่อมสภาพของดีเอ็นเอ (Wilson and McDonald, 1986, McDonal, 1999) ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าสาเหตุหลักของการเสื่อมสภาพเมล็ดพันธุ์เกิดจากปฏิกิริยา lipid peroxidation และการแพร่กระจายของอนุมูลอิสระซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว ส่งผลให้เมมเบรนสูญเสียคุณสมบัติในการควบคุมการเข้าออกของสารต่างๆภายในเซลล์และสะสมสารพิษทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ (Qun et al., 2007) การเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยา lipid peroxidation และปริมาณกรดไขมันระหว่างการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Reuzeau et al., 1992) ปกติไขมันที่สะสมในเมล็ดจะลดลงในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจาก เมตาโบลึซึมหรือปฏิกิริยา peroxidation ของเมล็ดเกิดการย่อยทำลายของเอนไซม์ ทำให้เกิดกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ซึ่งสะสมมากขึ้นตามอายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์และมีความสัมพันธ์กับการลดลงของความงอกของเมล็ดซึ่งจะเกิดขึ้นได้ในเมล็ดแม้อยู่ในสภาพที่มีความชื้นและอุณหภูมิต่ำ

ปจจุบันทางธนาคารเชื้อพันธุ์พืชมีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทั้งระยะปานกลาง และยาวภายใตสภาพควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำโดยใช้กระแสไฟฟาซึ่งมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง และวิธีดังกลาวยังมีการสูญเสียความมีชีวิตของเมล็ดพันธุเป็นระยะๆ จำเป็นต้องมีขั้นตอนในการนำเชื้อพันธุ์พืชที่อนุรักษ์ออกมาเพาะทดสอบหาความมีชีวิต เพื่อนำพันธุ์ที่มีความมีชีวิตต่ำออกมาปลูกฟื้นฟูและขยายใหม่ให้กลับมามีชีวิตและเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง (regeneration) เป็นการสิ้นเปลืองเมล็ดพันธุ์ และค่าใช้จ่ายในการจัดการ และเมื่อนำมาปลูกหลายครั้งพันธุกรรมอาจเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากสภาพแวดล้อม และความผิดพลาดที่เกิดจากการปลูก ดูแลรักษา เก็บเกี่ยว การปรับปรุงสภาพ ตลอดจนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ เพื่อลดปัญหาเหล่านี้ได้มีผู้ศึกษาถึงวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้ได้เวลายาวนานภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการหยุดปฏิกิริยาทางชีวเคมี การย่อยสลาย และการแบ่งเซลล์ เมื่อละลายเกล็ดน้ำแข็งออกเมล็ดพันธุ์พืชที่เก็บยังคงมีชีวิตโดยไม่เสื่อมความงอกและกลายพันธุ์ Stanwood and Ban (1981) ทดลองเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุกรรมทั้งพืชไร่ พืชสวนไม้ดอก และไม้ยืนต้นได้สำเร็จมากกว่า 120 ชนิด และต่อมามีนักวิจัยอีกมากมายในต่างประเทศนำ

เมล็ดพันธุ์พืชชนิดต่างๆมาทดลองเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว พบว่าพืชบางชนิดเท่านั้นที่ไม่ประสบผลสำเร็จ ส่วนในประเทศไทยมีการศึกษาในเมล็ดพันธุ์พืชผัก และพืชไร่ต่างๆ เช่น พริก มะเขือเทศ ผักกวางตุ้ง ข้าวโพดหวาน ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น พบว่าเมล็ดพันธุ์ต่างๆข้างต้นมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังการเก็บรักษาใกล้เคียงหรือสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ปกติ (ภาณี และคณะ,2540ก. และ ข., 2541, 2542 และ 2543)

ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งทดลองศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิต และปริมาณน้ำมันของเมล็ดพันธุ์งา พร้อมศึกษาระดับของความชื้นที่เหมาะสมในเมล็ดพันธุ์งาก่อนการเก็บรักษา เนื่องจากความชื้นในเมล็ดพันธุ์เป็นปัจจัยหลักสำคัญที่ส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของเชื้อพันธุ์ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชให้คงอยู่ยาวนาน

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิตและปริมาณน้ำมันภายหลังการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็ง

2) ศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาภายใต้สภาพเยือกแข็ง

ขอบเขตการศึกษา

เป็นงานวิจัยที่ปฏิบัติโดยการนำเอาเทคโนโลยีการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชมาประยุกต์ใช้ในการ อนุรักษ์เมล็ดพันธุ์งาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

การทบทวนวรรณกรรม

1. งา

1.1 ลักษณะทั่วไป

งา (Sesame) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Sesamum indicum* L. อยู่ในตระกูล PEDALIACEAE มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางประเทศเอธิโอเปียในทวีปแอฟริกา แล้วแพร่พันธุ์มาสู่แถบเอเชียตะวันตก ปลูกเป็นพืชสำคัญในประเทศอินเดีย จีนและญี่ปุ่น และเป็นพืชที่สำคัญของพม่าและประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ในปัจจุบันประเทศไทยมีการปลูกงากระจายอยู่ในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครสวรรค์ ลพบุรี เพชรบูรณ์ แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ สุรินทร์ สุโขทัย ตาก พิจิตร น่านพะเยา ชัยนาท กาญจนบุรี เชียงราย สิงห์บุรี สุพรรณบุรี แพร่ ร้อยเอ็ด อุตรดิตถ์ อุทัยธานี และ พิษณุโลก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราก งามีระบบรากเป็นแบบระบบรากแก้ว (tab root system) ซึ่งเกิดจาก radicle ในเมล็ด ระบบรากจะแตกแขนงแผ่นทึบบริเวณผิวดิน มีความยาวและหยั่งลึกลงในดินมากกว่า 90 เซนติเมตร งาชนิดไม่แตกแขนง (unbranched type) จะมีการกระจายของรากน้อย กว่าพวกแตกกิ่ง (branched type) และงาที่ปลูกในดินทรายจะมีปริมาณรากมากกว่างาที่ปลูกในดินเหนียว

ลำต้น งามีลำต้นตั้งตรง เป็นไม้เนื้ออ่อนไม่มีแก่น สูง 40-200 เซนติเมตร ลำต้นเหลี่ยม และเป็นร่องตามความยาวของต้น สีของลำต้นมีสีเขียวเข้ม อาจมีสีม่วงปนอาจมีขนเล็กน้อยหรือ หนาแน่นขึ้นตามต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ทั้งชนิดแตกกิ่ง และไม่แตกกิ่ง การแตกกิ่งจะพบเฉพาะบริเวณยอด อุณหภูมิและช่วงแสงมีผลต่อความสูงของลำต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร

ใบ เป□นใบเดี่ยว มีก้านใบ การจัดเรียงตัวของใบมีทั้ง 2 แบบ คือ ใบล□างจะจัดเรียงตัวแบบตรงข□าม (opposite) ส□วนใบบนเรียงตัวแบบสลับ (alternate) หรือแบบ subopposite ใบมีรูปร□างลักษณะต□างๆ กัน เช□น รูปหอก กลมรี เป□นแฉก ขอบใบ เป□นจักร ใบมีสีเขียวอ□อนถึงเขียวเข□ม หรือบางพันธุ์อาจมีสีเหลืองปน มีขนทั้งหน□าใบและหลังใบ ช่วงแสงมีอิทธิพลต□อรูปร□างและขนาดของใบ

ดอก ดอกงาเป็นดอกสมบูรณ์เพศ เกิดจากตาตามซอกใบที่ติดลำต□น มีตั้งแต□ 1-3 ดอก แล□วแต□พันธุ□ ก□านดอก (pedicel) สั้น ความยาวของดอกประมาณ 3 เซนติเมตร กลีบดอกเชื่อมต□อกันเป□นท□อยาว คล□ายระฆัง มีต่อมน้ำหวานที่ฐานทั้งสองข□าง กลีบดอกมีหลายสี เช□น ชมพู ขาว ขาวอมม□วง สีเหลือง ภายในดอกมีเกสรตัวผู□ (stamen) 4 อัน ขนาดไม□เท□ากัน สั้น 2 อัน ยาว 2 อัน เกสรตัวเมียประกอบด□วย ยอดเกสรตัวเมียมี style ยาว stigma แยกเป็น 2 แฉก รังไข□อยู□สูงกว□าทุกส่วนของดอก (superior ovary) แบ□งเป□น 4-8 locules แต□ละ locule มีหลาย ovules การบานของดอกจะเริ่มบานจากส□วนล□างของลำต□นขึ้นไป ดอกจะบานตอนเช□าและร□วงตอนเย็น

ผล ผลเป□นแบบกระเปาะหรือฝ□ก (capsules) รูปร□างและขนาดของฝ□กขึ้นอยู□กับพันธุ์ อาจเป□นทรงกระบอกหรือแบน ฝ□กยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร เส□นผ□านศูนย□กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ฝ□กงามีร□องตามความยาว และมีขนขึ้นปกคลุม แบ□งเป□น 4-8 พู ปลายฝ□กมีจงอยแหลม เมื่อฝ□กแก□จะมีทั้งพันธุ□ที่ปลายฝ□กเป□ด ซึ่งมีผลทำให□เมล็ดร่วงออกจากฝ□กได□และปลายฝ□กป□ด ฝ□กงาจะแก่จากโคนต้นสู□ยอด

เมล็ด เมล็ดงามีขนาดเล็กเรียงซ□อนกันในฝ□ก น้ำหนัก 1,000 เมล็ดประมาณ 2-4 กรัม สีของเมล็ดขึ้นอยู□กับพันธุ□ตั้งแต□ ขาว เหลือง เทา แดง น้ำตาล ดำ และทอง (สุชาดา, 2542)

1.3 ชนิดพันธุ์งา

งาที่ปลูกในประเทศไทยแบ่งตามสีของเมล็ดได้ 3 ชนิด ดังนี้

1. งาดำ ที่ใช้ปลูกกันทั่วไป เช่น งาดำบุรีรัมย์ งาดำนครสวรรค์ งาดำ มก.18 งาดำ มข.2 เป็นต้น

2. งาขาว ที่ใช้ปลูกกันทั่วไป เช่น พันธุ์เมืองเลย พันธุ์เชียงใหม่ พันธุ์ชัยบาดาลหรือสมอทอด พันธุ์ร้อยเอ็ด 1 พันธุ์มข.1 พันธุ์มหาสารคาม 60 เป็นต้น

3. งาดำ-แดง หรือเรียกกันโดยทั่วไปว่า งาเกษตร เช่น พันธุ์พื้นเมืองพิษณุโลก พันธุ์พื้นเมืองสุโขทัย2 งาแดงอุบลราชธานี 1 งาแดงพันธุ์ มข.3 เป็นต้น

1.4 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเมล็ดงา

เมล็ดงาประกอบด้วย ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย และแร่ธาตุสำคัญสูง โดยพบไขมัน 44-58 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 18-25 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต ประมาณ 13.5 เปอร์เซ็นต์ และเถ้าประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์และพบว่าในน้ำมันงามีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึง 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่เป็น กรดลิโอเลอิค (linoleic) 35.9-47 เปอร์เซ็นต์ และกรดโอเลอิค (oleic) 35.6-47.6 เปอร์เซ็นต์ (Borchani *et al*., 2010)

นอกจากนี้ในน้ำมันงายังมีสารที่มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชัน หรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยา

อนุมูลอิสระ เป็นต้น (Global AgriSysterms, 2010) สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นในน้ำมันงา เป็นสารกลุ่ม ลิกแนน และโทโคฟอรอล (Elleuch *et al*., 2007, Lee *et al*., 2008) สารลิกแนนที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ เซซามิน (sesamin) และเซซาโมลิน (sesamolin) ด้วยเหตุนี้น้ำมันงาจึงไม่เกิดการเหม็นหืนง่าย มักใช้เป็นเป็นตัวเพิ่มความคงตัวในน้ำมันชนิดอื่น

1.5 ประโยชน์ที่ได้จากงา

1. ด้านอาหาร เป็นอาหารบำรุงกำลังที่ดีให้ความอบอุ่นแก่ร่างกาย ช่วยให้แข็งแรง นอกจากนี้เมล็ดงายังเป็นส่วนประกอบในอาหารคาวหวานชนิดต่างๆ มากมาย เช่น ใช้แทน Cocoa burter ในการทำช็อคโกแลต เป็นต้น ส่วนน้ำมันงาสามารถใช้ปรุงอาหาร และเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรม เนย เนยเทียม น้ำสลัด สำหรับกากเมล็ดที่บีบเอาน้ำมันออกแล้ว (meal) ยังสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์

2. ด้านอาหารเสริมจากงา

2.1 ด้านการเกิดออกซิเดชัน

-สารสกัดอะซีโตนจากเมล็ดงา ซึ่งมีกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) สามารถต้านการเกิดออกซิเดชัน

-สารเซซามิน และเซซามอล สามารถต้านการเกิดออกซิเดชัน

2.2 มีฤทธิ์เหมือนฮอร์โมนแอสโตรเจน

2.3 เสริมสร้างวิตามินให้ร่างกาย

2.4 ช่วยในการเจริญเติบโต

3. ด้านการรักษาโรค เช่น ลดความดันโลหิตสูง ลดระดับคลอเลสเตอรอลในกระแสเลือด ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อรา รักษาผิวหนังอักเสบ ฆ่าพยาธิตัวกลม บรรเทาอาการโรคริดสีดวงทวาร เป็นต้น นอกจากนี้เชื่อกันว่าน้ำมันงาช่วยให้กระดูกติดกันเร็ว จึงมีการนำมาใช้ในส่วนผสมของยาทาแก้ปวด เคล็ดขัดยอก ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ อีกทั้งยังเป็นน้ำมันบำรุงผิว บำรุงผม

4. เครื่องสำอาง ได้มีการนำงาและผลิตภัณฑ์งาไปเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางหลายชนิด เช่น สบู่ แชมพู ครีมนวดผม น้ำมันบำรุงผม ครีมหมักผม ครีมลดริ้วร้อยบนใบหน้า น้ำมันนวดตัว โลชั่นทาผิว โลชั่นกันแดด น้ำหอม เป็นต้น

5. พืชควบคุมวัชพืช งานมีสารอลิโลพาธิก (allelophatic) ซึ่งเป็นสารที่สร้างขึ้นและปลดปล่อยออกมาแล้วมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชที่อยู่ข้างเคียงหรือพืชที่ปลูกตามพืชนั้น โดยอาจส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้

6. อื่นๆ เช่น พืชบำรุงดิน วัสดุตกแต่งบ้าน สารฆ่าแมลง หรือใช้ในงานพิธีต่างๆ เช่น งานแต่งงาน งานพิธีจรดนังคัลแรกนาขวัญ เป็นต้น

2. การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์

2.1 สาเหตุการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพืชเป็นสิ่งมีชีวิต เมื่อเจริญเติบโตและพัฒนาถึงจุดสมบูรณ์สูงสุดแล้วย่อมมีการเสื่อมสภาพและอ่อนแอลงจนกระทั่งเมล็ดตายในที่สุด การเสื่อมสภาพของเมล็ดจะเริ่มเกิดขึ้นหลังจากเมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาซึ่งเมล็ดจะมีความงอกและความแข็งแรงสูงสุด ขณะเดียวกันเริ่มมีขบวนการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดเกิดขึ้นด้วยหลังจากนั้นความแข็งแรงของเมล็ดจะลดลง เมล็ดจะมีการเสื่อมสูงสุดเมื่อเมล็ดตาย (จวง

จันทร์, 2529) การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น ได้แก่ การเสื่อมสภาพของผนังเมมเบรน การเปลี่ยนแปลงของไขมัน การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ การเปลี่ยนแปลงของขบวนการหายใจ และขบวนการสังเคราะห์ทางชีวเคมีลดลง มีกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น ความผิดปกติของโครโมโซม การเสื่อมสภาพของดีเอ็นเอ ความสามารถในการเก็บรักษาลดลง อัตราการงอก อัตราการพัฒนาของต้นกล้า ความต้านทานของพืช ความสม่ำเสมอของต้นกล้าในแปลงปลูกลดลง สุดท้ายสูญเสียความงอกในที่สุด (วันชัย, 2538, Delouche and Baskin, 1973)

ในกระบวนการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ทุกเซลล์ที่มีการหายใจโดยการใช้สารอาหารสะสม (McDonald, 1999) ในขบวนการหายใจของเมล็ดจะเกิดอนุมูลอิสระที่เป็นผลผลิตของ reactive oxygen species (ROS) เป็นรูปของโปรตีนที่ไม่เถียรและสามารถทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ เช่น ไขมัน โปรตีน และกรดนิวคลีอิก แล้วได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ ซึ่งจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ และส่งผลให้เกิดการเสื่อมเสียของสารต่างๆภายในเซลล์ (Hatice et al., 2006) ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าสาเหตุหลักของการเสื่อมสภาพเมล็ดพันธุ์เกิดจากปฏิกิริยา lipid peroxidation และการแพร่กระจายของอนุมูลอิสระซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว ส่งผลให้เมมเบรนสูญเสียคุณสมบัติในการควบคุมการเข้าออกของสารต่างๆภายในเซลล์และสะสมสารพิษทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ (Qun et al., 2007) การเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยา lipid peroxidation และปริมาณกรดไขมันระหว่างการเก็บรักษา เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Reuzeau et al., 1992) ปกติไขมันที่สะสมในเมล็ดจะลดลงในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากเมตาโบลึซึมหรือปฏิกิริยา peroxidation ของเมล็ดเกิดการย่อยทำลายของเอนไซม์ ทำให้เกิดกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ซึ่งสะสมมากขึ้นตามอายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์และมีความสัมพันธ์กับการลดลงของความงอกของเมล็ด

2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์

Harrington, 1970 รายงานว่า การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ หรือการที่เมล็ดพันธุ์สูญเสียศักยภาพ หรือความแข็งแรงอันเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงในทางไม่ดีต่างๆที่เกิดขึ้นจนเมล็ดพันธุ์ตายไป ในที่สุดมีผลต่ออายุการมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ (seed longevity) และส่งผลต่ออายุการเก็บรักษา ซึ่งปัจจัยที่เป็นตัวเร่งการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ เช่น

1. ข้อแตกต่างในเรื่องพันธุกรรม รูปร่างลักษณะโครงสร้าง และองค์ประกอบทางเคมี ทำให้เมล็ดพืชแต่ละชนิดมีช่วงอายุหรือธรรมชาติที่จะเก็บรักษาไว้ได้ แตกต่างกัน จัดประเภทกว้าง ๆ ได้เช่น ข้าว ผักกาดหัวและพืชตระกูลแตง จัดเป็น พวกที่สามารถเก็บรักษาได้ดี ฝ้าย ถั่วเขียว ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าวโพด จัดเป็น ระดับปานกลาง ส่วนพวกตระกูลถั่วมีน้ำมันในเมล็ดสูง เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสง รวมทั้งพืชผักบางชนิด เช่น หอมจัดเป็นพวกที่รักษาไว้ได้ยาก นอกจากนี้ ในพืช ชนิดเดียวกันที่เมล็ดมีขนาดใหญ่เล็กต่างกันไปตามสายพันธุ์จะมีอายุในการเก็บรักษาที่แตกต่างกันตามชนิดของพืช

2. ประวัติของเมล็ดพันธุ์ เป็นปัจจัยเบื้องต้นที่จะบอกให้ทราบว่าเมล็ดก่อนที่จะเก็บรักษา นั้นมีสภาพและความเป็นมาอย่างไร อันดับแรกคือระดับความงอกและความแข็งแรงเบื้องต้น ซึ่งเป็นปฏิภาคกลับกับความเสื่อม และเป็นผลสะท้อนมาจากการปฏิบัติดูแลในระยะการปลูก การเก็บเกี่ยว จนถึงการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว นอกจากนั้น เป็นข้อ ปลีกย่อยที่สังเกตเห็นได้ เช่น มีเมล็ดแตกร้าวเสียหายหรือมีรอย

ถลอก เนื่องจากการนวดหรือการปรังปรุงสภาพ มีความเหี่ยวย่น ของเปลือกเนื่องมาจากเมล็ดถูกฝน มีโรค แมลงหรือไข่ มีเมล็ดอ่อน สิ่งเจือปน หรือวัชพืช มีการคลุกสารเคมีในปริมาณสูง หรือมีสีสันหม่นหมอง เนื่องจากอายุ บางกรณีประวัติอาจหมายรวมไปถึงชนิดของเมล็ด ตามที่ได้แยกกล่าวไว้ในข้อ 1 ซึ่งล้วนแล้วแต่มีผลกระทบต่อสภาพนิเวศน์ในการเก็บรักษาทำให้ คุณภาพและอายุของเมล็ดพันธุ์แปรเปลี่ยนไป โดยปกติการเก็บรักษาจะคัดเลือกจากเมล็ดพันธุ์ที่แก่เต็มที่ มีความสมบูรณ์ทางกายภาพ สะอาด และมีความงอกเบื้องต้นสูง ซึ่งให้แนวโน้มที่จะเก็บรักษาไว้ได้ดีกว่าเมล็ดที่ด้อยคุณลักษณะ

3. ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ และความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์เป็นปริมาณน้ำที่มิใช่องค์ประกอบทางเคมีที่สามารถขับออกจากเมล็ดได้ ถือว่าเป็นตัวแปรในสภาพการเก็บรักษาที่มีความสำคัญเป็นอันดับแรก เมล็ดที่มีความชื้นสูง จะมีการเผาผลาญอาหารสูงเพิ่มภาวะที่เป็นอันตรายกับตัว รวมทั้งชักนำให้โรคและแมลงเข้าทำลายจึงเสื่อมคุณภาพได้รวดเร็วกว่าเมล็ดที่แห้ง การเก็บรักษาจึงถือหลักการแรกคือ ทำเมล็ดให้แห้งโดยยึดกฎที่ใช้ ทั่ว ๆ ไปว่า “การลดความชื้นเมล็ดลง 1% จะทำให้เก็บรักษาได้ นานขึ้นเป็น 2 เท่า” ซึ่งจะใช้ได้ดีเมื่อเมล็ดมีความชื้นระหว่าง 5-14% อย่างไรก็ตามเมล็ดพืชมีสภาพ Hygroscopic คือ สามารถที่จะรับหรือถ่ายความชื้นให้กับบรรยากาศรอบ ๆ ตัวจนถึงภาวะสมดุล หากนำเมล็ดที่แห้งดีแล้วไปเก็บรักษาในภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูง เมล็ดก็จะดูดรับความชื้นเข้าไปและหากนำเมล็ดที่มี ความชื้นสูงไปเก็บไว้ในที่ที่มีความชื้นสัมพันธ์ของอากาศต่ำ เมล็ดก็จะคายความชื้นออก แต่เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพืชต่างชนิดไว้ที่สภาพความชื้นสัมพัทธ์เดียวกัน แต่ละชนิดจะมีจุดสมดุลความชื้นที่ไม่เท่ากัน ซึ่งจะเป็นเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของโปรตีน คาร์โบไฮเดรท เซลลูโลส และน้ำมัน ที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ด ดังนั้นเรื่องของความชื้นเพื่อการเก็บรักษาจึงต้องพิจารณาทั้ง 2 ประเด็นควบคู่กัน

Jianfang *et al*. (1998) แนะนำระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมที่ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความมีชีวิตสูงสุด ในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องระหว่าง 0-35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ย 18 องศาเซลเซียส ในเมล็ดข้าวสาลี 7.6-9.7 เปอร์เซ็นต์ และงา 1.8-2.5 เปอร์เซ็นต์

คู่มือเกี่ยวกับการจัดการธนาคารเมล็ดพันธุ์แนะนำให้ลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้ต่ำกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพืชที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสูง และ 5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพืชที่องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้ง และเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสจะสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้เป็นระยะเวลานาน (Rao et al., 2006)

Zadorazhna et al. (2014) ทดลองศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพืชน้ำมันหลายชนิด ได้แก่ ทานตะวัน เรพ (rape) มัสตาร์ด (mustard) ฝิ่น แฟลกซ์ (*Flax*) ฝ้าย ถั่วลิสง ละหุ่ง งา อลูกูล่า (arugula) งาขี้ม้อน chufa sedge lallemantia แรดิช (radish) turnip rape และ คำฝอย พบว่าเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในเมล็ดทานตะวัน คือ 2-4.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นานประมาณ 9-15 ปี เมล็ด rape 2.5-3.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นานประมาณ 5-18 ปี เมล็ด mustard 2.5-3.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นานประมาณ 4-12 ปี เมล็ดฝิ่น 2.4-3.6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นาน 4 ปี เมล็ดคำฝอย 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นานประมาณ 5-10 ปี และเมื่อเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ภายในระยะเวลา 5 ปี เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์อยู่ที่ 2-4 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดแฟลกซ์ 2.6 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ด lallemantia 3.1 เปอร์เซ็นต์ ใน

เมล็ดถั่วลิสง 3.8 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดฝ้าย และน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดอลูกูล่า chufa sedge งา แรดิช งาขี้ม้อน และ turnip rape

Singh et al.(2016) ศึกษาความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ ถั่วลูกไก่ (chickpea) งา niger ฝ้าย ละหุ่ง และคำฝอย ที่ผ่านการลดความชื้นให้อยู่ในระดับต่ำ ๆ และเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และ -18 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16- 18 ปี พบว่า การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดเมื่อทำการเก็บรักษาโดยใช้ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2.0, 2.0, 1.7, 2.0 และ 2.3 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดพันธุ์ถั่วลูกไก่ งา คำฝอย ละหุ่ง และ niger ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ 88, 86, 88, 36 และ 94 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อใช้ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 5.0, 4.5, 3.8, 3.2 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดพันธุ์ตายภายในระยะเวลา 16, 8, 15, 10 , และ 13 ปี ตามลำดับ

4. อุณหภูมิ มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีภายในเมล็ด การเก็บรักษาในที่อุณหภูมิสูงจะเร่งกิจกรรมใน เมล็ดทำให้มีอัตราการหายใจสูง ผลที่ตามมาคือเมล็ดจะสูญเสียความงอกได้เร็ว ในเรื่องนี้มีกฎที่ใช้ทั่ว ๆ ไปว่า “การลดอุณหภูมิของโรงเก็บลง 10 ^{o}F จะทำให้อายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ซึ่งจะใช้ได้ดีในช่วงของ อุณหภูมิระหว่าง 32^{o}F – 122 ^{o}F เช่นกัน อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นที่มีต่ออายุในการเก็บรักษา สามารถ ชดเชยและสนับสนุนซึ่งกันและกัน เช่น เมล็ดที่มีความชื้นต่ำที่เก็บรักษาไว้ที่อากาศร้อนอาจจะมีชีวิตอยู่ได้นาน พอกันกับเมล็ดที่มีความชื้นสูง แต่เก็บในที่เย็น ในสภาพที่ทั้งร้อนและชื้นนอกจากจะไม่มีผลดีกับเมล็ดแล้ว กรณีที่ความชื้นของเมล็ดสูงถึง 12-14% จะเอื้ออำนวยต่อการเจริญของเชื้อรารวมทั้งการเกิดพิษจากสารเคมีที่ใช้คลุกเมล็ด สภาพที่ดีที่สุดสำหรับการเก็บรักษาคือ พยายามลดความชื้นของเมล็ดให้ต่ำแล้วเก็บในที่อากาศเย็น และ แห้ง ซึ่งยังมีกฎข้อสุดท้ายเพิ่มเติมอีกว่า สภาพเก็บรักษาดีที่สุดควรให้มีผลบวกของความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ (เป็น ^{o}F) ไม่เกิน 100 อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในเขตร้อนชื้น เช่นประเทศไทยให้มีคุณภาพดีได้นานนับว่าเป็นเรื่องที่ท้าทาย เนื่องจากมีสภาพอากาศร้อนและความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง เมล็ดพันธุ์จึงมีอายุการเก็บรักษาในสภาพท้องถิ่นที่ไม่มีการควบคุมสั้นกว่าในประเทศเขตอบอุ่น

Denise et al. (2014) ศึกษาความมีชีวิตของเมล็ดงาที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิต่างๆ ในงาพันธุ์ *BRS Seda* ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 55 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 38-43 เปอร์เซ็นต์ และสภาพอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ยังคงมีแนวโน้มรักษาเปอร์เซ็นต์ความงอกได้มากกว่า 12 เดือน ขณะที่การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง 30-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเก็บรักษาได้มากกว่า 6 เดือน แต่ภายในระยะเวลา 12 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มลดลงเหลือเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ จากความงอกเริ่มต้น 100 เปอร์เซ็นต์

3. อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งา

Jianfang et al. (1998) ทดลองเก็บรักษาเมล็ดงาจำนวน 4 พันธุ์ ในสภาพอุณหภูมิห้องระหว่าง 0-35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ย 18 องศาเซลเซียส มีระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 5.7 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดพันธุ์มีความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 1 ปี เมล็ดงาจำนวน 3 พันธุ์ ยังคง

รักษาความงอกไว้ได้ แต่อีก 1 พันธุ์ กลับมีความงอกลดลงเหลือเพียง 66 เปอร์เซ็นต์ และภายในระยะเวลา 4 ปี งาทุกพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเหลือเพียง 0-17 เปอร์เซ็นต์

วันชัยและเสาวรี (2544) ทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งา 3 พันธุ์ ได้แก่ งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 งาดำพันธุ์นครสวรรค์ และงาขาวมหาสารคาม 60 เป็นระยะเวลา 11 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้องปฏิบัติการเฉลี่ย 28.8 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 45 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นในเมล็ดต่ำกว่า 5.3 เปอร์เซ็นต์ ยังคงความงอกได้สูงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ จากความงอกเริ่มต้นสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พบว่างาดำพันธุ์นครสวรรค์มีคุณภาพเมล็ดดีและสามารถเก็บรักษาได้ดีกว่างาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 และพันธุ์มหาสารคาม 60 โดยที่งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 มีคุณภาพและความสามารถในการเก็บรักษาต่ำสุด

Adebisi et al. (2008) ทดลองศึกษาอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาจำนวน 10 พันธุ์ ในประเทศไนจีเรียซึ่งอยู่ในสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น เป็นระยะเวลา 8 เดือน พบว่าในแต่ละพันธุ์มีอายุการเก็บรักษาต่างกัน พันธุ์ที่มีอายุการเก็บรักษานานที่สุด คือพันธุ์ 530-3 สามารถเก็บรักษาได้นานเป็นระยะเวลา 11 เดือน พันธุ์ E8 เก็บได้นาน 10 เดือน พันธุ์ C-K-2 และ 530-6-1 เก็บได้นาน 9 เดือน และพันธุ์ที่มีอายุการเก็บรักษาสั้นที่สุดคือพันธุ์ 73A-97 เก็บรักษาได้เพียง 3 เดือนเท่านั้น

4. การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชมีวัตถุประสงค์ในการลดการสูญเสียเชื้อพันธุกรรม (genetic erosion) ของพืชความนิยมของผู้บริโภคหรือความต้องการของตลาด ทำให้เกษตรกรเลือกปลูกพืชเฉพาะพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการของตลาดเท่านั้น เป็นสาเหตุให้พืชพันธุ์พื้นเมืองหรือพันธุ์ดีที่เสื่อมความนิยมต้องสูญหายไปจากแปลงปลูกของเกษตรกร ความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงลดลงไปซึ่งเป็นสัญญาณอันตรายว่าในกรณีที่พันธุ์ที่ใช้ปลูกกันอย่างกว้างขวางและมีพันธุกรรมเหมือนกันนั้น (genetic uniformity) อ่อนแอต่อโรคหรือแมลงบางชนิด เมื่อเกิดการระบาดขึ้นมา ความสูญเสียก็จะเป็นไปอย่างกว้างขวางและรุนแรง การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเก่า ๆ ไว้จึงเป็นสิ่งสำคัญเพราะอาจจะต้องนำกลับมาใช้ใหม่ในกรณีที่จำเป็น

4.1 เมล็ดพันธุ์พืช (Seed) แบ่งเป็น ๒ จำพวก

1. Orthodox seed คือ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นได้ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จึงมักเก็บรักษาเมล็ดเหล่านี้ไว้ในสภาพนอกธรรมชาติ (Ex situ) ซึ่งแบ่งเป็น 2 แบบ คือ เมล็ด (seed gene bank) และ ต้น (plant field) เมล็ดในกลุ่มนี้ได้แก่ ข้าว ถั่ว พืชอาหารหลัก รวมทั้งงา (Royal Botany, 2008) เป็นต้น

2. Recalcitrants seed คือ เมล็ดในกลุ่มที่ไม่สามารถลดความชื้นให้ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ได้เพราะว่าเมล็ดจะได้รับอันตราย ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดเหล่านี้มักเก็บไว้ในสภาพธรรมชาติ (*In situ*) ในสภาพแปลงปลูก (*Ex situ*) หรือเก็บในรูปของเนื้อเยื่อ (*In vitro*) เมล็ดในกลุ่มนี้ได้แก่พวก ส้ม มะม่วง ขนุน มะพร้าว เป็นต้น

4.2 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ สามารถเก็บได้ 3 ระยะ คือ

1. ระยะสั้น ความชื้นเมล็ด 11-12 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บได้นาน 3-5 ปี

2. ระยะปานกลาง ความชื้นเมล็ด 8 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บได้นาน 20 ปี

3. ระยะยาว ความชื้นเมล็ด 8 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้นาน 50 ปี หรือในสภาพเยือกแข็ง (-196 องศาเซลเซียส)

4.3 การเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์มี ๒ แบบ คือ

1. Base collection คือ การเก็บไว้ในรูประยะยาวของอุณหภูมิตั้งแต่ -10 องศาเซลเซียสขึ้นไป ความชื้นในเมล็ด 5-7 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการแจกจ่าย

2. Active collection คือ การเก็บรักษาตัวอย่าง เพื่อประกอบการเก็บแบบ Base collection ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นโดยเป็นการเก็บเพื่อแจกจ่ายแลกเปลี่ยนและอื่น ๆ

4.4 การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 3-7 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จะทำให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนาน

อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาไว้ในสภาพควบคุมความชื้น และอุณหภูมิ แต่ก็ยังมีขบวนการ metabolism ของเมล็ดพันธุ์ ทำให้ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ลดลงได้ จำเป็นต้องนำมาปลูกเพื่อสืบทอดพันธุ์และรักษาความงอกเป็นระยะ เป็นการสิ้นเปลืองเมล็ดพันธุ์ และค่าใช้จ่ายในการจัดการ และเมื่อนำมาปลูกหลายครั้งพันธุกรรมอาจเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากสภาพแวดล้อม และความผิดพลาดที่เกิดจากการปลูก ดูแลรักษา เก็บเกี่ยว การปรับปรุงสภาพ ตลอดจนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ เพื่อลดปัญหาเหล่านี้ได้มีผู้ศึกษาถึงวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้ได้เวลายาวนานภายใต้สภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการหยุดปฏิกิริยาทางชีวเคมี การย่อยสลาย และการแบ่งเซลล์ เมื่อละลายเกล็ดน้ำแข็งออกเมล็ดพันธุ์พืชที่เก็บยังคงมีชีวิตโดยไม่เสื่อมความงอกและกลายพันธุ์ มีนักวิจัยมากมายนำเมล็ดพันธุ์พืชชนิดต่างๆมาทดลองเก็บในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว เช่น

- Stanwood and Ban (1981) ทดลองเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุกรรมทั้งพืชไร่ พืชสวน ไม้ดอก และไม้ยืนต้นได้สำเร็จมากกว่า 120 ชนิด

- Zang et al. (1990) ทดลองเก็บเมล็ดพันธุ์พืช 25 ชนิด ในไนโตรเจนเหลว เป็นระยะเวลา 12 เดือน ยกเว้นมะระเมื่อเก็บรักษาภายใน 30 วัน ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้

- Touchell and Dixon (1993) ทดลองเก็บรักษาเมล็ดพืชพื้นเมืองของประเทศออสเตรเลียทางตะวันตกจำนวน 90 ชนิด พบว่าพืชพื้นเมืองเหล่านี้ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์สามารถเก็บรักษาเมล็ดได้ในสภาพเย็นยิ่งยวด

- Normah et al. (1994) ทดลองนำเมล็ด Hazelnut เก็บรักษาเมล็ดในสภาพเย็นยิ่งยวดไม่ประสบผลสำเร็จแต่พบว่าถ้าใช้ส่วนของเอมบริโอในการเก็บรักษากลับมีชีวิตรอดสามารถนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เจริญต่อไปได้

- Stanwood and Sowa (1995) ได้ประเมินผลการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์หอม (onion) ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส -18 องศาเซลเซียส และ -196 องศาเซลเซียส (ไนโตรเจนเหลว) ในระยะเวลาการเก็บรักษา 10 ปี พบว่าการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์เรียงลำดับได้ดังต่อไปนี้ 5 > -18 > -196 องศาเซลเซียส และยังพบว่าการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวเมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงมากกว่าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

- Dussert et al. (1997) ได้ทำการศึกษาวิจัยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กาแฟในสภาพเยือกแข็ง ผลการศึกษาพบว่าเมล็ดพันธุ์กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่ใช้ทดลองซึ่งผ่านกระบวนการ precooling ด้วยอุณหภูมิ –50 องศาเซลเซียส ก่อนการนำไปแช่ในไนโตนเจนเหลวนั้นมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง 70% และสามารถพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่ปกติ การทดลองนี้จึงเป็นการยืนยันว่าสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กาแฟในไนโตรเจนเหลวได้ทั้งเมล็ดโดยยังคงความมีชีวิตตามที่ได้กล่าวมานี้

- Maria et al. (1997) ได้ทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ฝ้าย จำนวน 4 สายพันธุ์ในไนโตรเจนเหลว โดยลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้เหลือประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้นที่ความชื้นสูงถึง 15.6 เปอร์เซ็นต์ ผลปรากฏว่าส่งผลให้เมล็ดมีความงอกน้อยลง

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

1.1 แผนการวิจัย

1.1.1 ทดสอบการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาเปรียบเทียบตามสภาวะของอุณหภูมิการเก็บรักษา 2 สภาวะ คือ

สภาวะที่ 1 การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 34 และอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 27 องศาเซลเซียส)

สภาวะที่ 2 การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส)

แต่ละสภาวะการเก็บรักษาวางแผนการทดลองแบบ Split split plot design จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย

- Main plot เป็นงาพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่

1.งาขาว ได้แก่ พันธุ์มหาสารคาม 60 พันธุ์ร้อยเอ็ด และงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2

2.งาดำ ได้แก่ งาดำอุบลราชธานี 3

3.งาแดง ได้แก่ งาแดงอุบลราชธานี1 และงาแดงอุบลราชธานี 2

- Sub plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 5 ระดับ คือ ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น, 10, 8, 6, และ 4 เปอร์เซ็นต์

- Sub Sub plot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา 3 ระดับ คือ 0, 7 วัน และ 1 เดือน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลความมีชีวิต และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์งาโดยบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่าง ๆ และวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวนของข้อมูลตามแผนการทดลอง Split split plot design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และบันทึกปริมาณน้ำมันในเมล็ดงาก่อน และหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน

1.1.2 ทดสอบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะประจำพันธุ์หลังเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็ง

กรมวิชาการเกษตร

ดำเนินการปลูกงา จำนวน 6 พันธุ์ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในระดับความชื้นที่เหมาะสมเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง โดยใช้ paired t-test ในการทดสอบ และปฏิบัติดูแลรักษาตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

1.2 วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.2.1 ขั้นตอนการผลิต และเตรียมสภาพเมล็ดพันธุ์ก่อนเก็บรักษาในสภาวะต่าง ๆ

ดำเนินการปลูกงา จำนวน 6 พันธุ์ ในช่วงปลายฝน (ต.ค. 2561) ระยะปลูก 50x10 เซนติเมตร ถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น กำจัดวัชพืชและใส่ปุ๋ยสูตร 16-16-8 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่องามีอายุ 20 วัน และปฏิบัติดูแลรักษาตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร เก็บเกี่ยวงาระยะสุกแก่ หลังจากเก็บเกี่ยวงานำไปเคาะปรับปรุงสภาพเมล็ด และนำเมล็ดเข้าลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธ์พืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ลดความชื้นให้ได้ที่ระดับต่าง ๆ ทดสอบความชื้นของเมล็ดตามหลักการของ ISTA Rule, 2014 หลังจากนั้นสุ่มเมล็ดมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันก่อนและหลังการเก็บรักษา 2 สภาวะที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี

การทดสอบความชื้นของเมล็ดงา (ISTA Rule, 2014)

โดยวิธีอบด้วยความร้อน (Air-Oven Method) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบ คลุกเคล้าให้ทั่ว โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนาน เกิน 3 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาเพื่อบดตัวอย่างละ 1 กรัม

2. การบดเมล็ด บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด แล้วสุ่มตัวอย่างที่บดแล้ว ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมกลมก้นแบนที่มีฝาปิดพอดี นำไปชั่งน้ำหนักพร้อมภาชนะ โดยใช้เครื่องชั่งที่อ่านค่าทศนิยมได้ 3 ตำแหน่ง ทำ 2 ซ้ำ

3. การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบไฟฟ้า ที่มีช่องระบายลม และสามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่โดยใช้อุณหภูมิในการอบ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ± 1 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วรีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโหลดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30-45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมทั้งเมล็ดและฝาปิดอีกครั้งหนึ่ง

4. การคำนวณผลการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และรายงานเพียงทศนิยมตำแหน่งเดียวเท่านั้น โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} \times 100$$

ซึ่ง M_1 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิด

M_2 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดก่อนอบ

M_3 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดหลังอบ

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน

วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันในงาจำนวน 6 พันธุ์ โดยชั่งเมล็ดงาน้ำหนักประมาณ 10 กรัม บดและสกัดน้ำมันด้วย petroleum-ether ปริมาตร 80 มิลลิลิตร เป็นเวลา 70 นาที ด้วยเครื่อง Soxtec 8000 หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักน้ำมันที่สกัดได้และรายงานในรูปของหน่วยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักน้ำมัน

ศูนย์วิจัยการเกษตร

1.2.2 ขั้นตอนการเก็บรักษา

นำเมล็ดพันธุ์งาที่ผ่านการลดระดับความชื้นในระดับต่างๆ มาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกให้อยู่ในสภาพสูญญากาศ และนำไปเก็บรักษาเปรียบเทียบตามสภาวะของอุณหภูมิการเก็บรักษา 2 สภาวะ คือเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง และในสภาพเยือกแข็ง

เมื่อครบกำหนดอายุการเก็บรักษาที่ 0 วัน 7 วัน และ 1 เดือน นำเมล็ดพันธุ์มาเพาะทดสอบหาความมีชีวิตโดยวิธีเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (germination test) และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test)

การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์

เพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์งาโดยวิธีเพาะบนกระดาษเพาะ ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ทำการเตรียมกระดาษเพาะเมล็ดให้มีขนาดเท่ากับกล่อง จำนวน 2-3 ชั้น รดน้ำสะอาดลงบนกระดาษเพาะให้ชุ□ม เรียงเมล็ดที่ต□องการทดสอบความงอกลงบนกระดาษ จำนวน 100 เมล็ดต่อกล่องต่อ 1 ซ้ำ ปิดฝาเพื่อควบคุมความชื้น และรดน้ำเป็นครั้งคราว

2. ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 6 วัน

3. การประเมินผลการทดสอบความงอก ตรวจสอบความงอกครั้งแรก (First Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 3 วัน และตรวจสอบความงอกครั้งสุดท้าย (Final Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 6 วัน โดยในการประเมินจะนับและแยกส่วนต่าง ๆ หลังการเพาะครบเวลาตามกำหนดดังต่อไปนี้

3.1 ต้นอ่อนปกติ (Normal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ ครบถ้วน

3.2 ต้นอ่อนผิดปกติ (abnormal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ ไม่สมบูรณ์หรือขาดหายไป หรือผิดปกติไปจากเดิม

3.3 เมล็ดแข็ง (Hard Seedling) คือเมล็ดที่มีลักษณะแข็ง ผิวเปลือกไม่ดูดน้ำ หลังจากเสร็จสิ้นการทดสอบจะมีลักษณะคงเดิมทุกอย่าง

3.4 เมล็ดสดที่ไม่งอก (Fresh ungerminated seed) คือเมล็ดที่ดูดน้ำและขยายพองมีขนาดเมล็ดโตขึ้นแต่ไม่มีส่วนใดงอกออกมาเลย

3.5 เมล็ดที่ตาย (Dead seed หรือ Rotten seed) คือเมล็ดตายที่มีลักษณะเน่าเปื่อย มีราขึ้น และไม่งอก

การประเมินผลจะเริ่มทำในวันนับครั้งแรก โดยบันทึกและนับออกของต้นอ่อนปกติ และเมล็ดที่ตาย ส่วนที่เหลือจะนับไม่เกินวันนับครั้งสุดท้าย หลังจากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

$$\%\text{ความงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกปกติ}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \times 100$$

การตรวจสอบความแข็งแรงโดยเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test)

กรมวิชาการเกษตร

จัดให้เมล็ดได้รับสภาพความเครียด (stress condition) หรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมช่วงสั้น ตามกฎของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014) โดยนำเมล็ดในแต่ละกรรมวิธีๆ ใส่ในตะแกรงลวดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ขาตะแกรงสูง 3.5 เซนติเมตร วางภายในกล่องที่บรรจุน้ำ 120 ซีซี. ปิดฝากล่องให้สนิทแล้วนำไปเร่งอายุโดยใช้อุณหภูมิและระยะเวลาตาม Khin et al., 2010 คือ อุณหภูมิ 42-43 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก ตาม ISTA Rule, 2014

1.2.3 ขั้นตอนการปลูกทดสอบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะประจำพันธุ์หลังเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็งเปรียบเทียบกับสภาพอุณภูมิห้อง

ดำเนินการปลูกงา จำนวน 6 พันธุ์ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในระดับความชื้นที่เหมาะสมเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง โดยใช้ paired t-test ในการทดสอบ และปฏิบัติดูแลรักษาตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลตามลักษณะต่าง ๆ โดยดัดแปลงจากรายละเอียดในการตรวจสอบลักษณะของพันธุ์พืชที่ขอจดทะเบียนเป็นพันธุ์พืชใหม่ ตามชนิดพืชที่ได้ประกาศให้เป็นพันธุ์พืชใหม่ที่จะได้รับการคุ้มครอง ตามมาตรา 14 แห่งพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร และ Descriptors for Sesame ของ IPGRI (2004)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

เมล็ดพันธุ์งาจำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 และงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 งาแดงอุบลราชธานี 1 และงาแดงอุบลราชธานี 2 มีระดับความชื้นในเมล็ดเริ่มต้น 9.2, 7.9, 8.0, 8.8, 7.5 และ 7.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ได้ระดับความชื้นในเมล็ดในระดับที่ต้องการแสดงตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ก่อนและหลังการลดความชื้นให้ได้ระดับที่ต้องการของงา 6 พันธุ์

ระดับความชื้นในเมล็ดที่ต้องการ (%)	พันธุ์	ระดับความชื้นในเมล็ดเริ่มต้น(%)	ระดับความชื้นในเมล็ดหลังการลดความชื้น (%)
6	งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1	9.2	5.7
	งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60	7.9	5.7
	งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2	8.0	5.8
	งาดำพันธุ์อุบลราชธานี i3	8.8	5.6
	งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1	7.5	5.7
	งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2	7.7	5.7
4	งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1	9.2	4.3
	งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60	7.9	4.1
	งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2	8.0	4.0
	งาดำพันธุ์อุบลราชธานี i3	8.8	4.5
	งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1	7.5	4.2

กรมวิชาการเกษตร

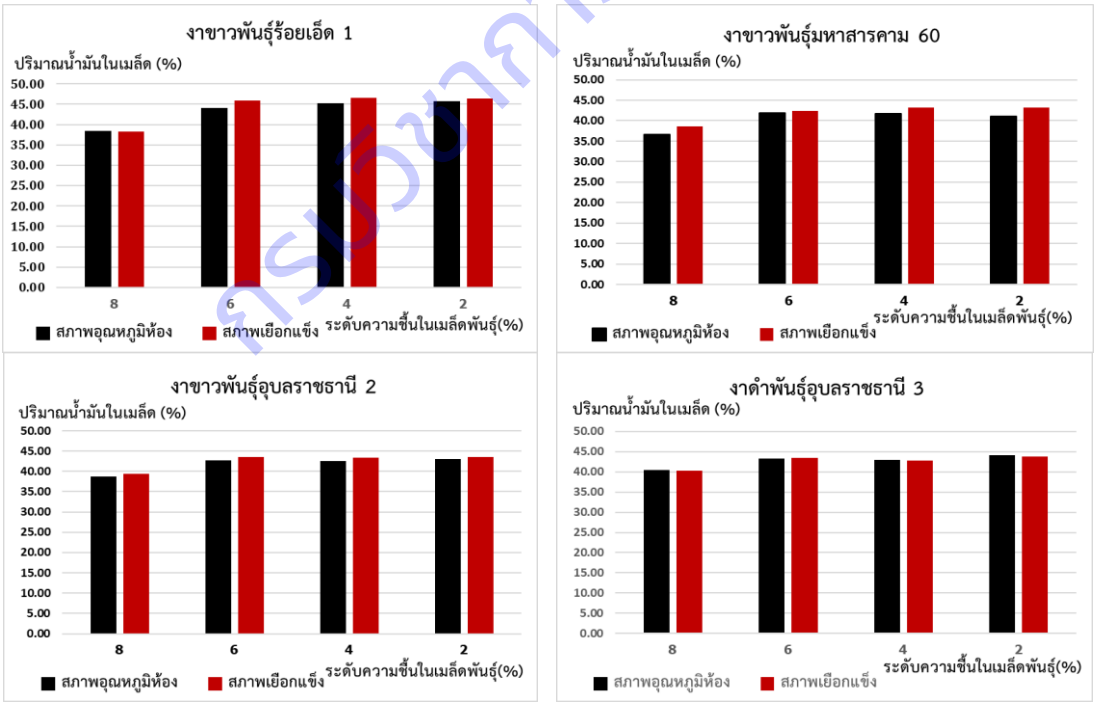
	งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2	7.7	3.8
2	งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1	9.2	3.1
	งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60	7.9	3.3
	งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2	8.0	3.1
	งาดำพันธุ์อุบลราชธานี i3	8.8	3.3
	งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1	7.5	3.1
	งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2	7.7	3.0

<u>การทดสอบการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันในเมล็ดพันธุ์</u>

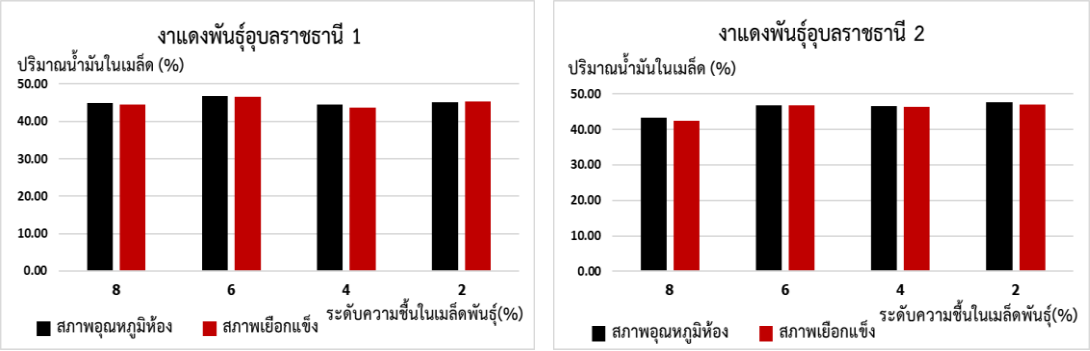
จากการศึกษาผลการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาจำนวน 6 พันธุ์ เมื่อผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์จากความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ เป็น 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และนำเข้าเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 1 เดือน และตรวจสอบปริมาณน้ำมันในเมล็ดพบว่าปริมาณน้ำมันในเมล็ดงาทุกสายพันธุ์ และที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณน้ำมันงาก่อนและหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 ที่ระดับ 8 เปอร์เซ็นต์ (ความชื้นเริ่มต้น), 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 37.91, 42.58, 42.78, และ 42.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 38.29, 45.89, 46.53 และ 46.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 38.00, 41.44,39.86 และ 38.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 38.65, 42.30, 43.20 และ 43.20 ตามลำดับ งาขาวพันธุ์ อุบลราชธานี 2 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 38.75, 41.96,40.80 และ 41.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 39.36, 43.52, 43.30 และ 43.58 ตามลำดับ งาดำพันธุ์ 3 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 38.40, 40.94,41.31 และ 43.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 40.31, 43.49, 42.78 และ 43.79 ตามลำดับ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 31.98, 44.06,44.44 และ 45.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 44.46, 46.62, 43.77 และ 45.31 ตามลำดับ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 40.84, 46.74,47.38 และ 46.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 42.39, 46.72, 46.29 และ 46.95 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง ผลการทดลองไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ (ความชื้นเริ่มต้น), 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 37.77, 42.85, 44.22, และ 42.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 38.47, 44.15, 45.23 และ45.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาขาวพันธุ์ มหาสารคาม 60 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 36.62, 40.94,40.62 และ 41.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 36.70, 41.84, 41.75 และ 41.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 36.85, 41.00, 42.31 และ 43.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 38.80, 42.68, 42.58 และ 43.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 37.66, 40.24,40.62 และ 41.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 เดือน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 40.36, 43.21, 42.87 และ 44.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาแดงพันธุ์ อุบลราชธานี 1 มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 40.50, 43.25, 44.11 และ 44.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 44.90, 46.75, 44.57 และ 45.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา 40.95, 46.75,47.31 และ 45.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ยังคงมีปริมาณน้ำมันในเมล็ด 43.34, 46.77, 46.66 และ 47.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 2) นอกจากนี้จากผลการการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำมันในเมล็ดพันธุ์งาในทุกพันธุ์และที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งไม่มีผลทำให้ปริมาณน้ำมันในเมล็ดพันธุ์เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน (ภาพที่ 1) แสดงให้เห็นถึงการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็งสามารถหยุดปฏิกิริยาทางชีวเคมี การย่อยสลาย และการแบ่งเซลล์ ซึ่งในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าสาเหตุหลักของการเสื่อมสภาพเมล็ดพันธุ์เกิดจากปฏิกิริยา lipid peroxidationและการแพร่กระจายของอนุมูลอิสระซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว ส่งผลให้เมมเบรนสูญเสียคุณสมบัติในการควบคุมการเข้าออกของสารต่างๆภายในเซลล์และสะสมสารพิษทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ (Qun *et al*., 2007) การเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยา lipid peroxidation และปริมาณกรดไขมันระหว่างการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Reuzeau *et al*., 1992) ปกติไขมันที่สะสมในเมล็ดจะลดลงในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากเมตาโบลีซึมหรือปฏิกิริยา peroxidation ของเมล็ดเกิดการย่อยทำลายของเอนไซม์ ทำให้เกิดกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ซึ่งสะสมมากขึ้นตามอายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์และมีความสัมพันธ์กับการลดลงของความงอกของเมล็ด



ศูนย์วิทยทรัพยากร



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์น้ำมันในเมล็ดงา 6 พันธุ์ ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้องของแต่ละระดับของความชื้นในเมล็ดพันธุ์หลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์น้ำมันในเมล็ดงาจำนวน 6 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดต่าง ๆ เมื่อทำการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0 และ 1 เดือน

พันธุ์	ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ (%)	สภาพเยือกแข็ง[1] ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)		แตกต่าง	สภาพอุณหภูมิห้อง[1] ระยะเวลาการเก็บรักษา(เดือน)		แตกต่าง
		0	1		0	1	
งาขาว							
ร้อยเอ็ด 1	8	37.91b	38.29b	-0.38^{ns}	37.77b	38.47b	-0.70^{ns}
	6	42.58a	45.89a	-3.31*	42.85a	44.15a	-1.30^{ns}
	4	42.78a	46.53a	-3.75*	44.22a	45.23a	-1.01^{ns}
	2	42.34a	46.33a	-3.99*	42.84a	45.75a	-2.92*
มหาสารคาม 60	8	38.00b	38.65b	-0.65^{ns}	36.62b	36.70b	-0.08^{ns}
	6	41.44a	42.30a	-0.86^{ns}	40.94a	41.84a	-0.90^{ns}
	4	39.86ab	43.20a	-3.34*	40.62a	41.75a	-1.13^{ns}
	2	38.62b	43.20a	-4.57**	41.88a	41.12a	0.76^{ns}
อุบลราชธานี 2	8	38.75b	39.36b	-0.61^{ns}	36.85b	38.80b	-1.95^{ns}
	6	41.96a	43.52a	-1.56^{ns}	41.00a	42.68a	-1.69^{ns}
	4	40.8ab	43.30a	-2.50^{ns}	42.31a	42.58a	-0.27^{ns}
	2	41.13ab	43.58a	-2.45^{ns}	43.21a	43.08a	0.13^{ns}
งาดำ							
อุบลราชธานี 3	8	38.40b	40.31b	-1.91^{ns}	37.66b	40.36b	-2.70*
	6	40.94a	43.49a	-2.55^{ns}	40.24a	43.21a	-2.98*
	4	41.31a	42.78ab	-1.47^{ns}	40.62a	42.87a	-2.26^{ns}
	2	43.01a	43.79a	-0.77^{ns}	41.67a	44.13a	-2.46^{ns}
งาแดง							

กรมวิชาการเกษตร

อุบลราชธานี 1	**8**	41.98b	44.46ab	-2.48^{ns}	40.50b	44.90a	-4.40**
	6	44.06ab	46.62a	-2.55^{ns}	43.25a	46.75a	-3.50*
	4	44.44ab	43.77ab	0.67^{ns}	44.11a	44.57a	-0.46^{ns}
	2	45.30a	45.31ab	-0.02^{ns}	44.91a	45.05a	-0.14^{ns}
อุบลราชธานี 2	**8**	40.84b	42.39b	-1.55^{ns}	40.95b	43.34b	-2.39^{ns}
	6	46.74a	46.72a	0.22^{ns}	46.75a	46.77a	-0.02^{ns}
	4	47.38a	46.29a	1.09^{ns}	47.31a	46.66a	0.65^{ns}
	2	46.82a	46.95a	-0.13^{ns}	45.45a	47.71a	-2.26^{ns}

CV.(a)= 3.45% CV.(b)=2.31% CV.(c)= 2.56% (สภาพเยื่อกแข็ง)

CV.(a)= 3.47% CV.(b)=2.20% CV.(c)= 2.69% (สภาพอุณหภูมิห้อง)

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์น้ำมันในเมล็ดพันธุ์งาแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

<u>การทดสอบการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์งา</u>

การเก็บรักษาในสภาพเยื่อกแข็ง

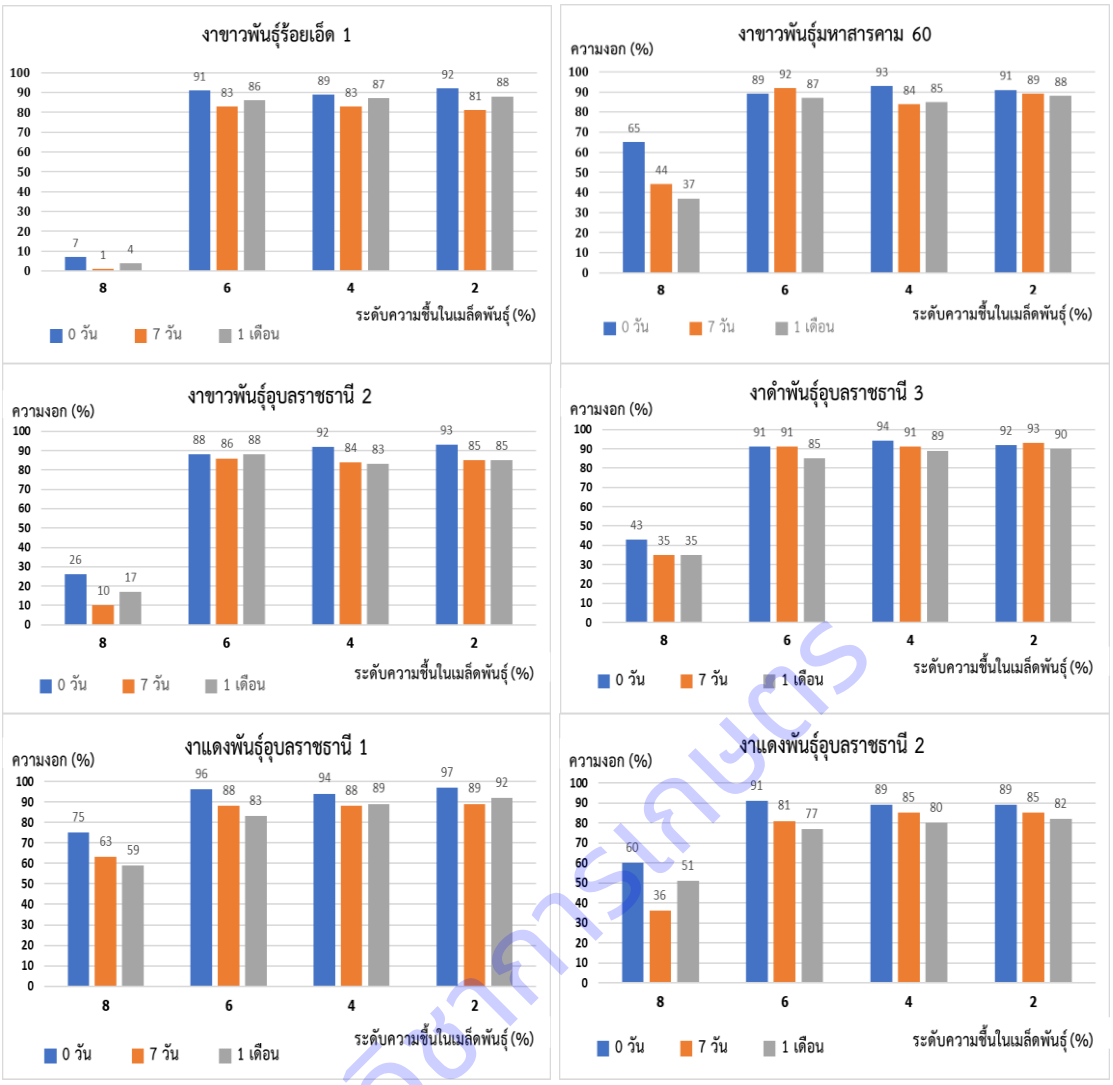
จากการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกระหว่างการเก็บรักษาในสภาพเยื่อกแข็งที่ระยะเวลา 0, 7 วัน และ 1 เดือน พบว่าเมล็ดพันธุ์งาทุกพันธุ์สามารถมีชีวิตรอด และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก เมล็ดงาทุกพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำสุดที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ โดยงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด1 งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 และงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 งาแดงอุบลราชธานี 1 และงาแดงอุบลราชธานี 2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกก่อนการเก็บรักษาเท่ากับ 7, 65, 26, 43, 75 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาไว้ 7 วัน 1 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกของงาทุกพันธุ์มีแนวโน้มลดลง และงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ดเป็นพันธุ์ที่มีการตอบสนองสูงสุดต่อระดับความชื้นของเมล็ด โดยในแต่ละพันธุ์เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกเหลือ 4, 37, 17, 35, 59 และ 51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในทางกลับงาทุกพันธุ์เมื่อลดระดับระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และเก็บไว้ในสภาพรักษาเยื่อกแข็งมีผลทำให้ความมีชีวิตยังคงไม่เปลี่ยนแปลง ในงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยื่อกแข็งเป็นระยะ 0, 7 วัน และ 1 เดือน มีความงอก 91, 83 และ 86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 89, 83 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 92, 81 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 89, 92 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 93, 84 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 91, 89 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 88, 86 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 92, 84 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 93, 85 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 91, 91 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 94, 91 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 92, 93 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 96, 88 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 94, 88 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นใน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

เมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 97, 89 และ 92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 91, 81 และ 77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 89, 85 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 89, 85 และ 82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 2)

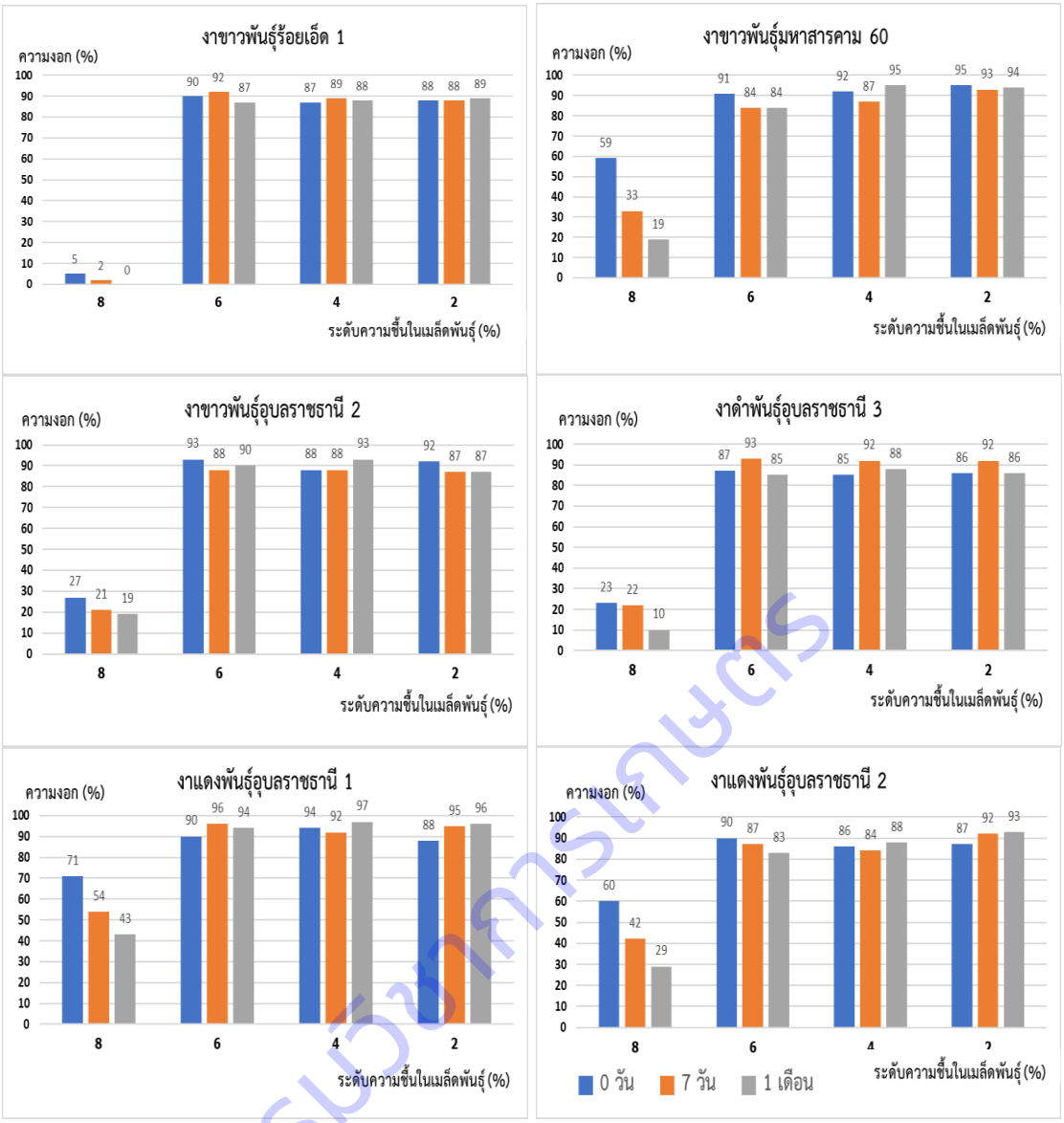
จากผลการทดลองงาทุกสายพันธุ์สามารถมีชีวิตรอดได้ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง และอิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็ง การลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นการรักษาความมีชีวิตและปริมาณน้ำมันในเมล็ดให้ได้ยาวนานขึ้น ตามการศึกษาของ Standwood (1987) พบว่า งาจำนวน 6 สายพันธุ์ สามารถทนต่อการแช่ไนโตรเจนเหลวได้ และการอยู่รอดของเมล็ดงานั้นนอกจากจะขึ้นอยู่กับอัตราการลดอุณหภูมิ (cooling rate) ยังขึ้นอยู่กับความชื้นของเมล็ด การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเมล็ดงาสามารถทนต่อการสัมผัสกับไนโตรเจนเหลวหรืออยู่รอดได้หากความชื้นต่ำกว่า 6 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการลดอุณหภูมิ 1 และ 30 องศาเซลเซียสต่อนาที นอกจากนี้ในประเทศไทยยังมีการทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชในสภาพเยือกแข็งอีกหลายชนิด โดยภาณี และคณะ (2543) ได้ศึกษาในเมล็ดพันธุ์พืชผัก พืชพื้นบ้าน และพืชไร่ต่าง ๆ เช่น พริก มะเขือเทศ ผักกวางตุ้ง ข้าวโพดหวาน ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น พบว่าเมล็ดพันธุ์ต่าง ๆข้างต้นมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังการเก็บรักษาใกล้เคียงหรือสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ปกติ บัวหลวง และคณะ (2542) ได้ศึกษาเทคนิคและวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ แมงลัก พริก มะเขือเทศ ข้าวโพดหวาน กระเจี๊ยบเขียว แตงกวา กวางตุ้ง ผักคะน้า และถั่วฝักยาว ในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว พบว่าสามารถเก็บรักษาโดยวิธีง่ายๆ คือ ทำการปรับความชื้นในเมล็ดให้ต่ำกว่าปกติเล็กน้อยขึ้นอยู่กับชนิดพืช บรรจุเมล็ดลงในหลอดที่ทนต่อสภาพใต้จุดเยือกแข็ง แล้วจึงเก็บในไนโตรเจนเหลว เมล็ดต่าง ๆ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำกว่าเมล็ดเปรียบเทียบ 5-17 เปอร์เซ็นต์

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์งาจำนวน 6 พันธุ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ด เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0, 7 วัน และ 1 เดือน

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์งาจำนวน 6 พันธุ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ด เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 0, 7 วัน และ 1 เดือน

การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

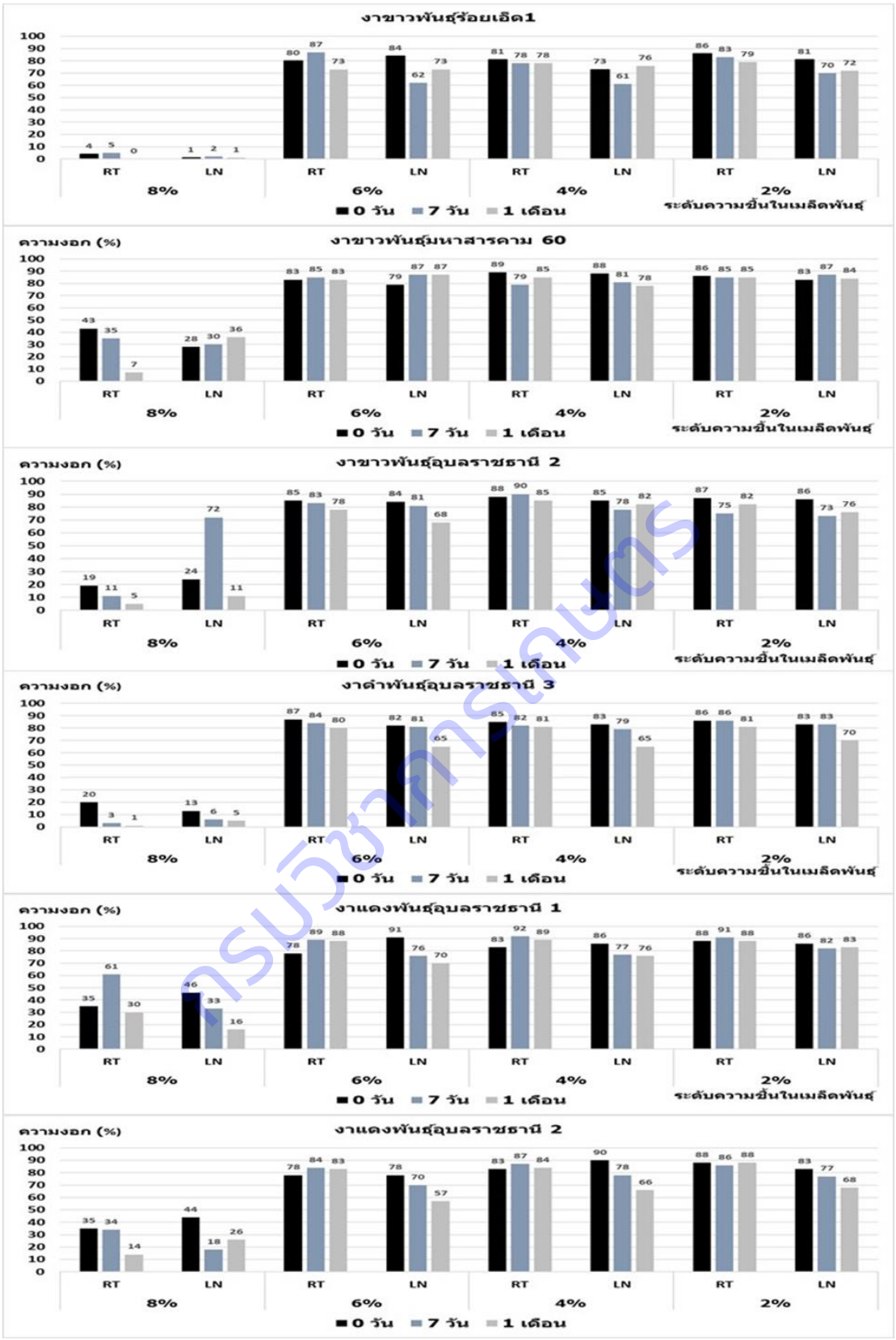
จากการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง ที่ระยะเวลา 0, 7 วัน และ 1 เดือน พบว่าเมล็ดพันธุ์งาทุกพันธุ์สามารถมีชีวิตรอด และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก เมล็ดงาทุกพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำสุดที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ โดยงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด1 งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 และงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 งาแดงอุบลราชธานี 1 และงาแดงอุบลราชธานี 2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกก่อนการเก็บรักษาเท่ากับ 5, 59, 22, 43, 71 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาไว้ 7 วัน 1 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกของงาทุกพันธุ์มีแนวโน้มลดลง และงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ดเป็นพันธุ์ที่มีการตอบสนองสูงสุดต่อระดับความชื้นของเมล็ด โดยในแต่ละพันธุ์เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกเหลือ 0, 19, 19, 10, 43 และ 29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อลดระดับระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำมาเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องพบว่าความมีชีวิตยังคงไม่เปลี่ยนแปลง โดยงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะ 0, 7 วัน และ 1 เดือน มีความงอก 90, 92 และ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 87, 89 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 88, 88 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 91, 84 และ 84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 92, 87 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 95, 93 และ 94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 93, 88 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 88, 88 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 92, 87 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 87, 93 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 85, 92 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 86, 92 และ 86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 90, 96 และ 94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 94, 92 และ 97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 88, 95 และ 96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 90, 87 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 86, 84 และ 88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 87, 92 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 3)

จากผลการทดลองงาทุกพันธุ์ยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่เปลี่ยนแปลงจากเริ่มต้น แสดงให้เห็นถึงภายในระยะเวลา 1 เดือน ยังสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพอุณหภูมิห้องได้ ซึ่งผลจากการทดลองของ Denise et al. (2014) พบว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิโดยธรรมชาติซึ่งมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 30-32 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์งายังคงความมีชีวิตอยู่ได้ภายในระยะเวลา 6 เดือน แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ การลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นการรักษาความมีชีวิตให้คงอยู่ได้ภายในระยะเวลา 1 เดือน Jianfang et al. (1998) เสนอระดับความชื้นเมล็ดงาที่เหมาะสมที่สุดเพื่อความอยู่รอดสูงสุด ในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องระหว่าง 0-35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ย 18 องศาเซลเซียส อยู่ที่ 1.8-2.5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับแนวทางการจัดการคลังเมล็ดพันธุ์ แนะนำให้ลดความชื้นของเมล็ดให้น้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์สำหรับพืชที่มีปริมาณไขมันสูง (FAO/IPGRI, 1994) นอกจากนี้ Zadorazhna et al. (2014) ศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพืชน้ำมันหลายชนิด พบว่าเมล็ดงาต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 เปอร์เซ็นต์

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ของงาจำนวน 6 พันธุ์ เพื่อทดสอบความแข็งแรง ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (LN) และสภาพอุณหภูมิห้อง (RT) ที่ระยะเวลา 0, 7 วัน และ 1 เดือน ในแต่ละระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดก่อนทำการเก็บรักษา

กรมวิชาการเกษตร

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์งา

ผลการศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาทั้ง 6 พันธุ์ ในสภาพเยือกแข็งโดยเปรียบเทียบผลกับสภาพอุณหภูมิห้อง และศึกษาการเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์งาโดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์และทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก พบว่าเมล็ดพันธ์งาทุกพันธุ์ที่มีระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น คือ 8 เปอร์เซ็นต์ จะมีความแข็งแรงต่ำสุด โดยเฉพาะงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 และงาดำอุบลราชธานี 3 มีความแข็งแรงต่ำสุด แต่เมื่อทุกพันธุ์ผ่านการลดความชื้นส่งผลให้ยังคงรักษาระดับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไว้ได้ และเมื่องาทุกพันธุ์ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง พบว่างาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกับสภาพอุณหภูมิห้องมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน เมล็ดพันธุ์ไม่มีความแข็งแรงทั้ง 2 สภาพการเก็บรักษา ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำให้ความแข็งแรงลดลงจากความแข็งแรงเริ่มต้น 84 เปอร์เซ็นต์ เหลือ 62 เปอร์เซ็นต์ แต่การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องยังคงรักษาความแข็งแรงไว้ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น 84 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บ รักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน ยังคงความงอก 87 เปอร์เซ็นต์ แต่ภายในระยะเวลา 1 เดือน การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้องมีความแข็งแรงลดลงไม่แตกต่างกันโดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเหลืออยู่ที่ 73 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งที่ระยะเวลา 7 วัน เปอร์เซ็นต์ความงอกจะมีค่าน้อยกว่าสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง แต่ที่อายุการเก็บรักษา 1 เดือน กลับไม่มีความแตกต่างโดยมีความงอกอยู่ที่ 76 และ 78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 1 เดือน ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์มีค่าลดลงจาก 86 เปอร์เซ็นต์ เป็น 76 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องลดลงน้อยกว่าจาก 87 เปอร์เซ็นต์ เป็น 79 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในงาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งยังคงรักษาความแข็งแรงไว้ได้ จากการมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น 28 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน มีความงอก 36 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องกลับไม่สามารถคงความแข็งแรงไว้ได้ โดยมีการเปลี่ยนความงงอกจาก 43 เปอร์เซ็นต์ เหลือเพียง 7 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ลงให้เหลือ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ การเก็บในสภาพเยือกแข็งส่งผลให้ยังสามารถรักษาระดับความแข็งแรงไว้ได้จากค่าเริ่มต้น และไม่แตกต่างจาการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง ยกเว้นที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความแข็งแรงต่ำกว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภมิห้อง ส่วนงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มค่าความแข็งแรงลดลงทั้ง 2 สภาพการเก็บรักษา ภายในระยะเวลา 1 เดือน และเมื่อลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ลงให้เหลือ 6 เปอร์เซ็นต์ ค่าความแข็งแรงลดลงมากว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง แต่ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ในสภาพอุณหภูมิห้องยังคงรักษาความแข็งแรงไว้ได้ แต่สภาพเยือกแข็งแรงความแข็งแรงกลับลดลงมากกว่า ส่วนที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความแข็งแรงกลับยังคงรักษาความแข็งแรงไว้ได้เช่นเดียวกันกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง สำหรับงาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในทั้ง 2 สภาพ เป็นระยะเวลา 1 เดือน มีความแข็งแรงน้อยมาก โดยการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งส่งผลให้ค่าความแข็งลดลงจาก 13 เปอร์เซ็นต์ เป็น 5 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับที่สภาพอุณหภูมิห้องลดลงจาก 20 เปอร์เซ็นต์ เป็น 1 เปอร์เซ็นต์ และในทุกระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งมีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง ขณะที่การเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้องยังคงรักษาความแข็งแรงไว้ได้เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 และ 2 ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เมื่อเก็บรักษาที่สภาพเยือกแข็งในรูปแบบเดียวกัน คือ มีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลงในทุกระดับความชื้น แต่ยกเว้นงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 เมื่อลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์

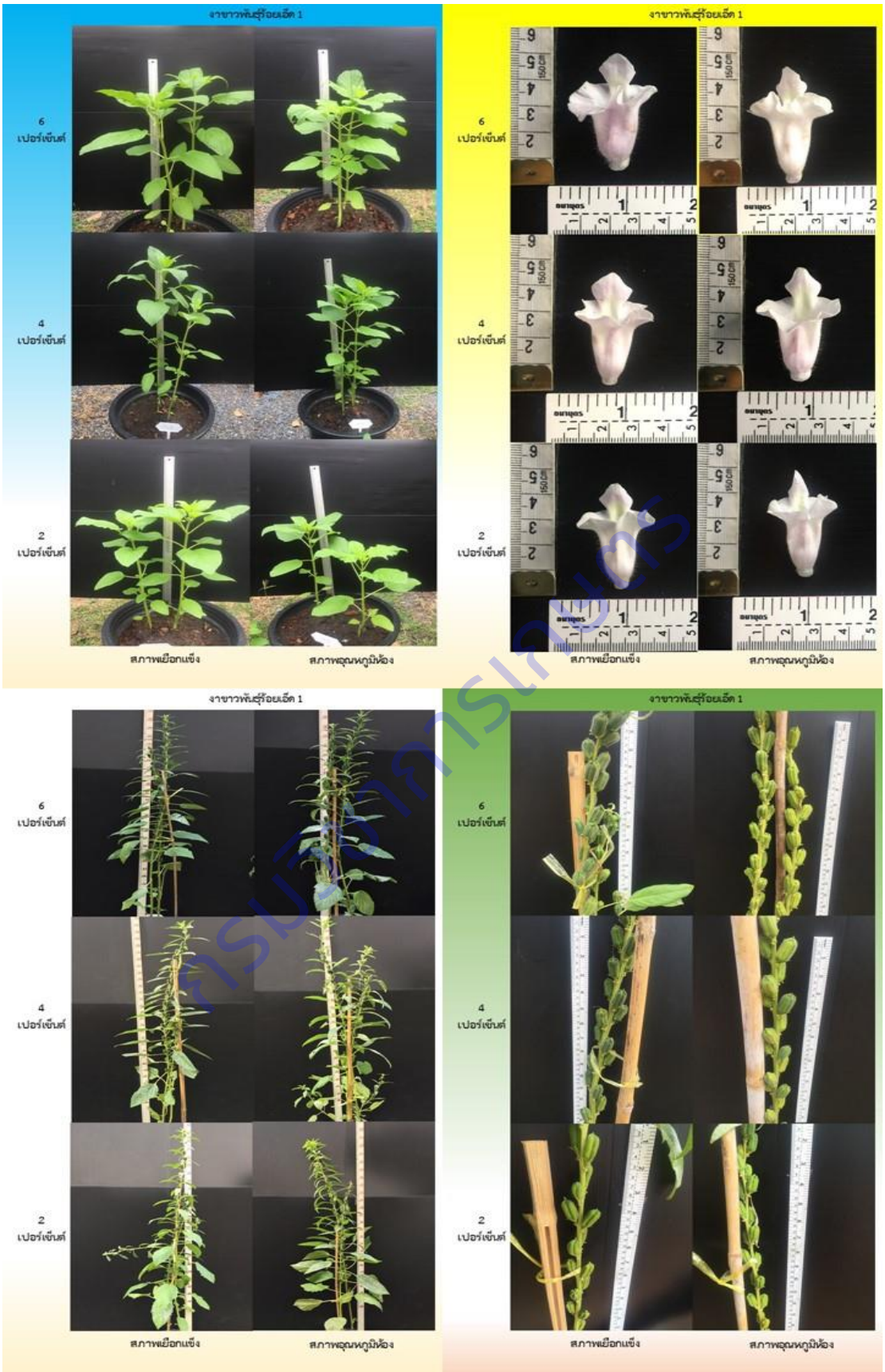
ให้เหลือ 2 เปอร์เซ็นต์ ยังสามารถรักษาความแข็งไว้ได้เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ส่วนสภาพอุณหภูมิห้องค่าความแข็งแรงไม่เปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 4)

จากผลการทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็งดังกล่าวเป็นระยะเวลา 1 เดือน งาแต่ละพันธุ์แสดงการตอบสนองของค่าความแข็งแรงต่อการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งแตกต่างกัน โดยในงาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์และต่ำกว่ายังสามารถเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งได้โดยไม่มีการเปลี่ยนความแข็งแรง ส่วนงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 และอุบลราชธานี 2 สามารถคงความแข็งแรงไว้ได้ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ งาแดงพันธุ์อุบลราชธานีคงความแข็งแรงไว้ได้ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 2 เปอร์เซ็นต์ แต่ในงาดำอุบลราชธานี 3 และงาแดงอุบลราชธานี 2 สภาพเยือกแข็งส่งผลให้ความแข็งแรงทุกระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ลดลง

<u>การทดสอบการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของเมล็ดพันธุ์งาภายหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง</u>

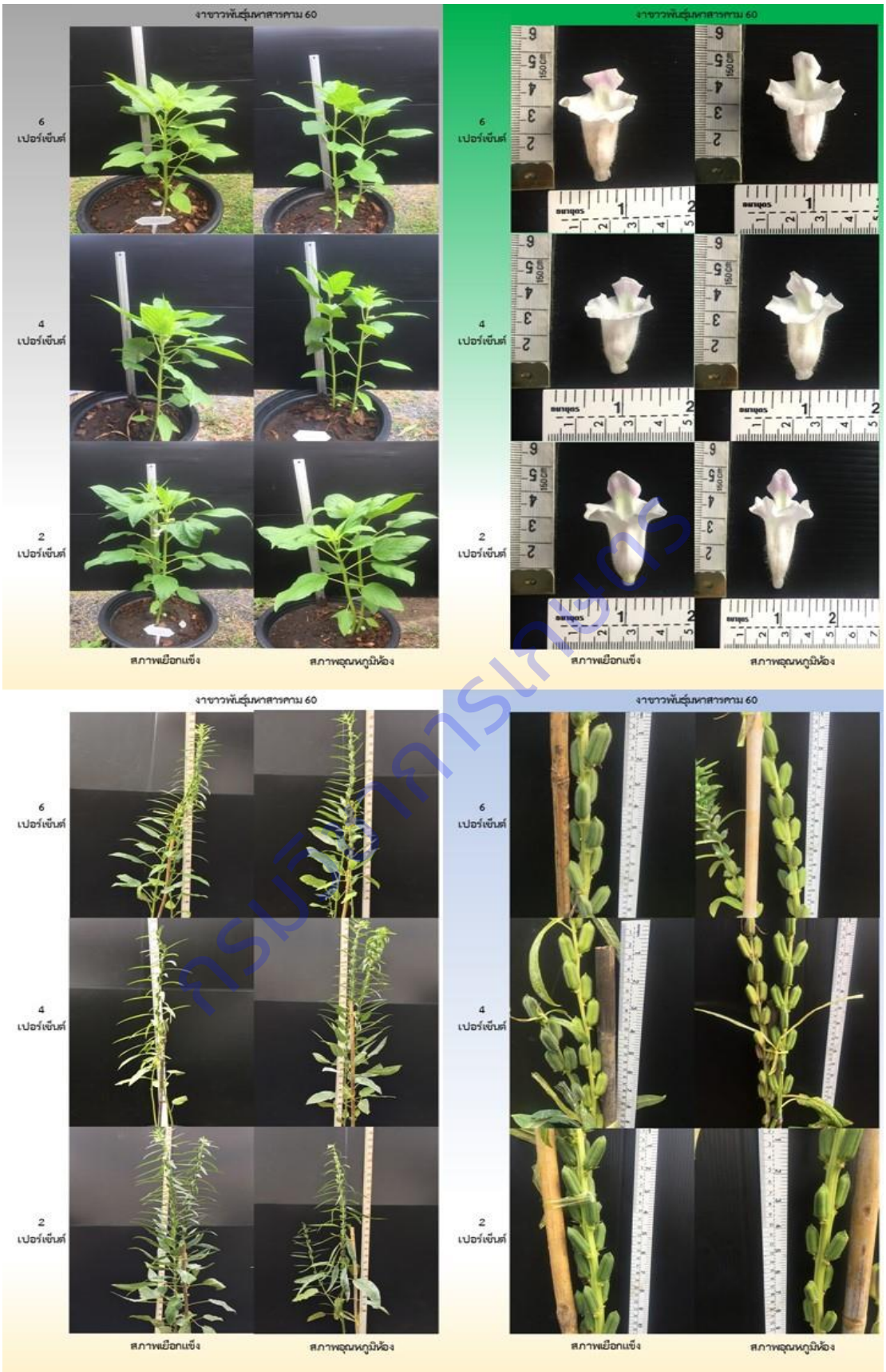
จากการปลูกเปรียบเทียบเมล็ดพันธุ์งาจำนวน 6 พันธุ์ ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง และอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน เพื่อศึกษาอิทธิพลของการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งต่อการเจริญเติบโตของพืช พบว่างาทุกพันธุ์และทุกระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากลักษณะประจำพันธุ์เดิมหรืองาที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องปกติ ได้แก่ การเจริญเติบโตของต้นกล้า ลักษณะของลำต้น ใบ ดอก และฝัก (ภาพที่5-10) และจากการทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ตามระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่าง ๆของงาในแต่ละพันธุ์เปรียบเทียบระหว่างที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็ง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในงาทุกพันธุ์ตามตารางที่ 3 สอดคล้องกับงานทดลองของ ภาณีและคณะ (2543) ได้ทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พื้นบ้าน และสมุนไพรหลายชนิด และได้ทดสอบสมมติฐานที่ว่าทันทีที่เมล็ดถูกหย่อนลงไปสัมผัสกับไนโตรเจนเหลวในถังบรรจุทุกส่วนจะแข็งตัวเป็นน้ำแข็งทันทีและไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆทางสรีระและชีวเคมี เมื่อเมล็ดนั้นไปลูกสามารถงอกเป็นต้นกล้าปกติได้ โดยได้ทดสอบปลูกถั่วฝักยาวจำนวน 50 พันธุ์ ที่เก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลวเป็นระยะเวลา 4 ปี ในแปลงทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างของการเจริญเติบโตของต้นกล้า และช่วงเวลาการออกดอก สีของดอก คุณภาพและความแข็งแรงของเมล็ดหลังการเก็บเกี่ยว

กรมวิชาการเกษตร



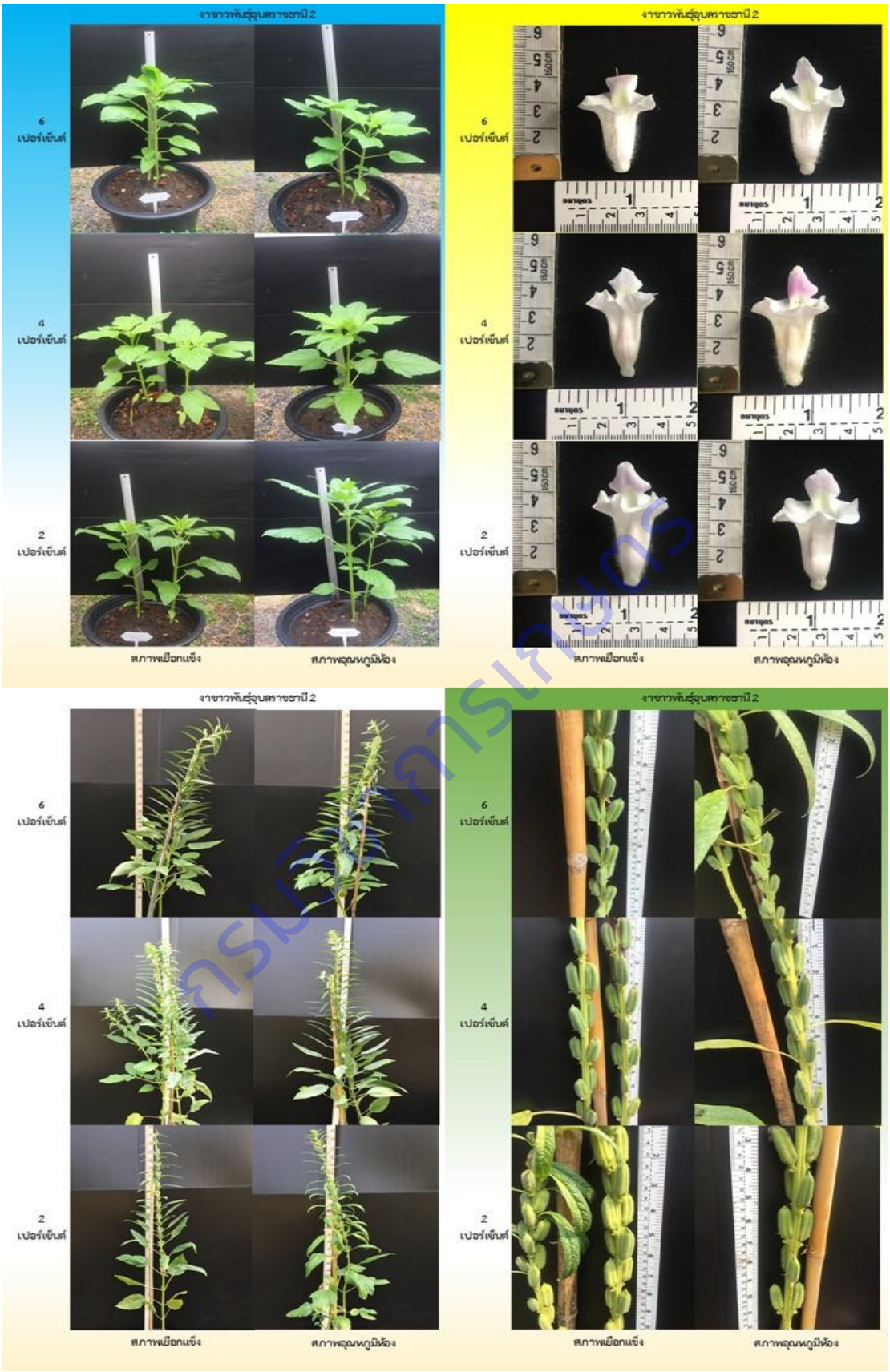
ภาพที่ 5 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของงาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์หลังผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้อง

สำนักวิทยบริการฯ

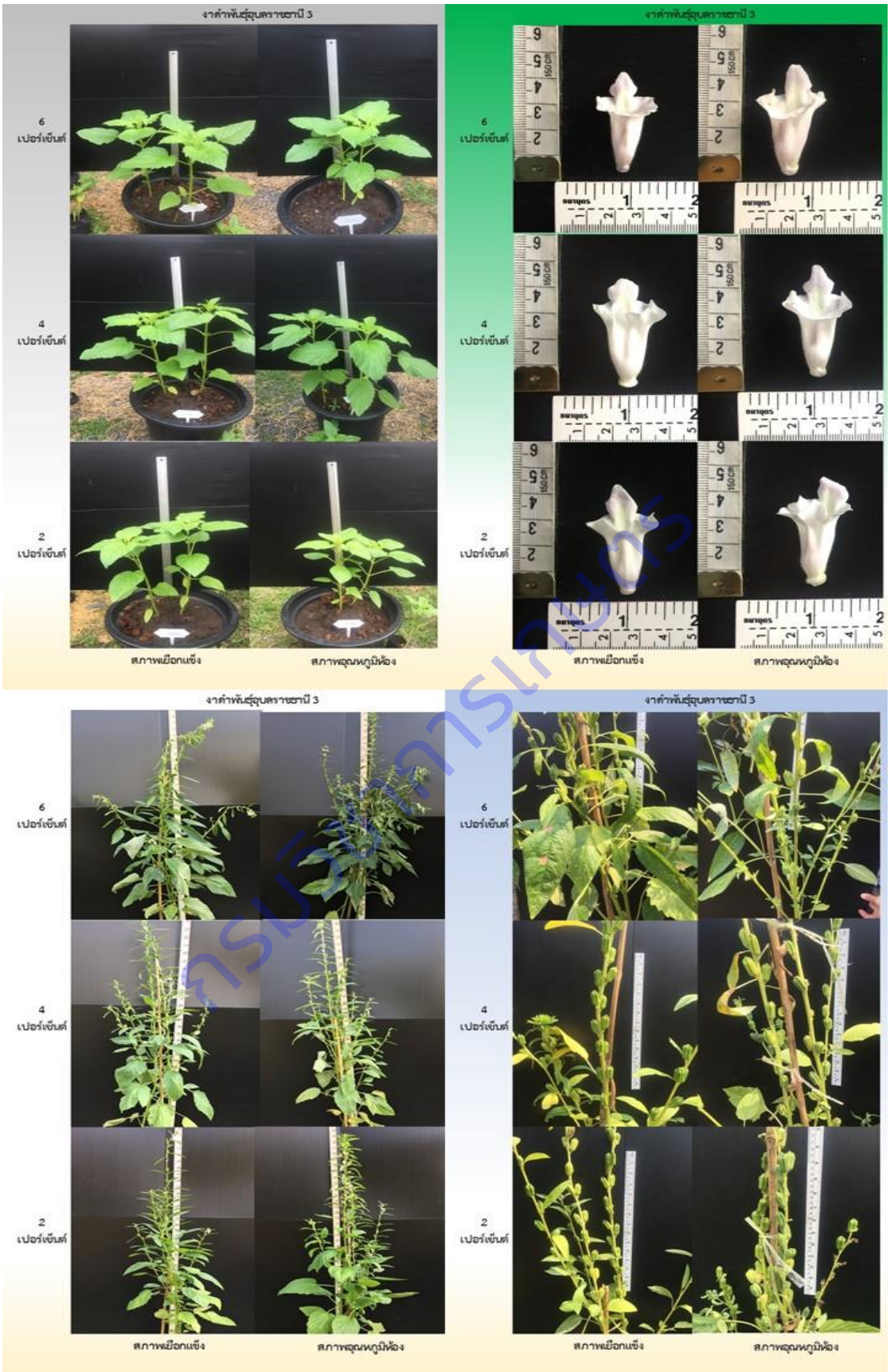


ภาพที่ 6 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของงาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์หลังผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้อง

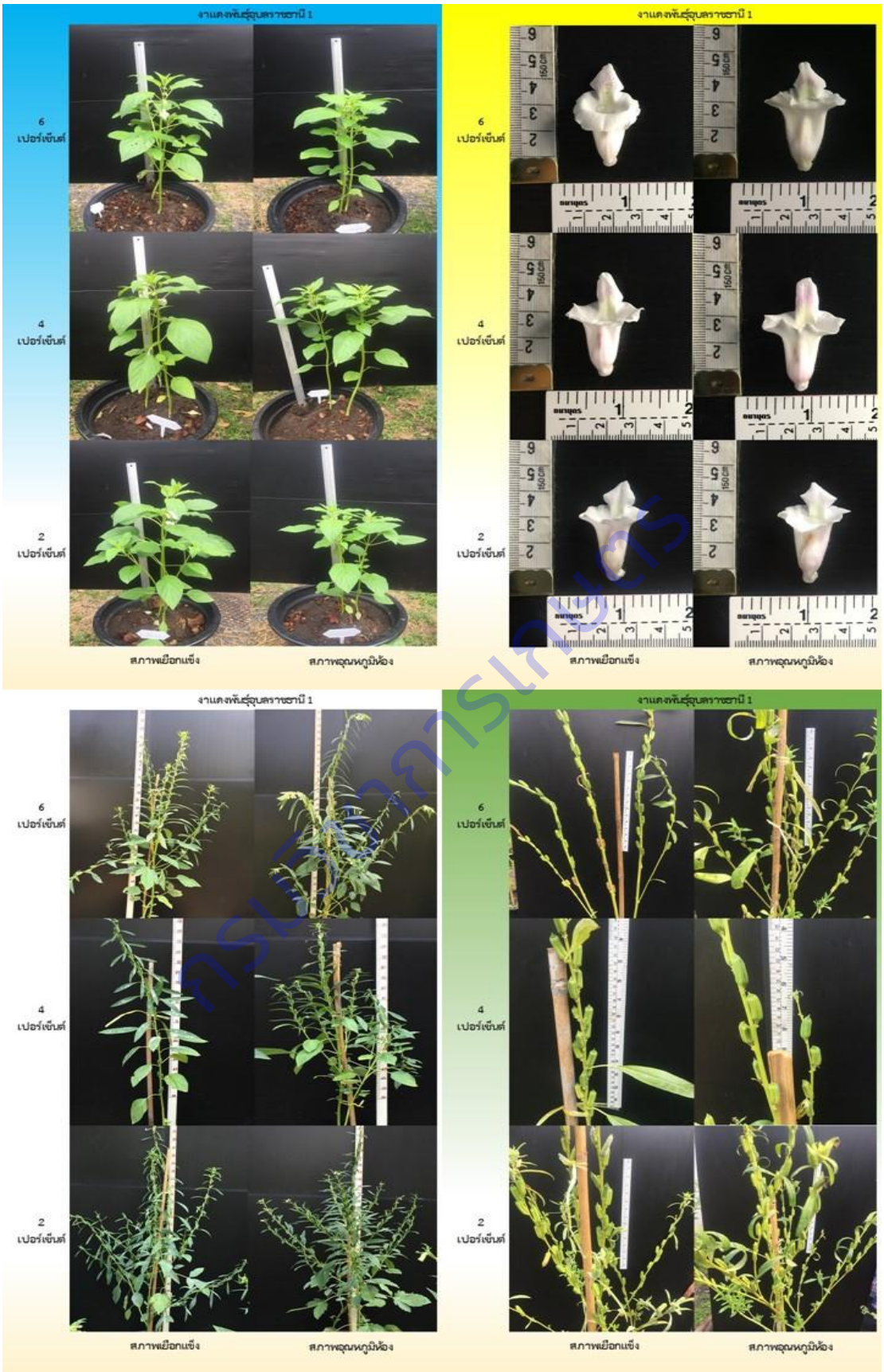
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์หลังผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้อง

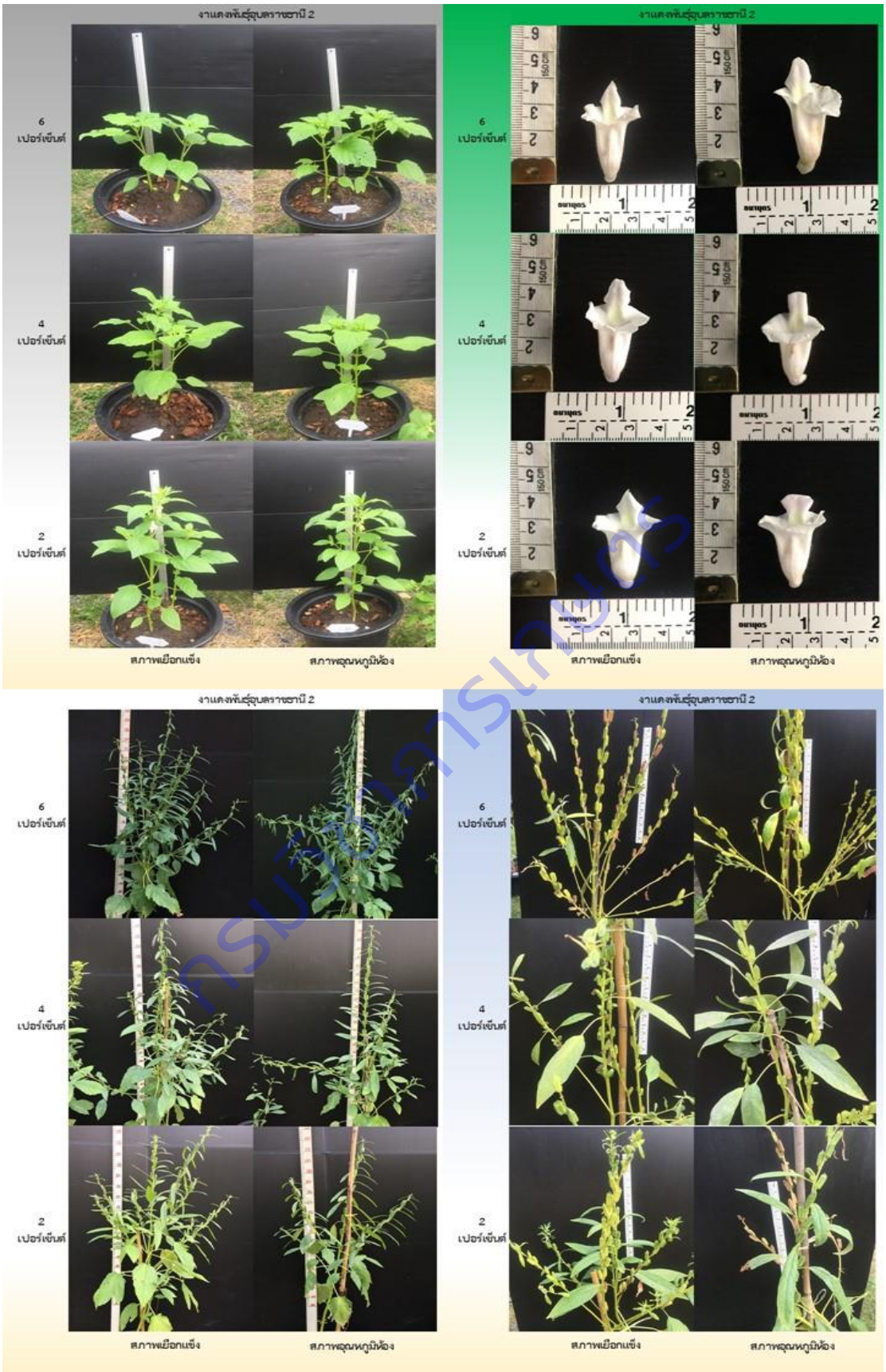


ภาพที่ 8 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของงาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์ หลังผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 9 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์หลังผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้อง

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 10 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของงาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6, 4 และ 2 เปอร์เซ็นต์หลังผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในสภาพเยือกแข็งและอุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ของเมล็ดพันธุ์งาตามระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็ง และนำมาปลูกในแปลงเพื่อทดสอบการเจริญเติบโต

พันธุ์	ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์(%)	สภาพการเก็บรักษา	ค่าเฉลี่ย	S.D.	*t*	*p*-value
งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด1	6	อุณหภูมิห้อง	3.09	0.03	-0.95	0.41
		เยือกแข็ง	3.16	0.02		
	4	อุณหภูมิห้อง	3.07	0.00	-0.69	0.54
		เยือกแข็ง	3.11	0.01		
	2	อุณหภูมิห้อง	3.06	0.00	-1.27	0.29
		เยือกแข็ง	3.08	0.00		
งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60	6	อุณหภูมิห้อง	3.24	0.02	-0.06	0.96
		เยือกแข็ง	3.24	0.00		
	4	อุณหภูมิห้อง	3.22	0.04	-0.75	0.51
		เยือกแข็ง	3.31	0.02		
	2	อุณหภูมิห้อง	3.25	0.00	-0.48	0.66
		เยือกแข็ง	3.27	0.01		
งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2	6	อุณหภูมิห้อง	3.02	0.04	-1.87	0.16
		เยือกแข็ง	3.27	0.01		
	4	อุณหภูมิห้อง	3.25	0.01	-0.17	0.88
		เยือกแข็ง	3.33	0.01		
	2	อุณหภูมิห้อง	3.23	0.00	-0.10	0.58
		เยือกแข็ง	3.18	0.03		
งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3	6	อุณหภูมิห้อง	3.13	0.01	-0.14	0.51
		เยือกแข็ง	3.09	0.00		
	4	อุณหภูมิห้อง	3.16	0.06	1.43	0.25
		เยือกแข็ง	2.95	0.01		
	2	อุณหภูมิห้อง	3.02	0.02	0.81	0.48
		เยือกแข็ง	2.93	0.03		
งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1	6	อุณหภูมิห้อง	3.16	0.02	-0.51	0.65
		เยือกแข็ง	3.24	0.11		
	4	อุณหภูมิห้อง	3.05	0.05	0.79	0.48
		เยือกแข็ง	2.93	0.01		
	2	อุณหภูมิห้อง	3.29	0.01	1.37	0.27
		เยือกแข็ง	3.21	0.01		
งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 2	6	อุณหภูมิห้อง	3.09	0.01	-1.27	0.29
		เยือกแข็ง	3.16	0.02		
	4	อุณหภูมิห้อง	3.10	0.01	-1.27	0.92
		เยือกแข็ง	3.09	0.02		
	2	อุณหภูมิห้อง	3.36	0.04	1.45	0..24
		เยือกแข็ง	3.17	0.03		

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

กรมวิชาการเกษตร

เมล็ดงาทั้ง 6 สายพันธุ์สามารถเก็บในสภาพเยือกแข็งได้ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันและความมีชีวิต เมื่อนำออกปลูกหรือขยายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติ แต่ควรลดความชื้นของเมล็ดให้เหลือ 6 เปอร์เซ็นต์หรือต่ำกว่าเพื่อรักษาให้มีอายุการเก็บรักษายาวนาน

แม้ว่าจากการทดลองภายในระยะเวลา 1 เดือนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของความมีชีวิตและปริมาณน้ำมันในเมล็ดที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์และต่ำกว่า แต่เมื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์กลับพบว่ามีแนวโน้มลดลงในบางพันธุ์ หรือบางระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ การดำเนินงานในระยะต่อไปควรเพิ่มระยะเวลาในการทดสอบการเก็บรักษาเพื่อให้เห็นผลในระยะยาวที่ชัดเจนมากขึ้น

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 4

เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักโขม (*Amaranthus spp.*) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

Seed Conservation of *Amaranthus spp.*

ชื่อผู้วิจัย
นิภาพร บัวอิ่น
Nipaporn Boain
ชลลดา สามพันพวง
Chollada Samphunphuang
อภิญญา วงศ์เปี้ย
Aphinya Wongpia

กรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ (Key words)
เมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ ความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ การอนุรักษ์
Amaranthus Seed, Seed viability, Seed vigor, Conservation

บทคัดย่อ (Abstracts)

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 - กันยายน 2564 โดยศึกษาระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา แบ่งเป็น 4 การทดลอง ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา คือ สภาพอุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 เดือน แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 3 ซ้ำ main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 ระดับ ได้แก่ 10 (เริ่มต้น), 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และ sub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 18 เดือน โดยเก็บข้อมูลความมีชีวิตและความแข็งแรงทุก 2 เดือน รวม 10 ระดับ พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ก่อนการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม สามารถเก็บรักษาได้นานเกิน 18 เดือน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศา โดยเปอร์เซ็นต์ความ

งอกจากการทดสอบความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมนั้นมีอัตราลดลงเล็กน้อยเมื่ออายุ การเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

Abstract

Conservation of Amaranthus L. Seed was studied from October 2019 to September 2021. This research was studied on seed moisture content (%) and storage temperature which divided into three experiments according to storage condition; room temperature (25±2 ℃), 5 ℃ and -10 ℃ by using Split plot design with 3 replications. The Main plot was seed moisture content (%) at different levels; 10 (initial) 8, 6, and 4. The sub plot was 10 levels of storage period (months) and checked the seeds viability and vigor. The result showed that seed moisture content before storage and storage temperature affected the amaranthus seed viability and seed vigor. It was also revealed that after being stored in 5 ℃ and -10 ℃ storage room, the seeds can be conserved for more than 18 months with a slight decrease of seed vigor and seed viability.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ (Introduction)

ผักโขม (*Amaranthus* spp.) เป็นพืชท้องถิ่นของประเทศไทย สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินเกือบทุกชนิด และสภาพภูมิอากาศหลายแบบ สามารถเก็บผลผลิตใบและต้นอ่อน เพื่อบริโภคที่อายุ 3-4 สัปดาห์หลังปลูก และอายุ 60-90 วัน จึงเก็บผลผลิตเมล็ดได้ (Stallknecht and Schulz-Schaeffer. 1993) อีกทั้งมีความต้านทานโรคและแมลงสูง (AVRDC, 2004) คนไทยคุ้นเคยกับผักโขมเป็นอย่างดีเพราะเป็นอาหารธรรมชาติที่สามารถหาได้ในท้องถิ่นโดยไม่ต้องปลูก อีกทั้งปัจจุบันมีการศึกษาพบว่า ผักโขมมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ในใบ ลำต้น และเมล็ด โดยผักโขมสด 100 กรัมอุดมไปด้วยวิตามินเอ (2917 I.U.) วิตามินซี (43.5 มก.) เหล็ก (2.32 มก.) แคลเซียม (215 มก.) โพแทสเซียม (135-611 มก.) ฟอสฟอรัส (50-148 มก.) , โปรตีน (2.46-3.8 กรัม) และไลซีน (0.13-0.34 กรัม) (Maundu *et al*., 2009).

และจากการศึกษาของ Makus and Davis (1984) พบว่า ผักโขม (Amaranthus) มีธาตุเหล็กเป็น 3เท่าของ ผักโขมฝรั่ง (spinach) มีโปรตีนสูง มีวิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ ทั้งในใบและเมล็ดที่สูงกว่ามาตรฐานพืชทั่วไป และยังเป็นโปรตีนที่ไม่มีกลูเทน(Gluten) ซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารให้สำหรับผู้แพ้กลูเทน ซึ่งไม่เหมือนโปรตีนที่พบในธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวไรท์ ตามรายงานปี 2007 ผักโขมเป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับคนบริโภคอาหารมังสาวิรัติ (Vegetarian) ที่ต้องการอาหารที่ปราศจากกลูเทนที่มีในพืชพวกข้าวสาลี ข้าวไรท์ ข้าวฟ่าง (Gallagher *et.al.* 2003)

และจากการศึกษาของ Rita และคณะ ในปี 2013 พบปัญหาทุพโภชนาการในเด็กที่อายุต่ำกว่า 5 ปี มีเกือบ 31 เปอร์เซ็นต์ ในประเทศกำลังพัฒนา ซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ โดยแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ 1. ภาวะการขาดโปรตีน และ 2. ภาวะการขาดธาตุอาการ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดกับครอบครัวที่ยากจนไม่สามารถหาโปรตีนจากเนื้อสัตว์ที่เป็นอาหารของเด็กที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบได้ ด้วยองค์ประกอบคุณค่าทางอาหารของผักโขมที่ถูกรายงานว่าพบโปรตีนใกล้เคียงกับโปรตีนในสัตว์ที่มีกรดอมิโนไลซีนมีปริมานสูงกว่าข้าวสาลี และข้าวโพดถึง 2 และ 3 เท่าตามลำดับ (Maughan, 2008) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวมานี้ ได้รับการยอมรับว่า ผักโขมมีศักยภาพเป็นอาหารแก่ประชากรที่ขาดแคลนและขาดอาหารในประเทศที่กำลังพัฒนา (Andini, 2013)

นอกจากนี้ยังใช้ผักโขม (*A.spinosus*) สกัดเป็นยาป้องกันเชื้อกามโรค และยังใช้รักษาแผลที่เกิดจากน้ำร้อนลวก (Grubben, 1993) ในทางการแพทย์ใช้ทั้งต้นดับพิษภายในและภายนอก แก้บิด มูกเลือด ริดสีดวงจมูก ริดสีดวงทวาร แก้ผื่นคัน แก้รำมะนาด รักษาฝี แผลพุพอง (กัญจนา, 2542)

จะเห็นว่าผักโขมเป็นพืชที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลายและนับวันจะมีการใช้ประโยชน์มากยิ่งขึ้นด้วยคุณค่าและกระแสความนิยมการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ การพัฒนาพันธุ์พืชเพื่อไปสู่การใช้และการบริโภคยังมีอย่างต่อเนื่อง จึงควรรวบรวมพันธุกรรมพืชจากแหล่งต่างๆ เพื่ออนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช โดยธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้มีการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมต่างๆ ซึ่งเมล็ดพืชสกุลผักโขม เป็นพืชอีกตัวที่สมควรต้องมีฐานข้อมูลในธนาคารเชื้อพันธุ์ ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับระดับความชื้นที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์ระยะยาว โดยที่เมล็ดพันธุ์ยังคงความมีชีวิตและมีความแข็งแรงเป็นสำคัญ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชสกุลผักโขม ภายใต้อุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างๆ สำหรับอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช
2. เพื่อศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อเมล็ดพันธุ์พืชสกุลผักโขม ภายใต้อุณหภูมิในการเก็บรักษาต่างๆสำหรับอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

การทบทวนวรรณกรรม (งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ให้นำไปรวมในบทนำ)

ผักโขม (amaranth) อยู่ในสกุล Amaranthus วงศ์ Amaranthaceae เป็นไม้พุ่มล้มลุกที่ขึ้นอยู่กระจัดกระจายตามธรรมชาติในเขตอบอุ่นและเขตร้อน พืชในสกุลนี้ประมาณ 60 ชนิด (RSA, 2010) เป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกา และอีกประมาณ 15 ชนิด พบขึ้นทั่วไปในทวีปยุโรป เอเชีย แอฟริกา และออสเตรเลีย (Kadereit *et al.,* 2003) ลักษณะต้นเป็นไม้พุ่มเตี้ย ฤดูเดียว ลำต้นสีเขียวถึงเขียวอ่อน สูง 30-100เซนติเมตร ลำต้นอวบน้ำ โคนต้นอาจมีสีน้ำตาลแดง ใบเป็นใบเดี่ยว ลักษณะมน ปลายแหลม ผิวเรียบหรือมีขนเล็กน้อย ขอบใบเรียบ หลังใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ดอกเป็นช่อยาวมีสีขาว ช่อดอกออกที่ซอกใบและปลายกิ่ง ดอกย่อยเรียงตัวอัดกันแน่น เมล็ดมีสีดำ ลักษณะกลมขนาดเล็ก ผักโขมขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด สามารถปลูกและเก็บเกี่ยวได้ตลอดปี (Grubben, 1993)

ผักโขมที่ใช้รับประทานใบ คือ *A. tricolor*, *A. dubius*, *A. blitum* มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนผักโขมที่รับประทานเมล็ด คือ *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* และ *A. caudatus* มีถิ่นกำเนิดจากอเมริกากลางและอเมริกาใต้ มีเมล็ดสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งในปัจจุบันเป็นพืชผักหลักในแอฟริกาผักโขมที่สำคัญในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ คือ *A. tricolor* รองมาได้แก่ *A. dubius* และ *A. cruentus* ส่วนใหญ่ใช้ประโยชน์ในการรับประทานใบ ส่วนต้นอ่อนของผักโขม *A. hypochondriacus* สามารถนำมาใช้บริโภคได้เช่นกัน (Grubben, 1993) ได้จำแนกพืชในตระกูล Amaranthus ไว้ดังนี้

ลิขสิทธิ์การเกษตร

- *A. tricolor* เป็นพืชปีเดียว ต้นตั้งตรง สูง 1.5 เมตรขึ้นไป ใบมีรูปร่างแบบ elliptical ถึง laceolate หรือ broad-ovate มีสีเขียวเข้ม เขียวอ่อนหรือแดง กลุ่มของดอกย่อยมีรูปร่างกลม ช่อดอกมีหลายลักษณะ ดอกมี 3 petal ผลแตกออกเมื่อแก่ มีเปลือกหุ้มเมล็ดลักษณะคล้ายหมวก เมล็ดสีดำขนาดค่อนข้างใหญ่ มี 1,200-2,900 เมล็ดต่อกรัม เป็นพืชที่ปลูกทั่วไป นิยมรับประทานใบ

- *A. dubius* เป็นพืชที่มีอายุ 1-2 ปี สูง 2 เมตรขึ้นไป ต้นตั้งตรง กิ่งก้านแข็งแรง ใบแบบ ovate หรือ rhomboid-ovate ฐานใบคล้ายลิ่ม ใบมีสีเขียวเข้ม ช่อดอกเรียวยาว ดอกมีรูปร่างแบบ lax spikes หรือ panicles ดอกมี 5 petal ผลแตกออกเมื่อแก่ มีเปลือกหุ้มเมล็ดลักษณะคล้ายหมวก เมล็ดสีดำขนาดเล็กมาก มี 3,000-4,800 เมล็ดต่อกรัม ปลูกเพื่อใช้ใบเป็นอาหาร แต่บางชนิดเป็นวัชพืช

- *A. cruentus* เป็นพืชปีเดียว สูง 2.5 เมตรขึ้นไป ใบเป็นแบบ lanceolate สีเขียวออกเทา เมื่อดอกพัฒนาเต็มที่ช่อดอกด้านบนจะรูปร่างแบบ panicles ช่อดอกด้านล่างจะมีรูปร่างแบบ lax และ soft spikesดอกมี 5 petal ผลแตกออกเมื่อแก่ มีเปลือกหุ้มเมล็ดลักษณะคล้ายหมวก เมล็ดสีน้ำตาลถึงดำมี 2,500-3,000 เมล็ดต่อกรัม เมล็ดที่ใช้บริโภคมีสีเหลืองอ่อน ปลูกเพื่อใช้เป็นผักและบริโภคเมล็ด

- *A. spinosus* เป็นพืชปีเดียว สูงประมาณ 1.5 เมตร มีหนามที่ข้อ ใบเป็นแบบ ovate, ovateoblong หรือ oblong-rhomboid ช่อดอกเรียว ดอกมี 5 petal เมล็ดมีสีดำ

- *A. retroflexus* เป็นพืชปีเดียว ต้นตั้งตรง สูงประมาณ 1.5 เมตร ใบเป็นแบบ broad-ovate ถึง elliptic ช่อดอกแข็งตั้งตรง มีรูปร่างแบบ short panicles หรือ spikes ดอกมี 5 petal เมล็ดมีสีดำ

- *A. hybridus* เป็นพืชปีเดียว ต้นตั้งตรง สูงประมาณ 2 เมตร ใบมีหลายแบบ broadly ovate, lanceolate, elliptic, ovate, oblong หรือ rhomboid ช่อดอกมากมีรูปร่างแบบ panicles หรือ spikes ดอกมี 5 petal เมล็ดมีสีดำ

- *A. hypochondriacus* เป็นพืชปีเดียว สูงประมาณ 3 เมตร ใบเป็นแบบ elliptic หรือ ovate-oblong ช่อดอกใหญ่มากตั้งตรง มีรูปร่างแบบ panicles หรือ spikes ดอกมี 5 petal เมล็ดมีสีขาว ทอง น้ำตาลและดำ เมล็ดที่มีสีอ่อนมักจะนำมาใช้บริโภค

- *A. blitum* เป็นพืชปีเดียวขนาดเล็กสูง 75 เซนติเมตรขึ้นไป ใบเป็นแบบ ovate และ obovate ฐานใบเป็นรูปลิ่มสั้น ใบสีเขียวปนม่วงช่อดอกมีขนาดเล็กมีรูปร่างแบบ spikes ดอกมี 3 petal ผลแตกออกอย่างไม่เป็นระเบียบเมื่อแก่ เมล็ดมีขนาดเล็ก สีเข้ม เป็น วัชพืช เป็นพืชที่นิยมปลูกในอินเดีย

- *A. viridis* เป็นพืชปีเดียว สูง 80 เซนติเมตรขึ้นไป ใบเป็นแบบrhombic-ovate ช่อดอกมีขนาดเล็กตั้งตรงมีรูปร่างแบบ spikes หรือ panicles ดอกมี 3 petal ผลแตกออกเมื่อแก่ เมล็ดมี สีดำ (Merrill, 1936)

องค์ประกอบในเมล็ดผักโขม

เมล็ดผักโขม 100 กรัม ประกอบด้วยน้ำ 75.16 กรัม พลังงาน 102 กิโลแคลอรี โปรตีน 3.80 กรัม ไขมันรวม 1.58 กรัม คาร์โบไฮเดรต 18.69 กรัม เส้นใย 2.1 กรัม แคลเซียม 47 มิลลิกรัม เหล็ก 2.1 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 65 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 148 มิลลิกรัม โพแทสเซียม 134 มิลลิกรัม โซเดียม 6 มิลลิกรัม สังกะสี 0.86 มิลลิกรัม ไธอะมีน (thiamin) 0.015 มิลลิกรัม ไรโบฟราโวน (riboflavin) 0.022 มิลลิกรัม ไนอะซีน (niacin) 0.235 มิลลิกรัม วิตามินบี 6 0.113 มิลลิกรัม และวิตามินอี (alpha-tocopheral) 0.19 มิลลิกรัม โปรตีนมีอัตราการย่อยได้สูง (ประมาณ 90%) และอุดมไปด้วยไลซีน 0.34 กรัม (Lys / g N) (ซึ่งมักจะปรากฏในธัญพืชเป็นกรดอะมิโนที่จำกัด) เมล็ด Amaranth ยังเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยโพรไบโอและกรดอะมิโนที่มีกำมะถัน เหล่านี้มักไม่ปรากฏบ่อยในธัญพืช (Mlakar *et al.*, 2010) ผลเป็นรูปทรงรี (ellipsoid) ยาวเท่ากับกลีบรวม ผลแห้งแตกแบบฝาเปิด หรือไม่แตก เมล็ดมีความกว้าง 0.5 มิลลิเมตร สีดามันวาว นูนสองด้าน (ภัทร์พิชชาและคณะ 2556)

การเก็บรักษา และอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

กรมวิชาการเกษตร

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชมีวัตถุประสงค์ในการลดการสูญเสียเชื้อพันธุกรรม (genetic erosion) ของพืช ความนิยมของผู้บริโภคหรือความต้องการของตลาด ทำให้เกษตรกรเลือกปลูกพืชเฉพาะพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการของตลาดเท่านั้น เป็นสาเหตุให้พืชพันธุ์พื้นเมืองหรือพันธุ์ดีที่เสื่อมความนิยมต้องสูญหายไปจากแปลงปลูกของเกษตรกร ความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงลดลงไปซึ่งเป็นสัญญาณอันตรายว่า ในกรณีที่พันธุ์ที่ใช้ปลูกกันอย่างกว้างขวางและมีพันธุกรรมเหมือนกันนั้น (genetic uniformity) อ่อนแอต่อโรคหรือแมลงบางชนิด เมื่อเกิดการระบาดขึ้นมา ความสูญเสียก็จะเป็นไปอย่างกว้างขวางและรุนแรง การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเก่า ๆ ไว้จึงเป็นสิ่งสำคัญเพราะอาจจะต้องนำกลับมาใช้ใหม่ในกรณีที่จำเป็น

เมล็ดพันธุ์พืช (Seed) แบ่งเป็น ๒ จำพวก

1. Orthodox seed คือ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นได้ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จึงมักเก็บรักษาเมล็ดเหล่านี้ไว้ในสภาพนอกธรรมชาติ (Ex situ) ซึ่งแบ่งเป็น 2 แบบ คือ เมล็ด (seed gene bank) และ ต้น (plant field) เมล็ดในกลุ่มนี้ได้แก่ ข้าว ถั่ว พืชอาหารหลัก เป็นต้น

2. Recalcitrants seed คือ เมล็ดในกลุ่มที่ไม่สามารถลดความชื้นให้ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ได้เพราะว่าเมล็ดจะได้รับอันตราย ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดเหล่านี้มักเก็บไว้ในสภาพธรรมชาติ (In situ) ในสภาพแปลงปลูก (Ex situ) หรือเก็บในรูปของเนื้อเยื่อ (In vitro) เมล็ด ในกลุ่มนี้ได้แก่พวก ส้ม มะม่วง ขนุน มะพร้าว เป็นต้น

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ สามารถเก็บได้ 3 ระยะ คือ

1. ระยะสั้น ความชื้นเมล็ด 11-12 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บได้นาน 3-5 ปี

2. ระยะปานกลาง ความชื้นเมล็ด 8 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บได้นาน 20 ปี

3. ระยะยาว ความชื้นเมล็ด 8 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้นาน 50 ปี หรือในสภาพเยือกแข็ง (-196 องสาเซลเซียส)

การเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ มี ๒ แบบ คือ

1. Base collection คือการเก็บไว้ในรูประยะยาวของอุณหภูมิตั้งแต่ -10 องศาเซลเซียส ลงมา ความชื้นในเมล็ด 5-7 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการแจกจ่าย

2. Active collection คือการเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อประกอบการเก็บแบบBase collection ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นโดยเป็นการเก็บเพื่อแจกจ่ายแลกเปลี่ยนและอื่น ๆ

ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (Harrington, 1970)

การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ หรือการที่เมล็ดพันธุ์สูญเสียศักยภาพ หรือความแข็งแรงอัน เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงในทางไม่ดีต่างๆที่เกิดขึ้นจนเมล็ดพันธุ์ตายไปในที่สุดมีผลต่ออายุการมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ (seed longevity) และส่งผลต่ออายุการเก็บรักษา ซึ่งปัจจัยที่เป็นตัวเร่งการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ เช่น

1. ข้อแตกต่างในเรื่องพันธุกรรม รูปร่างลักษณะโครงสร้าง และองค์ประกอบ ทางเคมี ทำให้เมล็ดพืชแต่ละชนิดมีช่วงอายุหรือธรรมชาติที่จะเก็บรักษาไว้ได้ แตกต่างกัน จัดประเภทกว้าง ๆ ได้เช่น ข้าว ผักกาดหัวและพืชตระกูลแตง จัดเป็น พวกที่สามารถเก็บรักษาได้ดี ฝ้าย ถั่วเขียว ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าวโพด จัดเป็น ระดับปานกลาง ส่วนพวกตระกูลถั่วมีน้ำมันในเมล็ดสูง เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสง รวมทั้งพืชผักบางชนิด เช่น หอมจัดเป็นพวกที่รักษาไว้ได้ยาก นอกจากนี้ ในพืช ชนิดเดียวกันที่เมล็ดมีขนาดใหญ่เล็กต่างกันไปตามสายพันธุ์จะมีอายุในการเก็บรักษาที่แตกต่างกันตามชนิดของพืช

2. ประวัติของเมล็ดพันธุ์ เป็นปัจจัยเบื้องต้นที่จะบอกให้ทราบว่าเมล็ดก่อนที่จะเก็บรักษา นั้นมีสภาพและความเป็นมาอย่างไร อันดับแรกคือระดับความ งอกและความแข็งแรงเบื้องต้น ซึ่งเป็นปฏิภาคกลับกับความเสื่อม

กรมวิชาการเกษตร

และเป็นผลสะท้อนมาจากการปฏิบัติดูแลในระยะการปลูก การเก็บเกี่ยว จนถึงการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว นอกจากนั้น เป็นข้อ ปลีกย่อยที่สังเกตเห็นได้ เช่น มีเมล็ดแตกร้าวเสียหายหรือมีรอย ถลอก เนื่องจากการนวดหรือการปรังปรุงสภาพ มีความเหี่ยวย่น ของเปลือกเนื่องมาจากเมล็ดถูกฝน มีโรค แมลงหรือไข่ มีเมล็ดอ่อน สิ่งเจือปนหรือวัชพืช มีการคลุกสารเคมีในปริมาณสูง หรือมีสีสันหม่นหมองเนื่องจากอายุ บางกรณีประวัติอาจหมายรวมไปถึงชนิดของเมล็ด ตามที่ได้แยกกล่าวไว้ในข้อ 1 ซึ่งล้วน แล้วแต่มีผลกระทบต่อสภาพนิเวศน์ในการเก็บรักษาทำให้คุณภาพและอายุของเมล็ดพันธุ์แปรเปลี่ยนไป โดยปกติการเก็บ รักษาจะคัดเลือกจากเมล็ดพันธุ์ที่แก่เต็มที่ มีความสมบูรณ์ทาง กายภาพ สะอาด และมีความงอกเบื้องต้นสูง ซึ่งให้แนวโน้มที่ จะเก็บรักษาไว้ได้ดีกว่าเมล็ดที่ด้อยคุณลักษณะ

3. ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ และความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์เป็นปริมาณน้ำที่มิใช่องค์ประกอบทางเคมีที่สามารถขับออกจากเมล็ดได้ ถือว่าเป็นตัวแปรในสภาพการเก็บรักษาที่มีความสำคัญเป็นอันดับแรก เมล็ดที่มีความชื้นสูง จะมีการเผาผลาญอาหารสูงเพิ่มภาวะที่เป็นอันตรายกับตัว รวมทั้งชักนำให้โรคและแมลงเข้าทำลายจึงเสื่อมคุณภาพได้รวดเร็วกว่าเมล็ดที่แห้ง การเก็บรักษาจึงถือหลักการแรกคือ ทำเมล็ดให้แห้งโดยยึดกฎที่ใช้ ทั่ว ๆ ไปว่า “การลดความชื้นเมล็ดลง 1% จะทำให้เก็บรักษาได้ นานขึ้นเป็น 2 เท่า” ซึ่งจะใช้ได้ดีเมื่อเมล็ดมีความชื้นระหว่าง 5-14% ดังมีเกณฑ์ให้พิจารณาได้คร่าว ๆ ตามตารางที่ 1อย่างไรก็ตามเมล็ดพืชมีสภาพ Hygroscopic คือ สามารถที่จะรับหรือถ่าย ความชื้นให้กับบรรยากาศรอบ ๆ ตัวจนถึงภาวะสมดุล หากนำเมล็ดที่แห้งดีแล้วไปเก็บรักษาในภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูง เมล็ดก็จะดูดรับความชื้นเข้าไปและหากนำเมล็ดที่มี ความชื้นสูงไปเก็บไว้ในที่ที่มีความชื้นสัมพันธ์ของอากาศต่ำ เมล็ดก็จะคายความชื้นออก แต่เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพืชต่างชนิดไว้ที่สภาพความชื้นสัมพัทธ์เดียวกัน แต่ละชนิดจะมีจุดสมดุลความชื้นที่ไม่เท่ากัน ซึ่งจะเป็นเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของโปรตีน คาร์โบไฮเดรท เซลลูโลส และน้ำมัน ที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ด ดังนั้น เรื่องของความชื้นเพื่อการเก็บรักษาจึงต้องพิจารณาทั้ง 2 ประเด็นควบคู่กัน

ตารางที่ 1.4.1 ความชื้นกับอายุในการเก็บรักษาโดยประมาณของเมล็ดธัญพืช (ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง) เมื่อเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิไม่เกิน 90 °F

ช่วงความชื้นเมล็ดพันธุ์(เปอร์เซ็นต์)	อายุในการเก็บรักษา(ปี)
11-13	1/2
10-12	1
9-11	2
8-10	4
(8-9 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาในภาชนะอับอากาศได้)	

หมายเหตุ : สำหรับเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันและพืชผัก ให้หักลดความชื้นลงอีก 3% เพื่อดูอายุเก็บรักษาที่ 90 °F

4. อุณหภูมิ มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีภายในเมล็ด การเก็บรักษาในที่อุณหภูมิสูงจะเร่งกิจกรรมใน เมล็ดทำให้มีอัตราการหายใจสูง ผลที่ตามมาคือเมล็ดจะสูญเสียความงอกได้เร็ว ในเรื่องนี้มีกฎที่ใช้ทั่ว ๆ ไปว่า “การลดอุณหภูมิของโรงเก็บลง 10 °F จะทำให้อายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ซึ่งจะใช้ได้ดีในช่วงของ อุณหภูมิระหว่าง 32°F – 122 °F เช่นกัน อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นที่มีต่ออายุในการเก็บรักษาสามารถชดเชยและสนับสนุนซึ่งกันและกัน เช่น เมล็ดที่มีความชื้นต่ำที่เก็บรักษาไว้ที่อากาศร้อนอาจจะมีชีวิตอยู่ได้นาน พอกันกับเมล็ดที่มีความชื้นสูง แต่เก็บในที่เย็น ในสภาพที่ทั้งร้อนและชื้นนอกจากจะไม่มีผลดีกับเมล็ดแล้ว

กรมวิชาการเกษตร

กรณีที่ความชื้นของเมล็ดสูงถึง 12-14% จะเอื้ออำนวยต่อการเจริญของเชื้อราวมทั้งการเกิดพิษจากสารเคมีที่ใช้คลุกเมล็ด (ตารางที่ 2) สภาพที่ดีที่สุดสำหรับการเก็บรักษาคือ พยายามลดความชื้นของเมล็ดให้ต่ำแล้วเก็บในที่อากาศเย็น และ แห้ง ซึ่งยังมีกฎข้อสุดท้ายเพิ่มเติมอีกว่า สภาพเก็บรักษาดีที่สุดควรให้มีผลบวกของความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ (เป็น °F) ไม่เกิน 100 อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในเขตร้อนชื้น เช่นประเทศไทยให้มีคุณภาพดีได้ นานนับว่าเป็นเรื่องที่ท้าทาย เนื่องจากมีสภาพอากาศร้อนและความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง เมล็ดพันธุ์จึงมีอายุการ เก็บรักษาในสภาพท้องถิ่นที่ไม่มีการควบคุมสั้นกว่าในประเทศเขตอบอุ่นแต่ปัจจัยหลักที่สำคัญคือ ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ก่อนเก็บรักษา และอุณหภูมิในการเก็บรักษา (Ellis *et al.,* 1985) การเพิ่มขึ้นของความชื้นและอุณหภูมิจะทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของดีเอ็นเอ และไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ขบวนการหายใจ และการเคลื่อนที่ของสารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้เกิดการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็ว (Mc Donald, 1999) ตามคำแนะนำของ FAO/IPGRI, 1994 ควรลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้เหลือ 3-7 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จะทำให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนาน

ตารางที่ 1.4.2 ระดับความชื้นของเมล็ดกับผลเสียที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา

ระดับความชื้น(เปอร์เซ็นต์)	สภาพที่เกิด
สูงกว่า 40-60	เมล็ดเริ่มงอก
สูงกว่า 18-20	มีความร้อนสะสมในกองเมล็ด
สูงกว่า 12-14	เชื้อราเข้าทำลายทั้งภายนอกและในเมล็ด
สูงกว่า 12-14	การรมด้วยสารเคมีเป็นอันตรายกับความงอก
สูงกว่า 8-9	แมลงเข้าทำลายและมีการขยายพันธุ์
สูงกว่า 5-10	ไม่ปลอดภัยต่อการเก็บในภาชนะปิดสนิท

เมล็ดพันธุ์ที่จะเก็บรักษาไว้ได้นานจะต้องมีความชื้นในเมล็ดต่ำ โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์พืชที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่เป็นส่วนใหญ่ควรจะลดความชื้นภายในเมล็ดให้เหลือประมาณ 8-9 เปอร์เซ็นต์ เพราะเมล็ดที่มีความชื้นสูงจะมีอัตราการหายใจสูง มีการสะสมความร้อน และความชื้นจนอาจถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ได้ (จวงจันทร์, 2529) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในระยะยาว 10-20 ปี เมล็ดธัญพืชต้องมีความชื้นไม่เกิน 11 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพืชน้ำมันและเมล็ดพืชผักต้องมีความชื้นไม่เกิน 9 เปอร์เซ็นต์ (สาวิตรีและรุจิพร, 2541) ซึ่งสอดคล้องกับ Harrington (1970) รายงานว่าความชื้นที่ปลอดภัยต่อการเก็บรักษาสำหรับเมล็ดที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งควรมีความชื้นต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นไขมัน ควรมีความชื้นต่ำกว่า 6 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาการงอกของเมล็ดผักโขมของ David (1985) ในเมล็ดพันธุ์สีดำขาวและดำ ที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกัน ทำการทดสอบความงอกบน thermogradient plate พบว่าเมล็ดสีดำมีระยะพักตัว 2 สัปดาห์ แต่ไม่ถึง 11 หรือ 16 เดือนหลังการเก็บเกี่ยว เมล็ดสีขาวไม่มีการพักตัว เมื่อทำการเพาะความงอกที่อุณหภูมิต่ำกว่า 24 องศาเซลเซียส

Bartolini and Hampton (1989) รายงาน การทำลายการพักตัวของเมล็ดพันธุ์พันธุ์ผักโขม ด้วยวิธีการแช่เมล็ดในห้องอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส 4 วัน แล้วแช่ดวยสารละลาย KNO_3 0.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

กรมวิชาการเกษตร

เมล็ดผักโขมมีขนาดเล็ก มันวาวมักเป็นสีดำและมีสองเหลี่ยม (Norman. 1992) เมล็ดผักโขมเป็นพวก orthodox เมล็ดแห้งมีความชื้น 10-12% และเก็บรักษาไว้ในที่ภายใต้สภาวะที่เหมาะ เมล็ดจะมีชีวิตอยู่ได้เป็นปีขึ้นอยู่กับชนิด (Berjark and Pammenter, 2008)

จากการศึกษาเมล็ดผักโขม *A. hypochondriacus* ของ Glimplinger (2007) พบว่า ปริมาณน้ำในเมล็ดที่สูงมีผลต่อการทำลายความแข็งแรง และทำให้ความงอกลดลงเร็ว ความหนาแน่นของเมล็ดมีผลต่อผลผลิตแต่ไม่มีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- สิ่งที่ใช้ในการทดลอง เมล็ดพันธุ์ผักโขม
- แบบและวิธีการทดลอง

1. การทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 สภาพ ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา คือ
   - สภาพการเก็บรักษาที่ 1 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง
   - สภาพการเก็บรักษาที่ 2 อณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส
   - สภาพการเก็บรักษาที่ 3 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ -10 องศาเซลเซียส
2. แผนการทดลอง แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split Plot Design จำนวน 3 ซ้ำประกอบด้วย

   2.1 Main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 ระดับ คือ
   - 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น (Control)
   - 8 เปอร์เซ็นต์
   - 6 เปอร์เซ็นต์
   - 4 เปอร์เซ็นต์

ก่อนทดลองจริงให้ลองปรับลดความชื้นต่ำที่สุดเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ ถ้าได้ผลให้ปรับวิธีวิจัยเรื่องความชื้นแต่ละระดับลง

2.2 Sub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 10 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, และ 18 เดือน

3. การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ โดยใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธ์พืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ลดความชื้นให้ได้ระดับที่ 4, 6, และ 8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. การทดสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์

โดยวิธีอบด้วยความร้อน (Air-Oven Method) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA), 2014 และประยุกต์ตามคู่มือการจัดการเมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์ของ Bioversity International/ILRI/FAO/CTA, 2006 มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

4.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบ คลุกเคล้าให้ทั่ว โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนานเกิน 3 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาประมาณ 4-5 กรัม แล้ว

4.2 นำเมล็ด ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมกลม ก้นแบน ที่มีฝาปิดพอดี 2 ซ้ำ นำไปชั่งน้ำหนักพร้อมภาชนะ โดยใช้เครื่องชั่งที่อ่านค่าทศนิยมได้ 3 ตำแหน่ง แล้วนำเข้าอบความร้อน

4.3 การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบไฟฟ้า ที่มีช่องระบายลม และสามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยใช้อุณหภูมิในการอบ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วรีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโหลดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30-45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมทั้งเมล็ดและฝาปิดอีกครั้งหนึ่ง

ศรีนครินทรวิโรฒ

4.4 การคำนวณผลการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และรายงานเพียงทศนิยมตำแหน่งเดียวเท่านั้น โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\frac{M2 - M3 \times 100}{M2 - M1}$$

ซึ่ง M1 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิด

M2 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดก่อนอบ

M3 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดหลังอบ

5. การเก็บรักษา

นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับมาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกโดยมีการดูดอากาศออก และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส การเก็บข้อมูล โดยเก็บข้อมูลดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์

ทำการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักโขม โดยวิธีเพาะบนกระดาษเพาะ ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ทำการเตรียมกระดาษเพาะเมล็ดให้มีขนาดเท่ากับกล่อง จำนวน 2-3 ชั้น รดน้ำสะอาดลงบนกระดาษเพาะให้ชุม เรียงเมล็ดที่ต่องการทดสอบความงอกลงบนกระดาษ จำนวน 100 เมล็ดต่อกล่องต่อ 1 ซ้ำ ปิดฝาเพื่อควบคุมความชื้น และรดน้ำเป็นครั้งคราว

2. ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 7 วัน

3. การประเมินผลการทดสอบความงอก ตรวจสอบความงอกครั้งแรก (First Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 3 วัน และตรวจสอบความงอกครั้งสุดท้าย (Final Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 7 วัน โดยในการประเมินจะนับและแยกส่วนต่างๆหลังการเพาะครบเวลาตามกำหนดดังต่อไปนี้

การประเมินผลการทดสอบความงอก

1. ต้นอ่อนปกติ (Normal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆ ครบถ้วน

2. ต้นอ่อนผิดปกติ (abnormal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆไม่สมบูรณ์หรือขาดหายไป หรือผิดปกติไปจากเดิม

3. เมล็ดแข็ง (Hard Seedling) คือเมล็ดที่มีลักษณะแข็ง ผิวเปลือกไม่ดูดน้ำ หลังจากเสร็จสิ้นการทดสอบจะมีลักษณะคงเดิมทุกอย่าง

4. เมล็ดสดที่ไม่งอก (Fresh ungerminated seed) คือเมล็ดที่ดูดน้ำและขยายพองมีขนาดเมล็ดโตขึ้นแต่ไม่มีส่วนใดงอกออกมาเลย

5. เมล็ดที่ตาย (Dead seed หรือ Rotten seed) คือเมล็ดตายที่มีลักษณะเน่าเปื่อย มีราขึ้น และไม่งอก

การประเมินผลจะเริ่มทำในวันนับครั้งแรก โดยบันทึกและนับออกของต้นอ่อนปกติ และเมล็ดที่ตาย ส่วนที่เหลือจะนับไม่เกินวันนับครั้งสุดท้าย หลังจากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกปกติ}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \times 100$$

การตรวจสอบความแข็งแรง

การตรวจสอบความแข็งแรงโดยเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (**a**ccelerated aging test) ดัดแปลงจากวิธีการทดสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ผักบุ้งของ อรพรรณ (2534) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ นำเมล็ดในแต่ละกรรมวิธีๆ

กรมวิชาการเกษตร

ละ 100 เมล็ด ใส่ใน chamber ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 100% R.H. แล้วนำไปเร่งอายุในตู้อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014)

6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ และข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ มาวิเคราะห์ความแปรปรวน ของ 3 สภาวะของอุณหภูมิการเก็บรักษา(Analysis of Variance) เพื่อศึกษาปฏิสัมพันธ์(Interaction) ของปัจจัยร่วมกัน

ผลการวิจัย (Results)

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม

ผลการทดลองพบว่า ในแต่ละสภาพอุณหภูมิการเก็บรักษา (อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ-10 องศาเซลเซียส) เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา (10, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์) และระยะเวลาในการเก็บรักษา (0-18 เดือน) มีปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กันอย่างมีนัยสำคัญต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

เมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25±2 °C, ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5 %) ถ้าเมล็ดเชื้อพันธุ์ยังไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้น ซึ่งในการทดลองมีความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ได้ถึง 18 เดือน โดยเมล็ดเชื้อพันธุ์ยังคงความมีชีวิตอยู่ได้ มีความงอกเหลือเพียง 82 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นเหลือ 8, 6, และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถเก็บได้ถึง 18 เดือน แต่มีความงอก 83, 86 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1.4.3) ดังนั้น เมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมมีความชื้นสูงคือ 4-10 เปอร์เซ็นต์ บรรจุในภาชนะที่ปิดสนิทก่อนนำมาเก็บรักษาจะทำให้สามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้นานขึ้น การเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง สอดคล้อง วันชัย (2542) พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญต่ออายุการเก็บรักษาของเมล็ดเชื้อพันธุ์เช่นเดียวกับความชื้นแต่มีบทบาทน้อยกว่าความชื้นในการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์

ตารางที่ 1.4.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 18 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา(เดือน)	ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ (%) [1]			
	4%	6%	8%	10%(เริ่มต้น)
0	98a	98a	98a	98a
2	94b	94b	95b	95b
4	94b	94bc	93c	93c
6	93bc	93bcd	92c	90d
8	92cd	92cd	90d	86e
10	91de	92d	89d	86e
12	90ef	90e	86e	84f
14	89f	89ef	86e	84f
16	88fg	88f	85e	83fg

กรมวิชาการเกษตร

18	87g	86g	83.f	82g

CV(a)=2.45%, CV(b)=1.99%

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมเดียวกัน และอายุการ เก็บรักษา 0-18 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี LSD Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

เมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ถ้าเมล็ดเชื้อพันธุ์ยังไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้น ซึ่งในการทดลองมีความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ภายในระยะเวลา 18 เดือน จากความงอกเริ่มต้น 98 เปอร์เซ็นต์ เหลือความงอก 86 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มลดลง ขณะที่เมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นทุกระดับ พบว่าภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 18 เดือน ยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ยังคงเหลือความงอก 88 เปอร์เซ็นต์ ทุกระดับ และมีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 1.4.4) ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ก่อนการเก็บรักษาควรลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้ต่ำลงตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ลงไป จะทำให้การเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น

ตารางที่ 1.4.4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ (%) (1)			
	4%	6%	8%	10%(เริ่มต้น)
0	98a	98a	98a	98a
2	94b	94b	94b	94b
4	93bc	92c	394b	93bc
6	93bc	92c	92c	92c
8	92bcd	92c	90d	90d
10	92cde	90d	90d	90de
12	91de	90d	90d	90de
14	90ef	90de	89de	88e
16	89fg	89ef	88de	88e
18	88g	88f	88e	86f

CV(a)=0.59%, CV(b)=0.71%

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมเดียวกัน และอายุการเก็บรักษา 0-18 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี LSD Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมที่ระดับความชื้นเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ได้นาน 18 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ไม่แตกต่างกันคือ 88, 89, 90 และ 90 ตามลำดับ และมีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 1.4.5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 เดือน

กองวิชาการเกษตร

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ (%) [1]			
	4%	6%	8%	10%(เริ่มต้น)
0	98a	98a	98a	98a
2	94b	94b	94b	93b
4	94bc	94b	94b	93b
6	93bcd	93 b	92b	93b
8	93bcd	91c	90c	92bc
10	92cd	90c	90c	91bcd
12	92cd	90c	90c	90cde
14	92d	90c	89c	89de
16	92d	90c	89c	88e
18	90e	90c	89c	88e

CV(a)=2.45%, CV(b)=1.99%

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมเดียวกัน และอายุการเก็บรักษา 0-18 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี LSD Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

ความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม

ผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้นก่อนการเก็บรักษา (10, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์) อุณหภูมิการเก็บรักษา (อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส -10 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาการเก็บรักษา (0-18 เดือน) มีปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กันอย่างมีนัยสำคัญต่อความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม

เมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25±2 ℃, ความชื้นสัมพัทธ์ 80±5 %) ถ้าไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้น พบว่าสามารถเก็บได้ถึง 18 เดือน แต่มีความงอกเหลือเพียง 88 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นเหลือ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 18 เดือน ยังคงเปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 88, 90 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1.4.5) เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมที่ยังไม่ผ่านกระบวนการลดความชื้นมีความมีชีวิตอยู่ได้นานถึง 18 เดือน มีความงอก 87.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นที่ระดับ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ยังรักษาระดับเปอร์เซ็นต์ความงอกไว้ได้โดยเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 18 เดือน ยังมีความงอกอยู่ที่ 89.3, 90.67 และ 90.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1.4.6) สำหรับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ทุกระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์สามารถเก็บรักษาได้ หลังผ่านการเร่งอายุเมล็ดเชื้อพันธุ์เพื่อทดสอบความแข็งแรงยังคงความงอก 83.33, 88, 90 และ 92 เปอร์เซ็นต์ โดยภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 18 เดือน โดยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มการลดลงของเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าทุกระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Berjark and Pammenter (2008) เมล็ดผักโขมมีขนาดเล็ก มันวาวมักเป็นสีดำและมีสองเหลี่ยม (Norman, 1992) เมล็ดผักโขมเป็นพวก orthodox เมล็ดแห้งมีความชื้น 10-12% และเก็บรักษาไว้ในที่ภายใต้สภาวะที่เหมาะ เมล็ดจะมีชีวิตอยู่ได้เป็นปี

สำนักวิทยบริการฯ

ตารางที่ 1.4.6 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-10 เปอร์เซ็นต์ ก่อนเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 18 เดือน

สภาพการเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	4%	6%	8%	10%(เริ่มต้น)
อุณหภูมิห้อง					
	0	95.00a	94.6a	94.66a	94.00a
	2	94.66ab	94.33a	94.66a	94.00a
	4	94.00abc	94.00ab	94.00ab	93.33a
	6	94.00abc	93.33abc	93.33abc	92.66ab
	8	93.33bc	92.66bcd	92.66bcd	92.66ab
	10	93.33bc	92.67bcd	92.00 cde	91.33bc
	12	93.33bc	92.66bcd	91.33def	90.66c
	14	92.66c	92.00cde	90.66 ef	90.00cd
	16	92.66c	91.33 de	90.00f	90.00cd
	18	90.66d	90.66e	90.00f	88.66d
5 องศาเซลเซียส					
	0	94.67a	94.67a	94.67a	94.67a
	2	94.67a	94.67a	94.00ab	94.00ab
	4	94.67a	94.00ab	94.00ab	92.67b
	6	94.00 ab	93.33abc	92.66bc	92.67b
	8	94.00ab	92.67bcd	91.33cd	90.67c
	10	94.00 ab	92.67bcd	90.00 de	90.00cd
	12	93.33b	92.00cde	90.00de	89.33cde
	14	93.33b	92.00cde	90.00de	88.67def
	16	92.00c	91.33de	90.00de	88.00ef
	18	90.67d	90.67e	89.33e	87.33f
สภาพการเก็บรักษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	4%	6%	8%	10%(เริ่มต้น)
-10 องศาเซลเซียส					
	0	94a	94.67a	95.33a	94.00a
	2	94a	94.67a	94.0ab	94.00a
	4	94a	94.00ab	94.00ab	93.33a
	6	94a	94.00ab	92.67bc	92.67a
	8	93b	93.33abc	91.33cd	91.33ab
	10	93b	92.67bcd	91.33cd	89.33bc
	12	93b	92.67bcd	90.67d	88.67bc
	14	93b	92.00cd	90.00d	87.33cd
	16	92c	91.33de	90.00d	85.33de
	18	92c	90.00e	88.000e	83.33e

CV(a)=3.27 %, CV(b)=1.95 %

(1) เปรียบเทียบทางด้านสถมภ์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมเดียวกัน และอายุการเก็บรักษา 0 - 18 เดือน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี LSD Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

อภิปรายผล (Discussion)

กรมวิชาการเกษตร

จากผลการทดลองที่ได้ข้อมูลมาระดับหนึ่งว่า อัตราเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม และเปอร์เซ็นต์ความงอกจากการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมนั้นมีอัตราลดลงเล็กน้อยเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นแต่ยังคงอยู่ที่ร้อยละ 80 โดยเมล็ดพันธุ์ที่จะเก็บรักษาไว้ได้นานจะต้องมีความชื้นในเมล็ดต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับ Harrington (1959) รายงานว่าความชื้นที่ปลอดภัยต่อการเก็บรักษาสำหรับเมล็ดที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งควรมีความชื้นต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาของ Glimplinger (2007) ในเมล็ดผักโขม *A. Hypochondriacus* พบว่า ปริมาณน้ำในเมล็ดที่สูงมีผลต่อการทำลายความแข็งแรงและทำให้ความงอกลดลงเร็ว และนอกจากนี้ Bass (1974) ได้ศึกษาลักษณะทางกายภาพด้านความหนาของเปลือกหุ้มเมล็ดที่มีความสัมพันธ์กับคุณภาพเมล็ด โดยเมล็ดที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดบางจะเสื่อมคุณภาพเร็วกว่าเมล็ดที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดหนา และสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูง ความชื้นสัมพัทธ์สูงและมีฝนตก ในระหว่างการพัฒนาจนถึงการสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์ก็เป็นอีกสาเหตุที่ทำให้เมล็ดพันธุ์มีการเสื่อมสภาพช้าหรือเร็วนั้นเอง

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถบอกได้ว่าระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ก่อนการเก็บรักษาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมสามารถเก็บรักษาได้ภายในระยะเวลา 18 เดือน โดยเมล็ดที่มีความชื้น 10 เปอร์เซ็นต์ เก็บที่อุณหภูมิห้องยังมีความความงอกสูงถึงร้อยละ 80 และเมล็ดที่มีความชื้น 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เก็บที่อุณหภูมิห้องยังมีความความงอกสูงกว่า สำหรับการทดลองในครั้งนี้ต้องมีการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาให้นานขึ้น เนื่องจากว่าที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขม 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้ภายในระยะเวลา 18 เดือน ยังมีความความงอกสูงถึงร้อยละ 80 มีผลทำให้เมล็ดเชื้อพันธุ์สามารถเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น ดังนั้นในการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน หรือในกรณีที่เกษตรกรต้องการเก็บรักษาไว้เพื่อทำพันธุ์ในฤดูปลูกถัดไปและเก็บรักษาพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องควรลดความชื้นของเมล็ดให้เหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการเก็บรักษาเพื่อรักษาคุณภาพของเมล็ดเชื้อพันธุ์ก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 2 เทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1
การขยายพันธุ์มันสาคู (*Maranta arundinacea* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อการอนุรักษ์
Micropropagation Technique of *Maranta arundinacea* for Conservation

ชื่อผู้วิจัย
พัชร ปิริยะวินิตร
Phatchara Piriyavinit
ปาริฉัตร สังข์สะอาด
Parichart Sangkasa-ad
พัฒน์นรี รักษ์คิด
Padnaree Rukkid

คำสำคัญ (Key words)
สภาพปลอดเชื้อ, การเพิ่มจำนวน, ชะลอการเจริญเติบโต
In vitro, multiplication, slow growth

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ (Abstracts)

มันสาคูเป็นพืชที่มีศักยภาพสามารถพัฒนาเป็นพืชเศรษฐกิจได้เนื่องจากแป้งที่ผลิตได้จากเหง้ามันสาคูเป็นแป้งที่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำเหมาะสำหรับทำเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ ปัจจุบันมีการเพาะปลูกมันสาคูในพื้นที่ค่อนข้างจำกัดและพบเห็นได้น้อยลง จึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาพัฒนาการขยายพันธุ์มันสาคูเพื่อเป็นการสนับสนุนและส่งเสริมการปลูกมันสาคู โดยศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้หน่อต้นมันสาคูฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอทานอล 70% นาน 10 วินาที และคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ตามด้วยการฟอกด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที พบเนื้อเยื่อที่ปลอดการปนเปื้อนของเชื้อ 16.7 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อชักนำการเกิดยอด โดยนำชิ้นส่วนหน่ออ่อนที่มียอดความสูงประมาณ 2 ซม. เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารสารเบนซิลอะดีนิน (BA) ความเข้มข้น 0, 1.5 และ 3.0 mg/l เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติและเลี้ยงภายใต้สภาพมืด พบว่ามันสาคูที่เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติและสภาพมืดให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่การเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสาร BA มีแนวโน้มชักนำการเกิดยอดได้ และทำการศึกษาเพิ่มปริมาณต้น โดยนำชิ้นส่วนหน่ออ่อนที่มียอดความสูงประมาณ 2 ซม. เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารกรดแนพทาลีนแอซิติก (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 mg/l ร่วมกับสารเบนซิลอะดีนิน (BA) ความเข้มข้น 0, 3.0 และ 6.0 mg/l พบว่ามันสาคูที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 5.5 ยอด ส่วนการเกิดรากพบว่ามันสาคูเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนช่วยชักนำการเกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 4.6 ราก และยาวเฉลี่ย 4.49 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนโดยนำต้นมันสาคูที่มีการรากสมบูรณ์ปลูกในวัสดุปลูกดินผสม:กาบมะพร้าวสับ:

ทราย อัตราส่วน 4:1:1 แล้วคลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้นระวังไม่ให้ใบสัมผัสถุง ปรับความชื้นโดยเปิดปากถุงที่ละน้อยวางไว้ในที่ร่ม พบว่าอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตต้นมันสาคูโดยใช้สูตรอาหารลดปริมาณ MS ได้แก่ MS, ½ MS และ ¼ MS ร่วมกับการปรับปริมาณน้ำตาลซูโครส (sucrose) 30, 45 และ 60 g/l พบว่าต้นมันสาคูใช้สูตรอาหาร ½ MS เพาะเลี้ยงได้นานกว่าสูตรอื่นๆจะทำให้มีร้อยละการรอดชีวิตสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 5 เดือน

กรมวิชาการเกษตร

Abstracts

Arrowroot is alternative crop with potential to be developed into an economic crop. Starch produced from rhizomes of arrowroot is low glycemic index starch suitable for healthy food. Currently, arrowroot was cultivated in a quite limited area. The study on shoot multiplication by in vitro propagation technique was done in this research. The result showed that appropriate sterilization for rhizome buds of arrowroot with 70% ethanol for 10 sec and 20% Clorox for 15 min followed by 25% Clorox for 5 min. It was found that this sterilization method can prevent explants from contamination up to 16.7%. Apart from sterilization technique, shoot multiplication was also conducted in this research. The microplants from rhizome buds (~2 cm) were transferred to MS medium supplemented with 0, 1.5 and 3.0 mg/l Benzyladenine (BA) in light and dark conditions. Arrowroot cultured in light condition showed no difference with dark condition. In this study, MS medium supplemented with BA tended to induced shoots. The micropropagation was also conducted in this research. The microplants from rhizome buds (~2 cm) were transferred to MS medium supplemented with 0, 0.5 and 1 mg/l Naphthalene acetic acid (NAA) and 0, 3.0, 6.0 mg/l BA. The results showed that addition of 6.0 mg/l BA alone could induce the average number of shoots of 5.5. The results demonstrated that MS alone could induce the number of root and root length. They also suggested the MS without NAA and BA was the better medium for root induction. It provided the average root number of 4.6 and average root length of 4.49 cm. The acclimatized plants to healthy vigorous and get domesticated in greenhouse with soil: coconut husk chips: sand (4: 1: 1) gave high survival rate up to 100%. Slow growth treatment improved percent survival and extended subculture time without any effect on the tissue or plant viability. In vitro slow growth was

attempted by culturing on MS, ½ MS, and ¼ MS supplemented with 30, 45 and 60 g/l sucrose. The plants could survive on ½ MS until 5 month and were still vigorous.

บทนำ (Introduction)

พืชที่เป็นแหล่งอาหารสำหรับใช้ในการผลิตแป้งนั้นมีหลายหลายทั้งแป้งจากข้าว, ข้าวโพด และ มันสำปะหลัง เป็นต้น แป้งหลักๆ แล้ว แป้งที่ผลิตจากมันสาคู (Arrowroot) ก็เป็นแป้งอีกชนิดที่มีคุณสมบัติที่ดีเนื่องจากมีคุณสมบัติที่มีความเหนียวสูง และเด่นกว่าแป้งอื่นคือเป็นแป้งที่ย่อยง่าย ใช้กับทารกและผู้ป่วยได้ดี ทำให้มีราคาสูงในตลาดโลก และยังมีการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมาย แต่ปัจจุบันแป้งสาคูที่ผลิตในประเทศส่วนใหญ่ได้จากการแปรรูปมันสำปะหลัง ซึ่งหาง่าย และราคาถูก เหมาะสำหรับทำเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ส่วนต้นมันสาคูนั้นมีการเพาะปลูกเป็นเพียงพืชสวนครัวขนาดเล็กหรือเป็นพืชรองที่ไม่สำคัญทางเศรษฐกิจ และระยะเวลาในการเพาะปลูกค่อนข้างนานประมาณ 12 เดือน จึงสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิต ทำให้พืชชนิดนี้ถูกลดบทบาทความสำคัญลง มีการเพาะปลูกลดลงทำให้พบเห็นได้ยากขึ้นในพื้นที่เพาะปลูกต่างๆ ด้วยเหตุนี้จึงจะใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช และเป็นเทคนิคขยายพันธุ์พืชในปริมาณมากภายในระยะเวลาสั้น นิยมใช้ผลิตในเชิงการค้า จะช่วยลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากใช้พื้นที่น้อย และปลอดภัยจากสภาวะแวดล้อมจากธรรมชาติ จึงเป็นเทคนิคที่เหมาะเพื่อเก็บรักษาพันธุ์ที่หายากและใกล้สูญหายสำหรับนำไปใช้ประโยชน์และพัฒนาเป็นพืชเศรษฐกิจต่อไป

มันสาคู (*Maranta arundianceae* L.) เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Marantaceae (วงศ์คล้า) ชื่อสามัญว่า arrowroot หรือ West Indian arrowroot บางครั้งเรียกว่า สาคูขาว สาคูวิลาศ เป็นไม้ล้มลุกมีอายุอยู่ได้หลายฤดู สูง 30-130 ซม. ใบ รูปไข่ขอบใบขนาน (ovate-oblong) ยาว 3.5-35 ซม. กว้าง 3-11 ซม. เหมือนใบคล้า ก้านใบที่หุ้มลำต้น ยาว 1-8 ซม. บ้างครั้งมีการพองออก 0.2-1.8 ซม. ก้านใบยาว 3.5–20 ซม. ดอกเป็นช่อแฝด ดอกส่วนใหญ่ผสมด้วยตัวเอง ก้านดอกย่อยยาว 2.3-5.5 ซม. กลีบเลี้ยงสีเขียว กลีบดอกสีขาว เกสรเพศผู้เป็นหมันสีขาว 2 อันนอก รังไข่มีขนหนาแน่นหรือไม่ค่อยมีขน ผลลักษณะกลม เปลือกผลแข็งแห้งแตกสีเขียวหรือมีสีน้ำตาลอมแดง เมล็ดสีแดงน้ำตาล ขนาดเล็ก มีผิวหยาบ แบ่งออกเป็น 3 พู แต่ไม่ค่อยติดเมล็ด และมีความงอกต่ำ (Wu and Raven, 2000) มีหัวซึ่งเกิดจากลำต้นใต้ดิน มีลักษณะคล้ายหัวลูกศร หัวใหญ่กลม ยาว ขนาดของหัว 2.5 ซม. ยาว 20-45 ซม. หัวหรือเหง้าหลักจะติดกับโคนต้น และแตกหัวย่อยแทงลึกลงดิน โคนหัวแตกรากแขนงจำนวนมาก หัวย่อยอาจมีหัวเดียวหรือหลายหัว มีลักษณะทรงกระบอก เรียวยาว มีลักษณะแบ่งเป็นข้อๆ และมีตาชัดเจน และมีเกล็ดสีขาวหรือสีน้ำตาลหุ้ม เนื้อหัวด้านในมีสีขาว มีเส้นใยตามแนวยาวของหัว (พืชเกษตร.คอม เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย, 2557)

ประวัติความเป็นมาและแหล่งปลูก สาคูเป็นพืชไม่ทราบถิ่นกำเนิดที่แน่นอน เชื่อว่าเป็นพืชพื้นเมืองของอเมริกา ปัจจุบันมีการปลูกสาคูทั่วไปในเขตร้อน แต่ปลูกมากบริเวณอินเดียตะวันตก โดยเฉพาะหมู่เกาะเซนต์วิน

เซนต์ ซึ่งผลิตสาคูได้มากคิดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์ของตลาดโลก ผลิตปีละประมาณ 980-3,806 ตัน นอกจากนี้ก็มีปลูกอยู่ทั่วๆ ไปในศรีลังกา อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ โดยในประเทศไทยประชาชนรู้จักต้นสาคูกันมานานแล้ว จนคิดว่าเป็นพืชที่ขึ้นอยู่ดั้งเดิมและมีการปลูกเป็นพืชสวนครัวรายละเล็กละน้อย บางครั้งนำมาปลูกเป็นไม้ประดับตกแต่งสวน ยังไม่มีการปลูกกันเป็นแปลงใหญ่เพื่อการผลิตแป้ง แหล่งที่ปลูกสาคูมาก ได้แก่ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เช่น จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น เป็นต้น (ชานิ, 2556)

ความหลากหลาย ในเขตร้อนแถบเอเชียมีหลายพันธุ์ ได้แก่ Guangdong, Guangxi, Hainan, Taiwan และS. Yunnan ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของอเมริกา ในหมู่เกาะเซนต์วินเซนต์มี 2 ชนิด คือเหง้าสีขาวเป็น ‘Creole’ และ ‘Banana’ และพันธุ์เหง้าสีแดงจากโดมินิกา พันธุ์ ‘Creole’ เป็นมันสาคูที่มีเหง้ารูปยาว ขนาดเล็ก ฝังลึกกระจายในดิน สามารถเก็บรักษาหลังเก็บเกี่ยวได้นาน 7 วัน ส่วนพันธุ์ ‘Banana’ เป็นมันสาคูที่มีเหง้าขนาดใหญ่ สั้นมีเส้นใยน้อย อยู่เป็นกระจุกใต้ดินเล็กน้อย เก็บเกี่ยวง่ายผลผลิตสูง แต่ผลผลิตต้องนำไปแปรรูปภายใน 2 วันหลังเก็บเกี่ยว มีรายงานการรวบรวมพันธุ์ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ไว้ 35 สายพันธุ์ที่ The Philippine Root Crop Research and Training Centre, Visayas State College of Agriculture, Leyte. โดยในหมู่เกาะเซนต์วินเซนต์มีการปรับปรุงพันธุ์ให้ผลผลิตแป้งสูง (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544) ส่วนประเทศไทยพบมันสาคู 2 ชนิด ได้แก่ คือ สาคูวิลาส (Arundinacea) เป็นมันสาคูใบเขียวธรรมดา และสาคูด่างหรือมันสาคูใบลาย (Variegate Hort) (สุมิตร, 2556)

การปลูกเลี้ยง ปลูกเลี้ยงในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ ระบายน้ำได้ดี ไม่ควรปลูกในดินเหนียวทำให้หัวมีคุณภาพต่ำ ขึ้นได้ดีในสภาพดินร่วน ดินร่วนทราย ทนทานต่อสภาพร่มเงาถึง 50% โดยที่ผลผลิตไม่ตกต่ำ ไม่มีโรคและแมลงที่ทำให้เกิดความเสียหายรุนแรง (Mitahato Education and Development Fund, n.d.) การขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนปลายของเหง้า มีข้อ 2-4 ข้อ และมีขนาดไม่เล็กเกินไป นิยมปลูกในช่วงต้นฤดูฝน การปลูกต้องใช้หน่อสูงประมาณ 30 ซม. ควรปลูกทันทีหลังแยกหน่อ ควรเด็ดดอกทิ้งเมื่อเริ่มออกดอกเพื่อให้มีการสะสมอาหารส่วนใหญ่ในเหง้า พร้อมเก็บเกี่ยวอายุ 8-10 เดือนหลังปลูกเลี้ยง แต่ให้ปริมาณผลผลิตสูงอายุ 11-12 เดือน โดยมีปริมาณแป้ง 25 % สามารถสังเกตการเปลี่ยนสีของใบเป็นสีเหลืองและลำต้นเริ่มล้ม การเก็บเกี่ยวควรทำก่อนเข้าฤดูฝน (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544)

การใช้ประโยชน์ มันสาคูส่วนใหญ่ปลูกเพื่อสกัดแป้งจากเหง้ามีความเหนียวมาก ย่อยง่าย นิยมใช้ในการเพิ่มความข้นในอาหาร และยังใช้เป็นองค์ประกอบพื้นฐานในการผลิตแป้งฝุ่น กาวและสบู่ เยื่อจากเหง้าใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ นอกจากนี้เหง้าอ่อนนำมาต้มหรือย่างรับประทานเป็นสมุนไพรช่วยขจัดเมือกไขมันที่ผนังลำไส้ ตำให้แหลกใช้พอกคางทูม บ้างนำน้ำแป้งที่ได้มาผสมกับน้ำหรือนมใช้รักษาอาการผิดปกติของกระเพาะอาหาร ใช้ประกอบอาหารที่ย่อยง่ายสำหรับผู้ป่วยโรคกระเพาะและลำไส้ การรับประทานเหง้าที่เจริญเต็มที่ทำให้มีความอยากอาหารลดลงเนื่องจากในเหง้ามีใยอาหารสูง (Rudrappa. 2009) บางครั้งนำเหง้าทำเป็นยาพอกรักษาแผลพุพอง ในแอฟริกาใช้บำรุงรักษาอาหารแดดเผา แป้งที่ได้ใช้ควบคุมความชื้นรักษาโรคติดต่อเนื่องจากเชื้อราที่เจริญบนผิวหนังที่เปียกชื้น (SABA (pseud.), 2016) แป้งที่ได้จากหัวสาคูนี้ เป็นแป้งในรูปของคาร์โบไฮเดรตที่บริสุทธิ์ที่สุดชนิดหนึ่ง แป้งมีความเหนียวมาก ย่อยง่าย เป็นที่นิยมในตลาดโลก มีราคาแพงกว่าแป้งชนิดอื่น มีหลายประเทศที่สามารถผลิตแป้งสาคูได้มาก จนสามารถส่งเป็นสินค้าออกทำเงินให้แก่ประเทศปีละมากๆ ประเทศไทยใช้มันสาคู เพื่อการบริโภคภายในประเทศปริมาณน้อย ประเทศไทยยังไม่มีสถิติเกี่ยวกับการปลูกและการผลิตพืชชนิดนี้ ถ้ามีการผลิตแป้งจากสาคู เพื่อการค้าได้ จะทำให้สาคูเป็นพืชที่มีความสำคัญมากขึ้น (พีรศักดิ์ และคณะ, 2544)

แม้ว่าพืชชนิดนี้จะมีประโยชน์และมีความหลากหลายมาก แต่ยังมีบทบาทสำคัญทางการเศรษฐกิจไม่มากนัก เกษตรกรปลูกเป็นพืชสวนครัวขนาดเล็กไม่ให้ความสำคัญ การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช เนื่องจากใช้พื้นที่น้อยในการขยายพันธุ์ และ

เหมาะกับพืชที่มีคุณลักษณะที่เฉพาะ ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและปลอดจากภัยธรรมชาติ (Engelmann, 1997) โดยมีการศึกษาการขยายพันธุ์มันสาคูในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเพาะเลี้ยงยอดในที่มืดสามารถชักนำการแตกหน่อ ตายอดกับตาข้างจากเหง้ามันสาคูให้ไม่แตกต่างในการพัฒนาเป็นหน่ออ่อน และมีการเปรียบเทียบการใช้สาร BA ความเข้มข้น 3 mg/l, 2iP และ TDZ พบว่าการใช้ BA สามารถชักนำการเกิดยอดได้ดีที่สุด (Daquinta et al., 2009) และมีการทดลองขยายพันธุ์คล้า (*Calathea crotalifera*) ซึ่งเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Marantaceae ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0 และ 6.0 mg/l ร่วมกับการเติม NAA ความเข้มข้น 0.0, 0.5และ 1.0 mg/l พบว่าการเติมสาร BA ความเข้มข้น 3.5 mg/l ร่วมกับการเติม NAA ความเข้มข้น 1.0 mg/l ชักนำการแตกยอด และมีการเติม IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l พบว่า NAA ความเข้มข้น 1.0 mg/l ชักนำการเกิดราก (Rozali et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีบางการทดลองชักนำการเกิดเหง้าจิ๋วของขมิ้นชัน พืชในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นพืชวงศ์ใกล้เคียงกับ วงศ์ Marantaceae ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการชักนำโดยการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30, 60, 90 และ 120 g/l และนำไปเลี้ยงใต้สภาพให้แสง 0, 8 และ 24 ชั่วโมง นาน 16 สัปดาห์ พบว่าการเติมซูโครส 90 g/l และเลี้ยงใต้สภาพให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วได้สูงสุด 85% (อนุพันธ์ และ วีระชน, 2005)

การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชโดยใช้พื้นที่น้อยในการอนุรักษ์ ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและปลอดจากภัยธรรมชาติ (อรดี, 2539) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth) เป็นการเก็บรักษาในระยะเวลาสั้นหรือปานกลาง โดยเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพที่ทำให้มีอัตราในการเจริญเติบโตต่ำ เพื่อลดการย้ายเนื้อเยื่อหรือเปลี่ยนถ่ายอาหารบ่อยๆ อาจใช้วิธีการลดอุณหภูมิขณะ เพาะเลี้ยง เช่น การศึกษากล้วยโดยการเก็บรักษาที่ 8 องศาเซลเซียส ช่วยยืดเวลาในการเปลี่ยนถ่ายอาหารได้นาน 2-3 เดือน (Kulkarni and Ganapathi, 2009) หรือการใส่สารที่มีผลในการชะลอการเจริญเติบโต เช่น การใช้ sorbitol หรือ manitol ตลอดจน การเพิ่มปริมาณ sucrose ที่มีผล osmotic pressure ของพืช ยกตัวอย่าง การเพาะเลี้ยงสตรอเบอรี่ (Hassan and Bekheet, 2008) การชะลอการเจริญใน Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) โดยใช้แมนนิทอล ความเข้มข้น 2 % ทำให้การเจริญเติบโตน้อยและไม่มีผลต่อลักษณะทางสรีระวิทยาและคุณภาพของเนื้อเยื่อ (Montalvo-Peniche et al., 2007) การใช้แมนนิทอลความเข้มข้น 20 g/l กับต้นเจตมูลเพลิงแดง เพื่อลดจำนวนยอดสามารถอยู่ได้นาน 8 เดือน โดยต้นไม่ตายและยังคงแข็งแรง (Charoensub and Phansiri, 2004) และการใช้แมนนิทอลความเข้มข้น 2 % เพื่อเพิ่มร้อยละการรอดชีวิตของต้น *Spilanthes acmella* (Joshi and Jadhav, 2013) การลดการเจริญเติบโตใน ขิง ไพล และขมิ้นอ้อย โดยการเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม ซูโครสความเข้มข้น 40-60 g/l หรือ ซูโครสความเข้มข้น 30 g/l ร่วมกับ แมนนิทอล ความเข้มข้น 30 g/l หรือ ½ MS ที่เติม ซูโครสความเข้มข้น 40-50 g/l หรือ ซูโครสความเข้มข้น 30 g/l ร่วมกับ แมนนิทอลความเข้มข้น 30 g/l สามารถเลี้ยงได้นาน 8 เดือน โดยไม่เปลี่ยนอาหาร (สนธิชัย, 2548)

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์

1. ต้นมันสาคู
2. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น กระบอกตรวง บีกเกอร์ ขวดแก้ว ปากคีบ ด้ามมีดผ่าตัด และใบมีด เป็นต้น

3. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และสารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ คลอรอกซ์ (สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์; NaOCl)

4. สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA (Naphthalene acetic acid) กลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA (Benzyladenine)

5. ชุดอัดพรรณไม้แห้งอ้างอิง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้ สายรัด กระดาษลูกฟูก ฟองน้ำ กระดาษหนังสือพิมพ์

- วิธีการ

1. การศึกษาภาคสนาม เก็บรวบรวมต้นมันสาคู จากแหล่งปลูก เช่นทั้งแหล่งธรรมชาติ แหล่งปลูกตามแปลงเกษตรกร ตลาด และศูนย์วิจัยต่างๆ เป็นต้นโดยเลือกพื้นที่ออกสำรวจบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2. การฟอกฆ่าเชื้อ

ฟอกฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยใช้หน่อฟอกด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 -25 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 10, 15 และ 20 นาทีนำชิ้นส่วนพืชมาเพาะบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมงบันทึกจำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้และจำนวนการปลอดการปนเปื้อนของเชื้อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

3. การชักนำให้เกิดต้นมันสาคูในสภาพปลอดเชื้อ

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณต้นมันสาคู โดยนำชิ้นส่วนหน่ออ่อนที่มียอดความสูงประมาณ 2 ซม.

3.1 ศึกษาการชักนำการเกิดยอด โดยเพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (3×2 Factorial in completely randomized design; CRD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น 0, 1.5 และ 3mg/l และปัจจัยที่ 2 ได้แก่ เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ (ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง) และเลี้ยงภายใต้สภาพมืด ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ มีหน่วยทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS เลี้ยงภายใต้สภาพมืด

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + BA ความเข้มข้น 1.5 mg/l เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + BA ความเข้มข้น 1.5 mg/l เลี้ยงภายใต้สภาพมืด

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + BA ความเข้มข้น 3 mg/l เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ

กรรมวิธีที่ 6 สูตรอาหาร MS + BA ความเข้มข้น 3 mg/l เลี้ยงภายใต้สภาพมืด

โดยกรรมวิธีที่เลี้ยงในสภาพมืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงต่อในสภาพแสดงปกติ ศึกษาเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโต บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความสูงของยอด นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

กรมวิชาการเกษตร

3.2 ศึกษาการชักนำการเกิดยอดและราก โดยการใช้สารกลุ่มออกซิน (NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 mg/l รวมกับการใช้สารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ระดับความเข้มข้น 0, 3.0 และ 6.0 mg/l เพาะเลี้ยงยอดภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำมีหน่วยทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหารMS + NAA ความเข้มข้น 1.0mg/l

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + BA ความเข้มข้น 3.0 mg/l

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l + BA ความเข้มข้น 3.0 mg/l

กรรมวิธีที่ 6 สูตรอาหาร MS + NAA ความเข้มข้น 1.0 mg/l + BA ความเข้มข้น 3.0 mg/l

กรรมวิธีที่ 7 สูตรอาหาร MS + BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l

กรรมวิธีที่ 8 สูตรอาหาร MS + NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/l + BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l

กรรมวิธีที่ 9 สูตรอาหาร MS + NAA ความเข้มข้น 1.0 mg/l + BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความสูงของยอด จำนวนราก ความยาวราก นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

4. ทดสอบปลูกในสภาพโรงเรือน โดยนำตัวอย่างมันสาคูในสภาพปลอดเชื้อที่มียอดและรากสมบูรณ์ปลูกเลี้ยงในสภาพโรงเรือน

5. การชะลอการเจริญเติบโตของต้นมันสาคูในสภาพปลอดเชื้อ

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตของต้นมันสาคูโดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (3×3 Factorial in completely randomized design; CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 อาหารลดปริมาณอาหาร MS จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ ¼MS, ½MS, และ MS และปัจจัยที่ 2 การปรับปริมาณน้ำตาลซูโครส จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ ความเข้มข้น 30, 40 และ 50 g/l แล้วเพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง มีหน่วยทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหารMS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 g/l (control)

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 45g/l

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหารMS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 60 g/l

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร½ MS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 g/l

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร½MS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 45 g/l

กรรมวิธีที่ 6 สูตรอาหาร½ MS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 60 g/l

กรรมวิธีที่ 7 สูตรอาหาร¼MS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 g/l

กรรมวิธีที่ 8 สูตรอาหาร¼MS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 45g/l

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 9 สูตรอาหาร¼MS + น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 60 g/l

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต และร้อยละการรอดชีวิตบนสูตรอาหาร ชะลอการเจริญเติบโต

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการทดลอง เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2561 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

1. การศึกษาภาคสนาม

เก็บรวบรวมต้นมันสาคู จากแหล่งปลูก เช่นทั้งแหล่งธรรมชาติ แหล่งปลูกตามแปลงเกษตรกร ตลาด และศูนย์วิจัยต่างๆ เป็นต้นโดยเลือกพื้นที่ออกสำรวจบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดร้อยเอ็ด อุบลราชธานี และจังหวัดศรีสะเกษนำมันสาคูมาปลูกขยายในสภาพโรงเรือนและเตรียมตัวอย่างสำหรับนำไปขยายในสภาพปลอดเชื้อ

ตารางที่ 1 ต้นมันสาคูที่เก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกในพื้นที่ออกสำรวจบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

เจ้าของพันธุ์	ลักษณะการเก็บรักษา	แหล่งที่มา
คุณอุบล วงษ์เจริญ	เจ้าของพันธุ์ปลูกขยายต้นพันธุ์ในสภาพแปลงปลูกเพื่อใช้สำหรับจำหน่ายต้นพันธุ์	อ.จตุรพักตรพิมาน จังหวัดร้อยเอ็ด
คุณรัศมี ดอกไม้แก้ว	พันธุ์เดิมที่เจริญอยู่ภายในครัวเรือน มีการนำมาใช้ผลิตแป้งเป็นครั้งคราว	อ.พิบูลมังสาหาร จังหวัดอุบลราชธานี
คุณสมร บุญหวาน	พันธุ์เดิมที่เจริญอยู่ภายในครัวเรือน มีการนำมาใช้ผลิตแป้งเป็นครั้งคราว	อ.เมือง จังหวัดศรีสะเกษ

ภาพที่ 1 มันสาคูจากจังหวัดร้อยเอ็ด และนำมาย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน

ภาพที่ 2 มันสาคูจากจังหวัดอุบลราชธานีและนำมาย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน

ภาพที่ 3 มันสาคูจากจังหวัดจังหวัดศรีสะเกษและนำมาย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน

มันสาคูเริ่มสร้างเหง้าแรกเมื่ออายุประมาณ 3 ½ เดือน และทยอยสร้างเหง้าเพิ่มขึ้นจนถึงอายุประมาณ 6 เดือน ซึ่งแต่ละเหง้าจะใช้เวลาประมาณ 3-4 เดือน จึงหยุดการเจริญเติบโตและเข้าสู่สภาวะที่แก่โดยสมบูรณ์ เมื่อปลูกนานประมาณ 3 ปี พบการเกิดดอกในช่วงเดือน สิงหาคม – ตุลาคม

2. การฟอกฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์

2.1 เตรียมตัวอย่างมันสาคูโดยใช้ชิ้นส่วนเหง้าเพาะในทรายอบฆ่าเชื้อให้ได้ต้นอ่อนสำหรับมาฟอกฆ่าเชื้อและฟอกฆ่าเชื้อ โดยใช้หน่อฟอกด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 10, 15 และ 20 นาที นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง ผลการทดลองพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทุกหน่วยทดลอง

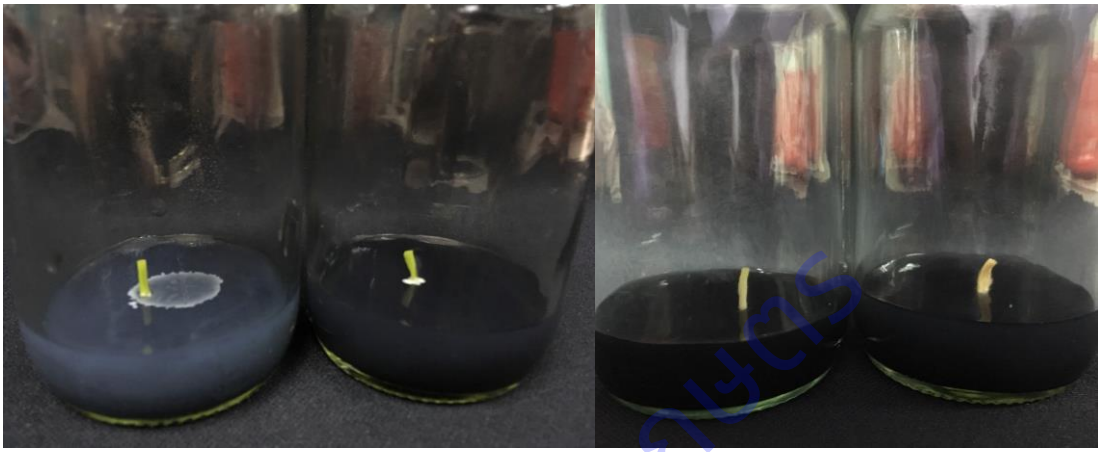
ภาพที่ 4 เตรียมตัวอย่างมันสาคูให้ได้ต้นอ่อนสำหรับนำมาฟอกฆ่าเชื้อ

ภาพที่ 5 ต้นมันสาคูที่ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

2.2 เตรียมตัวอย่างมันสาคูโดยใช้ชิ้นส่วนเหง้าเพาะในทรายอบฆ่าเชื้อให้ได้ต้นอ่อนสำหรับมาฟอกฆ่าเชื้อและฟอกฆ่าเชื้อ โดยใช้หน่อฟอกด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 10, 15 และ 20 นาที นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะบนอาหารสูตร MS เพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และบางส่วนที่ยังไม่พบการปนเปื้อนแต่ไม่เจริญเติบโต

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 6 เตรียมตัวอย่างมันสาคูให้ได้ต้นอ่อนสำหรับนำมาฟอกฆ่าเชื้อ



ภาพที่ 7 ต้นมันสาคูที่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และบางส่วนที่ยังไม่พบการปนเปื้อนแต่ไม่เจริญเติบโต

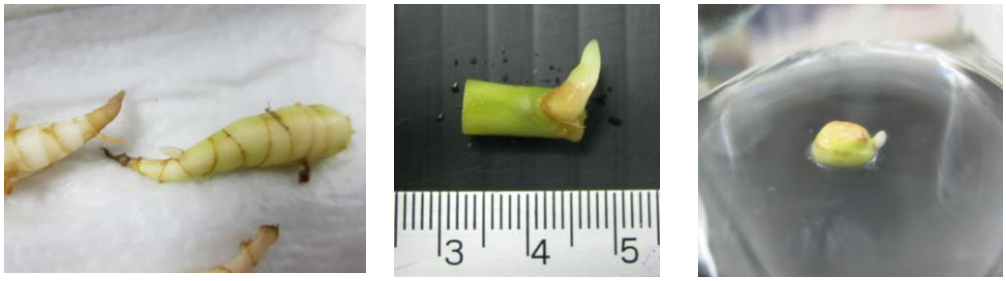
2.3 เตรียมตัวอย่างมันสาคูโดยใช้ชิ้นส่วนเหง้าเพาะด้วยกระดาษให้ได้หน่อสำหรับมาฟอกฆ่าเชื้อ ฟอกฆ่าเชื้อ โดยใช้หน่อฟอกด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 10, 15 และ 20 นาที นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะบนอาหารสูตร MS เพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง พบหน่อต้นสาคูที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อและเจริญเติบโตได้ เมื่อฟอกด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที คิดเป็น 5.6 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 8 เตรียมตัวอย่างมันสาคูให้ได้หน่อสำหรับนำมาฟอกฆ่าเชื้อ

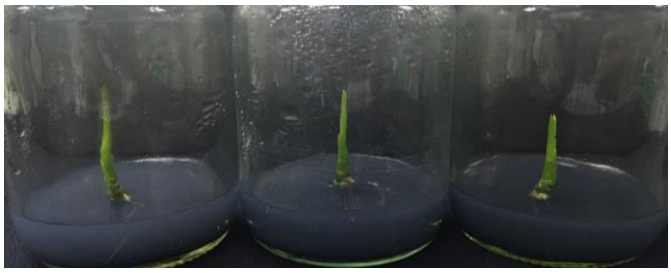
กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 9 ต้นมันสาคูที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อเมื่อเลี้ยงนานประมาณ 1 เดือน

2.4 เตรียมมันสาคูตัวอย่างโดยใช้ชิ้นส่วนเหง้าเพาะด้วยกระดาษให้ตาที่เจริญเล็กน้อยสำหรับมาฟอกฆ่าเชื้อ ฟอกฆ่าเชื้อ โดยใช้เหง้าที่มีตาฟอกด้วยคลอรอกซ์คลอรอกซ์แบบฟอก 2 ครั้ง คลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 ระยะเวลานาน 15 และ 20 นาที และคลอรอกซ์ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 และ 5 นาที นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะบนอาหารสูตร MS ภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง พบหน่อต้นสาคูที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อและเจริญเติบโตได้ เมื่อฟอก 2 ครั้ง ด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และ คลอรอกซ์ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาทีคิดเป็น 16.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการเตรียมเนื้อเยื่อก่อนการฟอกฆ่าเชื้อเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เพื่อให้เนื้อเยื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การฟอกฆ่าเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อมันสาคูและในพืชสกุล Maranta ชนิดอื่น มีรายงานส่วนใหญ่พบการใช้สารสารละลาย $HgCl_2$ รวมถึงการใช้สารละลายเมอร์คิวลิกคลอไรด์ร่วมกับการใช้เอทานอลและสารฟอกฆ่าเชื้อชนิดอื่น เช่น การฟอกเหง้ามันสาคูพันธุ์ Criollo โดยใช้สารละลายเมอร์คิวลิกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นาน 15 นาที เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์มันสาคูในสภาพปลอดเชื้อ (Daquinta et al., 2009) การฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ชิ้นส่วนปลายยอดของ *Maranta leuconeura* cv. *Kerchoviana* โดยใช้ เอทานอล (ethanol) ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 วินาที หลังจากนั้นแช่โซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ (Sodium hypochlorite, NaOCl) ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที แล้วแช่สารละลายเมอร์คิวลิกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 นาที (Ebrahim and Ibrahim, 2000) การฟอกฆ่าเชื้อลำต้น *Maranta leucolneura* Morren var. *Tricolor* ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite, NaOCl) ความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที (Scaramuzzi and Apollonio, 1997) ซึ่งการใช้ชนิดสารฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้นและเวลาที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันอาจขึ้นกับชนิดและพันธุ์ รวมถึงชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อที่นำมาใช้ในการทำการศึกษา



ภาพที่ 10 เตรียมตัวอย่างมันสาคูให้ได้ตาที่เจริญเล็กน้อยหน่อสำหรับนำมาฟอกฆ่าเชื้อ

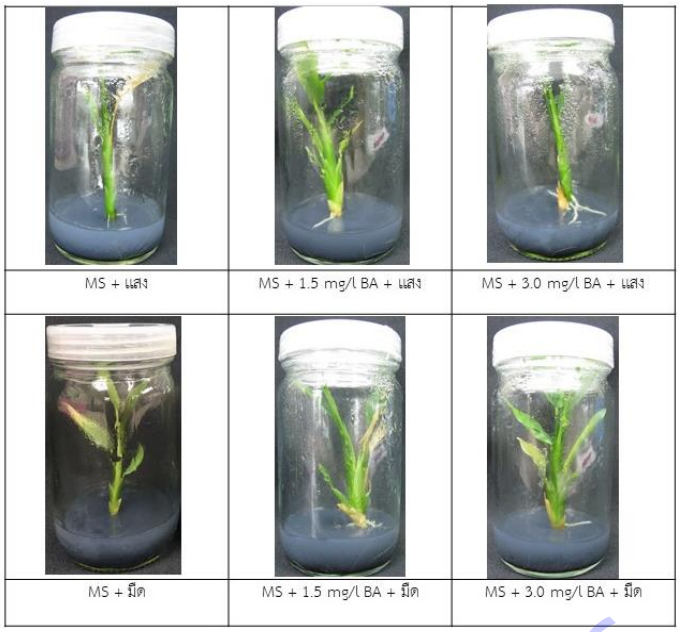


ภาพที่ 11 ตาที่เหง้ามันสาคูที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อเมื่อเลี้ยงนานประมาณ 1 เดือน

3. การชักนำให้เกิดต้นมันสาคูในสภาพปลอดเชื้อ

3.1 ศึกษาการชักนำการเกิดยอด โดยนำชิ้นส่วนหน่ออ่อนที่มียอดความสูงประมาณ 2 ซม. ที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อมาทดสอบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการเติมสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น 0, 1.5 และ 3 mg/l โดยเพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ (ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง) เทียบกับเลี้ยงภายใต้สภาพมืด โดยกรรมวิธีที่เลี้ยงในสภาพมืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงต่อในสภาพแสดงปกติ เมื่อเลี้ยงต้นมันสาคูนาน 3 เดือน การทดลองพบว่ามันสาคูมีการเจริญเติบโตทางลำต้นทุกกรรมวิธี โดยความสูงของยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วนการเติมสารละลาย BA ความเข้มข้น 3 mg/l สามารถชักนำการเกิดยอดได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่าการแตกยอดบางครั้งยังไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ แต่ในรายงานของ Daquinta และคณะ (2009) พบว่าเมื่อเลี้ยงหน่ออ่อนมันสาคูพันธุ์ Criollo บนอาหาร MS ที่เติมสารละลาย BA ความเข้มข้น 3 mg/l ในสภาพมืด นาน 1 สัปดาห์แล้วย้ายมาเลี้ยงในสภาพแสงปกติสามารถชักนำการเกิดยอดได้ดีกว่าการเลี้ยงในสภาพแสงปกติ นอกจากนี้ยังมีการใช้ชิ้นส่วนลำต้นของ *Maranta arundinacea* และ *Maranta leuconeura* var *erythroneura* เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารละลาย BA ความเข้มข้น 4.0 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 mg/l ช่วยชักนำการเกิดยอด (Simin, 2006) ส่วนการเลี้ยงในสภาพมืดมีผลต่อการเจริญเติบโตเนื่องจากพืชจะใช้พลังงานแสงเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีในการสร้างคาร์โบไฮเดรตที่มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่การเลี้ยงพืชในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะได้รับคาร์โบไฮเตรตจากน้ำตาลที่เติมในอาหารแล้ว พืชอาจไม่จำเป็นต้องใช้แสงในการสังเคราะห์น้ำตาลส่งผลให้การเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมื่อเลี้ยงในที่มืด (ธิดารัตน์ และคณะ 2558) ซึ่งการตอบสนองต่อสภาพมืดในการชักนำการเกิดยอดจะแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ (Rikiishi et al., 2015)

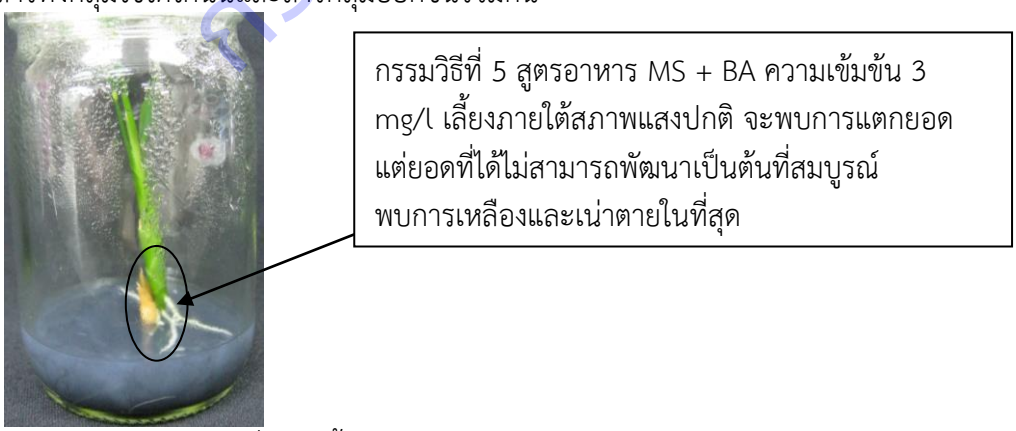
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 ลักษณะของมันสาคูที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 0, 1.5 และ 3 mg/l ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ และเลี้ยงภายใต้สภาพมืด เป็นเวลา 3 เดือน

นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงทุกกรรมวิธีมีการเกิดราก สภาพการเลี้ยงทั้งสภาพแสงและสภาพมืดการเกิดรากไม่แตกต่างกันเนื่องจากอาหารที่ใช้มีการเติมผงถ่านในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งเป็นการสร้างสภาพมืดและดูดซับสารที่ไม่พึงประสงค์ ส่งเสริมการเกิดรากทำให้การเกิดรากไม่แตกต่างกัน (รังสฤษฎ์ดิ์, 2541; Pan and van Staden, 1998) ทั้งนี้การเลี้ยงมันสาคูบนอาหาร MS ที่ไม่เติม BA จะมีรากจำนวนมากและแตกแขนงดีกว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA เนื่องจากสารกลุ่มไซโตไคนินจะส่งผลต่อการกระตุ้นการเกิดยอดและทำให้รากจะมีลักษณะสั้น (Hu and Wang, 1983) โดยอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นของ BA หรือการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งกลุ่มไซโตไคนินและสารกลุ่มออกซินชนิดอื่นในการขยายพันธุ์มันสาคูในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

คาดว่าน่าจะต้องเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสาร BA ความเข้มข้นที่สูงขึ้น หรือการเติมสารทั้งกลุ่มไซโตไคนินและสารกลุ่มออกซินร่วมกัน



ภาพที่ 13 ลักษณะของมันสาคูที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 3 mg/l เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมสาร BA ความเข้มข้น 0, 1.5 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เลี้ยงภายใต้สภาพแสงปกติ เปรียบเทียบกับสภาพมืดและแนวโน้มการเกิดราก เป็นเวลานาน 3 เดือน โดยจำนวนยอดใช้ค่า Transformed to Log (X+1)

สภาพการเลี้ยง	**จำนวนยอด (ยอด)**				**ความสูงของยอด (cm)**				**การเกิดราก**		
	MS + BA (mg/l)			mean	MS + BA (mg/l)			mean	MS + BA (mg/l)		
	0	1.5	3.0		0	1.5	3.0		0	1.5	3.0
แสงปกติ	1.0	1.0	1.4	1.1	8.50	8.63	8.50	8.54	++	+	+
สภาพมืด	1.0	1.0	1.3	1.1	8.28	8.40	8.45	8.38	++	+	+
mean	1.0 a	1.0 a	1.4 b	1.1	8.39	8.51	8.48	8.46			
F-test (BA)		*				ns					
F-test (Light)		ns				ns					
F-test (BA×Light)		ns				ns					
CV (%)		47.4				8.2					

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

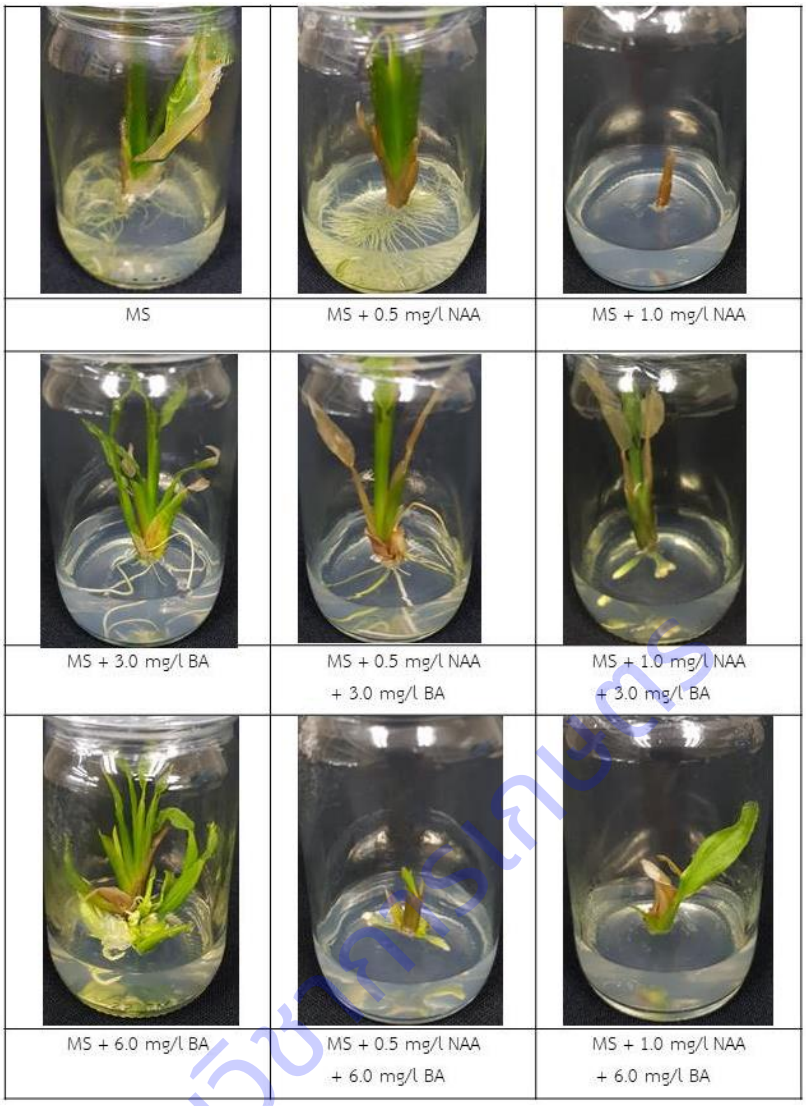
ns = ไม่ต่างกันทางสถิติ

* = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$

ความแตกต่างระหว่างการเติมสาร BA ใช้อักษร a, b, c

3.2 ศึกษาการชักนำการเกิดยอดและราก โดยนำชิ้นส่วนหน่ออ่อนที่มียอดความสูงประมาณ 2 ซม. ที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อมาทดสอบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารสารกลุ่มออกซิน (NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 mg/l รวมกับการใช้สารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ระดับความเข้มข้น 0, 3.0 และ 6.0 mg/l เพาะเลี้ยงยอดภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 14 ลักษณะของมันสาคูที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 0, 3.0 และ 6.0 mg/l ร่วมกับการเติม NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 mg/l เป็นเวลา 3 เดือน

พบว่าเมื่อเลี้ยงมันสาคูบนอาหาร MS ที่เติม BA มีแนวโน้มกระตุ้นการเกิดยอดได้ดีกว่าการเติม BA ร่วมกับ NAA โดยการเลี้ยงมันสาคูบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l เกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 5.5 ยอด และยอดมีลักษณะเขียวปกติ ต้นไม่ยืด แต่การเลี้ยง MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตจะได้ต้นที่ยืดสูงและมีแนวโน้มกระตุ้นการเกิดรากได้สูงสุดเฉลี่ย 4.6 ราก และยาว 4.49 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียว ใน *Maranta arundinacea* และ *Maranta leuconeura cv. Kerchoviana* ความเข้มข้น 9.0 µM และ 5.0 mg/l ตามลำดับ (Ebrahim and Ibrahim 2000; Souza et al., 2019) แต่ก็มีการศึกษาการใช้สารกลุ่มออกซินและกลุ่มไซโตไคนินร่วมกันเช่นในการศึกษาการเลี้ยงตาเหง้า *Maranta arundinacea* บนอาหาร MS ที่เติม 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, 2,4D) ความเข้มข้น 1.0 mg/l เพื่อชักนำการเกิดยอด และเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม 2,4D ความเข้มข้น 1.0 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 mg/l เพื่อกระตุ้นการยืดของยอด (Wahyurini and Susilowati, 2020) ซึ่งให้ผลที่แตกต่างอาจเนื่องจากชิ้นส่วนและชนิดพันธุ์ที่ใช้ในการทำการศึกษา

ตารางที่ 3 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA และ BA ต่อการเกิดยอดที่สมบูรณ์ และความสูงของยอดที่สมบูรณ์ เมื่อใช้ยอดอ่อนของต้นมันสาคูเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติม

ฮอร์โมน NAA และ BA เป็นเวลานาน 3 เดือน โดยจำนวนยอดและจำนวนรากใช้ค่า Transformed to Log (X+1)

สูตรอาหาร	จำนวนยอด (ยอด)	ความสูงของยอด (cm)	จำนวนราก (ราก)	ความยาวของราก (cm)
MS	1.0 a	9.00 b	4.6	4.49 c
MS + 0.5 mg/l NAA	1.1 a	5.17 a	2.3	4.15 c
MS + 1.0 mg/l NAA	n/a	n/a	n/a	n/a
MS + 3.0 mg/l BA	2.3 b	4.27 a	2.4	3.34 b
MS + 0.5 mg/l NAA + 3.0 mg/l BA	1.0 a	4.83 a	2.9	4.06 c
MS + 1.0 mg/l NAA + 3.0 mg/l BA	1.0 a	3.33 a	2.3	1.27 a
MS + 6.0 mg/l BA	5.5 c	4.43 a	3.3	3.33 b
MS + 0.5 mg/l NAA + 6.0 mg/l BA	1.5 b	2.67 a	2.6	1.27 a
MS + 1.0 mg/l NAA + 6.0 mg/l BA	1.6 b	3.48 a	2.3	1.30 a
mean	1.63	4.44	2.52	2.65
F-test	**	**	ns	**
CV (%)	23.56	28.9	17.44	28.1

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

n/a = no available

ns = ไม่ต่างกันทางสถิติ

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$

4. ทดสอบปลูกในสภาพโรงเรือน โดยนำตัวอย่างมันสาคูในสภาพปลอดเชื้อที่มียอดและรากสมบูรณ์ ปลูกเลี้ยงในสภาพโรงเรือน

การย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนต้องมีการปรับสภาพเนื้อเยื่อก่อนการย้ายปลูก เนื่องจากสภาพโรงเรือนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำและความเข้มแสงที่สูงกว่าในขวดเนื้อเยื่อ ก่อให้เกิดความเครียดจากการเสียน้ำ ดังนั้นจึงมีการปรับสภาพเนื้อเยื่อก่อนการนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน รวมถึงการเลือกใช้วัสดุปลูกให้เหมาะสมที่มีสภาพคล้ายการเลี้ยงในสภาพธรรมชาติเป็นขั้นตอนที่สำคัญต่อการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อ (Preece and Sutter, 1991) โดยนำมันสาคูที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเลือกใช้ต้นที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงและมีรากจำนวนมากมาปรับสภาพ โดยการนำออกจากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คลายฝาขวดเพื่อลดความชื้นสัมพัทธ์ในขวดและมีการถ่ายเทอากาศมากขึ้น ประมาณ 5 - 7 วัน หลังจากนั้น ล้างวุ้นออกจากรากให้สะอาด จุ่มยากันเชื้อรา แล้วปลูกโดยใช้วัสดุปลูกดิน:กาบมะพร้าวสับ:ทราย อัตราส่วน 4:1:1 นำต้นที่ปลูกลงในกระถางคลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น ระวังไม่ให้ใบสัมผัสถุง ปรับความชื้นโดยเปิดปากถุงที่ละน้อย วางไว้ในที่ร่ม เป็นเวลา 1 เดือน มีรายงานการใช้วัสดุปลูกที่หลากหลาย เช่น การย้ายปลูกต้นกล้ามันสาคูในวัสดุปลูกเวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) ขนาดกลางจะพบการรอดชีวิตสูงและฟื้นตัวได้เร็ว (Simin, 2006) หรือการนำต้นมันสาคูพันธุ์ Criollo ย้ายปลูกในวัสดุปลูก Zeolite : sugarcane filter substrate อัตราส่วน 1:1 พบอัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์ (Daquinta et al., 2009) ซึ่งวัสดุบางอย่างอาจมีราคาสูงหรือหาได้ยากจึงเลือกใช้วัสดุปลูกที่หาได้ง่ายอย่างดินผสม โดยเลือกใช้ดินผสมที่มีความอุดมสมบูรณ์ เพิ่มกาบมะพร้าวสับเพื่อให้ดินปลูกมีช่องว่างอากาศถ่ายเท ช่วยในการระบายน้ำแต่มีความชื้นสะสม และทรายเพื่อทำให้วัสดุปลูกมีความคงตัวไม่สลายง่าย ระบายน้ำได้ดีเป็นที่ยึดเกาะของรากพืช เนื่องจากมีรายงาน

กรมวิชาการเกษตร

ว่ามันสาคูสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินร่วน-ร่วนปนทราย และสามารถทนทานต่อสภาพร่มเงาถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (Puechkaset, 2560)

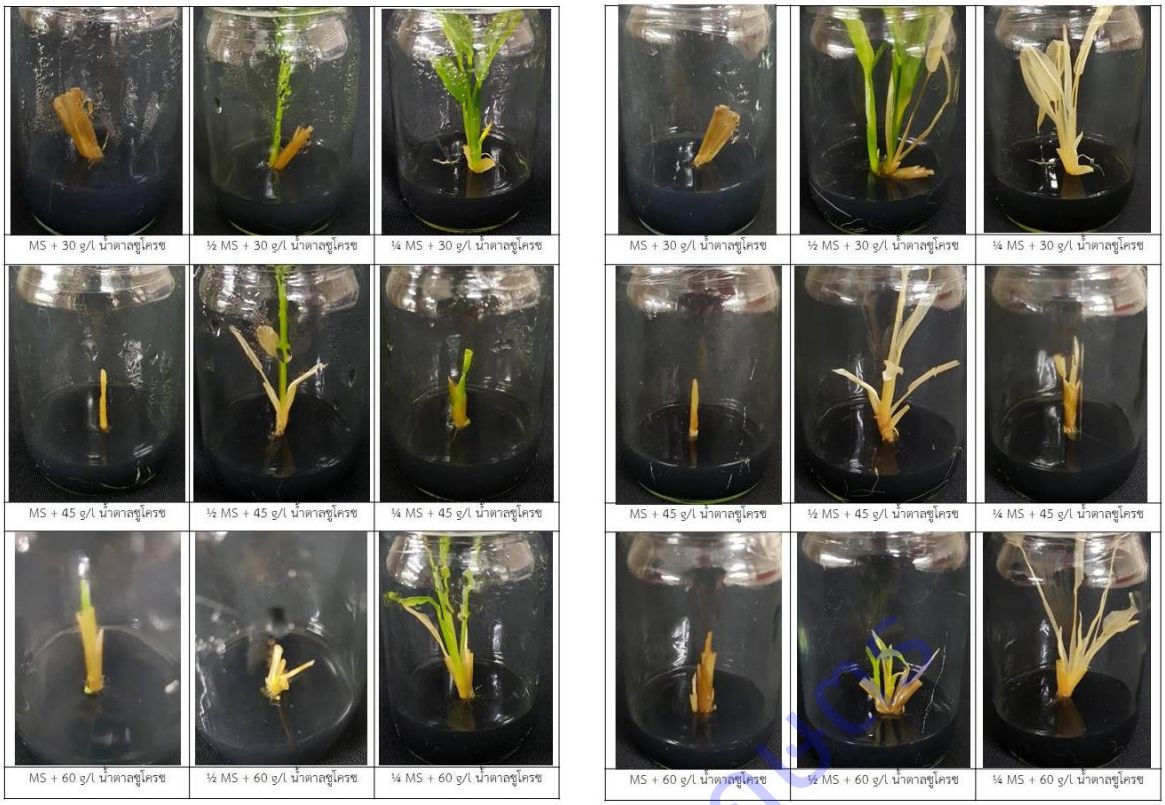
ภาพที่ 15 ต้นมันสาคูที่ย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือน

5. การชะลอการเจริญเติบโตของต้นมันสาคูในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นจากการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ ตัดให้มีความสูง 3 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารลดปริมาณอาหาร MS ได้แก่ ¼MS, ½MS, และ MS ร่วมกับการปรับปริมาณน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30, 40และ 50 g/lและเพาะเลี้ยงภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (3×3 Factorial in completely randomized design; CRD) จำนวน 3 ซ้ำ โดยเมื่อเลี้ยงต้นมันสาคูนาน 3 เดือน มันสาคูที่เลี้ยงบนอาหารลดปริมาณอาหาร MS ได้แก่ ¼MS และ ½MS สามารถเจริญเติบโตได้ดี แต่ต้นมันสาคูที่เลี้ยงบนอาหาร MS ปกติ ต้นมันสาคูไม่สามารถเจริญได้ อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนที่ใช้ไม่ใช้หน่ออ่อนซึ่งทำให้ไม่เหมาะสมที่จะนำมาเลี้ยงบนอาหาร MS ปกติ ต้องมีการปรับลดปริมาณอาหารจะทำให้ต้นสามารถรอดชีวิตได้ และหลังจากเลี้ยงนาน 3 เดือน ต้นที่เลี้ยงบน อาหาร ¼MS เริ่มมีอาการเหลืองซีด โดยเมื่อเลี้ยงนาน 5 เดือน พบว่าต้นมันสาคูที่เลี้ยงบนอาหาร ½MS ยังคงมีการลักษณะต้นที่แข็งแรงและ มีการเจริญเติบโตแตกหน่ออ่อนได้เมื่อเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

3 เดือน **5 เดือน**

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 16 ลักษณะของมันสาคูที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ลดปริมาณอาหาร MS ได้แก่ ¼MS, ½MS, และ MS ร่วมกับการปรับปริมาณน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30, 45 และ 60 g/l เป็นเวลา 3 เดือน และ 5 เดือน

ตารางที่ 4 ผลของการปรับลดปริมาณอาหารสูตร MS ร่วมกับการปรับปริมาณน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30, 45 และ 60 กรัมต่อลิตร โดยจำนวนยอดใช้ค่า Transformed to Log (X+1) เป็นเวลานาน 5 เดือน

น้ำตาลซูโครส (g/l)	**จำนวนยอด (ยอด)**				**ความสูงของยอด (cm)**				**การมีชีวิตรอด (%)**		
	MS			mean	MS			mean	MS		
	MS	½ MS	¼ MS		MS	½ MS	¼ MS		MS	½ MS	¼ MS
30	n/a	1.88	1.00	1.30 xy	n/a	6.83 a y	5.50 a y	5.11	n/a	93.3	66.7
45	1.00	1.29	1.00	1.10 y	3.00 a x	5.67 b x	3.50 c z	4.06	13.3	63.3	46.7
60	1.62	2.30	1.00	1.64 x	3.33 a y	2.33 b y	5.00 a x	3.56	16.7	96.7	63.3
mean	1.31 b	1.83 a	1.00 b		3.11	4.95	4.67	4.24			
F-test (MS)		**				**					
F-test (SU)		*				**					
F-test (MS×SU)		ns				**					
CV (%)		20.30				13.2					

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns = ไม่ต่างกันทางสถิติ

* = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$

ความแตกต่างระหว่างการปรับลดปริมาณ MS ใช้อักษร a, b, c

ความแตกต่างระหว่างการปรับปริมาณน้ำตาลซูโครส ใช้อักษร x, y, z

ซึ่งได้มีการศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตใน *Lilium davidii* และ *Lilium longiflorum* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ¼MS ร่วมกับซูโครสเข้มข้น 9 % หรือ ABA ความเข้มข้น 3.0 mg/l (Yun-peng et al., 2012) ตลอดจนพืชในวงศ์ขิง Zingiberaceae ได้แก่ ขิง ไพล และขมิ้นออย พบว่าการใช้อาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 40-60 g/l หรือ อาหารสูตร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 40-50 g/l สามารถชะลอการ

กรมวิชาการเกษตร

เจริญเติบโตได้นานอย่างน้อย 8 เดือน (สนธิชัย, 2548) มีการศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตในหงส์เหินขาว (*Globba adhaerens* Gagnep) โดยเลี้ยงใน ¼MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 g/l สามารถเลี้ยงได้นาน 3 เดือน (Iida et al., 2020) ซึ่งการลดปริมาณอาหาร MS จะช่วยในการชะลอการเจริญได้เนื่องจากเป็นการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพที่ทำให้มีอัตราในการเจริญเติบโตต่ำจากการควบคุมปริมาณอาหารและแร่ธาตุเพื่อลดการย้ายเนื้อเยื่อหรือเปลี่ยนถ่ายอาหารบ่อยๆ

6. การจัดทำหลักฐานอ้างอิงเชื้อพันธุ์มันสาคู

โดยวิธีการอัดแห้งเป็นการนำตัวอย่างชิ้นส่วนพืชที่ใช้ในการศึกษาการขยายพันธุ์และศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อมาอัดแล้วนำไปอบให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำส่งพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร เพื่อเข้ากระบวนการ นำไปติดบนกระดาษสำหรับติดพรรณไม้และเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ ต่อไป ซึ่งได้ดำเนินการเก็บตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร (Bangkok Herbarium, BK) จำนวน 3 ตัวอย่าง

ตารางที่ 5 ข้อมูลการจัดทำหลักฐานอ้างอิงเชื้อพันธุ์มันสาคู โดยการเก็บตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร (Bangkok Herbarium, BK) จำนวน 3 ตัวอย่าง

ลำดับ	ชื่อพืช	จังหวัด	ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิง	
			Collector/number	Herbarium no.
1	มันสาคู	อุบลราชธานี	P. Piriyavinit / Maranta1	BK 082278
2	มันสาคู	อุบลราชธานี	P. Piriyavinit / Maranta2	BK 082276
3	มันสาคู	อุบลราชธานี	P. Piriyavinit / Maranta3	BK 082279

ภาพที่ 17 ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร (Bangkok Herbarium, BK)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. การฟอกฆ่าเชื้อตาจากเหง้ามันสาคูโดยการใช้คลอรอกซ์ จำนวน 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และ คลอรอกซ์ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที พบหน่อต้นสาคูที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อและเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS คิดเป็น 16.7 เปอร์เซ็นต์

2. การชักนำการเกิดยอดโดยการเลี้ยงมันสาคูบนอาหาร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 5.5 ยอด

3. การชักนำการเกิดรากพบว่ามันสาคูเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนช่วยชักนำการเกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 4.6 ราก และพบการแตกรากฝอยได้ดีกว่ามันสาคูเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน

4. การชะลอการเจริญเติบโตโดยการเลี้ยงมันสาคูบนอาหาร ½MS สามารถเลี้ยงได้นาน 5 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหาร

5. การย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนโดยนำต้นมันสาคูที่มีการรากสมบูรณ์ปลูกในวัสดุปลูกดินผสม:ดินขุยไผ่:กาบมะพร้าวสับ:ทราย อัตราส่วน 3:1:1:1 แล้วคลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้นระวังไม่ให้ใบสัมผัสถุง ปรับความชื้นโดยเปิดปากถุงที่ละน้อย วางไว้ในที่ร่ม พบว่าอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2

การขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

In Vitro Propagotion of *Plectranthus rotundifolius* for Conservation

ชื่อผู้วิจัย

สุพินญา บุญมานพ

Suphinya Bunmanop

ปาริฉัตร สังข์สะอาด
Parichart Sangkasa-ad
อัสนี ส่งเสริม
Assanee Songserm

คำสำคัญ (Key words)
มันขี้หนู, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, การอนุรักษ์
Plectranthus rotundifolius, Tissue Culture, Conservation

บทคัดย่อ (Abstracts)

มันขี้หนูเป็นพืชท้องถิ่นทางภาพใต้ของประเทศไทย และเป็นล้มลุกฤดูเดียว นิยมนำมาใช้ประกอบอาหารพื้นบ้านทางภาคใต้ และขยายพันธุ์โดยใช้หัว หัวถูกทำลายด้วยไส้เดือนฝอยในแปลงปลูก จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ และการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า มันขี้หนูสามารถขยายเพิ่มปริมาณได้โดยการใช้ส่วนของยอดมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อได้ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + IAA 1 มก./ล. + BA 3 มก./ล. หลังจากนั้นชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IBA 2 มก./ล. (MSr) และการเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (การชะลอการเจริญเติบโต) สามารถเก็บรักษาได้นานสูงสุด 6 เดือน อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แม้ไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ¼ MS + mannitol 10 ก./ล. และเมื่อนำชิ้นส่วนสีเขียวกลับมาทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l. ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ สามารถเจริญเติบโตได้

Abstracts

Plectranthus rotundifolius is a plant native to southern Thailand, and a biennial for one season. It is commonly used for cooking local dishes in the south and propagated by tubers. The head being destroyed by nematodes, so this be the cause in propagated and the conservation. It was found that the apex plant could be propagated by in vitro method with MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l. The roots induction were achieved in MS + IBA 2 mg/l (MSr). The result revealed that the plants cultured on ¼ MS + mannitol 10 g/l could be conserved by in vitro for 6 months without a subculture had the significantly highest. The green parts of those

กรมวิชาการเกษตร

plantlets were tested their survival rate to MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l followed on MSr. It showed that they were able to grow normally.

บทนำ (Introduction)

ความสำคัญและที่มาของการทดลอง

มันขี้หนู ชื่อสามัญ Hausa potato, Country potato, Chinese potato, Madagascar potatoมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Plectranthus rotundifolius* เป็นพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างสร้างรายได้ให้เกษตรกรและปลูกบริโภคภายในครอบครัว มันขี้หนูเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก มีหัวใต้ดิน สามารถรับประทานและใช้หัวในการขยายพันธุ์ เป็นมันพื้นเมืองที่มีถิ่นกำเนิดในแอฟริกา นำมาเป็นพืชอาหารใช้ส่วนหัวใต้ดินรับประทานและพืชเศรษฐกิจ เช่น ไนจีเรีย กานา เป็นต้น (Safwan and Mohamemed, 2016; Enyiukwu *et. al*., 2014 และ Sugri *et. al*., 2013) **ลำต้น**สูงประมาณ 1-2ฟุต อวบน้ำมีขนปกคลุม ลำต้นมีลักษณะเหลี่ยมและทอดเลื้อย **ใบ**เป็นใบเดี่ยว รูปกลมแกมไข่ ขอบใบหยัก ปลายใบมน ออกใบตรงข้ามสลับตั้งฉากกันโดยออกจากหัว ใบแผ่บนผิวดิน ขนาดของใบ ยาวประมาณ 605-8.5 เซนติเมตร (ซม.) กว้างประมาณ 5-7 ซม. ก้านใบยาว 4-5 ซม. **ดอก**มีขนาดเล็ก สีขาวอมม่วง ช่อดอกออกที่ปลายยอด จะชูตั้งสูงไม่ค่อยติดผล **หัว**มีขนาดเล็ก พัฒนาจากรากเพื่อสะสมอาหารเกิดขึ้นบริเวณข้อของลำต้น ขนาดหัวยาวประมาณ 3-5 ซม. ทรงกระบอกหัวท้ายป้าน เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-3 ซม. ผิวเปลือกสีน้ำตาล เนื้อในมีสีขาวหรือม่วง หัวคือส่วนที่ใช้รับประทาน มีรสชาติมัน (ภาพที่ 2.1) นำมาประกอบอาหารท้องถิ่นทางภาพใต้ เช่น แกงส้ม แกงเหลือง แกงไตปลา และแกงกะทิต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นแป้งได้ (ฎายิน, 2543) มันขี้หนูเป็นพืชที่อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอย เนื่องจากมีรากสะสมอาหารในรูปของหัวมันที่อยู่ในดินจึงทำให้ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายทั้งระบบรากและหัวมัน โดยทำให้รากเกิดโรครากปมและหัวเกิดโรคหัวหูดได้ การปลูกโดยทั่วไปของเกษตรกรไม่มีการคัดหัวพันธุ์มันขี้หนู เนื่องจากเข้าใจผิดว่าลักษณะของหูดหรือตุ่มที่หัวพันธุ์ คือตาที่จะแตกเป็นต้นอ่อน ดังนั้นเมื่อมันขี้หนูงอกรากออกมาไส้เดือนฝอยฟักเป็นตัวอ่อนจึงออกมาจากบริเวณที่เป็นหูดและเข้าทำลายรากและหัวมันขี้หนูต่อไป แนวทางการป้องกันไส้เดือนฝอยคือ การเลือกใช้สารเคมี และเชื้อราปฏิปักษ์ และการเลือกพื้นที่ที่ไม่มีไส้เดือนฝอยระบาด แต่ในประเทศไทยยังขาดข้อมูลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายหัวมันขี้หนูปลอดโรค และการอนุรักษ์พันธุ์ ในการวิจัยครั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางการขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช และเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยเกษตรเพื่อให้ได้หัวพันธุ์ที่ปลอดไส้เดือนฝอย เป็นพืชอาหารหรือพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศได้ต่อไปในอนาคต

กรมวิทยาศาสตร์

ภาพที่ 2.1 ใบและหัวมันขี้หนู

วัตถุประสงค์

การขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช

วิธีการวิจัย

1. การขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (2562-2563)
2. การเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (2563-2564)

การทบทวนวรรณกรรม (งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ให้นำไปรวมในบทนำ)

Asha*et. al.* (2013) พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันขี้หนู โดยใช้ตายอด ในอาหารสูตร MS + BAP 1.0 mg/l ให้จำนวนข้อเฉลี่ย 38 ยอด สูตรอาหารที่ชักนำรากมันเสา MS + IAA 0.5 mg/l ให้จำนวนรากมากที่สุด อุบล และคณะ (2556)พบว่าศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเสา โดยการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดมันเสาด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 20 นาที ให้ผลดีที่สุดมีการปนเปื้อนเพียง 20 % และการชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตรสMS + BAP 1.5 mg/l + IAA 0.5 mg/l ให้จำนวนข้อมากที่สุด4.38 ข้อ และอาหารสูตร MS + BAP 1.0 mg/l ชักนำจำนวนยอดมากที่สุด 2.23 ยอด ส่วนการศึกษาสูตรอาหารที่ชักนำรากมันเสา MS + NAA 0.5 mg/l ให้จำนวนรากมากที่สุด 3.41 รากพัชราวดี และคณะ (2544) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเทศ พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณยอดมันเทศ คือ สูตร MS + BA 1 และ 2 mg/l มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3 และ 3.1 ยอด เมื่อนำยอดมันเทศมาชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS + IBA 1.0 mg/l มีจำนวนรากเฉลี่ย 7.3 ราก เกศรินทร์ (2527) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดองดึง เพื่อเร่งการขยายพันธุ์ พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายเหง้าดองดึงทั้งสองข้างในอาหารสูตร MS และอาหารสูตร MS+BA 0.05 ppm+NAA 0.05 ppm เกิดเจริญเติบโตและได้ต้นที่สมบูรณ์ได้ดีที่สุด และเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 10 ppm เกิดยอดใหม่เพิ่มจำนวนมากที่สุด และในอาหาร MS ยอดเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้มากที่สุด สอดคล้องกับงานของ Hassan and Roy (2005) เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของยอด และตาข้าง ดองดึงในอาหารสูตร MS+BA 1.5 ppm+NAA 0.5 ppm สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ 92% และในปี 2529 วราภรณ์ ได้ทำการศึกษาพบว่า เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS+NAA 1ppm + kinetin 0.1-2 ppmรากที่เกิดขึ้นจะมีขนาดใหญ่ สั้นและมีจำนวนมาก และการใช้ BA2 ppm +NAA 1 ppm สามารถชักนำเนื้อเยื่อให้เกิดรากได้ สอดคล้องกับงานของ ศุภฤกษ์ และคณะ (2545) ซึ่งพบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเหง้าดองดึง ในอาหารสูตรดัดแปลง MS+2,4-D 0.5 และ 1 ppm และอาหารสูตร MS+2,4-D1ppm+ BA 1ppmรวมทั้งอาหารสูตร MS+2,4-Dppm+kinetin1ppm สามารถชักนำเหง้าดองดึงให้เกิดแคลลัสได้ดี และสามารถใช้เพิ่มปริมาณแคลลัสได้ ส่วนอาหารสูตร MS, ½MS และ ¼MS ใช้เก็บรักษาแคลลัสดองดึงได้นานถึง 3 เดือน และสามารถนำแคลลัสที่เก็บรักษาไว้นั้นไปเพิ่มปริมาณได้ทั้งนี้บุญยืน และชยันต์ (2535) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆ ของดองดึง (*G. superb* Linn.) ในอาหารสูตร MS ที่มีฮอร์โมนระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า เนื้อเยื่อจากส่วนของยอดและก้านใบสามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มี NAA (Naphthalene acetic acid) 4 ppm + น้ำมะพร้าว 5% หรือ NAA 1 ppm ร่วมกับ BA (Benznylamino

purine) 1 ppm + น้ำมะพร้าว 5% การเจริญของอวัยวะเหล่านี้สิ้นสุดลงทั้งในอาหารเดิมและอาหารใหม่ ส่วนเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีฮอร์โมนของ NAA, BA, GA_3 (Gibberellic acid) และ 2,4-D (Dichlorophenoxy acetic acid) ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เมล็ดไม่สามารถงอกได้เลยในทุกความเข้มข้นของฮอร์โมน เนื้อเยื่อจากลำต้นใต้ดิน (ไรโซมหรือเหง้า) เป็นส่วนที่ดีที่สุดของเนื้อเยื่อที่นำไปเลี้ยง ซึ่งสามารถเจริญเป็นต้นขนาดเล็กได้ ลำต้นใต้ดินมีการตอบสนองได้ดีในอาหารที่มี NAA, BA และ 2iP ส่วนในอาหารที่มี 2,4-D ไม่มีการตอบสนองเลยต่อมาในปี 2544 จารุวรรณ ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยบางประการที่มีต่อการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อดองดึงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การนำเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร BA 4ppm+ NAA 1ppmสามารถชักนำให้เมล็ดเกิดต้นได้ดีที่สุด 20% และการนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร BA 4ppm+ NAA 4ppm เกิดต้นได้ 100% และในอาหารที่มี BA 4ppm ชักนำให้เกิดต้นได้ 83% และพบว่าเมล็ดสามารถงอกได้ในปริมาณต่ำ การเพาะเลี้ยงเหง้าสามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ และการ เพาะเลี้ยงแคลลัสสามารถชักนำให้เกิดต้นได้

การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชมีวิธีการชะลอการเจริญเติบโต โดยรมณีย์ และ ศาลักษณ์ (2547) พบว่า manninol สามารถชะลอการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเจตมูลเพลิงแดงที่เจริญจากตาของข้อได้ โดยเฉพาะความสูงของต้นจะลดลงถึง 83.1% ในอาหารที่มีสารความควบการเจริญเติบโต และ 93.3% ในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต การเพิ่มจำนวนยอดของต้นอ่อนมีแนวโน้มลดลงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี mannitol ความเข้มข้น 40 และ60 g/l ต้นอ่อนในอาหารที่เติม mannitol 20 g/l สามารถเก็บรักษาได้ถึง 8 เดือนโดยไม่มีการตาย และต้นอ่อนยังคงมีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ต้นอ่อนที่ยังคงมีชีวิตในอาหารทุกสูตรสามารถเจริญเติบโตให้ยอดใหม่ได้เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ศิริกุล (2548) พบว่า การเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร (*Magnolia sirindhorniae*Noot. &Chalermglin)ในสภาพปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 25± 20C ความเข้มแสง 40 μmol m-2 s-1 แสง 16 hr./day ได้ศึกษาผลของ 1) ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก 3 ระดับคือ MS, 3/4 MS และ 1/2MS 2) ความเข้มข้นของน้ำตาล 2 ชนิดได้แก่ Sucrose 20 และ 30 g/l ใช้ร่วมกับMannitol 0, 10 และ 20 g/l 3) ความเข้มข้นของสารชะลอการเจริญPaclobutrazolที่ระดับ 0, 10 และ 20 mg/l พบว่าทุกปัจจัยมีผลต่อการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธรโดยความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก 3/4 MS Sucrose 20 g/l และการเติมPaclobutrazolที่ระดับ 10 mg/l ใช้เก็บรักษาปลายยอดได้นาน 7 เดือนซึ่งพบว่ามีการรอดชีวิต 73.3±8.2% การเจริญบน regeneration medium ได้ต้นที่มีลักษณะแข็งแรงเป็นปก

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

1. ประเด็นวิจัย

การเก็บรักษามันขี้หนูโดยวิธีปกติดำเนินการโดยการใช้หัวในการขยายและเก็บรักษา และด้วยมีประเด็นปัญหาไส้เดือนฝอยในหัวพันธุ์ การขยายพันธุ์มันขี้หนูและการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อจึงเป็นวิธีการหนึ่งในการแก้ปัญหาดังกล่าวได้

2. สถานที่ทำการวิจัย: ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

3. ระยะเวลาดำเนินงาน: 1 ตุลาคม 2561 – 30 กันยายน 2564

4. วิธีการดำเนินงาน

ขั้นตอนที่ 1 การขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ(2562-2563)

1. ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อมันขี้หนู โดยตัดชิ้นส่วนปลายยอด และข้อของมันขี้หนู ฟอกฆ่าเชื้อในสภาพปลอดเชื้อวางแผนการทดลองแบบ Compeletely Randomized Design (CRD) ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเป็นทรีตเมนต์ จำนวน 5ทรีทเมนต์ ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด คือ

1.1 การฟอกฆ่าเชื้อมันขี้หนูครั้งที่ 1

1. คลอร็อกซ์ 10% 5 นาที
2. คลอร็อกซ์ 10% 10 นาที
3. คลอร็อกซ์ 20% 5 นาที
4. คลอร็อกซ์ 20% 10 นาที
5. คลอร็อกซ์ 20% 10 นาที และ คลอร็อกซ์ 10% 5 นาที

1.2 การฟอกฆ่าเชื้อมันขี้หนูครั้งที่ 2

1. คลอร็อกซ์ 10% 10 นาที และ คลอร็อกซ์ 5% 10 นาที
2. คลอร็อกซ์ 20% 5 นาที
3. คลอร็อกซ์ 20% 10 นาที
4. คลอร็อกซ์ 20% 10 นาที และ คลอร็อกซ์ 10% 5 นาที

1.3 การฟอกฆ่าเชื้อมันขี้หนูครั้งที่ 3

1. คลอร็อกซ์ 20% 5 นาที
2. คลอร็อกซ์ 20% 10 นาที
3. คลอร็อกซ์ 20% 10 นาที
4. คลอร็อกซ์ 20% 10 นาที + คลอร็อกซ์ 10% 5 นาที + คลอร็อกซ์ 5% 5 นาที

2. การขยายมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อฟอกฆ่าเชื้อสำเร็จ จึงดำเนินการขยายมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเตรียมความพร้อมเข้าสู่ขั้นตอนที่2 ตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้

ขั้นตอนที่ 2 การเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (ทำการทดลองปี 2563-64)

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

นำมันขี้หนูจากขั้นตอนที่ 1 มาทดสอบสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช (slow growth) โดยวางแผนการทดลอง CRD จำนวน 9 กรรมวิธีคือ

1. MS	4. ½ MS	7. ¼ MS
2. MS + mannitol 10g/l	5. ½ MS + mannitol 10g /l	8. ¼ MS + mannitol 10 g/l
3. MS + mannitol 20g/l	6. ½ MS + mannitol 20 g/l	9. ¼ MS + mannitol 20 g/l

กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

ขั้นตอนที่ 1 การขยายชิ้นส่วนมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (2562-2563)

1.1 ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อมันขี้หนู ครั้งที่ 1

การนำยอดมันขี้หนูที่งอกในสภาพโรงเรือน (ภาพที่ 2.2) เข้าห้องปฏิบัติการเพื่อทำการฟอกฆ่าเชื้อ ครั้งที่ 1 พบว่า ทุกกรรมวิธีดังแสดงในตารางที่ 2.1 ชิ้นส่วนมันขี้หนูไม่มีการรอดชีวิต ซึ่งอยู่ในสภาพเนื้อเยื่อตาย และการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันขี้หนู ด้วยลักษณะลำต้นอวบน้ำและมีขน และมันขี้หนูเป็นพืชลงหัวจึงทำให้ยากต่อการฟอกฆ่าเชื้อ

ภาพที่ 2.2 หัว และลักษณะใบมันขี้หนู

ตารางที่ 2.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนมันขี้หนูในการฟอกครั้งที่ 1

กรรมวิธี	คลอร็อกซ์ (%)	เวลา (นาที)	คลอร็อกซ์ (%)	เวลา (นาที)	การรอดชีวิต (%)
1	10	5	-	-	0
2	10	10	-	-	0
3	20	5	-	-	0
4	20	10	-	-	0
5	20	10	10	5	0

1.2 ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อมันขี้หนู ครั้งที่ 2

การนำยอดมันขี้หนูที่งอกในสภาพห้องเตรียมเนื้อเยื่อ(ภาพที่ 2.3) เพื่อนำยอดเข้าห้องปฏิบัติการ เพื่อปรับวิธีการฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีดังแสดงในตารางที่ 2.2 ชิ้นส่วนมันขี้หนูไม่มีการรอดชีวิต โดยชิ้นส่วนมีภาพเนื้อเยื่อตายสีขาว และการปนเปื้อนของแบคทีเรีย

ภาพที่ 2.3 มันขี้หนูในห้องเตรียมเนื้อเยื่อ

ตารางที่ 2.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนมันขี้หนูในการฟอกครั้งที่ 2

กรรมวิธี	คลอร็อกซ์ (%)	เวลา (นาที)	คลอร็อกซ์ (%)	เวลา (นาที)	การรอดชีวิต (%)
1	10	10	5	10	0

กรมวิชาการเกษตร

2	20	5	-	-	0
3	20	10	-	-	0
4	20	10	10	5	0

1.3 ศึกษาการฟองฆ่าเชื้อมันขี้หนู ครั้งที่ 3

การนำยอดมันขี้หนูที่งอกในสภาพห้องเตรียมเนื้อเยื่อ เพื่อนำยอดเข้าห้องปฏิบัติการ เพื่อปรับวิธีการฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีที่ 1-3 ดังแสดงในตารางที่ 2.3 ชิ้นส่วนมันขี้หนูไม่มีการรอดชีวิต โดยชิ้นส่วนมีภาพเนื้อเยื่อตายสีขาว และการปนเปื้อนของแบคทีเรีย แต่ในกรรมวิธีที่ 4 การฟอกด้วย colrox 20% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง หลังจากนั้นฟอกด้วย colrox 10% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อวางบนอาหารสูตรสังเคราะห์ หลังจากนั้น 7 วัน ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน ด้วย colrox 5% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง มีการรอดชีวิต 38 % (ภาพที่ 2.4 และ1.4)

ตารางที่ 2.3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนมันขี้หนูในการฟอกครั้งที่ 3

กรรมวิธี	คลอร็อกซ์ (%)	เวลา (นาที)	Colrox (%)	เวลา (นาที)	Colrox (%)	เวลา (นาที)	การรอดชีวิต (%)
1	20	5	-	-	-	-	0
2	20	10	-	-	-	-	0
3	20	10	5	10	-	-	0
4	20	10	10	10	5	10	38

2. การขยายมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ

ตัวอย่างมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l ที่อายุ 150 วัน (ภาพที่ 2.4) และเพิ่มปริมาณตัวอย่างเพื่อนำเข้าการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ (ภาพที่ 2.5) และการเกิดรากบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr เพื่อการเตรียมต้นในการทดสอบการออกปลูกในสภาพโรงเรือนทดลอง และเตรียมความพร้อมชิ้นส่วนเนื้อเยื่อนำเข้าการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ (ภาพที่ 2.6 และ 2.7) เตรียมตัวอย่างมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเข้าขั้นตอนการชะลอการเจริญเติบโต (ภาพที่ 2.8)

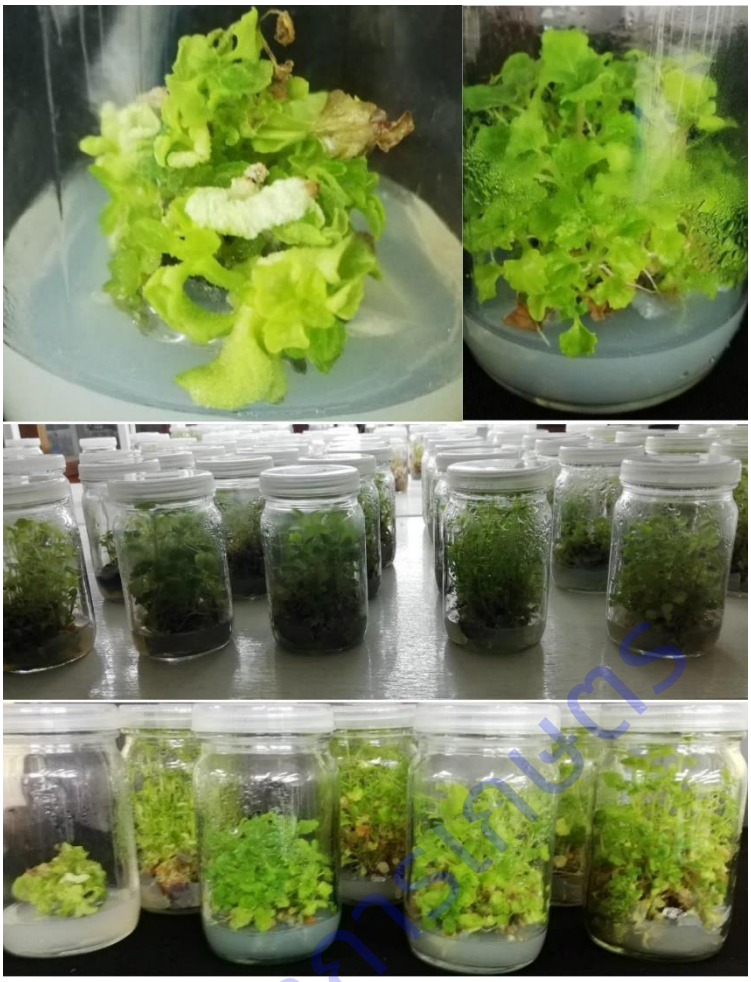
ภาพที่ 2.4 มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (150วัน)

กรมวิชาการเกษตร

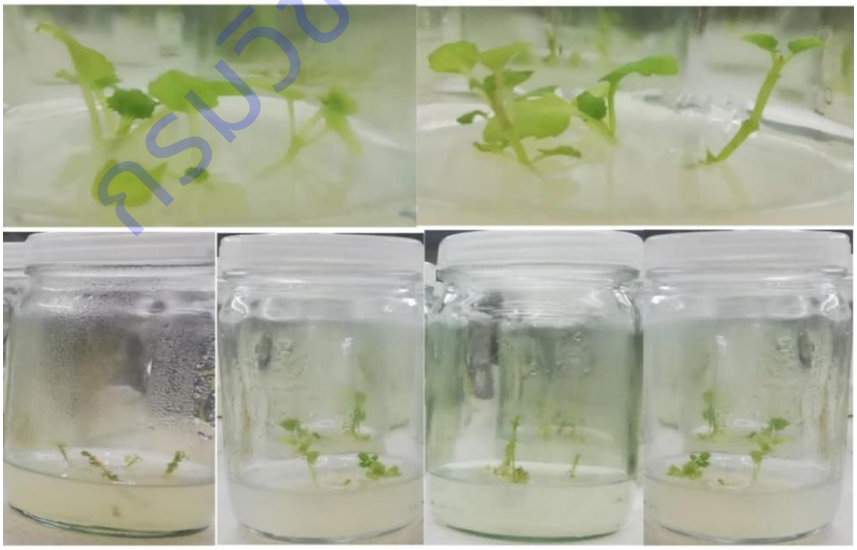
ภาพที่ 2.5 มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเตรียมสำหรับการนำเข้าการทดลองการชะลอการเจริญเติบโต (เมษายน2563)

ภาพที่ 2.6 มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อและการเกิดราก

กรมวิชาการเกษตร



รูปที่ 2.7 มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเตรียมเข้าสู่กรรมวิธีการชะลอการเจริญเติบโต



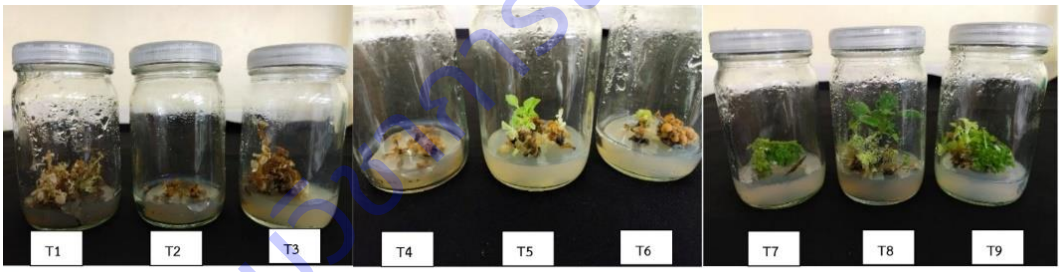
ภาพที่ 2.8 เตรียมตัวอย่างมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเข้าขั้นตอนการชะลอการเจริญเติบโต

ขั้นตอนที่ 2 การเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (ทำการทดลองปี 2563-2564)

การเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การนำยอดและข้อของมันขี้หนู ฟอกฆ่าเชื้อและนำเข้าเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อดำเนินการขยายชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันขี้หนูบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l สำหรับการทดลองการเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อตามกรรมวิธีที่กำหนด พบว่า ในระยะเวลา 2

เดือน ทั้ง 9 กรรมวิธี เนื้อเยื่อของมันขี้หนูยังมีสีเขียว และการเจริญเติบโตปกติในกรรมวิธีที่ไม่เติม mannitol (กรรมวิธีที่ 1, 4 และ7) ดังแสดงในภาพที่ 2.9 ในกรรมวิธีที่เติม mannitol 10 g/l (กรรมวิธีที่ 2, 5 และ8) มีลักษณะใบอวบ สีเข้ม และการเจริญเติบโตช้ากว่ากรรมวิธีที่ไม่เติม mannitol และพบว่า มันขี้หนูสามารถเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ (ชะลอการเจริญเติบโต) ก่อนยอดเหลืองเกินร้อยละ50 ที่อายุ 6 เดือน แม้ไม่มีการ subculture คือ กรรมวิธีที่ 8 (¼ MS + mannitol 10 g/l) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 9 กรรมวิธี ดังแสดงในภาพที่ 2.10 และตารางที่ 2.4 ทั้งนี้กรรมวิธีที่ 7 และ 9 (¼ MS และ ¼ MS + mannitol 20 g/l ตามลำดับ) สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ที่อายุ 5 เดือน ส่วนกรรมวิธีที่ 1-6 (MS, MS + mannitol 10g /l, MS + mannitol 20g /l, ½ MS , ½ MS + mannitol 10g /l และ ½ MS + mannitol 20 g/l ตามลำดับ) สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ที่อายุ 4 เดือน และในเดือนที่ 6 ต้นและใบมีสีน้ำตาลซึ่งหมายถึงไม่มีชีวิต และในกรรมวิธีที่ 8 เมื่อนำชิ้นส่วนสีเขียวกลับมาทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS+ IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr และสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

ภาพที่ 2.9 มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อที่อายุ 2 เดือน



ภาพที่ 2.10 มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อที่อายุ 6 เดือน

ตารางที่ 2.4 ระยะเวลาเฉลี่ยการเก็บรักษามันขี้หนูก่อนยอดเหลืองเกินร้อยละ50

สูตรอาหาร	Mannitol (g/l)	ระยะเวลาเฉลี่ยการเก็บรักษาก่อนยอดเหลืองร้อยละ50 (เดือน)*
กรรมวิธีที่ 1. MS (control)	0	4 c
กรรมวิธีที่ 2. MS	10	4 c
กรรมวิธีที่ 3. MS	20	4 c
กรรมวิธีที่ 4. ½ MS	0	4 c
กรรมวิธีที่ 5. ½ MS	10	4 c
กรรมวิธีที่ 6. ½ MS	20	4 c
กรรมวิธีที่ 7. ¼ MS	0	5 b
กรรมวิธีที่ 8. ¼ MS	10	6 a

กรรมวิธีที่ 9. ¼ MS	20	5 b
CV (%)		10

*ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

อภิปรายผล (Discussion)

การขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อการนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารเจริญเติบโตเพียงพอต่อการเกิดยอดเนื่องด้วย อาหารสูตรสังเคราะห์ MS มีวิตามินและแร่ธาตุครบถ้วน ดังนั้นจึงสามารถขยายพันธุ์มันขี้หนูได้ในอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr โดยมีขั้นตอนในการเพาะหัวมันขี้หนูบนกระดาษที่นึ่งฆ่าเชื้อในกล่องที่มีความชื้นเหมาะสมภายในห้องเตรียมอุปกรณ์ เมื่อต้นมันขี้หนูเจริญเติบโตประมาณ 6-7 ข้อ จึง ตัดยอดมันขี้หนูเข้าสู่ขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อนำเข้าเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

การเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ (ชะลอการเจริญเติบโต) ในระยะเวลา 2 เดือน ทั้ง 9 กรรมวิธี เนื้อเยื่อของมันขี้หนูยังมีสีเขียว และการเจริญเติบโตปกติในกรรมวิธีที่ไม่เติม mannitol (กรรมวิธีที่ 1, 4 และ7) เนื่องด้วยอาหารสูตรสังเคราะห์ MS มีวิตามินและแร่ธาตุครบถ้วน สำหรับกรรมวิธีที่เติม mannitol 10 g/l (กรรมวิธีที่ 2, 5 และ8) มีลักษณะใบอวบ สีเข้ม และการเจริญเติบโตช้ากว่ากรรมวิธีที่ไม่เติม mannitol เนื่องด้วยความเข้มข้น mannitol ที่เพิ่มขึ้นนั้นจะทำให้ความสูงลดลง (ข้อสั้น) เนื่องด้วย mannitol มีคุณสมบัติเป็นสาร osmoticum เมื่อผสมลงในอาหารจะทำให้ความดันออสโมติกของอาหารสูงขึ้น ซึ่งเป็นผลให้การดูดซับไอออนของรากผิดปกติ จึงทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง แต่การแตกหน่อตอบสนองต่อสารชนิดนี้ของพืชจะแตกต่างกันเพราะพันธุกรรมต่างกัน ทั้งนี้มันขี้หนูสามารถเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อที่อายุ 6 เดือน แม้ไม่มีการ subculture คือ กรรมวิธีที่ 8 (¼ MS + mannitol 10 g/l) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 9 กรรมวิธี สอดคล้องกับการทดลองของ สนธิชัย (2548) ในการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิง (ขิง ไพล และขมิ้นอ้อย) ในขณะที่การเก็บรักษาบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ¼ MS ร่วมกับ mannitol (0, 10 และ 20 g/l) นั้นใบมีสีเหลืองอาจเนื่องจากปริมาณธาตุอาหารที่ถูกจำกัดให้เหลือเพียงหนึ่งในสี่ส่วน แต่ใบและรากยังคงมีสีเขียวบางส่วน และการทดลองของ นุชจรี และสุรีภรณ์ (2563) พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมันจาวพร้าวบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + mannitol 20 g/l ทำให้จำนวยยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและความสูงของต้นน้อยที่สุด

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. สรุปผลการวิจัย

1.1 การขยายพันธุ์มันขี้หนูสามารถทำได้ในสภาพปลอดเชื้อ

1.2 การเจริญเติบโตของเท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr

1.3 การเก็บรักษามันขี้หนูสามารถเก็บรักษาได้ที่อายุใน 6 เดือน แม้ไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + mannitol 10 g/l และเมื่อนำชิ้นส่วนสีเขียวกลับมาทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ แต่ไม่สามารถนำต้นมันขี้หนูออกปลูกในสภาพโรงเรือนทดลองได้

2. ข้อเสนอแนะ

เนื่องด้วยผลจากงานการทดลองในครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นของการขยายพันธุ์และการเก็บรักษามันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องด้วยการวิจัยในครั้งนี้ยังไม่สามารถนำออกปลูกในสภาพโรงเรือนทดลองได้ อาจจะ

กรมวิชาการเกษตร

เกี่ยวข้องกับสภาพสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับพืชชนิดนี้ในการลงหัว ด้วยเป็นพืชพื้นเมืองทางภาคใต้ จึงทำให้ขาดข้อมูลดังกล่าว ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไป เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและแนวทางในการดำเนินวิจัยต่อยอดต่อไป

การทดลองที่ 3

การอนุรักษ์ขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) และตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ

In vitro conservation of *Zingiber tenuiscapus* and *Zingiber citriodorum*; an Endemic Species in Thailand

กรมวิชาการเกษตร

ชื่อผู้วิจัย

พัฒน์นรี รักษ์คิด

Padnaree Rukkid

พัชร ปิริยะวินิตร

Phatchara Piriyavinit

ปาริฉัตร สังข์สะอาด

Parichart Sangkasa-ad

คำสำคัญ (Key words)

พืชสกุลขิง, การขยายพันธุ์, การเก็บรักษาด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต
Zingiberaceae, micropropagation, slow growth storage

บทคัดย่อ

ขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) และตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) เป็นพืชถิ่นเดียวของไทยจัดอยู่ในวงศ์ขิง ซึ่งที่มีขอบเขตการกระจายพันธุ์จำกัดในพื้นที่ที่มีลักษณะเฉพาะ ในธรรมชาติขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ การอนุรักษ์ทรัพยากรพืชถิ่นเดียวจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อเก็บรักษาพรรณพืชที่หายากที่อาจมีศักยภาพในเชิงเศรษฐกิจในอนาคต งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มปริมาณต้นขิงพระพุทธบาทและตะไคร้พรานและการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (ออกซินและไซโตไคนิน) อาหารเพาะเลี้ยง (MS medium) และน้ำตาลซูโครส ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าอาหารสูตร MS ที่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดสำหรับขิงพระพุทธบาทและตะไคร้พราน คือ อาหาร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. และ อาหาร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล ตามลำดับ โดยสามารถชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 20.9 และ 9ยอด/ชิ้นส่วนตามลำดับ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของขิงพระพุทธบาท คือ ½ MS หรือ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. และสูตรที่เหมาะสมสำหรับชะลอการเจริญเติบโตของตะไคร้พราน คือ ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. สามารถชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้นานมากกว่า 8 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

Abstracts

Zingiber tenuiscapus and *Zinigiber citriodorum* are endemic species of Thailand, classified in Zingiberaceae Family. Which found a limited distribution in a specific area. These species are asexually propagated in the natural conditions. The conservation of endemic plant is therefore essential to the preservation of rare plant that may have future economic viability. Therefore, this research tried to apply tissue culture techniques to multiply and conserve these species. *In vitro* multiplication and growth minimization of *Z. tenuiscapus* and *Z. citriodorum* were used various concentrations of factors such as plant growth regulators (auxin and cytokinin), MS media and sucrose. The results indicated that the highest shoot number of *Z. tenuiscapus* and *Z. citriodorum* (20.9 and 9 shoots per explant) was obtained from MS medium supplemented with 3 mg/l BA and MS medium supplemented with 3 mg/l BA and 1 mg/l NAA, respectively. ½ MS and ¼ MS, both contained 15 g/l sucrose, were found as suitable media for *in vitro* growth minimization of *Z. tenuiscapus.* And the suitable Medium for minimal growth of *Z. citriodorum* was ½ MS contained 15 g/l sucrose as they can be conserved for more than 8 months without subculture.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงเป็นอันดับที่สองของเอเชีย เนื่องจากตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นจึงทำให้จำนวนของชนิดพืชมีค่อนข้างหลากหลาย บางชนิดเป็นพืชถิ่นเดียว พืชถิ่นเดียว (Endemic species) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดและมีขอบเขตการกระจายพันธุ์จำกัดในพื้นที่ที่มีลักษณะเฉพาะ เช่นเขาหินปูนหรือป่าดิบเขาที่สูง ซึ่งพืชเหล่านี้มักถูกคุกคามถิ่นกำเนิดและมีการลักลอบนำออกจากพื้นที่ป่าจนไม่สามารถแพร่กระจายพันธุ์ในธรรมชาติได้ทัน ทำให้มีประชากรของพืชพันธุ์เหล่านี้ลดน้อยลงอย่างรวดเร็วและอาจเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย การอนุรักษ์ทรัพยากรพืชถิ่นเดียวจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อเก็บรักษาพรรณพืชที่หายากที่อาจมีศักยภาพในเชิงเศรษฐกิจในอนาคต และเพื่อเก็บรักษาประชากรพืชที่มีคุณลักษณะพิเศษสำหรับการปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์พืชต่อไปในอนาคต เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช โดยเฉพาะพืชหายาก พืชเฉพาะถิ่น และพืชใกล้สูญพันธุ์ เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณพืชดังกล่าวให้มีจำนวนมากพอกับความต้องการ เป็นการลดภาวะการคุกคามถิ่นกำเนิดและการลักลอบนำพืชเฉพาะถิ่นออกจากพื้นที่ป่าอนุรักษ์ ในขณะเดียวกันเป็นการสนับสนุนการวางแผนการอนุรักษ์ทรัพยากรพืชและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนอีกด้วย

พืชวงศ์ขิงประกอบด้วยชนิดพืชที่มีความหลากหลายสูง คาดว่ามีอยู่ในโลกประมาณ 1,500 ชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์สำหรับพืชวงศ์ขิงเป็นอย่างมาก พืชวงศ์นี้มีลักษณะเด่นคือ เป็นพืชล้มลุกหลายฤดู มีลำต้นใต้ดินแบบไรโซม หรือเหง้า และมีกลิ่นเฉพาะซึ่งเกิดจากน้ำมันหอมระเหยที่เป็นต่อมน้ำมันอยู่ภายในเซลล์ คนไทยคุ้นเคยกับการใช้ประโยชน์ ขิง ข่า กระชาย ขมิ้น และกระเจียวที่มักพบอยู่ในชีวิตประจำวัน ใช้เป็นอาหาร เช่น นำขิงมาผัด หรือรับประทานสด ใช้เป็นเครื่องเทศแต่งกลิ่น รสของอาหาร และเครื่องดื่ม เป็นพืชสมุนไพร เช่น ขิงและกระวานแก้ลมในท้องอืดแน่นเฟ้อ ขมิ้นแก้ปวดท้องจากโรคกระเพาะ เป็นตำรับยาพื้นบ้านของไทย ใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ เช่น มหาหงส์ (*Hedychium coronarium*) ขิงแดง (*Alpinia purpurata*) ดาหลา (*Etlingera elaitor*) ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) เป็นต้น ทั้งนี้พืชวงศ์ขิงยังจัดว่าเป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญอีกวงศ์หนึ่งด้วย

ขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus* Triboun & K. Larsen) ชื่อท้องถิ่นคือ ไพลป่า สำรวจพบบริเวณป่าผลัดใบในเขาหินปูน ที่ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล 800-1,000 เมตร เขตอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก จัดเป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทย พบว่ามีการนำไปใช้ประโยชน์เป็นพืชสมุนไพรเช่นเดียวกับไพล (*Z. montanum*) ลักษณะพฤกษศาสตร์ เป็นไม้ล้มลุกหลายฤดู ลำต้นเป็นเหง้ากลม ต้นตั้งตรงสูง 1-1.5 เมตร สูง 1-1.5 เมตร ประกอบด้วยใบเดี่ยว 20-25 ใบ แผ่นใบรูปขอบขนาน กว้าง 3-3.5 เซนติเมตร ยาว 27-33 เซนติเมตร ปลายแหลม โคนสอบรูปลิ่ม ลิ้นใบยาว 6-8 มิลลิเมตร แยกเป็น 2 แฉก ก้านใบยาว 2-5 มิลลิเมตร ก้านช่อดอกยาว 30-35 เซนติเมตร กาบล่างสีชมพูซีด กาบบนสุดสีเขียวอ่อน ใบประดับสีน้ำตาลเขียวหรือน้ำตาลแดง ผิวเกลี้ยงทั้ง 2 ด้าน กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 แฉก กลีบดอกสีขาวครีม อับเรณูยาวประมาณ 1 เซนติเมตร รังไข่มีผิวเกลี้ยงขนาด 3 มิลลิเมตร ออกดอกช่วงปลายเดือนกรกฎาคม-กันยายน (Triboun et al., 2014)

ตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum* Theilade & Mood) ชื่อท้องถิ่นคือ ขิงแมงดา สำรวจพบบริเวณป่าไผ่ในเขาหินปูน เขตอำเภอเวียงแหง จังหวัดเชียงใหม่ จัดเป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทย ลักษณะพฤกษศาสตร์ เป็นไม้ล้มลุกหลายฤดู เหง้าใต้ดินภายในสีเหลือง ลำต้นเทียมเหนือดินตั้งตรง สูงประมาณ 0.9-1.2 เมตร. ทั้งต้นมีกลิ่นหอมคล้ายตะไคร้ ใบเดี่ยวเรียงสลับแผ่นใบรูปรีแกมขอบขนาน สีเขียว เป็นมัน ท้องใบสีเทาหม่น ก้านช่อดอกสี

เขียว กาบล่างสีชมพูซีด ช่อดอกเกิดจากเหง้า ลักษณะช่อตั้งตรง ใบประดับอ่อนสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง กลีบดอกและกลีบปาก สีขาว บอบบาง ดอกออกเป็นช่อจากเหง้าใต้ดิน ดอกสีขาว ผลรูปไข่กลับเมื่อแก่แล้วแตกออกดอกช่วงเดือนพฤษภาคม-กรกฎาคม (Theilade, 1999) เนื่องจากทรงต้นตั้งตรง และมีใบประดับสีสันสวยงาม จึงมีการนำมาใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ (Prabhakaran, 2013)

การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชโดยใช้พื้นที่น้อยในการอนุรักษ์ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและปลอดจากภัยธรรมชาติ (อรดี, 2539) ซึ่งสอดคล้องกับ Siddique และคณะ (2003) ที่รายงานว่าการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความสำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาและการอนุรักษ์ทรัพยากรพืชในระยะยาวโดยเฉพาะพืชถิ่นเดียว พืชหายาก และพืชใกล้สูญพันธุ์ มีการรายงานเกี่ยวกับการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เช่น Sompop et al. (2004) ได้รายงานผลการศึกษาเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้าง *Zingiber petiolatum* :ซึ่งเป็นพืชหายากวงศ์ขิงของประเทศไทย โดยสามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 6.7 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 17.8 ไมโครโมล/ลิตร Abdelmageed et al. (2011) ได้ทำการเพาะเลี้ยงตาข้างของต้นดาหลา (*Etlingera elatior*) โดยใช้ฮอร์โมนกลุ่มออกซินและไซโตไคนินในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP 22.2 ไมโครโมล/ลิตร ร่วมกับ IAA 11.4 ไมโครโมล/ลิตร ทำให้ได้จำนวนต้นที่มีปริมาณสูงสุดเฉลี่ย 3.67 ต้น ส่วนการทดลองของ Christine et al. (2007) ศึกษาการขยายพันธุ์ *Cucuma zedoaria* และ กระทือ (*Zingiber zurumbet*) เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชทั้งสองชนิดนี้โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาที่เกิดจากเหง้า พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IBA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดต้น *Cucuma zedoaria* ได้ 6.1 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่สามารถชักนำให้เกิดยอดต้น *Zingiber zurumbet* ได้ 6.4 ยอดต่อชิ้นส่วน Gomathy et al. (2014) ทำการศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณต้นขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วนตาที่เกิดบนเหง้า (rhizomatous buds) พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากคือ อาหารแข็งสูตร ½ MS ที่เติม IBA 1 มิลลิกรัม/ลิตร Nongmaithem et al. (2014) ได้ทำการเพาะเลี้ยงข่า (*Alpinia galanga*) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ โดยใช้ชิ้นส่วนตาข้าง พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 2 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 4 เดือน สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 5.65 ยอดต่อชิ้นส่วน และเมื่อนำไปเลี้ยงอนุบาลในโรงเรือนมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth) เป็นการเก็บรักษาในระยะเวลาสั้นหรือปานกลาง โดยเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพที่ทำให้มีอัตราในการเจริญเติบโตต่ำเพื่อลดการย้ายเนื้อเยื่อหรือเปลี่ยนถ่ายอาหารบ่อยๆ อาจใช้วิธีการลดอุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง เช่น การศึกษากล้วยโดยการเก็บรักษาที่ 8 องศาเซลเซียส ช่วยยืดเวลาในการเปลี่ยนถ่ายอาหารได้นาน 2-3 เดือน (Kulkarni and Ganapathi, 2009) หรือการใส่สารที่มีผลในการชะลอการเจริญเติบโต เช่น การใช้ sorbitol หรือ manitol ในการเพาะเลี้ยงสตรอเบอรี่ (Hassan and Bekheet, 2008) นอกจากนี้ยังสามารถลดธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตบางชนิดเพื่อช่วยในการชะลอการเจริญเติบโต (Sahavacharin, n.d)

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต้นขิงพระพุทธบาท และตะไคร้พราน และอุปกรณ์เก็บตัวอย่างพืช

กรมวิชาการเกษตร

2. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ สารละลายคลอรอกซ์ แอลกอฮอล์ และ Tween-20

3. อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Murashige and Skoog (MS) และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน และกลุ่มไซโคไคนิน

4. อุปกรณ์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

5. วัสดุเพาะปลูก เช่น กระถาง ดินผสม หินเพอร์ไลท์ เม็ดดินเผา และพีทมอส

- วิธีการ

1. การรวบรวมเชื้อพันธุ์พืชจากแหล่งธรรมชาติ

รวบรวมตัวอย่างต้นขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) จากถิ่นที่สำรวจพบบริเวณอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก และต้นตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) จากถิ่นที่สำรวจพบบริเวณอำเภอเวียงแหง จังหวัดเชียงใหม่ นำพืชทั้ง 2 ชนิดปลูกอนุบาลในโรงเรือนปลูกพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ คลอง6 จ.ปทุมธานี โดยปลูกในกระถางมีรูระบาย ใช้ดินร่วนปนทรายที่มีความชื้นสูงและมีการระบายน้ำดี ในสภาพแดดรำไร เพื่อขยายพันธุ์ให้มีปริมาณหน่ออ่อนที่เพียงพอต่อการศึกษาวิธีการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

2. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ล้างทำความสะอาดดินและสิ่งสกปรกออกจากชิ้นส่วนหน่ออ่อน ล้างด้วยน้ำยาล้างจานจากนั้นล้างด้วยน้ำไหลผ่านนาน 45 นาที นำชิ้นส่วนจุ่มในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% นาน 1 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่ออ่อนด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 10, 15 และ 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที นำชิ้นส่วนที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อขนาด 0.8-1 ซม. เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) นาน-3 เดือน บันทึกจำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ และคำนวณเปอร์เซ็นต์อัตราความมีชีวิตรอด

3. การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อ

โดยนำชิ้นส่วนยอด ขิงพระพุทธบาท และตะไคร้พราน ที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อขนาด 1 ซม. มาทดสอบเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (NAA) ร่วมกับ กลุ่มไซโตไคนิน (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ แบ่งออกเป็น 12 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต
กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 5 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 6 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 1 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 7 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 3 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 8 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 5 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 9 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 10 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก./ล. ร่วมกับ BA 1 มก./ล.
กรรมวิธีที่ 11 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก./ล. ร่วมกับ BA 3 มก./ล.

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 12 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก./ล. ร่วมกับ BA 5 มก./ล.

บันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด และจำนวนรากที่สมบูรณ์

4. การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นขิงพระพุทธบาท และตะไคร้พราน ที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS นาน 3-4 สัปดาห์ ตัดให้มีขนาด 1.5 ซม. แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เพื่อศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ โดยการปรับระดับความเข้มข้นของอาหารสูตร MS และปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่างๆ วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (3×4 Factorial in completely randomized design; CRD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 การลดความเข้มข้นของอาหาร MS จำนวน 3 ระดับคือ ¼MS, ½MS, และ MS และปัจจัยที่ 2 การปรับปริมาณน้ำตาลซูโครส จำนวน 4 ระดับคือ 15, 30, 45 และ 60 ก./ล. และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำมีหน่วยทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตร MS ที่เติม sucrose 0 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร MS ที่เติม sucrose 15 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร MS ที่เติม sucrose 30 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม sucrose 45 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 5 อาหารสูตร ½MS ที่เติม sucrose 0 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 6 อาหารสูตร ½MS ที่เติม sucrose 15 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 7 อาหารสูตร ½MS ที่เติม sucrose 30 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 8 อาหารสูตร ½MS ที่เติม sucrose 45 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 9 อาหารสูตร ¼MS ที่เติม sucrose 0 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 10 อาหารสูตร ¼MS ที่เติม sucrose 15 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 11 อาหารสูตร ¼MS ที่เติม sucrose 30 ก./ล.
กรรมวิธีที่ 12 อาหารสูตร ¼MS ที่เติม sucrose 45 ก./ล.

บันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโตของลำต้น จำนวนยอด และจำนวนราก

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการทดลอง เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2561 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร จ.ปทุมธานี

ผลการทดลองและอภิปราย (Results and Discussion)

1. การรวบรวมตัวอย่างเชื้อพันธุ์ ได้ตัวอย่างต้นขิงพระพุทธบาทจากการรวบรวมที่บริเวณเขาหินปูน จังหวัดสระบุรี และตัวอย่างต้นตะไคร้พรานจากจังหวัดตาก (ภาพที่ 1)

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 1 การรวบรวมต้นขิงพระพุทธบาทและตะไคร้พราน

2. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นขิงพระพุทธบาทและตะไคร้พราน การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่ออ่อนของพืชวงศ์ขิงซึ่งเป็นชิ้นส่วนที่อยู่ใต้ดินจึงมีการปนเปื้อนค่อนข้างสูงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นจำเป็นต้องใช้ขั้นตอนที่ค่อนข้างซับซ้อนหรือมีหลายขั้นตอน การทดลองนี้จึงได้นำยอดใหม่ที่แตกออกจากหน่อ ล้างทำความสะอาดด้วยสบู่ จากนั้นนำมาล้างโดยให้น้ำไหลผ่านชิ้นส่วนพืชนาน 45 นาที แล้วจึงฟอกด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาทีและ 15 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) พบว่ายอดต้นขิงพระพุทธบาทมีอัตราการรอดชีวิตและเจริญเป็นต้นได้ 46.67% (ภาพที่ 2) และตะไคร้พราน 33.33% (ภาพที่ 3) สอดคล้องกันกับการทดลองของ Tan (2016) เพาะเลี้ยงพืชสกุล *Curcuma* ที่เป็น Threatened Medicinal Plant โดยฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน rhizome bud ด้วยสาร NaClO 1.2% นาน 15 นาทีและ 1% นาน 10 นาที พบอัตราการรอดชีวิตถึง 67% และการทดลองของ Yusuf et al (2011) ได้ทำการฟอกฆ่าเชื้อสิ้นส่วนตายอดของ *Boesenbergia rotunda* ที่เป็นพืชสมุนไพรโดยจุ่มในเอทานอล 70% นาน 2 นาทีและสารละลายคลอรอกซ์ 20% นาน 15 นาที พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตและเจริญเป็นต้นได้ 48 %

ภาพที่ 2 ชิ้นส่วนและต้นขิงพระพุทธบาทที่ปลอดจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 3 ชิ้นส่วนและต้นตะไคร้พรานที่ปลอดจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

3. การชักนำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ นำต้นขิงพระพุทธบาทและตะไคร้พรานที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อตัดยอดให้มีความยาวประมาณ 1.5 ซม. เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ชักนำให้เกิดยอดโดยใช้อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระดับต่างๆ จำนวน 12 สูตร คือ MS ที่เติม BA 0, 1, 3 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0, 0.5 และ 1 มก./ล. เลี้ยงในสภาพควบคุมโดยให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนต้นขิงพระพุทธบาทบนอาหารสูตรต่างๆ (ตารางที่ 1) (ภาพที่ 4) พบว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) มีการเจริญเติบโตและเกิดยอดเฉลี่ย 0.8 ยอด/ชิ้นส่วน ซึ่งการเติมสารควบคุมการเจริญมีผลต่อการเกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ โดยยอดอ่อนที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยได้สูงสุด 20.9 ยอด/ชิ้นส่วน แต่เมื่อเติม BA ความเข้มข้นสูงขึ้นที่ 5 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดได้เพียง 14.0 ยอด/ชิ้นส่วน หรือการเติม NAA ร่วมด้วยก็ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าการเติม BA 3 มก./ล. เพียงอย่างเดียว เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดเพื่อการขยายพันธุ์ต้นขิงพระพุทธบาท เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของไซโตไคนินขึ้นไปจากระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะส่งผลต่อการชะลอหรือยับยั้งการเกิดยอดใหม่ได้ (George et al., 2008) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kochuthressia et al. (2010) ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตา (rhizome bud) ของต้น *Aplinia purpurata* เพื่อชักนำให้เกิดยอดพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. จะสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากถึง 6.4 ยอด/ชิ้นส่วน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA มากขึ้นจะทำให้เกิดจำนวนยอดลดลงและยอดที่ได้เกิดอาการฉ่ำน้ำ ส่วนความสูงของต้นขิงพระพุทธบาทพบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. มีความสูงของยอดเฉลี่ย 3.38 ซม. ต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์ สีเขียว ลำต้นไม่ยืดยาว และไม่แตกต่างกับสูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) ซึ่งต้นที่เกิดจากอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. นี้นอกจากจะสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากแล้วยังไม่ส่งผลต่อการยืดยาวของยอดใหม่และการเจริญของรากก็ไม่แตกต่างกับสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตอีกด้วย ซึ่งทุกสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงทำให้ต้นเกิดรากขนาดยาว สีขาวและมีขนรากจำนวนมาก

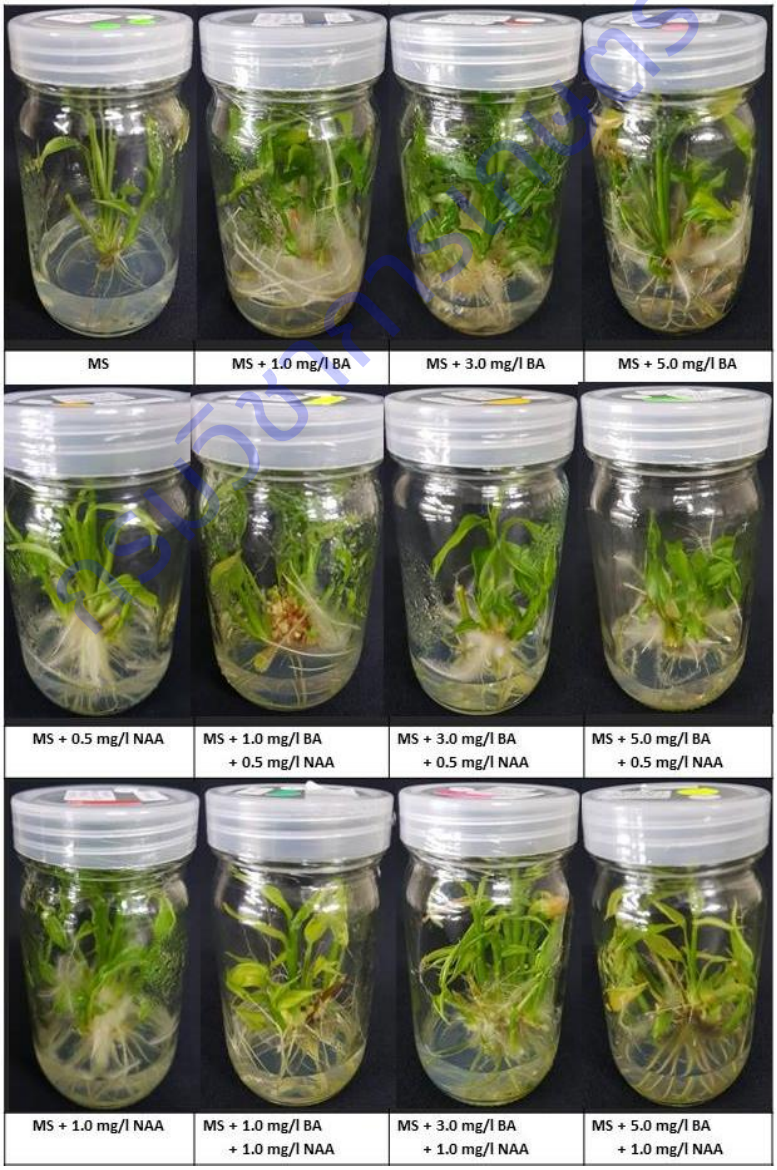
ตารางที่ 1 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมสาร NAA และ BA ต่อการเกิดยอดและความสูงของยอด เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของต้นขิงพระพุทธบาท (*Z. tenuiscapus*) นาน 3 เดือน โดยจำนวนยอดใช้ค่า Transformed to Log (X+1)

สูตรอาหาร	จำนวนยอด (ยอด)	ความสูงของยอด (ซม.)
MS	0.8 a	3.48 a-d
MS + 0.5 mg/l NAA	6.1 bc	3.39 a-d
MS + 1.0 mg/l NAA	7.6 bcd	4.56 cd
MS + 1.0 mg/l BA	7.8 bcd	5.03 d

กรมวิชาการเกษตร

MS + 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA	12.1 cde	2.36 ab
MS + 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA	5.8 bc	3.11 abc
MS + 3.0 mg/l BA	20.9 e	3.38 a-d
MS + 3.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA	5.4 b	3.48 a-d
MS + 3.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA	9.1 bcd	4.11 bcd
MS + 5.0 mg/l BA	14.0 de	4.08 bcd
MS + 5.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA	14.6 de	1.94 a
MS + 5.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA	13.6 de	2.36 ab
mean	9.8	3.44
CV (%)	23.34	30.90

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4 ลักษณะต้นขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA

ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 3 เดือน

การเพาะเลี้ยงยอดอ่อนต้นตะไคร้พรานบนอาหารสูตรต่างๆ (ตารางที่ 2) และ (ภาพที่ 5)พบว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) มีการเจริญเติบโตและเกิดยอดเฉลี่ย 1.4 ยอด/ชิ้นส่วน และมีความสูงเฉลี่ย 4.6 ซม. การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับการเติม NAA 0.5 หรือ 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากเฉลี่ย 4.5-9.0 ยอด/ชิ้นส่วน หากเพาะเลี้ยงยอดอ่อนตะไคร้พรานบนอาหาร MS ที่เติม BA หรือ NAA เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. หรือ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. จะชักนำให้เกิดยอดที่มีความสูงเฉลี่ย 6.82-7.42 ซม. แต่มีจำนวนยอดน้อยเฉลี่ย 2.5-3.3 ยอด/ชิ้นส่วน ต้นที่ได้มีลักษณะยืดยาว ใบค่อนข้างเหลือง สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุดคือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากเฉลี่ย 9.0 ยอด/ชิ้นส่วน และยอดที่ได้มีความสูงเฉลี่ย 5.71 ซม. ต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์ สีเขียว ต้นไม่ยืดยาว รากสีขาวมีการเจริญเติบโตดี และมีลักษณะไม่แตกต่างกับอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกันกับการทดลองของ Kambaska and Santilata (2009) ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาที่เหง้าของต้น *Zingiber officinale* Rosc. cv Suprava and Suruchi บนอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นาน 8 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 7.5 ยอด/ชิ้นส่วน ยอดสูงเฉลี่ย 6.2 ซม. เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. โดยการเกิดยอดนั้นจะมีมากขึ้นเมื่อ BA มีความเข้มข้นสูงขึ้นจนถึงที่ระดับสมดุลระหว่าง BA และ NAA หากยังเพิ่มความเข้มข้นของ BA และ NAA จะทำให้เกิดจำนวนยอดลดลง หรือต้นที่ได้ไม่สมบูรณ์มีอาการฉ่ำน้ำ เช่นเดียวกันกับการทดลองในพืชวงศ์ Zingiberaceae อื่นๆ ได้แก่ การศึกษาเพาะเลี้ยง *Curcuma longa* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA จะทำให้เกิดจำนวนยอดได้เฉลี่ยลดลง (Ferrari et al, 2016) และการทดลองของ Miachir et al. (2004) ที่ทำการเพาะเลี้ยง *Curcuma zedoaria* และ *Kaempferia angustifolia* (Haque and Ghosh, 2018)

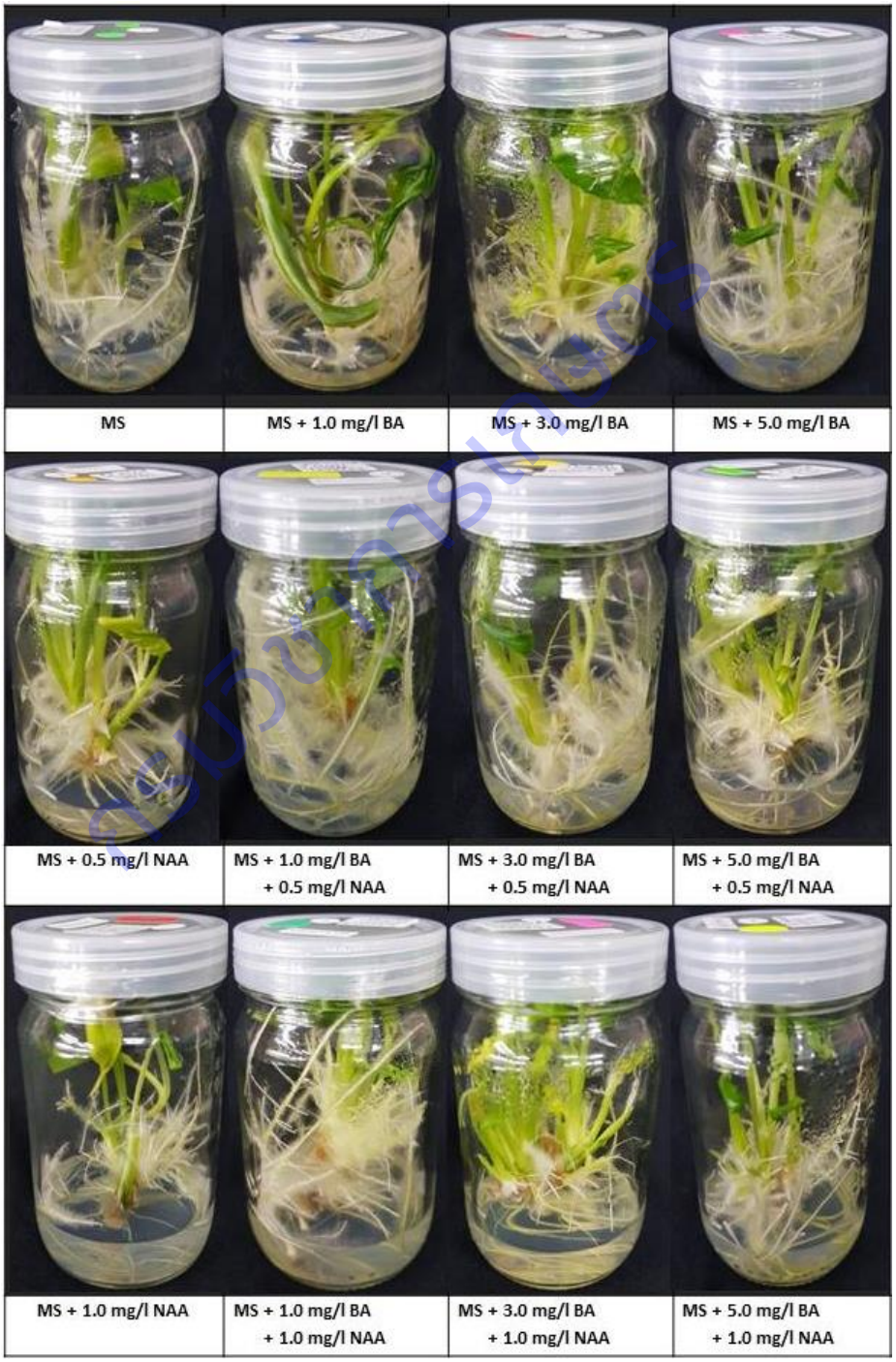
ตารางที่ 2 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมสาร NAA และ BA ต่อการเกิดยอดและความสูงของยอด เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของต้นตะไคร้พราน (*Z. citriodorum*) นาน 3 เดือน โดยจำนวนยอดใช้ค่า Transformed to Log (X+1)

สูตรอาหาร	จำนวนยอด (ยอด)	ความสูงของยอด (ซม.)
MS	1.4 a	4.60 a
MS + 0.5 mg/l NAA	2.5 a-d	6.82 bcd
MS + 1.0 mg/l NAA	2.9 b-e	7.02 cd
MS + 1.0 mg/l BA	3.3 b-e	7.42 d
MS + 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA	2.0 ab	5.43 abc
MS + 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA	3.6 cde	6.10 a-d
MS + 3.0 mg/l BA	4.5 ef	6.80 bcd
MS + 3.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA	6.3 fg	5.21 ab
MS + 3.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA	9.0 g	5.71 a-d
MS + 5.0 mg/l BA	2.2 abc	6.34 a-d

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

MS + 5.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA	3.9 def	4.95 a
MS + 5.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA	4.0 def	6.22 a-d
mean	3.8	6.05
CV (%)	22.42	22.10

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 5 ลักษณะต้นตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA

ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 3 เดือน

4. การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อนำยอดอ่อนต้นขิงพระพุทธบาท และตะไคร้พราน ตัดให้มีขนาด 1.5 ซม. แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เพื่อศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ โดยการปรับระดับความเข้มข้นของอาหารสูตร MS และปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่างๆ พบว่าการชะลอการเจริญเติบโตโดยการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนต้นขิงพระพุทธบาท (ตารางที่ 3) และ (ภาพที่ 6) โดยปรับความเข้มข้นของ MS ไม่มีผลต่อการเกิดยอด ส่วนการปรับปริมาณน้ำตาลซูโครสมีผลอย่างมีนัยสำคัญ และไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการปรับความเข้มข้นของ MS และปริมาณซูโครส ซึ่งอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครส 45 กรัม/ลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 เดือนจะทำให้เกิดยอดเฉลี่ย 7.8 ยอด/ชิ้นส่วน ยอดที่ได้มีลักษณะยืดและเหลืองพบยอดที่สมบูรณ์น้อย ส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติมซูโครส 60 กรัม/ลิตร พบว่าเกิดยอดน้อยกว่าอาหารที่เติมซูโครส 30 กรัม/ลิตร (Control) ต้นมีลักษณะไม่สมบูรณ์ สั้นเตี้ยและสีน้ำตาลเหลือง ส่วนอาหารที่ลดปริมาณซูโครสเพียง 15 กรัม/ลิตร พบว่ามีการแตกยอดได้น้อยกว่าที่เติมซูโครส 30 กรัม/ลิตร ที่เป็นสูตรมาตรฐาน (Control) และพบว่าสูตรที่เหมาะสมต่อการชะลอการเจริญเติบโตเพื่อการอนุรักษ์ต้นขิงพระพุทธบาท คืออาหารที่ปรับลดปริมาณน้ำตาลซูโครสเพียง 15 กรัม/ลิตร และปรับลดความเข้มข้นของ MS เป็น ½ MS และ ¼ MS จะทำให้ได้ต้นขิงพระพุทธบาทที่มีลักษณะแข็งแรงสีเขียวเข้มและความสูงของต้นไม่แตกต่างกับอาหาร MS สูตรมาตรฐานที่ใช้อาหาร MS full-strength ที่เติมซูโครส 30 กรัม/ลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารเพาะเลี้ยง เช่นเดียวกับการชะลอการเจริญเติบโตของต้นขิง (*Zingiber officinale*) โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ปรับความเข้มข้น MS ลงเหลือ ½ MS และเติมน้ำตาลซูโครสเพียง 15 กรัม/ลิตร สามารถชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้นาน 12 เดือน และมีเปอร์เซนต์การเกิดต้นใหม่ที่ต่ำกว่าการใช้อาหาร MS สูตรมาตรฐาน (Peter et al., 2002) สอดคล้องกันกับการเพาะเลี้ยงตายอดของ *Vanilla* spp. บนอาหาร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1.5% พบว่าสามารถชะลอการเจริญเติบโตได้นาน 12 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ (Divakaran et al., 2006)

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ตารางที่ 3 ผลของสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตโดยปรับลดความเข้มข้น MS ร่วมกับการปรับปริมาณซูโครส ต่อการเกิดยอด ความสูงของยอด และการเกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของต้น *Z. tenuiscapus* นาน 8 เดือน โดยจำนวนยอดใช้ค่า Transformed to Log (X+1)

MS	**จำนวนยอด (ยอด)**					**ความสูงของยอด (ซม.)**					**การเกิดราก**			
	Sucrose (ก./ล.)				mean	Sucrose (ก./ล.)				mean	Sucrose (ก./ล.)			
	15	30	45	60		15	30	45	60		15	30	45	60
MS	2.22	5.34	13.82	2.15	5.89	6.88 a x	7.94 a x	7.01 a x	1.05 a y	5.72	**	**	***	*
1/2MS	3.26	4.48	5.62	3.86	4.31	6.93 a x	6.58 a x	3.73 b y	1.30 a z	4.63	**	***	**	*
1/4MS	3.12	2.64	3.95	1.59	2.82	6.21 a x	2.36 b y	3.53 b y	1.91 a y	3.50	**	**	*	**
mean	2.87 b	4.15 ab	7.8 a	2.45 b	4.34	6.67	5.62	4.76	1.42	4.62				
F-test (MS)	ns					**								
F-test (SU)	*					**								
F-test (MS×SU)	ns					**								
CV (%)	32.78					31.00								

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

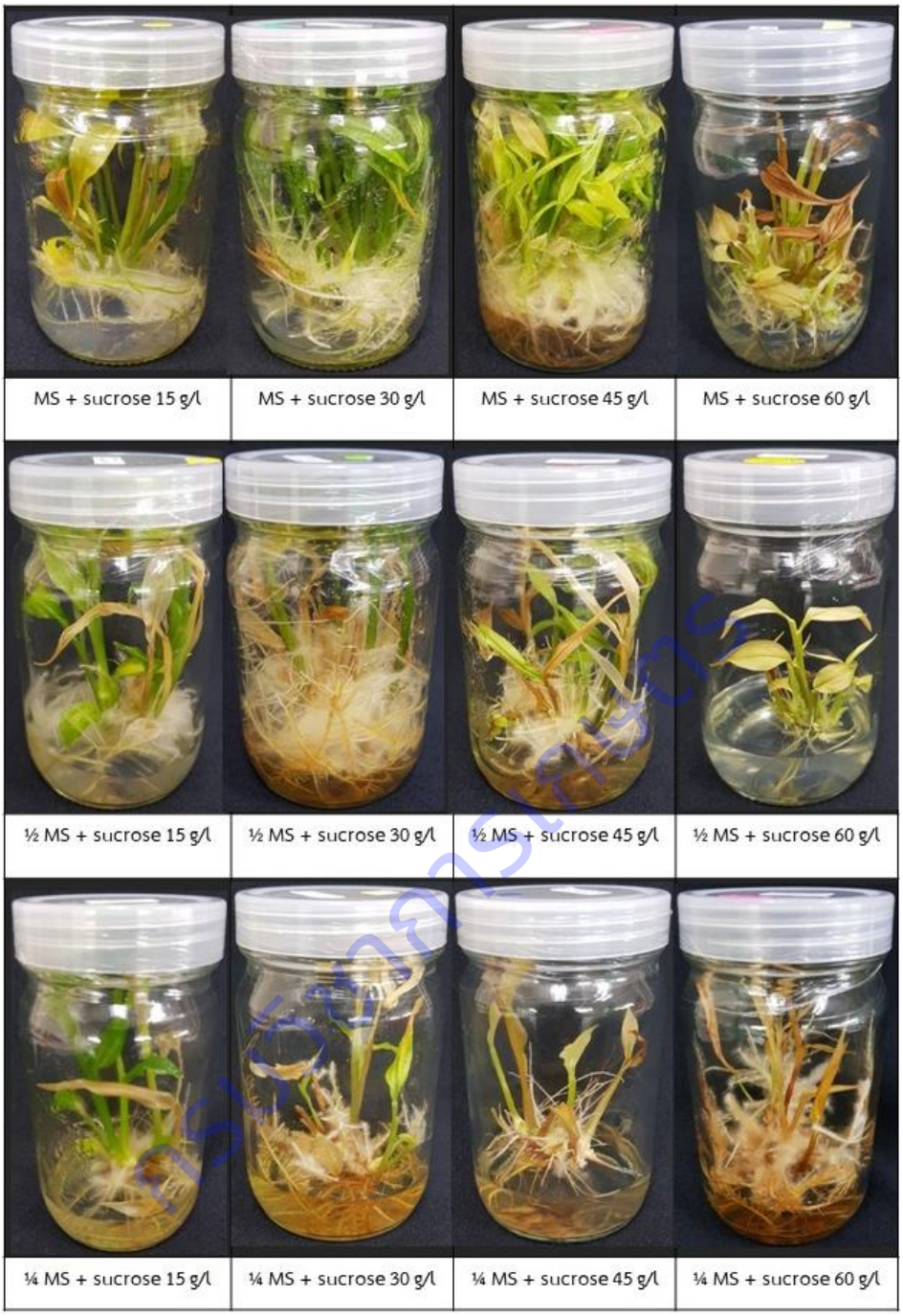
ns = ไม่ต่างกันทางสถิติ

* = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$

- ความแตกต่างระหว่างการปรับลดปริมาณ MS (MS) ใช้อักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างการปรับความเข้มข้นของปริมาณซูโครส (SU) ใช้อักษร x, y, z

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 6 ลักษณะต้นขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโตเป็นเวลา 8 เดือน

การชะลอการเจริญเติบโตของต้นตะไคร้พรานโดยการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนบนอาหารสูตรต่างๆ ที่ปรับลดความเข้มข้น MS ร่วมกับการปรับปริมาณของซูโครส (ตารางที่ 4) และ (ภาพที่ 7) พบว่าการปรับความเข้มข้น MS และซูโครสให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการปรับความเข้มข้น MS และปริมาณของ

ซูโครสด้วย โดยการปรับลดความเข้มข้นของ MS จะส่งผลต่อการเกิดยอดและความสูงของยอดลดลง และต้นที่ได้มีลักษณะไม่สมบูรณ์และต้นสีเหลือง ส่วนการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสทำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้นแต่ต้นที่ได้จะยืดน้อยลง โดยยอดอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมซูโครสความเข้มข้น 60 กรัม/ลิตร ทำให้เกิดยอดสูงสุดถึง 6.67 ยอด/ชิ้นส่วน แต่ต้นที่เกิดใหม่มีลักษณะไม่สมบูรณ์ต้นเตี้ยขนาดเล็กมีสีเหลือง ส่วนสูตรที่เหมาะสมสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ต้นตะไคร้พรานในสภาพปลอดเชื้อ คืออาหารสูตร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 กรัม/ลิตร ทำให้เกิดยอดใหม่ได้เล็กน้อย ต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์สีเขียว รากสีขาวและเจริญดี แต่มีขนาดต้นเล็กและเตี้ยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรมาตรฐานที่ใช้อาหาร MS full-strength ที่ใส่น้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 8 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Nirmal Babu et al. (1999) และ Geetha (2002) ได้ทำเพาะเลี้ยงต้นอ่อนขิงบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 กรัม/ลิตร หรือ น้ำตาลซูโครสและแมนนิทอลอย่างละ 10 กรัม/ลิตร สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้นาน 8-10 เดือน และการทดลองของ ธนากร และคณะ (2564) ได้เพาะเลี้ยงหน่ออ่อนกล้วยไข่ในสภาพปลอดเชื้อพบว่าสามารถชะลอการเจริญเติบโตได้นานถึง 24 สัปดาห์ เพื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร เนื่องจาการปรับลดความเข้มข้นของ MS (½ MS และ ¼ MS) เป็นการลดปริมาณธาตุอาหารหลักให้ต่ำกว่าปกติจึงทำให้พืชสามารถนำธาตุอาหารที่จำเป็นไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตได้น้อยลง (Martin and Pradeep, 2003) ส่วนการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสในการเพาะเลี้ยงส่งผลให้พืชเกิดความเครียด เนื่องจากแรงดันออสโมติก (Jo et al., 2009)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 4 ผลของสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตโดยปรับลดความเข้มข้น MS ร่วมกับการปรับปริมาณซูโครส ต่อการเกิดยอด ความสูงของยอด และการเกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของต้น *Z. citriodorum* นาน 8 เดือน โดยจำนวนยอดใช้ค่า Transformed to Log (X+1)

MS	จำนวนยอด (ยอด)					ความสูงของยอด (ซม.)					การเกิดราก			
	Sucrose (ก./ล.)				mean	Sucrose (ก./ล.)				mean	Sucrose (ก./ล.)			
	15	30	45	60		15	30	45	60		15	30	45	60
MS	1.00 a y	1.78 a y	2.08 a y	6.67 a x	2.88	14.75 a x	9.94 a y	9.50 ab y	5.75 a z	9.99	**	**	**	*
1/2MS	1.00 a x	1.45 a x	1.21 a x	2.13 b x	1.45	8.00 b x	10.50 a x	10.63 a x	7.33 a x	9.11	*	**	**	***
1/4MS	1.71 a x	1.21 a x	1.78 a x	2.31 b x	1.75	7.86 b x	8.63 a x	6.88 b x	5.77 a x	7.29	*	*	*	*
mean	1.24	1.48	1.69	3.70	2.03	10.21	9.69	9.00	6.29	8.80				
F-test (MS)	*					**								
F-test (SU)	**					**								
F-test (MS×SU)	*					*								
CV (%)	28.95					27.00								

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

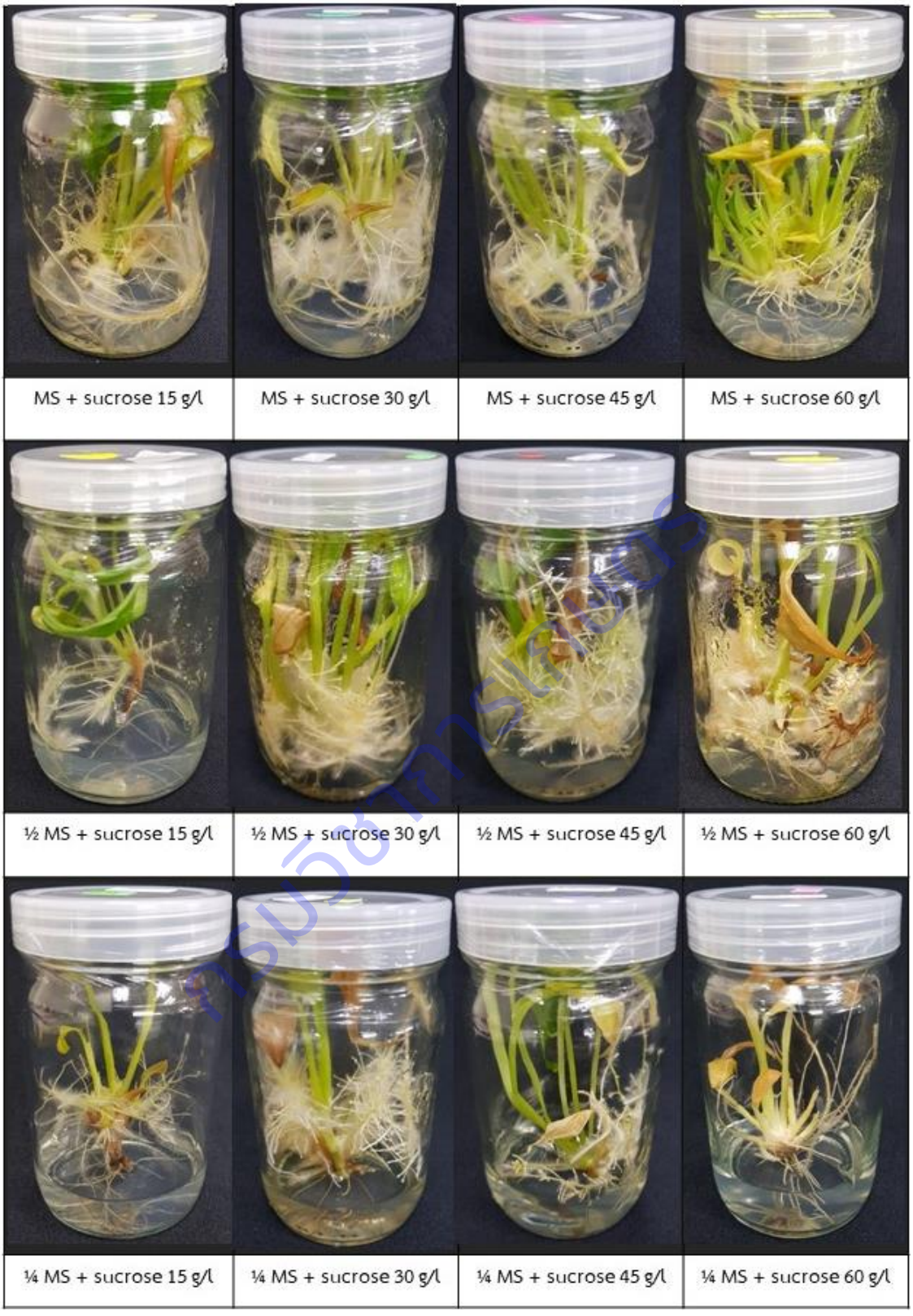
ns = ไม่ต่างกันทางสถิติ

* = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$

- ความแตกต่างระหว่างการปรับลดปริมาณ MS (MS) ใช้อักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างการปรับความเข้มข้นของปริมาณซูโครส (SU) ใช้อักษร x, y, z

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 7 ลักษณะต้นตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโตเป็นเวลา 8 เดือน

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. การชักนำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อต้นขิงพระพุทธบาท โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยได้สูงสุด 20.9 ยอด/ชิ้นส่วน

2. การชักนำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อต้นตะไคร้พราน โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 9.0 ยอด/ชิ้นส่วน

3. การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ขิงพระพุทธบาท โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½ และ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 กรัม/ลิตร สามารถเพาะเลี้ยงได้นานอย่างน้อย 8 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

4. การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ตะไคร้พราน โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 กรัม/ลิตร สามารถเพาะเลี้ยงได้นานอย่างน้อย 8 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

5. การนำต้นขิงพระพุทธบาทและตะไคร้พรานออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปลูกในสภาพโรงเรือน โดยใช้ พีชมอส: ดินผสม: เพอร์ไลท์: หินภูเขาไฟ อัตราส่วน 3: 2: 1: 1 มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 4

การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชสมุนไพร : ระย่อมน้อย (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz) ในสภาพปลอดเชื้อ

Conservation of Medicinal Plant : (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth.exKurz) on In Vitro

ชื่อผู้วิจัย
ภัทรียา สุทธิเชื้อนาค
Patreeya Sudhishurnark
อัญชลี แก้วดวง
Anchalee Kaewdoung
สุกัลยา ศิริฟองนุกูล
Sukunlaya Sirifongnokul
วรกิจ ห้องแซง
Worrakit Hongsaeng

กรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ (Key words)
ระย่อมน้อย, การขยายพันธุ์, สภาพปลอดเชื้อ, การชะลอการเจริญเติบโต
Rauvolfia, Micropropagation, Regeneration, Slow growth

บทคัดย่อ

ระย่อมน้อย (Rauvolfia serpentina (L.) Benth. ex Kurz) เป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรที่สำคัญที่ถูกจัดอยู่ในประเภทที่ใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากส่วนรากของระย่อมน้อยมีสารสำคัญคือ reserpine และ phenolic compounds ที่ช่วยในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น จึงมีการขุดต้นและรากเพื่อนำมาขายเป็นสมุนไพรพื้นบ้าน ในขณะที่การขยายพันธุ์ในธรรมชาติค่อนข้างต่ำ ประกอบกับมีการเจริญเติบโตได้ในสภาพนิเวศน์ที่ค่อนข้างจำกัด งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณ และการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตร MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l ยอดระย่อมน้อยจะเจริญเติบโตและแตกยอดดีที่สุด โดยชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 12.6 ยอด/ชิ้นส่วน จากนั้นศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตของระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้อาหารสูตร MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l เติมสารชะลอการเจริญเติบโตได้แก่ สารพาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol, PBZ) และน้ำตาลแมนนิทอล (mannitol) โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x 4

factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือ สาร PBZ 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ปัจจัย Bคือ สาร mannitol 4 ความเข้มข้น คือ 0, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร รวม 16 กรรมวิธี สำหรับการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของระย่อมน้อย พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงได้นานถึง 4 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ (Introduction)

ระย่อมน้อย (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) หรือ รากงูอินเดีย (Indian Snakeroot) หรือ "Sarpagandha" เป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในวงศ์ Apocynaceaeเป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรที่สำคัญที่ถูกจัดอยู่ในประเภทที่ใกล้สูญพันธุ์ทั่วโลกมีเขตการกระจายพันธุ์กว้างพบมาก ในประเทศอินเดีย มาเลเซีย ปากีสถาน บังกลาเทศ ศรีลังกา พม่า และไทย (Jadhav et al., 2001อ้างโดย Padmalatha and Prasad., 2007)ในประเทศไทยพบได้ทั่วทุกภาค โดยมักขึ้นตามที่โล่งในป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง ป่าดิบชื้น และป่าดิบแล้ง ที่ระดับความสูงจนถึงประมาณ 800 เมตร (วิทย์, 2542) มีสรรพคุณทางยาที่ใช้ในการบำบัดโรค โดยในรากระย่อมน้อยประกอบด้วยสารอัลคาลอยด์สำคัญที่ชื่อ รีเซอร์บีน(reserpine) เป็นสารออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์ในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด ลดระดับน้ำตาลในเลือด ความผิดปกติของระบบประสาท มีฤทธิ์สงบและกล่อมประสาท (Weiss and Fintlemann, 2000, Weerakoon et al., 1998) ลดไข้ ต้านการอักเสบ (Roaet al, 2012) ซึ่งปัจจุบันสามารถสังเคราะห์สาร reserpine ขึ้นมาใช้ในการรักษาโรคได้แต่ยังนิยมสกัดสาร reserpine จากรากระย่อมน้อยอยู่ รวมทั้งสกัดสารประกอบฟีโนลิค(phenolic compounds) จากรากระย่อมน้อยเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยาโดยสารรวมที่สกัดได้จากระย่อมน้อยนั้นเมื่อนำมาทดลองในคนและสัตว์ที่มีความดันโลหิตสูง พบว่า มีประสิทธิภาพทำให้ความดันและการเต้นของหัวใจลดลง จากการทดลองจึงเห็นว่าสารกลุ่มนี้มีความหมายต่อผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูงและหัวใจเต้นเร็วผิดปกติเป็นอย่างยิ่ง (วิทยา, 2554)

ระย่อมน้อยเป็นพืชที่ต้องการความชื้นและดินอุดมสมบูรณ์ชอบขึ้นบริเวณป่าเขา กระจายพันธุ์โดยใช้เมล็ดและราก เนื่องจากดอกระย่อมน้อยมีลักษณะสวยงาม ออกดอกเป็นช่อลักษณะคล้ายดอกเข็มสีขาว โคนกลีบดอกเป็นสีชมพูเข้มหรือแดง ด้วยความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ชาวบ้านจึงได้มีการขุดต้นมาขายในราคาถูกโดยนำมาปลูกเพื่อประดับบ้านไม่มีการขยายพันธุ์ และด้วยสรรพคุณทางยานี้จึงได้มีการขุดต้นและรากมาจำหน่ายเพื่อนำมาขายเป็นสมุนไพรพื้นบ้าน จากรายงานฉบับสมบูรณ์ของสวนป่าไทรโยค 2 ในการตรวจประเมินพื้นที่ที่มีคุณค่าด้านการอนุรักษ์สูง (High Conservation Value Area Assessments) ในปี 2557 พบว่า ระย่อมน้อยจัดเป็นพันธุ์ไม้และหายากถูกคุกคาม ใกล้สูญพันธุ์ (Threatened or protected species) ซึ่งเกิดจากการเก็บพืชสมุนไพรในพื้นที่มากเกินไปจนกระทบต่อระบบนิเวศของพืช การลักลอบเผาที่ดินและการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (ณรงค์ชัย และศุภกิจ, 2557) และด้วยนิเวศของพืชชนิดนี้เมื่อนำมาปลูกในที่พื้นที่ต่างถิ่น พบว่า ระย่อมน้อยมีการออกดอกแต่ไม่ติดเมล็ด ดังนั้น การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดโดยการเก็บเมล็ด จึงเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่งในการที่จะอนุรักษ์พันธุกรรมในสภาพนอกถิ่น (EX situ) เนื่องจากธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร มีภารกิจในด้านการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชเพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ จึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการอนุรักษ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชสมุนไพรระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเป็นประโยชน์ในด้านการอนุรักษ์ การแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์ระหว่างหน่วยงานและนำไปปรับใช้กับพืชชนิดอื่นในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชตามภารกิจของหน่วยงาน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดและข้อใบเลี้ยงของระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์พันธุกรรมระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้สารชะลอการเจริญเติบโต

ขอบเขตการศึกษา

ทำการศึกษาการอนุรักษ์ระย่อมน้อย (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ 1) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระย่อมน้อยโดยใช้ปลายยอดและข้อใบโดยศึกษาการเจริญเติบโตของปลายยอดและข้อใบเลี้ยงของระย่อมน้อยเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ 2) การอนุรักษ์พันธุกรรมระย่อมน้อยโดยใช้เทคนิคการลดการเจริญเติบโตให้ช้าลง (slow growth techniques) โดยการ ใช้สารชะลอการเจริญเติบโต

การทบทวนวรรณกรรม (งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ให้นำไปรวมในบทนำ)

ระย่อมน้อยชื่อสามัญ Rauvolfia (รอโวลเฟีย), Serpent wood, Indian Snake Root ชื่อวิทยาศาสตร์ *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz จัดอยู่ในวงศ์ตีนเป็ด (APOCYNACEAE) มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า ละย่อม (สุราษฎร์ธานี), ปลายข้าวสาร (กระบี่), เข็มแดง, ย่อมตีนหมา (ภาคเหนือ), กะย่อม ระย่อมน้อย (ภาคใต้), กอเหม่ (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน), คลาน ตูมคลาน มะโอ่งที สะมออู (กะเหรี่ยงกาญจนบุรี), เสอเกินมุ,อิ้นตู้หลัวฟูมุ (จีนกลาง) เป็นต้นลักษณะของระย่อมน้อยจัดเป็นไม้พุ่มเตี้ยขนาดเล็ก ผลัดใบในช่วงฤดูแล้ง แล้วจะผลิใบใหม่ในช่วงฤดูฝน ลำต้นมีความสูงประมาณ 30-70 เซนติเมตร ลำต้นมักคดงอ เปลือกลำต้นเป็นสีขาวหรือสีน้ำตาลอมเทา มียางสีขาว รากใต้ดินแตกสาขามาก มีรอยแผลใบอยู่ตามลำต้น ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดและการตอน เจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนซุยและผสมกับอินทรียวัตถุ ต้องการความชุ่มชื้นของดิน มีเขตการกระจายพันธุ์กว้าง พบได้ตั้งแต่ศรีลังกา อินเดีย เนปาล ภูฏาน ภูมิภาคอินโดจีน พม่า จีน และมาเลเซีย ส่วนในประเทศไทยพบได้ทั่วทุก

กรมวิชาการเกษตร

ภาค โดยมักขึ้นตามที่โล่งในป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง ป่าดิบชื้น และป่าดิบแล้ง ที่ระดับความสูงจนถึงประมาณ 800 เมตร (วิทย์, 2542, วิทยา, 2554 ,นิจศิริ และธวัชชัย, 2547 และ Padmalatha and Prasad., 2007)

สารสำคัญที่พบ ได้แก่ สารในกลุ่ม indole alkaloids ชนิดที่สำคัญ คือ reserpine, ajmaline, ajmalinimine, raurolfia alkaloid G, rescinnamidine, sarpagine, serpentine, serpentinine, sitosterol, stigmasterol, vinorine, yohimbineเป็นต้นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่พบ ได้แก่ ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดความดันโลหิต ที่รากมีสารอัลคาลอยด์ reserpine ซึ่งมีฤทธิ์ลดความดันโลหิตและกล่อมประสาทสงบระงับประสาท กดระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้นอนหลับ แก้อาการคลื่นไส้อาเจียน กระตุ้นกล้ามเนื้อมดลูกและลำไส้เล็กบีบตัว ยับยั้งการบีบตัวของลำไส้เล็ก (วิทยา, 2554, จุไรรัตน์, 2552, Weiss and Fintlemann, 2000, Weerakoon et al., 1998)ปิดกั้น adrenergic receptor , dopamine receptor และ GABA receptor ต้านการเต้นไม่เป็นจังหวะของหัวใจ มีฤทธิ์ต่อหัวใจ ทำให้หลอดเลือดคลายตัว เป็นพิษต่อเซลล์ ต้าน adrenaline, acetylcholine, histamine, ต้านไวรัส, เชื้อรา, ยับยั้งพยาธิไส้เดือน แก้คลื่นไส้อาเจียน ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืช มีผลต่อต่อมไทรอยด์และต่อมใต้สมอง มีผลต่อการทำงานของไต กระตุ้นกล้ามเนื้อลาย ทำให้เกิดการชักง่ายขึ้น เพิ่มน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร มีฤทธิ์เหมือน estrogen เพิ่มคอเลสเตอรอลและบิลิรูบินในเลือด เร่งการสลายโปรตีนในการสลายตัวเองของเซลล์และเนื้อเยื่อ

Mishra (2008) อ้างโดย Pant and Joshi (2008) รายงานว่า วิธีการขยายพันธุ์ของระย่อมน้อยมีข้อมูลค่อนข้างน้อย การแพร่พันธุ์ระย่อมน้อยตามธรรมชาติด้วยเมล็ดส่วนใหญ่มักไม่งอก พืชชนิดนี้จึงถูกจัดในรายชื่อพืชที่ใกล้สูญพันธุ์ของประเทศเนปาล โดยกรมป่าไม้และการอนุรักษ์ดินได้ระบุให้มีการอนุรักษ์และศึกษาวิธีการขยายพันธุ์รวมทั้งการเพาะปลูกระย่อมน้อย โดยข้อมูลในปี 1955 พบว่า ระย่อมน้อยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพียง 8 - 48 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 19 เปอร์เซ็นต์ การปลูกโดยวิธีหว่านเมล็ดต้องใช้เมล็ดจำนวนมากเนื่องจากอัตราการงอกของเมล็ดไม่ดีและแตกต่างกันมากตั้งแต่ 5 – 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยข้อจำกัดของขนาดเมล็ดที่มีขนาดเล็กและเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างต่ำนี้เอง วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อน่าจะเป็นการขยายพันธุ์ที่ดีกว่า และจากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระย่อมน้อยของ Pant and Joshi (2008) พบว่า อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงข้อและแคลลัส ได้แก่ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 ppm ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0.5 ppm และสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น2.0 ppm ตามลำดับ

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระย่อม (*Rauvolfiasumatrana* Jack)โดย อภิชาต และคณะ (2551) ได้ศึกษา ผลของ BAP ร่วมกับNAA ทีมีต่อการเพิ่มปริมาณยอดของพืชสมุนไพรในสภาพปลอดเชื้อ ได้พบว่า ระย่อมเมื่อนำปลายยอดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว และในอาหาร MS ที่มี BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนมากที่สุด คือ 8.67 และ 8.33 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ

การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อมาใช้ในงานด้านการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชเป็นวิธีที่นิยมเนื่องจากสามารถเก็บรักษาเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ได้เกือบทุกส่วนของพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนปลายยอด (shoot tip) และเนื้อเยื่อเจริญ (meristems) ซึ่งเป็นส่วนที่มีพื้นฐานทางพันธุกรรมตรงตามสายพันธ์สูง การลดการเจริญเติบโตให้ช้าลง (slow growth) โดยการใช้สารชะลอการเจริญเติบโตทำให้เนื้อเยื่อพืชมีการเจริญเติบโตที่ช้าลงโดยการจำกัดหรือจัดการปัจจัยที่เกี่ยวโยงเมทาบอลิซึม(Gordon and Rees, 1799; Rees, 1990อ้างโดย วรรณดา และคณะ, 2557) สามารถเก็บรักษาในระยะเวลา 1-2 ปีซึ่งช่วยลดงานการ subculture และยังใช้ต้นทุนที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นในการเก็บรักษาพันธุกรรมสารพาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพในการลดการเจริญเติบโต โดยมีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์สาร gibberellin เป็นผลให้เกิดการลดอัตราการเติบโตด้านความสูงของพืช ทำให้พืชมีลักษณะปล้องสั้นลำต้นเตี้ยและมีทรงพุ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กะทัดรัด (Phinney et al., 1991) ส่วน mannitolเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่มีคุณสมบัติรักษาสภาพสมดุลภายในและภายนอกเซลล์ (osmoticum) ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการออสโมซิส (osmosis) หรือกลไกการลำเลียงสารต่างๆ เข้าสู่เซลล์เป็นสารอีกชนิดที่นิยมใช้ในการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเพื่อวัตถุประสงค์ในการเก็บรักษาพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยจากงานทดลองของ กษิดิศ และคณะ(2548) พบว่า การเก็บรักษาต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลช้างในระยะปานกลางโดยการชะลอการเจริญเติบโต พบว่า การเติม mannitol ที่ระดับ 2 – 4 % (w/v) อัตราการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ช้างกระ เขาแกะ และ ไอยเรศ คิดเป็นเท่าของน้ำหนักเริ่มต้นยังคงเพิ่มขึ้นจากระยะการเลี้ยง 3 – 12 เดือน แต่ที่ ความเข้มข้น 6, 8 และ 10 % (w/v) ตั้งแต่เดือนที่ 6 อัตราการเจริญเติบโตจะลดลงเรื่อยๆ

อนุพันธุ์ และคณะ (2011) พบว่า อาหารที่เติม paclobutrazol ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดใหม่ของใบหยาดน้ำค้างในสภาพปลอดเชื้อได้มากที่สุด เฉลี่ย 82 ยอดต่อใบ และจากการศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา ของ อรุณี และสมปอง (2559) พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาในอาหารสูตรสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วยสารพาโคลบิวทราโซล 5 ความเข้มข้น คือ 0, 10, 20, 30 ,40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในทุกความเข้มข้นชักนำยอดรวมได้ แต่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดรวมและจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติ และในงานทดลองของ วรรณดา และคณะ (2557) พบว่า การเติมpaclobutrazol ที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้จำนวนหัวย่อยของหอมน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีจำนวนหัวย่อยเฉลี่ย 2.5±0.12, 1.4±0.14, 1.3±0.13 และ 1.2±0.15 หัว ตามลำดับ โดยชิ้นเนื้อเยื่อส่วนหัวมีลักษณะผิดปกติ หัวย่อยแคระแกร็น และแผ่นใบมีความหนา

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

1. การรวบรวมเชื้อพันธุ์พืชจากแหล่งธรรมชาติ

สำรวจและรวบรวมพันธุ์ระย่อมน้อยทางภาคเหนือ พบต้นระย่อมน้อย 3 จุด คือ 1. บ้านท่าดื่อ หมู่ 7 ต.หัวเมือง อ.เมืองปาน จ.ลำปาง 2. บ้านขาม หมู่1 ต.หัวเมือง อ.เมืองปาน จ.ลำปาง 3. บ้านป่าไร่ หมู่ 2 ต.ขะเนจือ อ.แม่ระมาด จ.ตาก

2. ปลูกอนุบาลต้นระย่อมน้อย ในสภาพโรงเรือน

ปลูกอนุบาลต้นระย่อมน้อย ในโรงเรือนปลูกพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) โดยปลูกเลี้ยงในกระถางมีรูระบาย ใช้ดินร่วนปนทรายที่มีความชื้นสูงและมีการระบายน้ำดี ในสภาพแดดรำไร เพื่อให้ได้ต้นที่แข็งแรง แตกยอดใหม่เพื่อให้เพียงพอต่อการศึกษาวิธีการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

3. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตายอดแลละข้อใบ ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 และ15นาที นำชิ้นส่วนที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ประมาณ 3-4 เดือน บันทึกจำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ และคำนวณเปอร์เซ็นต์อัตราความมีชีวิตรอด

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อ

โดยนำต้นระย่อมน้อยที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อมาทดสอบเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l และ MS + IAA 0.5ml/l +BA 4ml/l

บันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด และจำนวนรากที่สมบูรณ์

5. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นระย่อมน้อย ที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l นาน 4 สัปดาห์ ตัดให้มีขนาด 1 ซม. มีใบ 2-5 ใบ ลงเลี้ยงในอาหาร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3mlที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตได้แก่

กรมวิชาการเกษตร

สารพาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol, PBZ) และน้ำตาลแมนนิทอล(mannitol) โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x 4 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือ สาร PBZ 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ปัจจัย Bคือ สาร mannitol 4 ความเข้มข้น คือ 0, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร รวม 16 กรรมวิธี (16 สูตร) คือ

1. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 0 g/l
2. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 10 g/l
3. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 20 g/l
4. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 30 g/l
5. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 0 g/l
6. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 10 g/l
7. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 20 g/l
8. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 30 g/l
9. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 0 g/l
10. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 10 g/l
11. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 20 g/l
12. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 30 g/l
13. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15 mg/l + mannitol 0 g/l
14. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15mg/l + mannitol 10 g/l
15. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15 mg/l + mannitol 20 g/l
16. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15 mg/l + mannitol 30 g/l

ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

1. ทำการสำรวจและรวบรวมพันธุ์ระย่อมน้อยทางภาคเหนือ พบต้นระย่อมน้อย 3 จุด คือ
    1. บ้านท่าดื่อ หมู่7 ต.หัวเมือง อ.เมืองปาน จ.ลำปาง
    2. บ้านขาม หมู่1 ต.หัวเมือง อ.เมืองปาน จ.ลำปาง
    3. บ้านป่าไร่ หมู่2 ต.ขะเนจือ อ.แม่ระมาด จ.ตาก

บริเวณที่พบต้นระย่อมน้อย จะเป็นบริเวณที่มีความชื้นค่อนข้างสูง มีอินทรียวัตถุที่เกิดจากใบไม้ผุค่อนข้างมาก ดินเป็นดินทราย มีแสงรำไร ต้นไม้ใหญ่ไม่หนาทึบ โดยต้นระย่อมน้อยจะขึ้นอยู่เป็นกลุ่มๆ เนื่องจากระย่อมน้อยนอกจากจะขยายพันธุ์โดยเมล็ดแล้ว ยังสามารถขยายพันธุ์โดยแตกต้นใหม่จากแขนงรากได้อีกด้วย ดังนั้นในการเก็บตัวอย่าง จึงเลือกเก็บต้นที่แตกจากแขนงราก และเหลือต้นหลักไว้ในพื้นที่เพื่อให้ไม่สูญพันธุ์และสามารถขยายพันธุ์ได้ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

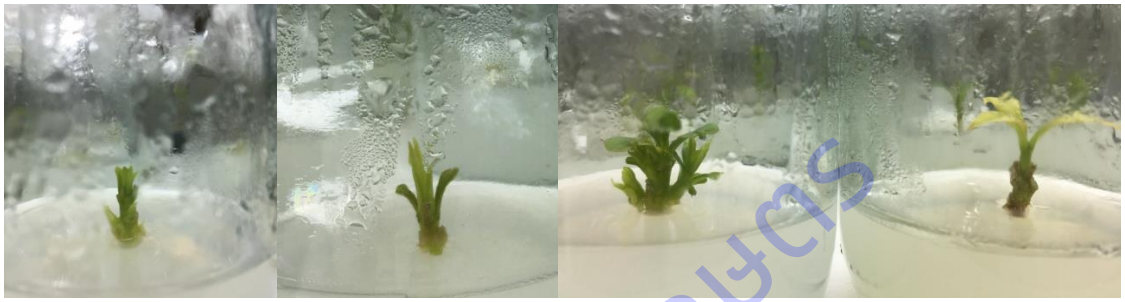
ภาพที่ 2.4.1 การรวบรวมพันธุ์ระย่อมน้อยจากแหล่งต่างๆ

2. นำต้นระย่อมน้อยที่เก็บได้มาปลูกในกระถางในเรือนเพาะชำ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน)

ภาพที่ 2.4.2 ต้นระย่อมน้อยที่เก็บได้มาปลูกในกระถางในเรือนเพาะชำ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน)

3. การฟอกฆ่าเชื้อระย่อมน้อย ในไตรมาสที่ 2 ประมาณปลายเดือนมกราคม ระย่อมน้อยเริ่มมีการแตกยอดใหม่ จึงเลือกตัดยอดระย่อมที่เพิ่งแตกใหม่ยาวประมาณ 1 ซม.ซึ่งยังไม่มีท่อน้ำยาง มาฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ 10นาที พบว่า ไม่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียและเชื้อราเลย ย้ายลงเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม

ภาพที่ 2.4.3 ยอดระย่อมน้อยที่แตกใหม่ที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อ



ภาพที่ 2.4.4 การฟอกฆ่าเชื้อระย่อมน้อย

เมื่อต้นระย่อมใบสีเขียวเจริญเติบโตได้พอประมาณ ทำการตัดเป็นท่อนๆเพื่อลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l และ MS + IAA 0.5ml/l +BA 4ml/l พบว่าต้นที่เลี้ยงในสูตร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l มีการแตกยอดมากกว่า โดยชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยถึง 12.6 ยอด/ชิ้นส่วน

ภาพ a	ภาพ b

ภาพที่ 2.4.5 ภาพ **a** ต้นระย่อมน้อยที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/
ภาพ **b** ต้นระย่อมน้อยที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 0.5ml/l +BA 4ml/l

4. subcultureต้นระย่อมน้อย โดยตัดส่วนข้อเลี้ยง MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l เพื่อให้ได้ต้นระย่อมน้อยที่มีขนาดใกล้เคียงกัน พบว่ามีความแตกต่างกันเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีใบสีเขียว กับ กลุ่มที่มีใบสีเขียวอมเหลือง ซึ่งจากการทดลองเลี้ยงต้นที่มีใบสีเขียว และต้นที่มีใบสีเขียวอมเหลือง MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l

กรมวิชาการเกษตร

โดยไม่subcultureเป็นเวลา 4เดือน พบว่าต้นที่มีใบสีเขียวจะแตกกอมากกว่าและไม่เกิดราก ส่วนต้นที่มีใบสีเขียวอมเหลืองแตกกอน้อยแต่จะเกิดราก

ดังนั้นการเลือกต้นระย่อมน้อย เพื่อทำการทดลองชะลอการเจริญเติบโต ควรใช้ต้นที่มีคุณสมบัติเหมือนกัน มีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันมากที่สุด ซึ่งกลุ่มที่มีใบสีเขียวน่าจะเหมาะสมสำหรับใช้ในการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตมากกว่า

ภาพที่ 2.4.6 ต้นระย่อมน้อยที่subcultureโดยตัดส่วนข้อ เลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l

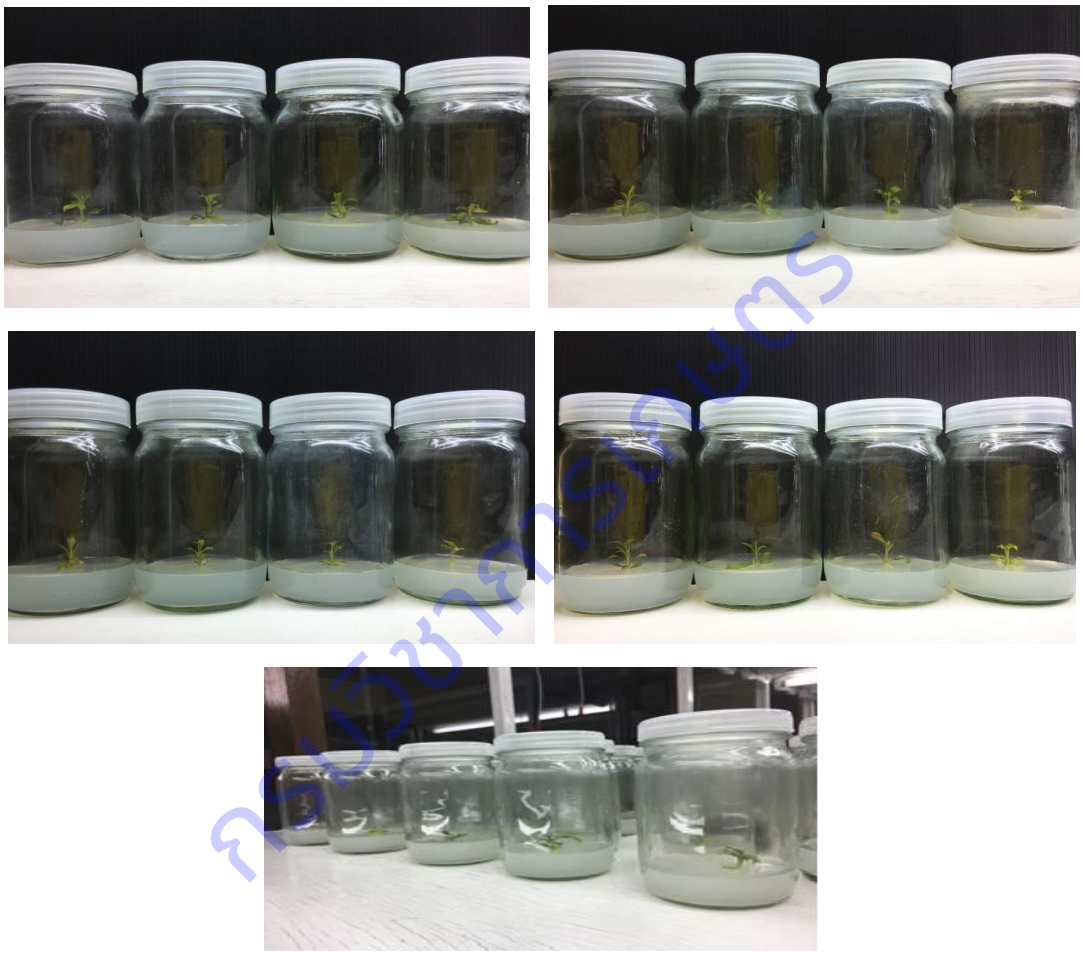
a b

ภาพที่ 2.4.7 ต้นระย่อมน้อยที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 0.1ml/l +BA 3ml/l หลังsubculture 40วัน พบมีต้นที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม คือ a ต้นที่มีใบสีเขียว b ต้นที่มีใบสีเขียวอมเหลือง

5. ศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตของระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อ ตัดยอดระย่อมน้อย (กลุ่มใบสีเขียว) ความยาวประมาณ 1 ซม. มีใบ 2-5 ใบ ลงเลี้ยงในอาหาร 16 สูตร คือ

1. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 0 g/l
2. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 10 g/l
3. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 20 g/l
4. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 0 mg/l + mannitol 30 g/l
5. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 0 g/l
6. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 10 g/l
7. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 20 g/l
8. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 5 mg/l + mannitol 30 g/l

9. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 0 g/l
10. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 10 g/l
11. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 20 g/l
12. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 10 mg/l + mannitol 30 g/l
13. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15 mg/l + mannitol 0 g/l
14. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15mg/l + mannitol 10 g/l
15. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15 mg/l + mannitol 20 g/l
16. MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l + PBZ 15 mg/l + mannitol 30 g/l



ภาพที่ 2.4.8 การศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตของระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อ ลงเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตร

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l ยอดระย่อมน้อยจะเจริญเติบโตและแตกยอดดีที่สุดโดยชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 12.6 ยอด/ชิ้นส่วน จากนั้นศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตของระย่อมน้อยในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้อาหารสูตร MS + IAA 0.1 ml/l + BA 3 ml/l เติมสารชะลอการเจริญเติบโตได้แก่ สารพาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol, PBZ) และน้ำตาลแมนนิทอล (mannitol) โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x 4 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือ สาร PBZ 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ปัจจัย Bคือ สาร mannitol 4 ความเข้มข้น คือ 0, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร รวม 16 กรรมวิธี สำหรับการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของระย่อมน้อย พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงได้นานถึง 4 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

กิจกรรมที่ 1 เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดเชื้อพันธุกรรมพืช (ดาวอินคา, บวมหอม, งา และผักโขม)

ดาวอินคา สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ดาวอินคาให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานควรลดความชื้นของเมล็ดให้เหลือ 6 % หรือต่ำกว่าก่อนการเก็บรักษาและเก็บไว้ในห้องอุณหภูมิ 5 °C มีความงอกมากกว่า 50 % สามารถอยู่ได้นานถึง 28 เดือน และสำหรับห้อง -10 °C โดยลดความชื้นเมล็ดให้เหลือ 6 และ 4 % มีความงอกเท่ากับ 63 และ 69 % นานถึง 28 เดือน เพื่อรักษาคุณภาพของเมล็ดเชื้อพันธุ์ก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

บวบหอม เมื่อลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่า ให้มีระดับความชื้นที่ 8, 6 และ 4 % พบว่าระดับความชื้นของเมล็ดที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมทั้ง 3 ตัวอย่าง ในสภาพเยือกแข็ง ได้แก่ ระดับความชื้นในช่วง 6-8 % เมื่อนำบวบหอมทั้ง 3 ชนิด ไปปลูกทดสอบในสภาพแปลงปลูก พบว่า บวบหอมยาวและบวบหอมสั้นมีการเจริญเติบโตได้ดีทุกระยะ ขณะที่บวบหอมป่าเจริญเติบโตดีในระดับกล้าเท่านั้น

งา พบว่างาทุกพันธุ์ ได้แก่ งาขาวพันธุ์ร้อยเอ็ด งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 และงาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 งาดำพันธุ์อุบลราชธานี 3 งาแดงอุบลราชธานี 1 และงาแดงอุบลราชธานี 2 พบงาทุกพันธุ์ดังกล่าวไม่มีการ

เปลี่ยนแปลงความมีชีวิต ความแข็งแรง และปริมาณน้ำมันงา โดยสามารถเก็บรักษาเมล็ดในสภาพเยือกแข็งได้แต่ควรลดความชื้นอยู่ที่ 6 %หรือต่ำกว่า เพื่อให้เมล็ดคงมีความมีชีวิตได้นานสูงสุด

ผักโขม ผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิห้อง เมล็ดพันธุ์ผักโขมมีความชื้นเริ่มต้น 10 % สามารถเก็บได้ถึง 18 เดือน ยังคงมีความงอก 82 % และหากลดความชื้นเมล็ดให้เหลือ 8, 6 และ 4 % สามารถเก็บได้นานถึง 18 เดือน มีความงอก 83, 86 และ 87 % ตามลำดับ หากเก็บในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5°C) พบว่าเมล็ดพันธุ์คงมีความงอก 88 % ทุกระดับความชื้นและห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) และความชื้นในมล็ด 10, 8, 6 และ 4 % สามารถเก็บได้นานถึง 18 เดือน มีความงอก 88, 89, 90 และ 90 % ตามลำดับ ฉะนั้นการเก็บรักษาเมล็ดผักโขมควรศึกษาระยะเวลาการเก็บให้นานกว่านี้เพราะความชื้นในเมล็ดผักโขมเริ่มต้น 10 % ที่อุณหภูมิห้อง ยังมีความงอกสูงถึงร้อยละ 82 % ในการเก็บรักษาระยะเวลา 18 เดือน

2. เทคนิคการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดราก และเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของมันสาคู มันขี้หนู ขิงพระพุทธบาท ตะไคร้พราน และระย่อมน้อย ดังต่อไปนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากรเกษตร

พืช	ชิ้นส่วน	วิธีฟอกฆ่าเชื้อ	วิธีการชักนำให้เกิดต้น	วิธีการชักนำให้เกิดยอดและราก	การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ
มันสาคู	ตาที่เหง้า (Rhizome bud)	ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ จำนวน 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และ คลอรอกซ์ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที พบหน่อต้นสาคูที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อและเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS คิดเป็น 16.7 เปอร์เซ็นต์	-	- ชักนำการเกิดยอดโดยการเลี้ยงมันสาคูบนอาหาร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 6.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 5.5 ยอด - ชักนำการเกิดรากพบว่ามันสาคูเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนช่วยชักนำการเกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 4.6 ราก และพบการแตกรากฝอยได้ดีกว่ามันสาคูเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน	เลี้ยงมันสาคูบนอาหาร ½MS สามารถเลี้ยงได้นาน 5 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหาร
มันขี้หนู	ยอดและข้อ	การฟอกด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง หลังจากนั้นฟอกด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อวางบนอาหารสูตรสังเคราะห์ หลังจากนั้น 7 วัน	การชักนำให้เกิดยอดมันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อได้ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + IAA 1 มก./ล. + BA 3 มก./ล.	การชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IBA 2 มก./ล. (MSr)	การชะลอการเจริญเติบโตมันขี้หนูบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ¼ MS + mannitol 10 ก./ล. ได้เป็นระยะเวลา 6 เดือน และเมื่อนำชิ้นส่วนสีเขียวกลับมาทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 1 mg/l + BA 3

		ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน ด้วย คลอรอกซ์ 5% นาน 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง มีการรอดชีวิต 38 %			mg/l. ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ สามารถเจริญเติบโตได้
ขิงพระพุทธบาท	Rhizome bud	ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20% นาน15 นาที และ 15% นาน 10 นาที	-	MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 3 mg/l ชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 20.9 ยอด/ชิ้นส่วน	½ MS หรือ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. สามารถชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้นานมากกว่า 8 เดือน
ตะไคร้พราน	Rhizome bud	ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20% นาน15 นาที และ 15% นาน 10 นาที	-	MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 3 mg/l ร่วมกับ NAA ความเข้มเข้น 1 mg/l ชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 9 ยอด/ชิ้นส่วน	½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. สามารถชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้นานมากกว่า 8 เดือน
ระย่อมน้อย	ยอดที่แตกใหม่	คลอรอกซ์ เข้มข้น 15 % 10 นาที	-	MS+IAA 0.1 ml/L + BA 3 ml/L โดยชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 12.6 ยอด/ชิ้นส่วน	

อาจศึกษาเพิ่มเติมองค์ความรู้ในเรื่องของสารสำคัญที่มีอยู่ในเชื้อพันธุ์ เพื่อต่อยอดและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจทั้งทางด้านโภชนเภสัช ความเป็นประโยชน์ต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ความหลากหลายทางชีวภาพต่อไป

3. สำหรับผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output) เชิงปริมาณ/เชิงคุณภาพ ในส่วนองค์ความรู้มีเป้าหมายจำนวนนำส่ง/หน่วยนับ จำนวน 8 เรื่อง จำนวนผลผลิตที่ได้จริง 16 เรื่อง ดังนี้ 1. เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคา (*Plukenetia volubilis* L.) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 2. ข้อมูลการเก็บรักษาเมล็ดดาวอินคา (*Plukenetia volubilis* L.) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 3. เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ เมล็ดพันธุ์บวบหอมยาว บวบหอมสั้น และบวบหอมป่าในสภาพเยือกแข็ง 4. ข้อมูลการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บวบหอมในสภาพเยือกแข็ง 5. เทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์งาในสภาพเยือกแข็ง 6. ข้อมูลความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำมันของเมล็ดพันธุ์งาภายหลังการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง 7. เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดผักโขม (*Amaranthus spp.*) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 8. ข้อมูลการเก็บรักษาเมล็ดผักโขม (*Amaranthus spp.*) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 9. การขยายพันธุ์มันสาคู (*Maranta arundinacea* L.) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ 10. ข้อมูลการขยายพันธุ์มันสาคู (*Maranta arundinacea* L.) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ 11. เทคนิคการขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ 12. ข้อมูลการขยายพันธุ์มันขี้หนูในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ 13. เทคนิคการอนุรักษ์ขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) และตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ 14. ข้อมูลการอนุรักษ์ขิงพระพุทธบาท (*Zingiber tenuiscapus*) และตะไคร้พราน (*Zingiber citriodorum*) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ 15. เทคนิคการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช สมุนไพร: ระย่อมน้อย (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth.exKurz) ในสภาพปลอดเชื้อ 16. ข้อมูลการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช สมุนไพร: ระย่อมน้อย (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth.exKurz) ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อนำไปจัดทำคู่มือเทคนิคการอนุรักษ์ (รวม 8 เรื่อง ใน 1 ฉบับ) และเป็นข้อมูลสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืช นอกจากนั้นยังได้ผลงานเสนอแบบโปสเตอร์ 3 เรื่อง วารสารระดับชาติ 1 เรื่อง วารสารระดับนานาชาติ 2 เรื่อง และ Book chapter ระดับชาติ 2 เรื่อง

สบว.มก.

บรรณานุกรม

กัญจนา ดีวิเศษ. 2542. ผักพื้นบ้านภาคกลาง. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, กรุงเทพฯ 280 หน้า.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2521. เทคโนโลยีของเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 210 น.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตรกรุงเทพฯ. 9 น.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร. กรุงเทพฯ.

ชานิ (นามแฝง). 2556. การปลูกสาคู. *นานาสาระเกษตร* สืบค้นจาก: http://nanasarakaset.blogspot.com/2013/04/blog-post.html. [20 เมษายน 2560].

ฐายิน ทัศนเสถียร. 2543. คุณสมบัติและการนำไปใช้ประโยชน์ของแป้งมันขี้หนู. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, บัณฑิตวิทยาลัย,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธนากร วงษศา หนึ่งฤทัย จักรศรี และอนุพันธ์ กงบังเกิด. 2564. ผลของความเข้มข้นสูตรอาหารร่วมกับน้ำตาลซูโครสต่อการเก็บรักษาหน่ออ่อนกล้วยไข่กำแพงเพชรในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิยาลัยราชภัฏอุดรธานี*. 9(2) : 139-151.

ธิดารัตน์ ทองแผ่ ทัศนี ขาวเนียม และ สมปอง เตชะโต. (2558). ผลของสูตรอาหารและสภาพวางเลี้ยงต่อการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจากคัพภะอ่อนของปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรา (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Pisifera). *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*. 2(2): 41-45.

นุชจรี สิงห์พันธ์ และ สุรีภรณ์ ยอดดี. 2563. การเจริญเติบโตของมันจาวพร้าวในสภาพทำเทียมความเข้มข้นของแมนนิทอลแตกต่างกัน. วารสารนเรศวรพะเยา 13(1) : 21-25.

บัวหลวง จ้อยปอย มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และภาณี ทองพำนัก. 2542. เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมที่สำคัญของพืชผัก และไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด.

บัวหลวง จ้อยปอย, ประเทือง ดอนสมไพร, มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และภาณี ทองพำนัก. 2542. การเก็บรักษาพันธุกรรมพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจในสภาพเย็นยิ่งยวดในไนโตรเจนเหลว -196 องศาเซลเซียส. หน้า 240-241. ในรวมบทคัดย่อผลงานวิจัยของคณาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษาไทย ในระหว่างปี 2540-2542. สำนักงานปลัดกระทรวงทบวงมหาวิทยาลัย.

ปรัชญา คงทวีเลิศ. 2560. มหัศจรรย์งาดำ. แหล่งที่มา:, 8 มิถุนายน 2560.

ปราณี แสนวงศ์. 2550. วิธีการทำลายการพักตัวของเมล็ดพันธุ์บวบหอม. แหล่งที่มา: www.agri.ubu.ac.th/masterstu/docs/20080430-Pranee.doc, 15 มิ.ย. 2560

พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ สุนทร ดุริยะประพันธ์ ทักษิณ อาชวาคม สายันต์ ตันพานิช ชลธิชา นิวาสประกฤติ และปรียานันท์ ศรสูงเนิน. 2544. *PROSEA ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 9 พืชที่ให้คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช้เมล็ด*. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ. 299 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร

พืชเกษตร.คอม เว็บเพื่อพืชเกษตรไทย. 2557. ต้นสาคู/สาคูไทย/ปาล์มสาคู/สาคูพุทธรักษา ประโยชน์ และสรรพคุณต้นสาคู. *พืชผัก/สมุนไพร*. สืบคนจาก: http://puechkaset.com/ต้นสาคู/. [25 เมษายน 2560].

เพ็ญศิริ วงษ์อาท. 2558. ถั่วดาวอินคา ปลูก 1 ไร่ ได้ 1 แสน. วารสารเศรษฐกิจการเกษตร. ปีที่ 61 ฉบับที่ 706. 60 น.

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย, ศิริพร ซึงสนธิพร และ กาญจนา พฤกษพันธ์ .2556. สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae (Seed Morphology of Amaranthaceae Weed). รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๖ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. น. 2083-2105.

ภาณี เตมีศักดิ์, มณฑา วงศ□มณีโรจน□, บัวหลวง ผันแปร และประเทือง ดอนสมไพร. 2542. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์และคัพภะพืชผักในสภาพเย็นยิ่งยวด. การประชุมพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 10 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ□มณีโรจน□, บัวหลวง จ□อยปอย และ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน□. 2543. การเก็บรักษาพันธุกรรมพืชพื้นบ□านในระยะยาวนานภายใต□สภาพเย็นยิ่งยวด. ในการประชุมวิชาการเมล็ดพันธ□ุแห□งชาติ ครั้งที่ 5. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรงเทพฯ.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ□มณีโรจน□, บัวหลวง จ□อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน□. 2540ก. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. รายงานวิจัยเบื้องต้น โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี งานเก็บรักษาพันธุกรรมพืช กิจกรรมปลูกรักษา. ธันวาคม 2540.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ□มณีโรจน□, บัวหลวง จ□อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน□. 2540ข. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. การประชุมวิชาการครั้งที่ 14 เรื่องเทคนิคและวิธีการทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลอง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศ□มณีโรจน□, บัวหลวง จ□อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน□. 2541. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วเหลืองฝักสดภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. การประชุมถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 7 ณ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช จ.นนทบุรี.

ภาณี ทองพำนัก ประเทือง ดอนสมไพร มานะชัย ทองบุญรอด เนตรชนก นุ้ยสี รุ่งอาสาพหะ พัฒนธารา บัวหลวง พันแปร และสุดใจ ล้อเจริญ. 2549. ธนาคารพันธุกรรมพืช 50 ปี แห่งการวิจัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคบรรยาย หน้า 167 - 172)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. กรุงเทพฯ. 2540. 28 หน้า

เมฆ จันทร์ประยูร. 2541. *ผักสวนครัว*. โรงพิมพ์ไททรรศน์, กรุงเทพฯ. 144 หน้า.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. (2541). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 219 หน้า.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ และ เสาวรี ตังสกุล. 2544. การเปลี่ยนแปลงความชื้นและความงอกในระหว่างเก็บรักษาของเมล็ดงา 3 พันธุ์ ภายใต้สภาพความชื้นสัมพัทธ์ 4 ระดับ. หน้า 250-263. ใน : รายงาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

การประชุมวิชาการ งา ทานตะวัน ละหุ่ง และคำฝอยแห่งชาติ ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2538. สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2542. เทคโนโลยีเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชไร่. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันดี กฤษณพันธ์, เอมอร โสมนะพันธุ์ และเสาวณี สุริยาภณานนท์. 2541. *สมุนไพรในสวนครัว.* เมดิคัล มีเดีย, กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

วัลลภ สันติประชา. 2550. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. สงขลา: ภาควิชาพืชสาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2542. พิมพ์ครั้งที่ 5. *พจนานุกรมสมุนไพรไทย.* โรงพิมพ์อักษรพิทยา, กรุงเทพฯ. 880 หน้า.

วิทิต วัณนาวิบูล. 2552. หมอชาวบ้าน. *บวบหอม*. แหล่งที่มา: http://www.doctor. or.th/taxonomy/term/4270, 4 ก.ย. 2552

ศัลยา คงสมบูรณ์เวช. 2547. เซซามินกับสุขภาพ. วารสารโภชนบำบัด. 15(2). 98-105.

สนธิชัย จันทร์เปรม. 2548 การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยการลดการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ. การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว ในการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 3. ณ อาคารประชุม 2 ศูนย์อนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ คลองไผ่. นครราชสีมา, 20-22 ตุลาคม พ.ศ. 2548 : 384-389.

สาวิตรี ณ นคร และรุจิพร จาระพงศ์. 2541. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (ออนไลน์ 18 มีนาคม 2541) สืบค้นจาก: http://www.doea.go.th/LIBRARY/html/detail/Seed/MainSeed.html. [ส.ค.2562]

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศปี 2558. สืบค้นจาก: **http://www.oae.go.th/main.php?filename=journal_all** [เม.ย. 2560].

สุชาดา บุญญเลิศนิรันตร์. 2542. เอกสารประกอบการสอนวิชา 03-43-302 พืชน้ำมัน (oil crop). สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลกระทรวงศึกษาธิการ. ลำปาง. 211 น.

สุมิตรา จันทร์เงา. 2556. หวนคืนสู่วัยเยาว์ กับ “สาคูวิลาส”. คนรักผัก. *มติชนเทคโนโลยีชาวบ้าน* 26(563) : 78.

ไสว พงษ์เก่า และโสภณ สินธุประมา. 2523. สาคู. *ใน*: *สารนุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว*. เล่มที่ 5 เรื่องที่ 5 พืชหัว.: 177-181.

อนุพันธ์ กงบังเกิด และ วีระชน ยานะฝั่น. 2005. ผลของแสง น้ำตาล และสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการชักนำการเกิดเหง้าจิ๋วของขมิ้นชันในหลอดทดลอง. *NU Science Journal* 2(1): 73-86.

อรดี สหวัชรินทร์. 2539. *หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ . 73 หน้า.

อุดมวิทย์ ไวทยการ กัญญารัตน์ จำปาทอง และเถลิงศักด์ วีระวุฒิ. 2557. ดาวอินคาพืชมหัสจรรย์สุดยอดโภชนาการ ใน จดหมายข่าวผลิใบ ปีที่ 11 เดือนพฤศจิกายน 2557

Abdelmageed, A.H.A., Q.Z. Faridah, F.M.A. Norhana, A.A. Julia and A.K. Midhzar. 2011. Micropropagation of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(18): 4465-4469.

กรมวิชาการเกษตร

Adebisi, M.A., J.A. Ola, D.A.C. Zkintabi and O. Daniel. 2008. Storage life sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds under humid tropical conditions. Seed Science and Technology. 36: 379-387.

Alla, B. and M. Nina. 2012. Seed Cryopreservation of Some Medicinal Legumes. Jounal of Botany.V.2012, Article ID 186891, 7 p.

Amanda Ávila Cardoso, Amana de Magalhães Matos Obolari, Eduardo Euclydes de Lima e Borges, Cristiane Jovelina da Silva and Haroldo Silva Rodrigues. 2015. Environmental factors on seed germination, seedling survival and initial growth of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *J. Seed Sci*. [online]. 2015, vol.37, n.2, pp.111-116.

Andini R., Yoshida S., Yoshida Y., Ohsawa R.O. 2 0 1 3 , Amaranthus genetic resources in Indonesia: Morphological and protein content assessment in comparison with worldwide amaranths. Gen. Resour. Crop Evol. Retrieved October 10 2020, from: http://link.springer.com/ content/pdf/10.1007%2Fs10722-013-9979-y.pdf

Antonieta NS. 2002 Tropical seed species responses to liquid nitrogen exposure. Braz J. Plant Physiol. 14(2) May/Aug.

AVRDC. 2004. AVRDC Report 2003. AVRDC Publication Number 04-599. Shanhua, Taiwan: AVRDC-The World Vegetable Center. 194 pp.

Bartolini J.S., Hampton J.G. 1 9 8 9 . GRAIN AMARANTH· SEED DEVELOPMENT, YIELD AND QUALITY. Proceedings Agronomy Society NZ, Seed Technology Centre Massey University Palmerston North. 55-61.

Berjak P. and Pammenter N. W. 2008. From Avicennia to Zizania: seed recalcitrance in perspective. Ann. Bot.-London 101, p. 213–228.

Bewly, J.D. and M. Black.1978. Physiology and Biochemistry of seed in relation to Germination Springer-Verlag. New York. 306 p.

Borchani C., S. Besbes, C. H. Blecker and H. Attia. 2010. Chemical Characteristics and Oxidative Stability of Sesame Seed, Sesame Paste, and Olive Oils. Journal of Agriculture, Science and Technology. 12: 585-596.

Cardoso A.A., Obolari A.M.M, Silva C.J. and Rodrigues H.S. 2015. Environmental factors on seed germination, seedling survival and initial growth of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Journal of Seed Science*, v.37, n.2, p.111-116

Charoensub, R. and S. Phansiri. 2004. *In vitro* conservation of rose coloured leadwort: Effect of mannitol on growth plantlets. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 38: 97-102.

Chmielarz, P. 2009. Cryopreservation of dormant European ash (Fraxinus excelsior) orthodox seeds. Tree Physiology. 29(10): 1279-1285.

Chmielarz, P. 2010. Cryopreservation of conditionally dormant orthodox seeds of Betula pendula. Acta Physiol Plant. 32: 591-596.

Christine, S. and L.K. Chan. 2007. Micropropagation of *Curcuma zedoaria* Roscoe and *Zingiber zerumbet* Smith. 2007. *Biotechnology*. 6(4): 555-560.

Clark, D.C.and L.N. Bass, 1975, Effect of storage Conditions packaginge materials and moisture content on longevity of crimson clover seed. Crop.Sci. 15(4): 577-580.

Coelho, S. V. B., Rosa, S. D. V. F. and Fernandes, J. S. 2017. Seed Sci. & Technol., 45, 3, 1-12. Retrieved January 19, 2022, from https://doi.org/10.15258/sst.2017.45.3.15

Copeland, L. O and McDonald, M. D. 1995. Seed longevity and deterioration. *Seed Science and Technology* (3): 191-219

Copeland, L.O. and McDonald, M.B. 1985. Principles of Seed Science and Technology. Burgess Publishing Company. Minnosota. 369P.

Daquinta M., Brown, K., Teixeira da Silva, J.A. and F. Sagarra. 2009. In vitro propagation of arrowroot (*Maranta arundinacea* L.). *International Journal of Plant Developmental Biology*. 3(1): 15-17.

David Morton Webb. 1985. Seed germination and seedling emergence in *Amaranthus* spp. thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Agronomy. Montana State University, Retrieved October 19 2020, from: http://scholarworks.montana.edu/xmlui/bitstream/handle/1/6292/31762100209194.pdf ?sequence=1.

Delouche, JC. And C.C. Baskin. 1973. Accelerated aging technique for predicting the relative storability of seed lots. Seed Science. and Technology. 1:427-452.

Denise C.L., S.D. Alek and M.C. Juliana. 2014. Physiological quality of sesame seeds during storage. Artigo Cientifico. 45: 138-145.

Divakaran, M., K.N. Babu and K.V. Peter. 2006. Conservation of *Vanilla* species, *in vitro*. *Scientia Horticulturae*. 110: 175-180.

Dussert, S., Charbrillange, N., Engelmann, F., Anthony, F. and Hamon, S. 1997. Cryopreservation of coffee (Coffea Arabica L.) seeds: Importance of the precooling temperature. *Cryo-Letters* (18): 269-276

Ebert, A. W., Drummond, E. B. M., Giovannini, P. and Zonneveld, M. V. 2021. A Global Conservation Strategy for Crops in the Cucurbitaceae Family. Global Crop Diversity Trust. Bonn. Germany. 147 p.

Ebrahim, M.K.H. and I.A. Ibrahim. 2000. Influence of medium solidification and pH value on *in vitro* propagation of *Maranta leuconeura* cv. *Kerchoviana*. *Scientia Horticulturae* 86: 211-221.

Elleuch M., S. Besbes, O. Roiseux, C. Blecker and H. Attia. 2007. Quality characteristics of sesame seeds and by-products. Food Chem .103(2): 641-650.

Ellis R.H., Hong T.D. and Roberts E.H. 1985. Handbook of seed Technology for Genebanks. vol.1 Principle and Methodology. Internation Board for Plant Genetic Resources, Rome. 210 p.

Engelmann F. 1997. Present Development and Use of *in vitro* Culture Techniques for the Conservation of Plant Genetic Resources. *Acta Hort*. 447: 471-475.

Engelmann, F. 2000. Importance of cryopreservation for the conservation of plant genetic resources. *Cryopreservation of tropical plant germplasm: current research progress and application*. JIRCAS: Tsukuba: 8-20

Enyiukwu, D.N., A.N. Awurum and J.A. Nwaneri. 2014. Potentials of Hausa Potato (*Solenoste mon rotundifolius* Poir.) J.K. Morton and Management of its Tuber Rot in Nigeria.Greener Journal of Agronomy, Forestry and Horticulture. 2(2) : 27-37.

Fanali C., Dugo, L., Cacciola, F., Beccaria, M., Grasso S., Dachà M., Dugo P. and MondelloL., 2011. Chemical characterization of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *J. Agric. Food Chem*. 59: 13043–13049.

FAO/IPGRI. 1994. Genebank standards. FAO and IPGRI, Rome, Italy

FAOSTAT. 2017. Food and Agriculture Data. Retrieved April 20, 2017, from http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC

Fausto,H.C., P.Daniel,A. Adrain, and C.Z. luis. 2014. Chemical Composit, Oxidative Stability and Antioxidant Capapcity of Oil Extraction From Roasted Seed of Sacha-Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) *J. Agri. Food chem*. 62(22) 5191-5197.

Ferrari, M.P.S., D. Antoniazzi, A.B. Nascimento, L.F. Franz, C.S. Bezerra and H.M. Magalhaes. 2016. Evaluation of new protocols to *Curcuma longa* micropropagation: a medicinal and ornamental specie. *Journal of Medicinal Plants Research*. 10(25) : 367-376.

Follegatti-romero L.A., Piantino C.R., Grimaldi R. and Cabral F.A. 2009. upercritical CO2 extraction of omega-3 rich oil from Sacha inchi (*Plukenetia Volubilis* L.) *seeds. Journal of Supercritical Fluids*. 49(3): 323-329.

Gallagher E., Gormley T.R., and Arendt E.K. 2003. Recent advance in the formulation of gluten-free cereal-base product. Yrends in food Science &Technology. 15(3-4): 143-152.

Geetha, S.P. 2002. *In vitro* technology for genetic conservation of some genera of Zingiberaceae. Ph.D. Thesis, University of Calicut, Kerala, India.

George, E.F., M.A. Hall and G.J. De-Klerk. 2008. Plant propagation by tissue culture. 3rd Edition. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 503 p.

Gimplinger D.M., Dobos G, Schönlechner R., Kaul H.-P. 2007. Yield and quality of grain amaranth (*Amaranthus* sp.) in Eastern Austria. PLANT SOIL ENVIRON. 53, 2007 (3): 105–112

Global AgriSystems. 2010. Dehulled and roasted sesame seed oil processing unit. Retrieved April 8, 2017, from http://www.mpstateagro.nic.in

Gogus Ugur and Smit Chris, 2010. n-3 Omega fatty acids: a review of current Knowledge. *International Journal of Food Science and Technology*. 45: 417–436.

Gomathy, V., M. Anbazhagan and K. Arumugam. 2014. *In vitro* propagation of *Curcuma longa* (Turmeric). *International Journal of Research in Plant Science*. 4(1) : 30-33.

Gonzalez-Benito, M. E., Carvalho, J. M. F. and Perez, C. 1997. Effect of dessication and cryopreservation on the germination of embryonic axes and seeds of cotton. Retrieved

January 20, 2022, from https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/ item/44658 /1/Effect-of-desiccation-and-cryopreservation-on-the-germination.pdf

Grubben G.J.H.. 1993. *Amaranthus* L. *In.* Plant Resources of South-East Asia (PROSEA) No. 8. Vegetables. J.S. Siemonsma and Kasem Piluek (Editors). Pudoc Scientific Publishers, Wageningen. Netherlands. 82-86 pp.

Gutierrez L.F., Rosada, L.M., Jiménez, A., 2011. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Journal of Grasas Y Aceites*. 62(1):76-83.

Hamaker B. R., Valles C., Gilman R., Hardmeier R. M., Clark D., Garcia H. H., Gonzales A. E., Kohlstad I., Castro M., Valdivia R., Rodriguez T., and Lescano M., 1992. Amino acid and fatty acid profiles of the inca peanut (*Plukenetia volubilis*). Cereal Chemic, V. 69, P. 461-463.

Haque, S.K.M. and B. Ghosh. 2018. Micropropagation of *Kaempferia angustifolia* Roscoe - An aromatic, essential oil yielding, underutilized medicinal plant of Zingiberaceae Family. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 21(2) : 147-153.

Harrington J.F. and J.E. Douglas. 1970. Seed Storage and packing, 221 p.

Harrington, J.F. 1972. Seed storage and longevity. Seed Biology. 3: 145-246.

Hassan, N. A. and S.A. Bekheet. 2008. Mid-term Storage and Genetic Stability of Strawberry Tissue Cultures. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 4(5): 505-511

Hatice, G. and T. Ece. 2006. Change in peroxidase activities and soluble protein in strawberry varieties under salt-stress. Physilogiae Plantarum. 28: 109-116.

Hu, C.Y. and P.J. Wang. (1983). Meristem, Shoot tip and bud culture. In Envans, D.A., Sharp, W.R., Ammiratto, P.V. and Y. Yamada (Editor). Handbook of Plant Cell Culture Vol.1 (177-227). New York: Macmillan.

Iida, K., Kaewsorn, P. and S. Wongchaochant. 2020. Slow growth culture media for in vitro short-term storage of *Globba adhaerens* Gagnep. Proceeding of 58th Kasetsart University Annual Conference: Plant, Animals, Veterinary Medicine, Fisheries, Agricultural Extension and Home Economics, Bangkok, February 5-7, 2020: 223-230.

ISTA. 2014. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association, Switzerland.

Jianfang C., M. Rongyin, L. Lingzhi and D. Yiying. 1998. Optimum moisture contents of seeds stored at ambient temperatures. Retrieved April 23, 2017, from http://www.bioversityinter national.org

Jianfung C., M. Rongyin L. Lingzhi and D. Yiying. 1998. Optimum moisture Contents of Seeds Stored at Ambient temperatures. CABI, USA.

Jo, E.A., R.K. Tewari, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2009. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazonica* plantlets. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 96: 307–315.

Joshi, V. and S.K. Jadhav. 2013. Effect of temperature and media supplements on slow growth conservation of medicinal plant *Spilanthes acmella*. *Botanica Serbica* 37(2): 155-160.

กรมวิชาการเกษตร

Kadereit G., Borsch T., Weising K. and Freitag H., 2003. Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C4 photosynthesis. *Int. J. Plant Sci*. 164(6): 959-986.

Kambaska, K.B. and S. Santilata. 2009. Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cv- Suprava and Suruchi. *Journal of Agricultural Technology*. 5(2) : 271-280.

Kaul H. P., Aufhammer W., Laible B., Nalborczyk E., Pirog S. and Wasiak, K.. 1996. The suitability of amaranth genotypes for grain and fodder use in Central Europe. Die Bodenkultur. 47(3): 173-181.

Kaviani, B., Abiadi, D. H., Torkashvand, A. M. and Hoor, S. S. 2009. Cryopreservation of seeds of lily [*Lilium Iedebourii* (Baker) Bioss]: Use of sucrose and dehydration. African Journal of Biotechnology Vol. 8 (16):3809-3810

Kholina, A. B. and Voronkova, N. M. 2012. Seed cryopreservation of some medicinal legumes. *Journal of Botany.* 2012: 7p

Kochuthressia, K.P., S.J. Britto, L.J.M. Raj, M.O. Jaseentha and S.R. Senthilkumar. 2010. Efficient regeneration of *Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum. plantlets from rhizome bud explants. *Int. Res. J. Plant Sci*. 1(2) : 43-47.

Kulkarni, V.M. and T. R. Ganapathi. 2009. A simple procedure for slow growth maintenance of banana (*Musa* spp.) embryogenic cell suspension cultures at low temperature. *Current Science* 96(10): 1372-1377.

Lambardi, M., Benelli, C. and De Carlo, A. 2005. Cryopreservation as a tool for the long-term conservation of woody plant germplasm: development of the technology at the CRN/IVALSA institute of Florence. *The Role of Biotechnology*: 181-182

Lee J.Y., Y.S. Lee and E.O. Choe. 2008. Effects of sesamal, sesamin and sesamolin extracted from roasted sesame oil on the thermal oxidation of methyllinoleate. Food SciTecnol. 42:1871-1875.

Makus D.J. and D.R.Davis. 1984. A mid-summer crop for fresh Green or canning; vegetable amaranth. Aek. Farm Res. 33:10.

Maria, E. G., Julita, M. F., and Cesar, P. 1997. Effect of dessication and cryopreservation on the germination of embryonic axes and seeds of cotton.

Martin, K.P. and A.K. Pradeep. 2003. Simple strategy for the *in vitro* conservation of *Ipsea malabarica* an endemic and endangered orchid of the Western Ghats of Kerala, India. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 74: 197-200.

Maundu P., Achigan-Dako E, and Morimoto Y., 2009. Biodiversity of African vegetables. *In: Lichtfouse*, E., Hamelin, M., Nararrete, M. and Debaeke, P. (Eds.): Sustainable Agriculture volume 2. London. EDP Sciences. Ch. III.

McDonald MB. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science Tecnology.27: 177-237.

Merrill E.D. 1936. On the Application of the Binomial *Amaranthus viridis* Linnaeus. American Journal of Botany. Vol. 23, No. 9 (Nov., 1936), pp. 609-612.

Miachir, J.I., V.L.M. Romani, A.F.C. Amaral, M.O. Mello, O.J. Crocomo and M. Melo. 2004. Micropropagation and callogenesis of *Curcuma zedoaria* Roscoe. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*. 61(4) : 427-432.

Mitahato Education and Development Fund. n.d. Arrow root (Marantha arundinacea) framing manual. Nurturing The Roots of Change In Rural Kenya Available Source: http://www. mitahatoedf.com /library/crop-production/.../1-arrow-root-farming. [20 April 2017]

Mlakar, S.G., Turinek M., Jakop M., Bavec M. and Bavec F.. 2010. Grain amaranth as an alternative and perspective crop in temperate climate. Journal of Geography 5: 135-145.

Montalvo-Peniche, M. del C., L.G. Iglesias-Andreu, J.O. Mijangos-Cortés, S.L. Nahuat-Dzib, F. Barahona-Pérez, A. Canto-Flick and N. Santan-Buzzy. 2007. *In vitro* germplasm conservation of Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *HortScience* 42(5): 1247-1252.

Moraes, R. M., Nery, F. C., Pinto, A. C. C., Paiva, R., Correa da Silva,. D. P., Paiva, P. D., and Barbosa, S. 2019. Conservation of Hibiscus acetosella germplasm by seed cryopreservation. Australian Journal of Crop Science: 372 – 378.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15: 473-497.

Nirmal B.K., S.P. Geetha, D. Minoo, P.N. Ravindran and K.V. Peter. 1999. *In vitro* conservation of germplasm. *In:* Ghosh, S.P. (ed.) Biotechnology and Its Application in Horticulture. Narosa Publishing House, New Delhi, pp. 106–129.

Nongmaithem, M.S., A.C. Lukram, P.D. Yendrembam, R.C.S. Wahengbam and B.S. Heigrujam. 2014. Micropropagation-an *in vitro* technique for the conservation of *Alpinia galangal*. *Advance in Applied Science Res*earch 5(3): 259-263.

Normah, M.N., M. Barbara and Y. Xiaoling. 1994. Seed Storage and Cryoexposure Behavior in Hazelnut (*Corylus avellana* L. *cv. Barcelona*). Cryo-Letters. 15: 315-322.

Norman J. C.. 1992. Tropical vegetable crops. Arthur H. Stockwell Limited, Infracombe Great Britain. 252 pp.

Pan, M.J. and J. van Staden. (1998). The use of charcoal in in vitro culture – *A review. Plant Growth Regulation*. 26: 155 – 163.

Perez, G., GB. Felix and M. Elena. 2008. Seed Cryopreservation of Halimium and Helianthemum Species. Cryo-Letters. 29(4): 271-276.

Peter, K.V., P.N. Ravindran, K.N. Babu, B. Sasikumar, D. Minoo, S.P. Geetha and K. Rajalakshmi. 2002. *Establishing in vitro conservatory of spices germplasm*. ICAR Project Report, Indian Institute of Spices Research, Calicut, Kerala India, p. 131.

Prabhakaran, K.P. 2013. *The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger: The Invaluable Medicinal Spice Crop*. Elsevier.Press. Amsterdam. 544 p.

Preece, J.E. and E.G. Sutter. (1991). Acclimatization of mrcropropagated plants to the greenhouse and field. (pp. 71-93). In Debergh, P.C. and R.H. Zimmerman (Editor). Micropropagation. (484 p.) Netherlands: Springer Netherlands and Kluwer Academic Publishers.

Puechkaset (นามแฝง). (2560). ต้นสาคู/สาคูไทย/ปาล์มสาคู/สาคูพุทธรักษา ประโยชน์และสรรพคุณต้นสาคู. สืบค้นจาก: URL. https://puechkaset.com/ต้นสาคู/. [18 พฤษภาคม 2564]

Qun, S., Jim-hua, W. and Bao-qi, S., 2007, Advances on Seed Vigour Physiological and Genetic Mechanisms. Agricultural Sciences in China,6: 1060-1066.

Reuzeau, C., D. Goffner and G. Cavalie. 1992. Relations between protein composition and germination capacity of sunflower seeds. Seed Sci & Technol. 2:223-230.

Rikiishi, K., Matsuura, T., Ikeda, Y. and M. Maekawa. (2015). Light Inhibition of shoot regeneration is regulated by endogenous abscisic acid level in Calli derived from Immature barley embryos. *PLOS ONE*. 10(12): 1-16.

Royal Botany Gardens. 2008. Seed Information Database. Retrieved, April 20, 2017, from http://www. kew.org/science-conservation/research-data/resources/databases

Rozali S.E., Rashid, K.A., and R.M. Taha. 2014. Micropropagation of an exotic ornamental plant, *Calathea crotalifera*, for production of high quality plantlets. *The Scientific World Journal* 2014: 1-12.

RSA. 2010. Amaranthus. Production guideline. Department of Agriculture, Forestry and Fisheries. Republic of South Africa. 24 pp.

Rudrappa U. 2009. Arrowroot nutrition facts. *Nutrition-and-You* Available Source: http://www.nutrition-and-you.com/arrowroot.html. 20 เมษายน 2560.

SABA (pseud.). 2016. 15 best benefits of arrowroot for skin, hair and health. *StyleCraze* Available Source: http://www.stylecraze.com/articles/benefits-of-arrowroot-for-skin-hair-and-health/#gref. [20 April 2017]

Safwan, I.I. and U.A. Mohammed. 2016. Review on the Nutritional Value, Cultivation and Utilization Potential of Some Minor and Under-Utilized Indigenous Root and Tuber Crops in Nigeria. International Journal of Advanced Research 4(3) : 1298-1303.

Sahavacharin, O. n.d. Kasetsart Journal (Natural Science) (Thailand). *Tissue culture for conservation of perennial crops*. Available source: http://kasetsartjournal.ku.ac.th/kuj_files/2008/A0806172155107343.pdf [September 11, 2019].

Scaramuzzi, F. and G. Apollonio. 1997. Micropropagation of *Ctenanthe lubbersiana* Eichl. and *Maranta leuconeura* Morren var. *Tricolor*. pp. 85-95. *In*: Bajaj. Y.P.S. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 40 Hight-Tech and Micropropagation VI*. Springer: Berlin Germany. 397 p.

Segura-Nieto M., Barba de la Rosa A. P. and Paredes-Lopez. 1 9 9 4 . Biochemistry of Amaranth Proteins. *In:* Amaranth: Biology, Chemistry and Technology. Paredes- Lopez O. (Ed.), pp. 76-106.

กรมวิชาการเกษตร

Siddique, N.A., M.A. Bari, N. Kharn, M. Rahman, M.H. Rahman and S. Huda. 2003. Plant regeneration from nodal segments derived callus in *Hemidesmus indicus* (L.) R. Br (Anantamul) an endangered medicinal plant in Bangladesh. *Journal of Biological Sciences.* 3: 1158-1163.

Simin, W. 2006. *In vitro* propagation of *Maranta arundinacea* and *M. leuconcura* var. *erythroneura*. *Journal of Sichuan Normal University, Natural Science*. 2006-2

Souza, D.C., Costa, P.A., Silva, L.F.L., Guerra, T.S., Resenda, L.V. and J. Pereira. 2019. Productivity of rhzaomes and starch quantification in cultures of different vegetative propagules of arrowroot. *Journal of Agricultural Science*. 11(5): 419-425.

Stallknecht, G. F and Schulz-Schaeffer, J. R. 1993, Amaranth rediscovered. *In Janick*, J and Simon, J. E. (Eds), New crops. Wiley, New York. pp 211-218.

Stanwood ,PC. and LN. Bass. 1981. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. Seed Science and Technology. 9: 423-437.

Stanwood, PC. And S. Sowa. 1995. Evaluation of onion (Allium cepa L.) seed after 10 years of storage at 5, -18 and -196 degree. Crop Science. 35 : 852-856.

Sugri, I., F. Kusi, R.A.L. Kanton, S.K. Nutsugah and M. Zakaria. 2013. Sustaining Frafra potato (*Solenostemon rotundifolius* Poir.) in the food chain; current opportunities in Ghana. Journal of Plant Sciences. 1(4) : 68-75.

Tan, P.V. 2016. Micropropagation of Curcuma sp., a threatened medicinal plant. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 7: 418-427.

Theilade, I. 1999. A Synopsis of the *Zingiber* (Zingiberaceae) in Thailand. *Nordic Journal of Botany*. 19(4): 389-410.

Touchell, DH. and KW. Dixon. 1993. Cryopreservation of seed of western Australian native species. Biodiversity & Conservation. 2(6) : 594-602.

Triboun, P., K. Larsen and P. Chantaranothai. 2014. A Key to the Genus *Zingiber* (Zingiberaceae) in Thailand with descriptions of 10 new taxa. *Thai Journal of Botany.* 6(1): 53-77.

Vanisse, F.S., F.S. Juliana, G.S. Fabiano, C.C. Rafael, C.B. Adriene and A.S Vania. 2012. Cryopreservation of Quina Seed (*Strychnos pseudoquina* A. st.Hil). International Research Journal of Biotechnology. 3(4): 55-60.

Villalobos, A., Arguedas, M., Escalante, D., Martínez, J., Zevallos, B. E., Cejas, I., Yabor, L., Martínez-Montero, M. E., Sershen, Lorenzo, J. C. 20019. Cryopreservation of sorghum seeds modifies germination and seedling growth but not field performance of adult plants: *Journal of Applied Botany and Food Quality*: 92, 94 – 99. Retrieved January 20, 2022, from file:///C:/Users/ACER-35/Downloads/liddyhalm,+Layout+Editor,+Art13_ 10970 _Lorenzo% 20(2).pdf

Wahyurini, E. and Susilowati. 2020. In vitro shoot induction of Garut (*Maranta arundinace*) with the addition of 2,4D and benzyl adenine. *AGRIVET* 26: 43-49.

กรมวิทยาศาสตร์

Wilson, D.O. and M.B. McDonald. 1986. The lipid peroxidation model of seed ageing. Seed Sci.& Technol. 14:296-300.

Wu Z. and P. Raven 2000. Flagellariaceae through Marantaceae**.** *Flora of China* 24: 382.

Yun-peng, D., L. Wen-yuan, Z. Ming-fang, H Heng-bin and J. Gui-xia. 2012. The establishment of a slow-growth conservation system *in vitro* for two wild lily species. *African Journal of Biotechnology* 11(8): 1981-1990.

Yusuf, N.A., M.M. Suffian Annuar and N. Khalid. 2011. Rapid micropropagation of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. Kulturpfl. (a valuable medicinal plant) from shoot bud explants. *African Journal of Biotechnology*. 10(7) : 1194-1199.

Zaccheria, F., Psaro, R., Ravasio, N., Bondioli, P., 2012. Standardization of vegetableoils composition to be used as oleochemistry feedstock through a selective hydrogenation process. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 114: 24–30.

Zadorozhna, O.A., M.V. Gerasimov, T.P., Shiyanova and Avilova, T.O. (2014). Oilseed storage under controlled conditions. Storage Genetic Resources. 15, 132-142.

Zang, B.Z., Fu, J.R. and S.Y., Zee. 1990. Studies on cryopreservation of seeds of crops and vegetables. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni. 29(3): 115-121.

Zheleznov A.V., Solonenko L.P. and Zheleznova N.B. 1997. Seed proteins of the wild and the cultivated Amaranthus species. Euphytica. pp. 177–182.

Zuleta, E.C., Rios, L.A., Benjumea, P.N., 2012. Oxidative stability and cold flow behavior of palm, sacha-inchi, jatropha and castor oil biodiesel blends. Fuel Process.Technol. 102: 96–101.

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1.1.1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน ของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา โดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-18 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 28 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	2	108.8	54.4	5.49*
Moisture (M)	3	3035.6	1011.9	102.02**
Error(a)	6	59.5	9.9	

Time (T)	14	45707	3265	902.9**
MxT	42	1450	35	9.55**
Error(b)	112	405	4	
Total	137	50765.9		

C.V. (a)= 2.45%, C.V.(b)= 1.62%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1.1.2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน ของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา โดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-18 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 28 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	2	52	25.8	2.06ns
Moisture (M)	3	5467	1822.5	145.5**
Error(a)	6	75	12.5	
Time (T)	14	31475	2248.2	810.74**
MxT	42	912	21.7	7.83**
Error(b)	112	311	2.8	
Total	137	38292		

C.V. (a)= 2.45%, C.V.(b)= 2.8%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1.1.3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน ของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ดาวอินคา โดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-18 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 28 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	2	99	49.5	6.71*
Moisture (M)	3	2518.9	839.6	133.78**
Error (a)	6	44.3	7.4	
Time (T)	14	19518	1394.2	598.93**
MxT	42	1218	29	12.45**
Error(b)	112	261	2.3	
Total	137	23659.2		

C.V. (a)= 2.44%, C.V.(b)= 2.3%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

กรมวิชาการเกษตร

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ภาพผนวกที่ 1.1.1 แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ดาวอินคาของเกษตรกร จ.ประจวบคีรีขันธ์เก็บเกี่ยวผลช่วงมกราคม-มีนาคม 2562

ภาพผนวกที่ 1.1.2 การเตรียมและนำเมล็ดเข้าห้องลดความชื้น

ภาพผนวกที่ 1.1.3 ขั้นตอนการเตรียมทดสอบความงอก

ภาพผนวกที่ 1.1.4 ระยะการการประเมินผลการทดสอบความงอก ที่ 14 วันหลังเพาะ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตารางผนวกที่ 1.3.1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง Analysis of Variance for Oil Content (%)

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	3	265.0	8.8	4.49*
Variety (V)	5	220.4	44.1	22.37**
Error(a)	15	29.6	2.0	
Seed Moisture (M)	3	253.9	84.6	95.99**
VxM	15	37.5	2.5	2.84**
Error(b)	54	47.6	0.9	
Time (T)	1	11.5	11.5	10.09**
VxT	5	10.3	2.1	1.79^{ns}
MxT	3	0.8	0.3	<1
VxMxT	15	18.2	1.2	106^{ns}
Error (C)	72	82.4	1.1	
Total	**191**	**738.7**		

CV.(a)= 3.45 % CV.(b)=2.31% CV.(c)= 2.56 %

ตารางผนวกที่ 1.3.2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง Analysis of Variance for Oil Content (%)

SV	DF	SS	MS	F

Replication (R)	3	8.8	2.9	1.49**
Variety (V)	5	224.6	44.9	2277**
Error(a)	15	29.6	2.0	
Seed Moisture (M)	3	218.2	72.7	95.99**
VxM	15	25.6	1.7	2.25*
Error(b)	18	40.9	0.8	
Time (T)	1	32.4	32.4	26.10**
VxT	5	9.3	1.9	1.50^{ns}
MxT	3	4.1	1.4	1.11^{ns}
VxMxT	15	15.7	1.0	<1
Error (C)	72	89.2	1.2	
Total	**191**	**698.6**		

CV.(a)= 3.47 % CV.(b)=2.20% CV.(c)= 2.69 %

ตารางผนวกที่ 1.3.3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน**Combined Analysis of Variance for Oil Content (%) at 1 month**

SV	DF	SS	MS	F
Combine (C)	1	1.7	1.7	<1
Reps Within C	6	33.0	5.5	
Variety (V)	5	176.5	35.3	11.97**
CxV	5	6.9	1.4	<1
Error(a)	30	88.5	2.9	
Moisture (M)	3	183.8	61.3	64.45**
CxM	3	0.5	0.2	<1
VxM	15	56.8	3.8	3.98**
CxVxM	15	2.7	0.2	<1
Error(b)	108	102.7	1.0	
Total	**191**	**653.1**		

CV.(a)= 4.1.3 % CV.(b)=2.20% CV.(c)= 2.42 %

ตารางผนวกที่ 1.3.4 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง Analysis of Variance for Germination Test

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	3	4.2	14	1.45^{ns}
Variety (V)	5	5611	1122	115.79**
Error(a)	15	145	10	
Seed Moisture (M)	3	62308	20769	1634.20**
VxM	15	10080	672	52.88**
Error(b)	54	686	13	
Time (T)	2	2280	1140	77.16**
VxT	10	411	41	2.78**

กรมวิชาการเกษตร

MxT	6	305	51	3.44**
VxMxT	30	714	24	1.61*
Error (C)	144	2127	15	
Total	**287**	**84710**		

C.V. (a)= 5.14% C.V.(b)= 5.86% C.V. (c)= 6.29%

ตารางผนวกที่ 1.3.5 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง Analysis of Variance for Germination Test

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	3	12	4	<1
Variety (V)	5	5437	1087	44.60**
Error(a)	15	366	24	
Seed Moisture (M)	3	87372	29124	1415.16**
VxM	15	8168	545	26.46**
Error(b)	54	1111	21	
Time (T)	2	455	227	12.29**
VxT	10	692	69	3.74**
MxT	6	2191	365	19.73**
VxMxT	30	775	26	1.40ns
Error (C)	144	2664	19	
Total	**287**	**109243**		

C.V. (a)= 7.97% C.V.(b)= 7.45% C.V. (a)= 7.09%

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1.3.6 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง Combined Analysis of Variance for AA Test

SV	DF	SS	MS	F
Combine (C)	1	1729	1729	101.75**
Reps Within C	6	102	17	
Variety (V)	5	9576	1915	82.93*
CxV	5	897	179	7.77**
Error(a)	30	693	23	
Moisture (M)	3	176505	58835	2009.83**
CxM	3	577	192	6.57**
VxM	15	8896	593	20.26**
CxVxM	15	349	23	<1
Error(b)	108	3162	29	
Time (T)	2	3692	1846	82.44**
CxT	2	420	210	9.38**
VxT	10	570	57	2.55**
MxT	6	813	135	6.05**
CxVxT	10	1546	155	6.91**
CxMxT	6	941	157	7.00**
VxMxT	30	1608	54	2.39**
CxVxMxT	30	1504	50	2.24**
Error (C)	288	6449	22	
Total	**575**	**220028**		

C.V. (a)= 8.80% C.V.(b)= 9.89% C.V.(c)= 8.61%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1.4.1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน ของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 18 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	2	17.07	8.53	9.60*
Moisture (M)	3	257.17	85,72	96.44**
Error(a)	6	5.33	0.89	
Time (T)	9	1931	214.55	189.31**
MxT	27	139.8	5.18	4.57**
Error(b)	72	81.6	1.13	
Total	119	2431.97		

C.V. (a)= 2.45%, C.V.(b)= 1.99%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1.4.2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน ของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 18 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	2	12.6	6.3	7.17*
Moisture (M)	3	18.23	6.07	6.92*
Error(a)	6	5.26	0.88	
Time (T)	9	928.2	1103.13	144.27**
MxT	27	36.8	1.36	1.90*
Error(b)	72	51.5	0.71	
Total	119	1052.59		

C.V. (a)= 2.44%, C.V.(b)= 1.99%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1.4.3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน ของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์ผักโขมโดยวิธีการเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4-8 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 18 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	2	38.47	19.23	44.38**
Moisture (M)	3	43.3	14.43	33.31**
Error (a)	6	2.6	0.43	
Time (T)	9	706.7	78.52	67.09**
MxT	27	39	1.45	1.23^{NS}

กรมวิชาการเกษตร

Error(b)	72	84.3	1.17	
Total	119	914.37		

C.V. (a)= 2.44%, C.V.(b)= 1.17%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ภาพผนวกที่ 1.4.1 แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักโขมของเกษตรกร จ. นครปฐม

ภาพผนวกที่ 1.4.2 การเตรียมและนำเมล็ดเข้าห้องลดความชื้น

ภาพผนวกที่ 1.4.3 การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์ผักโขม 3 วันหลังงอก

ภาพผนวกที่ 1.4.4 การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์ผักโขม 7 วันหลังงอก

กรมวิชาการเกษตร