รายงานโครงการวิจัย

โครงการวิจัยการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช (ชุดโครงการวิจัยเดี่ยว)

Study and Development of Technique for Plant Germplasm Conservation.

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์

Ms. Kunyaporn Pipithsangchan

ปี พ.ศ. 2554-2558

รายงานโครงการวิจัย

โครงการวิจัยการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช (ชุดโครงการวิจัยเดี่ยว)

Study and Development of Technique for Plant Germplasm Conservation.

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์

Ms. Kunyaporn Pipithsangchan

ปี พ.ศ. 2554-2558

คำปรารภ

โครงการวิจัยนี้คาดว่าได้อนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชทางการเกษตรไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช แหล่งที่ตั้งของเชื้อพันธุ์ และการกระจายตัวของเชื้อพันธุกรรมพืช ลักษณะประจำพันธุ์ ประเมินคุณค่าพืช เชื้อพันธุ์พืช ในการใช้ประโยชน์ และการอนุรักษ์อย่างยั่งยืน จากนั้นจัดเก็บข้อมูลที่ได้ให้เป็นระบบ และจัดทำเป็นฐานข้อมูลพืชเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้ได้เทคโนโลยีการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชและศึกษาลักษณะพฤกษศาสตร์ของพืชพื้นเมืองแต่ละชนิด สำหรับการจัดทำอนุกรมวิธานพืช ลักษณะการกระจายพันธุ์ ถิ่นกำเนิด และการใช้ประโยชน์ของพืช สำหรับการสืบค้นเปรียบเทียบอ้างอิง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ทางด้านพฤกษศาสตร์และการคุ้มครองพันธุ์พืช การใช้ประโยชน์ และการอนุรักษ์อย่างยั่งยืนได้เทคนิคที่เหมาะสมในการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพริกที่เก็บไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และได้ความสัมพันธ์ของเทคนิคที่เหมาะสมต่างๆกับการงอกของต้นอ่อนในห้องปฏิบัติการ ได้วิธีการที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ เพิ่มจำนวนพืชสมุนไพร ได้เทคนิคการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงและนำไปประยุกต์ใช้ในการเก็บพืชวงศ์ขิง ชนิดอื่นๆในสภาพเยือกแข็ง ได้วิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาวและพันธุ์เท้ายายม่อมโดยทำให้เจริญเติบโตอย่างช้า ๆ (Slow growth) เทคนิคเมล็ดเทียม (artificial seed) เบื้องต้น และแบบแช่แข็ง (cryopreservation) เบื้องต้น. ได้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาพันธุกรรมอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ รวมทั้งทางการเกษตรในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องเก็บรักษาตัวอย่าง เพื่อหาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการศึกษาหาเทคนิค วิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืช

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
ผู้วิจัย	2
บทนำ	7
บทคัดย่อ	9
การทดลองที่ 1: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ดและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	29
การทดลองที่ 2: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	55
การทดลองที่ 3: อิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	62
ชื่อการทดลองที่ 4: ผลของความชื้นในเมล็ดและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	71
ชื่อการทดลองที่ 5: ผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดด้วยห้องลดความชื้น	

ที่มีต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์ 84
ชื่อการทดลองที่ 6: อิทธิพลของระดับความชื้นและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน
ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ *Leguminosae*
เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 104
ชื่อการทดลองที่ 7: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมชมพูสิริน
(*Impatiens sirindhorniae*) และไอยริศ (*Zingiber sirindhorniae*)
ในสภาพปลอดเชื้อ 138
ชื่อการทดลองที่ 8: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชสกุลชาฤๅษี
ในสภาพปลอดเชื้อ : ชาฤๅษีพระราม (*Trisepalum bhumibolianum*)
และ *Trisepalum sangwaniae* 151
ชื่อการทดลองที่ 9: การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์สกุลไก่ฟ้าในสภาพปลอดเชื้อ :
กระทุงบวบเหลี่ยม *(Aristolochia baenzigeri* B. Hansen & Phuph)
และ กระเช้าหนู *(Aristolochia helix* Phuph.) 166
ชื่อการทดลองที่ 10: การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์ : พลับพลึงธาร
(Crinum thaianum J.Schulze) ในสภาพปลอดเชื้อ 177

ชื่อการทดลองที่ 11: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่า
เพื่อการค้าสำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 186
ชื่อการทดลองที่ 12: การจำแนกพืชวงศ์ขิง 29 ชนิดด้วยเทคนิค ISSR 205
ชื่อการทดลองที่ 13: ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริก
ที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 221

ชื่อการทดลองที่ 14: การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก
(Stemona spp.) เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช 271
ชื่อการทดลองที่ 15: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด
โดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ 281
ชื่อการทดลองที่ 16: การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร)
โดยใช้เทคนิค Cryopreservation 295
ชื่อการทดลองที่ 17: การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาว
[*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica*
(Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] เพื่อการอนุรักษ์ 302
ชื่อการทดลองที่ 18: การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์เท้ายายม่อม
(*Tacca leontopetaloides* Ktze.) เพื่อการอนุรักษ์ 306

ชื่อการทดลองที่ 19: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ 310
ชื่อการทดลองที่ 20: เทคนิคการขยายพันธุ์นรีรัตน์ (*Petrocosmea pubescence*)
พืชถิ่นเดียวของไทยใน สภาพปลอดเชื้อ 350
ชื่อการทดลองที่ 21: เทคนิคการขยายพันธุ์ชาฤาษีดอยตุง (*Paraboea doitungensis*)
ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ 361
ชื่อการทดลองที่ 22: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ปอแก้วและปอคิวบา
ในสภาพเยือกแข็ง 375
ชื่อการทดลองที่ 23: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็ง 394
ชื่อการทดลองที่ 24: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง)
ในสภาพเยือกแข็ง 410
บทสรุปและข้อเสนอแนะ 421
บรรณานุกรม 436
ภาคผนวก 474

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช (ชุดโครงการวิจัยเดี่ยว) ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ผู้เชี่ยวชาญ (คุณหทัยรัตน์ อุไรรงค์) ประธานคณะกรรมการบริหารงานวิจัย คุณพุฒนา รุ่งระวี รวมทั้งเจ้าหน้าที่กองแผนงาน ตลอดจนนักวิจัยร่วมทุกท่านที่ให้ความตั้งใจในการดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จ เพื่อตอบวัตถุประสงค์ของการทดลอง ให้บรรลุเป้าหมายของงานวิจัย เพื่อให้สมกับเป็นนักวิจัยของกรมวิชาการเกษตร

นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ
โครงการวิจัยการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษา
เชื้อพันธุกรรมพืช (ชุดโครงการวิจัยเดี่ยว)

ผู้วิจัย

ชื่อการทดลองที่ 1: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

นางกัญญาภรณ์	พิพิธแสงจันทร์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นายพิทยา	วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางผกาวรรณ	ควรประเสริฐ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวเสาวณี	เตชะคำภู	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวชลลดา	สามพันพวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 2 : ความสัมพันธ์ของระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

นายพิทยา	วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางกัญญาภรณ์	พิพิธแสงจันทร์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางผกาวรรณ	ควรประเสริฐ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวปาริฉัตร	สังข์สะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวเสาวณี	เดชะคำภู	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวชลลดา	สามพันพวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 3 : อิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

นางสาวชลลดา	สามพันพวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางกัญญาภรณ์	พิพิธแสงจันทร์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางผกาวรรณ	ควรประเสริฐ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายพิทยา	วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวเสาวณี	เดชะคำภู	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 4 : ผลของความชื้นในเมล็ดและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

นางสาวเสาวณี	เดชะคำภู	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางกัญญาภรณ์	พิพิธแสงจันทร์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางผกาวรรณ	ควรประเสริฐ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายพิทยา	วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวชลลดา	สามพันพวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 5 : ผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดด้วยห้องลดความชื้นที่มีต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์

นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางกัญญาภรณ์	พิพิธแสงจันทร์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางผกาวรรณ	ควรประเสริฐ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายพิทยา	วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวพัชร	ปิริยะวินิตร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวชลลดา	สามพันพวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 6 อิทธิพลของระดับความชื้นและอุณหภูมิที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ Leguminosae เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

นางรัชนก	ทองเวียง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวศิริลักษณ์	อินทะวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายวรกิจ	ห้องแซง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางอรนุช	เกษประเสริฐ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 7: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมชมพูสิรินธร (*Impatiens sirindhorniae*) และไอยริศ (*Zingiber sirindhorniae*) ในสภาพปลอดเชื้อ

นางสาวพัฒน์นรี	รักษ์คิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นายปราโมทย์	ไตรบุญ	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย	
นางสาวปาริฉัตร	สังข์สะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวพัชร	ปิริยะวินิตร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวปัณฑารีย์	กาญจนวัฒนาวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 8 : ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชสกุลชาฤษีในสภาพปลอดเชื้อ : ชาฤษีพระราม (*Trisepalum bhumibolianum*) และ *Trisepalum sangwaniae*

นางสาวพัชร	ปิริยะวินิตร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นายปราโมทย์	ไตรบุญ	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย	
นางสาวปาริฉัตร	สังข์สะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวพัฒน์นรี	รักษ์คิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวปัณฑารีย์	กาญจนวัฒนาวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 9 การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์สกุลไก่ฟ้าในสภาพปลอดเชื้อ : กระทุงบวบเหลี่ยม (*Aristolochia baenzigeri* B. Hansen & Phuph) และ กระเช้าหนู (*Aristolochia helix* Phuph.)

นางภุมรินทร์	วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นายปราโมทย์	ไตรบุญ	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศ	
นางสาวอัญชลี	ศรีสุวรรณ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางชยานิจ	ดิษฐบรรจง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายกษิดิศ	ดิษฐบรรจง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 10 การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์ : พลับพลึงธาร (*Crinum thaianum* J.Schulze) ในสภาพปลอดเชื้อ

นางสาวอัญชลี	ศรีสุวรรณ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นายกษิดิศ	ดิษฐบรรจง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางชยานิจ	ดิษฐบรรจง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางภุมรินทร์	วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายปราโมทย์	ไตรบุญ	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศ	

ชื่อการทดลองที่ 11 : ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้าสำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

นางสาวปัณฑารีย์	กาญจนวัฒนาวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวพัฒน์นรี	รักษ์คิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวเสาวณี	เดชะคำภู	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 12 : การจำแนกพืชวงศ์ขิง 29 ชนิดด้วยเทคนิค ISSR

นางสาวศิริลักษณ์	อินทะวงศ์	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่	หัวหน้าการทดลอง
นางรัชนก	ทองเวียง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวสุกัลยา	ศิริฟองนุกูล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายวรกิจ	ห้องแซง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 13: ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

นางกัญญาภรณ์	พิพิธแสงจันทร์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
ดร .ปิยรัษฎ์	เจริญทรัพย์	โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจาก พระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สวนจิตรลดา	
นางวิลาวัณย์	ใคร่ครวญ	สถาบันวิจัยพืชสวน	
นายรักชัย	คุรุบรรเจิดจิต	ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย	

ชื่อการทดลองที่ 14: การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

นางสาวสุกัลยา	ศิริฟองนุกูล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวศิริลักษณ์	อินทะวงศ์	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่	
นางรัชนก	ทองเวียง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายวรกิจ	ห้องแซง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 15 : การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด โดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

นางสาวสุกัลยา	ศิริฟองนุกูล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดล
นางสาวศิริลักษณ์	อินทะวงศ์	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่	
นางรัชนก	ทองเวียง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายวรกิจ	ห้องแซง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 16 : การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร) โดยใช้เทคนิค Cryopreservation

นางรัชนก	ทองเวียง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวศิริลักษณ์	อินทะวงศ์	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่	
นางสาวสุกัลยา	ศิริฟองนุกูล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายวรกิจ	ห้องแซง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 17: การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] เพื่อการอนุรักษ์

นางสาวสุพินญา	บุญมานพ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวปาริฉัตร	สังข์สะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวภัทรียา	สุทธิเชื้อนาค	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 18 : การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์เท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* Ktze.) เพื่อการอนุรักษ์ (งานวิจัยเริ่มปี2556)

นางสาวสุพินญา	บุญมานพ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง

นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
นางสาวภัทรียา สุทธิเชื้อนาค สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ชื่อการทดลองที่ 19: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ

นางสาวปาริฉัตร	สังข์สะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวพัฒน์นรี	รักษ์คิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวพัชร	ปิริยะวินิตร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวชลลดา	สามพันพวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายพิทยา	วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวเสาวณี	เดชะคำภู	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวปัณฑารีย์	กาญจนวัฒนาวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 20: เทคนิคการขยายพันธุ์นรีรัตน์ (*Petrocosmea pubescence*) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ

นางสาวพัฒน์นรี	รักษ์คิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวพัชร	ปิริยะวินิตร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวปัณฑารีย์	กาญจนวัฒนาวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 21: เทคนิคการขยายพันธุ์ชาฤาษีดอยตุง (*Paraboea doitungensis*) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

นางสาวพัชร	ปิริยะวินิตร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวพัฒน์นรี	รักษ์คิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวปัณฑารีย์	กาญจนวัฒนาวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 22: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ปอแก้วและปอคิวบาในสภาพเยือกแข็ง

นางสาวอัสนี	ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวพัฒน์นรี	รักษ์คิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวปัณฑารีย์	กาญจนวัฒนาวงศ์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 23: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็ง

นางสาวเสาวณี	เดชะคำภู	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง
นางสาวปาริฉัตร	สังข์สะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวชลลดา	สามพันพวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	

ชื่อการทดลองที่ 24: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ในสภาพเยือกแข็ง

นายพิทยา	วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	หัวหน้าการทดลอง

นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
นางสาวอัสนี ส่งเสริม สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทนำ

แผนงานวิจัยนี้คาดว่าได้อนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชทางการเกษตรไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช แหล่งที่ตั้งของเชื้อพันธุ์ และการกระจายตัวของเชื้อพันธุกรรมพืช ลักษณะประจำพันธุ์ ประเมินคุณค่าพืช เชื้อพันธุ์พืช ในการใช้ประโยชน์ และการอนุรักษ์อย่างยั่งยืน จากนั้นจัดเก็บข้อมูลที่ได้ให้เป็นระบบ และจัดทำเป็นฐานข้อมูลพืช เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้ได้เทคโนโลยีการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชและศึกษา

ลักษณะพฤกษศาสตร์ของพืชพื้นเมืองแต่ละชนิด สำหรับการจัดทำอนุกรมวิธานพืช ลักษณะการกระจายพันธุ์ถิ่นกำเนิด และการใช้ประโยชน์ของพืช สำหรับการสืบค้นเปรียบเทียบอ้างอิง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ทางด้านพฤกษศาสตร์และการคุ้มครองพันธุ์พืช การใช้ประโยชน์ และการอนุรักษ์อย่างยั่งยืนได้เทคนิคที่เหมาะสมในการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพริกที่เก็บไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และได้ความสัมพันธ์ของเทคนิคที่เหมาะสมต่างๆกับการงอกของต้นอ่อนในห้องปฏิบัติการ ได้วิธีการที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนพืชสมุนไพร ได้เทคนิคการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงและนำไปประยุกต์ใช้ในการเก็บพืชวงศ์ขิงชนิดอื่นๆในสภาพเยือกแข็งต่อไป.ได้วิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาวและพันธุ์เท้ายายม่อมโดยทำให้เจริญเติบโตอย่างช้า ๆ (slow growth) เทคนิคเมล็ดเทียม (artificial seed) เบื้องต้น และแบบแช่แข็ง (cryopreservation) เบื้องต้น. ได้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาพันธุกรรมอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ รวมทั้งทางการเกษตรในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องและการหาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการศึกษาหาเทคนิค วิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืช โดยตั้งสมมุติฐานว่าจะได้ประโยชน์ กล่าวคือ เพื่อได้ความสัมพันธ์ของความชื้น ขนาดของเมล็ดพันธุ์พริกและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเมล็ดพันธุ์พริก และความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิสำหรับการอนุรักษ์ระยะยาว สามารถอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน เมล็ดคำฝอย และเชื้อพันธุ์ละหุ่งให้มีชีวิตที่ยืนยาวเพื่อลดจำนวนครั้งในการปลูกฟื้นฟู และให้นักวิจัยทั้งภายในและภายนอกกรมวิชาการเกษตร ตลอดจนถึงภาคเอกชนสามารถนำเชื้อพันธุ์เหล่านี้ไปใช้ ประโยชน์ทั้งด้านการปรับปรุงพันธุ์และด้านโภชนาการ นอกจากนี้ สำหรับข้อมูลระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ โดยใช้ห้องลดความชื้น สามารถใช้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา เพื่อประโยชน์แก่การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตรเพื่อให้นักวิจัยทั้งภายในและภายนอกกรมวิชาการเกษตร ตลอดจนภาคเอกชนสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ด้านอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช ตลอดจนได้เปอร์เซ็นต์ความชื้นที่เหมาะสมสำหรับเก็บเมล็ดพันธุ์สมุนไพรเพื่อการอนุรักษ์ และนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้เก็บรักษาพันธุกรรมพืชสมุนไพรในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชต่อไป และเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชชนิดใหม่สกุลขิง (*Zingiber* sp.) และสกุลเทียน (*Impatiens* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ ลดความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ของพืชหายาก/ใกล้สูญพันธุ์ และสามารถอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชชนิดใหม่สกุลขิง (*Zingiber* sp.) และสกุลเทียน (*Impatiens* sp.)ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

เทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชชนิดใหม่สกุลชาฤาษี (*Trisepalum* spp.) ในสภาพปลอดเชื้อ ลดความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ของพืชหายาก/ใกล้สูญพันธุ์ และสามารถอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชชนิดใหม่สกุลชาฤาษี (*Trisepalum* spp.) ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

วิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อพืช และได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอด ชักนำรากให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเก็บรักษากระทุงบวบเหลี่ยม(*Aristolochia baenzigeri* B. Hansen & Phuph) และกระเช้าหนู (*Aristolochia helix* Phuph.) อีกทั้งได้ต้นพันธุ์พลับพลึงธารและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต่างๆที่เหมาะสม และได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นในสภาพปลอดเชื้อ และได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเก็บรักษาพันธุ์พลับพลึงธารในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากนี้ ได้วิธีการและเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและได้เชื้อพันธุกรรมเฟิร์นและวิธีการเพาะพันธุ์เบื้องต้น

เพื่อใช้ในกระบวนการบำรุงรักษาสปอร์ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช รวมถึงเผยแพร่ให้ผู้สนใจการเพาะขยายพันธุ์เฟิร์น และ ทราบวิธีการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 29 ชนิด จาก 5 กลุ่ม โดยใช้เทคนิค ISSR เพื่อนำไปปรับใช้ในการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพืชที่อยู่ในวงศ์นี้ต่อไป และสามารถจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 29 ชนิด จาก 5 กลุ่ม โดยใช้ไพรเมอร์ 16 ชนิด จากเทคนิค ISSR และได้ทราบเทคนิคที่เหมาะสมในการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพริกที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ความสัมพันธ์ของเทคนิคที่เหมาะสมต่างๆกับการงอกของต้นอ่อนในห้องปฏิบัติการ และได้แนวโน้มของกราฟที่ได้ในการคาดคะเนผลของระยะเวลากับเปอร์เซ็นต์ความงอกในการเก็บรักษาในอนาคต และได้เทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช หนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้เทคนิคการชะลอการเจริญเติบโต และได้เทคนิคที่เหมาะสมสำหรับเก็บรักษา ตัวอย่างพืชวงศ์ขิงไว้ในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตที่สามารถเก็บรักษาตัวอย่างพืชไว้ได้อย่างน้อย 12 เดือนโดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร และได้แหล่งรวบรวมเชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลและแหล่งพันธุกรรมสำหรับการขยายพันธุ์ งานปรับปรุงพันธุ์ ฯลฯ และได้เทคนิคการเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตรเมื่อแช่ในสารละลาย **PVS2 / PVS3** และได้เทคนิคการเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร โดยวิธี **Encapsulation/vitrification** นอกจากนี้ได้เทคนิคการเก็บรักษากวาวเครือขาว และเท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อเบื้องต้น ได้เทคนิคการเก็บรักษากวาวเครือขาวโดยเมล็ดเทียมเบื้องต้น และได้เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดกวาวเครือขาวแบบแช่แข็งเบื้องต้น และได้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเก็บรักษาพันธุกรรมอุ่นที่นำมาศึกษา และได้เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมที่ใช้ในการขยายพันธุ์ต้นนรีรัตน์ และ *Paraboea doitungensis* ในสภาพปลอดเชื้อ และได้เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ต้นนรีรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อต่อไป นอกจากนี้ยังได้เทคนิคที่เหมาะสมและปฏิบัติได้จริงและได้ข้อมูลยืนยันและสนับสนุนการศึกษาเทคนิคของการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ปอแก้วในสภาพเยือกแข็งเพื่อการอนุรักษ์ระยะยาว

ความสามารถของเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนในการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว ได้ข้อมูลความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และที่อายุการเก็บรักษาต่าง ๆ ภายใต้สภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว และได้ระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว และทราบได้เปอร์เซ็นต์ความงอกหลังจากการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งในระยะเวลาต่าง ๆ ได้เทคโนโลยีการเก็บรักษาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงภายใต้สภาพเยือกแข็ง เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์พืชในสภาพเยือกแข็งชนิดอื่น ๆต่อไป เพื่อให้นักวิจัยทั้งภายในและภายนอกกรมวิชาการเกษตรตลอดจนถึงภาพเอกชนสามารถนำเชื้อพันธุ์เหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ทั้งด้านการปรับปรุงพันธุ์และด้านโภชนาการ โดยนักวิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งที่จะดำเนินการวิจัยให้ประสบความสำเร็จ และลุล่วงสมดังวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา เมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร นำเมล็ดพริกพันธุ์ 27-1-2-1 และพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 ที่ผ่านการลดความชื้น 4 ระดับ Control, 8, 6 และ 4 % เก็บรักษาในซองอลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศแล้วแบ่งตามแผนการทดลอง และเก็บรักษาไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25, 5 และ -10 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ split plot design จำนวน 4 ซ้ำ โดย Main plot จัดเรียง ทรีตเมนท์ เป็น 4x2 Factorial in RCB โดยปัจจัยแรก คือ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์พริก (4 ระดับ) ปัจจัยที่ 2 คือ ขนาดเมล็ด และ sub plot คือ ระยะเวลาที่เก็บรักษา โดยสุ่มมาทดสอบความงอกทุกเดือนทำการเก็บรักษาพร้อมกันทุกอุณหภูมิ นำเมล็ดมาทดสอบความงอกด้วยวิธี TP (Top of Paper) ทุกเดือน (5, 25° C) สำหรับอุณหภูมิ -10° C ทดสอบความงอกทุก 6 เดือน ทดสอบความชื้นด้วยวิธี air oven method (ISTA, 2006) และทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี Germination Index Test ทดสอบทุก 6 เดือน พบว่าความงอกของพริกที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10° C พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ เมื่อเก็บรักษานานถึงเดือนที่ 25 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิ 25° C ที่ระดับความชื้น Control แต่ที่มีความชื้น 4 % ความงอกยังอยู่ในระดับ 86.4, 86.3 % และเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5° C และ -10° C ทุกระดับความชื้น ความงอกยังดีอยู่ โดยรวมแล้วพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริก เมื่อทดสอบด้วยวิธีดัชนีความงอก พบว่าเมล็ดพริกที่เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 25° C เมื่อเวลาผ่านไปจะมีความแข็งแรงลดลงทั้ง 2 พันธุ์ สำหรับห้อง 5° C และ -10° C ที่ระดับความชื้น Control, 8, 6 และ 4 % เมื่อเวลาผ่านไปค่าความแข็งแรงก็ไม่ได้ลดลงไปนัก พบว่าพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 แข็งแรงน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความชื้นของเมล็ดที่เก็บรักษาไว้สามารถรักษาระดับความชื้นอยู่ได้ภายหลังที่เก็บรักษาถึง 25 เดือน และพบว่าขนาดของเมล็ดทั้งความหนา ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ไม่มีผลต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ และที่ความชื้นทุกระดับ

ทานตะวัน เป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญพืชหนึ่งเพราะมีคุณสมบัติทางโภชนาการสูงสามารถใช้เป็นสารประกอบในอุตสาหกรรมอื่นอีกมากมาย ปัจจุบันผลผลิตขาดแคลนไม่เพียงพอต่อการใช้ประโยชน์เนื่องจาก

ปัญหาสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมและพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังได้ขยายเข้าไปแทนที่การปลูกทานตะวันทำให้ผลผลิตและผลิตภัณฑ์ของทานตะวันโดยรวมของประเทศมีแนวโน้มลดลง และต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์มาจากต่างประเทศเพราะไม่สามารถเก็บพันธุ์ได้เพราะส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ลูกผสม การเก็บรวบรวมและอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ทานตะวันไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเพื่อเป็นแหล่งเก็บเชื้อพันธุ์ไม่ให้พันธุ์สูญหายไป และหากมีความต้องการใช้ในอนาคตยังสามารถนำคุณสมบัติที่ดีของเชื้อพันธุ์เหล่านั้นกลับเอามาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับงานปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ได้ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับปัจจัยในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ระยะยาวโดยที่เมล็ดพันธุ์ยังคงความมีชีวิตและมีความแข็งแรงเป็นสำคัญ ดำเนินการทดลองลดระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันให้ได้ระดับที่ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์โดยใช้ห้องลดความชื้น บรรจุเมล็ดพันธุ์ในถุงฟอยล์โดยใช้สภาพสุญญากาศจากนั้นเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิห้อง, 5 และ -10 องศาเซลเซียส บันทึกผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกทุกเดือนเป็นเวลา 27 เดือน จากการทดลองพบว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้น 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเท่ากับ 86 และ 82 ตามลำดับ สามารถเก็บรักษาได้นาน 27 เดือน ส่วนเมล็ดพันธุ์ทานตะวันทุกระดับความชื้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียสนั้นมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ในช่วง 86-89 และ 87-90 ตามลำดับและมีแนวโน้มที่จะสามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 27 เดือน

คำฝอย (Safflower) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carthamus tinctorius* L. เป็นพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น ด้านอาหาร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นพืชไร่ที่มีความสำคัญ มีศักยภาพสูง เหมาะที่จะนำมาพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ แต่เนื่องจากคำฝอยเป็นพืชที่ในเมล็ดมีปริมาณน้ำมันสูง ทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้น จึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา โดยศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 ระดับ คือ 12, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา 3 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง, 5 และ -10 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 12 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้น้อยกว่า 2 เดือน ในขณะที่เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นาน 9, 18 และ 27 เดือน ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาเมล็ดคำฝอยที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้นาน 27 เดือน โดยที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นสูงไม่สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้ หากทำการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ลงจะทำให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นตามระดับความชื้นที่ลดลง และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ โดยที่ไม่ต้องทำการลดความชื้นในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา

เมล็ดพันธุ์**ละหุ่ง**จัดเป็นพืชน้ำมัน และมีปริมาณน้ำมันสูงถึง 40-60 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้น การทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อหาเทคนิคที่เหมาะสมในการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ละหุ่งให้มีอายุการเก็บรักษานานที่สุด ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร จ.ปทุมธานี การศึกษาผลของความชื้นและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่ง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองตามสภาพอุณหภูมิในการเก็บรักษา 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย main plot คือ ความชื้น

ของเมล็ดพันธุ์ 3 ระดับ ได้แก่ ความชื้นเริ่มต้น (8 เปอร์เซ็นต์) 6 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ sub plot คือระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 ระดับ ได้แก่ 0-27 เดือน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกทุก 1 เดือน พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่อระยะเวลาในการเก็บรักษาในทุกอุณหภูมิที่เก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยทุกอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4-6 เปอร์เซ็นต์สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นานที่สุด ที่อุณหภูมิห้องสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์นานประมาณ 2-3 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอก 70 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์นานประมาณ 9 เดือน คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ และที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 14 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์

ในการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์นั้น ความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้เมล็ดพันธุ์สูญเสียความมีชีวิตอย่างรวดเร็วเมื่อนำมาเก็บรักษา โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวใหม่ซึ่งมีระดับความชื้นสูง ด้วยเหตุนี้ **การลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์พืช**เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายดังกล่าว จึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญยิ่งของงานอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์พืช การใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถลดความเสียหายของเมล็ดพันธุ์จากความร้อนได้ สำหรับห้องลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร เป็นห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ แต่ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลระยะเวลาในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิด การทดลองนี้จึงดำเนินการเพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์พืชด้วยห้องลดความชื้นต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์พืชชนิดต่างๆ โดยดำเนินการทดลองลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว พริก กระเจี๊ยบแดง มะเขือ ข้าวโพดทานตะวัน ข้าวสาลี ข้าว ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม ฝ้าย เดือย ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้ง และข้าวบาร์เล่ย์ วางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block) จำนวน 4 ซ้ำ สิ่งทดลอง เป็นระยะเวลาในการลดความชื้นตั้งแต่ 0-30 วัน ดำเนินการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดจนครบกำหนด ผลการทดลอง สำหรับเปอร์เซ็นต์ความชื้นเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ส่วนใหญ่ มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วภายในสัปดาห์ที่ 1 จากนั้น จะค่อยๆ ลดลงจนเกือบคงที่ซึ่งได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าว ถั่วพุ่ม ฝ้าย เดือย ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้งและข้าวบาร์เล่ย์ เมล็ดพันธุ์ที่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ได้แก่ ถั่วมะแฮะ สำหรับเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกคงที่ ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าวบาร์เล่ย์ และผักกวางตุ้ง เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างคงที่ ได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง เดือย ปอคิวบา และปอกระเจา เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มลดลง ได้แก่ ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม และฝ้าย เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ได้แก่ ข้าว สำหรับเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือ พบว่าไม่สามารถคาดคะเนการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกตามระยะเวลาการลดความชื้นได้ นอกจากนี้พบว่าหลังจากเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ ผ่านการลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน เมล็ดพันธุ์พืชส่วน

ใหญ่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ระดับสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้สำหรับการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาระดับความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์**สมุนไพรวงศ์ Leguminosae** อย่างน้อย 10 ชนิด ได้แก่ 1) หางนกยูงไทย 2) โสน 3) แคบ้าน 4) ชุมเห็ดเล็ก 5) หางนกยูงฝรั่ง 6) ฝาง 7) ส้มป่อย 8) กัลปพฤกษ์ 9) คราม และ 10) ทองกวาวในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช โดยแบ่งเป็น 3 การทดลอง ในแต่ละการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCBD 4 ซ้ำ มี 3 กรรมวิธี ดังนี้ ได้แก่ 1) control (ความชื้นในเมล็ดก่อนลด) 2) ความชื้นในเมล็ด 8 % และ 3) ความชื้นในเมล็ด 6 % ข้อมูลที่ทำการตรวจวัด ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอก ที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บ ผลการทดลองพบว่า

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บเมล็ดที่อุณหภูมิห้อง ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 21 และ 24 เดือน คราม ที่อายุ 21 เดือน ส้มป่อยที่อายุ 15 เดือน กัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 21 และ 24 เดือน แคบ้านที่อายุ 18, 21 และ 24 เดือน โสนที่อายุ 21 และ 24 เดือน หางนกยูงไทยที่อายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเมล็ดหางนกยูงที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ด (Control) เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มสูงกว่าเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ด 8% และ 6% ในเมล็ดครามพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.524*) ในเมล็ดส้มป่อยพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) ความชื้นในเมล็ด 8 % และความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.751*, R^2 =0.913** และ R^2 =0.911** ตามลำดับ) ในเมล็ดกัลปพฤกษ์พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) และความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.805** และ R^2 =0.781** ตามลำดับ) ในเมล็ดแคบ้านพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ด (control) (R^2 =0.889**) ในเมล็ดโสนพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) และความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.948** และ R^2 =0.675** ตามลำดับ)

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 12, 18, 21 และ 24 เดือน คราม ที่อายุ 24 เดือน กัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 15, 21 และ 24 เดือน แคบ้านที่อายุ 6 และ 21 เดือน ชุมเห็ดเล็กที่อายุ 3 และ 6 เดือนโสนที่อายุ 3 เดือน หางนกยูงไทยที่อายุ 9 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) ในเมล็ดหางนกยูงฝรั่งพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 8 % และความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.689** และ R^2 =0.823** ตามลำดับ) เมล็ดกัลปพฤกษ์พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางบวกของเมล็ดที่

ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.726**) ในเมล็ดชุมเห็ดเล็กพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.505*)

การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 ℃) ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน คราม ที่อายุ 18 เดือน กัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 12, 18, 21 และ 24 เดือน แคบ้านที่อายุ 9 และ 18 เดือน ชุมเห็ดเล็กที่อายุ 24 เดือน โสนที่อายุ 9 เดือน หางนกยูงไทยที่อายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) ในเมล็ดครามพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.702**) ในเมล็ดกัลปพฤกษ์พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางบวกของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.549**) ในเมล็ดโสนพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.636*) และในเมล็ดฝางพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.995*)

ชมพูสิรินและไอยริศเป็นพืชชนิดใหม่ของโลก ได้รับพระราชทานนามจากสมเด็จพระเทพฯ ในการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ ซึ่งพืชทั้งสองชนิดนี้จัดเป็นพืชเฉพาะถิ่นและพืชหายาก จึงได้นำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ในการเพิ่มปริมาณและอนุรักษ์พันธุกรรมพืชทั้งสองชนิด งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มปริมาณต้นชมพูสิรินและไอยริศในสภาพปลอดเชื้อและทำการเพาะเลี้ยงไอยริศบนอาหารสำหรับชะลอการเจริญเติบโต โดยทดลองแปรผันปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน ความเข้มข้นของสารอาหารในอาหารเพาะเลี้ยง และปริมาณน้ำตาลซูโครส พบว่าต้นชมพูสิรินสร้างจำนวนยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 5.9 ยอด/ข้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. โดยที่การเติมสาร NAA กับไม่เติมให้จำนวนยอดไม่แตกต่างกัน ส่วนต้นไอยริศสร้างจำนวนยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 9 ยอด/หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ IAA 2 มก./ล. และสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของไอยริศ คือ 1/4 MS และ 1/8 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. ซึ่งให้อัตราการมีชีวิตรอดเท่ากันเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 เดือน โดยไม่ต้องทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

ภูมิพลินทร์ และนครินทรา เป็นพืชหายากถิ่นเดียวของไทย วงศ์ Gesneriaceae จำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ โดยนำตัวอย่างต้นภูมิพลินทร์และนครินทราจากแหล่งธรรมชาติมาศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อฝักภูมิพลินทร์และนครินทรา 3 วิธี คือจุ่มผักในแอลกอออล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ, ผ่าฝักใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และผ่าฝักใส่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 5% พบว่าวิธีจุ่มฝักในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อบิดฝักให้แตกแคะเมล็ดเลี้ยงบนอาหารเป็นวิธีที่เหมาะสม ทำให้ได้เนื้อเยื่อที่ปลอดการปนเปื้อนของเชื้อ 55.55% และ 75 % ตามลำดับ การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณ โดยนำต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสาร 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก (2,4-D) ร่วมกับสารเบนซิลอะดีนิน (BA) ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 1 mg/l พบว่าต้นภูมิพลินทร์ที่เลี้ยงบนอาหารเติมสาร 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1

mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 12.1 ยอด ส่วนต้นนครินทราการเติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 9.8 ยอด และสามารถเพิ่มขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อได้ดีกว่าการใช้สาร BA ร่วมด้วยซึ่งจะทำให้เกิดเป็นพุ่มยอดขนาดเล็กไม่สมบูรณ์ เมื่อเลี้ยงต้นนครินทราบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการเติมสารอินโด-3-บิวทิวริกแอซิต (IBA) ความเข้มข้น 0, 0.1 0.5 และ 1 mg/l พบว่าต้นที่เลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 mg/l เกิดยอดสมบูรณ์ 15.8 ยอด สำหรับการเลี้ยงยอดที่สมบูรณ์บนอาหารสูตร *Woody Plant* (WP) จะชักนำให้เกิดรากได้เฉลี่ย 8.87 ราก ยาว 3.98 cm การศึกษาสูตรอาหารสำหรับการชะลอการเจริญเติบโต โดยใช้สูตรอาหารลดปริมาณ MS ได้แก่ MS, 1/2 MS, 1/4 MS และ 1/8 MS พบว่าต้นภูมิพลินทร์และนครินทราใช้สูตรอาหาร 1/2 MS เพาะเลี้ยงได้นานกว่าสูตรอื่นๆ และเมื่อปรับปริมาณน้ำตาลซูโครซ (sucrose) ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล (mannitol) ความเข้มข้น 0, 10 20 และ 30 g/l พบว่านครินทราที่เลี้ยงบนอาหารลดปริมาณซูโครสจะทำให้มีร้อยละการรอดชีวิตสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 1 ปี แต่เมื่อใช้ซูโครซร่วมกับแมนนิทอลทำให้ต้นพืชมีอาการฉ่ำน้ำมากขึ้น

กระทุงบวบเหลี่ยม (*Aristolochia baenzigeri* B.Hansen & Phuph) และ **กระเช้าหนู** (*Aristolochia helix* Phuph.) จัดเป็นพืชถิ่นเดียว (Endemic plant) และพืชหายาก (Rare) โดยกระทุงบวบเหลี่ยมพบได้ที่ จ.แม่ฮ่องสอน และกระเช้าหนู พบได้ที่ จ.พังงา ซึ่งปัจจุบันมีจำนวนลดลง เนื่องจากสภาพตามธรรมชาติถูกทำลาย จึงทำการศึกษาเพื่อการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พืชทั้งสองชนิดในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ด้วยสารละลายโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่ความเข้มข้น และระยะเวลาต่างๆ โดยฟอกฆ่าเชื้อจำนวน 2 ครั้ง สำหรับกระทุงบวบเหลี่ยมใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 20 นาที ครั้งที่ 1 และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 30 นาที ครั้งที่ 2 ส่วนต้นกระเช้าหนูใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 1 และ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 2 และเมื่อทดสอบสูตรอาหารเพื่อการชักนำยอดของต้นกระเช้าหนู พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ต้นกระเช้าหนูเกิดยอดมากที่สุด 3.13 ยอด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นกระเช้าหนูมีความยาวของยอดใหม่สูงที่สุด 5.12 เซนติเมตร โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนต้นกระทุงบวบเหลี่ยมไม่ตอบสนองต่อสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบและต้นตายในที่สุด และต้นกระเช้าหนูสามารถเก็บอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อได้นาน 4 เดือน โดยการเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

พลับพลึงธาร มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Crinum thaianum* J.Schulze อยู่ในวงศ์ Amaryllidaceae เป็นพืชล้มลุกอาศัยอยู่ใต้น้ำ จัดเป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic species) ของประเทศไทย พบเฉพาะภาคใต้ในเขตจังหวัดระนองและพังงาเท่านั้น จากการสำรวจเมื่อปี 2554 พบพลับพลึงธารในพื้นที่คลองนาคา ตำบลนาคา อำเภอ สุขสำราญ จังหวัดระนอง และ ปี 2555 พบพลับพลึงธารในพื้นที่ตำบลคุระ อำเภอคุระบุรี จ.พังงา เมื่อนำพลับพลึงธารมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีวิธีการฟอกฆ่าเชื้อพลับพลึงธาร โดยการล้างทำความสะอาด

และเปิดน้ำไหลนาน 1 ชั่วโมง ก่อนการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 1 และ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 2 และแช่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสารละลาย Povidone-Iodine ต่อ น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออัตราส่วน 5 : 1 ระยะเวลานาน 30 นาที ด้วยวิธีดังกล่าวชิ้นส่วนพลับพลึงธารมีอัตราการรอดชีวิตคิดเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำพลับพลึงธารมาทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาเกิดหัวย่อยในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15, 22.2 ไมโครโมลาร์ พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ และปริมาณน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มการเกิดหัวย่อยได้ดีที่สุดคิดเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ และการเกิดรากคิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสม เพื่อชักนำหัวย่อยให้พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์บนสูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 และ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 100 และ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการเกิดต้น 68.75 เปอร์เซ็นต์ มีการเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์

เฟิร์นเป็นพืชที่มีการใช้ประโยชน์อย่างหลากหลายโดยเฉพาะการเป็นไม้ประดับ มีการลักลอบนำเฟิร์นป่าออกมาจำหน่ายส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพของเฟิร์น จึงได้ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้า สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร ในการศึกษาได้คัดเลือกเฟิร์น 6 ชนิดคือ กูดดอย *Blechnum orientale* กูดบ้ง *Bolbitis sinensis* ว่านไก่น้อย *Cibotium barometz* ผักกูด *Diplazium esculentum* ก้านดำหลังเงิน *Pityrogramma calomelanos* และ ห่อข้าวสีดา *Platycerium coronarium* จากการศึกษาพบว่าสปอร์ *B. orientale C. barometz* และ *P. coronarium* สามารถฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที แต่วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับสปอร์ *P. calomelanos* คือ ฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอกคืออาหารสูตร MA และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์น *C. barometz* และ *P. coronarium* คือ 5°C และ -10°C สำหรับสปอร์ *B. orientale* และ *P. calomelanos* ส่วนสปอร์ *B. sinensis* และ *D. esculentum* ไม่งอกในทุกการทดลอง ทั้งนี้ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรักษาสปอร์ของเฟิร์นแต่ละชนิดมีความผันแปรอย่างมาก จึงควรวิธีการฟอก วิธีการเพาะ สูตรอาหารเพาะเลี้ยง อุณหภูมิการเก็บรักษาและความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์เฟิร์นแต่ละชนิดต่อไป

พืชวงศ์ขิง 24 ชนิด จาก 5 สกุล คือ 1) สกุล Zingiber จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ขิงแครง (KH) ไพลขาว (PK) ไพลชมพู (PC) ไพลดำ (PD) และไพลปลุกเสก (PS) 2) สกุล Alipinia จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ข่า (K) ข่าจีด (KJ) และข่าใหญ่ (KY) 3) สกุล Bosenbergia จำนวน 2 ชนิด คือ กระชายแกง (GG) และ กระชายแดง (GDG) 4) สกุล Curcuma จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นขาว (KK) ขมิ้นขาวปัดตลอด (KPT) ขมิ้นชัน (KC) ขมิ้นดำ (KD) ขมิ้นดำตาก (KDT) พญาว่าน (PYW) ว่านชักมดลูกตัวผู้ (WP) ว่านชักมดลูกตัวเมีย (WM) และว่านมหาเมฆ (WMM) และ 5) สกุล Kaempferia จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กระแจะจันทร์ (KJJ) กระชายดำ (GD) ว่านเฒ่าหนังแห้ง (TH) ว่านทิพยเนตร (WTN) และว่านดักแด้ (WD) ซึ่งได้ทำการปลูกรวบรวมไว้ในโรงเรือนอนุรักษ์

พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง ของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) ได้นำมาทำการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค Inter-simple sequence repeat (*ISSR*) โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 16 ชนิด พบว่า ไพรเมอร์ 11 ชนิด คือ $(CAC)_3GC$, $(GAG)_3GC$, $(CA)_6GT$, $(CA)_6AG$, $(AG)_7AA$, $(GA)_6CC$, $(GA)_6GG$, $(AG)_7AAG$, $(AG)_8C$, $(CA)_9A$ และ $CCCC(GT)_6$ สามารถสังเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจนและตรวจนับจำนวนแถบได้ โดยไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 127 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 124 แถบ คิดเป็น 97.64%

เมื่อนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่ได้จาก *ISSR* ไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด มาวิเคราะห์แบบรวมเพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากเดนโดรแกรม โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่มแบบ Hierarchical Cluster Analysis พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชวงศ์ขิงในสกุล Alpinia, Bosenbergia, Curcuma และ Kaempferia ได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 81%, 94%, 89% และ 78% ตามลำดับ

ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์**พริก**ที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร โดยการทดสอบพริก 8 พันธุ์ ได้แก่ พริกชี้ฟ้า พจ.01, พริกชี้ฟ้า พจ.05, พริกชี้ฟ้า พจ. 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูผลใหญ่ลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2, พริกขี้หนูสวน Bird Chili วางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ โดย Main plot คือวิธีทดสอบความแข็งแรงและ sub plot คือเวลาที่ทำการเก็บรักษา (6ครั้ง) วิธีทดสอบความแข็งแรงมีดังนี้ 1) วิธีเร่งอายุด้วยน้ำกลั่น (Accelerated Aging Test, AAT) 2) วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุด้วยสารละลายอิ่มตัว (Saturated Salt Accelerated Aging Test, SSAAT) 3) วิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity Test (EC) 4) วิธี Controlled Deterioration Test (CD) 5) วิธีเพาะความงอกปกติเป็น control โดยการทดสอบความชื้นก่อนเก็บ ความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้น ทำการทดสอบความงอกด้วยวิธี Top of paper และความแข็งแรงด้วยวิธีทั้ง 5 วิธี ที่ห้องอุณหภูมิ 5°C, 25°C, -10°C 3 เดือนต่อครั้ง และทดสอบความงอกและความแข็งแรง 6 ครั้ง ครั้งที่1 พฤศจิกายน 2556, ครั้งที่ 2 มีนาคม 2557, ครั้งที่ 3 กรกฎาคม 2557, ครั้งที่ 4 พฤศจิกายน 2557, ครั้งที่ 5 มีนาคม2558 และครั้งที่ 6 กรกฎาคม 2558 ตามลำดับ

โดยสุ่มมาทดสอบแต่ละครั้งสำหรับการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยวิธี vitrification ประมาณ 6 เดือน/ครั้ง ทดลองที่ห้องปฏิบัติการโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สำหรับผลการทดสอบเมล็ดพันธุ์พริกทั้ง 8 พันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ที่อุณหภูมิ 5°C, 25°C และ -10°C นั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆทั้ง 5 วิธีนั้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แม้เวลาผ่านไป พริกทั้ง 8 พันธุ์เปอร์เซ็นต์ความงอกส่วนใหญ่มีค่าลดลง พบว่าพริกมันดำมีความงอกดีมากแม้อุณหภูมิ 25°C สำหรับพันธุ์พริก พจ.01, พจ.05 และ พจ.07 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมีเปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มสูงทั้ง 3 พันธุ์ ในอุณหภูมิ 25°C แต่สำหรับอุณหภูมิ 5°C พบว่าพริก พจ.07 เปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มไม่สูงนัก (51-70%) พันธุ์ พจ.01 และ พจ.05 เมื่อเวลาผ่านไปยังมีความ

งอกที่ดีอยู่ (66-84%, 68-90% ตามลำดับ) และอุณหภูมิ -10°C เมื่อเวลาผ่านไป พจ.01 และ พจ.05 มีความงอกที่ดีอยู่ในช่วง 35-93% ส่วน พจ.07 อยู่ในช่วง 51-77% และพบว่าพริกห้วยสีทนมีเปอร์เซ็นต์ความงอกตั้งแต่แรกเริ่มน้อยกว่าพันธุ์อื่น และค่าความแข็งแรงพบว่าทุกพันธุ์เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC ให้ค่ามากกว่าวิธีอื่นๆในอุณหภูมิ 25°C ยกเว้นพันธุ์พิจิตร 05 ทดสอบด้วยวิธี CD มีค่ามากกว่าพันธุ์อื่นๆ สำหรับอุณหภูมิเก็บรักษาที่ 5°C พบว่าวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT มีค่าความแข็งแรงมากกว่าวิธีอื่นๆ สำหรับพันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 และพันธุ์เบิร์ดชิลลี่ เมื่อเวลาผ่านไป ทดสอบด้วยวิธี EC มีค่าความแข็งแรงมากที่สุด กล่าวโดยสรุปเมื่อเปรียบเทียบพบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพริกที่อุณหภูมิ 5°C, 25°C และ -10 °C พบว่าส่วนใหญ่ วิธี EC และวิธี CD เมื่อเวลาผ่านไปให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง และเมื่อทดสอบความแข็งแรงเป็นไปในทำนองเดียวกันคือ เมื่อเวลาผ่านไปวิธีทดสอบ EC (ที่ 25°C) ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงในทุกพันธุ์ ยกเว้น พจ.05 วิธี CD ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงมากที่สุด สำหรับ 5°C วิธี EC และ AAT ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด อุณหภูมิ -10°C วิธี EC และ CD ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด สำหรับการทดสอบความนำไฟฟ้า เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าพริกมันดำมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำสุดในทุกอุณหภูมิ สำหรับวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในสภาพเยือกแข็ง โดยวิธี vitrification โดยบรรจุเมล็ดพริกใน cryotube แช่ใน loading solution เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปแช่สาร cryoprotectant นำไป prefreezing ที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ทำการทดสอบการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว พบว่าเมล็ดพริก 8 ตัวอย่างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาทดสอบหาช่วงเวลาในการแช่สาร loading solution เป็นเวลา 0, 10, 20 นาที เพื่อดึงน้ำภายในเซลล์ แล้วจึงนำไปแช่สารละลาย PVS2 เป็นเวลา 30 และ60 นาที พบว่าเมล็ดพริกที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลวมีอัตราการรอดชีวิตเป็น 100% ทุกการทดลองและนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวพบว่าเมล็ดพริกสามารถรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวได้ และสามารถนำออกไปปลูกภายนอกได้ การเก็บรักษาพันธุกรรมในสภาพเยือกแข็งเป็นทางเลือกหนึ่งในการเก็บรักษาเมล็ดพริก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร**หนอนตายหยาก**เพื่อการอนุรักษ์ โดยนำชิ้นส่วนข้อของหนอนตายหยากมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS full-strengh ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดได้แก่ BA และ NAA เลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ เป็นเวลา 50 วัน พบว่า สูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดมากที่สุดคือสูตรที่ใช้ BA 10 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.55 ยอดต่อชิ้น เมื่อนำยอดเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองการเก็บรักษาโดยชะลอการเจริญเติบโตสูตร MS full-strength และสูตร MS half-strength ร่วมกับ Mannitol ที่ระดับต่างๆ กัน พบว่า สูตร MS half-strength ที่ไม่เติม Mannitol (0%) สามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด คือ 4.50 เดือน เมื่อพิจารณาปัจจัยร่วมระหว่างสูตรอาหาร MS full-strength และ MS half-strenght กับระดับความเข้มข้นของ Mannitol ที่ใช้ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสูตรอาหาร MS full-strength และ MS half-strenght อย่างไรก็ตาม สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองกระตุ้นให้เกิดรากไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทำให้ไม่สามารถทดสอบการย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรม**พืชวงศ์ขิง**โดยใช้เทคนิคชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ โดยเลือกตัวแทนจากพืชวงศ์ขิง 4 สกุล จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิงขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร พบว่า สามารถฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้สำเร็จ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Zingiber* spp. 3 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว และไพลปลุกเสก เมื่อทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร (MS full-strength หรือ MS half-strength ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับการเติม mannitol 0 1 หรือ 2%) พบว่า สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสภาพหลอดทดลองได้นาน 7-10 เดือน พืชวงศ์ขิงที่ผ่านการชะลอการเจริญเติบโตในอาหารสูตรทดลองสามารถมีชีวิตรอดและเกิดยอดใหม่ได้เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรฟื้นฟู เมื่อนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 70-90 และสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

ศึกษาวิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร) โดยใช้เทคนิค Cryopreservation โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ในระยะยาวโดยใช้เทคนิค Cryopreservation การทดลองนี้แบ่งเป็น 3 การทดลอง ประกอบด้วย การทดลองที่ 1 การใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือ พืชวงศ์ขิง 2 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร ปัจจัย B คือ ความเข้มข้นในการทำ osmotic dehydration มี 4 ระดับ ได้แก่ sucrose 0, 0.2, 0.4, และ 0.8 M รวม 8 กรรมวิธี การทดลองที่ 2 การศึกษาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตรเมื่อแช่ในสารละลาย PVS2 /PVS3 โดยใช้เทคนิค วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ขมิ้นอ้อย + PVS2 2) ขมิ้นอ้อย + PVS3 3) ว่านทิพยเนตร+ PVS2 และ 4) ว่านทิพยเนตร+ PVS3 และการทดลองที่ 3 การใช้เทคนิค Encapsulation/vitrification ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร ผลการทดลอง พบว่า การเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรเพื่อการอนุรักษ์ โดยใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration, Vitrification และ Encapsulation/vitrification ทั้ง 3 วิธีนี้ เมื่อนำปลายยอดของพืชทั้งสองชนิด คือ ขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) มาปลูกเพื่อประเมินความมีชีวิต พบว่า ปลายยอดดังกล่าวไม่สามารถมีชีวิตและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ปลายยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและกลายเป็นสีดำตายไป แต่ในการเก็บรักษาโดยวิธี Encapsulation/vitrification ปลายยอดของขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรยังมีชีวิตอยู่แต่ไม่พัฒนาไปเป็นต้นอ่อนหรือแคลลัส ซึ่งให้ผลแตกต่างกันกับการเก็บรักษาปลายยอดโดยใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration ที่พบว่า ปลายยอด (bead) ที่นำมาเลี้ยงนั้นมีชีวิตอยู่ประมาณ 1 สัปดาห์ โดยมีลักษณะสีเขียวอ่อน หลังจากนั้น 1 เดือน พบว่าปลายยอด (bead) ตายมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลคล้ำ (browing) ไม่สามารถเจริญเติบโตและมีชีวิตรอดอยู่ได้

ศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์**กวาวเครือขาว**ที่เหมาะสมในสภาพปลอดเชื้อ โดยการให้มีการเจริญเติบโตอย่างช้าๆ (slow growth) และการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) ทำการศึกษาวิธีการเก็บรักษาโดยให้เจริญเติบโตแบบช้าๆ โดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง 1/4MS, 1/2MS และ MS ร่วมกับสารชะลอการเจริญเติบโต manitol 0, 10 และ 20 กรัม/ลิตร จัดสิ่งทดลองด้วยวิธีแฟคทอเรียล 3x3 ในแผนการทดลองแบบสุ่มโดยตลอด จำนวน 15 ซ้ำ พบว่าอาหารสูตร MS+ IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS+ IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l สามารถเจริญเติบโตได้นาน 3-4 เดือน และสามารถนำออกปลูกได้ในสภาพโรงเรือน การศึกษาวิธีการเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพเยือกแข็งด้วยวิธี encapsulation – vitrification พบว่าปลายยอดยังไม่สามารถรอดชีวิตได้

การเก็บรักษาพันธุ์**เท้ายายม่อม**ในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม 2 วิธี ได้แก่ การเก็บรักษาโดยทำให้เจริญเติบโตอย่างช้าๆ (slow growth) และเทคนิคการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) พบว่าการเก็บรักษาแบบทำให้เจริญเติบโตอย่างช้าๆ โดยการลดความเข้มข้นสูตรอาหาร 1/4MS, 1/2MS และ MS ร่วมกับสารชะลอการเจริญเติบโต manitol 0, 10 และ 20 กรัม/ลิตร ในเนื้อเยื่อส่วนใบสามารถเจริญเติบโตเป็น ต้น ราก และหัวสะสมอาหาร ได้ดีกว่าเนื้อเยื่อโคนใบ และโคนต้น สามารถนำออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้ หลังเพาะเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 6-7 เดือน สำหรับการเก็บรักษาเมล็ดเท้ายายม่อมในสภาพเยือกแข็งโดยนำเมล็ดเท้ายายม่อม อายุ 1, 2 และ 3 ปี แช่ในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 0, 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดเท้ายายม่อมที่แช่ในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 40 – 60 เปอร์เซ็นต์

การอนุรักษ์พันธุ์**องุ่น**ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการศึกษาสูตรอาหารพื้นฐานที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่น จำนวน 27 พันธุ์ ที่รวบรวมได้จากแหล่งปลูกต่างๆ ในประเทศไทย อาหารสูตรพื้นฐานจำนวน 5 สูตร ที่ใช้ได้แก่ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BA (MS+BA) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม Kinetin (MS+K) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร 1/2MS ที่เติม BA และ NAA (1/2MS+BA+NAA) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Woody Plant Medium (WPM) และอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Chee&Pool (C2D) โดยใช้ชิ้นส่วนตาข้างองุ่นชักนำให้เกิดต้นอ่อน เปรียบเทียบความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก บันทึกผลที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร C2D มีแนวโน้มเหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นสูงที่สุดจำนวน 20 พันธุ์ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS+BA และ 1/2MS+BA+NAA เหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นจำนวน 15 พันธุ์ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS+K และ WPM เหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นจำนวน 9 และ 8 พันธุ์ ตามลำดับ ส่วนการนำออกปลูกยังไม่ประสบผลสำเร็จต้องทำการศึกษาต่อไป

นรีรัตน์เป็นพืชถิ่นเดียวของไทยพบได้เฉพาะที่ดอยตุง จ.เชียงราย ปัจจุบัน IUCN ได้จัดสถานภาพให้อยู่ในระดับพืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ จึงได้นำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ในการเพิ่มจำนวนประชากรเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมพืชชนิดนี้ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มปริมาณต้นนรีรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาวิธีการและชิ้นส่วนที่เหมาะสำหรับฟอกฆ่าเชื้อนรีรัตน์ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดนรีรัตน์โดยการนำฝักแก่จุ่มแอลกอฮอล์ 95% และผ่านไฟ 3 ครั้งแล้วเคาะเมล็ดออกมาเพาะเลี้ยง จะทำให้ได้ชิ้นส่วนที่

ปลอดเชื้อและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 50% และการทดลองแปรผันความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของต้นนรีรัตน์เพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อคือ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม IBA 0.5 มก./ล. สร้างจำนวนยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 11.4 ยอด/ชิ้นส่วน ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IBA พบว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อ

ชาฤษีดอยตุง เป็นพืชหายากถิ่นเดียวของไทย วงศ์ Gesneriaceae จำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ โดยนำตัวอย่างต้นชาฤษีดอยตุงจากแหล่งธรรมชาติมาศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อฝักของชาฤษีดอยตุง 3 วิธี คือจุ่มผักในแอลกอออล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ, บิดฝักเคาะเมล็ดใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และบิดฝักเคาะเมล็ดใส่ในสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 5% พบว่าวิธีจุ่มฝักในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อบิดฝักเคาะเมล็ดใส่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 5% และเขี่ยเมล็ดเลี้ยงบนอาหารเป็นวิธีที่เหมาะสม ทำให้ได้เนื้อเยื่อที่ปลอดการปนเปื้อนของเชื้อ 50 % การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณ โดยนำชิ้นส่วนใบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารกรดแนพทาลีนแอซิติก (NAA) ร่วมกับสารเบนซิลอะดีนิน (BA) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 mg/l พบว่าใบชาฤษีดอยตุงที่เลี้ยงบนอาหารเติมสาร NAA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 2.48 ยอด และสามารถเพิ่มขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อได้ดีกว่าการใช้สาร BA ร่วมด้วยซึ่งจะทำให้เกิดเป็นพุ่มยอดขนาดเล็กไม่สมบูรณ์ สำหรับการเลี้ยงยอดที่สมบูรณ์บนอาหารสูตร *MS และ ½ MS ร่วมกับการเติมสาร* NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 mg/l พบว่าการเลี้ยงยอดบนอาหาร *½ MS* จะชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าเลี้ยงบนอาหาร MS หรือการใช้ NAA ความเข้มข้นต่างๆ

ปอแก้วไทยเป็นพันธุกรรมพืชชนิดหนึ่งที่เก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร แต่เนื่องจากมีปริมาณน้ำมันภายในเมล็ดสูงเฉลี่ยถึงประมาณ 24 เปอร์เซ็นต์ จึงประสบปัญหาในการเก็บรักษาเพราะเมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพเร็ว ส่งผลให้การอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ต้องอาศัยขั้นตอนการปลูกฟื้นฟูต่ออายุ และสิ้นเปลืองเวลาตลอดจนงบประมาณ ด้วยเหตุนี้ จึงศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งสามารถลดขั้นตอนการนำเมล็ดออกไปปลูกฟื้นฟูต่ออายุ งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยและศึกษาผลการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาพเยือกแข็ง ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างเดือนตุลาคม 2556 - กันยายน 2558 ประกอบด้วย 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน วางแผนการทดลองแบบ Split split plot design จำนวน 4 ซ้ำ Main plot เป็นพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ คือ ขก.50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ Sub plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ด คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ Sub-subplot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0 และ 7 วัน ผลการทดลอง พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ขก.50 ที่มีความชื้น 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น แต่เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์โนนสูง 2 และพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นช่วง 4 - 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลง สำหรับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์มีความแข็งแรงไม่

แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีความงอกและความแข็งแรงไม่แตกต่างกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาพเยือกแข็ง วางแผนการทดลองแบบ Split split plot design จำนวน 4 ซ้ำ Main plot เป็นพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ คือ ขก. 50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ Sub plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ด คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ Sub-subplot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0 6 และ 12 เดือน ผลการทดลอง พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ที่มีความชื้นในเมล็ดช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน เมล็ดมีความงอกและความแข็งแรงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้น เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเริ่มต้น สำหรับความแข็งแรงของเมล็ด พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์**งาขี้ม้อน**ในสภาพเยือกแข็งได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างเดือนตุลาคม 2556-กันยายน 2558 โดยศึกษาระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองแรกเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน วางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 8 ระดับ ได้แก่ 10 (เริ่มต้น), 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์ และsub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 0 และ 7 วัน พบว่าสามารถเก็บรักษาได้ในทุกระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่าเดิมกับเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น แต่เมื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งคือ 3-8 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากยังคงความแข็งแรงได้เท่ากับความแข็งแรงเริ่มต้น การทดลองที่สองศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง วางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ main plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ จำนวน 8 ระดับ ได้แก่ 10(เริ่มต้น), 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์ sub plot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา 3 ระดับ ได้แก่ 0, 6 และ 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งระดับความชื้นที่เหมาะสมคือ 3-7 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือนนั้น ยังคงความมีชีวิตและความแข็งแรงได้เท่ากับความมีชีวิตและความแข็งแรงเริ่มต้น ในขณะที่การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ เริ่มมีความมีชีวิตและความแข็งแรงลดลงภายในระยะเวลา 12 เดือน แต่เมื่อมีระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 7-10 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 6 เดือนมีการสูญเสียความมีชีวิตและแข็งแรง

ถั่วเหลือง และ**ถั่วลิสง**จัดได้ว่าเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย แต่เนื่องจากเมล็ดพืชน้ำมันมีอายุการเก็บรักษาสั้น การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ให้คงความมีชีวิตถือเป็นกิจกรรมที่จำเป็นประการหนึ่งในวงจรการเพาะปลูก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเพื่อการอนุรักษ์ในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งเป็นเทคนิคของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์อีกวิธีหนึ่งเนื่องจากเป็นการหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลายและแบ่งเซลล์โดยสิ้นเชิง ทำให้ไมมีการเสื่อมชีวิต และไมมีความจำเป็นที่จะต้องนำเมล็ดไปปลูกเพื่อสืบเชื้อพันธุ์ในช่วงเวลาของการอนุรักษ์พันธุ์เป็นการลดต้นทุนในการอนุรักษ์ ลดปัญหาอันเนื่องจากการกลายพันธุ์ การผสมข้ามหรือข้อผิดพลาดจากการปฏิบัติงาน และลดความเสี่ยงในการเก็บอนุรักษ์ในรูปของเมล็ดพันธุ์ในห้องอนุรักษ์ (5 และ -10 องศาเซลเซียส) อันเนื่องมาจากหากเกิดปัญหาขัดข้องเกี่ยวกับระบบทำความเย็นอาจส่งผลทำให้เมล็ดพันธุ์ที่อนุรักษ์เกิดความเสียหายได้ การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเยือกแข็งจัดเป็นเทคนิคขั้นสูงแต่ในแง่ปฏิบัติไม่ยุ่งยากซับซ้อน ในปัจจุบันมีเมล็ดพันธุ์มากกว่า 120 ชนิด (species) ผ่านการทดสอบโดยพบว่าเมื่อผ่านการเก็บในสภาพเยือกแข็งแล้วนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิปกติเมล็ดสามารถงอกได้อย่างปกติ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์พืชและความชื้นในเมล็ดซึ่งต้องการการปฏิบัติที่แตกต่างกันไป ในการทดลองนี้ได้ศึกษาความชื้นที่เหมาะสมก่อนนำไปเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง โดยนำถั่วเหลืองและถั่วลิสงไปเก็บไว้ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลานาน 7 วัน พบว่า **ถั่วเหลือง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองทุกพันธุ์มีค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยต่ำกว่าที่ระดับความชื้น 10, 8 และ 6 ตามลำดับ ส่วน**ถั่วลิสง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์ถั่วลิสงทุกพันธุ์มีค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยต่ำกว่าที่ระดับความชื้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง และถั่วลิสง ภายใต้สภาพเยือกแข็งที่ระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน พบว่า **ถั่วเหลือง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ส่วน**ถั่วลิสง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มของค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ตลอดการเก็บรักษานาน 12 เดือน โดยที่ถั่วลิสงพันธุ์ KKFCRC49-80-3 มีค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ

Abstract

Correlation of Moisture content, seed size and optimum temperature of **Pepper** (Capsicum annuum L.) seeds for conservation in DOA Genebank was studied. The experiment was conducted at DOA Genebank, Genebank Research and Development Group. Pijit 27-1-2-1 (P) and Huaysiton SK1 (H) was plant in Sukhothai Horticultural Research Center. The experiment was arranged as split plot design in 4 replications which main plot was arranged treatment 4x2 Factorial in RCB by factor I was % Moisture Content (MC) 4 level (Control, 8, 6 and 4 %) factor II was seed size (P and H), sub plot was time storage. The seeds were collected in 25, 5° C (medium term storage room), -10° C (long term storage room), in aluminium foil and vacuum system in the same period for collecting in DOA Genebank.

Sampling every months for Germination Test (TP) for 5, 25° C. For -10° C and Moisture Content test (air oven method) and Germination Index Test in every 6 months was done.

It is found that 25 months storage time had effected difference highly significant in germination test by decreasing rapidly in 25°C room storage, at control MC, but at 4 % MC % germination test was 86.4, 86.3 but for 5°C and -10°C every MC showed germination still

remain. Totally, H had lower germination than P. Seed vigor by germination Index Test showed the same trend with Germination test at 25°C and H showed less vigor than P. MC still remaining status after collected the seeds reach 25 months. Seed size (Thickness, width, length and 1,000 seeds weight) had no effected for preservation in every temperature and moisture content.

Sunflower is one of the most important industrial crops of the country due to its high nutritional value. Unfortunately, the number of products from sunflower is likely to be decreasing because of the two main factors that are environmental problem and lack of cultivating area. Another main factor causing the decrease of sunflower production is that most seeds are hybrid types so they need to be imported from other countries. In order to conserve sunflower germplasm, DOA Genebank should realize how precious and important they are. In addition, the genebank curators should learn how to conduct the long term storage of sunflower germplasm whilst maintain their high viability so that they can be used as genetic materials for crop improvement by using several methods. Sunflower seeds used in this experiment were reduced their moisture content to 8, 6 and 4 percent respectively by using seed drying room (25 C, 15 %RH). Seeds were packed in vacuum aluminum foil bags then were stored at room temperature, 5 C and -10 C respectively. Percent of germination of each sample was monthly recorded for 27 months. The result showed that the average germination of seeds with 4 and 6 percent moisture contents and stored at room temperature were 86 and 82, respectively. They can be stored for 27 months. The average germination of sunflower seeds with every moisture content and stored at 5 C and -10 C were found in the range of 86-89 and 87-90 respectively. They were likely to be stored for longer than 27 months.

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.*)* is a multipurpose crop species which can be used as food, medicinal and industrial applications. It is an important utilized crop, and through additional research involving genetic resources, has a high potential for further expansion and development. Safflower is an oilseed with short longevity. Moisture content (MC) and storage temperature are two key factors affecting the longevity of seeds. In this study, effects of 4 MC levels (12%, 8%, 6% and 4%) with 3 storage temperature (ambient, 5°C and -10°C) were examined. The study revealed that seed contained 12% moisture and stored in ambient temperature could be stored less than 2 months. Seed with 8%, 6%, 4% MC can be stored at ambient temperature for 9, 18 and 27 months respectively. Storage temperature at 5°C and -10°C showed longer storage time which was 27 months with constant average germination percentage. Therefore, it can be concluded that

safflower seeds with high moisture content can not be stored at ambient temperature while decreasing moisture content can extend storage time. Moreover, storage at 5 and -10 °C can prolong seed longevity without moisture content reduction require.

Castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds are oil plant which contains between 40 % and 60% crude oil cause to can't keep for long term storage. This experiment study factor which effect to seed longevity at Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture. This study has 3 sub-experiment according to temperature storage of room-temperature (25-35°C), 5°C and -10°C and used Split plot in RCB design, 4 replications. The main plot is seed moisture content for 3 levels at 8%, 6% and 4% and sub-plot is storage times for 28 levels at 0-27 months. The percent of germination are recorded in every month. The seed moisture content has effect storage times in highly significant. In every storage time , the optimum seed moisture content is 4-6 %.The temperature room can stored about 2-3 months to germinated 70 %, at 5°C about 9 months to germinated 80% and about 2 yrs to germinated 70% and -10°C about 14 months to germinated 80% and about 2 yrs to germinated 70%.

Seed moisture content (MC) is a significant factor affecting loss of viability especially new harvesting seeds. Low temperature drying room is one of the good alternatives used to reduce MC without any harms from the heat. This type of **drying room** of Department of Agriculture's Genebank (DOA's Genebank) has 25 °C and 15%RH. At present, data of optimal seed drying period is needed for plant germplasm conservation. This research was conducted to study the effect of seed drying period on seed viability of mungbean, roselle, maize, wheat, sunflower, rice, cowpea, pigeon pea, cotton, Job's tears, kenaf, jute, Chinese cabbage and barley. RCB (Randomized Complete Block) design with 4 replications was applied as research methodology. Treatment was drying period (0 day – 30 days). The results showed that MC of mungbean, roselle, maize, wheat, sunflower, rice, cowpea, cotton, Job's tears, kenaf, jute, Chinese cabbage and barley seeds dramatically declined within the first week of seed drying; meanwhile, MC of pigeon pea seeds declined after entering the 4th week. Percent of germination of maize, wheat, sunflower, barley and Chinese cabbage seeds did not change. Percent of germination of mungbean, roselle, Job's tears, kenaf and jute seeds showed stable value. Percent of germination of pigeon pea, cowpea and cotton seeds decreased; whilst, percent of germination of rice seeds increased. In addition, this research study found that MC and percent of germination of chilli and tomato seeds cannot be predicted due to the fluctuation

during drying process. Besides, after 30 days of seed drying, almost all kinds of seed maintained 80% of germination which is appropriate and acceptable for genebank standard.

Impatiens sirindhorniae and ***Zingiber sirindhorniae***, two new species whose names were given by Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn, are classified as rare and endemic species of Thailand. Therefore, this research tried to apply tissue culture techniques to multiply and conserve the two species. *In vitro* multiplication of *I. sirindhorniae* and multiplication and growth minimization of *Z. sirindhorniae* was studied using various concentrations of factors such as plant growth regulators (auxin and cytokinin), media and sucrose. The results indicated that the highest shoot number of *I. sirindhorniae* (5.9 shoots per explant) was obtained from MS basal medium supplemented with 3 mg/L BA and 1 mg/L NAA but no difference found between NAA added and non-NAA media. Shoot multiplication of *Z. sirindhorniae* showed the highest shoot number (9 shoots per explant) in MS basal medium contained 5 mg/L BA and 2 mg/L IAA. 1/4 MS and 1/8 MS, both contained 15 g/L of sucrose, were found as suitable media for *in vitro* growth minimization of *Z. sirindhorniae* as they gave the same survived rate after 12 months of culture without subculturing.

Trisepalum bhumiboliana *and* ***T. sangwaniae*** are endemic species which are categorized in family of Gesneriaceae. They can be only found in Thailand especially in the area of Tak and Chiangrai province, respectively. Hence, the study on germplasm multiplication by using *in vitro* propagation technique is extremely necessary. This study showed that appropriate sterilization for this species can be done by immersing mature seed capsules in 95 % ethanol then followed by burning the outer surface of capsules. This sterilization method resulted in 55.55% and 75% non contamination, respectively. Shoot multiplication was also conducted in this study. The microplants from culture of sterilized seeds were transferred to MS medium supplemented with 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and Benzyladenine (BA). The result showed 0.1 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l BA caused average vigorous shoot at 12.1 in *T. bhumiboliana*. The result of *T. sangwaniae* showed that adding only 1 mg/l 2,4-D to the medium enhanced vigorous shoot induction more than adding of both 2,4-D and BA. In addition, *T. sangwaniae* was transferred to MS media supplemented with Indole-3-butyric acid (IBA). Shoot regeneration and multiplication was maximum on MS medium with 0.5 mg/l IBA. Root induction was also done. The result showed that WP medium caused average root at 8.87 and average root length at 3.98 cm. This medium formula induced root amount

better than MS medium did. 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, 1/2 MS, 1/4 MS and 1/8 MS. The plants could survive on 1/2 MS until 1 year and were still vigorous.

***Aristolochia baenzigeri* B.Hansen & Phuph** and ***Aristolochia helix* Phuph** are identified as endemic plant and rare species of Thailand. *A. baenzigeri* is rarely found at Mae Hong Son province, and *A. helix* is also rarely found at Phangnga province. Reduction of this rare species are occurred by the ecological changed. To conserve this rare species they were propagated *in vitro* in the laboratory. Seeds of *A. baenzigeri* was sterilized twice by 15% and 5% sodium hypochlorite for 20 and 30 minutes, respectively. Seeds of *A. helix* was sterilized twice by 15% and 10% sodium hypochlorite for 10 minutes. Shoot induction was developed using MS medium complemented with 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 $mg.L^{-1}$ BA (6-Benzylaminopurine) and 0.5, 1.0, 1.5 $mg.L^{-1}$ NAA (Napthaline acetic acid). Shoot induction of *A. helix* was significantly increased with completely plant type on the MS medium complemented with 1 $mg.L^{-1}$ BA and 0.5 $mg.L^{-1}$ NAA for 3.13 shoots per clump. Unfortunately, *A. baenzigeri* was not responded to the developing medium, and they died after treatment. The plantlets of *A. helix* were transferred to MS medium and then were conserved for 4 months before sub-culturing.

Onion plant (*Crinum thaianum* J.Schulze) is one of the Amaryllidaceae Family. It is an aquatic plant, and it is identified as endemic plant species of Thailand. Found in 2011, it was grown at Ranong province and it was rarely observed at Phangnga province in 2012. To conserve this rare species, it was propagation *in vitro* in the tissue culture laboratory. Sterilization of bulbs of the Onion plants were optimized. They were washed under running tap water for one hour. They were firstly sterilized by 30% sodium hypochlorite (NaOCl) for 30 minutes, and then were secondly sterilized by 15% sodium hypochlorite for 30 minutes. They were also thirdly sterilized by 5 : 1 Povidone–Iodine : double distilled water for 30 minutes. This method could be increase survival plants to 60% . Bulblet propagation was developed using MS medium complemented with 0, 1, 5, 10, 15 and 22 µM BA (6-Benzylaminopurine). The propagation rate was highly increased on the MS medium complemented with 15 µM BA for 45% bulblets and 70% rootlets. Regeneration medium was developed using MS medium complemented with 15 and 30 $g.L^{-1}$. sucrose or 100 and 150 $ml.L^{-1}$ coconut water. The regeneration was highly increased on the MS medium complemented with 15 $g.L^{-1}$ sucrose and 100 $ml.L^{-1}$ coconut water for 68.75% plantlets and 100% rootlets.

Fern is a group of plant that is widely used especially as ornamental plant. Illegal trade of wild ferns have increased the risked of fern diversity lost. This research attempted

to develop fern spore conservation method for Department of Agriculture's Genebank. Six species of fern which are *Blechnum orientale*, *Bolbitis sinensis*, *Cibotium barometz*, *Diplazium esculentum*, *Pityrogramma calomelanos* and *Platycerium coronarium*, were selected for studies. The resulted showed that spore of *B. orientale C. barometz* and *P. coronarium* could be sterilized using 10 % Clorox solution for 10 minutes. While sterilization method using 2 % Clorox solution for 10 minutes was employed for *P. calomelanos*. Suitable media for spore germination test was MA agar. Storage at 5°C showed highest germination percentage of *C. barometz* and *P. coronarium* spores while spores of *B. orientale* and *P. calomelanos* from -10°C storage showed their highest germination percentage. However, spores of *B. sinensis* and *D. esculentum* did not germinate in any test. As factors related to spore longevity are greatly varied among fern species, further studies on surface sterilization, germination test method, germination media, temperature and moisture content are strongly recommended.

Study on Technique for seed vigour Test on ***Capsicum annuum*** (PJ01, PJ05, PJ07, Mondum, Huay Siton, Huareo no.13 and Superhot2) and *Capsicum frutescens* (Bird Chili) for conservation in DOA genebank. The Split plot design, 4 replications, main plot was seed vigour test and subplot was timing (November 2013, March 2014, July 2014, November 2014, March 2015, July 2015) were conducted in this experiment. The seed vigour test were 1. Accelerated Aging Test (AAT) 2. Saturated Salt Accelerated Aging Test (SSAAT), 3. Electrical Couductivity Test (EC) 4.Controlled Deterioration Test (CD) 5. Germination Test (Control). Moisture test (oven method), germination test and seed vigour test at the beginning were done. Top of paper was used in the germination test and seed vigour test (5methods). Collecting the seeds in 5°C, 25°C and -10°C conserved room of DOA Genebank, sampling for the germination test and seed vigour test every 3 months. It was found that the germination percentage and seed vigour (5methods) of 8 varieties of chili were significantly different at the 5% level by DMRT even the 6th test.

The Germination percentage has mostly decreased, Mondum have shown highly value of germination percentage even 25°C storage. PJ01, PJ05 and PJ07 have found that the 1st test, the germination test is quite high in 25°C storage but PJ05 in 5°C storage the germination test was not high at 1st test (51-70%). The collected seeds PJ01 and PJ05 in 6th test, the germination percentage still have a good result (66-84% and 68-90%), respectively. For -10°C storage, in 6th test PJ01 and PJ05 was shown 35-93% of germination percentage and PJ07 was shown 51-77% of germination percentage. The germination percentage of

Huay Siton was low at the at 1st test. For Seed vigour Test found that every varieties (by EC Test) were shown high value more than the others in 25°C storage excluding PJ05. For 5°C storage, AAT presented more vigour than the others. Huareo No13 and Bird chili in 6th test were shown that EC Method have the most vigorous. For the electrical conductivity test was found that Mondum has lowest in 5, 25, -10°C. It is concluded that EC and CD method appeared high in the germination percentage of conserved seed at 5°C, 25°C and -10°C in 6th test. And vigor test, EC at 25°C in 6th test give result high germination percentage in every samples (except PJ 05, CD is highest), for 5°C EC and AAT give result high in seed vigor, for -10°C EC and CD appeared high in seed vigor.

For the collecting the seed in -196°C in liquid Nitrogen (the experiment at The HRH Princess Maha Chakri Sirindton Plant Genetic Conservation Project (RSPG)) by the vitrification method, the seeds were packed in cryotube soaking in loading solution 20 minutes, soaked in cryoprotectant and then prefreezing at 0°C in 60 minutes and collected in LN. And then the germination test of 8 varieteis which through the process of cleaning the seeds, to find out the suitable time for soaking loading solution (0, 10,20 minutes for losing the water inside the cells), after that soaking PVS2 for 30 and 60 minutes, found that the seed which not soak in LN still germinate 100% in all and when collected the seeds in LN was found that the seed can survive and grow out for planting outside. The collecting the seeds in the LN was one of The PGR conservation.

In vitro conservation of micropropagation ***Stemona* sp.** cultures was studied. Nodal segments containing axillary bud were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with a combination of BA and NAA, and maintained at a temperature of 25±2 °C, 16 hours per day photoperiods for 50 days. The highest number of shoots (2.55 shoots per explant) was obtained on the MS medium with a combination of 10 mg/l BA and 0.25 mg/l NAA. The individual shoot was then transferred onto full-strength MS (MS) or half-strength MS (1/2MS) salts plus 30 g/l sucrose with various concentrations of mannitol for minimal growth induction of plants. It was found that the minimal growth of plantlets was best achieved on 1/2MS containing mannitol free. Moreover, the plantlets could survive on the average of 4.5 months. Although, there was no statistical difference on the concentration level of mannitol, ~~but~~ a statistically significant difference between MS and 1/2MS was observed. However, the treatments in root growth experiment could not induce the root elongation. Therefore, the plantlets could not be moved to the greenhouse for further testing.

In vitro conservation of 10 species in 4 genus of **Zingiberaceae** was conducted, genus *Zingiber*: Pli (*Zingiber montanum* (J. König) Link ex A. Kietr), Pli kwao (*Zingiber* sp.), Pli chompu (*Zingiber* sp.) and Pli pluk sak (*Zingiber* sp.); genus Alpinia: Kha Ling Khing Hang; genus Curcuma: white turmeric (*Curcuma manga* Valeton & Zijp), turmeric (*Curcuma longa* L.) and wan-maha-mek (*Curcuma aeruginosa* Roxb.); genus Kaempferia: wan-kra-chaea-chan (*Kaempferia* sp.) and wan-thipya-nate (*Kaempferia rotunda* L.). There were eight species: genus *Zingiber*, Pli (*Zingiber montanum* (J. König) Link ex A. Kietr), Pli kwao (*Zingiber* sp.) and Pli pluk sak (*Zingiber* sp.); genus Curcuma, white turmeric (*Curcuma manga* Valeton & Zijp), turmeric (*Curcuma longa* L.) and wan-maha-mek (*Curcuma aeruginosa* Roxb.); genus Kaempferia, wan-kra-chaea-chan (*Kaempferia* sp.) and wan-thipya-nate (*Kaempferia rotunda* L.), which could be successfully sterilized and cultured. The experiment was done by transferring the individual shoot onto 12 formula (MS or 1/2MS + 3% or 9% sucrose + 0-2 % mannitol). The eight species could be maintained in those media for 7-10 months without subculturing. The result showed that survival plantlets from minimal growth media could regenerate new shoots after subculturing onto the recovering formula media. The plantlets were further moved to be planted in a greenhouse. It was found that a survival rate of the plantlets is 70-90%, and normal growth was clearly observed.

Grapevine (*Vitis vinifera* L.) conservation by using the tissue culture technique. Study on basal salt medium in 27 cultivars grapevine that collected from different source in Thailand. The 5 different media are Murashige and Skoog (1962) supplemented with BA (MS+BA), MS supplemented with Kinetin (MS+K), half-strength MS supplemented with BA and NAA (1/2MS+BA+NAA), Woody Plant Medium (WPM) and Chee&Pool Medium (C2D). The Axillary buds of grapevine cultivars were used to establish shoot and then compared the result with shoot length, number of node, number of shoot, shoot proliferation and root formation after 4 weeks. For C2D medium trend to show a good result with 20 cultivars, MS+BA and 1/2MS+BA+NAA formula resulted in equivalent are suitable for the grapevine 15 cultivars while MS+K and WPM gave the results for the grapevine 9 and 8 cultivars respectively. However, the acclimatization for transplant especially planting material should be forward study.

Petrocosmea pubescens is an endemic species of Thailand, found only on Doi Tung, Chiang Rai province. According to IUCN, this species has been classified as Vulnerable. Therefore, this research tried to apply tissue culture techniques to multiply and conserve this species. This research is conducted by studying sterilization method and parts of plant

which are suitable for *in vitro* multiplication. The result showed that sterilization by dipping pod of *P. pubescens* in 95% ethanol then quickly moved the pod over flame for 3 times before culture seed on media was the most effective method as it resulted in 50% sterilized seed that could germinate and complete its growth. Various concentrations of plant growth regulators (auxin and cytokinin) were also examined. The results indicated that after 3 months of culture, the highest shoot number of *P. pubescens* (11.4 shoots per explant) was obtained from MS basal medium supplemented with 0.5 mg/L IBA while the media supplemented with BA and IBA were found to have no effect on increasing number of shoot.

Paraboea doitungensis, an endemic species categorized in Gesneriaceae family, can be found only in Chiangmai province of Thailand. The study on germplasm multiplication by using *in vitro* propagation technique was done in this research. The result showed that appropriate sterilization for this species is immersing mature seed capsules in 95% ethanol followed by burning the outer surface of the capsules. Seeds inside capsule can be sterilized by dipping them in 5% hydrogen peroxide (H_2O_2) and excised seeds were aseptically transferred to MS medium. It was found that this sterilization method can prevent materials from contamination up to 50%. Apart from sterilization technique, shoot multiplication was also conducted in this research. The microplants from leave culture were transferred to MS medium supplemented with Naphthalene acetic acid (AAA) and Benzyladenine (BA). The result showed that adding only 0.1 mg/L NAA induced average number of vigorous shoots at 3.48. Root induction from cultures of those vigorous shoots was also done by transferring them to MS and ½ MS medium supplemented with NAA. The result showed that ½ MS medium supplemented with NAA better induced average number of root and average root length namely 7.29 and 6.62 cm. respectively.

Roselle is one of the plants conserved in Department of Agriculture's Genebank (DOA's Genebank). Due to high oil content found in seed, roselle tends to loss its viability and becomes a big challenge for curators in storage process of plant germplasm particularly regeneration which wastes high budgets each year. Consequently, study on cryopreservation of roselle was conducted to find out an optimum seed moisture content (MC) and to study an effect of storage period on seed viability under cryopreservation condition. This research study was done at seed laboratory and seed storage sector belonging to DOA's Genebank from October 2013 to September 2015 and was divided into 2 experiments: 1) Optimum seed moisture content of roselle for 0 – 7 day cryopreservation. Split split pot design with 4 replications was used as research methodology. Main plot were 3 varieties; Khon Khaen 50

(KK50), Nonesung 2 and Pordaeng Chaiyapoom. Sub-plot were MC levels; 4%, 6%, 8% and 10%. Sub – subplot were storage periods; 0 day and 7 days. The result showed that percent of seed germination and vigor of all varieties with all MC levels after 7 day storage did not differ from those at 0 day storage. 2) Effect of storage period on seed viability under cryopreservation condition at 0, 6 and 12 months. Split split pot design with 4 replications was used as research methodology. Main plot were 3 varieties; Khon Khaen 50, Nonesung 2 and Pordaeng Chaiyapoom. Sub-plot were MC levels; 4%, 6%, 8% and 10%. Sub – subplot were storage periods; 0 month, 6 months and 12 months. The result showed that roselle seeds with 4 – 6 percent of MC tended to have low germination after 12 month storage under cryopreservation condition. When seeds were stored under room temperature condition, it was founded that germination of Pordaeng Chaiyapoom seeds with 10 percent of MC after 12 month storage decreased. In addition, it was also founded that vigor of KK50 seeds with 10 percent of MC and Pordaeng Chaiyapoom seeds with 8 and 10 percent of MC decreased after 12 month storage under room temperature condition.

Cryopreservation of ***Perilla frutescens*** **L. Britton** Seed was studied at Biotecnology Research and Development Office in during October 2013-Sebtember 2015. This research was studied on seed moisture content (%) which the main factor for seed storage life. The research was divided into two experiments. The first experiment was Cryopreservation 7 days and Split plot design was laid out with 4 replications. The main plot was seed moisture content(%) had 8 levels : 10 (started)), 9, 8, 7, 6, 5, 4 and 3 . The sub plot storage of time had 2 levels: 0 and 7 days. The result show that all moisture content (%) of Perilla Seeds can storage in Cryopreservation because they had viability equal to started viability but the optimum of moisture content (%) was 3-8 because they had seed viability equal to started seed viability. The second experimental was effect of time on seed cryoperservative. Split plot design was laid out with 4 replications. The main plot was seed moisture content(%) had 8 levels: 10 (started)), 9, 8, 7, 6, 5, 4 and 3. The sub plot storage of time had 3 levels: 0, 6 and 12 months. Experimental results showed that the optimum seed moisture content (%) on Cryopreservative was 3-7 because in 12 months the seeds remain viability and vigor equal to started but seed moisture content 6 % decreased viability and vigor in 12 months if storage in room temperature condition and in 6 months lost viability and vigor when the seeds had 7-10 % of moisture content.

การทดลองที่ 1 : ความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการ เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

: Correlation of moisture content, seed size and optimum temperature of Pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds for conservation in DOA Genebank.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์

ผู้ร่วมงาน : 1. นายพิทยา วงษ์ช้าง

: 2. นางสาวอัสนี ส่งเสริม

: 3. นางผกาวรรณ ควรประเสริฐ

: 4. นางสาวเสาวณี เดชะคำภู

: 5. นางสาวชลลดา สามพันพวง

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ (Key words)

ระดับความชื้น ขนาดเมล็ด อุณหภูมิ เมล็ดพันธุ์พริก การเก็บรักษา ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

moisture content seed size optimum temperature Pepper *Capsicum annuum* L. DOA Genebank

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา เมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร นำเมล็ดพริกพันธุ์ 27-1-2-1 และพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 ที่ผ่านการลดความชื้น 4 ระดับ Control, 8, 6 และ 4 % เก็บรักษาในซองอลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศแล้วแบ่งตามแผนการทดลอง และเก็บรักษาไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25, 5 และ -10 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ split plot design จำนวน 4 ซ้ำ โดย Main plot จัดเรียง ทรีตเมนท์ เป็น 4x2 Factorial in RCB โดยปัจจัยแรก คือ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์พริก (4 ระดับ) ปัจจัยที่ 2 คือ ขนาดเมล็ด และ sub plot คือ ระยะเวลาที่เก็บรักษา โดยสุ่มมาทดสอบความงอกทุกเดือนทำการเก็บรักษาพร้อมกันทุกอุณหภูมิ นำเมล็ดมาทดสอบความงอกด้วยวิธี TP (Top of Paper) ทุกเดือน (5, 25° C) สำหรับอุณหภูมิ -10° C ทดสอบความงอกทุก 6 เดือน ทดสอบความชื้นด้วยวิธี air oven method (ISTA, 2006) และทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี Germination Index Test ทดสอบทุก 6 เดือน พบว่าความงอกของพริกที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10° C พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ เมื่อเก็บรักษานานถึง

เดือนที่ 25 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิ 25° C ที่ระดับความชื้น Control แต่ที่มีความชื้น 4 % ความงอกยังอยู่ในระดับ 86.4, 86.3 % และเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5° C และ -10° C ทุกระดับความชื้น ความงอกยังดีอยู่ โดยรวมแล้วพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริก เมื่อทดสอบด้วยวิธีดัชนีความงอก พบว่าเมล็ดพริกที่เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 25° C เมื่อเวลาผ่านไปจะมีความแข็งแรงลดลงทั้ง 2 พันธุ์ สำหรับห้อง 5° C และ -10° C ที่ระดับความชื้น Control, 8, 6 และ 4 % เมื่อเวลาผ่านไปค่าความแข็งแรงก็ไม่ได้ลดลงไปนัก พบว่าพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 แข็งแรงน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความชื้นของเมล็ดที่เก็บรักษาไว้สามารถรักษาระดับความชื้นอยู่ได้ภายหลังที่เก็บรักษาถึง 25 เดือน และพบว่าขนาดของเมล็ดทั้งความหนา ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ไม่มีผลต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ และที่ความชื้นทุกระดับ

Abstract

Correlation of Moisture content, seed size and optimum temperature of Pepper (Capsicum annuum L.) seeds for conservation in DOA Genebank was studied. The experiment was conducted at DOA Genebank, Genebank Research and Development Group. Pijit 27-1-2-1 (P) and Huaysiton SK1 (H) was plant in Sukhothai Horticultural Research Center. The experiment was arranged as split plot design in 4 replications which main plot was arranged treatment 4x2 Factorial in RCB by factor I was % Moisture Content (MC) 4 level (Control, 8, 6 and 4 %) factor II was seed size (P and H), sub plot was time storage. The seeds were collected in 25, 5° C (medium term storage room), -10° C (long term storage room), in aluminium foil and vacuum system in the same period for collecting in DOA Genebank.

Sampling every months for Germination Test (TP) for 5, 25° C. For -10° C and Moisture Content test (air oven method) and Germination Index Test in every 6 months was done.

It is found that 25 months storage time had effected difference highly significant in germination test by decreasing rapidly in 25°C room storage, at control MC, but at 4 % MC % germination test was 86.4, 86.3 but for 5°C and -10°C every MC showed germination still remain. Totally, H had lower germination than P. Seed vigor by germination Index Test showed the same trend with Germination test at 25°C and H showed less vigor than P. MC still remaining status after collected the seeds reach 25 months. Seed size (Thickness, width, length and 1,000 seeds weight) had no effected for preservation in every temperature and moisture content.

บทนำ (Introduction)

พริกเป็นสิ่งที่ขาดไม่ได้ในอาหารไทย พริกถูกจัดให้เป็นพืชวัฒนธรรมอีกชนิดหนึ่งของคนไทยที่มีการใช้ประโยชน์ทั้งในแง่ของการบริโภคในเรื่องของเครื่องเทศสำหรับปรุงแต่งรสชาติ กลิ่นและสี ใช้เป็นพืชสมุนไพรและใช้ในพิธีกรรมต่างๆ เนื่องจากพริกเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารและยา มีสี รสชาติที่ไม่อาจใช้ผลผลิตจากพืชอื่นๆทดแทนได้ จึงทำให้พริกเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ในด้านการผลิตนั้นมีการเพาะปลูกมานานควบคู่กับชาติไทย เริ่มจากปลูกพริกในลักษณะสวนครัวหลังบ้านและต่อมาได้ปรับเปลี่ยนเป็นปลูกพริกเพื่อการค้า เพื่อผลิตพริกสดและพริกแห้ง สำหรับใช้ในการบริโภคและส่งโรงงานอุตสาหกรรมอาหารเพื่อแปรรูปออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ รวมถึงการผลิตเมล็ดพันธุ์พริกเพื่อส่งออกด้วย (ประชาคมวิจัย ,2007) พริก เป็นหนึ่งในชนิดพืช:เป็นพืชพันธุ์ใหม่ ที่ได้รับการคุ้มครอง ตามพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 จำนวน 26 พันธุ์ ได้แก่ พริกเผ็ด พริกยักษ์ พริกหวาน การเก็บรักษาและอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พริกซึ่งเป็นพืชผักชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นวัตถุดิบที่สำคัญ ในอุตสาหกรรมซอสพริก พริกดอง และพริกแห้งแม้แต่การบริโภคสด การปลูกพริกในประเทศไทยมีการเพาะปลูกกันในพื้นที่ทั่วไป และ มีพื้นที่การผลิตและผลผลิตรวมโดยเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นทุกปีแต่ปริมาณพริกที่ผลิตได้ ยังไม่เพียงพอตามความต้องการ ประกอบกับส่วนใหญ่มีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน ทั้งนี้เนื่องจากพันธุ์ที่ใช้ปลูกส่วนใหญ่เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่เกษตรกรนิยมเก็บเมล็ดพันธุ์เอง มีการปะปนพันธุ์สูง มีผลให้ในแต่ละปี ประเทศไทยต้องนำเข้าพริกแห้งจากต่างประเทศประมาณปีละ 30 ล้านบาท เนื่องจากพริกแห้งจากต่างประเทศมีคุณภาพดี เมล็ดน้อย เนื้อหนา สีสวย ไม่เผ็ดจัด และราคาถูกกว่าพริกในประเทศ (เฉลิมเกียรติ, 2536)

สำหรับความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์พริกมีความสำคัญในการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในธนาคาร เชื้อพันธุ์พืช โดยเฉพาะเมล็ดพริกโดยปกติมีความงอกค่อนข้างต่ำอยู่แล้วซึ่งมาตรฐานของประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518 และ พ.ศ.2549 ความงอกของพริก (capsicum) ทุกพันธุ์ต้องไม่ต่ำกว่า 55% ซึ่งน้อยกว่าพืชอื่นๆอยู่แล้ว

สำหรับการเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชไว้ใน gene bank และเป็นการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ไว้ อย่างดีแล้วถึงแม้กระนั้นก็ตาม Delouche et al., 1973 กล่าวว่า การเก็บรักษาที่ดีที่สุดก็ไม่อาจทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกและความแข็งแรงเพิ่มขึ้น อย่างดีก็แค่รักษาคุณภาพหรือชะลอการเสื่อมเท่านั้น ในการที่ จะเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้คงความงอกและความแข็งแรงได้นานอาจทำได้โดยการเก็บรักษาในห้องที่มีอากาศแห้งหรือมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ สามารถควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำอยู่เสมอ และเก็บรักษาโดยการบรรจุในภาชนะ ที่ปิดได้สนิทและสามารถป้องกันการรั่วไหลของอากาศได้ (Harrington, 1959) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานหรือไม่เพียงไรนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยชนิดของพืช เมล็ดพันธุ์พืชบางชนิดเก็บได้นาน แต่บางชนิดเก็บได้ยาก หรืออายุการเก็บรักษาสั้นโดยธรรมชาติ Ellis and Hong, 2007 กล่าวว่าออกซิเจนมีบทบาทสำคัญในเรื่องการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ Groot ยังไม่ได้ตีพิมพ์กล่าวว่าความแปรปรวนของสถานะทางด้านกายภาพของตัวเมล็ดเองหรือการที่เมล็ดไม่แก่เต็มที่แล้วเก็บมาจะมีผลตอนทำให้แห้งเช่นกัน ดังนั้นในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ต้องคำนึงถึงความชื้นที่ต่ำมาก แทบจะหรือไม่มีออกซิเจนเลยโดยเฉพาะกับเมล็ดที่ less mature seed

ความชื้นเมล็ดเป็นปัจจัยที่สำคัญและมีผลอย่างมากในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ภายใต้สภาพปิด ความชื้นของเมล็ดเป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษา ขณะที่สภาพเปิดความชื้นของเมล็ดถูกควบคุมด้วยความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ในสภาพปิดควรลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ให้ต่ำกว่าปกติ (วันชัย, 2542) ในเรื่องของระดับความชื้นของเมล็ดที่เก็บรักษาในธนาคารนั้น ที่จุดสมดุล equilibration ที่ 15% RH คือจุดสูงสุดของคำแนะนำโดย Biodiversity International ซึ่งแนะนำ ธนาคารต่างๆ ที่เก็บเมล็ดหลังจุดสมดุลระหว่าง 10-15% RH จะให้ระดับความชื้น ระหว่าง 3% และ 7% ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของปริมาณน้ำมันในเมล็ด (Rao et al., 2006, Anonymous, 1994) ซึ่งห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร มีอุณหภูมิ 25°C 15% RH เนื่องมาจากว่าในการเก็บรักษาเมล็ดแบบแห้งมาก (ultra-dry storage) หลังจากผ่านจุดสมดุลของเมล็ดที่ 10% RH หรือต่ำกว่าจะดีกว่าอย่างแท้จริง ซึ่งไม่มีข้อโต้แย้งใด ๆ หรือผลที่ลบล้างได้ (Walters & Engels, 1998; Ellis, 1998) ทั้งที่ความจริงที่ผ่านมาตั้งแต่เริ่มข้อโต้แย้งนี้ มีความก้าวหน้าเพียงเล็กน้อยเท่านั้นในเรื่องของการพูดถึงปัญหาของการเก็บเมล็ดไว้ที่ 10% RH (Steven P.C. Groot & Liesbeth de Groot, 2008)

บางบทความกล่าวถึงผลที่แย่ลงของการให้เมล็ดแห้งจนถึงระดับแห้งมาก (ultra-dry levels) โดยการใช้ silica gel ตามด้วยเก็บรักษาในอุณหภูมิต่างกัน (e.g. Chai et al., 1998) อย่างไรก็ตามเมล็ดพวกตระกูล Brassicaceae จะมีชีวิตรอดดี เมื่อเก็บเป็นเวลาเกือบ 40 ปี ในที่แห้งมาก ใน flame sealed glass Vials ซึ่งบรรจุ dehydrated silica gel ที่อุณหภูมิระหว่าง -50 ° C และ -100 ° C (Pereq-garcia et al; 2007) ซึ่งยังไม่มีรายงานผลเป็นเชิงลบในการเก็บ 10 ปี ultra dry storage ที่ -20 0C (Hong et al; 2005). ซึ่งในการศึกษาเหล่านี้ไม่ได้แสดงผลในแนวลบ อีกทั้งเรื่องของระดับความชื้นวิกฤติ (Critical moisture content) ด้วย Ellis & Hong (2007) แนะนำว่าออกซิเจนนั้นมีบทบาทสำคัญในเรื่องนี้ สาเหตุอื่น ๆ สำหรับความแตกต่างของเหตุผลในเรื่องของความแปรปรวนทางกายภาพของเมล็ดเอง มีการชี้ให้เห็นว่าเมล็ดที่แก่น้อยกว่าจะมีความ sensitive ต่อ ultra drying (Groot, ยังไม่ได้ตีพิมพ์) อีกทั้งกระบวนการในระหว่างช่วงแรกเริ่มของการงอก การ sensitivity ของเมล็ดต่อการเพิ่มความแห้งสูงสุดก็มีผล (Hong & Ellis, 1992) ซึ่งมีค่าแนะนำว่าการวิจัยที่จะนำไปสู่การทดสอบที่จะแสดงผลของการเก็บรักษาเมล็ดในสภาพแห้ง ที่ระดับความชื้นต่ำมาก ๆ ร่วมกับออกซิเจน หรือไม่มีออกซิเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเมล็ดที่ยังไม่แก่เต็มที่

ในเรื่องของภาชนะบรรจุที่เป็นอลูมิเนียมฟลอยส์ จะยังคงป้องกันความชื้นในระยะเวลายาวนานได้หรือไม่ ถ้าความชื้นของเมล็ดเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บ อาจมาจากสาเหตุของภาชนะเกิดรั่วขึ้นมา ซึ่งจะเป็นความเสี่ยงทำให้เร่งการสูญเสียความชีวิต Gomez-Campo (2002) รายงานไว้ว่าผลจากการเตือนหัวข้อนี้ เขาได้ทดสอบ 40 ชนิดของภาชนะบรรจุเก็บรวมทั้ง laminated foil bags ซ้ำหลาย ๆ Genebank ใช้ silica gel ที่อบไล่น้ำออกไปแล้ว ในภาชนะที่บรรจุ Kilner jars มีฝาปิดที่ seal ด้วยยางและที่เป็น Flame sealed glass ampoules สามารถป้องกันความชื้นเข้าได้ในระยะเวลา 3 ปีที่ทดสอบและจะสามารถเก็บได้เป็นระยะเวลานาน

Hong et al. (2005) ได้ใช้ laminated foil bags และสังเกตว่าหลังจาก 10 ปีของการเก็บรักษาตัวอย่างเมล็ดเกือบทั้งหมดเก็บที่ 20° C มีการเพิ่มขึ้นของระดับความชื้นจากแรกเริ่มของจุดสมดุล 10% RH

เป็น 43% ภายหลัง 10 ปี สำหรับ ตัวอย่างเมล็ดที่แห้งมาก ๆ ที่เก็บในอลูมิเนียมฟลอยส์ที่อุณหภูมิ -20° C ยังคงปิดและมีความชื้นในระดับเริ่มต้นอยู่ ซึ่งจะชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่อความสามารถในการเก็บรักษาโดยใช้ laminated foil bags ในระยะยาว

ขนาดและน้ำหนักเมล็ด มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยส่วนใหญ่พบว่าเมล็ดที่มีขนาดใหญ่หรือมีน้ำหนักมากมีอัตราการงอกดีกว่าเมล็ดขนาดเล็กและน้ำหนักเบาในพืชเกษตร เช่น ลางสาด (นาฏยา, 2524) มังคุด (โสภาพรรณ และสุภาพรรณ, 2531) ลางสาด (สมสุข และคณะ, 2527) และปาล์มน้ำมัน (ขจรวิทย์ และคณะ, 2540) ในไม้ป่า เช่น Pongamia pinnata ได้ผลเช่นเดียวกัน (Manonmani et al., 1996) แต่ในไม้ป่าบางชนิดเช่น Terminalia superba และ T. ivorensis นั้น Agboola (1996) พบว่าขนาดของเมล็ดไม่มีผลต่ออัตราการงอกในขณะที่เมล็ด Gmelina arborea ขนาดเล็กงอกได้ดีกว่าเมล็ดขนาดใหญ่ ในประเทศอินโดนีเซียผลสักที่มีขนาดใหญ่งอกได้ดีกว่าผลขนาดเล็ก (Gartner, 1956)

สำหรับขนาดของเมล็ดใหญ่ กลาง เล็กมีผลในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พบว่าการศึกษาความสัมพันธ์ของเมล็ดถั่วลิสงที่มีขนาดต่างกันพบว่าความชื้นของเมล็ดมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับความงอก โดยมีค่าสหสัมพันธ์เป็น 0.93 และ 0.96 ในเมล็ดเกรด 2 และเกรด 3 ตามลำดับ สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองนี้คือ 5ºC, -10ºC และ 25° C ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการศึกษาหาความสัมพันธ์ของ ระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมของเมล็ดพันธุ์พริกสำหรับเตรียมอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า (Oven)
2. ถ้วยอบโลหะไม่เป็นสนิม ขนาด 0.5 มม. มีฝาปิดสนิท และฝามีเครื่องหมายระบุตัวเลขตรงกันเป็นคู่
3. โถดูดความชื้น (Dessicator)
4. เครื่องชั่ง
5. ตะแกรงลวด
6. เวอร์เนียคาลิปเปอร์
7. ห้องลดความชื้น
8. ห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ 5, -10 และ 25 องศาเซลเซียส

- วิธีการทดลอง

1. นำเมล็ดพันธุ์พริกพันธุ์พิจิตร 27-1-2-1 และพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มาปลูกเพื่อให้ขยายให้ได้เมล็ดปริมาณมากที่ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย และนำมาศึกษา
2. ทดสอบความชื้น, ทดสอบความงอกเริ่มต้น

3. นำเมล็ดมาลดความชื้น

ภายหลังจากการทดสอบความชื้นเริ่มแรกแล้ว นำเมล็ดที่ได้มาลดความชื้นให้ได้ระดับ 8 %, 6 % และ 4 % โดยใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิ 25° C, 15 % RH) จนสามารถลดความชื้นได้ดังที่กำหนด

4. การเก็บรักษา

นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นจะมี 4 ระดับ ได้แก่ 4 %, 6 %, 8 % และ Control แล้วเก็บไว้ในซอง aluminium foil ที่ไล่อากาศแล้ว แบ่งตามแผนการทดลองและเก็บรักษาไว้
ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25, 5 และ -10 องศาเซลเซียส

5. วางแผนการทดลองแบบ split plot design จำนวน 4 ซ้ำ โดย main plot จัดเรียงทรีตเมนต์เป็น 4x2 Factorial in RCB โดยปัจจัยแรก คือ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์พริกที่ระดับ Control, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ปัจจัยที่ 2 คือ ขนาดเมล็ด และ sub plot คือระยะเวลาที่เก็บรักษา 25 เดือน โดยสุ่มมาทดสอบความงอกทุกเดือน ทำการเก็บรักษาพร้อมกันทั้ง 3 อุณหภูมิ อุณหภูมิในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10 องศาเซลเซียส

6. นำเมล็ดมาทดสอบความงอก ทดสอบความชื้นและทดสอบความแข็งแรง

- ทดสอบความงอกทุกเดือน (ห้อง 5 และ 25 องศาเซลเซียส)
- ทดสอบความงอก (ห้อง -10 องศาเซลเซียส) ทดสอบความแข็งแรง และทดสอบความชื้น (ISTA, 2006) ทุก 6 เดือน

<u>วิธีทดสอบความงอก</u>

ตรวจสอบความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์พริกก่อนเก็บรักษาและหลังเก็บรักษาทุกเดือนเป็นเวลา 25 เดือน ในห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ 25° C และ 5° C ส่วนห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ -10° C นำมาตรวจสอบทุก 6 เดือน เพาะเมล็ดพริกด้วยวิธี TP (Top of paper) ในภาชนะกล่องพลาสติกมีฝาปิด 100 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ ตรวจสอบความงอกโดยนับจำนวนต้นกล้าปกติ 7 และ 14 วัน ใช้อุณหภูมิ 25° C

<u>วิธีทดสอบความแข็งแรง</u> โดยวิธีการวัดดัชนีการงอก Germination Index Test, GI

การวัดดัชนีการงอกของเมล็ดเป็นวิธีการวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์จากการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูงย่อมเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำโดยทำการนับความงอกทุกวัน (จวงจันทร์, 2529) เพาะเมล็ดเช่นเดียวกับวิธีทดสอบความงอก ตรวจนับต้นกล้าประจำทุกวัน จนสิ้นสุดระยะเวลาที่กำหนดตามวิธีทดสอบความงอกมาตรฐาน และคำนวณค่าดัชนีความงอก จากสูตร

GI = $\frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \frac{N3}{D3} + \ldots + \frac{Nn}{Dn}$

N = จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในแต่วัน

D = วันที่ต้นกล้าปกติงอก

n = จำนวนวันหลังเพาะ

<u>วิธีทดสอบความชื้น</u>

ตัวอย่างเมล็ดที่จะนำมาทดสอบความชื้นจะต้องบรรจุในภาชนะที่ปิดสนิท และรีบทำการตรวจสอบให้เร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ และในระหว่างการตรวจสอบต้องพยายามให้ตัวอย่างเมล็ดถูกอากาศภายนอกน้อยที่สุด

<u>การเตรียมตัวอย่าง</u>

1. นำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ต้องการทดสอบความชื้นมาคลุกเคล้าให้ทั่วกันโดยใช้ช้อนคนในภาชนะบรรจุให้ทั่ว หรือโดยการนำภาชนะที่มีขนาดเดียวกันกับที่บรรจุเมล็ดมาประกบปากเข้าด้วยกัน แล้วเทเมล็ดกลับไปกลับมาระหว่างภาชนะทั้งสอง จนกระทั่งเมล็ดผสมกันได้ดี จากนั้นจึงแบ่งตัวอย่างสำหรับใช้ในการตรวจสอบ ตามวิธีการลดจำนวนตัวอย่างเพื่อใช้ในการตรวจสอบ (working sample) โดยไม่ให้ถูกอากาศนานเกิน 30 วินาที

2. น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบขึ้นอยู่กับขนาดของถ้วยอบ ถ้าถ้วยอบมีขนาดเส้น ผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 8 ซม. ตัวอย่างที่ใช้การทดสอบ 4 ถึง 5 กรัม

3. การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 103$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17$\pm$1 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะอบ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้ว รีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (Dessicator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30-45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมเมล็ดอีกครั้งหนึ่ง

4. คำนวณผล เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ใช้สูตรดังนี้

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

M1 = นน. ของภาชนะและฝา (กรัม)

M**2** = นน. ของภาชนะและตัวอย่างเมล็ดก่อนอบ (กรัม)

M**3** = นน. ของภาชนะพร้อมฝา และตัวอย่างเมล็ดหลังอบ (กรัม)

<u>วิธีวัดขนาดเมล็ด</u> ความหนา กว้าง ยาว และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ด้วย เวอร์เนียคาลิปเปอร์ และเครื่องชั่งทดสอบ 4 ตำแหน่ง ตามลำดับ

- เวลาและสถานที่ ระยะเวลา 2554–2556 (3 ปี) สถานที่การทดลอง สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

1. ผลการทดสอบความงอก (Germination test)

ผลการศึกษาการทดสอบความงอกของต้นอ่อนพริกในห้องเก็บรักษา 25 องศาเซลเซียส พบว่า ความชื้นและขนาดเมล็ดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และระยะเวลาในการเก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเช่นกัน

โดยพบว่าความสัมพันธ์ของความชื้น ขนาดเมล็ด และระยะเวลาในการเก็บรักษา 25 องศาเซลเซียสในเดือนแรกที่เก็บรักษาในห้องเก็บรักษา 25 องศาเซลเซียส พบว่าความงอกของต้นอ่อนพริก ทั้ง 2 พันธุ์ (ขนาด) ที่แต่ละระดับความชื้นมีความแตกต่างกันอย่างยิ่งที่ระดับที่เชื่อมั่น 1 % หลังจากเก็บรักษาไป 25 เดือน พบว่าที่

ความชื้น 8 %, 6 % และ 4 % ไม่มีความแตกต่างกันของพันธุ์ทั้งสอง แต่ Control พบว่าหลังจากเก็บรักษา นาน 19 เดือน มีความแตกต่างกันที่ระดับเชื่อมั่น 1 % อย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทั้งสองพันธุ์ สำหรับ Control ในการเก็บรักษาเมล็ดถึงเดือนที่ 25 พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างเห็นได้ชัด และพบว่าที่ความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ดีกว่าที่ 8 และ 6 % เมล็ดที่เก็บรักษาไว้ได้อย่างปลอดภัยจะต้องมีความชื้นของเมล็ดต่ำ เมล็ดที่มีความชื้นสูงจะมีเมตาโบลิซึมสูง เมล็ดจะเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว ทำให้เก็บรักษาไว้ได้ไม่นาน (จวงจันทร์, 2529)

การทดสอบความงอกของต้นอ่อนพริกในห้องเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส

พบว่าความชื้นและขนาดเมล็ด ไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และพบว่าความสัมพันธ์ของความชื้นกับระยะเวลามีความแตกต่างกัน และขนาดของเมล็ดพริก กับระยะเวลาที่เก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งด้วย

พบว่าในเดือนแรกที่เก็บรักษาพบว่าที่ระดับความชื้นต่างๆ ของการเจริญเติบโตของต้นอ่อนพริกทั้ง 2 พันธุ์ 2 ขนาดนี้ยังไม่มีความแตกต่างกัน หลังจากเก็บรักษา 25 เดือน พบว่า ที่ระดับความชื้น 6 และ 4 % มีความแตกต่างการเจริญเติบโตของต้นอ่อนพริกของ 2 พันธุ์ และพบว่าการเก็บรักษาไว้ที่ห้อง 5 องศา-เซลเซียส ที่ระดับความชื้น 8, 6 และ 4 % เปอร์เซ็นต์ความงอกยังดีอยู่หลังจากเก็บรักษาไว้ 25 เดือน รวมทั้ง Control ด้วย (ตารางที่ 2)

การทดสอบความงอกของต้นอ่อนพริกในห้องเก็บรักษา -10 องศาเซลเซียส โดยนำออกมาทดสอบความงอกทุก 6 เดือน พบว่าความชื้นไม่แตกต่าง พันธุ์หรือขนาดของเมล็ดมีความแตกต่างอย่างยิ่ง และความสัมพันธ์ ของความชื้นกับขนาดเมล็ดของทั้งสองพันธุ์พบว่าไม่แตกต่างกัน ระยะเวลาในการเก็บรักษา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ความสัมพันธ์ของขนาดเมล็ดกับระยะเวลาในการเก็บรักษามีความแตกต่างกัน และปฏิสัมพันธ์ของความชื้น ขนาดเมล็ดของสองพันธุ์ และระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 3) และพบว่าการเจริญเติบโตของต้นอ่อนพริกยังคงงอกได้ดี เมื่อเก็บรักษาไปถึง 25 เดือน ในทุกระดับความชื้น โดยพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยกว่าพันธุ์พิจิตร กล่าวคือ พันธุ์พิจิตร 92.5, 87.1, 91.9 และ 91.8 % และพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 85.7, 74.9, 86.2 และ 83.7 % ที่ระดับความชื้น Control, 8, 6 และ 4 % ตามลำดับ

Table 1 Seed Moisture Content (SMC), size (Pijit and Hauysiton) and storage times of chili seed as affected standard Germination Test by the 25° C storage room.

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	87.3 ab	51.0 c-g
2	67.3 bcd	35.2 gh
3	72.4 abc	75.4 ab
4	51.8 cde	47.6 e-h
5	84.5 ab	73.7 abc
6	82.3 ab	78.1 ab
7	81.0 ab	59.9 b-f
8	79.2 ab	74.5 ab
9	87.0 ab	77.2 ab
10	82.8 ab	49.8 d-g
11	89.5 a	80.3 ab
12	70.2 a-d	77.7 ab
13	55.6 cd	69.4 a-e
14	51.6 cde	75.0 ab
15	84.1 ab	73.1 a-d
16	86.9 ab	76.5 ab
17	74.6 abc	85.4 a
18	48.0 de	76.5 ab
19	52.7 cde	50.2 c-g
20	31.3 ef	59.5 b-f
21	21.6 fg	77.7 ab
22	12.6 gh	41.6 fgh
23	2.2 hi	26.5 h
24	3.9 hi	60.9 b-f
25	0.8 i	31.6 gh

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=6		
1	85.8 ab	57.6 b-e
2	80.6 abc	62.5 b-e
3	85.8 ab	72.0 a-d
4	43.0 e	47.9 def
5	83.6 ab	76.6 abc
6	83.5 ab	71.8 a-d
7	84.0 ab	73.1 abc
8	77.2 abc	77.1 abc
9	83.9 ab	73.9 abc
10	86.1 ab	58.5 b-e
11	75.9 a-d	74.2 abc
12	66.2 b-e	74.1 abc
13	60.2 cde	71.4 a-d
14	86.1 ab	75.5 abc
15	92.0 a	80.4 ab
16	91.1 a	88.3 a
17	79.6 abc	86.6 a
18	83.0 ab	75.2 abc
19	58.7 cde	45.0 ef
20	83.3 ab	74.9 abc
21	60.8 cde	61.4 b-e
22	65.7 b-e	32.6 f
23	57.7 cde	61.4 b-e
24	74.3 a-d	72.4 abc
25	53.4 de	54.3 c-f

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=8		
1	84.9 abc	51.6 e-h
2	75.9 a-e	54.6 d-h
3	84.4 abc	77.3 a-d
4	47.0 fg	41.8 h
5	76.2 a-e	72.8 a-f
6	83.5 a-d	78.6 abc
7	80.9 a-e	70.3 b-g
8	81.2 a-e	75.8 a-d
9	87.6 a	86.5 abc
10	87.2 a	69.7 b-g
11	83.0 a-d	69.3 b-g

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=4		
1	87.9 a	53.0 def
2	81.2 a	44.5 f
3	94.5 a	65.3 b-f
4	53.0 b	46.7 ef
5	81.8 a	70.6 a-d
6	88.4 a	71.1 a-d
7	82.3 a	69.9 a-e
8	80.7 a	66.4 b-f
9	87.9 a	84.3 ab
10	81.7 a	59.7 c-f
11	83.2 a	75.1 a-d

12	82.7 a-d	75.7 a-d	12	87.3 a	72.9 a-d
13	62.8 c-f	73.9 a-e	13	88.0 a	84.1 ab
14	77.8 a-e	82.6 abc	14	85.9 a	84.5 ab
15	86.0 a	90.3 a	15	90.4 a	80.8 abc
16	87.5 a	89.5 ab	16	90.8 a	89.1 a
17	85.6 ab	79.1 abc	17	91.8 a	86.9 ab
18	73.1 a-e	77.4 a-d	18	95.1 a	82.1 abc
19	61.6 def	68.8 c-g	19	87.5 a	79.7 abc
20	75.9 a-e	75.6 a-d	20	86.6 a	86.1 ab
21	59.0 efg	46.9 gh	21	91.8 a	85.3 ab
22	75.6 a-e	36.7 h	22	92.0 a	80.9 abc
23	38.5 g	34.4 h	23	81.7 a	80.8 abc
24	74.0 a-e	49.9 fgh	24	88.6 a	73.4 a-d
25	63.9 b-f	75.3 a-d	25	86.4 a	86.3 ab

Table 2 Seed Moisture Content (SMC), size (Pijit and Hauysiton) and storage times of chili seed as affected standard Germination Test by the 5° C storage room.

	V(SIZE) (V)			V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	**P**	**H**	**SUBPLOT (S)**	**P**	**H**
M=C			**M=6**		
1	87.4 abc	82.0 bc	1	81.0 c-f	81.3 a-e
2	70.0 de	42.7 i	2	69.7 fg	50.3 hi
3	63.0 ef	41.5 i	3	62.8 g	51.5 ghi
4	52.4 f	49.2 ghi	4	40.3 h	34.5 i
5	81.5 bcd	56.6 f-i	5	75.4 efg	65.8 c-h
6	89.2 abc	45.5 hi	6	77.8 d-g	63.4 d-h
7	87.0 abc	68.5 c-g	7	83.0 b-f	70.6 b-g
8	88.5 abc	68.1 c-g	8	82.3 c-f	73.9 b-f
9	91.3 ab	83.3 abc	9	92.8 abc	83.2 abc
10	80.5 bcd	63.2 d-h	10	91.2 a-d	62.9 e-h
11	89.0 abc	71.2 b-f	11	96.1 a	81.0 a-e
12	73.7 cde	56.4 f-i	12	83.6 b-f	61.4 fgh
13	86.5 abc	71.7 b-f	13	89.7 a-e	73.3 b-f
14	91.7 ab	85.3 abc	14	95.3 ab	91.2 a
15	90.4 ab	82.0 bc	15	92.6 abc	80.9 a-e
16	87.0 abc	86.8 ab	16	87.3 a-e	78.3 a-f
17	89.1 abc	83.8 abc	17	86.2 a-f	81.7 a-d
18	95.4 a	81.9 bc	18	92.8 abc	85.4 ab
19	91.6 ab	79.9 bcd	19	91.4 a-d	82.7 abc
20	94.8 a	94.8 a	20	87.1 a-e	86.0 ab
21	88.5 abc	77.1 b-e	21	90.5 a-e	72.5 b-f
22	76.5 b-e	60.2 e-i	22	86.3 a-f	67.3 c-h
23	85.0 a-d	68.9 c-f	23	82.8 b-f	74.1 b-f
24	89.2 abc	70.9 b-f	24	86.6 a-f	73.4 b-f
25	91.4 ab	70.5 b-f	25	85.6 a-f	69.3 b-h

	V(SIZE) (V)			V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	**P**	**H**	**SUBPLOT (S)**	**P**	**H**
M=8			**M=4**		
1	81.8 a-d	83.2 abc	1	82.8 a-e	79.7 a-f
2	66.0 de	29.8 f	2	68.3 de	58.1 hi
3	50.7 e	56.8 e	3	67.1 e	60.3 ghi
4	52.8 e	53.6 e	4	39.7 f	37.0 j
5	76.3 bcd	55.3 e	5	73.0 cde	52.5 ij
6	84.7 abc	60.9 de	6	69.4 de	65.9 f-i
7	86.0 abc	71.4 b-e	7	87.9 abc	76.2 a-h
8	81.5 a-d	54.8 e	8	77.0 b-e	66.4 e-i
9	88.1 ab	68.7 cde	9	87.7 abc	76.9 a-h
10	77.0 bcd	55.6 e	10	72.2 cde	66.9 d-i

11	94.8 a	71.9 b-e	11	82.7 a-e	78.3 a-g
12	68.9 cde	52.4 e	12	84.6 a-d	68.8 c-i
13	85.6 abc	78.9 a-d	13	90.3 ab	68.4 c-i
14	83.7 abc	79.3 a-d	14	85.1 a-d	88.5 a
15	87.9 ab	86.8 ab	15	91.0 ab	86.8 ab
16	86.2 abc	85.7 abc	16	92.2 a	84.7 a-d
17	91.0 ab	89.5 a	17	90.6 ab	85.6 abc
18	93.1 a	87.4 ab	18	86.8 abc	81.9 a-f
19	84.4 abc	84.7 abc	19	92.6 a	85.1 abc
20	89.1 ab	84.9 abc	20	93.0 a	84.2 a-e
21	90.0 ab	79.5 a-d	21	85.3 a-d	70.1 b-i
22	82.9 a-d	77.6 a-d	22	90.5 ab	79.6 a-f
23	81.7 a-d	76.4 a-d	23	80.3 a-e	72.6 a-h
24	90.9 ab	76.5 a-d	24	90.9 ab	75.7 a-h
25	83.3 a-d	76.0 a-d	25	90.4 ab	73.1 a-h

Table 3 Seed Moisture Content (SMC), size (Pijit and Hauysiton) and storage times of chili seed as affected standard Germination Test by the -10° C storage room.

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	80.4 bc	76.4 ab
2	73.5 c	31.8 e
3	70.3 c	42.2 de
4	88.1 ab	67.9 bc
5	74.0 c	53.1 cd
6	84.9 abc	55.5 cd
7	92.5 a	85.7 a
M=8		
1	86.9 a	83.4 a
2	66.6 c	28.0 d
3	71.3 bc	54.8 c
4	82.6 ab	64.8 bc
5	82.3 ab	70.2 abc
6	88.3 a	63.6 bc
7	87.1 a	74.9 ab
M=6		
1	88.5 a	75.6 ab
2	52.6 c	37.2 c
3	72.2 b	66.8 b
4	88.2 a	64.6 b
5	80.1 ab	65.4 b
6	83.9 ab	60.5 b
7	91.9 a	86.2 a
M=4		
1	94.7 a	79.7 ab
2	70.4 c	44.6 d
3	68.3 c	59.8 cd
4	77.1 c	73.4 abc
5	81.7 bc	58.7 cd
6	79.1 c	68.1 bc
7	91.8 ab	83.7 a

2. ผลการทดสอบความแข็งแรง โดยวิธีการวัดดัชนีการงอกของเมล็ด (Germination Index) เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ในห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พบว่าความชื้นและขนาดของเมล็ดมีผลต่อความแข็งแรงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดของเมล็ด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเช่นกัน และพบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับระยะเวลาเก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของขนาดเมล็ดกับระยะเวลาการ

เก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ดกับระยะเวลาเก็บรักษามีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 4)

โดยในทุกระดับความชื้นพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปจะมีความแข็งแรงลดลง ในทั้ง ๒ พันธุ์

<u>อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส</u>

พบว่าระดับความชื้น, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ด, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับระยะเวลาที่เก็บรักษาไม่มีความแตกต่างกันส่วนขนาดเมล็ด, ระยะเวลาที่เก็บรักษา และปฏิสัมพันธ์ของขนาดกับระยะที่เก็บรักษา พบว่ามีความแข็งแรง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และพบว่าที่ระดับความชื้น Control, 8, 6 และ 4 % เมื่อเวลาผ่านไปค่าความแข็งแรงก็ไม่ได้ลดลงไป (ตารางที่ 5)

<u>อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส</u>

พบว่าขนาดเมล็ด, ระยะเวลาที่เก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของขนาดเมล็ดกับระยะเวลาที่เก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้น, ขนาดเมล็ดและระยะเวลาที่เก็บรักษา มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความชื้น Control พบว่าการทดสอบความแข็งแรงหลังผ่านไป 4 ครั้ง มีผลไม่ต่างกันของทั้งสองพันธุ์ และเมื่อผ่านไป 25 เดือน พบว่า ทั้งสองพันธุ์มีความแข็งแรงแตกต่างกันในทั้งสองพันธุ์ โดยห้วยสีทนจะแข็งแรงน้อยกว่า (ตารางที่ 6) โดยสรุปการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (5 ° C และ -10 ° C) จะมีความแข็งแรง หรือค่าดัชนีการงอกสูงกว่าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25° C เมื่อเวลาผ่านไป และค่าดัชนีการงอกเริ่มลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น

Table 4 Result of Seed Moisture Content , size (Pijit and Hauysiton) and storage times as affected chilli seeds vigors at 25° C storage room.

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	6.97 ab	3.65 c
2	7.97 a	6.15 b
3	6.19 bc	6.43 b
4	4.80 cd	7.62 ab
5	3.66 d	8.00 a
6	5.75 bc	6.98 ab
7	0.00 e	2.07 d
M=8		
1	6.49 b	3.10 c
2	8.48 a	6.21 ab
3	6.95 b	4.99 b
4	7.23 ab	7.18 a
5	7.94 ab	6.75 a
6	6.63 b	6.62 a
7	1.50 c	1.17 d

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=6		
1	5.89 b	3.35 c
2	8.12 a	6.00 b
3	6.97 ab	6.07 b
4	5.64 b	6.97 ab
5	7.95 a	8.02 a
6	6.38 b	6.47 b

7		1.75 c	1.49 d
	M=4		
1		7.68 a	4.87 de
2		8.44 a	5.75 cd
3		6.97 ab	5.75 cd
4		8.28 a	6.88 bc
5		8.33 a	8.40 a
6		7.91 a	7.36 ab
7		5.67 b	4.05 e

Table 5 Result of Seed Moisture Content , size (P and H) and storage times as affected vigor chilli seeds vigor at 5° C storage room.

		V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)		P	H
	M=C		
1		6.888 c	4.525 b
2		7.975 ab	4.355 b
3		7.598 bc	5.070 b
4		8.095 ab	7.415 a
5		8.733 a	8.045 a
6		7.518 bc	7.208 a
7		5.565 d	4.592 b
	M=8		
1		6.570 c	4.645 c
2		7.095 bc	4.850 c
3		6.788 c	4.268 c
4		8.012 b	7.137 b
5		8.960 a	9.090 a
6		7.432 bc	6.393 b
7		5.363 d	4.562 c
	M=6		
1		6.075 c	4.333 d
2		8.368 ab	5.278 cd
3		7.678 ab	5.465 c
4		8.253 ab	7.170 b
5		8.625 a	8.808 a
6		7.475 b	6.663 b
7		5.345 c	4.580 cd
	M=4		
1		6.885 c	4.908 c
2		7.525 bc	5.135 c
3		7.717 abc	4.983 c
4		7.975 ab	6.840 b
5		8.575 a	8.888 a
6		7.163 bc	6.600 b
7		5.205 d	5.562 c

Table 6 Result of Seed Moisture Content , size (P and H) and storage times as affected chilli seeds vigor at -10 storage room.

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	5.99 c	4.71 c
2	7.42 b	3.49 d
3	8.15 b	5.62 bc
4	7.66 b	6.42 b
5	9.15 a	8.17 a
6	6.14 c	6.63 b
7	5.49 c	4.88 c
M=8		
1	7.27 bc	3.73 c
2	6.93 c	3.95 c
3	7.98 bc	6.11 b
4	8.12 b	6.39 b
5	9.22 a	8.22 a
6	6.98 c	6.69 b
7	5.56 d	4.18 c
M=6		
1	7.06 b	4.21 c
2	7.55 b	3.53 c
3	7.93 b	7.20 a
4	6.89 b	7.16 a
5	9.40 a	7.99 a
6	7.48 b	5.91 b
7	5.50 c	3.96 c
M=4		
1	6.38 cd	4.19 b
2	7.15 bc	3.79 b
3	7.66 b	6.80 a
4	7.96 b	7.01 a
5	9.41 a	7.82 a
6	6.98 bc	7.08 a
7	5.53 d	3.91 b

3. ผลการทดสอบความชื้นเมล็ดที่เก็บรักษาไว้ในห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

พบว่าความชื้น ขนาดเมล็ด และปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สำหรับระยะเวลาในการเก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับระยะเวลาเก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของขนาดกับระยะเวลาการเก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้น, ขนาดกับระยะเวลาในการเก็บรักษา ไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 7)

พบว่าในเดือนแรกที่เก็บรักษา เมล็ดพันธุ์พริกที่มีความชื้นที่ระดับ Control, 8, 6 และ 4 % พบว่าความชื้นของเมล็ดไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละความชื้น ในครั้งสุดท้ายเมื่อทดสอบความชื้นเมื่อเวลาผ่านไป 25 เดือน พบว่า ที่ความชื้น 4 % เปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดที่ทดสอบได้ไม่ต่างกันระหว่าง 2 พันธุ์ นั้นหมายถึง เมล็ดที่ลดความชื้นในระดับ 4 % นั้น แม้ที่อุณหภูมิ 25 ° C ยังคงมีความชื้น 5.35 และ 5.56 เมื่อเวลาผ่านไป 25 เดือน และเมล็ดพริกที่ความชื้น Control, 8 และ 6 % สามารถคงความชื้นนี้อยู่ได้ภายหลังที่เก็บรักษา 25 เดือน

<u>ทดสอบความชื้นที่เก็บรักษาไว้ในห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส</u>

พบว่าความชื้น, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ด, ระยะเวลาในการเก็บรักษาปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับระยะเวลาเก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของขนาดของเมล็ดกับระยะเวลาเก็บรักษาปฏิสัมพันธ์ของความชื้น, ขนาดและระยะเวลาเก็บรักษา พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง
ส่วนขนาดของเมล็ดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 8)

พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 25 เดือน ความชื้นที่ 4 % พันธุ์พิจิตรพบว่ามีความชื้นเฉลี่ย 4.90 % เมื่อแรกเริ่ม เมื่อผ่านไป 25 เดือน พบว่ามีความชื้นเฉลี่ย 4.98 % พันธ์ห้วยสีทน ศก.1 มีความชื้นเฉลี่ยที่ 5.48 % 5 เมื่อเวลาผ่านไป 25 เดือน พบว่ามีความชื้นเฉลี่ย 5.95 % และที่ระดับความชื้นเมล็ดที่ 6 % พบว่าพันธุ์พิจิตรเมื่อเวลาผ่านไป 25 เดือน จาก 6.95 % เป็น 6.76 % ส่วนพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 พบว่าจาก 6.55 % เป็น 6.58 % ที่ระดับความชื้น 8 % พันธุ์พิจิตรเมื่อเวลาผ่านไป 25 เดือน จาก 7.01 % เป็น 7.13 % พันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 พบว่าจาก 6.46 % เป็น 6.76 % ตามลำดับ (ตารางที่ 8) แสดงถึงความชื้นยังคงอยู่สภาพเดิมในห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

<u>ทดสอบความชื้นที่เก็บรักษาไว้ในห้องเก็บรักษาอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส</u>

พบว่าความชื้น, ขนาดเมล็ด, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ด ระยะเวลาการเก็บรักษา ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับระยะเวลาการเก็บรักษามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนปฏิสัมพันธ์ของขนาดเมล็ดกับระยะเวลาการเก็บรักษา, ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ดกับระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 25 เดือน ความชื้นที่ระดับ 4 ยังคงอยู่ในค่าเฉลี่ยความชื้น 4.98 % สำหรับพันธุ์พิจิตร 27-1-2-1 และ 5.37 % สำหรับพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 จาก 5.35 และ 5.73 % ในเดือนแรกที่เก็บรักษาของพันธุ์พิจิตร 27-1-2-1 และห้วยสีทน ศก.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) นั้น หมายถึง เมื่อลดความชื้นเมล็ดพริกก่อนเก็บรักษาไว้ในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิจะสามารถรักษาความชื้นไว้ได้ค่อนข้างคงที่

Table 7 Result of Seed Moisture Content , size (Pijit and Hauysiton) and storage times as affected moisture of chili seeds at 25° C storage room.

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	7.017 a	6.704 a
2	7.508 a	6.328 a
3	7.864 a	6.852 a
4	7.656 a	6.817 a
5	7.731 a	6.754 a
6	7.724 a	6.460 a
7	7.730 a	6.679 a
M=8		
1	6.930 a	6.603 ab
2	6.732 a	6.771 a
3	7.209 a	6.752 a
4	7.039 a	6.550 ab
5	6.536 a	6.680 ab
6	6.876 a	6.175 ab
7	7.055 a	5.856 b
M=6		
1	6.968 a	6.606 a
2	6.886 a	6.558 a
3	7.062 a	6.580 a
4	7.106 a	6.386 a
5	7.102 a	6.444 a
6	6.821 a	6.329 a
7	7.429 a	6.034 a
M=4		
1	4.914 b	5.387 ab
2	6.728 a	5.286 ab
3	5.375 b	5.126 ab
4	5.171 b	5.173 ab
5	5.463 b	5.493 ab
6	4.794 b	4.737 b
7	5.345 b	5.561 a

Table 8 Result of Seed Moisture Content, size (Pijit and Hauysiton) and storage times as affected moisture of chili seeds at 5° C storage room.

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	7.406 bc	6.787 b
2	7.656 abc	6.456 bc
3	8.132 a	6.717 b
4	7.922 ab	6.104 c
5	8.285 a	6.845 b
6	7.130 c	8.212 a
7	8.139 a	7.022 b
M=8		
1	7.007 a	6.454 a
2	6.798 a	6.308 a
3	6.839 a	6.595 a
4	6.962 a	6.666 a
5	7.282 a	6.657 a
6	6.242 b	6.689 a
7	7.129 a	6.761 a
M=6		

1		6.950 a	6.552 a
2		6.589 ab	6.548 a
3		6.674 ab	6.548 a
4		6.354 ab	6.452 a
5		6.752 ab	6.527 a
6		6.311 b	6.764 a
7		6.755 ab	6.582 a
	M=4		
1		4.901 a	5.481 ab
2		4.770 a	5.209 b
3		4.947 a	5.563 ab
4		5.036 a	5.649 ab
5		5.268 a	5.793 a
6		4.198 b	4.427 c
7		4.984 a	5.950 a

Table 9 Result of Moisture Content, size and storage time as affected moisture content of chili seeds at -10°C storage room.

		V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)		P	H
	M=C		
1		8.931 a	7.218 a
2		8.264 a	6.702 ab
3		8.557 a	6.788 ab
4		8.746 a	6.604 ab
5		8.493 a	6.567 ab
6		6.061 b	6.227 b
7		8.458 a	6.562 ab
	M=8		
1		7.696 a	7.301 a
2		6.875 bc	6.595 ab
3		7.267 ab	6.914 ab
4		7.552 ab	6.848 ab
5		6.992 abc	6.617 ab
6		6.450 c	5.784 c
7		7.125 abc	6.506 b
	M=6		
1		7.572 a	6.932 a
2		6.762 b	6.235 ab
3		7.093 ab	6.505 ab
4		6.861 ab	6.620 ab
5		6.887 ab	6.447 ab
6		6.042 c	5.957 b
7		6.897 ab	6.189 ab

		V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)		P	H
	M=4		
1		5.342 ab	5.724 ab
2		4.780 bc	5.294 b
3		5.267 ab	5.351 b
4		4.554 c	5.301 b
5		5.078 bc	5.594 ab
6		5.918 a	6.223 a
7		4.972 bc	5.371 b

4. ผลการวัดขนาดของเมล็ด

<u>ความหนาของเมล็ด</u>

- เมล็ดพริกพันธุ์พิจิตรที่ทดลอง มีความหนาเฉลี่ย 0.25 – 1.34 มม. ห้วยสีทน ศก.1 มีความหนาเฉลี่ย 0.67 – 1.07 มม. และ พบว่าความหนาของเมล็ดมีปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ด และระยะเวลาการ

เก็บรักษาไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นกับขนาดเมล็ดไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน (ตารางที่ 10, ตารางที่ 11 และตารางที่ 12)

ความกว้างของเมล็ด

- พบว่าเมล็ดพันธุ์พิจิตรมีความกว้างเฉลี่ย 2.85 – 3.50 พันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มีความกว้าง 2.97 – 3.33 มม. (ตารางที่ 13) ที่ 5° C และ 10° C ความสัมพันธ์ของความกว้างของขนาดเมล็ดกับระยะเวลาเก็บรักษาไม่แตกต่าง (ตารางที่ 14 และตารางที่ 15)

ความยาวของเมล็ด

- พบว่าความยาวของเมล็ดพริกพันธุ์พิจิตร มีค่าเฉลี่ย 4.04 – 4.78 มม. ความยาวของเมล็ดพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มีค่าเฉลี่ย 3.55 – 4.45 มม. ปฏิสัมพันธ์ของขนาด ความยาวของเมล็ดกับระยะเวลาเก็บรักษาไม่แตกต่างกันที่อุณหภูมิ 25° C (ตารางที่ 16) และพบว่าที่ 5° C และ -10° C ปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับความยาวเมล็ดไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 17) และที่ -10 ° C ความยาวของเมล็ดกับระยะเวลาไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 18)

น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด

- พบว่าเมล็ดพริก 1,000 เมล็ด พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1 มีน้ำหนัก 5.20 – 9.00 กรัม และพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 1,000 เมล็ด มีน้ำหนัก 4.30 – 8.30 กรัม พบว่าปฏิสัมพันธ์ของความชื้นกับขนาดเมล็ดไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 อุณหภูมิ (ตารางที่ 19) และพบว่าปฏิสัมพันธ์ของขนาดเมล็ดกับระยะเวลาที่เก็บรักษาไม่มีความแตกต่างกันทั้งอุณหภูมิ 5 และ -10° C (ตารางที่ 20 และตารางที่ 21) นั้น คือ ขนาดเมล็ดไม่มีผลต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ และระดับความชื้นต่างๆ (ตารางที่ 10 – ตารางที่ 21)

Table 10 Results of moisture content, size and storage time as affected thickness of chili seeds at 25° C room storage. (mm.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	0.625 bc	1.070 a
2	0.940 a	0.803 ab
3	0.550 c	0.768 b

4		0.798 abc	1.070 a
5		0.870 ab	0.775 b
6		0.705 abc	0.878 ab
7		0.740 abc	0.870 ab
	M=8		
1		0.390 d	0.857 a
2		1.345 a	0.898 a
3		0.737 c	0.668 a
4		0.915 bc	0.935 a
5		1.038 b	0.830 a
6		0.823 bc	0.808 a
7		0.898 bc	0.810 a
	M=6		
1		0.248 c	0.913 a
2		1.013 a	0.960 a
3		0.688 b	0.700 a
4		0.888 ab	0.870 a
5		0.962 a	0.795 a
6		0.653 b	0.855 a
7		0.845 ab	0.790 a
	M=4		
1		0.605 b	0.870 a
2		1.025 a	0.853 a
3		0.850 ab	0.722 a
4		0.940 a	0.898 a
5		0.828 ab	0.872 a
6		0.827 ab	0.815 a
7		0.873 ab	0.830 a

Table 11 Results of moisture content, size and storage times as affected thickness of chili seeds at 5° C room storage. (mm.)

		V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)		**P**	**H**
	M=C		

1		0.625 c	0.865 a
2		1.143 a	0.945 a
3		0.710 c	0.800 a
4		1.015 ab	0.843 a
5		0.862 bc	0.818 a
6		0.825 bc	0.870 a
7		0.863 bc	0.820 a
	M=8		
1		0.395 c	0.815 a
2		0.858 ab	0.825 a
3		0.980 a	0.775 a
4		1.080 a	0.868 a
5		1.008 a	0.848 a
6		0.743 b	0.805 a
7		1.023 a	0.830 a
	M=6		
1		0.545 b	0.895 a
2		1.018 a	0.845 a
3		0.838 a	0.790 a
4		0.823 a	0.943 a
5		0.935 a	0.888 a
6		0.798 a	0.843 a
7		0.865 a	0.873 a
	M=4		
1		0.715 b	0.905 a
2		1.180 a	0.813 ab
3		0.717 b	0.598 b
4		0.863 b	0.940 a
5		0.862 b	0.803 ab
6		0.873 b	0.773 ab
7		0.818 b	0.780 ab

Table 12 Results of moisture content, size and storage times as affected thickness of chili seeds at -10° C room storage. (mm.)

		V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)		**P**	**H**
	M=C		

1		0.278 c	0.865 a
2		0.965 a	0.820 a
3		0.773 ab	0.805 a
4		0.983 a	0.965 a
5		0.817 ab	0.905 a
6		0.670 b	0.830 a
7		0.858 ab	0.893 a
	M=8		
1		0.453 b	0.810 a
2		0.955 a	0.880 a
3		0.830 a	0.855 a
4		0.913 a	0.888 a
5		0.913 a	0.840 a
6		0.748 a	0.847 a
7		0.888 a	0.860 a
	M=6		
1		0.878 a	0.953 ab
2		0.970 a	0.803 b
3		0.783 a	0.752 b
4		0.910 a	1.015 a
5		0.928 a	0.758 b
6		0.877 a	0.837 ab
7		0.873 a	0.843 ab
	M=4		
1		0.943 a	0.998 a
2		1.025 a	0.823 a
3		0.880 a	0.843 a
4		1.013 a	0.805 a
5		0.938 a	0.800 a
6		0.950 a	0.888 a
7		0.943 a	0.818 a

Table 13 Results of moisture content, size and storage times as affected the width of chili seeds at 25° C room storage. (mm.)

V(SIZE)	(V)

SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	2.99 b	3.15 ab
2	3.50 a	3.06 ab
3	3.34 a	2.97 b
4	3.45 a	3.33 a
5	3.39 a	3.09 ab
6	3.27 ab	3.06 ab
7	3.39 a	3.13 ab
M=8		
1	2.86 b	3.19 a
2	3.27 a	3.15 a
3	3.36 a	3.20 a
4	3.41 a	2.97 a
5	3.23 a	3.20 a
6	3.17 a	3.18 a
7	3.34 a	3.12 a
M=6		
1	2.85 b	3.04 a
2	3.29 a	3.04 a
3	3.56 a	3.12 a
4	3.26 a	3.17 a
5	3.47 a	3.12 a
6	3.23 a	3.07 a
7	3.43 a	3.14 a
M=4		
1	3.11 b	2.96 a
2	3.41 ab	3.05 a
3	3.46 a	2.98 a
4	3.30 ab	3.28 a
5	3.31 ab	3.10 a
6	3.33 ab	3.00 a
7	3.36 ab	3.12 a

Table 14 Results of moisture content, size and storage times as affected the width of chili seeds at 5° C room storage. (mm.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	3.298 a	3.125 a
2	3.260 ab	2.993 a
3	3.298 a	3.208 a
4	2.955 b	3.013 a
5	3.218 ab	3.288 a
6	3.283 ab	3.103 a
7	3.155 ab	3.168 a
M=8		
1	3.253 b	3.090 a
2	3.245 b	3.150 a
3	3.790 a	2.903 a
4	3.278 b	3.068 a
5	3.280 b	2.828 a
6	3.433 b	3.045 a
7	3.450 b	2.930 a
M=6		
1	3.540 a	3.143 a
2	3.415 a	3.098 a
3	3.403 a	3.190 a
4	3.313 ab	3.080 a
5	3.048 b	2.955 a
6	3.453 a	3.143 a
7	3.255 ab	3.078 a
M=4		
1	3.188 a	3.020 a
2	3.408 a	3.180 a
3	3.455 a	3.315 a
4	3.450 a	3.113 a
5	3.168 a	3.130 a
6	3.350 a	3.173 a
7	3.358 a	3.188 a

Table 15 Results of moisture content, size and storage times as affected the width of chili seeds at -10° C room storage. (mm.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	3.298 a	3.125 a
2	3.260 ab	2.993 a
3	3.298 a	3.208 a
4	2.955 b	3.013 a
5	3.218 ab	3.288 a
6	3.283 ab	3.103 a
7	3.155 ab	3.168 a
M=8		
1	3.253 b	3.090 a
2	3.245 b	3.150 a
3	3.790 a	2.903 a
4	3.278 b	3.068 a
5	3.280 b	2.828 a
6	3.433 b	3.045 a
7	3.450 b	2.930 a
M=6		
1	3.540 a	3.143 a
2	3.415 a	3.098 a
3	3.403 a	3.190 a
4	3.313 ab	3.080 a
5	3.048 b	2.955 a
6	3.453 a	3.143 a
7	3.255 ab	3.078 a
M=4		
1	3.188 a	3.020 a
2	3.408 a	3.180 a
3	3.455 a	3.315 a
4	3.450 a	3.113 a
5	3.168 a	3.130 a
6	3.350 a	3.173 a
7	3.358 a	3.188 a

Table 16 Results of moisture content, size and storage times as affected the length of chili seeds at 25° C room storage. (mm.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	4.168 ab	4.030 a
2	4.668 a	4.063 a
3	4.090 b	3.783 a
4	4.230 ab	3.708 a
5	4.038 b	4.005 a
6	4.310 ab	3.958 a
7	4.120 b	3.833 a
M=8		
1	4.323 a	3.845 ab
2	4.608 a	4.113 a
3	4.378 a	3.550 b
4	4.090 a	3.798 ab
5	4.143 a	3.875 ab
6	4.435 a	3.838 ab
7	4.203 a	3.740 ab
M=6		
1	4.043 b	4.208 a
2	4.400 ab	3.788 a
3	4.780 a	4.215 a
4	4.233 b	4.148 a
5	4.115 b	3.830 a
6	4.408 ab	4.070 a
7	4.375 ab	4.063 a

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=4		
1	4.130 a	3.903 bcd
2	4.453 a	3.588 d
3	4.550 a	4.453 a
4	4.158 a	4.238 ab
5	4.148 a	3.718 cd
6	4.378 a	3.980 a-d
7	4.285 a	4.138 abc

Table 17 Results of moisture content, size and storage times as affected the length of chili seeds at 5° C room storage. (mm.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	4.065 a	3.980 a
2	4.440 a	3.945 a
3	4.632 a	4.053 a
4	4.258 a	3.813 a
5	4.280 a	3.725 a
6	4.380 a	3.993 a
7	4.388 a	3.863 a
M=8		
1	4.535 a	3.928 ab
2	4.730 a	3.758 b
3	4.563 a	4.358 a
4	4.595 a	3.953 ab
5	3.873 b	3.723 b
6	4.610 a	4.015 ab
7	4.342 ab	4.010 ab
M=6		
1	3.950 a	3.675 a
2	3.880 a	3.913 a
3	4.215 a	4.230 a
4	4.205 a	3.895 a
5	4.108 a	3.830 a
6	4.015 a	3.940 a
7	4.175 a	3.988 a
M=4		
1	4.820 a	3.868 a
2	4.383 ab	3.748 a
3	4.543 ab	4.170 a
4	4.235 ab	3.810 a
5	4.085 b	3.735 a
6	4.583 ab	3.928 a
7	4.288 ab	3.913 a

Table 18 Results of moisture content, size and storage times as affected the length of chili seeds at -10° C room storage. (mm.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	4.103 abc	3.670 a
2	4.273 ab	3.788 a
3	4.543 a	3.945 a
4	3.698 c	3.778 a
5	3.725 c	3.920 a
6	4.305 ab	3.800 a
7	3.990 bc	3.880 a
M=8		

1	4.038 b	4.268 a
2	4.340 ab	4.063 a
3	4.628 a	4.353 a
4	4.055 b	4.158 a
5	4.095 b	3.918 a
6	4.335 ab	4.145 a
7	4.260 ab	4.143 a

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	**P**	**H**
M=6		
1	4.418 ab	3.990 a
2	4.603 a	3.878 a
3	4.253 ab	3.643 a
4	4.413 ab	4.055 a
5	3.965 b	3.598 a
6	4.422 ab	3.838 a
7	4.210 ab	3.765 a
M=4		
1	4.140 ab	3.785 ab
2	3.880 b	3.658 b
3	4.453 a	4.208 a
4	4.505 a	3.845 ab
5	4.070 ab	4.025 ab
6	4.155 ab	3.885 ab
7	4.343 ab	4.023 ab

Table 19 Interaction of seed moisture content, size (P and H) and storage times as affected chili seed weight (1,000 seeds) at 25° C room storage. (g.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	**P**	**H**
M=C		
1	5.75 b	4.48 c
2	6.10 b	5.07 bc
3	5.46 b	5.15 bc
4	5.83 b	5.48 bc
5	8.48 a	7.58 a
6	5.77 b	4.90 c
7	6.59 b	6.07b
M=8		
1	5.78 bc	5.38 bc
2	6.25 bc	5.08 c
3	5.27 c	5.30 bc
4	6.38 bc	5.57 bc
5	9.00 a	8.10 a
6	5.77 bc	5.25 bc
7	6.88 b	6.33 b
M=6		
1	5.90 bc	5.60 bc
2	6.05 bc	4.30 d
3	5.41 c	5.03 cd
4	6.50 bc	6.68 a
5	8.98 a	6.95 a
6	5.79 c	4.98 cd
7	6.96 b	6.22 ab
M=4		
1	6.33 bc	5.30 c
2	5.20 d	5.43 c
3	5.43 cd	5.25 c
4	7.35 ab	6.58 b
5	7.50 a	8.30 a
6	5.65 cd	5.33 c
7	6.76 ab	6.71 b

Table 20 Interaction of seed moisture content, size (P and H) and storage times as affected chili seed weight (1,000 seeds) at 5°C room storage. (g.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	4.78 c	4.43 d
2	5.68 c	5.35 cd
3	5.52 c	5.38 cd
4	6.80 b	6.08 bc
5	8.23 a	7.88 a
6	5.32 c	5.05 cd
7	6.85 b	6.44 b
M=8		
1	5.63 c	5.65 c
2	5.68 c	5.35 c
3	4.79 c	5.43 c
4	6.85 b	6.67 b
5	8.78 a	7.95 a
6	5.36 c	5.48 c
7	6.80 b	6.69 b
M=6		
1	5.68 bc	5.15 c
2	5.77 bc	4.98 c
3	5.19 c	5.39 c
4	5.60 bc	6.03 bc
5	8.43 a	8.55 a
6	5.54 bc	5.17 c
7	6.41 b	6.66 b
M=4		
1	4.73 c	5.38 c
2	5.75 bc	5.70 bc
3	5.30 bc	5.48 c
4	5.03 c	6.65 ab
5	8.17 a	7.55 a
6	5.26 bc	5.52 c
7	6.17 b	6.56 ab

Table 21 Interaction of seed moisture content, size (P and H) and storage times as affected chili seed weight (1,000 seeds) at 5° C room storage. (g.)

	V(SIZE) (V)	
SUBPLOT (S)	P	H
M=C		
1	5.45 d	5.32 c
2	5.95 bcd	5.43 c
3	5.33 d	5.52 c
4	6.88 ab	6.23 bc
5	7.38 a	8.82 a
6	5.58 cd	5.42 c
7	6.53 abc	6.86 b
M=8		
1	6.10 bc	5.45 cd
2	5.73 bc	5.85 bcd
3	5.21 c	5.31 d
4	5.25 c	6.50 bc
5	8.85 a	8.03 a

6		5.68 bc	5.54 cd
7		6.44 b	6.61 b
	M=6		
1		5.63 d	5.15 b
2		5.98 cd	5.63 b
3		5.31 d	5.98 b
4		6.70 bc	5.05 b
5		9.02 a	7.25 a
6		5.64 d	5.59 b
7		7.01 b	6.09 b

V(SIZE) (V)			
SUBPLOT (S)		P	H
	M=4		
1		5.15 c	5.65 bc
2		5.08 c	4.98 c
3		5.28 c	5.52 bc
4		6.73 b	6.55 b
5		9.07 a	7.65 a
6		5.17 c	5.39 c
7		7.03 b	6.57 b

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ความงอกของพริกที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 และ -10°c พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ เมื่อเก็บรักษานานถึงเดือนที่ 25 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิ 25°c ที่ระดับความชื้น Control แต่ที่มีความชื้น 4% ความงอกยังอยู่ในระดับ 86.4, 86.3 % และเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°c และ -10°c ที่ระดับความชื้น ความงอกยังดีอยู่ โดยรวมแล้วพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริก เมื่อทดสอบด้วยวิธีดัชนีความงอก พบว่าเมล็ดพริกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°c เมื่อเวลาผ่านไปจะมีความแข็งแรงลดลงทั้ง 2 พันธุ์ สำหรับห้อง 5 และ -10°c ที่ระดับความชื้น Control, 8, 6 และ 4% เมื่อเวลาผ่านไปค่าความแข็งแรงก็ไม่ได้ลดลงไปนัก พบว่าพันธุ์ห้วย-สีทน ศก.1 แข็งแรงน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความชื้นของเมล็ดที่เก็บรักษาไว้สามารถลดความชื้นอยู่ได้ภายหลังที่เก็บรักษาถึง 25 เดือน และพบว่าขนาดของเมล็ดทั้งความหนา ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ไม่มีผลต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ และมีความชื้นทุกระดับ

ชื่อการทดลองที่ 2 : ความสัมพันธ์ของระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

: Correlation of Seed Moisture Content and Storage Temperature on Conservation in Department of Agriculture Genebank.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นายพิทยา วงษ์ช้าง

ผู้ร่วมงาน : นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด
นางสาวอัสนี ส่งเสริม
นางสาวเสาวณี เดชะคำภู
นางสาวชลลดา สามพันพวง
สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ (Key words)

บทคัดย่อ

ทานตะวันเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญพืชหนึ่งเพราะมีคุณสมบัติทางโภชนาการสูงสามารถใช้เป็นสารประกอบในอุตสาหกรรมอื่นอีกมากมาย ปัจจุบันผลผลิตขาดแคลนไม่เพียงพอต่อการใช้ประโยชน์เนื่องจากปัญหาสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมและพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังได้ขยายเข้าไปแทนที่การปลูกทานตะวันทำให้ผลผลิตและผลิตภัณฑ์ของทานตะวันโดยรวมของประเทศมีแนวโน้มลดลง และต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์มาจากต่างประเทศเพราะไม่สามารถเก็บพันธุ์ได้เพราะส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ลูกผสม การเก็บรวบรวมและอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ทานตะวันไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเพื่อเป็นแหล่งเก็บเชื้อพันธุ์ไม่ให้พันธุ์สูญหายไป และหากมีความต้องการใช้ในอนาคตยังสามารถนำคุณสมบัติที่ดีของเชื้อพันธุ์เหล่านั้นกลับเอามาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับงานปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ได้ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับปัจจัยในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ระยะยาวโดยที่เมล็ดพันธุ์ยังคงความมีชีวิตและมีความแข็งแรงเป็นสำคัญ ดำเนินการทดลองลดระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันให้ได้ระดับที่ 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์โดยใช้ห้องลดความชื้น บรรจุเมล็ดพันธุ์ในถุงฟอยล์โดยใช้สภาพสุญญากาศจากนั้นเก็บรักษาเมล็ด

พันธุ์ที่อุณหภูมิห้อง 5 และ -10 องศาเซลเซียส บันทึกผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกทุกเดือนเป็นเวลา 27 เดือน จากการทดลองพบว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้น 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเท่ากับ 86 และ 82 ตามลำดับ สามารถเก็บรักษาได้นาน 27 เดือน ส่วนเมล็ดพันธุ์ทานตะวันทุกระดับความชื้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียสนั้นมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ในช่วง 86-89 และ 87-90 ตามลำดับและมีแนวโน้มที่จะสามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 27 เดือน

Abstract

Sunflower is one of the most important industrial crops of the country due to its high nutritional value. Unfortunately, the number of products from sunflower is likely to be decreasing because of the two main factors that are environmental problem and lack of cultivating area. Another main factor causing the decrease of sunflower production is that most seeds are hybrid types so they need to be imported from other countries. In order to conserve sunflower germplasm, DOA Genebank should realize how precious and important they are. In addition, the genebank curators should learn how to conduct the long term storage of sunflower germplasm whilst maintain their high viability so that they can be used as genetic materials for crop improvement by using several methods. Sunflower seeds used in this experiment were reduced their moisture content to 8, 6 and 4 percent respectively by using seed drying room (25 C, 15 %RH). Seeds were packed in vacuum aluminum foil bags then were stored at room temperature, 5 C and -10 C respectively. Percent of germination of each sample was monthly recorded for 27 months. The result showed that the average germination of seeds with 4 and 6 percent moisture contents and stored at room temperature were 86 and 82, respectively. They can be stored for 27 months. The average germination of sunflower seeds with every moisture content and stored at 5 C and -10 C were found in the range of 86-89 and 87-90 respectively. They were likely to be stored for longer than 27 months.

บทนำ (Introduction)

ทานตะวันเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญพืชหนึ่งเพราะมีคุณสมบัติทางโภชนาการสูงประกอบด้วยไขมันที่ไม่อิ่มตัวประมาณ 88 เปอร์เซ็นต์ซึ่งถือว่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่น และสามารถใช้เป็นสารประกอบในอุตสาหกรรมอื่นอีก เช่น น้ำมันชักเงา น้ำมันหล่อลื่น ทำสี ส่วนกากที่ได้จากการสกัดน้ำมันนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้เป็นอย่างดีเนื่องจากย่อยง่ายและมีโปรตีนสูงถึง 40-50 เปอร์เซ็นต์ ปัจจุบันวัตถุดิบที่ใช้ภายในประเทศยังไม่เพียงพอ อีกทั้งพื้นที่ปลูกลดลงเนื่องจากปัญหาสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมและพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังได้ขยายเข้าไปแทนที่การปลูกทานตะวันทำให้ผลผลิตและผลิตภัณฑ์ของทานตะวันโดยรวมของประเทศมีแนวโน้มลดลง และเป็นปัญหาที่สำคัญของการเพาะปลูกของเกษตรกรในอนาคตนั่นคือต้นทุน

การผลิตจะสูงขึ้นเนื่องจากเมล็ดพันธุ์ต้องอาศัยการนำเข้าจากต่างประเทศแทบทั้งสิ้นเป็นเพราะเมล็ดทานตะวันส่วนใหญ่แล้วเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่เกษตรกรไม่สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้ต่อได้ แนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรได้คือ การเก็บรวบรวมและอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ทานตะวันไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์เพื่อเป็นแหล่งของเชื้อพันธุ์และจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการอนุรักษ์เพื่อมิให้พันธุ์นั้นสูญหายไป และหากมีความต้องการใช้ในอนาคตยังสามารถนำคุณสมบัติที่ดีของเชื้อพันธุ์เหล่านั้นกลับเอามาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับงานปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกทานตะวันพันธุ์ดีในราคาถูก

ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับปัจจัยในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ระยะยาวโดยที่เมล็ดพันธุ์ยังคงความมีชีวิตและมีความแข็งแรงเป็นสำคัญ

Hlyka and Robinson (1954) รายงานว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อการยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คือปริมาณความชื้น ถ้าเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูงจะมีอัตราการสูญเสียความงอกอย่างรวดเร็วในขณะที่เมล็ดพันธุ์ถ้ามีความชื้นต่ำจะมีอัตราการสูญเสียความงอกลดลง เมล็ดพันธุ์ที่จะสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานจะต้องมีความชื้นในเมล็ดต่ำโดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์พืชที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่เป็นส่วนใหญ่ควรจะลดความชื้นภายในเมล็ดให้เหลือประมาณ 8-9 เปอร์เซ็นต์ เพราะเมล็ดที่มีความชื้นสูงจะมีอัตราการหายใจสูง มีการสะสมความร้อนและความชื้นจนอาจถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ได้ (จวงจันทร์, 2529) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในระยะยาว 10-20 ปี ในเมล็ดธัญพืชต้องมีความชื้นไม่เกิน 11 เปอร์เซ็นต์ (สาวิตรี และรุจิพร, 2541) ซึ่งสอดคล้องกับ Harrington (1959) รายงานว่าความชื้นที่ปลอดภัยต่อการเก็บรักษาสำหรับเมล็ดพันธุ์ที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งควรมีความชื้นต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นไขมัน ควรมีความชื้นต่ำกว่า 6 เปอร์เซ็นต์

วิธีการที่ใช้ในการลดความชื้นทำได้หลายวิธี เช่น การตากแดด ซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัดและสะดวก แต่จะมีผลเสียคือทำให้เมล็ดแห้งลงอย่างรวดเร็วจนทำให้เกิดรอยแตกร้าวขึ้นที่เยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสาเหตุสำคัญของการสูญเสียความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (Harrington, 1973) ทำให้เมล็ดพันธุ์ที่ได้มีคุณภาพต่ำ

ในการลดความชื้นกับเมล็ดปริมาณมาก จะใช้เครื่องอบลมร้อน ซึ่งคุณภาพของเมล็ดที่ได้จะขึ้นอยู่กับความชื้นและอุณหภูมิที่ใช้ (นิลุบล และละอองดาว, 2549) และอีกวิธีหนึ่งคือการลดค่าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่อยู่รอบๆ เมล็ดพันธุ์ (Yong and Young, 1986) ปริมาณของความชื้นของเมล็ดจะขึ้นอยู่กับความชื้นสัมพัทธ์ของห้องที่เก็บรักษา ซึ่งถ้าความชื้นสัมพัทธ์ภายในห้องสูงจะทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลงอย่างรวดเร็ว (Glenn W. et al., 1987) เมื่อลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์แล้วควรเก็บเมล็ดไว้ในภาชนะที่ป้องกันความชื้น ยกตัวอย่างเช่น ถุงพลาสติกที่มีความหนาอย่างต่ำ 7 มิลลิเมตร กระดาษอลูมิเนียม และขวดแก้ว เป็นต้น (จวงจันทร์, 2521) และควรนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิช่วงระหว่าง 5 และ -10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 30 เปอร์เซ็นต์ (Jame, 1967)

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- **อุปกรณ์** : ห้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส, เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง, เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ, ตู้อบลมร้อน, ห้องลดความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส), ถุงอลูมิเนียมฟอยล์, กระบะเพาะความงอก และทรายละเอียด

- **วิธีการ**:

<u>วางแผนการทดลองแบบ</u> split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยแบ่งออกเป็น 3 การทดลอง ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา คือ

การทดลองที่ 1 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

การทดลองที่ 2 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส

การทดลองที่ 3 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ -10 องศาเซลเซียส

โดยแต่ละการทดลองมี Main plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 ระดับ คือ

- ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น (Control)
- 4 เปอร์เซ็นต์
- 6 เปอร์เซ็นต์
- 8 เปอร์เซ็นต์

มี Sub plot เป็น ระยะเวลาในการเก็บรักษา 31 ระดับ คือ 0 – 30 เดือน

<u>การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์</u>

- ใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร ลดความชื้นให้ได้ระดับความชื้นที่ 4, 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม (9%)

<u>การเก็บรักษา</u>

- นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับมาเก็บรักษาไว้ในถุงฟอยล์ และบรรจุแบบสุญญากาศ และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง, 5 และ -10 องศาเซลเซียส

<u>การทดสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์</u>

- โดยวิธีอบด้วยความร้อน (Oven Method) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- คลุกเคล้าตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบให้ทั่ว โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนานเกิน 30 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาเพื่อบด

- บดเมล็ด บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด แล้วสุ่มเมล็ดที่บดแล้วตัวอย่างละประมาณ 4 กรัม ใช้ทศนิยม 3 ตำแหน่ง ทำ 2 ซ้ำ

- การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบไฟฟ้า ที่มีช่องระบายลม และสามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยใช้อุณหภูมิในการอบ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ± 1 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วรีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30-45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมทั้งเมล็ดอีกครั้งหนึ่ง

- การคำนวณผลการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก 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

<u>การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์</u>

- เพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้น และอุณหภูมิการเก็บรักษาต่างๆ โดยใช้ทรายเป็นวัสดุเพาะตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- การเตรียมเมล็ดสำหรับเพาะทดสอบ ให้เตรียมเมล็ดที่ใช้ในการทดสอบซ้ำละ 100 เมล็ด

- การเตรียมวัสดุเพาะและการเพาะเมล็ด. ทรายที่ใช้สำหรับการเพาะทดสอบความงอกนั้น ไม่ละเอียดหรือหยาบเกินไป แต่จะใช้ขนาดที่รอดรูตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 มิลลิเมตร และด้านบนรูตะแกรงขนาด 0.05 มิลลิเมตร ทรายที่ใช้เพาะจะต้องและฆ่าเชื้อเสียก่อนเพื่อฆ่าจุลินทรีย์ เชื้อโรค และเมล็ดอื่นๆ ที่ติดมา และมีความชื้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาบรรจุใส่กล่องเพาะทดสอบความงอก และปาดหน้าทรายให้เรียบสม่ำเสมอ พร้อมเจาะหลุมสำหรับหยอดเมล็ด จากนั้นนำเมล็ดที่เตรียมมาหยอดลงในหลุมที่เจาะไว้แล้วกลบหน้าด้วยทรายปาดให้เรียบ และให้เมล็ดอยู่ลึกประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นปิดฝากล่องเพาะเมล็ด แล้วนำไปเก็บในห้องเพาะทดสอบความงอกอุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส

- ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 7 วัน

- การประเมินผลการทดสอบความงอก ตรวจสอบความงอกเมื่อต้นกล้ามีอายุ 7 วัน โดยบันทึก และนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

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

- เวลาและสถานที่ : ระยะเวลาทำการทดลอง 3 ปี (ตุลาคม 2553 –กันยายน 2556)

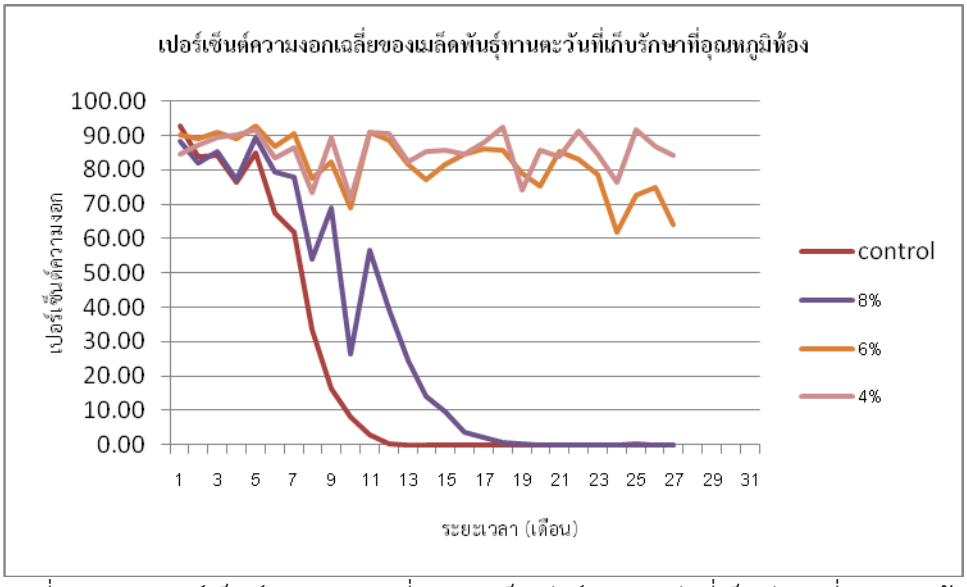
ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับไม่มีความสัมพันธ์กัน จึงไม่สามารถนำค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์

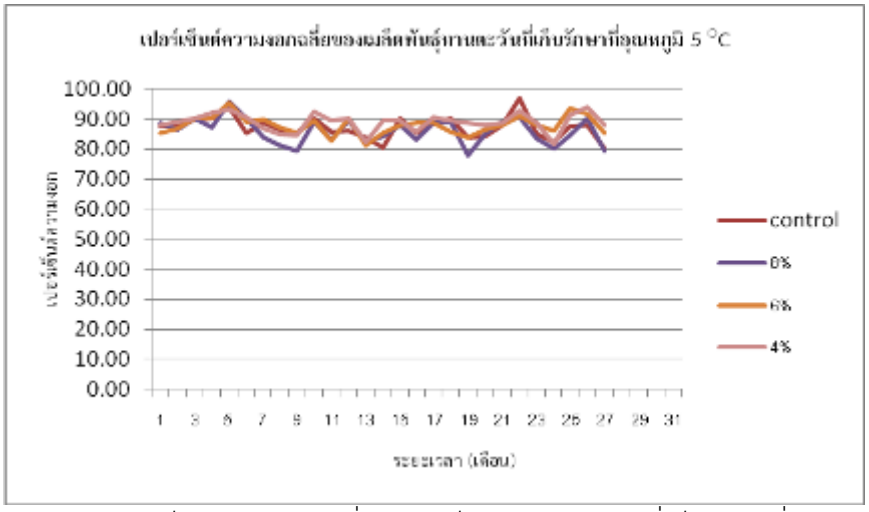
ทานตะวันที่เก็บรักษาในแต่ละอุณหภูมิมาเปรียบเทียบกันได้ ว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิใดให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยดีที่สุด ดังนั้นในการทดลองนี้จึงสรุปผลการทดลองแยกเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยในแต่ละระดับอุณหภูมิ

1. ที่ระดับอุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) จากการศึกษาพบว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ไม่ได้ผ่านการลดความชื้น (control) และที่ระดับความชื้น 8 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยน้อยกว่า 50 ในเดือนที่ 8 และ 10 ของการเก็บรักษา และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเป็น 0 เมื่อเก็บรักษานาน 12 และ 18 เดือน ตามลำดับ ส่วนเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้น 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นาน 27 เดือน โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1) เมื่อดูจากภาพที่ 1 พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยในทุกระดับความชื้นมีแนวโน้มลดลงตามอายุในการเก็บรักษา



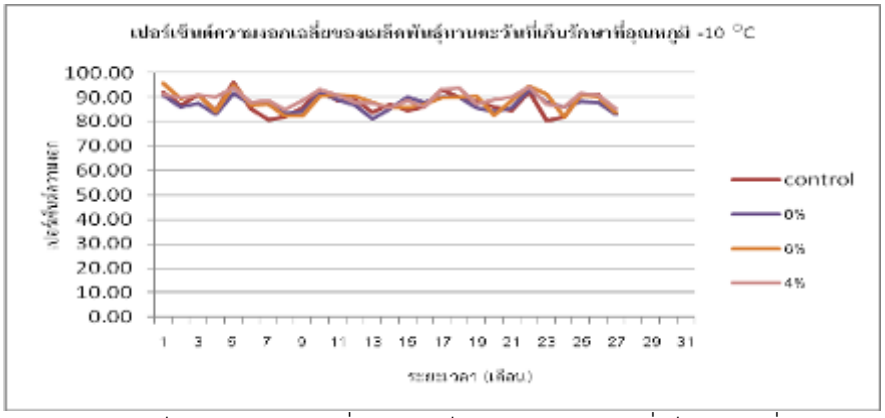
ภาพที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

2. ที่ระดับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ และระยะเวลาในการเก็บรักษา ต่างมีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จากภาพที่ 2 เห็นได้ว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ และระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างมีผลทำให้ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยที่แตกต่างกัน โดยในแต่ละระดับความชื้นมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 86 – 89 (ตารางที่ 6) เมื่อเก็บรักษานาน 27 เดือน



ภาพที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5^{O}C

3. ที่ระดับอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ และระยะเวลาในการเก็บรักษา ต่างมีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส จากภาพที่ 3 เห็นได้ว่าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ และระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างมีผลทำให้ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยที่แตกต่างกัน โดยในแต่ละระดับความชื้นมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 87 – 90 (ตารางที่ 8) เมื่อเก็บรักษานาน 27 เดือน



ภาพที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ –10^{O}C

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิในแต่ละระดับไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้เนื่องจากไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ แต่สามารถสรุปโดยแยกเป็นในแต่ละอุณหภูมิในการเก็บรักษาแทน

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ถ้าลดระดับความชื้นก่อนการเก็บรักษาให้มีค่าเท่ากับ 4% สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 27 เดือนโดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความชื้น 6% มีค่าเปอร์เซ็นต์พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเก็บรักษานาน 27 เดือน ส่วนที่

ระดับความชื้นที่สูงกว่า 6% พบว่าสามารถเก็บรักษาได้นาน 8 เดือนเท่านั้นโดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยน้อยกว่า 50

ส่วนในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียสน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชเพราะสามารถคงความงอกได้ดีที่สุด โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 86-89 และ 87-90 ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษานาน 27 เดือน ทั้งนี้ภาชนะที่ใช้บรรจุเมล็ดพันธุ์และวิธีการบรรจุก็มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการเก็บรักษา คือต้องเป็นภาชนะที่สามารถป้องกันความชื้นไม่ให้มีการแลกเปลี่ยนของอากาศภายในและภายนอกซึ่งเป็นการช่วยลดอัตราการหายใจของเมล็ดพันธุ์ทำให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนานขึ้นและยังคงความมีชีวิตเป็นสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Glenn W. et al., (1987) กล่าวว่าถ้าความชื้นสัมพัทธ์ภายในห้องสูงจะทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลงอย่างรวดเร็ว และจวงจันทร์ (2540) กล่าวว่า หากเก็บในภาชนะที่ไม่สามารถป้องกันความชื้นได้โดยบรรจุในถุงโปร่ง เช่น ถุงผ้า ถุงกระดาษ ถุงปุ๋ย กระสอบป่าน สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานเพียง 4-8 เดือน ฉะนั้นเมื่อลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์แล้วควรเก็บเมล็ดไว้ในภาชนะที่ป้องกันความชื้นและนำไปเก็บรักษาไว้ที่ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 5 และ -10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 30 เปอร์เซ็นต์

ชื่อการทดลองที่ 3 : อิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บ รักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

: Effect of Moisture Content and Storage Temperature of Safflower Seeds for Conservation in Department of Agriculture Genebank.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวชลลดา สามพันพวง

ผู้ร่วมงาน : นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
นายพิทยา วงษ์ช้าง
นางสาวอัสนี ส่งเสริม
นางสาวเสาวณี เดชะคำภู
สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

คำฝอย (Safflower) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carthamus tinctorius* L. เป็นพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น ด้านอาหาร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นพืชไร่ที่มีความสำคัญ มีศักยภาพสูง เหมาะที่จะนำมาพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ แต่เนื่องจากคำฝอยเป็นพืชที่ในเมล็ดมีปริมาณน้ำมันสูง ทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้น จึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา โดยศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 ระดับ คือ 12, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา 3 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง, 5 และ -10 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 12 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้น้อยกว่า 2 เดือน ในขณะที่เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้นาน 9, 18 และ 27 เดือน ตามลำดับ ส่วนการเก็บรักษาเมล็ดคำฝอยที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้นาน 27 เดือน โดยที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นสูงไม่สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้ หากทำการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ลงจะทำให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นตามระดับความชื้นที่ลดลง และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ โดยที่ไม่ต้องทำการลดความชื้นในเมล็ดก่อนการเก็บรักษา

Abstract

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.*)* is a multipurpose crop species which can be used as food, medicinal and industrial applications. It is an important utilized crop, and through additional research involving genetic resources, has a high potential for further expansion and development. Safflower is an oilseed with short longevity. Moisture content (MC) and storage temperature are two key factors affecting the longevity of seeds. In this study, effects of 4 MC levels (12%, 8%, 6% and 4%) with 3 storage temperature (ambient, 5°C and -10°C) were examined. The study revealed that seed contained 12% moisture and stored in ambient temperature could be stored less than 2 months. Seed with 8%, 6%, 4% MC can be stored at ambient temperature for 9, 18 and 27 months respectively. Storage temperature at 5°C and -10°C showed longer storage time which was 27 months with constant average germination percentage. Therefore, it can be concluded that safflower seeds with high moisture content can not be stored at ambient temperature while decreasing moisture content can extend storage time. Moreover, storage at 5 and -10 °C can prolong seed longevity without moisture content reduction require

บทนำ (Introduction)

คำฝอย (safflower) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carthamus tinctorius* L. อยู่ในวงศ์ Compositae หรือ Asteraceae มีถิ่นกำเนิดแถบตะวันออกกลาง บริเวณลุ่มน้ำยูเฟรตีส (Euphrates) คำฝอยเป็นพืชล้มลุก ลำต้นแตกกิ่งเป็นพุ่ม มีความสูงตั้งแต่ 30-120 เซนติเมตร (ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ วิธีการปลูก และสภาพแวดล้อม) ใบเป็นใบเดี่ยวสีเขียวเข้มเป็นมัน ไม่มีขน แต่มีหนามแหลมที่ขอบใบ เมื่อจะออกดอกจะมีใบสั้นลงและแข็งขึ้น ดอกเป็นช่อแบบกระจุก (Head) ซึ่งมีดอกย่อยเรียงตัวอยู่บนฐานรองดอกอันเดียวกันเป็นจำนวนมาก กลีบดอกมีสีเหลือง ส้ม และแดง เมล็ดมีสีขาวหรือสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างค่อนข้างยาว ผิวเรียบ คำฝอยเป็นพืชที่มีลักษณะทรงต้น ดอก และใบสวยงาม ซึ่งมีศักยภาพที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางได้ ดอกมีกลิ่นหอมอ่อนๆ กลีบดอกและเมล็ดเป็นส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นด้านอาหาร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่างๆ กลีบดอกคำฝอยมีสารสำคัญ คือ Safflower Yellow ซึ่งเป็นสารสีเหลือง ส่วนที่เป็นสารสีแดง คือ Carthamin ซึ่งใช้ประโยชน์ในแง่ของเครื่องดื่มจำพวกชาสมุนไพร ช่วยบำรุงโลหิต บำรุงหัวใจ บำรุงประสาท ขับเหงื่อ ลดไขมันในเส้นเลือด ใช้เป็นสีผสมอาหาร สีย้อมผ้า และสีผสมเครื่องสำอาง ส่วนเมล็ดคำฝอยนั้น ในเมล็ดมีน้ำมันอยู่ประมาณ 35-40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว คือ Linoleic acid อยู่ประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่ามีอยู่ในปริมาณสูง เมื่อเทียบกับที่มีอยู่ในน้ำมันถั่วเหลือง (มีเพียง 52 เปอร์เซ็นต์) เมล็ดมีประโยชน์ในการช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด ป้องกันการอุดตันของหลอดเลือด ลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ยังช่วยขับเสมหะ ขับประจำเดือน และใช้เป็นยาถ่าย เพราะมีฤทธิ์เป็นยาระบายอ่อนๆ น้ำมันจากเมล็ดใช้ทารักษาโรคผิวหนัง โรคไขข้ออักเสบ แก้อาการบวมฟกช้ำ น้ำมันจากเมล็ดที่สกัดโดยผ่านความร้อนใช้ผสมสีทาบ้าน น้ำมันชักเงา น้ำมันชักแห้ง สบู่ และใช้เคลือบหนังเพื่อไม่ให้เปียกน้ำ ส่วนกากที่เหลือใช้เป็นอาหารสัตว์ เนื่องจากมีโปรตีนสูง ในต่างประเทศมีการปลูกและบริโภคคำฝอยมานานแล้ว ประเทศที่ปลูกคำฝอยเพื่อผลิตน้ำมันเป็นสินค้าส่งออก ได้แก่ สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก

แคนาดา และอินเดีย ปัจจุบันกระแสความตื่นตัวที่จะแสวงหาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อสุขภาพมีมากขึ้น จึงมีความต้องการบริโภคผลิตภัณฑ์จากคำฝอยมากขึ้น ทำให้ความต้องการเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีคุณภาพเพื่อใช้ในการปลูกเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Armah-Agyeman *et al*., 2002) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยให้มีความแข็งแรง คงความมีชีวิตและสามารถเก็บรักษาได้นานจึงมีความสำคัญในการผลิตเมล็ดพันธุ์ทางการค้า และการเก็บอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร มีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรวบรวมอนุรักษ์พันธุกรรมมิให้สูญหายและเป็นแหล่งรวบรวมความหลากหลายของพันธุกรรมพืช เพื่อใช้เป็นฐานในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืช โดยทางธนาคารฯจะเก็บอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในส่วนของเมล็ดพันธุ์พืชเป็นส่วนใหญ่ เพราะเป็นส่วนของพืชที่สะดวกต่อการเก็บรักษามากที่สุด การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชจึงมีความสำคัญมากเพราะจะเป็นตัวแปรสำคัญที่จะทำให้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพหรือเสื่อมสภาพ คุณภาพที่ดีของเมล็ดพันธุ์นั้นจะรวมถึงคุณภาพทางพันธุกรรม สรีระวิทยา และกายภาพของเมล็ดด้วย เมล็ดพันธุ์พืชแต่ละชนิดมีช่วงอายุในการเก็บรักษาแตกต่างกัน เนื่องจากมีพันธุกรรม รูปร่างลักษณะโครงสร้าง และองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ในพืชชนิดเดียวกันแต่คนละสายพันธุ์ บางครั้งอาจจะมีขนาดเมล็ดพันธุ์ที่เล็กใหญ่แตกต่างกันด้วย ซึ่งจะส่งผลให้อายุในการเก็บรักษาแตกต่างกัน เมล็ดพันธุ์ที่มีความสมบูรณ์ทางกายภาพสะอาด และมีความงอกเบื้องต้นสูง จะเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีแนวโน้มในการเก็บรักษาไว้ได้นาน ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชนั้น ความชื้นของเมล็ด ภาชนะบรรจุ และอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา จะมีผลต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ในระหว่างการเก็บรักษา การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูงมักทำให้เมล็ดมีอัตราการหายใจสูงส่งผลทำให้เมล็ดเสื่อมสภาพเร็วขึ้น ภาชนะที่ใช้บรรจุเมล็ดจะเกี่ยวข้องกับการควบคุมการแลกเปลี่ยนอากาศและความชื้นของบรรยากาศภายในและภายนอกภาชนะ ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษามีผลต่อกระบวนการชีวเคมีภายในเมล็ด การเก็บเมล็ดในสภาพอุณหภูมิต่ำจะช่วยลดกิจกรรมทางชีวเคมีต่างๆภายในเมล็ดทำให้เมล็ดเสื่อมสภาพช้าลง (บัณฑิต และคณะ, 2545) ความชื้นของเมล็ดและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ทั้งนี้เพราะเมล็ดของพืชแต่ละชนิดมีโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน เมล็ดที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสูงจะมีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าเมล็ดที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบสูง (Copeland, 1976)

ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ เป็นปัจจัยสำคัญอันดับแรกที่มีผลต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้มีชีวิตอยู่ได้นาน (ศูนย์นวัตกรรมฯ, 2548) เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูงมักจะมีอัตราการสูญเสียความงอกอย่างรวดเร็ว ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นต่ำจะมีอัตราการสูญเสียความงอกลดลง (Hlyka and Robinson, 1954) เนื่องจากความชื้นในเมล็ดพันธุ์จะมีผลต่อการหายใจและการย่อยสลายอาหารที่สะสมไว้ในเมล็ด ทำให้เกิดความร้อนและความชื้นเพิ่มขึ้น ความร้อนที่สะสมมากขึ้นจะทำให้เมล็ดพันธุ์ยิ่งมีอัตราเสื่อมเร็วยิ่งขึ้น ทั้งความร้อนและความชื้นนอกจากจะเป็นอันตรายต่อเมล็ดโดยตรงแล้ว ยังช่วยให้เชื้อราและแมลงเจริญเติบโต ทำลายเมล็ดพันธุ์ได้เร็วขึ้นอีกด้วย (ศูนย์นวัตกรรมฯ, 2548) สภาพที่เหมาะสมที่ทำให้สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นาน คือ เมล็ดพันธุ์ต้องมีความชื้นต่ำ ยิ่งต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ได้ยิ่งดี (พีระศักดิ์, 2542) เมล็ดพันธุ์มีคุณสมบัติที่เรียกว่า ไฮโกรสโคปิค (Hygroscopic) คือ สามารถที่จะรับหรือถ่ายเทความชื้นให้กับบรรยากาศรอบๆ เมล็ดได้

การถ่ายเทความชื้นนี้จะเกิดขึ้นจนกว่าจะถึงจุดสมดุล ซึ่งเป็นจุดที่เมล็ดมีความชื้นคงที่ (จวงจันทร์, 2529) หากนำเมล็ดที่แห้งดีแล้วไปเก็บรักษาในภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูง เมล็ดก็จะดูดรับความชื้นเข้าไปและหากนำเมล็ดที่มีความชื้นสูงไปเก็บไว้ในที่ที่มีความชื้นสัมพันธ์ของ อากาศต่ำ เมล็ดก็จะคายความชื้นออก แต่เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพืชต่างชนิดไว้ที่สภาพความชื้นสัมพัทธ์เดียวกัน แต่ละชนิดจะมีจุดสมดุลความชื้นที่ไม่เท่ากัน ซึ่งจะเป็นเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของโปรตีน คาร์โบไฮเดรท เซลลูโลส และน้ำมัน ที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ด (ศูนย์นวัตกรรมฯ, 2548) ด้วยคุณสมบัติข้อนี้ทำให้สามารถลดความชื้นในเมล็ดได้ โดยการลดระดับความชื้นสัมพัทธ์ของห้องที่ใช้เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ซึ่งถ้าความชื้นภายในห้องเก็บเมล็ดพันธุ์สูงจะทำให้อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สั้นลงอย่างรวดเร็ว (Glenn *et al*., 1987) ฉะนั้นเมื่อลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ได้ระดับที่ต้องการแล้วควรเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทที่ป้องกันความชื้นได้ และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิระหว่าง 5 ถึง -10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 30 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานขึ้น (Jame, 1967) ในการเก็บเกี่ยวเมล็ดคำฝอย เพื่อไม่ให้เมล็ดได้รับความเสียหาย ควรเก็บเกี่ยวในช่วงที่อุณหภูมิสูง ความชื้นต่ำ และเมล็ดพันธุ์มีความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ (Duane *et al*., 2007) ถ้าความชื้นในเมล็ดสูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ควรเกี่ยวแล้วมัดฟ่อนผึ่งลมไว้ก่อน (Oelke *et al*., 2000) เมล็ดคำฝอยเป็นเมล็ดกลุ่มออร์โธดอกซ์ (Orthodox seed) ซึ่งสามารถลดความชื้นในเมล็ดให้อยู่ในระดับต่ำได้ (Dajue and Mündel, 1996) จากการทดลองของ James *et al*. (1967) พบว่าเมล็ดคำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 12.2 เปอร์เซ็นต์ สูงเกินไปไม่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยให้มีอายุยาวนานขึ้น ควรจะมีความชื้นในเมล็ด 8 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่านี้ (Armah-Agyeman, 2002; Joseph, 2005; Oelke *et al*., 2000) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีจะต้องมีความแข็งแรงและสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานโดยยังคงความมีชีวิตของเมล็ดนั่นเอง เนื่องจากเมล็ดคำฝอยเป็นเมล็ดที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบสูง ทำให้มีอายุในการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่เหมาะสมในการเก็บรักษาไว้ในห้องเก็บอนุรักษ์ที่อุณหภูมิต่างๆ ของทางธนาคารฯ รวมถึงไม่ทราบว่าสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นระยะเวลานานเท่าไร เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่เก็บอนุรักษ์ไว้จึงจะสูญเสียความมีชีวิตโดยการทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง ในการทดลองนี้จึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยให้คงอยู่ในสภาพที่มีชีวิตยาวนาน ตลอดจนสามารถนำเอาเชื้อพันธุ์ที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้ในอนาคต

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์คำฝอยพันธุ์ไร้หนาม
2. ห้องลดความชื้น (Unheated seed room / seed moisture reduction room)
3. ถุงพลาสติกใส
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก

5. เครื่องบด

6. ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture Can) พร้อมฝาปิด

7. ตู้อบความร้อนไฟฟ้าที่ควบคุมอุณภูมิได้ (Hot Air Oven)

8. โถดูดความชื้น (Desiccator)

9. ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์

10. เครื่องซีลสุญญากาศ

11. ถุงกระดาษสีน้ำตาล

12. ถุงซิปพลาสติกใส

13. กระดาษเพาะความงอก

14. กล่องพลาสติกใส

15. ดินสอเขียนกระดาษเปียก

16. ปากคีบ (forcep)

17. ตู้เพาะเมล็ด

18. ตะกร้าพลาสติกพร้อมฝาปิด

- วิธีการ

1. วางแผนการดำเนินการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองย่อย ตามอุณหภูมิในการเก็บรักษา คือ

<u>การทดลองย่อยที่ 1</u> การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

<u>การทดลองย่อยที่ 2</u> การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

<u>การทดลองย่อยที่ 3</u> การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

แต่ละการทดลองย่อยวางแผนการทดลองแบบ Split plot in RCB (Randomized Complete Block Design) จำนวน 4 ซ้ำ โดยกำหนดให้

Main plot เป็น ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ มี 4 ระดับ คือ

ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้นก่อนการลดความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ (ชุดควบคุม)

ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์

ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์

ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์

Sub plot เป็น ระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ มี 28 ระดับ คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษาตั้งแต่เดือนที่ 0 – 27 เดือน

2. การเตรียมเมล็ดพันธุ์สำหรับการทดลอง

2.1 การลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์

ใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธ์พืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ลดความชื้นเมล็ดพันธุ์คำฝอยให้ได้ระดับที่ 8, 6, และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.2 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

นำเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่ผ่านการลดความชื้นแล้วในแต่ละระดับ มาบรรจุใส่ในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ และปิดผนึกถุง โดยก่อนการปิดผนึกถุงให้ดูดเอาอากาศที่อยู่ในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ออก หลังจากนั้นนำเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่บรรจุใส่ในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์เรียบร้อยแล้วเรียงใส่ตะกร้าพลาสติก ปิดฝา นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

3. การตรวจสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์

นำเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสออกมาตรวจสอบความชื้นในเมล็ดพันธุ์ทุกๆเดือน ก่อนการเพาะทดสอบความงอกเพื่อดูว่าความชื้นในเมล็ดพันธุ์ยังคงที่อยู่ในระดับเดิมหรือไม่ โดยวิธีอบด้วยความร้อน (Oven Method) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2011) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. นำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่ใช้ในการตรวจสอบมาคลุกเคล้าให้ทั่วกัน โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนานเกิน 3 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาเพื่อบดตัวอย่างละ 8 กรัม

2. การบดเมล็ด บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด แล้วสุ่มตัวอย่างที่บดแล้ว ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมกลม ก้นแบน ที่มีฝาปิดพอดี นำไปชั่งน้ำหนักพร้อมภาชนะ โดยใช้เครื่องชั่งที่อ่านค่าทศนิยมได้ 4 ตำแหน่ง ทำ 2 ซ้ำ

3. การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบความร้อนไฟฟ้า (Hot Air Oven) ที่มีช่องระบายลม และสามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยใช้อุณหภูมิในการอบ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ± 1 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วรีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโหลดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30 - 45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมทั้งเมล็ดและฝาปิดอีกครั้งหนึ่ง

4. การคำนวณผลการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก 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

4. การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์

เพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์คำฝอยโดยวิธีการเพาะระหว่างกระดาษ BP (Between paper) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2011) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. การเตรียมเมล็ดสำหรับเพาะทดสอบ ให้เตรียมเมล็ดที่ใช้ในการทดสอบซ้ำละ 100 เมล็ด

2. ตัดกระดาษเพาะขนาด 12 x12 นิ้ว จำนวน 4 แผ่น

3. นำกระดาษไปแช่น้ำ แล้วยกขึ้นให้สะเด็ดน้ำ

4. วางกระดาษเพาะซ้อนกัน 3 แผ่น แล้วใช้ปากคีบเรียงเมล็ดพันธุ์ จำนวน 100 เมล็ด กระจายบนกระดาษเพาะ 5แล้วปิดทับด้วยกระดาษเพาะอีกแผ่น

5. พับขอบกระดาษเพาะด้านล่างขึ้น 1 นิ้ว แล้วม้วนจากด้านข้างให้แน่นพอสมควร

6. ใช้ดินสอเขียนกระดาษเปียก เขียนเลขที่ตัวอย่าง ซ้ำที่ และวันที่เพาะ ไว้บนม้วนกระดาษ

7.เพาะเมล็ดพันธุ์ตัวอย่างละ 4 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด

8. นำม้วนกระดาษที่เพาะเมล็ดแล้วทั้ง 4 ม้วน ใส่ในกล่องพลาสติก แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เพาะ ที่อุณหภูมิ 15°C ตั้งกล่องเอียง 45° ให้ม้วนกระดาษด้านที่พับขอบอยู่ข้างล่าง

9. ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 14 วัน

10. การประเมินผลการทดสอบความงอก ตรวจสอบความงอกครั้งแรก (First Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 7 วัน และตรวจสอบความงอกครั้งสุดท้าย (Final Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 14 วัน โดยในการประเมินจะนับและแยกส่วนต่างๆ หลังการเพาะครบเวลาตามกำหนดดังต่อไปนี้

10.1 ต้นอ่อนปกติ (Normal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆ ครบถ้วน

10.2 ต้นอ่อนผิดปกติ (Abnormal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆไม่สมบูรณ์หรือขาดหายไป หรือผิดปกติไปจากเดิม

10.3 เมล็ดแข็ง (Hard Seedling) คือเมล็ดที่มีลักษณะแข็ง ผิวเปลือกไม่ดูดน้ำ หลังจากเสร็จสิ้นการทดสอบจะมีลักษณะคงเดิมทุกอย่าง

10.4 เมล็ดสดที่ไม่งอก (Fresh ungerminated seed) คือเมล็ดที่ดูดน้ำและขยายพองมีขนาดเมล็ดโตขึ้นแต่ไม่มีส่วนใดงอกออกมาเลย

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

การประเมินผลจะเริ่มทำในวันนับครั้งแรก โดยบันทึกและนับออกของต้นอ่อนปกติ และเมล็ดที่ตาย ส่วนที่เหลือจะนับไม่เกินวันนับครั้งสุดท้ายหลังจากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

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

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาทำการทดลอง เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2556

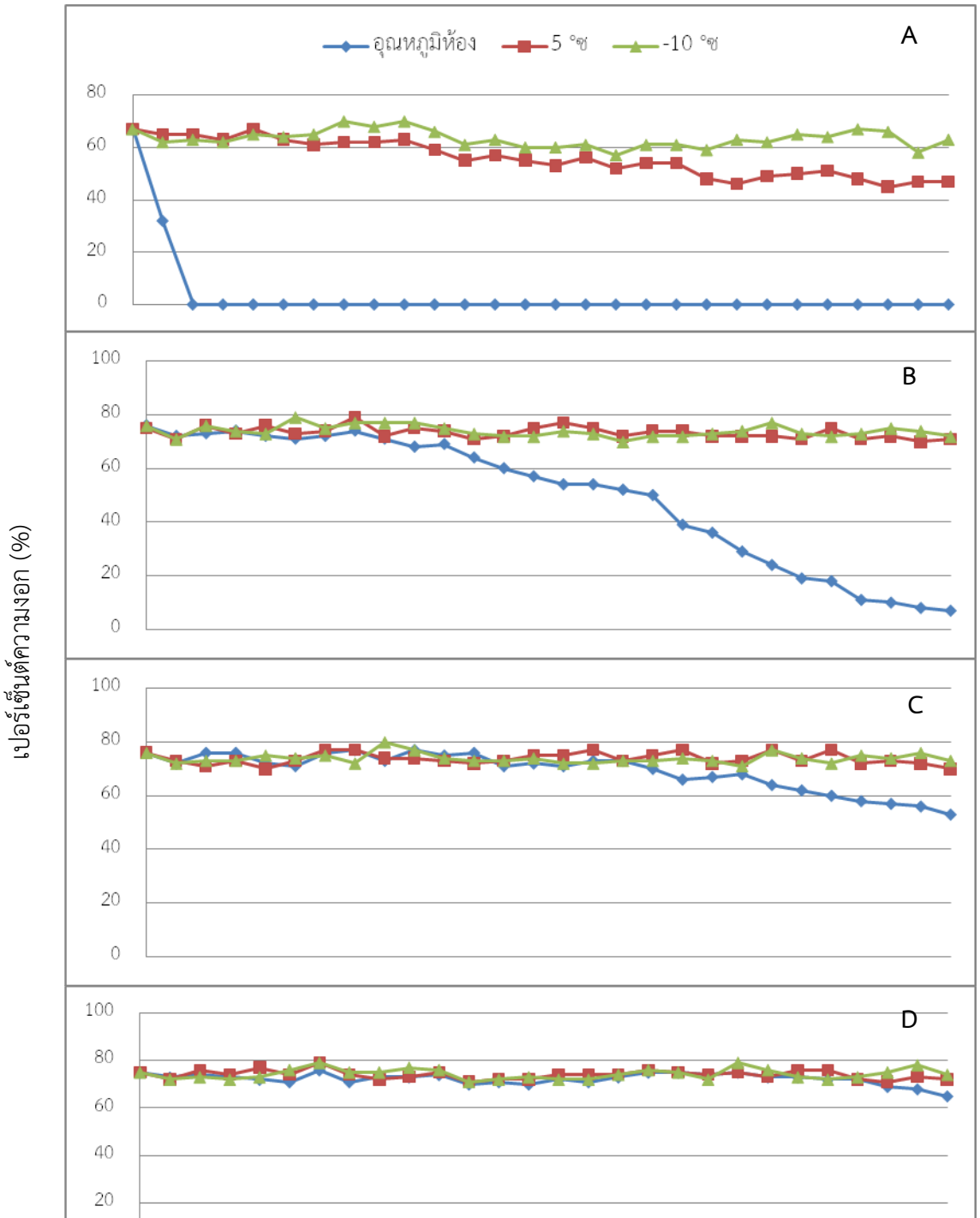
สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช
กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์
อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

จากการศึกษาอิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย โดยศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์คำฝอย 4 ระดับ คือ ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้นก่อนการลดความชื้น, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง, 5 และ -10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 27 เดือน พบว่า เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง จะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์เป็น 0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาได้ 2 เดือน ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้น 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยไว้ได้นานที่สุด โดยที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์คงที่ ตลอดอายุการเก็บรักษานาน 27 เดือน ในขณะที่ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ลดลง เมื่อเก็บรักษาได้นาน 9 และ 18 เดือน ตามลำดับ (ภาพที่ 1) กล่าวคือ การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่อุณหภูมิห้อง เมล็ดพันธุ์คำฝอยจะมีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น ตามระดับความชื้นในเมล็ดที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ James *et al*. (1967) พบว่าเมล็ดคำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 12.2 เปอร์เซ็นต์ สูงเกินไปไม่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ โดยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยให้มีอายุยาวนานขึ้น ควรจะมีความชื้นในเมล็ด 8% หรือต่ำกว่านี้ (Armah-Agyeman, 2002; Joseph, 2005; Oelke *et al*., 2000) เมล็ดที่มีความชื้นสูง จะมีอายุการเก็บรักษาสั้น เนื่องจากมีอัตราการเผาผลาญอาหารสูงเพิ่มภาวะที่เป็นอันตรายกับเมล็ด ชักนำให้โรคและแมลงเข้าทำลายจึงเสื่อมสภาพเร็วกว่าเมล็ดที่แห้ง ดังนั้นในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์จึงเน้นการทำให้เมล็ดแห้ง โดยการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ ซึ่งการลดความชื้นในเมล็ดลง 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เก็บรักษาได้นานขึ้นเป็น 2 เท่า (ศูนย์นวัตกรรมฯ, 2548) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pratibha *et al*. (2009) ที่ศึกษาภาชนะบรรจุและความชื้นในเมล็ดที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย พบว่าความชื้นในเมล็ด 6-8 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดงอกได้โดยปลอดภัยจากการเข้าลายของเชื้อรา ส่วนที่ความชื้นในเมล็ด 10-12 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพจากการเข้าทำลายของเชื้อรา นอกจากความชื้นในเมล็ดพันธุ์ ภาชนะที่ใช้ในการบรรจุเมล็ดก็มีส่วนช่วยทำให้เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยได้นานขึ้น

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับต่างๆ ที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยได้นาน 27 เดือน โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์คงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา แต่การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสที่ระดับความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บรักษานาน 27 เดือน ซึ่ง

สอดคล้องกับการทดลองของ Neeta *et al.* (N.d.) ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ด 6, 3.8 และ 1.7 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 38 เดือน พบว่าเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ด 1.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาองศาเซลเซียส โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ด 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาองศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพียง 1 และ 84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อุณหภูมิมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีภายในเมล็ด ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในที่ที่มีอุณหภูมิสูง มีอายุการเก็บรักษาสั้น เนื่องจากอุณหภูมิสูงจะเป็นตัวเร่งกิจกรรมในเมล็ด ทำให้เมล็ดมีอัตราการหายใจสูงและสูญเสียความงอกอย่างรวดเร็ว ซึ่งการลดอุณหภูมิของโรงเก็บลง 10 องศาฟาเรนไฮจะทำให้อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นที่มีผลต่ออายุการรักษา สามารถชดเชยและสนับสนุนซึ่งกันและกัน ดังนั้นสภาพที่ดีที่สุดในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คือความชื้นในเมล็ดต่ำ เก็บที่อากาศเย็น แห้งและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (ศูนย์นวัตกรรมฯ, 2548)



ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)

A : ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น (12%) **B** : ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8%

C : ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6% **D** : ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4%

ภาพที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในเก็บรักษาต่างๆ เป็นระยะเวลา 27 เดือน

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการทำวิจัยเรื่องอิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่ออนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 12 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง มีอายุในการเก็บรักษาสั้น การลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ลงเป็น 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ช่วยให้เมล็ดพันธุ์คำฝอยมีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้นตามระดับความชื้นที่ลดลง

2. เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 12 เปอร์เซ็นต์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์จะยาวนานขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาลดลง

3. เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8,6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีอายุในการเก็บรักษาสั้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง แต่มีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส

4. การเก็บอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์คำฝอยในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ ควรลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้ต่ำที่สุดก่อนการนำไปเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 $^{\circ}$C) และระยะยาว (-10 $^{\circ}$C) เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้นานขึ้น

ชื่อการทดลองที่ 4 : ผลของความชื้นในเมล็ดและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

: Effect of seed moisture content and storage temperature on castor bean for conservation in Department of Agriculture Genebank.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวเสาวณี เดชะคำภู

ผู้ร่วมงาน : นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์
นายพิทยา วงษ์ช้าง
นางสาวอัสนี ส่งเสริม
นางสาวชลลดา สามพันพวง
สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

เมล็ดพันธุ์ละหุ่งจัดเป็นพืชน้ำมัน และมีปริมาณน้ำมันสูงถึง 40-60 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้น การทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อหาเทคนิคที่เหมาะสมในการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ละหุ่งให้มีอายุการเก็บรักษานานที่สุด ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร จ.ปทุมธานี การศึกษาผลของความชื้นและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่ง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองตามสภาพอุณหภูมิในการเก็บรักษา 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 5 องศาเซลเซียส และ -10 องศาเซลเซียส แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย main plot คือ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ 3 ระดับ ได้แก่ ความชื้นเริ่มต้น (8 เปอร์เซ็นต์) 6 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ sub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 ระดับ ได้แก่ 0-27 เดือน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกทุก 1 เดือน พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่อระยะเวลาในการเก็บรักษาในทุกอุณหภูมิที่เก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยทุกอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4-6 เปอร์เซ็นต์สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นานที่สุด ที่อุณหภูมิห้องสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์นานประมาณ 2-3 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอก 70 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์นานประมาณ 9 เดือน คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ และที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 14 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต

Abstract

Castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds are oil plant which contains between 40% and 60% crude oil cause to can't keep for long term storage. This experiment study factor which effect to seed longevity at Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture. This study has 3 sub-experiment according to temperature storage of room-temperature (25-35°C), 5°C and -10°C and used Split plot in RCB design, 4 replications. The main plot is seed moisture content for 3 levels at 8%, 6% and 4% and sub-plot is storage times for 28 levels at 0-27 months. The percent of germination are recorded in every month. The seed moisture content has effect storage times in highly significant. In every storage time , the optimum seed moisture content is 4-6 %.The temperature room can stored about 2-3 months to germinated 70 %, at 5°C about 9 months to germinated 80% and about 2 yrs to germinated 70% and -10°C about 14 months to germinated 80% and about 2 yrs to germinated 70%.

บทนำ (Introduction)

ละหุ่งเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ใช้เป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น สี หมึกพิมพ์ พลาสติก เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น และจาระบี ปัจจุบันประเทศไทยมีการ

เพาะปลูกละหุ่งน้อยมาก เนื่องจากเกษตรกรปลูกพืชอื่นที่มีรายได้ดีกว่า และดูแลรักษาง่ายกว่า ขาดละหุ่งพันธุ์ดีที่ให้ผลผลิตสูง อายุสั้น ต้านทานโรคและแมลงสะดวกในการดูแลรักษาและเก็บเกี่ยวและละหุ่งพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ปลูกมาเป็นเวลานานมีอายุยาว ต้นสูงใหญ่ยากต่อการดูแลรักษาและเก็บเกี่ยว ผลผลิตค่อนข้างต่ำจึงไม่นิยมปลูกเป็นพืชหลักหรือมักปลูกแบบหัวไร่ปลายนา เพื่อป้องกันการสูญหายของเชื้อพันธุกรรมละหุ่งทางธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตรได้มีการเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ละหุ่งไว้จำนวนหลายสายพันธุ์ แต่เนื่องจากเมล็ดละหุ่งเป็นพืชน้ำมัน มีปริมาณน้ำมันสูง 40-60 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก (ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี, 2549) ส่งผลให้มีอายุในการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น ปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาคือ ความชื้นของเมล็ดและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา นอกจากนี้ความชื้นของเมล็ดและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาที่เหมาะสมจะขึ้นอยู่กับพืชแต่ละชนิด เนื่องจากเมล็ดพืชแต่ละชนิดมีโครงสร้างและองประกอบทางเคมีแตกต่างกัน และเมล็ดที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสูงจะมีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่าเมล็ดที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบสูง (Copeland, 1976)

ในเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูงจะมีอัตราการสูญเสียความงอกอย่างรวดเร็วในขณะที่เมล็ดพันธุ์ถ้ามีความชื้นต่ำจะมีอัตราการสูญเสียความงอกลดลง (Hlyka and Robinson, 1954) และสภาพเหมาะสมที่ทำให้สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นาน คือ เมล็ดต้องมีความชื้นต่ำ ยิ่งต่ำกว่า 10% ได้ยิ่งดี (พีระศักดิ์, 2542) ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในระยะยาว 10-20 ปี เมล็ดพืชน้ำมัน และเมล็ดพืชผักต้องมีความชื้นไม่เกิน 9 เปอร์เซ็นต์ (สาวิตรี และรุจิพร, 2541) ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี (2549) รายงานการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่มีความงอกเริ่มต้น 65-79 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพอุณหภูมิห้องปกติพบว่าในเดือนที่ 8 ความงอกลดลงเหลือ 18-50 เปอร์เซ็นต์ Neeta และคณะ (2001) ทดลองลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ละหุ่งให้ได้ระดับ 6, 5 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น 84 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 43 เดือน เมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง (25-45 องศาเซลเซียส) ความงอกลดลงเหลือ 0, 36 และ 64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีความงอกลดลงเหลือ 52, 60 และ 64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

การทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อหาเทคนิคที่เหมาะสมในการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ละหุ่งให้มีอายุการเก็บรักษานานที่สุด

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์

- เมล็ดละหุ่งพันธุ์ TC207
- เครื่องบด
- เครื่องชั่งน้ำหนัก
- ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมฝาปิด
- ตู้อบความร้อนไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (Hot Air Oven)

- ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ (Unheated seed room/seed moisture reduction room)
- ถุงกระดาษสีน้ำตาล
- ถุงซิปพลาสติกใส
- ถุงอลูมิเนียมฟอยล์
- โถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น
- อุปกรณ์ทดสอบความงอก

วิธีการ

1. แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา คือ

<u>การทดลองที่ 1</u> อุณหภูมิการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

<u>การทดลองที่ 2</u> อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส

<u>การทดลองที่ 3</u> อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ -10 องศาเซลเซียส

2. แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split Plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย

2.1 Main plot เป็น ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 3 ระดับ คือ

- ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น (Control) คือ 8 เปอร์เซ็นต์
- 4 เปอร์เซ็นต์
- 6 เปอร์เซ็นต์

2.2 Sub plot เป็น ระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 ระดับ คือ 0 – 27 เดือน

3. การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ โดยใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธ์พืชที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ลดความชื้นให้ได้ระดับที่ 4, และ 6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. การเก็บรักษา นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับมาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกโดยมีการดูดอากาศออก และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

5. การทดสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีอบด้วยความร้อน (Air-Oven Method) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

5.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบ คลุกเคล้าให้ทั่ว โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนานเกิน 3 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาเพื่อบดตัวอย่างละ 8 กรัม

5.2 การบดเมล็ด บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด แล้วสุ่มตัวอย่างที่บดแล้ว ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมกลม ก้นแบน ที่มีฝาปิดพอดี นำไปชั่งน้ำหนักพร้อมภาชนะ โดยใช้เครื่องชั่งที่อ่านค่าทศนิยมได้ 3 ตำแหน่ง ทำ 2 ซ้ำ

5.3 การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบไฟฟ้า ที่มีช่องระบายลม และสามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยใช้อุณหภูมิในการอบ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ± 1 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วรีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโหลดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30-45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมทั้งเมล็ดและฝาปิดอีกครั้งหนึ่ง

5.4 การคำนวณผลการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และรายงานเพียงทศนิยมตำแหน่งเดียวเท่านั้น โดยใช้สูตรดังต่อนี้

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

ซึ่ง M_1 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิด

M_2 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดก่อนอบ

M_3 คือ น้ำหนักเป็นกรัมของภาชนะและฝาปิดและเมล็ดหลังอบ

6. การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์เพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ละหุ่งโดยวิธีใช้ทรายเป็นวัสดุเพาะ ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2011) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

6.1 การเตรียมเมล็ดสำหรับเพาะทดสอบ ให้เตรียมเมล็ดที่ใช้ในการทดสอบซ้ำละ 100 เมล็ด

6.2 การเตรียมวัสดุเพาะ ทรายที่ใช้สำหรับการเพาะทดสอบความงอกนั้น ไม่ละเอียดหรือหยาบเกินไป แต่จะใช้ขนาดที่รอดรูตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 มิลลิเมตร และด้านบนรูตะแกรงขนาด 0.05 มิลลิเมตร ทรายที่ใช้เพาะจะต้องและฆ่าเชื้อเสียก่อนเพื่อฆ่าจุลินทรีย์ เชื้อโรค และเมล็ดอื่นๆที่ติดมา และมีความชื้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาบรรจุใส่กล่องเพาะทดสอบความงอก และปาดหน้าทรายให้เรียบสม่ำเสมอพร้อมเจาะหลุมสำหรับหยอดเมล็ด

6.3 การเพาะเมล็ด นำเมล็ดที่เตรียมมาหยอดลงในหลุมที่เจาะไว้แล้วกลบหน้าด้วยทรายปาดให้เรียบและให้เมล็ดอยู่ลึกประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นปิดฝากล่องเพาะเมล็ด แล้วนำไปเก็บในห้องเพาะทดสอบความงอกอุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส

6.4 ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 14 วัน

6.5 การประเมินผลการทดสอบความงอก ตรวจสอบความงอกครั้งแรก (First Count) เมื่อต้นกล้าอายุ 7 วัน และตรวจสอบความงอกครั้งสุดท้าย (Final Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 14 วัน โดยในการประเมินจะนับและแยกส่วนต่างๆหลังการเพาะครบเวลาตามกำหนดดังต่อไปนี้

6.5.1 ต้นอ่อนปกติ (Normal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆครบถ้วน

6.5.2ต้นอ่อนผิดปกติ (abnormal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆไม่สมบูรณ์หรือขาดหายไปหรือผิดปกติไปจากเดิม

6.5.3 เมล็ดแข็ง (Hard Seedling) คือเมล็ดที่มีลักษณะแข็ง ผิวเปลือกไม่ดูดน้ำ หลังจากเสร็จสิ้นการทดสอบจะมีลักษณะคงเดิมทุกอย่าง

6.5.4 เมล็ดสดที่ไม่งอก (Fresh ungerminated seed) คือเมล็ดที่ดูดน้ำและขยายพองมีขนาดเมล็ดโตขึ้นแต่ไม่มีส่วนใดงอกออกมาเลย

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

การประเมินผลจะเริ่มทำในวันนับครั้งแรก โดยบันทึกและนับออกของต้นอ่อนปกติ และเมล็ดที่ตาย ส่วนที่เหลือจะนับไม่เกินวันนับครั้งสุดท้าย หลังจากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

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

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาทำการทดลอง เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

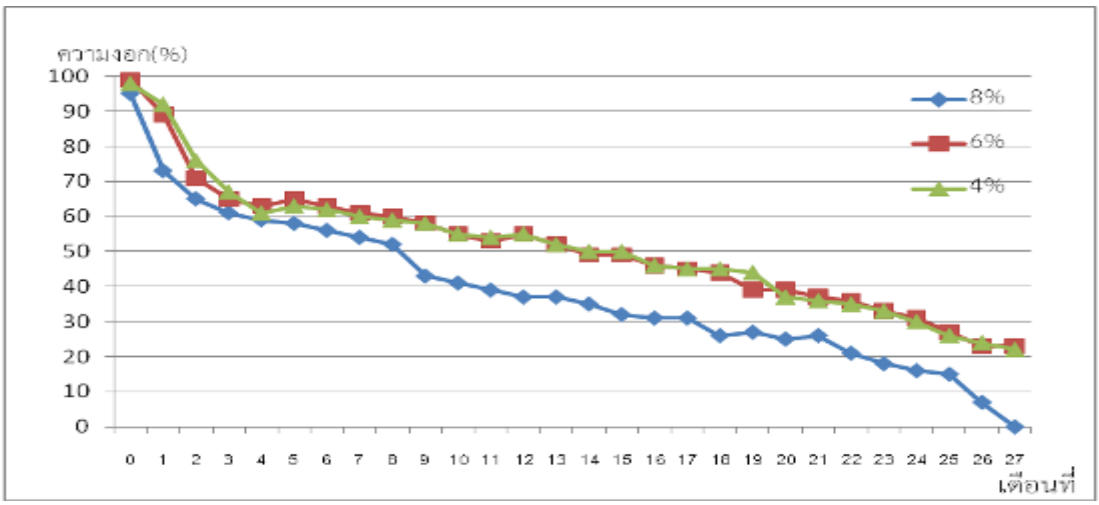
ผลการวิจัย (Results)

<u>การทดลองที่ 1</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

การศึกษาผลของระดับความชื้นที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง (25-35 องศาเซลเซียส) โดยเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่มีความชื้น 3 ระดับ คือ 8 เปอร์เซ็นต์ (ความชื้นเริ่มต้น) 6 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ นาน 27 เดือน พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์และระยะเวลาในการเก็บรักษาและแตกต่างทางสถิติ โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งทั้ง 3 ระดับความชื้นมีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 1) ที่ระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นมากที่สุด โดยลดลงจาก 95 เปอร์เซ็นต์เป็น 73 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 1 เดือน ภายในเดือนที่ 8 เหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ และภายในระยะเวลา 27 เดือน พบว่าเมล็ดพันธุ์ละหุ่งไม่สามารถงอกได้ (ตารางที่ 1) ขณะที่ความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ความงอกมีแนวโน้มลดลงจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นและไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่ลดลงน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) โดยเดือนที่ 1 ความงอกลดลงเหลือ 89 และ 92 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในเดือนที่ 13 เหลือประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์และมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆจนถึงเดือนที่ 27 ความงอกเหลือประมาณ 22-27 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

จากการทดลองพบว่าเมล็ดละหุ่งที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างรวดเร็วและเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 8 เดือน และสูญเสียเปอร์เซ็นต์ความงอกภายในระยะประมาณ 2 ปี ที่ระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความชื้นที่ต่ำกว่า คือ 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกันแต่อยู่ในระดับที่ต่ำกว่า คือ ภายใน 13 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ และภายใน 27 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกเหลือ 22-27 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการทดลองของ Neeta และคณะ (2001) พบว่าเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องประมาณ 25-45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 43 เดือน โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น 84 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่มีระดับความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์มีการสูญเสียเปอร์เซ็นต์ความงอก และที่ระดับความชื้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 36 ขณะที่ระดับความชื้น 3.2 เปอร์เซ็นต์ ยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 64

เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์ความงอกนอกจากจะมีผลจากระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์แล้วสภาพอุณหภูมิห้องซึ่งมีอุณหภูมิและความชื้นค่อนข้างสูงส่งผลให้เมล็ดมีกิจกรรมของเอนไซม์ในกระบวนการเมตาบอลิซึมเกิดขึ้นเร็วก่อให้เกิดการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็วเช่นกันถึงแม้ว่าความชื้นในเมล็ดจะต่ำกว่าระดับที่จำเป็นสำหรับการงอกของเมล็ดก็ตาม (ชุษหเทพ, 2537)



ภาพที่ 1 แสดงผลของเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ละหุ่งทีมีต่อความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเมื่อผ่านการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องที่ระยะเวลาต่างๆ

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ ในแต่ระดับความชื้นที่สภาพการเก็บรักษาอุณหภูมิห้อง

เดือนที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้น		
	8	6	4
0	95a	99a	98a
1	73b	89b	92b
2	65c	71c	76c
3	61cd	65d	67de
4	59de	63de	61efg
5	58def	65d	63de
6	56ef	63de	62ef
7	54fg	61def	60efg
8	52g	60ef	59fgh
9	43hi	58fg	58ghi
10	41hi	55gh	55hij
11	39hi	53hi	54ijk
12	37ij	55gh	55hij
13	37ij	52hij	52jk

14	35jk	49ijk	50klm
15	32kl	49jk	50klm
16	31kl	46kl	46lm
17	31lm	45kl	45m
18	26m	44l	45m
19	27m	39mn	44m
20	25m	39mn	37n
21	26m	37mn	36no
22	21n	36mn	35no
23	18no	33no	33op
24	16o	31o	30p
25	15o	27p	26q
26	7p	23q	24qr
27	0q	23q	22r

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่2 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่ระดับความชื้นและอายุการเก็บรักษาต่างๆ ในสภาพการเก็บรักษาอุณหภูมิห้อง

ความชื้น	เปอร์เซ็นต์ความงอก													
(%)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
8	95b	73c	65c	61b	59a	58b	56b	54b	52b	43b	41b	39b	37b	37b
6	99a	89b	71b	65a	63a	65a	63a	61a	60a	58a	55a	53a	55a	52a
4	98a	92a	76a	67a	61a	63a	62a	60a	59a	58a	55a	54a	55a	52a
	เปอร์เซ็นต์ความงอก													
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
8	35b	32b	31b	31b	26b	27c	25b	26b	21b	18b	16b	15b	7b	0b
6	49a	49a	46a	45a	44a	39b	39a	37a	36a	33a	31a	27a	23a	23a

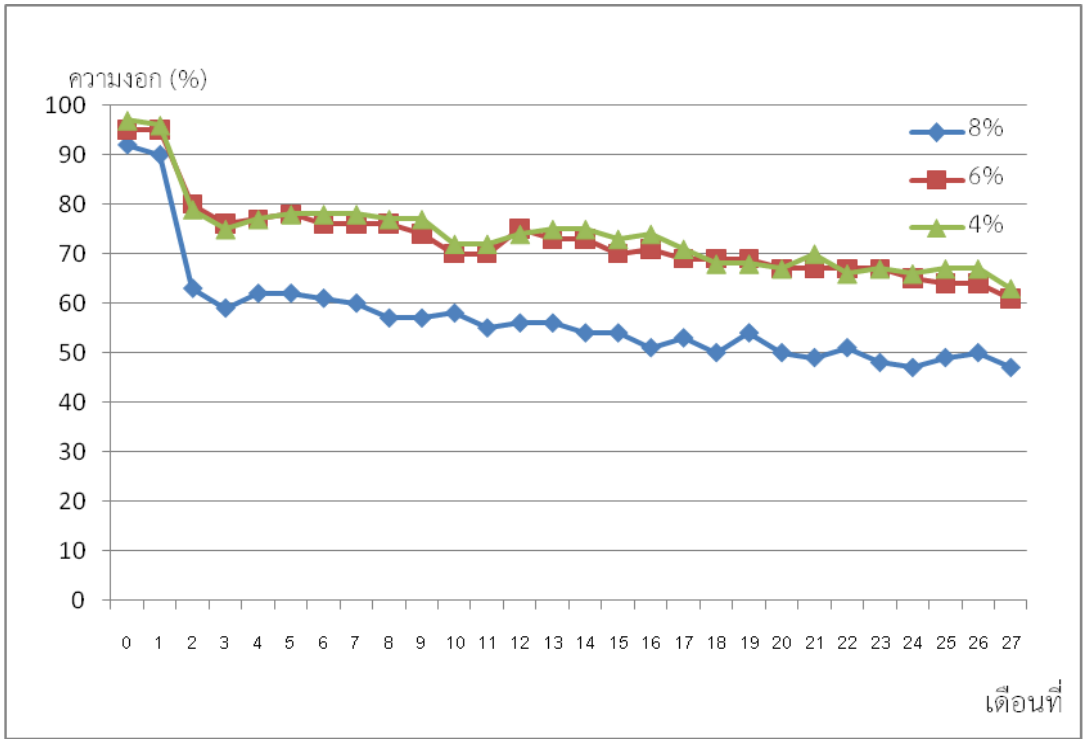
4	50a	50a	46a	45a	45a	44a	37a	36a	35a	33a	30a	26a	24a	22a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

<u>การทดลองที่ 2</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์และระยะเวลาในการเก็บรักษาและแตกต่างทางสถิติ โดยในระยะเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษาเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ระหว่าง 92-97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่างๆ เปอร์เซ็นต์ความงอกในแต่ละเดือนของทุกระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 2) โดยที่ระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มความงอกลดลงมากที่สุด และเริ่มลดลงในเดือนที่ 2 เหลือ 63 เปอร์เซ็นต์ และหลังจาก 15 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มลดลงเหลือประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) ขณะที่ความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มลดลงและไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่ลดลงน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ โดยความงอกเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 2 เหลือประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเรื่อยๆ จนถึงเดือนที่ 10 เป็นต้นไปเหลือประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

จากผลการทดลองพบว่าระดับความชื้นเมล็ดละหุ่งมีผลต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงเรื่อยๆตามระยะเวลาในการเก็บรักษา และเก็บรักษาไว้ได้นานประมาณ 2 ปี โดยยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ 70 เปอร์เซ็นต์ ในระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ต่ำ คือ 6 หรือ 4 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถรักษาเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการทดลองของ Neeta และคณะ (2001) พบว่าเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 43 เดือน โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น 84 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่มีระดับความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์ยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอก 52 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความชื้น 3.2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ 60-64 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้นอกจากปัจจัยในเรื่องของความชื้นในเมล็ดพันธุ์แล้วสภาพอุณหภูมิในการเก็บรักษายังมีผลต่ออายุการเก็บรักษา ซึ่งควรใช้อุณหภูมิต่ำ ถ้าอุณหภูมิสูง กิจกรรมทางชีวเคมีต่างๆ เช่น การหายใจสูงทำให้เมล็ดสูญเสียความงอกอย่างรวดเร็ว การเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ในที่อุณหภูมิต่ำๆ จึงสามารถดำรงความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนานออกไป (จวงจันทร์, 2529)



ภาพที่ 2 แสดงผลของเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ละหุ่งทีมีต่อความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเมื่อผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสในระยะเวลาต่างๆ

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ ในแต่ระดับความชื้นที่ สภาพการเก็บรักษาอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

เดือนที่	ความงอก (%)		
	8%	6%	4%
0	92a	95a	97a
1	90a	95a	96b
2	63bc	80b	79c
3	59cd	76cd	75def
4	62bc	77cd	77cde
5	62bc	78bc	78c
6	61bc	76cd	78cde
7	60cd	76cd	78cd
8	57def	76cd	77cde
9	57def	74de	77cde
10	58ef	70fgh	72ghi
11	55ef	70fg	72hi
12	56ef	75de	74fgh
13	56ef	73ef	75def
14	54fgh	73ef	75efg
15	54fgh	70fgh	73fgh
16	51gh	71fg	74fgh
17	53fgh	69ghi	71hij
18	50hi	69ghi	68jkl
19	54fgh	69ghi	68jkl
20	50hi	67hij	67kl
21	49hi	67ij	70ijk
22	51gh	67ijk	66l
23	48hi	67hij	67kl
24	47i	65jk	66l
25	49hi	64kl	67kl
26	50hi	64jk	67kl
27	47i	61l	63m

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่4 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่ระดับความชื้นและอายุการเก็บรักษาต่างๆ ในสภาพการเก็บรักษาอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ความชื้น	เปอร์เซ็นต์ความงอก													
(%)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
8%	92c	90b	63b	59b	62b	62b	61b	60b	57b	57c	58b	55b	56b	56b
6%	95b	95a	80a	76a	77a	78a	76a	76a	76a	74b	70a	70a	75a	73a
4%	97a	96a	79a	75a	77a	78a	78a	78a	77a	77a	72a	72a	74a	75a
	เปอร์เซ็นต์ความงอก													
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
8%	54b	54b	51b	53b	50b	54b	50b	49c	51b	48b	47b	49c	50c	47b
6%	73a	70a	71a	69a	69a	69a	67a	67b	67a	67a	65a	64b	64b	61a
4%	75a	73a	74a	71a	68a	68a	67a	70a	66a	67a	66a	67a	67a	63a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

<u>การทดลองที่ 3</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

ในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นการทดลองเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ระยะยาว พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์และระยะเวลาในการเก็บรักษาและแตกต่างทางสถิติ เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ละหุ่งทั้ง 3 ระดับความชื้น ในระยะเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 94-97 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเก็บรักษาเปอร์เซ็นต์ความงอกในแต่ละเดือนของทุกระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 3) โดยที่ระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงมากที่สุด และเริ่มลดลงในเดือนที่ 2 เหลือ 65 เปอร์เซ็นต์ หลังจาก 14 เดือน เหลือประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) ขณะที่ความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ความงอกมีแนวโน้มลดลงและไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่ลดลงน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ 8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) โดยความงอกเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 2 เหลือประมาณ 80-85 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเรื่อยๆ จนถึงเดือนที่ 10 เหลือประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ และภายใน

27 เดือน ยังคงระดับเดิม (ตารางที่ 6) แสดงว่าที่ระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่ 4 หรือ 6 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลาประมาณ 2 ปี ยังสามารถเก็บรักษาให้เมล็ดพันธุ์ให้คงเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ 70 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ ในแต่ระดับความชื้นที่ สภาพการเก็บรักษาอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

เดือนที่	ความงอก (%)		
	8%	6%	4%
0	94a	97a	96a
1	91b	92b	91b
2	65cd	85c	80c
3	62cde	81d	77cde
4	64cd	77ef	76def
5	61def	79de	79cd
6	64cd	77ef	79cde
7	62cde	76ef	79cd
8	59efg	77ef	78cde
9	58fgh	75fg	77e-f
10	62cde	71hi	78cde
11	55hi	70hij	77c-f
12	57gh	76ef	77c-f
13	60efg	71hij	76c-f
14	54hi	72gh	76ef
15	54hi	70hij	71gh
16	54hi	72h	74fg
17	53ijk	70hij	69hij
18	51ijk	68i-l	70hij
19	54ijk	69h-k	70hij
20	53ijk	68i-l	68h-k
21	51ijk	68j-m	67i-l
22	53ijk	64mn	66j-m

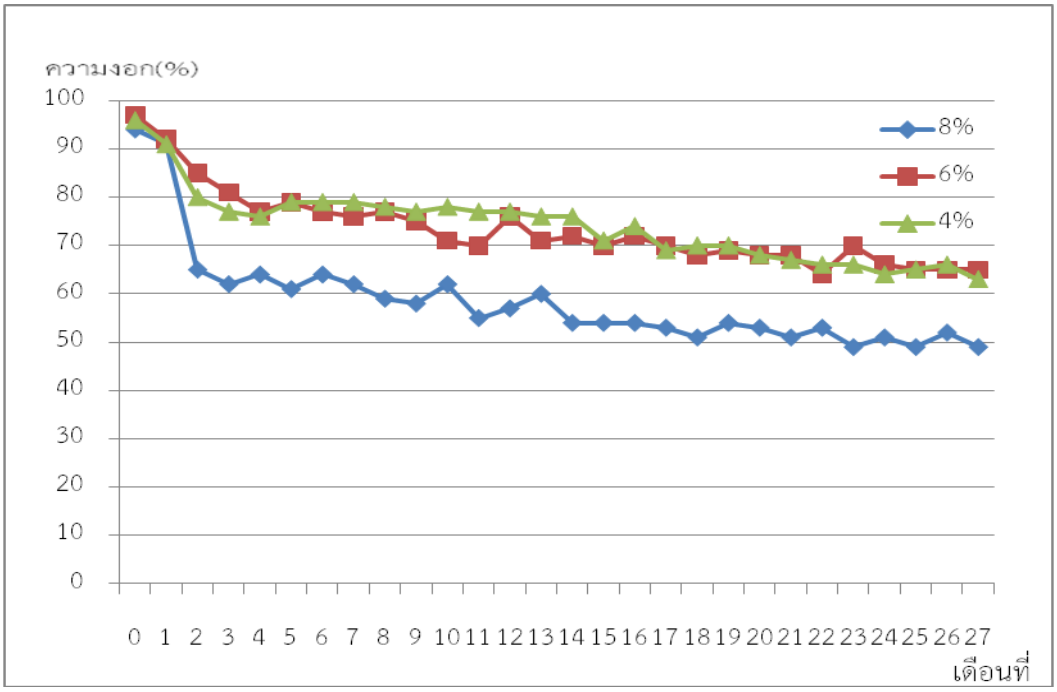
23	49jk	70h-k	66j-m
24	51ijk	66klm	64lm
25	49jk	65lm	65klm
26	52ijk	65lm	66klm
27	49k	65lm	63m

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งที่ระดับความชื้นและอายุการเก็บรักษาต่างๆ ในสภาพการเก็บรักษาอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

ความชื้น	เปอร์เซ็นต์ความงอก													
(%)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
8%	94c	91a	65c	62c	64b	61b	64b	62c	59b	58b	62c	55c	57b	60c
6%	97a	92a	85a	81a	77a	79a	77a	76b	77a	75a	71b	70b	76a	71b
4%	96b	91a	80b	77b	76a	79a	79a	79a	78a	77a	78a	77a	77a	76a
	เปอร์เซ็นต์ความงอก (%)													
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
8%	54c	54b	54b	53b	51b	54b	53b	51b	53b	49b	51b	49b	52b	49b
6%	72b	70a	72a	70a	68a	69a	68a	68a	64a	70a	66a	65a	65a	65a
4%	76a	71a	74a	69a	70a	70a	68a	67a	66a	66a	64a	65a	66a	63a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละเดือนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 3 แสดงผลของเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ละหุ่งทีมีต่อความงอกเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเมื่อผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสในระยะเวลาต่างๆ

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

<u>การทดลองที่ 1</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 4-6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 2-3 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งควรลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์**ในสภาพอุณหภูมิห้อง**ไว้ได้นานที่สุด

<u>การทดลองที่ 2</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 4-6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 9 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งควรลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสไว้ได้นานที่สุด แต่ทั้งนี้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นการเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง ซึ่งคาดว่าจะเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นานประมาณ 3-5 ปี แต่ในการทดลองใช้ระยะเวลา ประมาณ 2 ปี

น่าจะมีการศึกษาต่อไปอีกในอนาคตว่าเมล็ดพันธุ์จะยังคงสามารถเก็บรักษาไปได้อีกนานเท่าใดเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการนำเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ออกมาปลูกฟื้นฟูและต่ออายุเมล็ดพันธุ์ให้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงและนำเข้ามาเก็บรักษาใหม่

<u>การทดลองที่ 3</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 4-6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 14 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งควรลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสไว้ได้นานที่สุด แต่ทั้งนี้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นการเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ระยะยาง ซึ่งคาดว่าจะเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นานประมาณ 10 ปี น่าจะมีการศึกษาต่อไปอีกในอนาคตว่าเมล็ดพันธุ์จะยังคงสามารถเก็บรักษาไปได้อีกนานเท่าใดเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการนำเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ออกมาปลูกฟื้นฟูและต่ออายุเมล็ดพันธุ์ให้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงและนำเข้ามาเก็บรักษาใหม่

ชื่อการทดลองที่ 5 : ผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดด้วยห้องลดความชื้นที่มีต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์

: Effect of Drying Period Using Seed Drying Room on Seed Viability for Genebank Conservation.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวอัสนี ส่งเสริม

ผู้ร่วมงาน : นายพิทยา วงษ์ช้าง
นางสาวพัชร ปิริยะวินิตร
นางสาวชลลดา สามพันพวง
สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ในการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์นั้น ความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้เมล็ดพันธุ์สูญเสียความมีชีวิตอย่างรวดเร็วเมื่อนำมาเก็บรักษา โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวใหม่ซึ่งมีระดับความชื้นสูง ด้วยเหตุนี้การลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์พืชเพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายดังกล่าว จึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญยิ่งของงานอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์พืช การใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถลดความเสียหายของเมล็ดพันธุ์จากความร้อนได้ สำหรับห้องลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร เป็นห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ แต่ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลระยะเวลาในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิด การทดลองนี้จึงดำเนินการเพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์พืชด้วยห้องลดความชื้นต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์พืชชนิดต่างๆ โดยดำเนินการทดลองลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว พริก กระเจี๊ยบแดง มะเขือ ข้าวโพดทานตะวัน ข้าวสาลี ข้าว ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม ฝ้าย เดือย ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้ง และข้าวบาร์เล่ย์ วางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block) จำนวน 4 ซ้ำ สิ่งทดลอง เป็นระยะเวลาในการลดความชื้นตั้งแต่ 0-30 วัน ดำเนินการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดจนครบกำหนด ผลการทดลอง สำหรับเปอร์เซ็นต์ความชื้นเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ส่วนใหญ่ มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วภายในสัปดาห์ที่ 1 จากนั้น จะค่อยๆ ลดลงจนเกือบคงที่ซึ่งได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าว ถั่วพุ่ม ฝ้าย เดือย ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้งและข้าวบาร์เล่ย์ เมล็ดพันธุ์ที่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ได้แก่ ถั่วมะแฮะ สำหรับเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกคงที่ ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าวบาร์เล่ย์ และผักกวางตุ้ง เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างคงที่ ได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง เดือย ปอคิวบา และปอกระเจา เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มลดลง ได้แก่ ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม และฝ้าย เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ได้แก่ ข้าว สำหรับเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือพบว่าไม่สามารถคาดคะเนการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกตามระยะเวลาการลดความชื้นได้ นอกจากนี้พบว่าหลังจากเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ ผ่านการลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน เมล็ดพันธุ์พืชส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ระดับสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้สำหรับการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

บทนำ (Introduction)

ความชื้นของเมล็ดและอุณหภูมิที่เก็บรักษาเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ดังนั้นการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการลดความชื้นของเมล็ดเหล่านั้นให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมก่อนการเก็บรักษา ทั้งนี้เพื่อให้เมล็ดพันธุ์สามารถมีชีวิตอยู่ได้นานที่สุดภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ด้วยธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร เป็นแหล่งรวบรวม อนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชที่อยู่ในความ

รับผิดชอบของกรมวิชาการเกษตร มีห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 %) สำหรับลดความชื้นของเมล็ดก่อนที่จะนำเข้าอนุรักษ์ ปัจจุบันมีพืชที่อนุรักษ์จำนวนมากกว่า 20 ชนิด ซึ่งพืชแต่ละชนิดต้องใช้ระยะเวลาในการลดความชื้นแตกต่างกัน แต่ในขณะนี้ ทางธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับระยะเวลาในการลดความชื้นดังกล่าว จึงจำเป็นต้องหาผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดพืชด้วยห้องลดความชื้น ต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการลดความชื้นของเมล็ดแต่ละชนิดในห้องปฏิบัติการธนาคารเชื้อพันธุ์พืชต่อไป

ความชื้นของเมล็ด คือ ปริมาณของน้ำที่แทรกซึมอยู่ตามส่วนต่างๆ ของเมล็ด (ประนอม, 2549) หน่วยวัดเป็นอัตราส่วนร้อยละของน้ำหนักน้ำที่อยู่ในเมล็ดพันธุ์ต่อน้ำหนักมวลรวมของเมล็ดพันธุ์นั้น และเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดที่ทำให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพ ฉะนั้นการลดความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์จึงมีความสำคัญทุกๆ 1% ที่ความชื้นในเมล็ดพันธุ์ลดลง อายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์นั้นจะนานขึ้นอีกเท่าตัว (Harrington, 1959) เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวใหม่ ๆ ในขณะที่ยังมีระดับความชื้นสูง จำเป็นที่จะต้องลดระดับความชื้นให้เร็วที่สุดเท่าที่จะกระทำได้ ความชื้นที่สูงจะเป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดความเสียหายเนื่องจากเมล็ดพันธุ์เป็นสิ่งที่ยังมีชีวิตและมีขบวนการ Metabolism เกิดขึ้นอยู่เสมอ ขบวนการทางชีวเคมีภายในเมล็ดที่สำคัญซึ่งคงดำเนินอยู่ คือ ขบวนการหายใจซึ่งเป็นขบวนการที่นำเอาออกซิเจนจากอากาศไปสันดาปกับโมเลกุลของสารประกอบคาร์โบไฮเดรท (CHO) แล้วปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และความร้อนออกมา ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยออกมานั้นจะเป็นพิษต่อเมล็ด ทำให้เมล็ดมีอายุสั้นลง ขณะที่น้ำและความร้อนจะเร่งการสลายตัวของสารเคมีในเมล็ด เมล็ดจึงเสื่อมความมีชีวิตลงอย่างรวดเร็ว

การหายใจของเมล็ดมีความสัมพันธ์กับความชื้นของเมล็ด ยิ่งเมล็ดมีความชื้นสูง ยิ่งทำให้อัตราการหายใจของเมล็ดสูงขึ้น ทำให้อาหารที่สะสมไว้ในเมล็ดถูกนำมาย่อยสลายเปลี่ยนไปเป็นพลังงานและความร้อนดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น น้ำหนักของเมล็ดจะลดลงและมีการเสื่อมคุณภาพเร็วขึ้น เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นระหว่าง 13-18 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปมีอัตราหายใจสูง ส่งผลให้ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลงอย่างรวดเร็ว (จวงจันทร์, 2529) นอกจากนี้ยังเอื้อต่อการเจริญเติบโตของและทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อรา (Harrington, 1972) ด้วยเหตุนี้ การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์จึงเป็นขั้นตอนสำคัญของงานอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช

การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ แบ่งออกเป็น 2 วิธีการใหญ่ๆ คือ 1) การลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์โดยอาศัยธรรมชาติ ได้แก่ การตากแดดและผึ่งลม และ 2) การลดความชื้นโดยการปรุงแต่งสภาพอากาศ ได้แก่ การใช้ถังอบ โรงอบ ห้องลดความชื้น เป็นต้น เนื่องจากเมล็ดเป็นวัตถุ Hygroscopic หรือเป็นวัตถุที่ดูดและคายความชื้นได้ หากนำเมล็ดที่มีความชื้นสูงไปเก็บไว้ในห้องที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ เมล็ดจะคายความชื้นออกสู่อากาศภายนอกทำให้เมล็ดนั้นมีความชื้นลดลง ซึ่งเป็นหลักการในการลดความชื้นของเมล็ดโดยทั่วไป เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่ง ความชื้นในเมล็ดเข้าสู่สมดุลกับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในห้อง ความชื้นนี้เรียกว่าความชื้นสมดุลของเมล็ด หรือ Equilibrium moisture content ซึ่งหมายถึง ความชื้นของเมล็ดที่จะเข้าสู่สมดุลกับสภาพอากาศรอบๆ เมล็ด โดยเมล็ดพันธุ์พืชแต่ละชนิดมีค่าความชื้นในเมล็ดที่จุดสมดุลดังกล่าวแตกต่างกันไป โดยเมล็ดพันธุ์พืชแต่ละชนิดมีค่าความชื้นในเมล็ดที่จุดสมดุลดังกล่าวแตกต่างกันไปตาม

องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ด ซึ่งเมล็ดพืชน้ำมันจะมีความชื้นสมดุลต่ำกว่าเมล็ดพวกที่มีแป้ง ตัวอย่างเช่น ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75% ถั่วเหลืองจะมีความชื้นสมดุลที่ 13.1% ข้าวโพดมีความชื้นสมดุลที่ 14.8% หรือที่ความชื้นสัมพัทธ์ 45% ถั่วเหลืองมีความชื้นสมดุลที่ 7.4% ในขณะที่ข้าวโพดมีความชื้นสมดุลที่ 10.5% (สุมลมาลย์, 2543)

วิธีลดความชื้นเมล็ดพันธุ์มีอยู่หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้และเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์มากที่สุด คือ การใช้เครื่องลดความชื้น หรือ Dehumidifier สำหรับธนาคารเชื้อพันธุ์พืชขนาดเล็กสามารถใช้เป็นตู้ลดความชื้น หรือ Seed-drying cabinet ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ได้ และหากเป็นธนาคารเชื้อพันธุ์พืชขนาดใหญ่ อาจสร้างห้องลดความชื้น หรือ seed drying room ซึ่งไม่ว่าจะเป็นตู้หรือห้อง ควรมีการควบคุมปัจจัยรบกวนจากภายนอกเพื่อรักษาความเสถียรของ ค่าอุณหภูมิ และปกป้องความร้อนที่เหนือการควบคุมในกรณีกลไกหยุดทำงาน (Rao และคณะ, 2006)

การใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดความเสียหายที่เมล็ดอาจได้รับจากความร้อน ระยะเวลาในการลดความชื้นขึ้นอยู่กับขนาดของเมล็ด ปริมาณเมล็ดที่ต้องการลดความชื้น ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ และความชื้นสัมพัทธ์ของห้องลดความชื้น (FAO and IPGRI, 1994) สำหรับความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิของห้องลดความชื้นตามคำแนะนำของ IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) คือ 10-15% และ 10 – 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Cromaty และคณะ, 1990) ส่วนระดับความชื้นของเมล็ดที่เก็บรักษาได้อย่างปลอดภัยสำหรับเชื้อพันธุ์พืช คือ ช่วงความชื้นระหว่าง 3%-7% ที่ อุณหภูมิ 0 ถึง – 18 องศาเซลเซียส (IBPGR, 1985) ด้วยเหตุนี้ การลดความชื้นจึงจำเป็นต้องคำนึงถึงความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดและระยะเวลาที่ใช้ในการลดความชื้นเป็นสำคัญ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดด้วยห้องลดความชื้นต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้มาใช้เป็นมาตรฐานในการลดความชื้นของเมล็ดแต่ละชนิดในห้องปฏิบัติการของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์:

1. เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ถั่วเขียว พริก กระเจี๊ยบแดง มะเขือ ข้าวโพด ทานตะวัน ข้าวสาลี ข้าว ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม ฝ้าย เดือย ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้ง และ ข้าวบาร์เล่ย์
2. ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์)
3. ตู้อบความร้อน (Hot-air oven)
4. ตู้ดูดความชื้น (Dessicator)
5. เครื่องชั่งน้ำหนัก ความละเอียด 4 ตำแหน่ง
6. กระป๋องอลูมินัมสำหรับทดสอบความชื้น
7. เครื่องปั่นตัวอย่าง

8. ตู้เพาะความงอกเมล็ดพันธุ์

9. การดาษเพาะความงอก

10. อุปกรณ์สำหรับทดสอบความงอก

11. ถุงผ้าโปร่ง

12. ป้ายชื่อสำหรับติดตัวอย่าง

13. แบบบันทึกเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์

14. แบบบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์

- วิธีการ:

วางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block) จำนวน 4 ซ้ำ สิ่งทดลอง เป็นระยะเวลาในการลดความชื้น ตั้งแต่ 0 - 30 วัน

1. จัดหาเมล็ดพันธุ์สำหรับใช้ในการทดลอง

ปี 2554 เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว พริก มะเขือ และกระเจี๊ยบแดง

ปี 2555 เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวันและข้าว

ปี 2556 เมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม ฝ้าย และเดือย

ปี 2557 เมล็ดพันธุ์ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้งและข้าวบาร์เล่ย์

2. ทดสอบความชื้นและความงอกเริ่มต้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง

- <u>การทดสอบความชื้น</u>

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความชื้นที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ ตู้อบความร้อน สำหรับขั้นตอนการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามคำแนะนำของ International Seed Testing Authority (ISTA) แบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ตามองค์ประกอบเคมีภายในเมล็ด คือ การใช้อุณหภูมิสูงในการอบ ซึ่งเหมาะกับเมล็ดพืชน้ำมัน และการใช้อุณหภูมิต่ำในการอบ ซึ่งเหมาะกับเมล็ดที่ไม่ใช่พืชน้ำมัน มีรายละเอียด ดังนี้

ประเภทที่ 1 การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ (The high constant temperature oven method) ภาชนะที่ใช้ในการทดสอบความชื้นต้องผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมงจากนั้นนำเข้าตู้ดูดความชื้น 1 ชั่วโมงเพื่อให้เย็นลงก่อนนำมาใช้งาน ซึ่งในการทดลองนี้ ใช้กระป๋องอลูมิเนียม พร้อมฝาปิด มีขั้นตอน ดังนี้

1. ชั่งน้ำหนักกระป๋องพร้อมฝาปิด บันทึกน้ำหนักในแบบฟอร์ม

2. ใส่ตัวอย่างเมล็ดที่บดละเอียด (ชนิดพืชที่ต้องบดเมล็ด จะดูจากคำแนะนำของ ISTA) ลงในกระป๋องจำนวน 2 ซ้ำ ซ้ำละ 0.5 – 1.0 กรัม

3. นำกระป๋องที่มีตัวอย่างบดเข้าตู้อบความร้อน โดยเปิดฝาออก อบที่อุณหภูมิ 130 – 133 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 1 – 4 ชั่วโมง แล้วแต่ชนิดพืช (ดูตามคำแนะนำของ ISTA)

4. ปิดฝากระป๋องเมื่ออบเสร็จแล้ว

5. นำกระป๋องที่มีตัวอย่างบดทั้งหมดเข้าตู้ดูดความชื้นทิ้งให้เย็นประมาณ 45 นาที ชั่งและบันทึกน้ำหนักของกระป๋องที่มีตัวอย่างบด

6. คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามสูตรคำนวณความชื้นของเมล็ด ดังนี้

$$\text{ความชื้นของเมล็ด (\%)} = \frac{W2 - W3}{W2 - W1} \times 100$$

W1 หมายถึง น้ำหนักภาชนะพร้อมฝาปิด

W2 หมายถึง น้ำหนักภาชนะพร้อมฝาปิดบรรจุตัวอย่างบดก่อนอบ

W3 หมายถึง น้ำหนักภาชนะพร้อมฝาปิดบรรจุตัวอย่างบดหลังอบ

ประเภทที่ 2 การใช้อุณหภูมิต่ำคงที่ในการอบ (The low constant temperature oven method) ขั้นตอนเช่นเดียวกับการใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบทุกอย่าง ยกเว้น

1. อุณหภูมิที่ใช้อบคือ 103 + 2 องศาเซลเซียส
2. เวลาที่ใช้ในการอบคือ 17 + 1 ชั่วโมง

- <u>การทดสอบความงอก</u>

การทดสอบความงอกตามคู่มือการจัดการเมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชของ Bioversity International ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ มี 2 วิธี ดังนี้

วิธีที่ 1 วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ (Top-of-paper method) วิธีนี้เหมาะกับเมล็ดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร เช่น เมล็ดผัก หรือ เมล็ดพืช ตระกูลหญ้า โดยจะนิยมเพาะในกล่องขนาดเล็กหรือเพาะใน Petri dish

วิธีที่ 2 วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ (Between-paper method) วิธีนี้เหมาะกับเมล็ดขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 2 มิลลิเมตร และ 1 เซนติเมตร เช่น เมล็ดธัญพืช เมล็ดพืชตระกูลถั่ว และผักบางชนิด

ตารางที่ 1 วิธีการทดสอบความชื้นและวิธีการทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิด

ลำดับที่	ชนิดพืช	วิธีการทดสอบความชื้น	วิธีการทดสอบความงอก
1	ถั่วเขียว	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
2	พริก	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ
3	มะเขือ	การใช้อุณหภูมิต่ำคงที่ในการอบ	วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ
4	กระเจี๊ยบแดง	การใช้อุณหภูมิต่ำคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
5	ข้าวโพด	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
6	ข้าวสาลี	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ

7	ทานตะวัน	การใช้อุณหภูมิต่ำคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
8	ข้าว	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ
9	ถั่วมะแฮะ	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
10	ถั่วพุ่ม	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
11	ฝ้าย	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
12	เดือย	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
13	ปอคิวบา	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ
14	ปอกระเจา	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ
15	ผักกวางตุ้ง	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ
16	ข้าวบาร์เล่ย์	การใช้อุณหภูมิสูงคงที่ในการอบ	วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ

3. นำเมล็ดพันธุ์เข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้น (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 15 %) ซึ่งเมล็ดที่ใช้ในการทดลองจะบรรจุในถุงผ้าโปร่ง แต่ละถุงจะเว้นระยะห่างให้พอเหมาะ ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการถ่ายเทอากาศ

4. ทดสอบเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแต่ละชนิดทุกวัน ตั้งแต่วันที่ลดความชื้นวันที่ 0 – 30 โดยเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดนั้น ใช้วิธีการทดสอบความชื้นและทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ตามรายละเอียดที่ปรากฏในตารางที่ 1

- เวลาและสถานที่: เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2558 ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดเข้าห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอก ดังนี้

1. ถั่วเขียว

1.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว คือ 10.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วภายในช่วงสัปดาห์ที่ 1 และเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนดเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวมีความชื้น 5.09 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 1)

1.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว คือ 86 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกลดลงอย่างรวดเร็วภายในช่วง 3 วันแรก โดยลดจาก 86 เป็น 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้น ความงอกของเมล็ดพันธุ์ค่อนข้างคงที่ โดยรักษาระดับอยู่ที่ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 1)

2. พริก

2.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์พริก คือ 6.09 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงช่วงสัปดาห์ที่ 1 จากนั้น ความชื้นมีค่าขึ้นลง แต่ยังคงรักษาระดับที่ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์พริกมีความชื้น 2.93 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 2)

2.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์พริก คือ 96 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงขึ้นลงตลอดระยะเวลาการลดความชื้น โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์พริกมีความงอก 82 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 2)

3. มะเขือ

3.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์มะเขือ คือ 8.39 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงช่วงสัปดาห์ที่ 1 จากนั้น ความชื้นมีค่าขึ้นลง แต่ยังคงรักษาระดับที่ประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์มะเขือมีความชื้น 3.40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 3)

3.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์มะเขือ คือ 76 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงขึ้นลงตลอดระยะเวลาการลดความชื้น โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์มะเขือมีความงอก 67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 3)

4. กระเจี๊ยบแดง

4.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดง คือ 10.54 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วภายในช่วงสัปดาห์ที่ 1 และเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดงมีความชื้น 4.32 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 4)

4.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดง คือ 97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ค่อนข้างคงที่ โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดงมีความงอก 89 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 4)

5. ข้าวโพด

5.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด คือ 13.10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วภายในช่วงสัปดาห์ที่ 1 เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีความชื้น 5.45 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 5)

5.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด คือ 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์คงที่ โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีความงอกเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 5)

6. ข้าวสาลี

6.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี คือ 10.36 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีมีความชื้น 4.9 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 6)

6.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี คือ 98 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์คงที่ โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีมีความงอก 98 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 6)

7. ทานตะวัน

7.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน คือ 7.44 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ทานตะวันมีความชื้น 3.11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 7)

7.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน คือ 97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันคงที่ โดยเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ทานตะวันมีความงอก 97 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 7)

8. ข้าว

8.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าว คือ 12.55 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวมีความชื้น 4.41 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 8)

8.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าว คือ 84 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ค่อนข้างคงที่ในช่วง 2 สัปดาห์แรก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 ทั้งนี้ ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวมีความงอก 94 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

9. ถั่วมะแฮะ

9.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะ คือ 9.02 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง ซึ่งเมื่อเริ่มเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว จากประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ ลดเหลือประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะมีความชื้น 3.11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 9)

9.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะ คือ 88 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะมีความงอก 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 9)

10. ถั่วพุ่ม

10.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่ม คือ 9.28 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่ม มีความชื้น 5.54 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 10)

10.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่ม คือ 57 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่ม มีความงอก 25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 10)

11. ฝ้าย

11.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ฝ้าย คือ 6.87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ฝ้าย มีความชื้น 3.35 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 11)

11.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ฝ้าย คือ 83 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ฝ้ายมีความงอก 45 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 11)

12. เดือย

12.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์เดือย คือ 7.81 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อลดความชื้นจนครบ 31 วัน เมล็ดพันธุ์เดือยมีความชื้น 4.79 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 12)

12.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์เดือย คือ 58 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ค่อนข้างคงที่ ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์เดือย มีความงอก 55 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 12)

13. ปอคิวบา

13.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ปอคิวบา คือ 8.71 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง และมีแนวโน้มคงที่เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 2 โดยความชื้นคงที่ที่ระดับประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ปอคิวบา มีความชื้น 5.62 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 13)

13.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ปอคิวบา คือ 93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ปอคิวบา มีความงอก 86 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 13)

14. ปอกระเจา

14.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ปอกระเจา คือ 10.09 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ปอกระเจา มีความชื้น 4.69 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 14)

14.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ปอกระเจา คือ 97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ค่อนข้างคงที่ ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ปอกระเจา มีความงอก 94 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 14)

15. ผักกวางตุ้ง

15.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้ง คือ 5.30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้ง มีความชื้น 3.68 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 15)

15.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้ง คือ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์คงที่ ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้ง มีความงอก 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 15)

16. ข้าวบาร์เล่ย์

16.1 เปอร์เซ็นต์ความชื้น

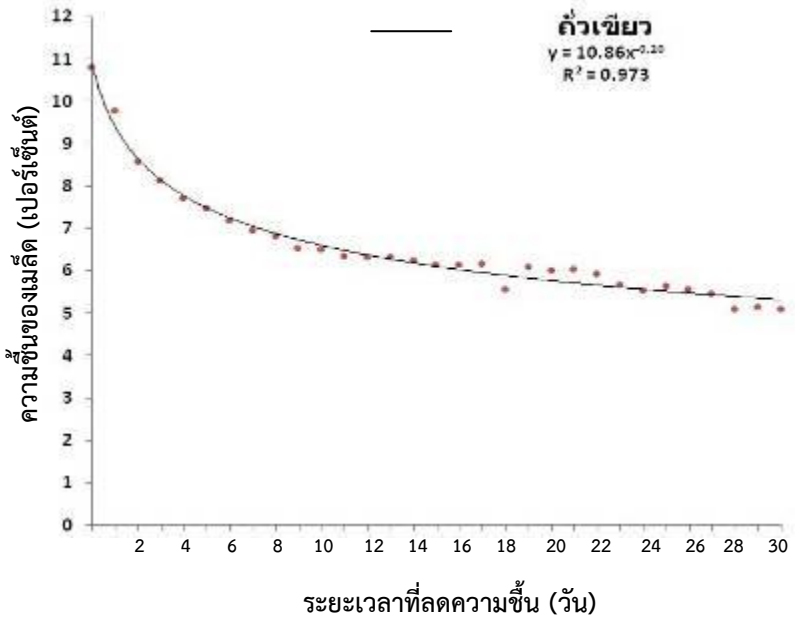
ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์ คือ 12.91 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์ มีความชื้น 6.12 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 16)

16.2 เปอร์เซ็นต์ความงอก

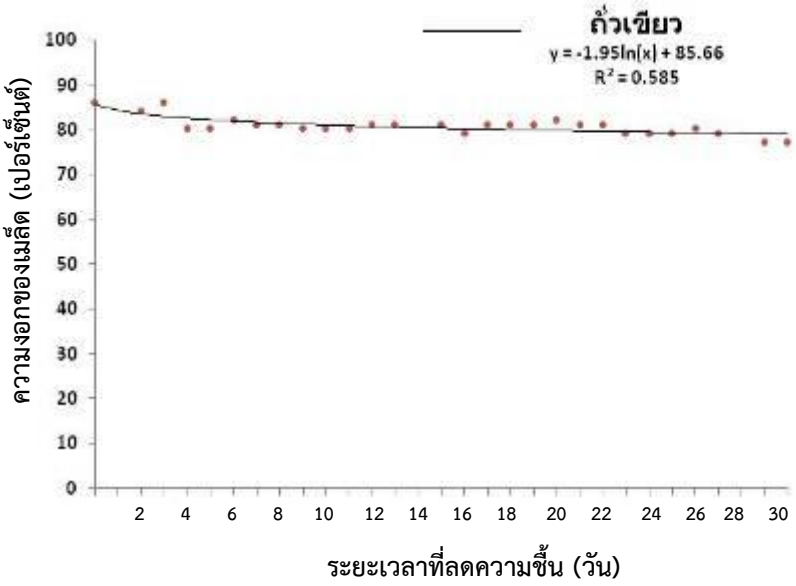
ความงอกเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์ คือ 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเข้าลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์คงที่ ซึ่งเมื่อลดความชื้นจนครบกำหนด เมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์ มีความงอก 96 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16)

จากผลการทดลอง เมื่อจำแนกตามสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆที่ทำการทดลองต่อระยะเวลาในการลดความชื้น สามารถจำแนกได้เป็น 7 ประเภท ดังต่อไปนี้

ประเภทที่ 1 คือประเภทที่มีสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นแบบสมการยกกำลัง (ภาพที่ 1) และการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความงอกแบบสมการลอการึทึม (ภาพที่ 2) พืชในประเภทนี้ ได้แก่ ถั่วเขียว



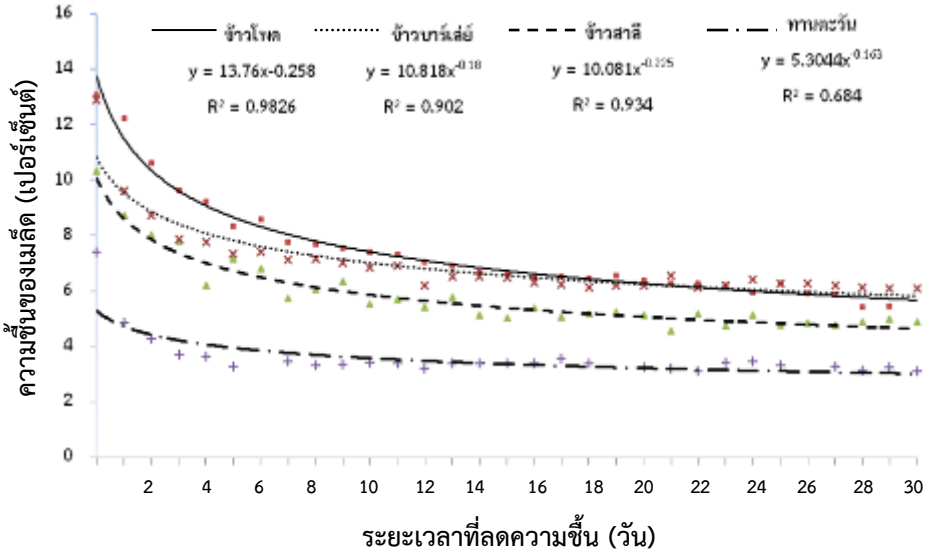
ภาพที่ 1 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 0 – 30 วัน



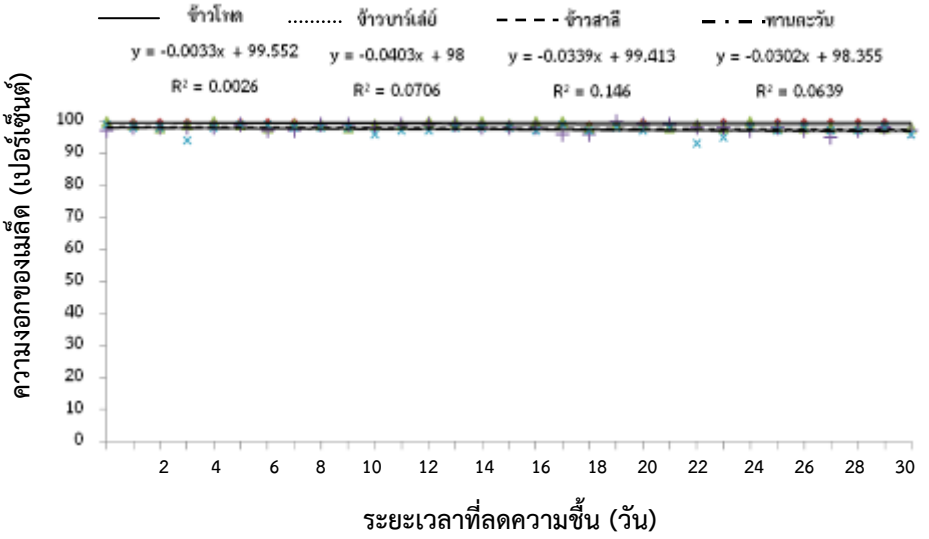
ภาพที่ 2 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

ประเภทที่ 2 คือ ประเภทที่มีสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นแบบสมการยกกำลัง (ภาพที่ 3) และการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความงอกแบบสมการเชิงเส้น (ภาพที่ 4) พืชในกลุ่มนี้ ได้แก่ ข้าวโพด

ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวสาลี และทานตะวัน



ภาพที่ 3 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวสาลี และทานตะวัน จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30



ภาพที่ 4 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวสาลี และทานตะวัน จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

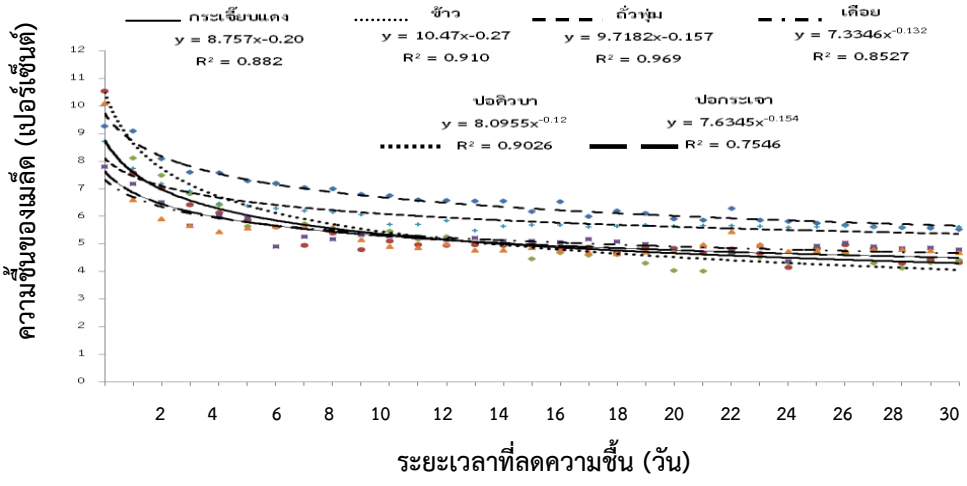
ตามคำแนะนำของ Rao และคณะ (2006) ที่ปรากฏในคู่มือปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ระบุว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณลักษะการเก็บรักษาที่ดี ได้แก่ พืชจำพวกธัญพืช พืชพวกนี้สามารถคงความมีชีวิตได้ดีและนานกว่าพืชหลายๆ ชนิดโดยเฉพาะพืชน้ำมัน จึงเป็นการสนับสนุนผลการทดลองของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวบาร์เล่ย์ ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง แม้จะผ่านการลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน

Strelec และคณะ (2010) รายงานว่า ได้ทดลองวางเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Divana พันธุ์ Zitarka และพันธุ์ Srpanjka ในห้องอุณหภูมิ 40 25 4 และ 2 – 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 45 45 45 และ 40 – 74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงช่วง 5 เดือนแรก

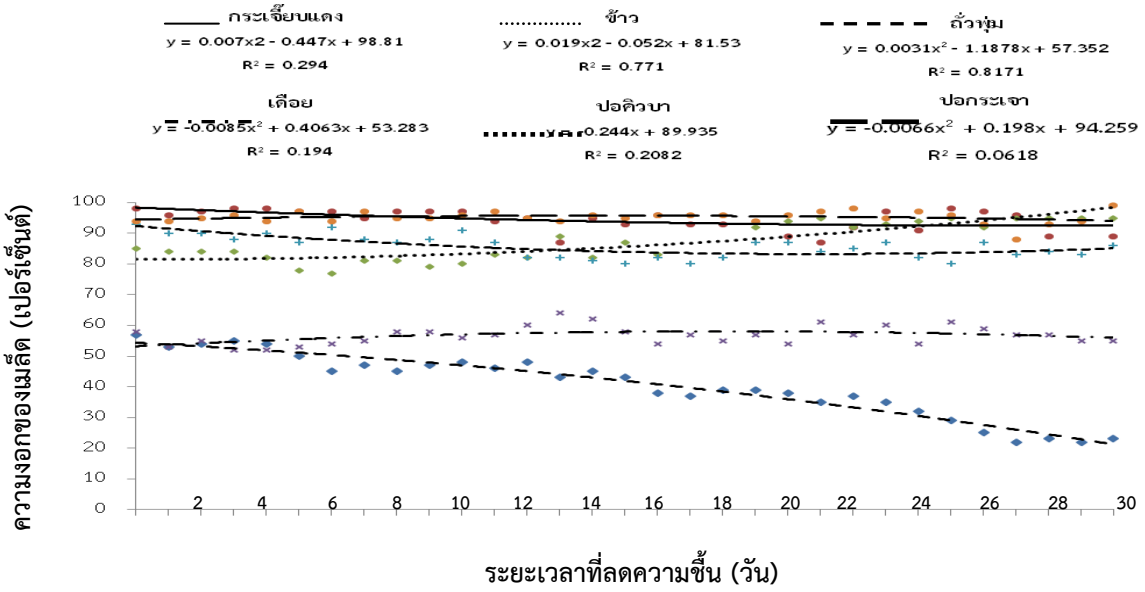
Seyedin และคณะ (1984) แนะนำว่า การใช้อุณหภูมิสูง (> 35 องศาเซลเซียส) ในการลดความชื้นอาจส่งผลต่อกระบวนการไฮโดรไลซิสสตาร์ชภายในคัพภะของเมล็ดข้าวโพดโดยเฉพาะช่วงต้นของการลดความชื้น ส่งผลให้เมล็ดมีความงอกต่ำ ฉะนั้น การใช้อุณหภูมิต่ำในการลดความชื้น จึงเป็นทางเลือกที่ดีกว่าในการลดความชื้นของเมล็ดข้าวโพด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ โดยเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ผ่านการลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงแม้ผ่านการลดความชื้นถึง 30 วัน

สำหรับทานตะวันนั้น Ellis และคณะ (1995) รายงานว่า ทานตะวันจะมีความงอกลดลงเมื่อมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดต่ำกว่า 2.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ กล่าวคือ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน ณ วันที่ 30 มีค่า 3.10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่า 2.5 เปอร์เซ็นต์ที่เป็นค่าความชื้นของเมล็ดตามรายงานของ Ellis และคณะ ด้วยเหตุนี้ เมล็ดทานตะวันจึงยังคงรักษาระดับความงอกด้วยเปอร์เซ็นต์ที่สูงไม่เปลี่ยนแปลง

ประเภทที่ 3 คือ ประเภทที่มีสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นแบบสมการยกกำลัง (ภาพที่ 5) และ การตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความงอกแบบสมการโพลีโนเมียล (ภาพที่ 6) พืชในกลุ่มนี้ ได้แก่ กระเจี๊ยบแดง ข้าว ถั่วพุ่ม เดือย ปอคิวบา และปอกระเจา



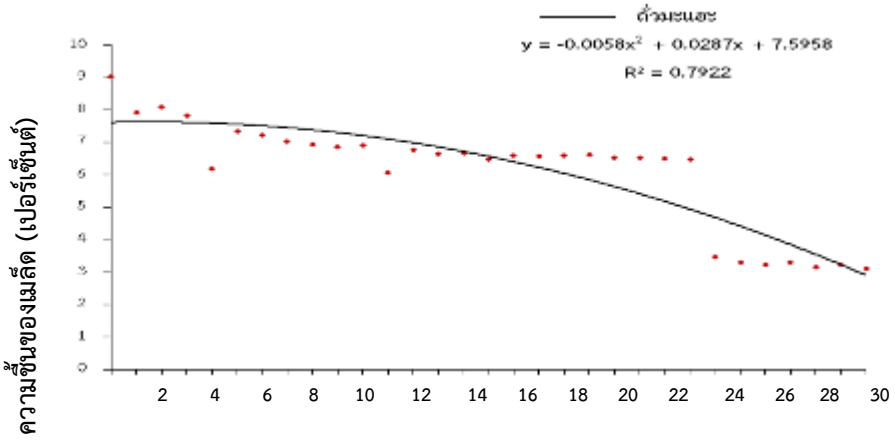
ภาพที่ 5 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดง ข้าว ถั่วพุ่ม เดือย ปอคิวบา และปอกระเจา จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30



ภาพที่ 6 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดง ข้าว ถั่วพุ่ม เดือย ปอคิวบา และปอกระเจา จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

ผลการทดลองนี้แตกต่างจากการการทดลองของ Saeed และคณะ (2008) ที่รายงานว่าแนวโน้มการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดงต่อระยะเวลาในการลดความชื้นเป็นแบบสมการเอ็กซ์โพเนนเชียล และยังมีรายงานเพิ่มเติมว่า ปัจจัยจากอุณหภูมิที่ใช้ในการลดความชื้นมีผลต่อ การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดกระเจี๊ยบแดงมากกว่าปัจจัยของความชื้นสัมพัทธ์ โดยพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการลดความชื้นของเมล็ดกระเจี๊ยบเพิ่มจาก 35 องศาเซลเซียส เป็น 65 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการลดความชื้นจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

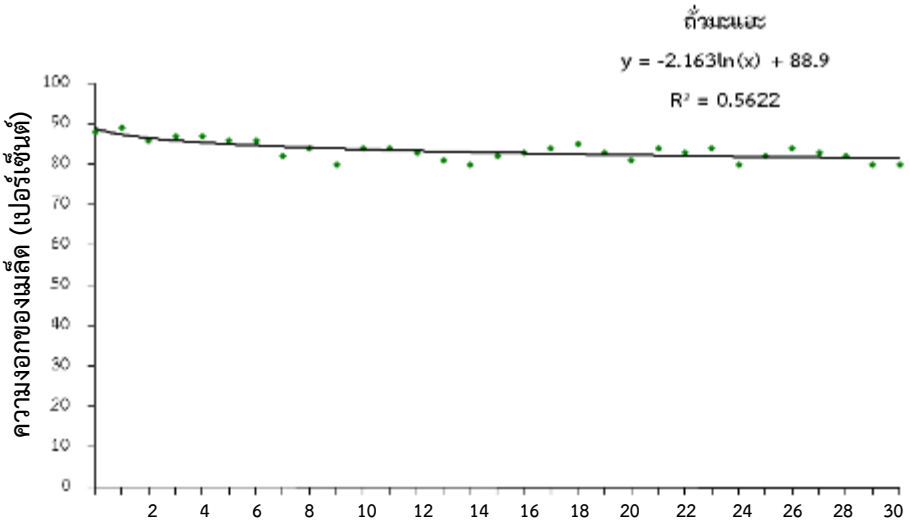
ประเภทที่ 4 คือ ประเภทที่มีสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นแบบสมการโพลีโนเมียล (ภาพที่ 7) และการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความงอกแบบสมการลอการึทึม (ภาพที่ 8) พืชในกลุ่มนี้ ได้แก่ ถั่วมะแฮะ



ระยะเวลาที่ลดความชื้น (วัน)

ภาพที่ 7 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะจากการนำเข้าลดความชื้นในห้อง

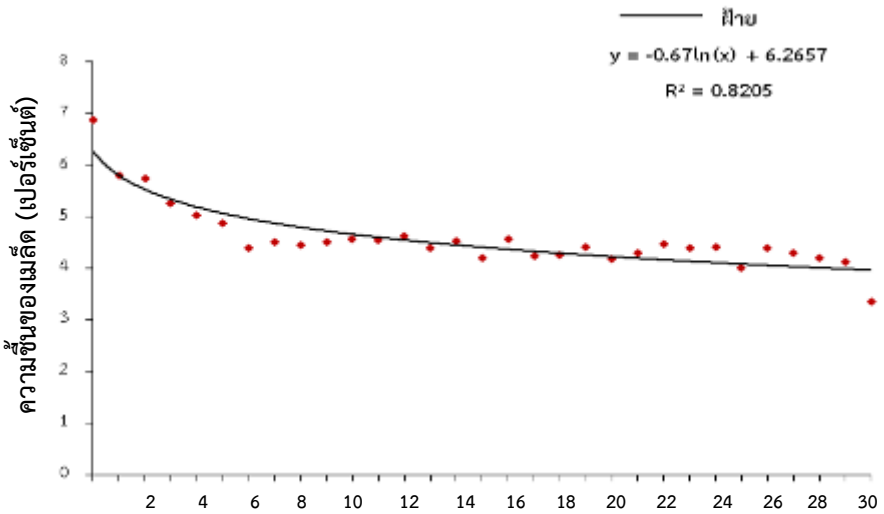
ลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30



ระยะเวลาที่ลดความชื้น (วัน)

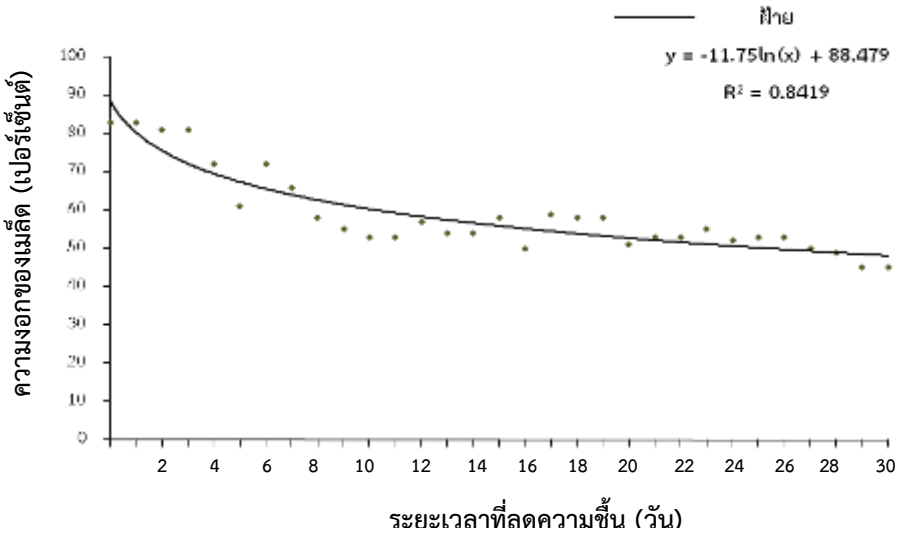
ภาพที่ 8 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

ประเภทที่ 5 คือ ประเภทที่มีสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นแบบสมการลอการึทึม (ภาพที่ 9) และ การตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความงอกแบบสมการลอการึทึม (ภาพที่ 10) พืชในกลุ่มนี้ ได้แก่ ฝ้าย



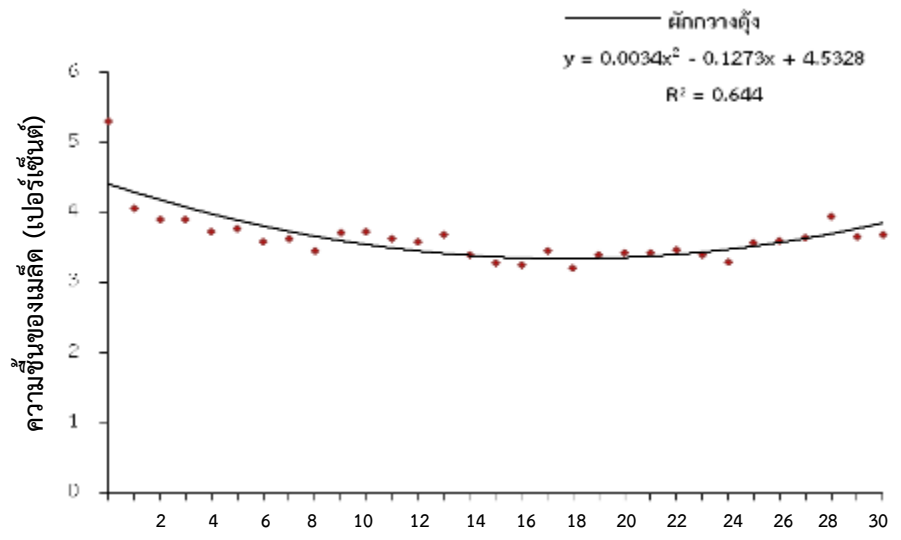
ระยะเวลาที่ลดความชื้น (วัน)

ภาพที่ 9 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

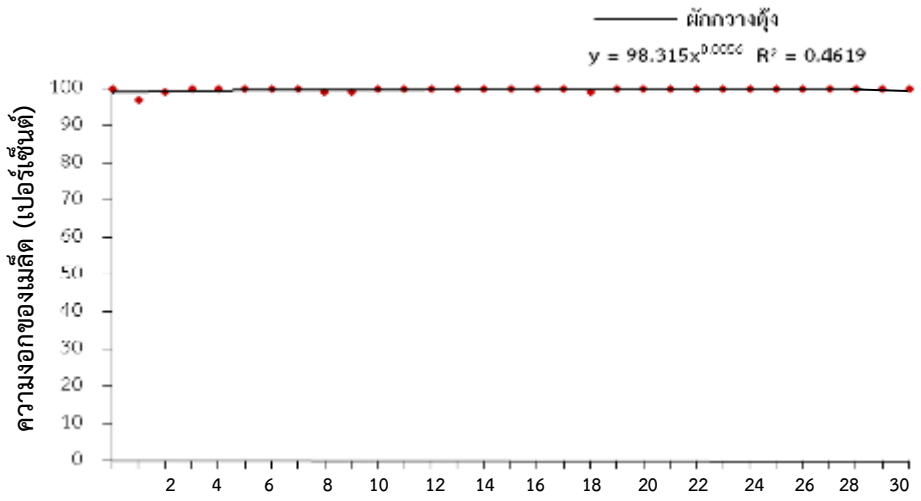


ภาพที่ 10 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

ประเภทที่ 6 คือ ประเภทที่มีสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นแบบสมการโพลีโนเมียล (ภาพที่ 11) และการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความงอกแบบสมการยกกำลัง (ภาพที่ 12) พืชในกลุ่มนี้ ได้แก่ ผักกวางตุ้ง

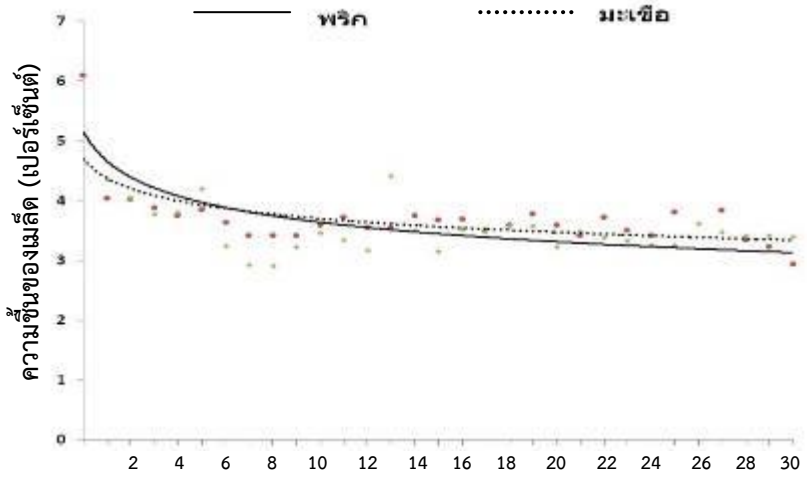


ภาพที่ 11 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้งจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

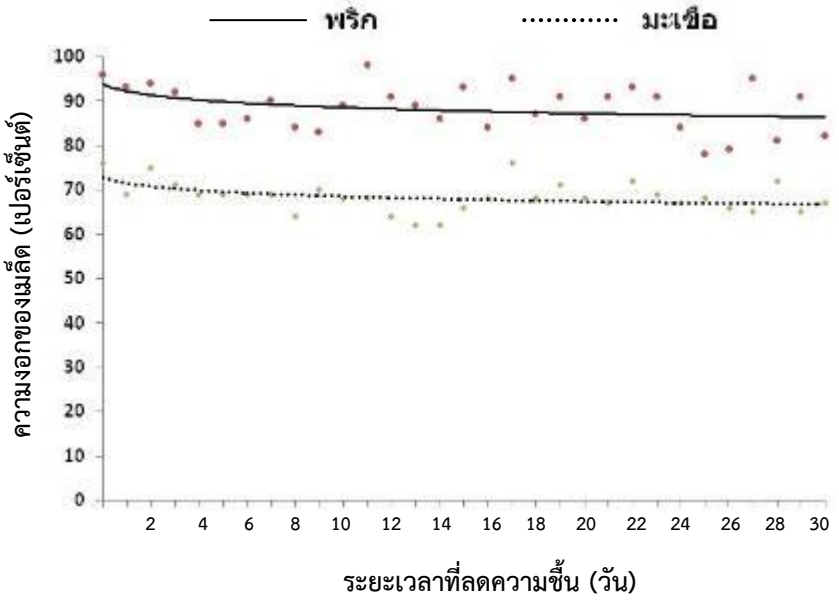


ภาพที่ 12 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้งจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

ประเภทที่ 7 คือ ประเภทที่ไม่มีสมการการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้น (ภาพที่ 13) และเปอร์เซ็นต์ ความงอก (ภาพที่ 14) พืชในกลุ่มนี้ ได้แก่ พริก และมะเขือ



ภาพที่ 13 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์พริกและเมล็ดพันธุ์มะเขือจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30



ภาพที่ 14 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์พริกและเมล็ดพันธุ์มะเขือจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

นอกจากนี้ พบว่า หลังผ่านการลดความชื้นด้วยห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วัน เมล็ดแต่ละชนิด มีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับต่างๆ สรุปได้ ดังนี้ (ตารางที่ 2)

- เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71 – 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 51.61 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 48.39

- เมล็ดพันธุ์พริกมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71 – 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 6.45 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 93.55

- เมล็ดพันธุ์มะเขือมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับต่ำกว่าหรือเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 77.42 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71-80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 22.58

- เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดงมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71 – 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 3.23 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 96.77

- เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

- เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

- เมล็ดพันธุ์ทานตะวันมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

- เมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่มมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับต่ำกว่าหรือเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

- เมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71 – 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 16.13 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 83.87

- เมล็ดพันธุ์ฝ้ายมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับต่ำกว่าหรือเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 80.65 มีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71 – 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 6.45 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 12.90

- เมล็ดพันธุ์เดือยมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับต่ำกว่าหรือเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

- เมล็ดพันธุ์ปอคิวบามีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71 – 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 9.68 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 90.32

- เมล็ดพันธุ์ข้าวมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับ 71 – 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 12.90 และมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 87.10

- เมล็ดพันธุ์ปอกระเจามีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

- เมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้งมีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

- เมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์มีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100.00

ตารางที่ 2 ร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ หลังผ่านการลดความชื้นด้วยห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่วันที่ 0-30

ความงอก (เปอร์เซ็นต์)	**ร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์หลังลดความชื้นด้วยห้องลดความชื้น อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 31 วัน (วันที่ 0-30)**							
ชนิดพืช	***ถั่วเขียว***	***พริก***	***มะเขือ***	***กระเจี๊ยบแดง***	***ข้าวโพด***	***ข้าวสาลี***	***ทานตะวัน***	***ข้าว***
≤ 70	0.00	0.00	77.42	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
71 - 80	51.61	6.45	22.58	3.23	0.00	0.00	0.00	12.90
> 80	48.39	93.55	0.00	96.77	100.00	100.00	100.00	87.10
รวม	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**
ชนิดพืช	***ถั่วพุ่ม***	***ถั่วมะแฮะ***	***ฝ้าย***	***เดือย***	***ปอคิวบา***	***ปอกระเจา***	***ผักกวางตุ้ง***	***ข้าวบาร์เล่ย์***
≤ 70	100.00	0.00	80.65	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
71 - 80	0.00	16.13	6.45	0.00	9.68	0.00	0.00	0.00
> 80	0.00	83.87	12.90	0.00	90.32	100.00	100.00	100.00
รวม	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**	**100.00**

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการดำเนินการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดหลังผ่านการลดความชื้นด้วยห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วัน สำหรับเปอร์เซ็นต์ความชื้นเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ส่วนใหญ่ซึ่งมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วภายในสัปดาห์ที่ 1 จากนั้น จะค่อยๆ ลดลงจน

เกือบคงที่ ได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าว ถั่วพุ่ม ฝ้าย เดือย ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้ง และข้าวบาร์เล่ย์ เมล็ดพันธุ์ที่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ได้แก่ ถั่วมะแฮะ สำหรับเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกคงที่ ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าวบาร์เล่ย์ และผักกวางตุ้ง เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างคงที่ ได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง เดือย ปอคิวบา และปอกระเจา เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มลดลง ได้แก่ ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม และฝ้าย เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ได้แก่ ข้าว สำหรับเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือพบว่าไม่สามารถคาดคะเนการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกตามระยะเวลาการลดความชื้นได้

หลังผ่านการลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน เมล็ดพันธุ์พืชส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ระดับสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้สำหรับการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ปอกระเจา ผักกวางตุ้ง และข้าวบาร์เล่ย์ พบว่า พืชทั้ง 6 ชนิดนี้มีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100 นอกจากนี้ เมล็ดพันธุ์ทุกชนิดในการทดลองนี้ มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นสุดท้ายอยู่ในช่วงระหว่าง 3 – 7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อ การเก็บรักษาระยะยาว ตามคำแนะนำของ Bioversity International สำหรับสาเหตุที่เมล็ดพันธุ์มะเขือ ถั่วพุ่ม และเดือยไม่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุเพราะเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์นั่นเอง

จากผลการทดลองนี้ สามารถสรุปเป็นข้อเสนอแนะเบื้องต้น เพื่อนำไปปฏิบัติในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในระหว่าง 3-7 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับเท่ากับหรือสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ซึ่งเหมาะแก่การเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ ดังนี้

1. ถั่วเขียว ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.08 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 7 – 26 วัน

2. กระเจี๊ยบแดง ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.54 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 3 – 30 วัน

3. ข้าวโพด ที่มีความชื้นเริ่มต้น 13.10 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 13 – 30 วัน

4. ข้าวสาลี ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.36 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 6 – 30 วัน

5. ทานตะวัน ที่มีความชื้นเริ่มต้น 7.44 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 1 – 30 วัน

6. ข้าว ที่มีความชื้นเริ่มต้น 12.55 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 3 – 30 วัน

7. ถั่วมะแฮะ ที่มีความชื้นเริ่มต้น 9.02 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 8 – 30 วัน

8. ฝ้าย ที่มีความชื้นเริ่มต้น 6.87 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง1 - 3 วัน หากเข้าสู่วันที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจะต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

9. ปอคิวบา ที่มีความชื้นเริ่มต้น 8.71 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 3 - 30 วัน

10. ปอกระเจา ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.09 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 1 – 30 วัน

11. ผักกวางตุ้ง ที่มีความชื้นเริ่มต้น 5.30 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 1 – 30 วัน

12. ข้าวบาร์เล่ย์ ที่มีความชื้นเริ่มต้น 12.91 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 10 – 30 วัน

13. พริกและมะเขือ ไม่สามารถระบุระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นของเมล็ดได้ เนื่องจากผลการทดลองนี้ พืช 2 ชนิดดังกล่าว ไม่พบการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกต่อระยะเวลาในการลดความชื้นที่เพิ่มขึ้น

14. ถั่วพุ่มและเดือย ไม่สามารถระบุระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นของเมล็ดได้ เนื่องจากในการทดลองนี้ พืช 2 ชนิดดังกล่าว มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น ต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ซึ่งไม่นับเป็นระดับเปอร์เซ็นต์ความงอกที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ชื่อการทดลองที่ 6: อิทธิพลของระดับความชื้นและอุณหภูมิที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ Leguminosae เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

Effects of different moisture content and temperatures on germination of herbal seed of Leguminosae family for conservation in genebank.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางรัชนก ทองเวียง

ผู้ร่วมงาน : นางสาวศิริลักษณ์ อินทะวงศ์
นายวรกิจ ห้องแซง
สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาระดับความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ Leguminosae อย่างน้อย 10 ชนิด ได้แก่ 1) หางนกยูงไทย 2) โสน 3) แคบ้าน 4) ชุมเห็ดเล็ก 5) หางนกยูงฝรั่ง 6) ฝาง 7) ส้มป่อย 8) กัลปพฤกษ์ 9) คราม และ 10) ทองกวาวในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช โดยแบ่งเป็น 3 การทดลอง ในแต่ละการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCBD 4 ซ้ำ มี 3 กรรมวิธี ดังนี้ ได้แก่ 1) control (ความชื้นในเมล็ดก่อนลด) 2) ความชื้นในเมล็ด 8 % และ 3) ความชื้นในเมล็ด 6 % ข้อมูลที่ทำการตรวจวัด ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอก ที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บ ผลการทดลองพบว่า

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บเมล็ดที่อุณหภูมิห้อง ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 21 และ 24 เดือน คราม ที่อายุ 21 เดือน ส้มป่อยที่อายุ 15 เดือน กัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 21 และ 24 เดือน แคบ้านที่อายุ 18, 21 และ 24 เดือน โสนที่อายุ 21 และ 24 เดือน หางนกยูงไทยที่อายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเมล็ดหางนกยูงที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ด (Control) เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มสูงกว่าเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ด 8% และ 6% ในเมล็ดครามพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.524*) ในเมล็ดส้มป่อยพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) ความชื้นในเมล็ด 8 % และความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.751* , R^2 =0.913** และ R^2 =0.911** ตามลำดับ) ในเมล็ดกัลปพฤกษ์พบความสัมพันธ์

ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) และความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.805** และ R^2 =0.781** ตามลำดับ) ในเมล็ดแคบ้านพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ด (control) (R^2 =0.889**) ในเมล็ดโสนพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) และความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.948** และ R^2 =0.675** ตามลำดับ)

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 12, 18, 21 และ 24 เดือน คราม ที่อายุ 24 เดือน กัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 15, 21 และ 24 เดือน แคบ้านที่อายุ 6 และ 21 เดือน ชุมเห็ดเล็กที่อายุ 3 และ 6 เดือน โสนที่อายุ 3 เดือน หางนกยูงไทยที่อายุ 9 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) ในเมล็ดหางนกยูงฝรั่งพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 8 % และความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.689** และ R^2 =0.823** ตามลำดับ) เมล็ดกัลปพฤกษ์พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางบวกของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.726**) ในเมล็ดชุมเห็ดเล็กพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.505*)

การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 ℃) ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน คราม ที่อายุ 18 เดือน กัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 12, 18, 21 และ 24 เดือน แคบ้านที่อายุ 9 และ 18 เดือน ชุมเห็ดเล็กที่อายุ 24 เดือน โสนที่อายุ 9 เดือน หางนกยูงไทยที่อายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) ในเมล็ดครามพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.702**) ในเมล็ดกัลปพฤกษ์พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางบวกของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.549**) ในเมล็ดโสนพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.636*) และในเมล็ดฝางพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.995*)

บทนำ (Introduction)

จากปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ภาวะโลกร้อนที่ส่งผลกระทบไปทั่วโลก ทำให้พืชป่าทั้งไม้ยืนต้น และพืชล้มลุกหลายชนิดลดจำนวนและเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ พืชสมุนไพรเป็นพืชหนึ่งที่ได้รับผลกระทบนี้เช่นกัน นอกจากจำนวน ชนิด ของสมุนไพรที่ลดลงจากภัยธรรมชาติแล้ว จากกระแสการตื่นตัวในปัจจุบันได้มีการนำพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์มากขึ้น หลายชนิดเก็บมาจากป่าเป็นผลให้สมุนไพรบางชนิดอยู่

ในภาวะที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ จากปัญหานี้จึงได้มีการแก้ไขเบื้องต้นโดยอนุรักษ์ไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์ (Field gene bank) แต่เนื่องจากแปลงอนุรักษ์มีพื้นที่ขนาดใหญ่ทำให้มีปัญหาในการจัดการ การทำลายของโรค แมลง ภาวะขาดน้ำ และไฟป่า รวมทั้งพืชบางชนิดในแปลงรวบรวมพันธุ์ไม่สามารถปรับตัวได้ก็จะทยอยตายและสูญพันธุ์ไป

จากความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสมุนไพรนี้ พบว่าสมุนไพรหลายชนิดขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด เมล็ดบางชนิดจัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่สามารถลดความชื้นให้ต่ำลงได้ (recalcitrant seed) ซึ่งจะใช้วิธีขยายพันธุ์และอนุรักษ์ด้วยวิธีอื่น เช่น ตอน ปักชำ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น ส่วนเมล็ดบางชนิดที่อยู่ในกลุ่มที่ลดความชื้น (orthodox seed) ได้ สามารถเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์ได้โดยตรง เนื่องจากธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร มีศักยภาพในการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชได้จำนวน 160,000 ตัวอย่างพันธุ์ และ 40,000 ตัวอย่างพันธุ์ ที่ระดับอุณหภูมิ 5°C และ -10°C ตามลำดับ ซึ่งปัจจุบันมีเมล็ดพันธุ์พืชที่เก็บรวบรวมไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช 19 ชนิด ประมาณ 30,000 ตัวอย่างพันธุ์ เป็นข้าว ข้าวบาร์เล่ย์ และข้าวสาลี ประมาณ 24,000 ตัวอย่างพันธุ์ เป็นพืชชนิดอื่นๆอีก 16 ชนิด เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วเขียว ฝ้าย และปอ เป็นต้น และยังไม่มีการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์สมุนไพรและพืชหายากชนิดอื่น ดังนั้น เพื่อเพิ่มความหลากหลายของพันธุกรรมและศักยภาพของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช จึงจำเป็นต้องมีการเก็บรวบรวมเมล็ดและประเมินเชื้อพันธุ์สมุนไพรเพิ่มเติม ในการทดลองนี้จึงได้ทำการรวบรวมเมล็ดสมุนไพร และศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดของสมุนไพรแต่ละชนิดเพื่อเพิ่มคุณภาพในการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้น และจัดเก็บเป็นฐานข้อมูลด้านพันธุกรรมพืชในอนาคต สำหรับให้บริการข้อมูล และเป็นแหล่งพันธุกรรมให้แก่นักวิจัยและผู้สนใจนำเมล็ดพันธุ์สมุนไพรที่อนุรักษ์ไว้ทำงานวิจัยต่อยอดได้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาระดับความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ Leguminosae อย่างน้อย 10 ชนิด ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

เก็บรวบรวมเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เฉพาะเมล็ดที่สามารถลดความชื้นในเมล็ดได้ จำนวนอย่างน้อย 10 ชนิด ได้แก่ 1) หางนกยูงไทย 2) โสน 3) แคบ้าน 4) ชุมเห็ดเล็ก 5) หางนกยูงฝรั่ง 6) ฝาง 7) ส้มป่อย 8) กัลปพฤกษ์ 9) คราม และ 10) ทองกวาว ในช่วงของการเก็บและรวบรวมเมล็ดพันธุ์สมุนไพร Leguminosae แต่ละชนิด ทำการเก็บข้อมูลของแหล่งที่มาของเมล็ด และลักษณะพืชบางประการเพื่อเป็นฐานข้อมูลของพันธุกรรมของพืชสมุนไพรนั้นๆ เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์, วันที่เก็บเกี่ยว, แหล่งที่เก็บเกี่ยว เป็นต้น (ตารางภาคผนวกที่ 1)

นำเมล็ดที่ได้มาลดความชื้นและเก็บรักษาเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5°C) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) โดยแบ่งเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บเมล็ดที่อุณหภูมิห้อง

นำเมล็ดมาทดสอบความชื้นในเมล็ดเริ่มต้นและนำมาลดความชื้นให้ได้ 2 ระดับ โดยใช้โหลดความชื้น**เมล็ดแต่ละชนิด**วางแผนการทดลอง RCBD 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) control (ความชื้นในเมล็ดก่อนลด) 2) ความชื้น

ในเมล็ด 8 % และ 3) ความชื้นในเมล็ด 6 % จำนวน 4 ซ้ำ ใช้ 100 เมล็ดต่อซ้ำ หลังจากลดความชื้นให้ได้ตามกรรมวิธีต่างๆแล้วบรรจุเมล็ดในถุงซุปนำเก็บในภาชนะที่ป้องกันความชื้น หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณภูมิห้อง ข้อมูลที่ทำการตรวจวัด ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอก ทำการวัดข้อมูลที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บ

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

นำเมล็ดมาทดสอบความชื้นในเมล็ดเริ่มต้นและนำมาลดความชื้นให้ได้ 2 ระดับ โดยใช้โหลลดความชื้น **เมล็ดแต่ละชนิด**วางแผนการทดลอง RCBD 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) control (ความชื้นในเมล็ดก่อนลด) 2) ความชื้นในเมล็ด 8 % และ 3) ความชื้นในเมล็ด 6 % จำนวน 4 ซ้ำ ใช้ 100 เมล็ดต่อซ้ำ หลังจากลดความชื้นให้ได้ตามกรรมวิธีต่างๆแล้วบรรจุเมล็ดในถุงซุปนำเก็บในภาชนะที่ป้องกันความชื้น หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) ข้อมูลที่ทำการตรวจวัด ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอก ทำการวัดข้อมูลที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บ

การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 ℃)

นำเมล็ดมาทดสอบความชื้นในเมล็ดเริ่มต้นและนำมาลดความชื้นให้ได้ 2 ระดับ โดยใช้โหลลดความชื้น **เมล็ดแต่ละชนิด**วางแผนการทดลอง RCBD 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) control (ความชื้นในเมล็ดก่อนลด) 2) ความชื้นในเมล็ด 8 % และ 3) ความชื้นในเมล็ด 6 % จำนวน 4 ซ้ำ ใช้ 100 เมล็ดต่อซ้ำ

หลังจากลดความชื้นให้ได้ตามกรรมวิธีต่างๆแล้วบรรจุเมล็ดในถุงซุปนำเก็บในภาชนะที่ป้องกันความชื้น หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 ℃) ข้อมูลที่ทำการตรวจวัด ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอก ทำการวัดข้อมูลที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บ

- เวลาและสถานที่ดำเนินการ

ระยะเวลาทำการวิจัย ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2557 **สถานที่ทำการทดลอง** ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์และสรีรวิทยาพืช กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บเมล็ดที่อุณหภูมิห้อง

1.1 หางนกยูงฝรั่ง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 6, 9 และ 15 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 1) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 1) โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงฝรั่งค่อนข้างมี

ความแปรปรวน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากลักษณะเมล็ดของหางนกยูงฝรั่งเอง ซึ่งในหนึ่งฝักจะมีเมล็ดประมาณ 20 – 40 เมล็ดต่อฝัก เมล็ดที่นำมาทดลองอาจมีความสมบูรณ์ของเมล็ดไม่เท่ากัน โดยเมล็ดหางนกยูงที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ด (Control) เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มสูงกว่าเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ด 8% และ 6% จากข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกนี้เมล็ดหางนกยูงฝรั่งน่าจะอยู่ในกลุ่ม intermediate seed คือ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงได้แต่ลดได้ไม่เท่ากับเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ดได้ (orthodox seed) เพราะเมื่อลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงจะส่งผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ(Ellis et al.,1990)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงฝรั่งที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

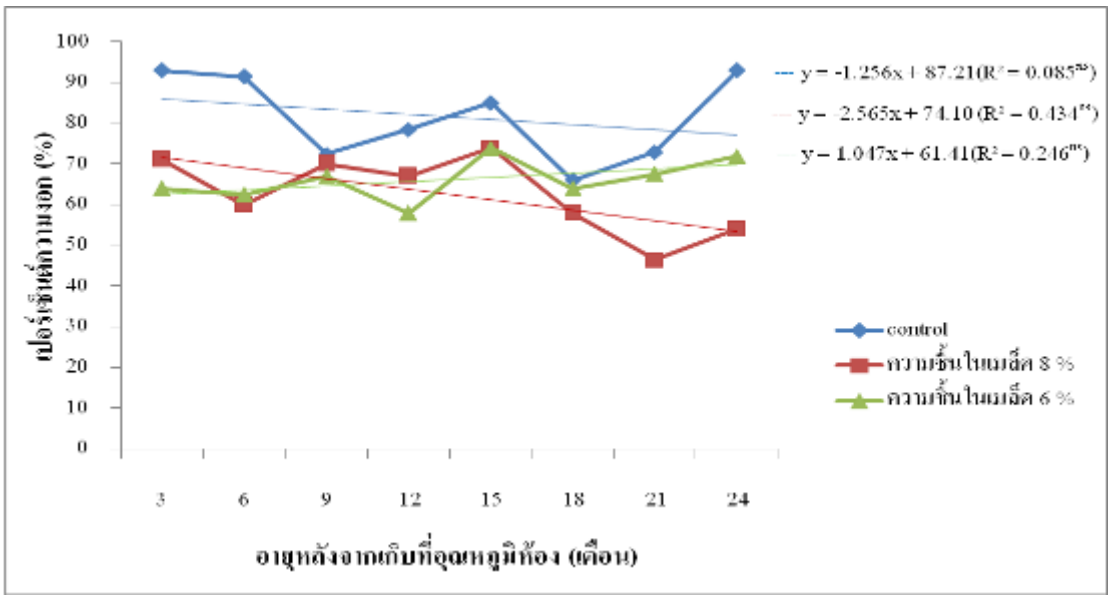
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	93.0 a	91.5 a	72.5 a	78.5	85.0 a	66.0	73.0 a	93.0 a
8 %	71.0 b	60.0 b	70.0 ab	67.0	74.0 b	58.0	46.5 b	54.0 c
6 %	64.0 b	62.5 b	67.0 b	58.0	74.0 b	64.0	67.5 a	72.0 c
F- Test	**	*	*	ns	*	ns	**	**
C.V.	11.44	15.39	2.74	18.26	5.32	14.89	7.58	5.08

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.2 คราม

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของครามที่อายุ 21 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 1, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 2) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.524*) (ภาพที่ 2) โดยเมื่อเก็บเมล็ดครามที่มีความชื้นในเมล็ด 6% ไว้ที่อุณหภูมิห้องมีแนวโน้มว่าเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้นมีผลให้เมล็ดครามมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลงเนื่องจาก เมื่อเก็บเมล็ดที่อุณหภูมิห้องจะมีอัตราการหายใจสูงทำให้เมล็ดสูญเสียความมีชีวิตได้ง่าย

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดครามที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

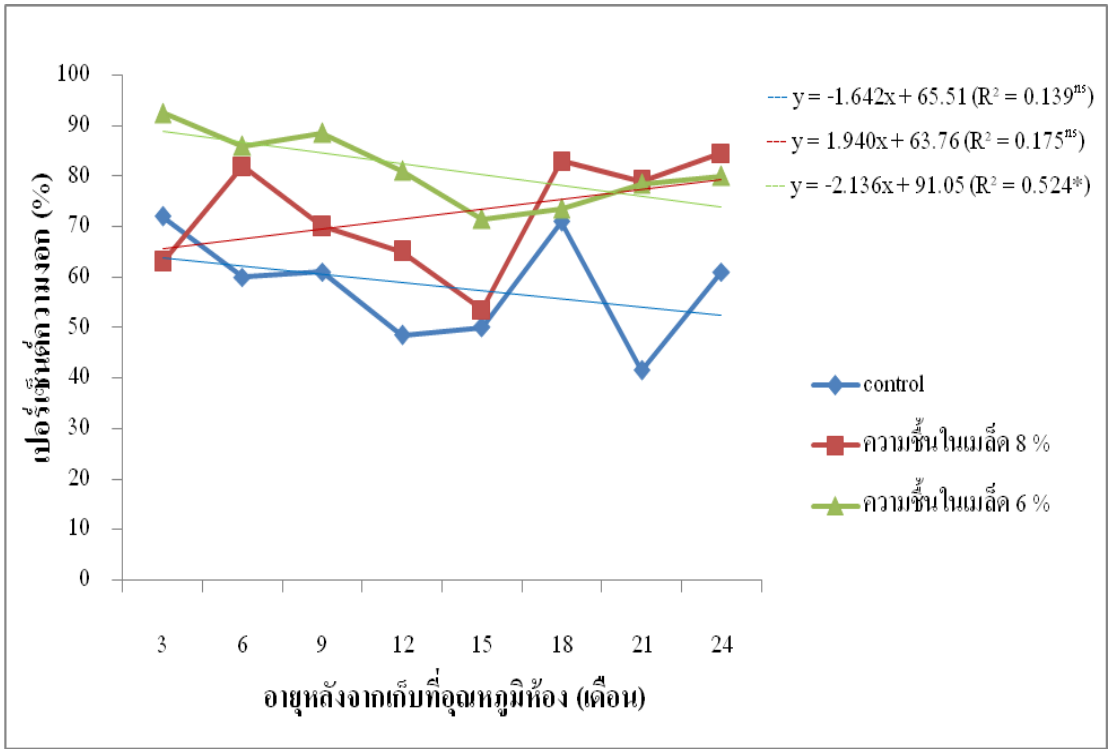
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	72.0 ab	60.0 b	61.0 b	48.5 b	50.0 b	71.0 b	41.5 b	61.0 b
8 %	63.0 b	82.0 a	70.0 ab	65.0 ab	53.5 b	83.0 a	79.0 a	84.5 a
6 %	92.5 a	86.0 a	88.5 a	81.0 a	71.5 a	73.5 ab	78.5 a	80.0 a
F- Test	*	*	*	*	*	*	**	*
C.V.	16.19	14.33	18.09	16.25	5.33	8.78	15.74	10.98

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดครามที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.3 ส้มป่อย

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของส้มป่อยที่อายุ 15 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 9, 12 และ 21 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) ความชื้นในเมล็ด 8 % และความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2=0.751*, R^2=0.913** และ R^2=0.911** ตามลำดับ) (ภาพที่ 3) โดยเมื่อเก็บรักษาเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับไว้ที่อุณหภูมิห้องมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บรักษานานขึ้นมีผลให้เมล็ดส้มป่อยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลง อาจเป็นผลมาจาก embryo ได้รับอันตรายจากการสูญเสียความชื้นในเมล็ดอย่างรวดเร็วในสภาพที่ไม่เหมาะสมอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลเร่งอายุการเสื่อมของเมล็ดได้ (ชยพร, 2546) มีแนวโน้มเป็นเมล็ดกลุ่ม intermediate seed คือ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงได้แต่ลดได้ไม่เท่ากับเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ดได้ (orthodox seed) เพราะเมื่อลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงจะส่งผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ(Ellis et al.,1990) เช่นเดียวกับเมล็ดกัลปพฤกษ์

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดส้มป่อยที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

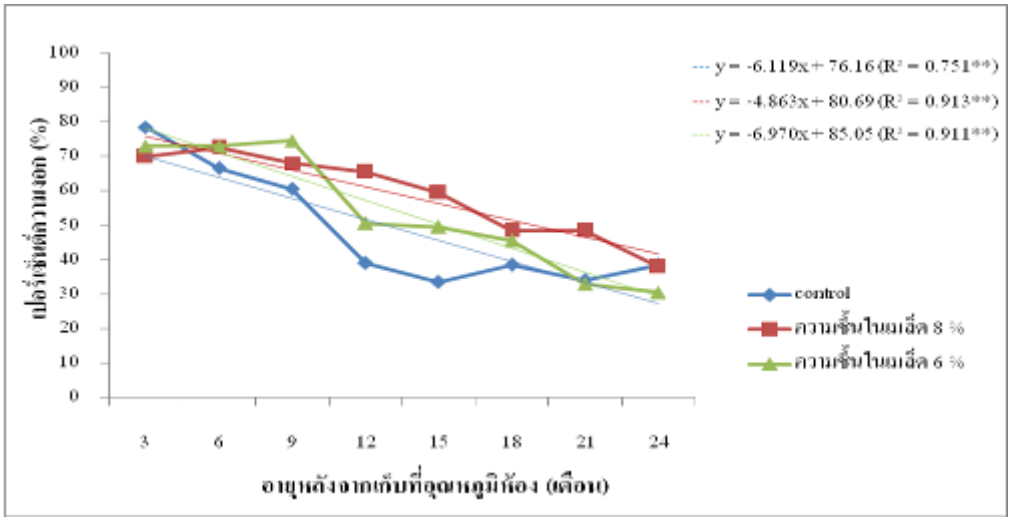
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	78.5	66.5	60.5 b	39.0 b	33.5 c	38.5	34.0 b	38.5
8 %	70.0	72.5	68.0 ab	65.5 a	59.5 a	48.5	48.5 a	38.0
6 %	73.0	73.0	74.5 a	50.5 ab	49.5 b	45.5	33.0 b	30.5
F- Test	ns	ns	*	*	**	ns	*	ns
C.V.	11.14	11.07	8.40	17.08	11.57	17.28	16.72	14.92

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดส้มป่อยที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.4 กัลปพฤกษ์

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของกัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 12 และ 18 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) และความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.805** และ R^2 =0.781** ตามลำดับ) (ภาพที่ 4) โดยความชื้นในเมล็ดทั้งสองระดับนี้เมื่อเก็บ

รักษาที่อุณหภูมิห้องมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บรักษานานขึ้นมีผลให้เมล็ดกัลปพฤกษ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลง ซึ่งแตกต่างจากงานทดลองของ รัชนก และคณะ (2553) ที่พบว่า เมื่ออายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นเมล็ดคูนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องมีแนวโน้มว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพิ่มขึ้น โดยความสัมพันธ์ระหว่างอายุการเก็บรักษากับเปอร์เซ็นต์ความงอกในเมล็ดมีความสัมพันธ์ในทางบวก (R^2 =0.898**) ดังนั้น จะเห็นว่าเมล็ดพืชถึงแม้ว่าจะอยู่ในวงศ์เดียวกัน มีลักษณะ และรูปร่างเมล็ดใกล้เคียงกันเมื่อเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องเหมือนกันแต่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกในเมล็ดแตกต่างกันได้เมื่ออายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกัลปพฤกษ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

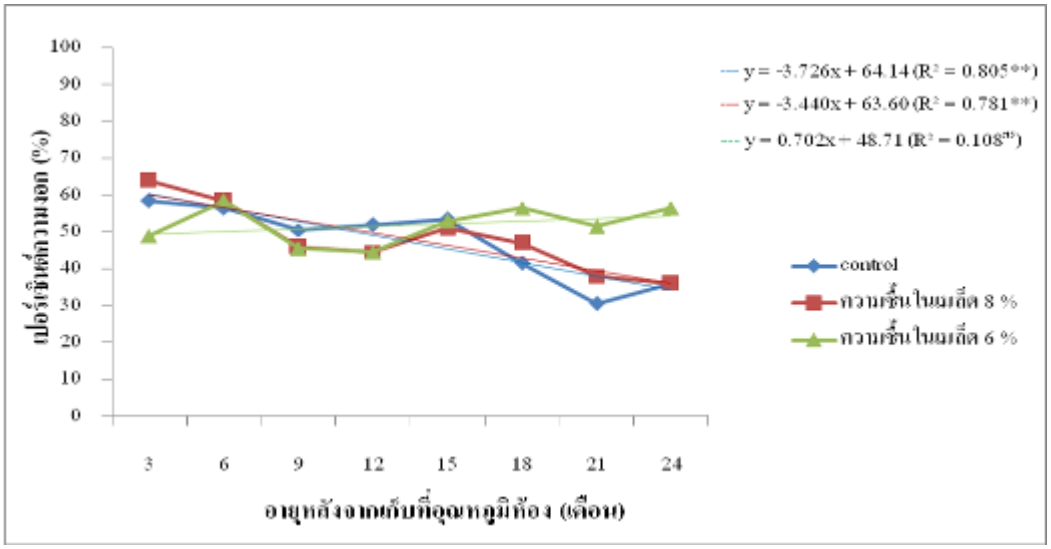
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	58.5 a	56.5	50.5	52.0	53.5	41.5 b	30.5 c	36.0 b
8 %	64.0 a	58.5	46.0	44.5	51.0	47.0 b	38.0 b	36.0 b
6 %	49.0 b	58.5	45.5	44.5	53.0	56.5 a	51.5 a	56.5 a
F- Test	**	ns	ns	ns	ns	*	**	**
C.V.	6.20	10.37	13.08	20.30	14.13	9.97	8.86	16.53

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.5 แคบ้าน

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของแคบ้านที่อายุ 18, 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 3 และ 15 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 5) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ด (control) (R^2 =0.889**) (ภาพที่ 5) เมื่อเก็บรักษาเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น ไว้ที่อุณหภูมิห้องมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บรักษานานขึ้นมีผลให้เมล็ดแคบ้านมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลง แสดงให้เห็นว่าความชื้นในเมล็ดและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแคบ้าน ดังนั้น เมล็ดแคบ้านที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ดจึงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ด

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแคบ้านที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

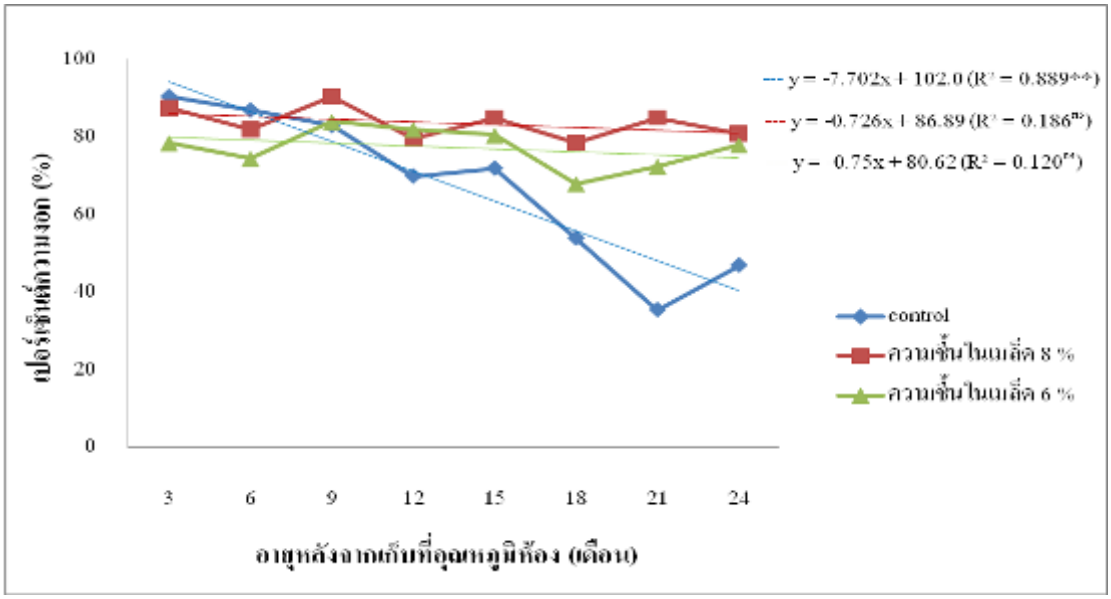
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	90.5 a	87.0	83.0	70.0	72.0 b	54.0 b	35.5 b	47.0 b
8 %	87.5 ab	82.0	90.5	79.5	85.0 a	78.5 a	85.0 a	81.0 a
6 %	78.5 b	74.5	84.0	82.0	80.5 a	68.0 a	72.5 a	78.0 a
F- Test	*	ns	ns	ns	*	**	**	**
C.V.	7.02	11.99	6.56	19.09	7.01	9.96	12.45	12.01

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแคบ้านที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไวที่อุณหภูมิห้อง

1.6 ชุมเห็ดเล็ก

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันไม่มีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของชุมเห็ดเล็กมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6) และ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 6) โดยเมื่อเก็บรักษาเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับไว้ที่อุณหภูมิห้องมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บรักษานานขึ้นไม่มีผลให้เมล็ดชุมเห็ดเล็กมีเปอร์เซ็นต์ความงอกแตกต่างกันและยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างสูงอยู่ระหว่าง 77.5 – 96.0 % สอดคล้องกับงานทดลองของ รัชนกและคณะ (2553) ที่พบว่า ในเมล็ดชุมเห็ดเทศที่ทุกอายุการเก็บรักษามีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดค่อนข้างคงที่และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ในระดับสูงถึงแม้จะมีอายุการเก็บรักษา 24 เดือนในสภาพอุณหภูมิห้องก็ตาม

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชุมเห็ดเล็กที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

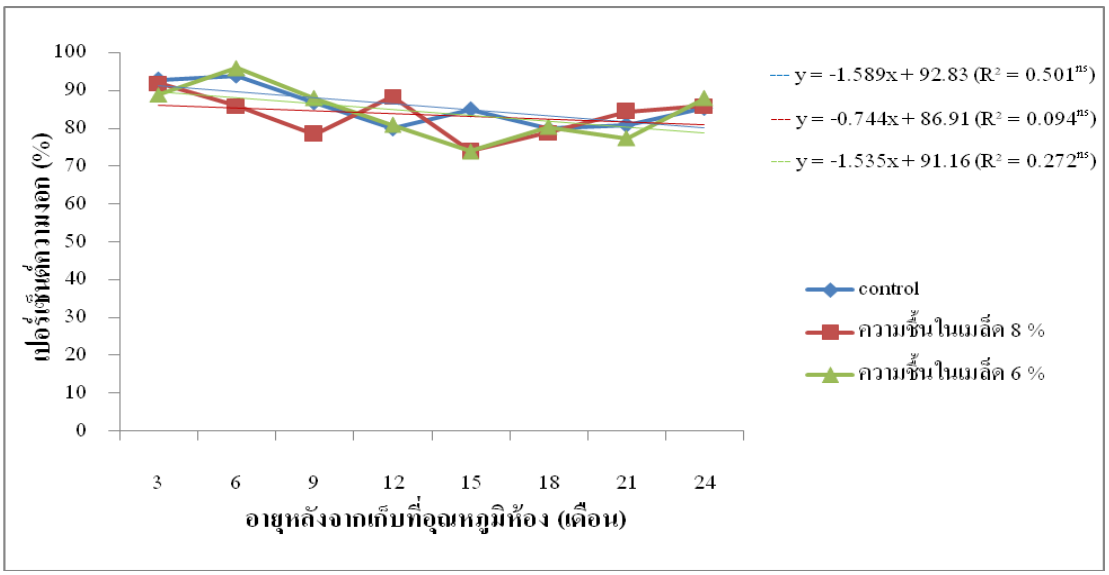
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน	15 เดือน	18 เดือน	21 เดือน	24 เดือน
Control	93.0	94.0	87.0	80.0	82.5	80.0	81.0	85.5
8 %	92.0	86.0	78.5	88.5	79.0	79.0	84.5	86.0
6 %	89.0	96.0	88.0	81.0	85.0	80.5	77.5	88.0
F- Test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.	3.34	6.32	7.33	12.88	6.11	5.92	10.61	7.70

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชุมเห็ดเล็กที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.7 โสน

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของโสนที่อายุ 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 18 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 7) และ พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) และความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.948** และ R^2 =0.675** ตามลำดับ) (ภาพที่ 7) โดยความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับนี้เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บรักษานานขึ้นมีผลให้เมล็ดโสนมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลง

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดโสนที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

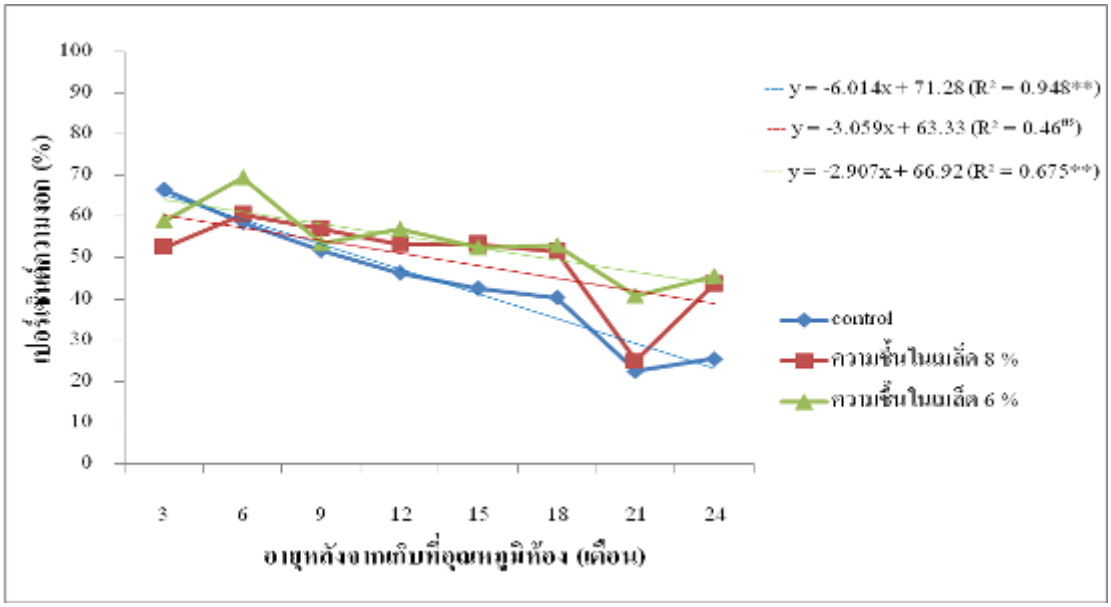
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	66.5	58.5	51.75	46.25	42.5	40.25 b	22.5 b	25.5 b
8 %	52.5	60.5	57.5	53.25	53.25	51.5 a	25.0 b	43.5 a
6 %	59.0	69.5	53.5	57.0	52.5	53.0 a	40.75 a	45.5 a
F- Test	ns	ns	ns	ns	ns	*	**	**
C.V.	22.91	9.90	9.15	15.94	12.70	12.34	18.49	14.77

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดโสนที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.8 ฝาง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของฝางที่อายุ 3 และ 9 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 8) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 8) แต่จากข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มว่าเมื่อเก็บเมล็ดฝางที่อุณหภูมิห้องอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นมีผลให้เมล็ดฝางมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลง

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดฝางที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

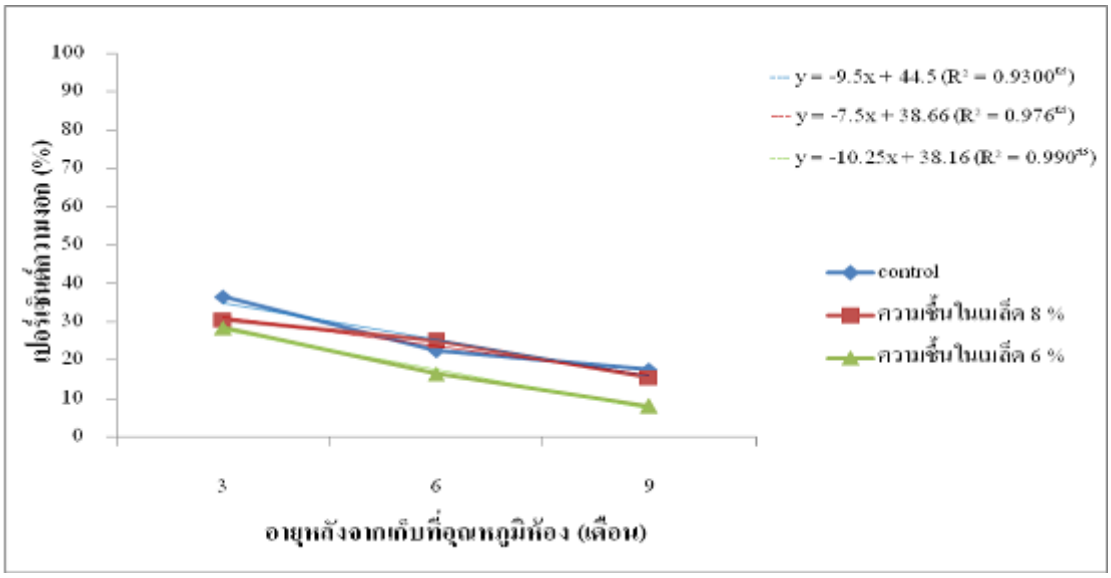
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**		
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**
Control	36.5 a	22.5	17.5 a
8 %	26.5 ab	25.0	15.5 a
6 %	28.5 b	16.5	8.0 b
F- Test	*	ns	*
C.V.	13.08	29.27	27.05

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดฝางที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.9 หางนกยูงไทย

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงไทยที่อายุ 3 เดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 9) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 9) แต่จากข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มว่าเมื่อเก็บเมล็ดหางนกยูงไทยที่มีความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับที่อุณหภูมิห้องอายุการเก็บรักษานานขึ้นไม่มีผลให้เมล็ดหางนกยูงไทยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกแตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากเมล็ดเป็นเมล็ดที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดหนา มีผิวมัน เพราะมีเพคติน (pectin) หรือ (suberin) เคลือบอยู่ ทำให้น้ำหรือออกซิเจนไม่สามารถซึมผ่านไปยังคัพภะได้ ดังนั้นถึงแม้ว่าจะเก็บในอุณหภูมิห้องก็ไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกในเมล็ดลดต่ำลง (ชยพร, 2546)

1.10ทองกวาว

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันไม่มีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดทองกวาวที่อายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงไทยที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด		
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน
Control	85.5 b	89.0 b	82.5 b

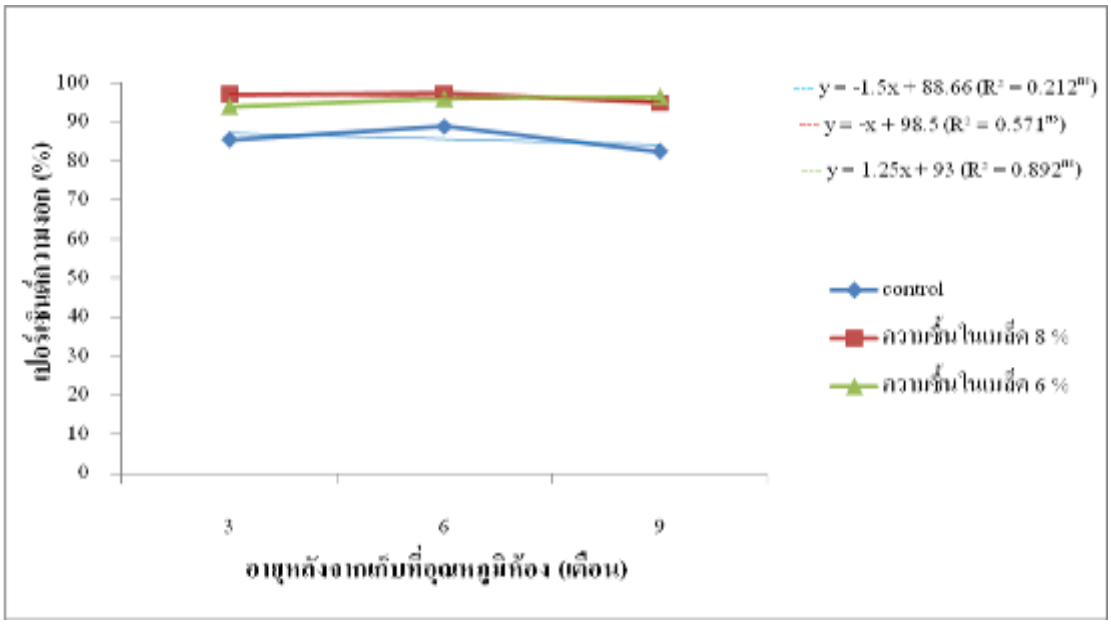
8 %	97.0 a	97.5 a	95.0 a
6 %	94.0 a	96.0 a	96.5 a
F- Test	**	*	ns
C.V.	2.08	3.76	5.40

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงไทยที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดทองกวาวที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**
	3 เดือน
Control	17.5
8 %	18.0
6 %	19.5

F- Test	ns
C.V.	37.75

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosae เมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C)

2.1 หางนกยูงฝรั่ง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 12, 18, 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 15 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 11) และ พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 8 % และความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.689** และ R^2 =0.823** ตามลำดับ) (ภาพที่ 10) ส่วนเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) พบว่า เมื่อเก็บเมล็ดหางนกยูงฝรั่งที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) อายุการเก็บรักษานานขึ้นไม่มีผลให้เมล็ดหางนกยูงฝรั่งมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลงเช่นเดียวกับการเก็บเมล็ดหางนกยูงฝรั่งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ได้ลดความชื้น โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงอยู่ระหว่าง 79.0 - 96.0 %

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงฝรั่งที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C)

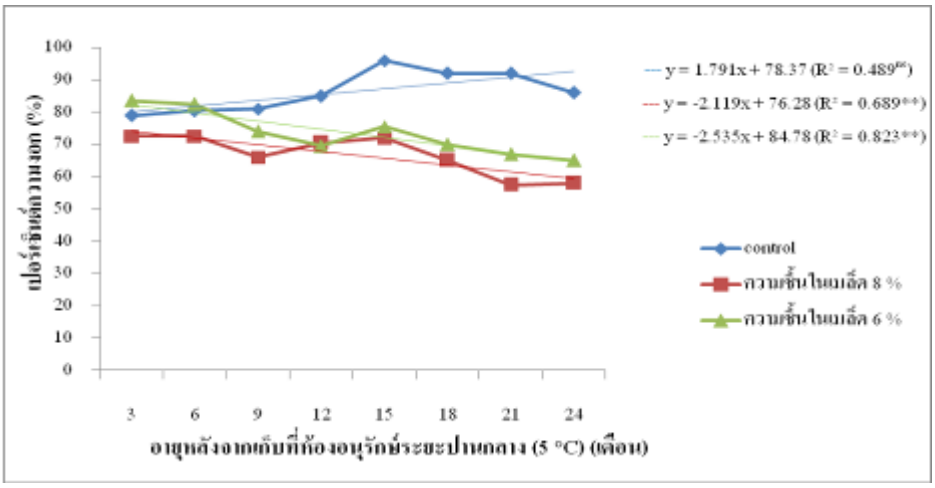
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	79.0	80.5	81.0	85.0 a	96.0 a	92.0 a	92.0 a	86.0 a
8 %	72.5	72.5	66.0	70.5 b	72.0 b	65.0 b	57.5 c	58.0 b
6 %	83.5	82.5	74.0	69.5 b	75.5 b	70.0 b	67.0 b	65.0 b
F- Test	ns	ns	ns	**	*	**	**	**
C.V.	9.18	13.40	10.32	6.96	4.25	9.03	6.55	9.23

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.2 คราม

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของครามที่อายุ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 6, 9 และ 12 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 12) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 11) โดยเมล็ดที่มีความชื้นทั้งสามระดับเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแปรปรวนค่อนข้างสูงเช่นเดียวกับการเก็บเมล็ดครามไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดครามที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

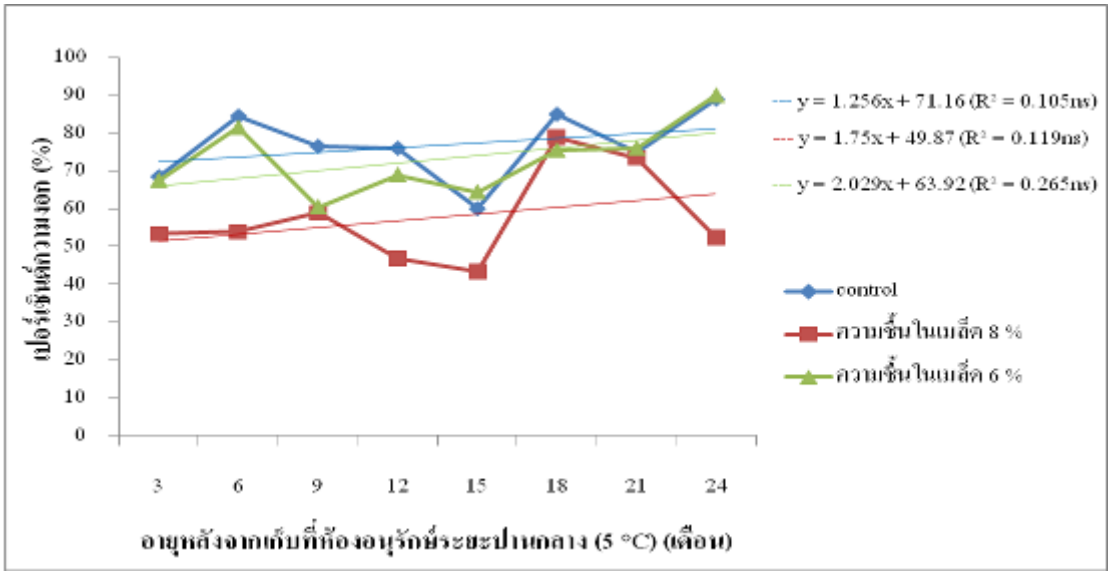
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	68.5	84.5 a	76.5 a	76.0 a	60.0	85.0	75.0	89.0 a
8 %	53.5	54.0 b	59.0 b	47.0 b	43.5	79.0	73.5	52.5 b
6 %	67.5	81.5 a	60.5 ab	69.0 ab	64.5	75.5	76.0	90.0 a
F- Test	ns	*	*	*	ns	ns	ns	**
C.V.	25.53	15.73	14.78	21.92	21.70	12.29	12.19	8.21

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดครามที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.3 ส้มป่อย

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของส้มป่อยที่อายุ 18 และ 21 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 13) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บ (ภาพที่ 12) โดยเมื่อเก็บรักษาเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า อายุการเก็บรักษาที่ 24 เดือน เมล็ดส้มป่อยยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันกับการเก็บรักษาเมล็ดที่อายุ 3 เดือน

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดส้มป่อยที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

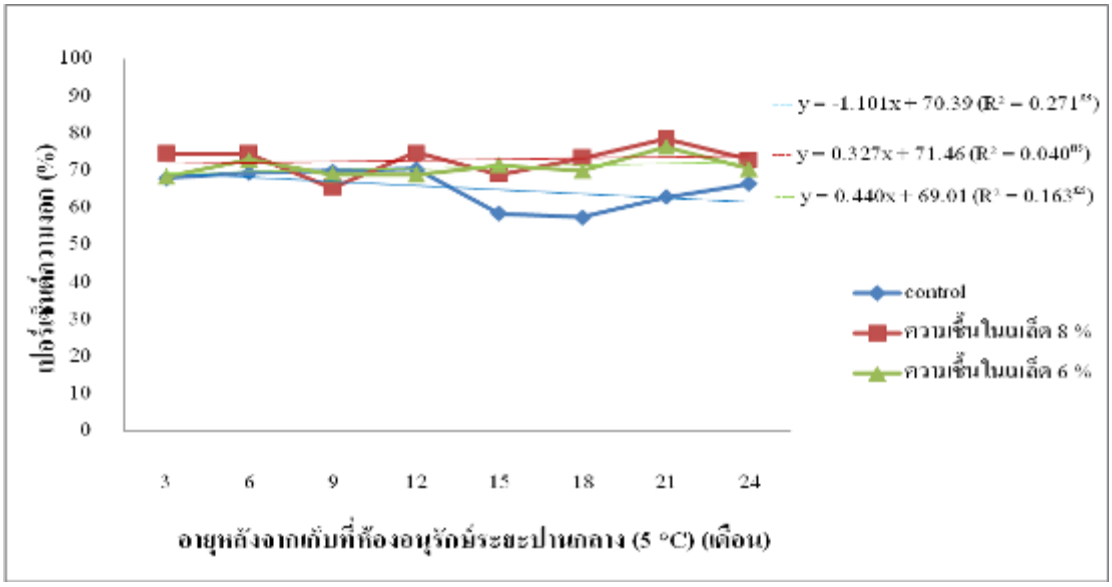
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	68.0	69.5	70.0	70.5	58.5	54.0 b	69.5 b	68.0
8 %	74.5	74.5	65.5	75.0	69.0 b	73.5 a	79.5 ab	76.0
6 %	68.5	73.0	69.0	69.0	71.5 a	70.0 a	80.0 a	70.5
F- Test	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	ns
C.V.	10.02	9.76	9.08	6.64	11.73	13.04	7.70	14.28

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 12 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดส้มป่อยที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.4 กัลปพฤกษ์

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของกัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 15, 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 12 และ 18 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 14) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางบวกของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.726**) โดยอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นมีผลให้เมล็ดกัลปพฤกษ์ที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงขึ้น (ภาพที่ 13)

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกัลปพฤกษ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

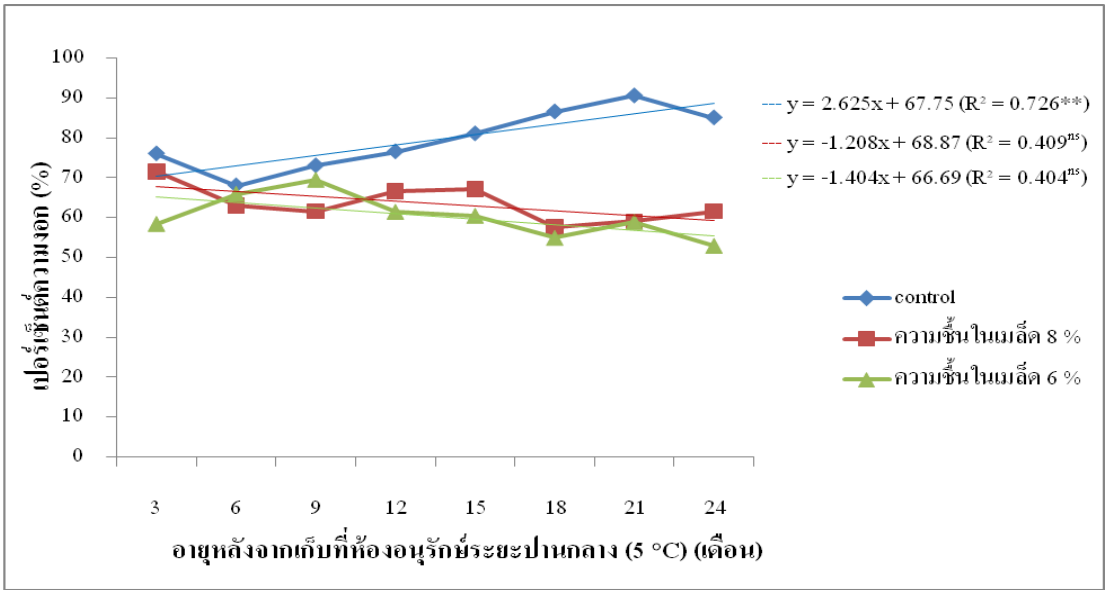
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	76.0 a	68.0	73.0 a	76.5 a	81.0 a	86.5 a	90.5 a	85.0 a
8 %	71.5 a	63.0	61.5 b	66.5 ab	67.0 b	57.5 b	59.0 b	61.5 b
6 %	58.5 b	66.0	69.5 ab	61.5 b	60.5 b	55.0 a	59.0 b	53.0 b
F- Test	**	ns	ns	*	**	*	**	**
C.V.	6.16	9.63	9.29	10.67	8.46	16.88	9.63	13.02

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 13 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.1 แคบ้าน

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของแคบ้านที่อายุ 6 และ 21 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 18 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 15) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 14)

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแคบ้านที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

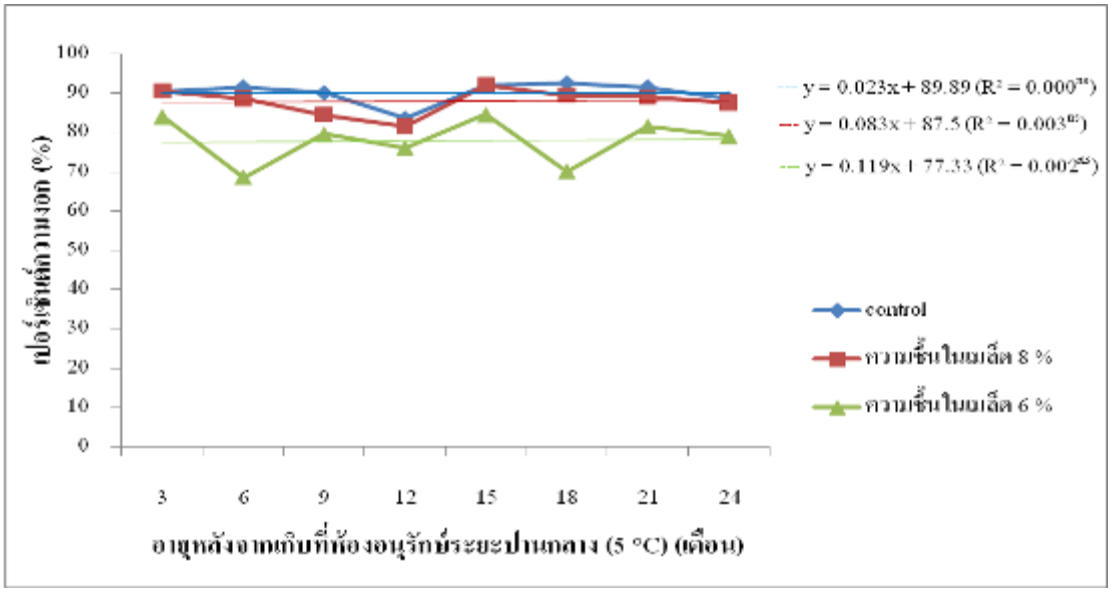
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	90.5	91.5 a	90.0	83.5	92.0	92.5 a	91.5 a	88.5
8 %	90.5	88.5 a	84.5	81.5	92.0	89.5 a	89.0 a	87.5
6 %	84.0	68.5 b	79.5	76.0	84.5	70.0 b	81.5 b	79.0
F- Test	ns	**	ns	ns	ns	*	**	ns
C.V.	4.25	7.06	12.63	6.36	4.87	12.55	3.72	6.57

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 14 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแคบ้านที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.2 ชุมเห็ดเล็ก

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของชุมเห็ดเล็กที่อายุ 3 และ 6 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 9, 12, 15 และ 18 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 16) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.505*) (ภาพที่ 15)

ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชุมเห็ดเล็กที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

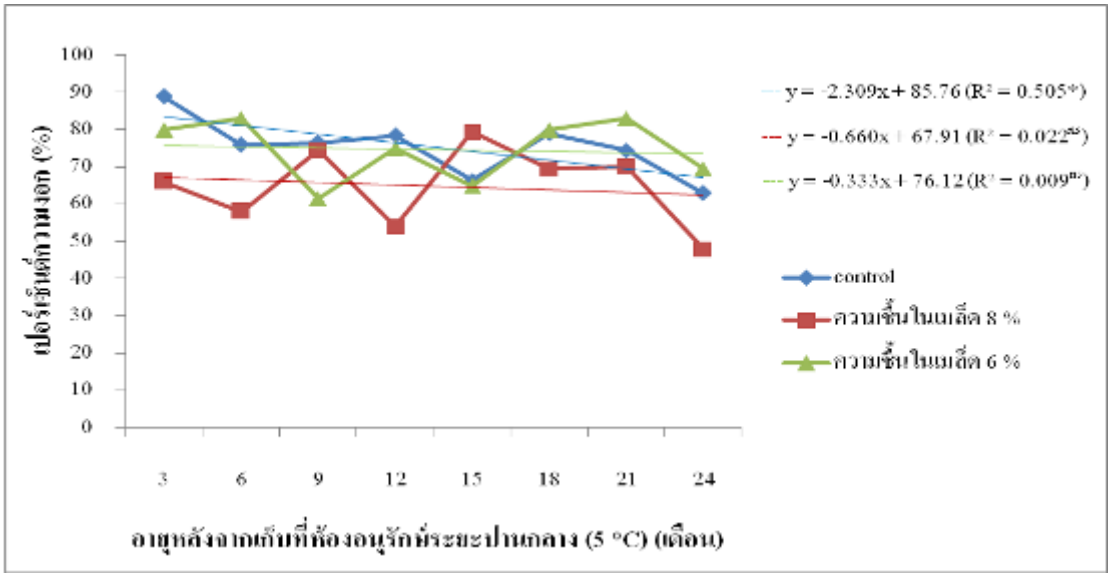
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	89.0 a	76.0 a	76.5 a	78.5 a	66.5 ab	79.0 a	74.5	63.0
8 %	66.0 b	58.0 b	74.5 ab	54.0 b	79.5 a	69.5 b	70.0	48.0
6 %	80.0 a	83.0 a	61.5 a	75.0 a	65.0 b	80.0 a	83.0	69.5
F- Test	**	**	*	*	*	*	ns	ns
C.V.	7.27	6.96	10.77	14.53	11.31	6.14	17.91	35.72

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชุมเห็ดเล็กที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.3 โสน

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของโสนที่อายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 17) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 16)

ตารางที่ 17 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดโสนที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

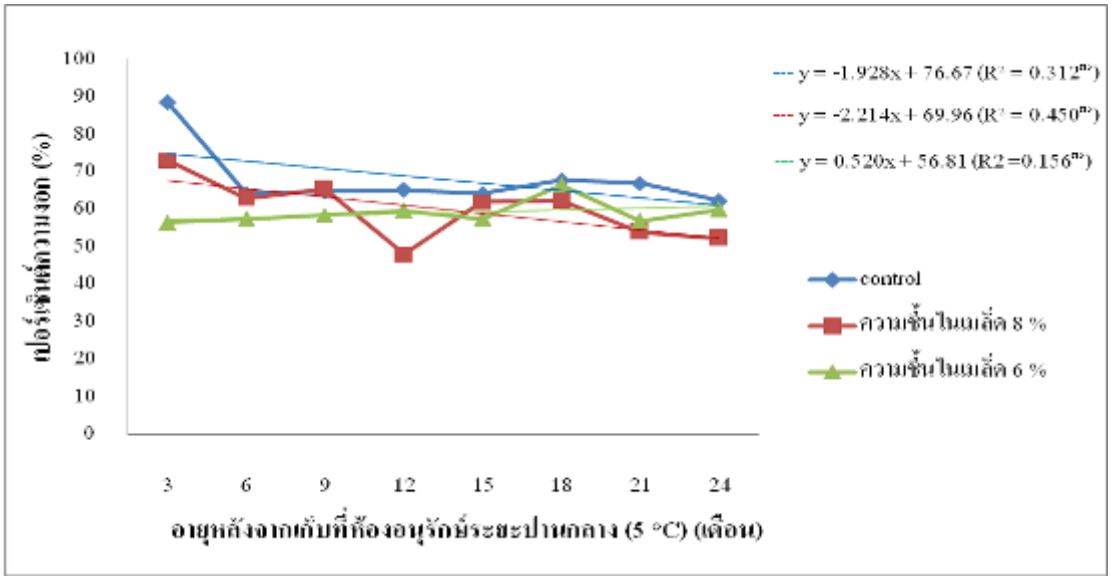
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	88.5 a	64.25	64.75	65.25	64.25	67.75	67.0	62.25
8 %	73.0 ab	63.0	65.5	48.0	62.0	62.25	54.0	52.25
6 %	56.5 b	57.5	58.5	59.75	57.5	66.5	57.75	60.00
F- Test	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.	14.23	10.13	7.80	17.34	9.66	12.10	22.28	14.38

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 16 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดโสนที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.4 ฝาง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันไม่มีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของฝางมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 18) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 17)

ตารางที่ 18 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดฝางที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

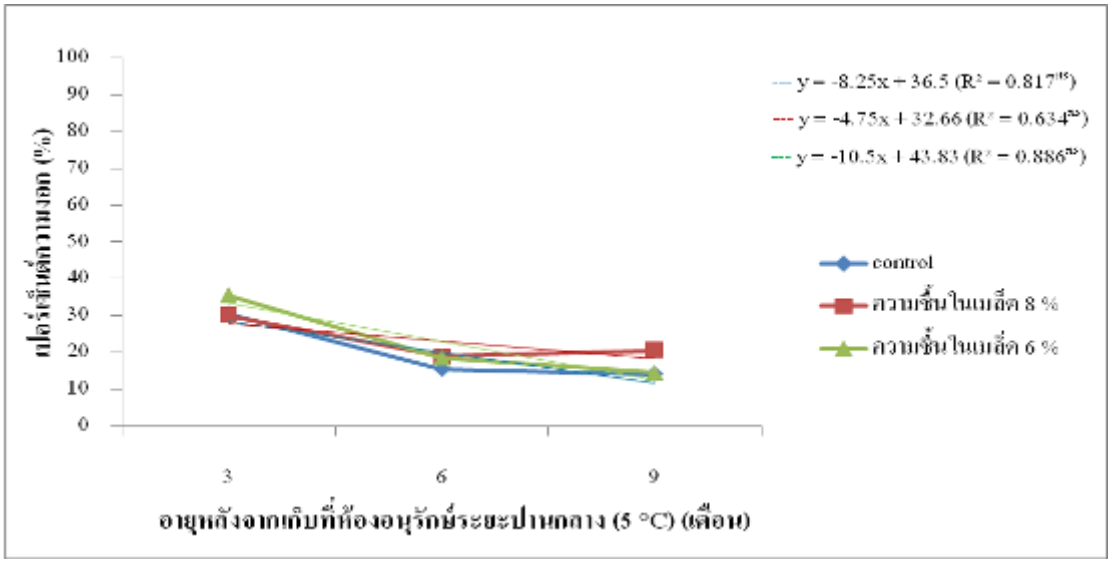
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**		
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**
Control	30.5	15.5	14.0
8 %	30.0	19.0	20.5
6 %	35.5	18.5	14.5
F- Test	ns	ns	ns
C.V.	15.20	46.17	40.35

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 17 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดฝางที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.5 หางนกยูงไทย

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงไทยที่อายุ 9 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 19) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 18) โดยเมล็ดหางนกยูงไทยที่มีความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับเมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) มีเปอร์เซ็นต์ความงอกในเมล็ดสูงเช่นเดียวกับการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงไทยที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

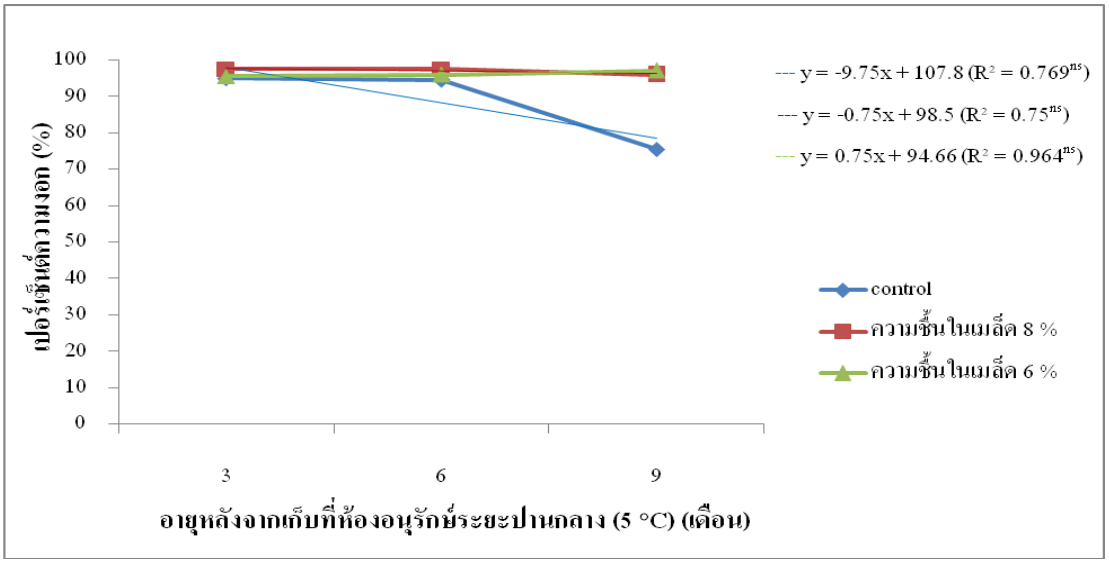
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**		
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**
Control	95.0	94.5	75.5 b
8 %	97.5	97.5	96.0 a
6 %	95.5	93.0	97.0 b
F- Test	ns	ns	**
C.V.	3.76	2.80	6.24

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 18 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงไทยที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

2.6 ทองกวาว

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันไม่มีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของทองกวาวที่อายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดทองกวาวที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃)

กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด
	3 เดือน
Control	19.0
8 %	18.0
6 %	19.5
F- Test	ns
C.V.	26.07

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสมุนไพรวงศ์ Leguminosaeเมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C)

3.1 หางนกยูงฝรั่ง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงฝรั่งที่อายุ 3, 6, 12, 18, 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 9 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 21) จะเห็นได้ว่า เมล็ดหางนกยูงฝรั่งที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงเช่นเดียวกับการเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) ในทางตรงกันข้ามเมื่อลดความชื้นในเมล็ด 8 % และ 6 % พบว่า เมล็ดหางนกยูงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดต่ำลง อาจเป็นไปได้ว่าเมล็ดหางนกยูงฝรั่งเป็นเมล็ดกลุ่ม intermediate seed คือ เมล็ดที่สามารถลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงได้แต่ลดได้ไม่เท่ากับเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ดได้ (orthodox seed) เพราะเมื่อลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงจะส่งผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ(Ellis et al.,1990) และจากข้อมูลการเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 19)

ตารางที่ 21 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงฝรั่งที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

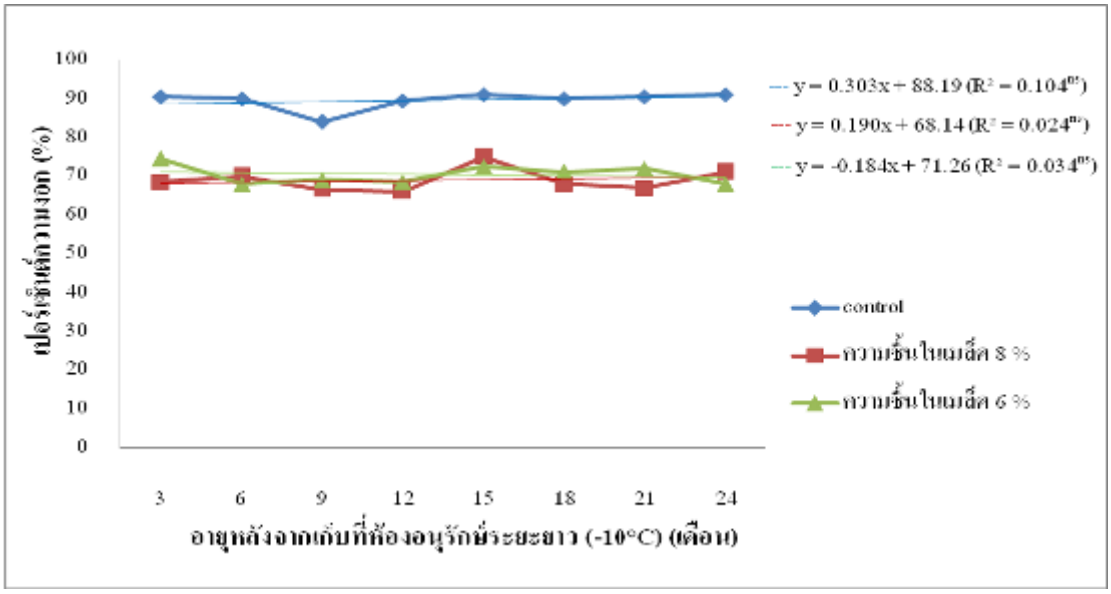
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	90.5 a	90.0 a	84.0 a	89.5 a	91.0 a	90.0 a	90.5 a	91.0 a
8 %	68.5 c	70.0 b	66.5 b	66.0 b	75.0 b	68.0 b	67.0 b	71.0 b
6 %	74.5 b	68.0 b	69.0 b	68.0 b	72.5 b	71.0 b	72.0 b	68.0 b
F- Test	**	**	*	**	**	**	**	**
C.V.	3.09	4.72	5.92	8.90	4.09	4.00	4.20	3.14

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 19 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงไทยที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.2 คราม

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของครามที่อายุ 18 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 9, 12, 15 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 22) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.702**) (ภาพที่ 20)

ตารางที่ 22 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดครามที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

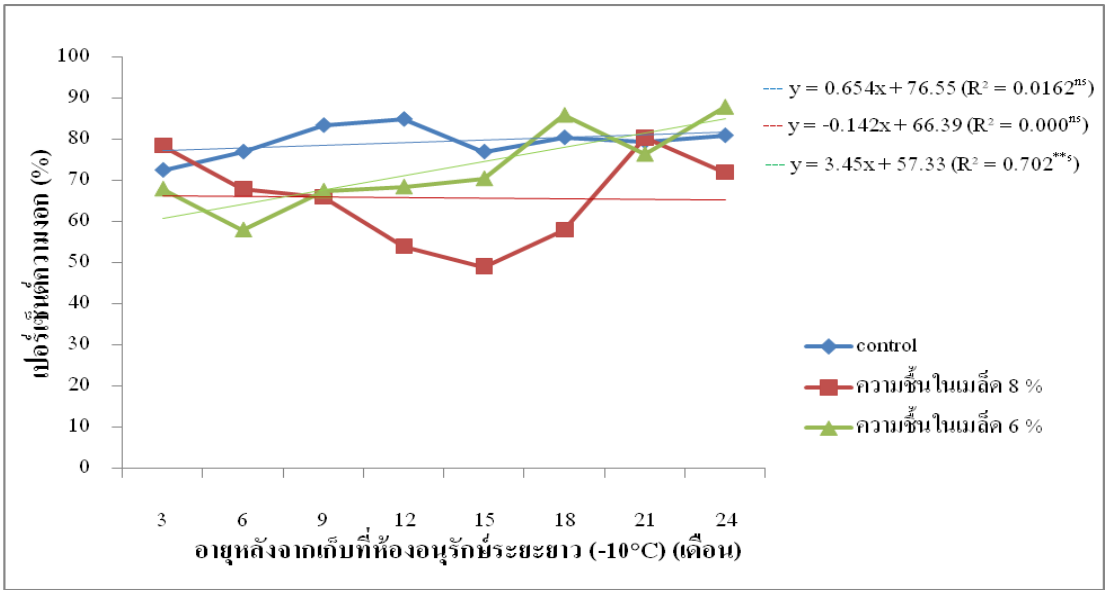
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน	15 เดือน	18 เดือน	21 เดือน	24 เดือน
Control	72.5	77.0	83.5 a	85.0 a	77.0 a	80.5 a	79.5	81.0 ab
8 %	78.5	68.0	66.0 b	54.0 b	49.0 b	58.0 b	80.5	72.5 b
6 %	68.0	58.0	67.5 b	68.5 ab	70.5 a	86.0 a	76.5	88.0 a
F- Test	ns	ns	*	*	*	**	ns	*
C.V.	15.57	17.57	12.60	19.38	17.571	6.47	15.41	8.22

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 20 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดครามที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.3 ส้มป่อย

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของส้มป่อยที่อายุ 15 และ 21 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 23) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 21)

ตารางที่ 23 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดส้มป่อยที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

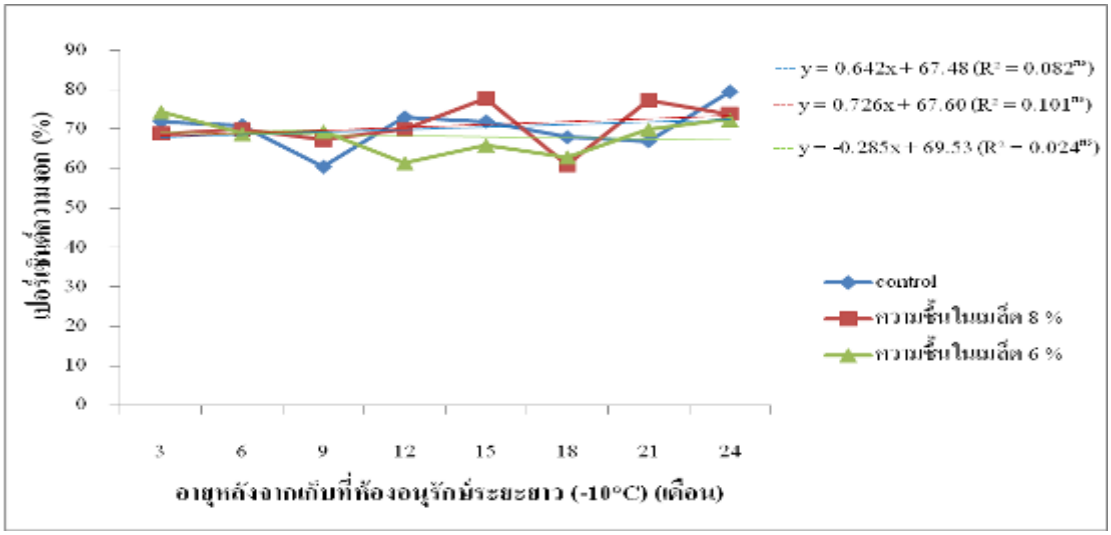
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน	15 เดือน	18 เดือน	21 เดือน	24 เดือน
Control	72.0	71.0	60.5	73.0	72.0 ab	68.0	67.0 b	79.5
8 %	69.0	70.0	67.5	70.0	78.0 a	610	77.5 a	74.0
6 %	74.5	69.0	69.5	61.5	66.0 b	63.0	70.0 ab	72.5
F- Test	ns	ns	ns	ns	*	ns	*	ns
C.V.	12.53	6.73	10.91	16.95	9.44	17.49	6.87	9.82

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 21 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดส้มป่อยที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.4 กัลปพฤกษ์

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของกัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 12, 18, 21 และ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 6 และ 15 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 24) โดยในทุกอายุการตรวจวัดของเมล็ดที่เก็บไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า เมล็ดกัลปพฤกษ์ที่ไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าเมล็ดที่ลดความชื้นในเมล็ดที่ 8% และ 6 % เช่นเดียวกับการเก็บเมล็ดกัลปพฤกษ์ไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) ซึ่งอาจเป็นเพราะเมล็ดกัลปพฤกษ์เป็นเมล็ดที่มีแนวโน้มการพักตัวเนื่องจากส่วนประกอบภายในเมล็ดดังนั้นควรเก็บเมล็ดชนิดนี้ไว้ในที่ชื้นและเย็นเพื่อช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ด (ชยพร, 2546) และ พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางบวกของเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้น (control) (R^2 =0.549**) (ภาพที่ 22) เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้นมีแนวโน้มว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงขึ้น

ตารางที่ 24 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกัลปพฤกษ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน	15 เดือน	18 เดือน	21 เดือน	24 เดือน
Control	81.5 a	77.5 a	72.5	79.5 a	84.0 a	91.0 a	92.5 a	87.0 a
8 %	61.0 b	64.0 ab	64.0	60.5 b	62.0 b	64.5 b	62.0 b	56.5 b
6 %	62.0 b	71.5 b	62.0	59.5 b	66.0 b	60.5 b	66.5 b	51.0 b
F- Test	**	*	ns	**	*	**	**	**

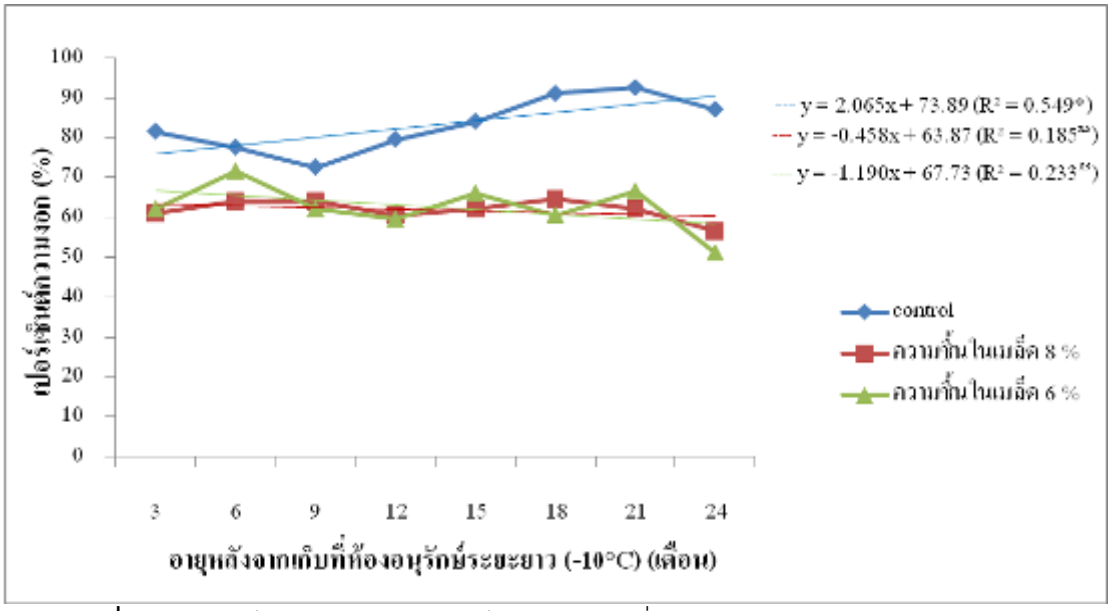
C.V.	7.40	9.47	14.80	7.50	10.42	11.22	11.72	15.42

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 22 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกัลปพฤกษ์ที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.5 แคบ้าน

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของแคบ้านที่อายุ 9 และ 18 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 6, 12, 15 และ 21 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 25) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 23)

ตารางที่ 25 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแคบ้านที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

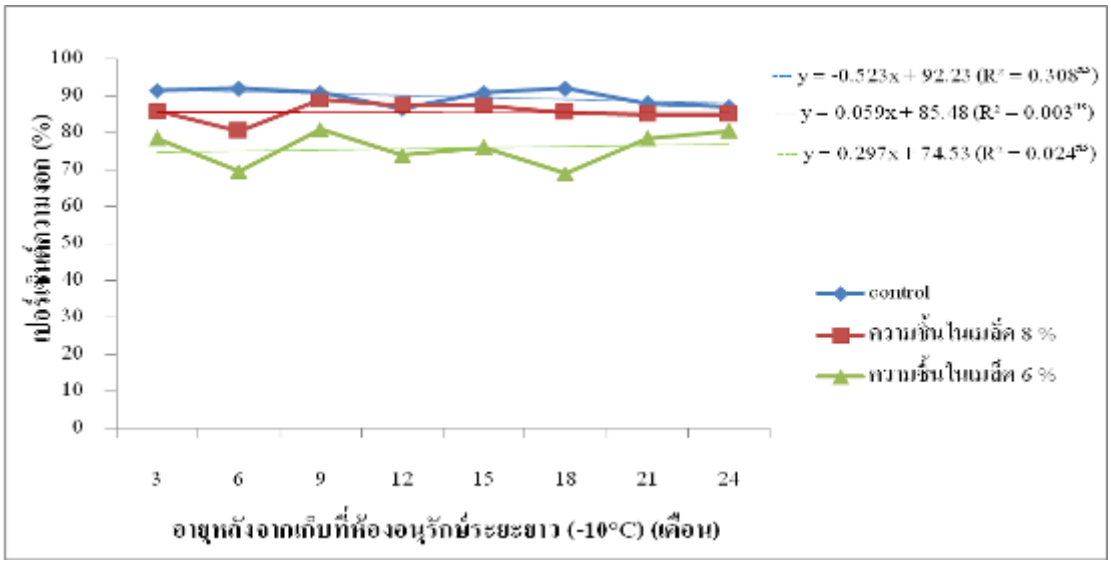
กรรมวิธี	**อายุการตรวจวัด**							
	3 เดือน	**6 เดือน**	**9 เดือน**	**12 เดือน**	**15 เดือน**	**18 เดือน**	**21 เดือน**	**24 เดือน**
Control	91.5	92.0 a	91.0 a	86.5 a	91.0 a	92.0 a	88.0 a	87.0
8 %	86.0	80.5 a	89.0 a	87.5 a	87.5 a	85.5 a	85.0 ab	85.0
6 %	78.5	69.5 b	81.0 b	74.0 b	76.0 a	69.0 b	78.5 b	80.5
F- Test	ns	*	**	*	*	**	*	ns
C.V.	9.45	9.60	3.67	5.83	7.87	8.16	5.52	5.70

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 23 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดแคบ้านที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.6 ชุมเห็ดเล็ก

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของชุมเห็ดเล็กที่อายุ 24 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 6 และ 9 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 26) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 24)

ตารางที่ 26 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชุมเห็ดเล็กที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

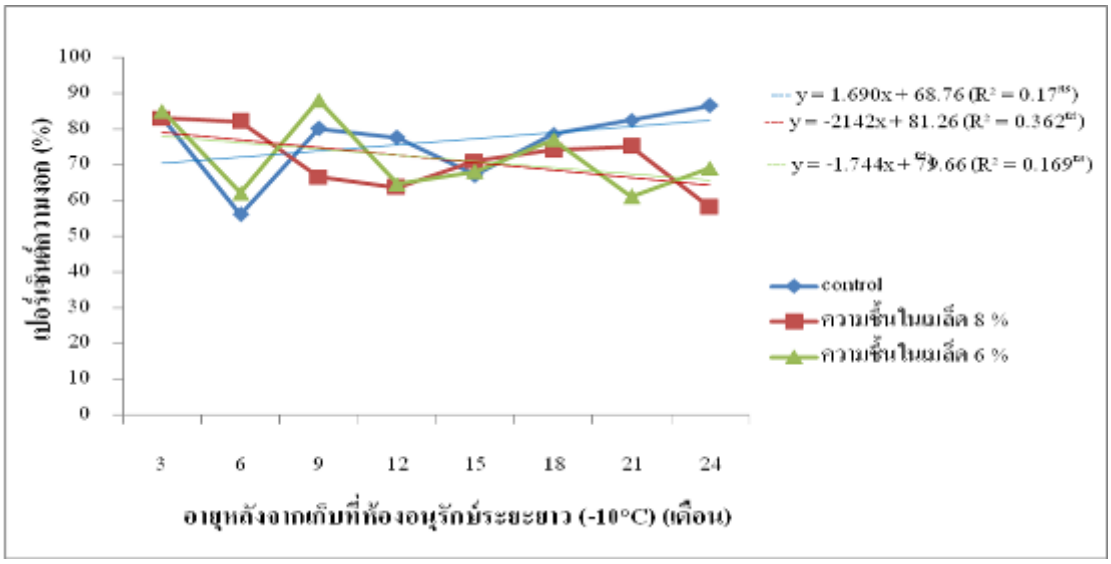
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน	15 เดือน	18 เดือน	21 เดือน	24 เดือน
Control	83.0	56.0 b	80.0 a	77.5	67.0	78.5	82.5	86.5 a
8 %	830	82.0 a	66.0 b	63.5	71.0	74.0	75.0	58.0 b
6 %	85.0	62.0 b	88.0 a	64.5	68.0	77.0	61.0	69.0 b
F- Test	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	**
C.V.	4.78	12.49	8.73	14.97	8.30	7.36	23.78	9.38

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 24 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชุมเห็ดเล็กที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือน หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.7 โสน

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของโสนที่อายุ 9 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 27) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 8 % (R^2 =0.636*) (ภาพที่ 25)

ตารางที่ 27 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดโสนที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

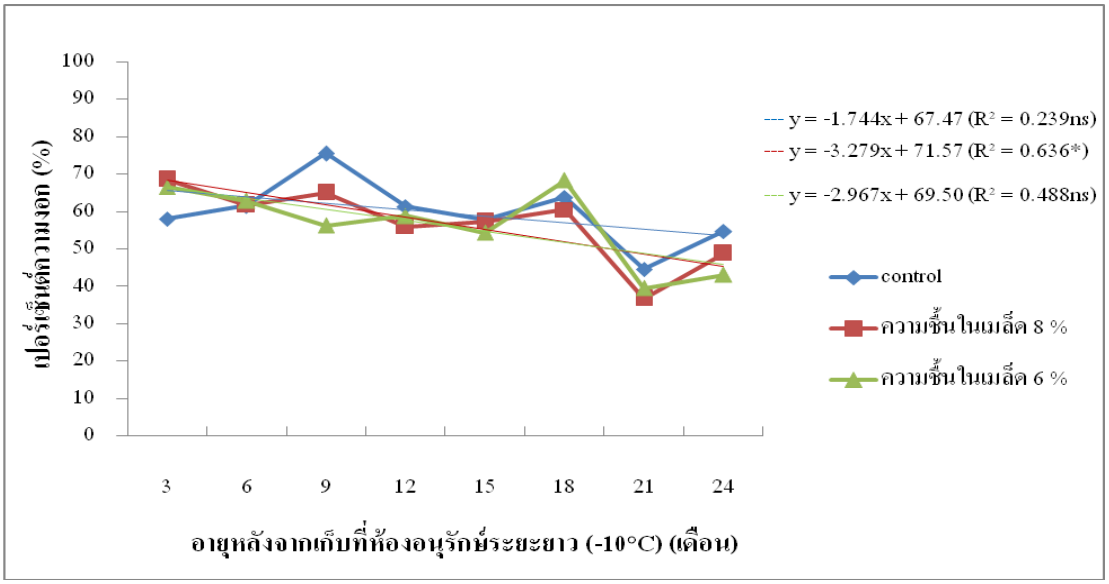
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด							
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน	15 เดือน	18 เดือน	21 เดือน	24 เดือน
Control	58.0	61.5	75.5 a	61.25	57.75	63.75	44.5	55.00
8 %	68.5	61.75	65.0 b	56.0	57.25	60.5	36.75	48.75
6 %	66.5	62.75	56.25 c	58.75	56.25	68.25	39.5	43.00
F- Test	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.	34.11	8.73	7.25	11.96	12.46	6.76	13.24	23.56

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 25 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดโสนที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.8 ฝาง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันไม่มีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของฝางมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 28) และพบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทางลบของเมล็ดที่มีความชื้นในเมล็ด 6 % (R^2 =0.995*) (ภาพที่ 26)

ตารางที่ 28 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดฝางที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

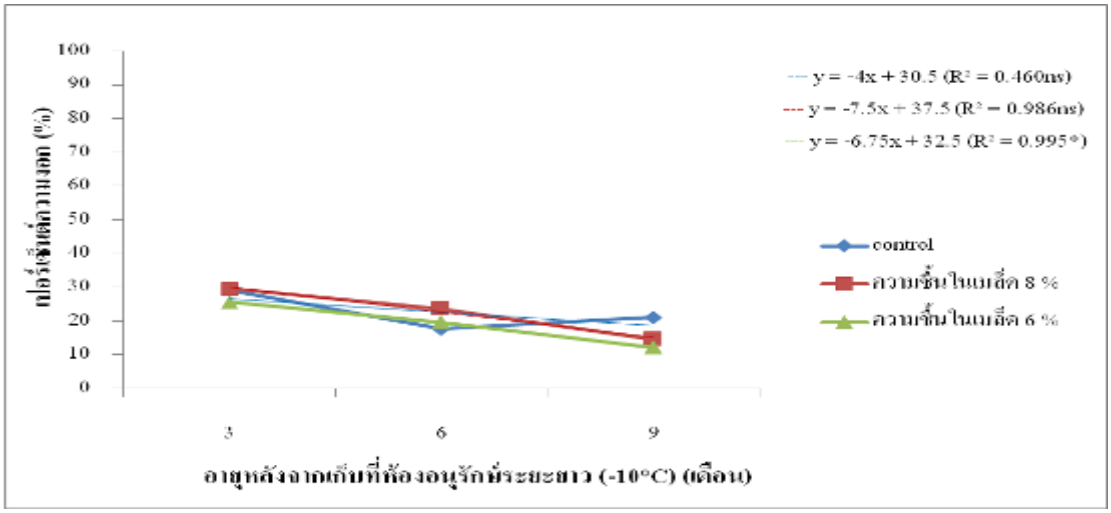
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด		
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน
Control	29.0	17.5	21.0
8 %	29.5	23.5	14.5
6 %	25.5	19.5	12.0
F- Test	ns	ns	ns
C.V.	20.17	35.60	42.99

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 26 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดฝางที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.9 หางนกยูงไทย

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 ℃) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันมีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของหางนกยูงไทยที่อายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่อายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 29) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดกับอายุการเก็บรักษามีความสัมพันธ์ในทาง (ภาพที่ 27) โดยเมล็ดหางนกยูงไทยที่มีความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับเมื่อเก็บที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10 ℃) มีเปอร์เซ็นต์ความงอกในเมล็ดสูงเช่นเดียวกับการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง และห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) โดยวันชัย (2542) รายงานว่า เมล็ดพืชตระกูลถั่วบางชนิดมีอายุการเก็บรักษานานนับ 100 ปี หรือเมล็ดข้าวบาร์เลย์ มีรายงานไว้ว่าคงความงอกไว้ได้ถึง 123 ปี โดยมีความงอก 12 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาสภาพปิดผนึก (sealed storage)

ตารางที่ 29 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงไทยที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

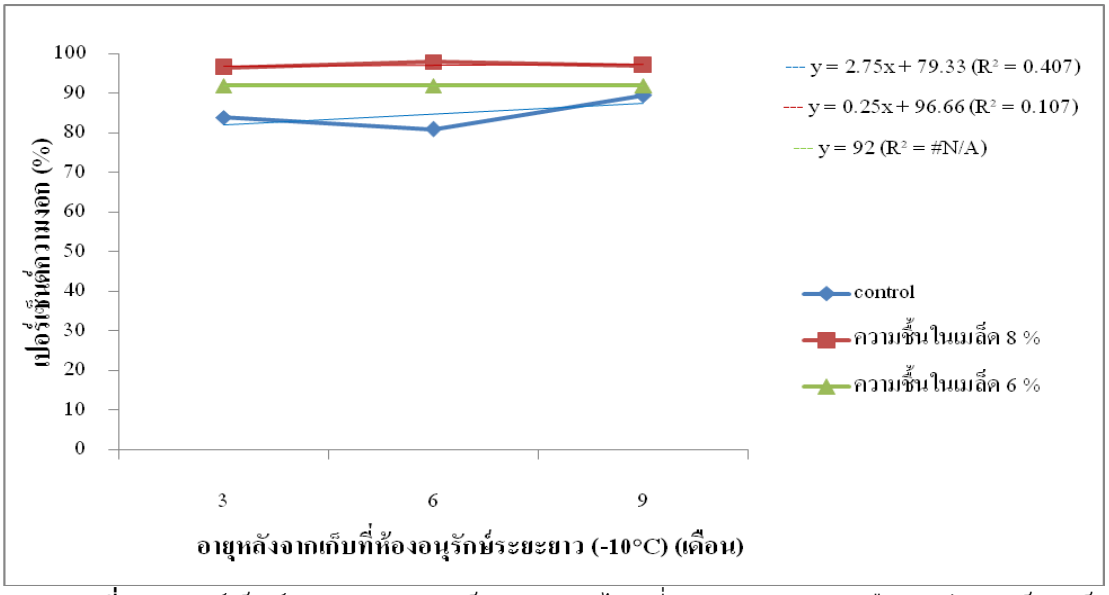
กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด		
	3 เดือน	6 เดือน	9 เดือน
Control	84.0 b	81.0 b	89.5
8 %	96.5 a	98.0 a	97.0
6 %	92.0 ab	92.0 a	93.0
F- Test	*	**	ns
C.V.	7.11	4.61	5.48

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



ภาพที่ 27 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดหางนกยูงไทยที่อายุ 3, 6 และ 9 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

3.10 ทองกวาว

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่อายุ 3 เดือนหลังจากเก็บเมล็ดไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) พบว่า ความชื้นในเมล็ดที่ต่างกันไม่มีอิทธิพลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของทองกวาวที่อายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 30) จากการตรวจสอบความงอกของเมล็ดทองกวาวที่มีความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับ พบว่า เมล็ดทองกวาวมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำมากในห้องที่เก็บรักษาเมล็ดทั้งสามอุณหภูมิ ดังนั้น เมล็ดทองกวาวมีแนวโน้มเป็นเมล็ดจัดอยู่ในกลุ่ม recalcitrant seed ซึ่งเมล็ดจะสูญเสียความชื้นในเมล็ดอย่างรวดเร็วไม่สามารถเก็บเป็นเมล็ดพันธุ์ได้ มีช่วงชีวิตสั้น เมล็ดในป่าเขตร้อนส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ เช่น เมล็ดไม้วงศ์ยาง (Ellis et al.,1990) และเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถลดความชื้นในเมล็ดได้อย่างเมล็ด Orthodox seed และ Intermediate seed ควรหาวิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมโดยวิธีอื่นต่อไป

จากการที่เมล็ดฝางและทองกวาวมีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยในระดับความชื้นเมล็ดทั้งสามระดับและห้องที่เก็บรักษาเมล็ดทั้งสามอุณหภูมิ อาจเป็นผลมาจากการที่เอ็มบริโอ (embryo) ได้รับอันตรายจากการสูญเสียความชื้นในเมล็ดอย่างรวดเร็ว มีความอ่อนแอต่อการทำให้แห้ง (seed desiccation) ไม่สามารถลดความชื้นในเมล็ดได้ Hong and Ellis (1997) รายงานว่า สามารถใช้ข้อมูลจากน้ำหนักเมล็ด (seed mass) รูปร่างเมล็ด (seed shape) และ Pritchard et al. (2004) รายงานว่าเพิ่มเติมว่า ใช้ข้อมูลความชื้นในเมล็ด (seed moisture content) อัตราการงอกของเมล็ด (seed germination rates) (Pritchard et al., 2004) มาเป็นดัชนีในการลดความชื้นและคัดเลือกเมล็ดเพื่อการจัดเก็บได้

ตารางที่ 30 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดทองกวาวที่ระดับความชื้นต่างๆ หลังจากเก็บเมล็ดทองกวาวไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C)

กรรมวิธี	อายุการตรวจวัด
	3 เดือน
Control	13.0
8 %	13.5
6 %	14.5
F- Test	*
C.V.	43.07

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี LSD

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. หางนกยูงฝรั่ง สามารถเก็บรักษาเมล็ดในห้องอนุรักษ์ทั้งสามห้องได้โดยไม่ต้องลดความชื้นในเมล็ด การลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงที่ 8 % และ 6 % ก่อนเก็บรักษาที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) มีแนวโน้มเกิดการพักตัวของเมล็ด

2. คราม สามารถเก็บรักษาไว้ได้ทุกอุณหภูมิห้อง แต่การลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงที่ 6 % และเก็บรักษาในห้องที่มีอุณหภูมิต่ำช่วยให้เมล็ดครามมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่า

3. กัลปพฤกษ์ การเก็บเมล็ดโดยไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ดที่อุณหภูมิห้องมีผลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น แต่เมื่อนำไปเก็บในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงขึ้น มีแนวโน้มว่าเป็นเมล็ดที่มีการพักตัวต้องเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิต่ำเพื่อกระตุ้นการงอก

4. ส้มป่อย โสนและ**แคบ้าน** สามารถเก็บรักษาเมล็ดได้ในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) ส่วนเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้นมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำสุดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เมล็ดของพืชทั้งสามชนิดควรลดความชื้นให้ต่ำลงที่ 8 % และ 6 % ก่อนเก็บรักษาช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกและอายุการเก็บรักษาได้

5. ชุมเห็ดเล็ก สามารถเก็บรักษาเมล็ดที่มีความชื้นทั้งสามระดับได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่เมื่อเก็บไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10℃) เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง

6. หางนกยูงไทย สามารถเก็บรักษาเมล็ดที่มีความชื้นทั้งสามระดับได้ทุกห้องอนุรักษ์

7. ฝางและ**ทองกวาว** เปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับที่ทำการศึกษาไม่สามารถเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ใดได้เลย

ชื่อการทดลองที่ 7: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมชมพูสิริน (*Impatiens sirindhorniae*) และไอยริศ (*Zingiber sirindhorniae*) ในสภาพปลอดเชื้อ (งานวิจัยต่อเนื่อง)

Study on *In Vitro* Conservation Technique of *Impatiens sirindhorniae* and *Zingiber sirindhorniae*.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวพัฒน์นรี รักษ์คิด[1]

ผู้ร่วมงาน : นางสาวพัชร ปิริยะวินิตร[1]
นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด[1]
ดร. ปราโมทย์ ไตรบุญ[2]
นางสาวปัณฑารีย์ กาญจนวัฒนาวงศ์[1]

บทคัดย่อ

ชมพูสิรินและไอยริศเป็นพืชชนิดใหม่ของโลก ได้รับพระราชทานนามจากสมเด็จพระเทพฯ ในการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ ซึ่งพืชทั้งสองชนิดนี้จัดเป็นพืชเฉพาะถิ่นและพืชหายาก จึงได้นำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ในการเพิ่มปริมาณและอนุรักษ์พันธุกรรมพืชทั้งสองชนิด งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มปริมาณต้นชมพูสิรินและไอยริศในสภาพปลอดเชื้อและทำการเพาะเลี้ยงไอยริศบนอาหารสำหรับชะลอการเจริญเติบโต โดยทดลองแปรผันปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน ความเข้มข้นของสารอาหารในอาหารเพาะเลี้ยง และปริมาณน้ำตาลซูโครส พบว่าต้นชมพูสิรินสร้างจำนวนยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 5.9 ยอด/ข้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. โดยที่การเติมสาร NAA กับไม่เติมให้จำนวนยอดไม่แตกต่างกัน ส่วนต้นไอยริศสร้างจำนวนยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 9 ยอด/หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ IAA 2 มก./ล. และสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของไอยริศ คือ 1/4 MS และ 1/8 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. ซึ่งให้อัตราการมีชีวิตรอดเท่ากันเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 เดือน โดยไม่ต้องทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

Abstract

Impatiens sirindhorniae and *Zingiber sirindhorniae*, two new species whose names were given by Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn, are classified as rare and endemic species of Thailand. Therefore, this research tried to apply tissue culture techniques to multiply and conserve the two species. *In vitro* multiplication of *I. sirindhorniae* and multiplication and growth minimization of *Z. sirindhorniae* was studied using various concentrations of factors such as plant growth regulators (auxin and cytokinin), media and sucrose. The results indicated that the highest shoot number of *I. sirindhorniae* (5.9 shoots per explant) was obtained from MS basal medium supplemented with 3 mg/L BA and 1 mg/L NAA but no difference found between NAA added and non-NAA media. Shoot multiplication of *Z. sirindhorniae* showed the highest shoot number (9 shoots per explant) in MS basal medium contained 5 mg/L BA and 2 mg/L IAA. 1/4 MS and 1/8 MS, both contained 15 g/L of sucrose, were found as suitable media

---

[1]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

for *in vitro* growth minimization of *Z. sirindhorniae* as they gave the same survived rate after 12 months of culture without subculturing.

บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศหนึ่งที่ยังมีความสมบูรณ์ของทรัพยากรธรรมชาติและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง มีพันธุ์พืชอยู่เป็นจำนวนมากกว่า 10,000 ชนิด (ราชันย์, 2547) เนื่องจากตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นจึงเป็นที่อยู่อาศัยของพืชหลายชนิด บางชนิดเป็นพืชเฉพาะถิ่นหายาก และใกล้สูญพันธุ์ พืชเฉพาะถิ่นเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในบริเวณจำกัดโดยต้องการปัจจัยแวดล้อมที่เฉพาะสำหรับการเจริญเติบโตต่อพืชนั้นๆ (ธวัชชัย, 2547) พืชเหล่านี้อาจมีโอกาสซึ่งพืชเหล่านี้มักถูกคุกคามถิ่นกำเนิดและลักลอบนำออกจากป่า หรือจากภัยธรรมชาติจนไม่สามารถแพร่กระจายในธรรมชาติได้ทัน ทำให้มีประชากรของพืชพันธุ์เหล่านี้ลดน้อยลงอย่างรวดเร็วและเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทยเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งพืชเหล่านี้อาจมีโอกาสที่จะนำมาพัฒนาเพิ่มศักยภาพ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ต่อไปในอนาคต เป็นที่ทราบกันดีว่ามีพืชหลายชนิดที่อยู่ในประเทศไทยแต่ไม่ทราบถึงประโยชน์และสรรพคุณทำให้ประเทศอื่นๆ ที่มีอำนาจในการลงทุน ในการศึกษาค้นคว้าพัฒนาจนสามารถนำไปจดสิทธิบัตรทำให้ประเทศไทยเสียผลประโยชน์ (ธวัชชัย, 2543) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชเหล่านี้มิให้สูญหายไป เพื่อใช้เป็นแหล่งทรัพยากรทางชีวภาพในการศึกษาและพัฒนาเชื้อพันธุ์พืชต่อไป

จากการสำรวจ รวบรวมพันธุ์พืชตามพื้นที่ต่างๆ และศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธานพรรณไม้ในประเทศไทยของนักวิชาการเกษตร สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร เมื่อปี พ.ศ. 2550 พบพืชชนิด

ใหม่ของโลกเป็นพืชวงศ์เทียน และวงศ์ขิง อย่างละ 1 ชนิด และ ได้ขอพระราชทานนามของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เป็นชื่อวิทยาศาสตร์เพื่อเฉลิมพระเกียรติ ในโอกาสที่ทรงเจริญพระชนมายุครบ 55 พรรษา ในปี พ.ศ. 2553 คือ *Impatiens sirindhorniae* และ *Zingiber sirindhorniae* เนื่องจากมีความสวยงานตามธรรมชาติมากและเหมาะที่จะพัฒนาเป็นไม้ประดับต่อไปในอนาคตและทรงได้พระราชทานทั่วไปว่า ชมพูสิริน และไอยริศ (ปราโมทย์ และคณะ, 2555)

พืชสกุลเทียน (*Impatiens*) จัดอยู่ในวงศ์ BALSAMINACEAE เกือบทั้งหมดเป็นพืชล้มลุก มีบางชนิดที่จัดว่าเป็นพืชไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นอวบน้ำ พืชสกุลเทียนมีการนำมาสกัดสารใช้รักษาแผลติดเชื้อเรื้อรังในสัตว์ ซึ่งพบว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจ และมีแนวโน้มจากแพทย์ทางเลือกนำมาใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานหรือแผลเรื้อรังที่เกิดจากการติดเชื้ออีกด้วย (กลุ่มนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาแพทย์แผนไทย รุ่นที่6, ม.ม.ป.)

ชมพูสิริน เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์เทียน (FAMILY BALSAMINACEAE) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Impatiens sirindhorniae* สำรวจพบเฉพาะบริเวณหน้าผาเขาหินปูน ที่ระดับความสูง 20-150 เมตร ในเขต อ.ปลายพระยา จ.กระบี่ และ อ. คีรีรัฐนิคม จ.สุราษฎร์ธานี จัดเป็นพืชหายาก (rare) และเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic) ของประเทศไทย ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายฤดู ลำต้นฉ่ำน้ำ แตกกอที่ส่วนโคน มียอดมากได้ถึง 15 ยอด ลำต้นสีเขียวอมเทา ผิวนวลเรียบ ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงเวียนแตกใบมากเฉพาะส่วนปลายยอด แผ่นใบหนาคล้ายแผ่นหนังรูปไข่ปลายแหลม โคนตัดหรือคล้ายรูปหัวใจ ขอบหยัก ก้านใบยาว 6 – 7.5 ซม. ใกล้โคนใบมีต่อม 2 อัน ดอกเกิดตามปลาย กิ่ง มี 1 – 2 ดอก ก้านดอกโค้ง ยาว 3 – 6.5 ซม. ดอกสีชมพู ใบประดับมีขนาดเล็ก กลีบส่วนใหญ่อยู่ในแนวระนาบเดียว กลีบเลี้ยง 5 กลีบ อยู่เป็น 2 คู่ คู่นอกสีขาวอมเขียวรูปไข่ คู่ในลดรูปกลีบล่างสุดเป็นรูปคล้ายเรือ และค่อย ๆ คอดเป็นเดือยโค้งยาวได้ถึง 6 ซม. กลีบดอก 5 กลีบ กลีบบนเป็นรูปไข่กลับ ปลายพับขึ้น อยู่เป็นคู่ 2 คู่ กลีบบนเชื่อมติดกับกลีบล่าง รังไข่เกลี้ยง มีผลแบบผลแห้งแตก ภายในมีเมล็ดสีน้ำตาลเกือบดำ

พืชวงศ์ขิง (ZINGIBERACEAE) เป็นพืชล้มลุก มีเหง้าใต้ดิน เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีนวลมีกลิ่นหอมเฉพาะ ในประเทศไทยมีประมาณ 200 ชนิด ส่วนมากนิยมใช้เป็นเครื่องเทศและสมุนไพร เช่น ไพล กระทือ บางชนิดมีความสำคัญในฐานะเป็นไม้ดอกไม้ประดับ เช่น ไพลเหลือง และยังมีอีกหลายชนิดที่หายากและยังรอการพิสูจน์ชื่อวิทยาศาสตร์

ไอยริศ เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ขิง (FAMILY ZINGIBERACEAE) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber sirindhorniae* สำรวจพบบนยอดเขาหินปูนในเขตอำเภอหนองหินและอำเภอผาขาว จังหวัดเลย จัดเป็นพืชหายาก (rare) และเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic) ของประเทศไทย ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นไม้ล้มลุกหลายฤดู ลำต้นเป็นเหง้ากลม รากสะสมอาหารทรงกระบอก1 – 3 ราก เนื้อในสีเหลืองมีกลิ่นเช่นเดียวกับขิง มีลำต้นส่วนเหนือดินแตกกอ 3 – 6 ยอด แต่ละยอดยาว 40 – 70 ซม. ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับระนาบเดียว 5 – 12 ใบ แผ่นใบรูปขอบขนาน กว้าง 3.5 – 4.5 ซม. ยาว 8 – 14 ซม. ปลายแหลม โคนสอบรูปลิ่ม ผิวใบเกลี้ยงทั้งสองด้าน ลิ้นใบสีแดง ยาว 7 – 8 มม. แยกเป็น 2 แฉกอิสระ ก้านใบยาว 3 – 6 มม. ช่อดอกเป็นช่อเชิงลดเกิดที่ปลายลำต้นส่วนเหนือดิน กว้างประมาณ 1 ซม. ยาว 5.5 – 7.5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1 – 2 ซม.

ใบประดับสีเขียว มีขอบสีม่วงแดง ใบประดับย่อยขนาดเล็ก กลีบเลี้ยง 3 กลีบ โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกด้านเดียว ขอบเป็นหยัก 3 แฉก กลีบดอกสีขาว โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 3 แฉก เกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน 5 อันสีม่วงเข้มมีลายประสีขาวเปลี่ยนรูปร่างไปมีลักษณะคล้ายกลีบดอก 2 อัน เชื่อมติดกันเป็นกลีบปาก รูปคล้ายไข่กลับ กว้างและยาวประมาณ 2 ซม. อับเรณูมี 2 พู ยาวประมาณ 1 ซม. ผลแบบผลแห้งแตก เมล็ดสีดำรูปกระสวย มีเยื้อหุ้มเมล็ดสีขาว (ประภาส, 2553)

การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชโดยใช้พื้นที่น้อยในการอนุรักษ์ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและปลอดจากภัยธรรมชาติ (อรดี, 2539) 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)

การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อโดยการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth) เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชให้ปลอดภัยจากธรรมชาติ เพื่อลดความเสี่ยงในการสูญหายของเชื้อพันธุกรรมพืช (genetic loss) ในขณะเดียวกันเป็นการสนับสนุนการวางแผนการอนุรักษ์ทรัพยากรพืชและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับชนิดพันธุ์พืชเฉพาะถิ่นหายากและใกล้สูญพันธุ์ รวมทั้งการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชเหล่านี้ในสภาพปลอดเชื้อโดยการชะลอการเจริญเติบโต (slow growth) เพื่อให้สายพันธุ์นั้นคงอยู่และสามารถนำกลับมาใช้เมื่อต้องการ เช่น การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มคุณค่าของพันธุ์ไม้ในเชิงเศรษฐกิจ ในขณะเดียวกันเป็นการสนับสนุนการวางแผนการอนุรักษ์ทรัพยากรพืชและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน และเป็นการรองรับการให้สัตยาบัญของอนุสัญญาว่าด้วยความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทยด้วย

การทดลองนี้เป็นการศึกษาเทคนิคที่ใช้ในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมชมพูสิรินและไอยริศในสภาพปลอดเชื้อเพื่อลดความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ และเป็นการเพิ่มจำนวนประชากรพืชทั้งสองชนิดนี้ให้มีปริมาณมากก่อนที่จะดำเนินการคืนพืชสู่ถิ่นธรรมชาติต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต่างๆ ของต้นชมพูสิริน
2. ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต่างๆ ของต้นไอยริศ
3. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืช และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช
4. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS)

5. อุปกรณ์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวม ตัวอย่างต้นชมพูสิริน จากแหล่งธรรมชาติ ที่บริเวณเขาหินปูน อ.คีรีรัฐนิคม จ.สุราษฎร์ธานี และสำรวจ รวบรวม ตัวอย่างต้นไอยริศ จากแหล่งธรรมชาติ ที่บริเวณยอดเขาหินปูนในเขต อ.ผาขาว จ.เลย บันทึกลักษณะและแหล่งที่พบ

2. ศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับชิ้นส่วนต้นชมพูสิริน และไอยริศ

- ชมพูสิริน ทำความสะอาดชิ้นส่วนของต้นชมพูสิรินด้วยน้ำสบู่ แล้วล้างน้ำสบู่ออกให้หมด แช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาที ตัดชิ้นส่วนข้อก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย $HgCl_2$ 0.1 และ 0.2% หยดสาร Tween 20 1-2 หยด ฟอกนาน 3 และ 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนข้อให้มีขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ศึกษา

- ไอยริศ ทำความสะอาดชิ้นส่วนของต้นไอยริศด้วยน้ำสบู่ แล้วล้างน้ำสบู่ออกให้หมด แช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 2 นาที ตัดชิ้นส่วนหน่ออ่อนก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย $HgCl_2$ 0.1 และ 0.2% หยดสาร Tween 20 1-2 หยด ฟอกนาน 5 และ 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ลอกชิ้นส่วนรอบนอกของหน่ออ่อนออก และตัดให้มีขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนที่เตรียมไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ทดลอง

3. ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตรต่างๆ สำหรับการเพาะเลี้ยงชมพูสิริน และไอยริศ

- ชมพูสิริน นำชิ้นส่วนข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาเลี้ยงทดสอบบนอาหารสูตรต่างๆ ดังนี้

1. MS + BA 0 มก./ล. + NAA 0 มก./ล.
2. MS + BA 0 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.
3. MS + BA 0 มก./ล. + NAA 1 มก./ล.
4. MS + BA 1 มก./ล. + NAA 0 มก./ล.
5. MS + BA 1 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.
6. MS + BA 1 มก./ล. + NAA 1 มก./ล.
7. MS + BA 3 มก./ล. + NAA 0 มก./ล.
8. MS + BA 3 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.
9. MS + BA 3 มก./ล. + NAA 1 มก./ล.

- ไอยริศ นำชิ้นส่วนหน่ออ่อนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เลี้ยงทดสอบบนอาหารต่างๆ ดังนี้

1. MS + BA 0 มก./ล. + IAA 0 มก./ล.
2. MS + BA 0 มก./ล. + IAA 1 มก./ล.
3. MS + BA 0 มก./ล. + IAA 2 มก./ล.

4. MS + BA 1 มก./ล. + IAA 0 มก./ล.

5. MS + BA 1 มก./ล. + IAA 0 มก./ล.

6. MS + BA 1 มก./ล. + IAA 0 มก./ล.

7. MS + BA 3 มก./ล. + IAA 0 มก./ล.

8. MS + BA 3 มก./ล. + IAA 1 มก./ล.

9. MS + BA 3 มก./ล. + IAA 2 มก./ล.

10. MS + BA 5 มก./ล. + IAA 0 มก./ล.

11. MS + BA 5 มก./ล. + IAA 1 มก./ล.

12. MS + BA 5 มก./ล. + IAA 2 มก./ล.

- การทดลองเพาะเลี้ยงข้อชมพูสิริน วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ ใ ช้ สิ่งทดลองคืออาหารทั้ง 9 สูตรข้างต้น โดยปัจจัยที่ 1 คือระดับความเข้มข้นของ BA 3 ระดับได้แก่ 0, 1 และ 3 มก./ล. ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของ NAA 3 ระดับได้แก่ 0, 0.5 และ 1 มก./ล. เก็บข้อมูลโดยนับจำนวนยอดและตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

- สำหรับการทดลองเพาะเลี้ยงหน่ออ่อนไอยริศนั้น วางแผนการทดลองแบบ 4x3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ สิ่งทดลองคืออาหารทั้ง 12 สูตรข้างต้น โดยปัจจัยที่ 1 คือระดับความเข้มข้นของ BA 4 ระดับได้แก่ 0, 1, 3 และ 5 มก./ล. ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของ IAA 3 ระดับได้แก่ 0, 1 และ 2 มก./ล. เก็บข้อมูลโดยนับจำนวนยอด ความสูง และตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของไอยริศในสภาพปลอดเชื้อ

นำหน่ออ่อนไอยริศที่ได้จากการเพิ่มปริมาณมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตจนได้ต้นที่เจริญสมบูรณ์ ตัดให้มีขนาดประมาณ 2 เซนติเมตร และนำชิ้นส่วนที่เตรียมไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่จะทดสอบ

1. MS + sucrose 0 ก./ล.

2. MS + sucrose 15 ก./ล.

3. MS + sucrose 30 ก./ล.

4. MS + sucrose 45 ก./ล.

5. 1/2 MS + sucrose 0 ก./ล.

6. 1/2 MS + sucrose 15 ก./ล.

7. 1/2 MS + sucrose 30 ก./ล.

8. 1/2 MS + sucrose 45 ก./ล.

9. 1/4 MS + sucrose 0 ก./ล.

10. 1/4 MS + sucrose 15 ก./ล.

11. 1/4 MS + sucrose 30 ก./ล.

12. 1/4 MS + sucrose 45 ก./ล.

13. 1/8 MS + sucrose 0 ก./ล.

14. 1/8 MS + sucrose 15 ก./ล.

15. 1/8 MS + sucrose 30 ก./ล.

16. 1/8 MS + sucrose 45 ก./ล.

- แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ 4x4 Factorial in CRD จำนวน 7 ซ้ำ ใช้สิ่งทดลองคืออาหารทั้ง 16 สูตรข้างต้น โดยปัจจัยที่ 1 คือระดับความเข้มข้นของอาหาร MS 4 ระดับ ได้แก่ MS, 1/2 MS, 1/4 MS และ 1/8 MS ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของ sucrose 4 ระดับได้แก่ 0, 15, 30 และ 45 ก./ล. เก็บข้อมูลร้อยละของการรอดชีวิตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารชะลอการเจริญเติบโตสูตรต่างๆ

เวลาและสถานที่

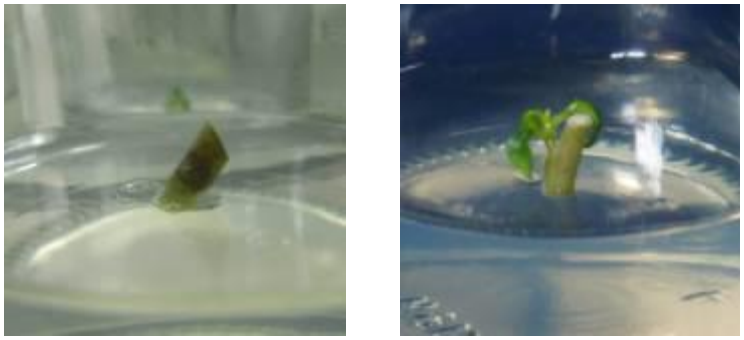
เริ่มการทดลองปี 2553 ถึง 2556 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

1. ศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับชิ้นส่วนต้นชมพูสิริน และไอยริศ

เมื่อได้ตัวอย่างพืชจากแหล่งธรรมชาติทั้ง 2 ชนิด (ภาพที่ 1) ต้นชมพูสิรินและไอยริศมีปริมาณในแหล่งธรรมชาติจำกัด ดังนั้นจึงได้ตัวอย่างชิ้นส่วนพืชมาศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อปริมาณไม่มาก จึงใช้ $HgCl_2$ สำหรับฟอกฆ่าเชื้อพืชทั้ง 2 ชนิด จากการศึกษาพบว่าชมพูสิรินต้องใช้ชิ้นส่วนข้อในการฟอกฆ่าเชื้อ เมื่อใช้ $HgCl_2$ 0.2 % นาน 3 และ 5 นาที พบว่าใช้เวลาในการฟอก 5 นาที (ภาพที่ 2) ได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อแต่ไม่สามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ หากลดเวลาในการฟอกเหลือ 3 นาทีจะได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ และสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 15 % ในขณะที่ใช้ $HgCl_2$ 0.1 % นาน 3 และ 5 นาทีได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ และสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 33 และ 60 % ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกันกับการทดลองของ Nikolova และคณะ (1996) ที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ *Impatiens flanaganae* ด้วย $HgCl_2$ 0.1 % นาน 5 นาที พบว่าได้ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 52 %

ภาพที่ 1 ลักษณะดอกและต้นของชมพูสิริน (a, b) และไอยริศ (c, d) ในแหล่งธรรมชาติ



ภาพที่ 2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อชมพูสิรินด้วย $HgCl_2$ 0.1 % นาน 5 นาที

การฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนไอยริศด้วย $HgCl_2$ 0.1 % นาน 5 และ 10 นาที ได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 17 และ 32 % ตามลำดับ 83.33 % เมื่อเพิ่มความเข้มข้น $HgCl_2$ เป็น 0.2 % นาน 5 และ 10 นาที ได้ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อและสามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ 56.4 และ 83.33 % ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าหน่ออ่อนไอยริศควรฟอกด้วย $HgCl_2$ 0.2 % นาน 10 นาที (ภาพที่ 3) ได้ผลการฟอกดีที่สุดอาจเป็นเพราะชิ้นส่วนที่ได้จากแหล่งธรรมชาติอยู่ใต้ดินค่อนข้างลึก และอยู่ในบริเวณที่เป็นป่าบนภูเขาหินปูนจึงชิ้นส่วนไอยริศที่ได้จึงค่อนข้างมีการปนเปื้อนสูง ในขณะที่การทดลองของ Kavyashree (2009) ฟอกฆ่าเชื้อ *Zingiber officinale* ที่พบบริเวณทั่วไปมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย $HgCl_2$ 0.1 % นาน 5 นาที ได้ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อและสามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ 75 %

ภาพที่ 3 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่ออ่อนไอยริศด้วย $HgCl_2$ 0.2 % นาน 10 นาที

2. ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตรต่างๆ สำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนชมพูสิริน และไอยริศ

จากการทดลอง (ตารางที่ 1) พบว่าการเกิดยอดของชมพูสิรินเกิดจากอิทธิพลผลสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน โดยที่ออกซินและปฏิสัมพันธ์ระหว่างออกซินกับไซโตไคนินนั้นไม่มีผลต่อการเกิดยอด ซึ่งเมื่อให้ปริมาณไซโตไคนินเพิ่มขึ้น จึงมีแนวโน้มในการชักนำการเกิดยอดเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการรายงานของ Veluchmay และคณะ (2009) ทำการชักนำให้เกิดยอดของ *Impatiens campanklata* เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 60 % BA ที่ระดับความเข้มข้น 3 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 85 % ในขณะที่เพิ่มปริมาณ BA เป็น 4-8 มก./ล. จะทำให้การชักนำให้เกิดยอดลดลง เช่นเดียวกับผลการทดลองเพาะเลี้ยง *Impatiens balsamina* บนอาหารเพื่อชักนำให้เกิดยอดสูตรต่างๆ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดได้ 6.8 ยอด ชิ้นส่วนและอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 7.2 ยอด (Taha *et al*., 2009)

ตารางที่ 1 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติม NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดยอดของต้นชมพูสิริน เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 5 เดือน

สูตรอาหาร	NAA			
BA	0 มก./ล.	0.5 มก./ล.	1 มก./ล.	mean
0 มก./ล.	1.2 b	0.9 c	0.9 c	1.0 c
1 มก./ล.	3.2 a	3.5 b	3.2 b	3.3 b
3 มก./ล.	4.7 a	5.7 a	5.9 a	5.5 a
mean	3.1	3.4	3.4	3.3
CV (%)	11.43			

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกับในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ใช้ตัวอักษร a, b, c

ตารางที่ 2 ผลของของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติม IAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนยอดของต้นไอยริศ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน

สูตรอาหาร	IAA			
BA	0 มก./ล.	1 มก./ล.	2 มก./ล.	mean
0 มก./ล.	1.2 c x	1.2 d x	1.0 d x	1.2
1 มก./ล.	1.7 c y	3.0 c x	3.0 c x	2.6
3 มก./ล.	4.7 b x	5.5 b x	5.5 b x	5.2
5 มก./ล.	6.7 a y	7.7 a y	9.0 a x	7.8
mean	3.6	4.4	4.6	4.2
CV (%)	6.10			

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกับในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ใช้ตัวอักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มออกซิน (IAA) ใช้ตัวอักษร x, y, z

ตารางที่ 3 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติม IAA และ BA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อความสูงของต้นไอยริศ เมื่อเลี้ยงนาน 3 เดือน

สูตรอาหาร	IAA			
BA	0 มก./ล.	1 มก./ล.	2 มก./ล.	mean
0 มก./ล.	5.95 c y	7.392 c x	7.24 c x	6.86
1 มก./ล.	9.54 b y	10.72 b x	11.21 b x	10.48
3 มก./ล.	9.57 b y	11.22 b x	11.68 b x	10.82
5 มก./ล.	15.13 a y	14.26 a y	16.60 a x	15.33
mean	10.05	10.90	11.68	10.88
CV (%)	5.8			

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกับในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ใช้ตัวอักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มออกซิน (IAA) ใช้ตัวอักษร x, y, z

MS

MS + BA 1 มก./ล.

MS + BA 3 มก./ล.

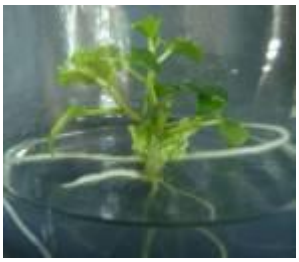
MS + NAA 0.5 มก./ล.

MS + NAA 0.5 มก./ล.
+ BA 1 มก./ล.

MS + NAA 0.5 มก./ล.
+ BA 3 มก./ล.

MS + NAA 1 มก./ล

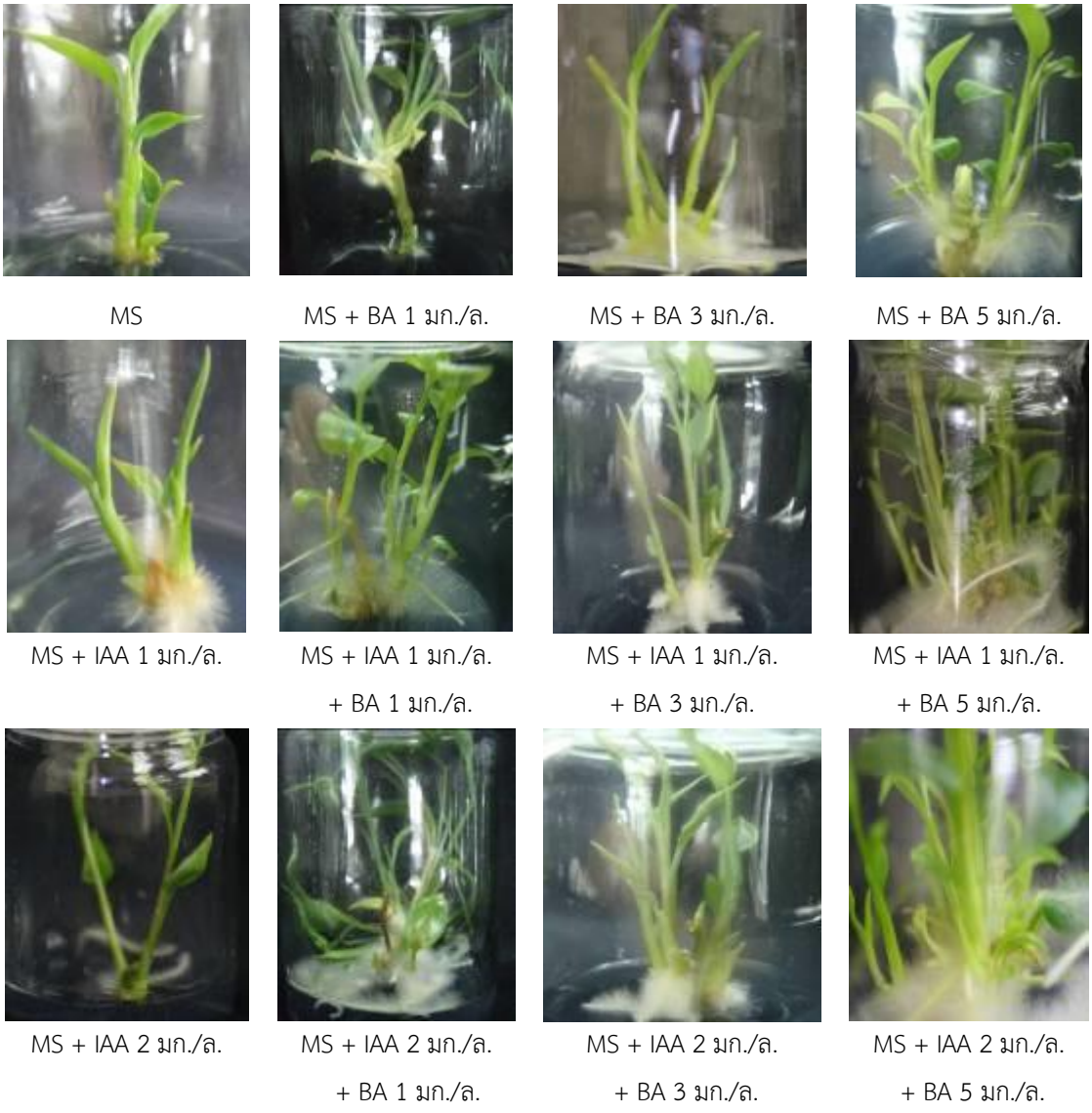
MS + NAA 1 มก./ล.
+ BA 1 มก./ล.



MS + NAA 1 มก./ล.
+ BA 3 มก./ล.

ภาพที่ 4 ลักษณะของต้นชมพูสิรินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA และ BA เป็นเวลา 5 เดือน

จากการทดลอง (ตารางที่ 2 และ 3) พบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA และ BA ต่างมีผลต่อความสูงของต้นไอยริศ โดยเมื่อเติมไซโตไคนินยิ่งสูงมีผลให้ต้นไอยริศมีความสูงยิ่งขึ้น เช่นเดียวกับผลของการเติมสารออกซินยิ่งความเข้มข้นสูงยิ่งส่งผลให้ต้นไอยริศยิ่งสูง แสดงว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดมีปฏิสัมพันธ์กัน จากการทดลองของ Hamirah และคณะ (2010) เพาะเลี้ยง red ginger พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการชักนำให้เกิดยอดคือ MS ร่วมกับการเติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ IAA 2 มก./ล. โดยให้ยอดจำนวนเฉลี่ย 8.14 ยอด และจากการรายงานของ Anish และคณะ (2008) ได้ทำการเพาะเลี้ยง *Boesenbergia pulcherrima* บนอาหาร MS ที่เติมออกซิน (IAA) ร่วมกับไซโตไคนิน (BA) ที่มีความเข้มข้นยิ่งสูง จะพบการเพิ่มจำนวนยอดยิ่งมีเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเมื่อถึงจุดสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 สาร เช่นเดียวกับการทดลองพืชชนิดอื่นๆ ในวงศ์ Zingiberaceae เช่น *Curcuma aromativa* (Nayak, 2000) และ *Nlpinia calcarata* (Agretious *et al*., 1996)



ภาพที่ 5 ลักษณะของต้นไอยริศที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ IAA และ BA เป็นเวลา 3 เดือน

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของไอยริศในสภาพปลอดเชื้อ

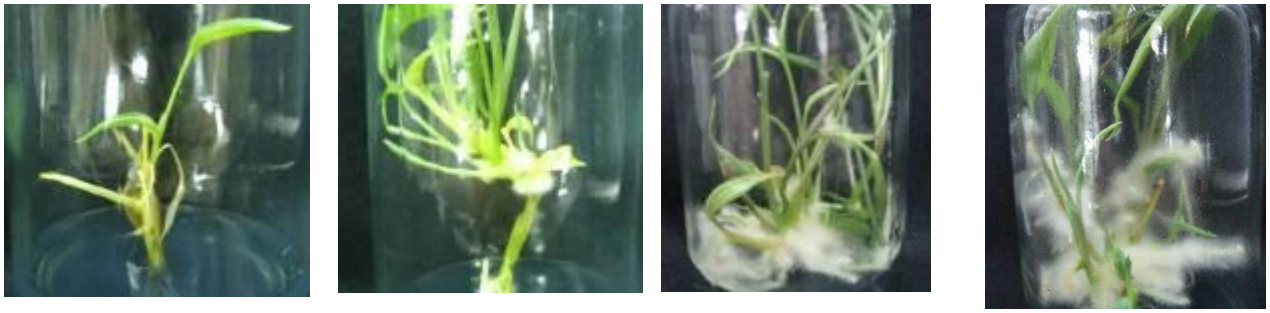
เริ่ม culture โดยใช้ชิ้นส่วนหน่ออ่อนที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาด 3 ซม. และเพาะเลี้ยงบนอาหารชะลอการเติบโตสูตรต่างๆ ทั้ง 16 สูตร โดยปักลงไปบนอาหารประมาณ 4 มม. ทำการทดลองจำนวน 7 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด

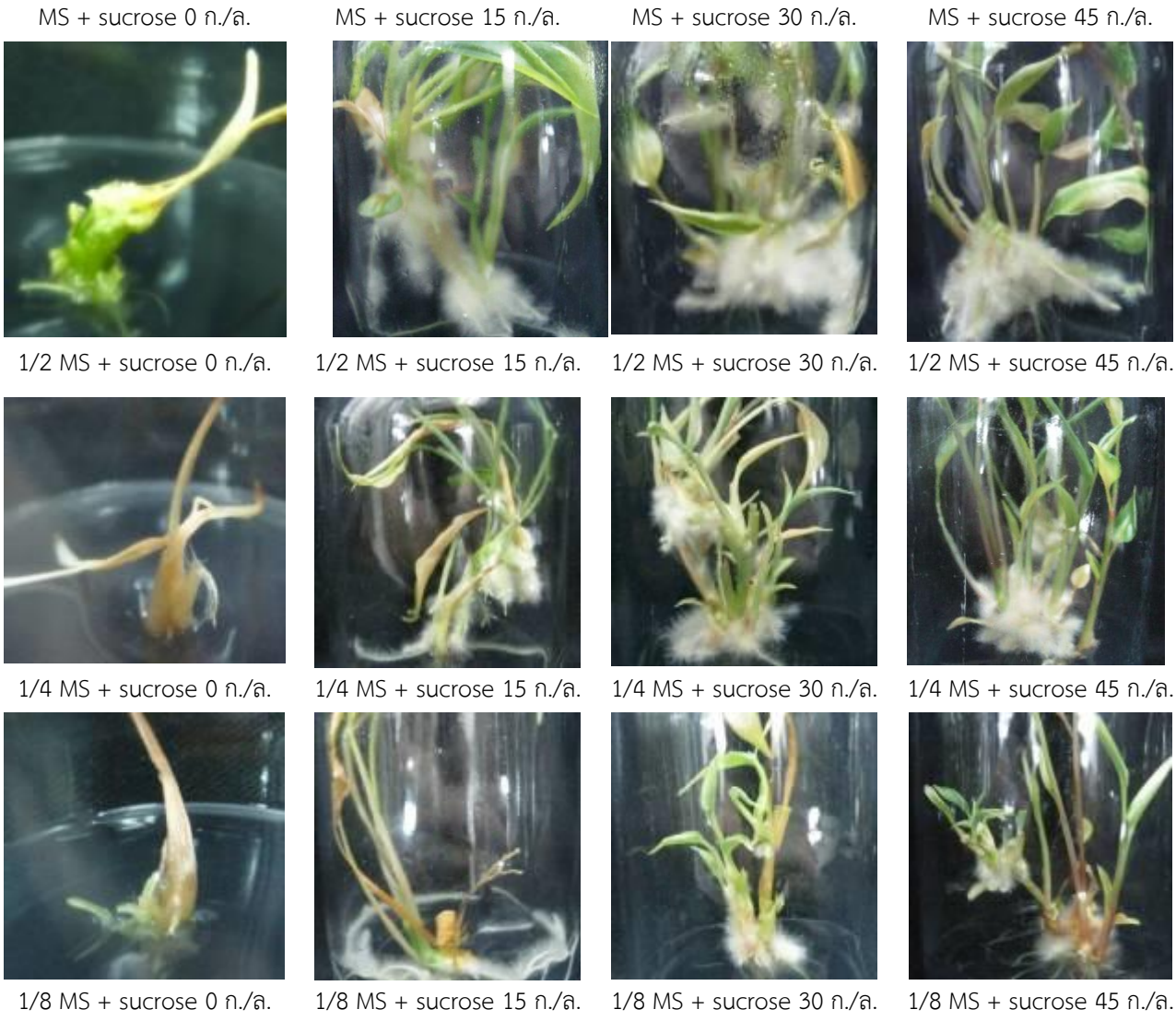
จากการทดลอง (ภาพที่ 6) พบว่าน้ำตาลซูโครส มีผลต่อการเจริญเติบโตของยอดไอยริศอย่างชัดเจน โดยเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ใส่น้ำตาลซูโครส 0 ก./ล. ไม่พบการแตกยอดของไอยริศและมีร้อยละการรอดชีวิตค่อนข้างต่ำ ส่วนการลดปริมาณ MS ทำให้ยืดระยะเวลาการ subculture ส่งผลต่อร้อยละการรอดชีวิตบน

อาหารชะลอการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อนาน 12 เดือน อาหารสูตร MS ที่เหมาะสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของไอยริศคืออาหาร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 45 ก./ล. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สนธิชัย (2548) เนื่องจากการเติมซูโครสจะทำให้ไอยริศมีการดึงสารอาหารที่นำไปเลี้ยงต้นได้น้อยเพราะอาหารเพาะเลี้ยงมี osmotic potential สูงจึงมีการเจริญเติบโตที่ช้าลงและสามารถอยู่รอดได้ 1 ปี เมื่อลดปริมาณสารอาหารลงก็มีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโต โดยปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมคือ 15 ก./ล. เมื่อลดปริมาณอาหารลงเป็น 1/2 MS, 1/4 MS และ 1/8 MS หากเติมน้ำตาลซูโครสที่มากขึ้นจะทำให้การดึงสารอาหารได้น้อยลงกว่าเดิม เช่นเดียวกับการชะลอการเจริญเติบโตของขิงคือ 1/2 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. ได้นาน 12 เดือน (Nirmal Babu *et al*., 2000; Peter *et al*., 2002)

การนำชมพูสิรินและไอยริศออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปลูกในสภาพโรงเรือน โดยใช้ พีชมอส : ดินผสม : เพอร์ไลท์ : หินภูเขาไฟ อัตราส่วน 3 : 2 : 1 : 1 มีอัตราการรอดชีวิต 50 และ 100 % ตามลำดับ (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 6 แสดงต้นชมพูสิริน (a, b) และไอยริศ (c, d) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ





ภาพที่ 7 ลักษณะของต้นไอยริศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารลดปริมาณ MS ร่วมกับปรับปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็นเวลา 12 เดือน

ตารางที่ 4 ร้อยละการรอดชีวิตของต้นไอยริศบนอาหารลดปริมาณ MS ร่วมกับปรับปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็นเวลา 12 เดือน

สูตรอาหาร		ร้อยละการรอดชีวิตบนอาหารชะลอการเจริญเติบโต
MS	Sucrose 0 ก./ล.	14.29
	Sucrose 15 ก./ล.	14.29
	Sucrose 30 ก./ล.	14.29

	Sucrose 45 ก./ล.	28.57
1/2 MS	Sucrose 0 ก./ล.	0
	Sucrose 15 ก./ล.	28.57
	Sucrose 30 ก./ล.	14.83
	Sucrose 45 ก./ล.	14.83
1/4 MS	Sucrose 0 ก./ล.	28.57
	Sucrose 15 ก./ล.	85.71
	Sucrose 30 ก./ล.	42.86
	Sucrose 45 ก./ล.	42.86
1/8 MS	Sucrose 0 ก./ล.	14.29
	Sucrose 15 ก./ล.	85.71
	Sucrose 30 ก./ล.	42.86
	Sucrose 45 ก./ล.	72.86

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการทดลองฟอกฆ่าเชื้อชมพูสิรินได้เทคนิคที่เหมาะสม คือ ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อด้วย $HgCl_2$ ความเข้มข้น 0.1 % นาน 5 นาที และจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้อชมพูสิริน เพื่อเพิ่มปริมาณต้นในสภาพปลอดเชื้อพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก/ล. สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อไอยริศได้เทคนิคที่เหมาะสมคือ ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่ออ่อนด้วย $HgCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 % นาน 10 นาที สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดคือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ IAA 2 มก/ล. และสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของไอยริศในสภาพปลอดเชื้อคือ 1/4 MS และ 1/8 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. สามารถเพาะเลี้ยงได้นานอย่างน้อย 12 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

ชื่อการทดลองที่ 8 : ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชสกุลชาฤษีในสภาพปลอดเชื้อ : ชาฤษีพระราม (*Trisepalum bhumibolianum*) และ *Trisepalum sangwaniae*

Study on *In Vitro* Conservation Technique of *Trisepalum* spp.:*T. bhumibolianum* and *T. Bhumibolianum*

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวพัชร ปิริยะวินิตร[1]

ผู้ร่วมงาน : นางสาวพัฒน์นรี รักษ์คิด[1]

ดร. ปราโมทย์ ไตรบุญ[2]

นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด[1]

นางสาวปัณฑารีย์ กาญจนวัฒนาวงศ์[1]

บทคัดย่อ

ภูมิพลินทร์ และนครินทรา เป็นพืชหายากถิ่นเดียวของไทย วงศ์ Gesneriaceae จำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ โดยนำตัวอย่างต้นภูมิพลินทร์และนครินทราจากแหล่งธรรมชาติมาศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อฝักภูมิพลินทร์และนครินทรา 3 วิธี คือจุ่มฝักในแอลกอออล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ, ผ่าฝักใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และผ่าฝักใส่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 5% พบว่าวิธีจุ่มฝักในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อบิดฝักให้แตกแคะเมล็ดเลี้ยงบนอาหารเป็นวิธีที่เหมาะสม ทำให้ได้เนื้อเยื่อที่ปลอดการปนเปื้อนของเชื้อ 55.55% และ 75 % ตามลำดับ การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณ โดยนำต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสาร 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก (2,4-D) ร่วมกับสารเบนซิลอะดีนิน (BA) ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 1 mg/l พบว่าต้นภูมิพลินทร์ที่เลี้ยงบนอาหารเติมสาร 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 12.1 ยอด ส่วนต้นนครินทราการเติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 9.8 ยอด และสามารถเพิ่มขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อได้ดีกว่าการใช้สาร BA ร่วมด้วยซึ่งจะทำให้เกิดเป็นพุ่มยอดขนาดเล็กไม่สมบูรณ์ เมื่อเลี้ยงต้นนครินทราบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการเติมสารอินโด-3-บิวทิวริกแอซิต (IBA) ความเข้มข้น 0, 0.1 0.5 และ 1 mg/l พบว่าต้นที่เลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 mg/l เกิดยอดสมบูรณ์ 15.8 ยอด สำหรับการเลี้ยงยอดที่สมบูรณ์บนอาหารสูตร *Woody Plant* (WP) จะชักนำให้เกิดรากได้เฉลี่ย 8.87 ราก ยาว 3.98 cm การศึกษาสูตรอาหารสำหรับการชะลอการเจริญเติบโต โดยใช้สูตรอาหารลดปริมาณ MS ได้แก่ MS, 1/2 MS, 1/4 MS และ 1/8 MS พบว่าต้นภูมิพลินทร์และนครินทราใช้สูตรอาหาร 1/2 MS
เพาะเลี้ยงได้นานกว่าสูตรอื่นๆ และเมื่อปรับปริมาณน้ำตาลซูโครซ (sucrose) ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล (mannitol) ความเข้มข้น 0, 10 20 และ 30 g/l พบว่านครินทราที่เลี้ยงบนอาหารลดปริมาณซูโครสจะทำให้มีร้อยละการรอดชีวิตสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 1 ปี แต่เมื่อใช้ซูโครซร่วมกับแมนนิทอลทำให้ต้นพืชมีอาการฉ่ำน้ำมากขึ้น

[1]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

Abstract

Trisepalum bhumiboliana and T. sangwaniae are endemic species which are categorized in family of Gesneriaceae. They can be only found in Thailand especially in the area of Tak and Chiangrai province, respectively. Hence, the study on germplasm multiplication by using *in vitro* propagation technique is extremely necessary. This study showed that appropriate sterilization for this species can be done by immersing mature seed capsules in 95 % ethanol then followed by burning the outer surface of capsules. This sterilization method resulted in 55.55% and 75% non contamination, respectively. Shoot multiplication was also conducted in this study. The microplants from culture of sterilized seeds were transferred to MS medium supplemented with 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and Benzyladenine (BA). The result showed 0.1 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l BA caused average vigorous shoot at 12.1 in *T. bhumiboliana*. The result of *T. sangwaniae* showed that adding only 1 mg/l 2,4-D to the medium enhanced vigorous shoot induction more than adding of both 2,4-D and BA. In addition, *T. sangwaniae* was transferred to MS media supplemented with Indole-3-butyric acid (IBA). Shoot regeneration and multiplication was maximum on MS medium with 0.5 mg/l IBA. Root induction was also done. The result showed that WP medium caused average root at 8.87 and average root length at 3.98 cm. This medium formula induced root amount better than MS medium did. 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, 1/2 MS, 1/4 MS and 1/8 MS. The plants could survive on 1/2 MS until 1 year and were still vigorous.

บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศหนึ่งที่ยังมีความสมบูรณ์ของทรัพยากรธรรมชาติและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง มีพันธุ์พืชอยู่เป็นจำนวนมากกว่า 10,000 ชนิด (ราชันย์, 2547) จากการสำรวจ รวบรวม และ

ศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธานพรรณไม้ในประเทศไทยของนักวิชาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร พบพันธุ์พืชสกุลชาฤๅษี (*Trisepalum* spp.) ชนิดใหม่ของโลก 2 ชนิด สำรวจได้ในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2552 และได้ขอพระราชทานพระบรมราชานุญาตอัญเชิญพระปรมาภิไธยพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวและพระนามาภิไธยสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี เป็นชื่อวิทยาศาสตร์ เพื่อเทิดพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ที่ทรงมีพระราชกรณียกิจเกี่ยวข้องด้านการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา และเพื่อเทิดพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี ที่ทรงมีพระราชกรณียกิจเกี่ยวข้องด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โครงการพัฒนาดอยตุง โดยเมื่อวันที่ 5 มีนาคม 2554 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ พระราชทานชื่อพืชสกุลชาฤๅษีทั้ง 2 ชนิด ว่า **ภูมิพลินทร์** (*Trisepalum bhumibolianum*) แปลว่า พรรณไม้ที่เป็นศรีสง่า แด่พระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช และ**นครินทรา** (*Trisepalum sangwaniae*) แปลว่า พรรณไม้ที่เป็นศรีสง่าแด่สมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี (กองบรรณาธิการ, 2554) พืชสกุลชาฤๅษี (*Trisepalum* spp.) จัดอยู่ในวงศ์ Gesneriaceae ซึ่งทั่วโลกพบกว่า 3,000 ชนิด (Wentsai *et al.*, 1998) เป็นสกุล *Trisepalum* ประมาณ 25 ชนิด และมีรายงานพบในประเทศไทยประมาณ 20 ชนิด

ปัจจุบันได้มีการตรวจสอบทางอณูชีวโมเลกุลโดยใช้ข้อมูลของนิวเคลียสและคลอโรพลาสเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างพืชในสกุล *Paraboea, Trisepalum* และ *Phylloboea* ซึ่งเป็นพืชวงศ์ Gesneriaceae สำหรับจัดจำแนกในงานด้านอนุกรรมวิธาน พบว่าทั้ง 3 สกุลมีแหล่งกำเนิดจากบรรพบุรุษเดียวกัน จึงได้เพิ่มเติมให้พืชสกุล *Phylloboea* และ *Trisepalum* เป็นชื่อพ้องกับสกุล *Paraboea* (Puglisi *et al*., 2011) จากการศึกษาทบทวนโดย ดร.ปราโมทย์ ไตรบุญ ได้จัดรวม *Trisepalum* เข้ากับ *Paraboea* ดังนั้นจึงได้เปลี่ยนชื่อ *T. bhumibolianum* และ *T. sangwaniae* เป็น *Paraboea bhumiboliana* และ *P. sangwaniae* โดย *Paraboea* เป็นสกุลใหญ่สกุลหนึ่งใน Gesneraiaceae ได้มีการบันทึกไว้ 89 ชนิด 5 สายพันธุ์ (Triboun and Middleton, 2012)

ภูมิพลินทร์ (*Paraboea bhumiboliana* Triboun & Chuchan, species nova) เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กเกาะบนหิน สูง 20-60 เซนติเมตร แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มจำนวนมาก ลำต้นส่วนล่างมีเนื้อไม้แข็ง เปลือกไม้แตกเป็นร่องตามแนวยาวสีน้ำตาลอมเทา ยอดที่เกิดใหม่ยาว 10-15 เซนติเมตร กิ่งมีขนาดเล็กเรียวใบเป็นใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก แผ่นใบรีเป็นรูปไข่ กว้าง 1.5-2.5 เซนติเมตร ยาว 2.5-6 เซนติเมตร ปลายมนโคนรูปลิ่น ขอบหยักตื้น ใต้ใบปกคลุมด้วยขนแบบใยแมงมุม สีขาว ก้านใบยาว 3-7 มิลลิเมตร ช่อดอกเป็นช่อกระจุกสั้น เกิดที่ยอด หรือซอกใบใกล้ปลายกิ่ง ใบประดับและใบประดับย่อยรองรับดอก กลีบ เลี้ยงสีเขียว 5 กลีบ ฐานเชื่อมติดกันปลายแยกเป็น 5 แฉก 3 แฉกบนติดกับ 2 แฉกล่างแยกกันเป็นอิสระ กลีบดอกรูประฆัง สีชมพูหรือม่วงอ่อน โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 แฉก ที่โคน 3 แฉกล่างมีแต้มกลมสีเหลือง เกสรเพศผู้ 2 อันติดอยู่ภายในหลอดกลีบดอก เกสรเพศผู้เป็นหมัน 3 อัน ลดรูปจนมีขนาดเล็ก รังไข่ปกคลุมด้วยขนสั้นหนาแน่น ยอดเกสรเพศเมียเป็นแถบรูปลิ้น ผลแบบผลแห้งแตก เมื่อแก่บิดเป็นเกลียว ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก ช่วงการออกดอกและติดฝักระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม การนำเสนอของ IUCN ได้

ประเมินเชื้อพันธุ์พืชชนิดนี้ว่าเป็นพืชที่น่ากังวลน้อยเพราะพืชชนิดนี้พบเฉพาะถิ่นในบริเวณพื้นที่ที่มีการควบคุมทางกฎหมายแต่มีประชากรกลุ่มย่อยน้อย (Triboun and Middleton, 2012)

นครินทรา (*P. sangwaniae* Triboun, species nova) เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กเกาะบนหิน สูง 20-60 เซนติเมตร แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มจำนวนมาก ตั้งตรงหรือเอนไปตามพื้นหิน ลำต้นส่วนล่างมีเนื้อไม้แข็ง มีนวมหุ้ม 10-15 เซนติเมตร กิ่งมีขนาดเล็กเรียว ใบเป็นใบเดี่ยว 4-5 คู่ เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก แผ่นใบรีเป็นรูปไข่ กว้าง 6-7.5 เซนติเมตร ยาว 3.5-4.5 เซนติเมตร ปลายมน โคนรูปลิ่น ขอบหยักมน ก้านใบยาว 1.5-1.8 เซนติเมตร เป็นครีมสอบเรียวเชื่อมต่อมาจากโคนแผ่นใบ ช่อดอกเป็นช่อกระจุก ยาวประมาณ 4 เซนติเมตร เกิดที่ยอดหรือซอกใบใกล้ปลายกิ่ง ก้านช่อดอกยาว 4-8 เซนติเมตร ใบประดับและใบประดับย่อยรองรับดอกรูปร่างมนกลม กลีบเลี้ยงสีเขียว 5 กลีบ ฐานเชื่อมติดกันปลายแยกเป็น 5 แฉก 3 แฉกบนติดกับ 2 แฉกล่างแยกกันเป็นอิสระ กลีบดอกรูประฆัง โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอดด้านนอกสีขาวอมม่วงอ่อน ด้านในสีขาวที่โคนหลอดสีเขียว ปลายแยกเป็น 5 แฉก สีม่วง รูปไข่กว้าง 1-1.2 เซนติเมตร ยาว 0.6-0.7 เซนติเมตร ปลายมนกลม เกสรเพศผู้ 2 อันติดอยู่ภายในหลอดกลีบดอก อับเรณูรูปคล้ายสามเหลี่ยมของแต่ละอันมาเชื่อมกันตามรอยตะเข็บ เกสรเพศผู้เป็นหมัน 2 อัน ลดรูปจนมีขนาดเล็ก รังไข่ยาวประมาณ 4 มิลลิเมตรยอดเกสรเพศเมียเป็นแถบรูปลิ้น ผลแบบผลแห้งแตก เมื่อแก่บิดเป็นเกลียว ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก ช่วงการออกดอกและติดฝักระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม การนำเสนอของ IUCN ได้ประเมินเชื้อพันธุ์พืชชนิดนี้ว่าเป็นพืชที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เพราะพืชชนิดนี้พบเฉพาะถิ่นแหล่งเดียวและต้องอาศัยปัจจัยแวดล้อมที่มีความเฉพาะสำหรับการเจริญเติบโต พื้นที่ดังกล่าวไม่มีการป้องกัน เสี่ยงต่อการบุกรุกพื้นที่จากการท่องเที่ยวในบริเวณที่พืชเจริญเติบโต ทำให้จำนวนประชากรมีความสมบูรณ์ลดลง (Triboun and Middleton, 2012)

พืชทั้ง 2 ชนิดอาจมีโอกาสที่จะนำมาพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพในด้านเศรษฐกิจ โดยการทำเป็นเครื่องดื่ม เช่นเดียวกับ *Trisepalum albidum* ที่มีรายงานของ A.F.G. Kerr เรียกพืชชนิดนี้ว่า leave use as tea ทำให้ทราบว่าพืชชนิดนี้เคยถูกนำมารับประทาน อาจจะมีคุณค่าเป็นสมุนไพรหรือต้องมีคุณค่าทางอาหาร โดยนำยอดอ่อนตากแห้งสามารถนำไปชงดื่มได้เช่นเดียวกับใบชา (ปราณี และ วิไลวรรณ, 2549) และมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากเป็นพืชเฉพาะถิ่นมีการกระจายในบริเวณจำกัดบริเวณยอดเขาหินปูน รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมอย่างกะทันหัน ตลอดจนการขาดจิตสำนึกและความเข้าใจในการรักษาทรัพยากรเหล่านี้อาจส่งผลต่อการสูญพันธุ์มากขึ้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการขยายพันธุ์และเร่งอนุรักษ์มิให้สูญหายไป เพื่อใช้เป็นแหล่งทรัพยากรทางชีวภาพและการพัฒนาเชื้อพันธุกรรมพืชต่อไป การอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อนั้นเกี่ยวข้องกับการลดกระบวนการเมตตาบอลิซึมของพืช ซึ่งยืดเวลาการต่ออายุเชื้อพันธุ์ (subculture) และไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อและความแข็งแรงของพืช การลดกระบวนการเมตตาบอลิซึมสามารถทำได้โดยการควบคุมสภาพแวดล้อม (อุณหภูมิ, ช่วงแสง) หรืออาหารที่เพาะเลี้ยง (สารอาหาร, สารควบคุมแรงดัน osmotic) (Montalvo-Peniche *et al*., 2007) ดังนั้นการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนับเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช เนื่องจากใช้พื้นที่น้อยในการขยายพันธุ์ และเหมาะกับพืชที่มีคุณลักษณะที่เฉพาะให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและปลอดจากภัยธรรมชาติ (Engelmann, 1997)

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์

1. ต้นภูมิพลินทร์ และต้นนครินทรา

2. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962), Woody Plant (WP; Lloyd and McCown, 1980) และใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4. สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ได้แก่ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) และ IBA (Indole-3-butyric acid) กลุ่มไซโตรไคนินได้แก่ BA (Benzyladenine)

5. สารเคมีที่ใช้ในการชะลอการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำตาลซูโครซ (sucrose) และน้ำตาลแมนนิทอล (mannitol)

- วิธีการ

1. สำรวจและรวบรวม ตัวอย่างภูมิพลินทร์และนครินทรา จากแหล่งธรรมชาติ

พบว่าต้นภูมิพลินทร์มีการเจริญเติบโตบนพื้นที่แก่งหินปูน จังหวัดตาก และ จังหวัดลำพูน ซึ่งมีช่วงฤดูการออกดอกและติดฝักระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม

พบว่าต้นนครินทรามีการเจริญเติบโตบนพื้นที่ยอดเขาหินปูน บริเวณดอยตุง อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ซึ่งมีช่วงฤดูการออกดอกและติดฝักระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม

2. ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อภูมิพลินทร์และนครินทรา โดยการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาฝักแบ่งเป็น 3 วิธีการดังนี้

2.1 โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและแคะเอาเมล็ดออกเลี้ยงบนอาหาร โดยฝักภูมิพลินทร์จะเพาะใส่อาหาร 3 ขวด/ฝัก ส่วนฝักนครินทราจะเพาะใส่อาหาร 5 ขวด/ฝัก เคาะให้เมล็ดลงบนอาหารให้มีปริมาณเมล็ดต่อขวดใกล้เคียงกัน

2.2 โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นผ่าฝักใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (จิตราพรรณ, 2536) โดยฝักภูมิพลินทร์ 1 ฝักต่อน้ำ 3 ml ส่วนส่วนฝักนครินทรา 1 ฝักต่อน้ำ 5 มิลลิลิตร จากนั้นดูดเมล็ดจำนวน 0.5 ml พ่นยังอาหารที่เตรียมไว้

2.3 นำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นผ่าฝักใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งมีส่วนผสมของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 5 % อัตราส่วน 2:1 (จิตราพรรณ, 2536) โดยฝักภูมิพลินทร์ 1 ฝักต่อสารละลาย 3 ml ส่วนส่วนฝักนครินทรา 1 ฝักต่อสารละลาย 5 มิลลิลิตร จากนั้นดูดเมล็ดจำนวน 0.5 ml พ่นยังอาหารที่เตรียมไว้

นำมาเพาะบนอาหารสูตร MS โดยภูมิพลินทร์ทำ 3 ซ้ำ ส่วนนครินทราทำ 4 ซ้ำ และบันทึกจำนวนการปลอดการปนเปื้อนของเชื้อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ของต้นภูมิพลินทร์และต้นนครินทรา

นำต้นกล้าภูมิพลินทร์และนครินทราจากการเพาะเมล็ดที่มีขนาดเท่ากันมาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ในขวดขนาด 115 ml

3.1 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นภูมิพลินทร์และนครินทรา โดยนำต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 1 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 1 mg/l วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in completely randomized design; CRD) จำนวน 5 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอดที่สมบูรณ์ และขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

3.2 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นนครินทรา โดยนำต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1 และ 2 mg/l วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 5 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอดที่สมบูรณ์ และขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

3.3 ศึกษาสูตรอาหาร WP ต่อการเจริญเติบโตของต้นนครินทรา โดยเลือกใช้ยอดนครินทราที่มีขนาด 3 cm มาเลี้ยงบนอาหารสูตร WP เปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 20 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลของจำนวนยอดที่สมบูรณ์ ขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ จำนวนราก และความยาวของราก นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลแบบ T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตของต้นภูมิพลินทร์และต้นนครินทรา

นำยอดภูมิพลินทร์และยอดนครินทราที่ได้จากการเพาะบนอาหารที่มีขนาดเท่ากันจำนวน 4 ข้อต่อยอด มาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตในขวดขนาด 115 ml

4.1 ศึกษาการลดปริมาณอาหารสูตร MS โดยนำชิ้นส่วนยอดภูมิพลินทร์และนครินทราเลี้ยงบนอาหารลดปริมาณอาหาร MS ได้แก่ 1/8 MS, 1/4 MS, 1/2 MS, และ MS วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 8 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต และร้อยละการรอดชีวิตบนสูตรอาหาร ชะลอการเจริญเติบโตหรือการนับจำนวนครั้งในการต่ออายุเชื้อพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ (subculture)

4.2 ศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลต่อการชะลอการเจริญเติบโต โดยนำชิ้นส่วนยอดนครินทราเลี้ยงบนอาหาร MS ปรับปริมาณน้ำตาลซูโครซ ความเข้มข้น 0, 10 20 และ 30 g/l ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล

ความเข้มข้น 0, 10 20 และ 30 g/l วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) จำนวน 12 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต และร้อยละการรอดชีวิตบนสูตรอาหาร ชะลอการเจริญเติบโต หรือการนับจำนวนครั้งในการต่ออายุเชื้อพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ (subculture)

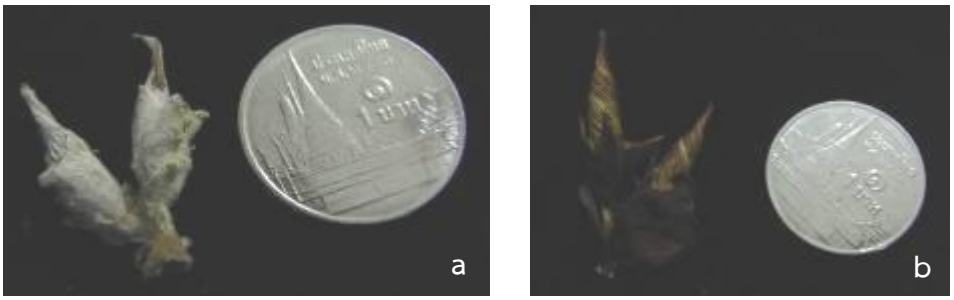
- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการทดลอง	เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556
สถานที่ดำเนินการ	ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

1. ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อฝักภูมิพลินทร์และฝักนครินทรา

ฝักของพืชสกุลชาฤๅษีเป็นฝักแห้งแตกมีลักษณะบิดเป็นเกลียว ภายในฝักประกอบด้วยเมล็ดจำนวนมากและเมล็ดมีขนาดเล็กเป็นผง (Triboun and Middleton, 2012) โดยลักษณะของชิ้นส่วนฝักภูมิพลินทร์จะมีขนหนาปกคลุมดังนั้นก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อฝักภูมิพลินทร์ ต้องมีการขูดและดึงเอาขนที่อยู่บนฝักให้สะอาด แล้วนำมาล้างด้วยน้ำสบู่และน้ำเปล่าให้สะอาด ส่วนฝักนครินทราจะไม่มีขนหนาปกคลุมจึงสามารถล้างด้วยน้ำสบู่และน้ำเปล่าให้สะอาดได้ทันที ขั้นตอนระหว่างขูดขนและการล้างต้องระวังไม่ให้ฝักแตกเพื่อไม่ให้เมล็ดภายในได้รับความเสียหาย ตลอดจนการแช่น้ำอยู่นานขณะทำการล้างฝักนั้น พบว่าเมล็ดภายในฝักจะชื้นและติดกันเป็นก้อน อาจเนื่องมากจากการซึมผ่านของน้ำเข้าสู่ฝัก ดังนั้นวิธีการฟอกด้วยคลอลอกซ์เป็นวิธีที่เสี่ยงต่อการทำให้เมล็ดได้รับความเสียหาย



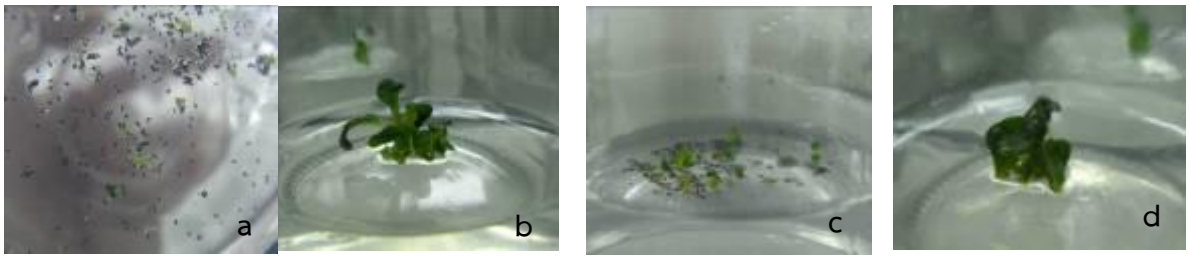
ภาพที่ 1 ลักษณะของฝักของภูมิพลินทร์ (a) และฝักนครินทรา (b)

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 1) พบว่าวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อฝักภูมิพลินทร์และฝักนครินทราคือวิธีการเผาฝักแล้วบิดฝักให้แตกและเคาะเอาเมล็ดออกเลี้ยงบนอาหารสูตร MS วิธีการดังกล่าวจะลดขั้นตอนความยุ่งยากซับซ้อนในการเพาะเมล็ดและสะดวกในการปฏิบัติงาน รวมถึงลดการสัมผัสเมล็ดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากอุปกรณ์ เนื่องจากขั้นตอนปฏิบัติที่น้อยจะช่วยลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนของเชื้อจากขั้นตอนต่างๆ ได้ ซึ่งวิธีนี้จะเหมาะสมสำหรับฝักพืชทั้ง 2 ชนิด ที่ไม่ได้รับความเสียหายหรือปริแตก หากฝักได้รับความเสียหายอาจฟอกเมล็ดด้วยการใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งถือได้ว่าเป็นสิ่งจำเป็นในการฟอกฆ่าเชื้อ วิธีนี้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดเช่น เมล็ด *Aconitum*

heterophyllum (Srivastava *et al*., 2010) และเมล็ดกล้วยไม้ (จิตราพรรณ พิลึก, 2536) โดยเมื่อเพาะเมล็ดบนอาหาร MS นานประมาณ 1 เดือนเมล็ดจะเริ่มงอก

ตารางที่ 1 ผลการฟอกฆ่าเชื้อฝักภูมิพลินทร์และฝักนครินทรา

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อฝัก	**จำนวนการปลอดการปนเปื้อนของเชื้อ** (%)	
	ฝักภูมิพลินทร์	**ฝักนครินทรา**
เผาฝัก	55.55	75
เผาฝัก + น้ำ (H_2O)	0	10
เผาฝัก + สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)	22.22	35



ภาพที่ 2 ลักษณะของต้นอ่อนภูมิพลินทร์เมื่อเพาะเมล็ดบนอาหาร MS เป็นเวลา 1 เดือน (a) และ 3 เดือน (b) และต้นอ่อน นครินทราเมื่อเพาะเมล็ดบนอาหาร MS เป็นเวลา 1 เดือน (c) และ 3 เดือน (d)

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ของต้นภูมิพลินทร์ และต้นนครินทรา

นำต้นกล้าภูมิพลินทร์และต้นนครินทราที่ได้จากการเพาะบนอาหารที่มีขนาดเท่ากันมาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์

2.1 การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (2,4-D) ร่วมกับกลุ่มไซโตไคนิน (BA)

จากการทดลองพบว่าต้นภูมิพลินทร์ (ภาพที่ 3) และต้นนครินทรา (ภาพที่ 4) ที่เลี้ยงจะมีการแตกยอดเล็กปริมาณมากแม้เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ทำให้เกิดเป็นกลุ่มยอดแน่นและบางยอดสามารถเกิดเป็นยอดขนาดใหญ่และสมบูรณ์ได้

ตารางที่ 2 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน 2,4-D และ BA ต่อการเกิดยอดที่สมบูรณ์และการเพิ่มขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อต้นภูมิพลินทร์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 6 เดือน

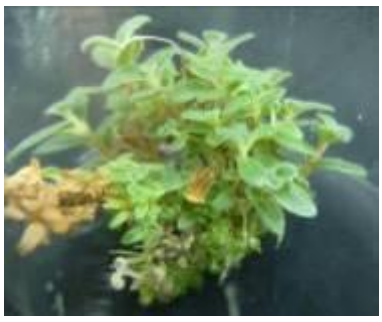
2,4-D (mg/l)	**จำนวนยอดที่สมบูรณ์ (ยอด)**				**ขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อ (cm)**			
	BA (mg/l)				BA (mg/l)			
	0	0.1	1	mean	0	0.1	1	mean
0	8.3 a x	4.90b y	3.7 b xy	5.9	2.18	2.36	2.40	2.31 b
0.1	9.2 b x	12.1 a x	5.5 c x	8.8	2.20	2.36	2.20	2.25 b

1	9.3 a x	3.8 b y	2.3 b y	5.1	2.58	2.58	2.62	2.59 a
mean	8.9	7.1	3.8		2.32 b	2.43 a	2.41 a	
CV (%)		14.2				14.9		

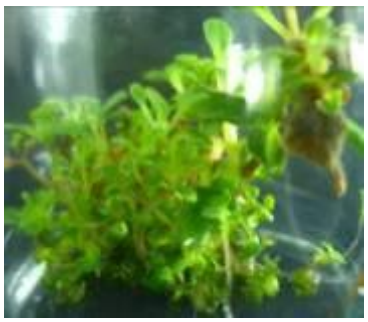
ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ใช้อักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มออกซิน (2,4-D) ใช้อักษร x, y, z

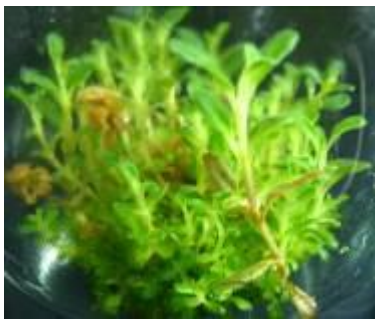
การทดลองในต้นภูมิพลินทร์ (ตารางที่ 2) พบว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน, ไซโตไคนิน และปฏิสัมพันธ์ของสารทั้งสองกลุ่ม ส่งผลต่อจำนวนยอดที่สมบูรณ์ของต้นภูมิพลินทร์ โดยเมื่อเติม 0.1 mg/l 2,4-D ร่วมกับ 0.1 mg/ BA เกิดยอดขนาดใหญ่ที่สมบูรณ์มากถึง 12.1 ยอด ซึ่งมากที่สุดแต่ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้ MS เพียงอย่างเดียวหรือการเติมสาร 1mg/l 2,4-D เพียงอย่างเดียว ส่วนขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อต้นภูมิพลินทร์นั้นเป็นผลจาก 2,4-D และ BA โดยไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารทั้งสองกลุ่ม ซึ่งเมื่อให้ 1 mg/l 2,4-D เกิดการแตกขนาดของเนื้อเยื่อปริมาณ 2.59 cm มากกว่าความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการเติม BA จะเกิดการขยายของเนื้อเยื่อมากกว่าการไม่เติม BA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



MS



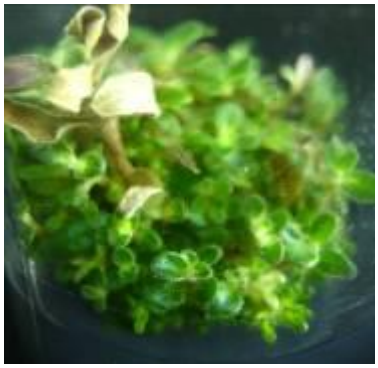
MS + 0.1 mg/l BA



MS + 1 mg/l BA

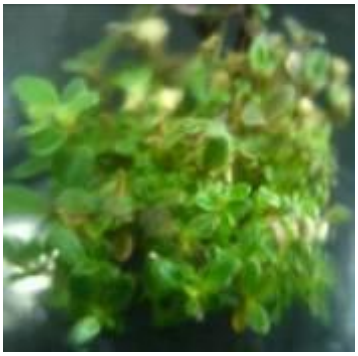
MS + 0.1 mg/l 2,4-D

MS + 0.1 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l BA

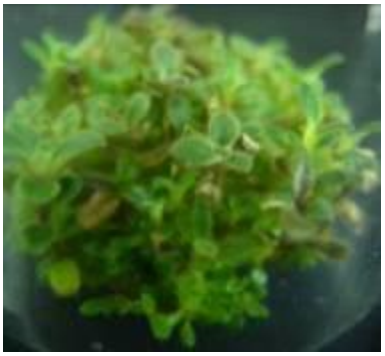


MS + 0.1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA

MS + 1 mg/l 2,4-D



MS + 1 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l BA



MS + 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA

ภาพที่ 3 ลักษณะของกลุ่มเนื้อเยื่อภูมิพลินทร์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ 2,4-D และ BA เป็นเวลา 6 เดือน

จากการทดลองในต้นนครินทรา (ตารางที่ 3) พบว่าการใช้สารความคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน, ไซโตไคนิน และปฏิสัมพันธ์ของสารทั้งสองกลุ่ม ส่งผลต่อการเกิดยอดที่สมบูรณ์ โดยเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว ได้ยอดขนาดใหญ่ที่สมบูรณ์เพิ่มขึ้นมากกว่าเติม BA ร่วมด้วย ซึ่งการเติม 1 mg/l 2,4 D เกิดยอด 9.8 ยอด ให้ผลแตกต่างทางสถิติกับสูตรอื่นๆ ส่วนขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อต้นนครินทราเป็นผลจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารทั้งสองกลุ่ม โดยเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS เติม 1 mg/l 2,4 D หรือ BA เพียงอย่างเดียวทำให้เกิดการขยายของกลุ่มเนื้อเยื่อแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน 2,4-D และ BA ต่อการเกิดยอดที่สมบูรณ์และการเพิ่มขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อต้นนครินทรา เมื่อเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 6 เดือน

	จำนวนยอดที่สมบูรณ์ (ยอด)				**ขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อ (cm)**			
2,4-D	BA (mg/l)				BA (mg/l)			
(mg/l)	0	0.1	1	mean	0	0.1	1	mean
0	1.8 b z	1.9 b y	3.6 a y	2.1	2.34 b y	2.68 a x	2.82 a x	2.60 a
0.1	5.9 a y	1.8 b xy	2.3 b y	3.4	2.50 a y	2.46 a xy	2.42 a y	2.46 b
1	9.8 a x	2.0 b x	1.4 b y	4.4	2.84 a x	2.36 c y	2.64 b xy	2.61 a
mean	5.8	1.9	2.4		2.56	2.50	2.63	
CV (%)		37.2				16.7		

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ใช้อักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มออกซิน (2,4-D) ใช้อักษร x, y, z

ในการการขยายพันธุ์พืชทั้งสองชนิดมีความจำเป็นต้องใช้ยอดที่มีความสมบูรณ์สำหรับนำไปขยายพันธุ์ต่อไป จากผลการทดลองดังกล่าวการเติม 2,4-D มีแนวโน้มทำให้เกิดยอดขนาดใหญ่ที่สมบูรณ์เพิ่มขึ้น และเมื่อ

เติม BA ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของกลุ่มยอดขนาดเล็กที่ไม่สมบูรณ์จำนวนมาก แตกต่างกับการขยายพันธุ์ Gloxinia โดยใช้ ใบ ลำต้น และปลายยอด พบว่าการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมากจากใบโดยใช้ NAA ร่วมกับ BA และการเกิด callus จากการใช้ 2,4-D (Wuttisit and Kanchanapoom, 1996)

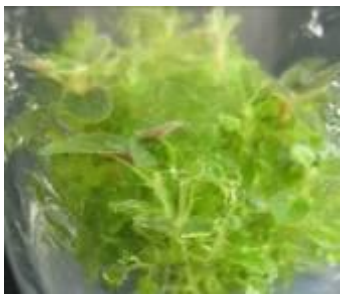
โดยปกติฮอร์โมนกลุ่มออกซินมีผลต่อการชักนำการเกิดราก และกระตุ้นการแบ่งเซลล์ทำให้เกิดเป็นแคลลัส ส่วนฮอร์โมนกลุ่มไซโคไคนินจะกระตุ้นการเพิ่มปริมาณของยอดในสภาพปลอดเชื้อ โดยการพัฒนาจากแคลลัสให้เกิดเป็นยอด นอกจากนี้ยังมีผลต่อการแบ่งเซลล์ การเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (Taiz and Zeiger, 1998; พีรเดช, 2537) ซึ่งต้นภูมิพลินทร์และนครินทราเป็นพืชที่แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มจำนวนมากในสภาพธรรมชาติ และเมื่อนำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหาร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญ ยังคงลักษณะการแตกยอดปริมาณมากเช่นเดียวกับสภาพปกติ ผลที่ได้จึงแตกต่างจากการทดลองอื่นอาจเนื่องจากต้นภูมิพลินทร์และนครินทรามีการสร้างสารกลุ่มไซโตไคนินในปริมาณมากเพียงพอสำหรับการแตกยอด และเมื่อเพิ่มสารในกลุ่มไซโตไคนินมากขึ้นทำให้เร่งการเกิดยอดมากเกินไปยอดที่ได้จึงไม่สมบูรณ์

นอกจากนี้การใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซินมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของตาข้างไปเป็นยอด (Taiz and Zeiger, 1998) ดังนั้นเมื่อให้ฮอร์โมนในกลุ่มออกซินซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ยับยั้งการแตกกิ่ง จึงทำให้ไม่เกิดกลุ่มของยอดขนาดเล็กที่ไม่สมบูรณ์ ส่วนการใช้ 2,4-D ร่วมกับ BA เมื่อพิจารณาถึงระดับฮอร์โมนออกซินและไซโตไคนิน พบว่าถ้าสัดส่วนของออกซินต่ำกว่าไซโตไคนิน จะชักนำให้เกิดยอดได้ดีขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองในใบหรือก้านใบของ *Metabriggsia ovalifolia* โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินปริมาณน้อย (NAA, IBA และ IAA) ร่วมกับกลุ่มไซโตไคนินปริมาณมาก (BA และ TDZ) ให้ผลที่ดีกว่าการใช้ฮอร์โมนกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งเพียงชนิดเดียว (Ma, *et al*., 2010) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าชิ้นส่วนและชนิดของพืชจะเหมาะสมกับสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (Jungnickel and Zaid, 1992)

MS

MS + 0.1 mg/l BA

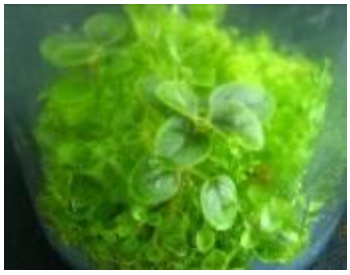
MS + 1 mg/l BA



MS + 0.1 mg/l 2,4-D

MS + 0.1 mg/l 2,4-D
+ 0.1 mg/l BA

MS + 0.1 mg/l 2,4-D
+ 1 mg/l BA



MS + 1 mg/l 2,4-D

MS + 1 mg/l 2,4-D
+ 0.1 mg/l BA

MS + 1 mg/l 2,4-D
+ 1 mg/l BA

ภาพที่ 4 ลักษณะของกลุ่มเนื้อเยื่อนครินทราที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ 2,4-D และ BA เป็นเวลา 6 เดือน

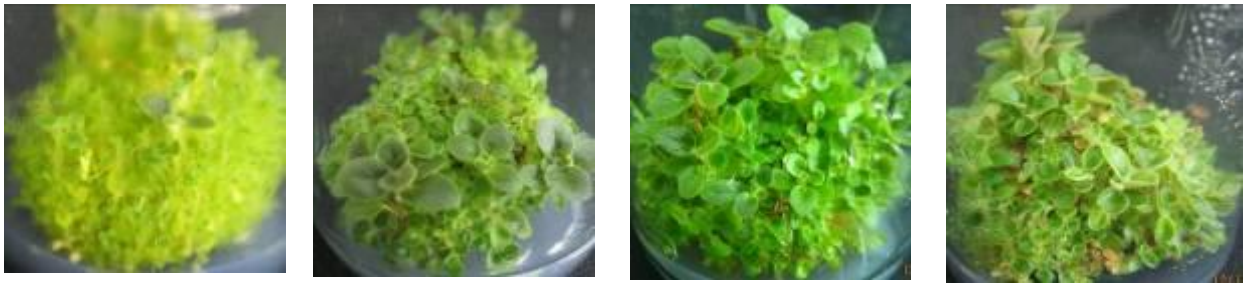
2.2 การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (IBA)

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์จากการทดลองแรกพบว่าการเติม 2,4-D มีแนวโน้มทำให้เกิดยอดขนาดใหญ่ที่สมบูรณ์เพิ่มขึ้น ซึ่งโดยปกติสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินมีผลในการชักนำการเกิดราก และกระตุ้นการแบ่งเซลล์เกิดเป็นแคลลัส ดังนั้นจึงทำการทดลองสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินชนิดอื่น ได้แก่ IBA เพราะมีการรายงานว่าเมื่อเลี้ยงแอฟริกันไวโอเล็ต (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับชาฤษี บนอาหาร MS เติม 3 mg/l IBA สามารถชักนำการเกิดรากได้ (Sunpui and Kanchanapoom, 2002) และการขยายพันธุ์ Gloxinia โดยใช้ ใบ ลำต้น และปลายยอด พบว่าการชักนำให้เกิดรากโดยใช้ NAA, IAA และ IBA (Wuttisit and Kanchanapoom, 1996) เนื่องจากต้นภูมิพลินทร์มีปริมาณไม่เพียงพอสำหรับนำมาศึกษาในการทดลองนี้จึงทำการทดลองผลของ IBA ต่อการเจริญเติบโตในต้นนรินทราเพียงชนิดเดียว การทดลอง (ตารางที่ 4, ภาพที่ 5) พบว่าต้นนครินทราที่เลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ 0.5 mg/l IBA เกิดยอดขนาดใหญ่ที่สมบูรณ์มากและมีค่าแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนการขยายของกลุ่มเนื้อเยื่อต้นนครินทราพบว่า IBA ทุกความเข้มข้นให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ แต่ไม่พบการเกิดรากเหมือนเช่นการทดลองดังกล่าว

ตารางที่ 4 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน IBA ต่อการเกิดยอดที่สมบูรณ์และการเพิ่มขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 6 เดือน

สูตรอาหาร IBA (mg/l)	**จำนวนยอดที่สมบูรณ์ (ยอด)**	**ขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อ (cm)**
0	1.4 d	2.63
0.1	4.8 c	2.60
0.5	15.8 a	2.81
1	8.8 b	2.88
CV (%)	16.8	10.2

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



MS MS + 0.1 mg/l IBA MS + 0.5 mg/l IBA MS + 1 mg/l IBA

ภาพที่ 5 ลักษณะของกลุ่มเนื้อเยื่อนครินทราที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ IBA เป็นเวลา 6 เดือน

2.3 การใช้สูตรอาหาร WP ต่อการเจริญเติบโตของต้นนครินทรา

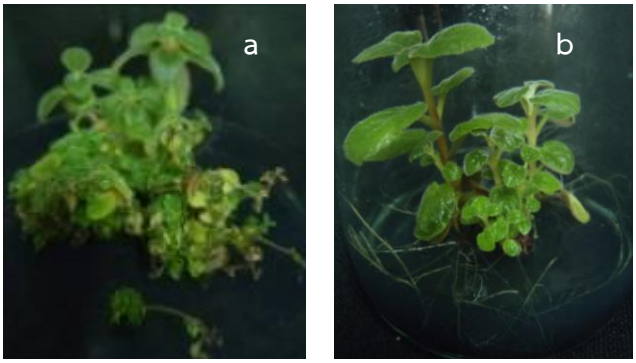
เนื่องจากลักษณะของต้นนครินทราเป็นไม้พุ่มที่ลำต้นส่วนล่างมีเนื้อไม้แข็ง ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่ทำให้การชักนำการเกิดรากได้ค่อนข้างยากในสภาพปลอดเชื้อ (กลุ่มงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและจัดการพันธุ์พืชเพาะเลี้ยง, 2553) จึงทำการทดลองโดยใช้อาหารสูตร WP ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีเนื้อไม้ ประเภทไม้ป่าเต็งรังที่มีศักยภาพเป็นไม้ประดับ เช่น ต้นแต้ว โมกหลวง ติ้วขน และพรรณไม้หายากที่เป็นพืชเฉพาะถิ่น เช่น จำปีสิรินธร เทพธาโร และโมกราชินี เป็นต้น (มาลี ณ นคร และคณะ, 2550) จึงได้ทำการศึกษาผลการเลี้ยงยอดนครินทรา บนอาหาร WP เปรียบเทียบกับ MS การทดลอง (ตารางที่ 5, ภาพที่ 6) พบว่าการเกิดยอดที่สมบูรณ์ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันเมื่อเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร WP และ MS แต่พบว่ายอดนครินทราที่เลี้ยงบนอาหารสูตร WP มีปริมาณการเกิดรากและมีรากที่ยาวมากกว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จึงมีความเป็นไปได้ว่าอาหารสูตร WP อาจชักนำการเกิดรากของต้นนครินทราได้ เช่นเดียวกับการทดลองใน Green ash (*Fraxinus pennsylvanica*) (Du and Pijut, 2008) และในพืช *Camptotheca acuminate* ซึ่งมีลักษณะเป็นพืชมีเนื้อไม้และยืนต้น (Huimei *et al*., 2007) แต่ผลที่ได้มีความแตกต่างกับมะกอกพันธุ์ ‘Moraiolo’ ที่พบว่าการใช้อาหารสูตร WP จะชักนำการเกิดยอด (Ali *et al*., 2009)

ตารางที่ 5 ผลของสูตรอาหาร MS เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร WP ต่อการเกิดยอดที่สมบูรณ์ การเพิ่มขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ การเกิดราก และความยาวราก เมื่อเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 4 เดือน

สูตรอาหาร	จำนวนยอดที่สมบูรณ์ (ยอด)	ขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อ (cm)	จำนวนราก (ราก)	ความยาวราก (cm)
MS	2.63	2.38	1.10	0.64
WP	2.60	2.05	8.87	3.98
t-test	ns	**	**	**

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.05}$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 6 ต้นนครินทราที่ได้จากการเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MS (a) และ สูตร WP (b) เวลานาน 4 เดือน

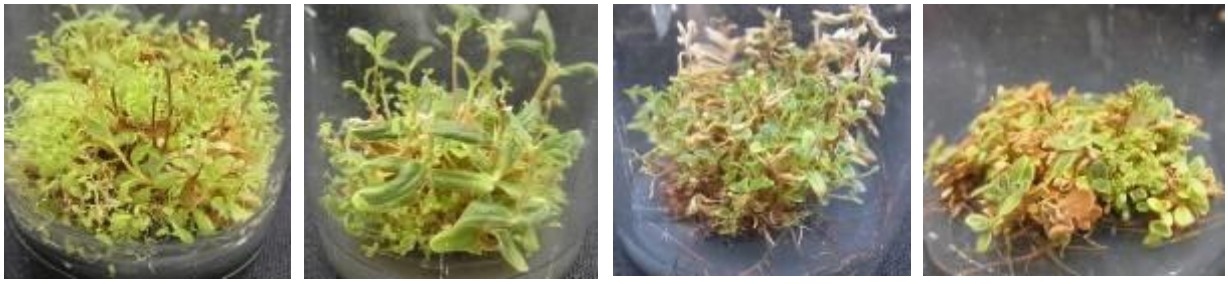
3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตของต้นภูมิพลินทร์และต้นนครินทรา

นำยอดภูมิพลินทร์และนครินทราที่ได้จากการขยายพันธุ์ที่มีขนาดเท่ากันมาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชะลอการเจริญเติบโต

3.1 ศึกษาการลดปริมาณอาหารสูตร MS

จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตของต้นภูมิพลินทร์และนครินทรา (ภาพที่ 7, ตารางที่ 6) พบว่ายิ่งลดปริมาณอาหาร MS ทำให้ต้นมีขนาดเล็กและมีปริมาณรากมากขึ้น เช่นเดียวกับการชักนำการสร้างรากบนอาหาร 1/2 MS ในแอฟริกันไวโอเล็ต (Sunpui and Kanchanapoom, 2002) และเมื่อเลี้ยงนาน 1 ปี อาหารสูตร MS ต้องมีการ subculture อย่างน้อยหนึ่งครั้ง เนื่องจากต้นแตกกลุ่มยอดจำนวนมาก ส่วนอาหารสูตร 1/4 MS และ 1/8 MS พบอาการเหี่ยวแห้งเพิ่มมากขึ้น ทำให้ต้องมีการ subculture อย่างน้อยหนึ่งครั้งเช่นกัน โดยต้นภูมิพลินทร์และนครินทราสามารถอยู่ได้นาน 1 ปี แม้ไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS ดังนั้นการลดปริมาณสารอาหารจึงเป็นวิธีการหนึ่งในการชะลอการเจริญเติบโตในต้นชาฤษี เนื่องจากการลดปริมาณ MS เป็นการลดสารอาหารเพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งให้ผลแตกต่างกันไปตามชนิดพืชและมีการใช้ในพืชหลายชนิด เช่น กล้วยไม้เอื้องสายหลวง เลี้ยงบนอาหาร 1/2 MS มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่า MS เมื่อเลี้ยงนาน 15 เดือน (ปาริฉัตร และคณะ, 2553), ในพืชพวก lily (*Lilium davidii* และ *Lilium longiflorum*) เลี้ยงบนอาหาร 1/4 MS ร่วมกับซูโครสเข้มข้น 9 % หรือ 3.0 mg/l ABA สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ (Yun-peng *et al*., 2012)

ภูมิพลินทร์



MS 1/2 MS 1/4 MS 1/8 MS

นครินทรา

MS 1/2 MS 1/4 MS 1/8 MS

ภาพที่ 7 ลักษณะของกลุ่มเนื้อเยื่อภูมิพลินทร์และนครินทราที่เพาะเลี้ยงบนอาหารลดความเข้มข้น MS เป็นเวลา 8 เดือน

ตารางที่ 6 ร้อยละการรอดชีวิตของต้นภูมิพลินทร์และนครินทรา บนอาหารลดความเข้มข้น MS เป็นเวลานาน 1 ปี

สูตรอาหาร	**ร้อยละการรอดชีวิต**	
	ภูมิพลินทร์	**นครินทรา**
MS	20	16.7
1/2 MS	87.5	100
1/4 MS	66.67	66.67
1/8 MS	33.33	33.33

3.2 ศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลต่อการชะลอการเจริญเติบโต โดยปรับปริมาณน้ำตาลซูโครซร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล

เนื่องจากต้นภูมิพลินทร์มีปริมาณไม่เพียงพอสำหรับนำมาศึกษาจึงทำการทดลองกับต้นนรินทราเพียงชนิดเดียว การทดลอง (ภาพที่ 9) พบอาการฉ่ำน้ำในต้นพืชเมื่อให้ซูโครซร่วมกับแมนนิทอล

MS MS + 10 g/l sucrose MS + 20 g/l sucrose MS + 30 g/l sucrose

ภาพที่ 9 ลักษณะของกลุ่มเนื้อเยื่อนครินทราที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ปรับปริมาณน้ำตาลซูโครซ ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล เป็นเวลา 8 เดือน

การลดปริมาณสารอาหารและการปรับความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน เช่น การใช้น้ำตาลแมนนิทอลร่วมกับการใช้น้ำตาลซูโครซ มีผลในการชะลอการเจริญเติบโต เนื่องจากปริมาณน้ำตาลและชนิดของน้ำตาล เช่น น้ำตาลซูโครซ (sucrose) แมนนิทอล (mannitol) และ ซอลบิทอล (sorbitol) เป็นสารที่มีผลทำให้กระบวนการเมตตาบอลิซึมช้าลงเพราะการควบคุมแรงดัน osmotic ในเซลล์พืช (Thompson *et al.*, 1986) โดยมีการใช้ในการชะลอการเจริญเติบโตในพืชหลายชนิด เช่น Habanero Peper (*Capsicum chinense* Jacq.) พบว่าเมื่อเลี้ยงด้วยแมนนิทอล 2 % ทำให้การเจริญเติบโตน้อยและไม่มีผลต่อลักษณะทางสรีระวิทยาและคุณภาพของเนื้อเยื่อ (Montalvo-Peniche *et al*., 2007) มีการใช้แมนนิทอล 20 g/l กับต้นเจตมูลเพลิงแดง เพื่อลดจำนวนยอดสามารถอยู่ได้นาน 8 เดือน โดยต้นไม่ตายและยังคงแข็งแรง (Charoensub and Phansiri, 2004) และการใช้แมนนิทอล 2 % เพื่อเพิ่มร้อยละการรอดชีวิตของต้น *Spilanthes acmella* (Joshi and Jadhav, 2013) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่พบว่าการลดปริมาณซูโครสจะทำให้มีร้อยละการรอดชีวิตสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 1 ปี ซึ่งปกติต้นนครินทราที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่ใส่ซูโครส 30 g/l ต้องมี

การ subculture อย่างน้อย 1 ครั้ง ทำให้พบร้อยละการรอดชีวิตต่ำเพียง 7.14 % ส่วนการเติมน้ำตาลแมนนิทอลทำให้มีร้อยละการรอดชีวิตสูงขึ้นกว่าไม่ได้เติมหรือใช้การปรับปริมาณซูโครซแต่พบการเหลืองของยอดและใบ ดังนั้นถ้าใช้ควรใช้การปรับปริมาณซูโครซหรือแมนนิทอลเพียงอย่างเดียว เพื่อลดอาการฉ่ำน้ำในต้นพืช

ตารางที่ 7 ร้อยละการรอดชีวิตของต้นนครินทรา บนอาหาร MS ปรับปริมาณน้ำตาลซูโครซและแมนนิทอล เป็นเวลานาน 1 ปี

สูตรอาหาร MS ปรับปริมาณน้ำตาล		ร้อยละการรอดชีวิตของนครินทรา
sucrose	mannitol	
0 g/l	0 g/l	28.57
	10 g/l	50.00
	20 g/l	50.00
	30 g/l	42.86
10 g/l	0 g/l	21.43
	10 g/l	40.00
	20 g/l	28.57
	30 g/l	26.67
20 g/l	0 g/l	13.33
	10 g/l	50.00
	20 g/l	28.57
	30 g/l	28.57
30 g/l	0 g/l	7.14
	10 g/l	64.29
	20 g/l	28.57
	30 g/l	21.43

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาฝักภูมิพลินทร์และฝักนครินทราทำได้โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและเคาะเอาเมล็ดออกเลี้ยงบนอาหารสูตร MS วิธีการนี้จะลดการปนเปื้อนของเชื้อได้ดีที่สุด ถ้าฝักได้รับความเสียหายอาจใช้ 5 % H_2O_2 ร่วมด้วย

2. การขยายพันธุ์พืชทั้ง 2 ชนิดมีการแตกยอดจำนวนมากแม้เลี้ยงบน MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

3. การขยายพันธุ์โดยการการชักนำให้เกิดยอดจากต้นกล้าภูมิพลินทร์ใช้สูตรอาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 mg/l ส่วนต้นกล้านครินทราใช้สูตรอาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/l หรือ IBA ความเข้มข้น 0.5 mg/l เพียงอย่างเดียวทำให้ได้ยอดที่สมบูรณ์กว่าการใช้ฮอร์โมน BA ร่วมด้วย

4. สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของต้นนครินทราได้ด้วยการเลี้ยงบนอาหารสูตร WP

5. ต้นภูมิพลินทร์และนครินทราสามารถอยู่ได้นาน 1 ปี แม้ไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS

ชื่อการทดลองที่ 9 การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์สกุลไก่ฟ้าในสภาพปลอดเชื้อ : กระทุงบวบเหลี่ยม (*Aristolochia baenzigeri* B.Hansen & Phuph) และกระเช้าหนู (*Aristolochia helix* Phuph.)

Conservation of rare species and very risk to distinction *Aristolochia baenzigeri* B.Hansen & Phuph. and *Aristolochia helix* Phuph.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์[1]

ผู้ร่วมงาน : ดร. ปราโมทย์ ไตรบุญ[2]

นางชยานิจ ดิษฐบรรจง[1]

นายกษิดิศ ดิษฐบรรจง[1]

บทคัดย่อ

กระทุงบวบเหลี่ยม (*Aristolochia baenzigeri* B.Hansen & Phuph) และ กระเช้าหนู (*Aristolochia helix* Phuph.) จัดเป็นพืชถิ่นเดียว (Endemic plant) และพืชหายาก (Rare) โดยกระทุงบวบเหลี่ยมพบได้ที่ จ.แม่ฮ่องสอน และกระเช้าหนู พบได้ที่ จ.พังงา ซึ่งปัจจุบันมีจำนวนลดลง เนื่องจากสภาพตามธรรมชาติถูกทำลาย จึงทำการศึกษาเพื่อการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พืชทั้งสองชนิดในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ด้วยสารละลายโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่ความเข้มข้น และระยะเวลาต่างๆ โดยฟอกฆ่าเชื้อจำนวน 2 ครั้ง สำหรับกระทุงบวบเหลี่ยมใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 20 นาที ครั้งที่ 1 และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 30 นาที ครั้งที่ 2 ส่วนต้นกระเช้าหนูใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 1 และ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 2 และเมื่อทดสอบสูตรอาหารเพื่อการชักนำยอดของต้นกระเช้าหนู พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ต้นกระเช้าหนูเกิดยอดมากที่สุด 3.13 ยอด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นกระเช้าหนูมีความยาวของยอดใหม่สูงที่สุด 5.12 เซนติเมตร โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนต้นกระทุงบวบเหลี่ยมไม่ตอบสนองต่อสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบและต้นตายใน

ที่สุด และต้นกระเช้าหนูสามารถเก็บอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อได้นาน 4 เดือน โดยการเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ABSTRACT

Aristolochia baenzigeri B.Hansen & Phuph and *Aristolochia helix* Phuph are identified as endemic plant and rare species of Thailand. *A. baenzigeri* is rarely found at Mae Hong Son province, and *A. helix* is also rarely found at Phangnga province. Reduction of this rare species are occurred by the ecological changed. To conserve this rare species they were propagated *in vitro* in the laboratory. Seeds of *A. baenzigeri* was sterilized twice by 15% and 5% sodium hypochlorite for 20 and 30 minutes, respectively. Seeds of *A. helix* was sterilized twice by 15% and 10% sodium hypochlorite for 10 minutes. Shoot induction was developed using MS

---

[1]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

medium complemented with 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg.L^{-1} BA (6-Benzylaminopurine) and 0.5, 1.0,
1.5 mg.L^{-1} NAA (Napthaline acetic acid). Shoot induction of *A. helix* was significantly increased with completely plant type on the MS medium complemented with 1 mg.L^{-1} BA and 0.5 mg.L^{-1} NAA for 3.13 shoots per clump. Unfortunately, *A. baenzigeri* was not responded to the developing medium, and they died after treatment. The plantlets of *A. helix* were transferred to MS medium and then were conserved for 4 months before sub-culturing.

บทนำ (Introduction)

การสำรวจรวบรวมพันธุ์พืชตามพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทยโดยนักวิชาการ กลุ่มวิจัยพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช พบว่า มีพืชหายาก และใกล้สูญพันธุ์ทั้งหมดในประเทศไทยนั้นประเมินได้ว่ามากกว่าร้อยละ 30 ถึงแม้ว่าจากการประเมินในพืชหายากที่ขึ้นบัญชีไว้มีเพียง 1,407 ชนิด โดยมีสาเหตุหลักหลายประการ ได้แก่ พื้นที่แหล่งอาศัยหรือแหล่งกระจายพันธุ์ที่เกิดอยู่ในพื้นที่ป่าตามธรรมชาติถูกบุกรุกทำลายจากมนุษย์ทั้งทางตรงและทางอ้อม การถูกจำกัดการกระจายพันธุ์จากปัจจัยธรรมชาติเอง และจากการถูกคุกคามโดยมนุษย์เก็บไปใช้ประโยชน์โดยขาดความรู้และขาดจิตสำนึก (วินัย และคณะ, 2550)

วงศ์ไก่ฟ้า ARISTOLOCHIACEAE (ก่องกานดา, 2548 ; Phuphathanaphong, 1984)

ลักษณะประจำวงศ์ ไม้เลื้อยเนื้อแข็ง เป็นพืชกินแมลง มีรสขม หรือรสพริกไทย มีน้ำยางใส ใบเดี่ยว มีเส้นใบออกจากจุดโคนใบ และออกจากสองข้างของเส้นกลางใบแบบขนนก โคนใบรูปหัวใจ ดอกสมมาตร

ด้านข้าง กลีบรวมเชื่อมติดกัน ที่โคนเป็นกระเปาะมีรูปร่างแตกต่างกัน รูปร่างคล้ายไก่ฟ้า มีกลิ่นเหม็น สีสะดุดตา ก้านเกสรเพศเมีย และเกสรเพศผู้มักเชื่อมกันเป็นเส้าเกสร รังไข่อยู่ใต้วงกลีบ มี 6 ช่อง บางชนิดจะบิดเป็นเกลียวขณะที่เจริญขึ้น ผล เป็นแบบผลแห้งแตก แตกตามรอยตะเข็บมีรูปร่างคล้ายกระเช้า

ลักษณะเด่นของวงศ์ ไม้เลื้อย ใบเดี่ยว มีเส้นใบออกจากจุดโคนใบ ดอกที่โคนเป็นกระเปาะรูปร่างคล้ายไก่ฟ้า ผลมีรูปร่างคล้ายกระเช้า

ประโยชน์ บางชนิดเป็นพืชสมุนไพร โดยใช้ราก หัวใต้ดิน และลำต้น

การกระจายพันธุ์ ในเขตร้อน ในประเทศไทยมี 2 สกุล

• สกุลไก่ฟ้า *Aristolochia* เป็นไม้เลื้อย ชนิดที่พบทั่วไป คือ กระเช้าผีมด *Aristolochia tagala* Cham กระเช้าถุงทอง *Aristolochia pothieri* Pierre ex Lecomte

• สกุลหูหมี *Thottea* เป็นไม้ล้มลุก ชนิดที่พบทั่วไป คือ *Thottea tomentosa* (Blume) Ding Hou

<u>กระทุงบวบเหลี่ยม</u> มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Aristolochia baenzigeri* B. Hansen & L.Phuphathanaphong มีลักษณะเป็นไม้เถาที่มีเนื้อไม้ มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยในเขต อ.ปาย จ.แม่ฮ่องสอน โดยอยู่ในแถบภูเขาหินปูน ที่มีระดับความลึก 800 เมตร จัดเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic species) และพืชหายาก (Rare)

<u>กระเช้าหนู</u> มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Aristolochia helix* Phuph. มีลักษณะเป็นไม้เนื้ออ่อน (Herbaceous) มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่แถบคาบสมุทรประเทศไทย ในเขต จ.กระบี่ และ จ.พังงา โดยอยู่ในเขาหินปูนซึ่งมีความเป็นเอกลักษณ์โดยลักษณะภูมิประเทศ และองค์ประกอบทางชีวภาพที่ไม่สามารถหาทดแทนได้จากที่ใดในโลก จัดเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic) และพืชหายาก (Rare)

ดังนั้นการอนุรักษ์และเพิ่มจำนวนทรัพยากรพืชถิ่นเดียว (Endemic plant) และพืชหายาก (Rare) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อเก็บรักษาพรรณพืชที่หายากและพืชที่ใกล้จะสูญพันธุ์ของพืชสกุลไก่ฟ้า (*Aristolochia*) ในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งอาจมีศักยภาพในเชิงเศรษฐกิจในอนาคต และเพื่อเก็บรักษาความหลากหลายของประชากรพืชที่มีคุณลักษณะพิเศษ สำหรับการปรับปรุงพัฒนาพันธุ์พืชต่อไป

การอนุรักษ์พืช (สุญาณี, 2550) คือ การเก็บรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมเพื่อใช้ประโยชน์ เช่น ใช้ปรับปรุงพันธุ์พืช หรือพืชบางชนิดมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์สูง จึงควรนำมาอนุรักษ์ไว้เพื่อคนรุ่นหลังได้พัฒนาใช้ประโยชน์ด้วย

ความหมายของคำว่าการอนุรักษ์ไม่ใช่เป็นการเก็บรักษาไว้อย่างเดียว แต่หมายถึง การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน รวมถึงการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณและนำกลับคืนสู่ถิ่นกำเนิดในธรรมชาติอีกด้วย (ในกรณีของพืชที่ใกล้จะสูญพันธุ์)

การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชสามารถทำได้หลายรูปแบบ และเมื่อเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้รับการพัฒนาขึ้น ก็ได้มีการนำเอาเทคโนโลยีนี้มาใช้เพื่อการอนุรักษ์ด้วย เนื่องจากการเก็บรักษาในรูปแบบของ *in vitro* storage นั้น มีข้อดีหลายอย่าง เช่น

1. สามารถเก็บได้ในพื้นที่จำกัด เช่น ใน vials, ขวดแก้ว, Petri-dishes บนหิ้งเพาะเลี้ยงในตู้ incubator หรือในภาชนะบรรจุ liquid nitrogen กรณีที่ทำ cryopreservation

2. ปลอดเชื้อ เพราะใช้ aseptic techniques

3. สะดวกในการแลกเปลี่ยน germplasm โดยเฉพาะส่งข้ามพรมแดน

Manjula และคณะ(1997) รายงานการศึกษา *Aristolochia indica* L. ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพรสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากเฉลี่ย 40-50 ยอด จากชิ้นส่วนของตาข้างบนอาหาร MS ซึ่งเติม NAA 0.54 µM และ BA 13.31 µM และชักนำการเกิดยอดจากแคลลัสซึ่งเกิดจากชิ้นส่วนใบได้ในอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA 2.69 µM, BA 13.31 µM และ Phloroglucinol (PG) 1.0 mg/l.

Siddique และคณะ (2006) ทำการศึกษาการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนตาข้างของ *Aristolochia indica* Linn. ได้จากการเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 2 mg/l และ BAP 1 mg/l และสามารถชักนำยอดได้บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 2.5 mg/l และ BAP 1 mg/l.

Bravo และคณะ (1999) ศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Aristolochia fimbriata* Cham. ด้วยชิ้นส่วนตาข้างบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ Vitamins ในสูตร Gamborg ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต GA3 0.1 mg/l ร่วมกับ BA 2.5 mg/l และ IBA 0.25 mg/l สามารถชักนำยอดในอัตรา 5 เท่าได้ในระยะเวลา 14 วัน

Joseph และ Sidique (2011) ศึกษาการเพิ่มปริมาณของ *Aristolochia bracteolata* Lam. พบว่า การชักนำยอดและการเพิ่มปริมาณยอดได้ 8.9 ยอด เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำรากได้เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ IBA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืช ได้แก่ ต้นกระเช้าหนู และ ต้นกระทุงบวบเหลี่ยม
2. ตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
3. สารเคมีสำหรับการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)
4. สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA (6-Benzyladenine), NAA (Naphthaleneacetic acid), 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)
5. สารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำมะพร้าว
6. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ เช่น สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) (Clorox ®)

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างพืชจากแหล่งกำเนิด
   - *Aristolochia baenzigeri* B. Hansen & Phuph., พื้นที่ จ.แม่ฮ่องสอน
   - *Aristolochia helix* Phuph. พื้นที่ จ.พังงา
2. คัดเลือกวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม

3. ทดสอบสูตรอาหารเพื่อการชักนำยอด โดยทดสอบบนสูตร MS ร่วมกับ BA ที่ระดับ 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร บันทึกผลจำนวนยอด และความยาวยอด
4. ทดสอบสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์เพื่อการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ โดยทดสอบบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ น้ำมะพร้าวปริมาตร 100 และ 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.5, และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร บันทึกอัตราการรอดชีวิตเมื่อเก็บในระยะเวลานาน 4 เดือน

สถานที่ทำการทดลอง /เก็บข้อมูล

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จ.ปทุมธานี

ระยะเวลาทำการวิจัย

ตุลาคม 2553 - กันยายน 2556

ผลการวิจัย (Results)

1. เก็บตัวอย่างพืชจากแหล่งกำเนิด

1) กระเช้าหนู (*Aristolochia helix* Phuph.) จากการสำรวจพบต้นกระเช้าหนูมีการเจริญเติบโตในสภาพเขาหินปูน ต้นมีลักษณะเป็นไม้เนื้ออ่อน รากจะอยู่ตามซอกหิน ลักษณะต้นจะเกาะไปตามหิน หรือห้อยย้อย (ภาพที่ 1) ดอกมีขนาดเล็กสีน้ำตาล ใบเป็นรูปหัวใจ (ภาพที่ 2) พบได้เฉพาะพื้นที่เขาหินปูน อ.ทับปุด จ.พังงา สอดคล้องกับ (ก่องกานดา, 2548) พบต้นกระเช้าหนู มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่แถบคาบสมุทรประเทศไทย ในเขต จ.กระบี่ และ จ.พังงา โดยอยู่ในเขาหินปูนซึ่งมีความเป็นเอกลักษณ์โดยลักษณะภูมิประเทศ และองค์ประกอบทางชีวภาพที่ไม่สามารถหาทดแทนได้จากที่ใดในโลก จัดเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic) และพืชหายาก (Rare)

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะพื้นที่เขาหินปูนที่พบต้นกระเช้าหนู อ.ทับปุด จ.พังงา

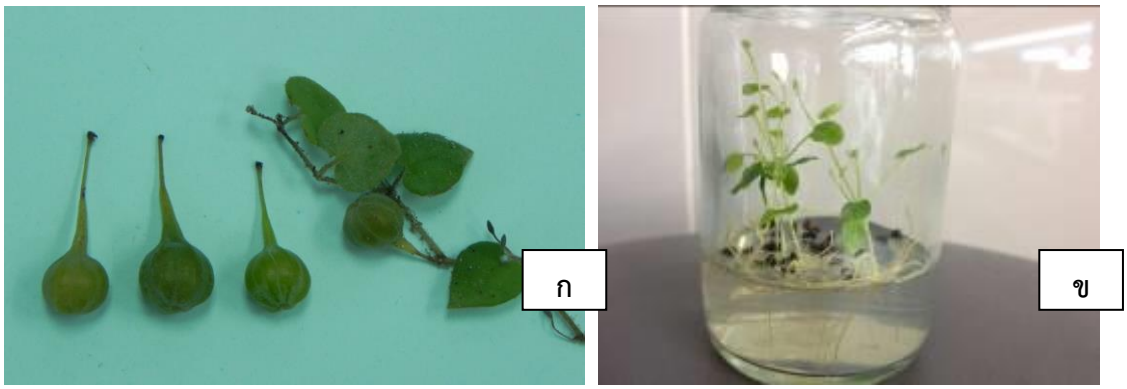
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะดอก และ ใบของต้นกระเช้าหนู *(Aristolochia helix* Phuph)

2) <u>กระทุงบวบเหลี่ยม</u> *(Aristolochia baenzigeri* B. Hansen & Phuph.) จากการสำรวจในพื้นที่ดอยปุย บ้านห้วยฮี้ ต.ห้วยปูลิง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน พบต้นกระทุงบวบเหลี่ยมในพื้นที่มีลักษณะเป็นไม้เถาที่มีเนื้อไม้ (ภาพที่ 3) โดยอยู่ในแถบภูเขาหินปูน ที่มีระดับความลึก 800 เมตร จัดเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic species) และพืชหายาก (Rare) (ก่องกานดา, 2548)

ภาพที่ 3 ลักษณะต้น ใบ และฝัก ของต้นกระทุงบวบเหลี่ยม พื้นที่บ้านห้วยปูลิง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน

2. วิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชสกุลไก่ฟ้า

<u>กระเช้าหนู</u> การฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า การใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 1 และ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 2 จากนั้นเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถเกิดต้นได้คิดเป็นร้อยละ 70 (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ผลของกระเช้าหนู (ก) และต้นที่งอกเมื่อผ่านการฟอกฆ่าเชื้อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS (ข)

<u>กระทุงบวบเหลี่ยม</u> วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า การใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ครั้งที่ 1 ระยะเวลา 20 นาที และ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ครั้งที่ 2 ระยะเวลา 30 นาที เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เมล็ดมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นร้อยละ 30 (ภาพที่ 5) และพบว่าเมล็ดมีอัตราการงอกต่ำมากคิดเป็นร้อยละ 10

สูตรอาหาร MS

ภาพที่ 5 การงอกจากเมล็ดของต้นกระทุงบวบเหลี่ยมเมื่อผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ

3. ทดสอบสูตรอาหารเพื่อการชักนำยอด โดยทดสอบบนสูตร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

<u>กระเช้าหนู</u> นำต้นที่งอกจากสูตรอาหาร MS มาทดสอบการเพิ่มปริมาณโดยการชักนำยอดบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ต้นกระเช้าหนูเกิดยอดมากที่สุด 3.13 ยอด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นกระเช้าหนูมีความยาวของยอดใหม่สูงที่สุด 5.12 เซนติเมตร โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดจัดอยู่ในกลุ่มอักษรที่ดีที่สุด ร่วมกับพิจารณาค่าเฉลี่ยของ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีเฉลี่ยการเกิดจำนวนยอดอยู่ในกลุ่มอักษรที่ดีที่สุดเช่นกัน (โดยพิจารณาค่าตัวอักษรเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference ของตารางที่ 1) รวมทั้งลักษณะต้นที่สมบูรณ์ที่เกิดขึ้น (ตารางที่ 1 , ภาพที่ 6) จึงควรเลือกใช้ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อการชักนำยอด สอดคล้องกับ Joseph และ Sidique (2011) ศึกษาการเพิ่มปริมาณของ *Aristolochia bracteolata* Lam. พบว่า การชักนำยอดและการเพิ่มปริมาณยอดได้ 8.9 ยอด เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และรายงานการศึกษาของ Manjula และคณะ (1997) พบว่า *Aristolochia indica* L. ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพรสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากเฉลี่ย 40-50 ยอด จากชิ้นส่วนของตาข้างบนอาหาร MS ซึ่งเติม NAA ความเข้มข้น 0.54 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 13.31 ไมโครโมลาร์

ตารางที่ 1 แสดงผลการเพิ่มจำนวนยอด และความยาวของยอดของกระเช้าหนู ทดสอบในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

กรรมวิธี	จำนวนยอด (ต้น)	ความยาวยอด (ซม.)
MS + BA 0.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l	2.33 abc [1/]	4.72 ab
MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1 mg/l	2.60 ab	5.12 a
MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1.5 mg/l	1.13 c	1.60 d
MS + BA 1 mg/l + NAA 0.5 mg/l	3.13 a	4.47 abc
MS + BA 1 mg/l + NAA 1 mg/l	2.13 ab	3.01 cd
MS + BA 1 mg/l + NAA 1.5 mg/l	2.93 a	4.96 a
MS + BA 1.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l	2.06 abc	3.46 abc
MS + BA 1.5 mg/l + NAA 1 mg/l	2.06 abc	3.16 bc
MS + BA 1.5 mg/l + NAA 1.5 mg/l	2.53 abc	3.47 abc
MS + BA 2 mg/l + NAA 0.5 mg/l	2.00 abc	4.02 abc
MS + BA 2 mg/l + NAA 1 mg/l	1.46 bc	3.16 bc
MS + BA 2mg/l + NAA 1.5 mg/l	2.46 abc	4.06 abc
F-test	ns	**
cv (%)	35.66	32.96

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1/ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

MS + BA 0.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l

MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1 mg/l

MS + BA 0.5 mg/l + NAA 1.5 mg/l

MS + BA 1 mg/l + NAA 0.5 mg/l

MS + BA 1 mg/l + NAA 1 mg/l

MS + BA 1 mg/l + NAA 1.5 mg/l

MS + BA 1.5 mg/l + NAA 0.5 mg/l

MS + BA 1.5 mg/l + NAA 1 mg/l

MS + BA 1.5 mg/l + NAA 1.5 mg/l

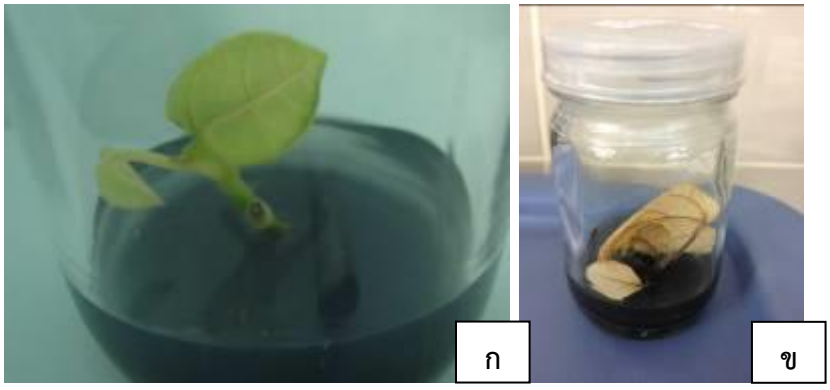
MS + BA 2 mg/l + NAA 0.5 mg/l

MS + BA 2 mg/l + NAA 1 mg/l

MS + BA 2mg/l + NAA 1.5 mg/l

ภาพที่ 6 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเพิ่มจำนวนยอด และความยาวยอดของต้นกระเช้าหนู

<u>กระทุงบวบเหลี่ยม</u> นำต้นกระทุงบวบเหลี่ยมที่งอกจากเมล็ดภายในสภาพปลอดเชื้อ มาทดสอบหาสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA และ NAA พบว่า เมื่อนำตายอด และ ตาข้าง ของต้นกระทุงบวบเหลี่ยมทดสอบบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 13.31 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ พบว่า ตายอดมีการพัฒนาขึ้นเป็นต้น แต่ไม่เกิดราก และเมื่อเลี้ยงนาน 3 เดือน ต้นเกิดการแห้งตายไปในที่สุด (ภาพที่ 7) เนื่องจากการเพาะเลี้ยงไม้ป่าเหล่านี้ ปัญหาที่สำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงนอกจากเรื่องการปนเปื้อน ก็คือการร่วงของใบ อุณหภูมิห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสูตรอาหารที่ไม่เหมาะสม ซึ่งสามารถแก้ไขโดยการเติม $AgNO_3$ เพื่อแก้ไขการร่วงของใบในอาหาร และปัญหาชิ้นส่วนพืชเกิดสีดำและตาย ซึ่งอาจแก้ไขโดยการแช่ชิ้นส่วนใน ascorbic acid ก่อนย้ายลงเลี้ยงบนอาหาร หรือปรับเปลี่ยนอุณหภูมิในสภาพแวดล้อมให้สูงขึ้น (วรรัตน์ และคณะ, 2549 ; Kyte และ Kleyn, 1996) และสอดคล้องกับ Pierik (1987) ได้กล่าวไว้ว่า พืชเขตร้อนส่วนใหญ่จะตอบสนองต่ออุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงที่สูงกว่าพืชในเขตอบอุ่นหรือเขตหนาว ดังนั้นอุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยจำกัดที่สำคัญปัจจัยหนึ่งของความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย



ภาพที่ 7 ต้นกระทุงบวบเหลี่ยมที่พัฒนาจากสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 13.31 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ (ก) และ สภาพต้นที่แห้งตาย เมื่อเลี้ยงนาน 3 เดือน (ข)

4. ทดสอบสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์เพื่อการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ

นำยอดของกระเช้าหนูที่เกิดจากากรชักนำในการทดลองที่ 3 ตัดแยกและเลี้ยงทดสอบบนสูตรอาหารเพื่อให้เจริญเติบโตเป็นต้นเดี่ยวที่มีราก พร้อมสำหรับการนำออกปลูก โดยทดสอบบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ

น้ำมะพร้าวปริมาตร 100 และ 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.5, และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อระยะเวลา 4 เดือน พบว่า สูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมน้ำมะพร้าวและ 2,4-D ต้นกระเช้าหนูจะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (ภาพที่ 8) โดยมีอัตราการรอดชีวิตคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากฮอร์โมนที่สร้างขึ้นในต้นพืช (plant hormones) ทำหน้าที่กระตุ้นและมีส่วนร่วมในกระบวนการต่างๆ ที่นำไปสู่การพัฒนาของต้นที่เป็นปกติ การเจริญเติบโตตลอดจนการเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ เนื้อเยื่อ และ secondary metabolism เป็นผลมาจากฮอร์โมนเหล่านี้ทั้งสิ้น การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารจึงอาจไม่จำเป็นเสมอไป และสัดส่วนและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดที่ต้องการจะผันแปรไปขึ้นกับระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงและชนิดพืช (รังสฤษฎ์, 2540)

MS (control)

MS + CW 100 ml + 2,4-D 0.1 mg/l

MS + CW 200 ml + 2,4-D 0.1 mg/l

MS + CW 100 ml + 2,4-D 0.5 mg/l

MS + CW 200 ml + 2,4-D 0.5 mg/l

MS + CW 100 ml + 2,4-D 1 mg/l

MS + CW 200 ml + 2,4-D 1mg/l

ภาพที่ 8 ผลของน้ำมะพร้าวและ 2,4-D ต่อการเจริญเติบโตของต้นกระเช้าหนู

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. การฟอกฆ่าเชื้อพืชสกุลไก่ฟ้าสามารถใช้ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ที่ความเข้มข้น และระยะเวลาต่างๆ โดยฟอกฆ่าเชื้อจำนวน 2 ครั้ง จะได้ชิ้นส่วนพืชที่ปลอดเชื้อ

- กระเช้าหนู ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 1 และความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 2

- กระทุงบวบเหลี่ยม ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 20 นาที ครั้งที่ 1 และความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 30 นาที ครั้งที่ 2

2. การชักนำยอดของต้นกระเช้าหนู ควรใช้ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ต้นกระเช้าหนูเกิดยอดมากที่สุด ส่วนต้นกระทุงบวบเหลี่ยมไม่ตอบสนองต่อสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบและต้นตายในที่สุด

3. สูตรอาหารที่ทำให้ต้นกระเช้าหนูสมบูรณ์และเก็บในสภาพปลอดเชื้อได้นานที่สุด 4 เดือน คือ สูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ชื่อการทดลองที่ 10 การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์ : พลับพลึงธาร *(Crinum thaianum* J.Schulze) ในสภาพปลอดเชื้อ

Conservation of rare species Onion plant *(Crinum thaianum* J.Schulze) *in vitro*

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์[1]

ผู้ร่วมงาน : ดร. ปราโมทย์ ไตรบุญ[2]

นางชยานิจ ดิษฐบรรจง[1]

นายกษิดิศ ดิษฐบรรจง[1]

บทคัดย่อ

พลับพลึงธาร มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Crinum thaianum* J.Schulze อยู่ในวงศ์ Amaryllidaceae เป็นพืชล้มลุกอาศัยอยู่ใต้น้ำ จัดเป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic species) ของประเทศไทย พบเฉพาะภาคใต้ในเขตจังหวัดระนองและพังงาเท่านั้น จากการสำรวจเมื่อปี 2554 พบพลับพลึงธารในพื้นที่คลองนาคา ตำบลนาคา อำเภอ สุขสำราญ จังหวัดระนอง และ ปี 2555 พบพลับพลึงธารในพื้นที่ตำบลคุระ อำเภอคุระบุรี จ. พังงา เมื่อนำพลับพลึงธารมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีวิธีการฟอกฆ่าเชื้อพลับพลึงธาร โดยการล้างทำความสะอาดและเปิดน้ำไหลนาน 1 ชั่วโมง ก่อนการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 1 และ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 2 และแช่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสารละลาย Povidone-Iodine ต่อ น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออัตราส่วน 5 : 1 ระยะเวลานาน 30 นาที ด้วยวิธีดังกล่าวชิ้นส่วนพลับพลึงธารมีอัตราการรอดชีวิตคิดเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำพลับพลึงธารมาทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาเกิดหัวย่อยในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15, 22.2 ไมโครโมลาร์ พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความ

เข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ และปริมาณน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มการเกิดหัวย่อยได้ดีที่สุดคิดเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ และการเกิดรากคิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสม เพื่อชักนำหัวย่อยให้พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์บนสูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 และ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 100 และ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการเกิดต้น 68.75 เปอร์เซ็นต์ มีการเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์

Abstract

Onion plant (*Crinum thaianum* J.Schulze) is one of the Amaryllidaceae Family. It is an aquatic plant, and it is identified as endemic plant species of Thailand. Found in 2011, it was grown at Ranong province and it was rarely observed at Phangnga province in 2012. To conserve this rare species, it was propagation *in vitro* in the tissue culture laboratory. Sterilization of bulbs of the Onion plants were optimized. They were washed under running tap water for one hour. They were firstly sterilized by 30% sodium hypochlorite (NaOCl) for 30 minutes, and then were secondly sterilized by 15% sodium hypochlorite for 30 minutes. They were also thirdly sterilized by 5 : 1 ----------

[1]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

Povidone–Iodine : double distilled water for 30 minutes. This method could be increase survival plants to 60% . Bulblet propagation was developed using MS medium complemented with 0, 1, 5, 10, 15 and 22 µM BA (6-Benzylaminopurine). The propagation rate was highly increased on the MS medium complemented with 15 µM BA for 45% bulblets and 70% rootlets. Regeneration medium was developed using MS medium complemented with 15 and 30 $g.L^{-1}$. sucrose or 100 and 150 $ml.L^{-1}$ coconut water. The regeneration was highly increased on the MS medium complemented with 15 $g.L^{-1}$ sucrose and 100 $ml.L^{-1}$ coconut water for 68.75% plantlets and 100% rootlets.

บทนำ (Introduction)

พลับพลึงธาร มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Crinum thaianum* J.Schulze อยู่ในวงศ์ Amaryllidaceae มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นว่า หญ้าซ้อง หรือหอมน้ำ หรือพลับพลึงน้ำ หรือพลับพลึงธาร เป็นพืชล้มลุก อาศัยอยู่ใต้น้ำในสภาพธรรมชาติสามารถพบได้ตามแหล่งน้ำไหลที่สะอาด จึงเป็นพืชที่ใช้ชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำได้อีกด้วย จัดเป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic species) ของประเทศไทย พบเฉพาะจังหวัดระนองและพังงาเท่านั้น

ลักษณะเด่นของพลับพลึงธาร คือ รากเป็นระบบรากฝอย อยู่ใต้ดินมีใบเกล็ดทำหน้าที่ห่อหุ้มป้องกันตาและใบอ่อนซ้อนกันจนมีลักษณะเป็นหัว ใบเดี่ยวของต้นหอมน้ำมีลักษณะเป็น แถบยาว ช่อดอกมีลักษณะเป็นซี่ร่ม มีจำนวนดอกย่อย 4 - 14 ดอก ดอกเป็นชนิดดอกสมบูรณ์เพศ ที่มีกลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรตัวผู้และ

เกสรตัวเมียครบทุกส่วนในดอกเดียวกัน เกิดดอกจำนวนมากในระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงพฤษภาคม โดยความพิเศษของดอกหอมน้ำ คือ จะมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ส่วนผลมีสีแดง จัดเป็นประเภทที่มีหลายเมล็ด เมล็ดมีสีเขียว ผิวไม่เรียบ ลักษณะบิดเบี้ยวและเป็นเหลี่ยม จากลักษณะเด่นของดอกที่สวยงามจึงนิยมนำมาใช้เป็นดอกไม้ประดับ และมีแนวโน้มที่จะพัฒนาให้เป็นไม้น้ำเศรษฐกิจได้ เนื่องจากตลาดต่างประเทศมีความต้องการในปริมาณมาก และแรงจูงใจของราคารับซื้อซึ่งสูงถึงราคาหัวละ 2 - 3 บาท และส่งขายต่อในราคาหัวละ 10 - 12 บาท ทำให้มีการขุดหัวพลับพลึงธารที่ขึ้นตามธรรมชาติไปขายจำนวนมาก และมีการลดจำนวนอย่างรวดเร็ว และสาเหตุสำคัญที่มีผลต่อการลดจำนวนของพลับพลึงธารอีกประการหนึ่งคือ การเปลี่ยนแปลงของสภาพแหล่งน้ำที่อาศัยของพลับพลึงธาร ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของสภาพน้ำจากการอุปโภค การขุดลอกคลอง การขุดขายหินและทรายในลำคลอง และการใช้สารเคมีของเกษตรกรที่อยู่ใกล้แหล่งน้ำ ส่งผลให้พลับพลึงธารลดลงอย่างเห็นได้ชัดปัจจุบันเหลือประมาณ 20 % จึงทำให้มีความเสี่ยงสูงต่อการสูญพันธุ์ (Extinct in the wild) ในอนาคตอันใกล้นี้ (รัฐภัทร์ และวรรณดา, 2551 ; รัฐศักดิ์ , 2552) ดังนั้นจึงต้องทำการวิจัยเพื่อเป็นการอนุรักษ์และป้องกันการสูญพันธุ์ของพลับพลึงธาร

Schulze (1972) กล่าวว่าพลับพลึงธารเป็น 1 ใน 4 ชนิดของสกุล Crinum ที่ 2 ชนิด (*C. aquaticum* & *C. natans*) พบในแอฟริกาเขตร้อน และ 1 ชนิด (*C. purpurascens*) พบในบราซิลและเทือกเขาอินดีสตะวันออก พลับพลึงธารเป็นพืชที่ถูกส่งออกไปต่างประเทศจำนวนมากและสามารถขึ้นได้ดีในเขตร้อน อย่างไรก็ตามพลับพลึงธารจัดว่าเป็นพืชที่มีเขตการกระจายพันธุ์และขึ้นในสภาพแวดล้อมที่จำกัด จึงควรมีมาตรการสงวนและอนุรักษ์พื้นที่อาศัยตามธรรมชาติ

วรรณดา และ รัฐภัทร์ (2551) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอมน้ำ (*Crinum thainum* Schulze) พบว่าการนำกลีบหัวมาทดลองเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ร่วมกับ BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 เดือน ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนกลีบหัวที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น คือ 1, 5, 10 และ 15 ไมโครโมลาร์ต่อปริมาณอาหาร 1 ลิตร ทุกระดับความเข้มข้นของ BA สามารถชักนำให้เกิดหัวย่อยจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนหัวของหอมน้ำได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) และการใช้ NAA จะไม่สามารถชักนำเกิดหัวย่อยได้ แต่จะเกิดรากในปริมาณที่มากเกินไป หรือเกิดลักษณะผิดปกติของชิ้นเนื้อเยื่อ ดังนั้นสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอมน้ำในการชักนำให้เกิดหัวย่อยในครั้งนี้ คือ การใช้ BA เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้นข้น 1 ไมโครโมลาร์

Melanie และคณะ (1999) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Crinum* ‘Ellen Bosanquet’ โดยการผ่าแบบ tri-scales โดยเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 5 ระดับความเข้มข้น (0-22.2 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับการเติม NAA 5 ระดับความเข้มข้น (0 – 5.3 2 ไมโครโมลาร์) พบว่า สูตรอาหารที่เติม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์

1. พลับพลึงธาร
2. ตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
3. สารเคมีสำหรับการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)
4. สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA (6-Benzyladenine)
5. สารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำมะพร้าว
6. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ เช่น สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®), สารละลาย Povidone-Iodine

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างพลับพลึงธารจาก จ.ระนอง และ จ.พังงา
2. ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลับพลึงธาร โดยศึกษา 2 วิธีการ

<u>วิธีการที่ 1</u> การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®)

ครั้งที่ 1 ความเข้มข้น 25 % ระยะเวลานาน 30 นาที

ครั้งที่ 2 ความเข้มข้น 15 % ระยะเวลานาน 30 นาที

<u>วิธีการที่ 2</u> การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®)

ครั้งที่ 1 ความเข้มข้น 30 % ระยะเวลานาน 30 นาที

ครั้งที่ 2 ความเข้มข้น 15 % ระยะเวลานาน 30 นาที

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำหัวย่อยพลับพลึงธารในสภาพปลอดเชื้อ โดยทดสอบสูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ BA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15, 22.2 ไมโครโมลาร์ต่อลิตร บันทึกร้อยละของการเกิดต้น และจำนวนราก พร้อมบันทึกภาพ
4. ศึกษาสูตรอาหารเพื่อพัฒนาหัวย่อยของพลับพลึงธารให้เป็นต้นสมบูรณ์โดยทดสอบสูตรอาหารจำนวน 4 สูตรได้แก่ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส 15 และ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 100 และ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร บันทึกร้อยละของการเกิดหัว จำนวนราก และหัวย่อย พร้อมบันทึกภาพ

ระยะเวลาทำการวิจัย

ระยะเวลา : ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จ.ปทุมธานี

ผลการวิจัย (Results)

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างพลับพลึงธารจากแหล่ง จ.ระนองและ จ. พังงา

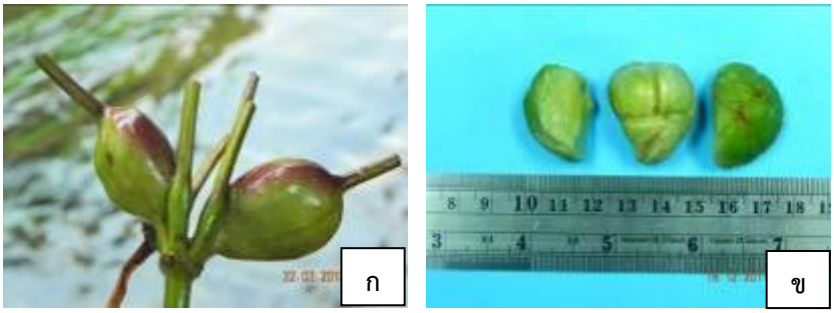
จากการสำรวจเมื่อปี 2554 พบพลับพลึงธารในพื้นที่ คลองนาคา ตำบลนาคา อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง ภายใต้การอนุรักษ์ของชมรมเพลินไพร ศรีนาคา (ภาพที่ 1) และ ปี 2555 พบพลับพลึงธารในพื้นที่ส่วนบุคคลของ ผู้ช่วยผู้ใหญ่บ้าน เชษฐ กำลังกาน หมู่ 6 บ้านห้วยทรัพย์ ตำบลคุระ อำเภอคุระบุรี จ.พังงา ภายใต้โครงการคลองสวย น้ำใส บ้านน่าอยู่คู่พลับพลึงธาร (ภาพที่ 2) โดยทั้งสองพื้นที่มีปริมาณพลับพลึงธารลดลงอย่างมาก จากรายงานของ IUCN เมื่อปี 2551 พบว่า ในคลอง 11 สายใน อ.ตะกั่วป่า คุระบุรี สุขสำราญและกะเปอร์ โดยคลองนาคาเป็นคลองที่พบพลับพลึงธารมากที่สุดตามความยาวคลอง 17 กิโลเมตร พบพลับพลึงธารอยู่ถึง 3,500 เมตร ครอบคลุมพื้นที่ขนาด 8,825 ตารางเมตร หรือ 5.52 ไร่ และในรายงานปี 2553 พบในคลอง 4 สาย โดยสาเหตุหลักที่มีผลต่อการลดจำนวนของพลับพลึงธาร คือ การขุดลอกคลอง และ การลักลอบขุดหัวพลับพลึงธารส่งขาย (รัฐศักดิ์, 2552)

ภาพที่ 1 แหล่งที่พบพลับพลึงธารในคลองนาคา ตำบลนาคา อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง ภายใต้การอนุรักษ์ของชมรมเพลินไพร ศรีนาคา

ภาพที่ 2 พื้นที่ส่วนบุคคลของ ผู้ช่วยผู้ใหญ่บ้าน เชษฐ กำลังกาน หมู่ 6 บ้านห้วยทรัพย์ ตำบลคุระ อำเภอ คุระบุรี จ.พังงา ภายใต้โครงการคลองสวย น้ำใส บ้านน่าอยู่คู่พลับพลึงธาร

2. วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลับพลึงธาร

เก็บตัวอย่างพลับพลึงธารมาทดสอบหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเลือกใช้ เมล็ดของพลับพลึงธาร (ภาพที่ 3) และหัวของพลับพลึงธาร (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะผลของพลับพลึงธาร (ก) และเมล็ดของพลับพลึงธาร (ข)

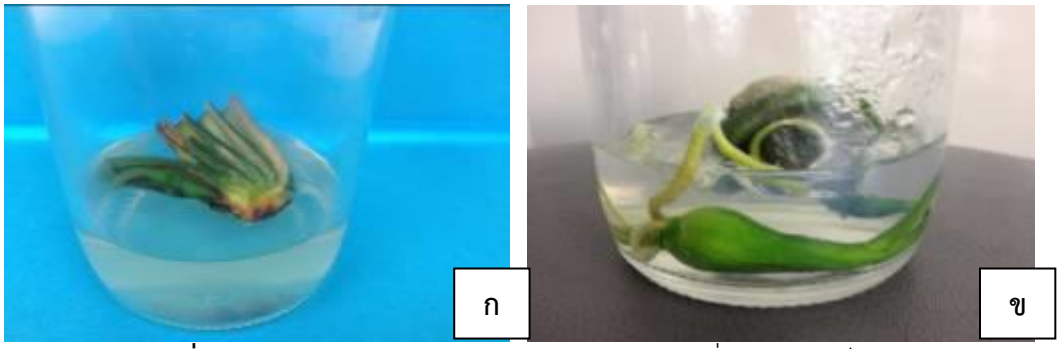
ภาพที่ 4 แสดงลักษณะหัวพลับพลึงธาร

เมื่อนำชิ้นส่วนเมล็ดและหัวของพลับพลึงธารมาฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีการที่ 1 และ 2 พบว่า วิธีการที่ 1 มีอัตราการปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวิธีการที่ 2 มีอัตราการปลอดเชื้อและรอดชีวิต 60 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

1. ล้างทำความสะอาดหัวและเมล็ดพลับพลึงธารด้วยน้ำยาทำความสะอาด (teepol)
2. จากนั้นนำพลับพลึงธารใส่ภาชนะแล้วเปิดน้ำให้ไหลผ่านตลอดเวลา นาน 1 ชั่วโมง
3. นำพลับพลึงธารมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที
4. นำพลับพลึงธารมาใส่ขวดเพื่อเขย่าในตู้ปลอดเชื้อตามขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ครั้งที่ 1 ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที
5. ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง โดยเขย่าเบาๆ ครั้งละ 2 นาที
6. ขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ครั้งที่ 2 ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที
7. ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง โดยเขย่าเบาๆ ครั้งละ 2 นาที
8. นำชิ้นส่วนมาแช่ในน้ำผสมกับสารละลาย Povidone-Iodine : น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 5 : 1 ระยะเวลานาน 30 นาที
9. จากนั้นนำหัวพลับพลึงธารมาผ่าเป็น 4 -8 ส่วน(ตามขนาดของหัว) แล้วมาเลี้ยงทดสอบในสูตรอาหาร MS โดยใช้ชิ้นส่วนหัว 1 ชิ้น/ขวด (ภาพที่ 5)
10. นำส่วนเมล็ดของพลับพลึงธารมาเลี้ยงทดสอบในสูตรอาหาร MS โดยใช้ชิ้นส่วนหัว 1 ชิ้น/ขวด (ภาพที่ 5)

เนื่องจากพลับพลึงธารเป็นพืชซึ่งเจริญอยู่ในน้ำ มีลักษณะลำต้นเป็นใต้ดิน (subterranean stem) ที่ลดรูปจนมีขนาดเล็กและเป็นจุดกำเนิดของใบเกล็ด (scale leaves) จำนวนหลายใบซ้อนกันหลายชั้นจนมีลักษณะเป็นหัว (รัฐภัทร์ และวรรณดา, 2551) ทำให้มีความสกปรกและมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ตามซอกกลีบหัวมาก (วรรณดา และรัฐภัทร์, 2551) ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้นสูง และเวลานานกว่าชิ้นส่วนพืชอื่นๆ เช่น ส่วนลำต้น, ใบ, ดอก ซึ่งใช้ระยะเวลา 20 นาที ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5-10 เปอร์เซ็นต์ และส่วนสะสมอาหารเช่น หัว (tuber) ควรใช้วิธีการทำความสะอาดโดยการล้างด้วยการเปิดน้ำไหลร่วมด้วย (รังสฤษฏ์, 2540) และจากรายงานของ สุวรรณา และคณะ (2555) ได้ทดลองประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อในกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อสาหร่ายทะเล เพื่อหาความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้ในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของสาหร่ายทะเลสกุล *Gracilaria* และ *Ulva* จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Gracilaria changii*, *G. salicornia*, *Ulva rigida* และ *U. intestinalis* โดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อ 5 ชนิด ได้แก เอทธิลแอลกอฮอล 30, 50 และ 70 % โซเดียมไฮโปคลอไรท 0.01, 0.1 และ 1.0 % โพวิโดนไอโอดีน 0.01 , 0.1 และ 1.0 % ดางทับทิม 0.001, 0.01 และ 0.1 % และไฮโดรเจนเปอรออกไซด 0.01, 0.1 และ 1.0 % พบวาสารฟอกฆ่าเชื้อสาหรายทะเลแตละชนิดมีความแตกตางกันคือ *Gracilaria changii* และ *G. salicornia* ใช้สารฟอกฆ่าเชื้อ 2 ชนิดเหมือนกันคือ ดางทับทิม 0.001 % เปนเวลา 5 นาที และโพวิโดนไอโอดีน 0.1 % เปนเวลา 3 นาที *Ulva rigida* ใชโซเดียมไฮโปคลอไรท 0.1%

เปนเวลา 3 นาที หรือโพวิโดนไอโอดีน 0.1 % เปนเวลา 5 นาที แต *U. intestinalis* ไมสามารถใช้สารฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 5 ชนิดนี้ สวนเอทธิลแอลกอฮอล และไฮโดรเจนเปอรออกไซดทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อสาหรายทะเลทุกชนิด ภายในระยะเวลา 1-2 วัน



ภาพที่ 5 หัวพลับพลึงธาร (ก) และ ต้นพลับพลึงธารที่งอกจากเมล็ด (ข)

3. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาเกิดหัวย่อยในสภาพปลอดเชื้อ

นำพลับพลึงธารที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาทดสอบสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และการใช้ BA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15, 22.2 ไมโครโมลาร์ เพื่อชักนำให้เกิดหัวย่อยและราก โดยพบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มการเกิดหัวย่อยได้ดีที่สุด คิดเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ และการเกิดรากคิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1 , ภาพที่ 6) ซึ่งสอดคล้องวรรณดา และ รัฐภัทร์ (2551) ได้รายงานว่าเมื่อนำชิ้นส่วนกลีบหัวของหอมน้ำที่เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดหัวย่อยจากชิ้นเนื้อเยื่อของหอมน้ำได้ และ Melanie และคณะ (1999) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Crinum* ‘Ellen Bosanquet’ โดยการผ่าแบบ tri-scales โดยเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ระดับความเข้มข้น (0-22.2 ไมโครโมลาร์) ร่วมกับการเติม NAA 5 ระดับความเข้มข้น 0-5.3 ไมโครโมลาร์ พบว่า สูตรอาหารที่เติม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด

ตารางที่ 1 แสดงการเกิดหัวย่อยและรากของพลับพลึงธาร

สูตรอาหาร	% การเกิดหัวย่อย	% ราก
MS + น้ำตาลซูโครส 30 g/l	10	0
MS + น้ำตาลซูโครส 30 g/l+ BA 1 µM	15	70
MS + น้ำตาลซูโครส 30 g/l+ BA 5 µM	40	36
MS + น้ำตาลซูโครส 30 g/l+ BA 10 µM	20	30
MS + น้ำตาลซูโครส 30 g/l+ BA 15 µM	45	70
MS + น้ำตาลซูโครส 30 g/l+ BA 22.2 µM	30	30

MS (control)

MS + BA 1 µM

MS + BA 5 µM

MS + BA 10 µM

MS + BA 15 µM

MS + BA 22.2 µM

ภาพที่ 6 การเกิดหัวย่อยเมื่อทดสอบบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15 และ 22.2 ไมโครโมลาร์

4. ศึกษาสูตรอาหารเพื่อพัฒนาหัวย่อยของพลับพลึงธารให้เป็นต้นสมบูรณ์

นำหัวย่อยของพลับพลึงธารที่ชักนำได้จากการทดลองที่ 3 มาเลี้ยงให้เป็นต้นพลับพลึงธารในอาหารจำนวน 4 สูตรได้แก่ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส 15 และ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 100 และ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการเกิดต้น 68.75 เปอร์เซ็นต์ มีการเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ และสูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการเกิดต้น 69.23 เปอร์เซ็นต์ มีการเกิดราก 77.78 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 7) เนื่องจากน้ำมะพร้าว มีสารต่างๆ ได้แก่ ไซโตไคนิน คาร์โบไฮเดรตหลายชนิด เช่น erythritol melezitose และ turanase purine-like substance indole acetic free adenine กรดอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ และน้ำตาล (Shantz และคณะ, 1959) และไซโตไคนินมีผลต่อการเกิดและการพัฒนาของหัวและเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ (อรดี, 2540) การเติมน้ำตาลในอาหารสังเคราะห์เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากเซลล์พืชจำเป็นต้องใช้พลังงานในกระบวนการเจริญเติบโต รวมถึงการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปทำหน้าที่จำเพาะต่างๆ (Mentell และ Smith, 1986)

ตารางที่ 2 แสดงการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ของพลับพลึงธาร

สูตรอาหาร	% การเกิดต้น	% การเกิดราก
MS + S 15 g + CW 100 ml	68.75	100
MS + S 30 g + CW 100 ml	69.23	77.78

MS + S 15 g + CW 150 ml	41.67	100
MS + S 30 g + CW 150 ml	50	100

MS + S 15 g + CW 100 ml

MS + S 30 g + CW 100 ml

MS + S 15 g + CW 150 ml

MS + S 30 g + CW 150 ml

ภาพที่ 7 การพัฒนาเป็นต้นจากหัวย่อยของพลับพลึงธารเมื่อทดสอบในสูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 หรือ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 100 หรือ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. แหล่งที่พบพลับพลึงธาร คือ ตำบลนาคา อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง และตำบลคุระ อำเภอคุระบุรี จ.พังงา

2. การฟอกฆ่าเชื้อพลับพลึงธาร ทำได้โดยการล้างทำความสะอาดและเปิดนานไหลนาน 1 ชั่วโมงก่อนการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 1 และ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 2 และแช่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสารละลาย Povidone-Iodine : น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 5 : 1 ระยะเวลานาน 30 นาที

3. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาเกิดหัวย่อย คือ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 15 ไมโคร โมลาร์

4. สูตรอาหารที่เหมาะสมเมื่อนำหัวย่อยมาพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ คือ สูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร

ชื่อการทดลองที่ 11 : ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้าสำหรับการอนุรักษ์ใน ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

Study on Spore Conservation Techniques of Traded Wild Ferns for Genebank.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวปัณฑารีย์ กาญจนวัฒนาวงศ์

ผู้ร่วมงาน : นางสาวพัฒน์นรี รักษ์คิด

นางสาวเสาวณี เดชะคำภู

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

เฟิร์นเป็นพืชที่มีการใช้ประโยชน์อย่างหลากหลายโดยเฉพาะการเป็นไม้ประดับ มีการลักลอบนำเฟิร์นป่าออกมาจำหน่ายส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพของเฟิร์น จึงได้ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้า สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร ในการศึกษาได้คัดเลือกเฟิร์น 6 ชนิดคือ กูดดอย *Blechnum orientale* กูดบ้ง *Bolbitis sinensis* ว่านไก่น้อย *Cibotium barometz* ผักกูด *Diplazium esculentum* ก้านดำหลังเงิน *Pityrogramma calomelanos* และ ห่อข้าวสีดา *Platycerium coronarium* จากการศึกษาพบว่าสปอร์ *B. orientale C. barometz* และ *P. coronarium* สามารถฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที แต่วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับสปอร์ *P. calomelanos* คือ ฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอกคืออาหารสูตร MA และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์น *C. barometz* และ *P. coronarium* คือ 5°C และ -10°C สำหรับสปอร์ *B. orientale* และ *P. calomelanos* ส่วนสปอร์ *B. sinensis* และ *D. esculentum* ไม่งอกในทุกการทดลอง ทั้งนี้ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรักษาสปอร์ของเฟิร์นแต่ละชนิดมีความผันแปรอย่างมาก จึงควรวิธีการฟอก วิธีการเพาะ สูตรอาหารเพาะเลี้ยง อุณหภูมิการเก็บรักษาและความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์เฟิร์นแต่ละชนิดต่อไป

บทนำ (Introduction)

เฟิร์นเป็นหนึ่งในกลุ่มพืชมีท่อลำเลียงที่ไม่สร้างเมล็ด (pteridophytes) มีวงชีวิตแบบสลับโดยสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้างสปอร์ จัดเป็นกลุ่มพืชโบราณที่มีวิวัฒนาการต่ำกว่าพืชดอก คาดว่าในโลกมีอยู่ราว 12,000 ชนิด มีการกระจายพันธุ์ค่อนข้างจำกัดเนื่องจากมีความอ่อนไหวต่อปัจจัยแวดล้อมต่างๆ ส่วนมากพบในเขตร้อนและกึ่งร้อน (จารุพันธ์, 2532) ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของเฟิร์นสูงและสมบูรณ์ที่สุดแห่งหนึ่งของโลก เดิมมีการรายงานใน Flora of Thailand volume 3 (Tagawa and Iwatsuki, 1975, 1985, 1988, 1989 อ้างถึงใน สุธีรา, 2540) จำนวน 579 ชนิด ต่อมามีการค้นพบเฟิร์นเพิ่มขึ้นหลายชนิด ทั้งที่เป็นชนิดใหม่ของโลก (new species) และเฟิร์นที่พบในประเทศไทยเป็นครั้งแรก (new record) ซึ่งจำนวนพืชที่ถูกค้นพบเพิ่มขึ้น ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากการสำรวจรวบรวมอย่างละเอียดของนักพฤกษศาสตร์ ต่างจากในอดีตที่พืชกลุ่มนี้ไม่ได้รับความสนใจ มากนัก (Lindsay *et al*., 2009) การศึกษาล่าสุดคาดว่าประเทศไทยมีเฟิร์นอยู่ประมาณ 670 ชนิด (Middleton, 2003 อ้างถึงใน Lindsay *et al*., 2009) โดย 42 ชนิดมีสถานภาพเป็นพืชหายาก พืชถูกคุกคาม หรือพืชใกล้สูญพันธุ์ (Santisuk *et al*., 2006) มีการนำเฟิร์นมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ อาทิ เป็นพืชอาหาร เช่น ผักกูด *Diplazium esculentum* ผักแว่น *Marsilea crenata* พืชสมุนไพร เช่น ว่านลูกไก่น้อย *Cibotium barometz* เป็นวัสดุในงานศิลปหัตถกรรม ได้แก่ ย่านลิเภา *Lygodium* spp. และหลายชนิดเป็นไม้ใบประดับที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เช่นเฟิร์นก้านดำ *Adiantum* spp. ข้าหลวงหลังลาย *Asplenium nidus* ชายผ้าสีดา *Platycerium* spp. เป็นต้น (อักษร และคณะ, 2536) อย่างไรก็ตาม แม้จะมีการเพาะขยายพันธุ์เฟิร์นด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้ใช้ประโยชน์จากเฟิร์น แต่เฟิร์นในธรรมชาติหลายชนิดยังคงถูกลักลอบนำออกจากป่าเพื่อการค้า ซึ่งเป็นการลดประชากรเฟิร์นในธรรมชาติโดยตรง ผนวกกับข้อจำกัดด้านการกระจายพันธุ์และปัจจัยคุกคามต่างๆ เช่น การทำลายพื้นที่ป่าและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลก ทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพของเฟิร์นลดลงอย่างรวดเร็วและมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เพิ่มขึ้น จึงมีความจำเป็นต้องอนุรักษ์พันธุกรรมเฟิร์นอย่างเร่งด่วนทั้งการอนุรักษ์ในถิ่นอาศัย (*in situ* conservation) และ นอกถิ่นอาศัย (*ex situ* conservation) (จารุพันธ์, 2532; สุธีรา, 2540 เพื่อป้องกันการสูญพันธุ์และส่งเสริมการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ซึ่งธนาคารเชื้อพันธุ์พืชของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร เป็นหน่วยงานที่มีหน้าที่โดยตรงในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชของประเทศไทย ยังไม่มีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ของกลุ่มพืชมีท่อลำเลียงที่ไม่มีเมล็ด (Pteridophyte) ดังนั้นการศึกษารวบรวมพันธุกรรมเฟิร์นป่าที่มีการใช้ประโยชน์ในครั้งนี้นอกจากจะเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมเฟิร์นแล้ว ยังเป็นการเพิ่มพูนองค์ความรู้ด้านการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชและส่งเสริมให้เชื้อพันธุ์ที่เก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชมีความครอบคลุมมากขึ้น อันจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาและการให้บริการของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชต่อไปในอนาคต

การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับขยายพันธุ์และอนุรักษ์เฟิร์นมีอยู่อย่างต่อเนื่อง เช่น ศิวาพร (2539) ทดลองการผสมพันธุ์เฟิร์นในสกุล *Pteris* โดยวิธีจับคู่ผสมเพาะสปอร์ ได้เฟิร์นลูกผสมที่มีลักษณะแตกต่างจากกลุ่มเฟิร์นที่ใช้เปรียบเทียบ ธีร์ (2541) ได้ทดลองเพาะสปอร์เฟิร์นต้นสามชนิดในอาหารสูตร MSดัดแปลง พบว่ามีสปอร์เฟิร์นเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่งอกได้แต่มีอัตราการงอกต่ำ เมื่อเพาะในวัสดุเพาะ

ธรรมชาติได้แก่ พีทมอสและพูมิสพบว่าสปอร์เฟิร์นที่ทดลองทั้งสามชนิดสามารถงอกได้ สุภัทธิรา (2543) ศึกษาอิทธิพลของวัสดุเพาะชนิดต่างๆที่มีผลต่อการงอกของเฟิร์น *Thelypteris hirsutipes* พบว่าสปอร์เฟิร์นมีการงอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวัสดุเพาะแต่ละชนิด ด้าน Rodpradit (2003) ได้ศึกษาการเก็บรักษาต้นอ่อนของเฟิร์นชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง *Platycerium ridleyi* ที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งซึ่งสามารถนำมาเพาะขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อได้ ในขณะที่ นัฐชัย (2551)ศึกษาการขยายพันธุ์เฟิร์นชนิดเดียวกันในสภาพปลอดเชื้อและสามารถย้ายออกปลูกภายนอกได้สำเร็จ

ในส่วนของการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์น Lloyd and Klekowski (1970) ทำการศึกษาการเก็บรักษาสปอร์ของพืชมีท่อลำเลียงที่ไม่มีเมล็ด โดยเปรียบเทียบสปอร์ที่มีคลอโรฟิลล์กับสปอร์เฟิร์นที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ พบว่าสปอร์ที่มีคลอโรฟิลล์จะงอกในเวลาน้อยกว่าสามวัน และมีความมีชีวิตอยู่ไม่เกินหนึ่งปี ซึ่งคาดว่าเกิดจากอัตราการหายใจที่คงที่ของสปอร์และการไม่มีระยะพักตัว ในขณะที่สปอร์ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ใช้เวลาในการงอกยาวนานกว่า และมีชีวิตอยู่ได้นานเฉลี่ยถึง 1,045 วัน ทั้งนี้ Ballesteros *et al.* (2004; 2006) กล่าวว่าการอนุรักษ์สปอร์ของพืชมีท่อลำเลียงที่ไม่สร้างเมล็ด (Pteridophyte) ยังต้องการการศึกษาอย่างลึกซึ้งเพื่ออธิบายสาเหตุของการสูญเสียความมีชีวิตของสปอร์และหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์สปอร์ในระยะยาว Ballesteros and Walters (2007) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติการดูดซับน้ำของสปอร์เฟิร์นห้าชนิด ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์นที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง(subfreezing) อาจช่วยให้สปอร์มีชีวิตยืนยาวได้เช่นเดียวกับในเมล็ด อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปริมาณน้ำในสปอร์ที่เหมาะสมมีช่วงแคบและต่ำกว่าในเมล็ด การวัดปริมาณน้ำในสปอร์ให้ได้ค่าที่แม่นยำจึงมีความจำเป็นอย่างมากต่อการเก็บรักษาสปอร์ให้มีชีวิตได้ยืนยาวสูงสุด Quintanilla *et al*. (2002) ได้ศึกษาผลของวิธีการเก็บรักษาต่อความมีชีวิตของสปอร์เฟิร์นที่มีสถานะเป็นพืชถูกคุกคามห้าชนิด พบว่าวิธีการเก็บและอุณหภูมิการเก็บมีผลโดยตรงต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ โดยการเก็บบนอาหารวุ้น (wet storage) ที่อุณหภูมิ 5 และ 20˚C ให้เปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบทั้งเปอร์เซ็นต์ความงอก ขั้นตอนการเตรียมการและพื้นที่ที่ใช้ในการเก็บที่น้อยกว่าการเก็บในอาหารวุ้น พบว่าการเก็บแบบแห้งในหลอดแก้วเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุด

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์

1. ใบเฟิร์นที่สร้างสปอร์

2. อุปกรณ์เก็บสปอร์เฟิร์น เช่น กระดาษลอกลาย กรรไกรตัดกิ่ง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองอลูมิเนียมฟอยล์ เครื่องปิดผนึกสุญญากาศเป็นต้น

3. ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์

4. สารเคมีฟอกฆ่าเชื้อและอาหารเพาะเลี้ยงสปอร์เฟิร์น

5. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงสปอร์เฟิร์นในสภาพปลอดเชื้อ เช่น ขวดเพาะเลี้ยง จานเพาะเชื้อ แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ หลอดหยด กระดาษกรองWhatman เบอร์ 4 หรือเทียบเท่า เป็นต้น

6. อุปกรณ์บันทึกผล ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล เป็นต้น

- วิธีการ

1. สำรวจรวบรวมตัวอย่างเฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่ามาขายในแหล่งการค้าและแหล่งรวบรวมพันธุ์ต่างๆ จำแนกระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา หากมีต้นพันธุ์ นำต้นพันธุ์มาปลูกอนุบาลในโรงเรือน

2. คัดเลือกเฟิร์นที่มีสปอร์เพียงพอสำหรับทำการทดลอง รวม 6 ชนิด เก็บรวบรวมสปอร์โดยตัดใบเฟิร์นที่มีสปอร์แก่ คว่ำใบสอดในกระดาษลอกลายที่พับเป็นชั้น ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ นำเข้าห้องลดความชื้น 1-2 สัปดาห์ เพื่อให้อับสปอร์แตกและปลดปล่อยสปอร์ออกมา เมื่อครบกำหนด นำใบเฟิร์นออกจากกระดาษ เคาะสปอร์ลงใส่ภาชนะสะอาด กรองสปอร์ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์เพื่อกำจัดสิ่งสกปรก (ดัดแปลงจาก Beri and Bir, 1993; Smith and Rogan, 1970; Towill and Ikuma, 1973) นำสปอร์ที่กรองแล้วบรรจุภาชนะสะอาด เก็บรักษาในโถดูดความชื้น

3. เตรียมการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์นโดย ใช้ช้อนตักสารขนาดเล็กตักสปอร์แล้วเกลี่ยให้เรียบด้วยแผ่นพลาสติกสะอาด บรรจุลงในซองกระดาษลอกลายขนาดเล็ก แล้วบรรจุลงในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ปิดผนึกซองด้วยเครื่องปิดผนึกสุญญากาศ นำเข้าจัดเก็บแยกเป็น 3 การทดลอง ตามอุณหภูมิห้องอนุรักษ์ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ได้แก่ ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง 5 องศาเซลเซียส ห้องอนุรักษ์ระยะยาว -10 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

4. ศึกษาสูตรและชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสปอร์ ดังนี้

4.1 แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 แบ่งเป็น 2 การทดลองย่อยตามชนิดอาหาร คือ อาหารเหลว และอาหารแข็ง แต่ละการทดลองประกอบด้วยอาหารสองสูตร คือ Mineral Agar (MA; Dyer, 1979; ภาคผนวก 2) และ Murashige and Skoog (MS; 1962) ที่เติมน้ำตาล (ซูโครส) 30 กรัมต่อลิตร โดยอาหารแข็งเติมผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร pH 5.8 แต่ละการทดลองย่อย วางแผน การทดลองแบบ Completely Randomized Designed (CRD) 6 ซ้ำ 2 กรรมวิธี

ส่วนที่ 2 ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างอาหารสูตร MA และ MS ไม่เติมน้ำตาล ใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่เติมวุ้น 8 กรัมต่อลิตร pH 5.8 วางแผนการทดลองแบบ CRD 6 ซ้ำ 2 กรรมวิธี

4.2 ฟอกฆ่าเชื้อสปอร์เฟิร์น โดยล้างสปอร์เฟิร์นด้วยน้ำกลั่นผสมน้ำยาฆ่าเชื้อเอนกประสงค์ (Dettol) อัตรา 10 หยดต่อน้ำ 100 มล. และ Tween 5 หยดต่อน้ำ 100 มล. เขย่าเป็นเวลา 15 วินาที ทิ้งให้สปอร์ตกตะกอน ดูดสารละลายทิ้งแล้วเติมน้ำกลั่น เขย่าเป็นเวลา 15 วินาที ทิ้งให้สปอร์ตกตะกอน ดูดสารละลายทิ้ง ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลายคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่เติม Tween อัตรา 3 หยดต่อ 100 มล. ยกเว้นการฟอกเฟิร์น *Blechnum orientale* ที่เติม Tween อัตรา 5 หยดต่อ 100 มล. เขย่าเป็นเวลา 10 นาที น้ำเข้าตู้ปลอดเชื้อ เทลงในขวดที่มีกรวยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว รอให้สารละลายคลอร็อกซ์ไหลผ่านกระดาษกรองจนหมด เติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้เต็มกรวยกระดาษกรองเพื่อล้าง

สารละลายคลอดร็อกซ์ เมื่อน้ำกลั่นไหลผ่านการะดาษกรองหมด จึงเติมน้ำกลั่นใหม่ ทำซ้ำสองครั้ง จากนั้น ใช้หลอดหยดที่ฆ่าเชื้อด้วยการแช่สารละลายคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่เติม Tween 3 หยดต่อ 100 มล. เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที ล้างหลอดหยดด้วยการดูดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและปล่อยทิ้ง จำนวน 3 ครั้ง ดูดน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 4.5 มล. ชะกระดาษกรองโดยรอบ แล้วดูดน้ำกลั่นที่มีสปอร์ปนอยู่ถ่ายลงในหลอดทดลองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2009)

4.3 เขย่าหลอดทดลองให้สปอร์กระจาย ดูดน้ำกลั่นที่มีสปอร์หยดลงบนอาหาร 0.5 มล. ต่อจาน หรือขวดเพาะเลี้ยง การทดลองเพาะด้วยอาหารแข็ง ใช้แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อเกลี่ยให้สปอร์กระจายบนผิวอาหาร ปิดฝาจานเพาะเชื้อแล้วนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน การทดลองอาหารเหลว เมื่อเติมสปอร์แล้วปิดด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 110 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ บันทึกผลโดยสังเกตการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อครบ 30 วัน นำมาถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ นับความงอกของสปอร์ 100 สปอร์ คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอก

5. ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อสปอร์เฟิร์น 3 ชนิด ได้แก่ *Pityrogramma calomelanos Bolbitis sinensis* และ *Diplazium esculentum* เนื่องจากสปอร์เฟิร์นดังกล่าว เมื่อฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีในข้อ 4.2 พบว่าสปอร์ถูกฟอกขาว มีลักษณะถูกทำลาย และไม่งอก จึงได้ทำการศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อสปอร์เฟิร์นแต่ละชนิด โดยศึกษาความเข้มข้นของคลอร็อกซ์ 3 ระดับ คือ 0.5 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และระยะเวลาการฟอก 3 ระดับ คือ 5 10 และ 15 นาที ยกเว้น *P. calomelanos* ที่ใช้ระดับความเข้มข้นคลอร็อกซ์ที่ 1 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการฟอก 2 5 และ 10 นาที วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in CRD 2 ซ้ำ

6. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นแต่ละชนิด แบ่งเป็นการทดลองย่อยตามอุณหภูมิการเก็บรักษา ได้แก่ 25 5 และ -10 องศาเซลเซียส โดยเพาะทดสอบความงอกของสปอร์เฟิร์นก่อนเก็บรักษา และความงอกหลังเก็บรักษาเดือนละหนึ่งครั้ง เป็นเวลา 24 เดือน รวมทดสอบความงอก 25 ครั้ง (กรรมวิธี) วางแผนการทดลองแบบ CRD 2 ซ้ำ การเพาะเพื่อทดสอบความงอกดำเนินการในสภาพปลอดเชื้อด้วยการฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีในข้อ 4.2 และเพาะเลี้ยงในอาหารตามผลการทดลองข้อ 4.3 เมื่อครบ 30 วัน นำมาถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ นับความงอกของสปอร์ 100 (± 20) สปอร์ (ดัดแปลงจาก Ballesteros *et al*., 2011) คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอก วิเคราะห์ผลการทดลอง

- เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2555 – กันยายน 2558 ณ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี

ผลการวิจัย (Results)

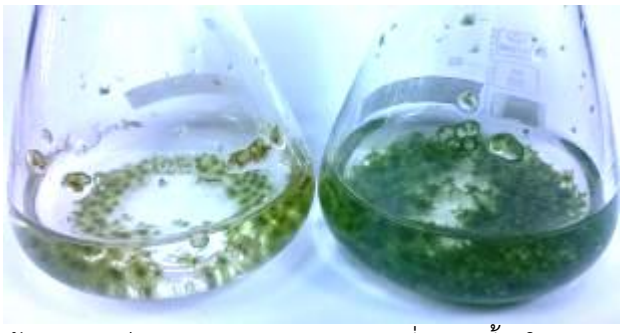
1. การสำรวจรวบรวมเฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่ามาเพื่อการค้า และคัดเลือกเฟิร์นที่มีสปอร์เพียงพอต่อการทดลอง

จากการสำรวจในแหล่งการค้าและแหล่งรวบรวมพันธุ์ต่างๆ สามารถคัดเลือกเฟิร์นที่มีปริมาณสปอร์เพียงพอสำหรับการทดลองต่อเนื่อง 6 ชนิด ได้แก่

กูดดอย	*Blechnum orientale*
กูดบ้ง	*Bolbitis sinensis*
ว่านไก่น้อย	*Cibotium barometz*
ผักกูด	*Diplazium esculentum*
ก้านดำหลังเงิน	*Pityrogramma calomelanos*
ห่อข้าวสีดา	*Platycerium coronarium*

2. ศึกษาสูตรและชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสปอร์

จากการทดลองพบว่าเมื่อสปอร์งอกเป็นโปรทัลลัสในอาหารเหลวที่มีการเขย่าอยู่ตลอดเวลา ทำให้ส่วนต่างๆของโปรทัลลัส เช่น ไรซอยด์ หรือส่วนที่เซลล์มีการเจริญเป็นลักษณะเส้น เกิดการเกาะเกี่ยวกันเป็นกลุ่ม จึงไม่สามารถนับจำนวนสปอร์ที่งอกได้ ดังนั้นการเพาะสปอร์ในอาหารเหลวจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้ในการเพาะทดสอบความงอกของสปอร์เฟิร์น



ภาพที่ 1 ซ้าย: สปอร์ Cibotium barometz ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว สูตร MA
ขวา: สปอร์ C. barometz ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติมน้ำตาล

ในการทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารโดยใช้อาหารแข็ง ระหว่างสูตร MA กับ MS ที่เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร พบว่า สปอร์ *B. orientale* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เกิดการปนเปื้อนเชื้อราทั้งหมด จึงไม่สามารถตรวจผลได้ ส่วนสปอร์ *B. sinensis* และ *D. esculentum* พบสปอร์มีลักษณะฟอกขาวและไม่งอกในทุกการทดลอง ส่วนสปอร์เฟิร์นอีก 3 ชนิด ได้แก่ *C. barometz P. calomelanos* และ *P. coronarium* พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยในอาหารสูตร MA สูงกว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล คือ 88 21 88 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร MA และ 81 13 58 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร MS ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบระหว่างอาหาร

สูตร MA กับ MS ที่ไม่เติมน้ำตาล (ตารางที่ 2) มีผลการทดลองในทำนองเดียวกัน โดยสปอร์เฟิร์น *B. orientale* และ *C. barometz* ที่เพาะในอาหารสูตร MA มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงกว่าการเพาะในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมน้ำตาล คือ 14 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร MA และ 4 และ 82 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร MS ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ สปอร์ของ *P. coronarium* ที่เพาะในอาหารสูตร MA มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 83 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าที่เพาะในอาหารสูตร MS ไม่เติมน้ำตาลที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 62 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ และแม้สปอร์ของ *P. calomelanos* ในอาหารทั้งสองสูตร มีเปอร์เซ็นต์ความงอกโดยเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ 32 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตร MA และ 31 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตร MS ไม่เติมน้ำตาล แต่โดยภาพรวม สามารถสรุปได้ว่า อาหารสูตร MA มีความเหมาะสมต่อการใช้เพาะเลี้ยงเพื่อทดสอบความงอกของสปอร์เฟิร์นในการศึกษาครั้งนี้ อย่างไรก็ตาม Chang *et al*. (2010) กล่าวว่า มีรายงานหลายฉบับที่บ่งชี้ว่าการเติมน้ำตาลซูโครสลงในอาหารเพาะเลี้ยงสปอร์ มีผลยับยั้งการงอกของสปอร์และการพัฒนาต้นแกมีโตไฟท์ของเฟิร์นหลายชนิด ในขณะที่สปอร์เฟิร์นหลายชนิดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกและการพัฒนาของต้นแกมีโตไฟท์ดีขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมน้ำตาล ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถทดลองผลของน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการงอกของสปอร์ได้ เนื่องจากมีปริมาณสปอร์ไม่เพียงพอ แต่จากรายงานดังกล่าว แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ในการกระตุ้นการงอกของสปอร์เฟิร์นแต่ละชนิดด้วยสารอื่นๆ เช่น น้ำตาล เป็นต้น นอกจากนี้ Fernandez and Revilla (2003) ได้รวบรวมและวิเคราะห์งานวิจัยการเพาะเลี้ยงเฟิร์นประดับในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าชนิด ปริมาณ และความเข้มข้นของธาตุอาหาร แหล่งของธาตุไนโตรเจน แหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ แสง ค่าความเป็นกรดด่าง และค่าความดันออสโมติกของอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับการเพาะสปอร์แต่ละชนิดมีความผันแปรอย่างมาก จึงควรมีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเฟิร์นแต่ละชนิดเพิ่มเติมต่อไป

จากการวิเคราะห์ข้อมูล เห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ *B. orientale* และ *P. calomelanos* มีความแปรปรวนสูง โดยในการทดลองเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MA และ MS ที่ไม่เติมน้ำตาล *B. orientale* มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V.) 34.71 *P. calomelanos* มีค่า C.V. 12.48 และ 10.84 ในการทดลองเปรียบเทียบอาหารสูตร MA กับ MS เติมน้ำตาล ซึ่งความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ *B. orientale* มีข้อสังเกตคือ ในระหว่างเพาะเลี้ยงสปอร์ของ *B. orientale* เกิดการปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ แม้การปนเปื้อนจะขยายตัวช้าเนื่องจากเป็นการเพาะในอาหารที่ไม่มีน้ำตาล ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงจนครบกำหนดนับเปอร์เซ็นต์ความงอกได้ แต่คาดว่าการปนเปื้อนเชื้อราดังกล่าวส่งผลให้ความงอกของสปอร์มีความแปรปรวนสูง จึงควรศึกษาขั้นตอนก่อนการเก็บรักษาสปอร์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ส่วน *P. calomelanos* พบปัญหาสปอร์ถูกฟอกขาวในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ จึงได้ศึกษาหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม ดังผลการทดลองข้อ 8.3

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเฟิร์นแต่ละชนิด ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MA และ MS เติมน้ำตาล

ชนิดเฟิร์น	Treatment	Means	Diff	Mean	C.V.

C. barometz	MA	88	7**	85	3.82
	MS+Sucrose	81			
P. calomelanos	MA	21	8**	17	10.84
	MS+Sucrose	13			
P. coronarium	MA	88	30**	73	6.92
	MS+Sucrose	58			

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเฟิร์นแต่ละชนิด ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MA และ MS ไม่เติมน้ำตาล

ชนิดเฟิร์น	Treatment	Means	Diff	Mean	C.V.
B. orientale	MA	14	9*	9	34.71
	MS	4			
C. barometz	MA	93	11*	88	7.84
	MS	82			
P. calomelanos	MA	32	1^{ns}	31	12.48
	MS	31			
P. coronarium	MA	83	21**	73	9.47
	MS	62			

3. ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อสปอร์เฟิร์น 3 ชนิด

ผลการทดลองพบว่า การฟอกสปอร์ด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร เป็นเวลา 5 10 และ 15 นาที สปอร์ของ *B. sinensis* ไม่มีลักษณะซีดหรือถูกฟอกขาวในทุกกรรมวิธี และไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ในขณะที่สปอร์ *D. esculentum* ที่ฟอกด้วยสารละลายทุกความเข้มข้น ด้วยเวลา 2 นาที มีลักษณะสมบูรณ์ ไม่ถูกฟอกขาว เมื่อเพิ่มระยะเวลาการฟอกเป็น 5 นาที พบว่าสปอร์ถูกฟอกขาวในทุกความเข้มข้น และเมื่อเพิ่มเวลาฟอกเป็น 10 นาที พบว่าสปอร์ถูกฟอกขาวและมีลักษณะเหี่ยวในทุกความเข้มข้น และพบการปนเปื้อนเชื้อราจากการฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งอาจเกิดจากความสะอาดที่ไม่สม่ำเสมอของตัวอย่างตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมก่อนการเก็บรักษาสปอร์ ทั้งนี้ ไม่พบการงอกของสปอร์เฟิร์นทั้งสองชนิดในทุกกรรมวิธี ซึ่งมี

ข้อสังเกตว่า เฟิร์นทั้งสองชนิดในธรรมชาติมีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการงอกต้นใหม่จากลำต้นที่ทอดเลื้อยใต้ดิน อย่างไรก็ตาม มีรายงานการเพาะเลี้ยงสปอร์ *D. esculentum* ได้สำเร็จด้วยอาหารเพาะเลี้ยงสูตรอื่น (Archana *et al*., 2013) จึงมีความเป็นไปได้ที่สูตรอาหารในการทดลองนี้ยังไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสปอร์เฟิร์นทั้งสองชนิด จึงควรมีการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมและปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของสปอร์เฟิร์นดังกล่าวต่อไป

ในส่วนเฟิร์น *P. calomelanos* พบว่า สปอร์ไม่ถูกฟอกขาวในทุกกรรมวิธี แต่ที่ความเข้มข้นของสารละลายคลอร็อกซ์ 1 พบการปนเปื้อนเชื้อรา 50 เปอร์เซ็นต์ในทุกระยะเวลาการฟอก และปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ในการฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ในขณะที่การฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งสองความเข้มข้น ที่ระยะเวลาการฟอก 5 นาที พบการปนเปื้อน 50 เปอร์เซ็นต์ และที่ระยะเวลาการฟอก 10 นาที พบการปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ คาดว่าเกิดจากความสะอาดที่ไม่สม่ำเสมอของตัวอย่างตั้งแต่ขั้นตอนก่อนการเก็บรักษาสปอร์ จึงควรศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บตัวอย่างและการทำความสะอาดสปอร์เฟิร์นที่มีประสิทธิภาพต่อไป และเนื่องจากพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ จึงไม่สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฟอกฆ่าเชื้อกรรมวิธีต่างๆที่มีต่อความงอกของสปอร์ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของสารละลายคลอร็อกซ์ พบว่าที่ความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการปนเปื้อนเชื้อของสปอร์ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้การฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเวลา 10 นาที เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และสอดคล้องกับระยะเวลาการฟอกของสปอร์เฟิร์นอีก 3 ชนิด เพื่อป้องกันความสับสนและความผิดพลาดในการปฏิบัติงานทดลอง

4. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นแต่ละชนิด

จากผลการทดลองพบว่า สปอร์เฟิร์นสองชนิดคือ *B. sinensis* และ *D. esculentum* ไม่งอกในอาหารทุกสูตรที่มีการศึกษา จึงไม่สามารถศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นทั้งสองชนิดได้ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของสปอร์มีหลายปัจจัย จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อให้ได้วิธีการเก็บรักษา รวมถึงวิธีการเพาะเพื่อทดสอบความงอก และวิธีปลูกฟื้นฟูที่เหมาะสมสำหรับเฟิร์นแต่ละชนิดต่อไป สำหรับเฟิร์นอีก 4 ชนิดนั้น มีผลการทดลองดังต่อไปนี้

1) *Blechnum orientale*

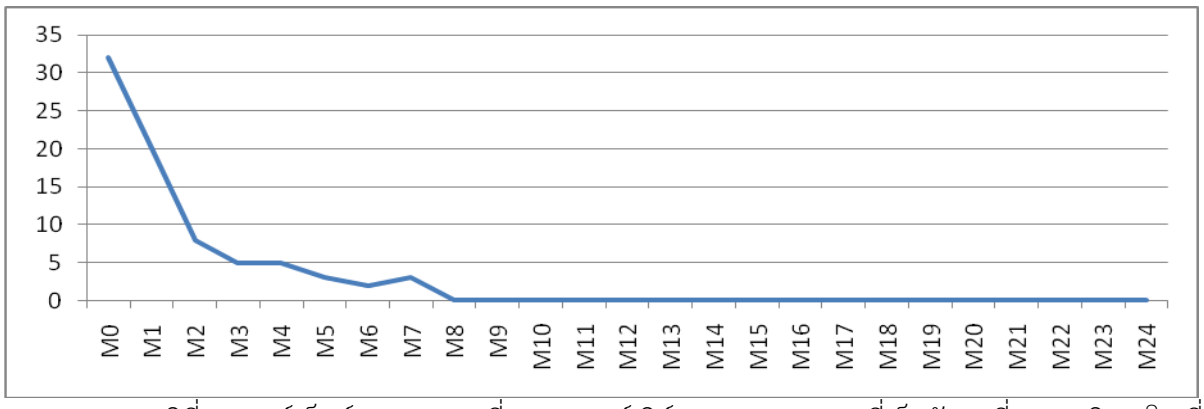
จากการทดลองพบว่า ไม่สามารถนำเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ *B. orientale* ในแต่ละการทดลองย่อยที่แยกตามอุณหภูมิการเก็บรักษา มาเปรียบเทียบเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาได้ เนื่องจากมีความแปรปรวนของแต่ละการทดลองตามผลการวิเคราะห์ Barlett's test for Homogeneity of Varieances มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (Chi-Square = 37.02) จึงได้แยกวิเคราะห์ผลการทดลองเป็น 3 การทดลองย่อย โดยการทดลองย่อยที่เก็บรักษาสปอร์ที่อุณหภูมิ 25°ซ พบว่าอายุการเก็บรักษามีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99

เปอร์เซ็นต์ โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ลดลงทุกเดือน จนกระทั่งเดือนที่ 8 สปอร์ไม่มีความงอกและไม่พบการงอกของสปอร์อีกจนครบกำหนดการทดลองคือ 24 เดือน (ตารางที่ 3 แผนภูมิที่ 1)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *B. orientale* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนการเก็บรักษา) ถึง 7 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย
0	32 a
1	20 b
2	8 c
3	5 cd
4	5 cd
5	3 cd
6	2 d
7	3 cd
Diff	20.88**
Mean	10
C.V.	17.14

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอายุการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



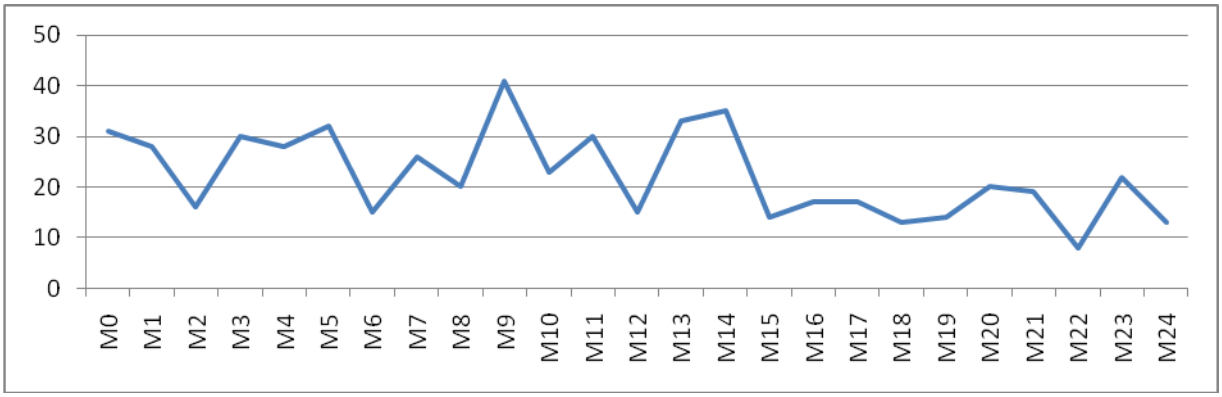
แผนภูมิที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *B. orientale* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°ซ ที่อ า ยุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน (M0 – M24)

การเก็บรักษาสปอร์ที่อุณหภูมิ 5 °ซ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ โดยความงอกของสปอร์มีแนวโน้มลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4 แผนภูมิที่ 2)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *B. orientale* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย
0	31 a-e	9	41 a	18	13 gh
1	28 a-g	10	23 a-g	19	14 e-h
2	16 c-h	11	30 a-f	20	20 b-h
3	30 a-f	12	15 d-h	21	19 b-h
4	28 a-g	13	33 abc	22	8 h
5	32 a-d	14	35 ab	23	22 b-h
6	15 d-h	15	14 fgh	24	13 gh
7	26 a-g	16	17 b-h		
8	20 b-h	17	17 c-h		
Diff	2.96**				
Mean	22				
C.V.	17.62				

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอายุการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



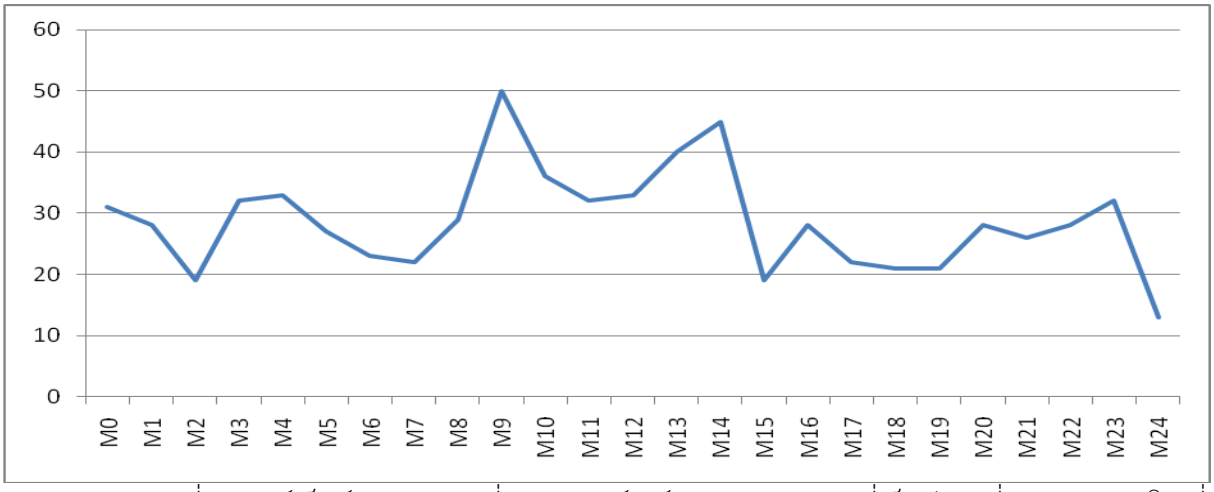
<u>แผนภูมิที่ 2</u> เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *B. orientale* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°ซ ที่อ า ยุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน (M0 – M24)

การเก็บรักษาสปอร์ที่อุณหภูมิ -10 °ซ พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ (ตารางที่ 5 แผนภูมิที่ 3) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิ -10 °ซ สามารถชะลอการเสื่อมความงอกของสปอร์ *B. orientale* และมีแนวโน้มเป็นอุณหภูมิการเก็บรักษาที่เหมาะสมกว่า 25 และ 5 °ซ

<u>ตารางที่ 5</u> เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *B. orientale* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย
0	31 a-d	9	50 a	18	21 bcd
1	28 a-d	10	36 a-d	19	21 bcd
2	19 cd	11	32 a-d	20	28 a-d
3	32 a-d	12	33 a-d	21	26 a-d
4	33 a-d	13	40 abc	22	28 a-d
5	27 a-d	14	45 ab	23	32 a-d
6	23 bcd	15	19 cd	24	13 d
7	22 bcd	16	28 a-d		
8	29 a-d	17	22 bcd		
Diff	1.38 ns				
Mean	29				
C.V.	19.95				

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอายุการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



แผนภูมิที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *B. orientale* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน (M0 – M24)

จากผลการทดลองทั้งสามการทดลองย่อย พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ *B. orientale* เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°ซ มีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ และมีเปอร์เซ็นความงอกเฉลี่ยสูงสุดคือ 29 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°ซ ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยต่ำกว่า คือ 22 เปอร์เซ็นต์ และความงอกมีการลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นอุณหภูมิ –10°ซ จึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาสปอร์ชนิดนี้ อย่างไรก็ตาม ในการเพาะเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอกสปอร์ *B. orientale* พบปัญหาการปนเปื้อนเชื้อราในทุกตัวอย่าง แม้การเชื้อราที่พบมีการกระจายค่อนข้างช้า ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงได้จนครบกำหนดนับความงอกที่ 40 วันหลังเพาะ แต่การปนเปื้อนดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลการทดลองมีความแปรปรวนสูง ดังที่แสดงด้วยค่า C.V. คือ 17.14 17.62 และ 19.95 เปอร์เซ็นต์ ในสปอร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10°C ตามลำดับ คาดว่าเกิดจากลักษณะของซอรัสที่มีเยื่ออินดูเซียมเป็นแถบยาว มีแนวเปิดหันเข้าสู่เส้นกลางใบ ทำให้มีลักษณะเป็นร่องอับ เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจะต้องศึกษาวิธีการเก็บรวบรวมสปอร์และวิธีฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพต่อไป

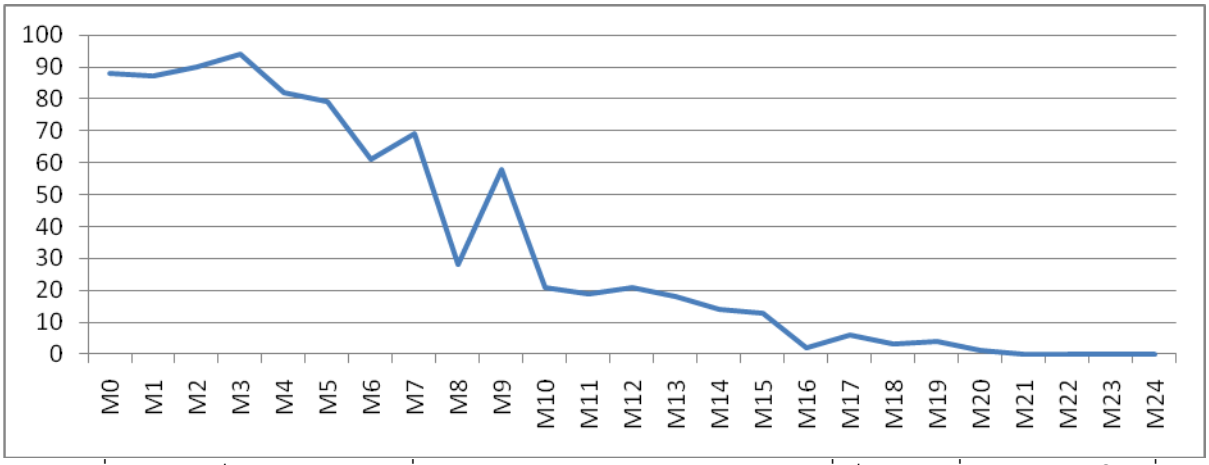
2) Cibotium barometz

จากผลการทดลองพบว่า ไม่สามารถเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆได้ เนื่องจากผลการวิเคราะห์ Barlett's test for Homogeneity of Varieances แสดงให้เห็นว่าการทดลองย่อยทั้งสามการทดลอง มีความแปรปรวนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (Chi-Square = 10.46) จึงแยกวิเคราะห์ผลการทดลองตามอุณหภูมิการเก็บรักษา โดยพบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์ *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C แต่ละอายุการเก็บรักษา มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6) โดยมีแนวโน้มลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น (แผนภูมิที่ 4)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย
0	88 a	9	58 bc	18	3 gh
1	87 a	10	21 de	19	4 fgh
2	90 a	11	19 de	20	1 h
3	94 a	12	21 de	21	0 h
4	82 a	13	18 def	22	-
5	79 ab	14	14 d-g	23	-
6	61 bc	15	13 d-g	24	-
7	49 c	16	4 fgh		
8	28 d	17	6 e-h		
Diff	32.85**				
Mean	38				
C.V.	16.53				

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอายุการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



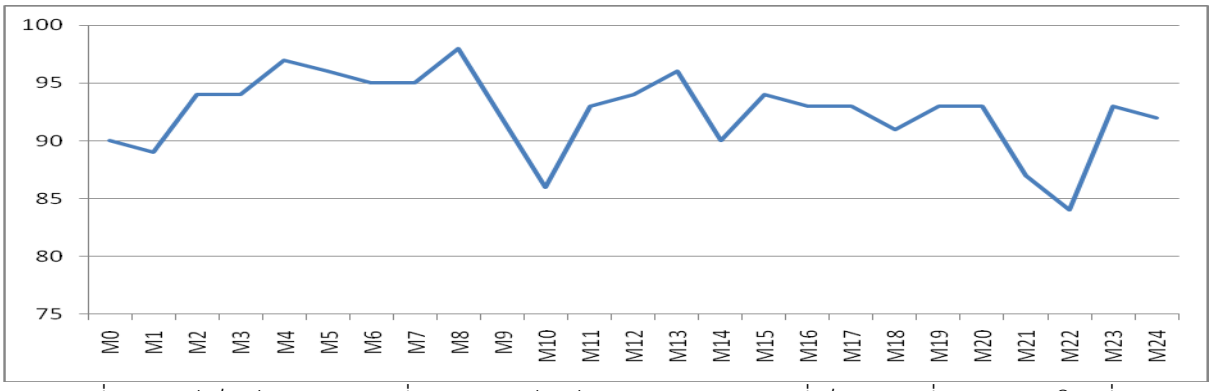
แผนภูมิที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน (M0 – M24)

การทดลองเก็บรักษาสปอร์ *C. barometz* ที่อุณหภูมิ 5°ซ เป็นเวลา 24 เดือน พบว่าไม่มีความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ (ตารางที่ 7 แผนภูมิที่ 5)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย
0	90 b-e	9	92 a-e	18	91 a-e
1	89 b-e	10	86 d-e	19	93 a-e
2	94 a-e	11	93 a-e	20	93 a-e
3	94 a-e	12	94 a-e	21	87 cde
4	97 ab	13	96 ab	22	84 e
5	96 abc	14	90 a-e	23	93 a-e
6	95 a-d	15	94 a-e	24	92 a-e
7	95 abc	16	93 a-e		
8	98 a	17	93 a-e		
Diff	1.64 ns				
Mean	92				
C.V.	5.21				

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอายุการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



แผนภูมิที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน (M0 – M24)

การทดลองเก็บรักษาสปอร์ *C. barometz* ที่อุณหภูมิ -10°C เป็นเวลา 24 เดือน พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์ *C. barometz* มีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (แผนภูมิที่ 6)

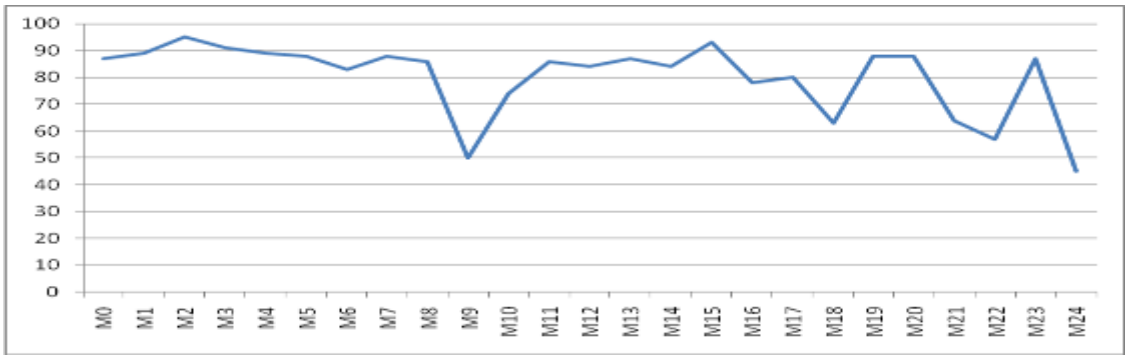
จากผลการทดลอง การเก็บรักษาสปอร์เฟิร์น *C. barometz* ที่อุณหภูมิ 25 5 และ -10°C มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 38 92 และ 80 ตามลำดับ ซึ่งการเก็บรักษาสปอร์ที่อุณหภูมิ 5°C พบว่าความงอกของสปอร์ตั้งแต่ก่อนเก็บรักษาจนครบอายุการเก็บรักษา มีแนวโน้มคงที่ และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 และ -10°C

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C ที่ อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	% ความงอกเฉลี่ย
0	87 abc	9	50 ef	18	63 c-f
1	89 ab	10	74 a-f	19	88 abc
2	95 a	11	86 abc	20	88 abc
3	91 a	12	84 a-d	21	64 b-f
4	89 abc	13	87 abc	22	57 def
5	88 abc	14	84 a-d	23	87 abc
6	83 a-d	15	93 a	24	45 f

7	88 abc	16	78 a-e		
8	86 abc	17	80 a-d		
Diff	2.90**				
Mean	80				
C.V.	11.91				

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอายุการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีDMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



แผนภูมิที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *C. barometz* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C ที่ อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน (M0 – M24)

3) *Pityrrogramma calomelanos*

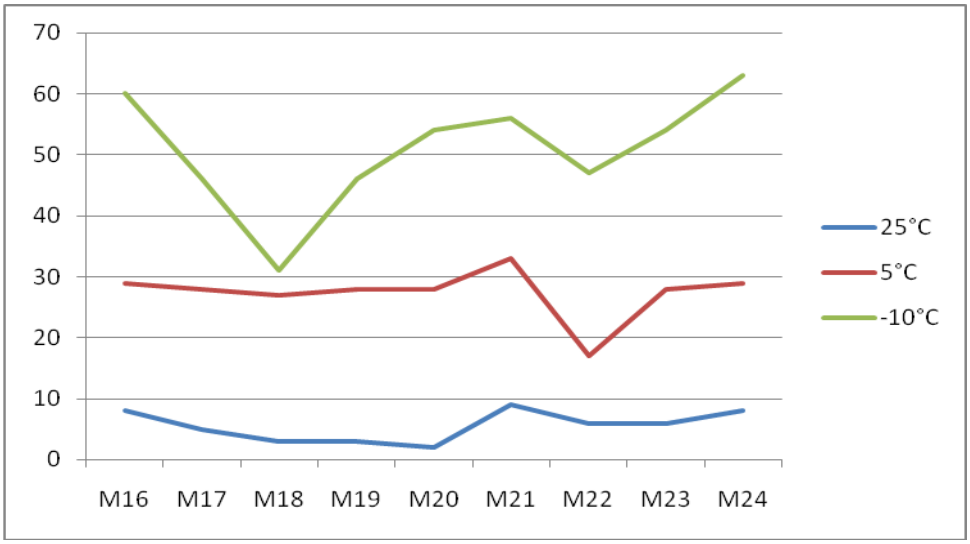
เนื่องจากการทดลองเพาะสปอร์ของ *P. calomelanos* ในช่วงต้น พบปัญหาการฟอกขาวของสปอร์ ทำให้ไม่สามารถเพาะทดสอบความงอกของสปอร์ช่วงก่อนการเก็บรักษาถึงอายุการเก็บรักษา 15 เดือนได้ จึงได้ทดสอบความงอกของสปอร์ที่เก็บรักษาเดือนที่ 16 ถึง 24 และเปรียบเทียบผลการทดลองด้วยวิธี Combined Analysis พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ *P. calomelanos* ในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษา มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดคือ 51 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 27 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 และ 25°C ตามลำดับ (ตารางที่ 9 แผนภูมิที่ 7) ดังนั้น หากอนุมานว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษาเท่ากันทุกการทดลอง สามารถสรุปได้ว่า การเก็บรักษาสปอร์ *P. calomelanos* ที่อุณหภูมิ -10°C สามารถรักษาความมีชีวิตของสปอร์เฟิร์นดังกล่าวได้ดีที่สุด

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *P. calomelanos* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10°C ที่อายุการเก็บรักษา 16 ถึง 24 เดือน

อุณหภูมิการ	อายุการเก็บรักษา (เดือน)	Mean (C)

เก็บรักษา	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
25°ซ	8 c	5 c	3 b	3 c	2 c	9 c	6 c	6 c	8 c	6
5°ซ	29 b	28 b	27 a	28 b	28 b	33 b	17 b	28 b	29 b	27
-10°ซ	60 a	46 a	31 a	46 a	54 a	56 a	47 a	54 a	63 a	51
Diff	Combine(C) = 526.31**				Treatment(T) = 6.19**			CxT = 2.39*		
Mean	28									
C.V.	9.97									

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



แผนภูมิที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *P. calomelanos* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10°C ที่อายุการเก็บรักษา 16 ถึง 24 เดือน

4) *Platycerium coronarium*

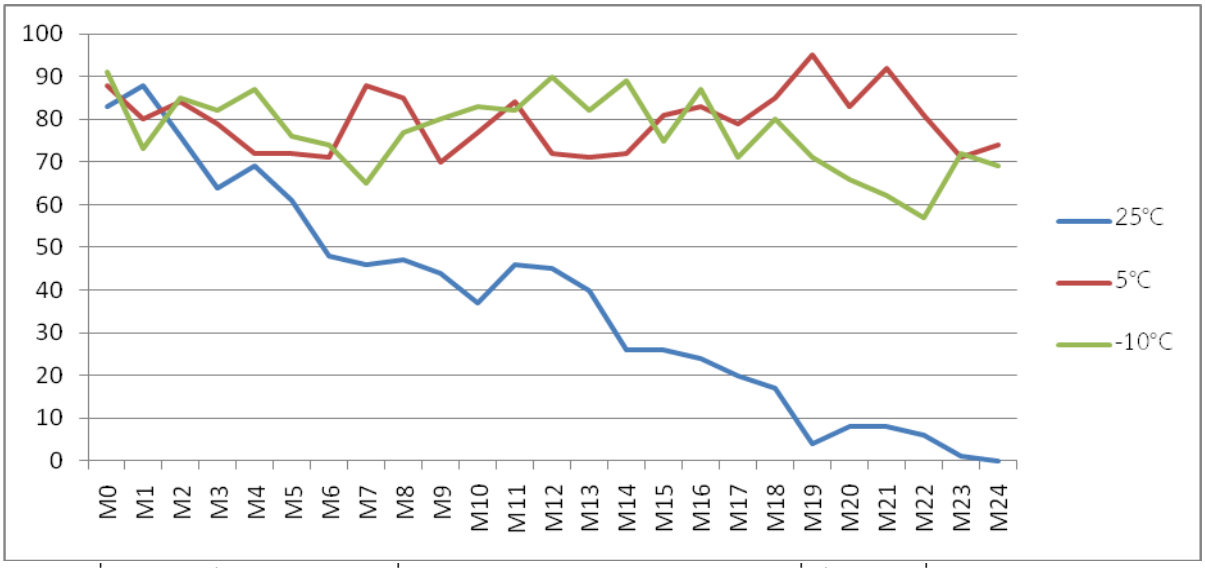
จากผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์ *P. coronarium* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ โดยสปอร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดคือ 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 77 และ 37 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา -10 และ 25°C ตามลำดับ (ตารางที่ 10) โดยสปอร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น คล้ายคลึงกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์มีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ในขณะที่สปอร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างคงที่จนครบอายุการเก็บรักษา 24 เดือน งอกของสปอร์มีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 10 แผนภูมิที่ 8)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *P. coronarium* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10 °C ที่อายุการเก็บรักษา 0 (ก่อนเก็บรักษา) ถึง 24 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	อุณหภูมิการเก็บรักษา			อายุการเก็บรักษา (เดือน)	อุณหภูมิการเก็บรักษา		
	25°C	5°C	-10°C		25°C	5°C	-10°C
0	83 a	88 a	91 a	13	40 b	71 a	82 a
1	88 a	80 a	73 a	14	26 c	72 b	89 a
2	76 a	84 a	85 a	15	26 b	81 a	75 a
3	64 b	79 ab	82 a	16	24 b	83 a	87 a
4	59 b	72 b	87 a	17	20 b	79 a	71 a
5	61 a	72 a	76 a	18	17 b	85 a	80 a
6	48 b	71 a	74 a	19	4 c	95 a	71 b
7	46 c	88 a	65 b	20	8 c	83 a	66 b
8	47 b	85 a	77 a	21	8 c	92 a	62 b
9	44 b	70 a	80 a	22	6 c	81 a	57 b
10	37 b	77 a	83 a	23	1 b	71 a	72 a
11	46 b	84 a	82 a	24	0 b	74 a	69 a

12	45 c	72 b	90 a				
Diff	Combine				440.86**		
	Treatment (T)				11.64**		
	CxT				8.59**		
Mean	25°C	37		CxT	65		
	5°C	80					
	-10°C	77					
C.V.	9.85						

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันของแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



แผนภูมิที่ 8 เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของสปอร์เฟิร์น *P. coronarium* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 5 และ -10 °C ที่อายุการเก็บรักษา 16 ถึง 24 เดือน

จากผลการทดลองพบว่า สปอร์เฟิร์น *C. barometz* และ *P. coronarium* ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5° C มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงสุด และไม่มีความแตกต่างระหว่างเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ ในขณะที่สปอร์ของ *B. orientale* และ *P. calomelanos* มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C แสดงให้เห็นอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์นทั้งสี่ชนิดในการทดลองนี้ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาและการลดความชื้นต่อการอนุรักษ์สปอร์ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ 10 ชนิดของ Ballesteros *et al.* (2012) พบว่า ผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาของเฟิร์นแต่ละชนิดมีความผันแปรอย่างมากแต่โดยรวมพบว่าสปอร์เฟิร์นมีคุณสมบัติการเก็บรักษาคล้ายเมล็ด Orthodox ที่อุณหภูมิปกติ และมีลักษณะคล้ายเมล็ด Intermediate ที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง และสามารถคงความมี

ชีวิตได้นานที่อุณหภูมิ -80 และ -196°C จึงคาดว่าการเก็บรักษาสปอร์ที่อุณหภูมิดังกล่าวจะเป็นวิธีอนุรักษ์สปอร์ที่มีประสิทธิภาพและใช้ได้กว้างขวาง ดังนั้น ในการศึกษาการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นสำหรับธนาคารเชื้อพันธุ์พืช จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาอุณหภูมิการเก็บรักษาที่เหมาะสมสำหรับเฟิร์นที่จะนำมาอนุรักษ์แต่ละชนิด อย่างไรก็ตาม ความชื้นในสปอร์ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา มีผลการศึกษาของ Ballesteros and Walters (2007) ที่ชี้ว่าปริมาณน้ำในสปอร์ที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา มีช่วงแคบและน้อยกว่าปริมาณน้ำในเมล็ดมาก และผลของความชื้นในสปอร์และวิธีการลดความชื้นที่มีต่อความมีชีวิตของสปอร์เฟิร์นแต่ละชนิดมีความผันแปรอย่างมาก การศึกษาผลของความชื้นในสปอร์ต่ออายุการเก็บรักษาจึงต้องอาศัยความพร้อมด้านต่างๆ และปริมาณสปอร์ที่เพียงพอที่จะทำการศึกษาได้ครอบคลุมและถูกต้องตามหลักสถิติ จึงควรมีการศึกษาเพื่อหาวิธีลดความชื้นและปริมาณความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์สปอร์แต่ละชนิดต่อไป

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้า ได้คัดเลือกเฟิร์นเพื่อใช้ในการทดลองจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ กูดดอย *Blechnum orientale* กูดบ้ง *Bolbitis sinensis* ว่านไก่น้อย *Cibotium barometz* ผักกูด *Diplazium esculentum* ก้านดำหลังเงิน *Pityrogramma calomelanos* และ ห่อข้าวสีดา *Platycerium coronarium* พบว่า สปอร์ *C. barometz* และ *P. coronarium* สามารถฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 10 นาทีได้ แต่ *B. orientale* พบการปนเปื้อนเชื้อราในทุกการทดลองแต่สามารถเพาะเลี้ยงจนครบกำหนดตรวจนับเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอกได้ ในขณะที่ *B. sinensis* และ *D. esculentum* สปอร์ไม่งอกในทุกการทดลองและพบปัญหาการฟอกฆ่าเชื้อที่ทำให้สปอร์ถูกทำลาย จึงควรศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อและการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับสปอร์เฟิร์นทั้งสองชนิดต่อไป ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับสปอร์ *P. calomelanos* คือ ฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที สำหรับสูตรและชนิดอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสปอร์เฟิร์นเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอกคืออาหารแข็งสูตร MA และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์น *C. barometz* และ *P. coronarium* คือ 5°C และ -10 °C สำหรับสปอร์ *B. orientale* และ *P. calomelanos* ทั้งนี้ เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของเฟิร์นแต่ละชนิดมีความผันแปรอย่างมาก จึงควรมีการศึกษาวิธีการฟอก วิธีการเพาะ สูตรอาหารสำหรับการ

เพาะหาเปอร์เซ็นต์ความงอก อุณหภูมิการเก็บรักษาและความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์เฟิร์นแต่ละชนิดต่อไป

ชื่อการทดลองที่ 12 : การจำแนกพืชวงศ์ขิง 29 ชนิดด้วยเทคนิค ISSR

Identification of 29 species of Zingiberaceae by ISSR Technique

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางศิริลักษณ์ อินทะวงศ์

ผู้ร่วมงาน : นางรัชนก ทองเวียง

นางสาวสุกัลยา ศิริฟองนุกูล

นางอรนุช เกษประเสริฐ

นายวรกิจ ห้องแซง

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

พืชวงศ์ขิง 24 ชนิด จาก 5 สกุล คือ 1) สกุล Zingiber จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ขิงแครง (KH) ไพลขาว (PK) ไพลชมพู (PC) ไพลดำ (PD) และไพลปลุกเสก (PS) 2) สกุล Alipinia จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ข่า (K) ข่าจีด (KJ) และข่าใหญ่ (KY) 3) สกุล Bosenbergia จำนวน 2 ชนิด คือ กระชายแกง (GG) และ กระชายแดง (GDG) 4) สกุล Curcuma จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นขาว (KK) ขมิ้นขาวปัดตลอด (KPT) ขมิ้นชัน (KC) ขมิ้นดำ (KD) ขมิ้นดำตาก (KDT) พญาว่าน (PYW) ว่านชักมดลูกตัวผู้ (WP) ว่านชักมดลูกตัวเมีย (WM) และว่านมหาเมฆ (WMM) และ 5) สกุล Kaempferia จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กระแจะจันทร์ (KJJ) กระชายดำ (GD) ว่านเฒ่าหนังแห้ง (TH) ว่านทิพยเนตร (WTN) และว่านดักแด้ (WD) ซึ่งได้ทำการปลูกรวบรวมไว้ในโรงเรือนอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง ของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) ได้นำมาทำการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค Inter-simple sequence repeat (*ISSR*) โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 16 ชนิด พบว่า ไพรเมอร์ 11 ชนิด คือ $(CAC)_3GC$, $(GAG)_3GC$, $(CA)_6GT$, $(CA)_6AG$, $(AG)_7AA$, $(GA)_6CC$, $(GA)_6GG$, $(AG)_7AAG$, $(AG)_8C$, $(CA)_9A$ และ $CCCC(GT)_6$ สามารถสังเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจนและตรวจนับจำนวนแถบได้ โดยไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 127 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 124 แถบ คิดเป็น 97.64%

เมื่อนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่ได้จาก *ISSR* ไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด มาวิเคราะห์แบบรวมเพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากเดนโดรแกรม โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่มแบบ Hierarchical Cluster Analysis พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชวงศ์ขิงในสกุล Alpinia, Bosenbergia, Curcuma และ Kaempferia ได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 81%, 94%, 89% และ 78% ตามลำดับ

บทนำ (Introduction)

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชสมุนไพรที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ เนื่องจากมีคุณสมบัติ หรือสรรพคุณดีเด่นในทางยาโดยหลายชนิดมีสาระสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ชะลอความแก่ ลดอาการเหนื่อยล้า และลดอาการปวด เป็นต้น (นันทวัน, 2541) ในปัจจุบันได้มีการใช้ประโยชน์จากพืชวงศ์ขิงอย่างกว้างขวาง ทั้งในด้านการรักษาโรค เช่น ว่านรางจืด ว่านงูเห่า เป็นต้น ด้านสมุนไพรเพื่อความงาม เช่น ไพล ขมิ้นชัน เป็นต้น และรับประทานเพื่อสุขภาพ เช่น ข่า กระชาย เป็นต้น จึงมีการปลูกขยายเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้น (ปริทรรศน์และชูศรี, 2542) อย่างไรก็ตาม จากการนำไปใช้ประโยชน์ที่ยุ่งยากกว่ายาแผนปัจจุบัน จึงทำให้พืชเหล่านี้อยู่ในสภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากมีการปลูกพืชอื่นทดแทน และจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมก็มีผลกระทบโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและการกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์นี้ นอกจากนี้ ชนิดที่ใช้ประโยชน์จากส่วนขยายพันธุ์โดยตรง เมื่อไม่มีการนำไปปลูกทดแทนหรือขยายต่อก็อาจส่งผลให้เกิดการสูญพันธุ์ได้ในที่สุด (อรนุช, 2550)

เมื่อเป็นเช่นนี้แล้วทางสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพจึงได้มีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ของพืชวงศ์ขิงในสภาพแปลงรวบรวมพันธุ์ (field germplasm) ได้จำนวน 95 ชนิด โดยแบ่งออกเป็นระดับสกุลได้ 8 สกุล คือ สกุล Zingiber 13 ชนิด สกุล Alpinia 13 ชนิด สกุล Curcuma 43 ชนิด สกุล Boescenbergia 4 ชนิด สกุล Kaempferia 17 ชนิด สกุล Amomum 3 ชนิด สกุล Hedychium 1 ชนิด และสกุล Globba 1 ชนิด ซึ่งได้มีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทางพฤกษศาสตร์ นิเวศวิทยา และสรรพคุณทางยาแล้ว

เนื่องจากพืชแต่ละชนิดของแต่ละสกุลมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เช่น ลักษณะใบ ทรงต้น และเหง้า ที่คล้ายคลึงกันโดยเฉพาะในระยะก่อนออกดอก ซึ่งอาจทำให้เกิดความสับสนในการจำแนกได้ ดังนั้น การใช้เทคนิคทางอณูชีวโมเลกุล เช่น RAPD, ISSR, AFLP เป็นต้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการจัดจำแนกพันธุ์พืชในระดับพันธุกรรม เพื่อนำมาเป็นข้อมูลสนับสนุนการจำแนกพืชในการนำไปจัดทำฐานพันธุกรรมเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์พืช หรือใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป (Bornet and Branchard, 2001)

Takano (2003) ใช้เทคนิค ISSR จำแนกพืชวงศ์ขิงชนิด *Globba leucantha* var. *bicolor* จำนวน 90 ต้น จาก 2 แหล่ง คือ Malay Peninsular และ Sumatra โดยพบ ISSR marker จำนวน 22 แถบ ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ดั้งเดิมและพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาแล้ว

Syamkumar and Sasikumar (2007) ใช้เทคนิค ISSR เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Curcuma* จำนวน 15 ชนิด พบว่า ไพรเมอร์ 8 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 91 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรม (polymorphic band) ทั้งหมด 87 แถบ เมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้งหมดมาวิเคราะห์ UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) พบว่า สามารถแบ่งพืชออกได้ 7 กลุ่ม ที่สอดคล้องกับลักษณะของพืชที่ปรากฏ

Chaveerach *et al*. (2008) ใช้เทคนิค ISSR หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Curcuma* ที่ได้รับการพัฒนาขึ้นใหม่ 2 ชนิด คือ C. *sattayasaii* A. Chaveerach & R. Sudmoon ที่มีลักษณะคล้ายกับ C. *longa* L. และ C. *zedoaroides* A. Chaveerach & T. Tanee ที่มีลักษณะคล้ายกับ C. *zedoaria* (Christm.) Roscoe โดยใช้ไพรเมอร์ 36 ชนิด พบว่า ไพรเมอร์ 16 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 947 แถบ ที่มีขนาด 200-2000 bp เมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้งหมดมาวิเคราะห์เดนโดรแกรมเพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่า สามารถแยกกลุ่ม *Curcuma* ทั้ง 4 ชนิดออกจากกันได้อย่างชัดเจน แม้ว่าลักษณะของพืชที่ปรากฏอาจมีความคล้ายคลึงกันก็ตาม

Wang *et al*. (2008) ศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชในกลุ่ม Curcuma ได้แก่ C. *phaeocaulis*, C. *kwangsiensis* และ C. *wenyujin* จำนวน 37 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค ISSR-PCR marker พบว่า ไพรเมอร์ 5 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 65 แถบ ซึ่งเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน 34 แถบ คิดเป็น 52.3% ของจำนวนแถบทั้งหมด และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบความแตกต่างทางพันธุกรรมของ Curcuma ทั้ง 3 กลุ่มค่อนข้างสูง โดยความแตกต่างดังกล่าว มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการกระจายตัวของ Curcuma แต่ละชนิด ในขณะที่พบความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืชภายในกลุ่มค่อนข้างน้อย

Ming *et al*. (2009) วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *Curcuma wenyujin* จำนวน 7 ตัวอย่าง ที่เก็บรวบรวมมาจากต่างแหล่งกัน โดยใช้เทคนิค ISSR พบว่า ไพรเมอร์ 11 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 82 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน 26 แถบ คิดเป็น 31.7 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนแถบทั้งหมด จากการวิเคราะห์เดนโดรแกรมเพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ C. *wenyujin* ทั้ง 7 ตัวอย่าง พบความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างน้อย

Das *et al*. (2011) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชในกลุ่ม *Curcuma* ที่กระจายตัวอยู่แถบตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศอินเดีย โดยใช้ PCR-based marker จำนวน 3 เทคนิค คือ RAPD, ISSR และ AFLP จากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 12, 19 และ 4 ชนิด ตามลำดับ พบว่า เทคนิค ISSR สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันมากที่สุด คิดเป็น 98.55 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนแถบทั้งหมด ในขณะที่ RAPD และ AFLP สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันรองลงมา คือ 97.27 และ 93.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้งหมดมาวิเคราะห์ UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) พบว่า สามารถแบ่งกลุ่ม *Curcuma* ที่นำมาศึกษาออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยสามารถนำข้อมูลดังกล่าวนี้ไปสนับสนุนการปรับปรุงพันธุ์พืชกลุ่มนี้ได้

Parida *et al*. (2011) ประเมินลักษณะทางพันธุกรรมของข่า (*Alpinia galangal* L.) ที่ได้จากการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้ DNA based markers ที่ได้จากเทคนิค RAPD และ ISSR จากการใช้ random primer 30 ชนิด และ ISSR primer 13 ชนิด พบว่า random primer 12 ชนิด และ ISSR primer 9 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและตรวจนับได้ โดยพบว่าแถบดีเอ็นเอของต้นอ่อนที่ได้จากการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อทุกตัวอย่างเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน (monomorphic band) และเป็นแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกับต้นแม่ทุกประการ

Singh *et al*. (2012) ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้น (*Curcuma longa* L.) จำนวน 60 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค RAPD และ ISSR จากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 11 และ 6 ชนิด ตามลำดับ พบว่า เทคนิค ISSR สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันได้มากกว่าเทคนิค RAPD คือ 52 แถบ คิดเป็น 8.6 แถบต่อไพรเมอร์ หรือ 95.4 เปอร์เซ็นต์ และจากการนำข้อมูลการปรากฏแภบดีเอ็นเอมาวิเคราะห์เดนโดรแกรมเพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของขมิ้นทั้ง 60 ตัวอย่าง พบว่า มีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม 62 เปอร์เซ็นต์ และสามารถจำแนกขมิ้นตามแหล่งที่มาได้

Taheri *et al*. (2012) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *Curcuma alismatifolia* จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ Sweet Pink, Doi Tung 554, Chiang Mai Red, Chiang Mai Pink และ Kimono Pink โดยใช้เทคนิค ISSR จากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 16 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 139 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันสูงถึง 77 เปอร์เซ็นต์ จากการนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้งหมดมาวิเคราะห์ UPGMA พบว่า สามารถแยกพันธุ์ Doi Tung 554 ออกจากพันธุ์อื่นได้ที่ความแตกต่างทางพันธุกรรม 45 เปอร์เซ็นต์

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

<u>วัสดุอุปกรณ์</u>

1. ตัวอย่างพืช

ใช้ใบอ่อนของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด จาก 5 สกุล ที่ได้มีการปลูกรวบรวมไว้ในโรงเรือนอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง ของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) ดังนี้

1.1 สกุล Zingiber จำนวน 5 ชนิด ได้แก่

ภาพ 1 ขิงแครง (Z. *offcinale* Vern. Adrak)

ภาพ 2 ไพลขาว (Z. *kerrii* Craib)

ภาพ 3 ไพลชมพู (Z. *mekongense* Gagnep)

ภาพ 4 ไพลดำ (Z. *ottensii* Valeton)

ภาพ 5 ไพลปลูกเสก (Z. *montanum* Linkex)

1.2 สกุล Alpinia จำนวน 3 ชนิด ได้แก่

ภาพ 6 ข่า (A. *galangal* (Linn.) Sw.)

ภาพ 7 ข่าจืด (*Alpinia* sp.)

ภาพ 8 ข่าใหญ่ (A. *siamensis* K.Schum.)

1.3 สกุล Curcuma 9 ชนิด ได้แก่

ภาพ 9 ขมิ้นขาว (C. *parviflora* Wall.)

ภาพ 10 ขมิ้นขาวปัดตลอด (C. *roscoeana* Wall.)

ภาพ 11 ขมิ้นชัน (C. *longa* Linn.)

ภาพ 12 ขมิ้นดำ (C. *amrissima* Roscoe)

ภาพ 13 ขมิ้นดำตาก (*Curcuma* sp.)

ภาพ 14 พญาว่าน (*Curcuma* sp.)

ภาพ 15 ว่านชักมดลูกตัวผู้ (C. *xanthorrhiza* Roxb.)

ภาพ 16 ว่านชักมดลูกตัวเมีย (C. *comosa* Roxb.)

ภาพ 17 ว่านมหาเมฆ (C. *aeruginosa* Roxb.)

1.4 สกุล Boesenbergia 2 ชนิด ได้แก่

ภาพ 18 กระชายแกง (B. pandurata Holtt.)

ภาพ 19 กระชายแดง (*Boesenbergia* cf. *rotunda* (L.) Mansf.)

1.5 สกุล Kaempferia 5 ชนิด ได้แก่

ภาพ 20 กระแจะจันทร์ (*Kaemferia* sp.)

ภาพ 21 กระชายดำ (K. *parviflora* Wall. Ex Baker)

ภาพ 22 ว่านเฒ่าหนังแห้ง (K. *angustifolia* Roscoe)

ภาพ 23 ว่านทิพยเนตร (K. *rotunda* L.)

ภาพ 24 ว่านดักแด้ (*Kaemferia* sp.)

2. โกร่งบด
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง (VSMC-13 mini-Centrifuge ยี่ห้อ Shelton บริษัท กิบไทย จำกัด)
4. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง (PCR System 9700 ยี่ห้อ Gene Amp บริษัท Applied Biosystems)
5. เครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าชนิดแนวนอน (Mupid-exu Electrophoresis System ยี่ห้อ Advance บริษัท Advance จำกัด)
6. เตาไมโครเวฟ
7. ตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส
8. ตู้ดูดไอสารเคมี (ยี่ห้อ Captair บริษัท ธีระเทรดดิ้ง จำกัด)

9. เครื่องถ่ายภาพและวิเคราะห์สารพันธุกรรม (Gel documentation) (ยี่ห้อ BioRad Gel Doc 2000 รุ่น S75S/01120 บริษัท Bio-Rad Laboration จำกัด)

10. เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (Micropipette) ขนาด 1000, 200, 100, 20, 10, และ 2 ไมโครลิตร

11. หลอดทดลอง (Microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

12. ไมโครปิเปตต์ทิป (Micropipette tip) ขนาด 1000, 200, และ 10 ไมโครลิตร

13. หลอดพีซีอาร์ (Thin-walled PCR tube) ขนาด 0.2 มิลลิลิตร

14. กระดาษพิมพ์ผลจากความร้อน (Thermal paper)

<u>สารเคมี</u>

1. น้ำยาสกัดดีเอ็นเอ DNAzol ES (Extra Strength) reagent
2. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
3. เอทานอล (Absolute alcohol)
4. ทีอี บัฟเฟอร์ (TE buffer)
5. ทีบีอี บัฟเฟอร์ เข้มข้น 10 เท่า (10× TBE buffer)
6. อะกาโรส เจล (Agarose gel)
7. น้ำกลั่นสำหรับทำพีซีอาร์ (PCR distilled water)
8. ชุด *I*-Taq™ DNA Polymerase (iNtRON Biotechnology, Inc.) ประกอบด้วย
   - *I*-Taq™ DNA Polymerase
   - 10× PCR buffer (w/20mM $MgCl_2$)
   - 10× $MgCl_2$ free PCR buffer
   - 10mM dNTPs (2.5mM/each)
   - 25mM $MgCl_2$
9. ไพรเมอร์
10. 6× loading Dye (Fermentas Life Science, Thermo Fisher Scienctific Inc.)
11. เอธิเดียม โบรไมด์ ethidium bromide

ล้างตัวอย่างใบอ่อนพืชให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ DNAzol ES (Extra Strength) reagent จากนั้นปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอให้ได้ 5 ng/µl โดยใช้ 1.0% agarose gel electrophoresis ใน 1× TBE buffer จะได้ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ที่พร้อมสำหรับนำไปเป็นส่วนผสมของปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR reaction)

2. เตรียม reaction mixture ปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วย DNA template 5 ng/µl, 1× PCR buffer, $MgCl_2$ 2 mM, 2 µM dNTPs, 0.5 µM primer, 1.25 unit *Taq* DNA polymerase และน้ำกลั่น

3. นำ reaction mixture ที่ได้ไปเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยาพีซีอาร์ตามวิธีการของ Chaveerach *et al*. (2008) ดังนี้ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 3 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย อุณหภูมิ 92 องศาเซลเซียส 1 นาที 45-60 องศาเซลเซียส 2 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 35 รอบ และ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 5 นาที จำนวน 1 รอบ โดยใช้ ISSR ไพรเมอร์ จำนวน 16 ชนิด ที่มีอุณหภูมิในช่วง annealing แตกต่างกัน (ตาราง 1) จะได้ผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ออกมา

ตาราง 1 ISSR ไพรเมอร์ จำนวน 16 ชนิด ที่ใช้ในการทดลอง

Annealing temperature (°C)	No.	Primer sequence
45	1	$(CAC)_3GC$
	2	$(GAG)_3GC$
49	1	$(CA)_6AC$
	2	$(CA)_6GT$
	3	$(CA)_6AG$
52	1	$(AG)_7AA$
	2	$(GA)_6CC$
	3	$(GA)_6GG$
	4	$(GT)_6CC$
55	1	$(AG)_7AAC$
	2	$(AG)_7AAG$
	3	$(AG)_8T$
	4	$(GACA)_4$
58	1	$(AG)_8C$
	2	$(CA)_9A$
60	1	$CCCC(GT)_6$

4. นำ PCR product ที่ได้จากข้อ 3. ไปผสมกับ 6× loading dye แล้วนำไปทำ 1.8% agarose gel electrophoresis ใน 1× TBE buffer ภายใต้ความศักย์ไฟฟ้า 50 โวลต์ นาน 90 นาที (หรือให้แถบสีอยู่เหนือ

ขอบล่างของเจลประมาณ 0.5 นิ้ว) จากนั้นนำแผ่นเจลไปย้อมด้วย ethidium bromide เข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปบันทึกภาพภายใต้แสง UV โดยใช้ gel documentation

5. วิเคราะห์ข้อมูลโดยการตรวจดูจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ ตำแหน่งการปรากฏและไม่ปรากฏแถบในลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิงแต่ละชนิดที่ได้จากแต่ละไพรเมอร์ จากนั้น นำมาประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่มแบบ Hierarchical Cluster Analysis

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

การทดลองนี้เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2554 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2556 โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอณูชีวโมเลกุล กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ (บางเขน) และอาคารปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (GMO) กรมวิชาการเกษตร บางเขน

ผลการวิจัย (Results)

การสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด จาก 5 สกุล คือ 1) สกุล Zingiber จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ขิงแครง (KH) ไพลขาว (PK) ไพลชมพู (PC) ไพลดำ (PD) และไพลปลุกเสก (PS) 2) สกุล Alipinia จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ข่า (K) ข่าจืด (KJ) และข่าใหญ่ (KY) 3) สกุล Bosenbergia จำนวน 2 ชนิด คือ กระชายแกง (GG) และ กระชายแดง (GDG) 4) สกุล Curcuma จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นขาว (KK) ขมิ้นขาวปัดตลอด (KPT) ขมิ้นชัน (KC) ขมิ้นดำ (KD) ขมิ้นดำตาก (KDT) พญาว่าน (PYW) ว่านชักมดลูกตัวผู้ (WP) ว่านชักมดลูกตัวเมีย (WM) และว่านมหาเมฆ (WMM) และ 5) สกุล Kaempferia จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กระแจะจันทร์ (KJJ) กระชายดำ (GD) ว่านเฒ่าหนังแห้ง (TH) ว่านทิพยเนตร (WTN) และว่านดักแด้ (WD) ที่ได้ทำการปลูกรวบรวมไว้ในโรงเรือนอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง ของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) โดยใช้ DNAzol ES (Extra Strength) reagent พบว่า สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ในปริมาณมากและมีคุณภาพดี แม้ใช้ตัวอย่างพืชในปริมาณน้อย

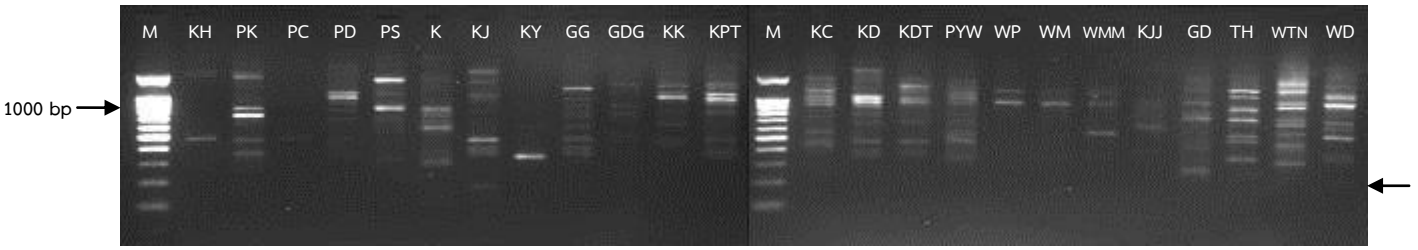
จากการใช้เทคนิค Inter-simple sequence repeat (*ISSR*) ในการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ $(CAC)_3GC$, $(GAG)_3GC$, $(CA)_6AC$, $(CA)_6GT$, $(CA)_6AG$, $(AG)_7AA$, $(GA)_6CC$, $(GA)_6GG$, $(GT)_6CC$, $(AG)_7AAC$, $(AG)_7AAG$, $(AG)_8T$, $(GACA)_4$, $(AG)_8C$, $CCCC(GT)_6$ และ $(CA)_9A$ พบว่า มีไพรเมอร์ 11 ชนิด คือ $(CAC)_3GC$, $(GAG)_3GC$, $(CA)_6GT$, $(CA)_6AG$, $(AG)_7AA$, $(GA)_6CC$, $(GA)_6GG$, $(AG)_7AAG$, $(AG)_8C$, $(CA)_9A$ และ $CCCC(GT)_6$ ที่สามารถสังเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจนและตรวจนับจำนวนแถบได้ โดยไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 127 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน (monomorphic band) จำนวน 3 แถบ และเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 124 แถบ คิดเป็น 97.64% ซึ่งสูงกว่าในรายงานการพบ polymorphic band ของพืชวงศ์ขิงกลุ่ม *Curcuma* โดยใช้เทคนิค ISSR ซึ่งจากการทดลองของ Ming *et al*. (2009), Wang *et al*. (2008), Taheri *et al*. (2012), Singh *et al*. (2012) และ Syamkumar and Sasikumar (2007) พบ polymorphic band 31.75%, 52.3%, 77%, 95.4% และ 95.6% ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม Das *et al*. (2011) พบ polymorphic band ของพืชวงศ์ขิงกลุ่ม *Curcuma* โดยใช้เทคนิค ISSR สูงถึง 98.55% ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว สนับสนุนรายงานของ Wolfe *et al*. (1998) ว่าเทคนิค ISSR เป็นเทคนิคที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันระหว่างชนิดของพืชเป็นจำนวนมาก ซึ่งเพียงพอต่อการนำมาศึกษาหาความแตกต่างทางพันธุกรรมของพืชชนิดนั้น ๆ ได้

นอกจากนี้ เมื่อทดลองปรับความเข้มข้นของ *Taq* DNA polymerase ใน reaction mixture โดยเพิ่มความเข้มข้นจาก 1.25 unit ตามวิธีการของ Chaveerach *et al*. (2008) เป็น 1.5 unit พบว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้มีความชัดเจนกว่าเดิม

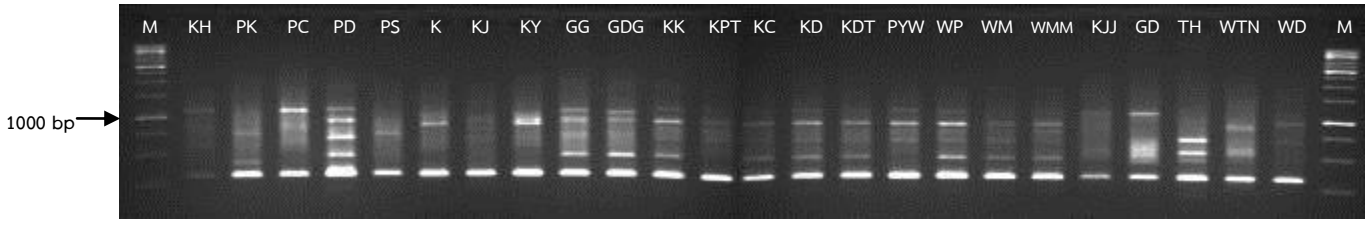
สำหรับการศึกษากับพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ไพรเมอร์ที่ให้ผลทั้ง 11 ชนิด ให้รายละเอียดของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันไปดังนี้

ไพรเมอร์ $(CAC)_3GC$ (ภาพ 25) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 15 แถบ คือ 3100, 3000, 2700, 2500, 2200, 2000, 1800, 1500, 1000, 600, 500, 350, 310, 300 และ 180 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด และพบแถบดีเอ็นเอจำเพาะ (specific band) ตำแหน่งที่ 180 bp ในข่าจืด (KJ)



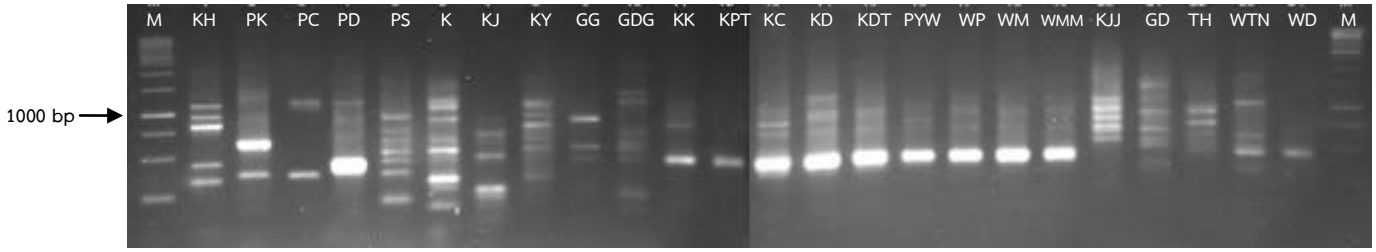
ภาพ 25 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(CAC)_3GC$

ไพรเมอร์ $(GAG)_3GC$ (ภาพ 26) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 7 แถบ เป็น monomorphic band จำนวน 1 แถบ คือ ตำแหน่งที่ 350 bp และเป็น polymorphic band จำนวน 6 แถบ คือ 1100, 1000, 850, 750, 600 และ 500 bp สำหรับไพรเมอร์นี้ จำนวนและตำแหน่งแถบดีเอ็นเอที่พบในว่านมหาเมฆ (WMM) นั้น ตรงกับรายงานของ Chaveerach *et al*. (2008) ที่รายงานว่า พบแถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ $(GAG)_3GC$ จำนวน 4 แถบ ในตำแหน่งที่ 1100, 1000, 750 และ 350 bp ในว่านมหาเมฆ ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Curcuma จึงสามารถนำมาใช้ยืนยันได้ว่า เทคนิค ISSR สามารถให้ผลแถบดีเอ็นเอที่เหมือนเดิมได้เมื่อมีการทำซ้ำ (Bornet and Branchard, 2001)



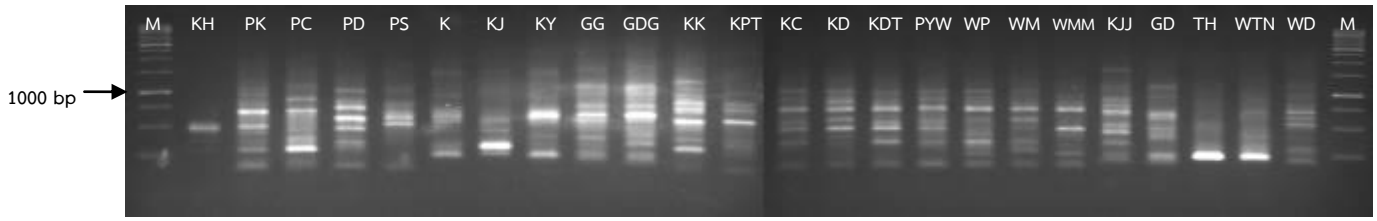
ภาพ 26 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(GAG)_3GC$

ไพรเมอร์ $(CA)_6GT$ (ภาพ 27) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 12 แถบ คือ 1500, 1200, 1000, 800, 750, 600, 550, 450, 350, 300, 250 และ 200 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด



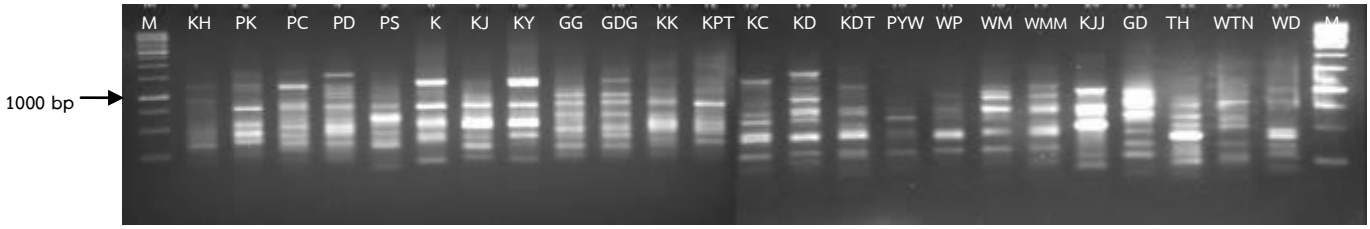
ภาพ 27 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(CA)_6GT$

ไพรเมอร์ $(CA)_6AG$ (ภาพ 28) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 11 แถบ คือ 1700, 1200, 1000, 900, 750, 600, 500, 400, 250, 200 และ 100 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด



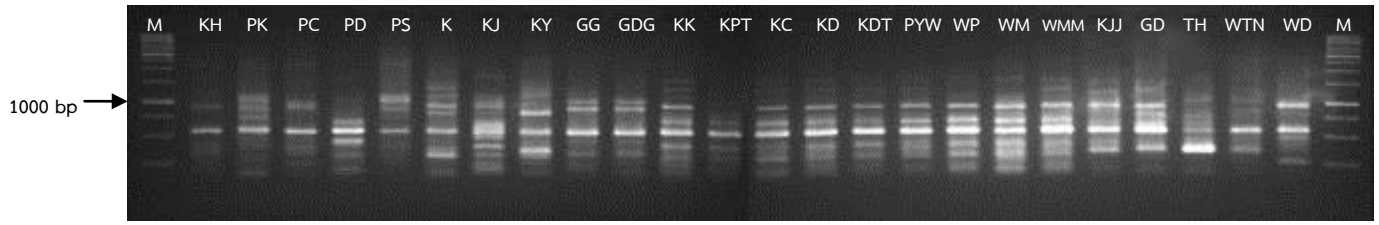
ภาพ 28 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(CA)_6AG$

ไพรเมอร์ $(AG)_7AA$ (ภาพ 29) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 11 แถบ คือ 1500, 1250, 1200, 1000, 800, 650, 500, 450, 400, 300 และ 250 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด



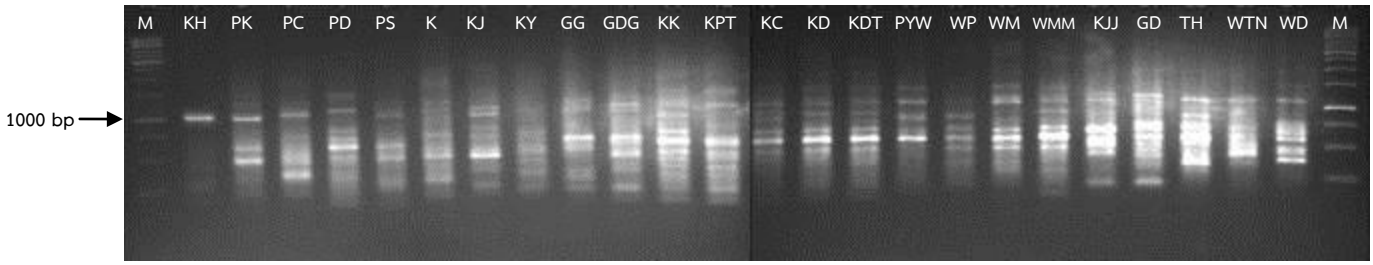
ภาพ 29 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(AG)_7AA$

ไพรเมอร์ $(GA)_6CC$ (ภาพ 30) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 10 แถบ เป็น monomorphic band จำนวน 1 แถบ คือ ตำแหน่งที่ 600 bp และเป็น polymorphic band จำนวน 9 แถบ คือ 2500, 2000, 1200, 1000, 850, 750, 400, 350 และ 200 bp



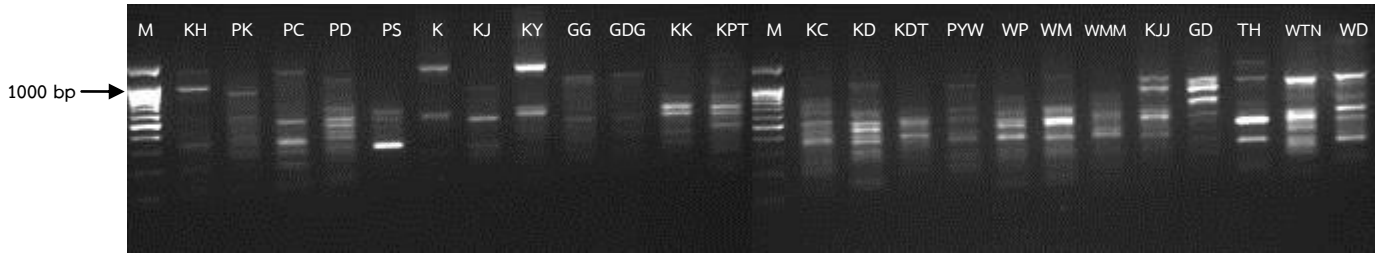
ภาพ 30 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(GA)_6CC$

ไพรเมอร์ $(GA)_6GG$ (ภาพ 31) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 11 แถบ คือ 1500, 1300, 1100, 1000, 900, 750, 650, 500, 400, 300 และ 200 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด



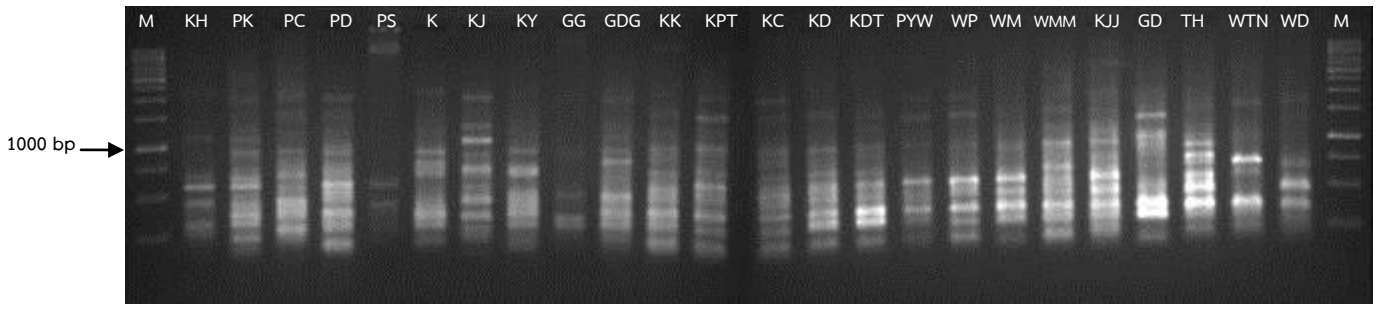
ภาพ 31 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(GA)_6GG$

ไพรเมอร์ $(AG)_7AAG$ (ภาพ 32) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 13 แถบ คือ 3000, 2500, 2000, 1500, 1000, 800, 700, 600, 500, 450, 350, 200 และ 150 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด



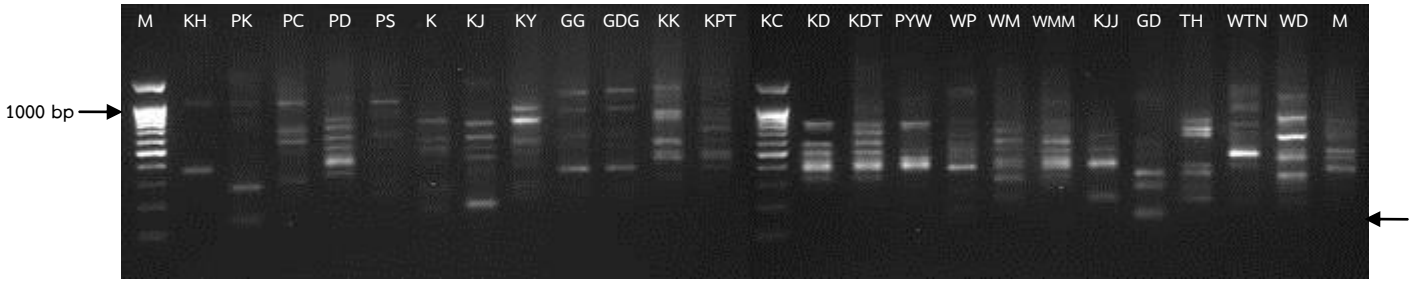
ภาพ 32 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(AG)_7AAG$

ไพรเมอร์ $(AG)_8C$ (ภาพ 33) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 13 แถบ เป็น monomorphic band จำนวน 1 แถบ คือ ตำแหน่งที่ 350 bp และเป็น polymorphic band จำนวน 12 แถบ คือ 2000, 1500, 1250, 1000, 900, 750, 700, 600, 500, 450, 250 และ 200 bp สำหรับไพรเมอร์นี้ จำนวนและตำแหน่งแถบดีเอ็นเอที่พบในว่านมหาเมฆ (WMM) นั้น ตรงกับรายงานของ Chaveerach *et al*. (2008) ที่รายงานว่าพบแถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ $(AG)_8C$ จำนวน 12 แถบ ในตำแหน่งที่ 2000, 1500, 1250, 1000, 900, 750, 700, 600, 500, 450 และ 250 bp ในว่านมหาเมฆ ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Curcuma



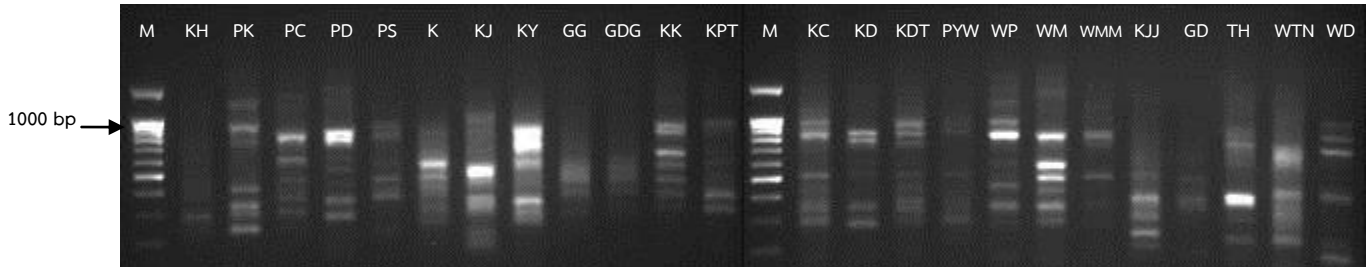
ภาพ 33 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(AG)_8C$

ไพรเมอร์ $(CA)_9A$ (ภาพ 34) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 14 แถบ คือ 1450, 1200, 1000, 900, 800, 650, 550, 500, 450, 400, 350, 300, 200 และ 150 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด และพบแถบดีเอ็นเอจำเพาะ (specific band) ตำแหน่งที่ 150 bp ในไพลขาว (PK)



ภาพ 34 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ $(CA)_9A$

ไพรเมอร์ $CCCC(GT)_6$ (ภาพ 35) สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 13 แถบ คือ 1250, 1000, 900, 700, 600, 500, 450, 400, 380, 350, 300, 250 และ 200 bp ซึ่งเป็น polymorphic band ทั้งหมด

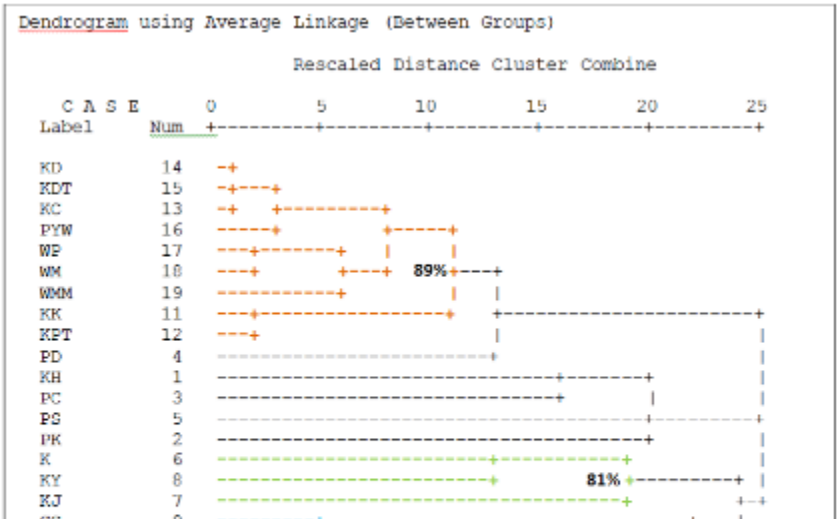


ภาพ 35 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้ ISSR ไพรเมอร์ CCCC(GT)$_6$

เมื่อนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่ได้จาก ISSR ไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด มาวิเคราะห์แบบรวมเพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากเดนโดรแกรม โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่มแบบ Hierarchical Cluster Analysis (ภาพ 36) พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชวงศ์ขิงออกตามสกุลได้ 4 สกุล ดังนี้

สกุล Alpinia ได้แก่ ข่า (K), ข่าใหญ่ (KY) และ ข่าจืด (KJ) จัดกลุ่มได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 81% สกุล Bosenbergia ได้แก่ กระชายแกง (GG) และ กระชายแดง (GDG) จัดกลุ่มได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 94% สกุล Curcuma ได้แก่ ขมิ้นขาว (KK), ขมิ้นขาวปัดตลอด (KPT), ขมิ้นชัน (KC), ขมิ้นดำ (KD), ขมิ้นดำตาก (KDT), พญาว่าน (PYW), ว่านชักมดลูกตัวผู้ (WP), ว่านชักมดลูกตัวเมีย (WM) และ ว่านมหาเมฆ (WMM) จัดกลุ่มได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 89% และสกุล Kaempferia ได้แก่ กระแจะจันทร์ (KJJ), กระชายดำ (GD), ว่านเฒ่าหนังแห้ง (TH), ว่านทิพยเนตร (WTN) และ ว่านดักแด้ (WD) จัดกลุ่มได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 78%

ในการทดลองนี้ไม่สามารถจัดพืชวงศ์ขิงในสกุล Zingiber ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ขิงแครง (KH), ไพลขาว (PK), ไพลชมพู (PC), ไพลดำ (PD) และ ไพลปลุกเสก (PS) ไว้ในกลุ่มเดียวกันได้ ซึ่งอาจเกิดจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมอันเนื่องมาจากถิ่นกำเนิด หรือลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางอย่าง ซึ่งอาจต้องใช้ไพรเมอร์ชนิดอื่นในการศึกษาเพื่อจำแนกพืชในสกุลนี้ต่อไป (Choudhury *et al*., 2001) อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองพบว่า ขิงแครง (KH), ไพลขาว (PK), ไพลชมพู (PC) และ ไพลปลุกเสก (PS) สามารถจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 80%



ภาพ 36 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่ได้จากการวิเคราะห์แบบรวมด้วยข้อมูลจาก ISSR ไพรเมอร์ จำนวน 11 ชนิด

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด จาก 5 สกุล คือ 1) สกุล Zingiber จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ขิงแครง (KH) ไพลขาว (PK) ไพลชมพู (PC) ไพลดำ (PD) และไพลปลุกเสก (PS) 2) สกุล Alipinia จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ข่า (K) ข่าจืด (KJ) และข่าใหญ่ (KY) 3) สกุล Bosenbergia จำนวน 2 ชนิด คือ กระชายแกง (GG) และ กระชายแดง (GDG) 4) สกุล Curcuma จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นขาว (KK) ขมิ้นขาวปัดตลอด (KPT) ขมิ้นชัน (KC) ขมิ้นดำ (KD) ขมิ้นดำตาก (KDT) พญาว่าน (PYW) ว่านชักมดลูกตัวผู้ (WP) ว่านชักมดลูกตัวเมีย (WM) และว่านมหาเมฆ (WMM) และ 5) สกุล Kaempferia จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กระแจะจันทร์ (KJJ) กระชายดำ (GD) ว่านเฒ่าหนังแห้ง (TH) ว่านทิพยเนตร (WTN) และว่านดักแด้ (WD) ซึ่งได้ทำการปลูกรวบรวมไว้ในโรงเรือนอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง ของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) ด้วยเทคนิค Inter-simple sequence repeat (*ISSR*) โดยใช้ *ISSR* ไพรเมอร์จำนวน 16 ชนิด พบว่า ISSR ไพรเมอร์ 11 ชนิด คือ $(CAC)_3GC$, $(GAG)_3GC$, $(CA)_6GT$, $(CA)_6AG$, $(AG)_7AA$, $(GA)_6CC$, $(GA)_6GG$, $(AG)_7AAG$, $(AG)_8C$, $(CA)_9A$ และ $CCCC(GT)_6$ สามารถสังเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจนและตรวจนับจำนวนแถบได้ โดยไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 127 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 124 แถบ คิดเป็น 97.64%

เมื่อนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่ได้จาก *ISSR* ไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด มาวิเคราะห์แบบรวมเพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากเดนโดรแกรม โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่ม

แบบ Hierarchical Cluster Analysis พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชวงศ์ขิงในสกุล Alpinia, Bosenbergia, Curcuma และ Kaempferia ได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 81%, 94%, 89% และ 78% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในการทดลองนี้ไม่สามารถจัดกลุ่มพืชวงศ์ขิงในสกุล Zingiber ได้ โดยสามารถนำผลการทดลองที่ได้นี้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อสนับสนุนการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช และการปรับปรุงพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่นำมาศึกษาต่อไป

ชื่อการทดลองที่ 13: ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

: Study on Technique for Seed Vigour Test on *Capsicum annuum* and *Capsicum flutescens* for Conservation in Genebank.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางกัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์[1]

ผู้ร่วมงาน : ดร .ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์[2]

นายรักชัย คุรุบรรเจิดจิต[3]

นางวิลาวัณย์ ใคร่ครวญ[4]

บทคัดย่อ

ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร โดยการทดสอบพริก 8 พันธุ์ ได้แก่ พริกชี้ฟ้า พจ.01, พริกชี้ฟ้า พจ.05, พริกชี้ฟ้า พจ. 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูผลใหญ่ลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2, พริกขี้หนูสวน Bird Chili วางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ โดย Main plot คือวิธีทดสอบความแข็งแรงและ sub plot คือเวลาที่ทำการเก็บรักษา (6ครั้ง) วิธีทดสอบความแข็งแรงมีดังนี้ 1) วิธีเร่งอายุด้วยน้ำกลั่น (Accelerated Aging Test, AAT) 2) วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุด้วยสารละลายอิ่มตัว (Saturated Salt Accelerated Aging Test, SSAAT) 3) วิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity Test (EC) 4) วิธี Controlled Deterioration Test (CD) 5) วิธีเพาะความงอกปกติเป็น control โดยการทดสอบความชื้นก่อนเก็บ ความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้น ทำการทดสอบความงอกด้วยวิธี Top of paper และความแข็งแรงด้วยวิธีทั้ง 5 วิธี ที่ห้องอุณหภูมิ 5°C, 25°C, -10°C 3 เดือนต่อครั้ง และทดสอบความงอกและความแข็งแรง 6 ครั้ง ครั้งที่1 พฤศจิกายน 2556, ครั้งที่ 2 มีนาคม 2557, ครั้งที่ 3 กรกฎาคม 2557, ครั้งที่ 4 พฤศจิกายน 2557, ครั้งที่ 5 มีนาคม2558 และครั้งที่ 6 กรกฎาคม 2558 ตามลำดับ

โดยสุ่มมาทดสอบแต่ละครั้งสำหรับการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งโดยวิธี vitrification ประมาณ 6 เดือน/ครั้ง ทดลองที่ห้องปฏิบัติการโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สำหรับผลการทดสอบเมล็ดพันธุ์พริกทั้ง 8 พันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ที่อุณหภูมิ 5°C, 25°C และ -10°C นั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆทั้ง 5 วิธีนั้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แม้เวลาผ่านไป พริกทั้ง 8 พันธุ์เปอร์เซ็นต์ความงอกส่วนใหญ่มีค่าลดลง พบว่าพริกมันดำมีความงอกดีมากแม้อุณหภูมิ 25°C สำหรับพันธุ์พริก พจ.01, พจ.05 และ พจ.07 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมีเปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มสูงทั้ง 3 พันธุ์ ในอุณหภูมิ 25°C แต่สำหรับอุณหภูมิ 5°C พบว่าพริก พจ.07 เปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มไม่สูงนัก (51-70%) พันธุ์ พจ.01 และ พจ.05 เมื่อเวลาผ่านไปยังมีความงอกที่ดีอยู่ (66-84%, 68-90% ตามลำดับ) และอุณหภูมิ -10°C เมื่อเวลาผ่านไป พจ.01 และ พจ.05 มีความงอกที่ดีอยู่ ----------

[1] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2] โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจาก พระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สวนจิตรลดา

[3] ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย

[4] สถาบันวิจัยพืชสวน

ในช่วง 35-93% ส่วน พจ.07 อยู่ในช่วง 51-77% และพบว่าพริกห้วยสีทนมีเปอร์เซ็นต์ความงอกตั้งแต่แรกเริ่มน้อยกว่าพันธุ์อื่น และค่าความแข็งแรงพบว่าทุกพันธุ์เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC ให้ค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ ในอุณหภูมิ 25°C ยกเว้นพันธุ์พิจิตร 05 ทดสอบด้วยวิธี CD มีค่ามากกว่าพันธุ์อื่นๆ สำหรับอุณหภูมิเก็บรักษาที่ 5°C พบว่าวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT มีค่าความแข็งแรงมากกว่าวิธีอื่นๆ สำหรับพันธุ์หัวเรือเบอร์

13 และพันธุ์เบิร์ดชิลลี่ เมื่อเวลาผ่านไป ทดสอบด้วยวิธี EC มีค่าความแข็งแรงมากที่สุด กล่าวโดยสรุปเมื่อเปรียบเทียบพบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพริกที่อุณหภูมิ 5°C, 25°C และ -10°C พบว่าส่วนใหญ่ วิธี EC และวิธี CD เมื่อเวลาผ่านไปให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง และเมื่อทดสอบความแข็งแรงเป็นไปในทำนองเดียวกันคือ เมื่อเวลาผ่านไปวิธีทดสอบ EC (ที่ 25°C) ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงในทุกพันธุ์ ยกเว้น พจ.05 วิธี CD ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงมากที่สุด สำหรับ 5°C วิธี EC และ AAT ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด อุณหภูมิ -10°C วิธี EC และ CD ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด สำหรับการทดสอบความนำไฟฟ้า เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าพริกมันดำมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำสุดในทุกอุณหภูมิ สำหรับวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในสภาพเยือกแข็ง โดยวิธี vitrification โดยบรรจุเมล็ดพริกใน cryotube แช่ใน loading solution เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปแช่สาร cryoprotectant นำไป prefreezing ที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ทำการทดสอบการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว พบว่าเมล็ดพริก 8 ตัวอย่างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาทดสอบหาช่วงเวลาในการแช่สาร loading solution เป็นเวลา 0, 10, 20 นาที เพื่อดึงน้ำภายในเซลล์ แล้วจึงนำไปแช่สารละลาย PVS2 เป็นเวลา 30 และ60 นาที พบว่าเมล็ดพริกที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลวมีอัตราการรอดชีวิตเป็น 100% ทุกการทดลองและนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวพบว่าเมล็ดพริกสามารถรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวได้ และสามารถนำออกไปปลูกภายนอกได้ การเก็บรักษาพันธุกรรมในสภาพเยือกแข็งเป็นทางเลือกหนึ่งในการเก็บรักษาเมล็ดพริก

Abstract

Study on Technique for seed vigour Test on *Capsicum annuum* (PJ01, PJ05, PJ07, Mondum, Huay Siton, Huareo no.13 and Superhot2) and *Capsicum frutescens* (Bird Chili) for conservation in DOA genebank. The Split plot design, 4 replications, main plot was seed vigour test and subplot was timing (November 2013, March 2014, July 2014, November 2014, March 2015, July 2015) were conducted in this experiment. The seed vigour test were 1. Accelerated Aging Test (AAT) 2. Saturated Salt Accelerated Aging Test (SSAAT), 3. Electrical Couductivity Test (EC) 4.Controlled Deterioration Test (CD) 5. Germination Test (Control). Moisture test (oven method), germination test and seed vigour test at the beginning were done. Top of paper was used in the germination test and seed vigour test (5methods). Collecting the seeds in 5°C, 25°C and -10°C conserved room of DOA Genebank, sampling for the germination test and seed vigour test every 3 months. It was found that the germination percentage and seed vigour (5methods) of 8 varieties of chili were significantly different at the 5% level by DMRT even the 6th test.

The Germination percentage has mostly decreased, Mondum have shown highly value of germination percentage even 25°C storage. PJ01, PJ05 and PJ07 have found that

the 1st test, the germination test is quite high in 25°C storage but PJ05 in 5°C storage the germination test was not high at 1st test (51-70%). The collected seeds PJ01 and PJ05 in 6th test, the germination percentage still have a good result (66-84% and 68-90%), respectively. For -10°C storage, in 6th test PJ01 and PJ05 was shown 35-93% of germination percentage and PJ07 was shown 51-77% of germination percentage. The germination percentage of Huay Siton was low at the at 1st test. For Seed vigour Test found that every varieties (by EC Test) were shown high value more than the others in 25°C storage excluding PJ05. For 5°C storage, AAT presented more vigour than the others. Huareo No13 and Bird chili in 6th test were shown that EC Method have the most vigorous. For the electrical conductivity test was found that Mondum has lowest in 5, 25, -10°C. It is concluded that EC and CD method appeared high in the germination percentage of conserved seed at 5°C, 25°C and -10°C in 6th test. And vigor test, EC at 25°C in 6th test give result high germination percentage in every samples (except PJ 05, CD is highest), for 5°C EC and AAT give result high in seed vigor, for -10°C EC and CD appeared high in seed vigor.

For the collecting the seed in -196°C in liquid Nitrogen (the experiment at The HRH Princess Maha Chakri Sirindton Plant Genetic Conservation Project (RSPG)) by the vitrification method, the seeds were packed in cryotube soaking in loading solution 20 minutes, soaked in cryoprotectant and then prefreezing at 0°C in 60 minutes and collected in LN. And then the germination test of 8 varieteis which through the process of cleaning the seeds, to find out the suitable time for soaking loading solution (0, 10,20 minutes for losing the water inside the cells), after that soaking PVS2 for 30 and 60 minutes, found that the seed which not soak in LN still germinate 100% in all and when collected the seeds in LN was found that the seed can survive and grow out for planting outside. The collecting the seeds in the LN was one of The PGR conservation.

บทนำ (Introduction)

พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญในชีวิตประจำวันของคนไทยและชาวเอเชียทั้งทางด้านเศรษฐกิจ และด้านสังคม สำหรับประเทศไทยซึ่งอนาคตมีแผนที่จะเป็นครัวของโลก พริกมีเนื้อที่เพาะปลูก 150,379ไร่ มีผลผลิต 46,166 ตัน ผลผลิตต่อไร่ถึง 307 กิโลกรัม ราคาที่เกษตรกรขายได้ 91.97 บาท/กิโลกรัม ซึ่งมีมูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ 4,246 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) งานในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร มีหน้าที่ในการเก็บรักษาและอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ซึ่งศักยภาพของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชมีการอนุรักษ์ในระยะปานกลาง(ห้องเก็บรักษาที่มี อุณหภูมิ 5 องศาเซนเซียส) และการอนุรักษ์ในระยะยาว(ห้องเก็บรักษาที่มีอุณหภูมิ -10 องศาเซนเซียส) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชในสภาพเยือกแข็ง เมล็ดเชื้อ

พันธุ์ที่เก็บรักษานั้นต้องมีคุณภาพดีที่สุดและต้องแข็งแรงที่สุดเพื่อจุดประสงค์ในการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตรและโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สวนจิตรลดา สำหรับเรื่องคุณภาพของเมล็ดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของลักษณะหลายประการซึ่งมีผลต่อการแสดงออกของเมล็ดและการแสดงออกของต้นที่สมบูรณ์ไม่ว่าจะด้านพันธุกรรม, กายภาพ และสรีรวิทยา รวมทั้งโรคและแมลง ถึงแม้ว่ามีหลายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องของคุณภาพเมล็ด งานด้านองค์ประกอบด้านกายภาพของเมล็ดมากขึ้น แต่การเน้นการศึกษาเกี่ยวกับความแข็งแรงของเมล็ด รวมทั้งพัฒนาวิธีวิเคราะห์ในการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพวกพืชผักยังมีความต้องการในรายละเอียดอีกมาก/งานอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในธนาคารเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะงานในธนาคารต้องการเก็บเมล็ดที่มีคุณภาพดีและแข็งแรงที่สุดนั่นคือ การแสดงออกของต้นอ่อนพืชที่สมบูรณ์ วิธีการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดนั้น มีเพียงบางวิธีที่เป็นสากลยอมรับ ถึงแม้ว่าวิธีการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดมีมากกว่า 60วิธีต่าง ๆ กัน แต่ ISTA สมาคมทดสอบความแข็งแรงมีวิธีที่เป็นมาตรฐานใช้อยู่ 9 วิธี (Hampton & Te Krony, 1995) ซึ่ง AOSA แนะนำ 7 วิธีทดสอบความแข็งแรงตั้งแต่ปี 1983 (พ.ศ.2526) ซึ่งวิธีที่ทั้ง ISTA และ AOSA ต่างยอมรับนั้นค่อนข้างจะเป็นวิธีเดียวกัน

สำหรับการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์นั้น อย่างแรกวิธีทดสอบความแข็งแรงบางวิธีดูลักษณะภายนอกของเมล็ด (การงอกของเมล็ด) หลังจากให้เมล็ดมีความเครียดในลักษณะต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิต่ำ และ การให้ความชื้น (Cold test), การให้อุณหภูมิสูงและความชื้นสัมพันธ์สูง (การเร่งอายุ Accelerated Aging) หรือให้เมล็ดมีน้ำมาก (Controlled deterioration) และตามด้วยการทดสอบความงอก อย่างที่สองความแข็งแรงสามารถประเมินในทันทีโดยผ่านกิจกรรมของเอ็นไซม์, การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในเซลเมมเบรน, อัตราการเจริญเติบโตของต้นอ่อนซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้จะแสดงออกถึงประสิทธิภาพในทางกายภาพของเมล็ดและสภาพทางกายภาพและความมีสุขภาพดีของเมล็ดด้วย การประเมินทางอ้อมของความสามารถของเซลเมมเบรน การวัดค่าการนำไฟฟ้าก็มีการใช้อยู่ในงานวิจัยการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ด ซึ่งวิธีเหล่านี้เป็นวิธีที่ยอมรับและเป็นสากล แต่รายละเอียดของวิธีต่าง ๆ ในแต่ละพืชยังคงต้องการงานวิจัยอยู่อีก พริกเป็นอีกพืชที่จัดเป็นพวกพืชผักที่มีการแสดงออกเป็นพวก orthodox seeds สามารถเก็บรักษาเมล็ดในธนาคารเมล็ดพันธุ์ได้ การศึกษาความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ หลังเร่งอายุ การวัดค่าการนำไฟฟ้า ซึ่งโดยมากมักนิยมวัดในพืชพวกถั่ว ซึ่ง ISTA ได้ทดสอบความใช้ได้ของรายละเอียดวิธีในถั่วลันเตา *(Pisum sativum)* ชื่อสามัญ garden pea และถั่วcommon bean *(Phaseolus vulgalis)* สำหรับวิธีเร่งอายุนั้นISTAทดสอบความใช้ได้ของวิธีในข้าวโพด สำหรับวิธีControlled Deterioration ทดสอบในพืชตระกูลกระหล่ำ (International Seed Testing Association, 2011) ดังนั้นจึงทำการศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้แก่ การวัดค่าการนำไฟฟ้า วิธีการเร่งอายุปกติ วิธีการเร่งอายุด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ วิธีการควบคุมสภาพให้แย่ลงของเมล็ดพริก ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกที่อุณหภูมิ 5°C, -10°C, 25°C และในสภาพเยือกแข็ง -196 °C

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

1. การเตรียมเมล็ดพันธุ์ที่จะนำมาทดสอบ

- นำเมล็ดพันธุ์พริกแบ่งเป็น2ส่วนมาเก็บรักษาไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตรและในธนาคารของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต

- นำเมล็ดพันธุ์พริกจากศูนย์วิจัยพืชสวน / เอกชนมาทำการศึกษาโดยจะทำการศึกษาพริกขี้หนูผลเล็กได้แก่1. พวกพริกชี้ฟ้า(*C.annuum*)เช่นพริกเหลือง,พริกมัน ,พริกหนุ่ม,พริกหยวก 2.พริกขี้หนูผลใหญ่ เช่นห้วยสีทน ,หัวเรือ3.พริกขี้หนูผลเล็กได้แก่พริกขี้หนูสวน,พริกกระเหรี่ยง(*C.frutescens*) เป็นต้น

สำหรับพริกที่ใช้ในการวิจัยมีรายละเอียดดังนี้

ชนิดพริก	**พันธุ์พริกของกรมวิชาการเกษตร**	**พันธุ์พริกของเอกชน**
พริกชี้ฟ้า (*C.annuum*)	พจ.01 พริกแห้ง พจ.05 พริกซอส พจ.07 พริกทานสด (ได้รับจาก ดร.จรัล ดิษฐชัยวงษ์ ศวพ.พิจิตร ขอเมล็ดพันธุ์อย่างละ 20 กรัม ส่งมาผลิตที่ ศวส.สุโขทัย)	- พริกมันดำ (Hot Pepper) ตราเครื่องบินของบริษัทเจียไต๋ (ซองละ3 กรัม จำนวน 10 ซอง)
พริกขี้หนูผลใหญ่	1.ห้วยสีทน(คุณรักชัย มีอยู่แล้ว) 2.หัวเรือ No.13 (ได้รับจากคุณจิรภา ออสติน ศวส.ศรีสะเกษ จำนวน 100 กรัม ส่งไปยังคุณรักชัย คุรุบรรเจิดจิต) ศวส.สุโขทัยผลิตเมล็ดให้	- พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 บริษัท East West Seed ตราศรแดง (1 กระป๋องมี 50 กรัม)
พริกขี้หนูผลเล็ก (*C.frutescens*)	- พริกขี้หนูสวน กาญจนบุรี10-1-1-3-6 (จากดร.วิลาวัณย์ ใคร่ครวญ สวส.) (มีปริมาณไม่เพียงพอที่จะทดลองได้)	- พริกขี้หนูสวน Bird Chili ตราเครื่องบิน บริษัทเจียไต๋ จำนวน 40 ซองๆ ละ 0.5 กรัม

พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 8 พันธุ์ ดังนี้ 1) พริกชี้ฟ้า พจ.01 2) พริกชี้ฟ้าพจ.05 3) พริกชี้ฟ้าพจ. 07 4) พริกมันดำ 5) พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์ห้วยสีทน 6) พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 7) พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 8) พริกขี้หนูสวน Bird Chili

2. เตรียมอุปกรณ์/เครื่องมือ วิธีทดสอบ วางแผนการทดลองแบบ Split plot design มี 5 ทรีตเมนต์ ได้แก่

Main plot คือ วิธีทดสอบความแข็งแรง

2.1. ทรีตเมนต์เร่งอายุด้วยน้ำกลั่น AAT

2.2. ทรีตเมนต์เร่งอายุด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว SSAAT

2.3. ทรีตเมนต์วัดค่าการนำไฟฟ้า EC

2.4. ทรีตเม้นต์วิธี Controlled Deterioration Test

2.5.วิธี Control

Sup-plot คือเวลาที่ทำการเก็บรักษา (ครั้งที่1 พฤศจิกายน 2556, ครั้งที่ 2 มีนาคม 2557, ครั้งที่ 3 กรกฎาคม 2557, ครั้งที่ 4 พฤศจิกายน 2557, ครั้งที่ 5 มีนาคม2558 และครั้งที่ 6 กรกฎาคม 2558 ตามลำดับ) และมี 4 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด โดยเก็บข้อมูล ได้แก่ 1.วัด Germination test (G) 2.วัดความแข็งแรง (V) โดยทดสอบ 8 พันธุ์ ดังนี้

1. พริกชี้ฟ้า พจ.01
2. พริกชี้ฟ้า พจ.05
3. พริกชี้ฟ้า พจ.07
4. พริกมันดำ
5. พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์ห้วยสีทน
6. พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13
7. พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2
8. พริกขี้หนูสวน Bird Chili

แต่ละพันธุ์เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5°C, 25°C, -10°C และ -196 $^{\circ}$C โดยที่อุณหภูมิ 5°C, 25°C, -10°C เก็บข้อมูลทุก 3 เดือน ส่วนที่อุณหภูมิ -196 $^{\circ}$C เก็บข้อมูลทุก 6 เดือน

วิเคราะห์ความแปรปรวนANOVAใช้ IRRISTAT v.93 สำหรับเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ด

3. สุ่มเมล็ดพันธุ์

4. ทดสอบความชื้นเริ่มต้น

5. ทดสอบความงอกเริ่มต้นStandard Germination Test, ทำการทดลอง4ซ้ำๆละ 100 เมล็ดเพาะด้วยกระดาษเพาะวิธี TP กระดาษเพาะเติมน้ำกลั่นประมาณ2.5เท่า (ประมาณ 13 mL) ของนน. กระดาษเพาะแห้งใส่ในกล่องพลาสติกใสเก็บไว้ในตู้เพาะตั้งอุณหภูมิสลับ(20-30 องศาเซนเซียส กล่าวคือset20°C16 ชม.กลางวัน,และ set 30 $^{\circ}$C 8ชม.กลางคืน) มีแสงระหว่างช่วงอุณหภูมิสูง เปอร์เซ็นต์ต้นกล้าที่สมบูรณ์นับ

วันที่7เป็นการนับครั้งแรกและวันที่14เป็นการนับครั้งสุดท้าย(ใช้KNO_3 0.2%ในการทำลายการพักตัวโดยใส่ไปกับน้ำกลั่นตอนปรับปริมาตรแล้วแช่กระดาษเพาะ)

6. ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆ 5 วิธี ดังนี้

6.1 วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test, AA)

6.2 วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุ ด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว (Saturated Salt Accelerated Aging Test; SSAA)

6.3 วิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity Test, EC)

6.4 วิธี Controlled Deterioration Test (CD*)*

6.5 วิธีเพาะความงอก (Germination test) เป็น Control

6.1 เตรียมทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test: AAT)

หลักการโดยการนำเอาเมล็ดให้เกิดความเครียดโดยนำเมล็ดไปไว้ที่อุณหภูมิสูงและมีความชื้นสัมพัทธ์สูง (ประมาณ95%) ในช่วงเวลาอันสั้นแล้วแต่พืช ซึ่งช่วงระยะเวลานี้เมล็ดจะดูดความชื้นจากสิ่งแวดล้อมรอบๆ เมล็ดทำให้ความชื้นของเมล็ดสูงขึ้นและพร้อมกับสภาพที่อุณหภูมิสูงเป็นการเร่งอายุของเมล็ดอย่างรวดเร็ว เมล็ดที่แข็งแรงเท่านั้นถึงจะทนอยู่ได้ในสภาพความเครียดเช่นนี้ ดังนั้นหลังจากการเร่งอายุเมล็ดที่แข็งแรงยังคงมีความงอกดี แต่ที่ไม่ทนแสดงว่าไม่แข็งแรง ความแข็งแรงลดลง

<u>หมายเหตุ</u> เมล็ดที่ใช้ไม่ควรคลุกยากันราถ้าเป็นไปได้

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

- เครื่องชั่งทศนิยมอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง
- กล่องพลาสติก (11.0 X 11.0 X 3.5 cm,ยาว X กว้าง X ลึก)พร้อมฝา วางในตะแกรงลวด
- น้ำ 50ml กระบอกตวง(Graduated Cylinder)
- Aging Chamber 41±0.3°c ใส่น้ำเพื่อให้มีความชื้นระหว่างเร่งอายุ
- น้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากอิออน
- อุปกรณ์วัดความชื้น Container เครื่องชั่ง ตู้อบความร้อน

6.2 เร่งอายุด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว (Saturated Salt Accelerated Aging Test; SSAAT)

ทำเช่นเดียวกันกับวิธีการเร่งอายุด้วยน้ำแต่วิธีนี้เป็นสารละลายน้ำเกลือ (41°c±0.3 °c เป็นเวลา 48 ชม.± 15 นาที) ใช้เมล็ดประมาณ2กรัม (Panobianco and Marcos Filho, 1998)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

เหมือนการเร่งอายุธรรมดาแต่เปลี่ยนจากน้ำเป็นสารละลายเกลือ NaCl

<u>วิธีดำเนินการ</u>

1. นำเมล็ดชื้น10-14%มาทดลอง
2. นำเมล็ด200เมล็ดวางบนตะแกรงลวด มีขาสูงไม่ให้เมล็ดสัมผัสกับน้ำ

3. เติมน้ำ40มล.ไม่ให้ถูกเมล็ดใส่ในกล่องใส

4. ปิดภาชนะถือว่า%RHเป็น100%

5. วางตะแกรงปิดฝาให้สนิท

6. เข้าตู้อบ 41°c±0.3 °c เป็นเวลา 48ชม.± 15นาที ควรตั้งอุณหภูมิตู้อบก่อนประมาณ3ชม.

7. ครบกำหนดเวลาเอาออกมาทดสอบความงอก ประเมิน

ทดสอบความชื้น

ทดสอบก่อน set แต่ละทรีตเมนต์และทดสอบความชื้นอีกครั้งหลังเร่งอายุในตู้อบ 105° c ± 3 °c เป็นเวลา 24 ชม.ใน2ซ้ำประมาณ 2g/ตัวอย่าง ผลวิเคราะห์แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ย (น้ำหนักสด) ต่อตัวอย่าง

6.3 วิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity Test, EC)

วัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่รั่วไหลออกมาจากเซลของเนื้อเยื่อพืชโดยการวัดน้ำที่แช่เมล็ดเพื่อดูความแข็งแรงถ้ามีค่าความนำไฟฟ้าสูงแสดงว่าเมล็ดมีความแข็งแรงต่ำ

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่อง EC อยู่ใน range 0-1999 µS/cm ,มีค่า resolution อย่างน้อยที่สุด 0.1 µS/cm

มีค่าaccuracy±1% ช่วงอุณหภูมิในการวัด 20-25 °c

Erlenmeyer Flask หรือ Beaker ขนาด 500 ml

น้ำกลั่นหรือน้ำ ปราศจากอิออน

ตู้เพาะ

วิธีดำเนินการ

1.ความชื้นของเมล็ด 10-14% (ถ้าความชื้นน้อยกว่า10% เอาเมล็ดไปเพิ่มความชื้นโดยห่อด้วยผ้าชื้นโดยการชั่งนน.ก่อนห่อและหลังห่อในทางกลับกันถ้าความชื้นมากกว่า 14% เอาเมล็ดไปลดโดยอบที่อุณหภูมิ 30°C

$$\text{นน.เมล็ด 10-14\% MC} = \text{นน. เมล็ดเริ่มต้น} \times \frac{(100 - \text{ความชื้นเริ่มต้น})}{(100-\text{ความชื้นที่ต้องการ})}$$

เช่นเมล็ดชื้น 8% นน 5 g

วิธีคิด นน. ของ Subsample $= 5 \times \frac{(100-8)}{(100-10)}$

$= 5 \times \frac{92}{90}$

$= 5.11$ g

เอาห่อด้วยผ้าชื้น 1ชม. สุ่มชั่งดูว่า นน. เพิ่มขึ้นหรือยังจนได้ นน. เป็น 5.11g ถ้าเกินเป็น 5.2g ก็ได้เพราะ

ความชื้นอยู่ในช่วง10-14%

วิธีการ 1. สุ่มเมล็ด 50 เมล็ด 4 ซ้ำ ชั่งนน. 2 ตำแหน่ง

2. ใส่น้ำกลั่น250±5ml Erlenmeyer Flask หรือ Beaker ขนาด 500 ml ปิดฝา

3. ตั้งไว้ 20±2 °c นาน 18-24 ชม.

4. แกว่งภาชนะ15 นาที

5.วัดค่า EC แต่ละตัวอย่างวัดค่าภายใน 15 วินาที ,มี blank เป็นน้ำกลั่นด้วย

ค่า%EC = ค่าที่อ่านได้-blank

นน.

ภาชนะต้องสะอาดมาก

6.4 วิธี Controlled Deterioration Test (CD)

การนำเมล็ดไปไว้ที่อุณหภูมิสูงขณะที่ควบคุมความชื้นของเมล็ดให้คงที่ทำให้เมล็ดแย่ลงอย่างรวดเร็ว ปริมาณความชื้นของตัวอย่างเมล็ดมีค่าสูงขึ้นก่อนที่จะนำเมล็ดไปไว้ที่อุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นเพื่อให้แน่ใจว่าตัวอย่างที่ทดสอบได้อยู่ในสภาพที่แย่ของการทดสอบ เมล็ดที่แข็งแรงสูงจะยังคงมีความงอกสูงหลังจาก Deterioration ในขณะที่เมล็ดที่แข็งแรงต่ำจะมีความงอกลดน้อยลง

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Water Bath 45 °c ± 0.5 °c
2. Analytical balance 0.0001g
3. Aluminum foil packetใส่เมล็ดพริก100เมล็ดในถุงชั้นเดียว เว้นช่วงห่าง3ซม.จากเมล็ดกับที่ Seal Packetลึก5-6cmกว้างประมาณ 7-10cm. ภาชนะที่ใส่ต้องกันความชื้นได้เช่นกระดาษขาว White kraft 60 gซ้อนด้วย aluminum foil 8 m และ polyethylene film 40 m
4. Packet sealer กันน้ำ
5. กระดาษเพาะ
6. Container ใส่เมล็ด/filter และกระดาษเพาะในช่วงที่เพิ่มความชื้น เช่น Petri dish, กล่องเพาะความ งอก
7. ตู้เย็นอุณหภูมิ 7 ± 2 °c
8. อุปกรณ์ทดสอบความงอก
9. อุปกรณ์ทดสอบความชื้น

ทดสอบภายใต้อุณหภูมิสูงและความชื้นสัมพัทธ์สูง

วิธีดำเนินการ

1. เริ่มที่ให้เมล็ดที่ทดสอบมีความชื้น 20% ทำ 4 ซ้ำ
2. เก็บในถุงที่ปิดสนิทที่อุณหภูมิ 7 ± 2 °c 1วัน
3. วันรุ่งขึ้นทดสอบโดยเอาเมล็ดที่มีความชื้น 20% นั้นมา 4 ซ้ำ
4. แช่ใน water bath 45 °c 24 ชม. ± 15 นาที

5. นำมาผ่านน้ำไหล (เย็น) นาน 5 นาที

6. ทดสอบความงอกทันทีภายใน 30 นาที หลังจากเอาออกจาก water bath

6.5 วิธีเพาะความงอก (Germination test) เป็น Control

7. หลังจากทดสอบความงอกเริ่มต้น ทดสอบความชื้นเริ่มต้น ทดสอบความแข็งแรงเริ่มต้นกระบวนการลดความชื้น แล้วดำเนินการเข้าสู่กระบวนการเก็บรักษาที่ห้องอุณหภูมิ 5°c, -10°c, 25°c และเก็บรักษาในสภาพเย็นยิ่งยวด -196°c ในถังที่บรรจุไนโตรเจนเหลว

8. นำเมล็ดออกมาทดสอบความงอกและความแข็งแรงด้วยวิธี

1. เร่งอายุ (Accelerated Aging Test: AA)

2. เร่งอายุด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว (Saturated Salt Accelerated Aging Test; SSAA)

3. วัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity Test) และ

4. วิธี Controlled Deterioration Test (CD)

5. วิธี Control

โดยทดสอบความงอกและความแข็งแรงที่ห้องอุณหภูมิ 5°c, 25°c, -10°c 3 เดือน / ครั้ง

ในถังที่บรรจุไนโตรเจนเหลว -196°c 6 เดือน / ครั้ง

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ต.ค. 2556 – สิ้นสุด ก.ย. 2558 สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

- สำหรับการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. พืชทดลอง

1. พริกชี้ฟ้า พจ.01
2. พริกชี้ฟ้า พจ.05
3. พริกชี้ฟ้า พจ.07
4. พริกมันดำ
5. พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์ห้วยสีทน
6. พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13
7. พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2
8. พริกขี้หนูสวน Bird Chili

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ

1. ถังไนโตรเจนเหลว 2. หลอดเก็บเนื้อเยื่อ (cryotube)

3. กล่องเก็บความเย็น (ice box) 4. Water bath

5. เครื่องมืออื่นๆ เช่น ขวดแก้ว ไมโครปิเปต ขนาด 1,000 ไมโครลิตร

3. สารเคมี

1. สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962) 2. Clorox 20%

3. Tween 4. Glycerol

5. dimethyl sulfoxide (DMSO) 6. Ethylene glycol

วิธีการ

1. การเตรียมเมล็ดพริกก่อนการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว

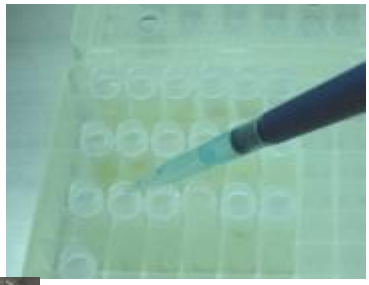
พืชทดลองเมล็ดพริก 8 ตัวอย่าง มาฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดพริก โดยล้างในน้ำไหลนาน 5 นาที 3 ครั้ง แล้วแช่ในสารละลาย Clorox 15% ร่วมกับ Tween 20 2-3 หยด นาน 20 นาที

ล้างน้ำไหล 5 นาที

Clorox 15% +Tween 20 2-3 หยดนาน 20 นาที

2. การเก็บรักษาเมล็ดพริกในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี vitrification

บรรจุเมล็ดพริกใน cryotube แช่ใน loading solution (LS; 2 M glycerol + 0.4 M sucrose) เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปแช่ในสาร cryoprotectant PVS_2 30% (w/v) glycerol, 15%(w/v) dimethyl sulfoxide (DMSO), 15% (w/v) ethylene glycol ที่เติม 0.4 M sucrose) นำไป prefreezing ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาทีแล้วนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว

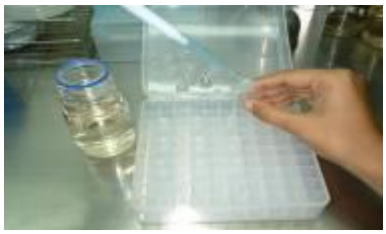
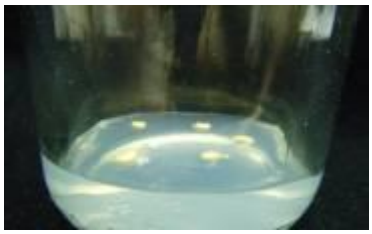


บรรจุเมล็ดพริกลงใน cryotube LS (0,10,20 นาที) PVS2 solution อุณหภูมิ 0 ซ° (0,30,60 นาที)

เติม PVS2 solution เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว

3. การทดสอบการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว

นำเมล็ดพริกที่เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว มาละลายน้ำแข็งด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที หลังจากนั้นนำมาล้างสาร cryoprotectant โดยใส่ unloading solution (US ; 1.2 M sucrose) เป็นเวลา 20 นาที แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหาร preculture (MS+0.5M sucrose) เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหาร MS นาน 14 วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

Thawing อุณหภูมิ 40 ซ° 2 นาที US 1.2 M sucrose 20 นาที อาหาร Preculture 1 วัน

อาหาร MS 2 สัปดาห์

- สถานที่

สถานที่ทำการทดลอง โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สวนจิตรลดา

ผลการวิจัย (Results)

ผลการทดสอบความงอก (Germination test) ของพริกทั้ง 8 ชนิด ได้แก่

1. พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01
2. พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05
3. พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07
4. พริกมันดำ
5. พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน
6. พริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13
7. พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2
8. พริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่

ที่อุณหภูมิ 25°C, 5°C และ -10°C และทดสอบความแข็งแรง 5 วิธี ทำการทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่

1. วิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test, AA Test)
2. วิธีเร่งอายุด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว (Saturated Salt Accelerated Aging Test, SSAA Test)
3. วิธีการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity Test, EC Test)
4. วิธี Controlled Deterioration Test (CD Test)
5. วิธีทดสอบความงอกปกติ (Control) (Germination Test)

<u>ที่อุณหภูมิ 25°C</u>

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดที่ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆ ทั้ง 5 วิธีนั้น พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ภาคผนวก ตาราง G1) และเมื่อเวลาผ่านไปเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเช่นกัน เป็นไปในทำนองเดียวกันกับเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกพันธุ์พิจิตร 05 พิจิตร 07 พริกมันดำ พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน พริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 และพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 (ภาคผนวก ตาราง G2 - ตาราง G7) ส่วนพริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่นั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงทั้ง 5 วิธีนั้นต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ตาราง G8)

สำหรับ**<u>พริกชี้ฟ้าพันธ์พิจิตร 01</u>** ที่เก็บอนุรักษ์อุณหภูมิ 25°C นั้นพบว่าในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC นั้นมีความงอก 93% และเมื่อเวลาผ่านไป พบว่าวิธีทดสอบด้วยวิธี EC CD และ SSAAT มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอยู่ที่ (69, 67 และ 66%) ตามลำดับ ซึ่งไม่ต่างกัน

- และเมื่อเปรียบเทียบวิธีพบว่าในครั้งแรก วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC) นั้น มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด (93%) ตามด้วยเปอร์เซ็นต์ความงอกของวิธีทดสอบด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว (88%) และเปอร์เซ็นต์ความงอกของวิธีทดสอบด้วยความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุ (86%) และวิธีเพาะปกติ (82%) เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยการนำไฟฟ้ามีความงอกสูงสุด (69%)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของวิธี AAT มีค่ามากที่สุด (85%) ส่วนวิธีเพาะปกติมีค่าน้อยสุดเมื่อเวลาผ่านไป พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ ความงอกอยู่ที่ 53% (ตารางที่ 1, กราฟที่ 1)

<u>พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC นั้น พริกมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 87% วิธี controlled Deterioration มีความงอก 85%, วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว มีความงอก 82% ตามลำดับ

- และเมื่อเปรียบเทียบพบว่าในครั้งแรก เปอร์เซ็นต์ความงอก วิธี EC นั้นมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด 87% วิธี CD 85% และวิธี SSAA 82% ตามลำดับ

เมื่อเวลาผ่านไป พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกส่วนใหญ่ลดลงในทุกวิธียกเว้นวิธี CD มีค่าสูงสุด มีความงอกยังดีอยู่ 93% AAT รองลงมา 78%, EC 63% และ Ctr 43%

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของวิธี AAT มีค่ามากที่สุด (86%) (ตารางที่ 2, กราฟที่ 2)

<u>พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 0</u>7 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกที่ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC) มีค่าความงอกสูงสุด 80% เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกลดลงเมื่อทดสอบด้วยวิธี controlled Deterioration 64% วิธี SSAAT 58% และวิธี AAT 51% และวิธี EC 48% ตามลำดับ

และเมื่อเปรียบเทียบวิธีพบว่าในครั้งแรกเปอร์เซ็นต์ความงอกพริกเมื่อทดสอบความงอกด้วยวิธี EC พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอก 80%

- เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง ยกเว้นวิธี CD (64%) ส่วนวิธีเพาะปกติมีค่าน้อยที่สุด (36%) (ตารางที่ 3, กราฟที่ 3)

<u>พริกมันดำ</u> เมื่อเก็บรักษาพริกมันดำไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอก 95, 90% เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุและ control ตามลำดับและเมื่อเวลาผ่านไป พบว่า พริกมันดำมีความงอก 95% เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี CD Test โดยยังคงมีความงอกที่ดีแม้ วิธีเพาะปกติ 74% (ตารางที่ 4, กราฟที่ 4)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกมันดำในวิธี AAT มีค่าเฉลี่ย 91 % เป็นไปได้ว่าพริกมันดำซึ่งเป็นพริกของบริษัทเอกชนนั้นได้รับการปรับปรุงพันธุ์มาอย่างดีให้ผลผลิตสูง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกดีมาก

<u>พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมากที่สุด 62% เท่านั้น (control) และเมื่อเวลาผ่านไป เปอร์เซ็นต์ความงอกพริกอยู่ในช่วง 13-54 % โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 25, 44, 54, 41 และ 13 (AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยตลอดการทดลอง มากที่สุด 58% (ด้วยวิธีทดสอบ CD) อาจเป็นไปได้ถึงข้อจำกัดของพันธุ์ห้วยสีทนมีเปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มอยู่ในช่วง 27-62 % (ตารางที่ 5, กราฟที่ 5)

<u>พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกพริกอยู่ที่ 85% (ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี CD) หรืออยู่ในช่วง 59-85% เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงเป็น 75 และ 70% (ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC และ CD ตามลำดับ)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดที่ 83% ((ด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรง CD) สำหรับ Control เมื่อเวลาผ่านไป 3 ปี มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงมากที่สุดเหลือ 32% (ตารางที่ 6, กราฟที่ 6)

<u>พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกพริกอยู่ที่ 54, 70, 57, 76 และ 80 ที่ AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctrl และเมื่อเวลาผ่านไป พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเป็น 58, 58, 69, 74 และ 46% (ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctrl ตามลำดับ)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุด 79% (ด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี CD) (ตารางที่ 7, กราฟที่ 7)

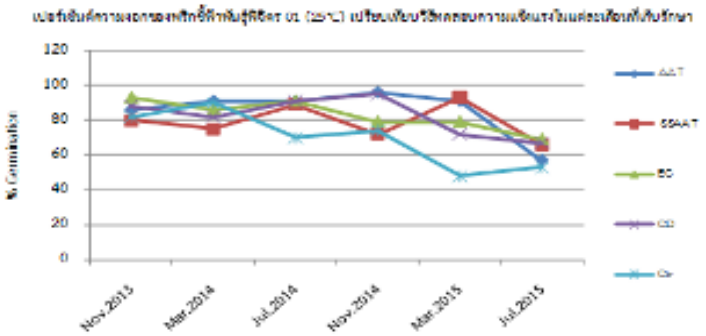
<u>พริกขี้หนูสวน Bird chili</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกอยู่ที่ 91% (CD Test) โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกในช่วง 79-91% และเมื่อเวลาผ่านไป พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ในช่วง 68-79%

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 84% (ด้วยวิธี AAT) (ตารางที่ 8, กราฟที่ 8)

ตารางที่ 1 และกราฟที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	86 b	80 b	93 a	88 b	82 b	86
2nd	91 b	75 bc	86 b	82 c	90 a	85
3rd	91 b	89 a	91 ab	91 b	70 c	86
4th	96 a	72 cd	79 c	95 a	74 c	83
5th	91 b	93 a	79 c	72 d	48 d	77
6th	57 c	66 d	69 d	67 d	53 d	62
MEAN	85	79	83	82	70	80

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	86 bc	91 a	91 a	96 a	91 a	57 b	85
SSAAT	80 d	75 c	89 a	72 c	93 a	66 a	79
EC	93 a	86 ab	91 a	79 b	79 b	69 a	83
CD	88 b	82 b	91 a	95 a	72 c	67 a	82
Ctr	82 cd	90 a	70 b	74 bc	48 d	53 b	70
T-MEAN	86	85	86	83	77	62	80



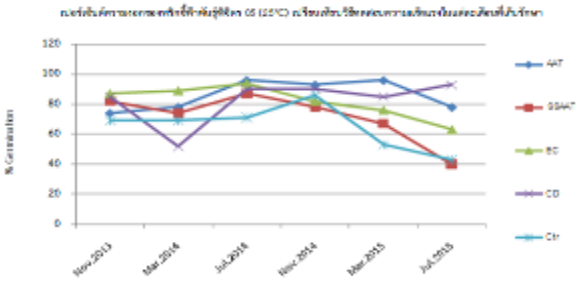
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 2.68 CV (b) = 4.91

ตารางที่ 2 และกราฟที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	74 b	82 ab	87 bc	85 b	69 b	79
2nd	78 b	71 cd	89 b	52 c	69 b	72
3rd	96 a	87 a	94 a	90 ab	71 b	87
4th	93 a	78 bc	82 cd	90 ab	86 a	86
5th	96 a	67 d	76 d	85 b	53 c	75
6th	78 b	40 e	63 e	93 a	43 d	61
MEAN	86	71	82	82	65	77

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	74 b	78 b	96 a	93 a	96 a	78 b	86
SSAAT	82 a	71 bc	87 c	78 d	67 d	40 d	71
EC	87 a	89 a	94 ab	82 cd	76 c	63 c	82
CD	85 a	52 d	90 bc	90 ab	85 b	93 a	82
Ctr	69 b	69 c	71 d	86 bc	53 e	43 d	65
T-MEAN	79	72	87	86	75	64	77



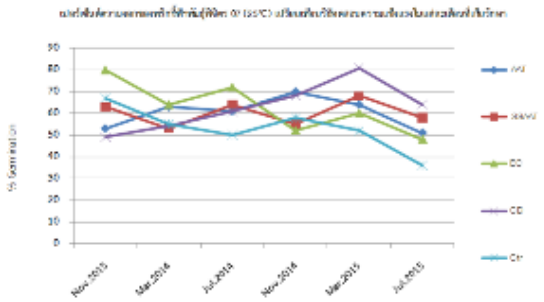
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 6.38 CV (b) = 5.53

ตารางที่ 3 และกราฟที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	53 bc	63 ab	80 a	49 d	67 a	62
2nd	63 a	53 c	64 bc	54 cd	55 b	58
3rd	61 ab	64 ab	72 b	61 bc	50 b	62
4th	70 a	55 bc	52 de	68 b	58 b	61
5th	64 a	68 a	60 cd	81 a	52 b	65
6th	51 c	58 bc	48 e	64 b	36 c	51
MEAN	60	60	63	63	53	60

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	53 c	63 ab	61 b	70 a	64 b	51 b	60
SSAAT	63 b	53 c	64 ab	55 b	68 b	58 ab	60
EC	80 a	64 a	72 a	52 b	60 bc	48 b	63
CD	49 c	54 bc	61 b	68 a	81 a	64 a	63
Ctr	67 b	55 abc	50 c	58 b	52 c	36 c	53
T-MEAN	62	58	62	61	65	51	60



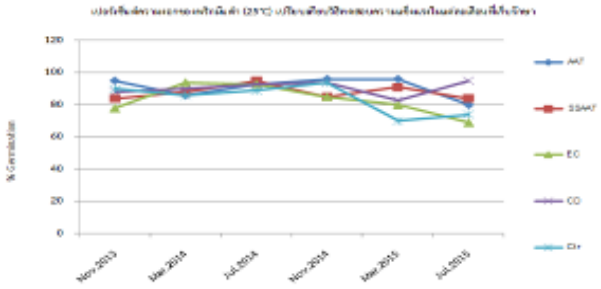
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 8.04 CV (b) = 7.11

ตารางที่ 4 และกราฟที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกมันดำ (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	95 a	84 b	78 bc	88 bc	90 ab	87
2nd	86 b	88 b	94 a	90 abc	86 b	89
3rd	93 a	95 a	93 a	93 ab	89 ab	93
4th	96 a	85 b	85 b	94 ab	94 a	91
5th	96 a	91 ab	80 b	83 c	70 c	84
6th	80 b	84 b	69 c	95 a	74 c	80
MEAN	91	88	83	90	84	87

	TIME (T)					
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	95 a	86 b	93 a	96 a	96 a	80 bc	91
SSAAT	84 bc	88 ab	95 a	85 b	91 b	84 b	88
EC	78 c	94 a	93 a	85 b	80 c	69 d	83
CD	88 b	90 ab	93 a	94 a	83 c	95 a	90
Ctr	90 ab	86 b	89 a	94 a	70 d	74 cd	84
T-MEAN	87	89	93	91	84	80	87



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

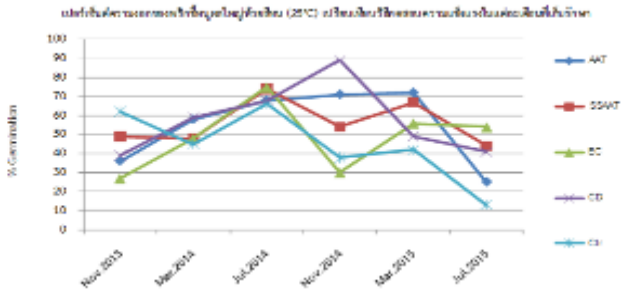
CV (a) = 4.56 CV (b) = 5.85

ตารางที่ 5 และกราฟที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	36 c	49 bc	27 c	39 e	62 a	43
2nd	58 b	48 bc	48 b	59 c	45 b	52
3rd	68 a	74 a	75 a	68 b	66 a	70
4th	71 a	54 b	30 c	89 a	38 b	56
5th	72 a	67 a	56 b	49 d	42 b	57
6th	25 d	44 c	54 b	41 de	13 c	35
MEAN	55	56	49	58	44	52

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	36 c	58 a	68 ab	71 b	72 a	25 c	55
SSAAT	49 b	48 b	74 ab	54 c	67 a	44 b	56
EC	27 d	48 b	75 a	30 d	56 b	54 a	49
CD	39 c	59 a	68 ab	89 a	49 bc	41 b	58
Ctr	62 a	45 b	66 b	38 d	42 c	13 d	44
T-MEAN	43	52	70	56	57	35	52



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

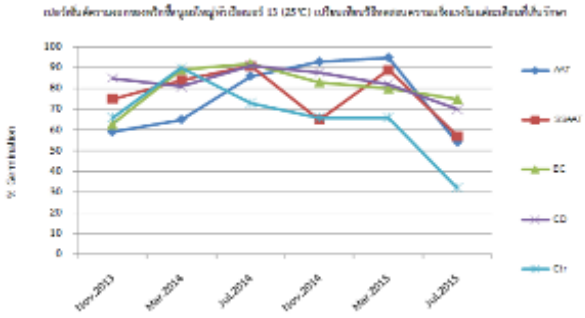
CV (a) = 6.83 CV (b) = 7.79

ตารางที่ 6 และกราฟที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	59 c	75 b	63 d	85 ab	66 b	70
2nd	65 c	84 ab	89 ab	81 b	90 a	81
3rd	86 b	91 a	92 a	91 a	73 b	87
4th	93 ab	65 c	83 bc	88 ab	66 b	79
5th	95 a	89 a	80 bc	82 b	66 b	83
6th	54 c	57 c	75 c	70 c	32 c	57
MEAN	75	77	80	83	65	76

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	59 c	65 c	86 a	93 a	95 a	54 b	75
SSAAT	75 b	84 ab	91 a	65 c	89 b	57 b	77
EC	63 c	89 ab	92 a	83 b	80 c	75 a	80
CD	85 a	81 b	91 a	88 ab	82 bc	70 a	83
Ctr	66 bc	90 a	73 b	66 c	66 d	32 c	65
T-MEAN	70	81	87	79	83	57	76



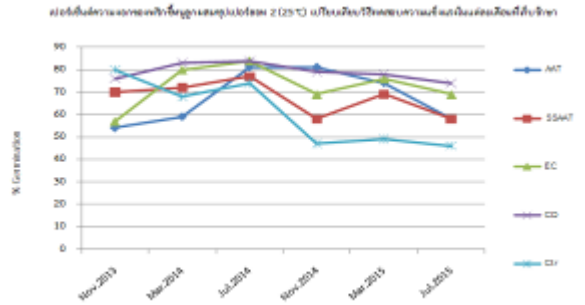
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 4.29 CV (b) = 7.25

ตารางที่ 7 และกราฟที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	CTR	T-MEAN
1st	54 c	70 b	57 d	76 b	80 a	67
2nd	59 c	72 ab	80 ab	83 a	68 b	72
3rd	81 a	77 a	84 a	84 a	74 ab	80
4th	81 a	58 c	69 c	79 ab	47 c	67
5th	74 b	69 b	76 b	78 ab	49 c	69
6th	58 c	58 c	69 c	74 b	46 c	61
MEAN	68	67	72	79	61	70

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 TIME	2 TIME	3 TIME	4 TIME	5 TIME	6 TIME	V-MEAN
AAT	54 c	59 c	81 a	81 a	74 ab	58 b	68
SSAAT	70 b	72 b	77 ab	58 c	69 b	58 b	67
EC	57 c	80 a	84 a	69 b	76 ab	69 a	72
CD	76 ab	83 a	84 a	79 a	78 a	74 a	79
CTR	80 a	68 b	74 b	47 d	49 c	46 c	61
T-MEAN	67	72	80	67	69	61	70



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

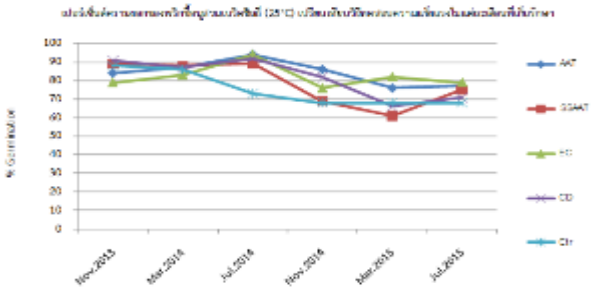
CV (a) = 6.70 CV (b) = 5.40

ตารางที่ 8 และกราฟที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่ (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	84 bc	89 a	79 bc	91 ab	88 a	86
2nd	87 b	88 a	83 b	87 bc	86 a	86
3rd	94 a	89 a	94 a	92 a	73 b	88
4th	86 b	69 bc	76 c	82 c	68 b	76
5th	76 d	61 c	82 bc	66 d	68 b	71
6th	77 cd	75 b	79 bc	71 d	68 b	74
MEAN	84	78	82	81	75	80

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	90 a	81 b	89 b	84 a	67 c	62 bc	79
SSAAT	87 ab	83 ab	89 b	61 c	79 b	67 b	78
EC	81 b	84 ab	81 c	89 a	83 b	79 a	83
CD	89 a	80 b	92 ab	84 a	47 d	36 d	71
Ctr	88 ab	89 a	96 a	73 b	94 a	55 c	82
T-MEAN	87	83	89	78	74	60	79



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 8.47 CV (b) = 5.28

ที่อุณหภูมิ 5°C

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 และพริกขี้หนูสวน Bird chili เปอร์เซ็นต์ความงอกของตัวอย่างที่ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆ 5 วิธี นั้นพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทั้ง 5 วิธี และเมื่อเวลาผ่านไปเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแตกต่างของสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเช่นกัน (ภาคผนวก table G9 - G16)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกพริกอยู่ที่ 91%, 90% (ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC และ CD ตามลำดับ) และเมื่อเวลาผ่านไป มีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ 84, 83, 80 และ 80% (โดยวิธีทดสอบความแข็งแรง AAT, EC, SSAAT และ Control ตามลำดับ) โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงในช่วง 66-84%

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 90% และ 87% (EC และ AAT ตามลำดับ) (ตารางที่ 9, กราฟที่ 9)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกพริกอยู่ที่ 85%, 84% (ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี CD และ EC ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 77-85% และเมื่อเวลาผ่านไป มีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ 90, 80% (โดยวิธีทดสอบความแข็งแรง AAT และ Control ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 68-90% พบว่าในวิธี AAT% ความงอกยังคงมีค่าสูงแม้เมื่อเวลาผ่านไป

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 86% และ 84% (control และ EC ตามลำดับ) (ตารางที่ 10, กราฟที่ 10)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกพริกอยู่ที่ 56, 70, 66, 51 และ 55% (โดยวิธีทดสอบความแข็งแรง AAT, SSAAT, EC, CD และ Control ตามลำดับ) และเมื่อเวลาผ่านไป มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเป็น 55, 59, 57, 42 และ 63% ตามลำดับ

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ที่ 64% และ 60% (control และ EC ตามลำดับ) โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 64% (Control) (ตารางที่ 11, กราฟที่ 11)

พริกมันดำ เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกพริกอยู่ที่ 91, 79, 90, 93, และ70% (ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Control ตามลำดับ) และเมื่อเวลาผ่านไป มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง 91, 91, 88, 77, 74% ตามลำดับ

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 91% (AAT และ EC ตามลำดับ) พริกมันดำทั้งอุณหภูมิ 25°C และ 5°C มีความงอกดีมาก (ตารางที่ 12, กราฟที่ 12)

พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดสอบความงอกครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ 62% มากสุดใน control โดยอยู่ในช่วง 26-62% และผ่านไป มีความงอกอยู่ในช่วง 39-62% (ตารางที่ 13, กราฟที่ 13)

พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดสอบครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมากที่สุด 89 และ 85% (CD และ SSAAT) อยู่ในช่วง 59-89% และเมื่อเวลาผ่านไปพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอก 88% 74% (EC และ SSAAT) หรืออยู่ในช่วง 36-88% (ตารางที่ 14, กราฟที่ 14)

พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดลองครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมากที่สุดคือ 82% และ 73% ใน (Control และ CD ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 57-82% เมื่อเวลาผ่านไป พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอก 75, 70 และ 68% ใน (EC, SSAAT และ AATตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 33% - 75%

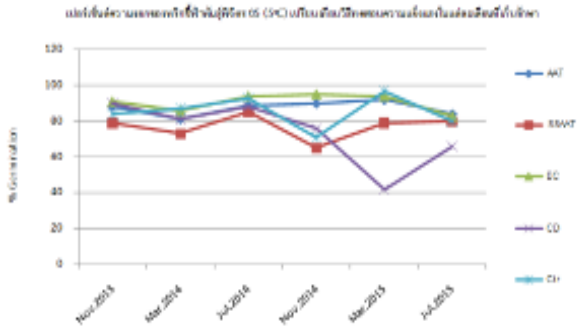
- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 74% (Control) (ตารางที่ 15, กราฟที่ 15)

<u>พริกขี้หนูสวน Bird chili</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ในการทดลองครั้งแรกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมากที่สุดคือ 90, 89 และ 88% (AAT, CD และ Control) หรืออยู่ในช่วง 81-90% เมื่อเวลาผ่านไป พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอก 79, 67 และ 62% ใน (EC, SSAAT และ AATตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 36–79 % (ตารางที่ 16, กราฟที่ 16)

ตารางที่ 9 และกราฟที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	88 abc	79 ab	91 ab	90 a	84 c	86
2nd	81 c	73 bc	86 bc	81 b	87 c	82
3rd	89 ab	85 a	94 a	88 a	93 b	90
4th	90 ab	65 c	95 a	76 b	71 d	80
5th	92 a	79 ab	94 a	42 d	97 a	81
6th	84 bc	80 ab	83 c	66 c	80 c	79
MEAN	87	77	90	74	85	83

	TIME (T)						
V(COLOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	88 ab	81 ab	89 ab	90 a	92 b	84 a	87
SSAAT	79 c	73 b	85 b	65 c	79 c	80 a	77
EC	91 a	86 a	94 a	95 a	94 ab	83 a	90
CD	90 ab	81 ab	88 ab	76 b	42 d	66 b	74
Ctr	84 bc	87 a	93 a	71 bc	97 a	80 a	85
T-MEAN	86	82	90	80	81	79	83



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

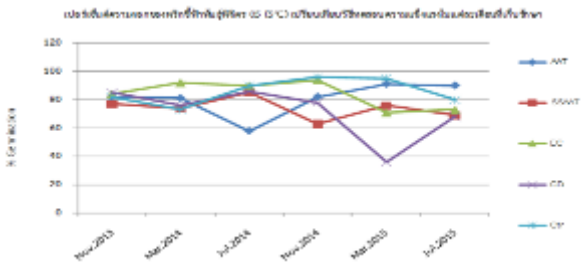
CV (a) = 4.99 CV (b) = 5.83

ตารางที่ 10 และกราฟที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	C.tr	T-MEAN
1st	82 b	77 b	84 b	85 a	82 c	82
2nd	81 b	74 b	92 a	76 b	73 d	79
3rd	58 c	85 a	90 a	86 a	90 b	82
4th	82 b	63 c	94 a	78 b	96 a	83
5th	91 a	76 b	71 c	36 d	95 a	74
6th	90 a	69 bc	73 c	68 c	80 cd	76
MEAN	81	74	84	71	86	79

TME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	82 ab	81 b	58 b	82 b	91 a	90 a	81
SSAAT	77 b	74 bc	85 a	63 c	76 b	69 c	74
EC	84 ab	92 a	90 a	94 a	71 b	73 bc	84
CD	85 a	76 bc	86 a	78 b	36 c	68 c	71
Ctr	82 ab	73 c	90 a	95 a	95 a	80 b	86
T-MEAN	82	79	82	83	74	76	79



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

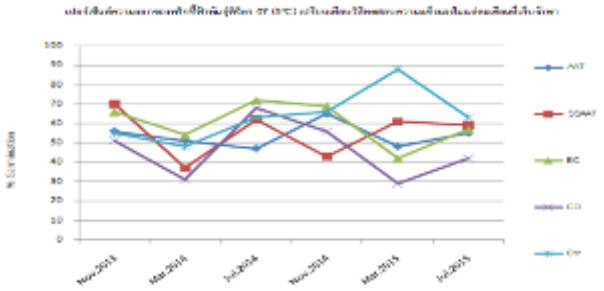
CV (a) = 6.84 CV (b) = 5.21

ตารางที่ 11 และกราฟที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	56 b	70 a	66 b	51 b	55 c	59
2nd	51 bc	37 c	54 c	31 d	48 d	44
3rd	47 c	62 b	72 a	68 a	63 b	63
4th	65 a	43 c	69 ab	56 b	66 b	60
5th	48 c	61 b	42 d	29 d	88 a	53
6th	55 b	59 b	57 c	42 c	63 b	55
MEAN	54	55	60	46	64	56

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	56 b	51 a	47 c	65 a	48 c	55 b	54
SSAAT	70 a	37 b	62 b	43 c	61 b	59 ab	55
EC	66 a	54 a	72 a	69 a	42 c	57 ab	60
CD	51 b	31 b	68 ab	56 b	29 d	42 c	46
Ctr	55 b	48 a	63 b	66 a	88 a	63 a	64
T-MEAN	59	44	63	60	53	55	56



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

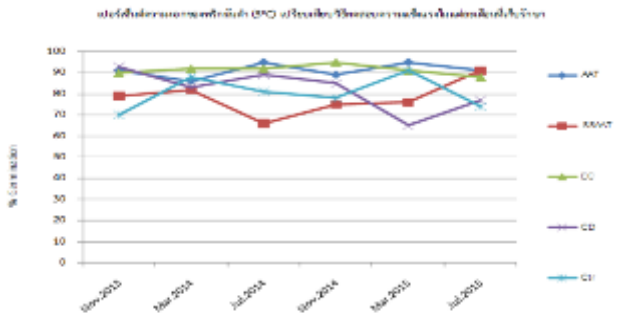
CV (a) = 5.88 CV (b) = 5.19

ตารางที่ 12 และกราฟที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกมันดำ (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	91 bc	79 bc	90 b	93 a	70 d	84
2nd	86 d	82 b	92 ab	83 c	88 a	86
3rd	95 ab	66 d	92 ab	89 b	81 b	85
4th	89 cd	75 c	95 a	85 bc	78 bc	85
5th	95 a	76 bc	91 ab	65 e	91 a	84
6th	91 abc	91 a	88 b	77 d	74 cd	84
MEAN	91	78	91	82	80	85

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	91 a	86 bc	95 a	89 b	95 a	91 a	91
SSAAT	79 b	82 c	66 d	75 c	76 c	91 a	78
EC	90 a	92 a	92 ab	95 a	91 ab	88 a	91
CD	93 a	83 c	89 b	85 b	65 d	77 b	82
Ctr	70 c	88 ab	81 c	78 c	91 b	74 b	80
T-MEAN	84	86	85	85	84	84	85



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

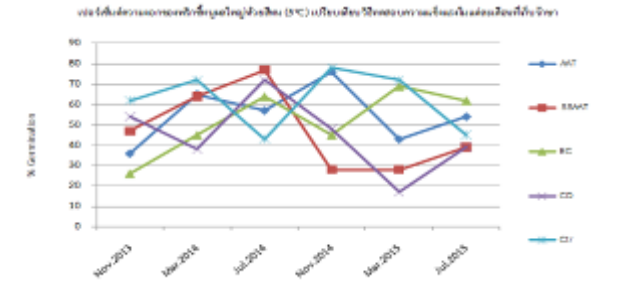
CV (a) = 4.29 CV (b) = 4.34

ตารางที่ 13 และกราฟที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	36 d	47 c	26 c	54 b	62 b	45
2nd	65 ab	64 b	45 b	38 c	72 ab	57
3rd	57 b	77 a	64 a	72 a	43 c	63
4th	76 a	28 d	45 b	48 bc	78 a	55
5th	43 cd	28 d	69 a	17 d	72 ab	46
6th	54 bc	39 cd	62 a	39 c	45 c	48
MEAN	55	47	52	45	62	52

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	36 cd	65 a	57 c	76 a	43 b	54 ab	55
SSAAT	47 bc	64 a	77 a	28 c	28 c	39 c	47
EC	26 d	45 b	64 bc	45 b	69 a	62 a	52
CD	54 ab	38 b	72 ab	48 b	17 d	39 c	45
Ctr	62 a	72 a	43 d	78 a	72 a	45 bc	62
T-MEAN	45	57	63	55	46	48	52



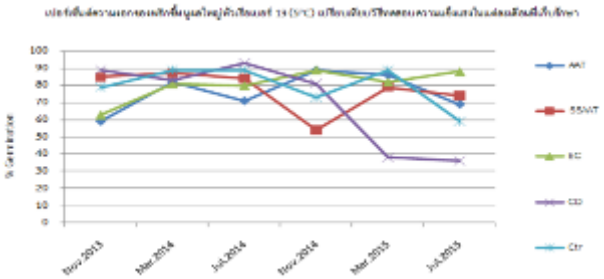
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 4.32 CV (b) = 11.01

ตารางที่ 14 และกราฟที่ 14 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	59 d	85 a	63 d	89 ab	79 b	75
2nd	82 b	87 a	81 bc	83 bc	89 a	84
3rd	71 c	84 a	80 c	93 a	89 a	84
4th	89 a	54 c	89 a	81 c	73 b	77
5th	86 ab	79 ab	82 abc	38 d	89 a	75
6th	69 c	74 b	88 ab	36 d	59 c	65
MEAN	76	77	81	70	80	77

	TIME (T)					
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	59 c	82 ab	71 d	89 a	86 ab	69 b	76
SSAAT	85 ab	87 ab	84 bc	54 c	79 b	74 b	77
EC	63 c	81 b	80 c	89 a	82 ab	88 a	81
CD	89 a	83 ab	93 a	81 b	38 c	36 d	70
Ctr	79 b	89 a	89 ab	73 b	89 a	59 c	80
T-MEAN	75	84	84	77	75	65	77



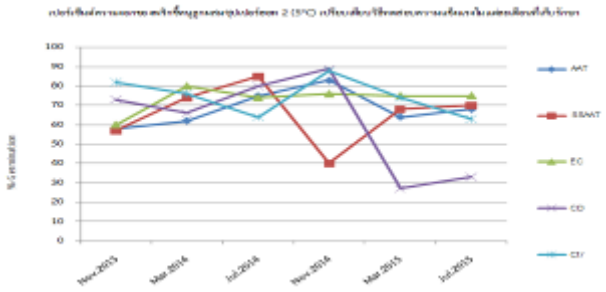
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 5.60 CV (b) = 6.66

ตารางที่ 15 และกราฟที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	58 d	57 c	60 b	73 bc	82 ab	66
2nd	62 cd	74 b	80 a	66 c	76 b	72
3rd	75 b	85 a	74 a	80 b	64 c	75
4th	83 a	40 d	76 a	89 a	88 a	75
5th	64 cd	68 b	75 a	27 d	74 b	62
6th	68 bc	70 b	75 a	33 d	63 c	62
MEAN	68	66	73	61	74	69

	TIME (T)					
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	58 c	62 b	75 b	83 a	64 b	68 ab	68
SSAAT	57 c	74 a	85 a	50 c	68 ab	70 ab	66
EC	60 c	80 a	74 b	76 b	75 a	75 a	73
CD	73 b	66 b	80 ab	89 a	27 c	33 c	61
Ctr	82 a	76 a	64 c	88 a	74 a	63 b	74
T-MEAN	66	72	75	75	62	62	69



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

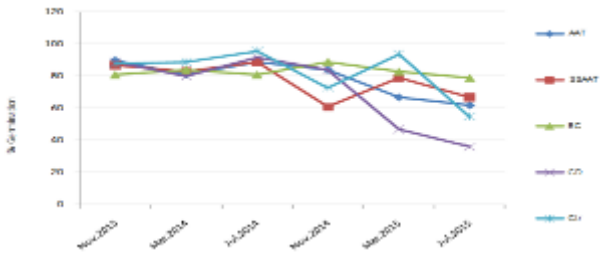
CV (a) = 5.02 CV (b) = 6.40

ตารางที่ 16 และกราฟที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่ (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	90 a	87 a	81 b	89 ab	88 b	87
2nd	81 b	83 ab	84 ab	80 c	89 b	83
3rd	89 a	89 a	81 b	92 a	96 a	89
4th	84 ab	61 c	89 a	84 bc	73 c	78
5th	67 c	79 b	83 ab	47 d	94 a	74
6th	62 c	67 c	79 b	36 e	55 d	60
MEAN	79	78	83	71	82	79

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V MEAN
AAT	90 a	81 b	89 b	84 a	67 c	62 bc	79
SSAAT	87 ab	83 ab	89 b	61 c	79 b	67 b	78
EC	81 b	89 ab	81 c	89 a	83 b	79 a	83
CD	89 a	80 b	92 ab	84 a	47 d	36 d	71
Ctr	88 ab	89 a	96 a	73 b	94 a	55 c	82
T-MEAN	87	83	89	78	74	60	79



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 7.05 CV (b) = 5.46

<u>ที่อุณหภูมิ -10°C</u>

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 และพริกขี้หนูสวน Bird chili เปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกแต่ละพันธุ์ที่ทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรง 5 วิธี นั้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทั้ง 5 วิธี (ภาคผนวก table G17- G24) และเมื่อเวลาผ่านไปเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีสำคัญยิ่งเช่นกัน

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 90, 89 และ 88% (Control, EC และ CD ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 79-90% เมื่อเวลาผ่านไป พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 94 และ 85% (ใน CD , EC ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 65-94% (ตารางที่ 17, กราฟที่ 17)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 87, 85, 84 และ 84% (ใน SSAAT, AAT, EC และ CD) หรืออยู่ในช่วง 77-87% เมื่อเวลาผ่านไป พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 93 และ 90% (ใน EC , CD ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 35-93% (ตารางที่ 18, กราฟที่ 18)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 69 และ 67% (ใน CD, SSAAT ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 37-69% เมื่อเวลาผ่านไป พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 77 และ 56% (ใน CD, SSAAT ตามลำดับ) หรืออยู่ในช่วง 51-77%

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 66% (SSAAT) และ 64% (EC) (ตารางที่ 19, กราฟที่ 19)

พริกมันดำ เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 95 และ 91% (AAT และ CD) เมื่อเวลาผ่านไป พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอก 98 และ 92% (ใน CD และ AAT)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 90% (ใน AAT) (ตารางที่ 20, กราฟที่ 20)

พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 75% (CD) เมื่อเวลาผ่านไป พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงเป็น 64 และ 50% (ใน EC, CD ตามลำดับ)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 55% และ 53% (ใน CD, EC ตามลำดับ) (ตารางที่ 21, กราฟที่ 21)

พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 90% (ใน CD และ SSAAT) และ 86% (ใน Control) และเมื่อเวลาผ่านไปพบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกเป็น 93 และ 88% (ใน CD, EC ตามลำดับ) (ตารางที่ 22, กราฟที่ 22)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 80% และ 79% (ใน SSAAT, CD ตามลำดับ)

<u>พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2</u> เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 77 และ 69% (CD และ SSAAT) เมื่อเวลาผ่านไป พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 74, 68 และ 66% (ใน EC, CD, SSAAT) (ตารางที่ 23, กราฟที่ 23)

- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 76%, 72% (ใน EC, SSAAT)

<u>พริกขี้หนูสวน Bird chili</u> เมื่อเก็บรักษาพริกที่อุณหภูมิ -10°C ในการทดสอบความงอกของพริกครั้งแรกพบว่ามีความงอก 89, 85 และ 85% (CD, SSAAT, AAT) เมื่อเวลาผ่านไป พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอก 91, 81 และ 69% (ใน CD, EC, SSAAT) (ตารางที่ 24, กราฟที่ 24)

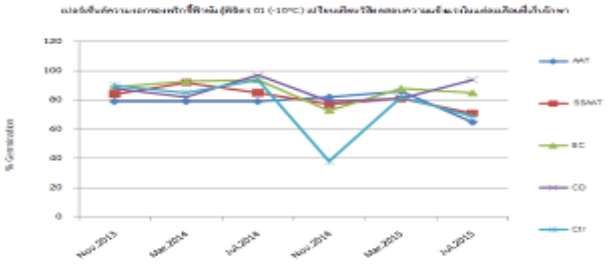
- พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 86%, 81% (ใน EC และ CD)

ตารางที่ 17 และกราฟที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	79 a	84 b	89 bc	88 c	90 b	86
2nd	79 a	92 a	93 ab	82 d	85 bc	86
3rd	79 a	85 b	94 a	97 a	94 a	90
4th	82 a	77 cd	73 d	79 d	38 e	70
5th	86 a	81 bc	88 c	81 d	82 c	84
6th	65 b	71 d	85 c	94 b	69 d	77
MEAN	78	82	87	87	76	82

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	79 b	79 b	79 b	82 a	86 ab	65 c	78
SSAAT	84 ab	92 a	85 b	77 ab	81 b	71 c	82
EC	89 a	93 a	94 a	73 b	88 a	85 b	87
CD	88 a	82 b	97 a	79 ab	81 b	94 a	87
Ctr	90 a	85 b	94 a	38 c	82 b	69 c	76
T-MEAN	86	86	90	70	84	77	82



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

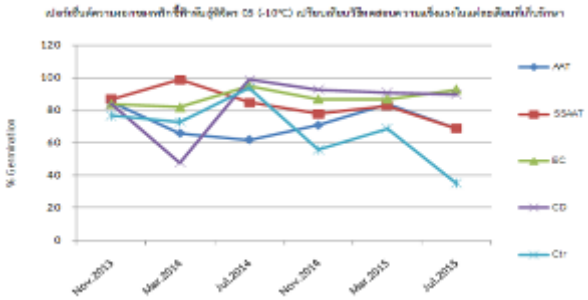
CV (a) = 3.43 CV (b) = 4.99

ตารางที่ 18 และกราฟที่ 18 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	85 a	87 b	84 b	84 c	77 b	83
2nd	66 b	99 a	82 b	48 d	73 b	74
3rd	62 b	85 bc	95 a	99 a	94 a	87
4th	71 b	78 c	87 b	93 b	56 c	77
5th	84 a	83 bc	87 b	91 b	69 b	83
6th	69 b	69 d	93 a	90 bc	35 d	71
MEAN	73	83	88	84	67	79

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	85 a	66 c	62 d	71 c	84 b	69 b	73
SSAAT	87 a	99 a	85 c	78 c	83 b	69 b	83
EC	84 ab	82 b	95 b	87 b	87 ab	93 a	88
CD	84 ab	48 d	99 a	93 a	91 a	90 a	84
Ctr	77 b	73 c	94 b	56 d	69 c	35 c	67
T-MEAN	83	74	87	77	83	71	79



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

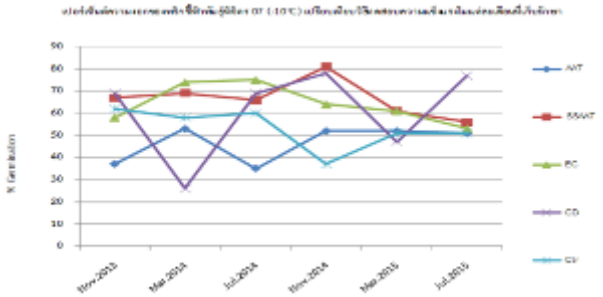
CV (a) = 4.93 CV (b) = 6.23

ตารางที่ 19 และกราฟที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	37 b	67 b	58 bc	69 b	62 a	58
2nd	53 a	69 b	74 a	26 d	58 a	56
3rd	35 b	66 bc	75 a	69 b	60 a	61
4th	52 a	81 a	64 b	78 a	37 b	62
5th	52 a	61 bc	61 bc	47 c	51 a	54
6th	51 a	56 c	53 c	77 ab	51 a	58
MEAN	46	66	64	61	53	58

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	37 c	53 b	35 c	52 c	52 ab	51 b	46
SSAAT	67 ab	69 a	66 b	81 a	61 a	56 b	66
EC	58 b	74 a	75 a	64 b	61 a	53 b	64
CD	69 a	26 c	69 ab	78 a	47 b	77 a	61
Ctr	62 ab	58 b	60 b	37 d	51 ab	51 b	53
T-MEAN	58	56	61	62	54	58	58



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

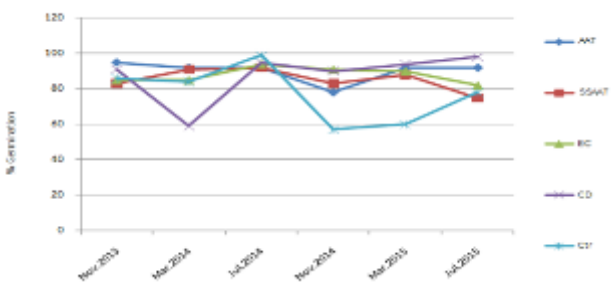
CV (a) = 8.28 CV (b) = 7.83

ตารางที่ 20 และกราฟที่ 20 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกมันดำ (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	95 a	83 bc	85 bc	91 b	86 b	88
2nd	92 a	91 ab	85 bc	59 c	84 b	82
3rd	92 a	92 a	94 a	95 ab	99 a	94
4th	78 b	83 bc	91 ab	90 b	57 c	80
5th	92 a	88 ab	90 abc	91 ab	60 c	85
6th	92 a	75 c	82 c	98 a	78 b	85
MEAN	90	85	88	88	77	86

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	95 a	92 a	92 b	78 c	92 a	92 b	90
SSAAT	83 b	91 a	92 b	83 bc	88 a	75 c	85
EC	85 b	85 a	94 b	91 a	90 a	82 c	88
CD	91 ab	59 b	95 b	90 ab	94 a	98 a	88
Ctr	86 b	84 a	99 a	57 d	60 b	78 c	77



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

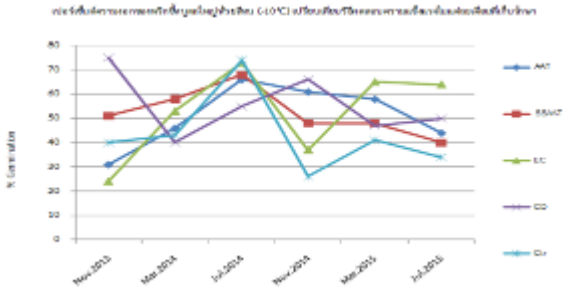
CV (a) = 7.95 CV (b) = 6.65

ตารางที่ 21 และกราฟที่ 21 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	31 c	51 bc	24 d	75 a	40 b	44
2nd	46 b	58 ab	53 b	40 d	43 b	48
3rd	66 a	68 a	73 a	55 c	74 a	67
4th	61 a	48 bc	37 c	66 b	26 c	47
5th	58 a	48 bc	65 a	47 cd	41 b	52
6th	44 b	40 c	64 a	50 cd	34 bc	47
MEAN	51	52	53	55	43	51

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	31 cd	46 bc	66 a	61 a	58 ab	44 bc	51
SSAAT	51 b	58 a	68 a	48 b	48 bc	40 bc	52
EC	24 d	53 ab	73 a	37 c	65 a	64 a	53
CD	75 a	40 c	55 b	66 a	47 bc	50 b	55
Ctr	40 c	43 bc	74 a	26 d	41 c	34 c	43
T-MEAN	44	48	67	47	52	47	51



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

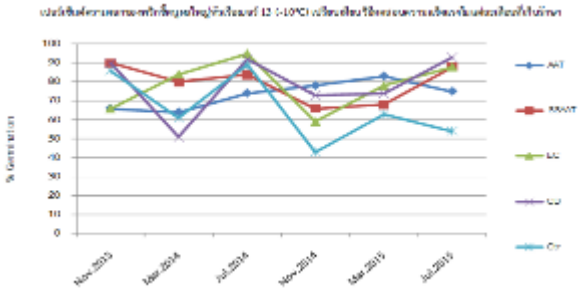
CV (a) = 9.83 CV (b) = 9.17

ตารางที่ 22 และกราฟที่ 22 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	CTR	T-MEAN
1st	66 cd	90 a	66 d	90 a	86 a	80
2nd	64 d	80 b	84 bc	51 c	61 b	68
3rd	74 bc	84 ab	95 a	92 a	89 a	87
4th	78 ab	66 c	59 d	73 b	43 c	64
5th	83 a	68 c	78 c	74 b	63 b	73
6th	75 ab	88 a	88 b	93 a	54 b	80
MEAN	73	80	78	79	66	75

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 TIME	2 TIME	3 TIME	4 TIME	5 TIME	6 TIME	V-MEAN
AAT	66 b	64 b	74 d	78 a	83 a	75 b	73
SSAAT	90 a	80 a	84 c	66 bc	68 cd	88 a	80
EC	66 b	84 a	95 a	59 c	78 ab	88 a	78
CD	90 a	51 c	92 ab	73 ab	74 bc	93 a	79
CTR	86 a	61 b	89 bc	43 d	63 d	54 c	66
T-MEAN	80	68	87	64	73	80	75



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

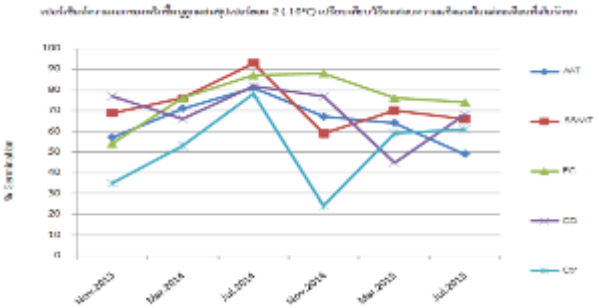
CV (a) = 6.56 CV (b) = 6.35

ตารางที่ 23 และกราฟที่ 23 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	57 cd	69 bc	54 c	77 ab	35 c	59
2nd	71 b	76 b	76 b	66 c	53 b	68
3rd	81 a	93 a	87 a	82 a	78 a	84
4th	67 bc	59 c	88 a	77 ab	24 d	63
5th	64 bc	70 bc	76 b	45 d	59 b	63
6th	49 d	66 bc	74 b	68 bc	61 b	64
MEAN	65	72	76	69	52	67

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	57 b	71 a	81 bc	67 c	64 b	49 c	65
SSAAT	69 a	76 a	93 a	59 c	70 ab	66 ab	72
EC	54 b	76 a	87 ab	88 a	76 a	74 a	76
CD	77 a	66 a	82 bc	77 b	45 c	68 ab	69
Ctr	35 c	53 b	78 c	24 d	59 b	61 b	52
T-MEAN	59	68	84	63	63	64	67



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

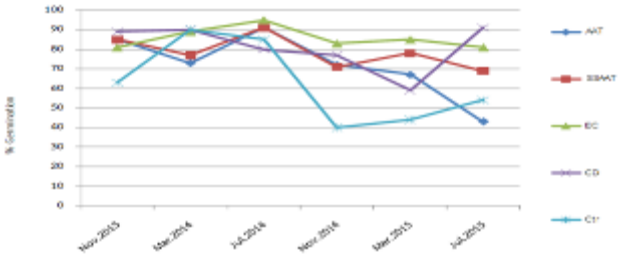
CV (a) = 9.06 CV (b) = 7.90

ตารางที่ 24 และกราฟที่ 24 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่ (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	85 a	85 ab	81 b	89 a	63 b	81
2nd	73 b	77 bc	89 b	90 a	90 a	84
3rd	91 a	91 a	95 a	80 b	85 a	89
4th	72 b	71 c	83 b	77 b	40 d	69
5th	67 b	78 bc	85 b	59 c	44 cd	66
6th	43 c	69 c	81 b	91 a	54 bc	68
MEAN	72	79	86	81	63	76

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	85 a	73 b	91 ab	72 b	67 b	43 d	72
SSAAT	85 a	77 b	91 ab	71 b	78 a	69 c	79
EC	81 a	89 a	95 a	83 a	85 a	81 b	86
CD	89 a	90 a	80 c	77 ab	59 b	91 a	81
Ctr	63 b	90 a	85 bc	40 c	44 c	54 d	63
T-MEAN	81	84	89	69	66	68	76



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 9.89 CV (b) = 7.09

<u>ทดสอบความแข็งแรงที่อุณหภูมิ 25°C</u>

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่พันหัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 และพริกขี้หนู Bird Chili

พบว่าการทดสอบความแข็งแรงทุกวิธีทั้ง 5 วิธีนั้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งแม้เมื่อเวลาผ่านไปก็ตาม (ภาคผนวก table V1-V8)

<u>พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่ามีความแข็งแรงอยู่ที่ 7.54, 9.68, 6.80, 11.04 และ 8.01 (การทดสอบวิธีทดสอบความแข็งแรงแบบ AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ) พบว่าในการทดสอบแบบ CD เมล็ดพริกมีความแข็งแรงมากที่สุด และเมื่อเวลาผ่านไปมีค่าความแข็งแรงเป็น 4.66, 5.46, 6.26, 5.40 และ 4.12 (AAT, SSAAT, EC, CD และ Control ตามลำดับ)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดในการทดสอบแบบ CD คือมีค่า 8.00 (ตารางที่ 25, กราฟที่ 25)

<u>พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่ามีความแข็งแรงอยู่ที่ 5.92, 9.95, 7.43, 10.33 และ 8.34 วิธีทดสอบความแข็งแรงแบบ AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ) และเมื่อเวลาผ่านไป พบว่าความแข็งแรงของพริกเป็น 6.79, 2.93, 6.77, 7.71 และ 3.44 (AAT, SSAAT, EC, CD และ Control ตามลำดับ)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.12 และ 7.97 (EC และ CD ตามลำดับ) (ตารางที่ 26, กราฟที่ 26)

<u>พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่ามีความแข็งแรงอยู่ที่ 4.66, 7.87, 7.44, 5.71 และ 7.35 (วิธีทดสอบความแข็งแรงแบบ AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ) และเมื่อเวลาผ่านไป พบว่าความแข็งแรงลดลงเป็น 4.18, 4.75, 5.64, 5.22 และ 2.81 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 6.71 , 6.11 ในความแข็งแรง EC และ CD ตามลำดับ (ตารางที่ 27, กราฟที่ 27)

<u>พริกมันดำ</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่ามีความแข็งแรงอยู่ที่ 9.12, 10.93, 7.35, 12.04 และ 10.54 เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT, SSAAT,

EC, CD และ Ctr ตามลำดับ) และเมื่อเวลาผ่านไป พบว่าความแข็งแรงลดลงเป็น 6.87, 7.44, 8.21, 7.79 และ 6.00 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 9.56, 9.20, 9.09 ได้แก่วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT, CD และ EC ตามลำดับ (ตารางที่ 28, กราฟที่ 28)

พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่า มีความแข็งแรงอยู่ที่ 2.97, 4.80, 1.75, 3.88 และ 6.05 เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าความแข็งแรงลดลงเป็น 1.90, 3.40, 5.17, 3.37 และ 0.98 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 4.86, 4.78 และ 4.74 ด้วยวิธีทดสอบแบบ CD, AAT, และ SSAAT ตามลำดับ (ตารางที่ 29, กราฟที่ 29)

พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่า มีความแข็งแรงอยู่ที่ 4.83, 7.35, 4.73, 8.11 และ 6.61 ซึ่งทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าความแข็งแรงลดลง 4.69, 4.61, 7.03, 5.73 และ 2.41 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.34, 7.18 (CD และ EC ตามลำดับ) (ตารางที่ 30, กราฟที่ 30)

พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่า มีความแข็งแรงอยู่ที่ 4.65, 7.17, 4.13, 8.33 และ 8.06 ด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป มีความแข็งแรงเป็น 5.04, 4.83, 6.53, 6.07 และ 3.59 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.29, 6.47 ซึ่งทดสอบด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี CD และ EC ตามลำดับ (ตารางที่ 31, กราฟที่ 31)

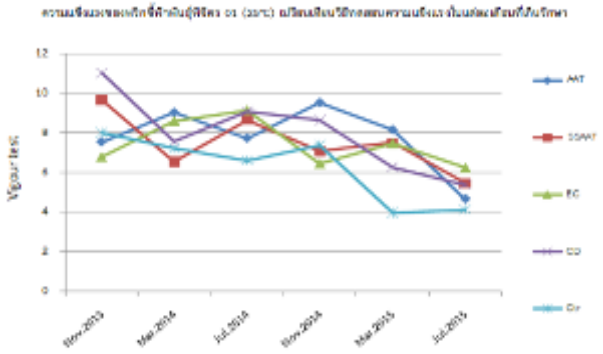
พริกขี้หนูสวนเบริ์ดชิลลี่ เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 25°C ในการทดสอบความแข็งแรงของพริกครั้งแรกพบว่า มีความแข็งแรงอยู่ที่ 7.48, 10.19, 5.77, 10.98 และ 9.24 ด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรง ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าเมล็ดพริกมีความแข็งแรงลดลง 6.15, 6.75, 7.72, 5.86 และ 5.40 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.87, 7.60, 7.60, 7.53 ด้วยวิธีทดสอบ AAT, EC และ CD , และ SSAAT ตามลำดับ (ตารางที่ 32, กราฟที่ 32)

ตารางที่ 25 และกราฟที่ 25 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	7.54 c	9.68 a	6.80 bc	11.04 a	8.01 a	8.61
2nd	9.02 ab	6.55 d	8.60 a	7.56 c	7.22 ab	7.79
3rd	7.73 c	8.66 b	9.13 a	9.09 b	6.61 b	8.24
4th	9.52 a	7.08 cd	6.47 c	8.65 b	7.39 ab	7.82
5th	8.15 bc	7.51 c	7.49 b	6.27 d	3.96 c	6.68
6th	4.66 d	5.46 e	6.26 c	5.40 e	4.12 c	5.18
MEAN	7.77	7.49	7.46	8.00	6.22	7.39

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	7.54 cd	9.02 a	7.73 b	9.52 a	8.15 a	4.66 c	7.77
SSAAT	9.68 b	6.55 c	8.66 a	7.08 cd	7.51 a	5.46 b	7.49
EC	6.80 d	8.60 a	9.13 a	6.47 d	7.49 a	6.26 a	7.46
CD	11.04 a	7.56 b	9.09 a	8.65 b	6.27 b	5.40 b	8.00
Ctr	8.01 c	7.22 bc	6.61 c	7.39 c	3.96 c	4.12 c	6.22
T-MEAN	8.61	7.79	8.24	7.82	6.68	5.18	7.39



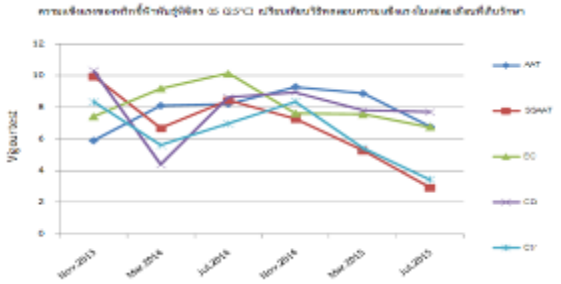
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 2.63 CV (b) = 3.99

ตารางที่ 26 และกราฟที่ 26 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	5.92 d	9.95 a	7.43 b	10.33 a	8.34 a	8.39
2nd	8.12 b	6.68 c	9.21 a	4.39 d	5.61 c	6.80
3rd	8.23 b	8.44 b	10.15 a	8.63 bc	6.98 b	8.49
4th	9.30 a	7.28 c	7.62 b	8.96 b	8.37 a	8.31
5th	8.88 ab	5.26 d	7.56 b	7.81 c	5.42 c	6.99
6th	6.79 c	2.93 e	6.77 b	7.71 c	3.44 d	5.53
MEAN	7.87	6.75	8.12	7.97	6.36	7.42

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	5.92 c	8.12 b	8.23 b	9.30 a	8.88 a	6.79 b	7.87
SSAAT	9.95 a	6.68 c	8.44 b	7.28 c	5.26 c	2.93 c	6.75
EC	7.43 b	9.21 a	10.15 a	7.62 bc	7.56 b	6.77 b	8.12
CD	10.33 a	4.39 e	8.63 b	8.96 a	7.81 b	7.71 a	7.97
Ctr	8.34 b	5.61 d	6.98 c	8.37 ab	5.42 c	3.44 c	6.36
T-MEAN	8.39	6.80	8.49	8.31	6.99	5.53	7.42



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

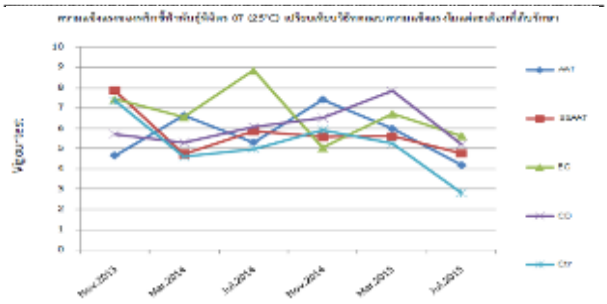
CV (a) = 4.14 CV (b) = 4.38

ตารางที่ 27 และกราฟที่ 27 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	4.66 de	7.87 a	7.44 b	5.71 bc	7.35 a	6.61
2nd	6.63 ab	4.73 c	6.56 bc	5.29 c	4.61 c	5.56
3rd	5.31 cd	5.85 b	8.86 a	6.08 bc	4.99 bc	6.22
4th	7.42 a	5.58 bc	5.05 d	6.52 b	5.91 b	6.10
5th	5.98 bc	5.61 bc	6.73 bc	7.85 a	5.24 bc	6.28
6th	4.18 e	4.75 c	5.64 cd	5.22 c	2.81 d	4.52
MEAN	5.70	5.73	6.71	6.11	5.15	5.88

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	4.66 c	6.63 a	5.31 b	7.42 a	5.98 bc	4.18 b	5.70
SSAAT	7.87 a	4.73 c	5.85 b	5.58 bc	5.61 bc	4.75 ab	5.73
EC	7.44 a	6.56 a	8.86 a	5.05 c	6.73 ab	5.64 a	6.71
CD	5.71 b	5.29 b	6.08 b	6.52 ab	7.85 a	5.22 a	6.11
Ctr	7.35 a	4.61 b	4.99 b	5.91 bc	5.24 c	2.81 c	5.15
T-MEAN	6.61	5.56	6.22	6.10	6.28	4.52	5.88



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

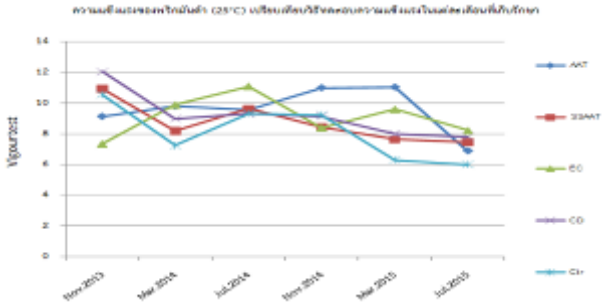
CV (a) = 6.87 CV (b) = 6.45

ตารางที่ 28 และกราฟที่ 28 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกมันดำ (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	9.12 b	10.93 a	7.35 d	12.04 a	10.54 a	10.00
2nd	9.78 b	8.18 cd	9.88 b	8.98 b	7.23 c	8.81
3rd	9.55 b	9.64 b	11.08 a	9.29 b	9.32 b	9.78
4th	10.99 a	8.45 c	8.40 c	9.13 b	9.23 b	9.24
5th	11.03 a	7.63 cd	9.59 b	7.98 c	6.28 d	8.50
6th	6.87 c	7.44 d	8.21 cd	7.79 c	6.00 d	7.26
MEAN	9.56	8.71	9.09	9.20	8.10	8.93

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	9.12 c	9.78 a	9.55 b	10.99 a	11.03 a	6.87 b	9.56
SSAAT	10.93 b	8.18 b	9.64 b	8.45 b	7.63 c	7.44 ab	8.71
EC	7.35 d	9.88 a	11.08 a	8.40 b	9.59 b	8.21 a	9.09
CD	12.04 a	8.98 ab	9.29 b	9.13 b	7.98 c	7.79 a	9.20
Ctr	10.54 b	7.23 c	9.32 b	9.23 b	6.28 d	6.00 c	8.10
T-MEAN	10.00	8.81	9.78	9.24	8.50	7.26	8.93



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

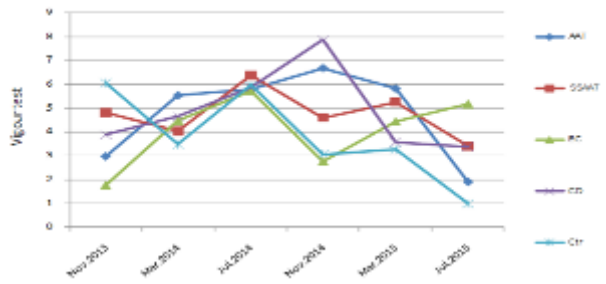
CV (a) = 2.38 CV (b) = 3.96

ตารางที่ 29 และกราฟที่ 29 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	2.97 c	4.80 bc	1.75 d	3.88 d	6.05 a	3.89
2nd	5.53 b	4.03 cd	4.46 b	4.64 c	3.47 b	4.43
3rd	5.79 ab	6.38 a	5.73 a	5.86 b	5.96 a	5.94
4th	6.68 a	4.59 bc	2.76 c	7.86 a	3.06 b	4.99
5th	5.82 ab	5.25 b	4.43 b	3.56 d	3.25 b	4.46
6th	1.90 d	3.40 d	5.17 ab	3.37 d	0.98 c	2.96
MEAN	4.78	4.74	4.05	4.86	3.80	4.45

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	2.97 d	5.53 a	5.79 a	6.68 b	5.82 a	1.90 c	4.78
SSAAT	4.80 b	4.03 bc	6.38 a	4.59 c	5.25 a	3.40 b	4.74
EC	1.75 e	4.46 b	5.73 a	2.76 d	4.43 b	5.17 a	4.05
CD	3.88 c	4.64 b	5.86 a	7.86 a	3.56 c	3.37 b	4.86
Ctr	6.05 a	3.47 c	5.96 a	3.06 d	3.25 c	0.98 d	3.80
T-MEAN	3.89	4.43	5.94	4.99	4.46	2.96	4.45



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

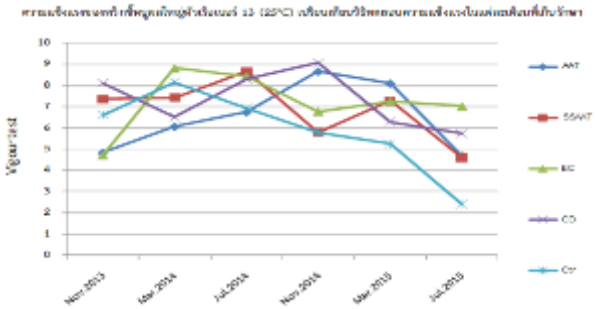
CV (a) = 4.18 CV (b) = 6.31

ตารางที่ 30 และกราฟที่ 30 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	4.83 c	7.35 b	4.73 c	8.11 a	6.61 bc	6.32
2nd	6.07 b	7.42 b	8.82 a	6.52 b	8.16 a	7.40
3rd	6.75 b	8.66 a	8.44 a	8.30 a	6.92 b	7.81
4th	8.66 a	5.80 c	6.78 b	9.07 a	5.78 cd	7.22
5th	8.10 a	7.27 b	7.26 b	6.28 b	5.24 d	6.83
6th	4.69 c	4.61 d	7.03 b	5.73 b	2.41 e	4.89
MEAN	6.51	6.85	7.18	7.34	5.85	6.75

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	4.83 c	6.07 d	6.75 b	8.66 a	8.10 a	4.69 c	6.51
SSAAT	7.35 ab	7.42 bc	8.66 a	5.80 b	7.27 ab	4.61 c	6.85
EC	4.73 c	8.82 a	8.44 a	6.78 b	7.26 ab	7.03 a	7.18
CD	8.11 a	6.52 cd	8.30 a	9.07 a	6.28 b	5.73 b	7.34
Ctr	6.61 b	8.16 ab	6.92 b	5.78 b	5.24 c	2.41 d	5.85
T-MEAN	6.32	7.40	7.81	7.22	6.83	4.89	6.75



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

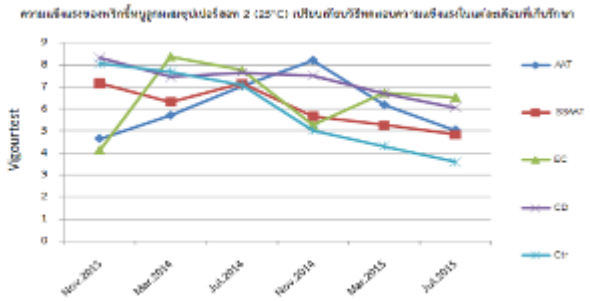
CV (a) = 4.73 CV (b) = 5.52

ตารางที่ 31 และกราฟที่ 31 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	CTR	T-MEAN
1st	4.65 e	7.17 a	4.13 e	8.33 a	8.06 a	6.47
2nd	5.71 cd	6.33 ab	8.39 a	7.45 ab	7.69 a	7.11
3rd	7.05 b	7.15 a	7.77 ab	7.65 ab	7.09 a	7.34
4th	8.21 a	5.67 bc	5.27 d	7.53 ab	5.03 b	6.34
5th	6.18 bc	5.27 c	6.74 bc	6.69 bc	4.31 bc	5.84
6th	5.04 de	4.83 c	6.53 c	6.07 c	3.59 c	5.21
MEAN	6.14	6.07	6.47	7.29	5.96	6.39

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 TIME	2 TIME	3 TIME	4 TIME	5 TIME	6 TIME	V-MEAN
AAT	4.65 b	5.71 c	7.05 a	8.21 a	6.18 ab	5.04 bc	6.14
SSAAT	7.17 a	6.33 bc	7.15 a	5.67 b	5.27 bc	4.83 c	6.07
EC	4.13 b	8.39 a	7.77 a	5.27 b	6.74 a	6.53 a	6.47
CD	8.33 a	7.45 ab	7.65 a	7.53 a	6.69 a	6.07 ab	7.29
CTR	8.06 a	7.69 a	7.09 a	5.03 b	4.31 c	3.59 d	5.96
T-MEAN	6.47	7.11	7.34	6.34	5.84	5.21	6.39



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

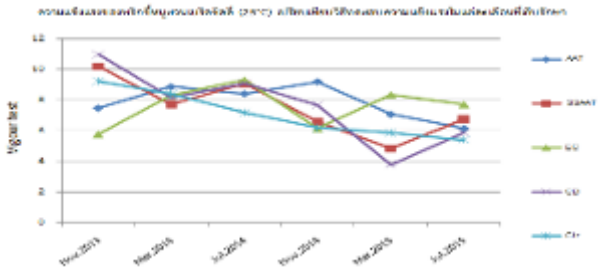
CV (a) = 9.71 CV (b) = 6.87

ตารางที่ 32 และกราฟที่ 32 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่ (25°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	CTr	T-MEAN
1st	7.48 b	10.19 a	5.77 c	10.98 a	9.24 a	8.73
2nd	8.87 a	7.73 c	8.32 b	8.15 c	8.40 b	8.29
3rd	8.42 a	9.07 b	9.31 a	9.11 b	7.18 c	8.62
4th	9.21 a	6.60 d	6.14 c	7.69 c	6.19 d	7.17
5th	7.07 b	4.82 e	8.34 b	3.78 e	5.86 de	5.97
6th	6.15 c	6.75 d	7.72 b	5.86 d	5.40 e	6.38
MEAN	7.87	7.53	7.60	7.60	7.01	7.53

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	7.48 c	8.87 a	8.42 a	9.21 a	7.07 b	6.15 bc	7.87
SSAAT	10.19 ab	7.73 b	9.07 a	6.60 c	4.82 d	6.75 b	7.53
EC	5.77 d	8.32 ab	9.31 a	6.14 c	8.34 a	7.72 a	7.60
CD	10.98 a	8.15 ab	9.11 a	7.69 b	3.78 e	5.86 c	7.60
CTr	9.24 b	8.40 ab	7.18 b	6.19 c	5.86 c	5.40 c	7.01
T-MEAN	8.73	8.29	8.62	7.17	5.97	6.38	7.53



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 6.32 CV (b) = 3.74

ทดสอบความแข็งแรงที่อุณหภูมิ 5°C

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่พันหัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 และพริกขี้หนู Bird Chili

พบว่าการทดสอบความแข็งแรงทุกวิธีนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งแม้เมื่อเวลาผ่านไป (ภาคผนวก table V9-V16)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้น เมื่อทดสอบความแข็งแรง 5 วิธี พบว่า เมื่อทดสอบความแข็งแรงครั้งแรกของเมล็ดพริกมีความแข็งแรง 7.39, 9.07, 6.71, 11.48 และ 8.68 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไปการทดสอบครั้งที่ 6 พบว่าความแข็งแรงลดลงเป็น 8.25, 7.11, 7.33, 5.25 และ 6.52 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.39, 8.17, 7.75 ด้วยวิธีทดสอบ EC, AAT และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 33, กราฟที่ 33)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้น เมื่อทดสอบความแข็งแรง 5 วิธี พบว่าเมื่อทดสอบครั้งแรกมีค่าความแข็งแรงดังนี้ 6.56, 8.94, 7.58, 10.00 และ 8.70 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไป ความแข็งแรงเป็น 8.73, 6.05, 6.67, 5.53 และ 6.53 ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.43, 7.99 และ 7.66 ด้วยวิธีทดสอบแบบ EC, Ctr และ AAT ตามลำดับ (ตารางที่ 34, กราฟที่ 34)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้นพบว่า เมื่อทดสอบครั้งแรกมีค่าความแข็งแรงดังนี้ 4.60, 8.67, 5.42, 6.37 และ 5.59 เมื่อเวลาผ่านไป มีความแข็งแรงงเป็น 5.68, 5.56, 5.62, 3.24 และ 5.09 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 6.05, 5.89 และ 5.38 ด้วยวิธีทดสอบแบบ EC, Ctr และ AAT ตามลำดับ (ตารางที่ 35, กราฟที่ 35)

<u>พริกมันดำ</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้นพบว่า เมื่อทดสอบครั้งแรกมีค่าความแข็งแรงดังนี้ 8.01, 10.24, 7.65, 12.55 และ 7.59 เมื่อเวลาผ่านไป มีความแข็งแรงเป็น 10.36, 8.92, 8.03, 5.96 และ 5.98 ด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรง AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 9.38, 9.36 ด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรง AAT และ EC ตามลำดับ (ตารางที่ 36, กราฟที่ 36)

<u>พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้นพบว่า เมื่อทดสอบครั้งแรกมีค่าความแข็งแรงดังนี้ 2.89, 3.95, 1.80, 5.08 และ 5.62 ค่อนข้างมีค่าความแข็งแรงน้อยตั้งแต่แรก เมื่อเวลาผ่านไปมีค่า 6.01, 3.18, 4.17, 2.90 และ 3.39 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 37, กราฟที่ 37)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 5.15, 5.12, 4.99 ด้วยวิธี Ctr, AAT และ EC ตามลำดับ

<u>พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้นพบว่า เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆ ครั้งแรกมีค่าความแข็งแรงดังนี้ 4.65, 7.75, 4.45, 8.57 และ 7.25 เมื่อเวลาผ่านไปมีค่าเป็น 6.29, 6.31, 7.15, 2.75 และ 4.67 ด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรง AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 6.99, 6.80, 6.78 ในวิธีทดสอบด้วยวิธีทดสอบ EC, Ctr, และ AAT ตามลำดับ (ตารางที่ 38, กราฟที่ 38)

<u>พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮฮท 2</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้นพบว่า ค่าความแข็งแรงครั้งแรกมีค่า 4.83, 5.57, 4.08, 7.34, และ 8.34 เมื่อเวลาผ่านไป มีค่าเป็น 6.68, 6.14, 6.33, 2.49 และ 5.70 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 39, กราฟที่ 39)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 6.79, 6.32 และ 6.30 ด้วยวิธี Ctr, EC, และ AAT ตามลำดับ

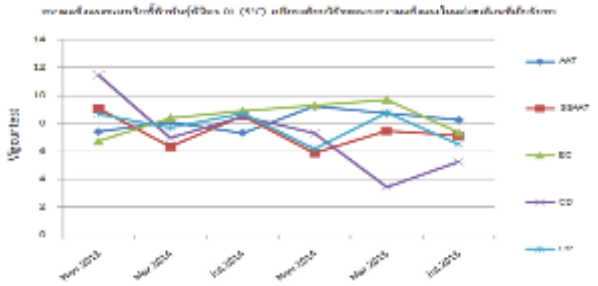
<u>พริกขี้หนู Bird Chili</u> เมื่อเก็บรักษาพริกไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นั้นพบว่า ค่าความแข็งแรงครั้งแรกมีค่า 7.82, 9.65, 5.95, 10.78, และ 9.66 เมื่อเวลาผ่านไป มีค่า 6.17, 5.82, 7.06, 2.73 และ 4.40 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 40, กราฟที่ 40)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.69, 7.59, 7.31 ด้วยวิธีทดสอบ Ctr, EC, และ AAT ตามลำดับ

ตารางที่ 33 และกราฟที่ 33 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Clr	T-MEAN
1st	7.39 c	9.07 a	6.71 c	11.48 a	8.68 a	8.67
2nd	8.10 bc	6.34 cd	8.41 b	6.96 c	7.68 b	7.50
3rd	7.32 c	8.55 a	8.90 ab	8.50 b	8.70 a	8.40
4th	9.21 a	5.87 d	9.30 ab	7.30 c	6.17 c	7.57
5th	8.72 ab	7.46 b	9.70 a	3.44 e	8.76 a	7.62
6th	8.25 abc	7.11 bc	7.33 c	5.25 d	6.52 c	6.89
MEAN	8.17	7.40	8.39	7.16	7.75	7.77

	TIME (T)						
MSOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	7.39 c	8.10 a	7.32 b	9.21 a	8.72 a	8.25 a	8.17
SSAAT	9.07 b	6.34 c	8.55 a	5.87 c	7.46 b	7.11 b	7.40
EC	6.71 c	8.41 a	8.90 a	9.30 a	9.70 a	7.33 b	8.39
CD	11.48 a	6.96 bc	8.50 a	7.30 b	3.44 c	5.25 c	7.16
Clr	8.68 b	7.68 ab	8.70 a	6.17 c	8.76 a	6.52 b	7.75
T-MEAN	8.67	7.50	8.60	7.57	7.62	6.89	7.77



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

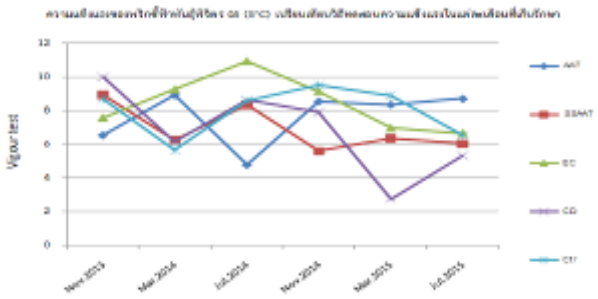
CV (a) = 3.57 CV (b) = 4.35

ตารางที่ 34 และกราฟที่ 34 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1ST	6.56 b	8.94 a	7.58 c	10.00 a	8.70 a	8.36
2ND	8.93 a	6.28 b	9.27 b	6.18 c	5.68 c	7.27
3rd	4.80 c	8.36 a	10.95 a	8.64 b	8.61 a	8.27
4TH	8.57 a	5.61 b	9.16 b	7.91 b	9.53 a	8.15
5TH	8.38 a	6.35 b	6.97 cd	2.76 e	8.89 a	6.67
6TH	8.73 a	6.05 b	6.67 d	5.33 d	6.53 b	6.66
MEAN	7.66	6.93	8.43	6.80	7.99	7.56

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	6.56 d	8.93 a	4.80 c	8.57 ab	8.38 a	8.73 a	7.66
SSAAT	8.94 b	6.28 b	8.36 b	5.61 c	6.35 b	6.05 bc	6.93
EC	7.58 c	9.27 a	10.95 a	9.16 a	6.97 b	6.67 b	8.43
CD	10.00 a	6.18 b	8.64 b	7.91 b	2.76 c	5.33 c	6.80
Ctr	8.70 b	5.68 b	8.61 b	9.53 a	8.89 a	6.53 b	7.99
T-MEAN	8.36	7.27	8.27	8.15	6.67	6.66	7.56



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

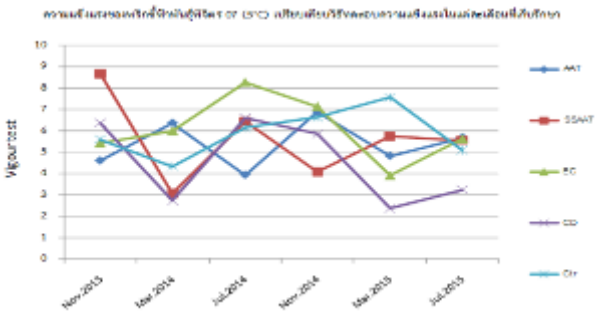
CV (a) = 4.46 CV (b) = 2.59

ตารางที่ 35 และกราฟที่ 35 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1ST	4.60 c	8.67 a	5.42 c	6.37 a	5.59 cd	6.13
2ND	6.36 ab	3.06 e	5.99 c	2.73 bc	4.33 e	4.49
3rd	3.93 d	6.45 b	8.26 a	6.60 a	6.13 bc	6.28
4TH	6.88 a	4.07 d	7.13 b	5.85 a	6.63 b	6.12
5TH	4.82 c	5.75 bc	3.91 d	2.36 c	7.56 a	4.88
6TH	5.68 b	5.56 c	5.62 c	3.24 b	5.09 d	5.04
MEAN	5.38	5.60	6.05	4.53	5.89	5.49

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	4.60 d	6.36 a	3.93 c	6.88 a	4.82 c	5.68 a	5.38
SSAAT	8.67 a	3.06 c	6.45 b	4.07 c	5.75 b	5.56 a	5.60
EC	5.42 c	5.99 a	8.26 a	7.13 a	3.91 d	5.62 a	6.05
CD	6.37 b	2.73 c	6.60 b	5.85 b	2.36 e	3.24 b	4.53
Ctr	5.59 bc	4.33 b	6.13 b	6.63 ab	7.56 a	5.09 a	5.89
T-MEAN	6.13	4.49	6.28	6.12	4.88	5.04	5.49



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

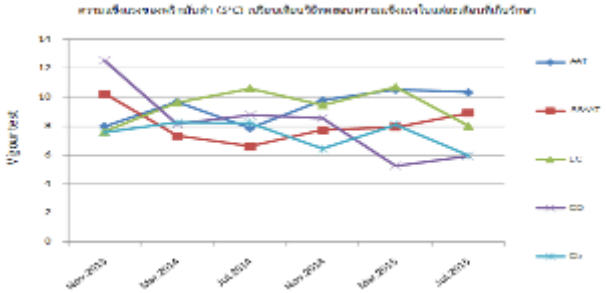
CV (a) = 7.46 CV (b) = 5

ตารางที่ 36 และกราฟที่ 36 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกมันดำ (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Clr	T-MEAN
1st	8.01 b	10.24 a	7.65 c	12.55 a	7.59 a	9.21
2nd	9.71 a	7.33 cd	9.65 b	8.13 b	8.25 a	8.61
3rd	7.85 b	6.59 d	10.63 a	8.78 b	8.21 a	8.41
4th	9.81 a	7.73 c	9.48 b	8.57 b	6.42 b	8.40
5th	10.53 a	7.95 c	10.72 a	5.27 c	8.12 a	8.52
6th	10.36 a	8.92 b	8.03 c	5.96 c	5.98 b	7.85
MEAN	9.38	8.13	9.36	8.21	7.43	8.50

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	8.01 c	9.71 a	7.85 c	9.81 a	10.53 a	10.36 a	9.38
SSAAT	10.24 b	7.33 c	6.59 d	7.73 c	7.95 b	8.92 b	8.13
EC	7.65 c	9.65 a	10.63 a	9.48 a	10.72 a	8.03 c	9.36
CD	12.55 a	8.13 b	8.78 b	8.57 b	5.27 c	5.96 d	8.21
Clr	7.59 c	8.25 b	8.21 bc	6.42 d	8.12 b	5.98 d	7.43
T-MEAN	9.21	8.61	8.41	8.40	8.52	7.85	8.50



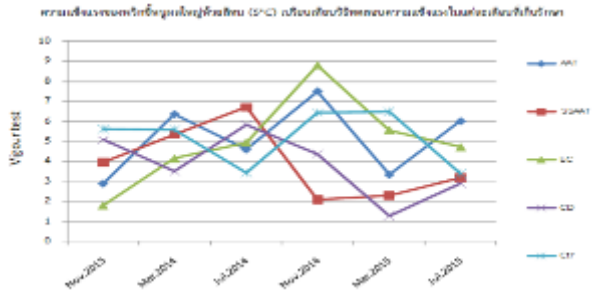
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 2.44 CV (b) = 3.6

ตารางที่ 37 และกราฟที่ 37 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	2.89 c	3.95 b	1.80 d	5.08 ab	5.62 a	3.87
2nd	6.36 a	5.35 a	4.14 c	3.49 cd	5.59 a	4.99
3rd	4.59 b	6.70 a	4.94 bc	5.84 a	3.43 b	5.10
4th	7.51 a	2.09 d	8.79 a	4.38 bc	6.42 a	5.84
5th	3.34 c	2.29 cd	5.56 b	1.27 e	6.47 a	3.79
6th	6.01 a	3.18 bc	4.71 bc	2.90 d	3.39 b	4.04
MEAN	5.12	3.93	4.99	3.82	5.15	4.60

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	2.89 c	6.36 a	4.59 b	7.51 ab	3.34 b	6.01 a	5.12
SSAAT	3.95 b	5.35 ab	6.70 a	2.09 d	2.29 c	3.18 b	3.93
EC	1.80 d	4.14 bc	4.94 b	8.79 a	5.56 a	4.71 a	4.99
CD	5.08 ab	3.49 c	5.84 ab	4.38 c	1.27 d	2.90 b	3.82
Ctr	5.62 a	5.59 a	3.43 c	6.42 b	6.47 a	3.39 b	5.15
T-MEAN	3.87	4.99	5.10	5.84	3.79	4.04	4.60



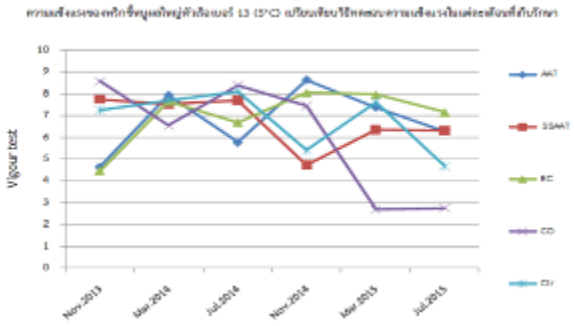
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 8.23 CV (b) = 8.23

ตารางที่ 38 และกราฟที่ 38 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	4.65 d	7.75 a	4.45 c	8.57 a	7.25 a	6.54
2nd	7.94 ab	7.53 a	7.65 a	6.55 c	7.71 a	7.48
3rd	5.77 c	7.70 a	6.69 b	8.40 a	8.12 a	7.34
4th	8.64 a	4.73 c	8.05 a	7.45 b	5.40 b	6.86
5th	7.38 b	6.35 b	7.96 a	2.68 d	7.62 a	6.40
6th	6.29 c	6.31 b	7.15 ab	2.75 d	4.67 c	5.44
MEAN	6.78	6.73	6.99	6.07	6.80	6.67

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	4.65 c	7.94 a	5.77 c	8.64 a	7.38 a	6.29 a	6.78
SSAAT	7.75 ab	7.53 a	7.70 a	4.73 c	6.35 b	6.31 a	6.73
EC	4.45 c	7.65 a	6.69 b	8.05 ab	7.96 a	7.15 a	6.99
CD	8.57 a	6.55 b	8.40 a	7.45 b	2.68 c	2.75 c	6.07
Ctr	7.25 b	7.71 a	8.12 a	5.40 c	7.62 a	4.67 b	6.80
T-MEAN	6.54	7.48	7.34	6.86	6.40	5.44	6.67



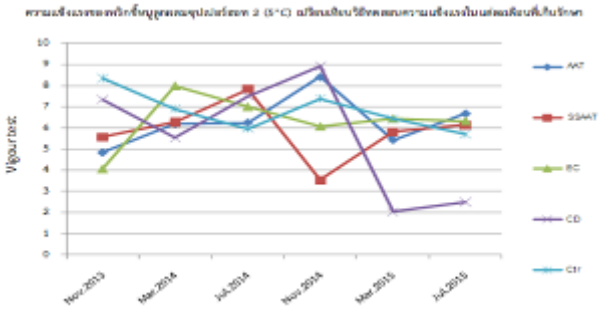
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 6.73 CV (b) = 4.52

ตารางที่ 39 และกราฟที่ 39 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	4.83 d	5.57 b	4.08 c	7.34 b	8.34 a	6.03
2nd	6.19 bc	6.27 b	7.99 a	5.52 c	6.90 bc	6.58
3rd	6.25 bc	7.83 a	7.00 b	7.51 b	5.96 cd	6.91
4th	8.42 a	3.53 c	6.08 b	8.91 a	7.39 ab	6.87
5th	5.43 cd	5.81 b	6.45 b	2.03 d	6.42 bcd	5.23
6th	6.68 b	6.14 b	6.33 b	2.49 d	5.70 d	5.47
MEAN	6.30	5.86	6.32	5.63	6.79	6.18

	TIME (T)						
VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	4.83 cd	6.19 bc	6.25 bc	8.42 a	5.43 b	6.68 a	6.30
SSAAT	5.57 c	6.27 bc	7.83 a	3.53 d	5.81 ab	6.14 a	5.86
EC	4.08 d	7.99 a	7.00 ab	6.08 c	6.45 a	6.33 a	6.32
CD	7.34 b	5.52 c	7.51 a	8.91 a	2.03 c	2.49 b	5.63
Ctr	8.34 a	6.90 b	5.96 c	7.39 b	6.42 a	5.70 a	6.79
T-MEAN	6.03	6.58	6.91	6.87	5.23	5.47	6.18



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

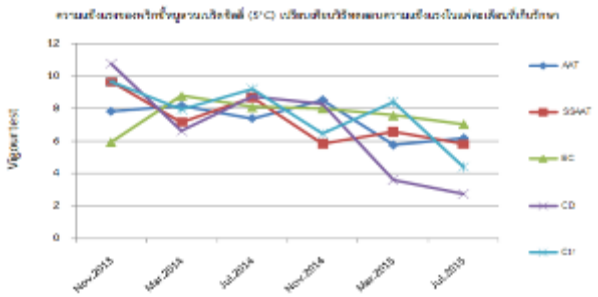
CV (a) = 4.96 CV (b) = 7.01

ตารางที่ 40 และกราฟที่ 40 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่ (5°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	7.82 ab	9.65 a	5.95 c	10.78 a	9.66 a	8.77
2nd	8.17 ab	7.17 b	8.80 a	6.61 c	7.95 c	7.74
3rd	7.39 b	8.70 a	8.11 ab	8.74 b	9.22 ab	8.43
4th	8.52 a	5.84 c	8.03 ab	8.29 b	6.47 d	7.43
5th	5.75 c	6.57 bc	7.59 b	3.59 d	8.41 bc	6.38
6th	6.17 c	5.82 c	7.06 b	2.73 e	4.40 e	5.24
MEAN	7.31	7.29	7.59	6.79	7.69	7.33

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	7.82 b	8.17 ab	7.39 b	8.52 a	5.75 b	6.17 ab	7.31
SSAAT	9.65 a	7.17 bc	8.70 a	5.84 b	6.57 b	5.82 b	7.29
EC	5.95 c	8.80 a	8.11 ab	8.03 a	7.59 a	7.06 a	7.59
CD	10.78 a	6.61 c	8.74 a	8.29 a	3.59 c	2.73 d	6.79
Ctr	9.66 a	7.95 ab	9.22 a	6.47 b	8.41 a	4.40 c	7.69
T-MEAN	8.77	7.74	8.43	7.43	6.38	5.24	7.33



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 6.42 CV (b) = 6.42

ทดสอบความแข็งแรงที่อุณหภูมิ -10°C

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่พันหัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 และพริกขี้หนู Bird Chili

พบว่าการทดสอบความแข็งแรงทุกวิธีนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งแม้เมื่อเวลาผ่านไป (ภาคผนวก table V17-V24)

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงที่ทดสอบครั้งแรก 6.58, 10.26, 6.76, 11.00 และ 10.04 เมื่อเวลาผ่านไปการทดสอบครั้งที่ 6 มีค่า 5.44, 5.57, 7.87, 7.76 และ 5.00 ทดสอบด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 41, กราฟที่ 41)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.99, 8.07, 7.73 ด้วยวิธี CD, SSAAT และ EC ตามลำดับ

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงที่ทดสอบครั้งแรกมีค่า 7.13, 9.97, 7.36, 10.66 และ 8.21 เมื่อเวลาผ่านไป การทดสอบครั้งที่ 6 มีค่าความแข็งแรงเป็น 6.13, 5.99, 8.82, 7.47 และ 2.57 ทดสอบด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 42, กราฟที่ 42)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.30, 8.14 ด้วยวิธีทดสอบ EC และ CD ตามลำดับ

พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงที่ทดสอบครั้งแรกมีค่า 3.04, 8.74, 4.93, 9.39 และ 7.30 เมื่อเวลาผ่านไป ทดสอบความแข็งแรงครั้งที่ 6 มีค่าเป็น 4.47, 4.59, 4.96, 6.16 และ 4.20 ทดสอบด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 43, กราฟที่ 43)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 6.54 และ 6.36 ด้วยวิธีทดสอบ SSAAT และ EC ตามลำดับ

พริกมันดำ เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงครั้งแรกเป็น 8.62, 9.82, 7.57, 12.77 และ 9.68 ครั้งสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป มีค่าความแข็งแรงเป็น 8.72, 7.28, 9.79, 7.94 และ 5.94 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 44, กราฟที่ 44)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 9.37 และ 8.99 ด้วยวิธี CD และ EC ตามลำดับ

พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงครั้งแรกเป็น 2.54, 4.43, 1.70, 9.00 และ 4.08 ครั้งสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป มีค่าความแข็งแรงเป็น 3.54, 3.45, 5.53, 4.02 และ 2.51 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 5.22, 4.34, 4.32, 4.23 ด้วยวิธี CD, SSAAT, AAT, และ EC ตามลำดับ (ตารางที่ 45, กราฟที่ 45)

พริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงครั้งแรกเป็น 5.20, 8.30, 4.70, 10.11 และ 8.74 ทดสอบครั้งที่ 6 เมื่อเวลาผ่านไป มีค่าความแข็งแรงเป็น 6.41, 7.72, 7.78, 7.61 และ 4.06 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.07, 7.03 และ 6.61 ด้วยวิธี CD, SSAAT และEC ตามลำดับ (ตารางที่ 46, กราฟที่ 46)

พริกขี้หนูลูกผสมพันธุ์ซุปเปอร์ฮฮท 2 เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงครั้งแรกเป็น 4.43, 7.35, 3.93, 9.22 และ 3.56 ทดสอบครั้งที่ 6 เมื่อเวลาผ่านไป มีค่าความแข็งแรงเป็น 4.54, 5.69, 7.04, 5.56 และ 4.70 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 47, กราฟที่ 47)

- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 6.63, 6.60 และ 6.55 ด้วยวิธี CD, SSAAT และEC ตามลำดับ

พริกขี้หนูพันธุ์ Bird Chili เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกไว้ที่อุณหภูมิ -10°C นั้นพบว่าค่าความแข็งแรงครั้งแรกเป็น 7.73, 10.38, 5.81, 11.76 และ 6.39 เมื่อเวลาผ่านไป มีค่าความแข็งแรงเป็น 3.95, 6.03, 8.60, 7.53 และ 4.16 ด้วยวิธี AAT, SSAAT, EC, CD และ Ctr ตามลำดับ (ตารางที่ 48, กราฟที่ 48)

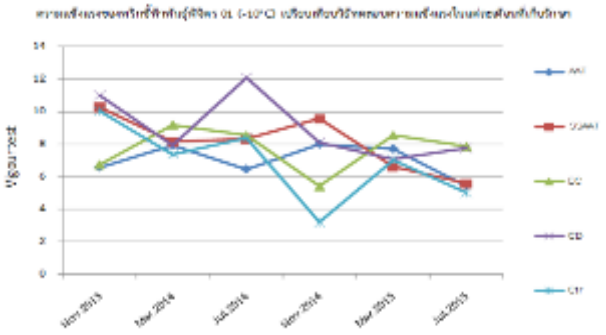
- พบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.19, 7.88 และ 7.83 ด้วยวิธี EC, SSAAT และCD ตามลำดับ

ตารางที่ 41 และกราฟที่ 41 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	6.58 b	10.26 a	6.76 c	11.00 b	10.04 a	8.93
2nd	7.94 a	8.13 b	9.20 a	7.90 cd	7.37 c	8.11
3rd	6.46 b	8.33 b	8.55 ab	12.11 a	8.37 b	8.76
4th	8.00 a	9.55 a	5.43 d	8.11 c	3.20 e	6.86
5th	7.71 a	6.59 c	8.56 ab	7.05 d	7.03 c	7.39
6th	5.44 c	5.57 d	7.87 b	7.76 cd	5.00 d	6.33
MEAN	7.02	8.07	7.73	8.99	6.83	7.73

TIME (T)

VARIETY (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	6.58 b	7.94 b	6.46 c	8.00 b	7.71 ab	5.44 b	7.02
SSAAT	10.26 a	8.13 b	8.33 b	9.55 a	6.59 c	5.57 b	8.07
EC	6.76 b	9.20 a	8.55 b	5.43 c	8.56 a	7.87 a	7.73
CD	11.00 a	7.90 b	12.11 a	8.11 b	7.05 bc	7.76 a	8.99
Ctr	10.04 a	7.37 b	8.37 b	3.20 d	7.03 bc	5.00 b	6.83
T-MEAN	8.93	8.11	8.76	6.86	7.39	6.33	7.73



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

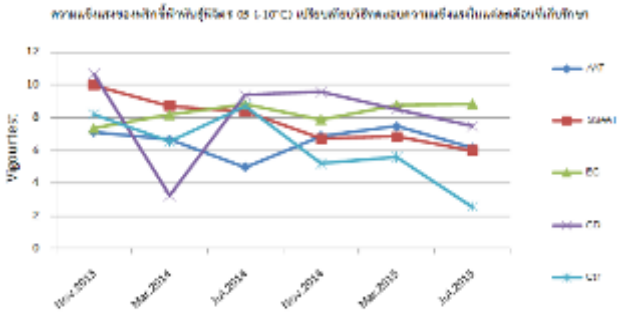
CV (a) = 6.24 CV (b) = 4.14

ตารางที่ 42 และกราฟที่ 42 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 05 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	7.13 a	9.97 a	7.36 b	10.66 a	8.21 a	8.67
2nd	6.64 ab	8.71 b	8.16 ab	3.23 d	6.53 b	6.66
3rd	4.97 c	8.35 b	8.79 a	9.37 b	8.72 a	8.04
4th	6.88 ab	6.71 c	7.89 ab	9.56 ab	5.22 c	7.25
5th	7.46 a	6.83 c	8.76 a	8.52 b	5.60 c	7.43
6th	6.13 b	5.99 c	8.82 a	7.47 c	2.57 d	6.19
MEAN	6.54	7.76	8.30	8.14	6.14	7.37

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	7.13 c	6.64 b	4.97 b	6.88 c	7.46 b	6.13 c	6.54
SSAAT	9.97 a	8.71 a	8.35 a	6.71 c	6.83 b	5.99 c	7.76
EC	7.36 bc	8.16 a	8.79 a	7.89 b	8.76 a	8.82 a	8.30
CD	10.66 a	3.23 c	9.37 a	9.56 a	8.52 a	7.47 b	8.14
Ctr	8.21 b	6.53 b	8.72 a	5.22 d	5.60 c	2.57 d	6.14
T-MEAN	8.67	6.66	8.04	7.25	7.43	6.19	7.37



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

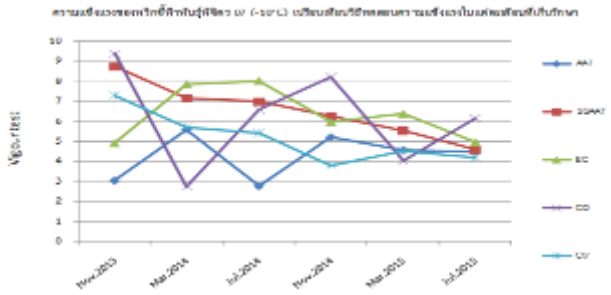
CV (a) = 1.6 CV (b) = 6.40

ตารางที่ 43 และกราฟที่ 43 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 07 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Cr	T-MEAN
1st	3.04 c	8.74 a	4.93 c	9.39 a	7.30 a	6.68
2nd	5.58 a	7.15 b	7.86 a	2.75 d	5.72 b	5.81
3rd	2.77 c	6.99 b	8.03 a	6.60 b	5.02 bc	5.96
4th	5.20 ab	6.26 bc	5.98 bc	8.23 a	3.81 d	5.90
5th	4.56 ab	5.54 cd	6.39 b	4.04 c	4.52 cd	5.01
6th	4.47 b	4.59 d	4.96 c	6.16 b	4.20 d	4.87
MEAN	4.27	6.54	6.36	6.19	5.16	5.71

TME (T)

VICOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	3.04 d	5.58 b	2.77 d	5.20 b	4.56 bc	4.47 b	4.27
SSAAT	8.74 a	7.15 a	6.99 ab	6.26 b	5.54 ab	4.59 b	6.54
EC	4.93 c	7.86 a	8.03 a	5.98 b	6.39 a	4.96 b	6.36
CD	9.39 a	2.75 c	6.60 b	8.23 a	4.04 c	6.16 a	6.19
Cr	7.30 b	5.72 b	5.02 c	3.81 c	4.52 bc	4.20 b	5.16
T-MEAN	6.68	5.81	5.96	5.90	5.01	4.87	5.71



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

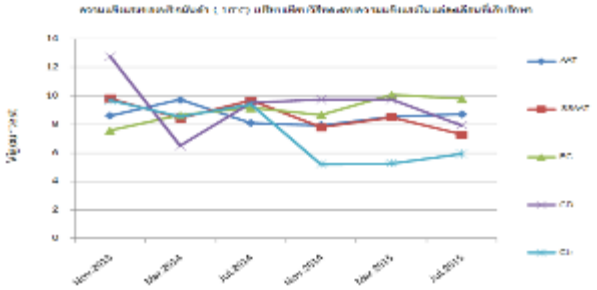
CV (a) = 7.31 CV (b) = 7.31

ตารางที่ 44 และกราฟที่ 44 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกมันดำ (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	8.62 ab	9.82 a	7.57 c	12.77 a	9.68 a	9.69
2nd	9.73 a	8.44 b	8.65 bc	6.51 d	8.57 a	8.38
3rd	8.10 b	9.68 a	9.16 ab	9.50 b	9.43 a	9.17
4th	7.95 b	7.79 bc	8.69 bc	9.74 b	5.22 b	7.88
5th	8.54 ab	8.51 b	10.07 a	9.75 b	5.27 b	8.43
6th	8.72 ab	7.28 c	9.79 ab	7.94 c	5.94 b	7.94
MEAN	8.61	8.59	8.99	9.37	7.35	8.58

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	8.62 bc	9.73 a	8.10 b	7.95 b	8.54 b	8.72 ab	8.61
SSAAT	9.82 b	8.44 a	9.68 a	7.79 b	8.51 b	7.28 c	8.59
EC	7.57 c	8.65 a	9.16 ab	8.69 ab	10.07 a	9.79 a	8.99
CD	12.77 a	6.51 b	9.50 a	9.74 a	9.75 ab	7.94 bc	9.37
Ctr	9.68 b	8.57 a	9.43 a	5.22 c	5.27 c	5.94 d	7.35
T-MEAN	9.69	8.38	9.17	7.88	8.43	7.94	8.58



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

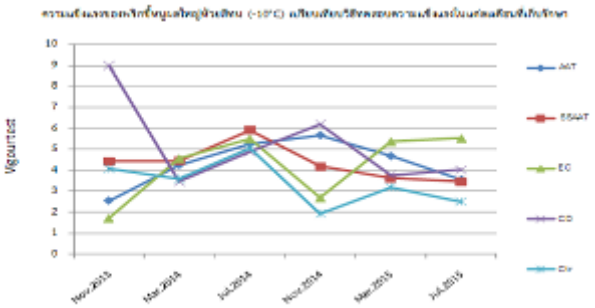
CV (a) = 5.89 CV (b) = 5.89

ตารางที่ 45 และกราฟที่ 45 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	2.54 d	4.43 b	1.70 c	9.00 a	4.08 ab	4.35
2nd	4.25 bc	4.45 b	4.57 a	3.46 d	3.59 b	4.06
3rd	5.26 ab	5.92 a	5.51 a	4.88 c	5.07 a	5.33
4th	5.67 a	4.18 b	2.68 b	6.20 b	1.93 d	4.13
5th	4.67 ab	3.62 b	5.38 a	3.77 d	3.19 bc	4.13
6th	3.54 c	3.45 b	5.53 a	4.02 cd	2.51 cd	3.81
MEAN	4.32	4.34	4.23	5.22	3.39	4.30

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	2.54 c	4.25 a	5.26 a	5.67 a	4.67 ab	3.54 b	4.32
SSAAT	4.43 b	4.45 a	5.92 a	4.18 b	3.62 bc	3.45 b	4.34
EC	1.70 d	4.57 a	5.51 a	2.68 c	5.38 a	5.53 a	4.23
CD	9.00 a	3.46 a	4.88 a	6.20 a	3.77 bc	4.02 b	5.22
Ctr	4.08 b	3.59 a	5.07 a	1.93 c	3.19 c	2.51 c	3.39
T-MEAN	4.35	4.06	5.33	4.13	4.13	3.81	4.30



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

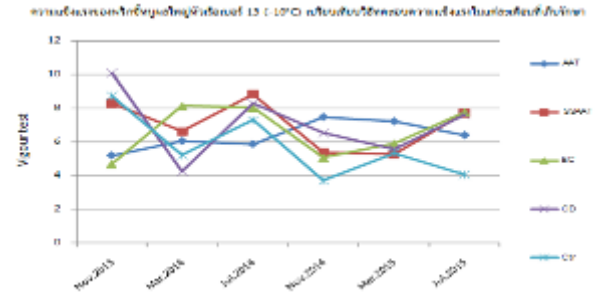
CV (a) = 11.97 CV (b) = 8.47

ตารางที่ 46 และกราฟที่ 46 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูผลใหญ่หัวเรือเบอร์ 13 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	CTR	T-MEAN
1st	5.20 d	8.30 ab	4.70 c	10.11 a	8.74 a	7.41
2nd	6.06 c	6.64 c	8.14 a	4.25 e	5.21 c	6.06
3rd	5.88 cd	8.86 a	8.05 a	8.30 b	7.31 b	7.68
4th	7.50 a	5.40 d	5.08 c	6.54 c	3.70 d	5.64
5th	7.24 ab	5.29 d	5.92 b	5.59 d	5.34 c	5.88
6th	6.41 bc	7.72 b	7.78 a	7.61 b	4.06 d	6.72
MEAN	6.38	7.03	6.61	7.07	5.73	6.56

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 TIME	2 TIME	3 TIME	4 TIME	5 TIME	6 TIME	V-MEAN
AAT	5.20 c	6.06 b	5.88 c	7.50 a	7.24 a	6.41 b	6.38
SSAAT	8.30 b	6.64 b	8.86 a	5.40 c	5.29 b	7.72 a	7.03
EC	4.70 c	8.14 a	8.05 ab	5.08 c	5.92 b	7.78 a	6.61
CD	10.11 a	4.25 d	8.30 ab	6.54 b	5.59 b	7.61 a	7.07
CTR	8.74 b	5.21 c	7.31 b	3.70 d	5.34 b	4.06 c	5.73
T-MEAN	7.41	6.06	7.68	5.64	5.88	6.72	6.56



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

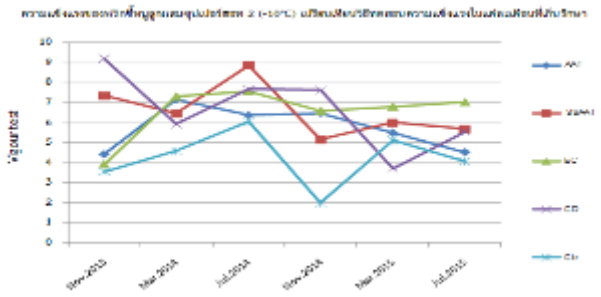
CV (a) = 6.78 CV (b) = 4.55

ตารางที่ 47 และกราฟที่ 47 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T-MEAN
1st	4.43 c	7.35 b	3.93 c	9.22 a	3.56 c	5.70
2nd	7.18 a	6.46 c	7.33 ab	5.95 c	4.59 b	6.30
3rd	6.83 a	8.89 a	7.59 a	7.68 b	6.07 a	7.41
4th	6.49 a	5.16 d	6.61 b	7.64 b	1.99 d	5.58
5th	5.50 b	6.02 c	6.82 ab	3.72 d	5.14 b	5.44
6th	4.54 c	5.69 cd	7.04 ab	5.56 c	4.70 b	5.51
MEAN	5.83	6.60	6.55	6.63	4.34	5.99

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	4.43 c	7.18 a	6.83 bc	6.49 b	5.50 bc	4.54 c	5.85
SSAAT	7.35 b	6.46 ab	8.89 a	5.16 c	6.02 ab	5.69 b	6.60
EC	3.93 cd	7.33 a	7.59 b	6.61 b	6.82 a	7.04 a	6.55
CD	9.22 a	5.95 b	7.68 b	7.64 a	3.72 d	5.56 b	6.63
Ctr	3.56 d	4.59 c	6.07 c	1.99 d	5.14 c	4.70 c	4.34
T-MEAN	5.70	6.30	7.41	5.58	5.44	5.51	5.99



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

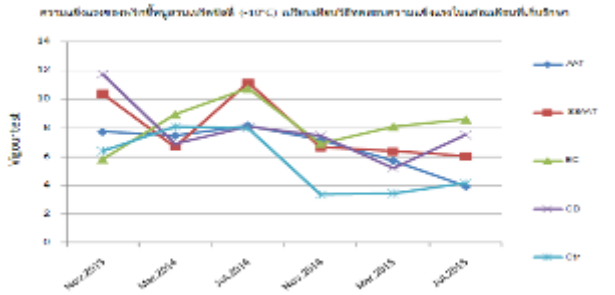
CV (a) = 4.62 CV (b) = 4.89

ตารางที่ 48 และกราฟที่ 48 แสดงค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงของพริกขี้หนูสวนเบริดชิลลี่ (-10°C) เปรียบเทียบวิธีทดสอบความแข็งแรงในแต่ละเดือนที่เก็บรักษา

TIME (T)	AAT	SSAAT	EC	CD	Ctr	T MEAN
1st	7.73 a	10.38 a	5.81 d	11.76 a	6.39 b	8.42
2nd	7.47 a	6.69 b	8.95 b	6.89 b	8.07 a	7.61
3rd	8.18 a	11.16 a	10.75 a	8.08 b	8.01 a	9.24
4th	7.20 a	6.65 b	6.91 cd	7.47 b	3.36 c	6.32
5th	5.73 b	6.37 b	8.10 bc	5.22 c	3.43 c	5.77
6th	3.95 c	6.03 b	8.60 b	7.53 b	4.16 c	6.05
MEAN	6.71	7.88	8.19	7.83	5.57	7.23

TIME (T)

VIGOUR (V)	1 Time	2 Time	3 Time	4 Time	5 Time	6 Time	V-MEAN
AAT	7.73 b	7.47 ab	8.18 b	7.20 a	5.73 b	3.95 c	6.71
SSAAT	10.38 a	6.69 b	11.16 a	6.65 a	6.37 b	6.03 b	7.88
EC	5.81 c	8.95 a	10.75 a	6.91 a	8.10 a	8.60 a	8.19
CD	11.76 a	6.89 b	8.08 b	7.47 a	5.22 b	7.53 a	7.83
Ctr	6.39 bc	8.07 ab	8.01 b	3.36 b	3.43 c	4.16 c	5.57
T-MEAN	8.42	7.61	9.24	6.32	5.77	6.05	7.23



In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

CV (a) = 9.16 CV (b) = 6.48

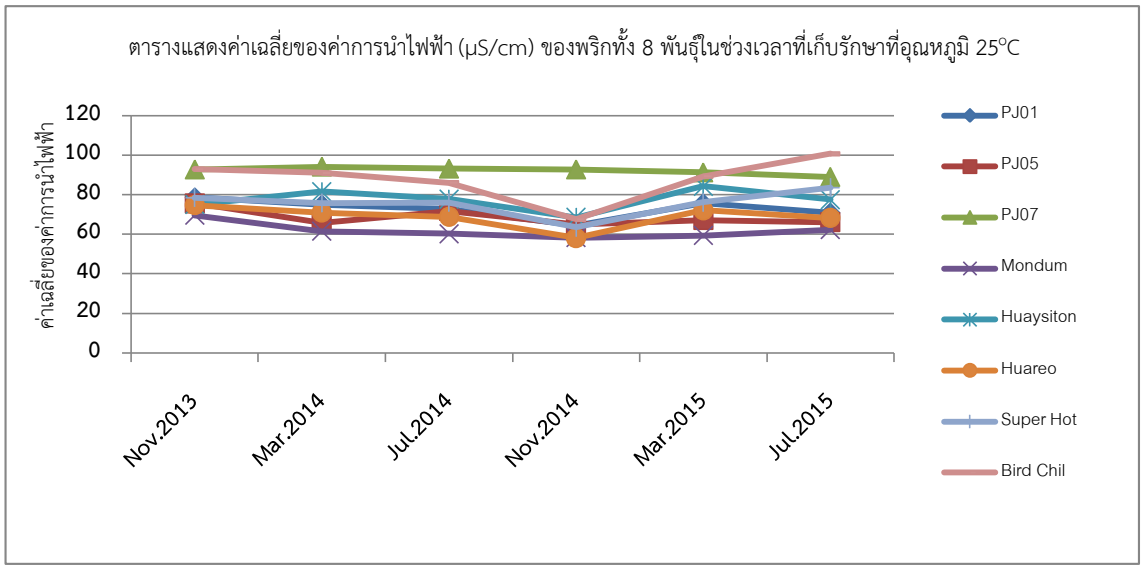
สำหรับค่าการนำไฟฟ้าของเมล็ดพันธุ์ (electrical conductivity test) เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้วัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ทางชีวเคมีที่ให้ผลการทดลองรวดเร็ว สามารถทราบผลการทดสอบได้ในเวลาเพียง 24 ชั่วโมง วิธีการวัดไม่ยุ่งยาก พบว่า ค่าการนำไฟฟ้าในแต่ละพันธุ์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทุกอุณหภูมิที่เก็บรักษา และแม้เวลาผ่านไปพบว่าที่อุณหภูมิ 25°C พริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกห้วยสีทน, พริกหัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท2 และพริกขี้หนูสวน Bird Chili มีค่าการนำไฟฟ้าแรกเริ่ม ดังนี้ 78.65, 75.69, 92.81, 69.59, 75.06, 74.74, 78.55,และ 93 µS/cm ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป มีค่าการนำไฟฟ้าดังนี้ 70.94, 66.07, 89.01, 62.33, 77.61, 68.20, 83.63, และ 100.76 µS/cm ตามลำดับ

ตารางที่ 49 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของค่าการนำไฟฟ้า (µS/cm) ของพริกทั้ง 8 พันธุ์ในช่วงเวลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C

TIME (T)	PJ01	PJ05	PJ07	Mondum	Huaysiton	Huareo	Super Hot	Bird Chil	T-MEAN
Nov.2013	78.65 a	75.69 a	92.81 ab	69.59 a	75.06 c	74.74 a	78.55 b	93.00 b	79.76
Mar.2014	75.03 ab	65.83 c	94.23 a	61.56 b	81.68 ab	70.94 ab	75.75 b	91.05 b	77.01
Jul.2014	72.77 bc	71.73 b	93.22 ab	60.28 b	77.86 bc	68.74 b	76.12 b	86.00 c	75.84
Nov.2014	64.30 d	64.92 c	92.82 ab	58.27 b	68.52 d	58.17 c	63.60 c	67.56 d	67.27
Mar.2015	75.64 ab	67.19 c	91.29 ab	59.30 b	84.37 a	72.14 ab	76.19 b	89.34 bc	76.93
Jul.2015	70.94 c	66.07 c	89.01 b	62.33 b	77.61 c	68.20 b	83.63 a	100.76 a	77.32
V-MEAN	72.89	68.57	92.23	61.89	77.52	68.82	75.64	87.95	75.69

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

กราฟที่ 49 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของค่าการนำไฟฟ้า (µS/cm) ของพริกทั้ง 8 พันธุ์ในช่วงเวลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C



ที่อุณหภูมิ 5°C พบว่า มีค่าการนำไฟฟ้าเรียงลำดับดังนี้ 82.52, 86.94, 127.36, 72.15, 95.75, 89.70, 95.90, และ 105.45 µS/cm เมื่อเวลาผ่านไปมีค่าการนำไฟฟ้าดังนี้ 68.99, 65.70, 88.52, 56.41, 76.15, 63.99, 69.14 และ 86.28 µS/cm ตามลำดับ

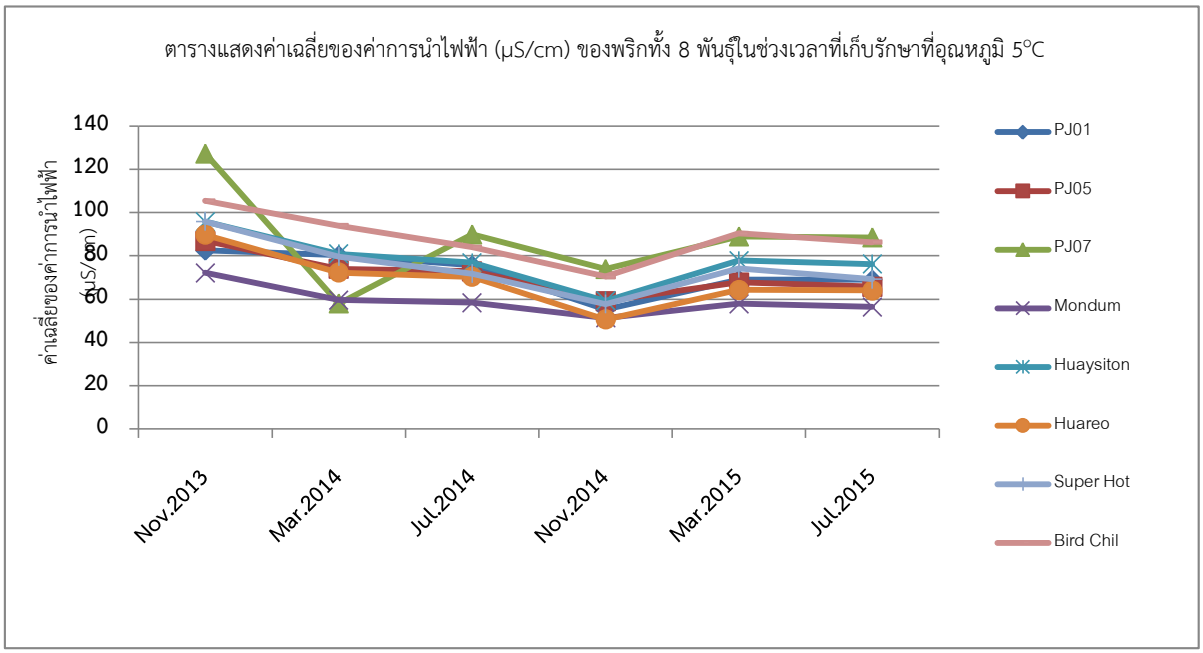
ตารางที่ 50 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของค่าการนำไฟฟ้า (µS/cm) ของพริกทั้ง 8 พันธุ์ในช่วงเวลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C

TIME (T)	PJ01	PJ05	PJ07	Mondum	Huay Sito	Huareo	Super Hot	Bird Chil	T-MEAN
Nov.2013	82.52 a	86.94 a	127.36 a	72.15 a	95.75 a	89.70 a	95.90 a	105.45 a	94.47
Mar.2014	80.22 a	73.93 b	57.91 d	59.63 b	80.84 b	72.21 b	79.65 b	93.94 b	74.79

Jul.2014	75.62 b	72.83 b	89.88 b	58.38 b	76.87 c	70.26 b	71.78 cd	83.96 d	74.95
Nov.2014	55.17 d	59.10 d	73.85 c	51.26 c	59.26 d	50.85 d	57.70 e	70.44 e	59.70
Mar.2015	69.01 c	67.76 c	88.96 b	57.89 b	77.84 bc	64.28 c	74.18 c	90.37 c	73.79
Jul.2015	68.99 c	65.70 c	88.52 b	56.41 b	76.15 c	63.99 c	69.14 d	86.28 d	71.90
V-MEAN	71.92	71.04	87.75	59.29	77.78	68.55	74.72	88.41	74.93

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

กราฟที่ 50 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของค่าการนำไฟฟ้า (µS/cm) ของพริกทั้ง 8 พันธุ์ในช่วงเวลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C



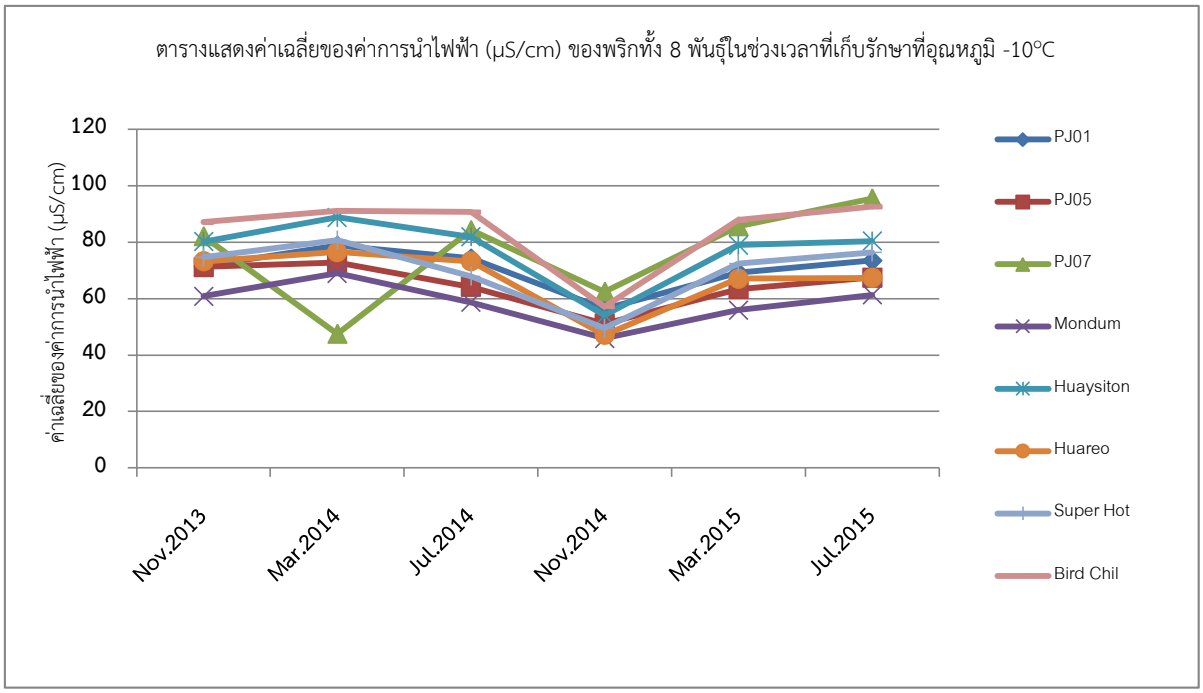
ที่อุณหภูมิ -10°C พบว่า มีค่าการนำไฟฟ้าเรียงลำดับดังนี้ 71.52, 71.15, 82.03, 60.84, 80.15, 73.17, 74.60 และ 87.05 µS/cm เมื่อเวลาผ่านไปมีค่าการนำไฟฟ้าดังนี้ 73.46, 67.45, 95.42, 61.30, 80.35, 67.28, 76.37 และ 92.49 µS/cm ตามลำดับ

ตารางที่ 51 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของค่าการนำไฟฟ้า (µS/cm) ของพริกทั้ง 8 พันธุ์ในช่วงเวลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C

TIME (T)	PJ01	PJ05	PJ07	Mondum	Huay Sito	Huareo	Super Hot	Bird Chil	T-MEAN
Nov.2013	71.52 bc	71.15 a	82.03 c	60.84 b	80.15 bc	73.17 b	74.60 bc	87.05 b	75.06
Mar.2014	78.79 a	72.72 a	47.51 e	68.94 a	88.72 a	76.45 a	80.73 a	91.01 a	75.61
Jul.2014	74.22 b	64.14 c	84.22 bc	58.65 b	81.90 b	73.17 b	67.93 d	90.61 a	74.35
Nov.2014	56.36 d	51.12 d	62.40 d	45.90 d	54.04 d	47.11 d	49.48 e	57.17 c	52.95
Mar.2015	69.11 c	63.35 c	85.57 b	55.92 c	78.96 c	67.09 c	72.47 c	87.82 b	72.54
Jul.2015	73.46 b	67.45 b	95.42 a	61.30 b	80.35 bc	67.28 c	76.37 b	92.49 a	76.76
V-MEAN	70.58	64.99	76.19	58.59	77.35	67.38	70.26	84.36	71.21

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

กราฟที่ 51 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของค่าการนำไฟฟ้า (µS/cm) ของพริกทั้ง 8 พันธุ์ในช่วงเวลาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10°C



สำหรับการทดสอบความนำไฟฟ้า เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าพริกมันดำมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำที่สุดในทุกอุณหภูมิ (ตารางที่ 49-51, กราฟที่ 49-51) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทุกพันธุ์และทุกอุณหภูมิ (ภาคผนวกตารางที่ 25-27)

สำหรับการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเมล็ดพริกจำนวน 8 ตัวอย่าง ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาทดสอบหาช่วงเวลาในการแช่สาร loading solution และระยะเวลาการแช่สาร PVS2 ที่อุณภูมิ 0 องศาเซลเซียส พบว่า เมล็ดพริกที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลวมีการอัตราการรอดชีวิตเป็น 100% ทุกการทดลอง โดยที่เมล็ดพริกสามารถงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์บนอาหาร MS เป็นเวลา 14 วัน แสดงว่าสาร cryoprotectants ไม่เป็นพิษต่อเมล็ดพริก (Wang et. al., 2005) ส่วนเมล็ดพริกที่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลวมีอัตราการรอดชีวิต (ตารางที่ 52) โดยที่เมล็ดพริกสามารถงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์บนอาหาร MS เป็นเวลา 14 วัน แต่พบว่าเมล็ดพริกตัวอย่าง พจ.01 และเบริดชิลลี่ ไม่มีการรอดชีวิต อาจเป็นเพราะว่าจากการสัมผัสเมล็ดพริกดังกล่าวมีลักษณะของเปลือกหุ้มเมล็ดที่บางและอ่อนนุ่ม ทำให้ไม่สามารถทนต่อสภาวะเยือกแข็งได้ ถึงอย่างไรก็ตามวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพริกในไนโตรเจนเหลวเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง สำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริก โดยที่เมล็ดพริกที่จะต้องนำมาเก็บรักษาจะต้องเป็นเมล็ดที่มีคุณภาพดีและมีความแข็งแรง รวมถึงภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวแล้วยังสามารถออกปลูกในสภาพภายนอกได้

พริกพร้อมออกปลูก

ล้างวุ้นออกจากราก

ปลูกลงในวัสดุปลูก

เก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25°C

ย้ายลงถุงดำ

ย้ายลงกระถาง

ตารางที่ 52 แสดงอัตราการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวช่วงเวลาต่าง ๆ

ชื่อพืช	1 เดือน	6 เดือน	12 เดือน	18 เดือน	24 เดือน
1. พริกชี้ฟ้า พจ.05	63%	71%	65%	68%	72%
2. พริกชี้ฟ้า พจ.07	5%	8%	11%	17%	23%
3. พริกมันดำ –G-5.ctr	21%	34%	52%	56%	62%
4. พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์ห้วยสีทน	75%	81%	85%	83%	88%
5. พริกขี้หนูผลใหญ่ พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13	60%	39%	47%	53%	58%
6. พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2	79%	47%	68%	60%	65%

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ในการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชทั้ง 3 อุณหภูมิ (25°C ,5°C และ -10°C) พบว่าเมื่อทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆ ทั้ง 5 วิธี นั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งแม้เวลาผ่านไป

โดยพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป ในการทดสอบความงอกพบว่าส่วนใหญ่มีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไปโดยพบว่าในทุกอุณหภูมิพริกมันดำซึ่งเป็นพริกชี้ฟ้าของบริษัทเอกชนมีความงอกที่ดีมากแม้อุณหภูมิ 25°C เมื่อเวลาผ่านไป สำหรับพันธุ์พริกของกรมวิชาการเกษตร ได้แก่ พจ.01 พจ.05 และ พจ.07 ซึ่งเป็นพริกชี้ฟ้าเช่นกัน พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกเหล่านี้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มสูงทั้ง 3 พันธุ์ ในอุณหภูมิ 25°C แต่เมื่อที่อุณหภูมิ 5°C พบว่า พจ. 07 (พริกทานสด) เปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มไม่สูงนัก (51-70%) แต่ พจ.01 และ พจ.05 เมื่อเวลาผ่านไปยังมีความงอกที่ดีอยู่ (66-84%, 68-90% ตามลำดับ) ในขณะที่อุณหภูมิ -10°C เมื่อ

เวลาผ่านไป พจ.01 และ พจ.05 มีความงอกที่ดีอยู่มาก 35-93% ส่วน พจ.07 อยู่ในช่วง 51-77% และพบว่าพริกพันธุ์ห้วยสีทนมีเปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มและเมื่อเวลาผ่านไป มีค่าน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ

สำหรับการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกแต่ละพันธุ์ที่อุณหภูมิ 25°C นั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของวิธี AAT มีค่ามากที่สุดในพริกพันธุ์ชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร01, พิจิตร 05, พริกมันดำ และพริกเบิร์ดชิลลี่

สำหรับพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงวิธี CD

สำหรับอุณหภูมิที่เก็บรักษา 5°C พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่อเวลาผ่านไป ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดในพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พริกมันดำ ด้วยวิธี AAT และที่อุณหภูมิที่เก็บรักษา -10°C พบว่าวิธี EC และCD มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่าวิธีอื่นๆ

และเมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงของพริกที่ทดสอบทั้ง 8 พันธุ์จากการทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีทั้ง 5 วิธีพบว่า

พริกชี้ฟ้าพันธุ์ พจ.01, พจ.07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 และพริกขี้หนูเบิร์ดชิลลี่ ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ (6.26, 5.64, 8.21, 5.17, 7.03, 6.53 และ 7.72 ตามลำดับ) ยกเว้น พจ.05 ทดสอบวิธี CD มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ คือ 7.71

พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 แม้เวลาผ่านไปที่อุณหภูมิ 25°C ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ (6.53) ส่วนพริกขี้หนูเบิร์ดชิลลี่ แม้เวลาผ่านไปที่อุณหภูมิ 25°C ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ (7.72)

<u>เมื่ออุณหภูมิ 5°C</u> พบว่าความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน และพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT มีค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงเมื่อเวลาผ่านไป มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ

สำหรับพริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 และพันธุ์เบิร์ดชิลลี่ เมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด

<u>เมื่ออุณหภูมิ -10°C</u> พบว่าความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 และพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 เมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงเมื่อเวลาผ่านไป มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ

สำหรับพิจิตร 07 และพันธุ์เบิร์ดชิลลี่ เมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี CD มีค่าความแข็งแรงมากที่สุด กล่าวโดยสรุปเมื่อเปรียบเทียบพบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพริกที่อุณหภูมิ 5°C, 25°C และ -10°C พบว่าส่วนใหญ่ วิธี EC และวิธี CD เมื่อเวลาผ่านไปให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง และเมื่อทดสอบความแข็งแรงเป็นไปในทำนองเดียวกันคือ เมื่อเวลาผ่านไปวิธีทดสอบ EC (ที่ 25°C) ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงในทุกพันธุ์ ยกเว้น พจ.05 วิธี CD ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงมากที่สุด สำหรับ 5°C วิธี EC และ AAT ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด อุณหภูมิ -10°C วิธี EC และ CD ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด

สำหรับการทดสอบความนำไฟฟ้า เมื่อเวลาผ่านไปพริกมันดำมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำที่สุดในทุกอุณหภูมิ

สำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในสภาพเยือกแข็ง โดยวิธี vitrification แล้วนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวทำการทดสอบการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว พบว่าเมล็ดพริกที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลวมีอัตราการรอดชีวิต 100% ทุกการทดลอง และหลังจากนำไปเก็บรักษาไนโตรเจนเหลว พบว่าเมล็ดพริกสามารถรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาไนโตรเจนเหลวได้ และสามารถนำออกปลูกสภาพภายนอกได้ อยู่ในช่วง 23-88% เมื่อเวลาผ่านไป 24 เดือน การเก็บรักษาพันธุกรรมในสภาพเยือกแข็งเป็นทางเลือกหนึ่งในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริก ซึ่งสามารถช่วยลดต้นทุนในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ โดยไม่ต้องนำมาปลูกขยายเพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์

ชื่อการทดลองที่ 14: การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) เพื่อการอนุรักษ์ เชื้อพันธุ์พืช

: In vitro conservation of Stemona spp.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวสุกัลยา ศิริฟองนุกูล[1]

ผู้ร่วมงาน : นางศิริลักษณ์ อินทะวงศ์[2]

นายวรกิจ ห้องแซง[1]

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรหนอนตายหยากเพื่อการอนุรักษ์ โดยนำชิ้นส่วนข้อของหนอนตายหยากมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS full-strengh ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดได้แก่ BA และ NAA เลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ ำ เป็นเวลา 50 วัน พบว่า สูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดมากที่สุดคือสูตรที่ใช้ BA 10 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.55 ยอดต่อชิ้น เมื่อนำยอดเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองการเก็บรักษาโดยชะลอการเจริญเติบโตสูตร MS full-strength และสูตร MS half-strength ร่วมกับ Mannitol ที่ระดับต่างๆ กัน พบว่า สูตร MS half-strength ที่ไม่เติม Mannitol (0%) สามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด คือ

4.50 เดือน เมื่อพิจารณาปัจจัยร่วมระหว่างสูตรอาหาร MS full-strength และ MS half-strenght กับระดับความเข้มข้นของ Mannitol ที่ใช้ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสูตรอาหาร MS full-strength และ MS half-strenght อย่างไรก็ตาม สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองกระตุ้นให้เกิดรากไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทำให้ไม่สามารถทดสอบการย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้

Abstract

In vitro conservation of micropropagation *Stemona* sp. cultures was studied. Nodal segments containing axillary bud were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with a combination of BA and NAA, and maintained at a temperature of 25±2 °C, 16 hours per day photoperiods for 50 days. The highest number of shoots (2.55 shoots per explant) was obtained on the MS medium with a combination of 10 mg/l BA and 0.25 mg/l NAA. The individual shoot was then transferred onto full-strength MS (MS) or half-strength MS (1/2MS) salts plus 30 g/l sucrose with various concentrations of mannitol for minimal growth induction of plants. It was found that the minimal growth of plantlets was best achieved on 1/2MS containing mannitol free. Moreover, the plantlets could survive on the average of 4.5 months. Although, there was no statistical difference on the concentration level of mannitol, ~~but~~ a statistically significant difference between MS and 1/2MS was observed. However, the treatments in root growth experiment could not induce the root elongation. Therefore, the plantlets could not be moved to the greenhouse for further testing.

---

[1]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่

บทนำ (Introduction)

หนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ทั้งด้านรักษาสุขภาพ โดยปรุงเป็นยารับประทานรักษาอาการไอ ขับเสมหะ ฆ่าพยาธิ นำมาพอกรักษาโรคผิวหนัง (วุฒิ, 2552) ด้านการควบคุมแมลงพาหะนำโรค สามารถใช้น้ำคั้นหรือสารสกัดจากรากกำจัดลูกน้ำยุงได้ (ณัฐวดี, 2551) ด้านเกษตรกรรม สามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช โดยนำน้ำคั้นผสมน้ำฉีดพ่นฆ่าหนอนและแมลงศัตรูพืชซึ่งสามารถใช้ทดแทนสารเคมีได้ (วุฒิ, 2552; พนมกร, 2550; Montri, *et al.* 2006) การจะได้มาซึ่งสารดังกล่าวจะต้องขุดต้นหนอนตายหยากมาทั้งต้นแล้วนำรากมาคั้นน้ำหรือสกัดสารก่อนนำไปใช้

หนอนตายหยากเป็นพืชสกุล *Stemona* วงศ์ STEMONACEAE สามารถพบได้ทั่วไปทุกภาคของประเทศไทย แต่จะพบมากบริเวณป่าเชิงเขาไม่สูงมากนักในแถบภาคกลางและภาคเหนือ เป็นพืชที่มีลักษณะเป็นไม้เลื้อย เถามีเนื้อแข็ง รูปใบคล้ายใบพลู แต่ปลายใบจะแหลมยาว เส้นใบตามยาวมีหลายเส้นเห็นได้ชัดขนานกับขอบใบ ระหว่างเส้นใบตามยาวจะมีเส้นใบตามขวางออกมาประสานกันจนดูเป็นตาสี่เหลี่ยม ดอกเป็นกลีบคล้ายดอกจำปามีสีขาว ข้างในมีสีม่วงแดง ฝักเล็กปลายแหลมมีสีน้ำตาล ในช่วงฤดูแล้งลำต้นบนดินจะโทรม เมื่อเข้าสู่ฤดูฝนจังจะงอกใหม่พร้อมทั้งออกดอกขนาดเล็กสีขาวหรือสีม่วงแล้วแต่พันธุ์ ลำต้นใต้ดินจะมีรากออกเป็นพวงสีขาวรูปกระสวยคล้ายรากกระชาย จำนวน 50-80 ราก แต่ละรากจะยาว 12-20 ซม.ในประเทศไทยมีรายงานหนอนตายหยากจำนวน 8 ชนิด (เต็ม, 2544; สุทธพันธ์, 2544; Chuakul, 2000) ได้แก่ โป่งมดง่าม (*Stemona burkillii* Prain.) หนอนตายหยากใหญ่ (*S. collinsae* Craib.) รากลิงหรือหนอนตายหยาก (พัทลุง) (*S. curtisii* Hook.f.) หนอนตายหยากเล็ก (*S. tuberose* Lour.) เครือปรุง (*S. aphylla* Craib.) หญ้าปอบน้อย (*S. hutunguriana* Nov.) *S. phyllantha* Gangeb (ไม่พบรายงานชื่อไทย) และ *S. beerii* Craib. (ไม่พบรายงานชื่อไทย) และ สำหรับหนอนตายหยากที่นิยมใช้คือหนอนตายหยากใหญ่ และหนอนตายหยากเล็ก

การขยายพันธุ์ต้นหนอนตายหยากโดยทั่วไปใช้วิธีการแยกเหง้าและเพาะเมล็ด โดยต้นหนึ่งจะมีผลประมาณ 2-5 ผล ภายในผลจะมีเมล็ดประมาณ 2-7 เมล็ด ซึ่งไม่เพียงต่อการขยายพันธุ์เป็นจำนวนมากเพื่อทดแทนส่วนที่ถูกขุดออกมาจากป่า และการปลูกในเชิงการค้ายังมีน้อย ดังนั้นการนำหนอนตายหยากมาใช้ประโยชน์ ไม่ว่าจะเป็นการใช้เป็นยาสมุนไพร หรือสารควบคุมแมลงศัตรูพืช วัตถุดิบที่ได้ส่วนใหญ่มีที่มาจากป่าทั้งสิ้น ประกอบกับสภาพอากาศในปัจจุบันที่มีความแปรปรวนอย่างรุนแรงทั้งแห้งแล้งและน้ำท่วม ทำให้นับวันเริ่มที่จะหายากมากขึ้น มีการนำเข้าจากต่างประเทศตามช่องทางตะเข็บชายแดนต่างๆ เนื่องจากมีการรับซื้อในราคาแพง กิโลกรัมละ 60-100 บาท และยังเป็นที่ต้องการของตลาดสูง ทำให้มีการเก็บมาขายโดยไม่ได้ปลูกทดแทน นอกจากนี้การขุดรากจำนวนมากยังส่งผลต่อระบบนิเวศวิทยาของป่า จึงสมควรที่จะหาทางอนุรักษ์พืชเหล่านี้ไว้ โดยการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากและนำกลับคืนสู่ป่า ซึ่งวิธีการอนุรักษ์และขยายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงคือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (รังสฤษดิ์, 2540; อารีย์, 2541)

กาญจนา และอริยาภรณ์ (2551) ทดลองขยายพันธุ์หนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำยอดหนอนตายหยากมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 1.2 1.8 และ 2.4% นาน 15 นาที เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มก./ล. อุณหภูมิ 25±2 ซ ความเข้มแสง 37.6 ไมโครโมล/ตร.ม./วินาที โดยให้แสงสว่าง 12 ช.ม. ต่อวันสลับกับความมืด 12 ช.ม. ต่อวัน จากนั้นจึงนำไปชักนำให้เกิดรากโดยใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0 1 2 3 5 7 และ 9 มก./ล. ผลการทดลอง พบว่า สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ระดับความเข้มข้น 1.2% มีประสิทธิภาพสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี ทำให้ยอดมีการเจริญเติบโตและมีการพัฒนาได้ถึง 83.3% สูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 7 ยอดต่อชิ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 2.5 และ 7.5 มก./ล. (ให้จำนวนยอดต่อชิ้นเท่ากับ 6 และ 5 ยอด ตามลำดับ) ส่วนการชักนำให้เกิดรากใน

อาหารสังเคราะห์ที่เติม IBA ระดับต่างๆ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100%

ศิริกุล และคณะ (2548) ศึกษาการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร (*Magnolia sirindhornias* Noot. & Chalermglin) ในหลอดทดลองระยะปานกลางในสภาพชะลอการเจริญ (minimal growth condition) พบว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ความเข้มข้นของน้ำตาล 2 ชนิดคือ น้ำตาลซูโครส และแมนนิทอล และความเข้มข้นของสารชะลอการเจริญเติบโตแพคโคบิวทาโซล ต่างก็มีผลต่อการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร โดยความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก 3/4 MS น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และสารแพคโคบิวทาโซล 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บรักษาปลายยอดได้นานสูงที่สุดถึง 7 เดือน ตรวจพบการรอดชีวิต 73.3±8.2%

Animesh *et al.* (2011) ทดลองการชักนำส่วนข้อต้นหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour.) ที่มีตาข้างติดอยู่ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. เพาะเลี้ยงในสภาพมืดเป็นเวลา 20 วัน แล้วจึงย้ายออกมาเพาะเลี้ยงไว้ภายใต้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน สลับกับสภาพมืด 8 ช.ม./วัน พบว่า สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ได้จำนวนมากถึง 12.7 ยอดต่อชิ้น จากนั้นจึงย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP (0.1-1.5 มก./ล.) ร่วมกับ IBA (0.1-1.0 มก./ล.) เพื่อกระตุ้นให้ยอดที่เกิดยืดยาวเพิ่มขึ้น แล้วจึงชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร half strength MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ต้นหนอนตายหยากที่สมบูรณ์สามารถย้ายออกปลูกในกระถางได้สำเร็จ

Rakkimuthu *et al.* (2011) ศึกษาการขยายพันธุ์ของ *Alpinia zerumbet* ซึ่งเป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยาที่สำคัญชนิดหนึ่ง โดยใช้ตาที่อยู่บนเหง้าด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Micropropagation) โดยใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดได้แก่ BA (0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มก./ล.) และ Kinetin (0.5 มก./ล.) ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6-7 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดได้สูงที่สุด ที่ 95% เมื่อนำยอดที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. เพื่อชักนำให้สร้างราก และสามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้สำเร็จ

Singlaw *et al.* (2008) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของหนอนตายหยากในหลอดทดลอง โดยเพาะเลี้ยงปลายยอดหนอนตายหยากบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม Cytokinin 5 ชนิดคือ 2iP, BA, Kinetin, Zeatin และ TDZ แต่ละชนิดทดลองใช้ความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ กันคือ 0 1 5 10 และ 15 มก./ล. เพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-28 ซ ใช้เวลาเพาะเลี้ยง 30 วัน พบว่า ทุกสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม cytokinin สามารถกระตุ้นให้หนอนตายหยากเกิดยอดใหม่ได้ โดย TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด (3.1±0.52 ยอดต่อชิ้น) รองลงมาคือ BA ความเข้มข้น 5 และ 10 มก./ล. (2.62±0.12 และ 2.6±0.76 ยอดต่อชิ้น) ตามลำดับ และพบกว่าการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารควบคุมในอาหารสังเคราะห์จะส่งผลให้ความยาวยอดที่เกิดใหม่ลดลง

Montri *et al.* (2006) ศึกษาการขยายพันธุ์หนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook f.) ในสภาพหลอดทดลอง โดยนำข้อ (node) ที่มีตาข้าง (axillary bud) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 20 µM เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ จากนั้นจึงนำมาทดสอบความเหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินจำนวน 5 ชนิด (2iP, BAP, kinetin, TDZ, zeatin) เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่ความเข้มข้นที่ระดับแตกต่างกัน 0-20 µM พบว่า BAP ที่ความเข้มข้น 20 µM ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 4.4 ยอดต่อชิ้น จากนั้น จึง subculture ยอดใหม่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 เดือน ก่อนจะย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน 3 ชนิด (IAA, IBA, NAA) เพื่อชักนำให้เกิดราก โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับแตกต่างกัน 0-20 µM พบว่า ทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดยสูตรที่ชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมากที่สุดคือ IAA ความเข้มข้น 10 µM เมื่อได้ต้นสมบูรณ์สามารถนำออกปลูกในโรงเรือนได้สำเร็จ

Montri *et al.* (2009) ศึกษาการขยายพันธุ์หนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour.) ในสภาพหลอดทดลอง โดยนำปลายยอด (shoot) และข้อ (node) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 20 µM เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ จากนั้นจึงนำมาทดสอบความเหมาะสมของสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงในสภาพหลอดทดลองระหว่าง สูตร B5 เปรียบเทียบกับสูตร MS โดยใช้ความเข้มข้นของธาตุอาหารที่แตกต่างกัน พบว่า สูตร full-strengh MS เป็นสูตรที่เหมาะสมมากที่สุด ในขั้นตอนการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก จึงเลือกใช้อาหารสังเคราะห์สูตร MS โดยเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP (0-20 µM) ร่วมกับ IBA (0-5 µM) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 20 µM ให้จำนวนยอดสูงที่สุด เมื่อนำยอดใหม่ที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเป็นเวลา 2 เดือน จึงเกิดรากและสามารถนำออกปลูกในโรงเรือนได้สำเร็จ

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

<u>อุปกรณ์และวิธีการ</u>

1. รวบรวมข้อมูล และรวบรวมหนอนตายหยาก มาปลูกในโรงเรือน

2. นำสมุนไพรหนอนตายหยาก มาทดลองเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ดังนี้

(1) การฟอกฆ่าเชื้อ

นำยอดใหม่ที่แตกออกมาจากหน่อ หรือข้อปล้องของหนอนตายหยาก ซึ่งมียอดอ่อนยาวมาล้างดินออกโดยล้างผ่านน้ำไหล จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาดหรือผงซักฟอก แล้วจึงล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดคราบผงซักฟอก วางผึ่งไว้ให้หมาด เริ่มฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยตัดชิ้นส่วนให้มีความยาว 4-6 ซม. โดยให้มีข้อติดอยู่อย่างน้อย 2-3 ข้อต่อชิ้น นำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 5 หรือ 10 % ที่เติม tween20 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 10-15 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนให้ติดข้อ ยาวอย่างน้อย 1-2 ซม. ขยายเพิ่มจำนวนเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

(2) การเพาะเลี้ยงและชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อ

ตัดแบ่งเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาข้างติดอยู่ของต้นหนอนตายหยากไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 0 2.5 5.0 และ 10 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0 0.25 และ 0.5 มก./ล. เลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ เป็นเวลา 50 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล 4×3 factorial จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด/ 2 ชิ้นส่วน บันทึกผลเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดต่อชิ้น ลักษณะของยอดที่เกิดใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

(3) การชักนำให้เกิดราก

นำยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร half-strength MS หรือ full-strengh MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ NAA 0 0.5 และ 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 60 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล 2×3 factorial จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด/ 2 ชิ้นส่วน บันทึกผลเปอร์เซ็นต์การเกิดราก ลักษณะรากที่เกิดขึ้น ปริมาณราก

3. การเก็บรักษาในสภาพชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth storage)

(1) ตัดยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในข้อ 13.2 ให้มีความยาวประมาณ 2 ซม. มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการชะลอการเจริญเติบโต สูตร MS full-strength และ MS half-strength ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับการเติม mannitol 0 1 หรือ 2% โดยทุกสูตรจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ให้ผลดีที่สุดจากข้อ 13.2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (factoria) 2x3 มีทั้งสิ้น 6 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 12 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองทุกเดือนโดยไม่เปลี่ยนอาหารใหม่จนกว่าจะพบว่ายอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งยอดเกินกว่า 50% ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดในทรีทเมนต์นั้นๆ โดยข้อมูลที่บันทึกเป็นระยะเวลาที่รอดชีวิต จำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

(2) นำยอดที่รอดชีวิตมาฟื้นฟูภายหลังการเก็บรักษาบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 2 ม.ก./ล. หรือ TDZ 1 ม.ก./ล. หรือ kinetin 2 ม.ก./ล. บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดที่เกิดใหม่ และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก

4. การนำยอดสมบูรณ์ออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในข้อ 13.3 ย้ายออกปลูกโดยปรับสภาพด้วยการคลายฝาขวด (แต่ยังไม่เปิดฝา) และวางไว้ในบริเวณที่เป็นอุณหภูมิห้อง 1-2 สัปดาห์ จากนั้นนำมาล้างวุ้นที่เป็นอาหารสังเคราะห์ออกให้หมด แล้วปลูกในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ทรายกับขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ซึ่งนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว คลุมถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น วางไว้ในโรงเรือนที่มีการพรางแสงอย่างน้อย 1 เดือน ก่อนย้ายลงปลูกในกระถาง บันทึกเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนใบ จำนวนยอด และลักษณะทางสัณฐานวิทยา

<u>เวลาและสถานที่ทำการทดลอง</u>

การทดลองนี้เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2555 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2557 โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ (บางเขน) สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

การเพาะเลี้ยงและชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของต้นหนอนตายหยาก บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ 0 0.25 และ 0.50 มก./ล. ร่วมกับ BA ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0 2.5 5.0 และ 10.0 มก./ล. เลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ เป็นเวลา 50 วัน พบว่า ที่บริเวณข้อซึ่งมีตาข้างอยู่นั้น สามารถเจริญเติบโตขึ้นเป็นยอดใหม่ได้จากทุกสูตรอาหาร ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะยืดยาวเป็นสีเขียวสด (ภาพที่ 1) โดยสูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดมากที่สุดคือสูตรที่ใช้ BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.55 ยอดต่อชิ้น รองลงมาคือสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มก./ล. เกิดยอดเฉลี่ย 2.40 และ 2.35 ยอดต่อชิ้น ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ไม่มีอิทธิพลร่วมกันในการชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ผลของระดับความเข้มข้นของ NAA มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ ผลของระดับความเข้มข้นของ BA มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ 1)

จากการทดลองหาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มจำนวนยอดต้นหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนที่เป็นส่วนข้อที่มีตาข้างติดอยู่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ พบว่า สามารถชักนำให้เกิดและเพิ่มจำนวนยอดได้เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินเป็นส่วนประกอบ (รังสฤษดิ์, 2540; อารีย์, 2541) สอดคล้องกับรายงานการวิจัยหลายฉบับที่มีการนำส่วนข้อที่มีตาข้างติดอยู่ของต้นหนอนตายหยากมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนิน เช่น BA Kinetin TDZ ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน สามารถชักนำให้ส่วนข้อต้นหนอนตายหยากดังกล่าวเกิดยอดขึ้นใหม่ได้ (สุมนา และคณะ, 2548; Montri *et al.,*2006; Singlaw *et al*., 2008; Montri *et al.,*2009; Animesh *et al.,* 2011) โดยผลการทดลองสูตรที่ใช้ BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.55 ยอดต่อชิ้น รองลงมาคือสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มก./ล. เกิดยอดเฉลี่ย 2.40 และ 2.35 ยอดต่อชิ้น ตามลำดับ นั้นสอดคล้องกับรายงานของ Montri *et al*. (2006) ซึ่งเพาะเลี้ยงส่วนข้อของต้นหนอนตายหยาก (*S. curtisii* Hook f.) บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 20 µM (ประมาณ 5 มก./ล.) ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.4 ยอดต่อชิ้น และรายงานของ Singlaw *et al*. (2008) เพาะเลี้ยงหนอนตายหยาก (*S. tuberosa* Lour.) ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 2.62 ยอดต่อชิ้น อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมที่ถูกควบคุมระหว่างการเพาะเลี้ยงต้นหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อนั้นส่งผลต่อการเกิดยอดใหม่ที่แตกต่างกัน ดังจะเห็นได้จากการทดลองของ Animesh (2011) เพาะเลี้ยงส่วนข้อต้นหนอนตายหยาก บนอาหาร MS ที่เติม BAP 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ควบคุมการเพาะเลี้ยงให้อยู่ในสภาพมืดก่อนเป็นเวลา 20 วัน จึงย้ายมาเพาะเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงสลับมืด (16/8 ช.ม./วัน) เป็นเวลา 40 วัน สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ได้จำนวนยอดเฉลี่ย

12 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ สุมนาและคณะ (2548) รายงานว่าเพาะเลี้ยงส่วนข้อของต้นหนอนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. ในสภาพแสง 24 ช.ม./วัน เป็นเวลา 1 เดือน เกิดยอดเฉลี่ยถึง 19.5 ต้นต่อชิ้นส่วน ดังนั้นการชักนำให้หนอนตายหยากเกิดยอดใหม่ได้จำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อจึงจำเป็นต้องศึกษาทั้งในส่วนชนิดและประมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมที่ควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อให้ได้จำนวนยอดเกิดใหม่ได้มากที่สุด

การชักนำให้เกิดราก

การเพาะเลี้ยงหนอนตายหยากในอาหารทดลองเพื่อชักนำให้เกิดราก โดยนำยอดที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร half-strength MS หรือ full-strengh MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ NAA 0 0.5 และ 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 60 วัน พบว่า ยอดยังคงมีการเจริญเติบโตได้แต่ช้ากว่าการเจริญของยอดในสูตรอาหารที่ใช้ทดลองชักนำให้เกิดยอด อย่างไรก็ตาม สูตรทดลองกลุ่มนี้ไม่สามารถชักนำให้ยอดหนอนตายหยากเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ ซึ่งขัดแย้งกันกับการรายงานของ Animesh *et al.*(2011) ซึ่งสามารถชักนำยอดหนอนตายหยาก (*S. tuberosa* Tour.) ให้เกิดรากได้เฉลี่ย 4.7 รากต่อยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร half strength MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในขณะที่ Montri *et al.* (2006) รายงานว่าการใช้ IAA ความเข้มข้น 10 µM (1.7 มก./ล.) สามารถชักนำยอดหนอนตายหยาก (*S. curtisii* Hook f.) ให้เกิดรากได้ดีที่สุด และรายงานของ กาญจนาและอริยาภรณ์ (2551) รายงานว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 1-3 มก./ล. สามารถชักนำต้นหนอนตายหยาก (*S. collinsae* Craib.) ให้เกิดรากได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตาม การชักนำให้ต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อเกิดรากขึ้นได้นั้น ขึ้นอยู่กับชนิด (species) ของพืชที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงด้วยเช่นกัน เช่น หนอนตายหยาก (*S. tuberosa* Lour.) นั้น สามารถเกิดรากได้บนเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม Auxin โดยใช้เวลาเพาะเลี้ยง 2 เดือน (Montri *et al.*, 2009) เป็นต้น นอกจากนี้ ชนิดและความเข้มข้นของ Auxin ที่ใช้นั้น มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากในสภาพเพาะเลี้ยง โดยหากใช้ชนิดหรือความเข้มข้นที่ไม่เหมาะสมกับพืชและชิ้นส่วนนั้นๆ ก็ทำให้ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ (Geogre, 1993) เช่นรายงานของ อรพิน (2557) พบว่า การเพาะเลี้ยงต้นผักหวานป่าบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 60 วัน ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากใหม่ได้

การเก็บรักษาในสภาพชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth storage)

จากการเพาะเลี้ยงหนอนตายหยากในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโต สูตร MS full-strength และสูตร MS half-strength เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดจากการทดลองการชักนำให้เพิ่มจำนวนยอด (BA 10 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.25 มก./ล.) ร่วมกับ Mannitol ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สูตร MS half-strength ที่ไม่เติม Mannitol (0 เปอร์เซ็นต์) สามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด คือ 4.50 เดือน รองลงมาคือ สูตร MS half-strength ร่วมกับ Mannitol 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สามารถเก็บรักษาได้นาน 3.92 และ 3.83 เดือน ตามลำดับ โดยไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างปัจจัยที่ 1 สูตรอาหารและปัจจัยที่ 2 ระดับความเข้มข้นของ mannitol อย่างไรก็ตาม พบว่า ปัจจัยที่ 1 สูตรอาหาร MS full-strength และ MS half-strenght มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

(ตารางที่ 2, ตารางภาคผนวกที่ 2) ผลการทดลองสูตรอาหารดังกล่าว สอดคล้องการทดลองลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร MS เหลือเพียง 3/4MS ใช้ร่วมกับการใช้น้ำตาล (sucrose) ในอัตราปกติของสูตรอาหารคือ 30 ก./ล. เพียงอย่างเดียว สามารถเก็บรักษายอดจำปีสิรินธรได้นาน 4 เดือน (ศิริกุล, 2548)

เมื่อพิจารณายอดที่เกิดขึ้นใหม่ระหว่างการชะลอการเจริญเติบโต พบว่า สูตร MS half-strength ที่ไม่เติม Mannitol (0 เปอร์เซ็นต์) มียอดเกิดขึ้นใหม่มากที่สุด คือ จำนวนยอดเฉลี่ย 3.75 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ สูตร MS half-strength ร่วมกับ Mannitol 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเกิดขึ้นใหม่เฉลี่ย 2.17 และ 2.00 ยอดต่อชิ้น ตามลำดับ ซึ่งไม่พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2, ตารางภาคผนวกที่ 3) ลักษณะยอดที่เกิดใหม่ส่วนใหญ่เกาะกลุ่มรวมกันเป็นกระจุก มีความยาวหดสั้นลง เมื่อ Mannitol มีระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2) สอดคล้องกับรายงานของ รมณีย์และศาลักษณ์ (2547) พบว่า การเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในอาหารที่เติม mannitol เพื่อชะลอการเจริญเติบโตนั้น เมื่อระดับความเข้มข้นของ mannitol เพิ่มขึ้น ความสูงของยอดจะลดลง

เมื่อย้ายต้นหนอนตายหยากที่ยอดยังมีสีเขียวไปเลี้ยงบนอาหารฟื้นฟูพบว่าสามารถรอดชีวิตและเจริญเติบโตได้ในอาหารทุกสูตร แต่ไม่เกิดราก (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 จำนวนยอดเฉลี่ยต้นหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในอาหาร MS ที่เติม BA และ NAA ในระดับต่างๆ กัน เป็นเวลา 50 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

NAA (มก./ล.)	BA (มก./ล.)	จำนวนยอดเฉลี่ย

0	0	1.10
	2.5	1.95
	5.0	2.40
	10.0	2.35
0.25	0	1.00
	2.5	1.00
	5.0	1.90
	10.0	2.55
0.50	0	0.85
	2.5	0.85
	5.0	2.20
	10.0	1.70

ตารางที่ 2 ระยะเวลาเฉลี่ยและยอดเฉลี่ยที่ได้จากการเก็บรักษาบนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโต

สูตรอาหาร	Mannitol (%)	ระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงได้ก่อนยอดเหลืองเกินร้อยละ 50 (เดือน)	จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดใหม่
MS full-strength	0	2.67	1.92
	1	2.33	2.25
	2	3.42	2.00
MS half-strength	0	4.50	3.75
	1	3.92	2.17
	2	3.83	2.00

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก ของต้นหนอนตายหยากที่ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารฟื้นฟู สูตร MS ที่เติม BA หรือ Kinetin หรือ TDZ ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 60 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	จำนวนยอดเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก
BA 2 มก./ล.	90	3.2	0
Kinetin 2 มก./ล.	60	1.1	0
TDZ 1 มก./ล.	80	2.6	0

MS+BA10 มก./ล.+NAA 0.5 มก./ล.

MS+BA 10 มก./ล.+NAA 0.25 มก./ล.

ภาพที่ 1 ลักษณะยอดใหม่ต้นหนอนตายหยากที่เกิดขึ้นในสภาพปลอดเชื้อ จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรทดลอง เป็นเวลา 50 วัน

MS full-strength+Mannitol (0%, 1%, 2%)

MS half-strength+Mannitol (0%, 1%, 2%)

ภาพที่ 2 ลักษณะยอดใหม่ต้นหนอนตายหยากที่เกิดขึ้นในสภาพปลอดเชื้อ จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS full-strength และสูตร MS half-strength ร่วมกับ Mannitol (0%, 1%, 2%) เป็นเวลา 4 เดือน

อภิปรายผล (Discussion)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพรหนอนตายหยากเพื่อการอนุรักษ์ โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากชิ้นส่วนข้อนั้น สูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดมากที่สุดในการทดลองนี้คือสูตรที่ใช้ BA ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มก./ล. รองลงมาคือสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มก./ล. ตามลำดับ

สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสมุนไพรหนอนตายหยากในการทดลองนี้ ได้แก่ สูตรอาหาร MS half-strength ที่ไม่เติม Mannitol

สำหรับการทดลองชักนำต้นหนอนตายหยากให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อนั้น พบว่า สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ควรมีการทดลองปรับสูตรอาหารโดยเพิ่มปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตให้มากขึ้น หรือเปลี่ยนชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต รวมทั้งการทดลองครั้งนี้ ใช้ตัวอย่างสมุนไพรหนอนตายหยากเพียง 1 ชนิด (species) จึงควรมีการเพิ่มจำนวนชนิดของหนอนตายหยาก และทดสอบความสามารถในการเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อของต้นหนอนตายหยากแต่ละชนิดเปรียบเทียบกัน รวมทั้งความสามารถในการตอบสนองของสมุนไพรหนอนตายหยากแต่ละชนิดต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อเป็นแนวทางในการนำมาอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อได้ต่อไป และเนื่องจากสารสำคัญของพืชชนิดนี้ สะสมอยู่มากในส่วนของราก จึงควรหาสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้หนอนตายหยากทุกชนิดเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ เพื่อเป็นแนวทางเพิ่มวัตถุดิบในการผลิตในอนาคต

ชื่อการทดลองที่ 15 : การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด โดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

: *In vitro* conservation of 10 species of Zingiberaceae via slow growth technique.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวสุกัลยา ศิริฟองนุกูล[1]

ผู้ร่วมงาน : นางรัชนก ทองเวียง[1]

นางศิริลักษณ์ อินทะวงศ์[2]

นายวรกิจ ห้องแซง[1]

นางสาวปัณฑารีย์ กาญจนวัฒนาวงศ์[1]

บทคัดย่อ

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงโดยใช้เทคนิคชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ โดยเลือกตัวแทนจากพืชวงศ์ขิง 4 สกุล จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิงขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร พบว่า สามารถฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้สำเร็จ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Zingiber* spp. 3 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว และไพลปลุกเสก เมื่อทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร (MS full-strength หรือ MS half-strength ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับการเติม mannitol 0 1 หรือ 2%) พบว่า สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสภาพหลอดทดลองได้นาน 7-10 เดือน พืชวงศ์ขิงที่ผ่านการชะลอการเจริญเติบโตในอาหารสูตรทดลองสามารถมีชีวิตรอดและเกิดยอดใหม่ได้เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรฟื้นฟู เมื่อนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 70-90 และสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

Abstract

In vitro conservation of 10 species in 4 genus of Zingiberaceae was conducted, genus *Zingiber*: Pli (*Zingiber montanum* (J. König) Link ex A. Kietr), Pli kwao (*Zingiber* sp.), Pli chompu (*Zingiber* sp.) and Pli pluk sak (*Zingiber* sp.); genus Alpinia: Kha Ling Khing Hang; genus Curcuma: white turmeric (*Curcuma manga* Valeton & Zijp), turmeric (*Curcuma longa* L.) and wan-maha-mek (*Curcuma aeruginosa* Roxb.); genus Kaempferia: wan-kra-chaea-chan (*Kaempferia* sp.) and wan-thipya-nate (*Kaempferia rotunda* L.). There were eight species: genus *Zingiber*, Pli (*Zingiber montanum* (J. König) Link ex A. Kietr), Pli kwao (*Zingiber* sp.) and Pli pluk sak (*Zingiber* sp.); genus Curcuma, white turmeric (*Curcuma manga* Valeton & Zijp), turmeric (*Curcuma longa* L.) and wan-maha-mek (*Curcuma aeruginosa* Roxb.); genus Kaempferia, wan-kra-chaea-chan (*Kaempferia* sp.) and wan-thipya-nate (*Kaempferia rotunda* L.), which could be successfully ----------

[1]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่

sterilized and cultured. The experiment was done by transferring the individual shoot onto 12 formula (MS or 1/2MS + 3% or 9% sucrose + 0-2 % mannitol). The eight species could be maintained in those media for 7-10 months without subculturing. The result showed that survival plantlets from minimal growth media could regenerate new shoots after subculturing onto the recovering formula media. The plantlets were further moved to be planted in a greenhouse. It was found that a survival rate of the plantlets is 70-90%, and normal growth was clearly observed.

บทนำ (Introduction)

พืชสกุล *Zingiber* spp. *Alpinia* sp. *Curcuma* spp. และ *Kaempferia* spp. เป็นพืชในวงศ์ ZINGIBERACEAE หรือพืชวงศ์ขิง ซึ่งเป็นพันธุ์พืชล้มลุกอายุหลายปี ส่วนใหญ่มีลำต้นใต้ดินแบบเหง้า (rhizome) หรือแบบหัว (tuber) ซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยสะสมอยู่มาก ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบพืชวงศ์ขิงอยู่ประมาณ 30 สกุล 200 ชนิด ในขณะที่รายงานชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยโดย เต็ม สมิตินันทน์ ฉบับแก้ไข ปี 2544 ได้จำแนกพืชวงศ์ขิงในประเทศไทยไว้ 15 สกุล จำนวน 116 ชนิด (เต็ม, 2544; อรนุช, 2550) พืชวงศ์ขิง มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจทั้งด้านการนำมาใช้ในฐานะเป็นไม้ดอกไม้ประดับ เครื่องเทศ พืชสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในยารักษาโรคที่สำคัญหลายขนาน ปัจจุบันมีกระแสตื่นตัวเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรกันมากขึ้น ทั้งในด้านสมุนไพรการรักษาโรค การใช้สมุนไพรเพื่อความงาม การใช้น้ำมันหอมระเหยในสุวคนธบำบัด และการนำมารับประทานเพื่อสุขภาพ (คมสัน, 2549; วุฒิ, 2552; อรนุช, 2550) รวมทั้งยังมีการนำมาใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโรคพืชในการทำเกษตรกรรม (ต. ชาตรี, 2553) เมื่อมีการนำไปใช้ประโยชน์มากขึ้น ประกอบกับสารสำคัญและส่วนที่นำไปใช้ประโยชน์เป็นลำต้นใต้ดินซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์หลัก

จึงทำให้พืชเหล่านี้อยู่ในสภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากมีการปลูกพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นทดแทนมากขึ้น การนำออกมาจากป่ามากกว่าการปลูก และสภาพดินฟ้าอากาศที่แปรปรวนไม่ว่าจะเป็นสภาพแห้งแล้งอย่างรุนแรง หรือภาวะฝนตกหนักจนเกิดอุทกภัยในปัจจุบัน รวมทั้งยังไม่มีเทคโนโลยีที่แน่นอนในด้านการผลิตวัตถุดิบเพื่อผลิตภัณฑ์สมุนไพร ไม่มีพันธุ์ที่เหมาะสม ไม่มีการปลูกทดแทนเมื่อนำออกมาจากป่าเพื่อการใช้ประโยชน์ ทรัพยากรพืชพื้นบ้านอย่างยั่งยืน ก็มีผลกระทบโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและการกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์นี้ อย่างไรก็ดี การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพแปลงรวบรวมพันธุ์นั้นจำเป็นต้องใช้พื้นที่ขนาดใหญ่ และการดูแลรักษา ก็ต้องมีการใช้ทรัพยากรและงบประมาณค่อนข้างสูง การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชในหลอดทดลองด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยลดขนาดพื้นที่การเก็บรักษา และเพิ่มปริมาณหรือชนิดพืชที่ต้องการเก็บรักษาได้มากขึ้น

เทคนิคการเก็บรักษาในระยะปานกลาง (Medium term storage) เป็นเทคนิคย่อยที่แยกออกมาจากการเก็บรักษาด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตามปกติ เป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยการชะลอการเจริญเติบโตหรือการลดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในหลอดทดลองที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อให้เจริญช้าลง (Slow growth, Minimal growth) (รังสฤษดิ์, 2540; Shibli *et al*., 2006) ซึ่งจะช่วยลดปริมาณงานหรือจำนวนครั้งของการเปลี่ยนถ่ายอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงได้ มีรายงานการศึกษาเพื่อเก็บรักษาขิง (*Zingiber officinale* Rosc. Cv. Rio de Janeiro) (จำนวน 33 พันธุ์ปลูก และ 1 พันธุ์ป่า) ในหลอดทดลอง พบว่า โดยร้อยละ 50 ของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ถึง 14 เดือนบนอาหาร CM (MS+9% sucrose+0.8% agar+0.1 mgl-1 NAA+1 mgl-1 BA) ภายใต้แสงสว่าง 16 และ 24 ช.ม./วัน และสามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 12 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร และบางพันธุ์สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 16-20 เดือน (Tyagi *et al*., 2006) และการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร (*Magnolia sirindhornias* Noot. & Chalermglin) ในหลอดทดลองในสภาพชะลอการเจริญ พบว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร 3/4MS น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และสารแพคโคบิวทาโซล 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บรักษาปลายยอดได้นานสูงที่สุดถึง 7 เดือน (ศิริกุล, 2548) จึงเป็นที่มาของการทดลองนี้ ในการศึกษาเทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมเพื่อการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงโดยการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

(1) การเตรียมและเพิ่มจำนวนต้นในสภาพปลอดเชื้อสำหรับการทดลอง

เลือกใช้ตัวอย่างทดลองจากพืชวงศ์ขิง จำนวน 10 ชนิด จาก 4 สกุล ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิงขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร

เก็บเหง้า (rhizome) ซึ่งมียอดอ่อนยาวอย่างน้อย 2-3 ซม. ล้างดินออกโดยล้างผ่านน้ำไหล ลอกกาบหรือใบชั้นนอกออก 1-2 ชั้น จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาดหรือผงซักฟอก 20 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดคราบผงซักฟอก วางผึ่งไว้ให้หมาด เริ่มฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 70 %

ประมาณ 10 วินาที แล้วนำไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% ที่เติม tween20 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 10 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว นำเนื้อเยื่อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 2 มก./ล. และ/หรือร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. เลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ จากนั้นเพิ่มปริมาณยอดโดยการตัดส่วนของยอดที่งอกจากเหง้าย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม เปลี่ยนอาหารทุกๆ 3- 4 สัปดาห์ เพื่อใช้เป็นต้นพันธุ์สำหรับทำการทดลองต่อไป

(2) การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงในหลอดทดลองระยะปานกลางในสภาพชะลอการเจริญเติบโต

นำยอดที่มีความยาวประมาณ 1 ซ.ม. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในข้อ (1) มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการชะลอการเจริญเติบโต สูตร MS full-strength (full-MS) และ MS half-strength (half-MS) ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับการเติม mannitol 0 1 หรือ 2% โดยทุกสูตรจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มก./ล. และ/หรือร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (factoria) 2x2x3 มีทั้งสิ้น 12 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 12 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองทุกเดือนโดยไม่เปลี่ยนอาหารใหม่จนกว่าจะพบว่ายอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งยอดเกินกว่า 50% ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดในทรีทเมนต์นั้นๆ โดยข้อมูลที่บันทึกเป็นระยะเวลา (เดือน) เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

(3) นำยอดที่รอดชีวิตมาฟื้นฟูภายหลังการเก็บรักษาบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA

2 มก./ล. หรือ TDZ 1 มก./ล. หรือ kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 05 ม.ก./ล. บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจำนวนยอดที่เกิดขึ้นต่อชิ้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก

(4) นำพืชที่ผ่านการฟื้นฟูสภาพมาปรับสภาพ ก่อนนำออกปลูกในโรงเรือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเปรียบเทียบกับต้นแม่ที่อยู่ในสภาพธรรมชาติ

<u>เวลาและสถานที่ทำการทดลอง</u>

การทดลองนี้เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2555 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2558 โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ (บางเขน) สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

<u>การเตรียมและเพิ่มจำนวนต้นในสภาพปลอดเชื้อสำหรับการทดลอง</u>

พืชวงศ์ขิงที่เลือกใช้เป็นตัวอย่างทดลองจำนวน 10 ชนิด จาก 4 สกุล ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิงขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ

กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร สามารถฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้เป็นวัสดุวิจัยได้สำเร็จ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ สกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร และสกุล *Zingiber* spp. 3 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว และไพลปลุกเสก

การเก็บรักษาในสภาพชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth storage)

จากการเพาะเลี้ยงพืชตระกูลขิง 8 ชนิด ในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโต สูตร MS full-strength และ MS half-strength ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับการเติม mannitol 0 1 หรือ 2% โดยทุกสูตรจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. สำหรับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Curcuma* และ *Kaempferia* และ BA 2 มก./ล. สำหรับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Zingiber* เพาะเลี้ยงในสภาพควบคุมที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2°C วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (factoria) 2x2x3 มีทั้งสิ้น 12 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 12 ซ้ำ (ตารางภาคผนวกที่ 2) สามารถเก็บรักษาพืชตระกูลขิงทั้ง 8 ชนิดได้นาน 7-10 เดือน โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

สกุล *Curcuma*

ว่านมหาเมฆ (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

หลังจากตัดย้ายว่านมหาเมฆ ลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] (ภาพที่ 1) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 6.23 เดือน รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 5.46 และ 5.31 เดือน ตามลำดับ โดยความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร และระดับ sucrose ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกันได้แก่ สูตรอาหารกับระดับ sucrose และ สูตรอาหารกับระดับ mannitol (ตารางภาคผนวกที่ 4.1)

Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 1 ว่านมหาเมฆ บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 6 เดือน

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.)

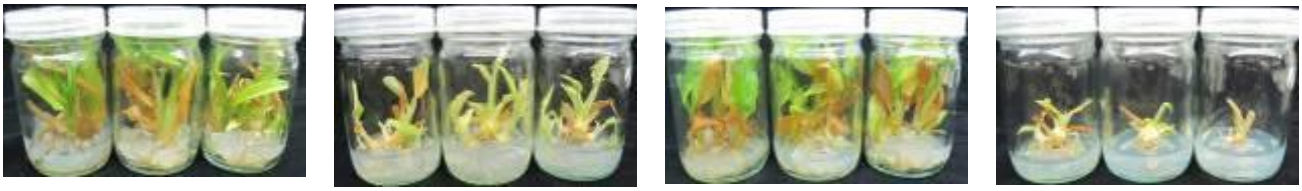
เมื่อย้ายต้นขมิ้นชันลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 8.00 เดือน (ภาพที่ 2) รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.62 และ 7.08 เดือน ตามลำดับ โดย ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร และระดับ sucrose ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกันได้แก่ สูตรอาหารกับระดับ sucrose (ตารางภาคผนวกที่ 4.2)

Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 2 ขมิ้นชัน บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 8 เดือน

ขมิ้นขาว (*Curcuma manga* Valeton & Zijp)

เมื่อย้ายต้นขมิ้นขาวลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] (ภาพที่ 3) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 6.76 เดือน รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 6.46 และ 6.07 เดือน ตามลำดับ โดย ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร และระดับ sucrose ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ระดับ mannitol ให้ผลที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกันได้แก่ สูตรอาหารกับระดับ sucrose และระดับ sucrose กับระดับ mannitol (ตารางภาคผนวกที่ 4.3)



Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 3 ขมิ้นขาว บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 7 เดือน

สกุล *Kaempferia*

กระแจะจันทร์ (*kaempferia* sp.)

เมื่อย้ายต้นกระแจะจันทร์ลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่าสูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] (ภาพที่ 4) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 10.69 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 10.46 และ 9.30 เดือน ตามลำดับ โดย ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร ระดับ sucrose และระดับ mannitol ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่ไม่พบว่าทั้ง 3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกัน (ตารางภาคผนวกที่ 4.4)

Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 4 กระแจะจันทร์ บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 11 เดือน

ว่านทิพยเนตร (*Kaempferia rotunda* L.)

เมื่อย้ายต้นว่านทิพยเนตรลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่าสูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] (ภาพที่ 5) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 9.00 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.69 และ 7.30 เดือน ตามลำดับ โดยความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร ระดับ sucrose และระดับ mannitol ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และทั้ง 3 ปัจจัยมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ อนึ่ง ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหารกับระดับ mannitol มีอิทธิพลร่วมกัน อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหารกับระดับ sucrose และระดับ sucrose กับ ระดับ mannitol ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมกัน (ตารางภาคผนวกที่ 4.5)

Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 5 ว่านทิพยเนตร บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 9 เดือน

สกุล *Zingiber*

ไพลเหลือง (*Zingiber montanum* (J. König) Link ex A. Kietr

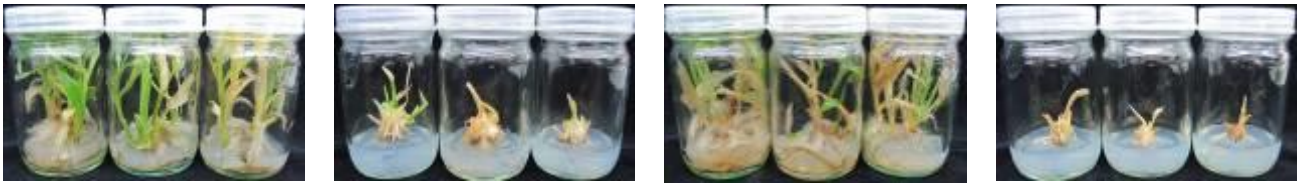
เมื่อย้ายต้นไพลเหลืองลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] และสูตร half-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T8] (ภาพที่ 6) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.69 เดือนเท่ากัน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร half-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T7] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.54 และ 6.85 เดือน ตามลำดับ โดยความแตกต่างของระดับ sucrose และระดับ mannitol มีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมกันทางสถิติของปัจจัยที่ศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย (สูตรอาหาร ระดับ sucrose และ ระดับ mannitol) (ตารางภาคผนวกที่ 4.6)

Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 6 ไพลเหลือง บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 8 เดือน

ไพลปลุกเสก (*Zingiber* sp.)

เมื่อย้ายต้นไพลปลุกเสกลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] (ภาพที่ 7) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 9.62 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 9.46 และ 9.38 เดือน ตามลำดับ พบว่า ปัจจัยที่สนใจศึกษา 3 ปัจจัย แต่ละปัจจัยต่างก็มีอิทธิพลต่อผลการชะลอการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ความแตกต่างของสูตรอาหาร กับระดับ sucrose และระดับ sucrose กับ ระดับ mannitol มีอิทธิพลร่วมกัน ส่งผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 4.7)



Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 7 ไพลปลุกเสก บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 10 เดือน

ไพลขาว (*Zingiber* sp.)

เมื่อย้ายต้นไพลขาวลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] (ภาพที่ 8) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.85 เดือน รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร half-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T7] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 9% ร่วมกับ mannitol 0% [T4] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.23 และ 7.08 เดือน ตามลำดับ พบว่า ปัจจัยที่สนใจศึกษา 3 ปัจจัย แต่ละปัจจัยต่างก็มีอิทธิพลต่อผลการชะลอการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 4.8)

Z1 Z2 Z3 Z4 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12

ภาพที่ 8 ไพลขาว บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 8 เดือน

การฟื้นฟูภายหลังการชะลอการเจริญเติบโต

ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงพืชวงศ์ขิงในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ ได้นำยอดที่รอดชีวิตมาเพาะเลี้ยงเพื่อฟื้นฟูสภาพบนอาหาร 6 สูตร ได้แก่

T1 อาหารสูตร full-MS ที่เติม kinetin 2 มก./ล.

T2 อาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล.

T3 อาหารสูตร full-MS ที่เติม TDZ 1 มก./ล.

T4 อาหารสูตร full-MS ที่เติม kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

T5 อาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

T6 อาหารสูตร full-MS ที่เติม TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

ผลการฟื้นฟูบนอาหารทั้ง 6 สูตร พบว่า พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด สามารถฟื้นตัวและเจริญเติบโตได้ดี สามารถเกิดยอดและรากใหม่ได้ค่อนข้างดี (ตารางที่ 1) ทำให้สามารถนำไปย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนต่อไปได้ อย่างไรก็ตาม สูตรอาหาร full-MS ที่ เติม TDZ 1 มก./ล. [T3] และอาหารสูตร full-MS ที่เติม TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. [T6] นั้น มีคะแนนการเกิดรากค่อนข้างต่ำเนื่องจากเกิดรากได้น้อยกว่าอาหารสูตรอื่น และมีแนวโน้มที่จะชักนำให้เกิดแคลลัสได้ด้วยเช่นกัน (ภาพที่ 9)

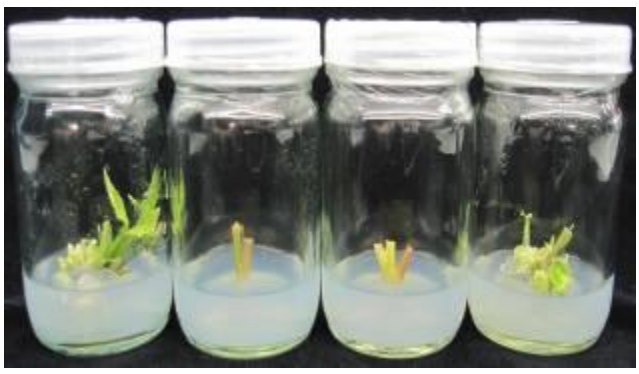
ตารางที่ 1 จำนวนยอดเฉลี่ยและคะแนนการเกิดรากเฉลี่ยบนอาหารทดลองเพื่อฟื้นฟู 6 สูตร เป็นเวลา 60 วัน

พืชวงศ์ขิง	%						S						R					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6

พืชวงศ์ขิง	%						S						R					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6
กระแจะจันทร์	60	80	80	80	80	60	2.7	4.2	4.7	4.5	5.3	3.1	1.2	2.1	2.1	1.8	2.3	1.2
ว่านทิพยเนตร	70	100	80	100	70	100	2.4	3.2	3.1	4.0	2.7	4.1	1.7	2.0	1.1	2.0	2.2	1.4
ว่านมหาเมฆ	100	100	100	100	100	100	1.9	2.5	3.3	2.6	2.7	3.4	1.6	1.6	0.2	2.5	2	0.4
ขมิ้นขาว	50	100	100	70	70	100	1.4	3.1	3.6	2.2	1.9	5.8	0.8	2.2	1.0	1.3	1.5	0.7
ขมิ้นชัน	100	80	100	80	100	80	2.4	2.3	3.7	1.8	2.2	3.3	2.0	1.6	0.7	2.0	2.2	1.1
ไพลเหลือง	30	90	50	60	70	70	1.5	2.8	0.3	1.0	1.1	0.7	0.4	1.0	0.0	0.5	0.5	0.0
ไพลปลุกเสก	80	80	70	80	70	70	1.4	2.6	2.2	2.0	1.3	1.5	0.4	0.1	0.0	2.0	0.7	0.1
ไพลขาว	30	80	40	70	60	40	1.2	1.6	2.0	2.4	2.0	1.6	1.6	1.9	0.3	1.4	1.6	0.5
เฉลี่ย	65	88	77	80	77	77	1.9	2.8	2.9	2.6	2.4	2.9	1.2	1.6	0.7	1.7	1.6	0.7

% = ร้อยละของการรอดชีวิตบนอาหารฟื้นฟู S = จำนวนยอดเฉลี่ย R = คะแนนรากเฉลี่ย

อาหาร full-MS +TDZ 1 มก./ล.



อาหาร full-MS +TDZ 1 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.

ภาพที่ 9 ไพลขาว เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารเพื่อฟื้นฟูภายหลังจากการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 60 วัน

การนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน

นำพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรฟื้นฟูมาปรับสภาพเป็นเวลาอย่างน้อย 2-3 สัปดาห์ เมื่อล้างวุ้นอาหารออกจากรากจนสะอาดดีแล้ว จึงนำไปปลูกลงในถุงดำที่ใส่วัสดุปลูกเตรียมไว้ในโรงเรือน ตรวจสอบการรอดชีวิตของพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด พบว่า ทุกชนิดสามารถรอดชีวิตได้คิดเป็น 72% - 95% (ตารางที่ 2) และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (ภาพที่ 10)

ตารางที่ 2 ร้อยละของความมีชีวิตรอดของพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน เป็นเวลา 60 วัน

พืชวงศ์ขิง		ร้อยละ	
		ตาย	รอด
1.	ว่านมหาเมฆ	27.27	72.73
2.	ขมิ้นชัน	4.35	95.65
3.	ขมิ้นขาว	26.09	73.91
4.	กระแจะจันทร์	16.67	83.33
5.	ว่านทิพยเนตร	11.11	88.89
6.	ไพลเหลือง	4.35	95.65
พืชวงศ์ขิง		ร้อยละ	
		ตาย	รอด
7.	ไพลปลุกเสก	13.04	86.96
8.	ไพลขาว	16.67	83.33
	เฉลี่ย	14.94	85.05

ขมิ้นชันหลังจากนำออกปลูก อายุ 15 วัน

ขมิ้นชันหลังจากนำออกปลูก อายุ 60 วัน

ภาพที่ 10 ขมิ้นชันที่นำออกปลูกในสภาพโรงเรือนอายุ 15 วัน และ 60 วัน

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพืชวงศ์ขิงที่เลือกใช้เป็นตัวอย่างทดลองจำนวน 10 ชนิด จาก 4 สกุล ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิงขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร สามารถฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้เป็นวัสดุวิจัยได้สำเร็จ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ สกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร และสกุล *Zingiber* spp. 3 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว และไพลปลุกเสก สำหรับ ไพลชมพู (*Zingiber* sp.) การฟอกฆ่าเชื้อเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้นั้นมีลักษณะเป็นยอดที่เกิด

จากเหง้าซึ่งปลูกอยู่ในดิน มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สูง นอกจากนี้การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียที่ชิ้นส่วนพืชซึ่งทำให้อาหารมีลักษณะขุ่นข้นกว่าปกติแพร่ออกจากชิ้นส่วนพืชอยู่ในอาหารซึ่งเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ภายในเนื้อเยื่อของพืช เช่น ในท่อลำเลียงน้ำ เป็นต้น และไม่อาจกำจัดได้โดยการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว จึงทำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดการปนเปื้อนสูง ประกอบกับสภาพแวดล้อมภายในขวดเพาะเลี้ยงมีความเหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้รวดเร็วพร้อมทั้งปลดปล่อยสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึมทำให้เนื้อเยื่อพืชตายได้ (กมลพรและคณะ, 2552) ในส่วนของพืชวงศ์ขิงสกุล *Alpinia* sp. ได้แก่ ข่าลิง ขิงแห้ง นั้น ประสบปัญหาเหง้าพันธุ์ข่าลิงขิงแห้งหาได้ยากใช้เวลานานในการหาเหง้าพันธุ์ ถึงแม้จะได้เหง้าพันธุ์ในที่สุดแต่ไม่สามารถทำการทดลองได้ทันตามกำหนดเวลา

<u>การเก็บรักษาในสภาพชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth storage)</u>

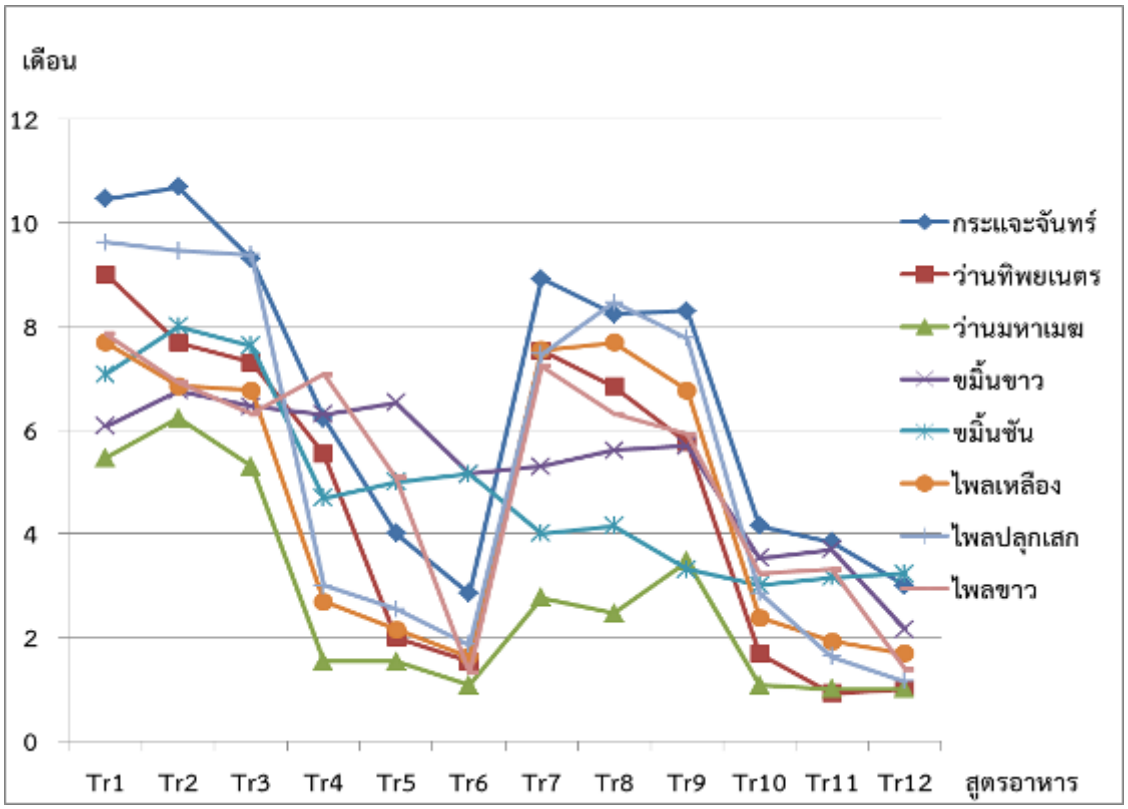
จากการเพาะเลี้ยงพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 ทรีทเมนต์ พบว่า พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด สามารถคงมีชีวิตอยู่ในอาหารทดลองได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ในระยะเวลาที่ไม่เท่ากัน พืชวงศ์ขิงในสกุล *Kaempferia* ได้แก่ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตได้นานที่สุด คืออยู่ในช่วง 9-10 เดือน รองลงมาเป็นพืชวงศ์ขิงในสกุล *Zingiber* ได้แก่ ไพลเหลือง ไพลปลุกเสก และไพลขาว สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้อยู่ในช่วง 7-9 เดือน ใกล้เคียงกับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Curcuma* ที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้อยู่ในช่วง 6-8 เดือน ความสามารถในการชะลอการเจริญเติบโตของสูตรอาหารทดลองทั้ง 12 ทรีทเมนต์ แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่ศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย ได้แก่ 1. สูตรอาหาร full-MS และ half-MS 2. ระดับของ sucrose (3% และ 9%) และ 3. ระดับของ mannitol (0% 1% และ 2%) มีอิทธิพลต่อการยืดอายุการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิดในสภาพปลอดเชื้อ

ปัจจัยที่ส่งผลอย่างเห็นได้ชัดคือระดับของ sucrose ในอาหารทดลอง พบว่า ระดับ sucrose 3% ให้ผลในการชะลอการเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่ระดับ sucrose 9% (ภาพที่ 11) ใกล้เคียงกับรายงานผลการทดลองของ สนธิชัย (2548) ในการลดการเจริญเติบโตของต้น ขิง ไพล และขมิ้นอ้อยในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าความเข้มข้นของ sucrose ที่เหมาะสมของพืชดังกล่าวอยู่ในช่วง 40-60 ก./ล. (4%-6%) และเมื่อลดความเข้มข้นของสารอาหารอนินทรีย์ลงครึ่งหนึ่ง (half-MS) ความเข้มข้นของ sucrose ที่เหมาะสม จะลดลงเหลือ 40-50 ก./ล. (4%-5%) และในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร 3/4MS ร่วมกับ sucrose 3% (30 ก./ล.) สามารถเก็บรักษายอดจำปีสิรินธรได้นานถึง 4 เดือน (ศิริกุล, 2548) อย่างไรก็ดี จากการทดลองนี้ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น sucrose 9% นั้น ไม่สามารถชะลอการเจริญเติบโตในพืชวงศ์ขิงในสกุล *Kaempferia* และ *Zingiber* อย่างเห็นได้ชัด (กราฟที่ 1) ต่างจากการทดลองของ Tyagi *et al*. (2006) ซึ่งรายงานว่าการทดลองการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิง (*Zingiber officinale* Rosc. Cv. Rio de Janeiro) (จำนวน 33 พันธุ์ปลูก และ 1 พันธุ์ป่า) ในหลอดทดลอง พบว่า โดยร้อยละ 50 ของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ถึง 14 เดือนบนอาหาร CM ซึ่งมี sucrose สูงถึง 9% (อาหารสูตร CM = MS+9% sucrose+0.8% agar+0.1 mgl-1 NAA+1 mgl-1 BA) และสามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 12 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร นอกจากนี้ อาหารสูตรที่มีระดับ

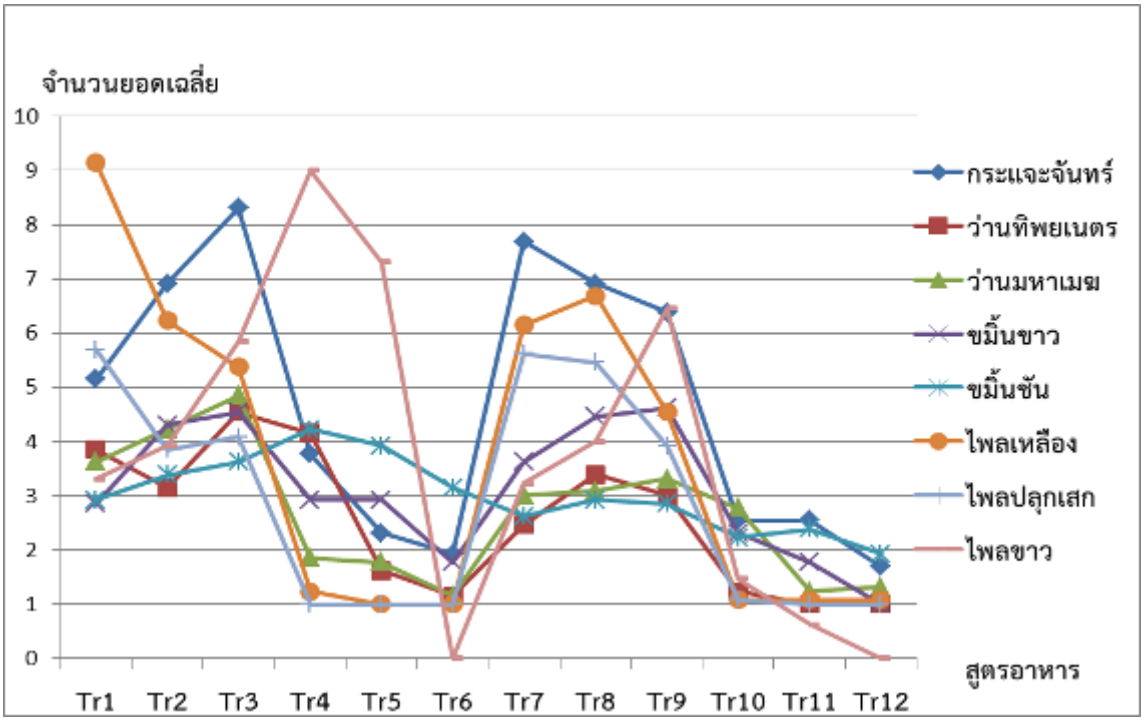
sucrose 9% พบว่า ส่งผลให้จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดใหม่มีจำนวนน้อยกว่า และมีปริมาณรากน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับอาหารที่มีระดับ sucrose 3% (กราฟที่ 2 และกราฟที่ 3) รวมทั้งส่งผลให้เกิดลักษณะผิดปกติ หรือชะงักการเจริญเติบโตแทนที่จะชะลอการเจริญเติบโต อันเนื่องจากผลของแรงดันออสโมซิสในอาหารโดยส่วนประกอบต่างๆในอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่ ปริมาณธาตุอาหารหลัก ระดับความเข้มข้นของ sucrose และระดับความเข้มข้น mannitol มีผลเกี่ยวข้องกับแรงดันออสโมซิสในอาหารจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการดูดซึมสารอาหารของเนื้อเยื่อพืชด้วย พืชในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องมีการเติมน้ำตาลลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญ เนื่องจากการเจริญในขวดเพาะเลี้ยงนั้น พืชจะมีการสังเคราะห์แสงได้ไม่เต็มที่เหมือนในสภาพธรรมชาติ แต่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาล หรือ sucrose ที่สูงเกินไปจะส่งผลให้ประสิทธิภาพของแรงดันออสโมติกลดลง (วรรณดา และคณะ, 2557; Bramwel, 1990) สอดคล้องกับการศึกษาผลของการเพิ่มแรงดันออสโมติกของอาหารเพาะเลี้ยงมะละกอโดยการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นมากถึง 20 ก./ล. พบว่า สามารถลดการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนยอดได้มากกว่าการเติม mannitol (Suksa-ard *et al.*, 1997) อย่างไรก็ตาม ชนิดของพืชก็มีส่วนในการตอบสนองต่อระดับ sucrose ที่แตกต่างกันด้วย เช่น การศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชเนระพูสีไทย หรือต้นค้างคาวดำ (วรินทร์พร และปิยะวดี, 2557) พบว่า อาหารสูตร half MS ที่เติม sucrose 90 ก./ล. (9%) เป็นสูตรที่เหมาะสมสำหรับชะลอการเจริญเติบโตที่สุด โดยต้นยังคงมีลักษณะปกติและมีชีวิตรอดอยู่ได้นานโดยไม่เปลี่ยนอาหารเป็นเวลา 6 เดือน

ระดับความเข้มข้นของ mannitol ในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อประสิทธิภาพของแรงดันออสโมติกเช่นเดียวกัน ซึ่งระดับความเข้มข้นของ mannitol ที่สูงมากเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อพืชได้ อย่างไรก็ดี ระดับที่สูงมากเกินไปนั้น มีความแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด จากการทดลองนี้ จะเห็นได้ว่า ระดับ mannitol ที่สูงขึ้น (ในสูตรที่ใช้ธาตุอาหารหลัก และระดับ sucrose เหมือนกัน) ส่งผลให้พืชวงศ์ขิงแสดงจำนวนยอดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (กราฟที่ 2) แต่ความสูงของยอดลดลง (ไม่ได้แสดงข้อมูล) เนื่องจากความดันออสโมติกเพิ่งสูงขึ้นจากการเติม mannitol ทำให้การดูดซับไอออนของรากพืชผิดปกติ ดังนั้น การเจริญเติบโตของพืชจึงลดลง เช่นเดียวกับลักษณะของอ้อยพันธุ์ F140 และ SP1 ซึ่งเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ mannitol ขึ้น ส่งผลให้มีแนวโน้มการเกิดหน่อใหม่เพิ่มขึ้นเช่นกัน (สนธิชัย, 2534) และในส่วนของปริมาณรากที่เกิดขึ้น พบว่า มีปริมาณรากลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของ mannitol เพิ่มสูงขึ้น (กราฟที่ 1 และกราฟที่ 3) สอดคล้องกับการเก็บรักษายอดจำปีสิรินธรในอาหารทดลองสูตร 3/4MS ที่เติม mannitol ร่วมกับ sucrose พบว่าเปอร์เซ็นต์และคะแนนความแข็งแรงลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของ mannitol เพิ่มขึ้น (ศิริกุล, 2548) เนื่องจากการใช้ mannitol ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น ส่งผลให้ค่าแรงดันออสโมติกในสารละลายเพิ่มขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพของการเกิดออสโมซิสลดลง และเมื่อใช้ร่วมกับ sucrose ที่ระดับความเข้มข้นสูงก็จะยิ่งส่งผลให้การแพร่ของน้ำเข้าสู่เซลล์พืชเป็นไปได้ยาก พืชจึงอยู่ในภาวะขาดน้ำ และในภาวะที่พืชขาดน้ำ mannitol ซึ่งพืชสามารถเปลี่ยนได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยเปลี่ยนจาก mannose ที่มีพลังงานต่ำกลายเป็น mannitol ที่มีพลังงานสูงได้นั้น จะสะสมเพิ่มมากขึ้น พืชจึงอยู่ในสภาวะที่มีแรงดันออสโมติกสูงเพิ่มมากขึ้น (Guicherd *et al.,* 1997) ทำให้เซลล์เข้าสู่สภาวะเสื่อมถอย กลายเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล และตายในที่สุด

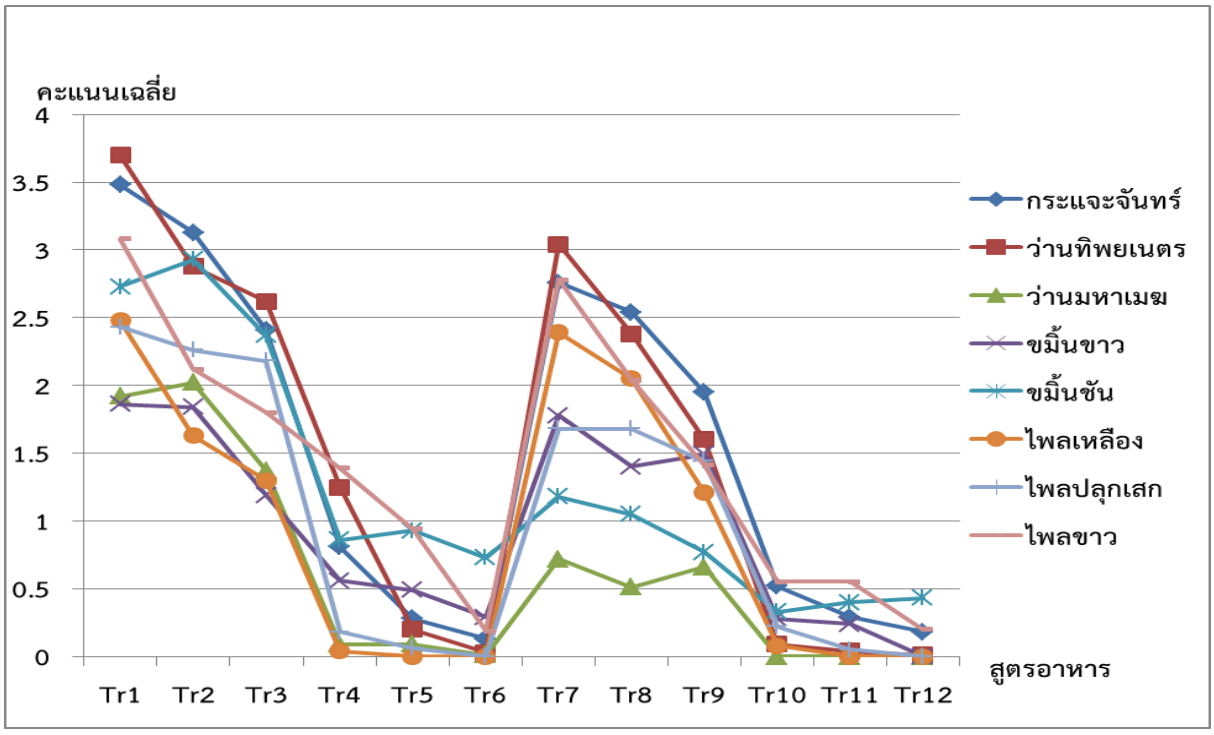
ความแตกต่างของความเข้มข้นธาตุอาหารหลัก ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ full MS และ half MS นั้น แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างได้อย่างชัดเจน เนื่องจาก half MS นั้น มีระดับของธาตุอาหารต่ำกว่า full MS ถึง 1 เท่า ทำให้พืชวงศ์ขิงมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าเห็นได้จากใบที่ยังมีสีเขียวอยู่ และในอาหารสูตรที่ใช้ full MS นั้น สามารถชะลอการเจริญเติบโตในพืชวงศ์ขิงได้ระยะเวลานานกว่าอย่างเห็นได้ชัด (กราฟที่ 1) สอดคล้องกับผลของการเพาะเลี้ยงยอดจำปีสิรินธรภายหลังจากการเก็บรักษาในอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก MS และ 3/4MS สามารถเก็บรักษาได้นานกว่าการเลี้ยงบนอาหาร 1/2MS และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต รวมทั้งคะแนนความแข็งแรงอยู่ในเกณฑ์ดีกว่า (ศิริกุล, 2548)



กราฟที่ 1 ระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของพืชวงศ์ขิงบนสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร



กราฟที่ 2 จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นของพืชวงศ์ขิงบนสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร



กราฟที่ 3 คะแนนเฉลี่ยปริมาณรากที่เกิดขึ้นของพืชวงศ์ขิงบนสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1.) พืชวงศ์ขิงทั้งสามสกุล ได้แก่ สกุล *Curcuma* (ว่านมหาเมฆ ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว) สกุล *Kaempferia* (กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร) และสกุล *Zingiber* (ไพลเหลือง ไพลปลุกเสก และไพลขาว) สามารถคงมีชีวิตอยู่ในอาหารทดลองได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารใหม่ในระยะเวลาที่ไม่เท่ากัน คือ พืชวงศ์ขิงในสกุล *Kaempferia* สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตได้นานที่สุด 9-10 เดือน รองลงมาเป็นพืชวงศ์ขิงในสกุล *Zingiber* สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 7-9 เดือน ใกล้เคียงกับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Curcuma* ที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 6-8 เดือน

2.) สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตพืชวงศ์ขิงทั้งสามสกุล คืออาหารที่ใช้สูตรธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% (30 ก./ล.) โดยสูตรอาหารที่ใช้ธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% ไม่เติม mannitol สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีใน ว่านทิพยเนตร ไพลเหลือง ไพลปลุกเสก และไพลขาว สูตรอาหารที่ใช้ธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% ที่ระดับความเข้มข้น mannitol เท่ากับ 1% สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีใน กระแจะจันทร์ ว่านมหาเมฆ ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว

3.) พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด สามารถฟื้นตัวและเจริญเติบโตได้ดีภายหลังจากเปลี่ยนอาหารเป็นอาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยสามารถเกิดยอดและรากใหม่ได้ดีบนอาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล. หรือ Kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. หรือไม่เติม NAA ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม อาหารสูตรที่ เติม TDZ 1 มก./ล. และอาหารสูตรที่เติม TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดรากได้น้อยกว่าอาหารสูตรอื่น และมีแนวโน้มที่จะชักนำให้เกิดแคลลัสได้

4.) พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วนำไปปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า ทุกชนิดสามารถรอดชีวิต และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

ชื่อการทดลองที่ 16 : การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร) โดยใช้เทคนิค Cryopreservation

: Germplasm conservation of Zingiberaceae (*Curcuma zedoaria* Rosc., *Kaemferia* sp.) by cryopreservation technique.

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางรัชนก ทองเวียง[1]

ผู้ร่วมงาน : นางสาวศิริลักษณ์ อินทะวงศ์[2]
นางสาวสุกัลยา ศิริฟองนุกูล[1]
นายวรกิจ ห้องแซง[1]

บทคัดย่อ

ศึกษาวิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร) โดยใช้เทคนิค Cryopreservation โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ในระยะยาวโดยใช้เทคนิค Cryopreservation การทดลองนี้แบ่งเป็น 3 การทดลอง ประกอบด้วย การทดลองที่ 1 การใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือ พืชวงศ์ขิง 2 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร ปัจจัย B คือ ความเข้มข้นในการทำ osmotic dehydration มี 4 ระดับ ได้แก่ sucrose 0, 0.2, 0.4, และ 0.8 M รวม 8 กรรมวิธี การทดลองที่ 2 การศึกษาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตรเมื่อแช่ในสารละลาย PVS2 /PVS3 โดยใช้เทคนิค วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ขมิ้นอ้อย + PVS2 2) ขมิ้นอ้อย + PVS3 3) ว่านทิพยเนตร+ PVS2 และ 4) ว่านทิพยเนตร+ PVS3 และการทดลองที่ 3 การใช้เทคนิค Encapsulation/vitrification ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร ผลการทดลอง พบว่า การเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรเพื่อการอนุรักษ์ โดยใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration, Vitrification และ Encapsulation/vitrification ทั้ง 3 วิธีนี้ เมื่อนำปลายยอดของพืชทั้งสองชนิด คือ ขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว (-

196 องศาเซลเซียส) มาปลูกเพื่อประเมินความมีชีวิต พบว่า ปลายยอดดังกล่าวไม่สามารถมีชีวิตและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ปลายยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและกลายเป็นสีดำตายไป แต่ในการเก็บรักษาโดยวิธี Encapsulation/vitrification ปลายยอดของขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรยังมีชีวิตอยู่แต่ไม่พัฒนาไปเป็นต้นอ่อนหรือแคลลัส ซึ่งให้ผลแตกต่างกันกับการเก็บรักษาปลายยอดโดยใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration ที่พบว่า ปลายยอด (bead) ที่นำมาเลี้ยงนั้นมีชีวิตอยู่ประมาณ 1 สัปดาห์ โดยมีลักษณะสีเขียวอ่อน หลังจากนั้น 1 เดือน พบว่าปลายยอด (bead) ตายมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลคล้ำ (browing) ไม่สามารถเจริญเติบโตและมีชีวิตรอดอยู่ได้

---

[1]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่

บทนำ (Introduction)

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชล้มลุก ลำต้นอ่อนนุ่ม และจะตายไปเมื่อหมดฤดูเจริญเติบโต มีลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า (rhizome) หรือแบบหัว (tuber) (อรนุช, 2550) จากลักษณะนี้เองทำให้พืชวงศ์นี้เมื่อได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจึงทยอยตายและสูญพันธุ์ไป ประกอบกับพืชในวงศ์นี้หลายชนิดได้นำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เครื่องเทศ อาหารเสริมสุขภาพ สมุนไพรในการรักษาโรค รวมทั้งเชื่อกันว่ามีคุณทางเสน่ห์เมตตามหานิยม อยู่ยงคงกระพัน คุ้มภัยต่างๆ เป็นต้น จึงมีการบุกรุกและลักลอบจำหน่าย งานวิจัยที่ผ่านมาทางสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จึงได้ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมไว้ในแปลงอนุรักษ์พันธุกรรมพืช (In situ) ที่ศูนย์บริการวิชาการและปัจจัยการผลิต จ.ตาก (ดอยมูเซอร์) ปัญหาที่พบคือ บางชนิดเป็นพืชประจำถิ่นเมื่อนำปลูกไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์ เมื่อประสบกับภูมิอากาศไม่เหมาะสมจะถูกทำลายโดยธรรมชาติ เหง้า หรือหัวจะฝ่อ ยุบลงไปในดิน บางชนิดถูกโรคและแมลงเข้าทำลายเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ปัจจุบันจึงได้มีแนวคิดในการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ (*In vitro*) และสภาพเยือกแข็งขึ้น (cryopreservation) โดยเฉพาะการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพเยือกแข็ง เป็นเทคนิคหนึ่งที่นำมาใช้เก็บรักษาพันธุกรรมพืชในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส เนื่องจากใช้พื้นที่ แรงงานและการดูแลรักษาน้อยกว่าการเก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิหรือห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชในระยะยาว (long term) สะดวกในการแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์พืชระหว่างประเทศ เพราะมีขนาดเล็กและปลอดโรค ในประเทศไทยงานวิจัยที่ผ่านมามีการศึกษาเทคนิค cryopreservation ในการเก็บเมล็ดและโปรโตคอมของกล้วยไม้ เอื้องคำ เอื้องเงิน ม้าบิน เขาแกะ และช้างกระ (ศุภกิจ, 2540; วราภรณ์, 2543; Thammasiri, 2000; Thammasiri, 2002) ชิ้นส่วนของปลายยอด (shoot tip) ของพืชที่ใกล้สูญพันธุ์และหายาก เช่น ขนุน (Thammasiri, 1999)

เป็นต้น การเก็บเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็งส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่สามารถลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงได้ (orthodox seed) เช่น เมล็ดพืชไร่ พืชผัก เป็นต้น แต่ยังไม่แพร่หลายมากนัก มักเก็บรักษาในระยะสั้น (1-2 ปี) ระยะปานกลาง (5-10 ปี) ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เนื่องจากยังต้องนำเมล็ดออกมาใช้ในการขยายพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์และใช้ในงานวิจัยด้านอื่นๆ ทางกลุ่มธนาคารเชื้อพันธุ์พืช (Gene Bank) จึงเห็นความสำคัญในการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงเพื่อการอนุรักษ์ในระยะยาว (long term) ในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งจำเป็นต้องหาเทคนิคและวิธีการเก็บรักษาให้เหมาะสม โดยงานทดลองนี้ได้ทำการศึกษาในพืชวงศ์ขิง 2 ชนิด คือ ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria* Rosc.) และว่านทิพยเนตร (*Kaemferia* sp.) เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปปรับใช้ในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงชนิดอื่นๆ เพื่อสร้างแหล่งพันธุกรรมพืช แลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์ และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนในอนาคตของพืชวงศ์นี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ในระยะยาวโดยใช้เทคนิค Cryopreservation

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

การเตรียมชิ้นส่วนพืช

โดยนำเหง้าขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร มาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งในตะกร้า โดยไม่ต้องนำลงปลูกในดิน ทิ้งไว้จนกระทั่งแตกหน่อยาวประมาณ 5 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA (6-benzyladenine) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาล (sucrose) 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น (agar) 6.25 กรัม และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร

ในการทดลองนี้แบ่งเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร

วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือ พืชวงศ์ขิง 2 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร ปัจจัย B คือ ความเข้มข้นในการทำ osmotic dehydration มี 4 ระดับ ได้แก่ sucrose 0, 0.2, 0.4, และ 0.8 M รวม 8 กรรมวิธี

เทคนิค Encapsulation/Dehydration

ตามวิธีการของ Gupta and Husnara (2009) นำต้นอ่อนของขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร โดยตัดส่วนปลายยอด (shoot tips) มาปรับสภาพ (preculture) ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม sucrose 0.08 M (pH 5 – 8) ที่ 25°C (ที่มีแสง 16 ชั่วโมง ที่มืด 8 ชั่วโมง) เป็นเวลา 3 - 6 วัน นำปลายยอดใส่ใน alginate 3 % ใช้ปิเปตดูดส่วนของปลายยอดหยดลงในอาหารเหลว MS ที่เติม $CaCl_2$ 100 mM ร่วมกับ sucrose 0.4 M (pH 5.7) ประมาณ 20

นาที จะได้ alginate bead นำ alginate bead ที่ได้มาทำ osmotic dehydration ตามกรรมวิธีต่างๆ (sucrose 0, 0.2, 0.4, และ 0.8 M, pH 5.7) และนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำ alginate bead มาวางบนกระดาษกรองเพื่อลดความชื้น (air desiccation) ในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำ alginate bead บรรจุในหลอดพลาสติค (cryotube) แช่ในถังไนโตรเจนเหลว (Liquid Nitrogen; LN) เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง นำ bead ออกมาละลายในน้ำอุ่น 38°C (Thawing) และทำ Rehydration โดยนำ bead แช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม sucrose 0.08 M หลังจากนั้นนำ bead ที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Regrowth) ที่เติม sucrose 0.08 M และ BA (6-benzyladenine) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่บรรจุใน 24 Well Cell culture บันทึกเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของปลายยอด

การทดลองที่ 2 การศึกษาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตรเมื่อแช่ในสารละลาย PVS2 /PVS3 โดยใช้เทคนิค vitrification

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ได้แก่

1) ขมิ้นอ้อย + PVS2

2) ขมิ้นอ้อย + PVS3

3) ว่านทิพยเนตร+ PVS2

4) ว่านทิพยเนตร+ PVS3

เทคนิค vitrification

นำปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตรมาทำ preculture หลังจากนั้นนำ shoot tips มาทำ LS (loading solution) (Glycerol 2 M และ sucrose 0.4 M) ประมาณ 20 นาทีที่อุณหภูมิห้องย้าย shoot tips ไปไว้ใน PVS2 (1 ml.) (30 % glycerol + 15 % ethylene glycol + 15 % DMSO; Sakai et al.,1990) และ PVS3 (1 ml.) (50 % sucrose และ 50 % glycerol; Nishizawa et al., 1993) ที่บรรจุอยู่ใน cryotube ประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดใช้หลอดดูด PVS2 ใน cryotube ออก แล้วใส่ PVS2 เข้าไปใหม่ นำ cryotube ที่บรรจุ shoot tips ไปเก็บในถังไนโตรเจนเหลว (Liquid Nitrogen; LN) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และใน PVS3 ทำขั้นตอนเดียวกันกับ PVS2นำตัวอย่างออกมาละลายในน้ำอุ่น 38 °C (Thawing) 1-2 นาที ดูดสารละลาย PVS2 และ PVS3 ใน cryotube ออก นำชิ้นส่วนของ shoot tips ที่ได้ไปใส่ใน sucrose 1.2 M 10 - 20 นาที ซึ่งเรียกขั้นตอนนี้ว่า RS (Recovery solution) นำ shoot tips ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS (Regrowth) ที่เติม sucrose 0.08 M และ BA (6-benzyladenine) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อประเมินความมีชีวิตต่อไป

การทดลองที่ 3 การใช้เทคนิค Encapsulation/vitrification ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร

วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือ พืชวงศ์ขิง 2 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร ปัจจัย B คือ ระยะเวลาในการแช่สารละลาย PVS3 มี 4 ระดับ ได้แก่ 0,

1, 2, และ 4 ชั่วโมง รวม 8 กรรมวิธี โดยศึกษาที่อุณหภูมิ 2 ระดับ ได้แก่ ที่ 25°C (control) และในถังไนโตรเจนเหลว (Liquid Nitrogen; LN)

เทคนิค Encapsulation/ vitrification

นำปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตรมาทำ preculture หลังจากนั้นทำ Encapsulation โดยนำปลายยอดใส่ใน alginate 3 % ใช้ปิเปตดูดส่วนของปลายยอดหยดลงในอาหารเหลว MS ที่เติม $CaCl_2$ 100 mM ร่วมกับ sucrose 0.4 M (pH 5.7) ประมาณ 20 นาที จะได้ alginate bead นำ alginate bead ที่ได้มาทำ osmotic dehydration ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม sucrose 0.75 M และนำไปเขย่าเบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 ชั่วโมง นำปลายยอดที่ได้แช่ในสารละลาย PVS3 (1 ml.) (50 % sucrose และ 50 % glycerol; Nishizawa et al., 1993) ที่บรรจุอยู่ใน cryotube ที่ระยะเวลาต่างๆ (0, 1, 2, และ 4 ชั่วโมง) เมื่อครบกำหนดใช้หลอดดูด PVS3 ใน cryotube ออก แล้วใส่ PVS3 เข้าไปใหม่ นำ cryotube ที่มี shoot tips ไปเก็บที่ 25°C (control) และ ในถังไนโตรเจนเหลว (Liquid Nitrogen; LN) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างออกมาละลายในน้ำอุ่น 38°C (Thawing) 1-2 นาที ดูดสารละลาย PVS3 ใน cryotube ออก นำชิ้นส่วนของ shoot tips ไปใส่ใน sucrose 1.2 M 10 - 20 นาที ซึ่งเรียกขั้นตอนนี้ว่า RS (Recovery solution) นำ shoot tips ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS (Regrowth) ที่เติม sucrose 0.08 M และ BA (6-benzyladenine) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อประเมินความมีชีวิตต่อไป

ระยะเวลาทำการวิจัย

ตุลาคม 2556 ถึง กันยายน 2557

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

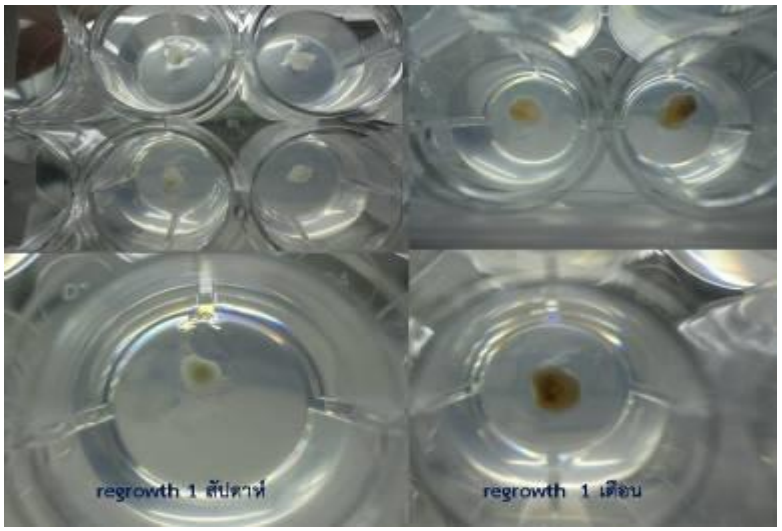
ผลการวิจัย (Results)

หลังจากนำต้นพันธุ์ขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรที่อนุรักษ์ไว้ในโรงเรือน มาขยายต้นอ่อนในสภาพกระถางเพื่อเพิ่มจำนวนต้นหน่อพันธุ์ (ภาพผนวกที่ 1) และสภาพปลอดเชื้อในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA (6-benzyladenine) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาล (sucrose) 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น (agar) 6.25 กรัม และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร เพื่อเพิ่มจำนวนหน่อและปลายยอด (ภาพผนวกที่ 2) สำหรับใช้ในการทดลอง พบว่า

การทดลองที่ 1 การใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร

จากการทดลองนำปลายยอดขมิ้นอ้อยและ**ว่าน**ทิพยเนตรเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลวโดยวิธี Encapsulation/Dehydration (ภาพภาคผนวกที่ 3) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เมื่อนำ ปลายยอด (bead) มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่บรรจุใน 24 Well Cell culture ปลายยอด (bead) ที่นำมาเลี้ยงนั้น

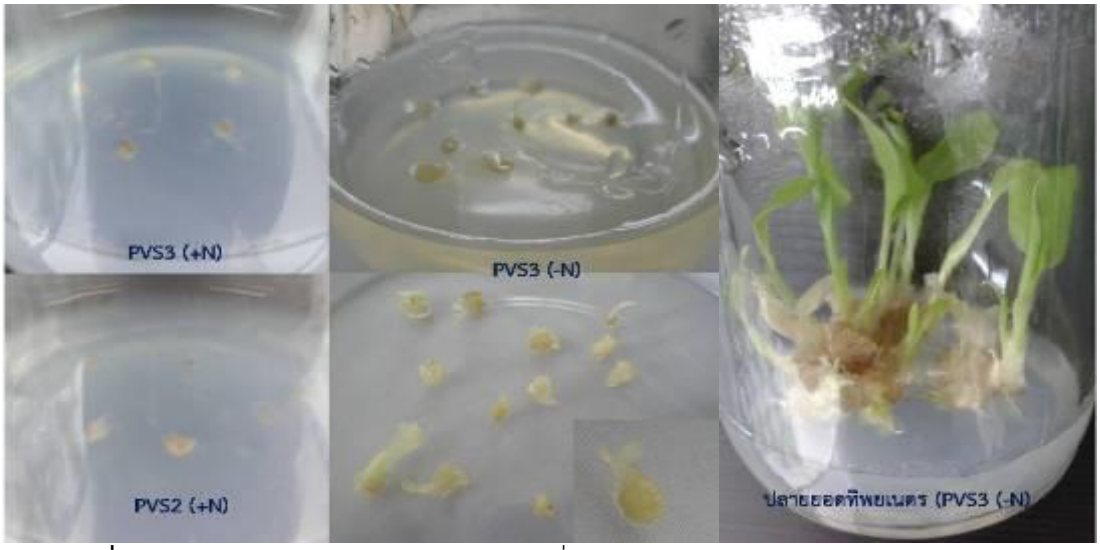
มีชีวิตอยู่ประมาณ 1 สัปดาห์ โดยมีลักษณะสีเขียวอ่อน หลังจากนั้น 1 เดือน พบว่าปลายยอด (bead) ตายมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลคล้ำ (browing) ไม่สามารถเจริญเติบโตและมีชีวิตรอดอยู่ได้ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะของปลายยอด (bead) ขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ใน 24 Well Cell culture เพื่อประเมินความมีชีวิต (regrowth) โดยวิธี Encapsulation/Dehydration

การทดลองที่ 2 การศึกษาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตรเมื่อแช่ในสารละลาย PVS2 /PVS3 โดยใช้เทคนิค vitrification

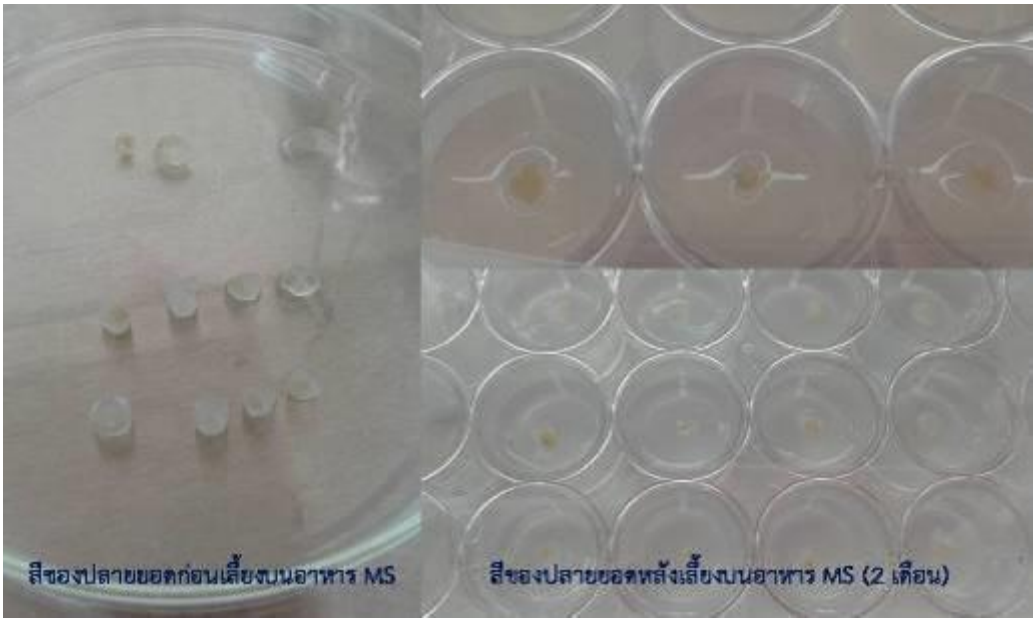
จากการนำปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรแช่ในสารละลาย PVS2 และ PVS3 โดยใช้เทคนิค vitrification (ภาพภาคผนวกที่ 4) แล้วบรรจุลงถังไนโตรเจนเหลว (+ N) มาทำการ recover solution ในสารละลาย sucrose 1.2 M หลังจากนั้น นำมา regrowth เพื่อประเมินความมีชีวิต พบว่า ปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร ที่แช่ในสารละลาย PVS2 และ PVS3 แล้วให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกัน คือ ปลายยอดไม่สามารถเจริญเติบโตไปเป็นต้นอ่อนและมีชีวิตรอดได้ แตกต่างจากการนำปลายยอดของขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรที่แช่ในสารละลาย PVS2 และ PVS3 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS โดยไม่ต้องเก็บปลายยอดในถังไนโตรเจนเหลว (-N) ซึ่งพบว่า ปลายยอดสามารถมีชีวิตมีสีเขียวอ่อน บางปลายยอดสีค่อนข้างซีดขาว มีการสร้างแคลลัสและรากอ่อนการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า มีขนาดประมาณ 0.5 -1 เซนติเมตร (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ลักษณะของปลายยอดว่านทิพยเนตรที่แช่สารละลาย PVS2 และ PVS3 หลังนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ในสภาพ (+N) และ (-N) เพื่อประเมินความมีชีวิต (regrowth) โดยใช้เทคนิค vitrification

การทดลองที่ 3 การใช้เทคนิค Encapsulation/vitrification ต่อเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของปลายยอดขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร

จากการทดลองการเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อยและทิพยเนตร โดยใช้เทคนิค Encapsulation/vitrification (ภาพภาคผนวกที่ 5) ผลการทดลอง พบว่า หลังจากนำปลายยอดเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลวเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง และนำมาเลี้ยง (regrowth) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม sucrose 0.08 M และ BA (6-benzyladenine) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ใน 24 Well Cell culture พบว่า ปลายยอดของขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรมีสีเขียวหลังจากนำมา regrowth ประมาณ 2 เดือนพบว่าปลายยอดของขมิ้นอ้อยและ**ว่าน**ทิพยเนตรยังมีชีวิตอยู่แต่ไม่พัฒนาไปเป็นต้นอ่อนหรือแคลลัส ซึ่งให้ผลแตกต่างกันกับการเก็บรักษาปลายยอดโดยใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration ที่พบว่า เมื่อนำปลายยอดมา regrowth ได้ 1 เดือน ปลายยอดของพืชทั้งสองชนิดมีสีน้ำตาลและตายไป



ภาพที่ 3 ลักษณะของปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรใช้เทคนิค Encapsulation/vitrification

การเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรเพื่อการอนุรักษ์ โดยใช้เทคนิค Encapsulation/ Dehydration, Vitrification และ Encapsulation/vitrification ทั้ง 3 วิธีนี้ เมื่อนำปลายยอดของพืชทั้งสองชนิด คือ ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) มาปลูกเพื่อประเมินความมีชีวิต พบว่า ปลายยอดดังกล่าวไม่สามารถมีชีวิตและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ปลายยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและกลายเป็นสีดำตายไป อาจเป็นผลเนื่องจากการใช้ปลายยอดของพืชทั้งสองชนิดนี้มาศึกษายังไม่เหมาะสม ต้องใช้ความชำนาญและประสบการณ์ในการตัดปลายยอดให้มีขนาดเล็ก 1-3 มิลลิเมตร เพราะถ้าชิ้นส่วนพืชที่มีน้ำภายในเซลล์มากจะไม่สามารถมีชีวิตที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (freezing) โดยความเสียหายจากอุณหภูมิเยือกแข็งจะเกิดจากศักย์ของน้ำในช่องว่างระหว่างเซลล์มีค่าสูงกว่าในไซโตพลาสซึม หรือแวคิวโอ ดังนั้น น้ำภายนอกเซลล์หรือในช่องว่างระหว่างเซลล์จะกลายเป็นผลึกน้ำแข็งทันที ซึ่งการก่อตัวของผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์จำทำให้พืชตายเป็นส่วนใหญ่ (Steponkus et al., 1992, Mikula et al., 2005) จากการทดลองของ ปาริฉัตร และคณะ (2553) ที่ทำการทดลองเก็บเนื้อเยื่อปลายยอดกล้วยหอมทองโดยวิธี Vitrification, Encapsulation/vitrification, Vitrification ดัดแปลงจากวิธีการของ INIBAP และ Droplet ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันว่า ปลายยอดกล้วยหอมทองไม่สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ เนื้อเยื่อหลังเก็บในไนโตรเจนเหลวมีสีขาวซีด และเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร MS สูตรดัดแปลง เนื้อเยื่อปลายยอดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและกลายเป็นสีดำในที่สุดเช่นกัน สอดคล้องกับงานทดลองของ รัชนก และคณะ (2553) ที่พบว่า เมื่อนำ bead ของปลายยอดชุมเห็ดเทศที่เก็บรักษาโดยใช้เทคนิค Encapsulation/Dehydration มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่บรรจุใน 24 Well Cell culture มีชีวิตอยู่ประมาณ 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นปลายยอดใน bead ตายมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลคล้ำ ไม่สามารถเจริญเติบโตและมีชีวิตรอดอยู่ได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากระยะเวลาในการ dehydration ยังไม่เหมาะสม bead ยังคงมีความชื้นอยู่ในระดับสูงอยู่ จึงเกิดการเสียหายของเซลล์เมื่อนำไปแช่ในถังไนโตรเจนเหลว (Dumet and

Benson, 2000) จึงจำเป็นต้องหาเทคนิคที่เหมาะสมต่อไป อย่างไรก็ตามการอนุรักษ์โดยวิธี cryopreservation นี้จะประสบความสำเร็จได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆอย่าง เช่น การปรับสภาพเพื่อให้ทนต่ออุณหภูมิต่ำ (precultre), ปรับสภาพเพื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิปกติ (unloading) เป็นต้น โดย Lambardi et al. (2005) ได้รายงานว่า เมล็ดจากไม้ยืนต้นบางชนิดเป็นเมล็ด non – orthodox ไม่สามารถเก็บไว้ในธนาคารได้ สามารถเก็บชิ้นส่วนพืช เช่น เนื้อเยื่อ เซลล์ ละอองเกสร ในสภาพเยือกแข็ง โดยใช้เทคนิค vitrification เพื่อเป็นการป้องกันและหลีกเลี่ยงการเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ในระหว่างการเก็บที่ในไนโตรเจนเหลว -196°C ซึ่งก่อนการเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชต้องทำให้น้ำออกจากเซลล์ โดยการนำเซลล์หรือชิ้นส่วนพืชแช่ในสารละลาย PVS2 หรือทำให้แห้งโดยลดความชื้นของ bead ในซิลิกาเจลโดยวิธี Encapsulation/Dehydration เป็นต้น โดย (Rall, 1987) อ้างโดย ปาริฉัตร และคณะ (2553) ได้อธิบายว่า ขั้นตอนการทำ dehydration หรือการดึงน้ำออกจากเซลล์ ถ้าใช้ชนิดของสาร cryoprotectant และความเข้มข้นที่เหมาะสมจะเป็นตัวช่วยป้องกันอันตรายจากการตกผลึกของน้ำแข็งได้ ป้องกันความเสียหายที่เกิดกับ cell membrane และต้องคำนึงถึงความสามารถในการซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อของสาร การป้องกันบาดแผลที่เกิดจากแรงดันออสโมติคที่มากเกินไป ตลอดจนความเป็นพิษของสารเคมี ดังนั้น ในงานอนุรักษ์พันธุกรรมพืชภายใต้สภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) จำเป็นต้องมีการศึกษาขั้นตอนและปัจจัยต่างๆอย่างละเอียด เพราะพืชแต่ละชนิดมีพันธุกรรมการปรับตัวแตกต่างกัน

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรโดยใช้เทคนิค Cryopreservation ทั้งสามวิธีนั้นไม่สามารถเก็บรักษาปลายยอดพืชทั้งสองชนิดได้ ควรมีการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของปลายยอดเพิ่มเติม เช่น ระยะเวลาในการทำ preculture, dehydration การใช้สาร cryoprotectant เป็นต้น รวมทั้งศึกษาชิ้นส่วนต่างๆของพืช แคลลัส เซลล์แขวนลอย ของขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรโดยวิธี Cryopreservation เพิ่มเติมเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชชนิดนี้ ต่อไป

ชื่อการทดลองที่ 17: การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] เพื่อการอนุรักษ์

: Study on germplasm conservation of White Kwao Krua [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] .

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาว สุพินญา บุญมานพ

ผู้ร่วมงาน : นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด
นางสาวภัทรียา สุทธิเชื้อนาค
นางสาวอัสนี ส่งเสริม
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ (Key words)

กวาวเครือขาว, ออกซิน (Auxin), ไซโตไคนิน (Cytokinin), Paclobutrazol, Mannitol

บทคัดย่อ

ศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์**กวาวเครือขาว**ที่เหมาะสมในสภาพปลอดเชื้อ โดยการให้มีการเจริญเติบโตอย่างช้าๆ (slow growth) และการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) ทำการศึกษาวิธีการเก็บรักษาโดยให้เจริญเติบโตแบบช้าๆ โดยลดความเข้มข้นของสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง 1/4MS, 1/2MS และ MS ร่วมกับสารชะลอการเจริญเติบโต manitol 0, 10 และ 20 กรัม/ลิตร จัดสิ่งทดลองด้วยวิธีแฟคทอเรียล 3x3 ในแผนการทดลองแบบสุ่มโดยตลอด จำนวน 15 ซ้ำ พบว่าอาหารสูตร MS+ IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS+ IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l สามารถเจริญเติบโตได้นาน 3-4 เดือน และสามารถนำออกปลูกได้ในสภาพโรงเรือน การศึกษาวิธีการเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพเยือกแข็งด้วยวิธี encapsulation – vitrification พบว่าปลายยอดยังไม่สามารถรอดชีวิตได้

บทนำ (Introduction)

กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] (ชวลิต, 2538) มีลักษณะใกล้เคียงกับ *Pueraria candollei* Grah. หรือที่เรียกว่า เครือเขาปู้ หรือตาลานเครือ ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilionoideae ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ.2518 ได้กำหนดให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสงวน พืชชนิดนี้มีชื่อท้องถิ่นแตกต่างกันเช่น กาวเครือ จานเครือ กวาวเครือขาว ทองเครือ ตานจอมทอง กวาวหัว ตาลานเครือ จอมทอง เป็นต้น (วุฒิ, 2540)

สารสำคัญที่พบในหัวกวาวเครือขาวได้แก่ สารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิกลุ่มใหญ่ที่พบในพืชทั่วไป มีหน้าที่สำคัญหลายอย่าง เช่น เป็นรงควัตถุ เป็น signaling molecule เป็นสารป้องกัน หรือ

ต่อต้านความเครียดจากสิ่งมีชีวิต และไม่มีชีวิต และเป็นสารดึงดูดแมลงเพื่อช่วยผสมเกสรของพืช (Wade et al., 2003)

สารสำคัญในหัวกวาวเครือขาวแบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่ม (รุจน์, 2547; Ingham et al., 1994) คือ

กลุ่ม 1 Isoflavones ได้แก่ daidzein, genistein, kawakhurin และ kawakhurin hydrate ทำหน้าที่คล้าย hormone estrogen ซึ่งสารธรรมชาติที่ได้จากพืชเรียกว่า phytoestrogens มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เอสโทรเจนิกช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ผิวชั้นบนสุดของหนังกำพร้า และเพิ่มความหนาแน่นของเส้นใยคอลลาเจน (collagen fibers) ช่วยลดอาการในสตรีวัยทอง ช่วยให้กระดูกแข็งแรง ป้องกันโรคกระดูกพรุน เป็นต้น (รุจน์, 2547)

กลุ่ม 2 Isoflavone glycosides ได้แก่ daidzin, genistin, puerarin, mirificin และ puerarin-6-monoacetate เป็นอนุพันธุ์ของ isoflavone ที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีหน้าที่ป้องกันโรคกระดูกพรุน กระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ป้องกันโรคหลอดเลือดแข็งตัว ใช้รักษาอาการติดสุราเรื้อรัง รักษาโรคเบาหวาน เป็นต้น (รุจน์, 2547)

กลุ่ม 3 Coumestans ได้แก่ coumestrol, mirificoumestan, mirificoumesta glycol และ mirificoumestan-hydrate เป็นสารธรรมชาติในกลุ่ม phytoestrogen หน้าที่ป้องกันโรคมะเร็ง เป็นต้น (รุจน์, 2547, Stadbauer and Kappe, 1993)

กลุ่ม 4 Chromene ได้แก่ miroestrol และ deoxymiroestrol ซึ่ง miroestrol เป็นสารที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน พบเป็นปริมาณ 0.002-0.003% ของน้ำหนักหัวแห้ง miroestrol เป็นสารออกฤทธิ์ชนิดแรกที่สกัดได้จากรากสะสมอาหารกวาวเครือขาว และออกฤทธิ์แรงที่สุด ทำหน้าที่ป้องกันโรคมะเร็ง ทำให้ช่องคลอดของสัตว์เพศเมียวัยก่อนเจริญพันธุ์มีขนาดขยายใหญ่ เป็นต้น (รุจน์, 2547, Jones and Pope, 1960)

กลุ่ม 5 Steroids ได้แก่ β-sitosterol และ stigmasterol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น เซลล์มะเร็งเต้านมมนุษย์ 2 ชนิด คือ MCF-7 และ MDA-MB-231 เป็นต้น (รุจน์, 2547, Awad et al., 2007)

กลุ่ม 6 สารอื่น ๆ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคสไขมันโปรตีน ใยอาหาร แอลกอฮอร์ แคลเซี่ยม และฟอสฟอรัส

จากปริมาณความต้องการใช้วัตถุดิบจากหัวกวาวเครือขาว ทั้งทางด้านงานวิจัย และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ ส่วนใหญ่ได้จากการเก็บจากธรรมชาติ จึงได้มีประกาศพระราชบัญญัติ ทั้งพ.ร.บ. คุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ของกรมวิชาการเกษตร ให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสงวน และพ.ร.บ. คุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย พ.ศ. 2542 ของสถาบันการแพทย์แผนไทย ให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรควบคุม ซึ่งในสภาพธรรมชาติมีการกระจายพันธุ์ด้วยเมล็ด แต่ประสบปัญหาของการถูกทำลายด้วยศัตรูธรรมชาติ ปัญหาการเกิดไฟป่า การถูกบุกรุกจากการขยายตัวของสังคมเมือง และลักลอบขุดขายของชาวบ้านทำให้ไม่สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้ อีกทั้งสรีรวิทยาของกวาวเครือขาวออกดอกและติดฝัก เมื่ออายุ 8-18 เดือน (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ทั้งนี้กวาวเครือขาวสามารถติดเมล็ดปีละครั้ง จึงทำให้กวาวเครือขาวเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้

ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมของกวาวเครือขาว และเพื่อการขยายพันธุ์รองรับงานวิจัยในการกระตุ้นด้วยสารชักนำเพื่อสร้างสารสำคัญในหัวกวาวเครือขาวเพิ่มขึ้นต่อไป และจะเป็นพื้นฐานความรู้ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจต่อไปในอนาคต

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ (Slow growth)

1.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

1.1.1 นำเมล็ดกวาวเครือขาว มาล้างทำความสะอาดโดยผ่านน้ำไหล และล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาด หรือผงซักฟอก 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดคราบผงซักฟอก วางผึ่งไว้ให้หมาด เริ่มฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 70 % ประมาณ 10 วินาที แล้วนำไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 % ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยดเขย่าเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว นำเนื้อเยื่อไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 0.1 mg/l + BA 2 mg/l นำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดเป็นต้นในอาหารสูตร MS + IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l จากนั้นเพิ่มจำนวนและชักนำให้เกิดรากโดยสารเร่งการเจริญเติบโต และปริมาณน้ำตาล NAA 1 mg/l น้ำตาลร้อยละ 2 ในอาหารสูตร WPM ที่มีอาหารสูตร MS SH และ WPM สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

1.1.2 นำกวาวเครือขาวที่ได้จากข้อ 12.1.1.1 มาทดสอบสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช (slow growth) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (factoria) 3x3 มี 2 ปัจจัยดังนี้

ปัจจัยที่ 1 การลดความเข้มข้นของสูตรอาหาร 4 ระดับประกอบด้วย ¼ MS, ½ MS และ MS

ปัจจัยที่ 2 สารชะลอการเจริญเติบโต paclobutrazol 4 ระดับประกอบด้วย 0, 10 และ 20 mg/l

มีจำนวนทรีทเมนต์ทั้งสิ้น 9 ทรีทเมนต์ ๆ ละ 15 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองทุกเดือน โดยไม่เปลี่ยนอาหารใหม่จนกว่าจะพบว่ายอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งยอดเกินกว่า 50 % ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดในทรีทเมนต์นั้น ๆ โดยข้อมูลที่บันทึกเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

1.1.3 ทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตร regeneration medium โดยการนำยอดที่รอดชีวิตมาฟื้นฟูภายหลังการเก็บรักษาบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 2 mg/l หรือ TDZ 1 mg/l หรือ kinetin 2 mg/l ร่วมกับ NAA 0.5 mg/l บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจำนวนยอดที่เกิดขึ้นต่อชิ้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก

1.2 สถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน)

2 การทดลองที่ 2 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation)

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1.1 นำกวาวเครือขาวการทดลองที่ 1 มาทำการตัดเนื้อเยื่อปลายยอดในสภาพปลอดเชื้อ มาทำการทดลอง โดยใช้สารควบคุมความเหนียวข้น คือ sodium alginate โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 2, 3, 4, 5 และ 6% w/vและดูดสารละลาย sodium alginate โดยมีเนื้อเยื่อปลายยอดติดมาด้วย นำไปหยดลงในสารละลาย calcium chloride ที่มีความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100 mM จะได้เม็ดบีท (bead) ที่มีวุ้นหุ้มเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวไว้

2.1.2 นำเม็ดบีทที่ได้แช่ในสารละลาย PVS2 เป็นเวลา 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 นาที โดยวางในน้ำแข็งตลอดการแช่ หลังจากนั้นแช่ลงในไนโตรเจนเหลว 1 ชั่วโมง นำเม็ดบีทที่ผ่านการแช่ละลายผลึกน้ำแข็งโดยแช่ในน้ำอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 2-3 นาที แล้วจึงแช่ในสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 1.2 M (unloading) เป็นเวลา 20 นาที จึงนำเม็ดบีทเลี้ยงในอาหารสูตร MS ส่วนเม็ดบีทที่ไม่ได้นำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว นำแช่ในสารละลาย unloading และเลี้ยงในอาหารสูตร MS บันทึกอัตราการรอดชีวิต

2.2 สถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

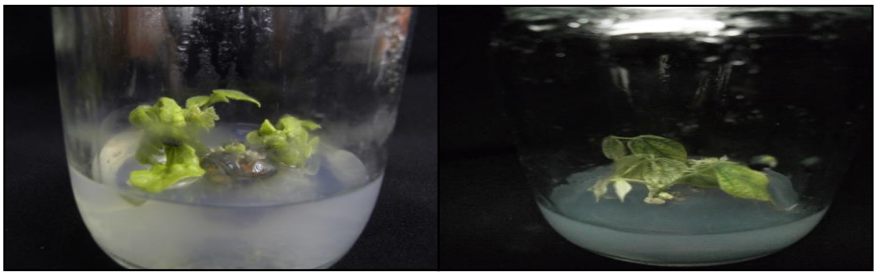
ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ(บางเขน)

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ (Slow growth) พบว่า ขั้นตอนอยู่ระหว่างประมวลผลการศึกษาสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตกวาวเครือขาว (ภาพที่ 1) โดยทำให้เจริญเติบโตอย่างช้า ๆ (slow growth) ข้อมูลเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวในอาหารสูตร MS + IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l สามารถเจริญเติบโตได้นาน 3-4 เดือนจึงจะมีสภาพใบเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวและนำลงปลูกในสภาพโรงเรือนสามารถเจริญเติบโตได้ ดังแสดงในภาพที่ 2

การทดลองที่ 2 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) ด้วยวิธี encapsulation-vitrification พบว่า ปลายยอดใน bead เมื่อนำไปเก็บในไนโตรเจนเหลว มีสีน้ำตาลคล้ำ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้



ภาพที่ 1 ต้นกวาวเครือขา

ภาพที่ 2 ต้นกวาวเครือขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และปลูกในสภาพโรงเรือน

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ (Slow growth) พบว่า ขั้นตอนอยู่ระหว่างประมวลผลการศึกษาสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตกวาวเครือขาว โดยทำให้เจริญเติบโตอย่างช้า ๆ (slow growth) ข้อมูลเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวในอาหารสูตร MS + IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l สามารถเจริญเติบโตได้นาน 3-4 เดือนจึงจะมีสภาพใบเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวและนำลงปลูกในสภาพโรงเรือนสามารถเจริญเติบโตได้

การทดลองที่ 2 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) ด้วยวิธี encapsulation-vitrification พบว่า ปลายยอดใน bead เมื่อนำไปเก็บในไนโตรเจนเหลว มีสีน้ำตาลคล้ำ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

ชื่อการทดลองที่ 18 : การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์เท้ายายม่อม(*Tacca leontopetaloides* Ktze.) เพื่อการอนุรักษ์

: Study on germplasm conservation of *Tacca leontopetaloides*

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาว สุพินญา บุญมานพ

ผู้ร่วมงาน : นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด

นางสาวภัทรียา สุทธิเชื้อนาค

คำสำคัญ (Key words)

เท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* Ktze.), สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulator), ออกซิน (Auxin), ไซโตไคนิน (Cytokinin), Paclobutrazol, Mannitol

บทคัดย่อ

การเก็บรักษาพันธุ์**เท้ายายม่อม**ในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม 2 วิธี ได้แก่ การเก็บรักษาโดยทำให้เจริญเติบโตอย่างช้าๆ (slow growth) และเทคนิคการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) พบว่าการเก็บรักษาแบบทำให้เจริญเติบโตอย่างช้าๆ โดยการลดความเข้มข้นสูตรอาหาร 1/4MS, 1/2MS และ MS ร่วมกับสารชะลอการเจริญเติบโต manitol 0, 10 และ 20 กรัม/ลิตร ในเนื้อเยื่อส่วนใบสามารถเจริญเติบโตเป็น ต้น ราก และหัวสะสมอาหาร ได้ดีกว่าเนื้อเยื่อโคนใบ และโคนต้น สามารถนำออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้ หลังเพาะเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 6-7 เดือน สำหรับการเก็บรักษาเมล็ดเท้ายายม่อมในสภาพเยือกแข็งโดยนำเมล็ดเท้ายายม่อม อายุ 1, 2 และ 3 ปี แช่ในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 0, 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดเท้ายายม่อมที่แช่ในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 40 – 60 เปอร์เซ็นต์

บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง แต่ปัจจุบันทรัพยากรธรรมชาติถูกทำลายลงอย่างน่าเป็นห่วง ทำให้มีการขาดแคลนพรรณพืชต่าง ๆ สาเหตุหลักเนื่องมาจากพื้นที่แหล่งอาศัยหรือแหล่งกระจายพันธุ์ที่เกิดอยู่ในพื้นที่ป่าตามธรรมชาติถูกบุกรุกทำลายจากมนุษย์ทั้งทางตรงและทางอ้อม การถูกจำกัดการกระจายพันธุ์จากปัจจัยธรรมชาติเอง และจากการถูกคุกคามโดยมนุษย์เก็บไปใช้ประโยชน์โดยขาดความรู้ ขาดจิตสำนึก และขาดการอนุรักษ์ที่เหมาะสม ซึ่งเท้ายายม่อมเป็นพืชอีกชนิดที่สมควรอนุรักษ์

เท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* Ktze.) เป็นพืชล้มลุกลงหัวคล้ายบุก จัดอยู่ในวงศ์ Taccaceae มีชื่ออื่นๆ เช่น บุกรอ ไม้เท้าฤาษี (เสงี่ยม, 2550) Fiji arrowroot, Polynesian arrowroot (Pia) (Krauss, 2000) เป็นต้น พืชพื้นเมืองชนิดนี้พบมากบริเวณแอฟริกาใต้ ตอนเหนือของออสเตรเลีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (มาเลเซีย, อินโดนีเซีย, ฟิลิปปินส์, สิงคโปร์) (Mala, 2003) ในประเทศไทยพบมากบริเวณชายฝั่งทะเลภาคใต้และภาคตะวันออก โดยทั่วไปพืชชนิดนี้ต้องการร่มเงาในการเจริญเติบโต และให้ผลผลิตเป็นพืชทนแห้งแล้ง เจริญเติบโตในช่วงฤดูฝน มีระยะการพักตัวของหัวในฤดูแล้ง เท้ายายม่อมจัดเป็นพืชแป้งชนิดหนึ่งแต่เป็ที่น่าสังเกตุว่า แป้งเท้ายายม่อมมีปริมาณแป้งไม่มาก เมื่อเทียบกับพืชให้แป้งตามธรรมชาติอื่น คุณสมบัติของแป้งเท้ายายม่อมคล้ายคลึงกับแป้งกลอย สาคู สาคูเทศ มันเหน็บ และมันพร้าว (สุภาภรณ์ และคณะ, 2546ก; 2546ข) ซึ่งสามารถใช้แป้งมันสำปะหลัง และแป้งข้าวโพดทดแทนได้ แต่เนื่องจากแป้งเท้ายายม่อมมีคุณสมบัติเด่นแตกต่างจากแป้งชนิดอื่น คือ เม็ดแป้งมีลักษณะมันและลื่นกว่า มีความละเอียดของเม็ดแป้งมากกว่า สีของแป้งขาวกว่า และที่สำคัญมีความหนืด (ความคงตัวของแป้ง) เมื่อโดนความร้อนสามารถคงตัวอยู่ได้นานกว่าแป้งชนิดอื่น แป้งเท้ายายม่อมใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารและทำขนมไทยได้

หลายชนิด เช่น ขนมชั้น ขนมหัวผักกาด ประกอบน้ำราดหน้า ออส่วน ทางการแพทย์ใช้เป็นอาหารบำรุงกำลังสำหรับคนฟื้นไข้โดยละลายแป้งในน้ำกวนจนสุกเดิมด้วยน้ำตาลกรวด สำหรับสารสำคัญที่สกัดจากหัวเท้ายายม่อม คือ สารรสขม มีประมาณ 2.2 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยสารหลายชนิดได้แก่ sitosterol, cerylic alcohol, taccalin, alkaloids, steroidal saponins และสารสกัดจากใบ คือ steroidal saponins มีฤทธิ์ฆ่าหอยได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่สกัดได้จากพืชทั้งหมด 42 ชนิด (สุภาภรณ์, 2543)

ประเทศไทยมีสถิติการปลูก การผลิต และการค้า แต่ผลผลิตที่ใช้ถูกนำมาจากธรรมชาติซึ่งการขยายพันธุ์ของเท้ายายม่อมมีระยะเวลาการเจริญเติบโตจากเมล็ด 3 ปีจึงจะสามารถนำหัวมาใช้ได้ และ1ต้นจะให้หัวเพียง 1 หัวเท่านั้น หากมีการอนุรักษ์เท้ายายม่อมก่อนที่จะสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย ดังนั้นจึงควรหาหนทางที่จะอนุรักษ์ และมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อเก็บรักษาพรรณพืชที่ใกล้จะสูญพันธุ์ แต่อาจมีศักยภาพในเชิงเศรษฐกิจในอนาคต เพื่อเก็บรักษาประชากรพืชที่มีคุณลักษณะพิเศษ และพืชอาหาร เพื่อการวิจัยต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อ

1.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

1.1.1 นำเมล็ดเท้ายายม่อมทดสอบหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ เพิ่มปริมาณแคลลัส และชักนำแคลลัสเท้ายายม่อมให้เกิดต้น นำชิ้นส่วนพืชมาทดสอบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (NAA, 2,4-D) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3 และ4 mg/l ร่วมกับกลุ่มไซโตไคนิน (BA, TDZ) 0, 05, 1, 1.5, 2, 2.5 และ3 mg/l เพื่อชักนำการเกิดยอด ชักนำพืชให้เกิดรากบนอาหารสูตร ½ MS หรือ MS ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 mg/l

1.1.2 นำเท้ายายม่อมที่ได้จากข้อ 13.1.1.1 มาทดสอบสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช (slow growth) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (factoria) 3x3 มี 2 ปัจจัยดังนี้

ปัจจัยที่ 1 การลดความเข้มข้นของสูตรอาหาร 4 ระดับ ประกอบด้วย ¼ MS, ½ MS และ MS

ปัจจัยที่ 2 สารชะลอการเจริญเติบโต paclobutrazol 4 ระดับประกอบด้วย 0, 10 และ 20 mg/l

มีจำนวนทรีทเมนต์ทั้งสิ้น 9 ทรีทเมนต์ ๆ ละ 15 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองทุกเดือน โดยไม่เปลี่ยนอาหารใหม่จนกว่าจะพบว่ายอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งยอดเกินกว่า 50 % ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดในทรีทเมนต์นั้น ๆ โดยข้อมูลที่บันทึกเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

1.1.3 ทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตร regeneration medium

1.2 สถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน)

2 การทดลองที่ 2 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation)

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1.1 นำกวาวเครือขาวการทดลองที่ 1 มาทำการตัดเนื้อเยื่อปลายยอดในสภาพปลอดเชื้อ มาทำการทดลอง โดยใช้สารควบคุมความเหนียวข้น คือ sodium alginate โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 2, 3, 4, 5 และ 6% w/vและดูดสารละลาย sodium alginate โดยมีเนื้อเยื่อปลายยอดติดมาด้วย นำไปหยดลงในสารละลาย calcium chloride ที่มีความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100 mM จะได้เม็ดบีท (bead) ที่มีวุ้นหุ้มเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวไว้

2.1.2 นำเม็ดบีทที่ได้แช่ในสารละลาย PVS2 เป็นเวลา 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 นาที โดยวางในน้ำแข็งตลอดการแช่ หลังจากนั้นแช่ลงในไนโตรเจนเหลว 1 ชั่วโมง นำเม็ดบีทที่ผ่านการแช่ละลายผลึกน้ำแข็งโดยแช่ในน้ำอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 2-3 นาที แล้วจึงแช่ในสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 1.2 M (unloading) เป็นเวลา 20 นาที จึงนำเม็ดบีทเลี้ยงในอาหารสูตร MS ส่วนเม็ดบีทที่ไม่ได้นำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว นำแช่ในสารละลาย unloading และเลี้ยงในอาหารสูตร MS บันทึกอัตราการรอดชีวิต

2.2 สถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน)

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อยู่ระหว่างขั้นตอนการประมวลผลทางสถิติ ข้อมูลเบื้องต้นเท้ายายม่อมในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อส่วนใบสามารถเจริญเติบโตเป็นต้น ราก และหัวสะสมอาหารได้ดีกว่า เนื้อเยื่อส่วนโคนใบ และโคนต้น ต้นเท้ายายม่อมอายุ 6-7 เดือนมีขนาดลำต้นและรากพร้อมสำหรับการนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน ดังแสดงในภาพที่ 1 ต้นเท้ายายม่อมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพโรงเรือน อายุ 6-7 เดือนหลังออกปลูกจากห้องปฏิบัติการ **และการเกิดหัว** (ภาพที่ 2) มีเปอร์เซ็นต์การรอดและสามารถเจริญเติบโตได้ 60 % และเปอร์เซ็นต์การได้หัวจิ๋ว 50 % มีขนาดหัว กว้าง 0.2-3 ซม. น้ำหนัก 1-10 กรัม ทั้งนี้หัวเท้ายายม่อมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถงอกและเจริญเติบโตต่อไป (ภาพที่ 3)

การทดลองที่ 2 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) พบว่า นำเมล็ดเท้ายายม่อมอายุ 1, 2 และ 3 ปีแช่ลงไนโตรเจนเหลว โดยใช้การแช่ไนโตรเจน 0, 1และ 2 ชั่วโมง พบว่า เมล็ดที่ไม่ได้แช่ไนโตรเจนเหลวมีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 90-100% ส่วนเมล็ดที่แช่ไนโตรเจนเหลว 1 และ 2 ชม. มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 40-60

ภาพที่ 1 เท้ายายม่อมในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 6-7 เดือน และนำออกปลูกในโรงเรือน

ภาพที่ 2 เท้ายายม่อม อายุ 6-7 เดือนหลังย้ายออกปลูกจากห้องปฏิบัติการ **และการเกิดหัว**

ภาพที่ 3 การงอกหัวเท้ายายม่อม อายุ 6-7 เดือนหลังย้ายออกปลูกจากห้องปฏิบัติการ

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อยู่ระหว่างขั้นตอนการประมวลผลทางสถิติ ข้อมูลเบื้องต้นเท้ายายม่อมในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อส่วนใบสามมารถเจริญเติบโตเป็นต้น ราก และหัวสะสมอาหารได้ดีกว่า เนื้อเยื่อส่วนโคนใบ และโคนต้น ต้นเท้ายายม่อมอายุ 6-7 เดือนมีขนาดลำต้นและรากพร้อมสำหรับการนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน ต้นเท้ายายม่อมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพโรงเรือน อายุ 6-7 เดือนหลังออกปลูกจากห้องปฏิบัติการ **และการเกิดหัว** มีเปอร์เซ็นต์การรอดและสามารถเจริญเติบโตได้ 60 % และเปอร์เซ็นต์การได้หัวจิ๋ว 50 % มีขนาดหัว กว้าง 0.2-3 ซม. น้ำหนัก 1-10 กรัม ทั้งนี้หัวเท้ายายม่อมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถงอกและเจริญเติบโตต่อไป

การทดลองที่ 2 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) พบว่า นำเมล็ดเท้ายายม่อมอายุ 1, 2 และ 3 ปีแช่ลงไนโตรเจนเหลว โดยใช้การแช่ไนโตรเจน 0, 1และ 2 ชั่วโมง พบว่า เมล็ด

ที่ไม่ได้แช่ไนโตรเจนเหลวมีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 90-100% ส่วนเมล็ดที่แช่ไนโตรเจนเหลว 1 และ 2 ชม. มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 40-60%

ชื่อการทดลองที่ 19: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ
: in vitro Preservation of Grape Germplasm

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด

ผู้ร่วมงาน : นายพิทยา วงษ์ช้าง
นางสาวพัฒน์นรี รักษ์คิด
นางสาวพัชร ปิริยะวินิตร
นางสาวชลลดา สามพันพวง
นางสาวอัสนี ส่งเสริม
นางสาวเสาวณี เดชะคำภู
นางสาวปัณฑารีย์ กาญจนวัฒนาวงศ์
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

การอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ โดยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการศึกษาสูตรอาหารพื้นฐานที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่น จำนวน 27 พันธุ์ ที่รวบรวมได้จากแหล่งปลูกต่างๆ ใน

ประเทศไทย อาหารสูตรพื้นฐานจำนวน 5 สูตร ที่ใช้ได้แก่ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BA (MS+BA) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม Kinetin (MS+K) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร 1/2MS ที่เติม BA และ NAA (1/2MS+BA+NAA) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Woody Plant Medium (WPM) และอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Chee&Pool (C2D) โดยใช้ชิ้นส่วนตาข้างองุ่นชักนำให้เกิดต้นอ่อน เปรียบเทียบความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก บันทึกผลที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร C2D มีแนวโน้มเหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นสูงที่สุดจำนวน 20 พันธุ์ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS+BA และ 1/2MS+BA+NAA เหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นจำนวน 15 พันธุ์ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS+K และ WPM เหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นจำนวน 9 และ 8 พันธุ์ ตามลำดับ ส่วนการนำออกปลูกยังไม่ประสบผลสำเร็จต้องทำการศึกษาต่อไป

ABSTRACT

Grapevine (*Vitis vinifera* L.) conservation by using the tissue culture technique. Study on basal salt medium in 27 cultivars grapevine that collected from different source in Thailand. The 5 different media are Murashige and Skoog (1962) supplemented with BA (MS+BA), MS supplemented with Kinetin (MS+K), half-strength MS supplemented with BA and NAA (1/2MS+BA+NAA), Woody Plant Medium (WPM) and Chee&Pool Medium (C2D). The Axillary buds of grapevine cultivars were used to establish shoot and then compared the result with shoot length, number of node, number of shoot, shoot proliferation and root formation after 4 weeks. For C2D medium trend to show a good result with 20 cultivars, MS+BA and 1/2MS+BA+NAA formula resulted in equivalent are suitable for the grapevine 15 cultivars while MS+K and WPM gave the results for the grapevine 9 and 8 cultivars respectively. However, the acclimatization for transplant especially planting material should be forward study.

บทนำ (Introduction)

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ราชอาณาจักรไทย กับ กระทรวงเกษตรและพัฒนาภูมิภาคสาธารณรัฐฮังการี ภายใต้ข้อตกลงความร่วมมือด้านการเกษตร โดยกรมวิชาการเกษตรมีโครงการวิจัยด้านองุ่น การทำไวน์และเทคโนโลยีชีวภาพ เนื่องจากประเทศฮังการีมีความก้าวหน้าในด้านวิทยาการ มีประสบการณ์ ความเชี่ยวชาญในวิทยาการด้านนี้มากกว่าประเทศไทย แต่ไทยสามารถปลูกองุ่นและเก็บเกี่ยวผลได้ตลอดปี ขณะที่ฮังการีเก็บเกี่ยวได้ปีละหนึ่งครั้งเท่านั้น และเนื่องจากการบริโภคองุ่นทั้งรับประทานสดและอุตสาหกรรมทำไวน์ของไทยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับ สำนักวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพจึงได้เสนอโครงการวิจัยร่วมเรื่อง การปรับปรุงและอนุรักษ์พันธุ์พืชสวน (องุ่น) โดยการใช้วิธีการปกติหรือเทคโนโลยีชีวภาพ (ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ) ซึ่งดำเนินการ

แล้วในปี 2553 ประกอบด้วยกิจกรรมต่างๆ การสำรวจ รวบรวม และประเมินลักษณะพันธุกรรมองุ่นของไทย การอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นปลอดไวรัส การประเมินลักษณะทางพันธุกรรมโดยเทคนิค DNA Fingerprint และการจัดทำฐานข้อมูล การปรับปรุงพันธุ์องุ่นรับประทานสดและผลิตไวน์ด้วยเทคนิค Conventional Breeding and Molecular Marker หลังจากเสร็จสิ้นโครงการดังกล่าว พบว่าพันธุ์องุ่นที่นำเข้ามาปลูกในประเทศไทยมีมากมายหลายสายพันธุ์ และรวบรวมไว้ยังแหล่งปลูกต่างๆ หลายแห่ง ทั้งภาครัฐและเอกชน งานอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชจึงเป็นงานหนึ่งที่จะต้องศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อดูความเป็นไปได้ในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมองุ่นในอีกรูปแบบหนึ่ง

องุ่น (*Vitis vinifera*) เป็นไม้ผลเขตกึ่งร้อน ซึ่งมีการผลิตกันมากในประเทศแถบอบอุ่นของโลก ปลูกกันมากกว่า 5,000 ปี สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตหนาว เขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว และเขตร้อน เป็นผลไม้ที่มีรสชาติดี นอกจากจะมีคุณค่าทางอาหารยังมีสรรพคุณทางยาที่ดีหลายชนิด องุ่นมีสารอาหารที่สำคัญคือน้ำตาลและสารอาหารจำพวกกรดอินทรีย์ เช่น น้ำตาลกลูโคส, น้ำตาลซูโครส, วิตามินซี, เหล็กและแคลเซียม องุ่นยังสามารถนำไปทำเหล้าองุ่นซึ่งเป็นเหล้าบำรุงใช้เป็นยา การรับประทานองุ่นเป็นประจำมีส่วนช่วยในการบำรุงสมอง, บำรุงหัวใจ, แก้กระหาย, ขับปัสสาวะและบำรุงกำลัง หากรับประทานองุ่นเป็นประจำจะสามารถช่วยเสริมทำให้ร่างกายแข็งแรงขึ้นได้ ส่วนเครือและรากมีฤทธิ์ในการขับลม, ขับปัสสาวะ, รักษาโรคไขข้ออักเสบ, ปวดเอ็นและปวดกระดูก อีกทั้งยังมีฤทธิ์ระงับประสาท, แก้ปวดและแก้อาเจียนอีกด้วย ปัจจุบันได้ค้นพบสารที่ลดอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอี ซึ่งได้มาจากสารสกัดเมล็ดองุ่น เมล็ดและเปลือกองุ่นมีสารเฟลโวนอยด์ ชนิดที่เรียกว่า โปรแอนโทไซยานิดิน (Proanthocyananidin) สูง เมื่อรวมตัวกันจะอยู่ในรูปโอลิโกเมริคโปรแอนโธไซยานิดิน (Oligomeric proanthocyanidin : OPC) สารสกัดจากเมล็ดองุ่น OPC มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินซีถึง 50 เท่า และมากกว่าวิตามินซีถึง 20 เท่า ใช้ในการรักษาความผิดปกติของหลอดเลือดและเส้นเลือดฝอย เส้นเลือดขอด เส้นเลือดฝอยเปราะ และใช้รักษาเบาหวานขึ้นตา และจอประสาทตาเสื่อม นอกจากนี้ OPC มีคุณสมบัติช่วยป้องกันและเสริมสร้างความแข็งแรงเนื้อเยื่อ Connective Tissue ซึ่งเป็นโครงสร้างของผิว เพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิวได้เป็นอย่างดี ช่วยชะลอความเสื่อมสภาพของผิวได้เป็นอย่างดี

การผลิตองุ่นในประเทศไทยเริ่มตั้งแต่ปี 1960 โดยมีการนำพันธุ์องุ่นจากสหรัฐอเมริกา และประเทศอื่นๆ มากกว่า 100 พันธุ์เข้ามาปลูกทดสอบ ปัจจุบันประเทศไทยได้ขยายพื้นที่การปลูกในทุกภาคของประเทศไทย แต่พบว่า องุ่นบางพันธุ์สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่เขตภาคกลางที่ จ.นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร และสมุทรสงคราม ซึ่งเป็นพื้นที่ใกล้กับกรุงเทพฯ พันธุ์องุ่นที่สำคัญได้แก่ พันธุ์ไวท์มาละกา (White Malaka) ซึ่งมีผลสีเหลืองอมเขียว นิยมใช้รับประทานสด และพันธุ์คาร์ดินาล (Cardinal) ซึ่งมีผลสีแดงหรือม่วงชมพูสำหรับทำไวน์ ในปี 1998 มีพื้นที่การผลิตองุ่นรับประทานสดประมาณ 2,717 เฮกตาร์ ผลผลิต 31,677 ตัน/ปี ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 15 ตัน/เฮกตาร์ อย่างไรก็ตามเรายังมีการนำเข้าองุ่นจากต่างประเทศมาขายอีกเป็นจำนวนมาก เช่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา ไต้หวัน และประเทศในแถบอเมริกาใต้ ซึ่งประเทศไทยนำเข้าองุ่นสดเป็นมูลค่าถึง 1,242.47 ล้านบาท โดยมีปริมาณ 24,246.66 ตัน ทั้งนี้สาเหตุเนื่องมาจากองุ่น

ที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์ไวน์มาละกาและพันธุ์คาร์ดินาล มีคุณภาพผลด้อยกว่าองุ่นจากต่างประเทศซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้รับการผสมพันธุ์ขึ้นมาใหม่ เช่น องุ่นไม่มีเมล็ด หรือองุ่นมีเมล็ดแต่ผลโต รสชาติหวานกรอบ เป็นต้น

ชนิดขององุ่น แบ่งตามการใช้ประโยชน์ ได้เป็น องุ่นทำเหล้า (wine grape) องุ่นรับประทานสด (table grape) องุ่นตากแห้งหรือลูกเกด (raisin grape) องุ่นใช้คั้นน้ำ องุ่นสำหรับบรรจุกระป๋อง (canning grape) และองุ่นใช้เป็นต้นตอ (rootstock grape) ซึ่งแต่ละชนิดก็จะมีคุณสมบัติต่างๆ กันตามวัตถุประสงค์ที่จะใช้ ส่วนใหญ่มักเน้นในเรื่องของรสชาติ ลักษณะเนื้อและกลิ่นหอม เป็นสำคัญ โดยมีพันธุ์ต่างดังนี้ (นันทกร, 2546)

องุ่นรับประทานผลสดมีเมล็ด

อเมริกันบิวตี้ (American Beauty) เป็นองุ่นมีเมล็ด ทรงผลกลมมีขนาดปานกลาง สีดำ

แบล็คควีน (Black Queen) เป็นองุ่นผลสีม่วงแดง ทรงผลยาวรีขนาดใหญ่ ผิวบางแตกง่ายเมื่อโดนฝน มีช่อผลขนาดใหญ่

แบล็คโรส (Carolina Black Rose) เป็นองุ่นผลสีดำ ทรงผลกลมรีขนาดใหญ่ ผิวบางเนื้อแน่น ช่อผลขนาดปานกลาง ต้นองุ่นเจริญเติบโตเร็ว แข็งแรง เหมาะกับอากาศร้อน

คาร์ดินาล (Cardinal) เป็นองุ่นผลสีม่วงอมแดง ทรงผลกลมขนาดปานกลาง รสหวานปานกลาง กรอบ มีกลิ่นหอม เปลือกบางผลแตกง่ายเมื่อโดนฝน ช่อผลขนาดปานกลาง ติดผลง่ายและผลห่าง

เอ็กโซติก (Exotic) เป็นองุ่นผลสีดำ ทรงผลกลมขนาดปานกลาง ผิวเปลือกหนาเนื้อแน่น ช่อผลแน่นขนาดปานกลาง ติดผลง่าย

เกียวโฮ หรือ น่านฟ้า (Kyoho) เป็นพันธุ์องุ่นจากญี่ปุ่น ผลสีแดง-ดำ ทรงผลกลมขนาดใหญ่ รสชาติหวานหอม ผลนิ่ม ผิวเปลือกเหนียว ช่อผลปานกลาง

มัสแคตฮัมเบอร์ก (Muscat Hamburg) เป็นองุ่นผลสีดำ ทรงผลกลมขนาดปานกลาง รสหวานมีกลิ่นหอม เนื้อผลเหลว ผิวเปลือกเหนียว ช่อผลขนาดใหญ่ ติดผลง่าย

ป๊อกดำ (Pokdum) เป็นองุ่นผลสีม่วงดำ ทรงผลกลม หลุดจากขั้วได้ยาก ติดผลง่าย

เรดโกลบ (Red Globe) เป็นองุ่นผลสีแดง ทรงผลกลมปานกลาง ขนาดใหญ่ รสหวานเนื้อกรอบ

ไวท์มะละกา (White Malaga) เป็นองุ่นผลสีเขียว ทรงผลยาวรีขนาดผลใหญ่ เนื้อแน่น รสชาติหวานกรอบ ช่อผลขนาดใหญ่ ติดผลง่าย ผลผลิตสูง

พันธุ์องุ่นไร้เมล็ด

แบล็คบิวตี้ (Black Beauty) เป็นองุ่นไม่มีเมล็ด ทรงผลรีมีขนาดปานกลาง สีดำ มีการเจริญเติบโตทางลำต้นช้า ออกดอกติดผลง่าย

แบล็คโอปอล (Black Opal) เป็นองุ่นผลสีม่วงอมดำ ทรงผลกลมขนาดเล็ก ความหวานสูง เนื้อนุ่มแต่ไม่เหลว ผลดกไม่แตกง่ายเมื่อโดนฝน

แชมเปญหรือไข่ปลา (Champagne) เป็นองุ่นผลสีเขียวเหลือง ลูกเล็กมีน้ำหนักเบา เป็นพวงติดกันคล้ายไข่ปลาคาร์เวียร์ รสหวานนุ่มลิ้น

คริมสัน ซีดเลส (Crimson Seedless) เป็นองุ่นสีแดง ทรงผลยาวรีขนาดปานกลางถึงใหญ่ เนื้อแน่น หวานกรอบ ผลสุกช้ากว่าพันธุ์อื่นๆ

ดอน ซีดเลส (Dawn Seedless) เป็นองุ่นสีเหลืองทอง ทรงผลกลมรีขนาดปานกลาง เนื้อแน่น ช่อผลปานกลาง

เฟลม ซีดเลส (Flame Seedless) เป็นองุ่นผลสีแดง ทรงผลกลมขนาดปานกลาง หวานกรอบเนื้อแน่น มีกลิ่นหอม ช่อยาวปานกลาง ให้ผลผลิตสูง

มารู ซีดเลส (Maroo Seedless) เป็นองุ่นสีดำ ทรงผลกลมปานกลาง สุกแก่เร็ว เปลือกผลบางแตกง่ายเมื่อโดนฝน ช่อผลขนาดปานกลาง-ใหญ่

เพิลเล็ต ซีดเลส (Perlette Seedless) เป็นองุ่นสีเขียวเหลือง ผลกลม ฉ่ำเล็กน้อย เหมาะปลูกใช้ผลบรรจุกระป๋อง ผลหลุดจากขั้วง่าย

ลูส เพิลเล็ต (Loose Perlette) เป็นองุ่นสีเหลืองทอง ทรงผลกลมปานกลาง ความหวานสูง เนื้อแน่นกรอบ เปลือกบาง ผลแตกง่ายเมื่อโดนฝน ช่อผลยาวขนาดปานกลาง

พันธุ์องุ่นทำไวน์แดง

ชีราซ (Shiraz) เป็นองุ่นสีดำ ทรงผลกลมเล็กถึงปานกลาง ช่อผลยาวปานกลาง

องุ่นสำหรับใช้เป็นต้นตอ

พันธุ์ 5BB เป็นพันธุ์ที่มีความทนต่อความแห้งแล้งได้ดีพอสมควร ต้านทานต่อไส้เดือนฝอยและแมลงกินราก แต่อ่อนแอต่อโรครากเน่า

พันธุ์ 1613 เป็นพันธุ์ต้นตอที่มีการใช้อยู่ในประเทศไทยเป็นเวลานานซึ่งปรับตัวกับสภาพแวดล้อมของไทยได้ดีต้านทานต่อไส้เดือนฝอยแต่ไม่ทนต่อสภาพแห้งแล้ง ทนต่อสภาพน้ำขังได้ดี ไม่ชอบดินที่มีหินปูนสูงแต่ทนต่อสภาพเกลือได้ดี

พันธุ์ฮาร์โมนี เป็นองุ่นพันธุ์ต้นตอที่มีการเจริญเติบโตแข็งแรงดีมาก มีความทนทานต่อไส้เดือนฝอยดีมากแต่ทนทานต่อแมลงกินรากน้อย ชอบดินทรายและร่วนทราย ทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี

พันธุ์จากประเทศฮังการี

แองเจลล่า (Angela)

แฟนนี่ (Fanny)

แพนโนเนีย คินเซ (Pannonia Kinse)

โปโลสกี มัสโกทาลี (Poloskei Muskotary)

การศึกษารวบรวมพันธุกรรมองุ่นที่มีในประเทศไทยมีความสำคัญ นอกจากการรวบรวมพันธุกรรมในแปลงปลูกแล้วนั้น ควรมีการศึกษารวบรวมพันธุกรรมในสภาพปลอดเชื้อควบคู่ไปด้วย โดยเฉพาะในเบื้องต้นจะ

เป็นการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเทคนิคดังกล่าวมีความสำคัญที่จะก่อให้เกิดการต่อยอดของงานวิจัยในแขนงต่างๆ ได้เป็นอย่างดี

การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในหลอดทดลองโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นการเก็บเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อที่สามารถรักษาเนื้อเยื่อไว้ให้ตรงตามพันธุ์ และลดความเสี่ยงจากการทำลายของโรค แมลง และภัยจากสภาพแวดล้อม วิธีการหนึ่งในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ คือ การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในเวลาสั้น (short-term preservation) ซึ่งเป็นการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพการเจริญเติบโตปกติในอาหารวิทยาศาสตร์ เมื่อเนื้อเยื่อเจริญเติบโตถึงระยะหนึ่งจึงทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ และตัดแยกเนื้อเยื่อ ซึ่งมีข้อเสียเวลาทำการตัดแยกและเปลี่ยนอาหารบ่อยๆ โดยเฉลี่ยเนื้อเยื่อจะเลี้ยงอยู่ในอาหารนี้ได้ 1-2 เดือน ก็ต้องนำมาตัดแยกและเปลี่ยนอาหาร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืชที่จะนำมาทำการเก็บรักษาด้วย และพบว่าการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในระยะสั้นไม่มีความยุ่งยากซับซ้อนมากนักแต่ต้องศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด (มณฑา,2540) จากการสำรวจรวบรวมพันธุ์องุ่นชนิดต่างๆ จากกิจกรรมสำรวจ รวบรวม และประเมินลักษณะพันธุกรรมองุ่นของไทย (พันธุ์รับประทานสด พันธุ์เพื่อผลิตไวน์) จากแหล่งปลูกของเกษตรกรและบริษัท ในโครงการปรับปรุงและอนุรักษ์พันธุ์พืชสวน(องุ่น)โดยการใช้วิธีปกติหรือเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งดำเนินการในปีงบประมาณ 2553 โดยสำนักวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ พบว่ามีองุ่นพันธุ์ต่างๆ ปลูกรวบรวมไว้เพื่อการศึกษาวิจัยและปลูกเพื่อเป็นการค้าเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการนำพันธุ์องุ่นเหล่านี้มาศึกษาการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อโดยการศึกษาการเก็บรักษาในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเบื้องต้นในการทำ *in vitro* collection เก็บอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ซึ่งจะเป็นพื้นฐานในการศึกษาด้านการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อในระยะปานกลางและระยะยาวต่อไป รวมทั้งการนำไปศึกษาขยายพันธุ์ การทำต้นองุ่นปลอดไวรัส การแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์ในอนาคต

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์

1. ตาข้างขององุ่น จำนวน 27 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Angela, Black Beauty, Black Opal, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Champagne, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Exotic, Fanny, Flame Seedless, Kyoho, Loose Perlette, Maroo Seedless, Muscat Hamburg, Pannonia Kinse, Perlette Seedless, Pokdum, Poloskei Muskotary, Red Globe, Shiraz, ตอป่า 5BB, ตอป่า 1613, ตอป่า Harmony, และ White Malaga

2. อาหารสังเคราะห์สูตรพื้นฐาน จำนวน 5 สูตร MS+BA, MS+K, 1/2MS+BA+NAA, WPM, และ C2D

1. MS+BA คืออาหารสูตรพื้นฐาน MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA (benzyladenine)

2. MS+K คืออาหารสูตรพื้นฐาน MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม Kinetin

3. 1/2MS+BA+NAA คืออาหารสูตรพื้นฐาน MS (Murashige and Skoog, 1962) ลดความเข้มข้นลงครึ่งส่วน ที่เติม BA และ NAA (Naphthalene acetic acid)

4. WPM คืออาหารสูตรพื้นฐาน Woody Plant Medium

5. C2D คืออาหารสูตรพื้นฐาน Chee&Pool (1982)

3. เครื่องแก้วและสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4. วัสดุปลูกต่างๆ สำหรับปลูกองุ่น ได้แก่ กระถาง, กระบะเพาะ, ดินปลูก เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

1. รวบรวมต้นพันธุ์องุ่น จำนวน 27 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Angela, Black Beauty, Black Opal, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Champagne, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Exotic, Fanny, Flame Seedless, Kyoho, Loose Perlette, Maroo Seedless, Muscat Hamburg, Pannonia Kinse, Perlette Seedless, Pokdum, Poloskei Muskotary, Red Globe, Shiraz, ตอป่า 5BB, ตอป่า 1613, ตอป่า Harmony, และ White Malaga ปลูกในโรงเรือน สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จังหวัดปทุมธานี

2. ตัดกิ่งพันธุ์องุ่นที่แตกยอด มีสภาพแข็งแรง เพื่อใช้ตาข้างในการทดลอง

3. นำตาข้างองุ่นฟอกฆ่าเชื้อ ฟอกตาข้างองุ่นด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยคลอร็อกเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และคลอร็อกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที การฟอกแต่ละครั้งเติม tween20 จำนวน 1-2 หยดล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง

4. แล้วจึงตัดตาข้างองุ่น ขนาดประมาณ 1.5 ซม. เลี้ยงลงในอาหารสูตรต่างๆ ได้แก่ อาหารสูตร MS+BA, MS+K, 1/2MS+BA+NAA, WPM, และ C2D โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 8 ซ้ำ

5. เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น ในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ภาคผนวก) เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 – 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นานประมาณ 4-6 สัปดาห์

6. บันทึกผลการเจริญเติบ โดยวัดความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การแตกยอด และการแตกราก

7. ย้ายต้นอ่อนองุ่นเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำราก MS+NAA 0.01 mg/l

8. ปรับสภาพต้นอ่อนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วนำลงปลูกในกระถาง ในสภาพโรงเรือน

ระยะเวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เริ่มต้น ตุลาคม 2555 –กันยายน 2558 สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

จากการรวบรวมต้นพันธุ์องุ่นจากแหล่งต่างๆ นำมาปลูกดูแลที่สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จำนวนกว่า 30 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Angela, Black Beauty, Black Opal, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Champagne, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Exotic, Fanny, Flame

Seedless, Kyoho, Loose Perlette, Maroo Seedless, Muscat Hamburg, Pannonia Kinse, Perlette Seedless, Pokdum, Poloskei Muskotary, Red Globe, Shiraz, ตอป่า 5BB, ตอป่า 1613, ตอป่า Harmony, White Malaga, Centanial, Toloi, Emeral Seedless, Pinot Noir และ Carbernet Sauvignon พันธุ์องุ่นต่างๆ ดังกล่าว บางพันธุ์ไม่สามารถปลูกให้รอดชีวิตได้ และบางพันธุ์ไม่ค่อยแตกยอดจึงไม่สามารถนำตาข้างของต้นพันธุ์องุ่นมาทำการทดลองได้ จึงทำการนำตาข้างองุ่นจำนวน 27 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Angela, Black Beauty, Black Opal, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Champagne, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Exotic, Fanny, Flame Seedless, Kyoho, Loose Perlette, Maroo Seedless, Muscat Hamburg, Pannonia Kinse, Perlette Seedless, Pokdum, Poloskei Muskotary, Red Globe, Shiraz, ตอป่า 5BB, ตอป่า 1613, ตอป่า Harmony, และ White Malaga ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรพื้นฐาน จำนวน 5 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS+BA, MS+K, 1/2MS+BA+NAA, WPM, และ C2D โดยก่อนทำการทดลองได้นำตาข้างองุ่นทดลองฟอกฆ่าเชื้อ พบว่าในการฟอกฆ่าเชื้อ สามารถฟอกตาข้างองุ่นด้วย แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยคลอร็อกเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และคลอร็อกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วจึงตัดตาข้างองุ่นเลี้ยงลงในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4-6 สัปดาห์ บันทึกผลการเจริญเติบโตโดยวัดความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การแตกยอด และการแตกราก เพื่อทดลองว่าองุ่นแต่ละพันธุ์มีสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐานสูตรใดเหมาะสมที่จะใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดังนี้

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ American Beauty (อเมริกัน บิวตี้) ได้แก่ MS+BA และ 1/2MS+BA+NAA โดยพบว่าต้นอ่อนองุ่นมีค่าความสูงเฉลี่ย 2.15 และ 1.85 ซม. ตามลำดับ และต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS+BA มีจำนวนข้อเฉลี่ย 4 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 4 ใบ การแตกยอดดี แต่ไม่มีการแตกราก (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Angela (แองเจลลา) ได้แก่ สูตร C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 2.19 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 3 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3 ใบ ไม่แตกยอดใหม่ การแตกราก 0-2 ราก (ตารางที่ 2, ภาพที่ 2)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Black Beauty (แบล็ค บิวตี้) ได้แก่ สูตร C2D, WPM โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 2.04 และ 1.71 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 4 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3 ใบ แตกยอดใหม่ถึง 3 ยอด การแตกราก 0-5 ราก (ตารางที่ 3, ภาพที่ 3)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Black Opal (แบล็ค โอปอล์) ได้แก่ สูตร C2D, MS+BA โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 5.29 และ 4.65 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 5.4, 4.6 ข้อ ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 5.6, 8.8 ใบ ตามลำดับ พบ MS+BA มีการแตกยอดใหม่ดีกว่า 3-4 ยอด ไม่พบการแตกราก พบการแตกรากดีในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA (ตารางที่ 4, ภาพที่ 4)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Black Queen (แบล็ค ควีน) ได้แก่ MS+BA, C2D และ 1/2MS+BA+NAA โดยพบว่าต้นอ่อนองุ่นมีค่าความสูงเฉลี่ย 3.13, 2.60 และ 2.73 ซม. ตามลำดับ ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS+BA มีจำนวนข้อเฉลี่ย 4 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 9 ใบ การแตกยอดดี แต่ไม่มีการแตกราก (ตารางที่ 5, ภาพที่ 5)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Black Rose (แบล็ค โรส) ได้แก่ 1/2MS+BA+NAA และ C2D โดยพบว่าต้นอ่อนองุ่นมีค่าความสูงเฉลี่ย 5.64 และ 4.60 ซม. ตามลำดับ ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2MS+BA+NAA มีจำนวนข้อเฉลี่ย 6 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 8.4 ใบ การแตกยอดดี พบ 1-6 ยอด การแตกรากดี 2-6 ราก (ตารางที่ 6, ภาพที่ 6)

พบว่าในองุ่นพันธุ์ Cardinal (คาร์ดินัล) สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารทุกสูตร และอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA มีแนวโน้มที่ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดี โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 2.14 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ย 3 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3 ใบ การแตกยอดดี พบ 1-3 ยอด การแตกรากดี 1-3 ราก (ตารางที่ 7, ภาพที่ 7)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Champagne (ไข่ปลา) ได้แก่ สูตร C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 2.66 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 4 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 4 ใบ การแตกยอดใหม่ 1-2 ยอด ไม่พบการแตกราก พบการแตกรากในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA และ WPM (ตารางที่ 8, ภาพที่ 8)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Crimson Seedless (คริมสัน ซีดเลส) ได้แก่ สูตร 1/2MS+BA+NAA, C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 4.23 และ 3.36 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 7 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 7.3, 7.1 ใบ ตามลำดับ มีการแตกยอดใหม่ดี 1-3 และ 1-6 ยอด ตามลำดับ การแตกราก 1-6 และ 2-8 ราก ตามลำดับ พบว่าการแตกรากในอาหารสูตร C2D จะดีกว่า (ตารางที่ 9, ภาพที่ 9)

พบว่าในองุ่นพันธุ์ Dawn Seedless (ดอน ซีดเลส) สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารทุกสูตร และอาหารสูตร WPM มีแนวโน้มที่ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดี โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ถึง 3.36 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ย 4 ข้อ ซึ่งต้นอ่อนในอาหารสูตร C2D และ 1/2MS+BA+NAA ก็มีจำนวนข้อเฉลี่ยสูงถึง 5 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 7 ใบ การแตกยอดดี พบ 1-4 ยอด การแตกรากดี 0-1 ราก (ตารางที่ 10, ภาพที่ 10)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Exotic (เอ็กโซติก) ได้แก่ สูตร MS+BA และ C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 3.90 และ 3.60 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 3.9, 3.3 ข้อ ตามลำดับ อย่างไรก็ดีจำนวนข้อเฉลี่ยในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกัน จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3.9, 3.3 ใบ ตามลำดับ และพบในอาหารสูตร MS+K สามารถนับจำนวนใบต่อต้นได้สูง 3.6 ใบ มีการแตกยอดใหม่เล็กน้อย ไม่พบการแตกราก (ตารางที่ 11, ภาพที่ 11)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Fanny (แฟนนี่) ได้แก่ สูตร MS+BA และ MS+K โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 2.28 และ 2.13 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อ

เฉลี่ยต่อต้น 2.6, 2.4 ข้อ ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 2.5, 2.3 ใบ มีการแตกยอดใหม่เล็กน้อย ไม่พบการแตกรากในอาหารสูตร MS+BA (ตารางที่ 12, ภาพที่ 12)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Flame Seedless (เฟลม ซีดเลส) ได้แก่ C2D WPM และ 1/2MS+BA+NAA โดยพบว่าต้นอ่อนองุ่นมีค่าความสูงเฉลี่ย 4.51, 3.16 และ 2.98 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นในอาหารทั้ง 5 สูตรไม่แตกต่างกัน แต่ในอาหาร 3 สูตรข้างต้นมีแนวโน้มให้จำนวนข้อและสูง และพบว่า MS+BA มีใบเฉลี่ยต่อต้นและจำนวนยอดสูงเช่นเดียวกัน การแตกรากของอาหารทั้ง 3 สูตร 0-2, 0-4 และ 0-3 ตามลำดับ (ตารางที่ 13, ภาพที่ 13)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Kyoho (เคียวโฮ หรือน่านฟ้า) ได้แก่ สูตร 1/2MS+BA+NAA และ C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 3.35 และ 3.10 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 3 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3.6 ใบ มีการแตกยอดใหม่เล็กน้อย 1-2 ยอด ไม่พบการแตกราก (ตารางที่ 14, ภาพที่ 14)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Loose Perlette (ลูซ เพิร์ลเล็ต) ได้แก่ MS+BA, 1/2MS+BA+NAA โดยพบว่าต้นอ่อนองุ่นมีค่าความสูงเฉลี่ย 4.03, 3.30 ซม. ตามลำดับ มีจำนวนข้อเฉลี่ย 4.1, 5.3 ข้อ ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 6.6, 5.9 ใบ ตามลำดับ การแตกยอดดี 2-4, 1-2 ยอด ตามลำดับ ในอาหารสูตร MS+BA ไม่มีการแตกราก แต่ในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA มีการแตกรากสูงสุด 3-5 ราก (ตารางที่ 15, ภาพที่ 15)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Maroo Seedless (มารู ซีดเลส) ได้แก่ 1/2MS+BA+NAA, WPM, C2D และ MS+K ซึ่งพบว่าค่าเฉลี่ยความสูงต้นอ่อนองุ่นไม่แตกต่างกัน (2.76, 2.64, 2.51 และ 2.39 ตามลำดับ) จำนวนข้อต่อต้นและจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าในสูตรอาหาร MS+BA มีการแตกยอดสูง 2-9 ยอด และสูตรอาหาร 1/2MS+BA+NAA เกิดรากมากที่สุด 1-4 ราก (ตารางที่ 16, ภาพที่ 16)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Muscat Hamburg (มูสแคท แฮมเบอร์ก) ได้แก่ สูตร 1/2MS+BA+NAA โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 5.13 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 6 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 6.8 ใบ การแตกยอด 1-2 ยอด การแตกราก 2-6 ราก (ตารางที่ 17, ภาพที่ 17)

พบว่าในองุ่นพันธุ์ Pannonia Kinse (แพนโนเนีย คินเซ) สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารทุกสูตร และอาหารสูตร WPM มีแนวโน้มที่ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดี โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 2.38 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ย 3.6 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 4.1 ใบ ไม่มีการแตกยอด การแตกรากดี 0-6 ราก และพบว่า MS+BA มีการแตกยอด 1-3 ยอด 1/2MS+BA+NAA มีการแตกราก 0-15 ราก (ตารางที่ 18, ภาพที่ 18)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Perlette Seedless (เพิร์ลเล็ต ซีดเลส) ได้แก่ สูตร 1/2MS+BA+NAA โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 3.45 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 3 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3.4 ใบ การแตกยอด 1-2 ยอด การแตกราก 1-3 ราก นอกจากนี้

พบว่า อาหารสูตร MS+BA ให้จำนวนข้อต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น และจำนวนยอดต่อต้นสูง (ตารางที่ 19, ภาพที่ 19)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Pokdum (ป๊อกดำ) ได้แก่ สูตร MS+BA และ C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 5.30 และ 3.63 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 4.5, 3.8 ข้อ ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 4.3, 3.3 ใบ ตามลำดับ และพบในอาหารสูตร MS+BA มีการแตกยอดใหม่เล็กน้อย 1-2 ยอด ไม่พบการแตกราก (ตารางที่ 20, ภาพที่ 20)

พบว่าในองุ่นพันธุ์ Poloskei Muskotaly (โปโลสกี มัสโกทาลี) สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารทุกสูตร และสูตรอาหารที่มีแนวโน้มที่ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดี ได้แก่ สูตร 1/2MS+BA+NAA โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 2.45 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ย 3.5 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3.3 ใบ ไม่มีการแตกยอด การแตกราก 0-2 ราก และพบว่า MS+BA มีการแตกยอด 1-2 ยอด C2D มีการแตกราก 0-4 ราก (ตารางที่ 21, ภาพที่ 21)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Red Globe (เรดโกลบ) ได้แก่ สูตร MS+K และ C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 4.01 และ 3.88 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 5.5, 4.8 ข้อ ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 4.6 ใบ มีการแตกยอดใหม่เล็กน้อย 1-3, 1-2 ยอด ตามลำดับ สูตร MS+K มีการแตกราก 0-4 ราก (ตารางที่ 22, ภาพที่ 22)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ Shiraz (ชีราส) ได้แก่ สูตร MS+K โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 2.79 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 3.4 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 2.8 ใบ ไม่มีการแตกยอดและการแตกราก นอกจากนี้พบว่า อาหารสูตร MS+BA ให้จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น (4.4 ใบ) และจำนวนยอดต่อต้น (2-3 ยอด) สูง (ตารางที่ 23, ภาพที่ 23) โดยให้ผลสอดคล้องกับ โชคชัย (2547) ซึ่งรายงานผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่นพันธุ์ชีราสจากยอดอ่อน ใบ ตาข้าง และเมล็ด พบว่า เมล็ดและตาข้างสามารถชักนำให้เกิดยอดและรากได้ สามารถขยายให้เกิดต้นใหม่ได้มากที่สุด ในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA และ kinetin

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ตอป่า 5BB พบว่าค่าเฉลี่ยความสูงของต้นอ่อนและจำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น ในอาหารทั้ง 5 สูตร ไม่แตกต่างกัน แต่ในอาหารสูตร MS+BA และ C2D มีแนวโน้มเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 2.80, 2.01 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 2.6, 2.0 ข้อ ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 2.5, 2.3 ใบ ตามลำดับ สูตร MS+BA พบจำนวนการแตกยอด 1-3 ยอด และสูตร C2D มีการเกิดราก 0-1 ราก (ตารางที่ 24, ภาพที่ 24) ซึ่งการแตกยอดของตาข้างองุ่นที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงพันธุ์ต้นตอองุ่นในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งมีรายงานผลการแตกยอดเฉลี่ย 4.4 ยอด และความสูงเฉลี่ย 2.02 ซม. (คมขวัญ, 2549)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ตอป่า 1613 ได้แก่ สูตร MS+BA โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 3.36 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 3.5 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3.6 ใบ การแตกยอดใหม่ 1-2 ยอด ไม่พบการแตกราก พบการแตกรากในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA (0-3 ราก) และ สูตรอื่นเล็กน้อย (ตารางที่ 25, ภาพที่ 25)

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างองุ่น พันธุ์ตอป่า Harmony (ตอป่าฮาโมนี) ได้แก่ สูตร MS+BA และ C2D โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยต้นอ่อนได้ 4.26 และ 3.74 ซม. ตามลำดับ จำนวนข้อเฉลี่ยต่อต้น 4.0, 2.8 ข้อ ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 4.0, 2.4 ใบ ตามลำดับ และพบในอาหารสูตร MS+BA มีการแตกยอดใหม่เล็กน้อย (1-3 ยอด) ไม่พบการแตกราก พบการแตกรากในอาหารสูตร C2D (0-1 ราก) และพบการแตกของรากสูงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA (1-4 ราก) สูตร WPM (0-5 ราก) (ตารางที่ 26, ภาพที่ 26)

พบว่าในองุ่นพันธุ์ White Malaga (ไวท์ มะละกา) สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารทุกสูตร และสูตรอาหารที่มีแนวโน้มที่ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดี ได้แก่ สูตร 1/2MS+BA+NAA โดยวัดค่าความสูงเฉลี่ยได้ 2.74 ซม. จำนวนข้อเฉลี่ย 3.6 ข้อ จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 3.1 ใบ ไม่มีการแตกยอด การแตกราก 1-4 ราก และพบว่า MS+BA มีการแตกยอด 1-3 ยอด (ตารางที่ 27, ภาพที่ 27)

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ American Beauty ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.15 a	4.0 a	4.0	1-5	0
MS + K	1.28 b	2.0 b	2.5	1-2	0
1/2MS + BA + NAA	1.85 a	2.8 ab	3.3	1	0-1
WPM	1.74 ab	3.9 a	4.1	1	0
C2D	1.66 ab	3.3 ab	3.5	1	0
F-test	*	ns	ns		
CV. (%)	27.9	46.4	45.7		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 1 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ American Beauty ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA และ 1/2MS+BA+NAA

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Angela ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	1.51 b	1.4 b	1.4 b	1-2	0
MS + K	1.69 ab	3.0 a	3.3 a	1	0-2
1/2MS + BA + NAA	1.46 b	2.4 a	2.5 a	1	0-2
WPM	1.80 ab	2.5 a	2.6 a	1	0-2
C2D	2.19 a	3.0 a	3.1 a	1	0-2
F-test	*	**	**		
CV. (%)	28.3	33.6	33.6		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 2 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Angela ที่เลี้ยงในอาหารสูตร C2D

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Black Beauty ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	1.91	2.0 b	1.5 b	1-3	0
MS + K	1.69	2.8 ab	2.4 ab	1-2	0-4
1/2MS + BA + NAA	1.49	2.4 ab	2.3 ab	1-2	0-4
WPM	1.71	3.0 ab	3.1 a	1-3	0-2
C2D	2.04	3.5 a	3.3 a	1-3	0-5
F-test	ns	ns	*		

CV. (%)	28.8	46.2	46.7

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 3 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Black Beauty ที่เลี้ยงในอาหารสูตร C2D และ WPM

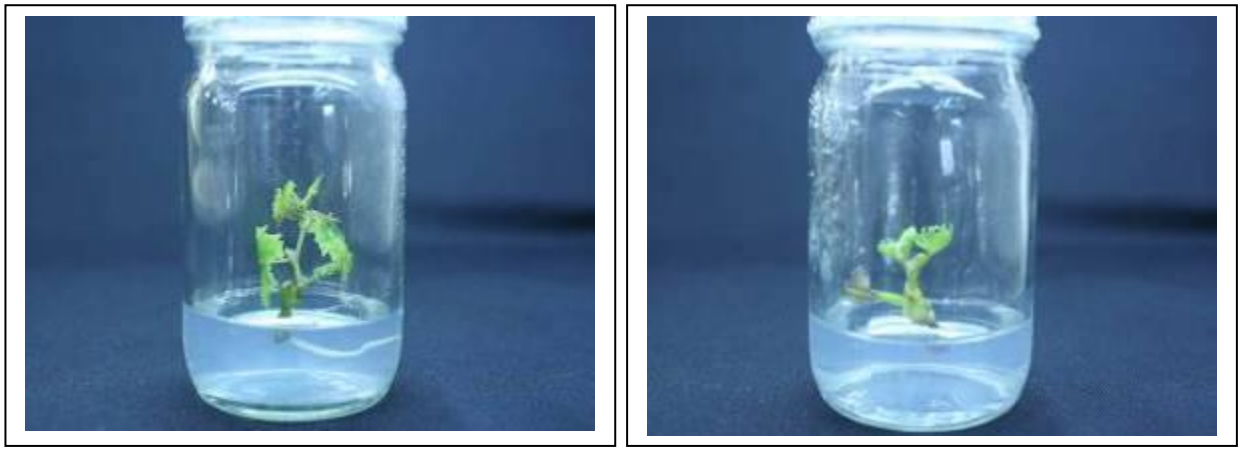
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Black Opal ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	4.65 a	4.6 b	8.8 a	3-4	0
MS + K	2.90 b	3.6 c	2.4 c	1	0-1

1/2MS + BA + NAA	2.99 b	3.6 c	4.4 b	1-3	0-6
WPM	2.99 b	3.6 c	4.4 b	1-2	0-1
C2D	5.29 a	5.4 a	5.6 b	1	0-1
F-test	**	**	**		
CV. (%)	22.1	14.8	25.0		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Black Opal ที่เลี้ยงในอาหารสูตร C2D และ MS+BA

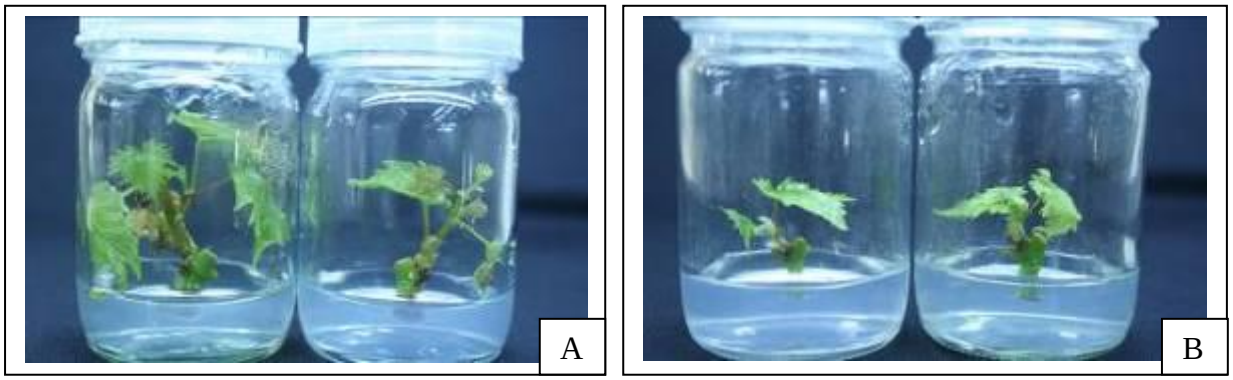
ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Black Queen ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	3.13 a	3.9 a	8.9 a	2-6	0
MS + K	1.49 b	2.4 b	1.4 b	1	0
1/2MS + BA + NAA	2.73 a	2.4 b	2.8 b	1	0-1
WPM	1.64 b	2.3 b	2.5 b	1	0-1
C2D	2.60 a	2.8 b	1.5 b	1-5	0
F-test	**	*	**		
CV. (%)	30.9	39.0	44.5		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



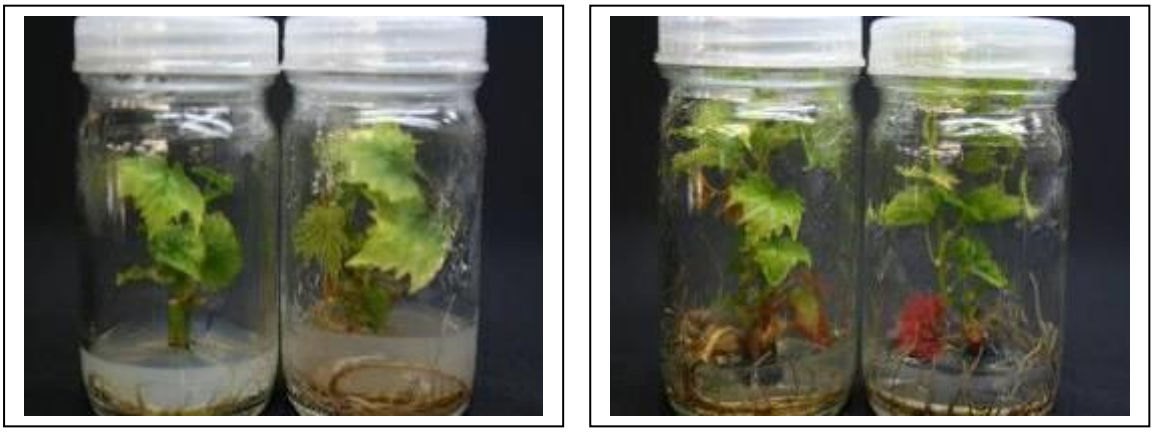
ภาพที่ 5 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Black Queen ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA (A), C2D (B), และ 1/2MS+BA+NAA (C)

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Black Rose ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.01 b	2.6 b	3.1 b	1-3	0
MS + K	2.46 b	2.9 b	2.6 b	1-2	0-1
1/2MS + BA + NAA	5.64 a	6.0 a	8.4 a	1-6	2-6
WPM	2.52 b	2.6 b	2.9 b	1	1-3
C2D	4.60 a	3.5 b	7.0 a	1-6	0-5
F-test	**	**	**		
CV. (%)	36.4	39.1	54.5		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 6 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Black Rose ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA และ C2D

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Cardinal ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.05	3.5	3.6	1-3	0
MS + K	1.84	3.5	3.4	1	0
1/2MS + BA + NAA	2.14	3.4	3.3	1-3	1-2
WPM	1.73	3.4	3.8	0	1-3
C2D	1.94	3.5	4.1	0	1
F-test	ns	ns	ns		
CV. (%)	31.6	35.2	33.5		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 7 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Cardinal ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA (A), MS+BA (B) และ MS+K (C)

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Champagne ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.35 ab	2.8 ab	2.6 b	1-2	0
MS + K	1.78 b	2.9 ab	2.9 b	1	0
1/2MS + BA + NAA	1.69 b	2.1 b	2.5 b	1	0-3
WPM	1.81 b	2.5 b	2.5 b	1-3	0-2
C2D	2.66 a	3.8 a	4.3 a	1-2	0
F-test	*	ns	*		
CV. (%)	32.9	40.4	39.0		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 8 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Champagne ที่เลี้ยงในอาหารสูตร C2D

ตารางที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Crimson Seedless ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.49 c	4.6 b	4.0 b	1-9	0-2
MS + K	2.84 bc	4.1 b	4.6 b	1-2	2-11
1/2MS + BA + NAA	4.23 a	7.0 a	7.3 a	1-3	1-6
WPM	3.75 ab	4.9 b	5.5 ab	1-3	1-7
C2D	3.36 abc	7.1 a	7.1 a	1-6	2-8
F-test	*	**	**		
CV. (%)	31.4	31.7	33.3		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

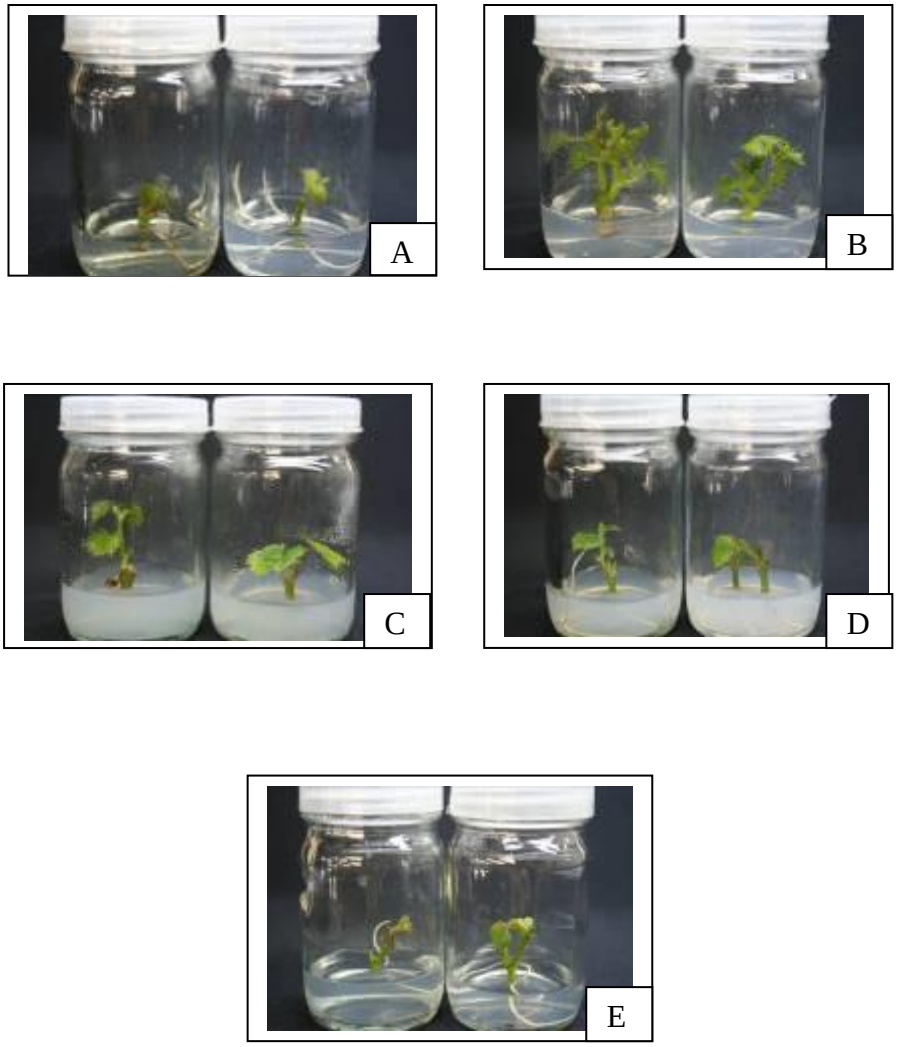
ภาพที่ 9 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Crimson Seedless ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA และ C2D

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Dawn Seedless ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	3.26 a	4.4 ab	5.8 ab	2-4	0
MS + K	2.44 b	3.8 b	3.9 b	1-2	0-1
1/2MS + BA + NAA	2.83 ab	5.0 a	5.1 ab	1	1-3
WPM	3.36 a	4.4 ab	7.3 a	1-4	0-1
C2D	3.09 ab	5.25 a	7.0 a	1-2	0-2
F-test	ns	ns	ns		
CV. (%)	22.2	23.1	45.0		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 10 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Dawn Seedless ที่เลี้ยงในอาหารสูตร WPM (A), MS+BA (B), MS+K (C), 1/2MS+BA+NAA (D) และ C2D (E)

ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Exotic ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	3.90 a	3.9 a	3.9 a	1-2	0
MS + K	3.00 ab	3.8 ab	3.6 a	1-2	0
1/2MS + BA + NAA	1.90 b	2.5 b	2.1 b	1	0

WPM	2.40 b	3.1 ab	3.0 ab	1	0
C2D	3.60 a	3.3 ab	3.3 ab	1	0
F-test	**	ns	*		
CV. (%)	39.5	36.5	35.8		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 11 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Exotic ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA และ C2D

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Fanny ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของ	จำนวนข้อ	จำนวนใบ	จำนวนยอด	การเกิดราก

	ต้นอ่อน (ซม.)	(ต่อต้น)	(ต่อต้น)	(ต่อต้น)	
MS + BA	2.28 a	2.6 a	2.5 a	1-2	0
MS + K	2.13 a	2.4 a	2.3 ab	1	0-1
1/2MS + BA + NAA	1.79 ab	2.3 a	2.3 ab	1	0
WPM	1.41 b	1.3 b	1.4 b	1	0-3
C2D	1.59 ab	1.9 ab	2.0 ab	1	0-1
F-test	ns	*	ns		
CV. (%)	34.7	39.6	40.6		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 12 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Fanny ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA และ MS+K

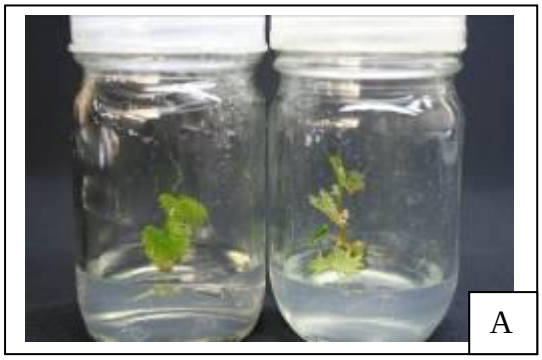
ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Flame seedless ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

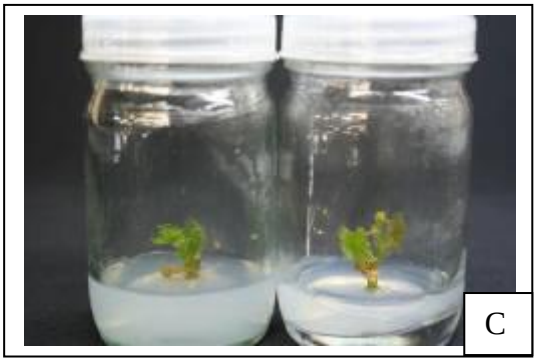
สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.71 b	2.5	3.9 a	2-3	0
MS + K	2.51 b	2.4	2.0 b	1-2	0-2
1/2MS + BA + NAA	2.98 b	3.3	2.5 ab	1	0-3
WPM	3.16 b	3.0	3.3 ab	1	0-4
C2D	4.51 a	3.9	3.6 ab	1	0-2
F-test	**	ns	ns		
CV. (%)	31.4	45.9	49.6		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ





ภาพที่ 13 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Flame seedless ที่เลี้ยงในอาหารสูตร C2D (A), WPM (B) และ 1/2MS+BA+NAA (C)

ตารางที่ 14 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Kyoho ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.15 b	2.8 a	3.3 ab	1-2	0
MS + K	1.35 c	1.8 b	2.1 c	1	0
1/2MS + BA + NAA	3.35 a	2.9 a	3.6 a	1-2	0
WPM	1.81 bc	1.9 b	2.9 b	1	0
C2D	3.10 a	3.0 a	3.6 a	1	0
F-test	**	**	**		
CV. (%)	20.8	22.6	18.1		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 14 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Kyoho ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA และ C2D

ตารางที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ของอุ่นพันธุ์ Loose Perlette ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	4.03 a	4.1 abc	6.6 a	2-4	0
MS + K	2.84 c	4.0 bc	3.1 b	1	1-5
1/2MS + BA + NAA	3.30 bc	5.3 a	5.9 a	1-2	3-5
WPM	3.56 ab	4.5 ab	4.0 b	1-2	1-2
C2D	2.76 c	3.1 c	4.3 b	1-3	1-3
F-test	**	**	**		
CV. (%)	20.2	25.8	32.7		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 15 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Loose Perlette ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA และ 1/2MS+BA+NAA

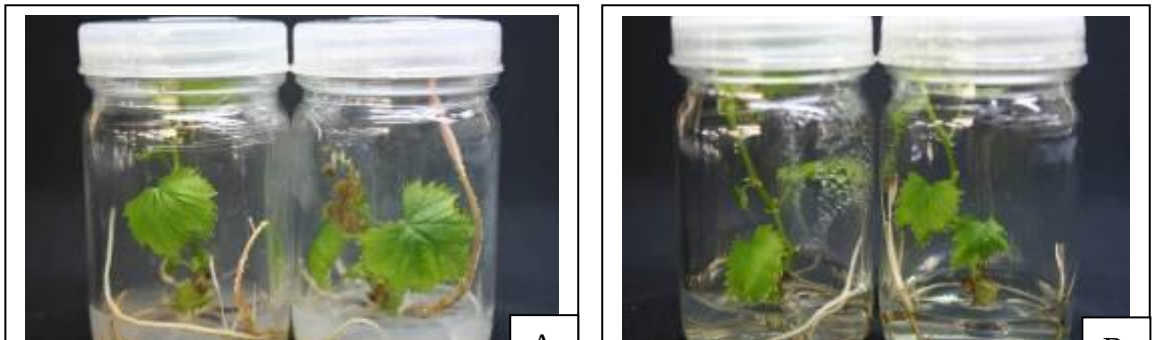
ตารางที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Maroo Seedless ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

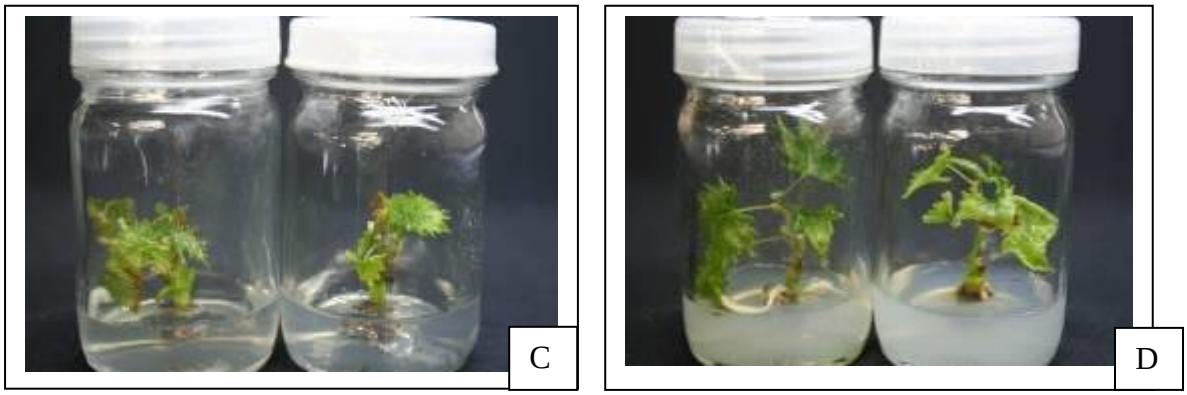
สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.06	2.8	1.6b	2-9	0
MS + K	2.39	4.3	4.4 a	1-2	0-1
1/2MS + BA + NAA	2.76	4.1	4.4 a	1-4	1-4
WPM	2.64	3.5	4.3 a	1-2	0-1
C2D	2.51	4.1	5.0 a	1-2	0-1
F-test	ns	ns	*		
CV. (%)	38.3	42.5	54.7		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ





ภาพที่ 16 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Maroo Seedless ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA (A), WPM (B), C2D (C) และ MS+K (D)

ตารางที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Muscat Hamburg ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.30 b	2.6 b	2.4 b	1-2	0
MS + K	1.74 bc	2.6 b	3.0 b	1	0-1
1/2MS + BA + NAA	5.13 a	6.0 a	6.8 a	1-2	2-6
WPM	1.04 d	2.0 b	1.8 b	1	0
C2D	1.51 cd	1.8 b	2.1 b	1	0
F-test	**	**	**		
CV. (%)	24.2	34.4	35.7		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

.

ภาพที่ 17 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Muscat Hamburg ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA

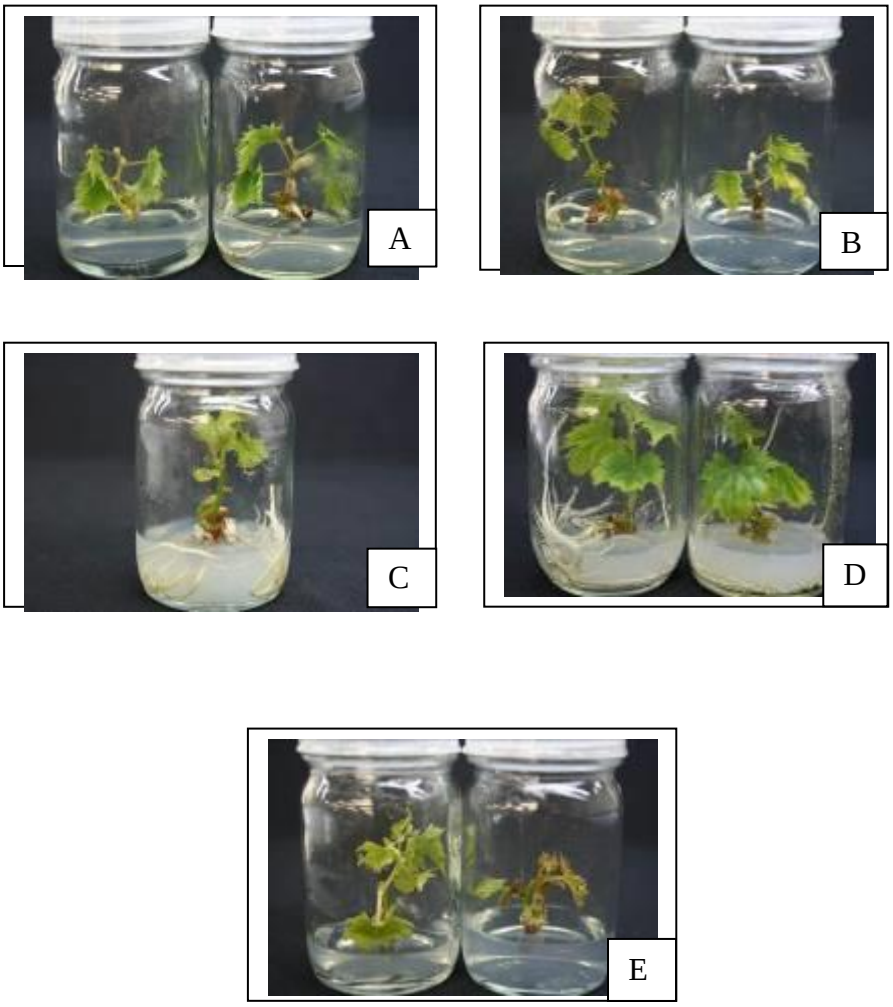
ตารางที่ 18 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Pannonia Kinse ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.18	2.5	2.5 b	1-3	0
MS + K	2.43	3.1	3.8 ab	1-2	0-5
1/2MS + BA + NAA	2.45	2.5	2.9 ab	1-2	0-15
WPM	2.38	3.6	4.1 a	1	0-6
C2D	2.89	3.5	3.5 ab	1-2	0-3
F-test	ns	ns	ns		

CV. (%)	40.3	41.7	40.1

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 18 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Pannonia Kinse ที่เลี้ยงในอาหารสูตร C2D (A), WPM (B), 1/2MS+BA+NAA (C), MS+K (D) และ MS+BA (E)

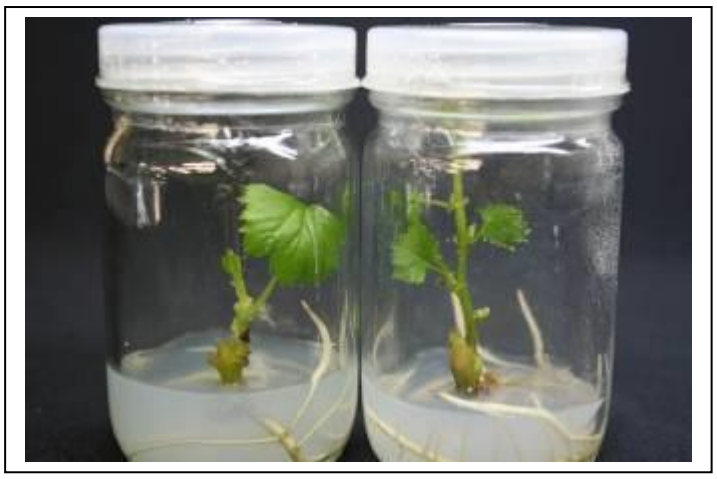
ตารางที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Perlette ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.59 b	3.3 a	4.3 a	2-3	0

MS + K	1.59 c	2.1 c	2.9 bc	1	0-1
1/2MS + BA + NAA	3.45 a	3.3 a	3.4 abc	1-2	1-3
WPM	2.26 b	2.4 bc	2.6 c	1	0-1
C2D	2.70 b	2.9 ab	3.6 ab	1	0-1
F-test	**	**	**		
CV. (%)	16.6	19.9	24.7		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 19 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Perlette ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA

ตารางที่ 20 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Pokdum ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	5.30 a	4.5 a	4.3 a	1-2	0
MS + K	2.81 c	2.1 c	1.8 c	1	0
1/2MS + BA + NAA	1.86 d	2.8 bc	1.8 c	1	0-2
WPM	2.88 c	3.6 ab	2.5 bc	1	0-1
C2D	3.63 b	3.8 a	3.3 b	1	0-1
F-test	**	**	**		
CV. (%)	21.9	26.6	33.1		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 20 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Pokdum ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA และ C2D

ตารางที่ 21 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ของอุ่นพันธุ์ Poloskei Muskotaly ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.55	2.4 b	2.8	1-2	0
MS + K	2.03	2.9 ab	2.6	1	0-3
1/2MS + BA + NAA	2.45	3.5 a	3.3	1	0-2
WPM	2.06	2.6 ab	3.3	1	0-2
C2D	2.71	3.3 ab	2.9	1	0-4
F-test	ns	ns	ns		
CV. (%)	29.9	33.8	35.0		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 21 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Poloskei Muskotaly ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA (A), C2D (B), MS+BA (C), MS+K (D) และ WPM (E)

ตารางที่ 22 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Red Globe ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	1.70 c	2.6 c	2.4 c	2-4	0
MS + K	4.01 a	5.5 a	4.6 a	1-3	0-4
1/2MS + BA + NAA	2.73 bc	3.4 c	3.3 b	1-4	0-3
WPM	3.00 ab	4.4 b	4.4 a	1-2	0-1
C2D	3.88 a	4.8 ab	4.6 a	1-2	0
F-test	**	**	**		
CV. (%)	34.3	20.5	22.0		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 22 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Red Globe ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+K และ C2D

ตารางที่ 23 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ Shiraz ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.00 c	2.8 ab	4.4 a	2-3	0
MS + K	2.79 a	3.4 a	2.8 b	1	0
1/2MS + BA + NAA	2.25 bc	2.8 ab	2.5 b	1-2	0-1
WPM	1.83 c	1.9 c	2.9 b	1	0
C2D	2.46 ab	2.4 bc	2.5 b	1	0
F-test	**	**	**		
CV. (%)	18.8	25.5	25.4		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 23 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ Shiraz ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+K

ตารางที่ 24 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ ตอป่า 5BB ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	2.80 a	2.6	2.5 a	1-3	0
MS + K	1.81 b	1.8	1.6 bc	1	0
1/2MS + BA + NAA	1.79 b	2.3	2.3 ab	1-3	0-1
WPM	2.05 ab	2.0	1.4 c	1	0
C2D	2.01 ab	2.0	2.3 ab	1	0-1
F-test	ns	ns	*		
CV. (%)	35.8	45.6	40.3		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

* แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 24 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ ตอป่า 5BB ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA และ C2D

ตารางที่ 25 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ ตอป่า 1613 ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	3.36 a	3.5 a	3.6 a	1-2	0
MS + K	2.06 b	2.6 bc	2.8 b	1	0-2
1/2MS + BA + NAA	1.73 b	1.9 c	1.8 c	1	0-3
WPM	1.63 b	2.0 bc	2.3 bc	1	0-1
C2D	2.13 b	2.8 b	2.8 b	1	0-2
F-test	**	**	**		
CV. (%)	29.3	28.3	31.5		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 25 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ ตอป่า 1613 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA

ตารางที่ 26 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ ตอป่า Harmony ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก
MS + BA	4.26 a	4.0 a	4.0 a	1-3	0
MS + K	2.09 b	2.0 b	2.25 b	1	0-2
1/2MS + BA + NAA	1.91 b	1.9 b	1.5 b	1	1-4
WPM	2.51 b	2.1 b	1.8 b	1-2	0-5

C2D	3.74 a	2.8 b	2.4 b	1	0-1
F-test	**	**	**		
CV. (%)	33.6	35.8	38.2		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 26 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ ตอป่า Harmony ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA และ C2D

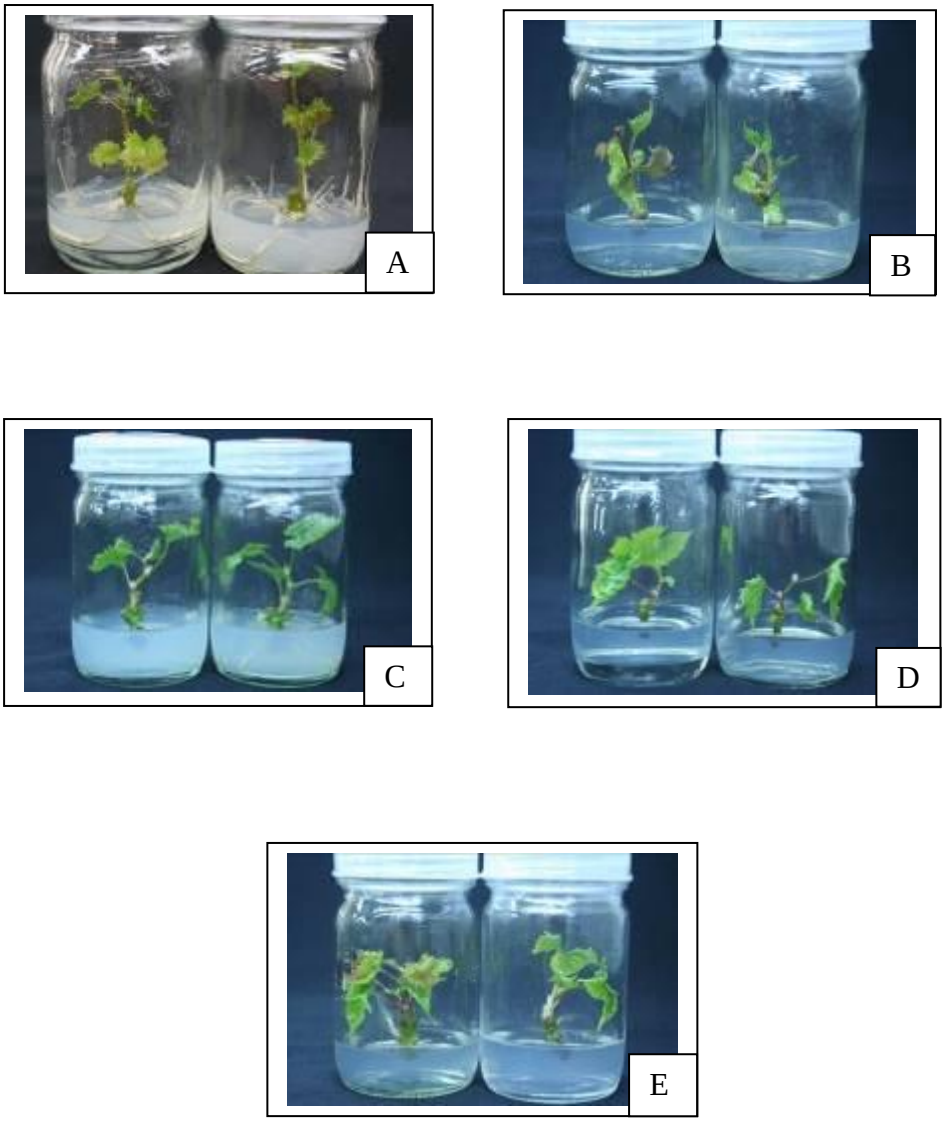
ตารางที่ 27 แสดงค่าเฉลี่ยความสูง จำนวนข้อ จำนวนใบ การเกิดยอด และการเกิดราก ขององุ่นพันธุ์ White Malaka ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นอ่อน (ซม.)	จำนวนข้อ (ต่อต้น)	จำนวนใบ (ต่อต้น)	จำนวนยอด (ต่อต้น)	การเกิดราก

MS + BA	1.86	2.6	2.9	1-3	0
MS + K	2.58	2.6	2.8	1	0-1
1/2MS + BA + NAA	2.74	3.6	3.1	1	1-4
WPM	2.61	2.5	2.6	1-2	0-1
C2D	2.26	2.6	2.6	1	0-1
F-test	ns	ns	ns		
CV. (%)	35.3	37.9	43.9		

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 27 ต้นอ่อนองุ่นพันธุ์ White Malaka ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS+BA+NAA (A), MS+BA (B), MS+K (C), WPM (D) และ C2D (E)

จากผลการทดลองพบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐานสูตรต่างๆ สามารถนำไปใช้ในการอนุรักษ์พันธุกรรมองุ่นในสภาพปลอดเชื้อ ดังนี้ (ตารางที่ 28)

อาหารพื้นฐานสูตร MS+BA พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Black Opal, Black Queen, Cardinal, Dawn Seedless, Exotic, Fanny, Loose Perlette, Pannonia Kinse, Pokdum, Poloskei Muskotary, ตอป่า 5BB, ตอป่า 1613, ตอป่า Harmony, และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร MS+K พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม ได้แก่ Cardinal, Dawn Seedless, Fanny, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Poloskei Muskotary, Red Globe, Shiraz และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร 1/2MS+BA+NAA พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Flame Seedless, Kyoho,
Loose Perlette, Maroo Seedless, Muscat Hamburg, Pannonia Kinse, Perlette Seedless, Poloskei Muskotary และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร WPM พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม ได้แก่ พันธุ์ Black Beauty, Cardinal, Dawn Seedless, Flame Seedless, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Poloskei Muskotary และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร C2D พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม ได้แก่ พันธุ์ Angela, Black Beauty, Black Opal, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Champagne, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Exotic, Flame Seedless, Kyoho, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Pokdum, Poloskei Muskotary, Red Globe,
ตอป่า 5BB, ตอป่า Harmony, และ White Malaga

ตารางที่ 28 สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐานที่เหมาะสมกับองุ่นแต่ละพันธุ์

พันธุ์	สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
1. American Beauty	MS+BA, 1/2MS+BA+NAA
2. Angela	C2D
3. Black Beauty	C2D, WPM
4. Black Opal	C2D, MS+BA
5. Black Queen	MS+BA, C2D, 1/2MS+BA+NAA
6. Black Rose	1/2MS+BA+NAA, C2D
7. Cardinal	1/2MS+BA+NAA, MS+BA, MS+K, WPM, C2D
8. Champagne	C2D
9. Crimson Seedless	1/2MS+BA+NAA, C2D
10. Dawn Seedless	WPM, MS+BA, MS+K, 1/2MS+BA+NAA, C2D
11. Exotic	MS+BA, C2D
12. Fanny	MS+BA, MS+K
13. Flame Seedless	C2D, WPM, 1/2MS+BA+NAA
14. Kyoho	1/2MS+BA+NAA, C2D
15. Loose Perlette	MS+BA, 1/2MS+BA+NAA
16. Maroo Seedless	1/2MS+BA+NAA, WPM, C2D, MS+K
17. Muscat Hamburg	1/2MS+BA+NAA
18. Pannonia Kinse	C2D, WPM, 1/2MS+BA+NAA, MS+K, MS+BA
19. Perlette	1/2MS+BA+NAA
20. Pokdum	MS+BA, C2D
21. Poloskei Muskotary	1/2MS+BA+NAA, C2D, MS+BA, MS+K, WPM
22. Red Globe	MS+K, C2D

23. Shiraz	MS+K
24. ตอป่า 5BB	MS+BA, C2D
25. ตอป่า 1613	MS+BA
26. ตอป่า Harmony	MS+BA, C2D
27. White Malaka	1/2MS+BA+NAA, MS+BA, MS+K, WPM, C2D

และจากการทดสอบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐานในพันธุ์องุ่นจำนวน 27 พันธุ์ดังกล่าว พบว่าองุ่นแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ละสูตรต่างๆ กัน ในการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เจริญจากตาข้าง การแตกยอด และการเกิดราก ซึ่งอาหารสูตร C2D สามารถใช้อนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อในองุ่นจำนวน 20 พันธุ์ จึงมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นสูตรอาหารพื้นฐาน ที่จะนำมาดัดแปลงในการอนุรักษ์พันธุกรรมองุ่นในสภาพชะลอการเจริญเติบโตและสภาพเยือกแข็งต่อไปได้ โดย Mayerson และคณะ (1994) เลี้ยงปลายยอดองุ่น จำนวน 13 พันธุ์ ในอาหาร C2D ที่เติม BA 5 ไมโครโมล พบว่าองุ่นบางพันธุ์เจริญได้ดี ส่วนในอาหารสูตร MS+BA และ 1/2MS+BA+NAA ก็สามารถใช้กับพันธุ์องุ่นถึง 15 พันธุ์ โดยกรมส่งเสริมการเกษตร (2546) ใช้สูตรอาหารสูตร MS+BA ในการส่งเสริมการขยายพันธุ์องุ่นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นเดียวกัน ซึ่งการเติมไซโตไคนินที่เหมาะสมจะช่วยให้มีการเกิดยอดได้ดี (Mohammad และคณะ 2008, Shahrour และ Arebiat 2009, Aazami 2010) โดยพบว่า BA เป็นไซโตไคนินที่ดีที่สุดในการชักนำการพัฒนาให้เกิดยอดในองุ่น (Abido และคณะ)

ในอาหารสูตร MS+K ใช้ได้ดีในองุ่นจำนวน 9 พันธุ์ และอาหารสูตร WPM สามารถใช้ได้ดีกับองุ่นจำนวน 8 พันธุ์ โดยอาหารสูตร MS+K ยอดจะค่อนข้างยืดได้ดี ส่วนสูตร WPM มักใช้ได้ดีในพืชที่มีลักษณะเป็นเนื้อไม้Ayman และคณะ (2011) ศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อองุ่น 3 สูตร ได้แก่ C2D, MS และ WPM พบว่าในการชักนำให้เกิดยอด สูตร C2D ให้ผลดีที่สุด ตามด้วยอาหารสูตร MS ในขณะที่อาหารสูตร WPM ไม่เหมาะกับการเจริญของต้นอ่อนเนื่องจากยอดส่วนมากมีลักษณะฉ่ำน้ำเหมือนสภาพแก้ว และในการทดลองของ Gray และ Benton (1990; 1991) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขยายพันธุ์องุ่น Muscadine ในอาหารสูตรพื้นฐาน 4 สูตร ได้แก่ MS, 1/2MS, C2D และ WPM พบว่าตาข้างที่เลี้ยงอาหารสูตร WPM การเกิดยอดจะมีสภาพแก้วและใบหลุดร่วง ในขณะอัตราการเกิดยอดของตาข้างองุ่นที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS, 1/2MS, C2D มีจำนวนไม่แตกต่างกัน แต่ในอาหารสูตร WPM สร้างยอดที่แคระแกรน และยอดองุ่นพันธุ์ลูกผสม Blanc do Bois ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS และ C2D ให้ผลการเจริญของยอดที่ดี (Gray และ Kiein, 1989) อย่างไรก็ดีเมื่อมีการชักนำให้เกิดยอดได้ดีแล้ว ก่อนที่จะนำออกปลูก ต้องมีการชักนำให้เกิดราก ซึ่งการเติมฮอร์โมนชักนำยอดและรากจึงมีความสำคัญ ต้องเติมให้ได้ปริมาณที่เหมาะสม ในแต่ละพันธุ์ รวมทั้งเทคโนโลยีการนำออกปลูกต้องปลูกในวัสดุปลูกที่เหมาะสมและมีสภาพการดูแลที่ดีจะทำให้ได้ต้นพันธุ์องุ่นที่ดี ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป และจากข้อมูลพื้นฐานเหล่านี้จะช่วยให้การอนุรักษ์พันธุกรรมองุ่นในสภาพปลอดเชื้อ สภาพชะลอการ

เจริญเติบโต และสภาพเยือกแข็งได้มีการพัฒนาต่อไป นอกจากนี้องุ่นส่วนหนึ่งมีข้อมูลการประเมินจากกิจกรรมการสำรวจ รวบรวม และประเมินลักษณะพันธุกรรมองุ่นของไทย ภายใต้ความร่วมมือไทย-ฮังการีอีกด้วย

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการนำตาข้างต้นพันธุ์องุ่น จำนวน 27 พันธุ์ ทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรพื้นฐาน จำนวน 5 สูตร เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อสรุปได้ดังนี้

อาหารพื้นฐานสูตร MS+BA พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 15 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Black Opal, Black Queen, Cardinal, Dawn Seedless, Exotic, Fanny, Loose Perlette, Pannonia Kinse, Pokdum, Poloskei Muskotary, ตอป่า 5BB, ตอป่า 1613, ตอป่า Harmony, และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร MS+K พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 9 พันธุ์ ได้แก่ Cardinal, Dawn Seedless, Fanny, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Poloskei Muskotary, Red Globe, Shiraz และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร 1/2MS+BA+NAA พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 15 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Flame Seedless, Kyoho, Loose Perlette, Maroo Seedless, Muscat Hamburg, Pannonia Kinse, Perlette Seedless, Poloskei Muskotary และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร WPM พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 8 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Black Beauty, Cardinal, Dawn Seedless, Flame Seedless, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Poloskei Muskotary และ White Malaga

และอาหารพื้นฐานสูตร C2D พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 20 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Angela, Black Beauty, Black Opal, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Champagne, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Exotic, Flame Seedless, Kyoho, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Pokdum, Poloskei Muskotary, Red Globe, ตอป่า 5BB, ตอป่า Harmony, และ White Malaga

ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการคัดเลือกสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐานที่เหมาะสมกับองุ่นแต่ละพันธุ์แบบโดยรวม ซึ่งต้องนำไปพัฒนาต่อเพื่อให้ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเก็บรักษาพันธุกรรมให้มากยิ่งขึ้น และอาจต้องมีการปรับเปลี่ยนปริมาณฮอร์โมนที่เติมลงไปให้เหมาะสมด้วย ทั้งนี้การนำต้นออกจากขวดเพื่อปลูกในสภาพธรรมชาติ ต้องทำการศึกษาวัสดุปลูกให้เหมาะสมเพื่อการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ของต้นพันธุ์องุ่น

.

ชื่อการทดลองที่ 20 : เทคนิคการขยายพันธุ์นรีรัตน์ (*Petrocosmea pubescence*) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ

: ***In vitro*** **Multiplication Technique of** ***Petrocosmea pubescens*****, an Endemic Species in Thailand**

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวพัฒน์นรี รักษ์คิด

ผู้ร่วมงาน : นางสาวพัชร ปิริยะวินิตร

นางสาวอัสนี ส่งเสริม
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ (Key words)

การอนุรักษ์ *Petrocosmea* spp., micropropagation, Gesneriaceae

บทคัดย่อ

นรีรัตน์เป็นพืชถิ่นเดียวของไทยพบได้เฉพาะที่ดอยตุง จ.เชียงราย ปัจจุบัน IUCN ได้จัดสถานภาพให้อยู่ในระดับพืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ จึงได้นำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ในการเพิ่มจำนวนประชากรเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมพืชชนิดนี้ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มปริมาณต้นนรีรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาวิธีการและชิ้นส่วนที่เหมาะสำหรับฟอกฆ่าเชื้อนรีรัตน์ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดนรีรัตน์โดยการนำฝักแก่จุ่มแอลกอฮอล์ 95% และผ่านไฟ 3 ครั้งแล้วเคาะเมล็ดออกมาเพาะเลี้ยง จะทำให้ได้ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 50% และการทดลองแปรผันความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของต้นนรีรัตน์เพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อคือ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม IBA 0.5 มก./ล. สร้างจำนวนยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 11.4 ยอด/ชิ้นส่วน ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IBA พบว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อ

ABSTRACT

Petrocosmea pubescens is an endemic species of Thailand, found only on Doi Tung, Chiang Rai province. According to IUCN, this species has been classified as Vulnerable. Therefore, this research tried to apply tissue culture techniques to multiply and conserve this species. This research is conducted by studying sterilization method and parts of plant which are suitable for *in vitro* multiplication. The result showed that sterilization by dipping pod of *P. pubescens* in 95% ethanol then quickly moved the pod over flame for 3 times before culture seed on media was the most effective method as it resulted in 50% sterilized seed that could germinate and complete its growth. Various concentrations of plant growth regulators (auxin and cytokinin) were also examined. The results indicated that after 3 months of culture, the highest shoot number of *P. pubescens* (11.4 shoots per explant) was obtained from MS basal medium supplemented with 0.5 mg/L IBA while the media supplemented with BA and IBA were found to have no effect on increasing number of shoot.

บทนำ (Introduction)

พืชวงศ์ Gesneriaceae ที่พบทั่วโลกมีประมาณ 150 สกุล 3,700 ชนิด มีทั้งพืชที่ปลูกเป็นการค้า เช่น แอฟริกันไวโอเลต (*Saintpaulia ionantha*) และกล๊อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*) บางชนิดเป็นพืชถิ่นเดียว เช่น *Haberlea rhodopensis* พืชถิ่นเดียวของประเทศบัลแกเรีย บางชนิดเป็นพืชใกล้สูญพันธุ์ เช่น *Dayaoshania cotinifolia* (Daskalova, *et al*., 2010) มีการใช้ประโยชน์พืชวงศ์นี้ในต่างประเทศ ทั้งในยุโรปและอเมริกาได้มีการนำมาปลูกเพาะเลี้ยง ปรับปรุงพันธุ์เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีคุณค่ามากมาย จนสามารถตั้งเป็นสมาคม คือ African Violet Society of America (A.V.S.A.) สกุลที่ได้เคยถูกนำมาใช้ประโยชน์เช่น *Saintpaulia, Streptocarpus, Sinningia, Aeschynanthus, Achimenes, Episcia, Columnea* และ *Nematanthus* มีรายงานการใช้ประโยชน์จากพืชวงศ์นี้เพื่อเป็นพืชสมุนไพร เช่น *Didymocarpus pedicellata* ชื่อสามัญคือ stone flower ที่ประเทศอินเดียใช้พืชชนิดนี้ในการรักษาโรคนิ่วในไตและนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ (ปราณี และวิไลวรรณ, 2549) Otero *et al*. (2000) ได้ศึกษาการใช้ต้น *Stauranthera grandiflora* เพื่อใช้รักษาพิษจากการถูกงูกัด ในประเทศไทยมีการนำพืชวงศ์นี้มาใช้ประโยชน์เป็นพืชสมุนไพรแก้ปวดเมื่อย (วงศ์สถิตย์, 2553)

จากการรายงานของ Burtt ในปี ค.ศ. 2001 พบพืชวงศ์ Gesneriaceae ในประเทศไทยประมาณ 26 สกุล 150 ชนิด โดยพืชสกุล *Petrocosmea* ที่พบในประเทศไทยมีเพียง 6 ชนิด ได้แก่ *Petrocosmea formosa, P. heterophylla, P. kerrii, P. umbelliformis*, *P. bicolor* และ *P. pubescens* ซึ่ง *P. pubescens* ชื่อสามัญคือ นรีรัตน์ เป็นพืชสกุล *Petrocosmea* ชนิดล่าสุดที่พบในประเทศไทย จากการออกสำรวจพืชทางภาคเหนือในระหว่าง กันยายน 2551 ถึงกันยายน 2552 โดยคณะนักวิชาการเกษตรของสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

นรีรัตน์ (*Petrocosmea pubescens* D.J. Middleton & Triboun) เป็นพืชถิ่นเดียวของไทย (Endemic of Species in Thailand) ปัจจุบัน IUCN (International Union for Conservation of Nature Natural resources) ได้จัดสถานภาพของต้นนรีรัตน์ ให้อยู่ในระดับพืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ (VU: Vulnerable) จากการสำรวจพบประชากรต้นนรีรัตน์น้อยกว่า 500 ต้น พบได้เฉพาะที่ดอยตุง อ.แม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย โดยขึ้นบนหินปูนในป่าดิบเขา ที่ระดับความสูง 1,350-1,400 เมตร บริเวณถิ่นที่พบมีการถูกคุกคามจากมนุษย์ ซึ่งหากไม่มีการเร่งขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนประชากร อนาคตอันใกล้นี้ต้นนรีรัตน์อาจอยู่ในสภาวะที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ (Triboun and Middleton, 2012) ต้นนรีรัตน์มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก เหง้ามีขนหนาแน่น ใบเรียงแผ่ที่โคน มีก้านใบ แผ่นใบเกือบกลมหรือรูปไข่ แผ่นใบมีขนสั้นนุ่มหนาแน่นทั้งสองด้าน ก้านใบยาวมีขนหนาแน่น ช่อดอกแบบช่อซี่ร่ม ออกจากเหง้า มี 1-2 ดอก ก้านช่อมีขนยาวหนาแน่น กลีบเลี้ยง 5 กลีบมีขนยาวด้านนอก กลีบรูปแถบ 2 กลีบบนแยกกัน 3 กลีบล่างเชื่อมติดกัน กลีบดอกรูปปากเปิดสีม่วงเข้ม มีขนสั้นนุ่มกระจายด้านนอก มีต่อมเล็กๆ ภายในหลอดและโคนกลีบ เกสรเพศผู้ 2 อัน ติดกันภายในโคนหลอดกลีบ ก้านชูอับเรณูมีต่อมกระจาย เกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน มีขนและต่อมหนาแน่น ก้านเกสรเพศเมีย มีขนช่วงล่าง (Middleton and Triboun, 2010) ต้นนรีรัตน์มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นพืชไม้ดอกไม้ประดับประเภทกระถาง โดยอาจนำมาพัฒนาให้เป็นพันธุ์ปลูกโดยตรงหรือใช้ในการผลิตเป็นพันธุ์ลูกผสม เนื่องจาก

ดอกมีสีม่วงเข้มและใบมีรูปทรงที่สวยงาม (Shaw, 2011) ในขณะที่ประเทศจีนได้มีการศึกษาถึงศักยภาพการใช้ประโยชน์ทางยาตลอดจนการพัฒนาวิธีการผสมข้ามชนิดในพืชสกุล *Petrocosmea* (Ji, 2008)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถขยายพันธุ์ได้เร็วและจำนวนมาก แต่มีข้อเสียอยู่คือต้นทุนในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการค่อนข้างสูง และขั้นตอนในการปฏิบัติการขยายพันธุ์ค่อนข้างยาก ถ้าเทียบกับการขยายพันธุ์ไม้ดอก กล้วยไม้ หรือไม้ประดับ เพราะว่าสมุนไพรในแต่ละชนิดจะมียาง ซึ่งในยางนั้นจะมีตัวยาแตกต่างกันไป และตัวยาในยางของสมุนไพรนี่เองที่มักจะทำปฏิกิริยากับธาตุอาหารสังเคราะห์ที่ใช้เลี้ยงต้นพืชสมุนไพร บางครั้งอาจทำให้พืชนั้นไม่เจริญเติบโต ไม่แตกกอ ไม่ดูดสารอาหาร และจะทำให้พืชนั้นตายในที่สุด แต่ถ้าหากทดลองสูตรอาหารได้สูตรที่เหมาะสมกับพืชนั้นๆ ก็จะเจริญเติบโตได้ดี

การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชโดยใช้พื้นที่น้อยในการอนุรักษ์ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและปลอดจากภัยธรรมชาติ (อรดี, 2539) ซึ่งสอดคล้องกับ Siddique และคณะ (2003) ที่รายงานว่าการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความสำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาและการอนุรักษ์ทรัพยากรพืชในระยะยาวโดยเฉพาะพืชถิ่นเดียว พืชหายาก และพืชใกล้สูญพันธุ์ มีการรายงานเกี่ยวกับการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในวงศ์ Gesneriaceae หลายสกุล แต่ยังไม่พบรายงานการเพาะเลี้ยงพืชสกุล *Petrocosmea* ในสภาพปลอดเชื้อ เช่น Sunpui และ Kanchanapoom (2002) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Saintpaulia ionantha* โดยใช้ชิ้นส่วนใบ ก้านใบ และลำต้น เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่าชิ้นส่วนใบและก้านใบให้ความถี่ในการเกิดยอดสูง โดยสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดรวมจากชิ้นส่วนก้านใบ คือ MS เติม BA 3 มก./ล. และชิ้นส่วนใบคือ MS เติม TDZ 0.5 มก./ล. North และ Nadakidemi (2012) ศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ *Streptocarpus rexii* โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนินในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม IAA 1 มก./ล. ร่วมกับ BA 1 มก./ล. ทำให้ได้จำนวนต้นที่มีปริมาณมากที่สุด Tang และ Lin (2007) ได้รายงานผลการศึกษาเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ *Chirita longgangensis* ซึ่งเป็นพืชถิ่นเดียวและใกล้สูญพันธุ์ของจีนโดยสามารถชักนำให้เกิด somatic embryo ได้เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. โดยได้ประมาณ 24 ต้น และสามารถชักนำให้เกิดรากได้เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม IAA 0.1 มก./ล. Kazak และคณะ (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด *Kohleria amabilis* โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ได้แก่ ½ MS, MS, B5, NN และ WPM ที่เติม BA 1 มก./ล. พบว่าอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

การทดลองนี้เป็นการศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์ต้นนรีรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อลดความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ และเป็นการเพิ่มจำนวนประชากรให้มีปริมาณมาก ก่อนที่จะเข้าสู่การพัฒนาวิธีการนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน และการคืนพืชสู่ถิ่นธรรมชาติต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

อุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต่างๆ ของต้นนรีรัตน์ และอุปกรณ์เก็บตัวอย่างพืช

2. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืช

3. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashige and Skoog (MS)

4. สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน คือ indole-3-butyric acid (IBA) และกลุ่มไซโคไคนิน คือ 6-benzyladenine (BA)

5. อุปกรณ์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

7. วัสดุเพาะปลูก เช่น กระถาง ดินผสม หินเพอร์ไลท์ เม็ดดินเผา และพีทมอส

วิธีการ

1. สำรวจ และรวบรวม ตัวอย่างต้นนรีรัตน์ จากแหล่งธรรมชาติ ที่บริเวณเขาหินปูนยอดดอยตุง อ.แม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย จดบันทึกลักษณะพืชและแหล่งที่พบ

2. ศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นนรีรัตน์

2.1. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบด้วยสารละลาย Clorox โดยทำความสะอาดชิ้นส่วนใบของต้นนรีรัตน์ด้วยน้ำสบู่ แล้วล้างน้ำสบู่ออกให้หมด แช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 10 วินาที ตัดชิ้นส่วนใบให้มีขนาด 1 x 1 ซม. ก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox 10 % นาน 15 นาที หยดสาร Tween 20 จำนวน 1-2 หยด ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 10-15 นาที ตัดชิ้นส่วนใบให้มีขนาดประมาณ 0.6 x 0.6 ซม. นำชิ้นส่วนใบเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS นาน 3 เดือน เก็บข้อมูลร้อยละของการรอดชีวิตที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร

2.2. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบด้วยสารละลาย $HgCl_2$ โดยทำความสะอาดชิ้นส่วนใบของต้นนรีรัตน์ด้วยน้ำสบู่ แล้วล้างน้ำสบู่ออกให้หมด แช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 10 วินาที ตัดชิ้นส่วนใบให้มีขนาด 1 x 1 ซม. ก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย $HgCl_2$ เข้มข้น 0.2 และ 0.4% หยดสาร Tween 20 1-2 หยด ฟอกนาน 3 และ 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 10-15 นาที ตัดชิ้นส่วนใบให้มีขนาดประมาณ 0.6 x 0.6 ซม. นำชิ้นส่วนใบเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS นาน 3 เดือน เก็บข้อมูลร้อยละของการรอดชีวิตที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลาย $HgCl_2$ และระยะเวลา (นาที) ที่เหมาะสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบของต้นนรีรัตน์

2.3. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนฝักที่ยังไม่สุกแก่เต็มที่ โดยนำฝักที่ยังไม่สุกแก่เต็มที่ของต้นนรีรัตน์จุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปผ่านไฟ 3 ครั้ง ตัดปลายฝัก บิดและเคาะฝักเพื่อให้เมล็ดออก เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS นาน 3 เดือน เก็บข้อมูลร้อยละของการรอดชีวิตที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร

2.4. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนฝักแก่ โดยนำฝักแก่ของต้นนรีรัตน์จุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปผ่านไฟ 3 ครั้ง ตัดปลายฝัก บิดและเคาะฝักเพื่อให้เมล็ดออก เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS นาน 3 เดือน เก็บข้อมูลร้อยละของการรอดชีวิตที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร

3. ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตรต่างๆ สำหรับการเพาะเลี้ยงใบนรีรัตน์

ต้นนรีรัตน์ที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อ (จากข้อ 2) และเพาะเลี้ยงจนได้เป็นต้นที่สมบูรณ์ เลือกใบที่มีขนาดเท่าๆ กันประมาณ 0.8 x 0.8 ซม. เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ จำนวน 15 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบกลุ่มโตไซโตไคนิน (BA) ความเข้มข้น 5 ระดับคือ 0, 0.1, 0.5, 1 และ 1.5 มก/ล. ร่วมกับกลุ่มออกซิน (IBA) ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0, 0.5 และ 1 มก./ล.

วางแผนการทดลองแบบ 4x3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ ใช้สิ่งทดลองคืออาหารทั้ง 15 สูตร ข้างต้น โดยปัจจัยที่ 1 คือระดับความเข้มข้นของ BA จำนวน 5 ระดับได้แก่ 0, 0.1, 0.5, 1 และ 1.5 มก/ล. ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของ IBA จำนวน 3 ระดับได้แก่ 0, 0.5 และ 1 มก./ล. เก็บข้อมูลโดยการนับจำนวนยอดและตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

เวลาและสถานที่

เริ่มการทดลองปี 2557 ถึง 2558 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร จ.ปทุมธานี

ผลการวิจัย (Results)

1.สำรวจ และรวบรวม ตัวอย่างต้นนรีรัตน์ จากแหล่งธรรมชาติ

จากการสำรวจ และรวบรวม ได้ต้นนรีรัตน์ 5 ต้น ฝักแก่ 2 ฝัก และฝักที่ยังไม่สุกแก่เต็มที่ 2 ฝัก เนื่องจากต้นนรีรัตน์ขึ้นบนหินปูนในป่าดิบเขา พบได้เฉพาะที่ดอยตุง อ.แม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย จากการสำรวจพบประชากรต้นนรีรัตน์เหลือเพียงไม่เกิน 500 ต้น และพบเพียงจุดเดียว ไม่มีการกระจายตัว (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 สภาพต้นนรีรัตน์ในแหล่งธรรมชาติ

จากการศึกษาลักษณะต้นนรีรัตน์ในแหล่งธรรมชาติ (ภาพที่ 2) พบว่า นรีรัตน์เป็นพืชล้มลุก เหง้ามีขนหนาแน่น ใบเรียงแผ่ที่โคน มีก้านใบ แผ่นใบเกือบกลมหรือรูปไข่ และมีขนสั้นนุ่มหนาแน่นทั้งสองด้าน ก้านใบยาวและมีขนหนาแน่น (ภาพที่ 3a) ดอกสีม่วงเข้มฝัก ผลแห้งลักษณะเรียวยาวขนาดประมาณเมล็ดข้าว ภายในฝักแก่ประกอบด้วยเมล็ดสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กเป็นผงจำนวนมาก ส่วนเมล็ดในฝักที่ยังไม่แก่เต็มที่ มีสีน้ำตาลอ่อนๆ เป็นผงจำนวนมากและค่อนข้างชื้น (ภาพที่ 3b)

ภาพที่ 2 ลักษณะทรงต้น ใบ และดอกนรีรัตน์ ในสภาพธรรมชาติ

ภาพที่ 3 ลักษณะต้นนรีรัตน์ (a) และฝัก (b) จากแหล่งธรรมชาติ

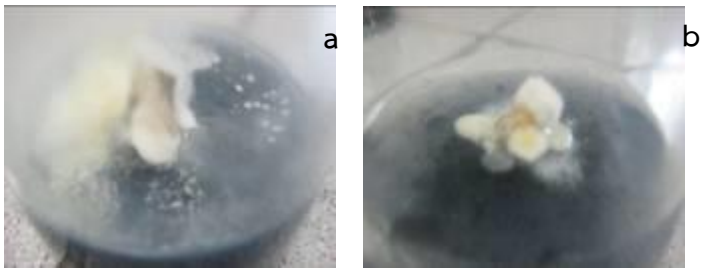
2. ศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับชิ้นส่วนต้นนรีรัตน์

เมื่อได้ตัวอย่างพืชจากแหล่งธรรมชาติ (ภาพที่ 1) ต้นนรีรัตน์และฝัก ซึ่งในแหล่งธรรมชาติมีปริมาณที่จำกัด ดังนั้นจึงได้ตัวอย่างชิ้นส่วนพืชมาศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อปริมาณจำกัด การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย $HgCl_2$ จึงได้นำมาใช้สำหรับฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบในการศึกษาครั้งนี้ การศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นนรีรัตน์ แบ่งออกเป็น 4 การทดลองย่อย ได้ผลดังนี้

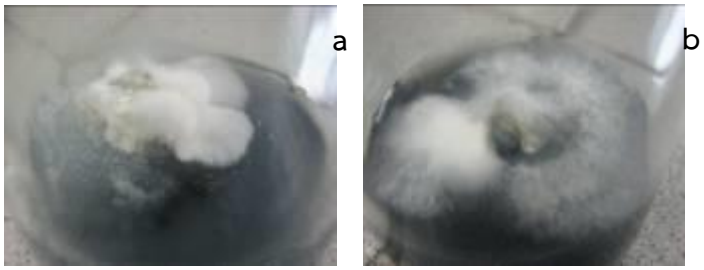
2.1. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบด้วยสารละลาย Clorox จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบนรีรัตน์ด้วยสารละลาย Clorox เข้มข้น 10 % นาน 15 นาที พบว่าชิ้นส่วนใบที่ได้มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 100% (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 4 ชิ้นส่วนใบที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox 10% นาน 15 นาที

2.2. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบด้วยสารละลาย $HgCl_2$ เข้มข้น 0.2 และ 0.4% นาน 3 และ 5 นาที พบว่าชิ้นส่วนใบที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 100% (ภาพที่ 5a และ 5b) และ (ภาพที่ 6a และ 6b)

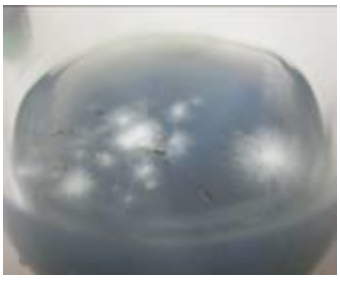


ภาพที่ 5 ชิ้นส่วนใบที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อด้วย $HgCl_2$ 0.2% นาน 3 นาที (a) และ นาน 5 นาที (b)



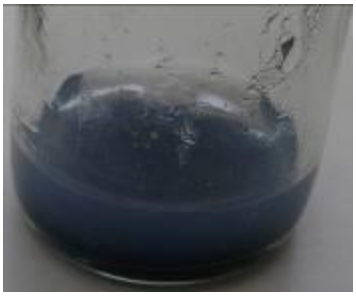
ภาพที่ 6 ชิ้นส่วนใบที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อด้วย $HgCl_2$ 0.4% นาน 3 นาที (a) และ นาน 5 นาที (b)

2.3. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนฝักที่ยังไม่สุกแก่เต็มที่ โดยนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปลนผ่านไฟ 3 ครั้ง พบว่าได้ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 100% (ภาพที่ 7)



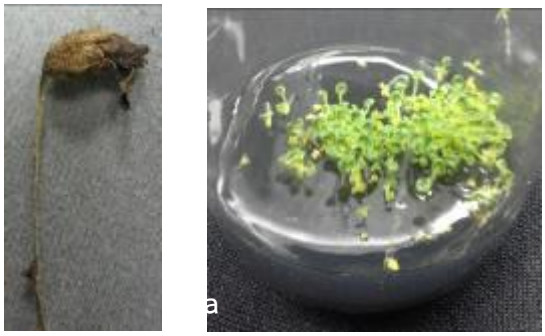
ภาพที่ 7 เมล็ดที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อฝักที่ไม่สุกแก่โดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% และลนผ่านไฟ 3 ครั้ง

2.4. ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนฝักแก่ โดยนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปลนผ่านไฟ 3 ครั้ง พบว่า ได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อจุลินทรีย์และสามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 50% (ภาพที่ 8)



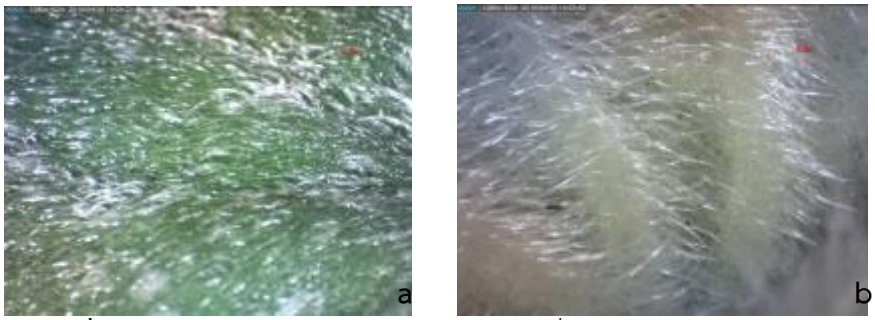
ภาพที่ 8 เมล็ดที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อฝักที่สุกแก่โดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% และลนผ่านไฟ 3 ครั้ง

จากการศึกษาพบว่านรีรัตน์ต้องใช้ฝักแก่จึงเหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อ (ภาพที่ 9a) โดยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% และลนผ่านไฟ 3 ครั้ง เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อจะได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อจุลินทรีย์และสามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 50% เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS นาน 3 เดือน (ภาพที่ 9b) ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนฝักที่ยังไม่สุกแก่เต็มที่นั้น ได้ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 100% อาจเนื่องจากเมล็ดยังไม่มีการพัฒนาเต็มที่ ประกอบกับเมล็ดภายในฝักมีความชื้นค่อนข้างสูงจึงทำให้ง่ายต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด



ภาพที่ 9 ลักษณะฝักแก่ของต้นนรีรัตน์ (a) และต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง (b)

การศึกษาฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบนรีรัตน์ พบว่าชิ้นส่วนแผ่นใบไม่เหมาะสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากใบของต้นนรีรัตน์มีขนลักษณะสั้นๆ สีขาวปกคลุมค่อนข้างหนาแน่นและราบไปกับพื้นผิวทั้งบริเวณด้านบนและใต้ของแผ่นใบ (ภาพที่ 10a และ 10b) และสภาพถิ่นที่พบต้นนรีรัตน์ในธรรมชาติเป็นป่าที่มีความชื้นค่อนข้างสูง ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างมาก ทำให้การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย $HgCl_2$ และ Clorox ไม่ได้ผลดี คือพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูง แม้จะมีการเติมสารจับใบ คือ Tween 20 แล้วก็ตาม ในขณะที่พืชบางสกุลในวงศ์ Gesneriaceae นี้ สามารถฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบและสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายปริมาณพืชได้ เช่น สกุล *Saintpaulia* (Cassells *et al*., 1986; Lo *et al*., 1997; Mithila *et al*., 2003; Murch *et al*., 2003) และ *Sinningia* (Sunpui and Kanchanapoom, 2002) เนื่องจากมีการนำมาปลูกในสภาพโรงเรือนจนได้ชิ้นส่วนพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างน้อย หรือพืชสกุลเหล่านี้มักผ่านการพัฒนาสายพันธุ์จนเป็นพืชปลูก จึงมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าพืชที่นำมาจากป่า



ภาพที่ 10 ลักษณะขนบนใบ (a) และใต้ใบ (b) เมื่อใช้กล้องกำลังขยาย 0.8x

3. ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตรต่างๆ สำหรับการเพาะเลี้ยงใบนรีรัตน์

เมื่อได้ชิ้นส่วนนรีรัตน์ที่ปราศจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 3 เดือน จนเป็นต้นที่สมบูรณ์แล้ว จึงตัดใบให้มีขนาดเท่าๆ กัน ขนาดประมาณ 0.8 x 0.8 ซม. (ภาพที่ 11) เพาะเลี้ยงใบนรีรัตน์บนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ จำนวน 15 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มโตไซโตไคนิน (BA) ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.5, 1 และ 1.5 มก./ล. ร่วมกับกลุ่มออกซิน (IBA) ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0, 0.5 และ 1 มก./ล. เพื่อศึกษาการชักนำให้เกิดยอด (multiple shoots)

ภาพที่ 11 เพาะเลี้ยงใบนรีรัตน์บนอาหารสูตรต่างๆ เพื่อชักนำให้เกิดยอด

ตารางที่ 1 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติม BA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดยอดของต้นนรีรัตน์ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน

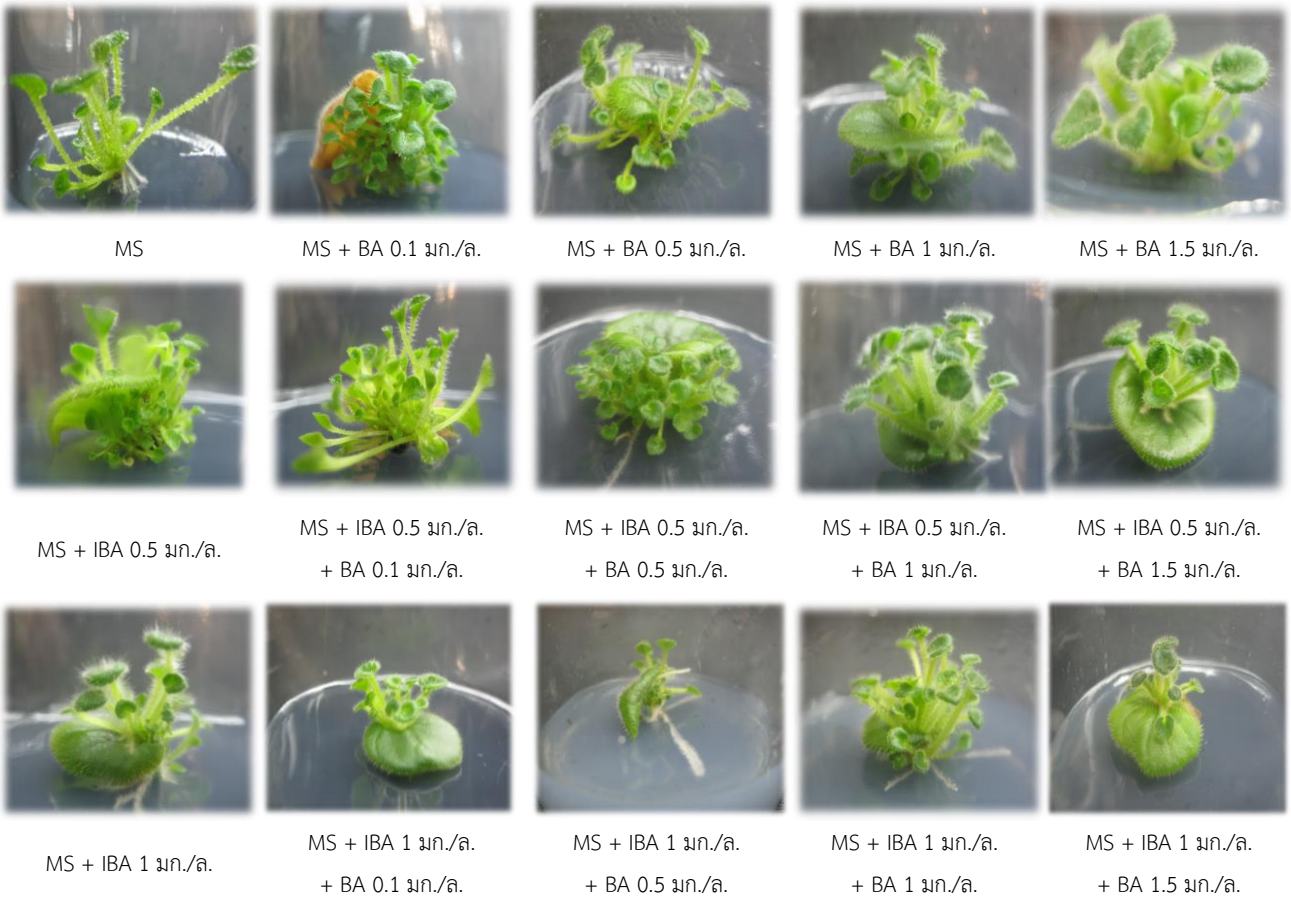
สูตรอาหาร MS +	BA (มก./ล.)					
IBA (มก./ล.)	0	0.1	0.5	1.0	1.5	mean
0	7.1 a	15.5 a	9.8 a	7.4 a	6.5 a	9.3 ab
0.5	16.0 a	9.6 a	14.6 a	10.9 a	6.0 a	11.4 a
1.0	6.6 a	5.6 a	5.6 a	7.3 a	3.9 a	5.8 b
mean	9.9	10.2	10.0	8.5	5.5	8.8
CV (%)	34.23					

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกับในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มออกซิน (IBA) ใช้ตัวอักษร a, b, c

จากการทดลองเพาะเลี้ยงใบนรีรัตน์บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 15 สูตร เป็นเวลา 3 เดือน (ตารางที่ 1) และ (ภาพที่ 12) พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ IBA ไม่มีผลต่อการเพิ่ม

จำนวนยอด คือไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกัน ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 5 ระดับคือ 0, 0.1, 0.5, 1 และ 1.5 มก./ล. ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนยอดนรีรัตน์เช่นเดียวกัน ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA เพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับคือ 0, 0.5 และ 1 มก./ล. มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนยอดต้นนรีรัตน์ โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ทำให้เพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 11.4 ยอด เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบแอฟริกันไวโอเลตพบว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมาก (Daud and Taha, 2008; Ghasemi *et al*., 2012) และการเติม IBA ในปริมาณมากเกินไป มีผลทำให้เกิดจำนวนยอดลดลง ในขณะที่อาหารที่ไม่ใส่ IBA ทำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 9.3 ยอด สอดคล้องกับการรายงานของ Ma และคณะ (2011) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงใบ *Metabriggsia ovalifolia* ซึ่งเป็นพืชวงศ์ Gesneriaceae พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (IAA, IBA และ NAA) ระดับความเข้มข้นต่ำสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก เช่นเดียวกับผลการทดลองเพาะเลี้ยงใบ *Primulima tabacum* บนอาหารเพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวน 32 สูตร พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 6-8 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากถึง 21 ยอดต่อชิ้นส่วน (Ma *et al*., 2011)



ภาพที่ 12 ลักษณะของนรีรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ BA และ IBA เป็นเวลา 3 เดือน

การนำนรีรัตน์ออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปลูกในสภาพโรงเรือน จำเป็นต้องใช้วัสดุปลูกที่มีความโปร่งและมีการเก็บรักษาน้ำค่อนข้างดี แต่ต้องไม่รดน้ำจนแฉะเกินไป วัสดุปลูกที่ใช้มีดังนี้ พีทมอส : ดินผสม : เพอร์ไลท์ : หินภูเขาไฟ อัตราส่วน 2 : 1 : 1 : 1 มีอัตราการรอดชีวิต 20% (ภาพที่ 13)

ภาพที่ 13 แสดงต้นนรีรัตน์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการทดลองฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นนรีรัตน์ ได้เทคนิคที่เหมาะสม คือ ฟอกฆ่าเชื้อฝักแก่โดยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วลนผ่านไฟ 3 ครั้ง และจากการเพาะเลี้ยงใบนรีรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเพิ่มจำนวนยอดพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MS ที่เติม IBA 0.5 มก/ล. ทำให้เพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 11.4 ยอด เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน

ชื่อการทดลองที่ 21 : เทคนิคการขยายพันธุ์ชาฤาษีดอยตุง (*Paraboea doitungensis*) ในสภาพปลอด เชื้อเพื่อการอนุรักษ์

Micropropagation Technique of *Paraboea doitungensis* for Conservation

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวพัชร ปิริยะวินิตร

ผู้ร่วมงาน : นางสาวพัฒน์นรี รักษ์คิด

นางสาวปัณฑารีย์ กาญจนวัฒนาวงศ์

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ (Key words)

ชาฤาษี, การขยายพันธุ์, *Paraboea* spp., Gesneriaceae, new species, regeneration

บทคัดย่อ

ชาฤาษีดอยตุง เป็นพืชหายากถิ่นเดียวของไทย วงศ์ Gesneriaceae จำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ โดยนำตัวอย่างต้นชาฤาษีดอยตุงจากแหล่งธรรมชาติมาศึกษาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อฝักของชาฤาษีดอยตุง 3 วิธี คือจุ่มผักในแอลกอออล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ, บิดฝักเคาะเมล็ดใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และบิดฝักเคาะเมล็ดใส่ในสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 5% พบว่าวิธีจุ่มฝักในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อบิดฝักเคาะเมล็ดใส่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 5% และเขี่ยเมล็ดเลี้ยงบนอาหารเป็นวิธีที่เหมาะสม ทำให้ได้เนื้อเยื่อที่ปลอดการปนเปื้อนของเชื้อ 50 % การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณ โดยนำชิ้นส่วนใบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารกรดแนพทาลีนแอซิติก (NAA) ร่วมกับสารเบนซิลอะดีนิน (BA) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 mg/l พบว่าใบชาฤาษีดอยตุงที่เลี้ยงบนอาหารเติมสาร NAA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 2.48 ยอด และสามารถเพิ่มขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อได้ดีกว่าการใช้สาร BA ร่วมด้วยซึ่งจะทำให้เกิดเป็นพุ่มยอดขนาดเล็กไม่สมบูรณ์ สำหรับการเลี้ยงยอดที่สมบูรณ์บนอาหารสูตร *MS และ ½ MS ร่วมกับการเติมสาร* NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 mg/l พบว่าการเลี้ยงยอดบนอาหาร *½ MS* จะชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าเลี้ยงบนอาหาร MS หรือการใช้ NAA ความเข้มข้นต่างๆ

Abstract

Paraboea doitungensis, an endemic species categorized in Gesneriaceae family, can be found only in Chiangmai province of Thailand. The study on germplasm multiplication by using *in vitro* propagation technique was done in this research. The result showed that appropriate sterilization for this species is immersing mature seed capsules in 95% ethanol followed by burning the outer surface of the capsules. Seeds inside capsule can be sterilized by dipping them in 5% hydrogen peroxide (H_2O_2) and excised seeds were aseptically transferred to MS medium. It was found that this sterilization method can prevent materials from contamination up to 50%. Apart from sterilization technique, shoot multiplication was also conducted in this research. The microplants from leave culture were transferred to MS medium supplemented with Naphthalene acetic acid (AAA) and Benzyladenine (BA). The result showed that adding only 0.1 mg/L NAA induced average number of vigorous shoots at 3.48. Root induction from cultures of those vigorous shoots was also done by transferring them to MS and ½ MS medium supplemented with NAA. The result showed that ½ MS medium supplemented with NAA better induced average number of root and average root length namely 7.29 and 6.62 cm. respectively.

บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศหนึ่งที่ยังมีความสมบูรณ์ของทรัพยากรธรรมชาติและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง มีพันธุ์พืชอยู่เป็นจำนวนมากกว่า 10,000 ชนิด (ราชันย์, 2547) ความหลากหลายของพืชวงศ์ Gesneriaceae ในโลกพบกว่า 3,000 ชนิด เป็นสกุล *Paraboea* ประมาณ 90 ชนิด และมีรายงานพบในประเทศจีนประมาณ 20 ชนิด (Wentsai *et al.*, 1998) จากการสำรวจ รวบรวม และศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธานพรรณไม้ในประเทศไทยของนักวิชาการเกษตร สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร พบพันธุ์พืชชนิดใหม่ของโลก (new species) คือ *Paraboea doitungensis* Triboun & D.J.Middleton จัดอยู่ในวงศ์ Gesneriaceae พืชชนิดนี้เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี 10-30 ซม. แต่อาจสูงได้ถึง 70 ซม. ลำต้นส่วนล่างมีเนื้อไม้แข็ง ใบเดี่ยว 4-10 คู่ เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉากและเรียงชิดกันที่ปลายยอด ก้านมีปีกแคบๆ ใบยาว 6-12 ซม. แผ่นใบเรียว รูปไข่ หรือรูปขอบขนาน ปลายแหลม โคนรูปลิ่น ใต้ใบปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลอ่อน ช่อดอกเป็นช่อกระจุกสั้น ก้านช่อดอกสีแดงเข้มหรือเขียว ยาว 8-35 ซม. ใบประดับเป็นรูปหัวใจหรือเป็นเส้นตรง ออกดอกเป็นคู่ ก้านดอกย่อยยาว 0.6-1.5 ซม. กลีบเลี้ยงสีเขียว 5 กลีบ กลีบดอกเป็นรูประฆัง สีชมพู โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ยาว 7-9 มิลลิเมตร และมีสีชมพูชีดแต้มสีเหลืองจางที่ฐาน เกสรเพศผู้ 2 อันติดอยู่ใกล้ฐานภายในหลอดกลีบดอก ก้านชูอับละอองเรณูสีขาวนวลรูปร่างงอ ยาว 7-10 ซม. อับละอองเรณูสีเหลืองนวล เกสรเพศผู้เป็นหมัน 2-3 อัน ลดรูปจนมีขนาดเล็ก รังไข่เป็นรูปกรวยทรงกระบอกสีเขียวยาว 4-6 มม. ยอดเกสรเพศเมียเป็นตุ่มมีขนปกคลุม ผลแห้งแตกเป็นรูปทรงกระบอกแคบ ยาว 5-6.8 ซม.กว้าง 1.8 มม. ออกดอกและติดฝักช่วงเดือน กรกฎาคมถึงพฤศจิกายน (Triboun and Middleton, 2012)

พืชชนิดนี้อาจมีโอกาสนำมาพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพในด้านการแพทย์โดยการทำเป็นยา เนื่องจากมีรายงานของ Batugal (2004) พบว่ามีการใช้ทุกส่วนของต้น *Paraboea elegans* หรือเรียกว่า Capa batu laut ทำเป็นยารักษาอาการปวดประจำเดือน การใช้ *Paraboea harroviana* หรือ อัมหิน (ชาฤาษีเล็ก) ใช้ทั้งต้นนำมาตำแล้วพอกแก้อาการปวดเมื่อยได้ (วงศ์สถิต, 2553) รวมถึงการพบสาร *Phenylpropanid glycosides* ใหม่ 5 ชนิดใน *Paraboea glutinosa* ซึ่งในประเทศจีใช้พืชชนิดนี้ทำยามีสรรพคุณในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Wang *et al.*, 2011) นอกจากนี้อาจจะเป็นประโยชน์ในด้านเศรษฐกิจ โดยนำมาทำเป็นเครื่องดื่ม เช่นเดียวกับ *Paraboea albida* (Barnett) Puglisi ที่มีรายงานว่ายอดอ่อนเมื่อตากแห้งสามารถนำไปชงดื่มได้แทนใบชา (กรมวิชาการเกษตร, 2554) นอกจากนี้พืชชนิดนี้ยังเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากเป็นพืชเฉพาะถิ่นของประเทศไทย ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในบริเวณจำกัดไม่เกิน 100 ตร.กม. และต้องอาศัยปัจจัยแวดล้อมที่มีความเฉพาะสำหรับการเจริญเติบโต จะพบได้บริเวณยอดเขาหินปูน บริเวณดอยตุง อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,100-1,450 เมตร มักถูกบุกรุกพื้นที่ในบริเวณที่พืชเจริญเติบโต ทำให้จำนวนประชากรที่มีความสมบูรณ์ลดลง รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมอย่างกะทันหัน การขาดจิตสำนึกและความเข้าใจในการรักษาทรัพยากรเหล่านี้ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการขยายพันธุ์พืชเหล่านี้ มิให้สูญหายไป เพื่อการใช้ประโยชน์เป็นแหล่งทรัพยากรทางชีวภาพในการศึกษาและพัฒนาพันธุ์พืชต่อไป

การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสำคัญในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช เนื่องจากใช้พื้นที่น้อยในการขยายพันธุ์ และเหมาะกับพืชที่มีคุณลักษณะที่เฉพาะ ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและปลอดจากภัยธรรมชาติ (Engelmann, 1997) มีการศึกษาการขยายพันธุ์โดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใน Gloxinia โดยใช้ ใบ ลำต้น และปลายยอด เลี้ยงบนอาหารพบว่าเกิดผลใน 3 ลักษณะ ได้แก่ การพัฒนาเป็นยอดจำนวนมากจากใบโดยใช้ NAA ร่วมกับ BA การเกิด callus จากการใช้ 2,4-D และการชักนำให้เกิดรากโดยใช้ NAA, IAA และ IBA (Wuttisit and Kanchanapoom, 1996) มีรายงานใน *Metabriggsia ovalifolia* พบว่าการชักนำให้เกิดยอดจากใบหรือก้านใบ โดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินปริมาณน้อย (NAA, IBA และ IAA) ร่วมกับกลุ่มไซโตไคนิน (BA และ TDZ) ในปริมาณมากดีกว่าการใช้สารกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งเพียงชนิดเดียว (Ma *et al*., 2010) นอกจากนี้ยังมีการรวบรวมข้อมูลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ African Violets โดย Jungnickel และ Zaid ในปี 1992 พบว่าสามารถขยายพันธุ์ได้จากชิ้นส่วนหลายชนิด ได้แก่ ใบ ก้านใบ ตา อับละอองเรณู และเมล็ด เป็นต้น ซึ่งจะเหมาะสมกับสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ จึงต้องมีการทำการศึกษาให้เหมาะสมในแต่ละชนิดพืช และชิ้นเนื้อเยื่อที่จะนำมาทำการขยายพันธุ์ต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- อุปกรณ์

1. ต้นชาฤาษีดอยตุง

2. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และสารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

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

- วิธีการ

1. สำรวจและรวบรวม ตัวอย่างชาฤษีดอยตุง จากแหล่งธรรมชาติ

พบว่าต้นชาฤษีดอยตุงมีการเจริญเติบโตบนพื้นที่ยอดเขาหินปูน บริเวณดอยตุง อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ซึ่งมีช่วงฤดูการออกดอกและติดฝักระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงพฤศจิกายน

2. ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อฝักชาฤษี โดยการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาฝักแบ่งเป็น 3 วิธีการดังนี้

2.1 โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและแคะเอาเมล็ดออกเลี้ยงบนอาหาร โดยเพาะใส่อาหารเคาะให้เมล็ดลงบนอาหารให้มีปริมาณเมล็ดต่อขวดใกล้เคียงกัน

2.2 โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและแคะเอาเมล็ดใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (จิตราพรรณ, 2536) โดยฝักชาฤษีดอยตุง 1 ฝักต่อน้ำ 2.5 มล. หลังจากนั้นดูดน้ำออกแล้วเขี่ยเมล็ดเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้

2.3 นำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและแคะเอาเมล็ดใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งมีส่วนผสมของสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ (H_2O_2) 5 % อัตราส่วน 2:1 (จิตราพรรณ, 2536) โดยฝักชาฤษีดอยตุง 1 ฝักต่อสารละลาย 2.5 มล. หลังจากนั้นดูดสารละลายออกแล้วเขี่ยเมล็ดเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้

นำมาเพาะบนอาหารสูตร MS โดยทำ 5 ซ้ำ เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ 24-27 องศาเซลเซียส ชั้นติดตั้งไฟสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความสว่างประมาณ 2,000 ลักซ์ ควบคุมเวลาปิดเปิดไฟกำหนดระยะเวลาการให้ความสว่าง 16 ชั่วโมง และบันทึกจำนวนการปลอดการปนเปื้อนของเชื้อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

3. ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อใบ โดยนำชิ้นส่วนที่เตรียมไว้มาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน แล้วล้างน้ำประปาแบบไหลผ่านให้สะอาด จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ (Clorox) ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 5 % นาน 5, 10, 15 และ 20 นาที วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in completely randomized design; CRD) แล้วนำใบที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตัดให้มีขนาด 1 × 1 ตร.ซม. เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS จำนวน 4 ซ้ำ และบันทึกจำนวนการปลอดการปนเปื้อนของเชื้อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ของต้นชาฤษีดอยตุง

เลือกต้นกล้าชาฤษีดอยตุงจากการฟอกฆ่าเชื้อที่มีขนาดเท่ากันมาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ในขวดขนาด 115 มล.

4.1 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นชาฤษีดอยตุง โดยเลือกใบระยะและขนาดเดียวกันตัดให้มีขนาด 1 × 1 ตร.ซม. เลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in completely randomized design; CRD) จำนวน 6 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอดที่สมบูรณ์ และขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P \leq 0.05$)

4.2 ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นชาฤษีดอยตุง โดยนำยอดสมบูรณ์ความสูง 4 ข้อ เลี้ยงบนอาหารลดปริมาณ MS ได้แก่ ½ MS และ MS ร่วมกับการเติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 5 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง โดยบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอดที่สมบูรณ์ และขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P \leq 0.05$)

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการทดลอง	เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2556 สิ้นสุด กันยายน 2558
สถานที่ดำเนินการ	ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

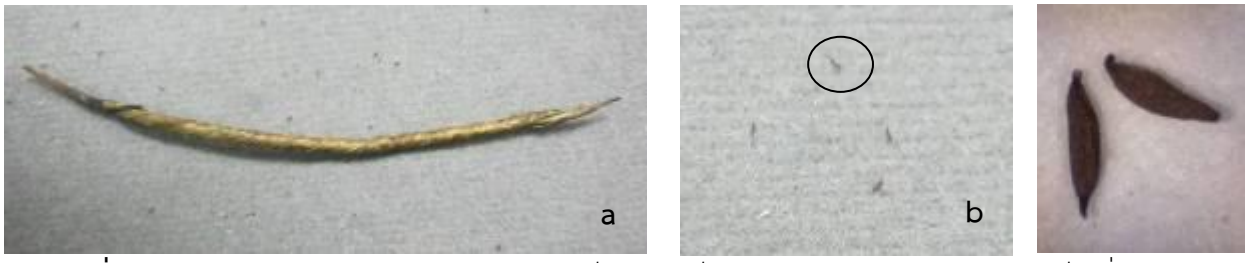
1. สำรวจและรวบรวม ตัวอย่างชาฤษีดอยตุง จากแหล่งธรรมชาติ

ชาฤษีดอยตุงเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นส่วนล่างมีเนื้อไม้แข็ง ใบเรียงตรงข้ามสลับตั้งฉากและเรียงชิดกันที่ปลายยอด ก้านมีปีกแคบๆ แผ่นใบเรียว รูปไข่ หรือรูปขอบขนาน ปลายแหลม โคนรูปลิ่น ใต้ใบปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลอ่อน ช่อดอกเป็นช่อกระจุกสั้น ผลแห้งแตก ต้นชาฤษีดอยตุงพบบนยอดเขาหินปูน อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ต้นมักขึ้นตามซอกของหินปูน เนื่องจากเป็นไม้ล้มลุกเมื่อถึงอายุออกดอกติดฝักต้น

ภาพที่ 1 ลักษณะของต้นชาฤษีดอยตุงในสภาพธรรมชาติ ขึ้นตามซอกหิน (a) ลักษณะต้นที่ติดฝัก (b) และ ลักษณะของช่อฝัก (c)

2. ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อฝักชาฤษีดอยตุง

ฝักของพืชสกุลชาฤษีดอยตุงเป็นฝักแห้งแตกรูปทรงกระบอกแคบ ยาว 5-6.8 ซม. กว้าง 1.8 มม. มีลักษณะบิดเป็นเกลียว ภายในฝักประกอบด้วยเมล็ดจำนวนมาก และเมล็ดมีขนาดเล็กเป็นผง (Tribouն and Middleton, 2012) ขั้นตอนการล้างฝักด้วยน้ำสบู่และน้ำเปล่าให้สะอาดนั้น ต้องระวังไม่ให้ฝักแตก และไม่ควรแช่น้ำอยู่นาน เพราะจะทำให้เมล็ดภายในได้รับความเสียหาย เนื่องจากน้ำซึมผ่านเข้าภายในฝัก ทำให้เมล็ดชื้นและติดกันเป็นก้อน ดังนั้นวิธีการฟอกด้วยคลอร็อกซ์เป็นวิธีที่เสี่ยงต่อการทำให้เมล็ดได้รับความเสียหาย



ภาพที่ 2 ลักษณะของฝักของชาฤษีดอยตุง (a) เมล็ดขนาดเล็กภายในฝัก (b) และ ลักษณะเมล็ดเมื่อใช้กล้องกำลังขยาย 4x (c)

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 1) พบว่าวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อฝักชาฤษีดอยตุง คือ การจุ่มฝักในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วนำไปผ่านไฟฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและแคะเอาเมล็ดใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งมีส่วนผสมของสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ (H_2O_2) 5 % อัตราส่วน 2:1 หลังจากนั้นดูดสารละลายออกแล้วเขี่ยเมล็ดเพาะบนอาหารสูตร MS ซึ่งวิธีการฟอกเมล็ดด้วยการใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ถือได้ว่าเป็นการฟอกฆ่าเชื้อวิธีหนึ่งที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดพันธุ์ เช่น เมล็ดต้น *Aconitum heterophyllum* (Srivastava *et al*., 2010) และเมล็ดกล้วยไม้ (จิตราพรรณ, 2536) แต่การฟอกฆ่าเชื้อฝักนครินทรา แม้จะเป็นพืชวงศ์เดียวกันจะใช้เพียงการผ่านไฟฆ่าเชื้อแล้วบิดฝักให้แตกและเคาะเอาเมล็ดออกเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมาะสม (พัชร และคณะ, 2555) อาจเนื่องจากลักษณะของฝักชาฤษีดอยตุงเป็นรูปทรงกระบอกแคบเมื่อได้รับความร้อนทำให้ฝักปริแตก

หรือได้รับความเสียหายได้ง่ายกว่าฝักนครินทราซึ่งเป็นทรงกระบอกกว้างทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อง่ายกว่าฝักนครินทรา โดยเมื่อเพาะเมล็ดบนอาหาร MS นานประมาณ 1 เดือนเมล็ดจะเริ่มงอก

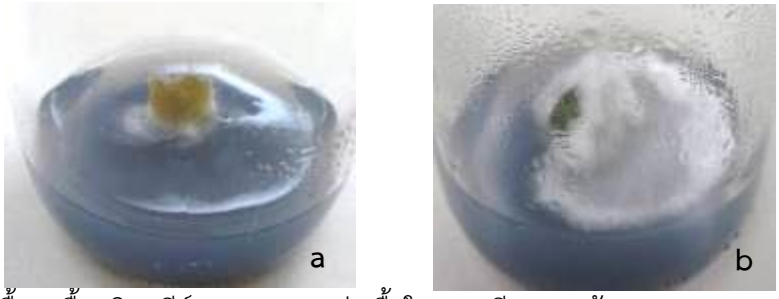
ตารางที่ 1 ผลการฟอกฆ่าเชื้อฝักชาฤษีดอยตุง

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อฝัก	**จำนวนการปลอดการปนเปื้อนของเชื้อ** (%)
เผาฝัก	0
เผาฝัก + น้ำ (H_2O)	0
เผาฝัก + สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ (H_2O_2) อัตราส่วน 2:1	50

ภาพที่ 3 ลักษณะของเมล็ดที่เพาะบนอาหาร MS (a) ต้นอ่อนชาฤษีดอยตุงเมื่อเพาะเมล็ดบนอาหาร MS เป็นเวลา 1 เดือน (b) และ 2 เดือน (c)

3. ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อใบชาฤษีดอยตุง

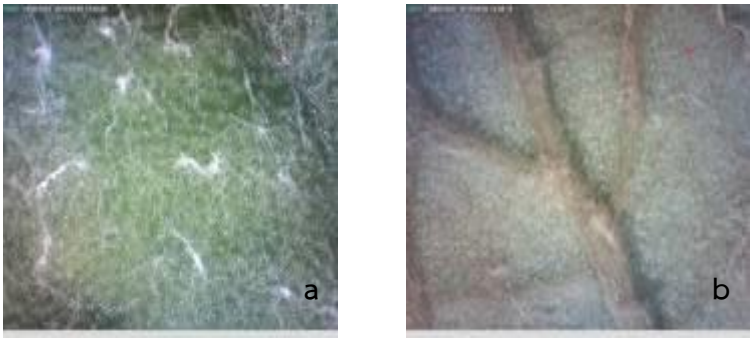
จากผลการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อใบชาฤษีดอยตุงด้วยคลอร็อกซ์ที่แปรผันความเข้มและเวลา พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา โดยเชื้อราที่พบมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวปนดำ เกิดจากบริเวณที่เป็นรอยตัดของเนื้อเยื่อใบก่อน



ภาพที่ 4 การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จากการฟอกฆ่าเชื้อใบชาฤษีดอยตุงด้วย Clorox ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ (a และ b)

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบจากการทดลอง เนื่องจากใบของชาฤษีดอยตุงมีการปกคลุมด้วยขนทั้งด้านบนและด้านล่าง โดยพื้นใบด้านบนเป็นสีเขียวเรียบปกคลุมด้วยขนสีขาวคล้ายใยแมงมุง ส่วนใบด้านล่างปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลอ่อนยาวนุ่มและหนาทอดราบกับพื้นคล้ายขนแกะ (Triboun and Middleton, 2012) ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะเพิ่มความเสี่ยงในการปนเปื้อนของเชื้อ ซึ่งทำให้การทำความสะอาดและการฟอกฆ่าเป็นไปได้ยากยิ่งขึ้น โดยมีงานวิจัยการฟอกฆ่าเชื้อในพืชวงศ์ชาฤษี โดยใช้สารละลาย Clorox ความเข้มข้น

และเวลาต่างๆ ผลการทดลองยังพบการปนเปื้อนของเชื้อ 100% (ธีรภัทร ศรีรัตนโชติ, มมป.) และมีรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ของโครงการการขยายพันธุ์พืชวงศ์ชาฤษี ซึ่งมีการศึกษาพืชสกุลต่างๆ ของวงศ์ชาฤษีมาเพาะลี้ยงเนื้อเยื่อ พบเพียงเนื้อเยื่อพืชสกุล *Aeschynanthus* หรือ สกุลไก่แดง ที่สามารถฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนใบและทำให้ได้ต้นพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อได้ (ปราณี นางงาม และคณะ, 2555)



ภาพที่ 5 ลักษณะขนบนใบ (a) และขนใต้ใบ (b) เมื่อใช้กล้องกำลังขยาย 1x

4. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ของต้นชาฤษีดอยตุง

หลังจากทำการฟอกฆ่าเชื้อฝักชาฤษีดอยตุงและเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหาร MS เลือกต้นกล้าชาฤษีดอยตุงที่ได้จากการเพาะบนอาหารที่มีขนาดเท่ากันมาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์

4.1 การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (NAA) ร่วมกับกลุ่มไซโตไคนิน (BA) โดยเลือกใบระยะและขนาดเดียวกันตัดให้มีขนาด 1 × 1 ตร.ซม.

จากการทดลองพบว่า เริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงของชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารนาน 1 เดือน พบการพัฒนาของกระจุกเนื้อเยื่อบนแผ่นใบ ลักษณะคล้ายยอดที่มีใบเล็กๆ จำนวนมาก โดยตำแหน่งที่เกิดการพัฒนามักเกิดบริเวณรอยตัดด้านก้านของใบ (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 6 กระจุกเนื้อเยื่อบนแผ่นใบที่เลี้ยงบนอาหาร MS เติม NAA และ BA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเลี้ยงนาน 1 เดือน

จากการทดลองพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างสาร NAA และ BA (ตารางที่ 2 และภาพที่ 3) โดยเมื่อเลี้ยงใบของชาฤษีดอยตุงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตจะมีการแตกยอดเล็กปริมาณมาก เกิดเป็นกลุ่มยอดที่ไม่แข็งแรงและมีการพัฒนาเป็นยอดสมบูรณ์ต่ำกว่าที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งเนื้อเยื่อต้องได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงจะสามารถพัฒนาเป็นยอดที่

สมบูรณ์ได้ดี แม้จะเพิ่มปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งกลุ่มออกซิน (NAA) และ ไซโตไคนิน (BA) เกินกว่าที่ต้องการก็ไม่ช่วยให้ยอดมีความสมบูรณ์แข็งแรงขึ้น

ตารางที่ 2 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA และ BA ต่อการเกิดยอดที่สมบูรณ์และความสูงของยอดที่สมบูรณ์ เมื่อใช้ใบของต้นชาฤษีดอยตุงเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 6 เดือน

NAA (mg/l)	**จำนวนยอดที่สมบูรณ์ (ยอด)**					**ความสูงของยอดที่สมบูรณ์ (cm)**				
	BA (mg/l)				mean	BA (mg/l)				mean
	0	0.1	0.5	1		0	0.1	0.5	1	
0	0.82 ab y	2.30 a x	2.00 a x	2.11 a x	1.81	0.90 b y	2.22 a x	2.45 a x	2.28 a x	1.96
0.1	2.48 a x	1.73 ab x	1.14 bc x	0.45 c y	1.45	2.05 a x	1.98 a x	2.17 a x	1.22 b x	1.85
0.5	1.42 ab y	1.70 a x	1.81 a x	0.45 b y	1.34	1.17 b y	1.62 a xy	2.10 a x	0.97 b y	1.46
1	0.42 ab y	1.53 a x	1.20 ab x	0.25 b y	0.86	0.60 b y	1.67 a x	1.55 ab x	1.15 b xy	1.24
mean	1.29	1.81	1.54	0.81		1.18	1.87	2.07	1.40	
CV (%)	32.43					35.2				

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ใช้อักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มออกซิน (NAA) ใช้อักษร x, y, z

ตารางที่ 3 ผลของสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA และ BA ต่อขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อของต้นชาฤษีดอยตุง เมื่อใช้ใบของต้นชาฤษีดอยตุงเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 6 เดือน

NAA (mg/l)	**ขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อ (cm)**				
	BA (mg/l)				mean
	0	0.1	0.5	1	
0	2.63 a y	1.73 b x	2.82 a x	2.78 a x	2.49
0.1	3.42 a x	1.88 b x	1.80 b y	1.42 b y	2.13
0.5	1.85 a z	1.85 a x	2.18 a xy	1.67 a y	1.89
1	1.35 a z	1.88 a x	1.83 a y	1.27 ay	1.58

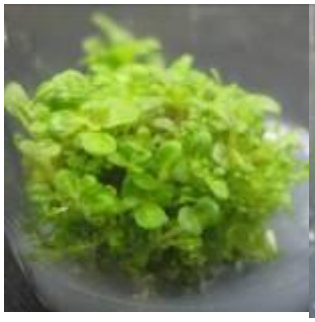
mean	2.31	1.84	2.16	1.78
CV (%)		32.4		

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มไซโตไคนิน (BA) ใช้อักษร a, b, c
- ความแตกต่างระหว่างสารกลุ่มออกซิน (NAA) ใช้อักษร x, y, z

โดยเมื่อเติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. เพียงอย่างเดียวเกิดยอดขนาดใหญ่ที่สมบูรณ์สูงสุด 2.48 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการเติมสาร BA เพียงอย่างเดียว ส่วนขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อต้นชาฤษีดอยตุง พบว่าเมื่อเติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. เพียงอย่างเดียวเกิดการขยายของกลุ่มเนื้อเยื่อสูงสุด 3.42 ซม. และไม่แตกต่างทางสถิติกับการเติมสาร BA เพียงอย่างเดียว แต่พบว่าต้นชาฤษีดอยตุงที่ได้รับ NAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้นสูงทำให้เกิดการขยายของเนื้อเยื่อและการเกิดยอดที่สมบูรณ์ลดลง ซึ่งมีรายงานการศึกษาการขยายพันธุ์แอฟริกันไวโอเล็ตและกล็อกซิเนียอยู่จำนวนมาก พืชดังกล่าวเป็นพืชในวงศ์เดียวกันกับชาฤษี โดยใช้ก้านใบแอฟริกันไวโอเล็ตเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้นเพียง 0.01 มก./ล. เพื่อชักนำการเกิดต้น ได้ดีกว่าการใช้ BA ความเข้มข้นสูงๆ (Bilkey *et al*., 1978) แต่บางรายงานว่าควรเติม BA ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. เพียงอย่างเดียว หรือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. ช่วยชักนำการเกิดยอด (Sunpui and Kanchanapoom, 2002) ส่วนการชักนำการเกิดยอดโดยใช้ใบของกล็อกซิเนีย พบว่า BA มีผลในการชักนำตายอดมากกว่า NAA แต่จะไม่มีการพัฒนาและเจริญเติบโตของตายอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้นสูงจะเกิดยอดลดลงและมีลักษณะเป็นต้นขนาดเล็กใบเล็กเกิดเป็นกระจุกของยอด (Wuttisit and Kanchanapoom, 1996) Rout *et al*. (2006) ได้สรุปรายงานการทดลองเกี่ยวกับการพัฒนาเนื้อเยื่อของแอฟริกันไวโอเล็ต โดยพบว่าการพัฒนายอดโดยตรงจากผิวหน้าโดยไม่ผ่าน callus ให้เลี้ยงใบบนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. แต่ถ้าจะพัฒนาเนื้อเยื่อจาก callus ของใบให้เลี้ยงบน อาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล.

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการชักนำการเกิดยอดเมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสของแอฟริกันไวโอเล็ตบนอาหาร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA พบว่า ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตส่งผลในการพัฒนาเป็นโครงสร้างตายอด หรือโครงสร้างตาดอก โดยโครงสร้างดอกทั้งหมดเกิดจาก Somatic cell อัตราส่วนของทั้งออกซินและไซโตไคนิน ส่งผลต่อกระบวนการพัฒนาดอก เมื่อให้ความเข้มข้นของ NAA มากว่า 1.5 มก./ล. ทำให้แคลลัสของแอฟริกันไวโอเล็ตพัฒนาเป็นตาดอกมากกว่าตายอด (Daud and Taha, 2008) และพบว่า NAA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนเป็นยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Khan *et al*., 2007)



MS

MS + 0.1 mg/l BA

MS + 0.5 mg/l BA

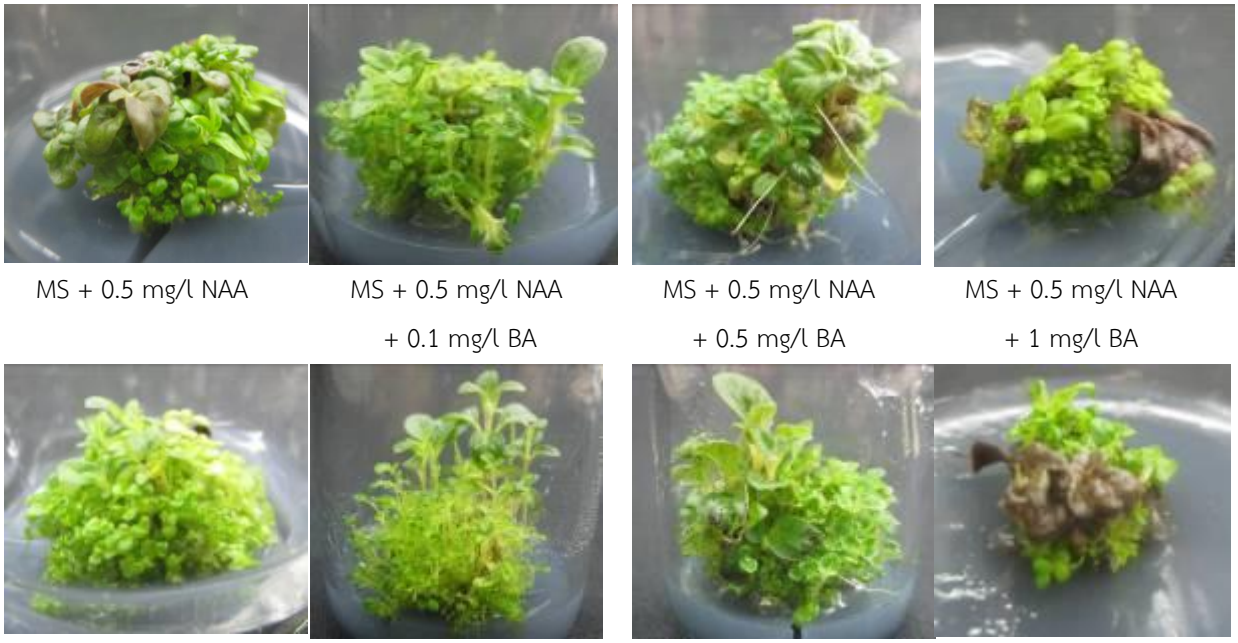
MS + 1 mg/l BA

MS + 0.1 mg/l NAA

MS + 0.1 mg/l NAA
+ 0.1 mg/l BA

MS + 0.1 mg/l NAA
+ 0.5 mg/l BA

MS + 0.1 mg/l NAA
+ 1 mg/l BA



MS + 0.5 mg/l NAA | MS + 0.5 mg/l NAA + 0.1 mg/l BA | MS + 0.5 mg/l NAA + 0.5 mg/l BA | MS + 0.5 mg/l NAA + 1 mg/l BA

MS + 1 mg/l NAA | MS + 1 mg/l NAA + 0.1 mg/l BA | MS + 1 mg/l NAA + 0.5 mg/l BA | MS + 1 mg/l NAA + 1 mg/l BA

ภาพที่ 5 ลักษณะของกลุ่มเนื้อเยื่อเมื่อใช้ใบของต้นชาฤๅษีดอยตุงเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ NAA และ BA เป็นเวลา 6 เดือน

4.2 การปรับลดปริมาณ MS ร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (NAA) โดยเลือกใช้ยอดสมบูรณ์ตัดให้สูง 4 ข้อ

การทดลอง (ตารางที่ 4 และภาพที่ 6) พบว่าระดับความเข้มข้นของ NAA ที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเกิดราก และไม่พบปฏิสัมพันธ์ของการปรับลดปริมาณ MS กับระดับความเข้มข้นของ NAA ซึ่งแตกต่างกับผลการทดลองที่ทราบโดยทั่วไปว่าการชักนำการเกิดรากจะถูกกระตุ้นโดยความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ซึ่งมีรายงานในกล็อกซิเนียเมื่อเลี้ยงยอดบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน (NAA, IAA และ IBA) พบว่าจำนวนรากถูกกระตุ้นเมื่อเพิ่มออกซินความเข้มข้น 3.0 มก./ล. แต่จะลดลงเมื่อความเข้มข้น 5.0 มก./ล. (Wuttisit and Kanchanapoom, 1996) และรายงานในแอฟริกันไวโอเล็ตเมื่อเลี้ยงยอดบนอาหาร ½ MS ที่เติมสาร IAA ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. กระตุ้นการชักนำการเกิดรากได้ดี (Ghorbanzade and Ahmadabadi, 2014)

แต่พบว่าการปรับลดปริมาณ MS ส่งผลต่อการเกิดรากของยอดชาฤๅษีดอยตุง โดยเมื่อลดปริมาณ MS เป็น ½ MS สามารถชักนำการเกิดรากของยอดชาฤๅษีดอยตุงได้ดีกว่าเลี้ยงบนอาหาร MS และชักนำได้จำนวน 7.29 ราก ยาวประมาณ 6.6 ซม. เช่นเดียวกับการทดลองการกระตุ้นรากโดยเลี้ยงบนอาหาร ½ MS หรือการ

เลี้ยงบนอาหาร WPM ในพืช *Camptotheca acuminate* ซึ่งมีลักษณะเป็นพืชมีเนื้อไม้และยืนต้น (Huimei *et al.*, 2007) ซึ่งลักษณะดังกล่าวมีส่วนคล้ายกับต้นชาฤษีดอยตุงเนื่องจากต้นชาฤษีดอยตุงมีลักษณะลำต้นส่วนล่างที่เป็นเนื้อไม้แข็ง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการชักนำรากในแอฟริกันไวโอเล็ต ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกันกับชาฤษี พบว่าสามารถชักนำรากโดยใช้ชิ้นส่วนยอดเลี้ยงบนอาหาร ½ MS และสามารถย้ายปลูกในโรงเรือนได้สำเร็จ (Sunpui and Kanchanapoom, 2002; Rout *et al*., 2006)

ตารางที่ 4 ผลของการปรับลดปริมาณ MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA ต่อการเกิดรากและความยาวของราก เมื่อใช้ยอดของต้นชาฤษีดอยตุงเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลา 3 เดือน

NAA (mg/l)	**จำนวนราก (ราก)**			**ความยาวของราก (cm)**		
	MS		mean	MS		mean
	MS	½ MS		MS	½ MS	
0	0.59	6.98	3.78	2.00	10.84	6.42
0.1	1.44	6.54	3.99	2.70	4.14	3.42
0.5	0.90	8.26	4.58	2.36	5.84	4.10
1	1.2	7.38	4.29	4.32	5.64	4.98
mean	1.03 b	7.29 a		2.845 b	6.615 a	
CV (%)	29.98			32.1		

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

- ความแตกต่างระหว่างการปรับลดปริมาณ MS ใช้อักษร a, b, c

MS

MS + 0.1 mg/l NAA

MS + 0.5 mg/l NAA

MS + 1 mg/l NAA

1/2MS

1/2MS + 0.1 mg/l NAA

1/2MS + 0.5 mg/l NAA

1/2MS + 1 mg/l NAA

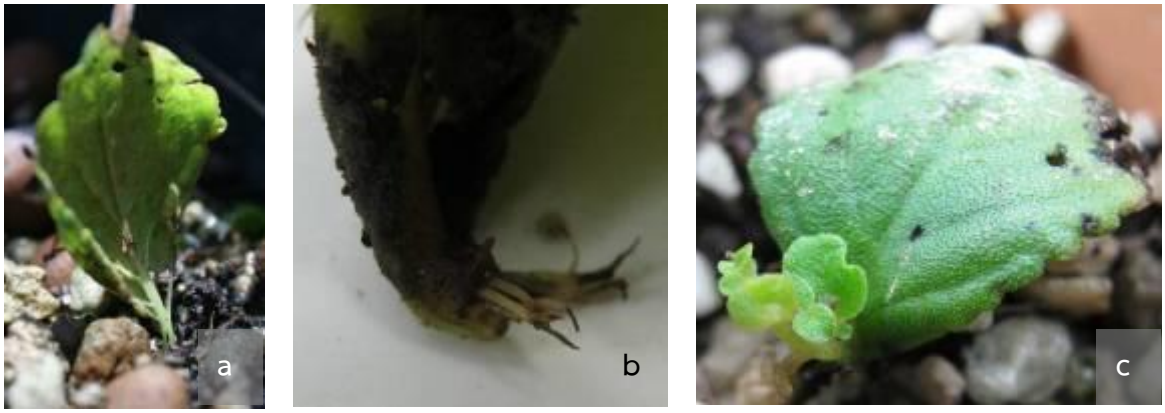
ภาพที่ 6 ลักษณะของกลุ่มเนื้อเยื่อเมื่อใช้รากของต้นชาฤษีดอยตุงเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 3 เดือน

5. ศึกษาลักษณะของต้นชาฤษีดอยตุงที่เพาะเลี้ยงในสภาพโรงเรือน

การเพาะเมล็ดชาฤษีดอยตุงโดยใช้วัสดุปลูก พีทมอส (peat moss) : หินอัคนีพุ (pumice stone) : หินเพอร์ไลต์ (perlite stone) : เม็ดดินเผา (popper) อัตราส่วน 3:1:1:1 ต้นอ่อนเริ่มงอกเมื่อเพาะนาน 1 เดือน และเริ่มเห็นการปกคลุมด้วยขนบนแผ่นใบเมื่ออายุ 4 เดือน (ภาพที่ 8) บางต้นไม่สามารถเติบโตต่อไปได้ในเรือนเพาะชำ และบางต้นเมื่อเลี้ยงถึงอายุประมาณ 1 ปี ต้นจะเหี่ยวและทรุดอาจเนื่องจากพืชชนิดนี้มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุก (Triboun and Middleton, 2012) ซึ่งมีรายงานของ ปราณี นางงาม และคณะ (2555) ศึกษาการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดในพืชวงศ์ชาฤษี 4 สกุล 7 ชนิด ได้แก่ *Didymocarpus dongrakensis* B.L. Burtt, *D. biserratus* Barnett, *D. kerrii* Craib, *Ornithoboea arachnoidea* (Diels) Craib, *O. flexuosa* (Ridl.) B.L. Burtt, *Rhynchoglossum obliquum* Bleme และ *Chirita micromusa* B.L. Burtt พบการงอกของเมล็ดเป็นต้นอ่อนได้ แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ในเรือนเพาะชำ เนื่องจากลักษณะลำต้นเล็กเรียวและตายในที่สุด

ภาพที่ 8 ลักษณะต้นของต้นชาฤษีที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพโรงเรือน เมื่อเพาะนาน 1 เดือน (a) 4 เดือน(b) และ 10 เดือน (c)

จากการสังเกตต้นชาฤษีดอยตุงในโรงเรืองอนุบาลเชื้อพันธุ์พบว่าชาฤษีดอยตุงสามารถขยายพันธุ์ด้วยใบได้ โดยเมื่อคว่ำไปและกลบดินบนแผ่นใบที่ติดกับก้านใบพบการเกิดรากบริเวณก้านใบที่ติดกับแผ่นใบเมื่อทิ้งไว้นาน 1 เดือน และสังเกตเห็นต้นอ่อนเมื่อเลี้ยงนาน 3 เดือน



ภาพที่ 9 ใบชาฤษีดอยตุงที่เลี้ยงในสภาพโรงเรือนเกิดรากบริเวณก้านใบที่ติดกับแผ่นใบ (a และ b) อายุประมาณ 1 เดือน ต้นอ่อนชาฤษีดอยตุงที่ได้ขยายพันธุ์ด้วยใบ เมื่อเลี้ยงนาน 3 เดือน (c)

สำหรับการย้ายปลูกต้นชาฤษีดอยตุงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อวิธีการดัดแปลงจาก มณฑา และคณะ (2553) จะเลือกใช้ต้นที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงและมีรากจำนวนมาก โดยต้องมีการปรับสภาพก่อนการย้ายอนุบาล โดยการนำออกจากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ต้นชาฤษีเคยชิน และคลายฝาขวดเพื่อลดความชื้นสัมพัทธ์ในขวดและมีการถ่ายเทอากาศมากขึ้น ประมาณ 5-7 วัน หลังจากนั้น ล้างวุ้นออกจากรากให้สะอาด จุ่มยากันเชื้อรา แล้ววางพักบนตะกร้าให้แห้งเล็กน้อย แล้วปลูกโดยใช้วัสดุปลูก พีทมอส (peat moss) : หินอัคนีพุ (pumice stone) : หินเพอร์ไลต์ (perlite stone) : เม็ดดินเผา (popper) อัตราส่วน 3:1:1:1 นำต้นที่ปลูกลงในกระถางคลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้นโดยระวังไม่ให้ใบโดนถุง ว่างไว้ในที่ร่ม นานประมาณ 1-2 เดือน ค่อยๆ ปรับความชื้นโดยค่อยๆ เปิดปากถุง แต่ยังพบอัตราการรอดชีวิตต่ำ เนื่องจากเกิดการเหี่ยวของต้นชาฤษีดอยตุง

ภาพที่ 10 ต้นชาฤษีดอยตุงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปรับสภาพสำหรับเตรียมย้ายมาอนุบาลในโรงเรือน (a) สภาพการเพาะเลี้ยงต้นในโรงเรือง (b) ต้นที่ย้ายมาปลูกในโรงเรือนนาน 3 เดือน (c และ d)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาฝักชาฤษีดอยตุงทำได้โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและแคะเอาเมล็ดใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งมีส่วนผสมของสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ (H_2O_2) 5 % อัตราส่วน 2:1 หลังจากนั้นดูดสารละลายออกแล้วเขี่ยเมล็ดเพาะบนอาหารสูตร MS

2. การขยายพันธุ์ชาฤษีดอยตุงมีการแตกยอดจำนวนมากเมื่อเพาะใบบนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ยอดที่ได้มีปริมาณมากเกิดเป็นกลุ่มยอดแต่ไม่แข็งแรง

3. การขยายพันธุ์โดยการการชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์จากใบชาฤษีดอยตุงใช้สูตรอาหาร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. หรือการเติม BA ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. เพียงอย่างเดียวทำให้ได้ยอดที่สมบูรณ์กว่าการใช้ฮอร์โมน 2 ชนิดร่วมกัน

4. สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของต้นชาฤษีดอยตุงได้ด้วยการเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS

ชื่อการทดลองที่ 22: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ปอแก้วและปอคิวบาในสภาพเยือกแข็ง

Cryopreservation Techniques for Rosells Seed Storage

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวอัสนี ส่งเสริม

ผู้ร่วมงาน : นายพิทยา วงษ์ช้าง

นางสาวเสาวณี เดชะคำภู

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ (Key words)

การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation), ไนโตรเจนเหลว (Liquid nitrogen), การอนุรักษ์ (Conservation), ปอแก้ว *(Hibiscus sp.)*

บทคัดย่อ

ปอแก้วไทยเป็นพันธุกรรมพืชชนิดหนึ่งที่เก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร แต่เนื่องจากมีปริมาณน้ำมันภายในเมล็ดสูงเฉลี่ยถึงประมาณ 24 เปอร์เซ็นต์ จึงประสบปัญหาในการเก็บรักษา เพราะเมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพเร็ว ส่งผลให้การอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ต้องอาศัยขั้นตอนการปลูกฟื้นฟูต่ออายุ และสิ้นเปลืองเวลาตลอดจนงบประมาณ ด้วยเหตุนี้ จึงศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งสามารถลดขั้นตอนการนำเมล็ดออกไปปลูกฟื้นฟูต่ออายุ งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยและศึกษาผลการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาพเยือกแข็ง ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างเดือนตุลาคม 2556 - กันยายน 2558 ประกอบด้วย 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน วางแผนการทดลองแบบ Split split plot design จำนวน 4 ซ้ำ Main plot เป็นพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ คือ ขก.50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ Sub plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ด คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ Sub-subplot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0 และ 7 วัน ผลการทดลอง พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ขก.50 ที่มีความชื้น 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น แต่เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์โนนสูง 2 และพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นช่วง 4 - 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลง สำหรับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์มีความแข็งแรงไม่

แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีความงอกและความแข็งแรงไม่แตกต่างกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาพเยือกแข็ง วางแผนการทดลองแบบ Split split plot design จำนวน 4 ซ้ำ Main plot เป็นพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ คือ ขก. 50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ Sub plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ด คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ Sub-subplot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0 6 และ 12 เดือน ผลการทดลอง พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ด ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ที่มีความชื้นในเมล็ดช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน เมล็ดมีความงอกและความแข็งแรงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้น เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเริ่มต้น สำหรับความแข็งแรงของเมล็ด พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น

Abstract

Roselle is one of the plants conserved in Department of Agriculture's Genebank (DOA's Genebank). Due to high oil content found in seed, roselle tends to loss its viability and becomes a big challenge for curators in storage process of plant germplasm particularly regeneration which wastes high budgets each year. Consequently, study on cryopreservation of roselle was conducted to find out an optimum seed moisture content (MC) and to study an effect of storage period on seed viability under cryopreservation condition. This research study was done at seed laboratory and seed storage sector belonging to DOA's Genebank from October 2013 to September 2015 and was divided into 2 experiments: 1) Optimum seed moisture content of roselle for 0 – 7 day cryopreservation. Split split pot design with 4 replications was used as research methodology. Main plot were 3 varieties; Khon Khaen 50 (KK50), Nonesung 2 and Pordaeng Chaiyapoom. Sub-plot were MC levels; 4%, 6%, 8% and 10%. Sub – subplot were storage periods; 0 day and 7 days. The result showed that percent of seed germination and vigor of all varieties with all MC levels after 7 day storage did not differ from those at 0 day storage. 2) Effect of storage period on seed viability under cryopreservation condition at 0, 6 and 12 months. Split split pot design with 4 replications was used as research methodology. Main plot were 3 varieties; Khon Khaen 50, Nonesung 2 and Pordaeng Chaiyapoom. Sub-plot were MC levels; 4%, 6%, 8% and 10%. Sub – subplot were storage periods; 0 month, 6 months and 12 months. The result showed that roselle seeds with 4 – 6 percent of MC tended to have low germination after 12 month storage

under cryopreservation condition. When seeds were stored under room temperature condition, it was founded that germination of Pordaeng Chaiyapoom seeds with 10 percent of MC after 12 month storage decreased. In addition, it was also founded that vigor of KK50 seeds with 10 percent of MC and Pordaeng Chaiyapoom seeds with 8 and 10 percent of MC decreased after 12 month storage under room temperature condition.

Cryopreservation of ***Perilla frutescens*** **L. Britton** Seed was studied at Biotecnology Research and Development Office in during October 2013-Sebtember 2015. This research was studied on seed moisture content (%) which the main factor for seed storage life. The research was divided into two experiments. The first experiment was Cryopreservation 7 days and Split plot design was laid out with 4 replications. The main plot was seed moisture content(%) had 8 levels : 10 (started)), 9, 8, 7, 6, 5, 4 and 3 . The sub plot storage of time had 2 levels: 0 and 7 days. The result show that all moisture content (%) of Perilla Seeds can storage in Cryopreservation because they had viability equal to started viability but the optimum of moisture content (%) was 3-8 because they had seed viability equal to started seed viability. The second experimental was effect of time on seed cryoperservative. Split plot design was laid out with 4 replications. The main plot was seed moisture content(%) had 8 levels: 10 (started)), 9, 8, 7, 6, 5, 4 and 3. The sub plot storage of time had 3 levels: 0, 6 and 12 months. Experimental results showed that the optimum seed moisture content (%) on Cryopreservative was 3-7 because in 12 months the seeds remain viability and vigor equal to started but seed moisture content 6 % decreased viability and vigor in 12 months if storage in room temperature condition and in 6 months lost viability and vigor when the seeds had 7-10 % of moisture content.

บทนำ (Introduction)

ปอแก้วไทย (roselle) หรือที่เรียกว่า “ปอแก้ว” ในปัจจุบัน เป็นพืชในตระกูลมัลวาซีอี (Malvaceae) เช่นเดียวกับฝ้าย อยู่ในสกุลไฮบิสคุส (Hibiscus) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่าไฮบิสคุส ซับดาริฟฟา (*Hibiscus sabdariffa*) มีชื่อพื้นเมืองที่แตกต่างกันออกไปตามท้องถิ่นที่ปลูก เช่น โรแซลล์ (roselle) โรแซลเฮมพ์ (roselle hemp) ปูซาฮมพ์ (pusa hemp) และชันนี (channi) เป็นต้น ในปัจจุบัน แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่ใช้เปลือกทำเส้นใยและลำต้นแห้งไปทำกระดาษ มีลำต้นสูง ไม่แตกกิ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *H. sabdariffa* Linn. Var. altissima และชนิดที่ใช้กลีบรองดอกเป็นอาหาร หรือที่เรียกว่ากระเจี๊ยบแดง ต้นเตี้ยเป็นพุ่ม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *H. sabdariffa* Linn. Var. sabdariffa ปกติจะออกดอกเมื่อช่วงแสงน้อยกว่า 12 ชั่วโมง หรือช่วงเดือนตุลาคม – พฤศจิกายน การนำปอแก้วเข้ามาปลูกในประเทศไทยครั้งแรก เรียกกันว่า “ปอแก้ว

จีน” สันนิษฐานว่าคงมีผู้นำเข้ามาจากประเทศจีนหรือไต้หวันเป็นครั้งแรก แล้วต่อมาเปลี่ยนชื่อเป็น “ปอแก้วไทย” และเป็น “ปอแก้ว” ในปัจจุบัน

ปอแก้วไทย เป็นปอพื้นเมือง มีถิ่นกำเนิดในแถบตะวันตกของประเทศซูดาน แต่เป็นที่รู้จักในประเทศอียิปต์และอินเดียมาตั้งแต่อดีตเมื่อหลายศตวรรษมาแล้ว เป็นพืชเส้นใยที่ใช้ประโยชน์จากส่วนเปลือกลำต้น เช่นเดียวกับปอกระเจา แต่นับว่ามีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งและดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำได้ดีกว่า (ประวิตร, 2555) มีลำต้นตรงไม่แตกกอ สูงประมาณ 4 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางที่โคนต้นประมาณ 8-25 มิลลิเมตร มักไม่มีกิ่งแขนงเมื่อปลูกในระยะชิดกันเพื่อผลิตเส้นใย พันธุ์ต่างๆ อาจมีสีของลำต้นต่างกัน เช่น เขียว แดง หรือม่วง ปอแก้วทั้งสองชนิดมีดอกสีเหลืองอ่อน และมีสีม่วงแดงตรงกลางดอกแต่อาจมีบางพันธุ์ซึ่งมีสีแตกต่างจากที่กล่าว มีใบแบบซิมเปิลลีฟ หรือ พาลเมท ซึ่งจะออกสลับกันบนลำต้น แต่ปกติแล้วใบที่ฐานจะเป็นแบบซิมเปิลลีฟ ฝักมีลักษณะทรงกระบอกและมีขน มีเมล็ดประมาณ 18-20 เมล็ด ต่อฝัก เมล็ดมีสีเทา ลักษณะคล้ายไต มีน้ำหนักประมาณ 1 กรัม ต่อ 35-40 เมล็ด

ปัจจุบันมีการปลูกกันแพร่หลายในทวีปเอเชีย อเมริกาใต้และแอฟริกา ใช้เปลือกทำเส้นใย สำหรับอุตสาหกรรมสิ่งทอ ปอแก้วมักใช้แทนหรือปนกับเส้นใยจากปอกระเจาในการทอกระสอบ ทำเชือก หรือพรม หรือใช้ทำสิ่งทอในการหัตถกรรม (Webber et al., 2002) เทียบกับเส้นใยจากปอกระเจา เส้นใยจากปอแก้วไม่สามารถทอให้เป็นเส้นเล็กๆ ได้เท่ากับเส้นใยจากปอกระเจา และถึงแม้ว่าปอแก้วจะมีลักษณะที่ดูดีกว่า ราคาของปอแก้วมักจะต่ำกว่าเส้นใยจากปอกระเจาเล็กน้อย ปกติการซื้อขายปอจะพิจารณาจากคุณภาพของเส้นใย จากความเลื่อมมัน ความละเอียด ความสะอาด ความเหนียว ความยาวของเส้นใย ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้นำพันธุ์ปอแก้วจากองค์กรระหว่างประเทศและจากอัฟริกาตะวันออกเข้ามาใช้เพื่อปรับปรุงพันธุ์ โดยปอแก้วนับว่าเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่ง สามารถใช้ประโยชน์จากเส้นใยในการผลิตเยื่อกระดาษ เชือก กระสอบ หรือแม้แต่ฟางที่ใช้เป็นที่นอนของสัตว์ (animal litter) ส่วนใบปอสามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหารแก่คนและภาคปศุสัตว์ บ้างก็นำมาใช้เป็นสมุนไพร มีรายงานเกี่ยวกับคุณค่าอื่นของปอ กล่าวคือ สามารถนำมาใช้เป็นยาบรรเทาอาการปวด รอยฟกช้ำ บาดแผลต่างๆ น้ำมันสกัดจากเมล็ดปอแก้วนับว่าเป็นน้ำมันชั้นยอดที่สามารถนำมาแปรรูปเป็นน้ำมันสำหรับปรุงอาหารและมาการีน โดยเมล็ดปอแก้วให้น้ำมันสูงถึง 20 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ภายในเมล็ดปอมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยกรดไขมันประเภทต่างๆ เช่น โอเลอิก เลโนเลอิก อัลฟ่า เลโนเลอิก เป็นต้น อาหารที่ใช้น้ำมันสกัดจากเมล็ดปอแก้วจึงคงคุณค่าทางโภชนาการเทียบเท่ากับอาหารที่ปรุงด้วยน้ำมันถั่วเหลือง (Duke, 1993) การตลาดในประเทศจัดแบ่งออกเป็นระดับท้องถิ่น ซึ่งพ่อค้าท้องถิ่นจะรวบรวมไปขายให้กับโรงงานทอกระสอบ สำหรับตลาดต่างประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา โรมาเนีย ออสเตรเลีย ฮ่องกง แต่ในปัจจุบันผลผลิตเส้นใยปอไม่ค่อยเพียงพอกับความต้องการของตลาด จากที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่าปอแก้วนับเป็นพืชที่น่าสนใจและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่ง

โดยทั่วไปธนาคารเมล็ดพันธุ์ หรือ Seed bank สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ประเภท orthodox ได้ระยะเวลายาวนานหากมีการจัดการที่ดี แต่อย่างไรก็ตามการสูญเสียความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ย่อมเกิดขึ้นได้หลายกรณีขึ้นอยู่กับชนิดพืช โดยเฉพาะพืชที่มีปริมาณน้ำมันภายในเมล็ดสูง (Cromaty et al., 1982)

ทางเลือกอีกทางหนึ่งคือการใช้อุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียสของไนโตรเจนเหลว เรียกว่า การเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง หรือ cryopreservation (Larry et al., 1995) สามารถชะงักกระบวนการเคมีที่ส่งผลต่อการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ได้ ซึ่งการเก็บรักษาแบบนี้เป็นการหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลายและแบ่งเซลล์โดยสิ้นเชิง (Lambardi et al., 2005) เมื่อละลายเกล็ดน้ำแข็งออกเซลล์ยังคงมีชีวิตดังเดิม เมล็ดภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดไม่มีปฏิกิริยาการย่อยสลายเป็นผลทำให้ไม่มีการเสื่อมชีวิต (deterioration) และไม่มีความจำเป็นที่จะต้องนำเมล็ดไปปลูกเพื่อสืบทอดพันธุ์ ในช่วงเวลาของการเก็บรักษาพันธุ์แต่อย่างใด เป็นการลดปัญหาอันเนื่องจากการกลายพันธุ์ การผสมข้าม หรือข้อผิดพลาดจากการปฏิบัติงาน เมื่อใดต้องการทำพันธุ์สามารถนำไปปลูกได้ทันที การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนี้สามารถเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จำนวนมากได้ในพื้นที่จำกัด ไม่ต้องใช้กระแสไฟฟ้าเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย (ภาณี ทองพำนัก และคณะ, 2548)

ปอแก้วไทย หรือ ปอแก้วในปัจจุบัน เป็นพันธุกรรมพืชชนิดหนึ่งที่เก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ถึงแม้จะจัดเป็นเมล็ดพันธุ์ในกลุ่ม Orthodox ซึ่งหมายถึง เมล็ดพันธุ์ที่สามารถลดความชื้นในระดับต่ำก่อนการเก็บรักษาแล้วสามารถคงความมีชีวิตได้ (Berjak et al., 1991) แต่เนื่องจากมีปริมาณน้ำมันภายในเมล็ดสูงเฉลี่ยถึงประมาณ 24 เปอร์เซ็นต์ (Ali Mohammed et al., 1995) จึงประสบปัญหาในการเก็บรักษาเพราะเมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพเร็ว แม้จะมีการควบคุมสภาพแวดล้อมในห้องอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ ทั้งอุณหภูมิและความชื้น แต่กระบวนการเคมีภายในเมล็ดยังคงดำเนินอยู่ตลอดเวลา ส่งผลให้การจัดการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ต้องอาศัยขั้นตอนการปลูกฟื้นฟูต่ออายุ ซึ่งนับเป็นภารกิจที่ต้องสิ้นเปลืองเวลาและงบประมาณ นอกจากนี้ ผลกระทบที่เกิดจากปัจจัยด้านอื่นๆ เช่น ปัญหาเกี่ยวกับระบบไฟ ภัยธรรมชาติ และความผิดพลาดจากการทำงานของมนุษย์ ล้วนส่งผลต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ทั้งสิ้น ประกอบกับในปัจจุบันทางธนาคารเชื้อพันธุ์พืชประสบปัญหาการขาดแคลนแหล่งปลูกฟื้นฟูเพื่อเพิ่มปริมาณปอแก้วสำหรับเก็บรักษาในธนาคารฯ ด้วยเหตุนี้คณะวิจัยจึงเห็นว่าการศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์วิธีอื่น นอกเหนือจากการเก็บรักษาในอุณหภูมิห้องเย็นที่มีอยู่ (ระยะปานกลาง 5 องศาเซลเซียส และ ระยะยาว -10 องศาเซลเซียส) น่าจะเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่งที่จะสามารถแก้ปัญหาเบื้องต้นได้ จึงเลือกที่จะศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วในสภาพเยือกแข็ง (-196 องศาเซลเซียส) ซึ่งสามารถลดขั้นตอนการนำเมล็ดออกไปปลูกต่ออายุ เป็นการประหยัดพื้นที่และประหยัดค่าใช้จ่ายโดยเฉพาะค่าบำรุงรักษาห้องเย็นและค่าไฟซึ่งเป็นงบประมาณจำนวนมากในแต่ละปีได้ ทั้งยังเป็นการลดความเสี่ยงจากปัจจัยต่างๆ เช่น การล้มเหลวของระบบไฟฟ้า ภัยธรรมชาติ (อาทิ เช่น อุทกภัย) ได้อีกด้วย

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- **อุปกรณ์**:

1. เมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย 3 พันธุ์ ได้แก่ ขอนแก่น 50 (ขก. 50) โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ
2. เครื่องชั่งดิจิตอลทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ
4. ถุงอลูมินัมฟอยล์
5. ตู้อบลมร้อน

6. กระดาษเพาะทดสอบความงอก

7. ตู้เพาะความงอก

8. ถังไนโตรเจนเหลว

9. ไนโตรเจนเหลว

10. ตะแกรงสเตนเลสสำหรับใส่ตัวอย่างเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

11. ถุงมือป้องกันความเย็นจากไนโตรเจนเหลว

12. คีมคีบตัวอย่าง

12. ห้องลดความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

13. เครื่องบดเมล็ดพันธุ์

14. ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมฝาปิด

15. ถุงตาข่ายสำหรับบรรจุเมล็ดพันธุ์

16.ถุงกระดาษสีน้ำตาล

- **วิธีการ**:

การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็ง มี 2 การทดลองย่อย ได้แก่

<u>การทดลองย่อยที่ 1</u> การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

<u>การทดลองย่อยที่ 2</u> การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

แต่ละการทดลองย่อย วางแผนการทดลองแบบ Split split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดย

- Main plot เป็นพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ขอนแก่น 50 พันธุ์โนนสูง 2 และพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ
- Sub plot เป็นระดับความชื้น คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์
- Sub-subplot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0 และ 7 วัน

<u>ขั้นตอนการทดลอง</u>

1. ทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงโดยใช้เทคนิคการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับก่อนการทดลอง

2. นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มาลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (ความชื้นสัมพัทธ์ 15% อุณหภูมิ 25 ^{O}C) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ให้ได้ระดับความชื้นที่ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์

3. การทดลองย่อยที่ 1: การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

3.1 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับมาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ ที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน จำนวน 4 ซ้ำ

3.2 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ บรรจุในถุงอลูมินัมฟอยด์โดยวิธีสุญญากาศ

3.3 เก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งโดยแช่ในถังที่มีไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 7 วัน

3.4 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งโดยแช่ในถังที่มีไนโตรเจนเหลวแล้วเป็นเวลา 7 วัน มาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ

4. การทดลองย่อยที่ 2: การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

4.1 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับมาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ ที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน จำนวน 4 ซ้ำ

4.2 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ บรรจุในถุงอลูมินัมฟอยด์โดยวิธีสุญญากาศ

4.3 เก็บรักษาภายใต้สภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

4.4 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน มาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ ที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาพเยือกแข็ง มี 2 การทดลองย่อย ได้แก่

<u>การทดลองย่อยที่ 1</u> การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน

<u>การทดลองย่อยที่ 2</u> การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน

แต่ละการทดลองย่อย วางแผนการทดลองแบบ split split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดย

- Main plot เป็นพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ขอนแก่น 50 พันธุ์โนนสูง 2 และพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ
- Sub plot เป็นระดับความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์ คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์
- Sub-subplot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0 6 และ 12 เดือน

<u>ขั้นตอนการทดลอง</u>

1. ทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงโดยใช้เทคนิคการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับก่อนการทดลอง

2. นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มาลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (ความชื้นสัมพัทธ์ 15% อุณหภูมิ 25 ^{O}C) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ให้ได้ระดับความชื้นที่ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์

3. การทดลองย่อยที่ 1: การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

3.1 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ บรรจุในถุงอลูมินัมฟอยล์โดยวิธีสุญญากาศ จำนวน 4 ซ้ำ

3.2 เก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งโดยแช่ในถังที่มีไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 0 6 และ 12 เดือน

3.3 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งโดยแช่ใน

ถังที่มีไนโตรเจนเหลวแล้วเป็นเวลา 0 6 และ 12 เดือน มาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ

4. การทดลองย่อยที่ 2: การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

4.1 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ บรรจุในถุงอลูมินัมฟอยด์โดยวิธีสุญญากาศ จำนวน 4 ซ้ำ

4.2 เก็บรักษาภายใต้สภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 6 และ 12 เดือน

4.3 นำเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 6 และ 12 เดือน มาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ

<u>การทดสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์ (Moisture Content Test)</u>

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

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

สูตรคำนวณความชื้นของเมล็ด มีดังนี้

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

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

<u>การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์ (Germination Test)</u>

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

1. เตรียมเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยสำหรับเพาะทดสอบ

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 และนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจาก

สูตรคำนวณความงอกของเมล็ด มีดังนี้

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

การทดสอบความแข็งแรงโดยเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (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

- **เวลาและสถานที่**

ระยะเวลาทำการทดลอง 2 ปี (ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558) ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองที่ 1: ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็ง

การทดลองย่อยที่ 1 การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

1. การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์

จากตารางที่ 1 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน นั้น **พันธุ์ขก. 50** มีความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเฉลี่ย 98.7 98.5 96.6 และ 99.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.2 95.9 96.9 และ 97.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 มีความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 95.8 และ 98.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.3 และ 95.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดพันธุ์มีความงอกลดลง โดยมีค่าเฉลี่ย 85.0และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ

ความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน โดยมีค่าเฉลี่ย 96.3 และ 95.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ มีความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ด 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 92.4 97.8 และ 99.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.5 96.8 และ 94.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดพันธุ์มีความงอกลดลง โดยมีค่าเฉลี่ย 78.1 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 95.8 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ปอแก้วไทยพันธุ์โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ดช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเฉลี่ยเริ่มต้น สอดคล้องกับการทดลองของ Maria et al. (1997) ที่ได้ทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ฝ้าย จำนวน 4 สายพันธุ์ในไนโตรเจนเหลว โดยลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้เหลือประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ จากเริ่มต้นที่ความชื้นสูงถึง 15.6 เปอร์เซ็นต์ ผลปรากฏว่าส่งผลให้เมล็ดมีความงอกน้อยลง นอกจากนี้ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 7 วัน ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้สำหรับการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช ระยะยาวของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

<u>ตารางที่ 1</u> ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย			
ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ	**ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง**		
	0 วัน [(1)]	**7 วัน** [(1)]	**ค่าแตกต่าง** [(2)]
ขก.50			
4%	97.2 a	98.7 a	-1.5 ns
6%	95.9 a	98.5 a	-2.6 ns

8%	96.9 a	96.6 a	0.3 ns
10%	97.2 a	99.6 a	-2.4 ns
โนนสูง 2			
4%	95.6 a	85.0 a	10.6 **
6%	95.8 a	87.5 a	8.3 **
8%	96.3 a	95.8 a	0.5 ns
10%	95.4 a	98.0 a	-2.6 ns
ปอแดงชัยภูมิ			
4%	95.8 a	78.1 c	17.7 **
6%	96.5 a	92.4 b	4.1 ns
8%	96.8 a	97.8 a	-1.1 ns
10%	94.6 a	99.3 a	-4.8 *

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระยะเวลาในการเก็บรักษา ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

(2) เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นเดียวกันเมื่ออายุการเก็บรักษา 0 และ7 วัน

* แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{0.05}$

**แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{0.01}$

^{ns} ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

2. การทดสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ จากตารางที่ 2 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน นั้น **พันธุ์ขก. 50** มีความแข็งแรงที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 97.3 96.0 95 และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.3 94.3 99.0 และ 96.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 มีความแข็งแรงที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 90.8 95.8 91.8 และ 94.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 94.5 92.5 94.5 และ 94.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ มีความแข็งแรงที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 95.5 97.0 94.5 และ 95.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.3 94.5 95.8 และ 93.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีความแข็งแรงไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด นอกจากนี้ พบว่า ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน

ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA Test)			
ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ	**ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง**		
	0 วัน [(1)]	**7 วัน** [(1)]	**ค่าแตกต่าง** [(2)]
ขก.50			
4%	97.3 ab	97.3 a	0.0 ns
6%	94.3 b	96.0 a	-1.8 ns
8%	99.0 a	95.0 a	4.0 *
10%	96.0 a	97.5 a	-1.5 ns
โนนสูง 2			
4%	94.5 a	90.8 b	3.8 *
6%	92.5 a	95.8 a	-3.3 ns
8%	94.5 a	91.8 ab	2.8 ns
10%	94.3 a	94.8 ab	-0.5 ns
ปอแดงชัยภูมิ			
4%	96.3 a	95.5 a	0.8 ns
6%	94.5 a	97.0 a	-2.5 ns
8%	95.8 a	94.5 a	1.3 ns
10%	93.3 a	95.5 a	-2.3 ns

[(1)] เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระยะเวลาในการเก็บรักษา ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

[(2)] เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ระดับความชื้นเดียวกันเมื่ออายุการเก็บรักษา 0 และ7 วัน

* แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{0.05}$

[ns] ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

การทดลองย่อยที่ 2 การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

1. การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์

จากตารางที่ 3 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน นั้น

พันธุ์ขก. 50 มีความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 97.8 98.1 99.7 และ 99.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 97.5 95.5 96.9 และ 98.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 มีความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 96.0 93.9 97.0 และ 99.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 95.6 96.3 96.0 และ 95.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ มีความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 95.1 96.1 97.2 และ 99.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 95.6 96.8 97.5 และ 93.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน พบว่าปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ ขก.50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกของเมล็ดไม่แตกต่างจากความงอกเริ่มต้น โดยความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ดังกล่าว มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้สำหรับการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชระยะยาวของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

<u>ตารางที่ 3</u> ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย			
ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ	**ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง**		
	0 วัน (1)	**7 วัน** (1)	**ค่าแตกต่าง** (2)
ขก.50			
4%	97.5 a	97.8 a	-0.2 ns
6%	95.5 a	98.1 a	-2.7 ns
8%	96.9 a	99.7 a	-2.9 **
10%	98.6 a	99.7 a	-1.2 ns
โนนสูง 2			
4%	95.6 a	96.0 b	-0.4 ns
6%	96.3 a	93.9 b	2.4 ns
8%	96.0 a	97.0 b	-1.0 ns
10%	95.0 a	99.7 a	-4.7 **
ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย			
ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ	**ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง**		
	0 วัน (1)	**7 วัน** (1)	**ค่าแตกต่าง** (2)
ปอแดงชัยภูมิ			
4%	95.6 a	95.1 b	0.5 ns
6%	96.8 a	96.1 b	0.8 ns
8%	97.5 a	97.2 b	0.3 ns

10%	93.6 a	99.8 a	-6.2 **

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระยะเวลาในการเก็บรักษา ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

(2) เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นเดียวกันเมื่ออายุการเก็บรักษา 0 และ7 วัน

* แตกต่างกันโดยเทียบกับ LSD $_{0.05}$

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

2. การทดสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

จากตารางที่ 4 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน นั้น **พันธุ์ขก. 50** มีความแข็งแรงที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 95.5 97.8 97.7 และ 97.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 99.4 96.3 99.6 และ 98.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 มีความแข็งแรงที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 94.1 97.2 96.4 และ 94.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 95 93.8 96.2 และ 93.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ มีความแข็งแรงที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ย 95.8 97.0 96.6 และ 97.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 วัน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.0 96.6 96.7 และ 96.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า เมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ ขก.50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ มีความแข็งแรงของเมล็ดไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 วัน) โดยมีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

<u>ตารางที่ 4</u> ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน

ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA Test)			
ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ	**ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง**		
	0 วัน (1)	**7 วัน (1)**	**ค่าแตกต่าง (2)**
ขก.50			
4%	99.4 a	95.5 a	3.9 ns
6%	96.3 a	97.8 a	-1.5 ns
8%	99.6 a	97.7 a	1.9 ns
10%	98.8 a	97.8 a	0.9 ns
โนนสูง 2			
4%	95.0 a	94.1 a	0.9 ns

6%	93.8 a	97.2 a	-3.4 ns
8%	96.2 a	96.4 a	- 0.2 ns
10%	93.6 a	94.8 a	-1.2 ns
ปอแดงชัยภูมิ			
4%	97.0 a	95.8 a	1.2 ns
6%	96.6 a	97.0 a	-0.4 ns
8%	96.7 a	96.6 a	0.1 ns
10%	96.0 a	97.3 a	-1.3 ns

[(1)] เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระยะเวลาในการเก็บรักษา ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

[(2)]เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ระดับความชื้นเดียวกันเมื่ออายุการเก็บรักษา 0 และ7 วัน

[ns] ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการทดลองที่ 1 นี้ พบว่า เมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ ขก.50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ ที่มีระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกและความแข็งแรงภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งและสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วันไม่แตกต่างกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้นที่ 0 วัน ยกเว้นพันธุ์โนนสูง 2และปอแดงชัยภูมิที่มีระดับความชื้น 4-6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลงเมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน ทั้งนี้ เมล็ดพันธุ์ทั้งหมดมีความงอกของเมล็ดสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้ในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชระยะยาวในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สอดคล้องกับการทดลองของ Wang et al. (2011) ซึ่งได้เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Zhengmai9023 Wanmai48 Yangmai158 และ Annong1032 ในสภาพเยือกแข็ง ผลการทดลองพบว่าเมล็ดพันธุ์ซึ่งมีความงอกเริ่มต้นก่อนเข้าเก็บอยู่ในช่วง 79.3%-97.3% นั้นหลังจากเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 7 วัน เมล็ดเหล่านั้นยังคงระดับเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดที่ 94 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ ที่ระยะเวลาต่างๆ ในสภาพเยือกแข็ง

<u>การทดลองย่อยที่ 1</u> การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน

1. การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์

จากตารางที่ 5 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 6 และ12 เดือน นั้น **พันธุ์ขก. 50** ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ความงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 74.3 และ 87.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 98.3 และ 98.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 85.8 และ 99.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 82.6 และ 99.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 6 เปอร์เซ็นต์ ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 88.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.2 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 94.8 91.8 และ 95.5 ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 94.3 94.0 และ 98.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 เปอร์เซ็นต์ ความงอกของเมล็ดพันธุ์มีแนวโน้มลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 89.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.6 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 92.4 93.3 และ 93.5 ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.2 92.0 และ 99.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ ขก.50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับ 4-6 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์มีความงอกลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) นอกจากนี้ ยังพบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทุกพันธุ์ ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้ต่อการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชระยะยาวของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ยกเว้นพันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 4 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกเฉลี่ยต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์เล็กน้อย

<u>ตารางที่ 5</u> ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย				
ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง	**ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ**			
	4%	6%	8%	10%
ขก.50				
0 เดือน	98.3 a	98.2 a	82.6 b	99.7 a
6 เดือน	97.1 a	96.8 a	91.7 a	98.1 a
12 เดือน	74.3 b	87.0 b	85.8 ab	99.5 a
โนนสูง 2				
0 เดือน	94.3 a	96.2 a	94.0 a	98.0 a
6 เดือน	94.3 a	91.7 ab	89.2 a	94.0 a
12 เดือน	94.8 a	88.2 b	91.8 a	95.5 a
ปอแดงชัยภูมิ				

0 เดือน	96.6 a	96.2 a	92.0 a	99.2 a
6 เดือน	93.5 ab	94.9 a	96.3 a	97.3 ab
12 เดือน	89.1 b	92.4 a	93.3 a	93.5 b

เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือนที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

2. การทดสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ จากตารางที่ 6 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 6 และ12 เดือน นั้น **พันธุ์ขก. 50** ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 78.9 และ 76.1 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.4 และ 96.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 87.9 และ 93.1 ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 89.4 และ 97.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 6 เปอร์เซ็นต์ ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 85.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 93.6 94.0 และ 96.4 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 89.9 91.8 และ 95.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 เปอร์เซ็นต์ ความแข็งแรงของเมล็ดลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 84.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.6 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 92.0 95.9 และ 97.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.4 95.0 และ 96.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน เมล็ดพันธุ์ปอแก้วทั้ง 3 พันธุ์ คือ ขก.50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ดที่ระดับ 4-6 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) นอกจากนี้ ยังพบว่าความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทุกพันธุ์ ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นพันธุ์ ขก.50 ที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน

ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA Test)				
ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง	**ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ**			
	4%	6%	8%	10%
ขก.50				
0 เดือน	97.4 a	96.1 b	89.4 a	97.8 ab
6 เดือน	89.9 b	99.8 a	94.1 a	99.6 a
12 เดือน	78.9 c	76.1 c	87.9 a	93.1 b
โนนสูง 2				
0 เดือน	89.9 a	96.1 a	91.8 a	95.4 a
6 เดือน	91.1 a	91.0 ab	90.9 a	93.1 a
12 เดือน	93.6 a	85.9 b	94.0 a	96.4 a
ปอแดงชัยภูมิ				
0 เดือน	97.6 a	97.4 ab	95.0 b	96.0 a
6 เดือน	95.7 a	98.2 a	99.6 a	97.4 a
12 เดือน	84.1 b	92.0 b	95.9 b	97.6 a

เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือนที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

การทดลองย่อยที่ 2 การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

1. การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์

จากตารางที่ 7 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน นั้น

พันธุ์ขก. 50 ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 97.0 94.4 97.9 และ

97.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.495.5 96.9 และ 98.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 96.4 93.4 94.9 และ 93.8 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 95.6 96.3 96.0 และ 95.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ ความงอกเของเมล็ดลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 86.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 90.02 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของเมล็ดไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 94.4 94.6 และ 95.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความงอกเริ่มต้นที่ 0 เดือน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 95.6 96.8 และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลอง พบว่า ปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ นั้น หากเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน เมล็ดพันธุ์มีความงอกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเริ่มต้น นอกจากนี้ พบว่าความงอกของเมล็ดพันธุ์ทุกพันธุ์ ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชระยะยาวของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

<u>ตารางที่ 7</u> ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นในเมล็ด4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย				
ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง	**ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ**			
	4%	6%	8%	10%
ขก.50				
0 เดือน	96.4 b	95.5 a	96.9 b	98.6 a
6 เดือน	99.6 a	99.8 a	99.7 a	98.9 a
12 เดือน	97.0 ab	94.4 b	97.9 ab	97.5 a
โนนสูง 2				
0 เดือน	95.6 a	96.3 a	96.0 a	95.5 b
6 เดือน	95.9 a	92.9 a	97.9 a	99.6 a
12 เดือน	96.4 a	93.4 a	94.9 a	93.8 b
ปอแดงชัยภูมิ				
0 เดือน	95.6 a	96.8 a	97.5 ab	90.2 ab
6 เดือน	95.1 a	92.9 a	99.1 a	92.8 a
12 เดือน	94.4 a	94.6 a	95.7 b	86.0 b

เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือนที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

2. การทดสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

จากตารางที่ 8 พบว่า เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน นั้น

พันธุ์ขก. 50 ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 78.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.8 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง โดยมีค่าเฉลี่ย 99.3 97.2 และ 98.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 97.4 97.8 และ 95.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์โนนสูง 2 ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 93.6 93.2 93.3 และ

93.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 96.2 97.2 96.4 และ 94.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลงเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยมีค่าเฉลี่ย 83.3 และ 83.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่า 97.3 และ 97.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลง โดยมีค่าเฉลี่ย 94.9 และ 92.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 95.8 และ 97.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอทั้ง 3 พันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า พันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) พันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น (0 เดือน) นอกจากนี้ ยังพบว่าความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ทุกพันธุ์ ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน ยกเว้นพันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงเฉลี่ยต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) ที่ระดับความชื้นในเมล็ด 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ภายใต้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือน

ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย โดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test)				
ระยะเวลาในการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง	**ระดับความชื้นในเมล็ดของปอแก้วไทยพันธุ์ต่างๆ**			
	4%	6%	8%	10%
ขก.50				
0 เดือน	97.4 a	97.8 a	95.4 a	97.8 a
6 เดือน	98.4 a	95.2 a	94.9 a	89.5 b
12 เดือน	99.3 a	97.2 a	98.0 a	78.8 c
โนนสูง 2				
0 เดือน	96.2 a	97.2 a	96.4 a	94.8 a
6 เดือน	93.8 a	93.5 a	92.6 a	93.0 a
12 เดือน	93.6 a	93.2 a	93.3 a	93.8 a
ปอแดงชัยภูมิ				

0 เดือน	95.8 a	97.0 a	97.3 a	97.3 a
6 เดือน	94.3 a	93.7 ab	94.5 a	91.5 b
12 เดือน	94.9 a	92.6 b	83.3 c	83.3 c

เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือนที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดลองที่ 2 นี้ พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ ขก. 50 โนนสูง 2 และปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ด 4-6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน มีความงอกและความแข็งแรงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้น ทั้งนี้ ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทุกพันธุ์ ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สอดคล้องกับการทดลองของ Alla และ Nina (2011) โดยได้ศึกษาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชป่าตระกูลถั่วที่มีสรรพคุณทางยาในสภาพเยือกแข็งจำนวน 12 ชนิด พบว่าเมล็ดพันธุ์ทุกชนิดรอดชีวิต โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด 85 เปอร์เซ็นต์ การศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงแนวโน้มความสำเร็จในการนำวิธีการรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็งมาปรับใช้ในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ยังคงความงอกสูงหลังการเก็บรักษา นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Dussert et al. (1997) ที่ได้ทำการศึกษาวิจัยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กาแฟในสภาพเยือกแข็ง ผลการศึกษาพบว่าเมล็ดพันธุ์กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่ใช้ทดลองซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า 70-80 % และสามารถพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่ปกติ การทดลองนี้จึงเป็นการยืนยันว่าสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในไนโตรเจนเหลวได้ทั้งเมล็ดโดยยังคงความมีชีวิตตามที่ได้กล่าวมานี้

เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเริ่มต้น สำหรับความแข็งแรงของเมล็ด พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขก.50 พันธุ์โนนสูง 2 และพันธ์ปอแดงชัยภูมิ ในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 7 วัน เพื่อศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ขก. 50 ที่มีความชื้น 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น แต่เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์โนนสูง 2 และพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้น 4 – 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลง สำหรับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีความแข็งแรงไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย

ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีความงอกและความแข็งแรงไม่แตกต่างกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด

เนื่องด้วยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน ข้างต้น พบว่า ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์นั้น เมล็ดพันธุ์มีความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้ในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชระยะยาวของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช จึงนำระดับความชื้นในเมล็ดทั้ง 4 ระดับดังกล่าวมาศึกษาต่อในการทดลองที่ 2 โดยศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ที่ระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือนในสภาพเยือกแข็ง พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ ที่มีความชื้นในเมล็ด 4-6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน มีความงอกและความแข็งแรงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้น เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเริ่มต้น สำหรับความแข็งแรงของเมล็ด พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น

ผลของการทดลองของงานวิจัยนี้ เป็นผลการทดลองของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งที่ระยะเวลาเพียง 12 เดือน หากต้องการศึกษาผลการเก็บรักษาที่นานขึ้น สามารถต่อยอดงานวิจัยนี้ต่อไปในอนาคต ซึ่งอาจเพิ่มจำนวนพันธุ์ หรือ ขนาดเมล็ดเพื่อการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ชื่อการทดลองที่ 23: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็ง

Cryopreservation of *Perilla frutescens* L. Britton Seed

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวเสาวณี เดชะคำภู

ผู้ร่วมงาน : นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด
นางสาวชลลดา สามพันพวง
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ (Key words)

เมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อน ความชื้น การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ไนโตรเจนเหลว ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์

บทคัดย่อ

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็งได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนา

เทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างเดือนตุลาคม 2556-กันยายน 2558 โดยศึกษาระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษา แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองแรกเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน วางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 8 ระดับ ได้แก่ 10 (เริ่มต้น), 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์ และsub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 0 และ 7 วัน พบว่าสามารถเก็บรักษาได้ในทุกระดับเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่าเดิมกับเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น แต่เมื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งคือ 3-8 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากยังคงความแข็งแรงได้เท่ากับความแข็งแรงเริ่มต้น การทดลองที่สองศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง วางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ main plot เป็นระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ จำนวน 8 ระดับ ได้แก่ 10(เริ่มต้น), 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์ sub plot เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา 3 ระดับ ได้แก่ 0, 6 และ 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งระดับความชื้นที่เหมาะสมคือ 3-7 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือนนั้น ยังคงความมีชีวิตและความแข็งแรงได้เท่ากับความมีชีวิตและความแข็งแรงเริ่มต้น ในขณะที่การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ เริ่มมีความมีชีวิตและความแข็งแรงลดลงภายในระยะเวลา 12 เดือน แต่เมื่อมีระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 7-10 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 6 เดือนมีการสูญเสียความมีชีวิตและแข็งแรง

Abstract

Cryopreservation of *Perilla frutescens* L. Britton Seed was studied at Biotecnology Research and Development Office in during October 2013-Sebtember 2015. This research was studied on seed moisture content (%) which the main factor for seed storage life. The research was divided into two experiments. The first experiment was Cryopreservation 7 days and Split plot design was laid out with 4 replications. The main plot was seed moisture content(%) had 8 levels : 10 (started)), 9, 8, 7, 6, 5, 4 and 3 . The sub plot storage of time had 2 levels: 0 and 7 days. The result show that all moisture content (%) of Perilla Seeds can storage in Cryopreservation because they had viability equal to started viability but the optimum of moisture content (%) was 3-8 because they had seed viability equal to started seed viability. The second experimental was effect of time on seed cryoperservative. Split plot design was laid out with 4 replications. The main plot was seed moisture content(%) had 8 levels : 10 (started)), 9, 8, 7, 6, 5, 4 and 3. The sub plot storage of time had 3 levels: 0, 6 and 12 months. Experimental results showed that the optimum seed moisture content (%) on Cryopreservative was 3-7 because in 12 months the seeds remain viability and vigor equal to started but seed moisture content 6 % decreased viability and vigor in 12 months if

storage in room temperature condition and in 6 months lost viability and vigor when the seeds had 7-10 % of moisture content.

บทนำ (Introduction)

งาขี้ม้อน (*Perilla frutescens* L. Britton) เป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย จีน ญี่ปุ่น เกาหลี ไทย ประเทศอื่นๆในทวีปเอเชีย และบางรัฐของสหรัฐอเมริกา มีประวัติการใช้เป็นทั้งอาหาร และยาในประเทศทางแถบเอเชียมานาน ในเมล็ดงาขี้ม้อนมีสารสำคัญ และคุณค่าทางอาหารที่มีประโยชน์หลายประการ มีกรดมันไม่อิ่มตัวสูง มีฟอสฟอรัสและแคลเซียมมากกว่าพืชผักทั่วไปถึง 40 และ 20 เท่า มีวิตามินบี มีสารเซซามอลช่วยป้องกันโรคมะเร็งและช่วยให้ร่างกายแก่ช้าลง และประการสำคัญงาขี้ม้อนเป็นพืชชนิดเดียวที่มีกรดมันจำเป็น คือ กรดไลโนเลนิก (โอเมก้า 3) 55-60 เปอร์เซ็นต์ กรดไลโนเลอิก (โอเมก้า 6) 18-22 เปอร์เซ็นต์ และกรดโอเลอิก (โอเมก้า 9) 0.08-0.17 เปอร์เซ็นต์ จึงจัดว่าเป็นน้ำมันที่มีคุณค่าหนึ่งในสามของน้ำมันสุดยอดต่อสุขภาพ คือ น้ำมันลินิน น้ำมันปลา และน้ำมันงาขี้ม้อน และเป็นน้ำมันที่มีความสมดุลของโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 ดีกว่าน้ำมันอื่นๆ นอกจากนี้ในใบงาขี้ม้อนยังสามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยเป็นสารประเภท aldehyde เรียกว่า perilla aldehyde ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นอาหาร มีสรรพคุณแก้เคล็ดขัดยอก ลดริ้วรอยบนใบหน้า บำรุงหน้า สารสำคัญในกลุ่ม polyphenol คือ rosmarinic มีฤทธิ์ต้านการแพ้ และต้านการอักเสบ และสาร luteolin แสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบ และยับยั้งเซลล์มะเร็ง ส่งผลให้ในปัจจุบันจึงมีการนำงาขี้ม้อนมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลายทั้งเป็นอาหารเพื่อบริโภค ตลอดจนเป็นส่วนผสมของอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและยา ประเทศไทยปลูกงาขี้ม้อนมานานโดยเฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย น่าน พะเยา แม่ฮ่องสอน เป็นต้น พื้นที่ปลูกงาขี้ม้อนมีประมาณ 3,400 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 80 กิโลกรัมต่อไร่ (พรรณผกา,2553)

เนื่องจากในเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบสูงทำให้เกิดปัญหาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาภายใต้สภาพอุณหภูมิ ความชื้น และสภาพที่ไม่เหมาะสม ในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเมล็ดงาขี้ม้อนมีอายุการเก็บรักษาไม่ถึง 1 ปี และเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิที่เย็นและแห้งเป็นเวลา 23 ปี เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนเหลือต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ (Cho *et al*., 1986) การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส (Somkid *et al*.,2009) เมื่อเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนได้ 5-8 ปี มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 65 -70 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไปมากกว่า 9 ปี ไม่สามารถรักษาความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ไว้ได้ (Naoko and Michiho, 2010) Nagamine *et al* (2000) คาดว่าถ้าเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เมล็ดพันธุ์จะมีอายุการเก็บรักษา (seed longevity) ประมาณ 50 ปี อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะสามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนไว้ในสภาพควบคุมความชื้น และอุณหภูมิ แต่ก็ยังมีขบวนการ metabolism ของเมล็ดพันธุ์ ทำให้ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ลดลงได้ จำเป็นต้องนำมาปลูกเพื่อสืบทอดพันธุ์และรักษาความงอกเป็นระยะ เป็นการสิ้นเปลืองเมล็ดพันธุ์ และค่าใช้จ่ายในการจัดการ

และเมื่อนำมาปลูกหลายครั้งพันธุกรรมอาจเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากสภาพแวดล้อม และความผิดพลาดที่เกิดจากการปลูก ดูแลรักษา เก็บเกี่ยว การปรับปรุงสภาพ ตลอดจนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ เพื่อลดปัญหาเหล่านี้ได้มีผู้ศึกษาถึงวิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้ได้เวลายาวนานภายใต้สภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการหยุดปฏิกิริยาทางชีวเคมี การย่อยสลาย และการแบ่งเซลล์ เมื่อละลายเกล็ดน้ำแข็งออกเมล็ดพันธุ์พืชที่เก็บยังคงมีชีวิตโดยไม่เสื่อมความงอกและกลายพันธุ์ Stanwood and Ban (1981) ทดลองเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุกรรมทั้งพืชไร่ พืชสวน ไม้ดอก และไม้ยืนต้นได้สำเร็จมากกว่า 120 ชนิด และต่อมามีนักวิจัยอีกมากมายในต่างประเทศนำเมล็ดพันธุ์พืชชนิดต่างๆมาทดลองเก็บในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว พบว่าพืชบางชนิดเท่านั้นที่ไม่ประสบผลสำเร็จ ส่วนในประเทศไทยมีการศึกษาในเมล็ดพันธุ์พืชผัก และพืชไร่ต่างๆ เช่น พริก มะเขือเทศ ผักกวางตุ้ง ข้าวโพดหวาน ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น พบว่าเมล็ดพันธุ์ต่างๆข้างต้นมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังการเก็บรักษาใกล้เคียงหรือสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ปกติ (ภาณี และคณะ,2540ก. และ ข., 2541, 2542 และ 2543)

ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งทดลองการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนพร้อมศึกษาผลของความชื้นในเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนภายใต้การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งในไนโตรเจนเหลว เนื่องจากความชื้นในเมล็ดพันธุ์เป็นปัจจัยหลักสำคัญที่ส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของเชื้อพันธุ์ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชให้คงอยู่ตลอดไป

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- <u>อุปกรณ์</u>

1.เมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อน
2.เครื่องบด
3.เครื่องชั่งน้ำหนัก
4.ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมฝาปิด
5.ตู้อบความร้อนไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (Hot Air Oven)
6.ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ (Unheated seed room/seed moisture reduction room)
7.ถุงกระดาษสีน้ำตาล
8.ถุงซิปพลาสติกใส
9. ถุงอลูมิเนียมฟอยล์
10.โถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น
11.กระดาษทดสอบความงอก

- <u>วิธีการ</u>

<u>การทดลองที่ 1</u> ศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง มี 2 การทดลองย่อย คือ

1.การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

2.การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ

- Main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ จำนวน 8 ระดับ คือ ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10 (เริ่มต้น), 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์

-Sub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 2 ระดับ คือ 0 และ 7 วัน

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (Combine Analysis of Variance) ระหว่าง 2 การทดลองย่อย

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. รวบรวมเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อน

2. นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาเพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก และทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ จำนวน 4 ซ้ำ

3. นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชให้ได้ที่ระดับ 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์

4. การทดลองย่อยที่ 1

4.1 นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับ และที่ความชื้นเริ่มต้นมาเพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก และทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ ที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน จำนวน 4 ซ้ำ

4.2 นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น ระดับละ 4 ซ้ำ มาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกโดยมีการดูดอากาศออก และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วจึงเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

5. การทดลองย่อยที่ 2

5.1 นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับ และที่ความชื้นเริ่มต้นมาเพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก และทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ ที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน จำนวน 4 ซ้ำ

5.2 นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น ระดับละ 4 ซ้ำ มาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกโดยมีการดูดอากาศออก และนำไปเก็บรักษาที่สภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาละลายเกล็ดน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง และนำมาเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

<u>การทดลองที่ 2</u> ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ระยะเวลาต่างๆภายใต้สภาพเยือกแข็ง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อย คือ

1.การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

2.การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 4 ซ้ำ

- Main plot คือ ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ จำนวน 8 ระดับ คือ ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10 (เริ่มต้น), 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์

- Sub plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษา 3 ระดับ คือ 0, 6 และ 12 เดือน

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (Combine Analysis of Variance) ระหว่าง 2 การทดลองย่อย

โดยมีวิธีการปฏิบัติดังต่อไปนี้

1. รวบรวมเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อน

2. นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาเพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก และทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

3. นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชให้ได้ที่ระดับ 9, 8, 7, 6, 5, 4 และ 3 เปอร์เซ็นต์

4. การทดลองย่อยที่ 1 นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น ระดับละ 4 ซ้ำ มาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกโดยมีการดูดอากาศออก และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน แล้วจึงเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

5. การทดลองย่อยที่ 2 นำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น ระดับละ 4 ซ้ำ มาบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์และปิดผนึกโดยมีการดูดอากาศออก และนำไปเก็บรักษาที่สภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา0, 6 และ 12 เดือน 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาละลายเกล็ดน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง และเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

<u>การทดสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์</u> โดยวิธีอบด้วยความร้อน (Air-Oven Method) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบ คลุกเคล้าให้ทั่ว โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนาน เกิน 3 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาเพื่อบดตัวอย่างละ 1 กรัม

2. การบดเมล็ด บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด แล้วสุ่มตัวอย่างที่บดแล้ว ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมกลม ก้นแบน ที่มีฝาปิดพอดี นำไปชั่งน้ำหนักพร้อมภาชนะ โดยใช้เครื่องชั่งที่อ่านค่าทศนิยมได้ 3 ตำแหน่ง ทำ 2 ซ้ำ

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

4. การคำนวณผลการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก 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

<u>การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์</u>

เพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเพาะบนกระดาษเพาะ ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2014) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ทำการเตรียมกระดาษเพาะเมล็ดให้มีขนาดเท่ากับกล่อง จำนวน 2-3 ชั้น รดน้ำสะอาดลงบนกระดาษเพาะให้ชุ่ม เรียงเมล็ดที่ตองการทดสอบความงอกลงบนกระดาษ จำนวน 100 เมล็ดต่อกล่องต่อ 1 ซ้ำ ปิดฝาเพื่อควบคุมความชื้น และรดน้ำเป็นครั้งคราว

2. ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 21 วัน

3. การประเมินผลการทดสอบความงอก ตรวจสอบความงอกครั้งแรก (First Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 14 วัน และตรวจสอบความงอกครั้งสุดท้าย (Final Count) เมื่อต้นกล้ามีอายุ 21 วัน โดยในการประเมินจะนับและแยกส่วนต่างๆหลังการเพาะครบเวลาตามกำหนดดังต่อไปนี้

3.1 ต้นอ่อนปกติ (Normal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆครบถ้วน

3.2 ต้นอ่อนผิดปกติ (abnormal Seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆไม สมบูรณ์หรือขาดหายไป 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

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

<u>การตรวจสอบความแข็งแรงโดยเร่งอายุเมล็ดพันธุ์</u> (accelerated aging test)

นำเมล็ดในแต่ละกรรมวิธีๆ 20 กรัม ใส่ในตะแกรงลวด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ขาตะแกรงสูง 3.5 เซนติเมตร วางภายในกระป๋องที่บรรจุน้ำ 120 ซีซี. ปิดฝากระป๋องให้สนิทแล้วนำไปเร่งอายุในตู้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก

- เวลาและสถานที่

เริ่มตุลาคม 2556 - กันยายน 2558 สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

<u>การทดลองที่ 1</u> ศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน

1.ผลการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก

จากตารางที่ 1 พบว่าการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน ยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่เปลี่ยนแปลงจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 96.0, 97.0, 95.8, 96.0, 96.8, 95.0, 95.5 และ 95.5 ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 94.8, 95.0, 91.8, 95.0, 95.0,93.0, 93.8 และ 93.5 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องให้ผลไม่แตกต่างกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 98.5, 97.0 ,95.3 ,95.5 ,97.0 ,95.3 ,95.3 และ 95.3 ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Stanwood and Bass (1981) ทดลองเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุกรรมทั้งพืชไร่ พืชสวน ไม้ดอก และไม้ยืนต้นได้สำเร็จมากกว่า 120 ชนิด นอกจากนี้ ในประเทศไทยมีการศึกษาในเมล็ดพันธุ์พืชผัก และพืชไร่ต่างๆ เช่น พริก มะเขือเทศ ผักกวางตุ้ง ข้าวโพดหวาน ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น พบว่าเมล็ดพันธุ์ต่างๆข้างต้นมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังการเก็บรักษาใกล้เคียงหรือสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ปกติ (ภาณี และคณะ,2540ก. และ ข., 2541, 2542 และ 2543) เป็นไปตามหลักการการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งเป็นการหยุดปฏิกิริยาทางชีวเคมี การย่อยสลาย และการแบ่งเซลล์ เมื่อละลายเกล็ดน้ำแข็งออกเมล็ดพันธุ์พืชที่เก็บยังคงมีชีวิตโดยไม่เสื่อมความงอก

ในตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกภายในระยะเวลาการเก็บรักษา 0-7 วัน พบว่าในที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 9-10 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยลดต่ำลง เหลือ 91.9 และ 93.9 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีการเพาะทดสอบสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 3 -9 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น 10 % ระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน

ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์	ระยะเวลาการเก็บรักษา		ค่าแตกต่าง[2]		ระยะเวลาการเก็บรักษา		ค่าแตกต่าง[2]
	0 วัน[1]	7 วัน[1]			0 วัน[1]	7 วัน[1]	
สภาพอุณหภมิห้อง				สภาพเยือกแข็ง			
3	98.5a	96.0a	2.5^{ns}		98.0a	94.8a	3.3^{ns}
4	97.0a	92.5a	4.5**		97.0a	95.0a	2.0^{ns}
5	95.3a	95.3a	0.0^{ns}		95.8a	91.8a	4.0*
6	95.5a	96.0a	-0.5^{ns}		96.0a	95.0a	1.0^{ns}
7	97.0a	94.8a	2.3^{ns}		96.8a	95.0a	1.8^{ns}
8	95.3a	95.3a	0.0^{ns}		95.0a	93.0a	2.0^{ns}
9	95.3a	88.5b	6.8**		95.5a	93.8a	1.8^{ns}
10	95.3a	92.5a	2.8^{ns}		95.5a	93.5a	2.0^{ns}

C.V. (a)= 2.4%, C.V.(b)= 2.5%

[1] เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละสภาพการเก็บรักษา ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-10 เปอร์เซ็นต์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกัน ทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

[2] เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นเดียวกันเมื่ออายุการเก็บรักษา 0 และ7 วัน

* แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{0.05}$ = 3.4

**แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{0.01}$ = 4.5

^{ns} ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกจากวิธีการเพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ต่างๆ เป็นระยะเวลา 0 และ 7 วัน จากการเก็บรักษาที่สภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็ง

ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์	ระยะเวลาการเก็บรักษา	
	0 วัน[(1)]	7 วัน[(1)]
3	98.3a	95.4a
4	97.0ab	93.8a
5	95.5b	93.5ab
6	95.8ab	95.5a
7	96.9ab	94.9a
8	95.1b	94.1a
9	95.4b	91.1b
10	95.4b	93.0ab

C.V. (a)= 2.4%, C.V.(b)= 2.5%

[(1)] เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละอายุเก็บรักษา ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-10 เปอร์เซ็นต์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

2. ผลการตรวจสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test)

2.1 การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

ในตารางที่3 เมื่อนำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาทำการทดสอบความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุเมล็ดเชื้อพันธุ์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-10 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 99.3 ,97.5 ,96.5 ,95.8 ,95.3 ,95.3 ,94..3 และ 93.8 ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่แตกต่างกันเช่นกันในทุกระดับความชื้น ยกเว้นที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10 เปอร์เซ็นต์มีความงอกลดลงต่ำกว่าทุกระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ โดยแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 94.3, 93.0, 92.3, 94.8, 96.3, 91.5, 94.0 และ 88.8 ตามลำดับ นอกจากนี้ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 10 เปอร์เซ็นต์ยังมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ยกว่าทุกระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (AA-Test) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 3 - 9 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น 10 % เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์	ระยะเวลาการเก็บรักษา		ค่าแตกต่าง[2]
	0 วัน[1]	7 วัน[1]	
3	93.3b	94.3ab	-1.0[ns]
4	97.5a	93.0b	4.5**
5	96.5ab	92.3b	4.3**
6	95.8ab	94.8ab	1.0[ns]
7	95.3ab	96.3a	-1.0[ns]
8	95.3ab	91.5bc	3.8**
9	94.3b	94.0ab	0.3[ns]
10	93.8b	88.8c	5.0**

C.V. (a)= 2.2%, C.V.(b)= 2.0%

[1] เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ในแต่ละอายุเก็บรักษา ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-10 เปอร์เซ็นต์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

[2] เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นเดียวกันเมื่ออายุการเก็บรักษา 0 และ7 วัน

* แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{0.05}$ = 2.8

**แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{0.01}$ = 3.7

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

2.2 การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

ในตารางที่4 เมื่อนำเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนมาทำการทดสอบความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุเมล็ดเชื้อพันธุ์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-10 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 92.8, 97.5, 96.8, 96.5, 95.3, 95.8, 94.3 และ 93.3 ตามลำดับและเมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 89.5, 96.3, 91.0, 92.8, 93.0, 90.8, 89.0 และ 88.3 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ 8-10 เปอร์เซ็นต์ เริ่มมีค่าเฉลี่ย

เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงต่ำกว่าที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 4-7 เปอร์เซ็นต์ และยังเริ่มมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยลดลงจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น ทั้งนี้เนื่องจากความชื้นของเมล็ดพันธุ์เป็นปริมาณน้ำที่มิใช่องค์ประกอบทางเคมีที่สามารถขับออกจากเมล็ดได้ ถือว่าเป็นตัวแปรในสภาพการเก็บรักษาที่มีความสำคัญเป็นอันดับแรก เมล็ดที่มีความชื้นสูง จะมีการเผาผลาญอาหารสูงเพิ่มภาวะที่เป็นอันตรายกับตัว รวมทั้งชักนำให้โรคและแมลงเข้าทำลายจึงเสื่อมคุณภาพได้รวดเร็วกว่าเมล็ดที่แห้ง (Harrington, 1970)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (AA-Test) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 3 - 9 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดพันธุ์เริ่มต้น 10 % เมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์	ระยะเวลาการเก็บรักษา		ค่าแตกต่าง[2]
	0 วัน[1]	7 วัน[1]	
3	92.8a	89.5b	3.3^{ns}
4	97.5a	96.3a	1.3ns
5	96.8a	91.0b	5.8*
6	96.5a	92.8ab	3.8^{ns}
7	95.3ab	93.0ab	2.3^{ns}
8	95.8a	90.8b	5.0*
9	94.3a	89.0b	5.3*
10	93.3a	88.3b	5.0*

C.V. (a)= 3.4%, C.V.(b)= 3.5%

[1] เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยในแต่ละความชื้นในเมล็ดพันธุ์ (สดมภ์) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ความเชื่อมั่น 95%

[2] เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับความชื้นเดียวกันเมื่ออายุการเก็บรักษา 0 และ7 วัน

* แตกต่างกันโดยเทียบกับ LSD $_{0.05}$ = 4.7

**แตกต่างกันโดยเทียบกับ LSD $_{0.01}$ = 6.4

^{ns} ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ระยะเวลา 0 ,6 และ 12 เดือน ภายใต้สภาพเยือกแข็ง

1.ผลการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก

จากตารางที่ 5 การทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีการเพาะทดสอบสอบ หาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) พบว่าเมื่อเก็บในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 7 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยลดลง โดยที่ระดับความชื้นในเมล็ด

เชื้อพันธุ์ 7 เปอร์เซ็นต์ ความงอกเฉลี่ยเหลือเพียง 2.3 เปอร์เซ็นต์ จากความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 97.3 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีชีวิตเมื่อมีระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 8, 9 และ 10 เปอร์เซ็นต์ และภายใน 12 เดือน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ เริ่มมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยลดลง 18.3 เปอร์เซ็นต์ จากเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเริ่มต้น แสดงว่าระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์มีผลต่อความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อน ตามหลักการของ Harrington (1970) คือ เมล็ดที่มีความชื้นสูง จะมีการเผาผลาญอาหารสูงเพิ่มภาวะที่เป็นอันตรายกับตัว รวมทั้งชักนำให้โรคและแมลงเข้าทำลายจึงเสื่อมคุณภาพได้รวดเร็วกว่าเมล็ดที่แห้ง การเก็บรักษาจึงถือหลักการแรกคือ ทำเมล็ดให้แห้ง และสอดคล้องกับงานทดลองของ Cho *et al*. (1986) พบว่าในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเมล็ดงาขี้ม้อนมีอายุการเก็บรักษาไม่ถึง 1 ปี และเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิที่เย็นและแห้งเป็นเวลา 23 ปี เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนเหลือต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น

ส่วนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งภายในระยะเวลา 0-12 เดือน พบว่าทุกระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ยกเว้น 9 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน โดยยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่แตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเริ่มต้น และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็งพบว่า ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 3, 4, 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 12 เดือน การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งสามารถคงความงอกเฉลี่ยได้สูงกว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง โดยที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 3 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 95.3 และ 89.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 95.3 และ 88.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 95.3 และ 90.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 94.3 และ 75.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และภายในระยะเวลา 6 เดือน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 7, 8, 9 และ 10 เปอร์เซ็นต์ การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งยังคงรักษาเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยได้แตกต่างจากการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง แต่ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 9 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เริ่มมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยลดลง โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ที่ 91.5, 93.5, 85.8 และ 82.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องมีการสูญเสียความมีชีวิตเกิดขึ้นตั้งแต่ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 7 เปอร์เซ็นต์

<u>ตารางที่5</u> เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีการเพาะทดสอบสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (Germination Test) หลังผ่านการลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ที่ระดับ 3 -9 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 % แล้วนำมาเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

	สภาพการเก็บรักษา[1]		
ความชื้นในเมล็ด(%)	อุณหภูมิห้อง	เยือกแข็ง	**ค่าแตกต่าง[2]**
<u>0 เดือน</u>			
3	95.3ab	96.3a	-1.0^{ns}

4	94.3ab	96.5a	-2.3^{ns}
5	94.3ab	95.8a	-1.5^{ns}
6	91.8bc	91.0b	0.8^{ns}
7	97.3a	97.8a	-0.5^{ns}
8	95.3ab	93.3ab	2.0^{ns}
9	88.8c	84.8c	4$^{.0ns}$
10	88.0c	90.5b	-2.5^{ns}
6 เดือน			
3	92.5a	88.0cd	4.5^{ns}
4	91.8a	89.0cd	2.8^{ns}
5	87.3b	94.3a	-7.0**
6	89.3ab	91.0abc	-1.8^{ns}
7	2.3c	94.0ab	-91.8*
8	0.0c	91.3abc	-91.3**
9	0.0c	85.0d	-85.0**
10	0.0c	89.5bcd	-89.5**
12 เดือน			
3	89.3a	95.3a	-6.0**
4	88.0a	95.3a	-7.3**
5	90.8a	95.3a	-4.5*
6	75.0b	94.3a	-19.3**
7	0.0c	91.5a	-91.5**
8	0.0c	93.5a	-93.5**
9	0.0c	85.8b	-85.8**
10	0.0c	82.3b	-82.3**

C.V.(a)=4.3% C.V.(b)=3.7%

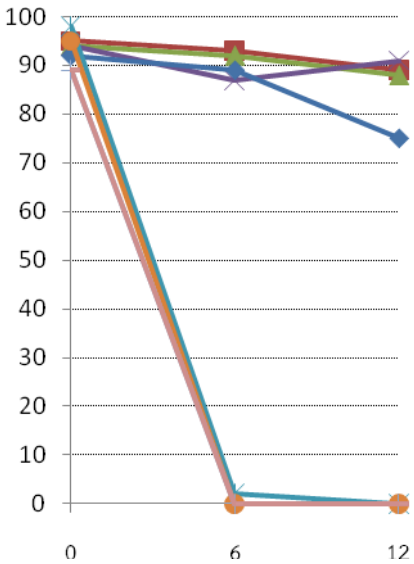
(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่เก็บรักษาในสภาพเดียวกัน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ต่างๆ และแต่ละอายุการเก็บรักษา (เดือน) ซึ่งตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

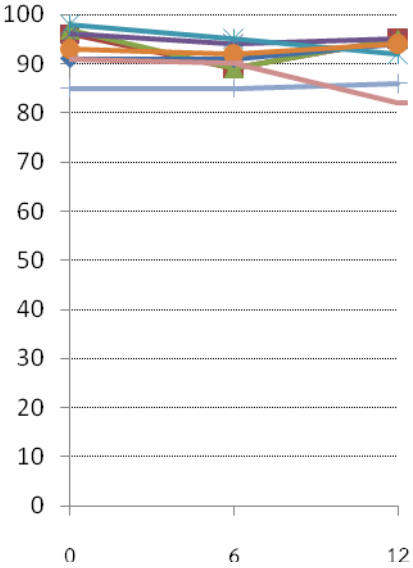
(2) เปรียบเทียบทางด้านแถว เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เดียวกันเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็ง

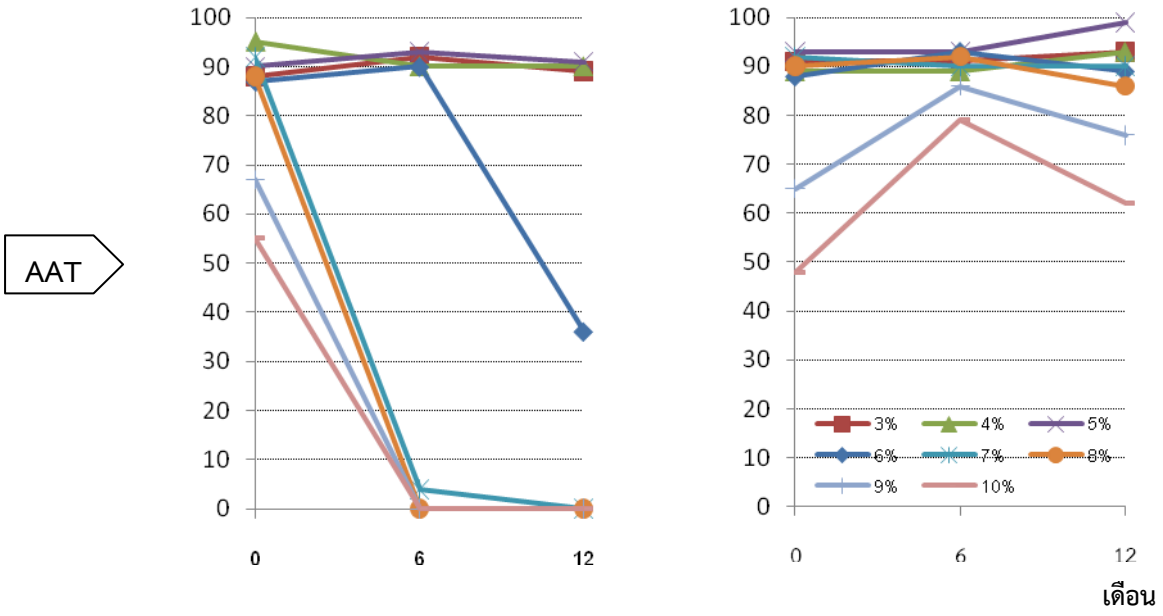
* แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD0_{.05}$ =4.4 ** แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD0_{.01}$=6.0 ^{ns} ไม่แตกต่างทางสถิติ

ความงอก

GT


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
6
12


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
6
12



<u>ภาพที่2</u> ผลของระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ต่อความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง และเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน โดยวิธีการเพาะทดสอบสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก (GT) และการเร่งอายุเมล็ดเชื้อพันธุ์ (AAT)

2. ผลการตรวจสอบความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test)

<u>ตารางที่ 6</u> เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (AA Test) หลังการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3 -9 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้น 10 %

	สภาพการเก็บรักษา[1]		
ความชื้นในเมล็ด(%)	อุณหภูมิห้อง	เยือกแข็ง	ค่าแตกต่าง[2]
<u>0 เดือน</u>			
3	87.3a	91.3a	-4.0^{ns}
4	94.3a	89.3a	5.0^{ns}
5	88.8a	92.5a	-3.8^{ns}
6	87.3a	87.3a	-0.0^{ns}
7	91.5a	91.3a	0.3^{ns}
8	88.3a	89.5a	-1.3^{ns}
9	66.8b	65.0b	1.8^{ns}
10	54.5c	47.8c	6.8*
<u>6 เดือน</u>			
3	9.0a	90.3a	1.8^{ns}

4	90.0a	88.5a	1.5^{ns}
5	93.0a	93.0a	-0.0^{ns}
6	90.0a	93.0a	-3.0^{ns}
7	4.0b	90.0a	-86.0**
8	0.0b	92.0a	-92.0**
9	0.0b	86.3a	-86.3**
10	0.0b	78.8b	-78.8**
12 เดือน			
3	88.5a	92.8ab	-4.3^{ns}
4	99.8a	92.5ab	-2.8^{ns}
5	90.8a	97.0a	-6.3^{ns}
6	36.3b	89.0b	-52.8**
7	0.0c	90.3ab	-90.3**
8	0.0c	86.3b	-86.3**
9	0.0c	75.8c	-75.8**
10	0.0c	61.5d	-61.5**
C.V.(a)=6.3%	C.V.(b)=6.8%		

(1) เปรียบเทียบทางด้านสดมภ์ ความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์วัดจากเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังเร่งอายุเมล็ดพันธุ์เมื่อเก็บรักษาในสภาพเดียวกันที่อายุการเก็บรักษา 0, 6 และ 12 เดือนในแต่ละระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ต่างๆ ซึ่งตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

(2) เปรียบเทียบทางด้านแถว ความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์วัดจากเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ต่างๆที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็ง

* แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD0_{.05}$ =6.7 ** แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD0_{.01}$=8.9 ^{ns} ไม่แตกต่างทางสถิติ

จากการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนโดยวิธีเร่งอายุแล้วนำมาเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก ตามตารางที่ 6 พบว่าเมื่อเมื่อลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เหลือระดับ 8 และ 9 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความชื้นเริ่มต้นเมล็ดเชื้อพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยต่ำลง คือ 88, 67 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 7 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยลดลง โดยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 7 เปอร์เซ็นต์ ความงอกเฉลี่ยเหลือเพียง 4 เปอร์เซ็นต์ จากความงอกเริ่มต้นเฉลี่ย 92 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีชีวิตเมื่อมีระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 8, 9 และ 10 เปอร์เซ็นต์ และภายใน 12 เดือน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ เริ่มมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยลดลงและแตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเริ่มต้น คือ 36 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีแนวโน้มเหมือนกับการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยวิธีทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก

ส่วนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งภายในระยะเวลา 0-12 เดือน พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3,4,5,6,7 และ 8 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน และยังคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่แตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น ส่วนที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 9 และ 10 เปอร์เซ็นต์ กลับมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเริ่มต้นต่ำแตกต่างจากที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3,4,5,6,7 และ 8 ส่งผลให้

เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งภายในระยะเวลา 12 เดือนมีความงอกเฉลี่ยต่ำและแตกต่างจากที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 (ตารางที่7)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกระหว่างการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องและเยือกแข็งพบว่า เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ที่ระดับความชื้น 3 - 6 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่แตกต่างกันระหว่าง 2 สภาพการเก็บรักษา แต่ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ตั้งแต่ 7-10 เปอร์เซ็นต์ การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งกลับให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงและแตกต่างกว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง และเมื่อเก็บรักษาจนถึงระยะเวลา 12 เดือน มีเพียงที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้นที่ยังให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยไม่แตกต่างจากการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง ส่วนระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 5-10 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงกว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง แต่เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 9-10 เปอร์เซ็นต์เริ่มให้ค่าแตกต่างจากที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์อื่น คือ 76 และ 62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับขณะที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-8 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกลดลง 93, 93, 99, 89, 90 และ 86 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 6) แสดงให้เห็นว่านอกจากระดับอุณหภูมิในการเก็บรักษาจะมีผลต่อความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์แล้ว ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลเช่นกันต่อการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็ง Kapoor *et al.* (2010) อธิบายว่าการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์จะลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากความชื้นในเมล็ดพันธุ์ และ อุณหภูมิในการเก็บรักษาและการลดลงของความงอกมีผลเนื่องมากจากปฏิกิริยารีดักชั่น (reduction) ของเอนไซม์แอลฟ่าอะไมเลส (α-amylase) และปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Bailly, 2004) การเพิ่มขึ้นของความชื้นและอุณหภูมิจะทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของดีเอ็นเอ และไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (rRNA) กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ขบวนการหายใจ และการเคลื่อนที่ของสารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้เกิดการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็ว (Mc Donald, 1999)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เมื่อเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าสามารถเก็บรักษาได้ในทุกระดับเปอร์เซ็นความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยยังสามารถคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่าเดิมกับเปอร์ซ็นต์ความงอกเริ่มต้น แต่เมื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งคือ 3-9 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากยังสามารถคงความมีชีวิตได้เท่ากับความมีชีวิตเริ่มต้น

สำหรับการทดลองเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องถ้ามีความชื้นเมล็ดเชื้อพันธุ์ตั้งแต่ 7 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจะเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนได้ไม่ถึง 6 เดือน เนื่องจากเกิดการสูญความมีชีวิตและความแข็งแรง และถ้ามีระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อ พันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 12 เดือน ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์จะลดลงจากความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้นประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 3-5 เปอร์เซ็นต์ยังคงรักษาความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ไว้ได้ภายในระยะเวลา 12 เดือน

ส่วนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือนนั้น ระดับความชื้นที่เหมาะสมคือ 3-7 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากสามารถคงความมีชีวตและความแข็งแรงได้เท่ากับความมีชีวตและความแข็งแรงเริ่มต้น จะพบว่าช่วงระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่เหมาะสมจะแคบกว่าการทดสอบเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน ถึงแม้ว่าที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 6 เดือน ยังคงคงความมีชีวตและความแข็งแรงได้เท่ากับความมีชีวตและความแข็งแรงเริ่มต้น แต่อย่างไรก็ตามสุดท้ายกลับมีแนวโน้มลดลงภายในระยะเวลา 12 เดือน (ภาพที่1)

สำหรับการทดลองในครั้งนี้น่าจะมีการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาให้นานขึ้น เนื่องจากแม้ว่าที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-7 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นช่วงที่เหมาะสม แต่ภายในระยะเวลา 12 เดือน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์เดียวกันนี้ยังไม่พบความแตกต่างระหว่างการเก็บรักษาในทั้ง 2 สภาพ อันเนื่องมาจากระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำคือ 3-7 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้เมล็ดเชื้อพันธุ์สามารถเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น

ชื่อการทดลองที่ 24: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ในสภาพเยือกแข็ง

ชื่อผู้วิจัย

หัวหน้าการทดลอง : นายพิทยา วงษ์ช้าง

ผู้ร่วมงาน : นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด
นางสาวอัสนี ส่งเสริม
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ (Key words)

พืชน้ำมัน ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ความชื้น อุณหภูมิ การเก็บในสภาพเยือกแข็ง

บทคัดย่อ

ถั่วเหลือง และถั่วลิสงจัดได้ว่าเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย แต่เนื่องจากเมล็ดพืชน้ำมันมีอายุการเก็บรักษาสั้น การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ให้คงความมีชีวิตถือเป็นกิจกรรมที่จำเป็นประการหนึ่งในวงจรการเพาะปลูก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเพื่อการอนุรักษ์ในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งเป็นเทคนิคของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์อีกวิธีหนึ่งเนื่องจากเป็นการหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลายและแบ่งเซลล์โดยสิ้นเชิง ทำให้ไมมีการเสื่อมชีวิต และไมมีความจำเป็นที่จะต้องนำเมล็ดไปปลูกเพื่อสืบเชื้อพันธุ์ในช่วงเวลาของการอนุรักษ์พันธุ์เป็นการลดต้นทุนในการอนุรักษ์ ลดปัญหาอันเนื่องจากการกลายพันธุ์ การผสมข้ามหรือข้อผิดพลาดจากการปฏิบัติงาน และลดความเสี่ยงในการเก็บอนุรักษ์ในรูปของเมล็ดพันธุ์ในห้องอนุรักษ์ (5 และ -10 องศาเซลเซียส) อันเนื่องมาจากหากเกิดปัญหาขัดข้องเกี่ยวกับระบบทำความเย็นอาจส่งผลทำให้เมล็ดพันธุ์ที่อนุรักษ์เกิดความเสียหายได้ การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเยือกแข็งจัดเป็นเทคนิคขั้นสูงแต่ในแง่ปฏิบัติไม่ยุ่งยากซับซ้อน ในปัจจุบันมีเมล็ดพันธุ์มากกว่า 120 ชนิด (species) ผ่านการทดสอบโดยพบว่าเมื่อผ่านการเก็บในสภาพเยือกแข็งแล้วนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิปกติเมล็ดสามารถงอกได้อย่างปกติ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์พืชและความชื้นในเมล็ดซึ่งต้องการการปฏิบัติที่แตกต่างกันไป ในการทดลองนี้ได้ศึกษาความชื้นที่เหมาะสมก่อนนำไปเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง โดยนำถั่วเหลืองและถั่วลิสงไปเก็บไว้ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลานาน 7 วัน พบว่า **ถั่วเหลือง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองทุกพันธุ์มีค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยต่ำกว่าที่ระดับความชื้น 10, 8 และ 6 ตามลำดับ ส่วน**ถั่วลิสง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์ถั่วลิสงทุกพันธุ์มีค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยต่ำกว่าที่ระดับความชื้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง และถั่วลิสง ภายใต้สภาพเยือกแข็งที่ระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน พบว่า **ถั่วเหลือง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ มีแนวโน้มของ

ค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ส่วน**ถั่วลิสง**ทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มของค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ตลอดการเก็บรักษานาน 12 เดือน โดยที่ถั่วลิสงพันธุ์ KKFCRC49-80-3 มีค่าความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ

บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชส่วนใหญ่เป็นการอนุรักษ์ในรูปของเมล็ดพันธุ์ โดยอุณหภูมิที่ใช้สำหรับการอนุรักษ์มี 2 ระดับ ได้แก่ 5 องศาเซลเซียส (การอนุรักษ์ในระยะปานกลาง) และ -10 องศาเซลเซียส (การอนุรักษ์ระยะยาว) ซึ่งการอนุรักษ์ดังกล่าวจะต้องนำเอาเชื้อพันธุ์ออกมาปลูกเพื่อสืบเชื้อพันธุ์ (regenerate) เป็นระยะๆ การอนุรักษ์ในรูปของเมล็ดพันธุ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชนั้นมีค่าใช้จ่ายในเรื่องค่าไฟฟ้าและการดูแลรักษาระบบทำความเย็น หากเกิดปัญหาขัดข้องเกี่ยวกับระบบทำความเย็นไม่สามารถทำความเย็นได้แล้วอาจส่งผลทำให้เมล็ดพันธุ์ที่อนุรักษ์เกิดความเสียหายได้ ซึ่งในปลายปี 2554 ที่ผ่านมาได้เกิดมหาอุทกภัยครั้งใหญ่ซึ่งทำให้ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตรมีความเสี่ยงต่อความเสียหายของเมล็ดพันธุ์อันเนื่องมาจากกระแสไฟฟ้าอาจจะดับติดต่อกันเป็นเวลานาน หรือทางการไฟฟ้าอาจจะทำการตัดกระแสไฟเพื่อเป็นการป้องกันกระแสลัดวงจร เครื่องสำรองไฟฟ้าที่มีอยู่ไม่สามารถจ่ายกระแสไฟฟ้าได้เพียงพอให้กับระบบทำความเย็นหากเกิดเหตุการณ์น้ำท่วมเป็นระยะเวลานาน

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ภายใต้สภาพเยือกแข็ง (cryopreservation) ในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการอนุรักษ์ ซึ่งเป็นการหยุดปฏิกิริยาการย่อยสลายและแบ่งเซลล์โดยสิ้นเชิง ทำให้ไมมีการเสื่อมชีวิต เมล็ดพันธุ์ยังคงมีชีวิตดังเดิม จึงไม่จำเป็นจะต้องนำเมล็ดไปปลูกเพื่อสืบเชื้อพันธุ์ในช่วงเวลาของการอนุรักษ์พันธุ์แต่อย่างใด เป็นการลดปัญหาอันเนื่องจากการกลายพันธุ์ การผสมข้ามหรือ ข้อผิดพลาดจากการปฏิบัติงาน (ภาณี และคณะ, 2549) การเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ อีกทั้งเป็นการลดต้นทุนในการอนุรักษ์ (Touchell และ Dixon, 1994) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดจัดเป็นเทคนิคขั้นสูงแต่ในแง่ปฏิบัติไม่ยุ่งยากซับซ้อน (Chin et al, 1980) ในปัจจุบันมีเมล็ดพันธุ์มากกว่า 120 ชนิด (species) ซึ่งผ่านการทดสอบโดย Standwood และ Bass (1981) พบว่าเมื่อผ่านการเก็บที่อุณหภูมิเย็นยิ่งยวด -196 องศาเซลเซียส แล้วนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิปกติเมล็ดสามารถงอกได้อย่างปกติ จากรายงานของภาณีและคณะ (2549) ซึ่งได้ทำการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวดจากงานวิจัยแล้ว 20 ชนิด จำนวน 277 เชื้อพันธุ์ และยังต้องมีการศึกษาวิจัยค้นคว้าเพิ่มเติมเกี่ยวกับความเฉพาะของแต่ละชนิดพืช ซึ่งจะต้องการการปฏิบัติที่แตกต่างกันไป (Chin et al., 1988)

ดังนั้นวิธีการลดความเสี่ยงในการอนุรักษ์ในรูปแบบของเมล็ดในห้องอนุรักษ์ (5 และ -10 องศาเซลเซียส) เพียงอย่างเดียว รวมถึงลดค่าใช้จ่ายในการอนุรักษ์ในรูปแบบเดิม นำมาซึ่งการศึกษาการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์ในสภาพเยือกแข็ง โดยการทดลองนี้ทำการศึกษาเกี่ยวกับระดับความชื้นที่เหมาะสมของเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันก่อนทำการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง ซึ่งเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งยังคงความมีชีวิตและมีความแข็งแรงเป็นสำคัญ และเป็นการพัฒนาเทคนิคการอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันในสภาพเยือกแข็งเพื่อใช้ในการปฏิบัติงานในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- **อุปกรณ์** : ห้องลดความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส), เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง, เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ, อลูมิเนียมฟอยล์, ตู้อบลมร้อน, กระดาษทดสอบความงอก, ตู้เพาะความงอก, ถังไนโตรเจนเหลว, ไนโตรเจนเหลว, ตะแกรงสแตนเลสสำหรับใส่ตัวอย่าง, ถุงมือป้องกันความเย็นจากไนโตรเจนเหลว (Cryo glove) และคีมคีบอุปกรณ์

- **วิธีการ**:

การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมของพืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

วางแผนการทดลองแบบ split split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ

- **Main plot** เป็นระดับความชื้น คือ 10, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์

- **Sub plot** เป็นพันธุ์ (ขนาดเล็ก, กลาง, ใหญ่ ขนาดละ 3 พันธุ์)

ถั่วเหลือง ขนาดเล็ก : อุตสาหะ เอ, ถั่วเน่า, ผาบ่อง7

ขนาดกลาง : เชียงใหม่6, เชียงใหม่60, สจ.5

ขนาดใหญ่ : AGS292, เชียงใหม่1, เชียงใหม่84-2

ถั่วลิสง ขนาดเล็ก : DOAG No.1514, DOAG No.1369, DOAG No.1355

ขนาดกลาง : ขอนแก่น แดง, ไทนาน9, ขอนแก่น5

ขนาดใหญ่ : ขอนแก่น84-7, ขอนแก่น84-8, KKFCRC49-80-3

- **Sub-subplot** เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0 และ 7 วัน

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันมาลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (ความชื้นสัมพัทธ์ 15% อุณหภูมิ 25°C) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ให้ได้ระดับความชื้นที่ 10, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับมาเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกและทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ จำนวน 4 ซ้ำ ก่อนแช่ลงในไนโตรเจนเหลว

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันที่ลดความชื้นได้ในแต่ละระดับ ระดับละ 4 ซ้ำ ห่อด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยด์ และนำไปแช่ในถังที่มีไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 7 วัน

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันที่ผ่านการแช่ในถังที่มีไนโตรเจนเหลวแล้วเป็นเวลา 7 วัน มาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง แล้วเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย และทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ที่ระยะเวลาต่างๆ ภายในสภาพเยือกแข็ง

วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ

- **Main plot** เป็นพันธุ์ (ขนาดเล็ก, กลาง, ใหญ่ ขนาดละ 3 พันธุ์)

ถั่วเหลือง ขนาดเล็ก : อุตสาหะ เอ, ถั่วเน่า, ผาบ่อง7

ขนาดกลาง : เชียงใหม่6, เชียงใหม่60, สจ.5

ขนาดใหญ่ : AGS292, เชียงใหม่1, เชียงใหม่84-2

ถั่วลิสง ขนาดเล็ก : DOAG No.1514, DOAG No.1369, DOAG No.1355

ขนาดกลาง : ขอนแก่น แดง, ไทนาน9, ขอนแก่น5

ขนาดใหญ่ : ขอนแก่น84-7, ขอนแก่น84-8, KKFCRC49-80-3

- **Sub plot** เป็นระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ 0, 6 และ 12 เดือน

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันมาลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (ความชื้นสัมพัทธ์ 15% อุณหภูมิ 25^{O}C) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ให้ได้ระดับความชื้นที่เหมาะสม (จากผลการทดลองที่ 1)

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันที่ผ่านการลดความชื้นที่เหมาะสม แต่ละระดับ เพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก และทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ จำนวน 4 ซ้ำ ก่อนการเก็บรักษา

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันที่ผ่านการลดความชื้นที่เหมาะสมระดับละ 4 ซ้ำ ห่อด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยด์ และนำไปแช่ในถังที่มีไนโตรเจนเหลวเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

- นำเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมันที่ผ่านการแช่ในถังที่มีไนโตรเจนเหลวแล้วเป็นเวลา 0, 6 และ 12 เดือน มาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง แล้วเพาะทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความงอก และทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเร่งอายุ

<u>การลดความชื้นเมล็ดพันธุ์</u>

- ใช้ห้องลดความชื้นอุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์) ของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร ลดความชื้นให้ได้ระดับความชื้นที่ต้องการ

<u>การเก็บรักษา</u>

- นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการลดความชื้นในแต่ละระดับมาเก็บไว้ในกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส

<u>การทดสอบความชื้นเมล็ดพันธุ์</u>

- โดยวิธีอบด้วยความร้อน (Oven Method) ตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- คลุกเคล้าตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบให้ทั่ว โดยไม่ให้เมล็ดถูกอากาศนานเกิน 30 วินาที แล้วสุ่มเมล็ดมาเพื่อบด

- บดเมล็ด บดเมล็ดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบด แล้วสุ่มเมล็ดที่บดแล้วตัวอย่างละประมาณ 4 กรัม ใช้ทศนิยม 3 ตำแหน่ง ทำ 2 ซ้ำ

- การอบตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าตู้อบไฟฟ้า ที่มีช่องระบายลมและสามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยใช้อุณหภูมิในการอบ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ± 1 ชั่วโมง โดยเอาฝาครอบรองไว้ใต้ภาชนะ เมื่อครบ

กำหนดเวลาแล้วรีบปิดฝาทันที และนำออกจากตู้อบเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (Desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น 30-45 นาที แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมทั้งเมล็ดอีกครั้งหนึ่ง

- การคำนวณผลการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก 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

<u>การทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์</u>

- เพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพืชน้ำมันที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส โดยใช้กระดาษเพาะความงอกตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- การเตรียมเมล็ดสำหรับเพาะทดสอบ ให้เตรียมเมล็ดที่ใช้ในการทดสอบซ้ำละ 50 เมล็ด

- การเตรียมกระดาษเพาะที่ใช้สำหรับการเพาะทดสอบความงอกนั้น ควรทำให้กระดาษเพาะมีความชื้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ทำการเพาะความงอกโดยใช้วิธี Between Paper แล้วนำมาบรรจุใส่กล่องพลาสติกใส จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้เพาะความงอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์

- ระยะเวลาสำหรับการทดสอบความงอก ประมาณ 7 วัน

- การประเมินผลการทดสอบความงอก ตรวจสอบความงอกเมื่อต้นกล้ามีอายุ 7 วัน โดยบันทึก และนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตรดังต่อไปนี้

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

- เวลาและสถานที่ : ระยะเวลาทำการทดลอง 2 ปี (ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558) ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสิรินธร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลการวิจัย (Results)

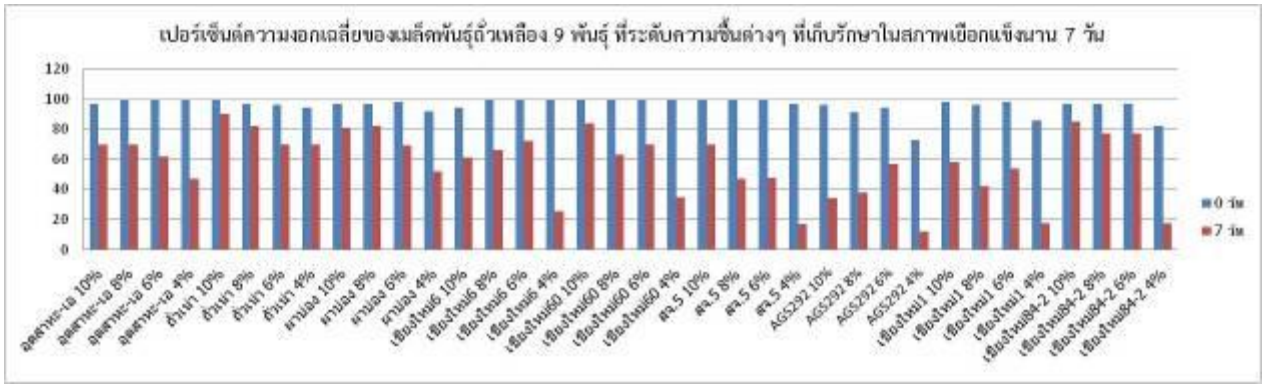
<u>การทดลองที่ 1</u> ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมของพืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง

: <u>ถั่วเหลือง</u> จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 1

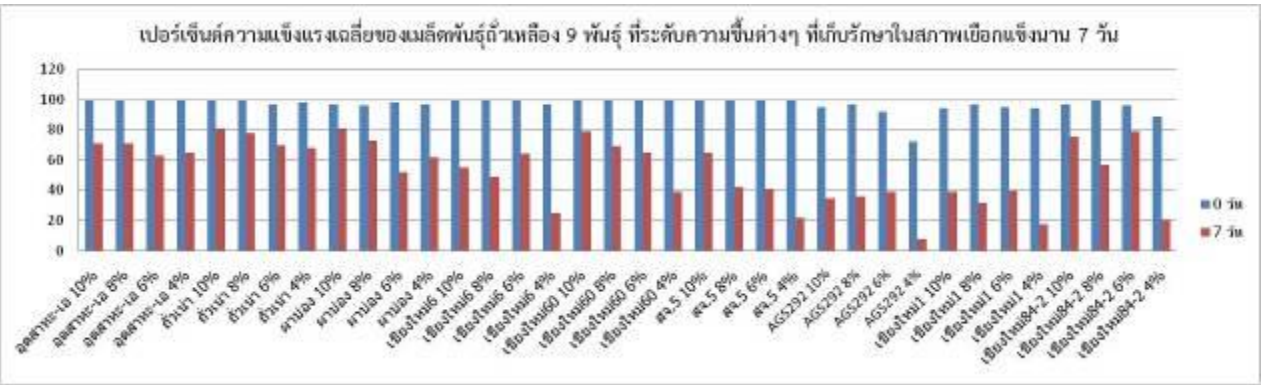
ตารางที่ 1 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 0 และ 7 วัน

พันธุ์	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)															
	10				8				6				4			
	0 วัน		7 วัน		0 วัน		7 วัน		0 วัน		7 วัน		0 วัน		7 วัน	
	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย
อุตสาหะ-เอ	97ab	100a	70c	71bc	99abc	99ab	70b	71b	99abc	100a	62cd	63b	99a	100a	47b	65a
ถั่วเน่า	99ab	99abc	90a	81a	97bcd	99ab	82a	78a	96cd	97b-e	70ab	70b	94bc	98b	70a	68a
ผาบ่อง7	97ab	97bcd	81b	81a	97bcd	96b	82a	73ab	98a-d	98a-d	69bc	52c	92bc	97b	52b	62a
เชียงใหม่6	94b	99a-d	61d	55d	100a	100a	66b	49d	100ab	99abc	72ab	64b	99a	97b	26d	25c
เชียงใหม่60	100a	100ab	84ab	79a	100ab	100a	63b	69b	100a	100a	70abc	65b	100a	100a	35c	39b
สจ.5	100a	99a-d	70c	65c	99abc	99ab	47c	42de	99a-d	100ab	48e	41d	97ab	100a	17e	22cd
AGS292	96b	95cd	34e	35e	91d	97ab	38d	36ef	94d	92e	57de	39d	73c	72d	12e	8e
เชียงใหม่1	98ab	94d	58d	39e	96cd	97ab	42cd	32f	98a-d	95de	54de	40d	86cd	94bc	18e	18d
เชียงใหม่84-2	97ab	97bcd	85ab	75ab	97bcd	99ab	77a	57c	97bcd	96cde	77a	79a	82de	89c	18e	21cd

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน



ภาพที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยื่อกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน

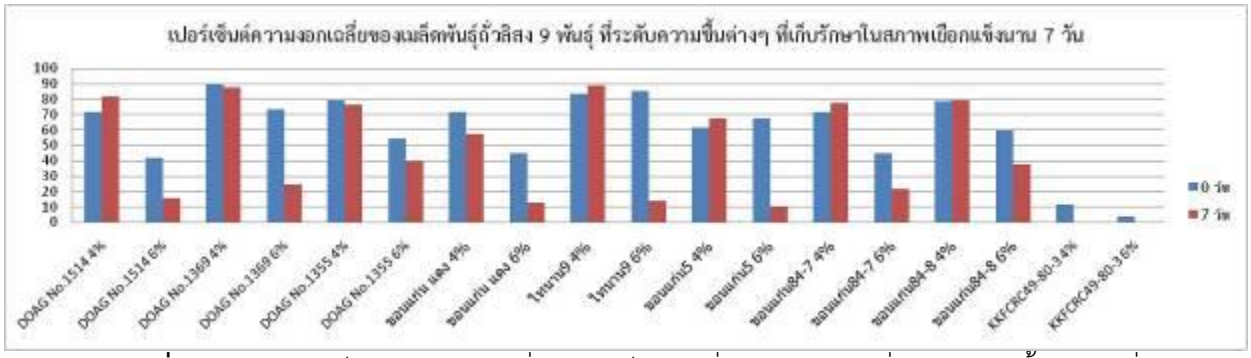
จะเห็นได้ว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ เมื่อผ่านเก็บรักษาภายใต้สภาพเยื่อกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 1 และ 2, ตารางผนวกที่ 10 และ 12) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีขนาดเมล็ดปานกลาง (เชียงใหม่6, เชียงใหม่60, สจ.5) และขนาดเมล็ดใหญ่ (AGS292, เชียงใหม่1, เชียงใหม่84-2) มีแนวโน้มของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ที่มีขนาดเมล็ดเล็ก (อุตสาหะ-เอ, ถั่วเน่า, ผาบ่อง)

: <u>ถั่วลิสง</u> จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยื่อกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 2

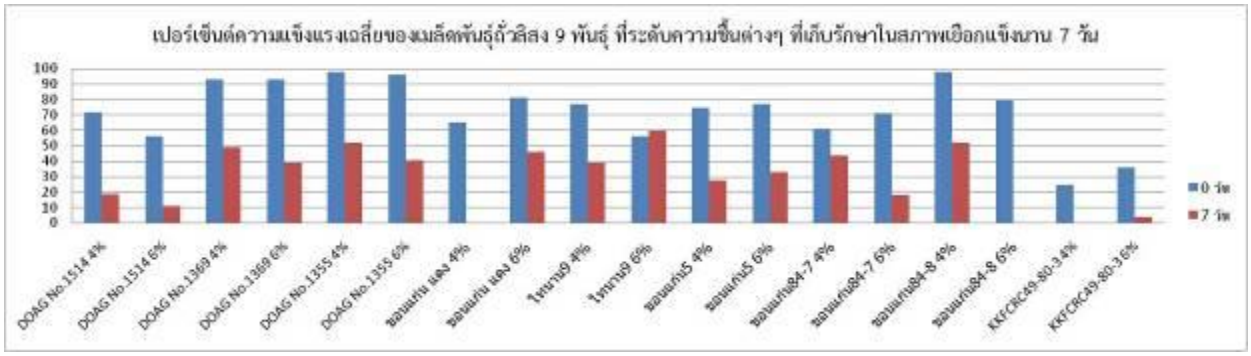
ตารางที่ 2 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยื่อกแข็งเป็นเวลานาน 0 และ 7 วัน

พันธุ์	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)							
	4				6			
	0 วัน		7 วัน		0 วัน		7 วัน	
	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย
DOAG No.1514	72c	72bcd	82abc	19e	42d	56c	16bcd	11f
DOAG No.1369	90a	93a	88ab	49ab	74b	93a	25b	39cd
DOAG No.1355	80b	98a	77cd	52a	55c	96a	40a	41bc
ขอนแก่น แดง	72c	65cd	58e	0f	45d	81b	13cd	46b
ไทนาน9	84b	77b	89a	39c	86a	56c	14cd	60a
ขอนแก่น5	62d	75bc	68de	28d	68b	77b	11d	33d
ขอนแก่น84-7	72c	61d	78bcd	44bc	45d	71b	22bc	18e
ขอนแก่น84-8	79bc	98a	80abc	52a	60c	80b	38a	0h
KKFCRC49-80-3	12e	25e	0f	0f	4e	36d	0e	4g

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน



ภาพที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน

จะเห็นได้ว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ เมื่อผ่านเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 7 วัน พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 3 และ 4, ตารางผนวกที่ 14, และ 16) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเมล็ดพันธุ์ KKFCRC49-80-3 ที่ระดับความชื้น 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเท่ากับ 0 ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยพบว่าในถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่นแดงที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์, ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น84-8 ที่ระดับความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์ และถั่วลิสงพันธุ์ KKFCRC49-80-3 ที่ระดับความชื้น 4 มีค่าเท่ากับ 0

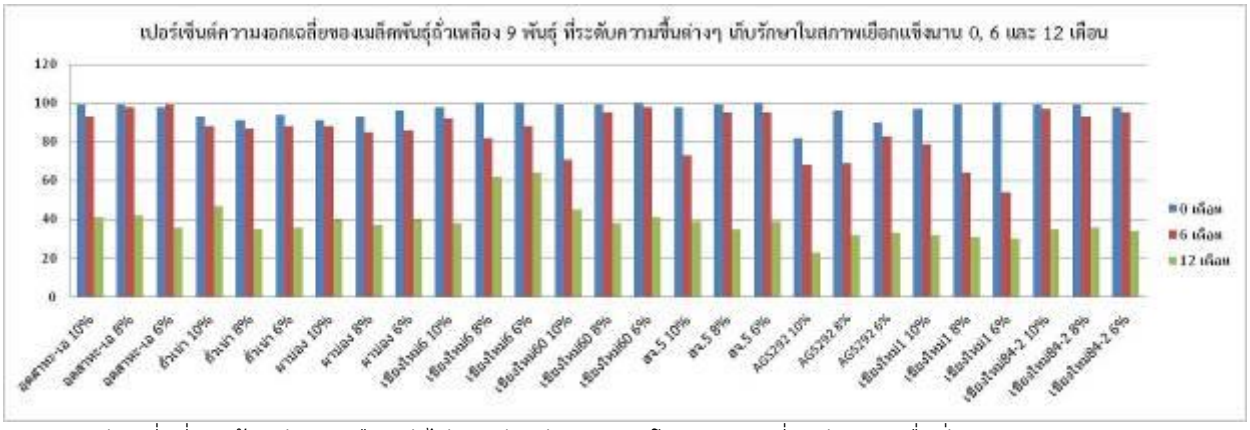
<u>การทดลองที่ 2</u> ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ที่ระยะเวลาต่างๆ ภายใต้สภาพเยือกแข็ง (0, 6 และ 12 เดือน)

: **<u>ถั่วเหลือง</u>** จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนาน 0, 6 และ 12 เดือน มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน

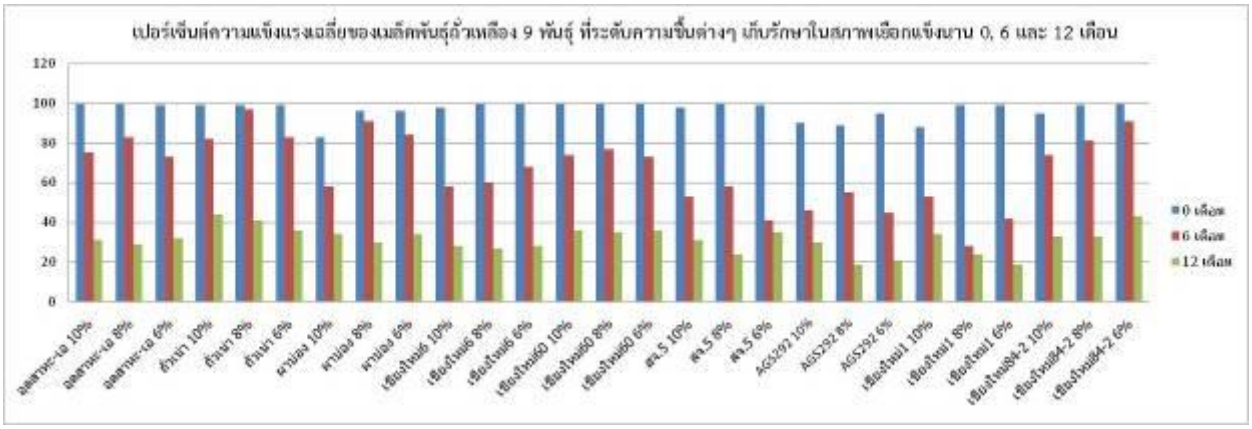
พันธุ์	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน)					
	0		6		12	
	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย	ค่าความงอกเฉลี่ย	ค่าความแข็งแรงเฉลี่ย
ความชื้น 10%						
อุตสาหะ-เอ	99ab	100a	93ab	75a	41a	31ab
ถั่วเน่า	93ab	99a	88bc	82a	47a	44a
ผาบ่อง7	91bc	83d	88bc	58b	40a	34ab
เชียงใหม่6	98ab	98ab	92ab	58b	38ab	28b
เชียงใหม่60	99a	100a	71d	74a	45a	36ab
สจ.5	98ab	98ab	73d	53b	39ab	31ab
AGS292	82c	90cd	68d	46b	23b	30b
เชียงใหม่1	97ab	88ab	79cd	53b	32ab	34ab
เชียงใหม่84-2	99a	95bc	97a	74a	35ab	33ab
ความชื้น 8%						
อุตสาหะ-เอ	99ab	100a	98a	83bc	42b	29abc
ถั่วเน่า	91c	99ab	87bc	97a	35b	41a
ผาบ่อง7	93bc	96b	85c	91b	37b	30abc
เชียงใหม่6	100a	100a	82cd	60d	62a	27bc
เชียงใหม่60	99ab	100a	95ab	77c	38b	35ab
สจ.5	99ab	100a	95ab	58d	35b	24bc
AGS292	96abc	89c	69de	55d	32b	19c
เชียงใหม่1	99ab	99ab	64e	28e	31b	24bc
เชียงใหม่84-2	99ab	99ab	93abc	81c	36b	33ab
ความชื้น 6%						
อุตสาหะ-เอ	98abc	99a	99a	73bc	36b	32ab
ถั่วเน่า	94c	99ab	88bc	83ab	36b	36ab
ผาบ่อง7	96bc	96bc	86bc	84a	40b	34ab
เชียงใหม่6	100a	100a	88bc	68c	64a	28bc
เชียงใหม่60	100ab	100a	98a	73bc	41b	36ab
สจ.5	100a	99a	95ab	41d	39b	35ab
AGS292	90c	95c	83c	45d	33b	21c
เชียงใหม่1	100ab	99a	54d	42d	30b	19c

เชียงใหม่84-2	98abc	100a	95ab	91a	34b	43a



ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่



ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนาน 0, 6 และ 12 เดือน

ภาพที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนาน 0, 6 และ 12 เดือน

จะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ที่ระดับความชื้นที่ 10, 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยในเดือนแรกถั่วเหลืองทุกพันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 82-100 และ 83-100 ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษานาน 6 เดือน มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 54-95 และ 28-97 ตามลำดับ และมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยในช่วงระหว่าง 23-64 และ 19-44 เมื่อเก็บรักษานาน 12 เดือน (ตารางที่ 3, ภาพที่ 5 และ6)

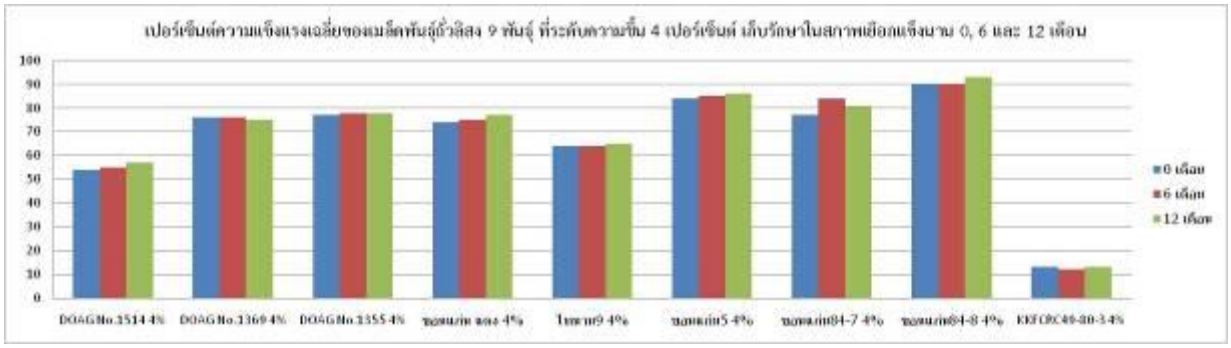
: **<u>ถั่วลิสง</u>** จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนาน 0, 6 และ 12 เดือน มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน

ระยะเวลา (เดือน)	พันธุ์																	
	DOAG No.1514		DOAG No.1369		DOAG No.1355		ขอนแก่น แดง		ไทนาน9		ขอนแก่น5		ขอนแก่น84-7		ขอนแก่น84-8		KKFCRC49-80-3	
	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง	ค่าความงอก	ค่าความแข็งแรง
0	85a	54a	90a	76a	75a	77a	74a	74a	85a	64a	94a	84a	66a	77b	89ab	90a	9b	13a
6	83a	55a	87a	76a	74a	78a	73a	75a	84a	64a	92a	85a	67a	84a	86b	90a	16a	12a
12	85a	57a	87a	75a	76a	78a	73a	77a	86a	65a	94a	86a	69a	81ab	92a	93a	13ab	13a

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนาน 0, 6 และ 12 เดือน



ภาพที่ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งนาน 0, 6 และ 12 เดือน

จะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ที่ระดับความชื้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาพเยือกแข็งนาน 0, 6 และ 12 เดือน พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา 12 เดือน โดยที่ถั่วลิสงพันธุ์ KKFCRC49-80-3 มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยต่ำที่สุดคืออยู่ในช่วงระหว่าง 9-19 และ 12-13 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับถั่วลิสงพันธุ์อื่นๆ ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ตลอดอายุการเก็บรักษานาน 12 เดือน (ตารางที่ 4, ภาพที่ 7 และ 8)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงที่ระดับความชื้นต่างๆ ภายใต้สภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 7 วันพบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วลิสงในแต่ละพันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆกันจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยที่แตกต่างกันไป โดยที่เมล็ดพันธุ์**ถั่วเหลือง**ทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ พันธุ์อุตสาหะ เอ, ถั่วเน่า, ผาบ่อง, เชียงใหม่6, เชียงใหม่60, สจ.5, AGS292, เชียงใหม่1 และเชียงใหม่84-2 มีค่าของเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยเท่ากับ 47/65, 70/68, 52/62, 26/25, 35/39, 17/22, 12/8, 18/18 และ18/21 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าที่ระดับความชื้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ฉะนั้นจึงเลือกเฉพาะที่ระดับความชื้น 10, 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์มาศึกษาผลของการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน ส่วนเมล็ดพันธุ์**ถั่วลิสง**ทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยน้อยกว่าที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ฉะนั้นจึงเลือกเฉพาะระดับความชื้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์มาศึกษาผลของการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

การศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน พบว่าเมล็ดพันธุ์**ถั่วเหลือง**ทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 10, 8 และ 6 ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน มีแนวโน้มของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าโดยเฉลี่ยในเดือนที่ 12 ไม่เกิน 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์**ถั่วลิสง**ทั้ง 9 พันธุ์ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน มีค่าของเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ตลอดอายุการเก็บรักษานาน 12 เดือน

เมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มขนาดของเมล็ดกับค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยแล้ว พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงในแต่ละขนาดหรือในแต่ละพันธุ์จะมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยที่แตกต่างกันหลังจากการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งตรงกับรายงานของ Kholina, A.B. และ N.M. Voronkova (2012) พบว่าแนวโน้มในเรื่องขนาดของเมล็ดพันธุ์กับการมีชีวิตรอดของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งไม่ได้มีทิศทางเดียวกัน ส่วนในเรื่องระดับความชื้นในพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงที่เหมาะสมในแต่ละพันธุ์ก็มีความจำเพาะ ทำให้ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยที่ไม่เท่ากัน

ตรงกันกับรายงานของ Chin et al. (1988) ที่กล่าวว่ายังต้องมีการศึกษาวิจัยค้นคว้าเพิ่มเติมเกี่ยวกับความเฉพาะของแต่ละชนิดพืช ซึ่งจะต้องการการปฏิบัติที่แตกต่างกันไป

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การทดลองที่ 1: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ความงอกของพริกที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 และ -10°c พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ เมื่อเก็บรักษานานถึงเดือนที่ 25 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิ 25°c ที่ระดับความชื้น Control แต่ที่มีความชื้น 4% ความงอกยังอยู่ในระดับ 86.4, 86.3 % และเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°c และ -10°c ที่ระดับความชื้น ความงอกยังดีอยู่ โดยรวมแล้วพันธุ์ห้วยสีทน ศก.1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริก เมื่อทดสอบด้วยวิธีดัชนีความงอก พบว่าเมล็ดพริกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°c เมื่อเวลาผ่านไปจะมีความแข็งแรงลดลงทั้ง 2 พันธุ์ สำหรับห้อง 5 และ -10°c ที่ระดับความชื้น Control, 8, 6 และ 4% เมื่อเวลาผ่านไปค่าความแข็งแรงก็ไม่ได้ลดลงไปนัก พบว่าพันธุ์ห้วย-สีทน ศก.1 แข็งแรงน้อยกว่า พันธุ์พิจิตร 27-1-2-1

ความชื้นของเมล็ดที่เก็บรักษาไว้สามารถลดความชื้นอยู่ได้ภายหลังที่เก็บรักษาถึง 25 เดือน และพบว่าขนาดของเมล็ดทั้งความหนา ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ไม่มีผลต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ และมีความชื้นทุกระดับ

การทดลองที่ 2 : ความสัมพันธ์ของระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน

ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิในแต่ละระดับไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้เนื่องจากไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ แต่สามารถสรุปโดยแยกเป็นในแต่ละอุณหภูมิในการเก็บรักษาแทน

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ถ้าลดระดับความชื้นก่อนการเก็บรักษาให้มีค่าเท่ากับ 4% สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 27 เดือนโดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความชื้น 6% มีค่าเปอร์เซ็นต์พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเก็บรักษานาน 27 เดือน ส่วนที่ระดับความชื้นที่สูงกว่า 6% พบว่าสามารถเก็บรักษาได้นาน 8 เดือนเท่านั้นโดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยน้อยกว่า 50

ส่วนในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียสน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชเพราะสามารถคงความงอกได้ดีที่สุด โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 86-89 และ 87-90 ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษานาน 27 เดือน ทั้งนี้ภาชนะที่ใช้บรรจุเมล็ดพันธุ์และวิธีการบรรจุก็มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการเก็บรักษา คือต้องเป็นภาชนะที่สามารถป้องกันความชื้นไม่ให้มีการแลกเปลี่ยนของอากาศภายในและภายนอกซึ่งเป็นการช่วยลดอัตราการหายใจของเมล็ดพันธุ์ทำให้สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ยาวนานขึ้นและยังคงความมีชีวิตเป็นสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Glenn W. et al., (1987) กล่าวว่าถ้าความชื้นสัมพัทธ์ภายในห้องสูงจะทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลงอย่างรวดเร็ว และจวงจันทร์ (2540) กล่าวว่า หากเก็บในภาชนะที่ไม่สามารถป้องกันความชื้นได้โดยบรรจุในถุงโปร่ง เช่น ถุงผ้า ถุงกระดาษ ถุงปุ๋ย กระสอบป่าน สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานเพียง 4-8 เดือน ฉะนั้นเมื่อลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์แล้วควรเก็บเมล็ดไว้ในภาชนะที่ป้องกันความชื้นและนำไปเก็บรักษาไว้ที่ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 5 และ -10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 30 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 3 : อิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

จากการทำวิจัยเรื่องอิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่ออนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 12 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง มีอายุในการเก็บรักษาสั้น การลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ลงเป็น 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ช่วยให้เมล็ดพันธุ์คำฝอยมีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้นตามระดับความชื้นที่ลดลง

2. เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 12 เปอร์เซ็นต์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์จะยาวนานขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาลดลง

3. เมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8,6 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีอายุในการเก็บรักษาสั้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง แต่มีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 และ -10 องศาเซลเซียส

การเก็บอนุรักษ์เมล็ดพันธุ์คำฝอยในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ ควรลดความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้ต่ำที่สุดก่อนการนำไปเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 $^{\circ}$C) และระยะยาว (-10 $^{\circ}$C) เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้นานขึ้น

การทดลองที่ 4 : ผลของความชื้นในเมล็ดและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ละหุ่งเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

<u>การทดลองที่ 1</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 4-6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 2-3 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งควรลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์**ในสภาพอุณหภูมิห้อง**ไว้ได้นานที่สุด

<u>การทดลองที่ 2</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 4-6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 9 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งควรลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสไว้ได้นานที่สุด แต่ทั้งนี้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นการเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง ซึ่งคาดว่าจะเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นานประมาณ 3-5 ปี แต่ในการทดลองใช้ระยะเวลาประมาณ 2 ปี น่าจะมีการศึกษาต่อไปอีกในอนาคตว่าเมล็ดพันธุ์จะยังคงสามารถเก็บรักษาไปได้อีกนานเท่าใดเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการนำเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ออกมาปลูกฟื้นฟูและต่ออายุเมล็ดพันธุ์ให้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงและนำเข้ามาเก็บรักษาใหม่

<u>การทดลองที่ 3</u> ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งในสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 4-6 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้นานประมาณ 14 เดือน โดยคงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และประมาณ 2 ปี คงเปอร์เซ็นต์ความงอกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งควรลดระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสไว้ได้นานที่สุด แต่ทั้งนี้การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นการเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ระยะยาง ซึ่งคาดว่าจะเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้นานประมาณ 10 ปี น่าจะมีการศึกษาต่อไปอีกในอนาคตว่าเมล็ดพันธุ์จะยังคงสามารถเก็บรักษาไปได้อีกนานเท่าใดเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการนำเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ออกมาปลูกฟื้นฟูและต่ออายุเมล็ดพันธุ์ให้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงและนำเข้ามาเก็บรักษาใหม่

ชื่อการทดลองที่ 5 : ผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดด้วยห้องลดความชื้นที่มีต่อความ มีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์

จากการดำเนินการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดหลังผ่านการลดความชื้นด้วยห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 วัน สำหรับเปอร์เซ็นต์ความชื้นเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ส่วนใหญ่ซึ่งมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วภายในสัปดาห์ที่ 1 จากนั้น จะค่อยๆ ลดลงจนเกือบคงที่ ได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าว ถั่วพุ่ม ฝ้าย เดือย ปอคิวบา ปอกระเจา ผักกวางตุ้ง และข้าวบาร์เล่ย์ เมล็ดพันธุ์ที่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ได้แก่ ถั่วมะแฮะ สำหรับเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกคงที่ ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ข้าวบาร์เล่ย์ และผักกวางตุ้ง เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างคงที่ ได้แก่ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบแดง เดือย ปอคิวบา และปอกระเจา เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มลดลง ได้แก่ ถั่วมะแฮะ ถั่วพุ่ม และฝ้าย เมล็ดพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ได้แก่ ข้าว สำหรับเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือพบว่าไม่สามารถคาดคะเนการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกตามระยะเวลาการลดความชื้นได้

หลังผ่านการลดความชื้นเป็นเวลา 30 วัน เมล็ดพันธุ์พืชส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ที่ระดับสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้สำหรับการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ข้าวสาลี ทานตะวัน ปอกระเจา ผักกวางตุ้ง และข้าวบาร์เล่ย์ พบว่า พืชทั้ง 6 ชนิดนี้มีร้อยละของเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 100 นอกจากนี้ เมล็ดพันธุ์ทุกชนิดในการทดลองนี้ มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นสุดท้ายอยู่ในช่วงระหว่าง 3 – 7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อ การเก็บรักษาระยะยาว ตามคำแนะนำของ Bioversity International สำหรับสาเหตุที่เมล็ดพันธุ์มะเขือ ถั่วพุ่ม และเดือยไม่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุเพราะเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้นต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์นั่นเอง

จากผลการทดลองนี้ สามารถสรุปเป็นข้อเสนอแนะเบื้องต้น เพื่อนำไปปฏิบัติในการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ในระหว่าง 3-7 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ระดับเท่ากับหรือสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ซึ่งเหมาะแก่การเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ ดังนี้

1. ถั่วเขียว ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.08 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 7 – 26 วัน

2. กระเจี๊ยบแดง ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.54 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 3 – 30 วัน

3. ข้าวโพด ที่มีความชื้นเริ่มต้น 13.10 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 13 – 30 วัน

4. ข้าวสาลี ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.36 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 6 – 30 วัน

5. ทานตะวัน ที่มีความชื้นเริ่มต้น 7.44 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 1 – 30 วัน

6. ข้าว ที่มีความชื้นเริ่มต้น 12.55 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง 3 – 30 วัน

7. ถั่วมะแฮะ ที่มีความชื้นเริ่มต้น 9.02 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 8 – 30 วัน

8. ฝ้าย ที่มีความชื้นเริ่มต้น 6.87 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้น อยู่ในช่วงระหว่าง1 - 3 วัน หากเข้าสู่วันที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจะต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

9. ปอคิวบา ที่มีความชื้นเริ่มต้น 8.71 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 3 - 30 วัน

10. ปอกระเจา ที่มีความชื้นเริ่มต้น 10.09 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 1 – 30 วัน

11. ผักกวางตุ้ง ที่มีความชื้นเริ่มต้น 5.30 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 1 – 30 วัน

12. ข้าวบาร์เล่ย์ ที่มีความชื้นเริ่มต้น 12.91 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 10 – 30 วัน

13. พริกและมะเขือ ไม่สามารถระบุระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นของเมล็ดได้ เนื่องจากผลการทดลองนี้ พืช 2 ชนิดดังกล่าว ไม่พบการตอบสนองของเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกต่อระยะเวลาในการลดความชื้นที่เพิ่มขึ้น

14. ถั่วพุ่มและเดือย ไม่สามารถระบุระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดความชื้นของเมล็ดได้ เนื่องจากในการทดลองนี้ พืช 2 ชนิดดังกล่าว มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเริ่มต้น ต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ซึ่งไม่นับเป็นระดับเปอร์เซ็นต์ความงอกที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ชื่อการทดลองที่ 6 อิทธิพลของระดับความชื้นและอุณหภูมิที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ Leguminosae เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

1. หางนกยูงฝรั่ง สามารถเก็บรักษาเมล็ดในห้องอนุรักษ์ทั้งสามห้องได้โดยไม่ต้องลดความชื้นในเมล็ด การลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงที่ 8 % และ 6 % ก่อนเก็บรักษาที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) มีแนวโน้มเกิดการพักตัวของเมล็ด

2. คราม สามารถเก็บรักษาไว้ได้ทุกอุณหภูมิห้อง แต่การลดความชื้นในเมล็ดให้ต่ำลงที่ 6 % และเก็บรักษาในห้องที่มีอุณหภูมิต่ำช่วยให้เมล็ดครามมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่า

3. กัลปพฤกษ์ การเก็บเมล็ดโดยไม่ได้ลดความชื้นในเมล็ดที่อุณหภูมิห้องมีผลให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น แต่เมื่อนำไปเก็บในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงขึ้น มีแนวโน้มว่าเป็นเมล็ดที่มีการพักตัวต้องเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิต่ำเพื่อกระตุ้นการงอก

4. ส้มป่อย โสนและ**แคบ้าน** สามารถเก็บรักษาเมล็ดได้ในห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 °C) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10°C) ส่วนเมล็ดที่ไม่ได้ลดความชื้นมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำสุดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

เมล็ดของพืชทั้งสามชนิดควรลดความชื้นให้ต่ำลงที่ 8 % และ 6 % ก่อนเก็บรักษาช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกและอายุการเก็บรักษาได้

5. ชุมเห็ดเล็ก สามารถเก็บรักษาเมล็ดที่มีความชื้นทั้งสามระดับได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่เมื่อเก็บไว้ที่ห้องอนุรักษ์ระยะปานกลาง (5 ℃) และห้องอนุรักษ์ระยะยาว (-10℃**)** เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง

6. หางนกยูงไทย สามารถเก็บรักษาเมล็ดที่มีความชื้นทั้งสามระดับได้ทุกห้องอนุรักษ์

7. ฝางและ**ทองกวาว** เปอร์เซ็นต์ความชื้นในเมล็ดทั้งสามระดับที่ทำการศึกษาไม่สามารถเก็บรักษาในห้องอนุรักษ์ใดได้เลย

การทดลองที่ 7: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมชมพูสิริน (*Impatiens sirindhorniae*) และไอยริศ (*Zingiber sirindhorniae*) ในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองฟอกฆ่าเชื้อชมพูสิรินได้เทคนิคที่เหมาะสม คือ ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อด้วย $HgCl_2$ ความเข้มข้น 0.1 % นาน 5 นาที และจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้อชมพูสิริน เพื่อเพิ่มปริมาณต้นในสภาพปลอดเชื้อพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก/ล. สำหรับการฟอกฆ่าเชื้อไอยริศได้เทคนิคที่เหมาะสมคือ ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่ออ่อนด้วย $HgCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 % นาน 10 นาที สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดคือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ IAA 2 มก/ล. และสูตรอาหารที่เหมาะสำหรับการชะลอการเจริญเติบโตของไอยริศในสภาพปลอดเชื้อคือ 1/4 MS และ 1/8 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล. สามารถเพาะเลี้ยงได้นานอย่างน้อย 12 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่

การทดลองที่ 8 : ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชสกุลชาฤๅษีในสภาพปลอดเชื้อ : ชาฤๅษีพระราม (*Trisepalum bhumibolianum*) และ *Trisepalum sangwaniae*

1. การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาฝักภูมิพลินทร์และฝักนครินทราทำได้โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและเคาะเอาเมล็ดออกเลี้ยงบนอาหารสูตร MS วิธีการนี้จะลดการปนเปื้อนของเชื้อได้ดีที่สุด ถ้าฝักได้รับความเสียหายอาจใช้ 5 % H_2O_2 ร่วมด้วย

2. การขยายพันธุ์พืชทั้ง 2 ชนิดมีการแตกยอดจำนวนมากแม้เลี้ยงบน MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

3. การขยายพันธุ์โดยการการชักนำให้เกิดยอดจากต้นกล้าภูมิพลินทร์ใช้สูตรอาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/l ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 mg/l ส่วนต้นกล้านครินทราใช้สูตรอาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/l หรือ IBA ความเข้มข้น 0.5 mg/l เพียงอย่างเดียวทำให้ได้ยอดที่สมบูรณ์กว่าการใช้ฮอร์โมน BA ร่วมด้วย

4. สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของต้นนครินทราได้ด้วยการเลี้ยงบนอาหารสูตร WP

5. ต้นภูมิพลินทร์และนครินทราสามารถอยู่ได้นาน 1 ปี แม้ไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS

การทดลองที่ 9 การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์สกุลไก่ฟ้าในสภาพปลอดเชื้อ : กระทุงบวบเหลี่ยม *(Aristolochia baenzigeri* B. Hansen & Phuph) และ กระเช้าหนู *(Aristolochia helix* Phuph.)

1. การฟอกฆ่าเชื้อพืชสกุลไก่ฟ้าสามารถใช้ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ที่ความเข้มข้น และระยะเวลาต่างๆ โดยฟอกฆ่าเชื้อจำนวน 2 ครั้ง จะได้ชิ้นส่วนพืชที่ปลอดเชื้อ

- กระเช้าหนู ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 1 และความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 10 นาที ครั้งที่ 2

- กระทุงบวบเหลี่ยม ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 20 นาที ครั้งที่ 1 และความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 30 นาที ครั้งที่ 2

2. การชักนำยอดของต้นกระเช้าหนู ควรใช้ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ต้นกระเช้าหนูเกิดยอดมากที่สุด ส่วนต้นกระทุงบวบเหลี่ยมไม่ตอบสนองต่อสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบและต้นตายในที่สุด

3. สูตรอาหารที่ทำให้ต้นกระเช้าหนูสมบูรณ์และเก็บในสภาพปลอดเชื้อได้นานที่สุด 4 เดือน คือ สูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

การทดลองที่ 10 การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์ : พลับพลึงธาร (*Crinum thaianum* J.Schulze) ในสภาพปลอดเชื้อ

1. แหล่งที่พบพลับพลึงธาร คือ ตำบลนาคา อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง และ ตำบลคุระ อำเภอคุระบุรี จ.พังงา

2. การฟอกฆ่าเชื้อพลับพลึงธาร ทำได้โดยการล้างทำความสะอาดและเปิดนานไหลนาน 1 ชั่วโมงก่อนการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 1 และ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลานาน 30 นาที ครั้งที่ 2 และแช่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสารละลาย Povidone-Iodine : น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วน 5 : 1 ระยะเวลานาน 30 นาที

3. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาเกิดหัวย่อย คือ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 15 ไมโคร โมลาร์

4. สูตรอาหารที่เหมาะสมเมื่อนำหัวย่อยมาพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ คือ สูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร

การทดลองที่ 11 : ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้าสำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

จากการศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้า ได้คัดเลือกเฟิร์นเพื่อใช้ในการทดลองจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ กูดดอย *Blechnum orientale* กูดบ้ง *Bolbitis sinensis* ว่านไก่น้อย *Cibotium barometz* ผักกูด *Diplazium esculentum* ก้านดำหลังเงิน *Pityrogramma calomelanos* และ ห่อข้าวสีดา *Platycerium coronarium* พบว่า สปอร์ *C. barometz* และ *P. coronarium* สามารถฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 10 นาทีได้ แต่ *B. orientale* พบการปนเปื้อนเชื้อราในทุกการทดลองแต่สามารถเพาะเลี้ยงจนครบกำหนดตรวจนับเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอก

ได้ ในขณะที่ *B. sinensis* และ *D. esculentum* สปอร์ไม่งอกในทุกการทดลองและพบปัญหาการฟอกฆ่าเชื้อที่ทำให้สปอร์ถูกทำลาย จึงควรศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อและการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับสปอร์เฟิร์นทั้งสองชนิดต่อไป ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับสปอร์ *P. calomelanos* คือ ฟอกด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที สำหรับสูตรและชนิดอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสปอร์เฟิร์นเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความงอกคืออาหารแข็งสูตร MA และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสปอร์เฟิร์น *C. barometz* และ *P. coronarium* คือ 5°ซ และ -10 °ซ สำหรับสปอร์ *B. orientale* และ *P. calomelanos* ทั้งนี้ เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของเฟิร์นแต่ละชนิดมีความผันแปรอย่างมาก จึงควรมีการศึกษาวิธีการฟอก วิธีการเพาะ สูตรอาหารสำหรับการเพาะหาเปอร์เซ็นต์ความงอก อุณหภูมิการเก็บรักษาและความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์เฟิร์นแต่ละชนิดต่อไป

การทดลองที่ 12 : การจำแนกพืชวงศ์ขิง 29 ชนิดด้วยเทคนิค ISSR

จากการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด จาก 5 สกุล คือ 1) สกุล Zingiber จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ขิงแครง (KH) ไพลขาว (PK) ไพลชมพู (PC) ไพลดำ (PD) และไพลปลุกเสก (PS) 2) สกุล Alipinia จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ข่า (K) ข่าจืด (KJ) และข่าใหญ่ (KY) 3) สกุล Bosenbergia จำนวน 2 ชนิด คือ กระชายแกง (GG) และ กระชายแดง (GDG) 4) สกุล Curcuma จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นขาว (KK) ขมิ้นขาวปัดตลอด (KPT) ขมิ้นชัน (KC) ขมิ้นดำ (KD) ขมิ้นดำตาก (KDT) พญาว่าน (PYW) ว่านชักมดลูกตัวผู้ (WP) ว่านชักมดลูกตัวเมีย (WM) และว่านมหาเมฆ (WMM) และ 5) สกุล Kaempferia จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กระแจะจันทร์ (KJJ) กระชายดำ (GD) ว่านเฒ่าหนังแห้ง (TH) ว่านทิพยเนตร (WTN) และว่านดักแด้ (WD) ซึ่งได้ทำการปลูกรวบรวมไว้ในโรงเรือนอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง ของกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชฯ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (บางเขน) ด้วยเทคนิค Inter-simple sequence repeat (*ISSR*) โดยใช้ *ISSR* ไพรเมอร์จำนวน 16 ชนิด พบว่า ISSR ไพรเมอร์ 11 ชนิด คือ $(CAC)_3GC$, $(GAG)_3GC$, $(CA)_6GT$, $(CA)_6AG$, $(AG)_7AA$, $(GA)_6CC$, $(GA)_6GG$, $(AG)_7AAG$, $(AG)_8C$, $(CA)_9A$ และ $CCCC(GT)_6$ สามารถสังเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจนและตรวจนับจำนวนแถบได้ โดยไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 127 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 124 แถบ คิดเป็น 97.64%

เมื่อนำข้อมูลการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของพืชวงศ์ขิง 24 ชนิด ที่ได้จาก *ISSR* ไพรเมอร์ทั้ง 11 ชนิด มาวิเคราะห์แบบรวมเพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากเดนโดรแกรม โดยวิเคราะห์การจัดกลุ่มแบบ Hierarchical Cluster Analysis พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชวงศ์ขิงในสกุล Alpinia, Bosenbergia, Curcuma และ Kaempferia ได้ที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 81%, 94%, 89% และ 78% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในการทดลองนี้ไม่สามารถจัดกลุ่มพืชวงศ์ขิงในสกุล Zingiber ได้ โดยสามารถนำผลการทดลองที่ได้นี้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อสนับสนุนการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช และการปรับปรุงพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่นำมาศึกษาต่อไป

ชื่อการทดลองที่ 13 : ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ในการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชทั้ง 3 อุณหภูมิ (25°C, 5°C และ -10°C) พบว่าเมื่อทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงด้วยวิธีต่างๆ ทั้ง 5 วิธี นั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งแม้เวลาผ่านไป

โดยพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป ในการทดสอบความงอกพบว่าส่วนใหญ่มีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไปโดยพบว่าในทุกอุณหภูมิพริกมันดำซึ่งเป็นพริกชี้ฟ้าของบริษัทเอกชนมีความงอกที่ดีมากแม้อุณหภูมิ 25°C เมื่อเวลาผ่านไป สำหรับพันธุ์พริกของกรมวิชาการเกษตร ได้แก่ พจ.01 พจ.05 และ พจ.07 ซึ่งเป็นพริกชี้ฟ้าเช่นกัน พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกเหล่านี้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มสูงทั้ง 3 พันธุ์ ในอุณหภูมิ 25°C แต่เมื่อที่อุณหภูมิ 5°C พบว่า พจ. 07 (พริกทานสด) เปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มไม่สูงนัก (51-70%) แต่ พจ.01 และ พจ.05 เมื่อเวลาผ่านไปยังมีความงอกที่ดีอยู่ (66-84%, 68-90% ตามลำดับ) ในขณะที่อุณหภูมิ -10°C เมื่อเวลาผ่านไป พจ.01 และ พจ.05 มีความงอกที่ดีอยู่มาก 35-93% ส่วน พจ.07 อยู่ในช่วง 51-77% และพบว่าพริกพันธุ์ห้วยสีทนมีเปอร์เซ็นต์ความงอกแรกเริ่มและเมื่อเวลาผ่านไป มีค่าน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ

สำหรับการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของพริกแต่ละพันธุ์ที่อุณหภูมิ 25°C นั้นพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของวิธี AAT มีค่ามากที่สุดในพริกพันธุ์ชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร01, พิจิตร 05, พริกมันดำ และพริกเบิร์ดชิลลี่

สำหรับพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ห้วยสีทน พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดด้วยวิธีทดสอบความแข็งแรงวิธี CD

สำหรับอุณหภูมิที่เก็บรักษา 5°C พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่อเวลาผ่านไป ความงอกเฉลี่ยมากที่สุดในพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พริกมันดำ ด้วยวิธี AAT และที่อุณหภูมิที่เก็บรักษา -10°C พบว่าวิธี EC และCD มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงกว่าวิธีอื่นๆ

และเมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงของพริกที่ทดสอบทั้ง 8 พันธุ์จากการทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีทั้ง 5 วิธีพบว่า

พริกชี้ฟ้าพันธุ์ พจ.01, พจ.07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน, พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13, พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 และพริกขี้หนูเบิร์ดชิลลี่ ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ (6.26, 5.64, 8.21, 5.17, 7.03, 6.53 และ 7.72 ตามลำดับ) ยกเว้น พจ.05 ทดสอบวิธี CD มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ คือ 7.71

พริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 แม้เวลาผ่านไปที่อุณหภูมิ 25°C ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ (6.53) ส่วนพริกขี้หนูเบิร์ดชิลลี่ แม้เวลาผ่านไปที่อุณหภูมิ 25°C ทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ (7.72)

<u>เมื่ออุณหภูมิ 5°C</u> พบว่าความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พิจิตร 07, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน และพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี AAT มีค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงเมื่อเวลาผ่านไป มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ

สำหรับพริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 และพันธุ์เบิร์ดชิลลี่ เมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด

<u>เมื่ออุณหภูมิ -10°C</u> พบว่าความแข็งแรงของพริกชี้ฟ้าพันธุ์พิจิตร 01, พิจิตร 05, พริกมันดำ, พริกขี้หนูผลใหญ่ห้วยสีทน พริกขี้หนูผลใหญ่พันธุ์หัวเรือเบอร์ 13 และพริกขี้หนูลูกผสมซุปเปอร์ฮอท 2 เมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี EC มีค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงเมื่อเวลาผ่านไป มีค่ามากกว่าวิธีอื่นๆ

สำหรับพิจิตร 07 และพันธุ์เบิร์ดชิลลี่ เมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธี CD มีค่าความแข็งแรงมากที่สุด กล่าวโดยสรุปเมื่อเปรียบเทียบพบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพริกที่อุณหภูมิ 5°C, 25° C และ -10°C พบว่าส่วนใหญ่ วิธี EC และวิธี CD เมื่อเวลาผ่านไปให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง และเมื่อทดสอบความแข็งแรงเป็นไปในทำนองเดียวกันคือ เมื่อเวลาผ่านไปวิธีทดสอบ EC (ที่ 25°C) ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงในทุกพันธุ์ ยกเว้น พจ.05 วิธี CD ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงมากที่สุด สำหรับ 5°C วิธี EC และ AAT ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด อุณหภูมิ -10°C วิธี EC และ CD ให้ค่าความแข็งแรงที่สุด

สำหรับการทดสอบความนำไฟฟ้า เมื่อเวลาผ่านไปพริกมันดำมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำที่สุดในทุกอุณหภูมิ

สำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในสภาพเยือกแข็ง โดยวิธี vitrification แล้วนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวทำการทดสอบการรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว พบว่าเมล็ดพริกที่ไม่ผ่านการแช่ไนโตรเจนเหลวมีอัตราการรอดชีวิต 100% ทุกการทดลอง และหลังจากนำไปเก็บรักษาไนโตรเจนเหลว พบว่าเมล็ดพริกสามารถรอดชีวิตภายหลังการเก็บรักษาไนโตรเจนเหลวได้ และสามารถนำออกปลูกสภาพภายนอกได้ อยู่ในช่วง 23-88% เมื่อเวลาผ่านไป 24 เดือน การเก็บรักษาพันธุกรรมในสภาพเยือกแข็งเป็นทางเลือกหนึ่งในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริก ซึ่งสามารถช่วยลดต้นทุนในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ โดยไม่ต้องนำมาปลูกขยายเพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์

การทดลองที่ 14 : การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพรหนอนตายหยากเพื่อการอนุรักษ์ โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากชิ้นส่วนข้อนั้น สูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดมากที่สุดในการทดลองนี้คือสูตรที่ใช้ BA ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มก./ล. รองลงมาคือสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. และสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มก./ล. ตามลำดับ

สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสมุนไพรหนอนตายหยากในการทดลองนี้ ได้แก่ สูตรอาหาร MS half-strength ที่ไม่เติม Mannitol

สำหรับการทดลองชักนำต้นหนอนตายหยากให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อนั้น พบว่า สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ควรมีการทดลองปรับสูตรอาหารโดยเพิ่มปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตให้มากขึ้น หรือเปลี่ยนชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต รวมทั้งการทดลองครั้งนี้ ใช้ตัวอย่างสมุนไพรหนอนตายหยากเพียง 1 ชนิด (species) จึงควรมีการเพิ่มจำนวนชนิดของหนอนตายหยาก และทดสอบความสามารถในการเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อของต้นหนอนตายหยากแต่ละชนิดเปรียบเทียบกัน รวมทั้งความสามารถในการตอบสนองของสมุนไพรหนอนตายหยากแต่ละชนิดต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อ

เป็นแนวทางในการนำมาอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อได้ต่อไป และเนื่องจากสารสำคัญของพืชชนิดนี้ สะสมอยู่มากในส่วนของราก จึงควรหาสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้หนอนตายหยากทุกชนิดเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ เพื่อเป็นแนวทางเพิ่มวัตถุดิบในการผลิตในอนาคต

การทดลองที่ 15 : การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด โดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

1.) พืชวงศ์ขิงทั้งสามสกุล ได้แก่ สกุล *Curcuma* (ว่านมหาเมฆ ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว) สกุล *Kaempferia* (กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร) และสกุล *Zingiber* (ไพลเหลือง ไพลปลุกเสก และไพลขาว) สามารถคงมีชีวิตอยู่ในอาหารทดลองได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารใหม่ในระยะเวลาที่ไม่เท่ากัน คือ พืชวงศ์ขิงในสกุล *Kaempferia* สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตได้นานที่สุด 9-10 เดือน รองลงมาเป็นพืชวงศ์ขิงในสกุล *Zingiber* สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 7-9 เดือน ใกล้เคียงกับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Curcuma* ที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 6-8 เดือน

2.) สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตพืชวงศ์ขิงทั้งสามสกุล คืออาหารที่ใช้สูตรธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% (30 ก./ล.) โดยสูตรอาหารที่ใช้ธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% ไม่เติม mannitol สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีใน ว่านทิพยเนตร ไพลเหลือง ไพลปลุกเสก และไพลขาว สูตรอาหารที่ใช้ธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% ที่ระดับความเข้มข้น mannitol เท่ากับ 1% สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีใน กระแจะจันทร์ ว่านมหาเมฆ ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว

3.) พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด สามารถฟื้นตัวและเจริญเติบโตได้ดีภายหลังจากเปลี่ยนอาหารเป็นอาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยสามารถเกิดยอดและรากใหม่ได้ดีบนอาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล. หรือ Kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. หรือไม่เติม NAA ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม อาหารสูตรที่ เติม TDZ 1 มก./ล. และอาหารสูตรที่เติม TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดรากได้น้อยกว่าอาหารสูตรอื่น และมีแนวโน้มที่จะชักนำให้เกิดแคลลัสได้

4.) พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วนำไปปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่าทุกชนิดสามารถรอดชีวิต และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

การทดลองที่ 16 : การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร) โดยใช้เทคนิค Cryopreservation

การเก็บรักษาปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรโดยใช้เทคนิค Cryopreservation ทั้งสามวิธีนั้นไม่สามารถเก็บรักษาปลายยอดพืชทั้งสองชนิดได้ ควรมีการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของปลายยอดเพิ่มเติม เช่น ระยะเวลาในการทำ preculture, dehydration การใช้สาร cryoprotectant เป็นต้น รวมทั้ง

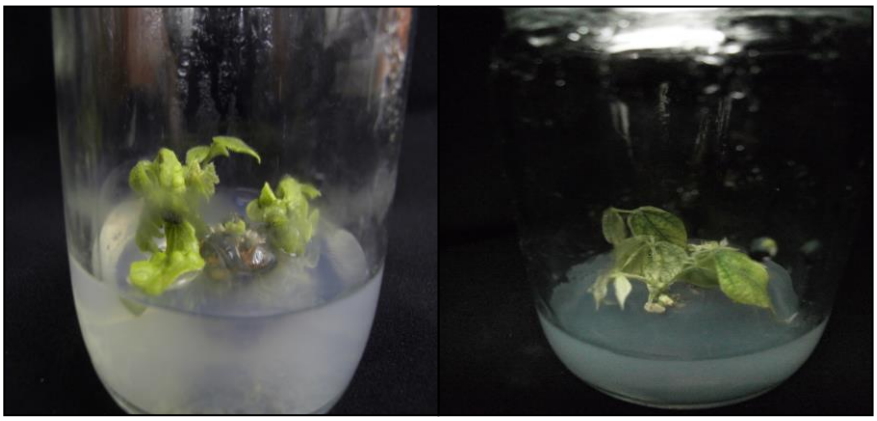
ศึกษาชิ้นส่วนต่างๆของพืช แคลลัส เซลล์แขวนลอย ของขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตรโดยวิธี Cryopreservation เพิ่มเติมเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชชนิดนี้ ต่อไป

การทดลองที่ 17: การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] เพื่อการอนุรักษ์

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ (Slow growth) พบว่า ขั้นตอนอยู่ระหว่างประมวลผลการศึกษาสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตกวาวเครือขาว (ภาพที่ 1) โดยทำให้เจริญเติบโตอย่างช้า ๆ (slow growth) ข้อมูลเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวในอาหารสูตร MS + IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l สามารถเจริญเติบโตได้นาน 3-4 เดือนจึงจะมีสภาพใบเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาวและนำลงปลูกในสภาพโรงเรือนสามารถเจริญเติบโตได้ ดังแสดงในภาพที่ 2

การทดลองที่ 2 การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) ด้วยวิธี encapsulation-vitrification พบว่า ปลายยอดใน bead เมื่อนำไปเก็บในไนโตรเจนเหลว มีสีน้ำตาลคล้ำ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้



ภาพที่ 1 ต้นกวาวเครือขาว

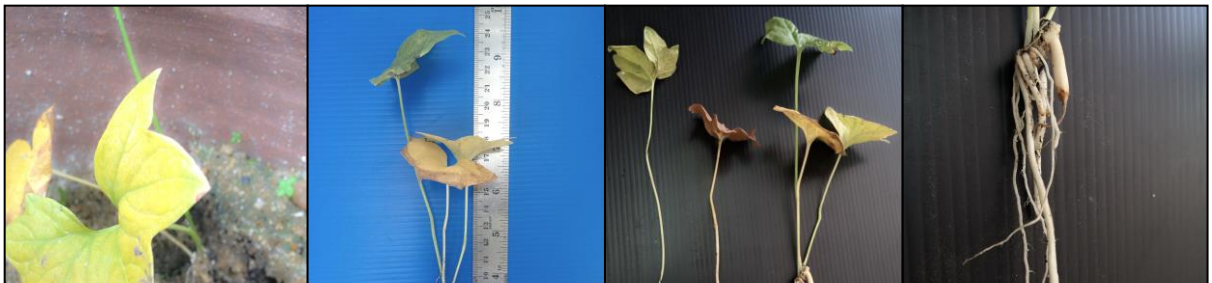
ภาพที่ 2 ต้นกวาวเครือขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และปลูกในสภาพโรงเรือน

การทดลองที่ 18 : การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์เท้ายายม่อม(*Tacca leontopetaloides* Ktze.) เพื่อการอนุรักษ์

การทดลองที่ 1 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อยู่ระหว่างขั้นตอนการประมวลผลทางสถิติ ข้อมูลเบื้องต้นเท้ายายม่อมในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อส่วนใบสามมารถเจริญเติบโตเป็นต้น ราก และหัวสะสมอาหารได้ดีกว่า เนื้อเยื่อส่วนโคนใบ และโคนต้น ต้นเท้ายายม่อมอายุ 6-7 เดือนมีขนาดลำต้นและรากพร้อมสำหรับการนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน ดังแสดงในภาพที่ 1 ต้นเท้ายายม่อมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพโรงเรือน อายุ 6-7 เดือนหลังออกปลูกจากห้องปฏิบัติการ **และการเกิดหัว** (ภาพที่ 2) มีเปอร์เซ็นต์การรอดและสามารถเจริญเติบโตได้ 60 % และเปอร์เซ็นต์การได้หัวจิ๋ว 50 % มีขนาดหัว กว้าง 0.2-3 ซม. น้ำหนัก 1-10 กรัม ทั้งนี้หัวเท้ายายม่อมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถงอกและเจริญเติบโตต่อไป (ภาพที่ 3)

การทดลองที่ 2 การเก็บรักษาเท้ายายม่อมในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation) พบว่า นำเมล็ดเท้ายายม่อมอายุ 1, 2 และ 3 ปีแช่ลงไนโตรเจนเหลว โดยใช้การแช่ไนโตรเจน 0, 1และ 2 ชั่วโมง พบว่า เมล็ดที่ไม่ได้แช่ไนโตรเจนเหลวมีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 90-100% ส่วนเมล็ดที่แช่ไนโตรเจนเหลว 1 และ 2 ชม. มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 40-60%

ภาพที่ 1 เท้ายายม่อมในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 6-7 เดือน และนำออกปลูกในโรงเรือน



ภาพที่ 2 เท้ายายม่อม อายุ 6-7 เดือนหลังย้ายออกปลูกจากห้องปฏิบัติการ **และการเกิดหัว**

ภาพที่ 3 การงอกหัวเท้ายายม่อม อายุ 6-7 เดือนหลังย้ายออกปลูกจากห้องปฏิบัติการ

การทดลองที่ 19: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำตาข้างต้นพันธุ์องุ่น จำนวน 27 พันธุ์ ทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรพื้นฐาน จำนวน 5 สูตร เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อสรุปได้ดังนี้

อาหารพื้นฐานสูตร MS+BA พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 15 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Black Opal, Black Queen, Cardinal, Dawn Seedless, Exotic, Fanny, Loose Perlette, Pannonia Kinse, Pokdum, Poloskei Muskotary, ตอป่า 5BB, ตอป่า 1613, ตอป่า Harmony, และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร MS+K พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 9 พันธุ์ ได้แก่ Cardinal, Dawn Seedless, Fanny, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Poloskei Muskotary, Red Globe, Shiraz และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร 1/2MS+BA+NAA พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 15 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ American Beauty, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Flame Seedless, Kyoho, Loose Perlette, Maroo Seedless, Muscat Hamburg, Pannonia Kinse, Perlette Seedless, Poloskei Muskotary และ White Malaga

อาหารพื้นฐานสูตร WPM พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 8 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Black Beauty, Cardinal, Dawn Seedless, Flame Seedless, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Poloskei Muskotary และ White Malaga

และอาหารพื้นฐานสูตร C2D พันธุ์องุ่นที่เหมาะสม จำนวน 20 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Angela, Black Beauty, Black Opal, Black Queen, Black Rose, Cardinal, Champagne, Crimson Seedless, Dawn Seedless, Exotic, Flame Seedless, Kyoho, Maroo Seedless, Pannonia Kinse, Pokdum, Poloskei Muskotary, Red Globe, ตอป่า 5BB, ตอป่า Harmony, และ White Malaga

ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการคัดเลือกสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐานที่เหมาะสมกับองุ่นแต่ละพันธุ์แบบโดยรวม ซึ่งต้องนำไปพัฒนาต่อเพื่อให้ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเก็บรักษาพันธุกรรมให้มากยิ่งขึ้น และอาจต้องมีการปรับเปลี่ยนปริมาณฮอร์โมนที่เติมลงไปให้เหมาะสมด้วย ทั้งนี้การนำต้นออกจากขวดเพื่อปลูกในสภาพธรรมชาติ ต้องทำการศึกษาวัสดุปลูกให้เหมาะสมเพื่อการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ของต้นพันธุ์องุ่น

การทดลองที่ 20: เทคนิคการขยายพันธุ์นรีรัตน์ (*Petrocosmea pubescence*) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นนรีรัตน์ ได้เทคนิคที่เหมาะสม คือ ฟอกฆ่าเชื้อฝักแก่โดยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วลนผ่านไฟ 3 ครั้ง และจากการเพาะเลี้ยงใบนรีรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเพิ่มจำนวนยอดพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MS ที่เติม IBA 0.5 มก/ล. ทำให้เพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 11.4 ยอด เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน

การทดลองที่ 21: เทคนิคการขยายพันธุ์ชาฤาษีดอยตุง (*Paraboea doitungensis*) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

1. การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาฝักชาฤาษีดอยตุงทำได้โดยการนำฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 % แล้วผ่านไฟฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นบิดฝักให้แตกและแคะเอาเมล็ดใส่ในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งมีส่วนผสมของสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ (H_2O_2) 5 % อัตราส่วน 2:1 หลังจากนั้นดูดสารละลายออกแล้วเขี่ยเมล็ดเพาะบนอาหารสูตร MS

2. การขยายพันธุ์ชาฤาษีดอยตุงมีการแตกยอดจำนวนมากเมื่อเพาะใบบนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ยอดที่ได้มีปริมาณมากเกิดเป็นกลุ่มยอดแต่ไม่แข็งแรง

3. การขยายพันธุ์โดยการการชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์จากใบชาฤษีดอยตุงใช้สูตรอาหาร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. หรือการเติม BA ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. เพียงอย่างเดียวทำให้ได้ยอดที่สมบูรณ์กว่าการใช้ฮอร์โมน 2 ชนิดร่วมกัน

4. สามารถชักนำการเกิดรากจากยอดของต้นชาฤษีดอยตุงได้ด้วยการเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS

การทดลองที่ 22: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ปอแก้วและปอคิวบาในสภาพเยือกแข็ง

เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขก.50 พันธุ์โนนสูง 2 และพันธ์ปอแดงชัยภูมิ ในสภาพเยือกแข็งเป็นเวลา 7 วัน เพื่อศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ขก. 50 ที่มีความชื้น 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกไม่แตกต่างกับความงอกเริ่มต้น แต่เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์โนนสูง 2 และพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้น 4 – 6 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลง สำหรับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีความแข็งแรงไม่แตกต่างกับความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ มีความงอกและความแข็งแรงไม่แตกต่างกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้นที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด

เนื่องด้วยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วันข้างต้น พบว่า ที่ทุกระดับความชื้นในเมล็ด คือ 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์นั้น เมล็ดพันธุ์มีความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้ในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชระยะยาวของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช จึงนำระดับความชื้นในเมล็ดทั้ง 4 ระดับดังกล่าวมาศึกษาต่อในการทดลองที่ 2 โดยศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ที่ระยะเวลา 0 6 และ 12 เดือนในสภาพเยือกแข็ง พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยทั้ง 3 พันธุ์ ที่มีความชื้นในเมล็ด 4-6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือน มีความงอกและความแข็งแรงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกและความแข็งแรงเริ่มต้น เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิที่มีระดับความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความงอกเริ่มต้น สำหรับความแข็งแรงของเมล็ด พบว่า เมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ ขก.50 ที่มีความชื้นในเมล็ด 10 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดปอแก้วไทยพันธุ์ปอแดงชัยภูมิ ที่มีความชื้นในเมล็ด 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความแข็งแรงเริ่มต้น

ผลของการทดลองของงานวิจัยนี้ เป็นผลการทดลองของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็งที่ระยะเวลาเพียง 12 เดือน หากต้องการศึกษาผลการเก็บรักษาที่นานขึ้น สามารถต่อยอดงานวิจัยนี้ต่อไปในอนาคต ซึ่งอาจเพิ่มจำนวนพันธุ์ หรือ ขนาดเมล็ดเพื่อการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การทดลองที่ 23: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็ง

เมื่อเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าสามารถเก็บรักษาได้ในทุกระดับเปอร์เซ็นความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์โดยยังสามารถคงเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่าเดิมกับเปอร์ซ็นต์ความงอกเริ่มต้น แต่เมื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พบว่าระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งคือ 3-9 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากยังสามารถคงความมีชีวิตได้เท่ากับความมีชีวิตเริ่มต้น

สำหรับการทดลองเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องถ้ามีความชื้นเมล็ดเชื้อพันธุ์ตั้งแต่ 7 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจะเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนได้ไม่ถึง 6 เดือน เนื่องจากเกิดการสูญความมีชีวิตและความแข็งแรง และถ้ามีระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 6 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 12 เดือน ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์จะลดลงจากความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์เริ่มต้นประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำๆ คือ 3-5 เปอร์เซ็นต์ยังคงรักษาความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดเชื้อพันธุ์ไว้ได้ภายในระยะเวลา 12 เดือน

ส่วนการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 12 เดือนนั้น ระดับความชื้นที่เหมาะสมคือ 3-7 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากสามารถคงความมีชีวตและความแข็งแรงได้เท่ากับความมีชีวตและความแข็งแรงเริ่มต้น จะพบว่าช่วงระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่เหมาะสมจะแคบกว่าการทดสอบเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน ถึงแม้ว่าที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 8 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 6 เดือน ยังคงคงความมีชีวตและความแข็งแรงได้เท่ากับความมีชีวตและความแข็งแรงเริ่มต้น แต่อย่างไรก็ตามสุดท้ายกลับมีแนวโน้มลดลงภายในระยะเวลา 12 เดือน (ภาพที่1)

สำหรับการทดลองในครั้งนี้น่าจะมีการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาให้นานขึ้น เนื่องจากแม้ว่าที่ระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ 3-7 เปอร์เซ็นต์ จะเป็นช่วงที่เหมาะสม แต่ภายในระยะเวลา 12 เดือน ที่ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์เดียวกันนี้ยังไม่พบความแตกต่างระหว่างการเก็บรักษาในทั้ง 2 สภาพ อันเนื่องมาจากระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ต่ำคือ 3-7 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้เมล็ดเชื้อพันธุ์สามารถเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น

การทดลองที่ 24: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ในสภาพเยือกแข็ง

เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงที่ระดับความชื้นต่างๆ ภายใต้สภาพเยือกแข็งเป็นเวลานาน 7 วันพบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วลิสงในแต่ละพันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆกันจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยที่แตกต่างกันไป โดยที่เมล็ดพันธุ์**ถั่วเหลือง**ทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ พันธุ์อุตสาหะ เอ, ถั่วเน่า, ผาบ่อง, เชียงใหม่6, เชียงใหม่60, สจ.5, AGS292, เชียงใหม่1 และเชียงใหม่84-2 มีค่าของเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยเท่ากับ 47/65, 70/68, 52/62, 26/25, 35/39, 17/22, 12/8, 18/18 และ18/21 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าที่ระดับความชื้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ฉะนั้นจึงเลือกเฉพาะที่ระดับความชื้น 10, 8 และ 6 เปอร์เซ็นต์มาศึกษาผลของการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน ส่วนเมล็ดพันธุ์**ถั่วลิสง**ทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยน้อยกว่าที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ฉะนั้นจึงเลือกเฉพาะระดับความชื้นที่ 4 เปอร์เซ็นต์มาศึกษาผลของการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

การศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน พบว่าเมล็ดพันธุ์**ถั่วเหลือง**ทั้ง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้น 10, 8 และ 6 ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน มีแนวโน้มของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าโดยเฉลี่ยในเดือนที่ 12 ไม่เกิน 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์**ถั่ว**

ลิสงทั้ง 9 พันธุ์ที่ระดับความชื้น 4 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งเป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน มีค่าของเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ตลอดอายุการเก็บรักษานาน 12 เดือน

เมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มขนาดของเมล็ดกับค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยแล้ว พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงในแต่ละขนาดหรือในแต่ละพันธุ์จะมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยที่แตกต่างกันหลังจากการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งตรงกับรายงานของ Kholina, A.B. และ N.M. Voronkova (2012) พบว่าแนวโน้มในเรื่องขนาดของเมล็ดพันธุ์กับการมีชีวิตรอดของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็งไม่ได้มีทิศทางเดียวกัน ส่วนในเรื่องระดับความชื้นในพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วลิสงที่เหมาะสมในแต่ละพันธุ์ก็มีความจำเพาะ ทำให้ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกและความแข็งแรงเฉลี่ยที่ไม่เท่ากัน ตรงกันกับรายงานของ Chin et al. (1988) ที่กล่าวว่ายังต้องมีการศึกษาวิจัยค้นคว้าเพิ่มเติมเกี่ยวกับความเฉพาะของแต่ละชนิดพืช ซึ่งจะต้องการการปฏิบัติที่แตกต่างกันไป

บรรณานุกรม

การทดลองที่ 1: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ขจรวิทย์ พันธุ์ยางน้อย , สุรกิตติ ศรีกุล และชาย โพธิวิส.2540. การศึกษาสมบัติบางประการของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน.วารสารวิชาการเกษตร.15(3):185-193

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กลุ่มหนังสือเกษตร. กรุงเทพฯ.

เฉลิมเกียรติ โภควัฒนา. 2536. การผลิตการตลาดพริก. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ดวงทิพย์ เปรมจิตต์ ,2530 . เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ รุ่นที่2 24-29 สิงหาคม 2530 ณ ตึกวิทยาการเมล็ดพันธุ์ .สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร.

นาฏยา กสานติกุล.2524 ขนาดของเมล็ดลางสาดที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า. ปัญหาพิเศษปริญญาตรีพืชสวน.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ .

ประชาคมวิจัย, 2550 ฉบับที่73 ข่าววันที่ 10 กรกฎาคม 2007 หน้าที่ 10-14.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ, 2542. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชไร่. ภาควิชาพืชไร่นา. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.2542 . 276 หน้า .

สมสุข ศรีจักรวาล , เสียงใส พิริพฤนต์, ไพโรจน์ มาศผล, ปราโมทย์ เกิดศิริ และ นพรัตน์ หยีดจันทร์. 2527. อิทธิพลของโปแตสเซียมไนเตรทต่อการงอกของเมล็ดมังคุด. วิทยาสารเกษตร. 17(6):429-436.

โสภาพรรณ เพชรสุวรรณและสุภาพรรณ นามวงศ์พรหม.2531.อิทธิพลของขนาดเมล็ดที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์มังคุด, น. 135-141. ในรายงานสัมมนาความก้าวหน้าของงานวิจัยและพัฒนาวิทยาการเมล็ดพันธุ์ครั้งที่3, 20-23 มกราคม 2531. จังหวัดเชียงใหม่.

Anonymous, 1994. Genebank Standards. Food and Agriculture Organization of the United Nations,Rome,Italy/International Plant Genetic Resources institute, Rome, Italy.13 pages. ISBN 92-9043-236-5.

Bosland,P.W., 1996 Capsicums: Innovative uses of an ancient crop.p.479-487. In:J.Janick(ed.), Progress in new crops. ASHS Press,Arlington,VA.

Chai,J,R.Ma, L. Li & Y. Du, 1998. Optimum moisture contents of seeds stored at ambient temperatures. Seed Science Research 8, Supplement 1: 23-28.

Delouche et al, 1973. Seed Vigor in Soybean, pp. 56-72. *In* Proc. 3rd Soybean Seed Research Conference. Chicago, Illionois, December 6-7, 1973.

Ellis,R.H. and T.D. Hong,2007. Seed Longevity-moisture content relationships in hermetic and open storage. Seed science and technology 35:423-431.

Gartner,C.1956. Country Report, Indonesia. Proc.1st meeting Teak sub commission, FAO, Bangkok.

Gomez-Campo,C., 2002. Long term seed preservation: the risk of selecting inadequate containers is very high. Monographs ETSIA, University Politecnia de Madrid 163, 1-10.

Harrington, J.F. 1959. Drying, Storing, and Packaging Seed to Maintain Germination and Vigor, pp. 89-104. In Proc. 1959 Short Course for Seedsmen. Mississippi State University, Mississippi.

Heiser, C. B. 1976. Pepper Capsicum (Solanaceae). p.265-
268. In: N. W. Simmonds(ed), The evolution of crops plants. Longman Press,London.

Hong, T.D.& R.H. Ellis, 1992. The survival of germinating orthodox seeds after desiccation and hermetic storage. Journal of Experimental Botany 43: 239-247.

Hong,T.D.,R .H.Ellis,D. Astley,A.E. Pinnegar,S.P.C. Groot and H.L.Kraak,2005. Survival and Vigour of ultra-dry seeds after ten years of hermetic storage. Seed Science and Technology 33, 449-460. IBPGR.1983.Genetic resources of *Capsicum* .Int . Board for Plant Genetic Resources,Rome.

MacNeish , R.S. 1964. Ancient Mesoamerican civilization.Science143:531-537. Manonmani, V., K. Vanangamudi and R.S.Vinaya Rai.1996.Effect of seed on seed germination and vigour in *Pongamia pinnata.* Journal of Tropical Forest Science.9(1):1-5.

Perez-Garcia, F., M.E. Gonzalez-Benito & C. Gomez-Campo, 2007. High viability recorded in ultra-dry seeds of 37 species of Brassicaceae after almost 40 years of storage. Seed Science and technology 35, 143-153.

Rao,N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosh, D. Nowell & M. Larinde, 2006. Manual of seed handling in genebanks. Handbooks for genebanks No. 8. Biodiversity International, Rome , Italy.

Walters, C. & J. Engels ,1998. The effects of storing seeds under extremely dry conditions. Seed Science Research 8 , Supplement 1: 3-8.

การทดลองที่ 2: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 194 น.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2521. เทคโนโลยีของเมล็ดพันธุ์. กลุ่ม หนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 210 น.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา ใน คู่มือวิชาการเรื่อง “อะฟลาทอกซินในถั่วลิสง”. กรุงเทพฯ, 2540, หน้า 135-141 (248 หน้า)

สาวิตรี ณ นคร และรุจิพร จาระพงศ์. 2541. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (ออนไลน์ 18 มีนาคม 2541) (อ้างเมื่อ 17 ตุลาคม 2549). จาก http://www.doea.go.th/LIBRARY/html/detail/Seed/MainSeed .htm

นิลุบล ทวีกุล และละอองดาว แสงหล้า. 2549. วิทยาการก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวถั่วเหลือง. FCRI online (วารสารออนไลน์) 10 ตุลาคม 2549 (อ้างเมื่อ 10 ตุลาคม 2549). จาก http://www.doa.go.th/fieldcrops/soy/oth/004.HTM

Glenn W., JR. Chapman and A.R. James. 1987. Moisture content/relative humidity Equilibrium of high-oil and Confectionery type sunflower seed. J.stored Prod.Res. Vol 23, No.2. pp115-118.

Harrington, J.F. 1959. Drying, storing and packaging seed to maintain germination and vigor. Proc. Short Course for Seed men. State College, Mississippi : Mississippi State Univ. 89-108.

Harrington, J.F. 1973. Problems of seed storage. Pages 251-263. In: W. Heydeckcker (ed.). Seed ecology. Butterworth and Co (Publishers) Ltd., London.

Hlyka,I.,and Robinson, A.d. (1954). In "Storage of Cereal Grains and their Products" (J.A. Anderson and A.W. Alcock, eds.), pp.1-45. Amer. Ass. Cereal Chem., St Paul, Minnesota.

Jame,E. (1967). Preservation of seed stocks. Advan. Agon. 19, 87-106

Yong, J.A. and Young, C.G. 1986. Collecting, processing and germinating seeds of wildland plants. Portland : Timber Press.

การทดลองที่ 3: อิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. **การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์**. ภาควิชาพืช ไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2542. ถั่วเหลือง, น. . *ใน* นพพร สายัมพล, บรรณาธิการ. **พืชเศรษฐกิจ**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บัณฑิต โพธิ์น้อย, ประพาย แก่นนาค, สมพงษ์ ภาครูป และ ณัฏฐากร เสมสันทัด. 2545. จำนวนเมล็ดในผล การงอก และอิทธิพลของการผึ่งเมล็ดต่อการเก็บรักษาเมล็ดไม้ตาเสือ. รายงานวนวัฒนวิจัย: 192-210.

ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2548. **การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์.** องค์ความรู้. แหล่งที่มา: http://www.phtnet.org/article/view-article.asp?aID=24, 6 กันยายน 2552.

————. 2548. **การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืช**. Postharvest Newsletter Online ปีที่ 4 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม-กันยายน 2548. แหล่งที่มา: http://www.phtnet.org/newsletter/Issue14/pht_tips.asp, 6 กันยายน 2552.

Armah-Agyeman, G., J. Loiland, R. Karow and A.N. Hang. 2002. Safflower, pp. 1-7. **Dryland Cropping System.** Oregon State University, USA.

Copeland, L.O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota. 369p.

Dajue, Li and H.-Henning Mündel. 1996. **Safflower. *Carthamus tinctorius* L.** Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops7. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Duane, R. Berglund., R. Neil and B. Jerald. 2007. **Safflower Production**. Available Source: http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/crops/a870w.html, September 5, 2009.

Glenn, W., JR. Chapman and A.R. James. 1987. Moisture content/relative humidity Equilibrium of high-oil and Confectionery type sunflower seed. **J.stored Prod.Res**. 23(2): 115-118.

Hlyka,I.,and A.d. Robinson. 1954. Storage of Cereal Grains and their Products, pp. 1-45. *In* J.A. Anderson and A.W. Alcock, eds. **Amer. Ass. Cereal Chem**., St Paul, Minnesota.

ISTA. 2011. Internationnal Rules for Seed Testing. The Internationnal Seed Testing Association (ISTA), CH-8303 Bassersdorf, Switzerland. Chapter17.

Jame, E. 1967. Preservation of seed stocks. **Advan. Agon**. 19: 87-106.

James, E., N.B. Louis and C.C. Dorris. 1967. Effect of Variable and Constant Storage Temperatures and Subsequent Room Storage on the Viability of Certain Seeds. **Crop Sci.** 7: 495-496.

Joseph Smith. 2005. Safflower Oil, pp. 491-536. *In* F. Shahidi, eds. **Bailey's Industrail Oil and Fat Product.** John Wiley & Sons, Inc.

Neeta,S., S.K. Anurudh and D.S. Baldev. N.d. Effect of Ultra-Drying on Ex Situ Seed Conservation. Seed Conservation Turning Science into Practice 41:799-805.

Oelke, E.A., E.S. Oplinger, T.M. Teynor, D.H. Putnam, J.D. Doll, K.A. Kelling, B.R. Durgan and D.M. Noetzel. 2000. **Safflower**. Alternative Field Crops Manual. Available Source:
http://www.hort.purdue.edu/newcrop/AFCM/safflower, September 3, 2009. Pratibha Parihar, S. Nema and S. Kumar. 2009. Suitability of containners and moisture content for proper storage of safflower, *Carthamus tinctorius* L. seeds. Journal of Oilseeds Research 26-1: 44-46.

การทดลองที่ 4: ผลของความชื้นในเมล็ดและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร.กรุงเทพฯ. 210 หน้า.

ชุพหเทพ พงศ์สร้อยเพชร และพวงทอง ยินอัศวพรรณ. 2537. เมล็ดพันธุ์ผักสำหรับเขตร้อน Vegetable Seeds for the Tropics. ศูนย์พัฒนาหนังสือ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงศึกษาธิการ, กรุงเทพฯ. 95 หน้า.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2542. พืชเศรษฐกิจ. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 460 หน้า.

สาวิตรี ณ นคร และรุจิพร จาระพงศ์. 2541. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ .สืบค้นจาก :http://www.doea.go.th/LIBRARY/html/detail/Seed/MainSeed.htm (10 ตุลาคม 2549)

ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี. 2549. เอกสารวิชาการละหุ่ง. สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 67 หน้า.

Copeland, L.O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Burgress Publishing Company, Minneapolis, Minnesota. 369p.

Hlyka,I. and A.D. Robinson. 1954. In “Storage of Cereal Grains and their Products” (J.A. Anderson and A.W. Alcock, eds.), pp.1-45. Amer. Ass. Cereal Chem., St Paul, Minnesota.

ISTA. 2011. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association. 333p.

Neeta, K., K. Anurudh and S. Baldev. 2001. Chapter 41: Effect of Ultra-Drying on *Ex Situ* Seed Conservation. Seed Conservation: Turning Science into Practice. Royal Botanic Gardens,KEW, 2001: 799-805.

การทดลองที่ 5: ผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดด้วยห้องลดความชื้นที่มีต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. *เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์*. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 205 หน้า.

ประนอม ศรัยสวัสดิ์. 2549. *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์*. สมาคมเมล็ดพันธุ์แห่งประเทศไทย,

กรุงเทพฯ. 116 หน้า.

สุมลมาลย์ วงศ์กาญจนะ. 2543. *อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่อความสมดุลของความชื้นของเมล็ดพันธุ์ผักบางชนิด*, กรุงเทพฯ. 31 หน้า.

Cromaty, A. S., Ellis, R. H. and Roberts, E. H. 1990. The design of seed storage facilities for genetic

conservation*: Handbook for genebanks no.1*. Rome: IBPGR. 100 p.

Ellis, R. H., Hong, T. D. and Roberts, E. H. 1995. Survival and vigour of lettuce (*Lactuca sativa L*.) and sunflower (*Helianthus annus* L.) seeds stored at low and very-low moisture contents. *Annals of Botany*, 76: 521-534.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and the International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). 1994. *Genebank standards*. Rome: FAO and IPGRI. 13 p.

Harrington, J. F. 1959. Drying storing and packaging seeds to maintain germination And vigor*. Proc. Short course Seeds men*, State Coll. Miss*.* 89 – 108.

Harrington, J. F. 1972. *Seed storage and longevity*. New York: Academic Press. 240 p.

IBPGR. (1985). *Ex situ Conservation of plant genetic resources*. Rome: International Board for Plant Genetic Resource. 219 p.

Rao, N. K., Hanson, J., Dulloo M. E., Ghosh K., Nowell D. and Larinde M. 2006. Manual of Seed Handling in Genebanks. *Handbooks for Genebanks* No.8. Rome: Bioversity International. 147 p.

Saeed, I. E., Sopian, K. and Abidin, Z. Z. 2008. Drying characteristics of roselle (1): mathematical and drying experiments. Agricultural: Engineering International*: the CIGR Ejournal*, 10: 8 – 15. Seyedin, N., Burris, J. S. and Flynn, T. E. 1984 Physiological studies on the effects of drying temperatures on corn seed quality. *Can. J. Plant Sci*. 64: 497 – 504.

Strelec, I., Popovic, R., Ivanisic, I., Jurkovic, V., Jurkovic, Z., Ugarcic-Hardi, Z. and Sabo, M. 2010. Influence of temperature and relative humidity on grain moisture, germination and vigour of three wheat cultivars during one year storage. *Poljoprivreda*. 16(2): 20 – 24.

การทดลองที่ 6: อิทธิพลของระดับความชื้นและอุณหภูมิที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ Leguminosae เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ชยพร แอคะรัจน์. 2546. วิทยาการเมล็ดพันธุ์. สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม. 197 หน้า.

รัชนก มีแก้ว, อรนุช เกษประเสริฐ และวรกิจ ห้องแซง. 2553. การศึกษาอิทธิพลของวิธีการเก็บรักษาที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์พืชสมุนไพร 15 ชนิดในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 (เล่ม 2). 386 หน้า.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2542. เทคโนโลยีการผลิตพืชไร่. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 276 หน้า

Berjak, P. and N.W. Pammenter. 2002. Orthodox and recalcitrant seeds *in* tropical tree seed manual. *pp*. 137-147.

Ellis, R.H., T.D. Hong and E.H. Roberts .1990. An intermediate category of seed storage behaviour? Journal of Experimental Botany. 41: 1167-1174**.**

Garcia Hong, T.D. and R.H. Ellis. 1997. Ex situ biodiversity conservation by seed storage: multiple-criteria keys to estimate seed storage behavior. Seed Science and Technology. 25: 157-161.

Pritchard, H.W., M.I. Daws, B.J. Fletcher, C.S. Gamene, H.P. Masanga and W. Omondi. 2004. Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical African dryland trees. American Journal of Botany. 91: 863-870.

การทดลองที่ 7: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมชมพูสิริน (Impatiens sirindhorniae) และไอยริศ (Zingiber sirindhorniae) ในสภาพปลอดเชื้อ

กลุ่มนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาแพทย์แผนไทย รุ่นที่ 6. มมป. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยรุ่นที่ 6. *กลุ่มพืชถอนพิษ*. แหล่งที่มา: http://www.thehow2.com/กลุ่มพืชถอนพิษ.php, 4 กันยายน 2552.

ธวัชชัย สันติสุข. 2547. *พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของประเทศไทย*. กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. 119 น.

ธวัชชัย สันติสุข. 2543. *พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของประเทศไทย.* สำนักงานเสริมสร้างเอกลักษณ์ของชาติ สำนักนายกรัฐมนตรี.

ประภาส ทรงหงษา. 2553. ย้อนอดีตพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ...แหล่งเรียนรู้ใจกลางกรุง. *จดหมายข่าวผลิใบ*. 13(11): 12-15

ปราโมทย์ ไตรบุญ, บดินทร สอนสุภาพ, พงษ์ศักดิ์ พลตรี, วินัย สมประสงค์, วัชรี ประชาศรัยสรเดช, ประนัย เพ็ญจิตร และ จารุวรรณ จาติเสถียร. 2555. *การศึกษาพรรณไม้วงศ์*

Balsaminaceae และ Gesneriaceae บริเวณเทือกเขาหินปูน. ใน: เอกสารการประชุมวิชาการกรมวิชาการเกษตรประจำปี 2555 “จับประเด็นงานวิจัยก้าวใหม่สู่การเปลี่ยนแหลง”. วันที 14-16 พฤษภาคม 2555, ณ. โรงแรมแอมบาสซาเดอร์ซิตี้ จอมเทียน จ.ชลบุรี.

ราชันย์ ภู่มา. 2547. การสำรวจพันธุ์พืชเฉพาะถิ่น หายาก ใกล้จะสูญพันธุ์ในพื้นที่อนุรักษ์ทั่วประเทศ. *มติชน* 27 (9558): 7

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

Anish N.P., M. Dan and M. Bejoy. 2008. Conservation using *in vitro* Progenies of the threatened Ginger-*Boesenbergia pulcherrima* (Wall.) Kuntze. *International Journal of Botany*. 4(1): 93-98.

Hamirah, M.N., H.B. Sani, P.C. Boyce and S.L. Sim. 2010. Micropropagation of red ginger (*Zingiber mantanum* Koenig), a medicinal plant. *NsPac J. Mol. Biol. Biotechnol*. 18(1): 127-130.

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.

Kavyashree, R. 2009. An efficient *in vitro* protocol for clonal multiplication of Ginger var. Varada. *Indian Journal Biotechnology*. 8: 328-331.

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.

Nayak, S. 2000. *In vitro* multiplication and Microrhizome induction in *Curcuma aromatic* Salisb. *Plant Growth Regul*. 32: 41-47.

Nikolova, R.V., N. Lall and A.J.N. Bosa. 1996. An assessment of the conditions for the rapid propagation of *Impatiens flanaganae in vivo* and *in vitro*. *Acta-hortic*., 440: 633-638.

Nirmal Babu, K., P.N. Ravindran and K.V. Peter. 2000. *Biotechnology of Spices*. In: Chadha K.L., P.N. Ravindran and L. Sahigram (eds.) Biotechnology of Horticulture and Plantation Crops, Malhotra Publishing House, New Delhi, pp. 487-527.

Peter, K.V., P.N. Ravindran, K. Nirmal 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.

Sanhavacharin, O. n.d. Kasetsart Journal. *Tissue culture for conseration of perennial crops*.
Available source: hrrp://kasetsartjournal.ku.ac.th/kuj_files/2008/A080617215510 7343. pdf [September 9, 2009].

Taha, A., A. Wagiran, H. Ghazali, F. Huyop and G.K.A. Parveez. 2009. *In vitro* regeneration of garden Balsam, *Impatians balsamina* Using cotyledons derived from seeding. Biotechnology 8(1): 44-52.

Veluchmay, B., C. R. Konganapuram and P.R. Jayachandran. 2009. Effect regeneration of *Impatiens campanalata* wight a valuable medicinal plant from Western Ghats of tamil Nadu, India, *Global Journal of Pharamocology* 3(1): 41-49.

การทดลองที่ 8: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชสกุลชาฤๅษีในสภาพปลอดเชื้อ : ชาฤๅษีพระราม (Trisepalum bhumibolianum) และ Trisepalum sangwaniae

กองบรรณาธิการ. 2554. ภูมิพลินทร์ นครินทรา. *น.ส.พ. กสิกร* 84(3): 31-32.

กลุ่มงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและจัดการพันธุ์พืชเพาะเลี้ยง. 2553. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 5 ชนิด กล้วย มันสำปะหลัง อ้อย เบญจมาศ และ หน่อไม้ฝรั่ง. ส่วนพัฒนาการเพาะเลี้ยงและจัดการพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร สืบค้นจาก:http://tissue.agriqua.doae.go.th/data/data_academice .html [12 มี.ค. 57]

จิตราพรรณ พิลึก. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ. 82 หน้า.

ปาริฉัตร สังข์สะอาด, กิ่งกาญจน์ พิชญกุล และ เสาวณี เดชะคำภู. 2553. การศึกษาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชหายาก/ใกล้สูญพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ (TC) และสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation): กล้วยไม้เอื้องเงินหลวง เอื้องสายหลวง เอื้องแซะหอม. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่ม 2. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร.

ปราณี ปาลี และ วิไลวรรณ อนุสารสุนทร. 2549. พืชวงศ์ชาฤษีกับศักยภาพในการพัฒนาเป็นไม้ดอกไม้ประดับ. *การประชุมวิชาการโครงการ BRT ครั้งที่ 10*: 124-131.

มาลี ณ นคร, กมลพรรณ นามวงศ์พรหม, สุรียา ตันติวิวัฒน์, ลิลลี่ กาวีต๊ะ, ศรีสม สุวรรณวงศ์, สรัญญา วัชโรทัย, สุมน มาสุธน และ ดนัย สรรพศรี. 2550. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ป่า (In vitro Culture of Forested Plant) สืบค้นจาก:http://www.rdi.ku.ac.th/kufair50/plant/44_plant/44_plant .html [12 มี.ค. 57]

ราชันย์ ภู่มา. 2547. การสำรวจพันธุ์พืชเฉพาะถิ่นหายากใกล้จะสูญพันธุ์ในพื้นที่อนุรักษ์ทั่วประเทศ. *มติชน* 27 (9558): 7

พีรเดช ทองอำไพ. 2537.ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย, พิมพ์ครั้งที่ 4, วี.บี. บุ๊คเซนเตอร์, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ. 196 หน้า.

Ali, A., T. Ahmad, N.A. Abbasi and I.A. Hafiz. 2009 Effect of different media and growth regulators on *in vitro* shoot proliferation of Olive cultivar 'Moraiolo'. *Pak. J. Bot*. Vol. 47, No. 2, 783-759.

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.

Du, N. and P.M. Pijut. 2008. Regeneration of plant from *Fraxinus pennsylvanica* hypocotyls and cotyledon. *Scientia Horticylturae* 118: 74-79.

Engelmann F. 1997. Present development and use of *in vitro* culture techniques for the conservation of plant genetic resources. *Acta Hort*. 447: 471-475

Huimei, W., Z. Yuangang and L. Hongmei. 2007. Efficient rooting and root development after transfer of regenerated plantlets of *Comptotheca acuminate*. *Eurasian J. For. Res*. 10-2: 179-184.

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.

Jungnickel, F. and S. Zaid. 1992. Micropropagation of African violets (*Saintpaulia* spp. and cvs.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. 20: 357-395.

Lloyd, G. and B. MCCown. 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. *Proc.Intl. Plant Prop. Soc*. 30: 421-427.

Ma, G., A. Jaima., T. da SilvaJ. Lü , X. Zhang and J. Zhao. 2010. Shoot organogenesis and plant regeneration in *Metabriggsia ovalifolia. Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* doi: 10.1007/s11240-010-9875-5.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-496.

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.

Puglisi, C., D.J. Middleton, P. Triboun and M. Möller. 2011. New insights into the relationships between *Paraboea, Trisepalum* and *Phylloboea* (Gesneriaceae and taxonomic consequences. *Taxon* 60: 1693-1702.

Srivastava, N., B. Kamal, V. Sharama, Y.K. Negi, A.K. Dovriyal, S. Gupta and V.S. Jadon. 2010. Standardization of sterilization protocol for micropropagation of *Aconitum hererophyllum* - An endangered medicinal herb. *Academic Arena*. 2(6): 62-66.

Sunpui, W. and K. Kanchanapoom. 2002. Plant regeneration from petiole and leaf of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) cultured *in vitro*. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 24(3): 358-364.

Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. *Plant Physiology*, in Chapter 21, 2^{ed} ed, Sinauer Associates, U.S.A. 792 p.

Thompson, M.R., T.J. Douglas, H. Obata-Sasamota and T.A. Thorpe. 1986. Mannitol metabolism in cultured plant cells. *Physiol. Plant* 67: 365-369.

Triboun, P. and D.J. Middleton. 2012. Twenty new species of *Paraboea* (Gesneriaceae) from Thailand. *Gardens' Bulletin Singapore* 64(2): 333-370.

Wentsai, W., P. Kaiyu, L. Zhenyu, A.L. Weitzman and L.E. Skog. 1998. Gesneriaceae. *Flora of China* 18: 244-401.

Wuttisit, M. and K. Kanchanapoom. 1996. Tissue culture propagation of Gloxinia. *Suranaree J. Sci. Technol*. 3: 63-67.

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.

การทดลองที่ 9: การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์สกุลไก่ฟ้าในสภาพปลอดเชื้อ : กระทุงบวบเหลี่ยม (Aristolochia baenzigeri B. Hansen & Phuph) และ กระเช้าหนู (Aristolochia helix Phuph.)

ก่องกานดา ชยามฤต. 2548. ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ : Key Characters of Plant Families. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, กรุงเทพฯ. 107 หน้า

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 219 น.

วรรัตน์ บุญสนองสุภา, มาลี ณ นคร, กมลพรรณ นามวงศ์พรหม, ลิลลี่ กาวีต๊ะ, สุรียา ตันติวิวัฒน์ และ ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2549. การเพิ่มปริมาณยอดและการป้องกันการหลุดร่วงของใบพืชสกุล *Uvaria* บางชนิดในสภาพหลอดทดลอง. ใน เรื่องเต็มการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 : สาขาวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ (700 หน้า) : 282-288.

วินัย สมประสงค์, พงษ์ศักดิ์ พลตรี, ปราโมทย์ ไตรบุญ, กาญจนา พฤษพันธ์, วิลาสินี ปานอินทร์, บดินทร สอนสุภาพ และประนัย เพ็ญจิตร. 2550. พรรณไม้แห่งแผ่นดิน เฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เนื่องในโอกาสมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 80 พรรษา 5 ธันวาคม 2550. เอกสารเผยแพร่พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ ลำดับที่ 2, กรมวิชาการเกษตร. 133 หน้า

สุญาณี เวสสบุตร. 2550. การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (In vitro Conservation). องค์การสวนพฤกษศาสตร์, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. เข้าถึงได้จากอินเตอร์เน็ต : http://www.qsbg.org/webboard/webboard_Detail-1.asp?Board_ID=614

Bravo, C., Yormann, G. and B. Llorente. 1999. Micropropagation of *Aristolochia fimbriata* Cham. Acta Hort 205 : 339-346.

Joseph S. and K.M. Inayath Sidique. 2011. In vitro Rapid Clonal Propagation of *Aristolochia bracteolata* Lam. (Aristolochiaceae)-A Valuable Medicinal Plant. World Journal of Agricultural Sciences 7 (6): 653-658.

Kyte, L. and J. Kleyn. 1996. Plants from Test Tubes: An Introduction to Micropropagation. 3rd ed. Timber Press, Inc., Hong Kong. 240 pp.

Manjula, S.,Anita, T., Benny, D. and G.M. Nair. 1997. *In vitro* plant regeneration of *Aristolochia indica* through axillary shoot multiplication and organogenesis. Plant Cell Tissue Organ Cult 51: 145-148.

Phuphathanaphong, L., 1984. Aristolochia helix *sp. nov. Aristolochiaceae from Thailand. Nordic journal of botany 4(4): 467-468*

Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht, The Netherland. 344 pp

Rewat L. and B. Siriwan, 1993. Growth Reduction of Papaya Plantlets for *In Vitro* Germplasm Preservation. Kaset. J. 27: 12-14.

Siddique, N.A., Bari, M.A., Pervin, M.M., Nahar, N., Banu, L.A., Paul, K.K., Kabir, M.H., Huda, A.K.M.N., Ferdaus, K.M.K.B. and M.J. Hossin. 2006. Plant Regeneration from Axillary Shoots Derived Callus in *Aristolochia indica* Linn. An Endangered Medicinal Plant in Bangladesh. Pakistan Journal of Biological Sciences 9 (7) : 1320-1323.

การทดลองที่ 10: การเก็บรักษาพืชหายากใกล้สูญพันธุ์ : พลับพลึงธาร (Crinum thaianum J.Schulze) ในสภาพปลอดเชื้อ

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์ และวรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2551. การศึกษาชีววิทยาของหอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze. เอกสารวิชาการฉบับที่ 65/2551. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 50 หน้า.

รัฐศักดิ์ พลสิงห์. 2552. “พลับพลึงธาร” หนึ่งเดียวในโลกฤาจะสูญพันธุ์. น.ส.พ.กสิกร. ปีที่ 82 ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน-ธันวาคม. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ .หน้า 95-102.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย และ รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze. เอกสารวิชาการฉบับที่ 58/2551. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 26 หน้า.

สุวรรณา วรสิงห, ขวัญทนา องอาจ และ ศศิพร บวรสถิตย. 2555. ประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสาหรายทะเลสกุล *Gracilaria* และ *Ulva* . เอกสารวิชาการฉบับที่

33/2555. ศูนยวิจัยและพัฒนาประมงชายฝงตราด. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 21 หน้า.

อรดี สหวัชรินทร์. 2540. หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 48 หน้า

Melanie, R., F.T. Davies Jr., Y.C. Koh., S.A. Duray and J.N. Egilla. 1999. Micropropagation of *Crinum* 'Ellen Bosanquet' by tri-scales. Sci Hort. 82 : 95-102.

Mentell, S. H. and H. Smith. 1986. Plant Biotechnology. Cambridege University Press, London. 344 pp.

Shantz, E.M., J. K. Pollard and F. C. Steward. 1959. The growth promoting activity of coconut milk : The nature of the active fraction. Plant Physiol. 34 : 8-9.

Schulze, J. 1972. *Crinum thaianum* J. Schulze, a new aquatic species from Southeast Asia *in* Traub, H.P. and H. N. Moldenke (eds.), Plant Life. The American Plant Life Society. Vol. 27: 33-42.

การทดลองที่ 11: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้าสำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

จารุพันธ์ ทองแถม, หม่อมหลวง. 2532. เฟิร์นหายากใกล้สูญจากป่าไทย สาเหตุของ การสูญพันธุ์และแนวอนุรักษ์. การสัมมนาชีววิทยา ครั้งที่ 7 เรื่อง ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, สาขาชีววิทยา สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ และ องค์การยูเสด ณ โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ จังหวัดเชียงใหม่ 16-17 ตุลาคม 2532.

ธีร์ หะวานนท์. 2541. การศึกษาอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยา และแนวทางการอนุรักษ์เฟิร์นต้นโดยการเพาะสปอร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 113 หน้า.

นัฐชัย แย้มพิกุลสกุล. 2551. การขยายโคลนเฟิร์นชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*Platycerium ridleyi* H. Christ.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 70 หน้า.

ศิวาพร ธรรมดี. 2539. การผสมพันธุ์เฟิร์นในสกุล *Pteris* โดยวิธีจับคู่ผสมเพาะสปอร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 70 หน้า.

สุธีรา ลิมปิพิชัย. 2540. การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเฟิร์นที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ในประเทศไทยและสาเหตุการสูญพันธุ์. รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2540. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต. 83 หน้า

สุภัทธิรา โคตรศิลากูล. 2543. อิทธิพลของวัสดุเพาะชนิดต่างๆต่อการงอกของสปอร์เฟิร์น *Thelypteris hirsutipes.* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. 14 หน้า.

อักษร ศรีเปล่ง, ทวีศักดิ์ บุญเกิด, สมพงษ์ ธรรมถาวร และ กิตติมา เมฆโกมล. 2536. วิกฤตการณ์การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพของพืชพวก “เฟิร์น” ในประเทศไทย. การสัมมนาวิชาการเรื่อง “คนกับธรรมชาติ: วิกฤตการณ์การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์ที่ยั่งยืน”. กรุงเทพมหานคร: อักษรสยามการพิมพ์. 231 หน้า.

Archana, G.N., Pradeesh, S., Nikhila, G.S., Sangeetha, G., Mini, I.I. and Swapna, T.S. 2014. Conservation of Vegetable Fern (Dipalzium esculentum) of Western Ghats Through *in vitro* Spore Culture. *Journal of Aquatic Biology and Fisheries* **2**(2): 43-50.

Ballesteros D, Ibars AM, Estrelles E. 2004. New data about pteridophytic spore conservation in germplasm banks. *Plantaeuropa IVth Conference*. Valencia: Spain. http://www.nerium.net/plantaeuropa/Download/Procedings/Ballesteros_daniel.pdf.

Ballesteros, D., Estrelles, E. and Ibars, A.M. 2006. Responses of Pteridophyte Spores to Ultrafreezing Temperatures for Long-term Conservation in Germplasm Banks. *Fern Gazette* **17**(5): 292-302.

Ballesteros, D. and Walters, C. 2007. Water Properties in Fern Spores: Sorption Characteristics Relating to Water Affinity, Glassy States, and Storage Stability. *Journal of Experimental Botany* **58**(5): 1185-1196.

Ballesteros, D., Estrelles, E., Walters, C. and Ibars, A.M. 2011. Effect of Storage Temperature on Green Spore Longevity for the Ferns *Equisetum ramosissimum* and *Osmunda regalis*. *CryoLetters* **32**(2): 89-98.

Ballesteros, D., Estrelles, E., Walters, C. and Ibars, A.M. 2012. Effects of Temperature and Desiccation on ex situ Conservation of Nongreen Fern Spores. *American Journal of Botany* **99**(4): 721-729

Beri, A. and Bir, S.S. 1993. Germination of Stored Spores of *Pteris vittata* L. *American Fern Journal* **83**(3): 73-78.

Chang, H.C., Gupta, S.K. and Tsay, H.S. 2011. Studies on Folk Medicinal Fern: An Example of "Gu-Sui-Bu". Pages 285-304. *In: Working with Ferns: Issues and Applications*. H. Fernandez, A. Kumar and A. Revilla (Eds.). New York, Springer.

Dyer, A.F. 1979. B. Culture Medium. Page 282. *In: The Experimental Biology of Ferns*. Academic Press. London.

Fernandez, H. and Revilla, M.A. 2003. *In vitro* Culture of Ornamental Ferns. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **73**: 1-13.

Lindsay, S., Middleton, D.J., Boonkerd, T. and Suddee, S. 2009. Towards a stable nomenclature for Thai ferns. *Thai Forest Bulletin (Botany)* **37**: 64-106.

Lloyd, M.R. and Klekowski, E.J. Jr. 1970. Spore Germination and Viability in Pteridophyta: Evolutionary Significance of Chlorophyllous Spores. *Biotropica* **2**(2): 129-137.

Quintanilla, L.G., Amigo, J., Pangua, E. and Pajaron, S. 2002. Effect of Storage Method on Spore Viability in Five Globally Threatened Fern Species. *Annals of Botany* **90**: 461-467.

Rodpradit, S. 2003. Cryopreservation of Young *Platycerium ridleyi* H. Christ. Sporophytes. Master Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University. 71 p.

Santisuk, T., Chayamarit, K., Pooma, R. and Suddee, S. 2006. **Thailand Red Data: Plants**. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand. 256 p.

Smith, D.L. and Rogan, P.G. 1970. The Effect of Population Density on Gametophyte Morphogenesis in *Polypodium vulgare* L. *New Phytologist* **69**: 1039-1051.

Towill, L.R. and Ikuma, H. 1973. Photocontrol of the Germination of *Onoclea* Spores. *Plant Physiology* **51**: 973-978.

Wu, H., Chen, P.T., Yuan, L.P. and Chen, L.Q. 2009. An Efficient Method for Surface Sterilization and Sowing Fern Spores *in vitro*. *American Fern Journal* **99**(3): 226-230.

การทดลองที่ 12: การจำแนกพืชวงศ์ขิง 29 ชนิดด้วยเทคนิค ISSR

จารุพันธ์ ทองแถม, หม่อมหลวง. 2532. เฟิร์นหายากใกล้สูญจากป่าไทย สาเหตุของการสูญพันธุ์และแนวอนุรักษ์. การสัมมนาชีววิทยา ครั้งที่ 7 เรื่อง ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, สาขาชีววิทยา สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ และ องค์การยูเสด ณ โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ จังหวัดเชียงใหม่ 16-17 ตุลาคม 2532.

ธีร์ หะวานนท์. 2541. การศึกษาอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยา และแนวทางการอนุรักษ์เฟิร์นต้นโดยการเพาะสปอร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 113 หน้า.

นัฐชัย แย้มพิกุลสกุล. 2551. การขยายโคลนเฟิร์นชายผ้าสีดาเขากวางใบตั้ง (*Platycerium ridleyi* H. Christ.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 70 หน้า.

ศิวาพร ธรรมดี. 2539. การผสมพันธุ์เฟิร์นในสกุล *Pteris* โดยวิธีจับคู่ผสมเพาะสปอร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 70 หน้า.

สุธีรา ลิมปิพิชัย. 2540. การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเฟิร์นที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ในประเทศไทยและสาเหตุการสูญพันธุ์. รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2540. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต. 83 หน้า

สุภัทธิรา โคตรศิลากูล. 2543. อิทธิพลของวัสดุเพาะชนิดต่างๆต่อการงอกของสปอร์เฟิร์น *Thelypteris hirsutipes.* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 14 หน้า.

อักษร ศรีเปล่ง, ทวีศักดิ์ บุญเกิด, สมพงษ์ ธรรมถาวร และ กิตติมา เมฆโกมล. 2536. วิกฤตการณ์การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพของพืชพวก “เฟิร์น” ในประเทศไทย. การสัมมนาวิชาการเรื่อง “คนกับธรรมชาติ: วิกฤตการณ์การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพและแนวทางการอนุรักษ์ที่ยั่งยืน”. กรุงเทพมหานคร: อักษรสยามการพิมพ์. 231 หน้า.

Archana, G.N., Pradeesh, S., Nikhila, G.S., Sangeetha, G., Mini, I.I. and Swapna, T.S. 2014. Conservation of Vegetable Fern (Dipalzium esculentum) of Western Ghats Through *in vitro* Spore Culture. *Journal of Aquatic Biology and Fisheries* **2**(2): 43-50.

Ballesteros D, Ibars AM, Estrelles E. 2004. New data about pteridophytic spore conservation in germplasm banks. *Plantaeuropa IVth Conference*. Valencia: Spain. http://www.nerium.net/plantaeuropa/Download/Procedings/Ballesteros_daniel.pdf.

Ballesteros, D., Estrelles, E. and Ibars, A.M. 2006. Responses of Pteridophyte Spores to Ultrafreezing Temperatures for Long-term Conservation in Germplasm Banks. *Fern Gazette* **17**(5): 292-302.

Ballesteros, D. and Walters, C. 2007. Water Properties in Fern Spores: Sorption Characteristics Relating to Water Affinity, Glassy States, and Storage Stability. *Journal of Experimental Botany* **58**(5): 1185-1196.

Ballesteros, D., Estrelles, E., Walters, C. and Ibars, A.M. 2011. Effect of Storage Temperature on Green Spore Longevity for the Ferns *Equisetum ramosissimum* and *Osmunda regalis*. *CryoLetters* **32**(2): 89-98.

Ballesteros, D., Estrelles, E., Walters, C. and Ibars, A.M. 2012. Effects of Temperature and Desiccation on ex situ Conservation of Nongreen Fern Spores. *American Journal of Botany* **99**(4): 721-729

Beri, A. and Bir, S.S. 1993. Germination of Stored Spores of *Pteris vittata* L. *American Fern Journal* **83**(3): 73-78.

Chang, H.C., Gupta, S.K. and Tsay, H.S. 2011. Studies on Folk Medicinal Fern: An Example of "Gu-Sui-Bu". Pages 285-304. *In: Working with Ferns: Issues and Applications*. H. Fernandez, A. Kumar and A. Revilla (Eds.). New York, Springer.

Dyer, A.F. 1979. B. Culture Medium. Page 282. *In: The Experimental Biology of Ferns*. Academic Press. London.

Fernandez, H. and Revilla, M.A. 2003. *In vitro* Culture of Ornamental Ferns. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **73**: 1-13.

Lindsay, S., Middleton, D.J., Boonkerd, T. and Suddee, S. 2009. Towards a stable nomenclature for Thai ferns. *Thai Forest Bulletin (Botany)* **37**: 64-106.

Lloyd, M.R. and Klekowski, E.J. Jr. 1970. Spore Germination and Viability in Pteridophyta: Evolutionary Significance of Chlorophyllous Spores. *Biotropica* **2**(2): 129-137.

Quintanilla, L.G., Amigo, J., Pangua, E. and Pajaron, S. 2002. Effect of Storage Method on Spore Viability in Five Globally Threatened Fern Species. *Annals of Botany* **90**: 461-467.

Rodpradit, S. 2003. Cryopreservation of Young *Platycerium ridleyi* H. Christ. Sporophytes. Master Thesis, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University. 71 p.

Santisuk, T., Chayamarit, K., Pooma, R. and Suddee, S. 2006. **Thailand Red Data: Plants**. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand. 256 p.

Smith, D.L. and Rogan, P.G. 1970. The Effect of Population Density on Gametophyte Morphogenesis in *Polypodium vulgare* L. *New Phytologist* **69**: 1039-1051.

Towill, L.R. and Ikuma, H. 1973. Photocontrol of the Germination of *Onoclea* Spores. *Plant Physiology* **51**: 973-978.

Wu, H., Chen, P.T., Yuan, L.P. and Chen, L.Q. 2009. An Efficient Method for Surface Sterilization and Sowing Fern Spores *in vitro*. *American Fern Journal* **99**(3): 226-230.

การทดลองที่ 13: ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2552. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร.

Brasil, 1992 อ้างโดย J.Marcos-Filho 1998. New Approaches to seed vigor testing Sci. agric., Piracicaba, 55 (Numero Especial) p.27-33, agosto. p.27-33.

Engelmann, F. 2004. Plant cryopreservation: progress and prospects. ***In vitro*** **Cell Biol Plant**. 40: 427-433 .

Engelmann F. and H. Takagi. 2000. Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application. Japan International Research Centre for Agricultural Sciences, Tsukuba, Japan. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome. Italy. 52: 261-268.

Fessehazion , M.K.; 2005. Predicting and Improving Seedling emergence of three vegetable crops.M.Sc. Thesis ,Faculty of natural and Agric.Sci. University of Pretoria, South Africa.

Hampton ,J .& Te Krony, D.M.(Ed.), 1995. Handbook of vigour test methods. Zurich : International Seed Testing Association. 117 p.

Hampton , J. ;1993. The ISTA Perspective of Seed Vigor Testing . Journal of Seed Technology,v.17. p105-109.

International Seed Testing Association (ISTA), 2011 International Rules for Seed testing. Edition 2011. The International Seed Testing Association (ISTA), Zürichstr. 50 CH-8303 Bassersdorf, Switzerland. ISBN – 13 978-3-906549-63-7. Edition 2011/1

Jianhua, Z., Mc Donald, M.B. 1998. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. Seed Science and Technology, v.25, p.123-131, 1996.

Kulik, M.M.; Yaklich, R.W. 1892. Evaluation for vigor test in soybean seeds relationship of accelerated aging, cold, Sand bench and speed of germination tests to field performance . Crop Science, V.22, n.4, p.776-770.

Marcos-Filho ,J .; Pescarin ,H.M.C.;Komatsu,Y.H.Demetrio ,C.G.B.,Fancelli,A.L.;1984. อ้างโดย J.Marcos-Filho 1998. New Approaches to seed vigor testing. (Numero Especial) p.27-33, agosto. p 27-33.

Matthew, S., 1980. Controlled deterioration : a new vigour test for crop seeds. In : Hebbletthwaite , P.D. (Ed.) Seed Production. London : Butherworths, P.647-660.

McDonald 1975, M. B., 1975. A review and evaluation of seed vigor tests. Proceedings of the Association of Official Seed Analysis, v.65, p. 109-139.

Montgomery, D. C., 2001. Design and Analysis of Experiments. John Willey and Sons Inc., New York, USA,pp:684.

Panobianco ,M.; Marcos Filho, J. 1998อ้างโดย J.Marcos-Filho 1998. New Approaches to seed vigor testing. (Numero Especial) p.27-33, agosto. p 27-33.

Paunescu, A. 2009. Biotechnology for endangered plant conservation: A critical overview.
Rom. Biotechnol. Lett. 14(1): 4095-4103.

Powell, A.A. ; Matthews, S.; 1981. Evaluation of controlled deterioration, a new vigour test for crop seeds. Seed Science and Technology, V.9, p 633-640.

Rossetton , C.A., Marcos-Filho, J. 1995. อ้างโดย J. Marcos- Filho 1998. New Approaches to seed vigor testing. Sci. agric., Piracicaba ,55 (Numero Especial) p.27-33, agosto. p.27-33.

Sakai, A. T. Matsumoto, D. Hirai and T. Niino. 2000. Newly developed encapsulation-dehydration protocol for plant cryopreservation. **CryoLett.** 21: 53-62.

Sakai, A. and F. Englemann. 2007. Vitrification, encapsulation-vitrification and droplet-vitrification: A review. **CryoLett.** 28: 151-172.

Shibli, R. A., M. A. Shatnawi, W. S. Subaih and M. M. Ajlouni. 2006. *In vitro* conservation and cryopreservation of plant genetic resources: A Review. World J. Agric. Sci. 2(4): 372-382.

Wang, Q. and Laamanen, J. 2005. Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of raspberry (*Rubus idaeus* L.) by encapsulation-vitrification and encapsulation-dehydration. **Plant Cell Rep**. 24: 280-288

Withers, L. and F. Engelmann. 1997. *In vitro* conservation of plant genetic resources, pp.57-88. *In*: Altman A (ed) **Agricultural Biotechnology**. Marcel Dekker, Inc., New York.

การทดลองที่ 14: การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (Stemona spp.) เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ และ อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib). วารสารวิชาการ ม.อบ. 10 (2) : 1-13.

ณัฐวดี สมบัติเทพสุทธิ์. 2551. **ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook.) และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excels* (Jack) Jacobs.) เพื่อควบคุมผีเสื้อหนอนใยผักในการปลูกผักกวางตุ้งแบบไฮโดรโพนิกส์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สาขากีฏวิทยา, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

พนมกร ขุนอ่อน. 2550. **การใช้น้ำสกัดชีวภาพสมุนไพรหนอนตายหยากควบคุมหนอนแมลงวันบ้าน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม, สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

เต็ม สมิตินันทน์. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย**. หอพรรณไม้กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม ปี 2544. ที่มาhttp://web.dnp.go.th/botany/ThaiPlantName/Defaul .aspx สืบค้นเมื่อวันที่ 31 พฤษภาคม 2554.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2552. **ย่อเภสัชกรรมไทยและสรรพคุณสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 3. ศิลป์สยายบรรจุภัณฑ์และการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 224 น.

สุมนา นีระ, ปรีชา นีระ และ วชิระ เกตุเพชร. 2548. การขยายพันธุ์สมุนไพรหนอนตายหยากโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *ใน* การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคโปสเตอร์) ระหว่างวันที่ 20-22 ตุลาคม 2548, หน้า 289-294.

ศิริกุล เกษา. 2548. การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จำปีสิรินธร *Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin ในหลอดทดลอง โดยการเก็บรักษาในภาวะชะลอการเจริญและการเก็บรักษาใน

ไนโตรเจนเหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สาขาวิชาพฤกษศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช**. อติสรรค์, กรุงเทพฯ. 133 น.

อรพิน เสละคร. 2557. ผลของ BA และ IBA ต่อการเพิ่มปริมาณหน่อและการออกรากของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ. ราชภัฏเพชรบูรณ์สาร, 16(1): 87-94.

Animesh, B., M. A. Bari, M. Roy and S. K. Bhadra. 2011. *In vitro* Propagation of *Stemona tuberosa* Lour. – A Rare Medicinal Plant through High Frequency Shoot Multiplication using Nodal Explants. Plant Tissue Cult. & Biotech. 21(2): 151-159.

George, E. F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture: The Technology (2nd Edition). Exegetics Ltd., Edington, Wilts., England.

Montri, N., Wawrosch, C. H. and B. Kopp. 2006. **Micropropagation of *Stemona curtisii* Hook f., a Thai medicinal plant**. Acta Horticulturae, 725: 341-345.

Montri, N., Ch. Wawrosch, and B Kopp. 2009. In Vitro Propagation of *Stemona tuberosa* Lour., an Antitussive Medicinal Herb. Acta Horticulturae, 812: 165-172.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures**. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Paunescu, A. 2009. **Biotechnology for endangered plant conservation: A critical overview**. Rom. Biotechnol. Lett. 14(1): 4095-4103.

Rakkimuthu, R., J. Jacob and K. M. Aravinthan. 2011. ***In vitro* micropropagation of *Alpinia zerumbet* Variegate, an important medicinal plant, through rhizome bud explants**. Research in Biotechnology, 2(1): 07-10.

Shibli, R. A., M. A. Shatnawi, W. S. Subaih and M. M. Ajlouni. 2006. ***In vitro* conservation and cryopreservation of plant genetic resources: A Review**. World J. Agric. Sci. 2(4): 372-382.

Singlaw, C., A. Kongbangkerd, K. Promthep and P. Saenpote. 2008. **Effect of cytokinins on *In vitro* shoot proliferation of *Stemona tuberose* Lour. NU** Science Journal 5(2): 221-229.

การทดลองที่ 15: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด โดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

กมลพร ปานง่อม วรรณา มังกิตะ และสุคนทิพย์ บุญวงศ์. 2552. การขยายพันธุ์ฮ่อม (*Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่. 102 น.

คมสัน หุตะแพทย์. 2549. การสกัดน้ำมันหอมระเหย. ออฟเซ็ทครีเอชั่น, กรุงเทพฯ. 108 น.

ต. ชาตรี. 2553. สมุนไพรเพื่อการเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 5. นีออนบุ๊ค มีเดีย, กรุงเทพฯ. 110 น.

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. หอพรรณไม้กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม ปี 2544. ที่มา http://www.dnp.go.th/botany/ThaiPlantName/ Default.aspx วันที่ 31 พฤษภาคม 2554.

นันทวัน บุณยะประภัศร. 2541. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 2. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 640 น.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย กาญจนรี พงษ์ฉวี และ รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2557. การเก็บรักษาพันธุ์หอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze ในสภาพปลอดเชื้อ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2557. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด.

วรินทร์พร จิ๋วรัตนสกุล และ ปิยะวดี เจริญวัฒนะ. 2557. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชเนระพูสีไทยในสภาพปลอดเชื้อโดยการชะลอการเจริญเติบโต. แก่นเกษตร. 42 (ฉบับพิเศษ 3) 562-566.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2552. ย่อเภสัชกรรมไทย และสรรพคุณสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 3. ศิลป์สยามบรรจุภัณฑ์และการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 223 น.

สนธิชัย จันทร์เปรม. 2534. การชะลอการเจริญเติบโตของอ้อยปลูกและอ้อยป่าในสภาพปลอดเชื้อ. *ใน* เรื่องเต็มการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29: รายงานผลการวิจัย สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534. หน้า 575-581.

สนธิชัย จันทร์เปรม. 2548. การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยการลดการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว. วันที่ 20-22 ตุลาคม 2548. ณ ศูนย์อนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ คลองไผ่, นครราชสีมา. หน้า 384-389.

ศิริกุล เกษา. 2548. การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จำปีสิรินธร *Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin ในหลอดทดลอง โดยการเก็บรักษาในภาวะชะลอการเจริญและการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สาขาวิชาพฤกษศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

อรนุช เกษประเสริฐ. 2550. พืชสมุนไพร วงศ์ Zingiberaceae. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 258 น.

Bramwel, D. 1990. The Role of *In Vitro* Cultivation in Conservation of Endangered Species, Conservation Technique in Botanic Gardens. Koeningstein, Germany. pp. 3-15.

Guicherd, P., J.P. Peltier, E. Gout and R. Bligny. 1997. Osmotic adjustment in *Fraxinus excelsior* L.: malate and mannitol accumulation in leaves under drought condition. Trees. 11: 155-161.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Shibli, R.A., M.A. Shatnawi, W.S. Subaih and M.M. Ajlouni. 2006. *In vitro* conservation and cryopreservation of Plant genetic resources: A review. World Journal of Agricultural Sciences 2 (4): 372-382.

Suksa-ard, P., I. Kataoka, Y. Fujime and S. Subhadrabandhu. 1997. Effect of temperature, growth retardants and osmotic potential on growth of Papaya shoots conserved *in vitro*. Japanese Journal of Tropical Agriculture 41(1): 7-13.

Tyagi, R.K., A. Agrawal and A. Yusuf. 2006. Conservation of Zingiber germplasm through in vitro rhizome formation. Scientia Horticulturae 108: 210-219.

การทดลองที่ 16: การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร) โดยใช้เทคนิค Cryopreservation

ปาริฉัตร สังข์สะอาด กิ่งกาญจน์ พิชญกุล และพัชร ปิริยะวินิตร2553. การศึกษาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชสวนในสภาพปลอดเชื้อ (TC) และในสภาพเยือกแข็ง (Cryopreservation). รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 (เล่ม 2). 386 หน้า.

รัชนก มีแก้ว อรนุช เกษประเสริฐ และวรกิจ ห้องแซง. 2553. การศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชสมุนไพร (ชุมเห็ดเทศ, พุงทะลาย) ในสภาพปลอดเชื้อและสภาพเยือกแข็ง. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 (เล่ม 2). 386 หน้า.

วราภรณ์ บุตรเรืองศักดิ์. 2543. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ช้างกระ (*Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridley) ในไนโตรเจนเหลว โดยวิธี Vitrification. โครงการพิเศษหลักสูตรวิทยศาสตรบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ศุภกิจ ยงวิฑิตสถิต. 2540. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ในไนโตรเจนเหลว โครงการพิเศษหลักสูตรวิทยศาสตรบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

Dumet, D. and E.E. Benson. 2000. The use of physical and biochemical studies to elucidate and reduce cryopreservation – induced damage in hydrated/ desiccated plant germplasm. In : Engelmann F, Takagi, H (eds). Cryopreservation of tropical plant germplasm. Italy, IPGRI. pp. 43-56.

Gupta, S. and Husnara. 2009. Cryopreservation of *in vitro* explants using encapsulation-dehydration technique. Laboratory manual for international training course on *in vitro* and cryopreservation techniques for conservation of plant genetic resources November 9-21, 2009. New Delhi, India. pp. 29-34.

Lambardi, M., C. Benelli and A. De Carlo. 2005. Cryopreservation as atool for the long-term conservation of woody plant germplasm : development of the technology at the CNR/IVALSA institute of Florence. The role of Biotechnology. Villa Gualino, Turin, Italy 5-7 March, 2005. 181-182.

Mikula, A., T. Tykaraska and M. Kuras. 2005. Ultrastructure of Gentiana tibtica proembryogenic celld before and after cooling treatments. Cryolett. 26: 367-378.

Steponkus, P.L., R. Langis and S. Fujikawa. 1992. Cryopreservation of plant tissues by vitrification, pp. 1-61. In: P.L. Steponkus, ed . Andvanced in low temperature biology V.1 JAI Press, Hamoton Hill, UK.

Thammasiri, K. 1999. Cryopreservation of embryonic axes of Jackfruit). Cryo-Letters. 20:21-28.

Thammasiri, K. 2000. Cryopresrvation of seeds of a Thai orchid (*Doritis pulcherrima* Lindl.) by vitrification. Cryo-Letters. 21 : 237-244.

Thammasiri, K. 2002. Preservation of seeds of some Thai orchid species by vitrification. Proceedings of the World Orchid Conference. 16 : 248-251.

การทดลองที่ 17: การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาว [Pueraria candollei Grah. var. mirifica (Airy Shaw et Suvatabandhu) Niyomdham] เพื่อการอนุรักษ์

กรมวิชาการเกษตร. 2548. กวาวเครือขาว-พืชมหัศจรรย์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

กนกพร สมพรไพลิน. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากกวาวเครือขาว *Puerarin mirifica* ในเชิงพาณิชย์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2542. จุฬาฯผลักดันให้กวาวเครือขาวและกวาวเครือแดง (ทองเครือ)เป็นพืชสงวนได้สำเร็จ. [ออนไลน์]. Availiable: http://www.chula.ac.th/curel/1999/apr-16-1999/ cusoc.html

ฉัตรมณี สังข์สุวรรณ์, ศิริวรรณ บุรีคำ และวิเชียร กีรตินิจกาล. 2551. อิทธิพลของ kinetin และ BA ที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกวาวเครือขาว. ว. วิทย์. กษ. 39(3)(พิเศษ): 508-511.

ชวลิต นิยมธรรม. 2538. กวาวเครือ. อนุกรมวิธาน ก. ราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ: เพื่อนพิมพ์. 495 หน้า.

ชุติมา อ้อมกิ่ง. 2545. การศึกษาเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท สาขาพืชสวน. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นิสากร ปานประสงค์. 2542. กวาวเครือ ความหวังสมุนไพรไทย. วารสาร UPDATE กันยายน-ตุลาคม. หน้า 40 - 45.

บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ และ รุ่งอรุณ ดอนจันทร์ทอง. 2551. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมมันสำปะหลังในสภาพปลอดเชื้อ. คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก. 29 หน้า.

รมณีย์ เจริญทรัพย์ และ ศาลักษณ์ พรรณศิริ. 2547. การเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ : ผลของ mannitol ต่อการเจริญของเนื้อเยื่อที่เก็บรักษา. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 : สาขาพืช-สาขาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร. หน้า 553-559.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

รุจน์ สุทธิศรี. 2547. สารเอสโตรเจนจากพืช (phyoestrogen). ภาควิชาเภสัชวิทยา. คณะเภสัชศาสตร์.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

วรารัตน์ เกียรติเมธา. 2549. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมของมังคุล (*Garcinia mangostana* L) และลองกอง (*Lansium domesticum* Corr.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร (สาขาพืชศาสตร์) มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. สารานุกรมสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ศรันย์ ฟักสุขจิต. 2547. การเพาะเลี้ยงเนี้ยเยื่อกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิริกุล เกษา. 2548. การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จำปีสิรินธร *Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin ในหลอดทดลองโดยการเก็บรักษาในภาวะชะลอการเจริญและการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุจิตรา โพธิ์ปาน. 2541. การเก็บรักษาเชื้นพันธุกรรมกล้วย Abaca (*Musa textiles* Nee.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โสภณ เริงสำราญ และคณะ. 2543. ฟลาโวนอยด์และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์จากกวาวเครือแดง และฤทธิ์ต่อต้านไซคริกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเทอเรส. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 25(1): 169-176.

อรดี สหวัชรินทร์. 2542. กวาวเครือ สมุนไพรครอบจักรวาล. วารสารเคหการเกษตร. 23(4): หน้า 127–136.

Awad, A.B., Chinnam, M., Fink, C.S. and Bradford, P.G. 2007. β-Sitosterol activates Fas signaling in human breast cancer cells. Phytomedicine. 14: 747-754.

Donald, R.B. and Miranda, C., 2001. Antioxidant activity of flavonoids. Seminar Series, January. (2):1-3. Oregon State University, USA.

Golmizaie, A. and Toledo, J. 1998. *In vitro* conservation of potato and sweetpotato germplasm. CIP Program Report 1997-98: 351-356.

Hao, Y.J. and X.X. Deng. 2003. Genetically stable regeneration of apple plants from slow growth. Plant Cell. Tissue and Organ Culture. 72: 253-260.

Ingham, J.L., Tahara, S. and Dziedzic, S.Z. 1994. A Chemical Investigation of *Pueraria mirifica* Roots. Z. Nuturforsch. 41c: 403-408.

Jones, H.E.H. and Pope, G.S. 1960. A study of the action of miroestro and other oestrogens on the reproductive tract of the immature female mouse. Journal of Endocrinology. 20: 229-235.

Murashige, T. and D.P.H. Tucker. 1969. Growth factor requirements of citrus tissue culture. Proc. 1st Int. Citrus Symp. 3: 1155-1161.

Stadbauer, W. and Kapper, T. 1993. Simple and Effective Approaches to Coumestans and Azacoumestans. Heterocycles. 35(2): 1425-1440.

Wade, H.K., Sohal, A.K. and Jenkins, G.I. 2003. Arabidopsis ICX1 is a negative regulator of several pathways regulating flavonoid biosynthesis genes. Plant Physiol. 131: 707–715.

การทดลองที่ 18: การศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์เท้ายายม่อม(Tacca leontopetaloides Ktze.) เพื่อการอนุรักษ์

กนิษฐิกา ตันติสุนทร และพิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์. 2542. ผลของการเลี้ยงก้านใบของต้นเท้ายายม่อมต่อการพัฒนาเป็นต้นใหม่. วารสารเกษตร 15(2) : 156-163.

พัชราวดี วัฒนวิกย์กิจ, พนิดา วงษ์แหวน, วราพร วีระพลากร และยุพา มงคลสุข. 2545. การขยายพันธุ์เท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 สาขาพืช : 4-7 กุมภาพันธ์ 2545. กรุงเทพฯ : หน้า 208-212.

รมณีย์ เจริญทรัพย์, ดารัตน์ เทียนทอง และศาลักษณ์ พรรณศิริ. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นเนระพูสีไทย (*Tacca chantrieri* Andre) : พืชสมุนไพร. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 สาขาพืช : 29 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2551. กรุงเทพฯ : หน้า 425-430.

ศิริกุล เกศา, พัชรา ลิปนะเวช, สุมิตรา คงชื่นสิน และ ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์. 2549. การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จำปีสิริธร Magnolia sirindhorniae Noot.& Chalermglin ในหลอดทดลองโดยการเก็บรักษาในภาวะชะลอการเจริญและการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาพืช : 30 มกราคม-2 กุมภาพันธ์ 2549. กรุงเทพฯ : หน้า 688-694.

สาโรจน์ ประเสริญศิริวัฒน์ และมาโนชญ์ กูลพฤกษี. 2545. พัฒนาการของเนื้อเยื่อและแคลลัสเท้ายายม่อมบนอาหารสังเคราะห์. รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 19 เล่ม 2 กลุ่มเกษตรศาสตร์ : 22-27 มกราคม 2545. ปทุมธานี : หน้า 73-74.

สุญาณี เวสสบุตร. 2550. การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (In vitro Conservation). องค์การสวนพฤกษศาสตร์, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. [ออนไลน์] http://www.qsbg.org/webboard/webboard_Detail-1.asp?Board_ID=614

สุภาภรณ์ ภัทรสุทธิ, นพรัตน์ หยีดจันทร์ และ ดวงจันทร์ ภูเขียวศักดิ์. 2546ก. การศึกษาส่วนประกอบทางโภชนาการและลักษณะกายภาพบางประการของพืชหัวพื้นเมือง. การประชุมวิชาการ กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ : หน้า 17-18.

_____. 2546ข. ศึกษาส่วนประกอบทางโภชนาการและลักษณะทางกายภาพบางประการของหัวและแป้ง จากหัวเท้ายายม่อมที่แปรรูปมาจากหัว 2 ฤดู และ3 ฤดู. การประชุมวิชาการ กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ : หน้า 9-10.

สุภาภรณ์ ภัทรสุทธิ. 2543. เท้ายายม่อม พืชหัวที่น่าสนใจ. ข่าวพฤกษศาสตร์และวัชพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ : หน้า 6-8.

สุรีย์พร พัฒนกิจโกศล. 2549. การเก็บรักษาพันธุกรรมกล้วยไม้เข็มขาวภายใต้สภาพหลอดทดลองและในไนโตรเจนเหลว.ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร, โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา. 114 หน้า.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2522. ไม้เทศเมืองไทย : สรรพคุณของยาเทศและยาไทย. โรงพิมพ์กรุงธน, กรุงเทพฯ : หน้า 273-274.

IUCN. 1980. The Word Conservation Strategy. IUCN, Gland, Switzerland.

Krauss, B.H. 2000. Native Plants Used As Medicine in Hawaii. [Online] http://library.kcc.hawaii.edu/~soma/krauss/pia.html.

Mala, La'au. 2003. A Garden of Hawaiian Healing Plants. [Online] http://hml.org/WWW/ garden.html.

การทดลองที่ 19: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับงานขยายพันธุ์พืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ, 180 หน้า.

คมขวัญ หนูฤทธิ์, ปรานอม พฤฒพงษ์, สุรศักดิ์ นิลนนท์ และสุรียา ตันติวิวัฒน์. 2549. การเพาะเลี้ยงพันธุ์ต้นตออองุ่นในสภาพปลอดเชื้อ, น. 408-415 *ใน* เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 : สาขาพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

โชคชัย วนภู. 2547. การพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์องุ่น. รายงานการวิจัยโครงการจากทุนอุดหนุนการวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีประจำปีงบประมาณ 2544. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 30 หน้า.

นันทกร บุญเกิด. 2546. คู่มือการสร้างสวนองุ่น. สมบูรณ์พริ้นติ้ง, นครราชสีมา, 133 หน้า.

มณฑา วงศ์มณีโรจน์. 2540. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ, น. 31-39 *ใน* เอกสารประกอบการอบรมทางวิชาการ เรื่อง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นสูง. ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

Aazami , M.A. 2010. Effect of Some Growth Regulators on in vitro Culture of two Vitis vinifera L. Cultures. Romanian Biotechnological Letters, 15(3):5229-5232.

Abido, A.I.A, M.A.M, Aly, S.A.,Hassanen and G.A., Rayan. 2013. *In vitro* Propagation of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Muscat of Alexandria cv. For Conservation of Endangerment. Middle-East Journal of Scientific Research. 13(3) :328-337.

Ayman, A.D., S.M., Khalil and R.M., Ismail. 2011. Regeneration and Micropropagation of Grapevine (Vitis vinifera L.) Though Shoot Tips and Axillary Buds. International Journal of Advanced Biotechnology and Research. 2(4) :484-491.

Chee, R., R.M., Pool. 1982. The Effects of Growth Substances and Photoperiod on The Development of Shoot Apices of *Vitis* Cultured *in vitro*. Sci Hort, 16: 17-27.

Lloyd, G., McCROWN, B. 1981. Commercially Feasible Micropropagation of Montain Laurel, Kalmia latiforia, by Use of Shoot Tip Culture. Com. Proc. Int. Plant Prop. Soc., 30 :421-327.

Gray, D.J. and C.M., Kiein. 1989. *In vitro* Micropropagation and Plant Establishment of ‘Blanc Do Bois’ Grape. Proc. Fla. State Hort. Soc. 102: 221-223.

Gray, D.J. and C.M., Benton. 1990. Micropropagation and Plant Establishment of Muscadine Grape. Fla. State Hort. Soc. 103: 300-302.

Gray, D.J. and C.M., Benton. 1991. *In vitro* Micropropagation and Plant Establishment of Muscadine Grape Cultivars (*Vitis rotundifolia*). Plant Cell, Tissue and organ Culture. 27(1): 7-14.

Meyerson, M.E., C.M., Benton and D.J., Gray. 1994. A comparison of shoot micropropagation among bunch and Muscadine Grave species and cultivars. Proc. Fla. State Hort. Soc. 107: 311-312.

Muhammad, J.J., H., Abbas, R. Sultana, M.M., Khan, M. Qasim and I.A., Khan. 2008. Effect of Growth Hormone on Micropropagation of *Vitis vinifera* L. cv. Perlette. Pak. J. Bot., 40(1):105-109

การทดลองที่ 20: เทคนิคการขยายพันธุ์นรีรัตน์ (Petrocosmea pubescence) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ

ปราณี ปาลี และวิไลวรรณ อนุสารสุนทร. 2549. พืชวงศ์ชาฤษีกับศักยภาพในการพัฒนาเป็นไม้ดอกไม้ประดับใน **เอกสารประกอบการประชุมวิชาการโครงการ BRT** ครั้งที่ 10 8-11 ตุลาคม 2549 จังหวัดกระบี่. 124-131.

วงศ์สถิต ฉั่วกุล. 2553. สมุนไพรพื้นบ้านแก้ปวดเมื่อย. **ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ** 5(1): 1-13.

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

Burtt, B.L. 2001. Flora of Thailand: annotated checklist of Gesneriaceae. **Thai Forest Bulletin** 29: 81-109.

Daskalova, E., Doncheva, S., Yahubyan, G., Minkov, I. and V. Toneva. 2010. Ecological Characterisitvs and Conservation of the Protected Resurrection Species *Haberlea rhodopensis* FRIV. As *in vitro* Plants through a Modified Micropropagation system. **In: Proceedings of the Balkan Scientific Conference of Biology in Plovdiv (Bulgaria)**, pp. 213-217.

Daud, N. and R.M. Taha. 2008. Plant regeneration and floral bud formation from intact floral parts of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.) cultured *in vitro*. **Pakistan Journal of Biological Sciences.** 11: 1055-1058.

Ghasemi, Y., Nematzadeh, G.A., Omran, V.G., Dehestani, A. and S. Hosseini. 2012. The effects of explants type and phytohormones on African violet (*Saintpaulia ionantha*) micropropagation efficiency. **Biharean Biologist.** 6(2): 73-76.

Ji, H. 2008. **China Papers.** Studies on Cytology, Reproductive Biology and Pollen Morphology of *Petrocosmea* (Gesneriaceae) from China. Available source :

http://ir.kib.ac.cn:8080/handle/151853/336, August 29, 2011.

Kozak, D., Hetman, J. and M. Witek. 2007. The Influence of the Mineral Composition of the Medium on *in vitro* Propagation of *Kohleria amabilis* (Planch. Et Linden) Fritsch Shoots. **Acta Agrobotanica** 60(1): 95-99.

Lo, K.H., K.L. Giles and V.K. Sawhney. 1997. Acquisition of competence for shoot regeneration in leaf discs of *Sainnntppaulia ionantha* (African violet) cultured *in vitro*. **Plant Cell Rep.** 16(6): 416-420.

North, J.J. and P.A. Ndakidemi. 2012. Evaluation of Different Ratios of Auxin and Cytokinin for the *in vitro* Propagation of *Streptocarpus rexii* Lindl. **Int. J. Phys. Sci.** 7(7): 1083-1087.

Ma, G.H., Jaime, A.T., Lü, J.F., Zhang, X.H. and J.T. Zhao. 2010. Shoot organogenesis and plant regeneration in *Metabriggsia ovalifolia*. **Plant Cell Tiss Organ Cult.** 105(3): 355-361.

Ma, G.H., He, C.X., Ren, H., Zhang, Q.M., Li, S.J., Zhang, X.H. and B. Eric. 2011. Direct somatic embryogenesis and shoot organogenesis from leaf explants of *Primulima tabacum*. **Biologia Plantarum.** 54(2): 361-365.

Middleton, D.J. and P. Triboun. 2010. Two New Species of *Petrocosmea* (Gesneriaceae) from Thailand. **Thai Forest Bull. (Bot.)** 38: 42-47.

Mithila, J., J. Hall, J.M.R. Victor and P.K. Saxena. 2003. Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentrations on leaf and petiole explants of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) **Plant Cell Rep.** 21(5): 408-414.

Murashige, T. and T. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum** 15: 473-496.

Murch, S.J., J.M.R. Victor and P.K. Saxena. 2003. Auxin, calcium and sodium in somatic embryogenesis of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) cv. Benjamin. **Acta Hort.** 625: 201-209.

Otero, O., Nunez, V., Barona, J., Fonnegra, R., Jimenez, SL., Osorio, R.G., Saldarriaga , M. and A.Di. 2000. Snakebites and Ethnobotany in the Northwest Region of Colombia. Part III: Neutralization of the Haemorrhagic Effected of Bothrops Atrox Venom. **Ethnopharmacol** 73: 233-241.

Shaw, J. 2011. A new species of *Petrocosmea*. **The Plantsman.** 10(3): 177-179.

Siddique, N.A., Bari, M.A., Kharn, N., Rahman, M., Rahman, M.H. and Huda, S. 2003. Plant Regeneration from Nodal Segments Derived Callus in *Hemidesmus indicus* (L.) R.Br. (Anantamul) an Endangered Medicinal Plant in Bangladesh **J. Biol. Sci**. 3: 1158-1163.

Sunpui, W. and K. Kanchanapoom. 2002. Plant Regeneration from Petiole and Leaf of African Violet .(*Saintpaulia ionantha* Wendl.) Cultured *in vitro*. **Songklanakarin J. Sci. Technol**. 24(3): 357-364.

Tang Z. and H. Lin. 2007. Ripid *in vitro* Multiplication of *Chirita longgangensis* W.T. Wang: An Endangered Gesneriaceae Species in China. **Hort. Sci.** 42(3): 638-641.

Triboun, P. and D.J. Middleton. 2012. *Petrocosmea pubescens*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012. Available source: http://www.iucnredlist.org/details/201813/0, December 2, 2015.

การทดลองที่ 21: เทคนิคการขยายพันธุ์ชาฤาษีดอยตุง (Paraboea doitungensis) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

กรมวิชาการเกษตร. 2554. *พรรณไม้พื้นเมืองไทย* : จากเขาใหญ่สู่ลำน้ำโขง. กลุ่มวิจัยพฤกษศาสตร์และพิพิธภัณฑ์พืช, กองคุ้มครองพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ. 182 น.

จิตราพรรณ พิลึก. 2536. *การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ. 82 หน้า.

ปราณี นางงาม, อนุพันธ์ กงบังเกิด และจรัส ช่วยนะ. 2555. *รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการขยายพันธุ์พืชวงศ์ชาฤาษี (Gesneriaceae)*. กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร. สืบค้นจาก: http://doi.nrct.go.th/?page=resolve_doi&resolve_doi=10.14457/NU.res.2012.1 [8 ม.ค. 58]

ธีรภัทร ศรีรัตนโชติ, อนุพันธ์ กงบังเกิด และปราณี นางงาม. มมป. วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงพืชวงศ์ชาฤๅษี ของประเทศไทย ในสภาพปลอดเชื้อ. ปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. *สืบค้นจาก*: http://www.scimath.org/project/search [8 ม.ค. 59]

มณฑา วงศ์มณีโรจน์, รงรอง หอมหวน, สุลักษณ์ แจ่มจำรัส และ กมลศรี สระทองพรม. 2553. เทคนิคการย้ายปลูกต้นกล้าจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. งานครบรอบ 30 ปี ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง “สามทศวรรษเซ็นทรัลแล็บ กับการบริการชุมชน”. หน่วยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช งานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกษตร ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลองสถาบันวิจัยและพัฒนากำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

ราชันย์ ภู่มา. 2547. การสำรวจพันธุ์พืชเฉพาะถิ่นหายากใกล้จะสูญพันธุ์ในพื้นที่อนุรักษ์ทั่วประเทศ. *มติชน* 27 (9558): 7

พัชร ปิริยะวินิตร, พัฒน์นรี รักษ์คิด, ปราโมทย์ ไตรบุญ และ ปาริฉัตร สังข์สะอาด. 2555. ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์นครินทรา (*Trisepalum sangwaniae*) พืชเฉพาะถิ่นของประเทศไทยในสภาพปลอดเชื้อ. *ประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยขอนแก่น วิทยาเขตหนองคาย ครั้งที่ 2*: 395-400.

วงศ์สถิต ฉั่วกุล. 2553. สมุนไพรพื้นบ้านแก้ปวดเมื่อย. *ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ* 5(1): 1-13.

Batugal, P.A., Kanniah, J., Lee, S.Y. and J.T. Oliver. 2004. *Medicinal Plants Research in Asia, Volume 1*. The Framework and Project Workplans. International Plant Genetic Resources Institute – Regional Office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO), Malaysia

Bilkey, P.C., B.H. McCown and A.C. Hildebrandt. 1978. Micropropagation of african violet from petiole cross-sections. *HortScience* 13(1): 37-38.

Daud, N. and R.M. Taha. 2008. Plant regeneration and floral bud formation from intact floral parts of African violet (*Saintapaulia ionantha* H. Wendl.) cultured *in vitro*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11(7): 1055-1058.

Engelmann F. 1997. Present development and use of *in vitro* culture techniques for the conservation of plant genetic resources. *Acta Hort*. 447: 471-475

Ghorbanzade, Z. and M. Ahmadabadi. 2014. An improved system for rapid *in vitro* regeneration of *Saintpaulia ionantha*. *Plant Tissue Cult. & Biotech*. 24(1): 37-45.

Huimei, W., Z. Yuangang and L. Hongmei. 2007. Efficient rooting and root development after transfer of regenerated plantlets of *Comptotheca acuminate*. *Eurasian J. For. Res*. 10-2: 179-184.

Khan, S., Naseeb, S. and K. Ali. 2007. Callus induction, plant regeneration and acclimatization of African violet (*Saintpaulia ionantha*) using leaves as explants. *Pak. J. Bot*. 39(4) : 1263-1268.

Ma, G., A. Jaima., T. da SilvaJ. Lü , X. Zhang and J. Zhao. 2010. Shoot organogenesis and plant regeneration in *Metabriggsia ovalifolia. Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* doi: 10.1007/s11240-010-9875-5.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-496.

Rout, G.R., A. Mohapatra and S. Mohan Jain. 2006. Tissue future of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospects. *Biotechnology Advances* 24: 531-560.

Srivastava, N., B. Kamal, V. Sharama, Y.K. Negi, A.K. Dovriyal, S. Gupta and V.S. Jadon. 2010. Standardization of sterilization protocol for micropropagation of *Aconitum hererophyllum* - An endangered medicinal herb. *Academic Arena* 2(6): 62-66.

Sunpui, W. and K. Kanchanapoom. 2002. Plant regeneration from petiole and leaf of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) cultured *in vitro*. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 24(3): 358-364.

Triboun, P. and D.J. Middleton. 2012. Twenty new species of *Paraboea* (Gesneriaceae) from Thailand. *Gardens' Bulletin Singapore* 64(2): 333-370.

Wang, X., Li, L., Bai. Z., Peng, Y., Xiao, P. and Y. Liu. 2011. Five new phenylpropanoid glycosides from *Paraboea glutinosa* (Gesneriaceae). *J Nat Med*. 65: 301-306.

Wentsai, W., P. Kaiyu, L. Zhenyu, A.L. Weitzman and L.E. Skog. 1998. Gesneriaceae. *Flora of China* 18: 244-401.

Wuttisit, M. and K. Kanchanapoom. 1996. Tissue culture propagation of Gloxinia. *Suranaree J. Sci. Technol*. 3: 63-67.

การทดลองที่ 22: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ปอแก้วและปอคิวบาในสภาพเยือกแข็ง

ประวิตร โสภโณดร. 2555. ปฏิบัติการเรื่องปอแก้ว ปอกระเจา. พืชเศรษกิจ: 105-216

ภาณี ทองพำนัก ประเทือง ดอนสมไพร มานะชัย ทองบุญรอด เนตรชนก นุ้ยสีรุ่งอาสาหะ พัฒน ธารา

บัวหลวง พันแปร และสุดใจ ล้อเจริญ. 2549. ธนาคารพันธุกรรมพืช 50 ปี แห่งการวิจัย ของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคบรรยาย หน้า 167-172)

Alla, K. B. and Nina, M. V. 2012. Seed cryopreservation of some medicinal legumes. Journal of Botany. 2012: 7p

Berjak, P. and Pammenter, N.W. 1991. Orthodox and recalcitrant seeds. Plant Cell Biology Research Unit. South Africa: 137-147

Christou, M., Mardikis, M. and Alexopoulou, E. 2001. Biomass and energy crops II: 47p

Cromaty, A. S., Ellis, R. H., Robert, E.H. 1982. The design of seed storage facilities for genetic conservation. Rome: Interntional board for plant genetic resources: 96

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

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

Larry, O. C. and Miller, B. M. 1995. Seed longevity and deterioration. Seed Science and Technology (3): 191-219

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.

Webber, C. L.III, Bhardwaj, H. L. and Bledsoe, V. K. 2002. Kenaf Production: fiber, feed and seed. Trends in new crops and new uses: 327-339

การทดลองที่ 23: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็ง

พรรณผกา รัตนโกศล. 2553. งาม้อน...โอเมก้า3 แห่งขุนเขา. หนังสือพิมพ์กสิกร, 83(6) :15-17.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศมณีโรจน, บัวหลวง จ่อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน. 2540ก. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. รายงานวิจัยเบื้องต้น โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี งานเก็บรักษาพันธุกรรมพืช กิจกรรมปลูกรักษา. ธันวาคม 2540.

ภาณี ทองพำนัก, มณฑา วงศมณีโรจน, บัวหลวง จ่อยปอย และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน. 2540ข. การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพเย็นยิ่งยวด. การประชุมวิชาการครั้งที่ 14 เรื่องเทคนิคและวิธีการทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลอง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม.

Bailly, C. 2004. Active Oxygen species and antioxidants in Seed Biology. Seed Sci Res.14: 93-107.

Cho, I.L., Y.W. Choi, H. Kang, S.K. Um. 1986. Studies on the germination of periilla seeds (*Perilla ocymoides* L.) I.Effects of temperature and storage method on the germinability (in Korean). Korean Soc. Hort. Sci. 27: 320-330.

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

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

Kapoor, N., A. Arya., MA. Siddiqui, A. Amir and H. Kumar. 2010. Seed deterioration in chickpea (*Cicerarietinum* L.) under accelerated aging. Asain J. Plant Sci. 9(3): 158-162.

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

Nagamine, T.,S. Miyashita, T. Nishikawa. 2000. Seed longevity of perilla (*Perilla frutescens* (L.) Britt var.frutescens). Seed Science and Technology (Switzerland). 28(3) : 875-879.

Naoko, M and I. Michiho. 2010. Germination rates of Perilla 9Perilla frutescens (L.) Britton) mericarps stored at 4 degree for 1-20 years. Journal of Natural Medicines. 64(3): 378-382.

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

Somkid, P., P. Maratree and T. Pitipong. 2009. The prediction of Perilla frutescens L. Britton seeds viability in the relation to storage temperature and duration. As. J. Food ag-Ind. Special Issue, S211-S216.

การทดลองที่ 24: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ในสภาพเยือกแข็ง

ภาณี ทองพำนัก ประเทือง ดอนสมไพร มานะชัย ทองบุญรอด เนตรชนก นุ้ยสีรุ่ง อาสาฬหะ พัฒน-ธารา บัวหลวง พันแปร และสุดใจ ล้อเจริญ. 2549. ธนาคารพันธุกรรมพืช 50 ปี แห่งการวิจัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคบรรยาย หน้า 167-172)

Chin, H. F. and E. H. Roberts. 1980. Recalcitrant Crop Seeds. Tropical Press, Kuala Lumpur.

Chin, H. F., B. Krishnapillay, and Y. L. Hor. 1988. Media for embryo culture of some tropical recalcitrant species. Pertanika 11(3): 357- 363.

Kholina, A.B. and N.M. Voronkova. 2012. Seed Cryopreservation of Some Medicinal Legumes. Journal of Botany Volume 2012, Article ID 186891, 7 pages. (http://dx.doi.org/10.1155/2012/186891)

Standwood, P.C. and L.N. Bass. 1981. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen: Seed Sci. & Technol. p. 413-437.

Touchell, D.H. and K.W. Dixon. 1994. Cryopreservation for Seedbanking of Australian Species. Annals of Botany. 74 : 541-546.

http://www.bloggang.com/mainblog.php?id=octaorchid&month=14-09-2008&group=21&gblog=5

http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?option=com_content&view=article&id=96&Itemid=201&lang=english

http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1359/soybean-ถั่วเหลือง

http://www.rdi.ku.ac.th/seed/history.html

http://www.ku.ac.th/e-magazine/may48/agri/gap.html

ภาคผนวก

ชื่อการทดลองที่ 1: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้น ขนาดเมล็ด และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พริกในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

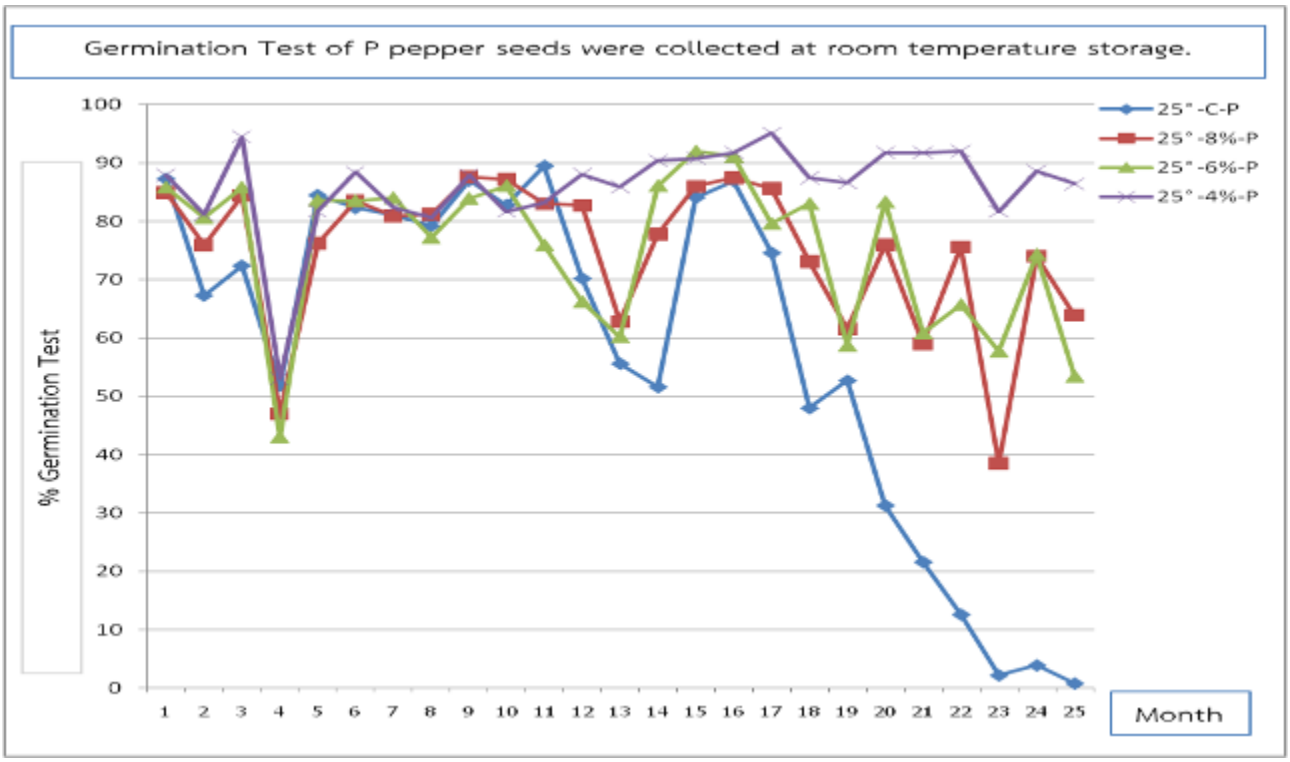


figure 1 Germination Test of P pepper seeds were collected at room temperature storage.

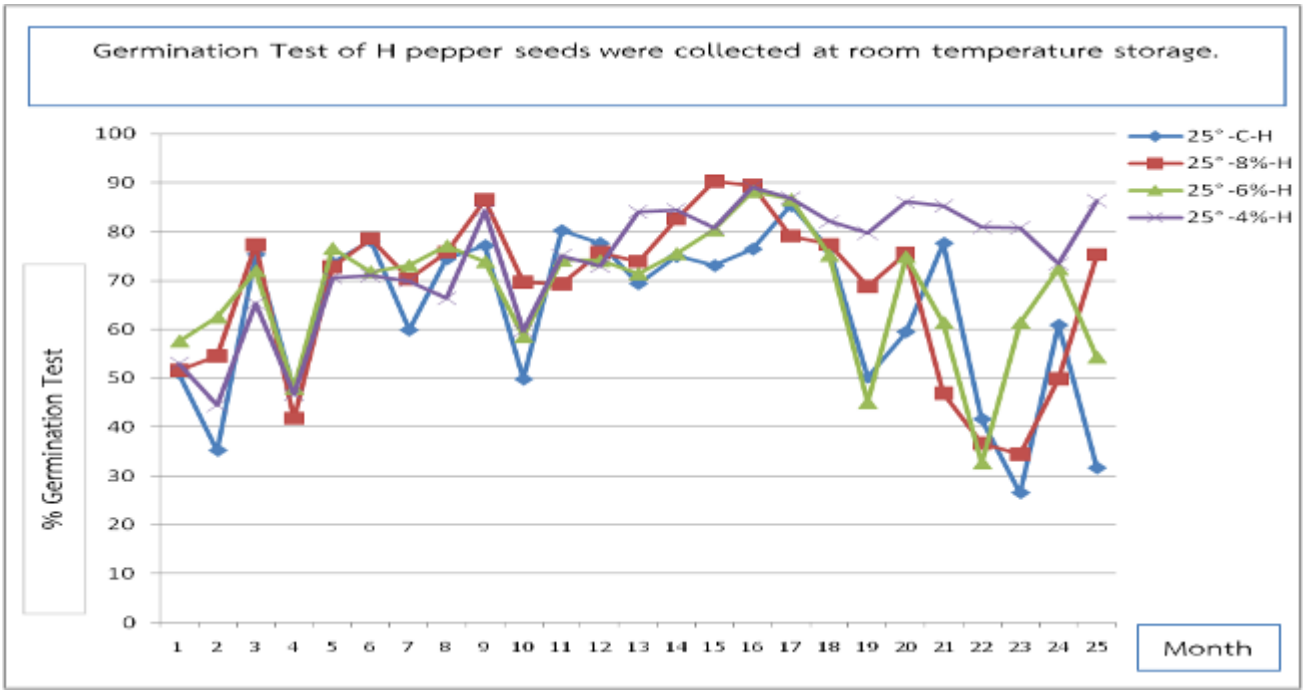


figure 2 Germination Test of H pepper seeds were collected at room temperature storage.

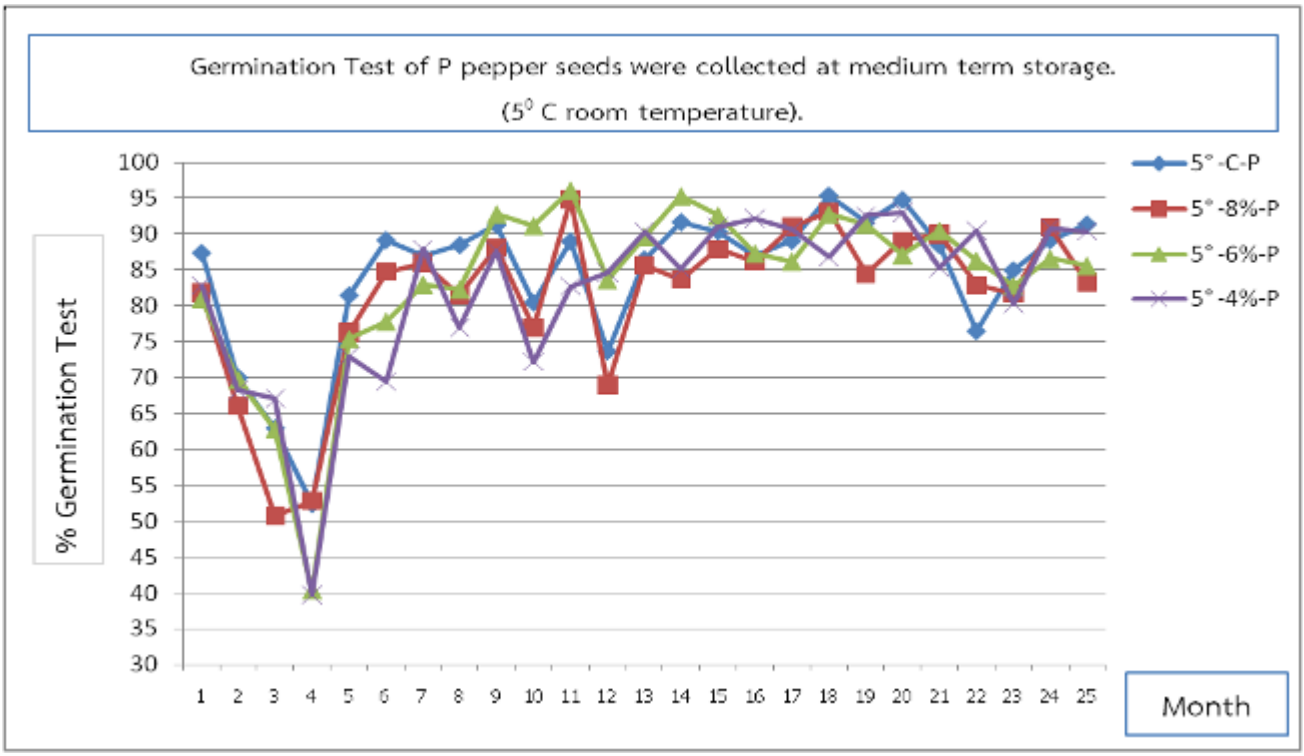


figure 3 Germination Test of P pepper seeds were collected at medium term storage. (5° C room temperature)

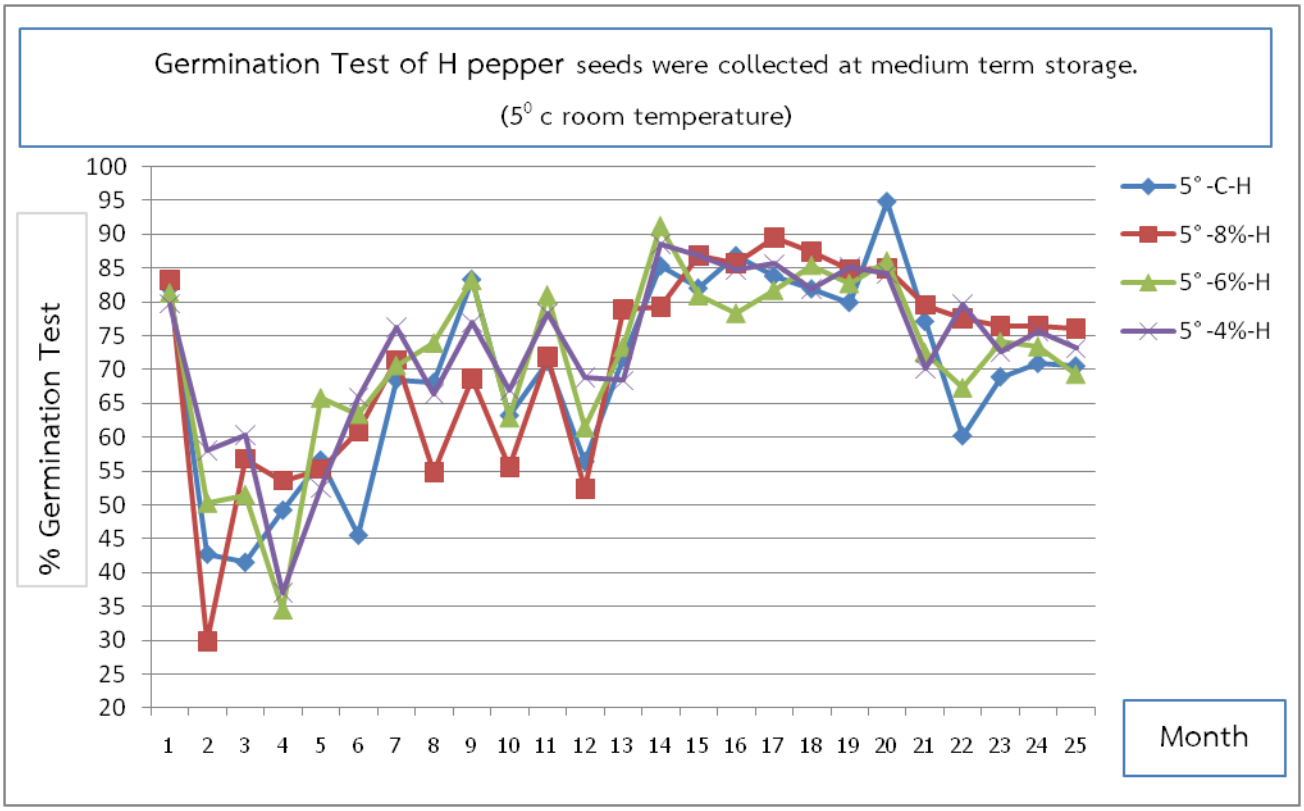


figure 4 Germination Test of H pepper seeds were collected at medium term storage. (5° c room temperature)

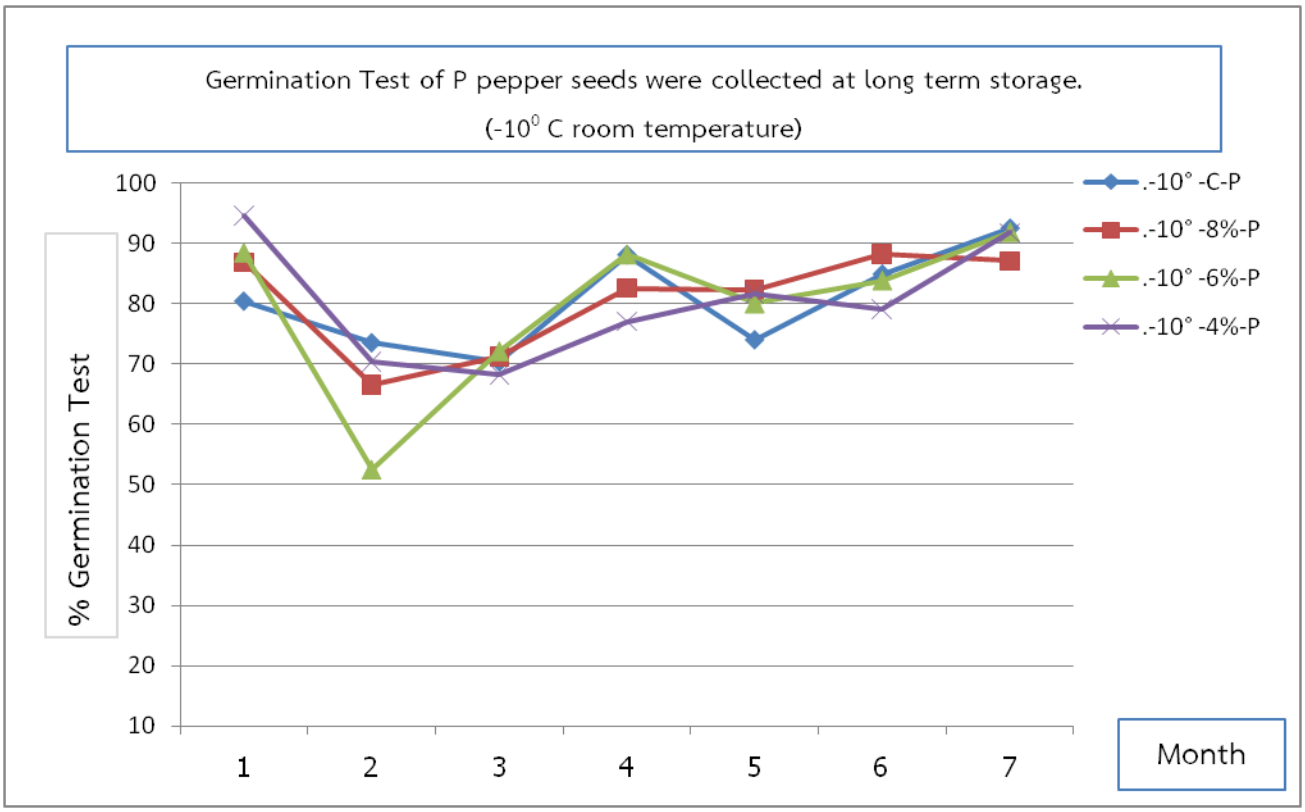


figure 5 Germination Test of P pepper seeds were collected at long term storage. (-10° C room temperature)

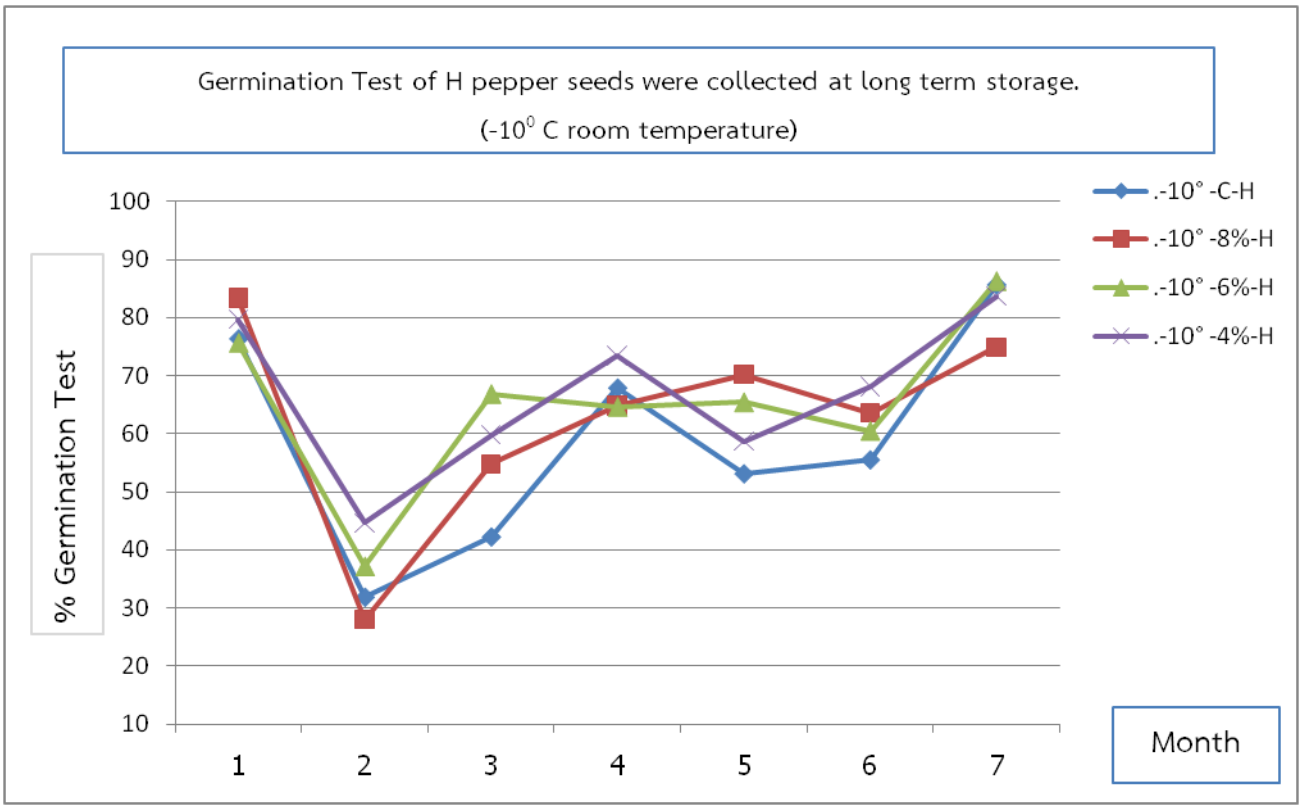


figure 6 Germination Test of H pepper seeds were collected at long term storage. (-10° C room temperature)

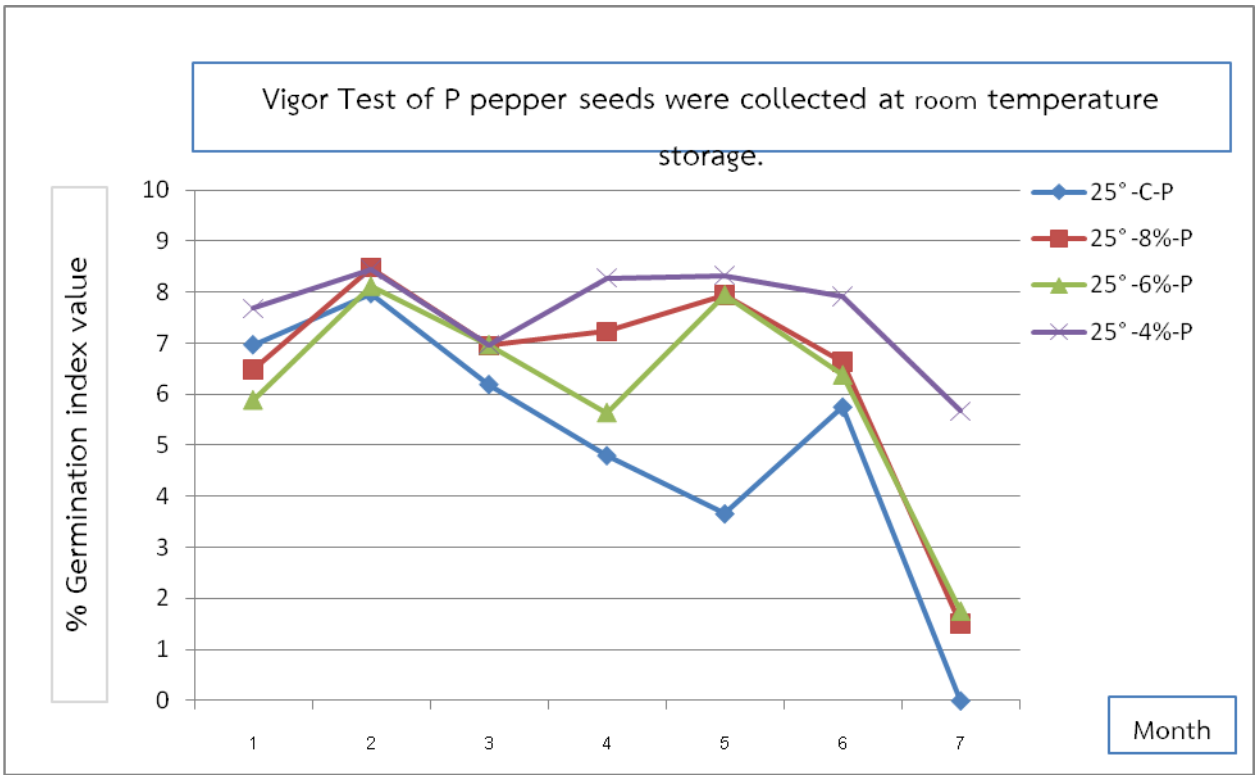


figure 7 Vigor Test of P pepper seeds were collected at room temperature storage.

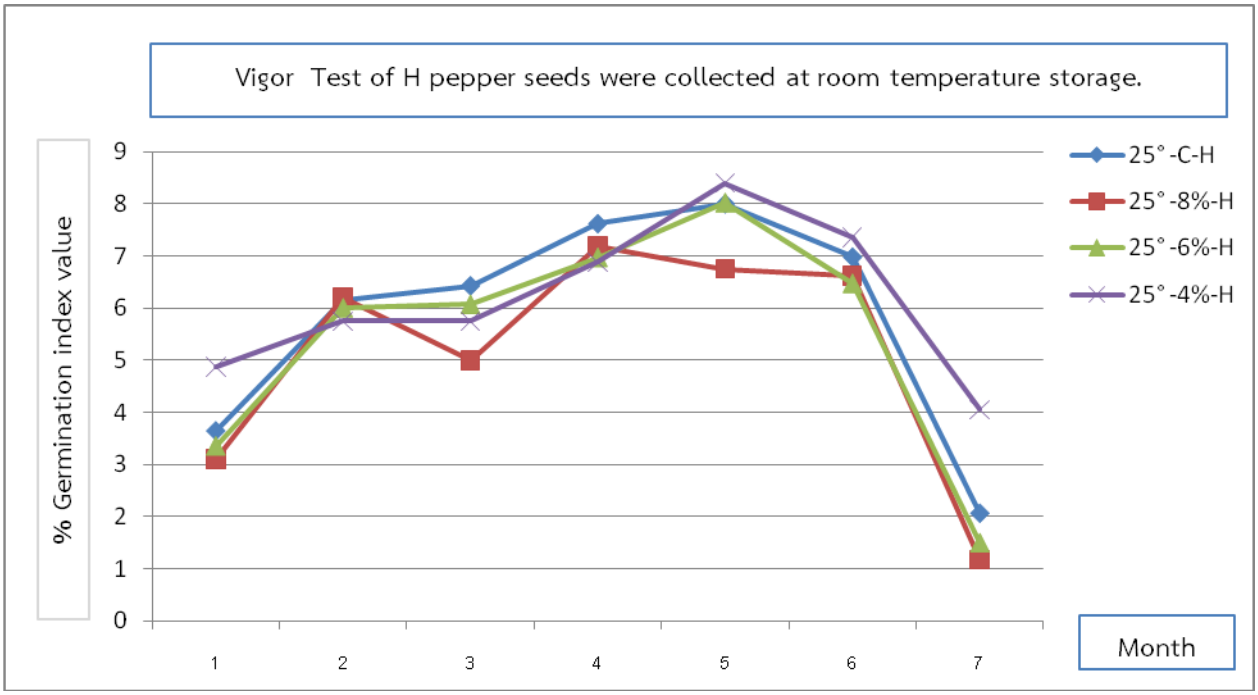


figure 8 Vigor Test of H pepper seeds were collected at room temperature storage.

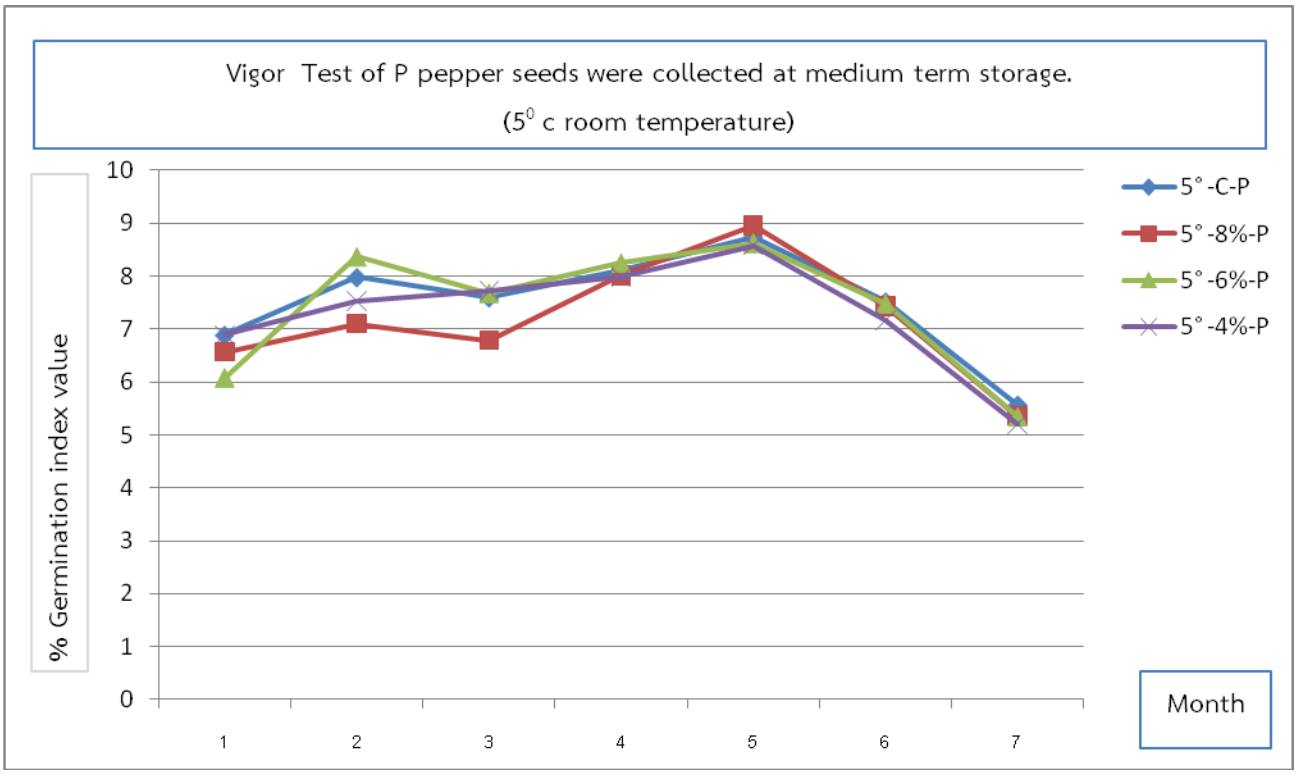


figure 9 Vigor Test of P pepper seeds were collected at medium term storage. (5° c room temperature)

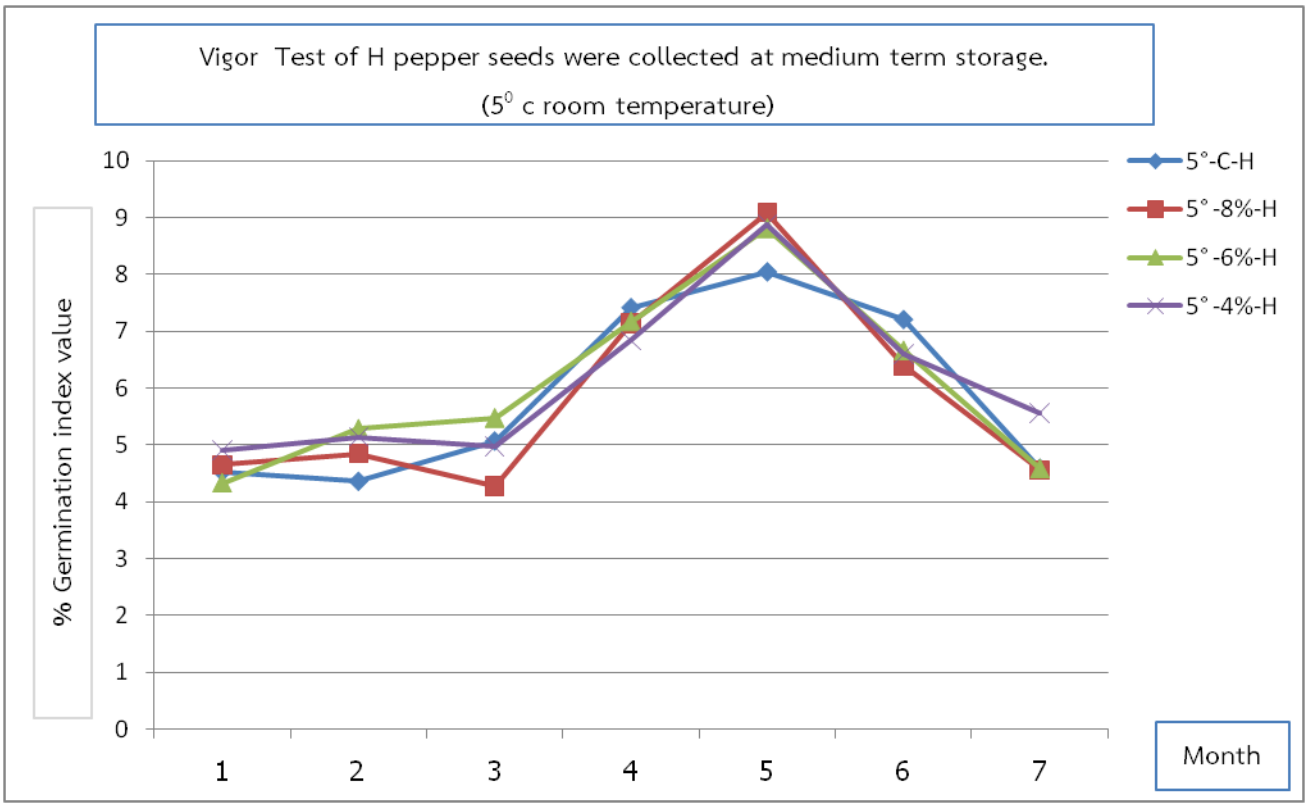


figure 10 Vigor Test of H pepper seeds were collected at medium term storage. (5° c room temperature)

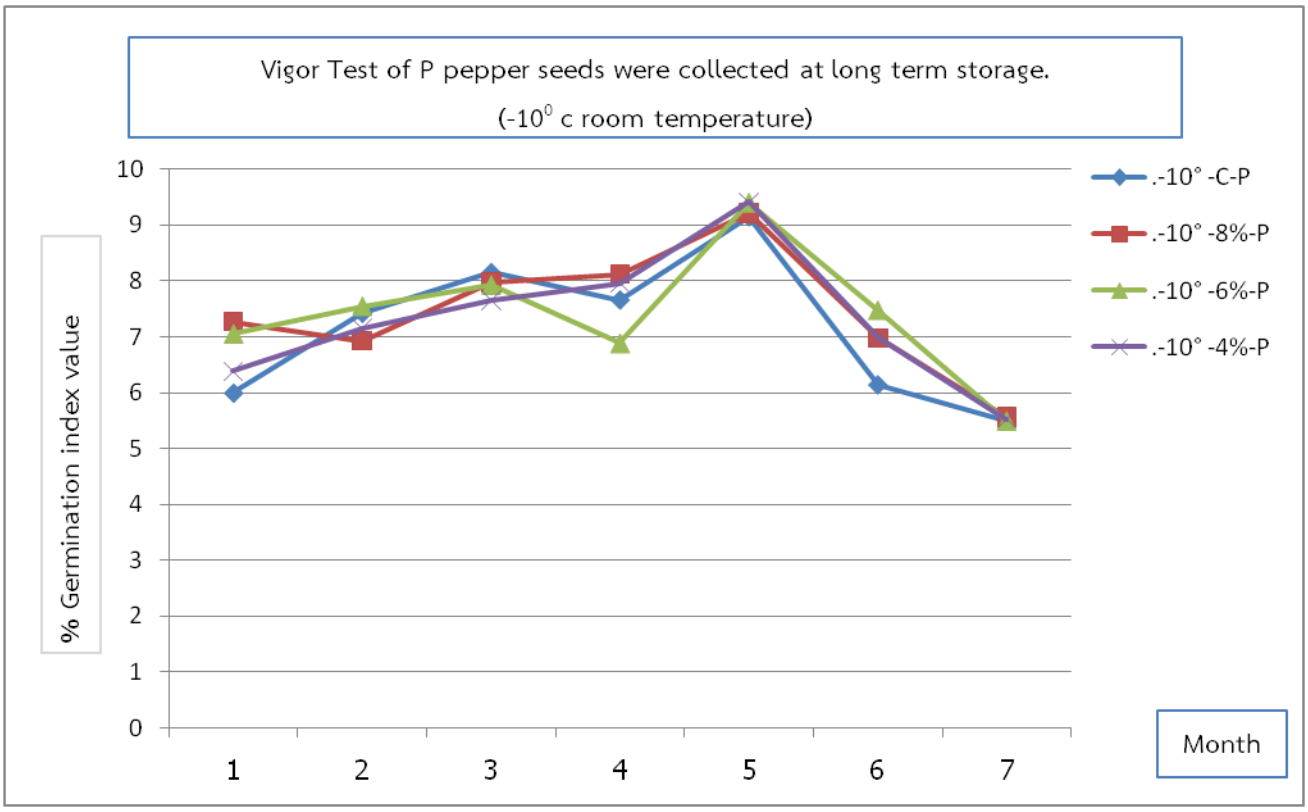


figure 11 Vigor Test of P pepper seeds were collected at long term storage. (-10° c room temperature)

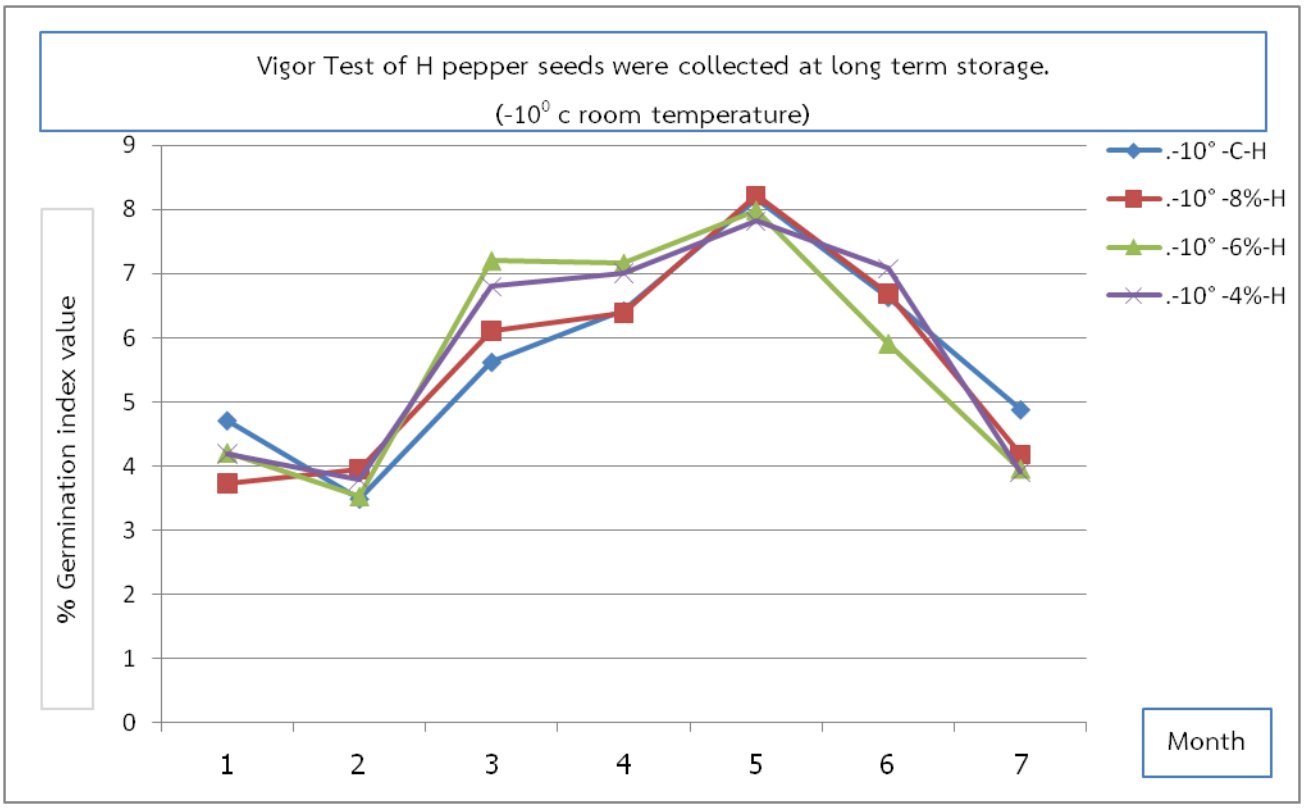


figure 12 Vigor Test of H pepper seeds were collected at long term storage. (-10° c room temperature)

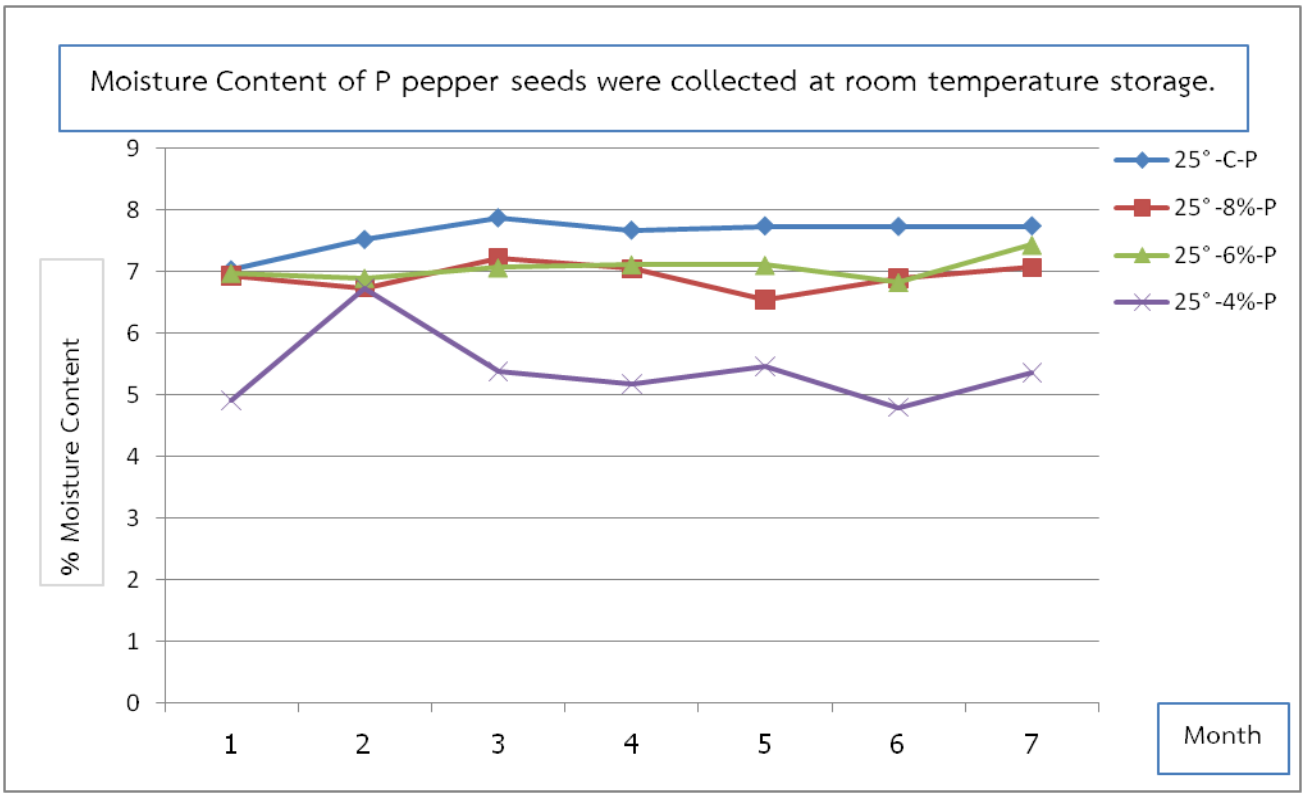


figure 13 Moisture Content of P pepper seeds were collected at room temperature storage.

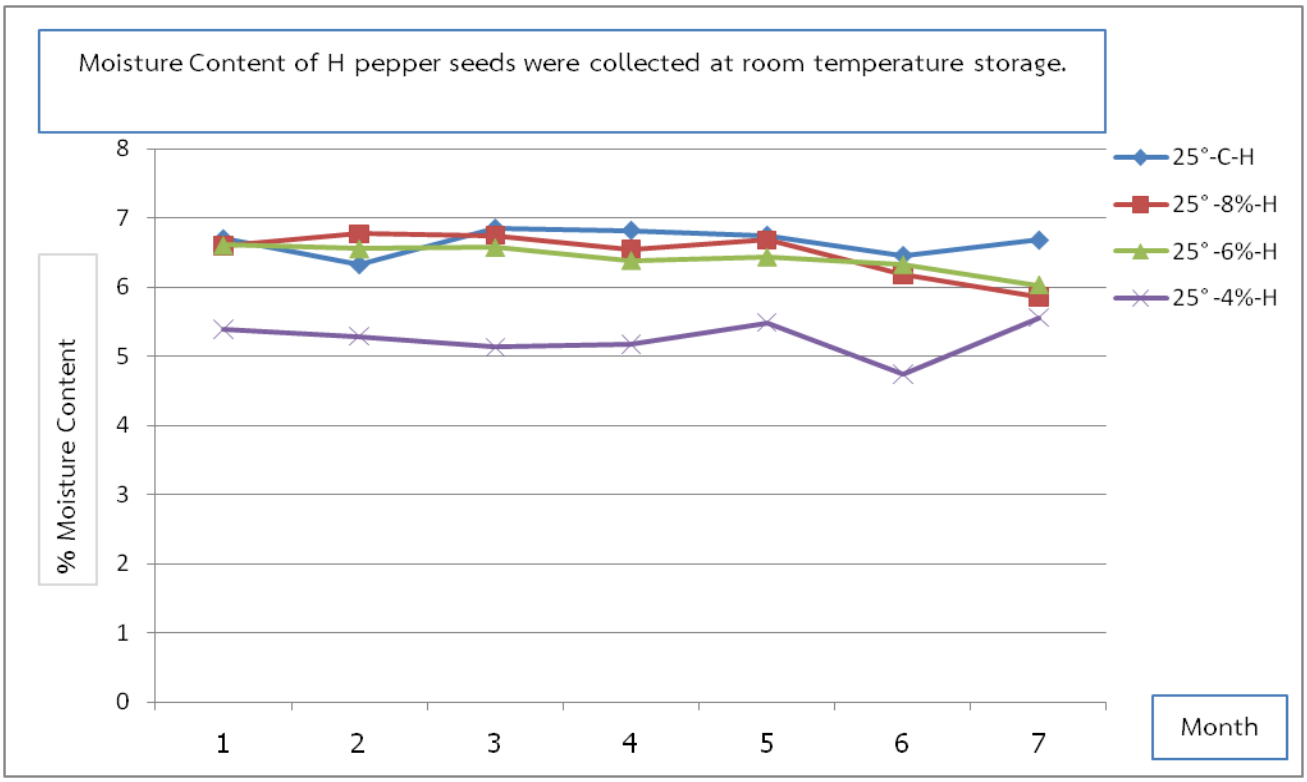


figure 14 Moisture Content of H pepper seeds were collected at room temperature storage.

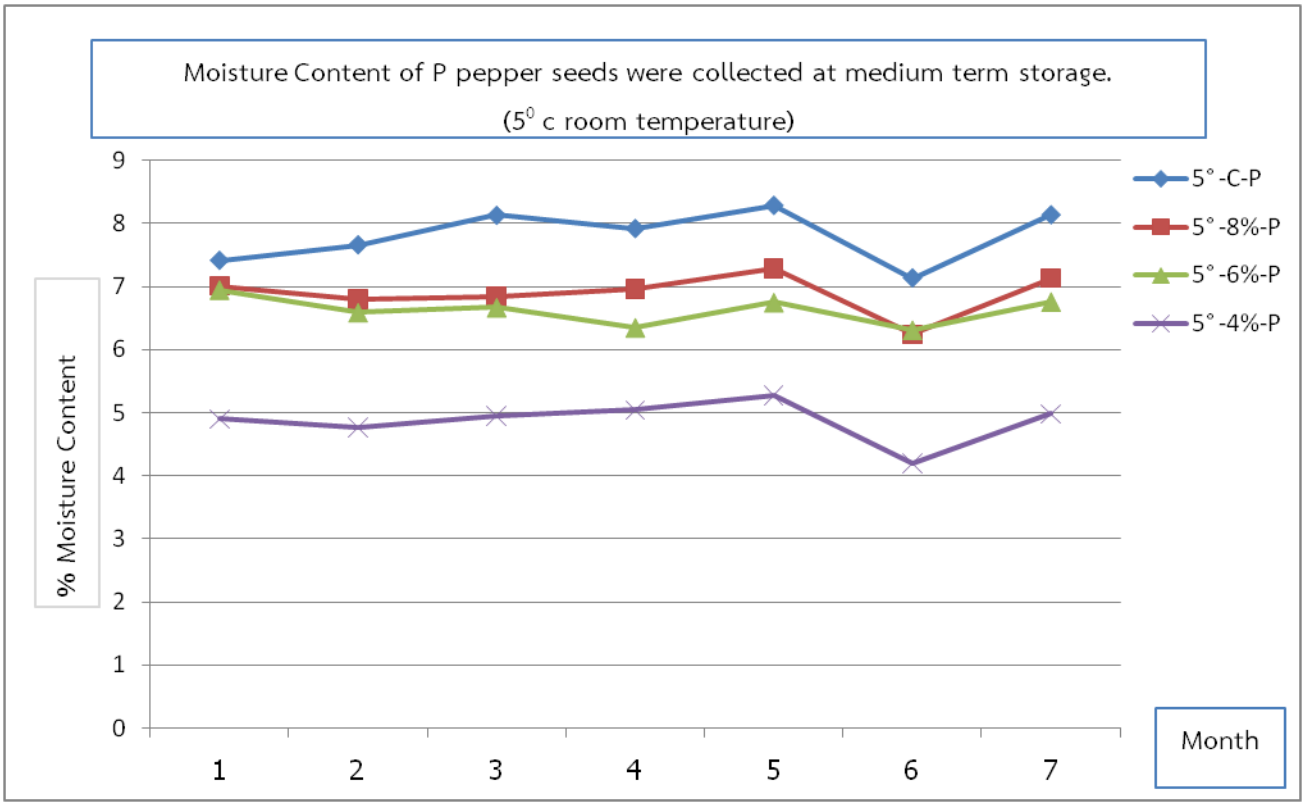


figure 15 Moisture Content of P pepper seeds were collected at medium term storage. (5° c room temperature)

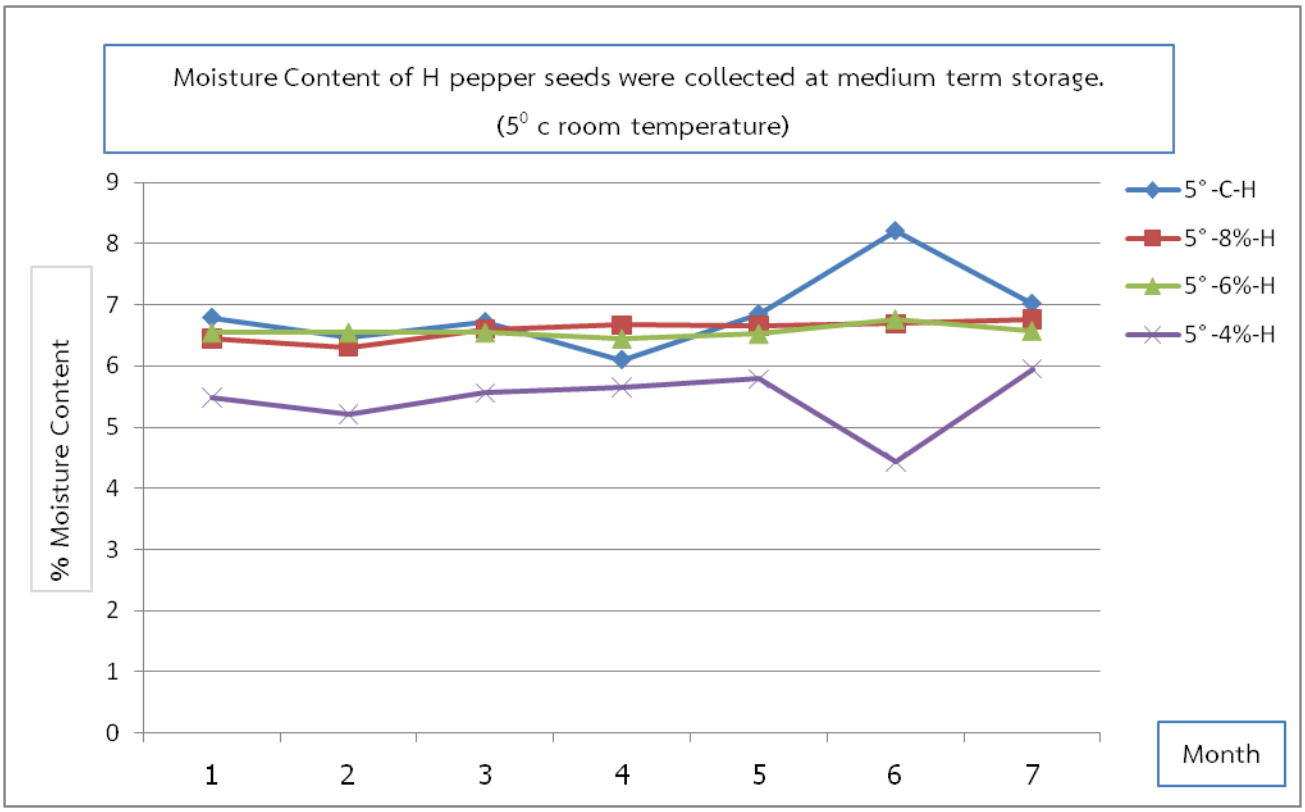


figure 16 Moisture Content of H pepper seeds were collected at medium term storage.(5° c room temperature)

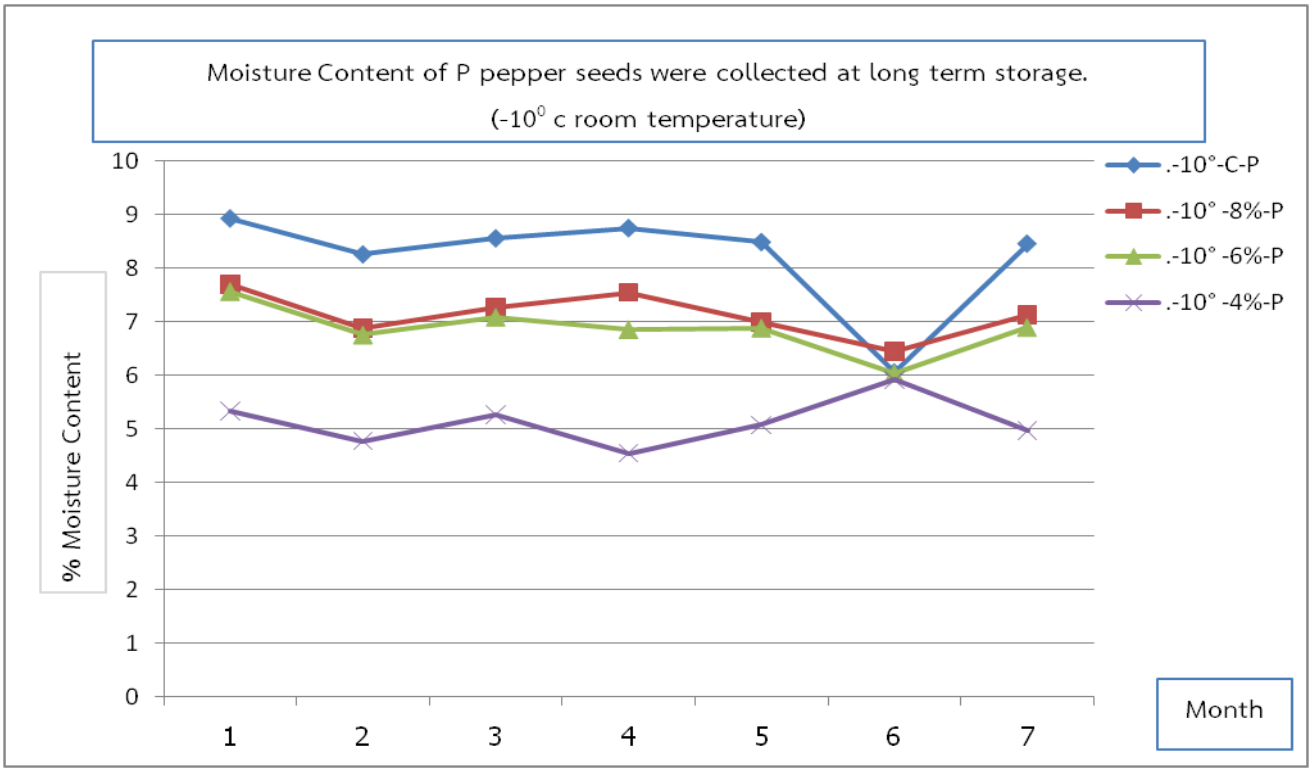


figure 17 Moisture Content of P pepper seeds were collected at long term storage. (-10° c room temperature)

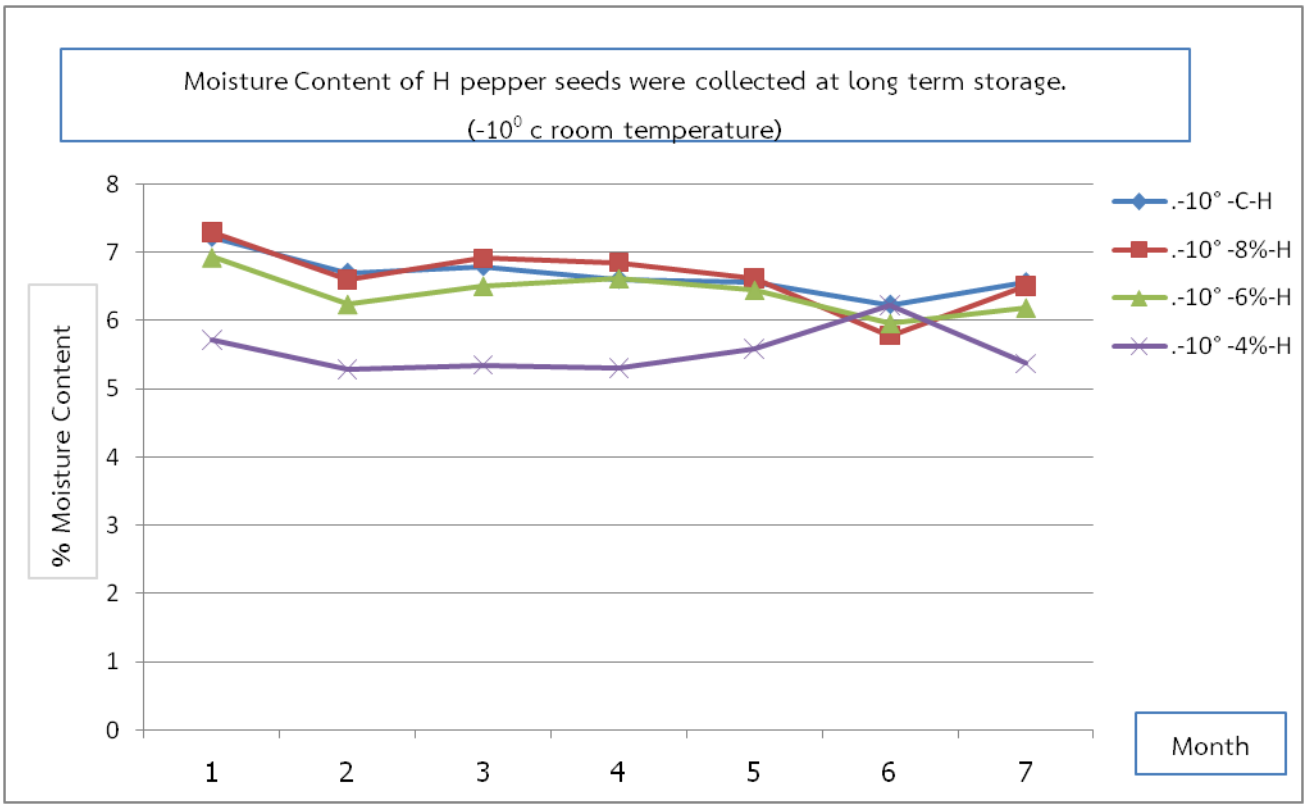


figure 28 Moisture Content of H pepper seeds were collected at long term storage. (-10° c room temperature)

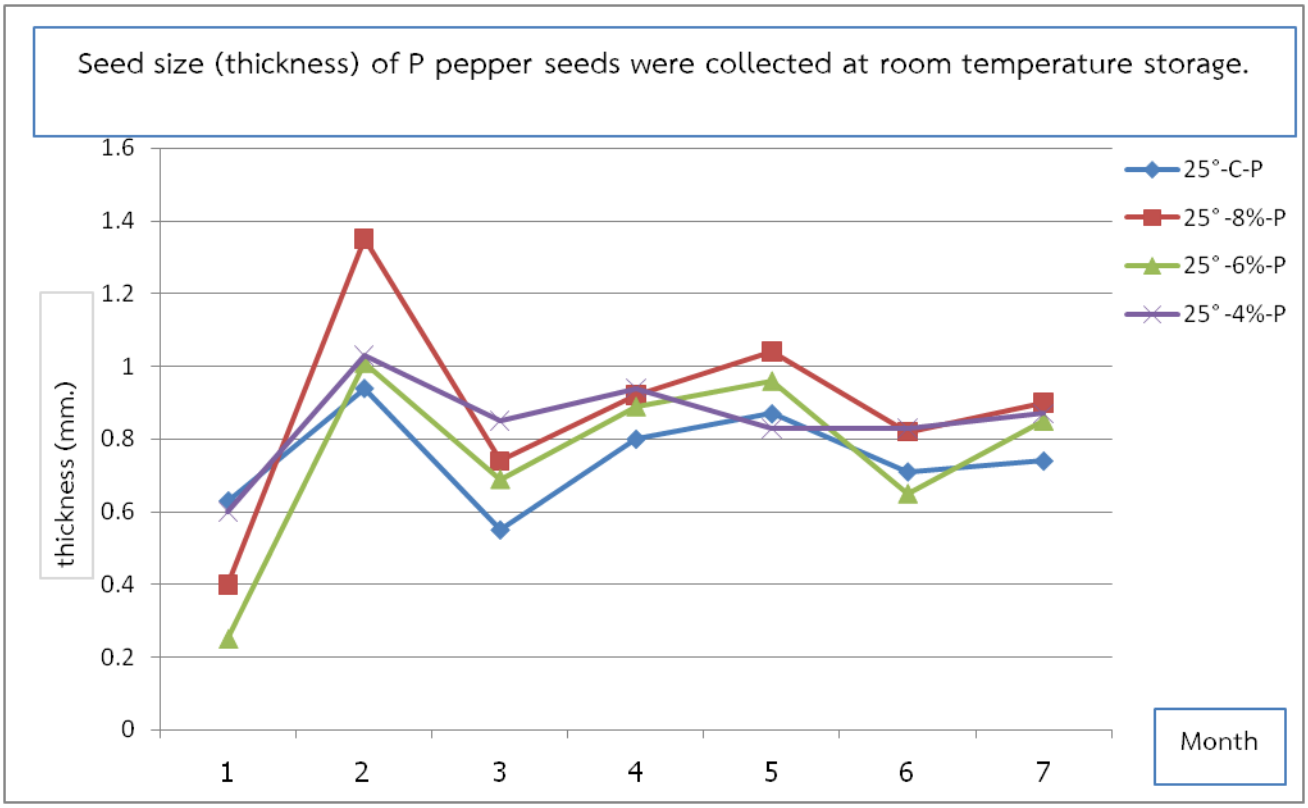


figure 19 Seed size (thickness) of P pepper seeds were collected at room temperature storage.

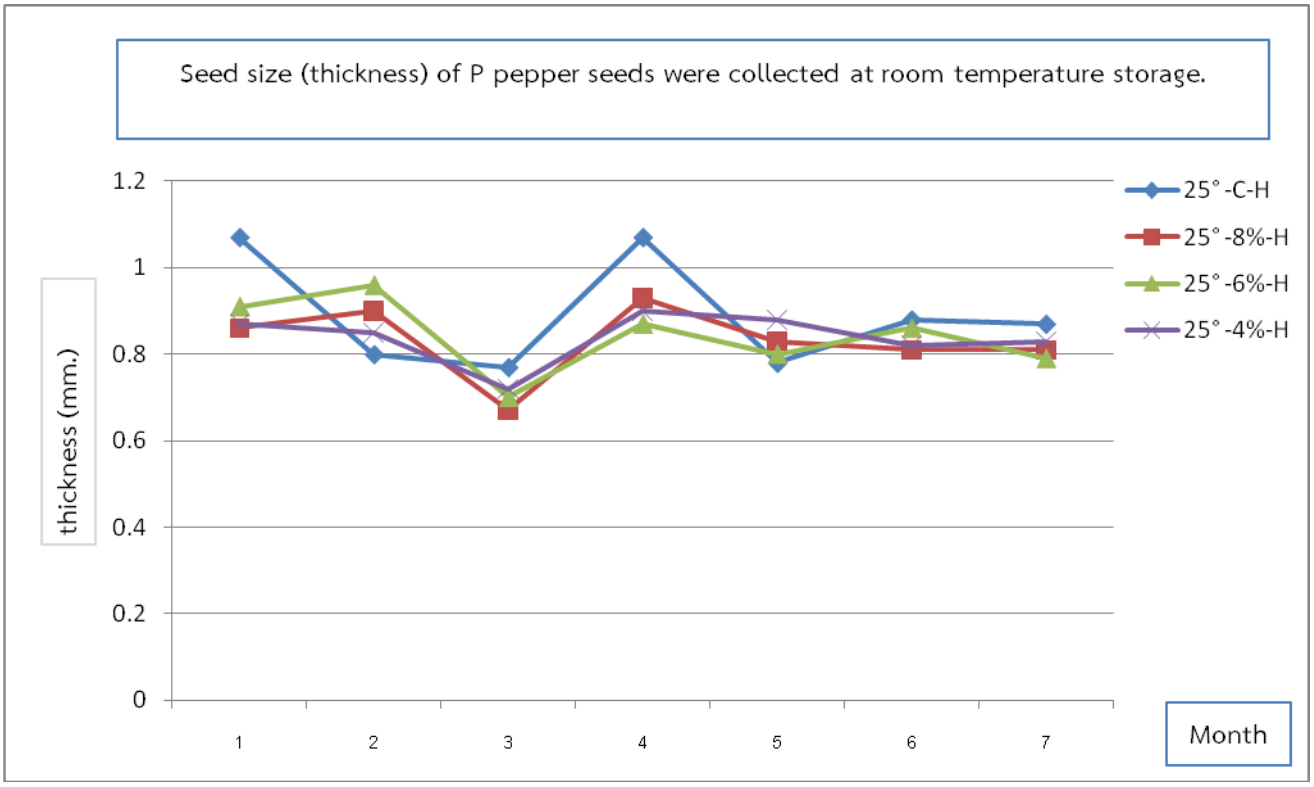


figure 20 Seed size (thickness) of P pepper seeds were collected at room temperature storage.

figure 21 Seed size (thickness) of P pepper seeds were collected at medium term storage. (5°C room temperature)

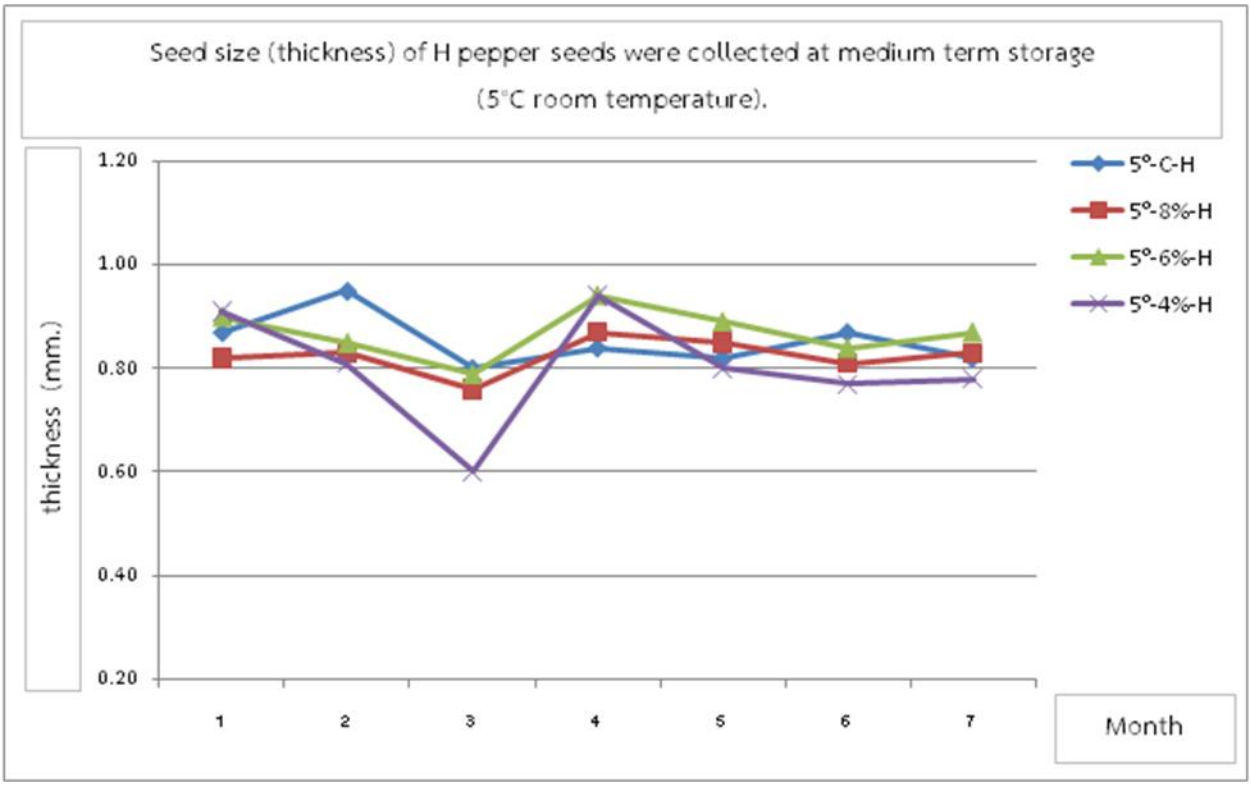


figure 22 Seed size (thickness) of H pepper seeds were collected at medium term storage. (5°C room temperature)

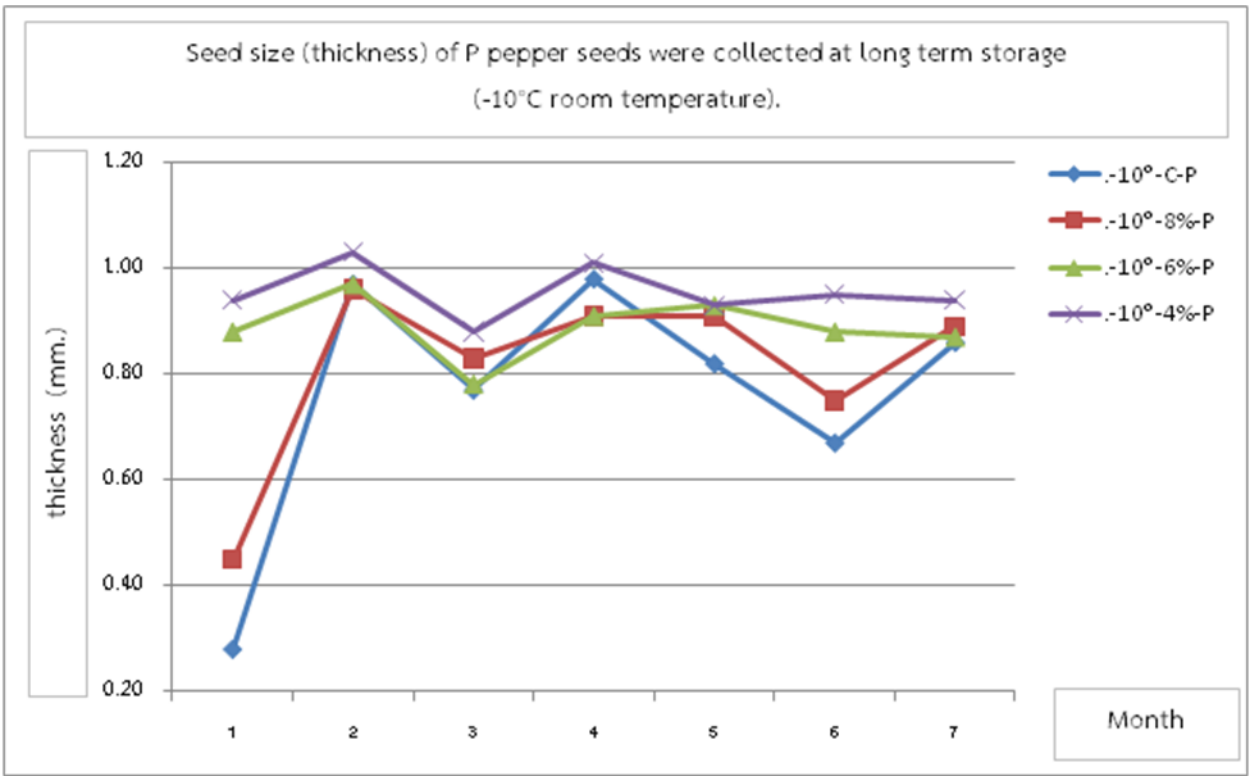


figure 23 Seed size (thickness) of P pepper seeds were collected at long term storage. (-10°C room temperature)

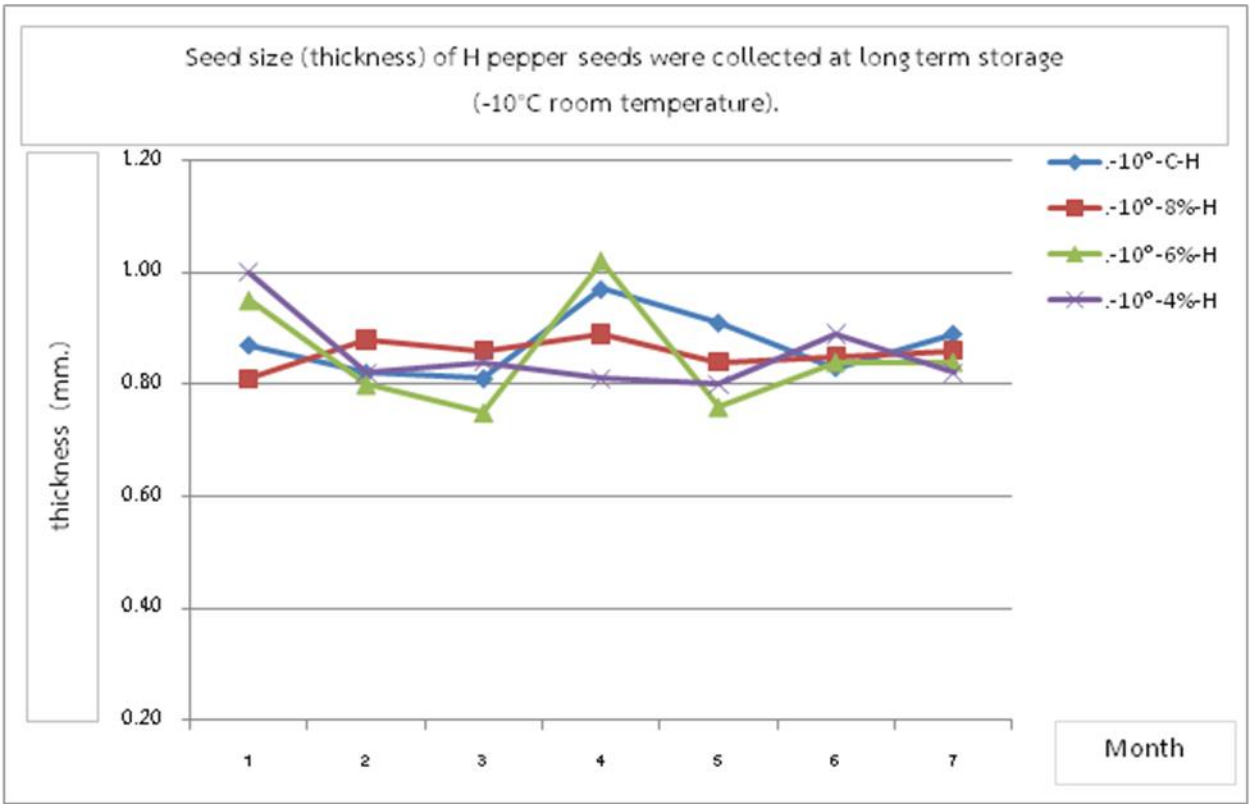


figure 24 Seed size (thickness) of H pepper seeds were collected at long term storage. (-10°C room temperature)

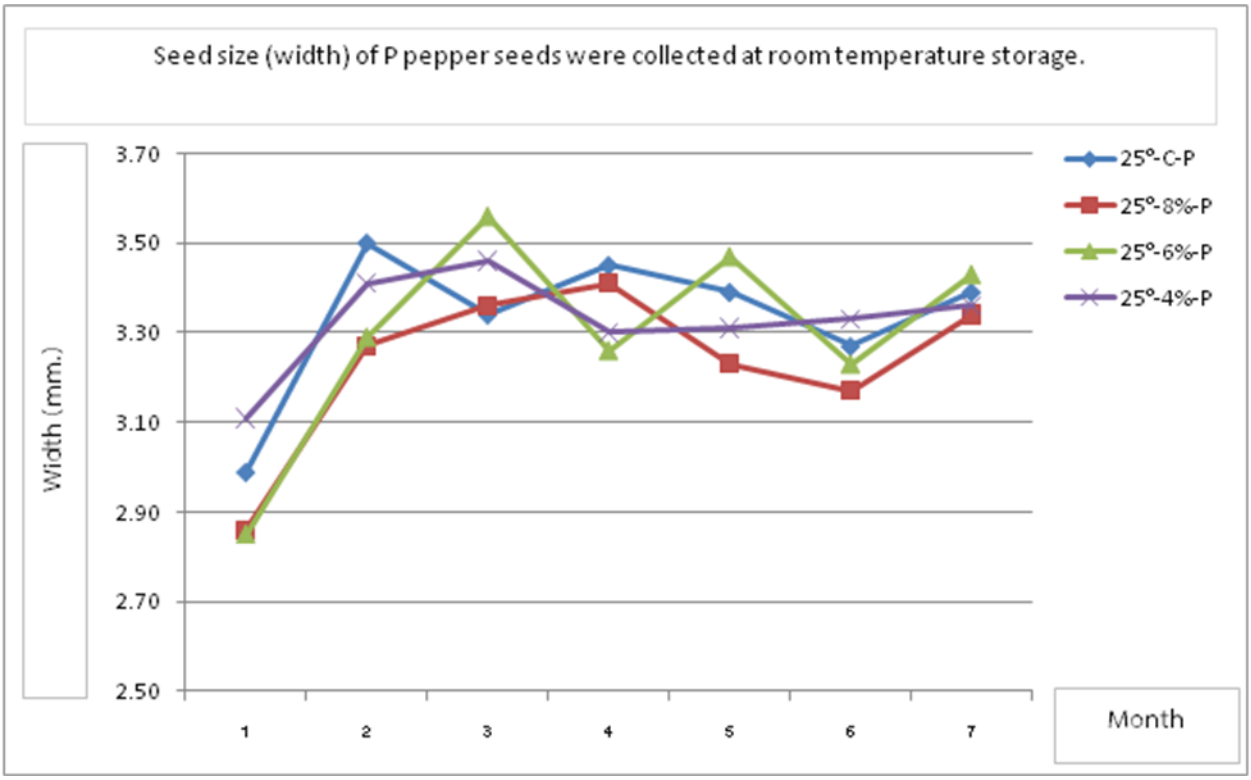


figure 25 Seed size (width) of P pepper seeds were collected at room temperature storage.

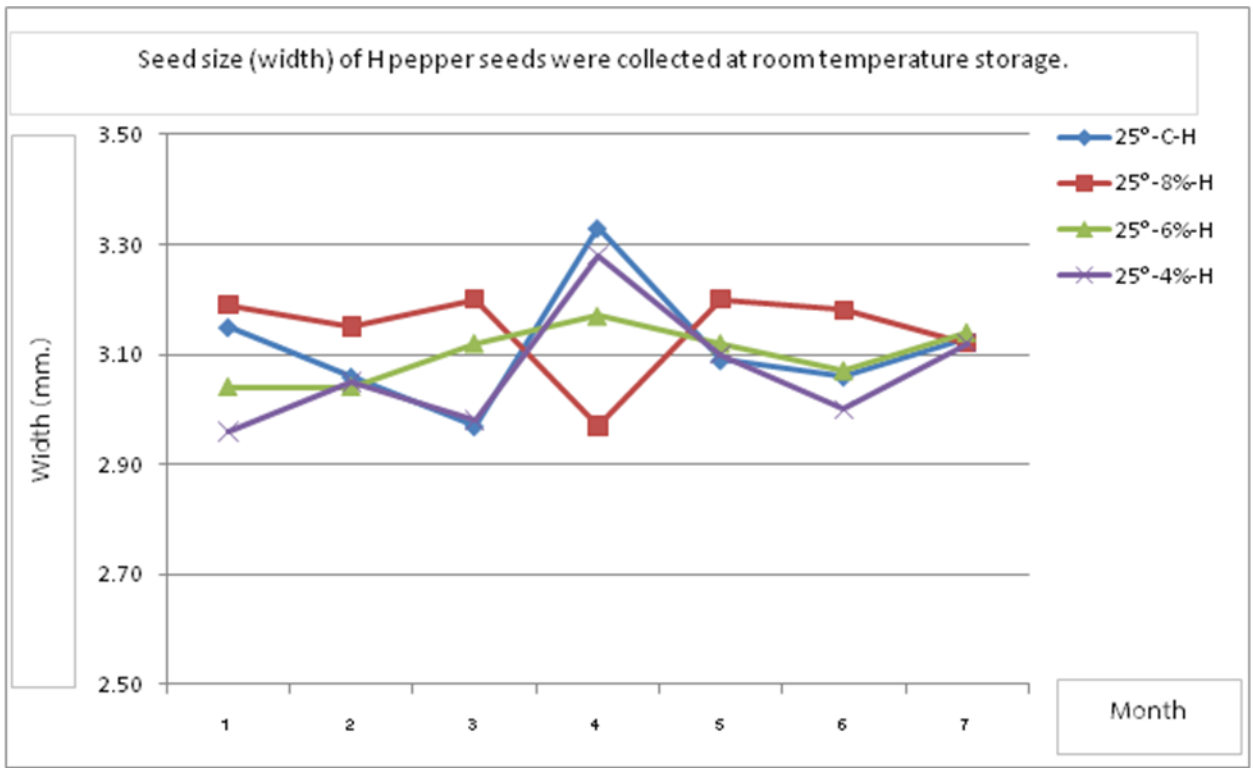


figure 26 Seed size (width) of H pepper seeds were collected at room temperature storage.

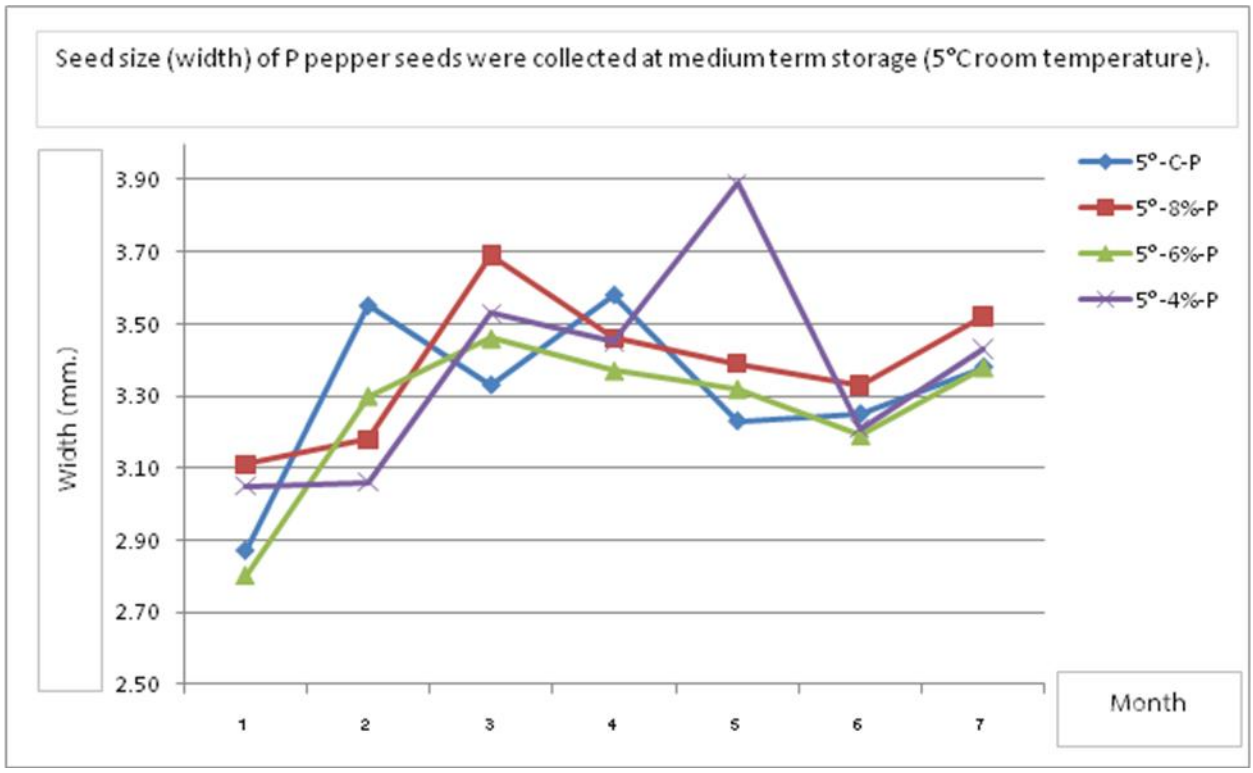


figure 27 Seed size (width) of P pepper seeds were collected at medium term storage. (5°C room temperature)

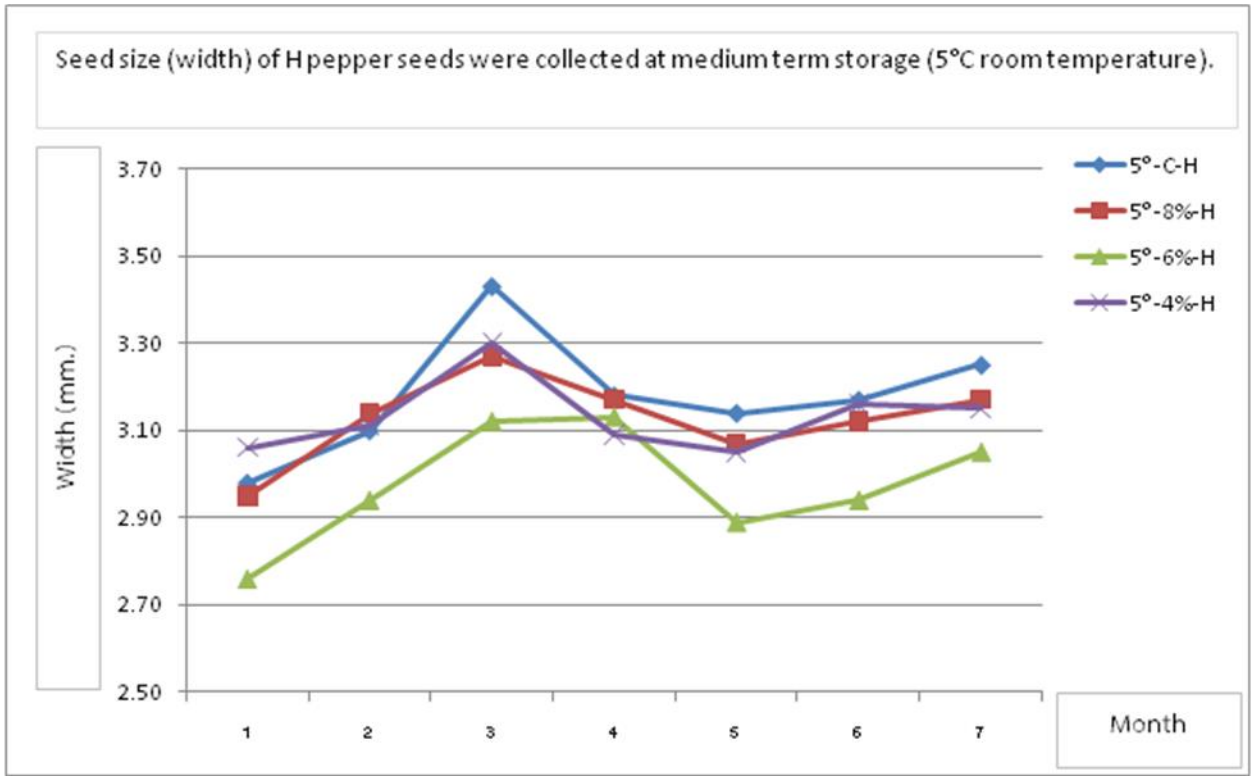


figure 28 Seed size (width) of H pepper seeds were collected at medium term storage.
(5°C room temperature)

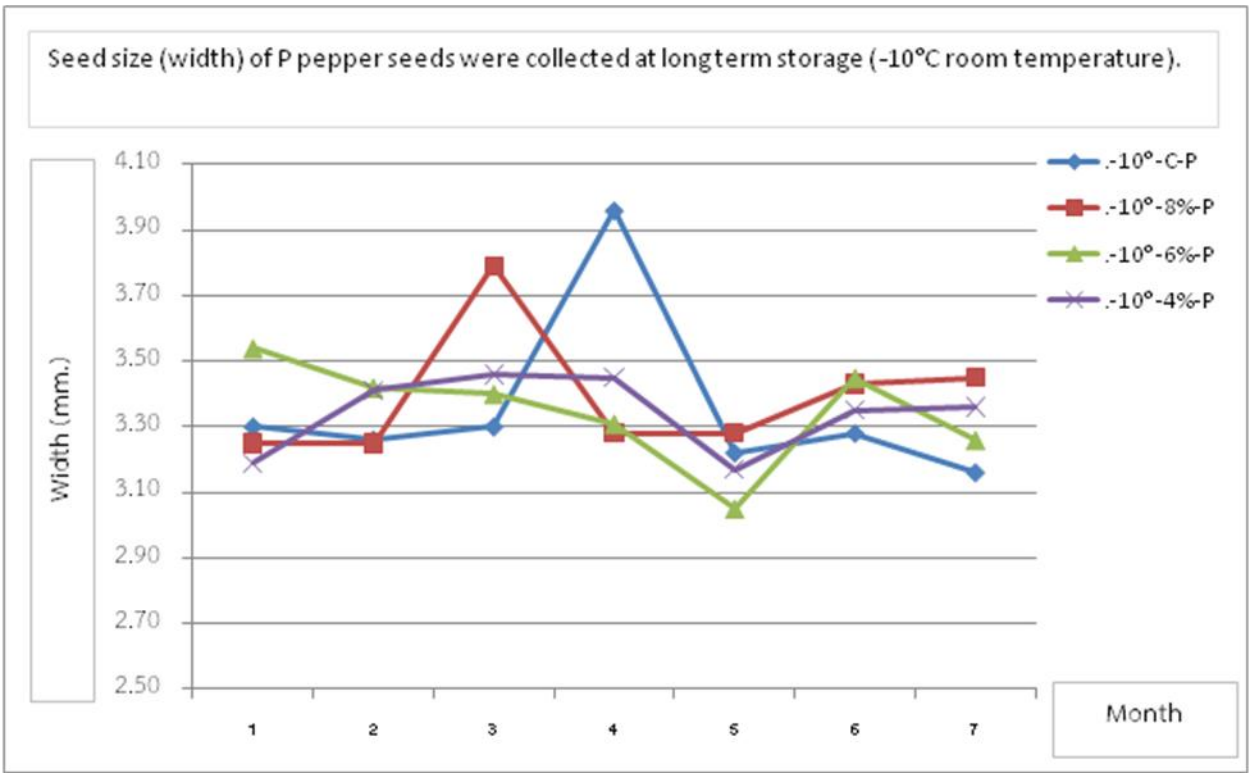


figure 29 Seed size (width) of P pepper seeds were collected at long term storage. (-10°C room temperature)

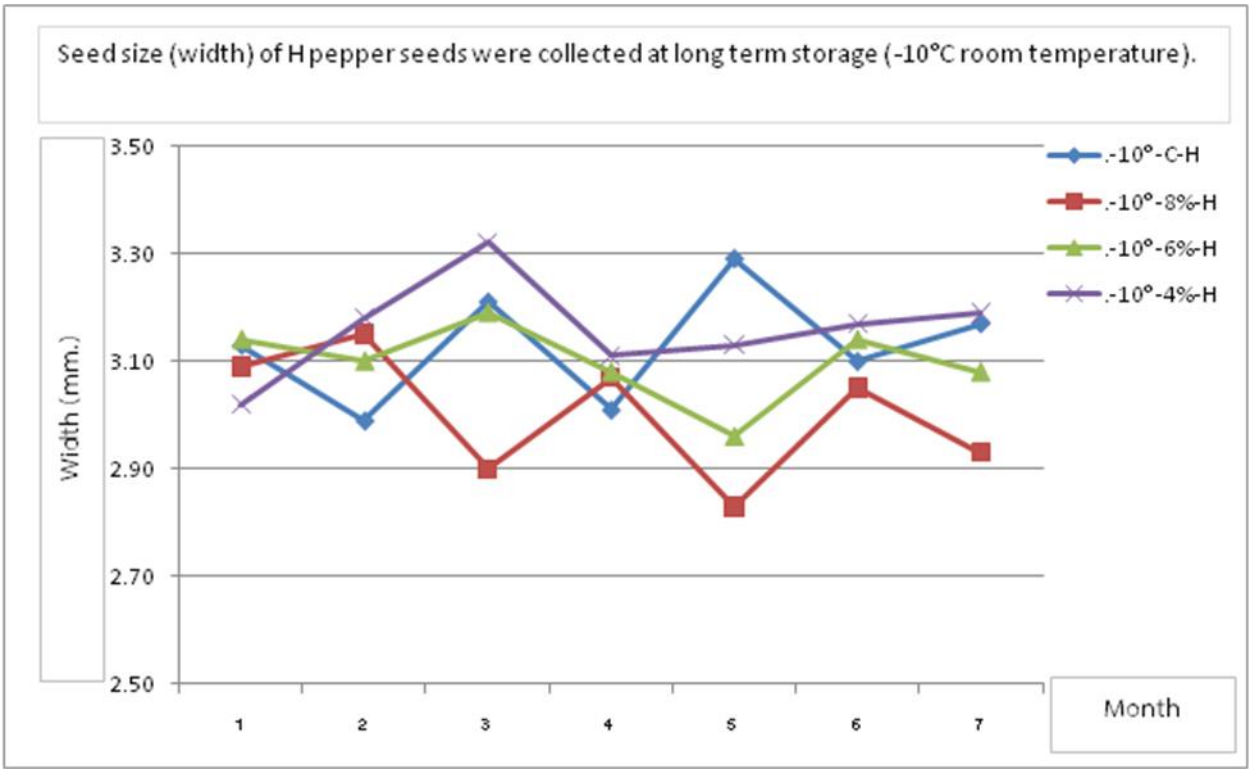


figure 30 Seed size (width) of H pepper seeds were collected at long term storage. (-10°C room temperature).

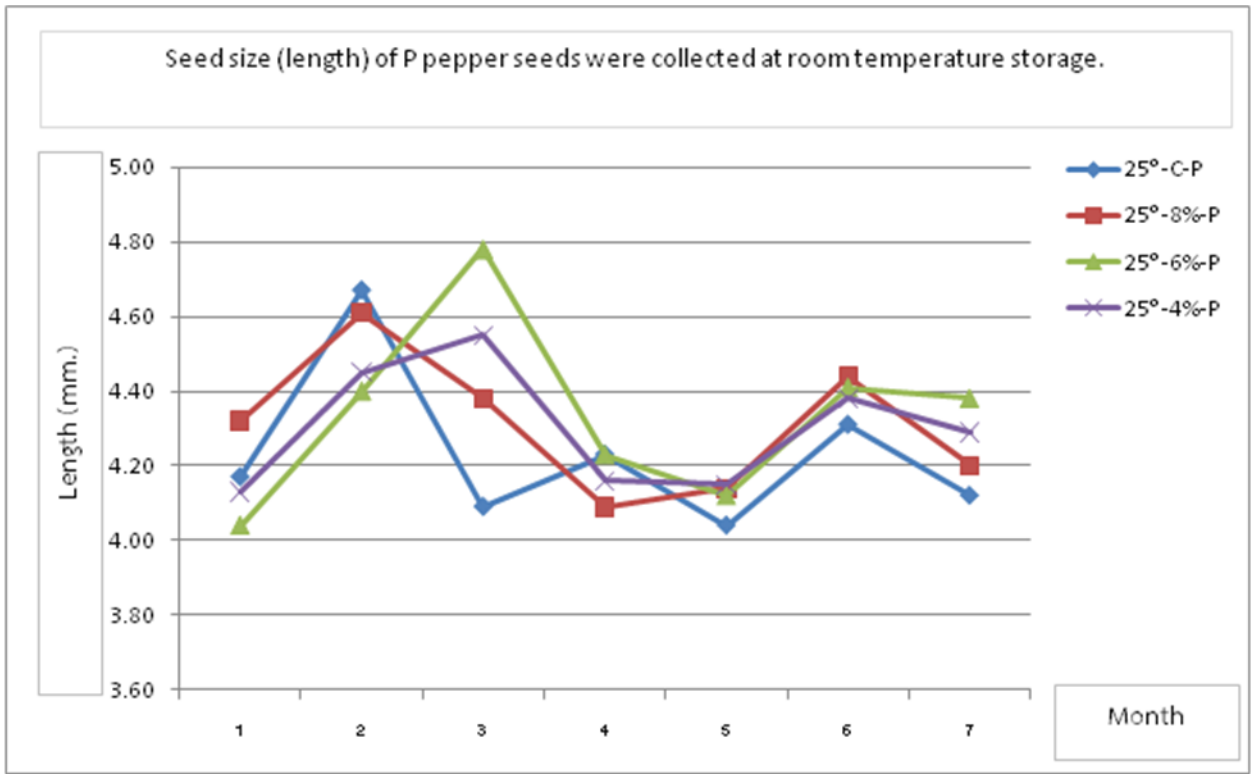


figure 31 Seed size (length) of P pepper seeds were collected at room temperature storage.

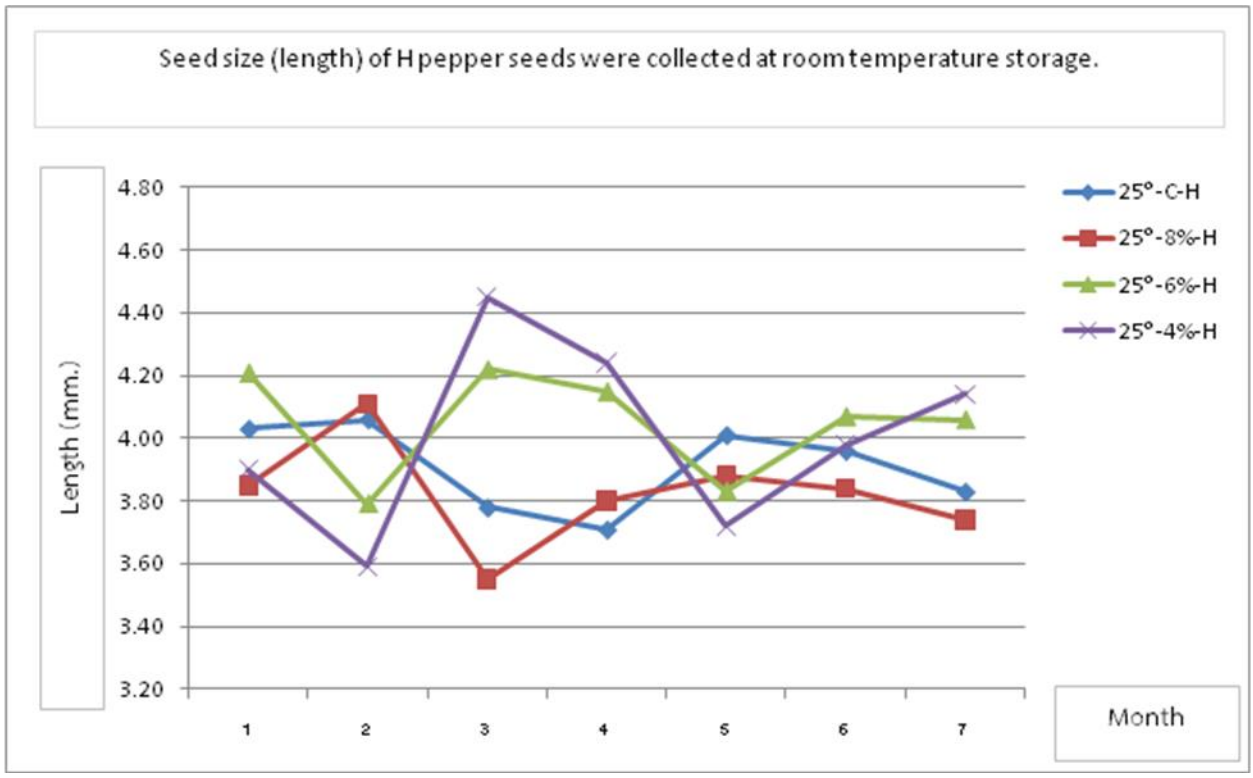


figure 32 Seed size (length) of H pepper seeds were collected at room temperature storage.

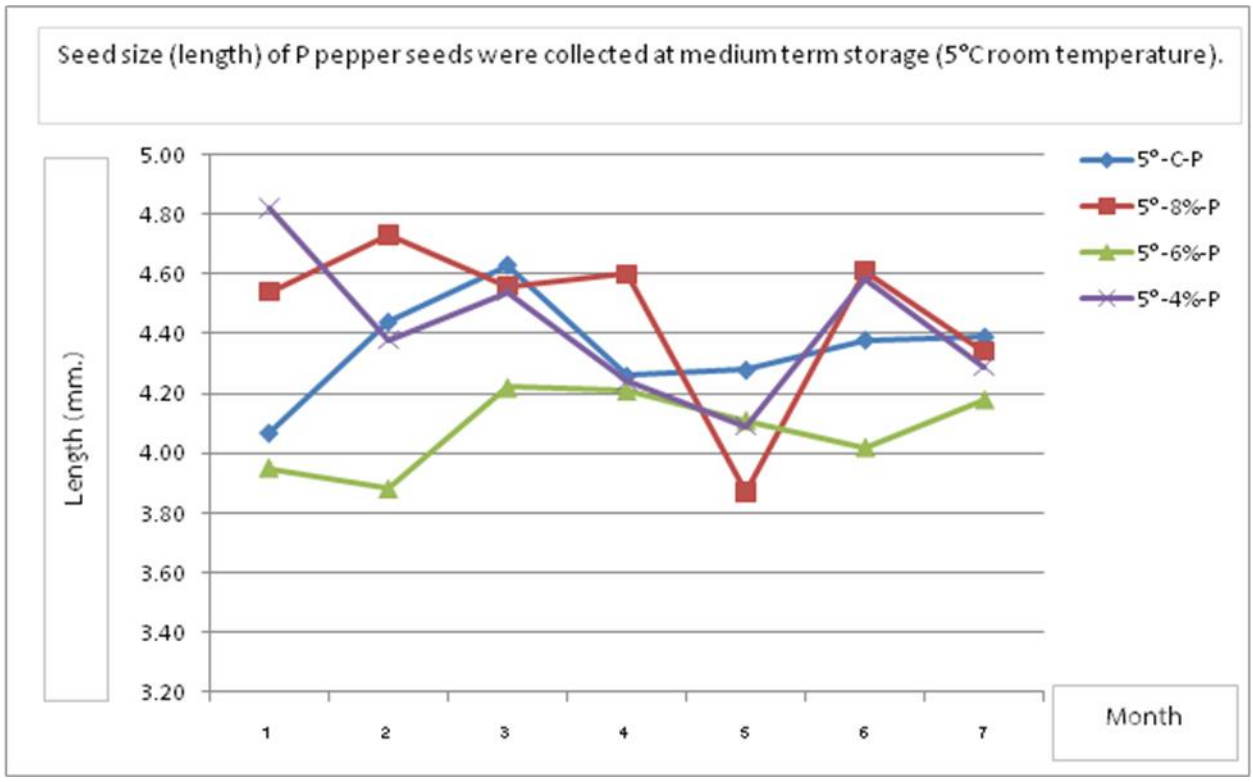


figure 33 Seed size (length) of P pepper seeds were collected at medium term storage. (5°C room temperature)

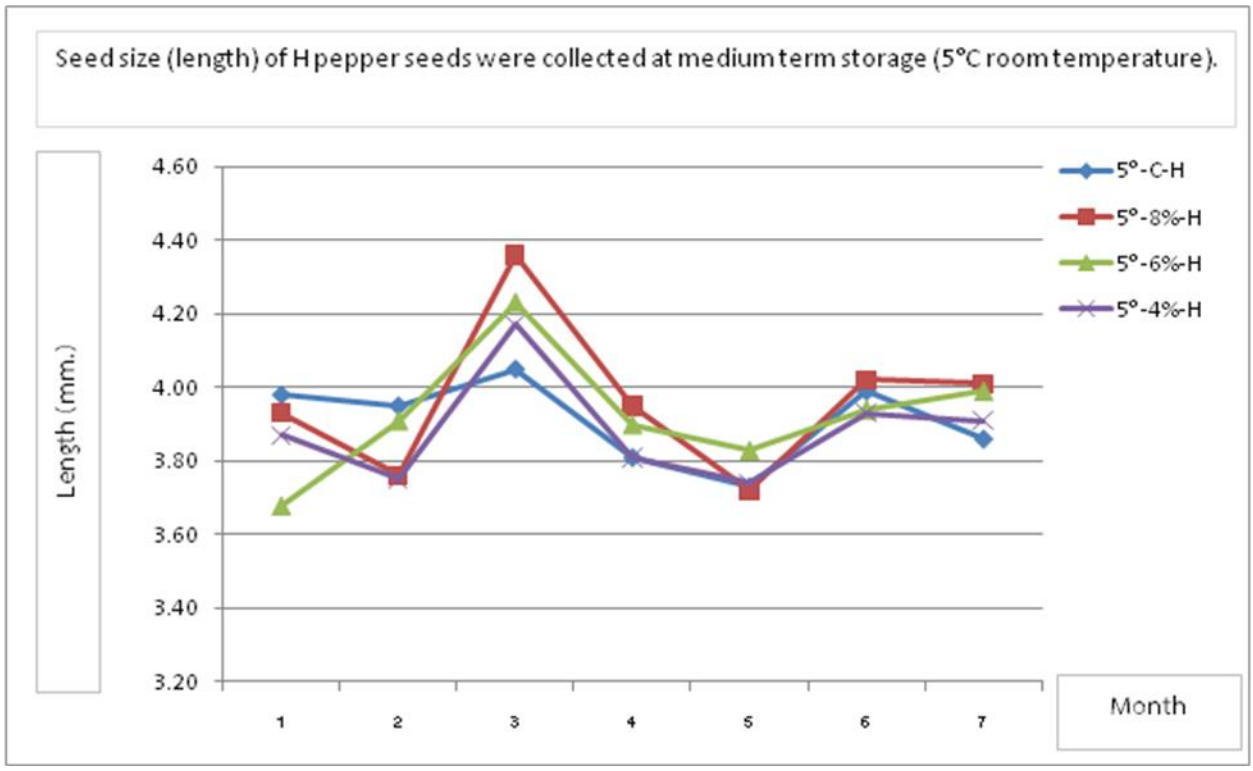


figure 34 Seed size (length) of H pepper seeds were collected at medium term storage.

(5°C room temperature)

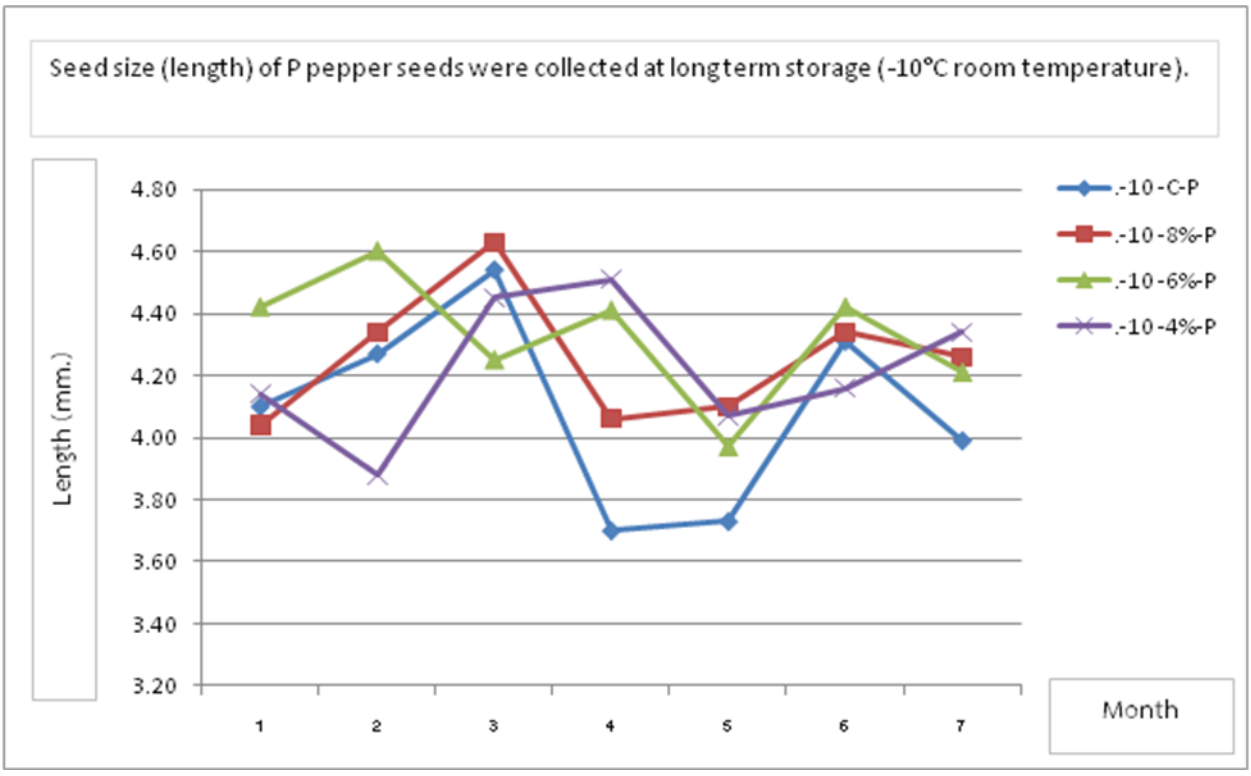


figure 35 Seed size (length) of P pepper seeds were collected at long term storage. (-10°C room temperature)

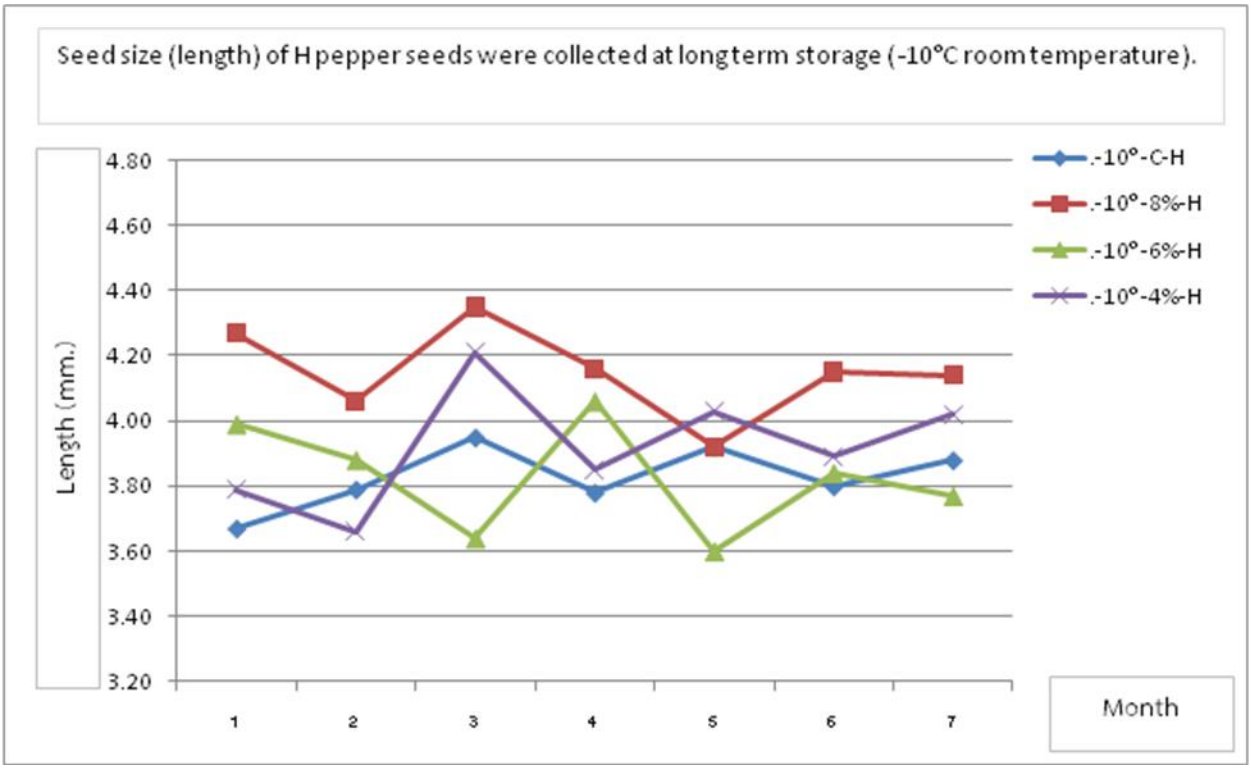


figure 36 Seed size (length) of H pepper seeds were collected at long term storage. (-10°C room temperature)

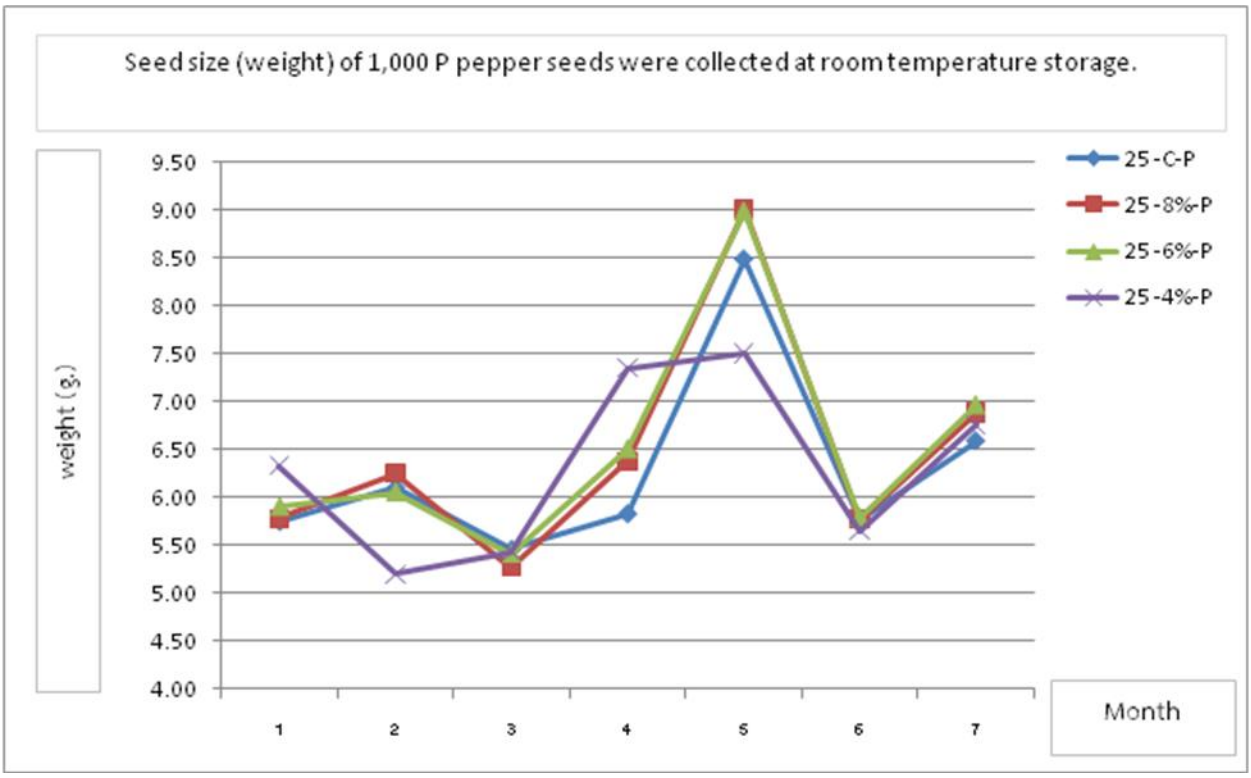


figure 37 Seed size (weight) of 1,000 P pepper seeds were collected at room temperature storage.

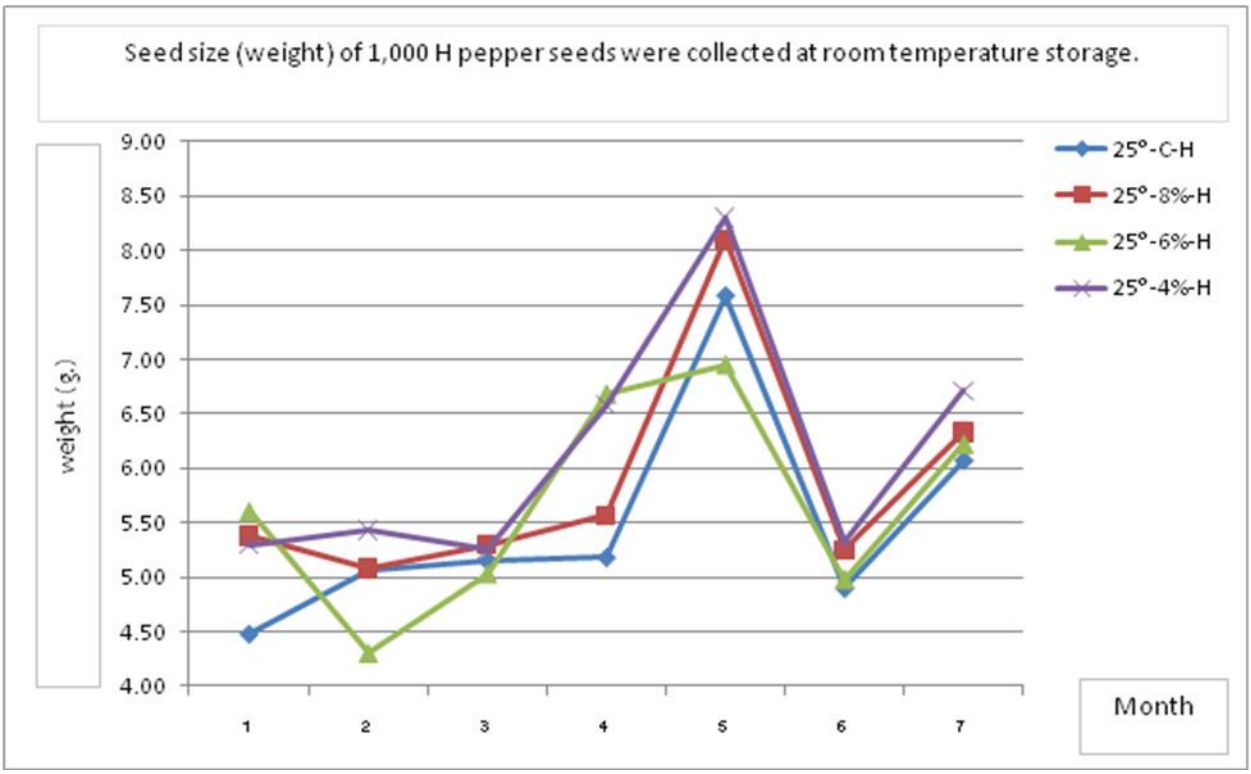


figure 38 Seed size (weight) of 1,000 H pepper seeds were collected at room temperature storage.

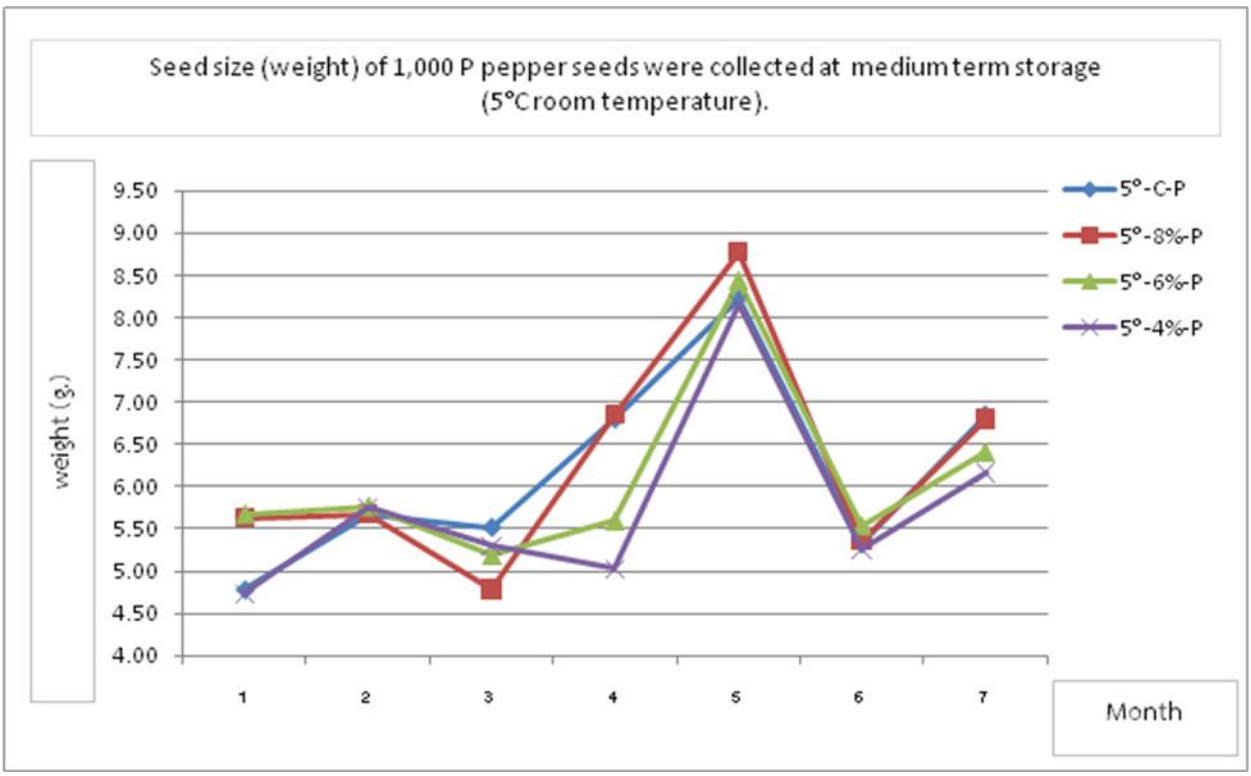


figure 39 Seed size (weight) of 1,000 P pepper seeds were collected at medium term storage. (5°C room temperature)

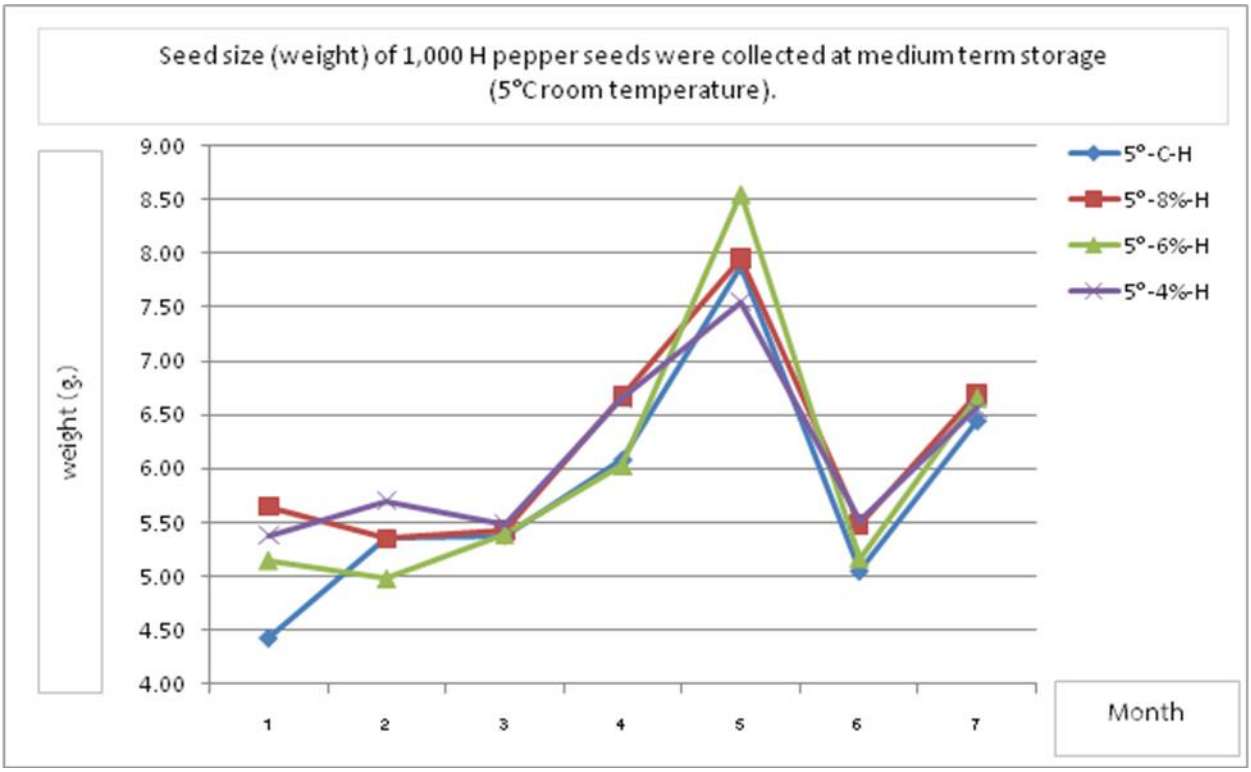


figure 40 Seed size (weight) of 1,000 H pepper seeds were collected at medium term storage. (5°C room temperature)

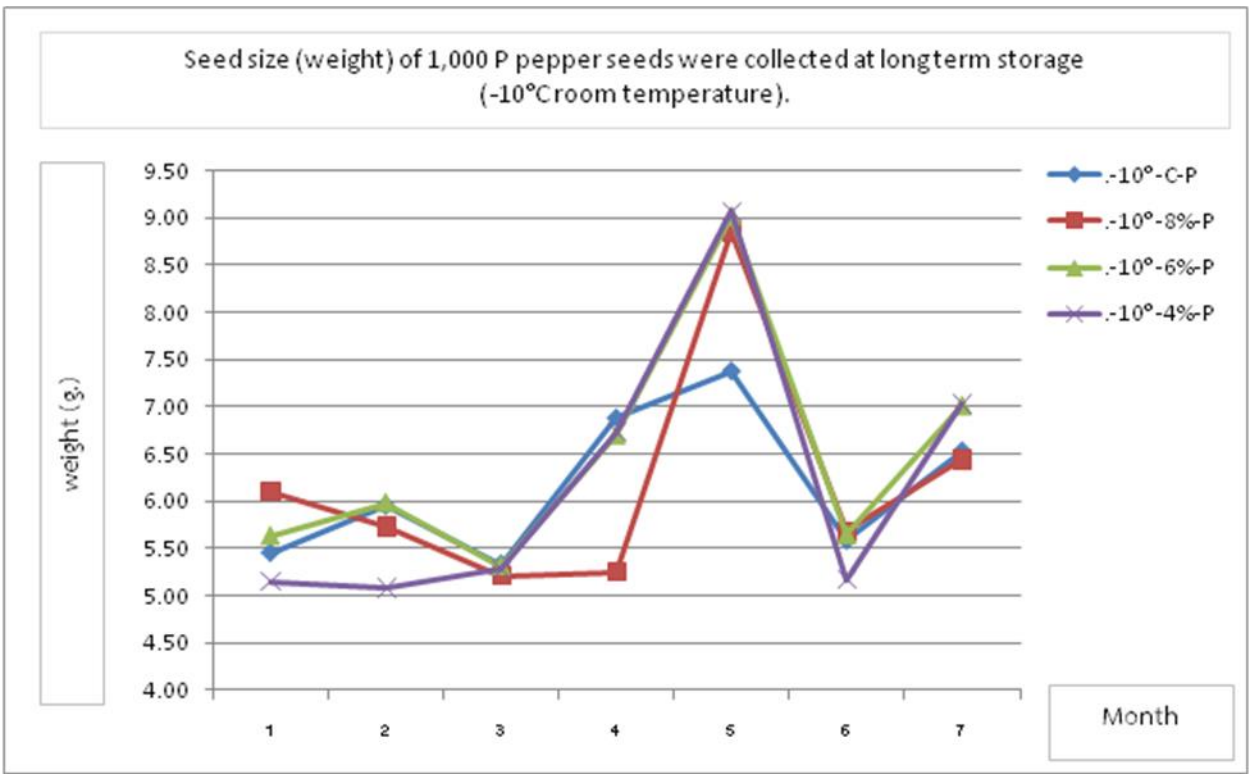


figure 41 Seed size (weight) of 1,000 P pepper seeds were collected at long term storage. (-10°C room temperature)

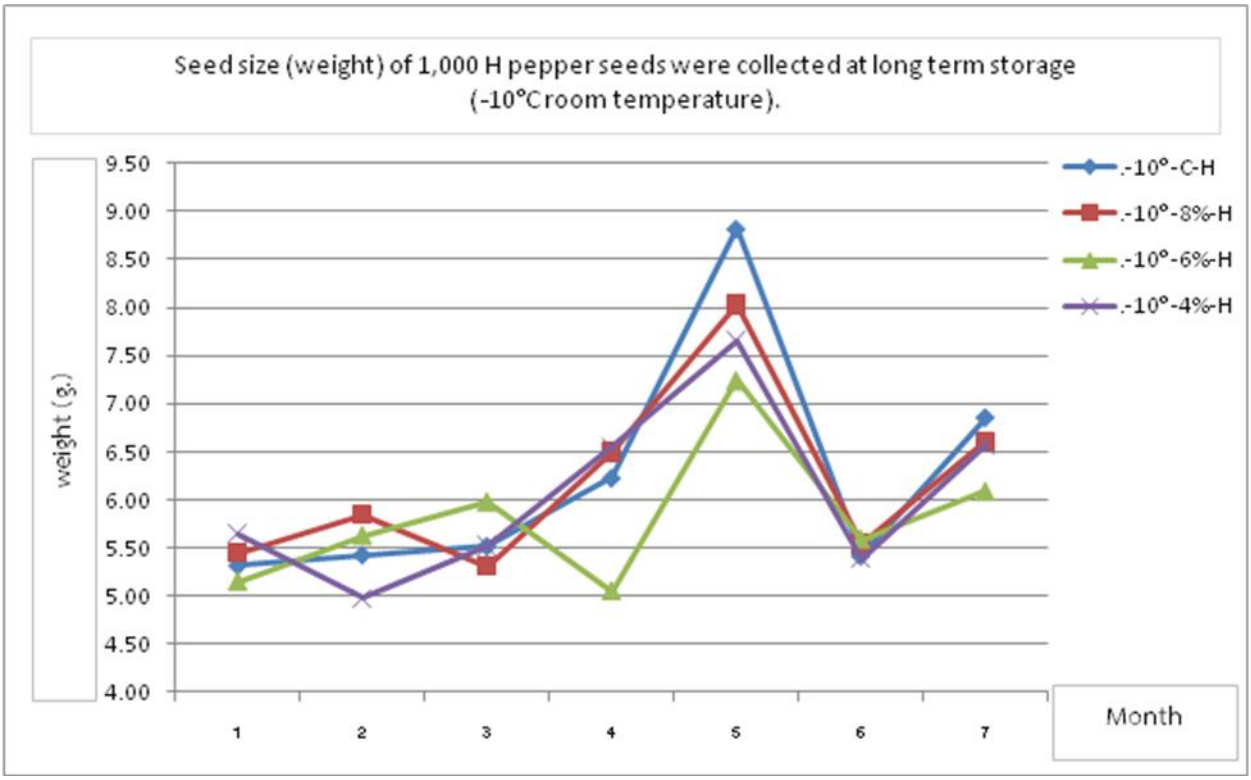


figure 42 Seed size (weight) of 1,000 H pepper seeds were collected at long term storage. (-10℃ room temperature)

รูปภาพ

Picture 1

Picture 2

Picture 1 and 2 : The container for collecting all treatments, these pictures were shown at 25°C room condition collecting data in every parameters (Germination Test, Seed Vigor, Moisture Content And Seed Size).

Picture 3 : Pijit 27-1-2-1 seeds were shown in this picture.

Picture 4 : Huay Siton seeds were shown in this picture.

Picture 5 Picture 6

Picture 5 and 6 : The seedlings were growing for the Germination Test.

Picture 7 : The chilli plant were shown at Sukhothai Horticultural Research Center.

ชื่อการทดลองที่ 2: ความสัมพันธ์ของระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	131	44	1.16ns
MOISTURE (M)	3	202071	67357	1791.50**
ERROR (a)	9	338	38	
TIME (T)	26	91859	3533	152.33**
MxT	78	76011	974	42.02**
ERROR (b)	312	7236	23	
TOTAL	431	377647		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, CV (a) = 11, CV (b) = 8.6

ตารางที่ 2 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $5^{O}C$

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	86	29	2.16ns
MOISTURE (M)	3	323	108	8.16**
ERROR (a)	9	119	13	
TIME (T)	26	3249	125	8.03**
MxT	78	1097	14	<1
ERROR (b)	312	4853	16	
TOTAL	431	9727		

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, CV (a) = 4.1, CV (b) = 4.5

ตารางที่ 3 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $-10^{O}C$

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	11	4	<1
MOISTURE (M)	3	257	86	6.71*
ERROR (a)	9	115	13	

TIME (T)	26	3434	132	11.96**
MxT	78	957	12	1.11ns
ERROR (b)	312	3446	11	
TOTAL	431	8220		

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; * = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, CV (a) = 4.1, CV (b) = 3.8

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

MOISTURE	M-MEAN
Control (9%)	23 fgh
8%	32 e
6%	82 abc
4%	86 abc
T-MEAN	56

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลานาน 27 เดือน

TIME (T)	MOISTURE (M)				
	Control (9%)	8%	6%	4%	T-MEAN
0m	94 a	88 ab	91 abc	85 a-e	89
1m	84 b	82 abc	89 a-d	87 abc	86
2m	84 b	86 abc	91 abc	90 ab	88
3m	76 bc	77 cd	89 a-d	90 ab	83
4m	86 b	90 a	93 a	92 ab	90
5m	68 cd	79 bcd	87 a-e	84 a-f	79
6m	62 d	78 cd	91 abc	87 abc	79
7m	33 e	54 e	78 e-h	74 f	60
8m	15 f	69 d	83 b-g	90 ab	64
9m	7 g	22 gh	70 hij	74 ef	44
10m	1 h	57 e	91 ab	91 ab	60
11m	0 h	39 f	89 a-d	91 ab	55
12m	0 h	24 g	82 b-g	83 b-f	47
13m	0 h	14 hi	77 e-h	85 a-e	44
14m	0 h	9 ij	82 c-h	86 a-d	44
15m	0 h	3 jk	85 a-f	85 a-e	43
16m	0 h	2 kl	86 a-e	88 ab	44
17m	0 h	0 lm	86 a-f	93 a	45
18m	0 h	0 lm	79 d-h	75 def	39

19m	0 h	0 m	75 f-i	86 a-d	40
20m	0 h	0 m	85 a-f	84 a-f	42
21m	0 h	0 m	83 b-g	91 ab	44
22m	0 h	0 m	79 d-h	85 a-e	41
23m	0 h	0 m	62 j	76 c-f	35
24m	0 h	0 m	73 g-j	92 ab	41
25m	0 h	0 m	75 f-i	87 abc	40
26m	0 h	0 m	64 ij	84 a-f	37
M-MEAN	23	32	82	86	56

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6 ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $5^{O}C$

MOISTURE	M-MEAN
Control (9%)	87bc
8%	86c
6%	88ab
4%	89a
T-MEAN	88

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลานาน 27 เดือน

TIME (T)	MOISTURE (M)				
	Control (9%)	8%	6%	4%	T-MEAN
0m	88 cde	89 bcd	86 cde	89 a-e	88 c-g
1m	88 cde	87 b-g	87 b-e	89 a-e	88 c-g
2m	90 bcd	90 bc	90 a-d	90 a-d	90 cd
3m	93 abc0	88 b-f	90 a-d	92 abc	91 bc
4m	94 ab	96 a	95 a	93 a	95 a
5m	86 cde	91 b	89 b-e	91 abc	89 cde
6m	90 bcd	85 b-g	90 a-d	87 a-e	88 c-f
7m	87 cde	81 d-g	87 b-e	85 cde	85 fgh
8m	85 cde	79 fg	86 cde	85 cde	84 gh
9m	90 bcd	89 bcd	89 b-e	92 abc	90 c

10m	86 cde	84 b-g	84 de	90 a-e	86 e-h
11m	86 cde	89 bcd	90 a-d	90 a-d	89 cde
12m	84 de	83 c-g	81 e	83 de	83 h
13m	81 e	84 b-g	86 cde	89 a-e	85 fgh
14m	91 bcd	88 b-e	88 b-e	90 a-e	89 cde
15m	86 cde	83 b-g	89 b-e	86 b-e	86 e-h
16m	89 b-e	89 b-e	89 b-e	91 a-d	89 cde
17m	91 bcd	89 bcd	86 cde	90 a-e	89 c-f
18m	84 de	78 g	84 de	89 a-e	84 gh
19m	85 de	85 b-g	87 b-e	88 a-e	86 e-h
20m	88 cde	89 bcd	88 b-e	89 a-e	88 c-f
21m	97 a	91 b	91 a-d	93 ab	93 ab
22m	85 de	84 b-g	88 b-e	89 a-e	86 d-h
23m	83 de	80 efg	86 cde	82 e	83 h
24m	88 cde	85 b-g	94 ab	92 abc	89 cde
25m	88 cde	90 bc	92 abc	94 a	91 bc
26m	80 e	80 fg	85 cde	88 a-e	83 h
M-MEAN	87	86	88	89	88

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 8 ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10^{O}C

MOISTURE	M-MEAN
Control (9%)	88bc
8%	87c
6%	89ab
4%	90a
T-MEAN	88

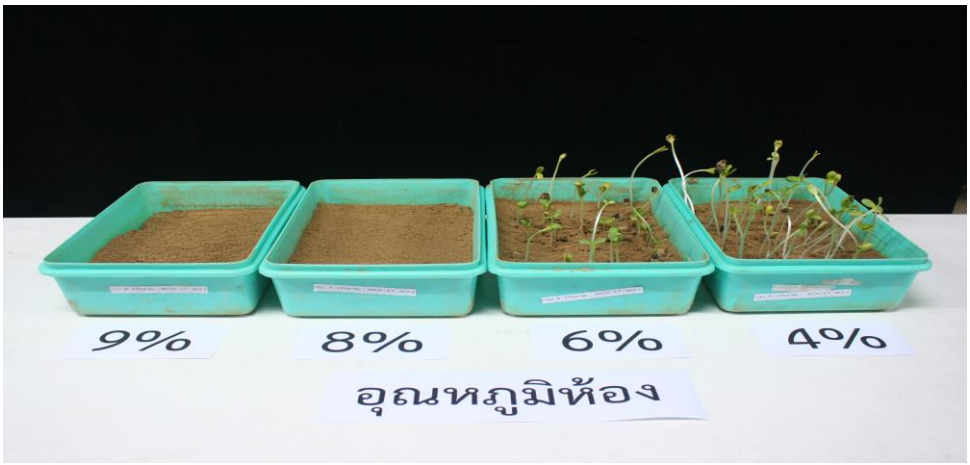
ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลานาน 27 เดือน

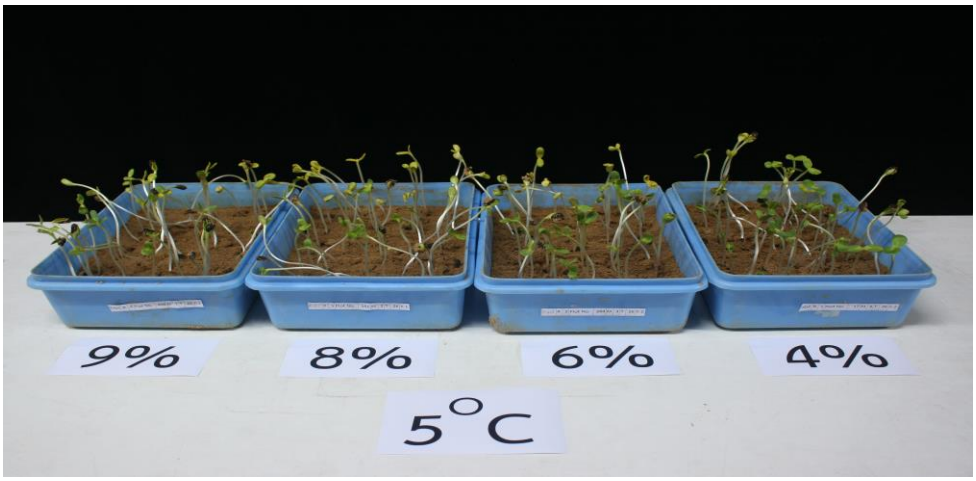
TIME (T)	MOISTURE (M)				
	Control (9%)	8%	6%	4%	T-MEAN
0m	92 a-d	91 a-d	96 a	91 a-e	93 abc
1m	87 d-j	86 c-f	89 def	90 a-e	88 fgh
2m	91 b-f	88 b-f	91 cde	91 a-e	90 d-g
3m	85 g-j	83 ef	84 e-h	90 a-e	86 h-k
4m	96 a	92 ab	95 ab	94 ab	94 a
5m	86 e-j	87 b-f	87 d-h	88 b-e	87 hij
6m	81 j	88 b-f	88 d-h	89 b-e	86 h-k
7m	82 ij	84 ef	83 gh	86 e	83 k
8m	86 e-j	84 def	83 gh	89 b-e	85 h-k

9m	93 ab	92 abc	91 cde	93 abc	92 bcd
10m	89 b-h	89 a-e	91 bcd	91 a-e	90 c-g
11m	89 b-h	87 b-f	91 cde	88 cde	89 e-h
12m	84 hij	82 f	88 d-h	88 cde	85 h-k
13m	87 c-j	86 c-f	86 d-h	86 e	86 h-k
14m	85 g-j	90 a-d	86 d-h	89 b-e	87 ghi
15m	87 d-j	88 a-f	87 d-h	86 e	87 hij
16m	94 ab	91 a-d	90 cde	93 abc	92 bcd
17m	91 b-g	90 a-d	90 cde	94 ab	91 cde
18m	88 b-i	86 c-f	91 cde	87 de	88 fgh
19m	86 d-j	84 def	83 fgh	89 b-e	86 h-k
20m	85 f-j	86 c-f	89 d-g	90 a-e	88 fgh
21m	93 abc	93 a	95 abc	95 a	94 ab
22m	81 j	88 a-f	91 bcd	87 de	87 hij
23m	82 ij	86 c-f	82 h	86 e	84 ijk
24m	91 b-e	88 a-f	91 bcd	92 a-d	91 cde
25m	91 b-e	88 a-f	91 cde	91 a-e	90 c-f
26m	83 hij	83 ef	84 e-h	85 e	84 jk
M-MEAN	88	87	89	90	88

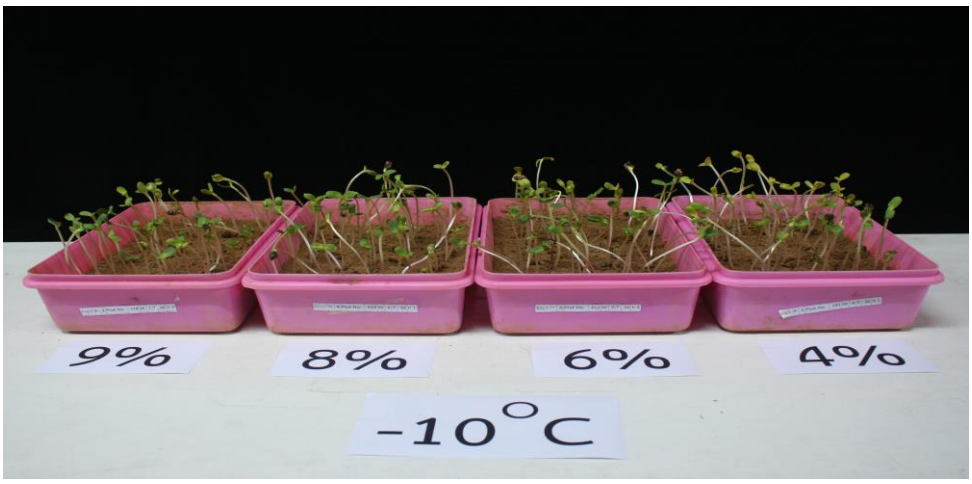
ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพ ก ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง



ภาพ ข ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $5^{O}C$



ภาพ ค ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ระดับความชื้นต่างๆ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $-10^{O}C$

ชื่อการทดลองที่ 3: อิทธิพลของระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์และอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์คำฝอย เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ตาราง ANOVA แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ และอุณหภูมิในเก็บรักษาต่างๆ เป็นระยะเวลา 27 เดือน

SV	DF	SS	MS	F

LOCATION (L)	2	82130	41065	665.13 **
REPS WITHIN L	9	556	62	
MOIST (M)	3	131048	43683	1389.51 **
LxM	6	103402	17234	548.19 **
POOLED ERROR (a)	27	849	31	
TIME (T)	27	9300	344	42.54 **
LxT	54	10691	198	24.45 **
MxT	81	9568	118	14.59 **
LxMxT	162	16877	104	12.86 **
POOLED ERROR (b)	972	7871	8	
TOTAL	1343	372290		

CV (a) = 8.84 % CV (b) = 4.49 %

หมายเหตุ ** = มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

L = อุณหภูมิในการเก็บรักษา 3 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง, 5 และ -10 องศาเซลเซียส

M = ระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ 4 ระดับ คือ 12, 8, 6 และ 4 เปอร์เซ็นต์

T = ระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 ระดับ คือ 0 - 27 เดือน

<u>ตารางภาคผนวกที่2</u> เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์คำฝอยที่มีระดับความชื้นในเมล็ดพันธุ์ และอุณหภูมิในเก็บรักษาต่างๆ เป็นระยะเวลา 27 เดือน

ความชื้น / อุณหภูมิในการเก็บรักษา	Room				5°C				(-10)°C			
ระยะเวลา	**12%**	**8%**	**6%**	**4%**	**12%**	**8%**	**6%**	**4%**	**12%**	**8%**	**6%**	**4%**
เริ่มต้น	67 a	76 a	76 a	75 a	67 ab	75 ab	76 a	75 a	67 abc	76 ab	76 ab	75 ab
1 เดือน	32 b	72 ab	72 abc	73 ab	65 ab	71 b	73 a	72 a	62 a-e	71 b	72 b	72 ab

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan’s Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ชื่อการทดลองที่ 4: ผลของความชื้นในเมล็ดและอุณหภูมิที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ละหุ่งเพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ภาคผนวก

ตารางการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน

การทดลองที่1 ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง

SV	df	SS	MS	F
Replication(R)	3	30	10	2.72 ns
Moisture (M)	2	5324	2662	726.35**
Error (a)	6	150	25	
Time (T)	27	52199	1933	764.25**
MxT	54	1766	33	12.93**
Error (b)	243	4860	20	
Total	335	64329		

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

การทดลองที่2 ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

SV	df	SS	MS	F
Replication(R)	3	3	1	2.04 ns
Moisture (M)	2	3200	1600	57.14**
Error (a)	6	168	28	
Time (T)	27	5000	185	5.144**
MxT	54	4043	75	2.08**
Error (b)	243	8748	36	
Total	335	21162		

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

การทดลองที่3 ผลของระดับความชื้นเมล็ดพันธุ์ที่มีต่ออายุการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส

SV	df	SS	MS	F
Replication(R)	3	38	13	2.13 ^{ns}
Moisture (M)	2	3201	1601	21.34**
Error (a)	6	450	75	
Time (T)	27	12468	462	243.53**
MxT	54	6507	121	2.01**
Error (b)	243	14580	60	
Total	335	37244		

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ชื่อการทดลองที่ 5: ผลของระยะเวลาในการลดความชื้นของเมล็ดด้วยห้องลดความชื้นที่มีต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์

ตารางผนวกที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

วันที่	ความชื้น (%)	ความงอก (%)
0	10.80q	86a
1	9.77p	78d-g
2	8.58o	84ab
3	8.11n	86a
4	7.70m	80b-f
5	7.47l	80c-f
6	7.19k	82bc
7	6.95j	81b-e
8	6.80i	81b-f
9	6.52h	80c-f
10	6.50h	80b-f
11	6.34g	80b-f
12	6.31g	81b-f
13	6.32g	81b-f
14	6.23fg	78c-g
15	6.14ef	81b-f
16	6.13ef	79c-g
17	6.15ef	81b-f
18	5.55bc	81b-f
19	6.08ef	81b-f
20	6.01de	82bcd
21	6.03de	81b-f
22	5.91de	81b-f
23	5.67c	79c-g
24	5.53bc	79c-g
25	5.64c	79c-f
26	5.56bc	80c-f
27	5.46bc	79c-g
28	5.08a	75g

29	5.13a	77fg
30	5.09a	77efg

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์พริก จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	6.09p	96kl
1	4.03n	93ijk
2	4.02n	94ijk
3	3.88m	92g-k
4	3.75ijk	85a-g
5	3.85lm	85a-f
6	3.63gh	86b-h
7	3.41cd	90d-j
8	3.41cd	84a-f
9	3.41cde	83a-d
10	3.58fg	89c-i
11	3.71hi	98l
12	3.54fg	91e-j
13	3.55fg	89c-i
14	3.75ijk	86b-g
15	3.68hi	93h-k
16	3.69hi	84a-e
17	3.49def	95jkl
18	3.58fg	87b-h
19	3.77i-l	91e-k
20	3.58fg	86b-g
21	3.42cde	91e-j
22	3.71hij	93a-g
23	3.5ef	91f-k
24	3.42cde	84a-e
25	3.81j-m	78a
26	4.3o	79ab
27	3.84klm	95ijk
28	3.34c	81ab

29	3.22b	91e-j
30	2.93a	82abc

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์มะเขือจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	8.39k	76hi
1	4.35j	69c-f
2	4.05i	75ghi
3	3.77h	71d-g
4	3.80h	69c-f
5	4.20ij	69c-f
6	3.24bcd	69c-f
7	2.92a	69c-f
8	2.90a	64abc
9	3.23bcd	70def
10	3.46d-g	68b-f
11	3.34b-f	68c-f
12	3.17bcd	64abc
13	4.41j	62abc
14	3.50fg	62abc
15	3.15b	66a-e
16	3.51fg	68a-f
17	3.49efg	76i
18	3.57fgh	68a-f
19	3.57fgh	71e-h
20	3.22bcd	68c-f
21	3.49efg	67a-f
22	3.39b-g	72f-i
23	3.32b-f	69c-f
24	3.25b-e	67a-f
25	3.25b-e	68c-f
26	3.61gh	66a-f

27	3.47d-g	65a-d
28	3.41c-g	72e-i
29	3.41c-g	65a-d
30	3.4b-g	67a-f

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดงจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	10.54q	98ij
1	7.57p	96g-j
2	7.01o	97hij
3	6.41n	98j
4	6.13m	98ij
5	5.86l	97hij
6	5.62k	97hij
7	4.96gh	95e-j
8	5.40j	97g-j
9	4.80e	97hij
10	5.10i	97g-j
11	4.98h	94d-j
12	4.95gh	95f-j
13	4.98h	87bc
14	4.96gh	95e-j
15	4.94gh	93c-i
16	4.8349ef	96g-j
17	4.90fg	93c-j
18	4.70d	93c-j
19	4.90fg	76a
20	4.84ef	89b-f
21	4.68d	87bcd
22	4.81e	92c-h
23	4.67d	97g-j

24	4.14a	91c-g
25	4.85ef	98ij
26	4.98h	97hij
27	4.85ef	96g-j
28	4.30b	89b-e
29	4.44c	83ab
30	4.32b	89b-f

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	13.10s	100b
1	12.22r	100b
2	10.63q	100b
3	9.63p	100b
4	9.23o	100b
5	8.34m	100b
6	8.60n	100b
7	7.77l	100b
8	7.71kl	98ab
9	7.58jk	99ab
10	7.41ij	99ab
11	7.33ij	99ab
12	7.06h	100b
13	6.93h	99ab
14	6.67g	99ab
15	6.67g	99ab
16	6.49ef	99ab
17	6.54efg	99ab
18	6.47ef	99ab
19	6.58fg	99ab
20	6.39de	100b
21	6.29cd	99ab

22	6.30cd	99ab
23	6.21cd	100b
24	5.97b	99ab
25	6.27cd	100b
26	5.93b	100b
27	5.90b	100b
28	5.43a	100b
29	5.45a	100b

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

หมายเหตุ: ขาดข้อมูลการลดความชื้นในวันที่ 30 เนื่องจากระบบการทำงานของห้องลดความชื้นขัดข้อง

ตารางผนวกที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	10.36q	100c
1	8.75p	99abc
2	8.03o	98a
3	7.81o	99abc
4	6.2kl	100abc
5	7.18n	99ab
6	6.83m	98abc
7	5.74j	99a
8	6.06kl	99abc
9	6.37l	98ab
10	5.55ij	99a
11	5.72j	99ab
12	5.43hj	100abc
13	5.77j	100bc
14	5.14efg	100c
15	5.05c-f	99c
16	5.38ghi	100ab
17	5.08def	100c
18	5.19fgh	98c
19	5.26fgh	99abc

20	5.13efg	99abc
21	4.59a	98a
22	5.19fgh	99ab
23	4.76ab	98a
24	5.14efg	100abc
25	4.79abc	98a
26	4.85bcd	98a
27	4.79abc	98a
28	4.9b-e	98a
29	5b-f	98a
30	4.9b-e	98a

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	7.44r	97abc
1	4.86q	98b-h
2	4.28p	98a-g
3	3.71o	98b-h
4	3.66no	98b-h
5	3.29e-j	99gh
6	2.71c	97a-d
7	3.46klm	97a-f
8	3.33f-l	99b-h
9	3.37g-l	99fgh
10	3.42j-m	98b-h
11	3.38g-l	99b-h
12	3.2def	99c-h
13	3.4h-l	99b-h
14	3.41i-m	98b-h
15	3.38g-l	98b-h
16	3.39h-l	98b-h
17	3.56mn	96ab

18	3.41i-m	96abc
19	2.53b	100h
20	3.25d-i	99d-h
21	3.23d-g	99e-h
22	3.12d	98b-h
23	3.42j-m	98b-h
24	3.47lm	97a-f
25	3.31f-l	98b-h
26	1.95a	97abc
27	3.3e-k	95a
28	3.15def	97a-e
29	3.24d-h	98b-h
30	3.11d	97abc

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 8 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	12.55v	85def
1	8.12u	84c-f
2	7.48t	84cde
3	6.82r	84c-f
4	6.43q	82a-d
5	5.65op	78ab
6	7.19s	77a
7	5.74p	81a-d
8	5.57no	81a-d
9	5.40lm	79abc
10	5.46mn	80a-d
11	5.17k	83b-e
12	5.26kl	82a-d
13	2.27kl	89fg
14	5.00j	82a-e
15	4.47def	87ef

16	4.69hi	83b-e
17	4.59fgh	95hi
18	4.63gh	91gh
19	4.30c	92gh
20	4.03ab	94hi
21	4.01ab	95i
22	4.65ghi	92ghi
23	4.54efg	93hi
24	4.34cd	94hi
25	4.79i	95hi
26	4.65ghi	92ghi
27	4.30c	95hi
28	4.14b	95hi
29	4.34c	95hi
30	4.42cde	95hi

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 9 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	9.02a	88b
1	7.92c	89a
2	8.09b	86d
3	7.83c	87c
4	6.20l	87c
5	7.34d	86d
6	7.22d	86d
7	7.03e	82h
8	6.94ef	84f
9	6.86fg	80j
10	6.92ef	84f
11	6.08l	84f
12	6.76gh	83g
13	6.65hij	81i

14	6.68hi	80j
15	6.47k	82gh
16	6.60ijk	83g
17	6.57ijk	84f
18	6.61h-k	85e
19	6.62h-k	83g
20	6.52jk	81i
21	6.52jk	84f
22	6.51jk	83g
23	6.49k	84f
24	3.47m	80ij
25	3.31n	82h
26	3.23no	84f
27	3.30n	83g
28	3.15op	82h
29	3.24no	80j
30	3.11p	80j

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 10 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่มจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	9.28a	57a
1	9.10b	53c
2	8.10c	54c
3	7.61d	55b
4	7.57d	54c
5	7.28e	50d
6	7.20e	45h
7	7.04f	47fg
8	6.99f	45h
9	6.80g	47ef
10	6.75g	48e
11	6.60h	46g

12	6.58h	48e
13	6.55h	43i
14	6.56h	45h
15	6.18j	43i
16	6.53h	38jk
17	6.00l	37l
18	6.21ij	39j
19	6.10k	39jk
20	5.90m	38k
21	5.86m	35m
22	6.29i	37l
23	5.87m	35m
24	5.83mn	32n
25	5.76n	29o
26	5.68o	25p
27	5.63op	22r
28	5.59pq	23q
29	5.57pq	22r
30	5.54q	23q

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 11 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	6.87a	83a
1	5.79b	83a
2	4.64e	81b
3	5.26c	81b
4	5.03cd	72c
5	4.88d	61e
6	4.40e-i	72c
7	4.10jk	66d
8	4.54efg	58g

9	4.33f-j	55i
10	4.56ef	53k
11	3.69l	53k
12	4.63e	57h
13	4.39e-i	54j
14	4.53efg	54j
15	4.21ijk	58g
16	4.57ef	50n
17	4.23h-k	59f
18	4.26hij	58g
19	4.41e-i	58g
20	4.19ijk	51m
21	4.30f-j	53k
22	4.48e-h	53k
23	4.40e-i	55i
24	4.42e-i	52l
25	4.00k	53k
26	4.39e-i	53k
27	4.29g-j	50n
28	4.20ijk	49o
29	4.12jk	454p
30	3.35m	45p

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 12 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์เดือยจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	7.81a	58a-g
1	7.17b	53efg
2	6.52c	55b-g
3	5.66e	52.fg
4	6.04d	52g
5	5.93d	53efg
6	4.91j-p	54d-g

7	5.27fg	55c-g
8	5.17f-i	58a-g
9	5.33f	58a-g
10	5.29fg	56b-g
11	5.26fg	57a-g
12	5.16f-j	60a-e
13	5.22fgh	64a
14	5.10f-l	62abc
15	5.11f-k	58a-g
16	5.07g-m	54d-g
17	5.17f-i	57a-g
18	5.09f-l	55b-g
19	5.00h-o	57a-g
20	4.82nop	54d-g
21	4.91j-p	61a-d
22	4.71p	57b-g
23	4.93j-p	60a-e
24	4.38q	54c-g
25	4.94i-p	61abc
26	5.05g-n	59a-f
27	4.91k-p	57a-g
28	4.84m-p	57a-g
29	4.86l-p	55b-g
30	4.79op	55b-g

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 13 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอคิวบาจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	8.71a	93a
1	7.73b	90d
2	7.18c	90d
3	6.91d	88e
4	6.46e	90d

5	6.38ef	87f
6	6.30efg	92b
7	6.20fgh	88e
8	6.15gh	87f
9	6.07h	88e
10	5.72ij	91c
11	5.72ij	87f
12	5.84i	82j
13	5.48k	82j
14	5.65ijk	81k
15	5.69ij	80l
16	5.68ij	82j
17	5.62jk	80l
18	5.64ijk	82j
19	5.69ij	87f
20	5.64ijk	87f
21	5.66ijk	84h
22	5.66ijk	85g
23	5.65ijk	87f
24	5.61jk	82j
25	5.62jk	80l
26	5.64ijk	87f
27	5.61jk	83i
28	5.62jk	84h
29	5.65ijk	83i
30	5.62jk	86g

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 14 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอกระเจาจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**
0	10.09a	97ab
1	6.60b	94c-f
2	5.90c	95c-f

3	5.66d	96b-f
4	5.44f	94 c-f
5	5.58e	97bc
6	5.65de	94c-f
7	5.62de	97bc
8	5.61de	95c-f
9	5.15g	95c-f
10	4.92ij	96b-f
11	4.87j	97bcd
12	4.99h	95c-f
13	4.78k	94c-f
14	4.77kl	96b-f
15	4.87j	95c-f
16	4.75k-n	96b-e
17	4.68no	96b-e
18	4.65o	96b-f
19	4.71l-o	94c-f
20	4.73k-n	96b-f
21	4.97hi	97bcd
22	5.44f	98ab
23	4.97hi	95c-f
24	4.74k-n	97bcd
25	4.75k-n	96b-e
26	4.75k-n	93.9f
27	4.79k	88g
28	4.80k	93ef
29	4.76klm	94c-f
30	4.69mno	94c-f

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 15 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้งจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	**ความชื้น (%)**	**ความงอก (%)**

0	5.30a	100c
1	4.06b	97b
2	3.90c	99ab
3	3.90c	100c
4	3.73de	100c
5	3.77d	100c
6	3.59gh	100c
7	3.63fgh	100c
8	3.46i	99ab
9	3.71de	99ab
10	3.73de	100c
11	3.62fgh	100c
12	3.58h	100c
13	3.68ef	100c
14	3.40i	100c
15	3.28j	100c
16	3.25jk	100c
17	3.45i	100c
18	3.21k	99ab
19	3.40i	100c
20	3.42i	100c
21	3.42i	100c
22	3.47i	100c
23	3.40i	100c
24	3.30j	100c
25	3.57h	100c
26	3.60fgh	100c
27	3.64fgh	100c
28	3.95c	100c
29	3.66efg	100c
30	3.68ef	100c

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 16 เปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

วันที่	ความชื้น (%)	ความงอก (%)
0	12.91a	99a
1	9.65b	98b
2	8.75c	98b
3	7.90d	94ef
4	7.77d	98b
5	7.36e	99a
6	7.41e	99a
7	7.14ef	98b
8	7.16ef	98b
9	7.03f	98b
10	6.87fg	96d
11	6.91f	97c
12	6.23ijk	97bc
13	6.53hi	97b
14	6.52hi	98b
15	6.48hij	98b
16	6.32h-k	97c
17	6.24ijk	99a
18	6.13k	97c
19	6.20ijk	98b
20	6.23ijk	97c
21	6.58gh	98b
22	6.15jk	93f
23	6.20ijk	95e
24	6.41h-k	98b
25	6.30h-k	97c
26	6.27h-k	98b
27	6.20ijk	97c
28	6.14jk	97c
29	6.12k	98b
30	6.12k	96d

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 99% โดยวิธี DMRT

ตารางผนวกที่ 17 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0	0	1.78 ns
DAY (T)	30	249	8	632.52 **
ERROR	90	1	0.013105649298	
TOTAL	123	250		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 18 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	7	2	<1
DAY (T)	30	314	10	3.52 **
ERROR	90	267	2.968920293253	
TOTAL	123	588		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 19 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์พริกจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0.0	0.0	<1
DAY (T)	30	62.0	2.1	249.52 **
ERROR	90	0.7	0.0082801324668	
TOTAL	123	62.7		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 20 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์พริกจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	37	12	<1
DAY (T)	30	2876	96	7.41 **
ERROR	90	1165	12.94414197778	
TOTAL	123	4078		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 21 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มะเขือจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0	0	1.36 ns
DAY (T)	30	179	6	106.24 **
ERROR	90	5	0.056235174737	
TOTAL	123	185		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์มะเขือจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	30	10	2.58 ns
DAY (T)	30	544	18	4.68 **
ERROR	90	349	3.877028153516	

TOTAL	123	923

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 23 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดงจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0.0	0.0	1.05 ns
DAY (T)	30	240.0	8.0	1722.64 **
ERROR	90	0.4	0.004643549084	
TOTAL	123	240.4		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบแดงจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	29	10	<1
DAY (T)	30	3357	112	6.19 **
ERROR	90	1626	18.06620902296	
TOTAL	123	5012		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0.2	0.1	4.62 **
DAY (T)	29	424.8	14.6	894.27 **
ERROR	87	1.4	0.016379030489	
TOTAL	119	426.4		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	31.1	10.4	1.21 ns
DAY (T)	21	291.2	13.9	1.62 ns
ERROR	63	539.8	8.5685862166663	
TOTAL	87	862.1		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0.1	0.0	<1
DAY (T)	30	277.3	9.2	194.83 **

ERROR	90	4.3	0.047442256749
TOTAL	123	281.7	

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	30.20	10.07	1.57 ns
DAY (T)	30	627.90	20.93	3.26 **
ERROR	90	577.995	6.42217056301	
TOTAL	91	757.6		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0.0	0.0	<1
DAY (T)	30	179.0	6.0	245.57 **
ERROR	90	2.2	0.024300370574	
TOTAL	123	181.3		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทานตะวันจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	13	4	<1
DAY (T)	29	577	20	2.49 **
ERROR	87	694	7.97246621735	
TOTAL	119	1283		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	0.0	0.0	<1
DAY (T)	30	426.9	14.2	913.65 **
ERROR	90	1.4	0.015574365013	
TOTAL	123	428.3		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 - 30

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	7	2	<1
DAY (T)	30	3809	127	20.19 **
ERROR	90	566	6.28761627014	

TOTAL	123	4382		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0	0	1.44 ns
DAY (T)	30	564	19	1581.95 **
ERROR	90	1	0	
TOTAL	123	565		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วมะแฮะจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	2.9	1.0	7.94 **
DAY (T)	30	432.3	14.4	119.01 **
ERROR	90	10.9	0.1	
TOTAL	123	446.1		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่มจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0	0	9.14 **
DAY (T)	30	138	5	1014.78 **
ERROR	90	0	0	
TOTAL	123	139		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 36 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่มจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0	0	<1
DAY (T)	30	4768	159	1545.37 **
ERROR	90	9	0	
TOTAL	123	4777		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 37 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0.4	0.1	2.45 ns
DAY (T)	30	79.4	2.6	54.66 **
ERROR	90	4.4	0.0	
TOTAL	123	84.2		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 38 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	1	0	5.63 **
DAY (T)	30	5447	182	2287.19 **
ERROR	90	7	0	
TOTAL	123	5455		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 39 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์เดือยจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0.0	0.0	<1
DAY (T)	30	91.3	3.0	81.98 **
ERROR	90	3.3	0.0	
TOTAL	123	94.6		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์เดือยจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	4	1	<1
DAY (T)	30	368	12	2.20 **
ERROR	90	503	6	
TOTAL	123	875		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 41 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ปอคิวบาจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0.1	0.0	1.67 ns
DAY (T)	30	81.5	2.7	124.54 **
ERROR	90	2.0	0.0	
TOTAL	123	83.6		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 42 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอคิวบาจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	1	0	1.74 ns
DAY (T)	30	1141	38	225.77 **
ERROR	90	15	0	
TOTAL	123	1158		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ปอกระเจาจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0	0	5.19 **
DAY (T)	30	159	5	1407.86 **
ERROR	90	0	0	

TOTAL	123	159		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 44 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอกระเจาจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	8	3	<1
DAY (T)	30	830	28	4.83 **
ERROR	90	516	6	
TOTAL	123	1354		

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 45 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวกวางตุ้งจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0.0	0.0	1.42 ns
DAY (T)	30	35.0	1.2	225.67 **
ERROR	90	0.5	0.0	
TOTAL	123	35.4		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 46 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวกวางตุ้งจากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	60	20	<1
DAY (T)	10	330	33	1.54 ns
ERROR	30	643	21	
TOTAL	43	1033		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 47 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	0	0	1.09 ns
DAY (T)	30	237	8	144.59 **
ERROR	90	5	0	
TOTAL	123	242		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 48 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์จากการนำเข้าลดความชื้นในห้องลดความชื้นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15 เปอร์เซ็นต์ วันที่ 0 – 30

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	4.1	1.4	1.73 ns

DAY (T)	30	576.8	19.2	24.67 **
ERROR	90	70.1	0.8	
TOTAL	123	651.0		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ชื่อการทดลองที่ 6: อิทธิพลของระดับความชื้นและอุณหภูมิที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ Leguminosae เพื่อการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลแหล่งที่มาของเมล็ดพันธุ์สมุนไพรวงศ์ วงศ์ Leguminosae

ชนิด	**วันเก็บตัวอย่างเมล็ด**	**สถานที่**	**ชื่อวิทยาศาสตร์**
หางนกยูงฝรั่ง	กุมภาพันธ์ 2554	จ. อุดรธานี	*Delonix regia* (Baj.) Ex. Hook.
คราม	กุมภาพันธ์ 2554	จ. สกลนคร	*Indigofera tinctoria* (L.)
ส้มป่อย	มีนาคม 2554	จ. ตาก	*Acacia concinna* (Willd.)DC.
แคบ้าน	สิงหาคม 2554	จ. ปทุมธานี	*Sesbania grandiflora* (L.) Desv.
ชุมเห็ดเล็ก	พฤศจิกายน 2554	จ. มุกดาหาร	*Senna occidentalis* (L.) Link.
กัลปพฤกษ์	กันยายน 2554	จ. ขอนแก่น	*Cassia bakeriana* Craib

โสน	กุมภาพันธ์ 2555	จ. อยุธยา	*Sesbania javanica Miq.*
ฝาง	มีนาคม 2557	จ. ตาก	*Caesalipinia sappan* (L.)
หางนกยูงไทย	มีนาคม 2557	จ. ปราจีนบุรี	*Caesalpinia pulcherrima* Sw.
ทองกวาว	เมษายน 2557	จ. ลำปาง	*Butea monosperma* (Lam.) Yaub.

ตารางภาคผนวกที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดแต่ละชนิดก่อนลดความชื้นตามกรรมวิธีต่างๆ

ชนิดพืช	**ความชื้นของเมล็ดก่อนลด (control) (%)**
หางนกยูงฝรั่ง	10.59
คราม	10.17
ส้มป่อย	14.05
กัลปพฤกษ์	13.60
แคบ้าน	12.90
ชุมเห็ดเล็ก	11.32
โสน	11.61
ฝาง	14.74
หางนกยูงไทย	13.54
ทองกวาว	19.41

ชื่อการทดลองที่ 7: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมชมพูสิริน (Impatiens sirindhorniae) และไอยริศ (Zingiber sirindhorniae) ในสภาพปลอดเชื้อ

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของชมพูสิรินที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA และ BA เป็นเวลานาน 5 เดือน โดยใช้ค่า Transformed to Sqr(X+1)

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	8	7.68439518	0.96054940	18.15 **

CYTO (C)	2	0.01793305	0.00896653	<1
AUX (A)	2	7.51562483	3.75781242	70.99 **
CxA	4	0.15083729	0.03770932	<1
ERROR	27	1.42916861	0.05293217	
TOTAL	35	9.11356379		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$

ตารางภาคผนวกที่ 2 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของไอยริศที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน IAA และ BA เป็นเวลานาน 3 เดือน โดยใช้ค่า Transformed to Sqr(X+1)

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	11	16.44623014	1.49511183	83.43 **
CYTO (C)	2	0.36922525	0.18461263	10.30 **
AUX (A)	3	15.76442865	5.25480955	293.21 **
CxA	6	0.31257623	0.05209604	2.91 *
ERROR	36	0.64517669	0.01792157	
TOTAL	47	17.09140683		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.05}$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนความสูงของยอดไอยริศที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน IAA และ BA เป็นเวลานาน 3 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	11	464.9238500	42.2658045	105.50 **
CYTO (C)	2	21.3482625	10.6741312	26.64 **
AUX (A)	3	433.0064167	144.3354722	360.29 **
CxA	6	10.5691708	1.7615285	4.40 **
ERROR	36	14.4219500	0.4006097	
TOTAL	47	479.3458000		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.05}$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ชื่อการทดลองที่ 8: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชสกุลชาฤๅษีในสภาพปลอดเชื้อ : ชาฤๅษีพระราม (Trisepalum bhumibolianum) และ Trisepalum sangwaniae

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของต้นภูมิพลินทร์ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน 2,4-D และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน โดยใช้ค่า Transformed to Sqr(X+1)

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	8	15.09130210	1.88641276	12.81 **
CYTO (C)	2	7.14200752	3.57100376	24.25 **
AUX (A)	2	4.58185731	2.29092866	15.56 **
CxA	4	3.36743727	0.84185932	5.72 **
ERROR	36	5.30204976	0.14727916	
TOTAL	44	20.39335186		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$

ตารางภาคผนวกที่ 2 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อของต้นภูมิพลินทร์ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน 2,4-D และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	8	1.21600000	0.15200000	11.03 **
CYTO (C)	2	0.98800000	0.49400000	35.85 **
AUX (A)	2	0.10533333	0.05266667	3.82 *
CxA	4	0.12266667	0.03066667	2.23 ns
ERROR	36	0.49600000	0.01377778	
TOTAL	44	1.71200000		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 3 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของต้นนครินทราที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน 2,4-D และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน โดยใช้ค่า TRANSFORMED TO Sqr(X+1)

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	8	14.86122584	1.85765323	34.14 **
CYTO (C)	2	6.99598424	3.49799212	64.28 **
AUX (A)	2	1.58512661	0.79256330	14.56 **
CxA	4	6.28011499	1.57002875	28.85 **
ERROR	36	1.95911493	0.05441986	
TOTAL	44	16.82034077		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$

ตารางภาคผนวกที่ 4 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อของต้นนครินทราที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน 2,4-D และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	8	1.44177778	0.18022222	6.10 **
CYTO (C)	2	0.12044444	0.06022222	2.04 ns
AUX (A)	2	0.23511111	0.11755556	3.98 *
CxA	4	1.08622222	0.27155556	9.19 **
ERROR	36	1.06400000	0.02955556	
TOTAL	44	2.50577778		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 5 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของต้นนครินทราที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน IBA เป็นเวลานาน 6 เดือน โดยใช้ค่า TRANSFORMED TO Sqr(X+1)

SV	DF	SS	MS	F
IBA (A)	3	17.66629449	5.88876483	267.45 **
ERROR	16	0.35229243	0.02201828	
TOTAL	19	18.01858692		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$

ตารางภาคผนวกที่ 6 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อของต้นนครินทราที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน 2,4-D และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
IBA (A)	3	0.30450000	0.10150000	1.29 ns
ERROR	16	1.25500000	0.07843750	
TOTAL	19	1.55950000		

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 7 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดของค่าเฉลี่ย โดย t-test ในต้นนครินทราที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร WP เลี้ยงเวลานาน 4 เดือน (ใช้ Alpha 0.01)

	จำนวนยอดที่สมบูรณ์	**ขนาดกลุ่มเนื้อเยื่อ**	**จำนวนราก**	**ความยาวราก**
Mean (Variable 1)	2.633333333	2.386666667	1.1	0.64
Variance(Variable 1)	1.481609195	0.008781609	1.334482759	0.452827586
Mean (Variable 2)	2.6	2.05	8.866667	3.983333
Variance(Variable 2)	1.075862	0.057069	11.29195	0.525575
Observations	30	30	30	30
Hypothesized Mean Difference	0	0	0	0
df	57	38	36	58
t Stat	0.114165266	7.185896565	-11.9716742	-18.51320343
P(T<=t) one-tail	0.454753988	6.90041E-09	2.05902E-14	2.54971E-26
t Critical one-tail	1.672028889	2.428567627	2.43449404	2.392377461
P(T<=t) two-tail	0.909507976	1.38008E-08	4.11805E-14	5.09942E-26
t Critical two-tail	2.002465444	2.711557598	2.719484627	2.66328694
	ns	**	**	**

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$;

* = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.05}$,

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ชื่อการทดลองที่ 11: ศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์สปอร์เฟิร์นที่ถูกนำออกจากป่าเพื่อการค้าสำหรับการอนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ภาคผนวก

ส่วนประกอบอาหารสูตร Mineral Agar (MA; Dyer, 1979)

Stock Name	**Stock Solution**	**ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)**	**ปริมาณที่ใช้ (มล./ลิตร)**
A	$MgSO_4.7H_2O$	51	10
	KNO_3	12	10
B	$FeCl_3.6H_2O$	1.7	10
C	$Ca(NO_3)_2.H_2O$	144	10
D	KH_2PO_4	25	10

ชื่อการทดลองที่ 13: ศึกษาเทคนิคเพื่อทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พริกที่อนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ภาคผนวก

Germination test

Table G1 Analysis of Variance for Germination of PJ 01 at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	133	44	16.13 **
Method (M)	4	1877	469	171.35 **
ERROR (a)	12	33	3	
TIME (T)	5	4079	816	83.55 **
MxT	20	3871	194	19.82 **
ERROR (b)	75	732	10	
TOTAL	119	10725		

** = significant at 1% level

Table G2 Analysis of Variance for Germination of PJ 05 at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F

REP (R)	3	277	92	5.86 *
Method (M)	4	3734	934	59.38 **
ERROR (a)	12	189	16	
TIME (T)	5	3599	720	59.75 **
MxT	20	5362	268	22.26 **
ERROR (b)	75	903	12	
TOTAL	119	14063		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G3 Analysis of Variance for Germination of PJ 07 at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	211.5	70.5	4.24 *
Method (M)	4	560.2	140.0	8.43 **
ERROR (a)	12	199.3	16.6	
TIME (T)	5	778.0	155.6	11.99 **
MxT	20	2510.8	125.5	9.68 **
ERROR (b)	75	973.1	13.0	
TOTAL	119	5232.9		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G4 Analysis of Variance for Germination of Mondum at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	227.0	75.7	7.48 **
Method (M)	4	884.2	221.0	21.86 **

ERROR (a)	12	121.3	10.1	
TIME (T)	5	1338.4	267.7	16.11 **
MxT	20	2419.7	121.0	7.28 **
ERROR (b)	75	1245.9	16.6	
TOTAL	119	6236.4		

** = significant at 1% level

Table G5 Analysis of Variance for Germination of Huay Siton at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	236	79	7.97 **
Method (M)	4	1201	300	30.45 **
ERROR (a)	12	118	10	
TIME (T)	5	5364	1073	79.90 **
MxT	20	6229	311	23.19 **
ERROR (b)	75	1007	13	
TOTAL	119	14156		

** = significant at 1% level

Table G6 Analysis of Variance for Germination of Huareo at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	234	78	11.29 **
Method (M)	4	1851	463	67.05 **
ERROR (a)	12	83	7	
TIME (T)	5	5225	1045	51.24 **
MxT	20	4514	226	11.07 **
ERROR (b)	75	1529	20	
TOTAL	119	13436		

** = significant at 1% level

Table G7 Analysis of Variance for Germination of Super Hot at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	142.1	47.4	3.27 ns
Method (M)	4	1698.4	424.6	29.35 **
ERROR (a)	12	173.6	14.5	
TIME (T)	5	1646.6	329.3	35.00 **
MxT	20	2607.7	130.4	13.86 **
ERROR (b)	75	705.7	9.4	
TOTAL	119	6974.2		

** = significant at 1% level; ns = not significant

Table G8 Analysis of Variance for Germination of Bird Chili at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	297.6	99.2	3.35 ns
Method (M)	4	606.8	151.7	5.12 *
ERROR (a)	12	355.5	29.6	
TIME (T)	5	3142.8	628.6	54.85 **
MxT	20	1561.9	78.1	6.81 **
ERROR (b)	75	859.5	11.5	
TOTAL	119	6824.1		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level ns = not significant

Table G9 Analysis of Variance for Germination of PJ 01 at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	267	89	8.16 **
Method (M)	4	2680	670	61.43 **
ERROR (a)	12	131	11	
TIME (T)	5	1069	214	14.39 **
MxT	20	4030	201	13.56 **
ERROR (b)	75	1114	15	
TOTAL	119	9291		

** = significant at 1% level

Table G10 Analysis of Variance for Germination of PJ 05 at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	214	71	3.78 *
Method (M)	4	2062	516	27.24 **
ERROR (a)	12	227	19	
TIME (T)	5	593	119	10.36 **
MxT	20	6477	324	28.26 **
ERROR (b)	75	859	11	
TOTAL	119	10434		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G11 Analysis of Variance for Germination of PJ 07 at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	134.6	44.9	5.54 *
Method (M)	4	1579.6	394.9	48.72 **
ERROR (a)	12	97.3	8.1	
TIME (T)	5	1408.3	281.7	44.57 **
MxT	20	3948.6	197.4	31.24 **
ERROR (b)	75	474.0	6.3	
TOTAL	119	7642.4		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G12 Analysis of Variance for Germination of Mondum at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	170.4	56.8	6.79 **
Method (M)	4	2460.7	615.2	73.48 **
ERROR (a)	12	100.5	8.4	
TIME (T)	5	22.4	4.5	<1
MxT	20	2963.5	148.2	17.29 **
ERROR (b)	75	642.9	8.6	

TOTAL	119	6360.4		

** = significant at 1% level

Table G13 Analysis of Variance for Germination of Huay Siton at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	508	169	39.16 **
Method (M)	4	1629	407	94.11 **
ERROR (a)	12	52	4	
TIME (T)	5	1812	362	13.87 **
MxT	20	8342	417	15.96 **
ERROR (b)	75	1960	26	
TOTAL	119	14304		

** = significant at 1% level

Table G14 Analysis of Variance for Germination of Huareo at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	575	192	15.56 **
Method (M)	4	555	139	11.26 **
ERROR (a)	12	148	12	
TIME (T)	5	2072	414	25.03 **
MxT	20	8277	414	25.00 **
ERROR (b)	75	1242	17	
TOTAL	119	12869		

** = significant at 1% level

Table G15 Analysis of Variance for Germination of Super Hot at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	179	60	7.73 **
Method (M)	4	988	247	32.04 **

ERROR (a)	12	93	8	
TIME (T)	5	1725	345	27.51 **
MxT	20	6995	350	27.89 **
ERROR (b)	75	941	13	
TOTAL	119	10921		

** = significant at 1% level

Table G16 Analysis of Variance for Germination of Bird Chili at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	259	86	4.43 *
Method (M)	4	898	224	11.48 **
ERROR (a)	12	235	20	
TIME (T)	5	5318	1064	86.49 **
MxT	20	4604	230	18.72 **
ERROR (b)	75	922	12	
TOTAL	119	12236		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G17 Analysis of Variance for Germination of PJ 01 at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	209.2	69.7	13.62 **
Method (M)	4	1283.2	320.8	62.66 **
ERROR (a)	12	61.4	5.1	
TIME (T)	5	3009.8	602.0	55.90 **
MxT	20	3537.7	176.9	16.43 **
ERROR (b)	75	807.7	10.8	
TOTAL	119	8908.9		

** = significant at 1% level

Table G18 Analysis of Variance for Germination of PJ 05 at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	384	128	13.11 **
Method (M)	4	3820	955	97.94 **
ERROR (a)	12	117	10	
TIME (T)	5	1905	381	24.52 **
MxT	20	8460	423	27.23 **
ERROR (b)	75	1165	16	
TOTAL	119	15850		

** = significant at 1% level

Table G19 Analysis of Variance for Germination of PJ 07 at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	597.3	199.1	11.71 **
Method (M)	4	2310.0	577.5	33.97 **
ERROR (a)	12	204.0	17.0	
TIME (T)	5	333.6	66.7	4.38 **
MxT	20	4736.0	236.8	15.53 **
ERROR (b)	75	1143.5	15.2	
TOTAL	119	9324.3		

** = significant at 1% level

Table G20 Analysis of Variance for Germination of Mondum at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	352	117	3.88 *
Method (M)	4	1118	280	9.26 **
ERROR (a)	12	362	30	
TIME (T)	5	1957	391	18.37 **
MxT	20	5244	262	12.31 **
ERROR (b)	75	1598	21	
TOTAL	119	10632		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G21 Analysis of Variance for Germination of Huay Siton at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	298.0	99.3	4.75 *
Method (M)	4	706.7	176.7	8.46 **
ERROR (a)	12	250.7	20.9	
TIME (T)	5	2417.3	483.5	27.78 **
MxT	20	4818.6	240.9	13.85 **
ERROR (b)	75	1305.1	17.4	
TOTAL	119	9796.4		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G22 Analysis of Variance for Germination of Huareo at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	421	140	8.63 **
Method (M)	4	1387	347	21.32 **
ERROR (a)	12	195	16	
TIME (T)	5	3666	733	49.06 **
MxT	20	5260	263	17.60 **
ERROR (b)	75	1121	15	
TOTAL	119	12050		

** = significant at 1% level

Table G23 Analysis of Variance for Germination of Super Hot at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	325	108	4.31 *
Method (M)	4	3272	818	32.60 **
ERROR (a)	12	301	25	
TIME (T)	5	3571	714	38.27 **
MxT	20	4052	203	10.85 **
ERROR (b)	75	1400	19	

TOTAL	119	12920		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table G24 Analysis of Variance for Germination of Bird Chili at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	320	107	2.92 ns
Method (M)	4	3234	809	22.11 **
ERROR (a)	12	439	37	
TIME (T)	5	4328	866	44.97 **
MxT	20	4435	222	11.52 **
ERROR (b)	75	1443	19	
TOTAL	119	14199		

** = significant at 1% level; ns = not significant

ตารางผลการทดลอง

Vigour test

Table V1 Analysis of Variance for Vigour of PJ 01 at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	5	2	7.96 **
Method (M)	4	60	15	77.12 **
ERROR (a)	12	2	0.16	
TIME (T)	5	208	42	106.37 **
MxT	20	141	7	17.94 **
ERROR (b)	75	29	0.38	
TOTAL	119	445		

** = significant at 1% level

Table V2 Analysis of Variance for Vigour of PJ 05 at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F

REP (R)	3	9	3	6.23 **
Method (M)	4	86	22	47.27 **
ERROR (a)	12	5	0.42	
TIME (T)	5	196	39	84.32 **
MxT	20	270	13	29.08 **
ERROR (b)	75	35	0.47	
TOTAL	119	600		

** = significant at 1% level

Table V3 Analysis of Variance for Vigour of PJ 07 at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	14	5	5.36 *
Method (M)	4	50	13	14.30 **
ERROR (a)	12	11	1	
TIME (T)	5	90	18	22.14 **
MxT	20	146	7	8.97 **
ERROR (b)	75	61	1	
TOTAL	119	373		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V4 Analysis of Variance for Vigour of Mondum at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F

REP (R)	3	5	2	9.03 **
Method (M)	4	32	8	42.57 **
ERROR (a)	12	2	0.17	
TIME (T)	5	103	21	43.63 **
MxT	20	136	7	14.39 **
ERROR (b)	75	35	0.47	
TOTAL	119	313		

** = significant at 1% level

Table V5 Analysis of Variance for Vigour of Huay Siton at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	12	4	17.13 **
Method (M)	4	57	14	58.99 **
ERROR (a)	12	3	0.25	
TIME (T)	5	228	46	79.98 **
MxT	20	374	19	32.79 **
ERROR (b)	75	43	0.57	
TOTAL	119	718		

** = significant at 1% level

Table V6 Analysis of Variance for Vigour of Huareo at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	9	3	5.54 *
Method (M)	4	52	13	25.37 **
ERROR (a)	12	6	0.5	
TIME (T)	5	165	33	48.44 **
MxT	20	203	10	14.90 **
ERROR (b)	75	51	0.68	
TOTAL	119	486		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V7 Analysis of Variance for Vigour of Super Hot at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	8	3	1.64 ns
Method (M)	4	41	10	6.29 **
ERROR (a)	12	19	2	
TIME (T)	5	91	18	26.71 **
MxT	20	182	9	13.39 **
ERROR (b)	75	51	1	
TOTAL	119	391		

** = significant at 1% level; ns = not significant

Table V8 Analysis of Variance for Vigour of Bird Chili at 25 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	6	2	2.61 ns
Method (M)	4	11	3	3.30 *
ERROR (a)	12	10	1	
TIME (T)	5	176	35	103.05 **
MxT	20	210	10	30.69 **
ERROR (b)	75	26	0.35	
TOTAL	119	439		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level ns = not significant

Table V9 Analysis of Variance for Vigour of PJ 01 at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	6	2	6.08 **
Method (M)	4	37	9	26.30 **
ERROR (a)	12	4	0.33	
TIME (T)	5	49	10	20.88 **
MxT	20	256	13	27.14 **
ERROR (b)	75	35	0.47	
TOTAL	119	388		

** = significant at 1% level

Table V10 Analysis of Variance for Vigour of PJ 05 at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	6	2	3.97 *
Method (M)	4	62	16	31.28 **
ERROR (a)	12	6	0.5	
TIME (T)	5	81	16	39.49 **
MxT	20	348	17	42.28 **
ERROR (b)	75	31	0.41	
TOTAL	119	535		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V11 Analysis of Variance for Vigour of PJ 07 at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	8	3	4.31 *
Method (M)	4	67	17	26.64 **
ERROR (a)	12	8	1	
TIME (T)	5	104	21	46.58 **
MxT	20	314	16	35.10 **
ERROR (b)	75	34	0.45	
TOTAL	119	535		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V12 Analysis of Variance for Vigour of Mondum at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	6	2	11.10 **
Method (M)	4	75	19	110.00 **
ERROR (a)	12	2	0.17	
TIME (T)	5	20	4	10.84 **

MxT	20	239	12	31.83 **
ERROR (b)	75	28	0.37	
TOTAL	119	370		

** = significant at 1% level

Table V13 Analysis of Variance for Vigour of Huay Siton at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	22	7	8.70 **
Method (M)	4	89	22	26.42 **
ERROR (a)	12	10	1	
TIME (T)	5	132	26	18.07 **
MxT	20	529	26	18.06 **
ERROR (b)	75	110	1	
TOTAL	119	893		

** = significant at 1% level

Table V14 Analysis of Variance for Vigour of Huareo at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	21	7	12.56 **
Method (M)	4	27	7	12.29 **
ERROR (a)	12	7	1	
TIME (T)	5	86	17	37.47 **
MxT	20	368	18	40.18 **
ERROR (b)	75	34	0.45	
TOTAL	119	542		

** = significant at 1% level

Table V15 Analysis of Variance for Vigour of Super Hot at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F

REP (R)	3	6	2	4.14 *
Method (M)	4	43	11	22.95 **
ERROR (a)	12	6	0.5	
TIME (T)	5	85	17	29.10 **
MxT	20	385	19	33.03 **
ERROR (b)	75	44	1	
TOTAL	119	568		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V16 Analysis of Variance for Vigour of Bird Chili at 5 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	9	3	5.15 *
Method (M)	4	24	6	10.69 **
ERROR (a)	12	7	0.58	
TIME (T)	5	238	48	86.16 **
MxT	20	261	13	23.59 **
ERROR (b)	75	41	0.55	
TOTAL	119	580		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V17 Analysis of Variance for Vigour of PJ 01 at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	11	4	5.33 *
Method (M)	4	87	22	30.86 **
ERROR (a)	12	8	1	
TIME (T)	5	132	26	60.18 **
MxT	20	264	13	30.04 **
ERROR (b)	75	33	0.44	
TOTAL	119	536		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V18 Analysis of Variance for Vigour of PJ 05 at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	10	3	10.95 **
Method (M)	4	119	30	102.34 **
ERROR (a)	12	3	0.25	
TIME (T)	5	111	22	39.32 **
MxT	20	331	17	29.44 **
ERROR (b)	75	42	1	
TOTAL	119	616		

** = significant at 1% level

Table V19 Analysis of Variance for Vigour of PJ 07 at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	35	12	10.07 **
Method (M)	4	142	35	30.54 **
ERROR (a)	12	14	1	
TIME (T)	5	55	11	12.88 **
MxT	20	351	18	20.51 **
ERROR (b)	75	64	1	
TOTAL	119	661		

** = significant at 1% level

Table V20 Analysis of Variance for Vigour of Mondum at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	8	3	3.25 ns
Method (M)	4	64	16	18.77 **
ERROR (a)	12	10	1	
TIME (T)	5	54	11	15.78 **
MxT	20	185	9	13.54 **
ERROR (b)	75	51	1	
TOTAL	119	374		

** = significant at 1% level; ns = not significant

Table V21 Analysis of Variance for Vigour of Huay Siton at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	18	6	3.78 *
Method (M)	4	78	20	12.45 **
ERROR (a)	12	19	2	
TIME (T)	5	59	12	11.30 **
MxT	20	354	18	16.87 **
ERROR (b)	75	79	1	
TOTAL	119	607		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V22 Analysis of Variance for Vigour of Huareo at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	14	5	6.35 **
Method (M)	4	42	10	14.20 **
ERROR (a)	12	9	1	
TIME (T)	5	92	18	40.97 **
MxT	20	274	14	30.47 **
ERROR (b)	75	34	0.45	
TOTAL	119	465		

** = significant at 1% level

Table V23 Analysis of Variance for Vigour of Super Hot at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	6	2	4.86 *
Method (M)	4	153	38	93.21 **
ERROR (a)	12	5	0.42	
TIME (T)	5	89	18	37.91 **

MxT	20	255	13	27.10 **
ERROR (b)	75	35	0.47	
TOTAL	119	544		

** = significant at 1% level; * = significant at 5% level

Table V24 Analysis of Variance for Vigour of Bird Chili at -10 °C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	11	4	1.72 ns
Method (M)	4	158	39	18.43 **
ERROR (a)	12	26	2	
TIME (T)	5	249	50	56.33 **
MxT	20	255	13	14.44 **
ERROR (b)	75	66	1	
TOTAL	119	764		

** = significant at 1% level; ns = not significant

Table 25 ANALYSIS OF VARIANCE FOR EC (µS/cm) at 25°C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	163	54	15.65 **
VARIETY (V)	7	17365	2481	716.45 **
ERROR (a)	21	73	3	
TIME (T)	5	2990	598	78.81 **
VxT	35	2874	82	10.82 **
ERROR (b)	120	911	8	
TOTAL	191	24374		

cv(a) = 2.5%; cv(b) = 3.6%
** = significant at 1% level

Table 26 ANALYSIS OF VARIANCE FOR EC (µS/cm) at 5°C

SV	DF	SS	MS	F

REP (R)	3	112	37	6.85 **
VARIETY (V)	7	15928	2275	418.09 **
ERROR (a)	21	114	5	
TIME (T)	5	19975	3995	817.09 **
VxT	35	7257	207	42.41 **
ERROR (b)	120	587	5	
TOTAL	191	43974		

cv(a) = 3.1%; cv(b) = 3.0%
** = significant at 1% level

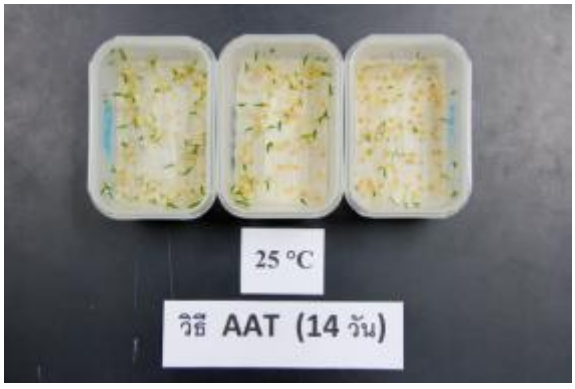
Table 27 ANALYSIS OF VARIANCE FOR EC (µS/cm) at -10°C

SV	DF	SS	MS	F
REP (R)	3	130	43	5.18 **
VARIETY (V)	7	10784	1541	183.86 **
ERROR (a)	21	176	8	
TIME (T)	5	13127	2625	773.29 **
VxT	35	7830	224	65.89 **
ERROR (b)	120	407	3	
TOTAL	191	32455		

cv(a) = 4.1%; cv(b) = 2.6%
** = significant at 1% level

ภาคผนวก 2

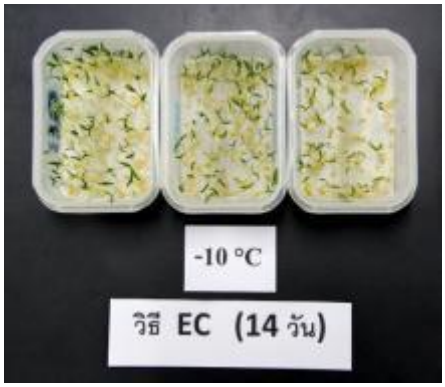
วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุ (Accelerated Aging Test, AAT)

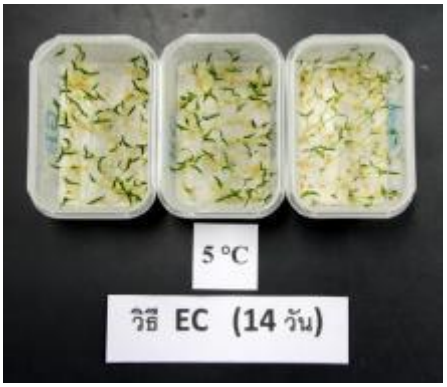


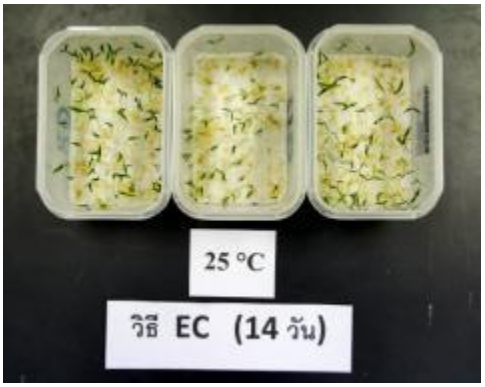
วิธีทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุ ด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว

(Saturated Salt Accelerated Aging Test; SSAAT)

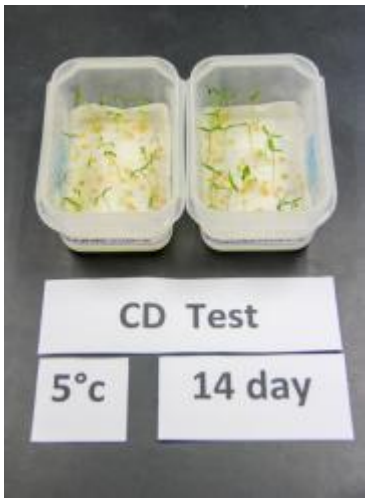
วิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity Test, EC)

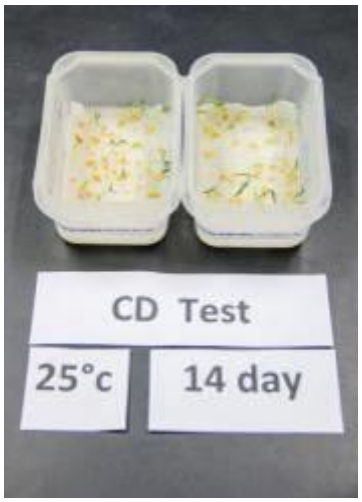






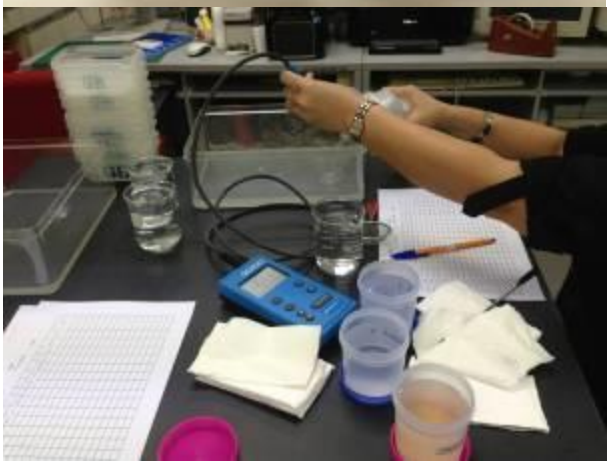
วิธี Controlled Deterioration Test (CD)





วิธีเพาะความงอก (Growth Test) เป็น Control

กิจกรรมการทดลอง



4.W[illegible]-G-1.EC 10°c R1

ชื่อการทดลองที่ 14: การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (Stemona spp.) เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

ภาคผนวก

<u>ตารางภาคผนวกที่ 1</u> ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนยอดเฉลี่ยของสมุนไพรหนอนตายหยากจากการทดลองการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F-Value	Pr>F
ทรีทเม้นต์	11	189.892	17.263	6.26	**
ผลของ NAA	2	24.62	12.308	4.47	*

ผลของ BA	3	139.292	46.431	16.84	**
ผลของ NAAxBA	6	25.983	4.331	1.57	ns
Error	108	297.7	2.756		
Total	119	487.592			

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาเฉลี่ยจากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตเพื่อเก็บรักษาสมุนไพรหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F-Value	Pr>F
ทรีทเม้นต์	5	39.944	7.988	1.64	ns
สูตรอาหาร (F)	1	29.388	29.388	6.03	*
Mannitol (M)	2	3.694	1.847	<1	ns
ผลของ FxM	2	6.861	3.430	<1	ns
Error	66	321.833	4.876		
Total	71	361.777			

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดเฉลี่ยจากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตเพื่อเก็บรักษาสมุนไพรหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F-Value	Pr>F
ทรีทเม้นต์	5	28.777	5.755	1.37	ns

สูตรอาหาร (F)	1	8.000	8.000	1.91	ns
Mannitol (M)	2	8.444	4.222		ns
ผลของ FxM	2	12.333	6.166		ns
Error	66	276.333	4.186		
Total	71	305.111			

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ชื่อการทดลองที่ 15: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด โดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

ส่วนประกอบ	มิลลิกรัมต่อลิตร
Macronutrients	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
$CaCl_2.2H_2O$	440.00
$MgSO_4.7H_2O$	370.00
KH_2PO_4	170.00
Micronutrients	
KI	0.83
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4.7H_2O$	6.90
$ZnSO_4.7H_2O$	6.14
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.25
Organic compounds	
myo-inositol	100.00
glycine	2.00
nicotinic acid	0.50
pyridoxine-HCl	0.50
thiamine-HCl	0.50
Other	
sucrose	30,000.00
pH	5.70-5.80

ตารางภาคผนวกที่ 2 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

สูตรอาหารทดลอง	Full-MS strength		Half-MS strength	
	3% Sucrose	9% Sucrose	3% Sucrose	9% Sucrose
0% Mannitol	T1	T4	T7	T10
1% Mannitol	T2	T5	T8	T11
2% Mannitol	T3	T6	T9	T12

ตารางภาคผนวกที่ 3 ระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของพืชวงศ์ขิงบนอาหารทดลองชะลอการเจริญเติบโต จำนวน 12 สูตร (เดือน)

สูตรอาหาร / พืชวงศ์ขิง	Tr1	Tr2	Tr3	Tr4	Tr5	Tr6	Tr7	Tr8	Tr9	Tr10	Tr11	Tr12
กระแจะจันทร์	10.46	10.69	9.30	6.23	4.00	2.84	8.92	8.23	8.30	4.15	3.84	3.00
ว่านทิพยเนตร	9.00	7.69	7.30	5.53	2.00	1.53	7.53	6.84	5.76	1.69	0.92	1.00
ว่านมหาเมฆ	5.46	6.23	5.30	1.53	1.53	1.07	2.76	2.46	3.46	1.07	1.00	1.00
ขมิ้นขาว	6.07	6.76	6.46	6.30	6.53	5.15	5.30	5.61	5.69	3.53	3.69	2.15
ขมิ้นชัน	7.08	8.00	7.62	4.69	5.00	5.15	4.00	4.15	3.31	3.00	3.15	3.23
ไพลเหลือง	7.69	6.85	6.77	2.69	2.15	1.62	7.54	7.69	6.77	2.38	1.92	1.69
ไพลปลุกเสก	9.62	9.46	9.38	3.00	2.54	1.85	7.46	8.46	7.77	2.85	1.62	1.15
ไพลขาว	7.85	6.92	6.31	7.08	5.08	1.31	7.23	6.31	5.92	3.23	3.31	1.38

ตารางภาคผนวกที่ 4.1 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของว่านมหาเมฆ จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	536.3	48.7	69.26**
สูตรอาหาร	1	95.4	95.4	135.51**
ระดับ sucrose	1	369.2	369.2	524.43**
ระดับ mannitol	2	0.3	0.1	<1
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	56.6	56.6	80.45**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	9.2	4.6	6.56**
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	1.8	0.9	1.34ns

สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	3.6	1.8	2.58ns
Error	144	101.3	0.7	
Total	155	637.7		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.2 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของขมิ้นชัน จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	457.2	41.5	22.77**
สูตรอาหาร	1	301.8	301.8	165.32**
ระดับ sucrose	1	106.6	106.6	58.42**
ระดับ mannitol	2	3.9	1.9	1.08ns
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	36.0	36.0	19.75**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	3.5	1.7	<1
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	3.5	1.7	<1
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	1.6	0.8	<1
Error	144	262.9	1.8	
Total	155	720.1		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.3 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของขมิ้นขาว จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	292.6	26.6	11.46**
สูตรอาหาร	1	138.5	138.5	59.64**

ระดับ sucrose	1	78.9	78.9	34.00**
ระดับ mannitol	2	16.2	8.1	3.50*
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	38.0	38.0	16.36**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	0.3	0.1	<1
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	20.1	10.0	4.33*
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	0.4	0.2	<1
Error	144	334.4	2.3	
Total	155	627.1		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.4 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของกระแจะจันทร์ จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	1266.5	115.1	37.67**
สูตรอาหาร	1	54.2	54.2	17.75**
ระดับ sucrose	1	1098.6	1098.6	359.45**
ระดับ mannitol	2	64.7	32.3	10.58**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	9.2	9.2	3.03ns
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	12.7	6.3	2.09ns
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	13.5	6.7	2.21ns
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	13.3	6.6	2.18ns
Error	144	440.1	3.0	
Total	155	1706.6		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

<u>ตารางภาคผนวกที่ 4.5</u> ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของว่านทิพยเนตร จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	1339.3	121.7	53.96**
สูตรอาหาร	1	93.8	93.8	41.59**
ระดับ sucrose	1	1072.3	1072.3	475.23**
ระดับ mannitol	2	118.8	59.4	26.33**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	2.8	2.8	1.25ns
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	23.7	11.8	5.26**
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	8.6	4.3	1.92ns
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	19.0	9.5	4.23*
Error	144	324.9	2.2	
Total	155	1664.2		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

<u>ตารางภาคผนวกที่ 4.6</u> ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของไพลเหลือง จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	1056.2	96.0	121.95**
สูตรอาหาร	1	0.057	0.057	<1
ระดับ sucrose	1	1030.7	1030.7	1309.10**
ระดับ mannitol	2	19.4	9.7	12.37**

Sum of Variation	df	SS	MS	F
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	1.4	1.4	1.83ns
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	1.8	0.942	1.20ns
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	0.2	0.1	<1
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	2.4	1.2	1.54ns
Error	144	113.4	0.8	
Total	155	1169.6		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.7 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของไพลปลุกเสก จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	1752.6	159.3	143.82**
สูตรอาหาร	1	46.3	46.3	41.80**
ระดับ sucrose	1	1660.7	1660.7	1499.02**
ระดับ mannitol	2	13.0	6.5	5.91**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	9.7	9.7	8.80**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	0.3	0.1	<1
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	16.3	8.1	7.40**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	6.0	3.0	2.73ns
Error	144	159.5	1.1	
Total	155	1912.2		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.8 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของไพลขาว จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเม้นต์คอมบิเนชั่น	11	750.8	68.3	36.12**
สูตรอาหาร	1	55.4	55.4	29.34**
ระดับ sucrose	1	397.4	397.4	210.29**
ระดับ mannitol	2	182.5	91.2	48.27**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	16.7	16.7	8.82**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	28.0	14.0	7.42**
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	48.5	24.3	12.83**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	22.3	11.1	5.89**
Error	144	272.2	1.9	
Total	155	1023.0		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

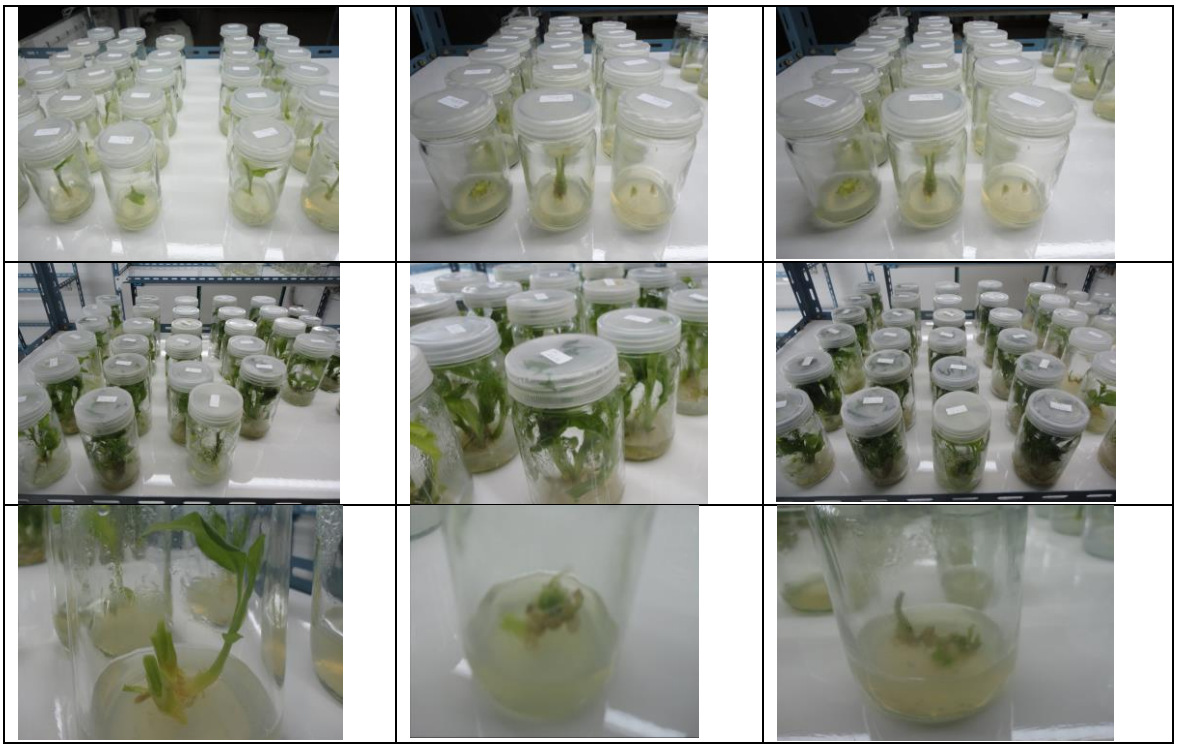
ตารางภาคผนวกที่ 5 จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นของพืชวงศ์ขิงในระหว่างการเพาะเลี้ยงพืชวงศ์ขิงบนอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร (ยอด)

สูตรอาหาร / พืชวงศ์ขิง	Tr1	Tr2	Tr3	Tr4	Tr5	Tr6	Tr7	Tr8	Tr9	Tr10	Tr11	Tr12
กระแจะจันทร์	5.15	6.92	8.31	3.77	2.31	1.92	7.69	6.92	6.39	2.54	2.54	1.69
ว่านทิพยเนตร	3.85	3.15	4.54	4.15	1.62	1.15	2.46	3.39	3.00	1.23	1.00	1.00
ว่านมหาเมฆ	3.62	4.23	4.85	1.85	1.77	1.15	3.00	3.08	3.31	2.77	1.23	1.31
ขมิ้นขาว	2.85	4.31	4.54	2.92	2.92	1.77	3.62	4.46	4.62	2.31	1.77	1.00
ขมิ้นชัน	2.92	3.38	3.62	4.23	3.92	3.15	2.62	2.92	2.85	2.23	2.38	1.92
ไพลเหลือง	9.15	6.23	5.38	1.23	1.00	1.00	6.15	6.69	4.54	1.08	1.08	1.08
ไพลปลุกเสก	5.69	3.85	4.08	1.00	1.00	1.00	5.62	5.46	3.92	1.08	1.00	1.00
ไพลขาว	3.31	3.92	5.85	9.00	7.31	0.00	3.23	4.00	6.46	1.46	0.62	0.00

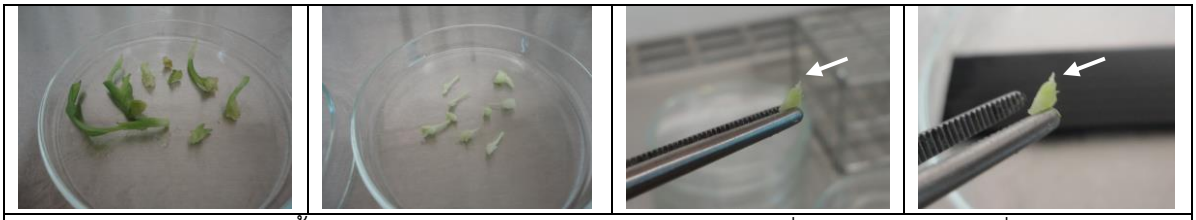
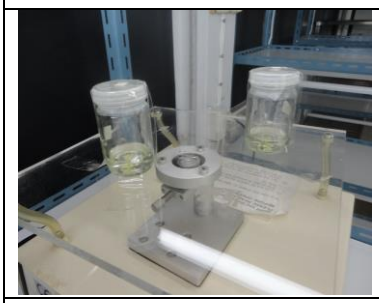
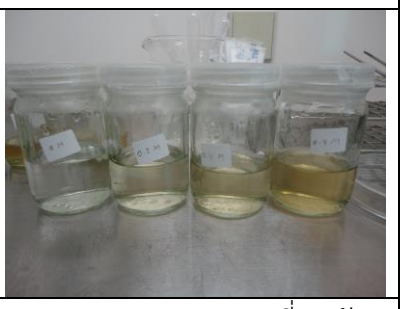
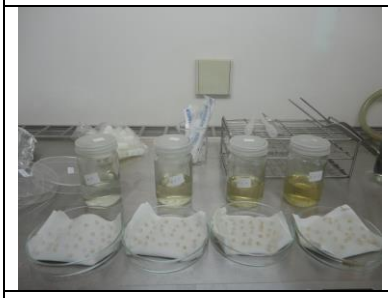
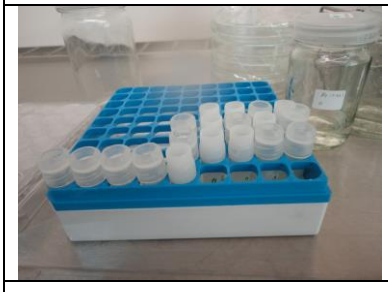
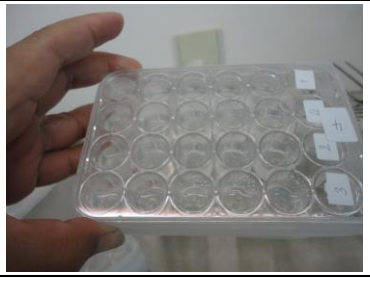
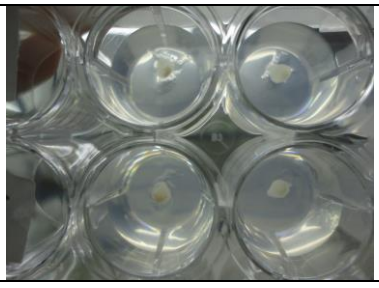
ชื่อการทดลองที่ 16: การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิง (ขมิ้นอ้อย และว่านทิพยเนตร) โดยใช้เทคนิค Cryopreservation

ภาคผนวก

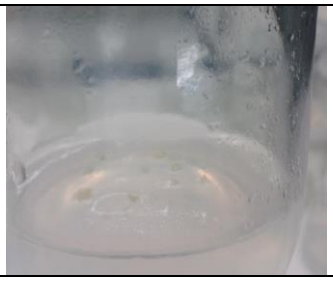
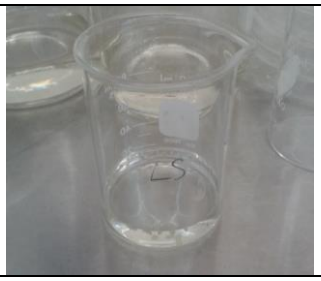
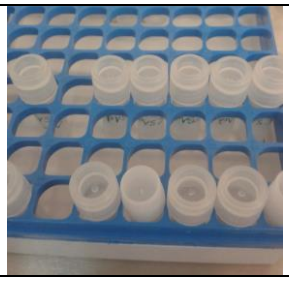
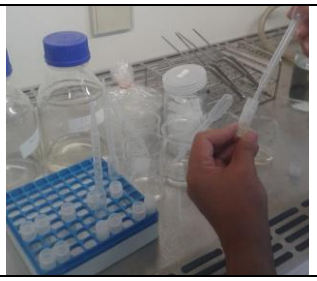
ภาพภาคผนวกที่ 1 การปลูกขยายต้นอ่อนว่านทิพยเนตรและขมิ้นอ้อยสำหรับไว้ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนต้นหน่อพันธุ์



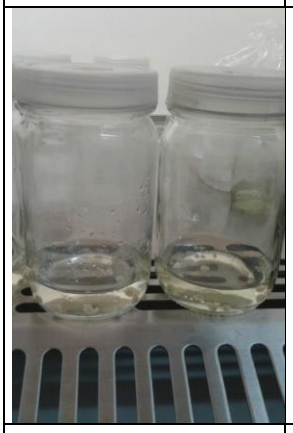
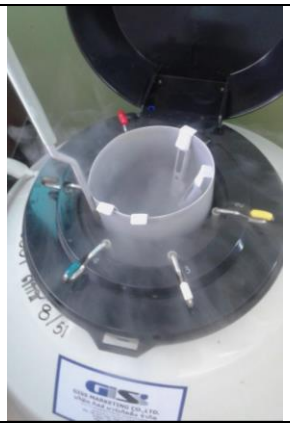
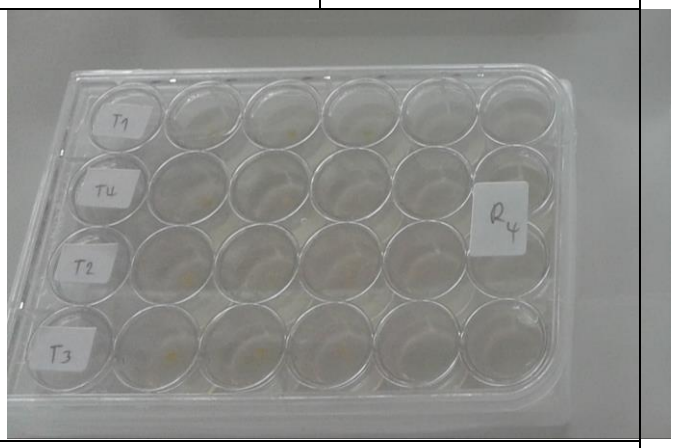
ภาพภาคผนวกที่ 2 การเพาะเลี้ยงปลายยอดขมิ้นอ้อยและ**ว่าน**ทิพยเนตรในอาหารสูตร MS เพื่อเพิ่มจำนวนหน่อและปลายยอด

<table>
<tr><td colspan="3">  </td></tr>
<tr><td colspan="3">ลักษณะปลายยอดขมิ้นอ่อยและทิพยเนตร ขนาด 1-2 มิลลิเมตร ที่ตัดมาจากต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</td></tr>
<tr><td>  </td><td> </td><td>  </td></tr>
<tr><td>Preculture บนอาหารเหลวสูตร MS 3 วัน</td><td>นำปลายยอดมาทำ bead ใน 3% alginate</td><td>Osmotic dehydrate ที่ ระดับต่างๆ</td></tr>
<tr><td>  </td><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>Air desiccation</td><td>บรรจุ bead ใน cryotube แล้วนำไปแช่ใน nitrogen เหลว</td><td>thawing</td></tr>
<tr><td>  </td><td>  </td><td>  </td></tr>
<tr><td>rehydration</td><td>นำมา regrowth ใน 24 Well Cell culture</td><td>Bead ที่อายุ 7วัน</td></tr>
</table>

ภาพภาคผนวกที่ 3 ขั้นตอนการทำ Encapsulation/Dehydration ของปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร

		
ปลายยอด		Preculture
		
LS 20 นาที	แช่ปลายยอดในสารละลาย PVS2 และ PVS3 1 ชม.	
บรรจุ ปลายยอด ใน cryotube แล้วนำไปแช่ใน nitrogen เหลว	thawing	นำมา recover solution ใน sucrose 1.2 M หลังจากนั้นนำมา regrowth เพื่อประเมินความมีชีวิต

ภาพภาคผนวกที่ 4 ขั้นตอนของเทคนิค vitrification ของปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร

การเตรียมต้นอ่อน	การตัดปลายยอด	Preculture ในอาหารแข็งสูตร MS	alginate bead
			
LS	แช่ปลายยอดในสารละลาย PVS3	เก็บในถังไนโตรเจนเหลว	thawing
			
RS	นำมา regrowth ใน 24 Well Cell culture		

ภาพภาคผนวกที่ 5 ขั้นตอนของเทคนิค Encapsulation/ vitrification ของปลายยอดขมิ้นอ้อยและว่านทิพยเนตร

ชื่อการทดลองที่ 19: การศึกษาเทคนิคการอนุรักษ์พันธุ์องุ่นในสภาพปลอดเชื้อ

ภาคผนวก

สูตรอาหาร MS

องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์พื้นฐานสูตร MS

Macronutrient	**mg/L**
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2 . 2H_2O$	440
$MgSO_4 .7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
Micronutrient	
H_3Bo_3	6.2
$MnSO_4 . 4H_2O$	22.3
KI	0.83
$ZnSO_4 . 7H_2O$	8.6
$Na_2MoO_4 . 2H_2O$	0. 25
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.025
$CoCl_2$ $6H_2O$	0.025
Fe-EDTA	
$FeSO_4 . 7H_2O$	27.85
Na_2EDTA	37.25

ที่มา Murashige and Skoog (1962)

สูตรอาหาร C2D

องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์พื้นฐานสูตร C2D

Macronutrient	mg/L
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2 . 2H_2O$	-
$MgSO_4 .7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$Ca(NO_3).4H2O$	709
Micronutrient	
H_3Bo_3	6.2
$MnSO_4 . 4H_2O$	0.845
KI	-
$ZnSO_4 . 7H_2O$	8.6
$Na_2MoO_4 . 2H_2O$	0. 25
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.025
$CoCl_2 6H_2O$	0.025
Fe-EDTA	
$FeSO_4 . 7H_2O$	27.8
Na_2EDTA	37.3

ที่มา Chee and Pool (1982)

สูตรอาหาร WPM

องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์พื้นฐานสูตร WPM

Macronutrient	mg/L
NH_4NO_3	400
KNO_3	-
$CaCl_2$. $2H_2O$	72.5
$MgSO_4$.$7H_2O$	180.7
KH_2PO_4	170
$Ca(NO_3).4H2O$	386
Micronutrient	
H_3Bo_3	6.2
$MnSO_4$. $4H_2O$	22.3
KI	-
$ZnSO_4$. $7H_2O$	8.6
Na_2MoO_4 . $2H_2O$	0. 25
$CuSO_4$. $5H_2O$	0. 25
$CoCl_2$ $6H_2O$	-
K_2SO_4	999
Fe-EDTA	

$FeSO_4 . 7H_2O$	27.5
Na_2EDTA	37.3

ที่มา Lloyd and McCOWN (1981)

ชื่อการทดลองที่ 20: เทคนิคการขยายพันธุ์นรีรัตน์ (Petrocosmea pubescence) พืชถิ่นเดียวของไทยในสภาพปลอดเชื้อ

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของนรีรัตน์ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน BA และ IBA เป็นเวลานาน 3 เดือน โดยใช้ค่า Transformed to Sqr(X+0.5)

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	14	20.26475425	1.44748245	1.37 ns
CYTO (C)	4	5.15703249	1.28925812	1.22 ns
AUX (A)	2	8.52105902	4.26052951	4.04 *
CxA	8	6.58666274	0.82333284	‹ 1
ERROR	45	47.40066734	1.05334816	
TOTAL	59	67.66542160		

* = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ชื่อการทดลองที่ 21: เทคนิคการขยายพันธุ์ชาฤาษีดอยตุง (Paraboea doitungensis) ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดเมื่อใช้ใบของต้นชาฤาษีดอยตุงเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน โดยใช้ค่า Transformed to Arcsine(Sqr(X/100)

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	15	417.878352	27.858557	3.27 **
NAA (A)	3	88.762809	29.587603	3.47 *
BA (B)	3	120.205986	40.068662	4.70 **
A×B	9	208.909557	23.212173	2.72 **

ERROR	80	682.596169	8.532452	
TOTAL	95	1100.474520		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.05}$

ตารางภาคผนวกที่ 2 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดของความสูงของยอดที่สมบูรณ์เมื่อใช้ใบของต้นชาฤษีดอยตุงเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	15	29.46739583	1.96449306	5.97 **
NAA (A)	3	8.15197917	2.71732639	8.25 **
BA (B)	3	12.07031250	4.02343750	12.22 **
A×B	9	9.24510417	1.02723380	3.12 **
ERROR	80	26.33500000	0.32918750	
TOTAL	95	55.80239583		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$

ตารางภาคผนวกที่ 3 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อเมื่อใช้ใบของต้นชาฤษีดอยตุงเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA และ BA เป็นเวลานาน 6 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	15	32.01958333	2.13463889	4.96 **
NAA (A)	3	10.62208333	3.54069444	8.23 **
BA (B)	3	4.65541667	1.55180556	3.61 *
A×B	9	16.74208333	1.86023148	4.32 **
ERROR	80	34.41000000	0.43012500	
TOTAL	95	66.42958333		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.05}$

ตารางภาคผนวกที่ 6 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากเมื่อใช้ยอดของต้นชาฤษีดอยตุงเลี้ยงบนสูตรอาหารปรับลดปริมาณ MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA เป็นเวลานาน 3 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	7	912.153295	130.307614	3.48 **
AUX (A)	3	33.258877	11.086292	$<1^{ns}$

MS (B)	1	792.964426	792.964426	21.17 **
AxB	3	85.929993	28.643331	<1 ^{ns}
ERROR	32	1198.718508	37.459953	
TOTAL	39	2110.871803		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 7 ข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากเมื่อใช้ยอดของต้นชาฤๅษีดอยตุงเลี้ยงบนสูตรอาหารปรับลดปริมาณ MS ร่วมกับการเติมฮอร์โมน NAA เป็นเวลานาน 3 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
TREATMENT	7	285.4960000	40.7851429	2.70 *
AUX (A)	3	50.3160000	16.7720000	1.11 ^{ns}
MS (B)	1	142.1290000	142.1290000	9.42 **
AxB	3	93.0510000	31.0170000	2.06 ^{ns}
ERROR	32	482.6880000	15.0840000	
TOTAL	39	768.1840000		

** = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.01}$; * = ต่างกันทางสถิติโดยเทียบกับ LSD $_{.05}$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ชื่อการทดลองที่ 22: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ปอแก้วและปอคิวบาในสภาพเยือกแข็ง

ภาคผนวก

การทดลองที่ 1: ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็ง

<u>การทดลองย่อยที่ 1</u> การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตารางผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	100	33	1.86 ns
VARIETY (V)	2	511	255	14.34 **
ERROR (a)	6	107	18	
MOISTURE (M)	3	580	193	9.36 **
VxM	6	384	64	3.10 *
ERROR (b)	27	558	21	
TIME (T)	1	29	29	1.19 ns
VxT	2	246	123	5.08 *
MxT	3	649	216	8.96 **
VxMxT	6	372	62	2.57 *
ERROR (c)	36	870	24	
TOTAL	95	4405		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ * = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยโดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) จำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	12.2	4.1	<1
VARIETY (V)	2	139.1	69.5	9.68 *
ERROR (a)	6	43.1	7.2	
MOISTURE (M)	3	0.9	0.3	<1
VxM	6	50.6	8.4	<1

ERROR (b)	27	244.8	9.1	
TIME (T)	1	0.1	0.1	<1
VxT	2	7.8	3.9	<1
MxT	3	105.6	35.2	5.23 **
VxMxT	6	20.9	3.5	<1
ERROR (c)	36	242.1	6.7	
TOTAL	95	867.2		

cv(a) = 2.8%; cv(b) = 3.2%; cv(c) = 2.7%

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.0

<u>การทดลองย่อยที่ 2</u> การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	35	12	<1
VARIETY (V)	2	196	98	5.10 ns
ERROR (a)	6	115	19	
MOISTURE (M)	3	266	89	5.13 **
VxM	6	32	5	<1
ERROR (b)	27	466	17	
TIME (T)	1	195	195	13.58 **
VxT	2	17	8	<1
MxT	3	290	97	6.72 **
VxMxT	6	186	31	2.16 ns
ERROR (c)	36	518	14	
TOTAL	95	2316		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยโดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) จำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0 และ 7 วัน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	85	28	2.25 ns
VARIETY (V)	2	363	181	14.41 **
ERROR (a)	6	76	13	
MOISTURE (M)	3	42	14	<1
VxM	6	57	9	<1
ERROR (b)	27	602	22	
TIME (T)	1	7	7	<1
VxT	2	86	43	1.40 ns
MxT	3	134	45	1.44 ns
VxMxT	6	43	7	<1
ERROR (c)	36	1112	31	
TOTAL	95	2606		

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยจำนวน 3 พันธุ์ ที่ระยะเวลาต่างๆ ภายในสภาพเยือกแข็ง

<u>การทดลองย่อยที่ 1</u> การเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทย จำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	106	35	3.83 ns
VARIETY (V)	2	46	23	2.48 ns
ERROR (a)	6	55	9	
MOISTURE (M)	3	1405	468	24.15 **
VxM	6	639	107	5.49 **
ERROR (b)	27	524	19	
TIME (T)	2	875	438	16.46 **
VxT	4	313	78	2.94 *

MxT	6	584	97	3.66 **
VxMxT	12	827	69	2.59 **
ERROR (c)	72	1915	27	
TOTAL	143	7289		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ * = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยโดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) จำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	117	39	1.52 ns
VARIETY (V)	2	521	260	10.15 *
ERROR (a)	6	154	26	
MOISTURE (M)	3	681	227	7.13 **
VxM	6	315	53	1.65 ns
ERROR (b)	27	859	32	
TIME (T)	2	1109	555	18.24 **
VxT	4	957	239	7.87 **
MxT	6	905	151	4.96 **
VxMxT	12	721	60	1.98 *
ERROR (c)	72	2189	30	
TOTAL	143	8527		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ * = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

<u>การทดลองย่อยที่ 2</u> การเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไ ท ย จำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	29	10	<1

VARIETY (V)	2	695	348	14.98 **
ERROR (a)	6	139	23	
NOISTURE (M)	3	221	74	6.43 **
VxM	6	495	82	7.19 **
ERROR (b)	27	310	11	
TIME (T)	2	463	232	13.00 **
VxT	4	160	40	2.24 ns
MxT	6	128	21	1.19 ns
VxMxT	12	391	33	1.83 ns
ERROR (c)	72	1283	18	
TOTAL	143	4314		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยโดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (Accelerated Aging Test -AA test) จำนวน 3 พันธุ์ ที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 6 และ 12 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	64	21	1.51 ns
VARIETY (V)	2	149	74	5.31 *
ERROR (a)	6	84	14	
NOISTURE (M)	3	574	191	10.63 **
VxM	6	404	67	3.74 **
ERROR (b)	27	486	18	
TIME (T)	2	558	279	24.42 **
VxT	4	40	10	<1
MxT	6	532	89	7.76 **
VxMxT	12	512	43	3.74 **
ERROR (c)	72	822	11	
TOTAL	143	4225		

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ * = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01

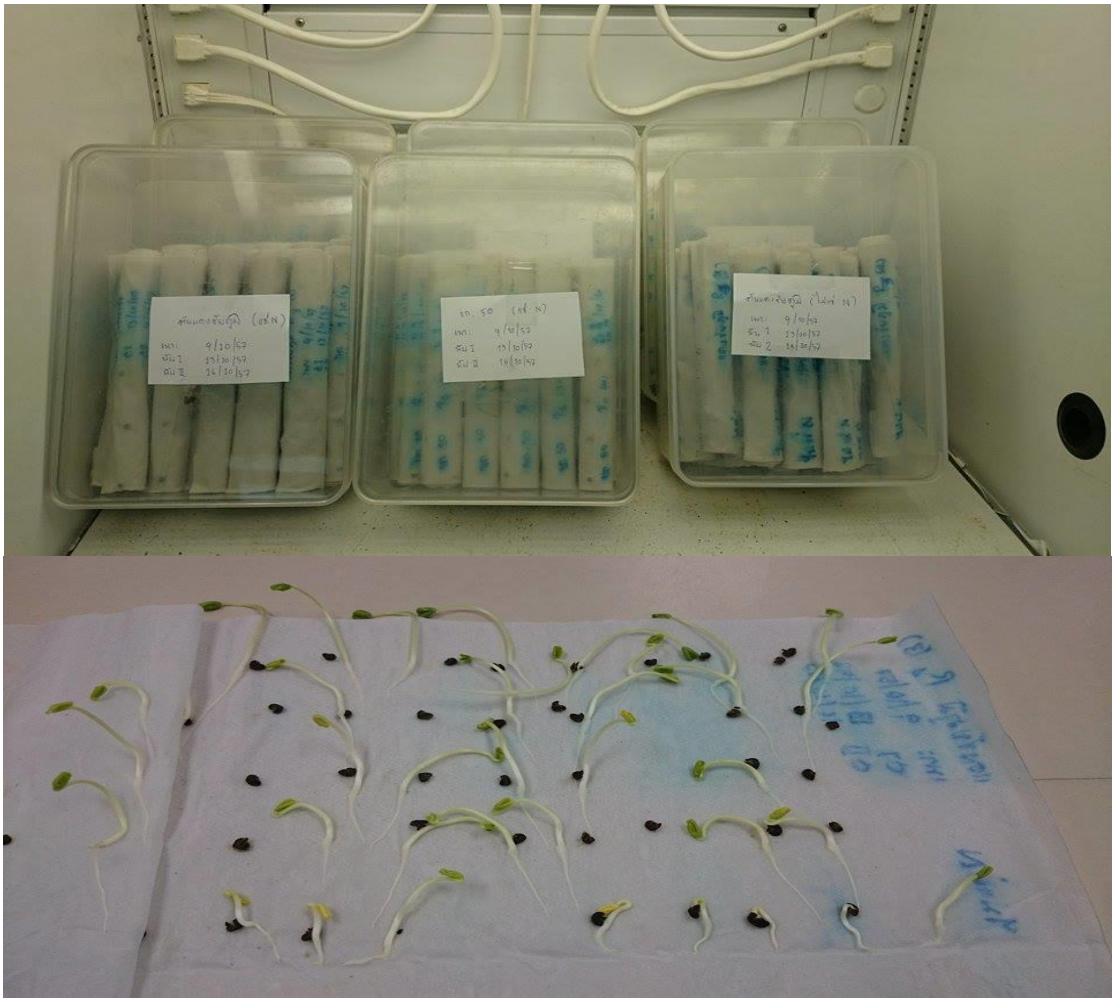
ภาพผนวกที่ 1 ปอแก้วไทยพันธุ์ขอนแก่น 50 (ขก.50)

ภาพผนวกที่ 2 ปอแก้วไทยพันธุ์โนนสูง 2

ภาพผนวกที่ 3 ปอแก้วไทยพันธุ์ต้นแดงชัยภูมิ

ภาพผนวกที่ 4 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยในสภาพเยือกแข็ง

ภาพผนวกที่ 5 การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยโดยใช้วิธีอบความร้อน



ภาพผนวกที่ 6 การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยโดยใช้วิธีระหว่างกระดาษเพาะ (BP)

ภาพผนวกที่ 7 การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ปอแก้วไทยโดยใช้วิธีเร่งอายุ (AA Test)

ชื่อการทดลองที่ 23: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนในสภาพเยือกแข็ง

ภาคผนวก

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

การทดลองที่1 ศึกษาระดับความชื้นในเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 7 วัน

Combined Analysis of Variance for Germination Test

SV	DF	SS	MS	F
Storage(S)	1	0	0	<1
Rep Within S	6	17	3	
Moisture (M)	7	139	20	3.89**
SxM	7	56	8	1.58^{ns}
Pooled Error(a)	42	214	5	
Time (T)	1	162	162	29.04**
SxT	1	0	0	<1
MxT	7	44	6	1.14^{ns}
SxMxT	7	55	8	1.40^{ns}
Pooled Error(b)	48	268	6	
Total	127	956		

C.V. (a)= 2.4%, C.V.(b)= 2.5%

Analysis of Variance for AA Test

<u>สภาพเยือกแข็ง</u>

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	3	20	7	1.57^{ns}
Moisture (M)	7	114	16	3.74**
Error(a)	21	91	4	
Time (T)	1	70	70	19.66**
MxT	7	91	13	3.63**
Error(b)	24	86	4	
Total	63	956		

C.V. (a)= 2.2%, C.V.(b)= 2.0%

<u>สภาพอุณหภูมิห้อง</u>

SV	DF	SS	MS	F
Replication (R)	3	38	13	1.23^{ns}
Moisture (M)	7	237	34	3.31*
Error(a)	21	215	10	
Time (T)	1	248	248	23.60**
MxT	7	36	5	<1
Error(b)	24	252	11	
Total	63	1025		

C.V. (a)= 3.4%, C.V.(b)= 3.5%

การทดลองที่2 ศึกษาผลของการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์งาขี้ม้อนที่ระยะเวลา 0 ,6 และ 12 เดือน ภายใต้สภาพเยือกแข็ง

Combined Analysis of Variance for Germination Test

SV	DF	SS	MS	F
Storage(S)	1	46875	46875	1830.51**
Rep Within S	6	154	26	
Moisture (M)	7	47901	6843	650.20**
SxM	7	37099	5300	503.58**
Pooled Error(a)	42	442	11	
Time (T)	2	28027	14013	1775.17**
SxT	2	23371	11658	1480.25**
MxT	14	20314	1451	183.81**
SxMxT	14	20270	1448	183.41**
Pooled Error(b)	96	758	8	
Total	191	225209		

C.V. (a)= 4.3%, C.V.(b)= 3.7%

Combined Analysis of Variance for AA Test

SV	DF	SS	MS	F
Storage(S)	1	42930	42930	2166.27**
Rep Within S	6	119	20	
Moisture (M)	7	71178	10168	512.78**
SxM	7	30378	4340	218.85**
Pooled Error(a)	42	833	20	
Time (T)	2	13789	6894	303.33**
SxT	2	22497	11249	494.90**
MxT	14	16875	1205	53.03**
SxMxT	14	19338	1381	60.77**
Pooled Error(b)	96	2182	23	
Total	191	220120		

C.V. (a)= 6.3%, C.V.(b)= 6.8%

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

**= แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

^{ns}= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ชื่อการทดลองที่ 24: เทคนิคการเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์พืชน้ำมัน (ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) ในสภาพเยือกแข็ง

<u>การทดลองที่ 1</u>

<u>ถั่วเหลือง</u> :

ตารางที่ 1 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N_2)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	76	25	<1
MOISTURE (M)	3	1475	492	16.95**
ERROR (a)	9	261	29	
VARIETY (V)	8	3351	419	14.19**
MxV	24	1717	72	2.42**
ERROR (b)	96	2834	30	
TOTAL	143	9714		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N_2)

MOISTURE (M)	VARIETY (V)								
	อุตส่าห์เอ	ถั่วเน่า	ผาบ่อง7	เชียงใหม่6	เชียงใหม่60	สจ.5	AGS292	เชียงใหม่1	เชียงใหม่84-2
10%	97a	99a	97ab	94b	100a	100a	96a	98a	97a
8%	99a	97a	97ab	100a	100a	99ab	91a	96a	97a
6%	99a	96a	98a	100a	100a	99ab	94a	98a	97a
4%	99a	94a	92b	99a	100a	97b	73b	86b	82b
V-MEAN	99	96	96	98	100	99	88	94	93

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N2) (AA-TEST)

SV	DF	SS	MS	F

REPLICATION (R)	3	118	39	2.82ns
MOISTURE (M)	3	365	122	8.74**
ERROR (a)	9	125	14	
VARIETY (V)	8	3751	469	18.67**
MxV	24	1773	74	2.94**
ERROR (b)	96	2411	25	
TOTAL	143			

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N2) (AA-TEST)

MOISTURE (M)	VARIETY (V)								
	อุตส่าห์เอ	ถั่วเน่า	ผาบ่อง7	เชียงใหม่6	เชียงใหม่60	สจ.5	AGS292	เชียงใหม่1	เชียงใหม่84-2
10%	100a	99a	97a	99ab	100a	99a	95a	94a	97a
8%	99a	99a	96a	100a	100a	99a	97a	97a	99a
6%	100a	97a	98a	99ab	100a	100a	92a	95a	96a
4%	100a	98a	97a	97b	100a	100a	72b	94a	89b
V-MEAN	100	98	97	99	100a	99	89	95	95

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	33	11	3.64ns
MOISTURE (M)	3	11798	3933	1302.42**
ERROR (a)	9	27	3	
VARIETY (V)	8	9568	1196	108.59**
MxV	24	3666	153	13.87**
ERROR (b)	96	1057	11	
TOTAL	143	26149		

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; * = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2)

MOISTURE (M)	VARIETY (V)								
	อุตส่าห์เอ	ถั่วเน่า	ผาบ่อง7	เชียงใหม่6	เชียงใหม่60	สจ.5	AGS292	เชียงใหม่1	เชียงใหม่84-2
10%	70a	90a	81a	61b	84a	70a	34b	58a	85a
8%	70a	82b	82a	66ab	63b	47b	38b	42b	77b
6%	62b	70c	69b	72a	70b	48b	57a	54a	77b
4%	47c	70c	52c	26c	35c	17c	12c	18c	18c
V-MEAN	62	78	71	56	63	45	35	43	64

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 7 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2) (AA-TEST)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	8	3	<1
MOISTURE (M)	8	6112	2037	195.11**
ERROR (a)	9	94	10	
VARIETY (V)	8	12224	1528	183.50**
MxV	24	3580	149	17.91**
ERROR (b)	96	799	8	
TOTAL	143	22817		

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; * = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2) (AA-TEST)

MOISTURE (M)	VARIETY (V)								
	อุตส่าห์เอ	ถั่วเน่า	ผาบ่อง7	เชียงใหม่6	เชียงใหม่60	สจ.5	AGS292	เชียงใหม่1	เชียงใหม่84-2
10%	71a	81a	81a	55b	79a	65a	35a	39ab	75a
8%	71a	78a	73b	49b	69b	42b	36a	32b	57b
6%	63b	70b	52d	64a	65b	41b	39a	40a	79a
4%	65ab	68b	62c	25c	39c	22c	8b	18c	21c
V-MEAN	67	74	67	48	63	43	30	32	58

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 9 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 7 วัน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	64	21	1.05ns
MOISTURE (M)	3	10606	3535	172.76**
ERROR (a)	9	184	20	
VARIETY (V)	8	8392	1049	44.81**
MxV	24	3749	156	6.67**
ERROR (b)	96	2247	23	
DAY (D)	1	69134	69134	4166.56**
MxD	3	2667	889	53.58**
VxD	8	4526	566	34.10**
MxVxD	24	1635	68	4.11**
ERROR (c)	108	1792	17	
TOTAL	287	104997		

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; * = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 7 วัน

พันธุ์	ระยะเวลาในการแช่		V-MEAN	DIFF
	0 วัน	7 วัน		
ความชื้น 10%				
อุตสาหะ-เอ	97bc	70c	84	27**
ถั่วเน่า	99ab	90c	94	9**
ผาบ่อง7	97bc	81b	89	16**
เชียงใหม่6	94c	61cd	77	34**
เชียงใหม่60	100a	84ab	92	16**
สจ.5	100a	70c	85	30**
AGS292	96bc	34e	65	61**
เชียงใหม่1	98bc	58d	78	40**
เชียงใหม่84-2	97bc	85ab	91	12**
ความชื้น 8%				
อุตสาหะ-เอ	99ab	70bc	85	30**
ถั่วเน่า	97bc	82a	90	16**
ผาบ่อง7	97bc	82a	89	15**
เชียงใหม่6	100a	66c	83	34**
เชียงใหม่60	100a	63c	81	37**
สจ.5	99abc	47d	73	52**
AGS292	91d	38d	64	53**
เชียงใหม่1	96cd	42d	69	54**

เชียงใหม่84-2	97bc	77ab	87	20**
ความชื้น 6%				
อุตสาหะ-เอ	99abc	62bc	81	38**
ถั่วเน่า	96d	70ab	83	26**
ผาบ่อง7	98bcd	69ab	84	29**
เชียงใหม่6	100ab	72ab	86	28**
เชียงใหม่60	100a	70ab	85	30**
สจ.5	99bcd	48d	73	51**
AGS292	94d	57cd	75	38**
เชียงใหม่1	98bcd	54cd	76	44**
เชียงใหม่84-2	97cd	77a	87	20**
ความชื้น 4%				
อุตสาหะ-เอ	99ab	47b	73	52**
ถั่วเน่า	94c	70a	82	24**
ผาบ่อง7	92cd	52b	72	40**
เชียงใหม่6	99ab	26cd	63	73**
เชียงใหม่60	100a	35c	67	65**
สจ.5	97bc	17de	57	80**
AGS292	73f	12e	42	60**
เชียงใหม่1	86de	18de	52	68**
เชียงใหม่84-2	82e	18de	50	65**
D-MEAN	96	57	77	39

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$;

ตารางที่ 11 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 7 วัน (AA-TEST)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	81	27	1.78ns
MOISTURE (M)	3	4395	1465	96.23**
ERROR (a)	9	137	15	
VARIETY (V)	8	11847	1481	92.14**
MxV	24	3259	136	8.45**
ERROR (b)	96	1543	16	
DAY (D)	1	88263	88263	5312.85**
MxD	3	2081	694	41.75**
VxD	8	4129	516	31.06**
MxVxD	24	2094	87	5.25**
ERROR (c)	108	1794	17	
TOTAL	287	119624		

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$; * = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.05}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 7 วัน (AA-TEST)

พันธุ์	ระยะเวลาในการแช่		M-MEAN	DIFF
	0 วัน	7 วัน		
ความชื้น 10%				
อุตสาหะ-เอ	100a	71bc	85	29**
ถั่วเน่า	99ab	81a	90	18**
ผาบ่อง7	97bc	81a	89	16**
เชียงใหม่6	99ab	55d	77	44**
เชียงใหม่60	100a	79ab	89	20**

สจ.5	99ab	65c	82	34**
AGS292	95c	35e	65	60**
เชียงใหม่1	94c	39e	67	55**
เชียงใหม่84-2	97bc	75abc	86	22**
ความชื้น 8%				
อุตสาหะ-เอ	99ab	71ab	85	29**
ถั่วเน่า	99ab	78a	89	21**
ผาบ่อง7	96c	73ab	84	23**
เชียงใหม่6	100a	49cd	74	51**
เชียงใหม่60	100a	69b	84	31**
สจ.5	99abc	42de	70	57**
AGS292	97bc	36e	67	61**
เชียงใหม่1	97bc	32e	65	65**
เชียงใหม่84-2	99abc	57e	78	42**
ความชื้น 6%				
อุตสาหะ-เอ	100a	63b	82	37**
ถั่วเน่า	97cd	70b	84	27**
ผาบ่อง7	98bcd	52c	75	46**
เชียงใหม่6	99abc	64b	82	36**
เชียงใหม่60	100a	65b	82	35**
สจ.5	100ab	41d	70	59**
AGS292	92e	39d	66	53**
เชียงใหม่1	95de	40d	68	55**
เชียงใหม่84-2	96de	79a	88	17**
ความชื้น 4%				
อุตสาหะ-เอ	100a	65a	83	35**
ถั่วเน่า	98b	68a	83	30**
ผาบ่อง7	97bc	62a	79	35**
เชียงใหม่6	97bc	25c	61	71**
เชียงใหม่60	100a	39b	69	61**
สจ.5	100a	22c	61	78**
AGS292	72e	8d	40	64**
เชียงใหม่1	94cd	18c	56	76**
เชียงใหม่84-2	89d	21c	55	68**
D-MEAN	97	53	75	43

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%,

** = แตกต่างกันโดยเทียบกับ $LSD_{.01}$;

ถั่วลิสง :

ตารางที่ 13 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N_2)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	16	5	<1
VARIETY (V)	8	14131	1766	148.86**
ERROR (a)	24	283	12	
MOISTURE (M)	1	1949	1949	203.65**
VxM	8	975	122	12.73**
ERROR (b)	27	258	10	
TOTAL	71	17612		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N_2)

VARIETY (V)	MOISTURE (M)			
	4%	6%	V-MEAN	DIFF
ขอนแก่น แดง	72c	45d	58	27**
ไทนาน9	84b	86a	85	1ns
ขอนแก่น5	62d	68b	65	6ns
ขอนแก่น84-7	72c	45d	58	27**
ขอนแก่น84-8	79bc	60c	70	19**
KKFCRC49-80-3	12e	4e	8	8**
DOAG No.1514	72c	42d	57	30**
DOAG No.1369	90a	74b	82	16**
DOAG No.1355	80b	55c	67	26**
M-MEAN	69	53	61	16

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 15 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N_2) (AA-TEST)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	63	21	<1
VARIETY (V)	8	12892	1611	60.09**
ERROR (a)	24	644	27	
MOISTURE (M)	1	82	82	4.91**
VxM	8	1441	180	10.77**
ERROR (b)	27	452	17	
TOTAL	71	15574		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ไม่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (Non-N_2) (AA-TEST)

VARIETY (V)	MOISTURE (M)			
	4%	6%	V-MEAN	DIFF
ขอนแก่น แดง	65cd	81b	73	16**
ไทนาน9	77b	56c	67	21**
ขอนแก่น5	75bc	77b	76	2ns
ขอนแก่น84-7	61d	71b	66	9ns
ขอนแก่น84-8	98a	80b	89	18**
KKFCRC49-80-3	25e	36d	30	11**
DOAG No.1514	72bcd	56c	64	16**
DOAG No.1369	93a	93a	93	0ns
DOAG No.1355	98a	96a	97	2ns
M-MEAN	74	72	73	2

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 17 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	1	0	<1
VARIETY (V)	8	15164	1896	123.61**
ERROR (a)	24	368	15	
MOISTURE (M)	1	17211	17211	626.48**
VxM	8	2812	352	12.80**
ERROR (b)	27	742	27	
TOTAL	71	36298		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2)

VARIETY (V)	MOISTURE (M)			
	4%	6%	V-MEAN	DIFF
ขอนแก่น แดง	58e	13cd	35	45**
ไทนาน9	89a	14cd	51	75**
ขอนแก่น5	68de	11d	40	57**
ขอนแก่น84-7	78bcd	22bc	50	56**
ขอนแก่น84-8	80abc	38a	59	41**
KKFCRC49-80-3	0f	0e	0	0ns

DOAG No.1514	82abc	16bcd	49	65**
DOAG No.1369	88ab	25b	56	63**
DOAG No.1355	77cd	40a	58	37**
M-MEAN	69	20	44	49

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 19 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2) (AA-TEST)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	11	4	1.02ns
VARIETY (V)	8	10535	1317	354.07**
ERROR (a)	24	89	4	
MOISTURE (M)	1	34	34	3.79ns
VxM	8	9262	1158	127.84**
ERROR (b)	27	245	9	
TOTAL	71	20177		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านสภาพเยือกแข็ง (N_2) (AA-TEST)

VARIETY (V)	MOISTURE (M)			
	4%	6%	V-MEAN	DIFF
ขอนแก่น แดง	0f	46b	23	46**
ไทนาน9	39c	60a	49	21**
ขอนแก่น5	28d	33d	31	4ns
ขอนแก่น84-7	44bc	18e	31	26**
ขอนแก่น84-8	52a	0h	26	52**
KKFCRC49-80-3	0f	4g	2	4**
DOAG No.1514	19e	11f	15	8**
DOAG No.1369	49ab	39cd	44	10**
DOAG No.1355	52a	41bc	47	11**
M-MEAN	31	28	30	4

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<u>การทดลองที่ 2</u>

<u>ถั่วเหลือง</u> :

ตารางที่ 21 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	133	44	1.67ns

VARIETY (V)	8	6448	806	30.37**
ERROR (a)	24	637	27	
MOISTURE (M)	2	509	255	9.64**
VxM	16	1347	84	3.19**
ERROR (b)	54	1425	26	
TIME (T)	2	105005	52502	931.35**
VxT	16	4833	302	5.36**
MxT	4	147	37	<1
VxMxT	32	3364	105	1.86**
ERROR (c)	162	9132	56	
TOTAL	323	132980		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน

พันธุ์	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน)			V-MEAN
	0	6	12	
ความชื้น 10%				
อุตสาหะ-เอ	99ab	93ab	41a	77
ถั่วเน่า	93ab	88bc	47a	76
ผาบ่อง7	91bc	88bc	40a	73
เชียงใหม่6	98ab	92ab	38ab	76
เชียงใหม่60	99a	71d	45a	72
สจ.5	98ab	73d	39ab	70
AGS292	82c	68d	23b	58
เชียงใหม่1	97ab	79cd	32ab	69
เชียงใหม่84-2	99a	97a	35ab	77
ความชื้น 8%				
อุตสาหะ-เอ	99ab	98a	42b	80
ถั่วเน่า	91c	87bc	35b	71
ผาบ่อง7	93bc	85c	37b	72
เชียงใหม่6	100a	82cd	62a	81
เชียงใหม่60	99ab	95ab	38b	78
สจ.5	99ab	95ab	35b	77
AGS292	96abc	69de	32b	66
เชียงใหม่1	99ab	64e	31b	65
เชียงใหม่84-2	99ab	93abc	36b	76
ความชื้น 6%				
อุตสาหะ-เอ	98abc	99a	36b	78

ถั่วเน่า	94c	88bc	36b	73
ผาบ่อง7	96bc	86bc	40b	74
เชียงใหม่6	100a	88bc	64a	84
เชียงใหม่60	100ab	98a	41b	80
สจ.5	100a	95ab	39b	78
AGS292	90c	83c	33b	69
เชียงใหม่1	100ab	54d	30b	61
เชียงใหม่84-2	98abc	95ab	34b	76
T-MEAN	97	85	39	74

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 23 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน (AA-TEST)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	89	30	1.56ns
VARIETY (V)	8	8683	1085	57.24**
ERROR (a)	24	455	19	
MOISTURE (M)	2	425	213	11.24**
VxM	16	1462	91	4.83**
ERROR (b)	54	1022	19	
TIME (T)	2	127641	63821	2615.40**
VxT	16	6531	408	16.73**
MxT	4	993	248	10.17**
VxMxT	32	2339	73	3.00**
ERROR (c)	162	3953	24	
TOTAL	323	153594		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน (AA-TEST)

พันธุ์	**ระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน)**	**V-MEAN**

	0	6	12	
ความชื้น 10%				
อุตสาหะ-เอ	100a	75a	31ab	69
ถั่วเน่า	99a	82a	44a	75
ผาบ่อง7	83d	58b	34ab	58
เชียงใหม่6	98ab	58b	28b	62
เชียงใหม่60	100a	74a	36ab	70
สจ.5	98ab	53b	31ab	61
AGS292	90cd	46b	30b	56
เชียงใหม่1	88d	53b	34ab	58
เชียงใหม่84-2	95bc	74a	33ab	67
ความชื้น 8%				
อุตสาหะ-เอ	100a	83bc	29abc	71
ถั่วเน่า	99ab	97a	41a	79
ผาบ่อง7	96b	91b	30abc	72
เชียงใหม่6	100a	60d	27bc	62
เชียงใหม่60	100a	77c	35ab	70
สจ.5	100a	58d	24bc	61
AGS292	89c	55d	19c	54
เชียงใหม่1	99ab	28e	24bc	50
เชียงใหม่84-2	99ab	81c	33ab	71

พันธุ์	**ระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน)**			V-MEAN
	0	**6**	**12**	
ความชื้น 6%				
อุตสาหะ-เอ	99a	73bc	32ab	68
ถั่วเน่า	99ab	83ab	36ab	73
ผาบ่อง7	96bc	84a	34ab	71
เชียงใหม่6	100a	68c	28bc	65
เชียงใหม่60	100a	73bc	36ab	70
สจ.5	99a	41d	35ab	58
AGS292	95c	45d	21c	54
เชียงใหม่1	99a	42d	19c	54
เชียงใหม่84-2	100a	91a	43a	78
T-MEAN	97	67	31	65

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ถั่วลิสง :

ตารางที่ 25 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	73	24	3.17*
VARIETY (V)	8	25505	3188	413.78**
ERROR (a)	24	185	8	
TIME (T)	2	44	22	2.54ns
VxT	16	193	12	1.38ns
ERROR (b)	54	473	9	
TOTAL	107	26473		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 26 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	พันธุ์									T-MEAN
	ขอนแก่นแดง	ไทนาน9	ขอนแก่น5	ขอนแก่น 84-7	ขอนแก่น 84-8	KKFCRC 49-80-3	DOAG No.1514	DOAG No.1369	DOAG No.1355	
0	74a	85a	94a	66a	89ab	9b	85a	78b	90a	75ab
6	73a	84a	92a	67a	86b	16a	83a	80ab	87a	74b
12	73a	86a	94a	69a	92a	13ab	85a	85a	87a	76a
V-MEAN	73	85	93	67	89	13	84	81	88	75

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 27 ตาราง ANOVA ของค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน (AA-TEST)

SV	DF	SS	MS	F
REPLICATION (R)	3	9	3	<1
VARIETY (V)	8	22246	2781	291.00**
ERROR (a)	24	229	10	
TIME (T)	2	35	18	2.39ns

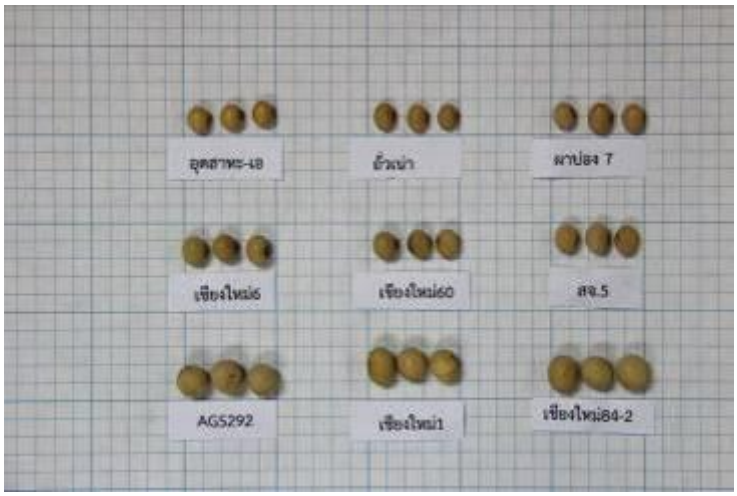
VxT	16	61	4	<1
ERROR (b)	54	398	7	
TOTAL	107	22979		

** = แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบกับ $LSD_{.01}$; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

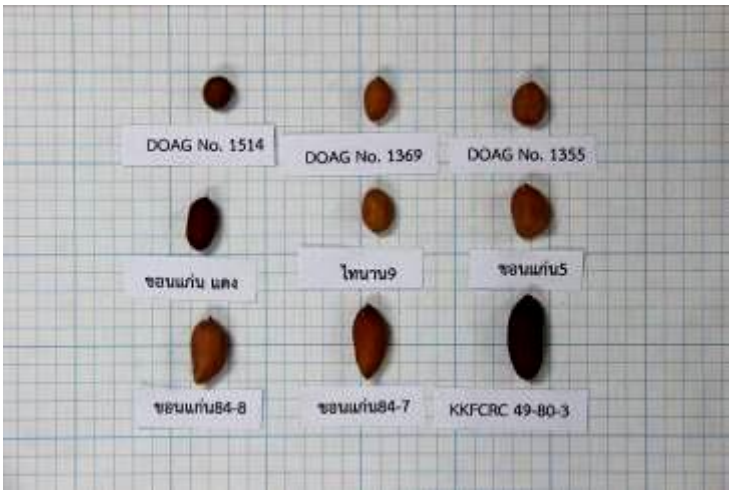
ตารางที่ 28 เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง 9 พันธุ์ ที่ระดับความชื้นต่างๆ ที่ผ่านการเก็บรักษาภายใต้สภาพเยือกแข็ง (N_2) เป็นระยะเวลานาน 0, 6 และ 12 เดือน (AA-TEST)

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	พันธุ์									T-MEAN
	ขอนแก่นแดง	ไทนาน9	ขอนแก่น5	ขอนแก่น 84-7	ขอนแก่น 84-8	KKFCRC 49-80-3	DOAG No.1514	DOAG No.1369	DOAG No.1355	
0	74a	64a	84a	77b	90a	13a	54a	76a	77a	68b
6	75a	64a	85a	84a	90a	12a	55a	76a	78a	69ab
12	77a	65a	86a	81ab	93a	13a	57a	75a	78a	69a
V-MEAN	75	64	85	81	91	13	55	76	77	69

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



รูปที่ 1 ลักษณะและขนาดของเมล็ดถั่วเหลืองทั้ง 9 พันธุ์



รูปที่ 2 ลักษณะและขนาดของเมล็ดถั่วลิสงทั้ง 9 พันธุ์

รูปที่ 3 การแตกหักของเมล็ดถั่วเหลืองภายหลังการแช่ไนโตรเจนเหลว