บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษา ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดและการเจริญเติบโตของยอดจากข้อส้มโอในสภาพหลอดแก้ว พบว่า ปัญหาใหญ่ที่สุดอย่างหนึ่ง คือ การปนเปื้อนจุลินทรีย์ เนื่องจากชิ้นส่วนพืชทดลองที่ใช้คือ ส่วนของยอดและข้อจากกิ่งอ่อน มีขนอ่อนปกคลุม เป็นที่กักเก็บฝุ่นละอองและเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ อีกทั้งลักษณะการเจริญของยอดอ่อนส้มโอเป็นยอดเปิดไม่มีสิ่งปกคลุมหรือกาบใบหุ้ม ทำให้เกิดการ ปนเปื้อนได้ง่ายและยากแก่การฆ่าเชื้อบริเวณผิว การใช้วิธีการต่างๆในการฆ่าเชื้อที่ผิว (Giladi et al, 1979) (ข้อมูลไม่นำเสนอ) ก็ไม่ช่วยลดการปนเปื้อน ซึ่งพบว่าในบางครั้งการปนเปื้อนมีถึง 100 % ปัญหาอีกประการหนึ่ง คือ ฤดูกาลที่ต้องตัดชิ้นส่วนพืชมาทดลองก็มีผลต่อการปนเปื้อนเช่นกัน กล่าวคือ ในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน ซึ่งมีการระบาดของศัตรูพืชมาก เช่น หนอนชอนใบ จึงทำให้เนื้อเยื่อสกปรก ทำให้เกิดการปนเปื้อนสูงในขณะที่ในฤดูหนาวเป็นช่วงโอกาสที่เหมาะสำหรับการนำกิ่งอ่อนส้มโอมาทดลองแม้จำนวนกิ่งอ่อนมีน้อย เนื่องจากสภาพอากาศที่หนาวเย็นทำให้ส้มโอมีการเจริญเติบโตน้อยก็ตาม แต่เป็นช่วงที่มีการปนเปื้อนลดลงได้ต่ำที่สุด 60 % ซึ่งน้อยกว่าช่วงฤดูอื่นๆ ที่มีการปนเปื้อนถึง 100 %

การลดปัญหาของการปนเปื้อนอาจทำได้โดยการใช้ ultrasonic cleaner ในระหว่างที่มีการฆ่าเชื้อที่ผิว ซึ่งประสิทธิ์ (2520) อ้างว่า ช่วยลดการปนเปื้อนเหลือเพียง 1-2 %

จากการศึกษาในครั้งนี้ สามารถแบ่งกลุ่มปัจจัยทดลองได้ 3 กลุ่มดังนี้

1. การศึกษาเกี่ยวกับพืช

1.1 พันธุ์

การเลี้ยงข้อส้มโอพันธุ์ต่างๆ ในสภาพหลอดแก้ว พบว่า พันธุ์ส้มโอมีผลต่อการเกิดและการพัฒนาของยอดใหม่(Shengeliya and Butenko,1988) กล่าวคือลักษณะและการพัฒนาของยอดใหม่จะสอดคล้องกับลักษณะพันธุ์ที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ และพันธุ์เหล่านั้นจะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอบสนองต่อสารเร่งการเจริญเติบโตในปริมาณที่ต่างกัน (Starrantino and Caruso, 1989a ; 1989b) เช่นเดียวกับที่ Gmitter and Moore (1986) และ Moore (1985) พบว่าการเกิด embryoid นั้นขึ้นอยู่กับพันธุ์ ในการทดลองครั้งนี้พบว่ามีผลไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ ส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ที่ใช้ในการทดลองเมื่อปลูกในไร่ มีขนาดของทรงพุ่มกว้าง โปร่ง ขนาดใบใหญ่ ปีกใบกว้าง ปลายใบแหลม ยอดใหม่ที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อก็มีความยาวยอด 3.95 มม มีขนาดของใบใหญ่ ใบมีความกว้างและความยาว 2.40 และ 9.60 มม ตาม ลำดับ ซึ่งเป็นยอดที่มีขนาดใหญ่กว่ายอดที่ได้จากพันธุ์ปลูกอื่นๆ ที่เป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมปลูกอยู่ ไม่ว่าจะเป็นพันธุ์ขาวพวง ขาวแป้นหรือขาวทองดีก็ตาม แต่พันธุ์ขาวใหญ่นั้นมีการหลุดร่วงของใบสูงถึง 50 % ของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยงเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวทองดี ซึ่งแม้ว่าจะมีขนาดยอดใหม่ ขนาดใบ เล็กกว่าก็ตามแต่ก็ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และมีการหลุดร่วงเพียง 24% ในส้มโอพันธุ์พื้นเมือง 2 แม้จะไม่มีการหลุดร่วงเกิดขึ้นเลย แต่ ขนาดยอดและใบที่ได้ก็มีขนาดเล็ก และเป็นพันธุ์ที่ไม่นิยมรับประทาน ส่วนส้มโอพันธุ์ขาวแป้น ขนาดของยอดและใบมีขนาดเล็ก เช่นเดียวกันกับในสภาพแปลงปลูกเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ปลูกอื่นๆ

จำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้นในการทดลองนี้อยู่ในช่วง 1.00-1.50 ยอด/ข้อ จากจำนวนตาที่มีอยู่เดิม 2.00-2.40 ตา/ข้อ ตาเหล่านี้ตามธรรมชาติก็มิได้เจริญเป็นยอดทั้งหมด จำนวนยอดที่ได้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ (Kitto and Young, 1981 ; Liu, 1985 ; Moore, 1986) และลักษณะของการข่มยอด(shoot dominance) ของพันธุ์นั้นๆ โดยจะมียอดเพียงยอดเดียวที่มีการเจริญยืดยาวขณะที่ตาและยอดที่เหลือจะมีการเจริญเพียงเล็กน้อย ยอดและตาเหล่านี้จะเจริญได้ก็ต่อเมื่อมีการตัดแยกเอายอดที่เจริญกว่านั้นออกไป (Barlass and Skene, 1982 ; Duran-Vila et al, 1989) การเกิดหลายยอดอาจส่งผลให้เกิดการหลุดร่วงได้เนื่องจากการแก่งแย่งอาหาร (Zhu et al, 1990)

1.2 ตำแหน่งข้อ

การเลี้ยงข้อในตำแหน่งที่ต่างกันนั้น พบว่า ส่วนที่มาจากตายอดมีการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เจริญเติบโต ขณะที่ข้อมีการแตกตาเป็นยอดขนาดเล็กและยอดเหล่านี้จะเจริญเติบโตต่อไปได้เมื่อทำการตัดแยกแต่ละข้อออกจากส่วนยอด เพื่อทำลายลักษณะการข่มยอด จึงจะทำให้การเกิดจำนวนยอดในแต่ละข้อเท่ากับจำนวนตาที่มีอยู่

ตำแหน่งข้อที่ต่างกัน ทำให้ยอดใหม่ที่ได้มีขนาดและระยะการเจริญเติบโตต่าง กัน ข้อในตำแหน่งที่ใกล้ยอดกล่าวได้ว่าเป็นส่วนที่อ่อนกว่า ข้อในตำแหน่งที่ไกลจากยอด ข้อส่วนบนตำแหน่งที่ 1-3 มีความยาวยอดรวมอยู่ในช่วง 2-3.50 มม ขณะที่ข้อส่วนล่าง ตำแหน่งที่ 4-9 มีความยาวยอดรวมในช่วง 5.11-6.55 มม เพราะส่วนของข้อล่างมีขนาดของข้อใหญ่กว่าคือกว้างกว่า แม้จะตัดขนาดข้อให้มีความยาวข้อละ 5 มม เท่าๆ กันก็ตาม ทำให้ปริมาณอาหารสะสม พื้นที่สัมผัสอาหารมีมากกว่าข้อส่วนบน ส่งผลให้ยอดที่เกิดใหม่มีขนาดและการพัฒนาที่มากกว่า (Shengeliya and Butenko, 1986)

จำนวนตาที่เกิดขึ้นแตกต่างกันไปตามอายุของพืช เพราะเนื้อเยื่อพืชที่มีอายุต่างกันต้องการสารกระตุ้นการเจริญในปริมาณที่ต่างกัน (Bouzid, 1976 ; Liu, 1986 ; Barlass and Skene, 1982) ข้อส่วนบน นอกจากตาบริเวณข้อแล้ว ส่วนของปลายหนามก็มีการเจริญเป็นตาและพัฒนาเป็นยอดได้ จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาเห็นได้ว่า ส่วนของปลายหนามบนข้อที่อ่อนกว่า มีลักษณะเป็นตาที่อ่อนมาก (bud primordia) อยู่ เมื่อได้รับอาหารและ/หรือสารควบคุมการเจริญที่เหมาะสม ตาที่อ่อนมากๆ เหล่านี้จึงมีการเจริญและพัฒนาเป็นตาและยอดขึ้น เช่นเดียวกับที่ Altman and Goren (1978) พบการเกิดตา (adventitious bud) บน prophyll ที่หุ้มตา

การหลุดร่วงของยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อจากตำแหน่งที่ต่างกัน ยอดบนข้อล่างมีการหลุดร่วงได้มากกว่ายอดบนข้อบน หรือกล่าวได้ว่าเนื้อเยื่อที่แก่กว่าจะง่ายต่อการหลุดร่วงมากกว่าเนื้อเยื่อที่อ่อนกว่า ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะเมื่อทำการตัดชิ้นส่วนพืชแล้ว ทำให้เกิดบาดแผล ซึ่งจะชักนำการสร้าง ACC synthase (1-amino cyclopane-1-carboxylic acid) และกระตุ้นการทำงานของ EFE (ethylene forming enzyme) เนื้อเยื่อจึงมีการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สร้างเอทธิลีนขึ้น (Yu and Yang, 1980 ; Even-Chen et al, 1982 ; Zacarias et al, 1990) เนื้อเยื่อที่แก่กว่าจะตอบสนองได้ดีกับเอทธิลีน และทำให้เกิดการหลุดร่วงขึ้น (Hyodo and Nishino, 1981 ; Riov et al, 1990) แต่ Taha and Stino (1982) พบว่าเมื่อให้ thidiazuron 50-2000 สตล แก่ยอดส้มเปรี้ยวที่มีอายุต่างกัน เมื่อเลี้ยงในสภาพหลอดแก้วทำให้ก้านใบร่วงได้ถึง 100 % เมื่อมีปริมาณสารนี้ 40 หรือ 250 สตล ปริมาณสารที่เพิ่มขึ้นทำให้การร่วงลดลงโดยเฉพาะจากยอดที่แก่กว่า โดยทั่วไปแล้วการร่วงเกิดขึ้นสูงสุด ถ้าชิ้นส่วนนั้นมาจากยอดที่อ่อนกว่า

ในสภาพธรรมชาติ เมื่อใบของกิ่งอ่อนส้มโอเริ่มขยาย บริเวณปลายยอดจะเกิดการหลุดร่วงของใบขึ้น ซึ่ง Goldschmidt and Monselise (1968) พบว่า ในกิ่งอ่อนส้มที่เกิดการร่วงของใบนั้น มีปริมาณสารที่ยับยั้งการทำงานของออกซินและจิบเบอเรลลินอยู่ สารดังกล่าวคือ abscisin II ซึ่งสารนี้กระตุ้นการสร้างเอทธิลีน (Goren et al, 1979) และใบที่โตเต็มที่จะตอบสนองต่อสารนี้ได้ดีกว่าใบอ่อนและใบแก่ (Riov et al, 1990)

2. การศึกษาเกี่ยวกับเทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมกับการเลี้ยงข้อส้มโอในสภาพปลอดเชื้อ

2.1 ผลของวัสดุปิดหลอดที่มีต่อการเจริญเติบโตของตาข้างจากข้อส้มโอในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองที่ 3.1 ยอดที่ได้จากตาข้างส้มโอในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อนำไปเลี้ยงในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใส ทำให้เกิดการหลุดร่วงถึง 100% ขณะที่ยอดในหลอดที่ปิดด้วยจุกสำลี กระดาษอลูมินัมฟอยล์ชนิดพิเศษ ไม่มีการหลุดร่วงเกิดขึ้นเลย และ ในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใสครอบด้วยฝาโลหะมีการหลุดร่วงเพียง 33.33% เพราะพบว่าในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใสนั้นมีปริมาณเอทธีลีนสูงถึง 1.392 สตล มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับภายในหลอดที่ปิดด้วยวัสดุอื่นๆ ที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งมีปริมาณเอทธีลีนอยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในช่วง 0.008-0.055 สตล เท่านั้น เป็นเพราะวัสดุเหล่านั้นสามารถปลดปล่อยเอทธีลีนที่มีอยู่ออกไปได้บ้าง แต่แผ่นพลาสติกใสทำให้เกิดการกักเก็บเอทธิลีนไว้และเอทธิลีนทำให้ใบเกิดการหลุดร่วงได้ (Einset, 1987 ; Sipes and Einset, 1982 ; Goldschmidt and Leshem, 1971 ; Sisler et al, 1985 ; Towill, 1987)

เมื่อนำใบที่เลี้ยงในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใส มาทำการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่าเซลล์บริเวณรอยต่อของก้านใบและแผ่นใบมีการสลายตัวของผนังเซลล์ ทำให้เกิดการหลุดร่วง ซึ่ง Huberman et al (1989) และ Goldschmidt and Leshem (1971) ได้ทำการศึกษาบริเวณ รอยต่อที่เกิดการหลุดร่วง พบว่าผนังเซลล์จะมีการบวมพองตัวและเละเหลว ส่วนประกอบของผนังเซลล์เสื่อมสลายและส่งผลให้เซลล์หลุดแยกตัวออกจากกัน อันเป็นผลจากการชักนำของเอทธีลีนโดยเอทธีลีนจะกระตุ้นเร่งการทำงานของเอนไซม์ cellulase และ polygalacturonase ที่ ย่อยสลายผนังเซลล์ (Goren et al, 1974, Goren and Huberman, 1976 ; Huberman and Goren, 1979 ; Sagee et al, 1980 ; Sisler et al, 1985) นอกจากนั้นเอทธีลีนยังทำให้ปริมาณ IAA ลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนรูปจาก IAA ไปเป็น ICA (indole- 3-carboxylic acid),IAA conjugate, IAA-glucose ester และ macromolecular conjugates(Riov et al, 1987 ; Sagee, 1990 ; Sisler et al, 1985) ซึ่ง IAA ที่ลดลง อาจทำให้สมดุลย์ของสารเร่งการเจริญเติบโตสูญเสียไป และทำให้ฮอร์โมนที่ช่วยชะลอการหลุดร่วงลดลง

การหลุดร่วงที่เกิดจากการชักนำของเอทธีลีน อาจแก้ไขไปได้ด้วยการเติมเกลือแคลเซียม ซึ่งเกลือแคลเซียมจากกรดอินทรีย์จะให้ผลดีกว่าเกลือจากกรดอนินทรีย์ (Hsiung and Iwahori, 1985 ; Iwahori and Steveninck, 1990) หรือโดยการใช้ morphactin เพื่อยับยั้งการทำงานของ cellulase และ polygalacturonase (Goren et al, 1987) หรือโดยออกซินต่างๆ เช่น picloram (Sipes and Einset, 1982 ; Einset et al, 1981 ; Einset, 1987 ; Goldschmidt and Leshem, 1971)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้ยังสามารถใช้ AVG (amino ethoxyvinylglycine) เพื่อยับยั้งผลของเอทธีลีน (Sagee et al,1980 ; Hyodo and Nishino, 1981)

ในการเลี้ยงข้อ และปิดหลอดด้วยจุกสำลี จุกสำลีครอบฝาโลหะและกระดาษอลูมินัมฟอยล์ ชนิดพิเศษและทำการตรวจวัดก๊าซต่างๆ ในระยะเวลาต่างกันเพื่อเลี้ยงข้อในหลอดในช่วง 1 - 28 วัน แสดงให้เห็นว่าก๊าซเอทธีลีนที่เพิ่มมากขึ้นสูงสุดในแต่ละหลอดเมื่อเลี้ยงครบ 14 วัน โดยปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.1240-0.2908 สตล ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยมากเมื่อเทียบกับเอทธิลีนที่มีอยู่ในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใส แต่การใช้วัสดุเหล่านี้ก็ทำให้ชิ้นส่วนพืชสูญเสียน้ำ ยอดและใบเหี่ยวแห้ง ไม่มีการเจริญในระยะต่อมา โดยเฉพาะจุกสำลีเป็นสาเหตุให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย ส่วนในหลอดที่ปิดด้วยกระดาษอลูมินัมฟอยล์ชนิดพิเศษ แม้มีเอทธิลีนเพียงเล็กน้อย แต่ชิ้นส่วนพืชก็ไม่สามารถหยุดยั้งขบวนการหลุดร่วงได้ ซึ่ง Sisler et al (1985) พบว่า การใช้ 2,5-N(2,5-norboradenine) เพื่อป้องกันการหลุดร่วงเนื่องจากการชักนำของเอทธีลีนนั้น จะได้ผลเมื่อให้แก่ชิ้นส่วนพืช หลังการสัมผัสเอทธีลีนไม่เกิน 10 ชั่วโมง อีกทั้งเอทธิลีนมิใช่ปัจจัยเดียวที่ก่อให้เกิดการหลุดร่วง นอกจากนั้นเมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของข้อที่เลี้ยงในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใสและจุกสำลีแล้ว พบว่าในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใส ยอดใหม่ที่ได้จะมีความยาวยอดมากกว่ายอดที่ได้จากการเลี้ยงข้อในหลอดที่ปิดด้วยจุกสำลี โดยเฉพาะใบที่มีขนาดใหญ่กว่า เนื่องจากภายในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใสจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่า (จากการทดลองที่ 3.1) ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อการทำงานของเอทธีลีน(Zacarias et al, 1990) แต่คาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ความยาวยอดเพิ่มขึ้นและใบขยายแผ่นใบได้มากขึ้น(Koch et al, 1985 ; 1987) อีกทั้งภายในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใสมีความชื้นสูง ขณะที่จุกสำลีมีการผ่านออกของไอน้ำสู่สภาพบรรยากาศภายนอกทำให้ชิ้นส่วนพืชสูญเสียน้ำ จากผลการทดลองนี้จึงได้ทำการศึกษาต่อไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างก๊าซออกซิเจนคาร์บอนไดออกไซด์และเอทธิลีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อทำการตัดเลี้ยงข้อในหลอดที่ปิดด้วยแผ่นพลาสติกใส พบว่าปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในหลอดลดลงเรื่อยๆ หลังการเลี้ยงจนครบ 5 วัน ซึ่งมีออกซิเจนเหลืออยู่เพียง 18.84% ขณะที่คาร์บอนไดออกไซด์และเอทธีลีนภายในหลอดกลับสูงขึ้นถึง 1.51% และ 0.18 สตล ตามลำดับ การที่ออกซิเจนลดลงก็อาจเป็นเพราะถูกใช้ในการหายใจในระยะแรก หลังการเกิดแผลเนื่องจากการตัดข้อ ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์สูง การที่มีออกซิเจนต่ำ ส่งเสริมให้มีการสังเคราะห์เอทธีลีนมากขึ้น (Burg, 1962) และในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูง จะกระตุ้นการทำงานของ EFE ไม่ว่าจะอยู่ในที่มืดหรือมีแสง (Zacarias et al, 1990)

2.2 การหาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการย้ายชิ้นส่วนส้มโอที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

การเปลี่ยนย้ายอาหารใหม่กับข้อส้มโอทุก 3 5 และ 7 วัน ไม่ทำให้ขนาดของยอดและใบแตกต่างกันมากนัก การหลุดร่วงลดลงเพียงเล็กน้อย เพราะเอทธีลีนถูกสังเคราะห์ขึ้นภายหลังการตัด การย้ายในระยะ 3-7 วันไม่ช่วยลดการสัมผัสเอทธีลีนได้อีกทั้งการเปลี่ยนย้ายอาหารบ่อย อาจทำให้ภาวะอาหารที่ไม่เหมาะสมรุนแรงยิ่งขึ้น ทำให้สูญเสียสมดุลย์ของสารเร่งการเจริญเติบโตไป

2.3 การศึกษาเปรียบเทียบสภาพทางกายภาพของอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้อส้มโอ

การเลี้ยงข้อในสภาพอาหารที่มีวุ้นต่างกัน ทำให้ขนาดยอดและใบแตกต่างกัน อีกทั้งยังทำให้ระยะการเจริญแตกต่างกันด้วยในอาหารที่มีปริมาณวุ้นเพิ่มมากขึ้น การพัฒนาการเจริญเติบโตมีมากขึ้น แต่ขนาดของยอดและใบมีขนาดเล็กลง โดยเฉพาะความกว้างของแผ่นใบ และแม้ว่า ในอาหารเหลวจะให้ขนาดยอดยาว ใบมีความกว้างมากกว่าในสภาพอาหารวุ้น แต่เสียเวลาในการเตรียมการและสิ้นเปลืองมากกว่า และได้ผลไม่แตกต่างจากข้อในสภาพที่มีวุ้นร้อยละ 0.3 แต่อย่างใด ซึ่งในอาหารที่มีวุ้นร้อยละ 0.3 ในระยะแรก ชิ้นส่วนพืชจะจมในอาหารทำให้ยอดมีการพัฒนาช้ากว่า แต่ไม่มีการหลุดร่วงเกิดขึ้น ขณะที่ในอาหารเหลวและอาหารวุ้นอื่น ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีการหลุดร่วง 33.33-50% และจากการสังเกตกรณีที่มียอดหรือส่วนของใบจมในอาหาร จะไม่เกิดการหลุดร่วงของยอดหรือใบและใบมีขนาดใหญ่แผ่นใบกว้าง แต่สีของใบจะซีดกว่าใบอื่นๆ อาจเป็นเพราะได้รับแสงน้อยและความชื้นสูงซึ่งในภาวะเครียดจากการขาดน้ำ ทำให้ปริมาณ ACC สูง และ EFE (ethylene-forming enzyme) ทำงานมากขึ้น มีผลทำให้ปริมาณเอทธิลีนสูง (Riov and Hausman, 1989) และ Southwick and Davenport(1986) ยังพบว่าการขาดน้ำหรือการ stress ทั่ว ๆ ไป เป็นผลให้เกิด abscissic acid และจะเกิดที่ตามากกว่าที่ใบ

3. ส่วนประกอบอาหาร

การศึกษาผลของสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ที่มีต่อการเกิดและการเจริญของยอดจากข้อส้มโอ พบว่า IBA ไม่มีผลต่อการเกิดและการเจริญของยอดใหม่ แต่ IBA มีผลต่อการหลุดร่วงของยอดใหม่ ในอาหารที่ไม่มีการเติม IBA ในระยะ 14 วัน ไม่พบว่ามีการหลุดร่วงเกิดขึ้นแต่อย่างใด ในขณะที่อาหารที่มีการเติม IBA ความเข้มข้น 0.0025-2.5 มก/ล เกิดการหลุดร่วง ซึ่งอาจเกิดจากการส่งเสริมการเกิดแคลลัสซึ่งเป็นผลร่วมระหว่าง ABA และออกซิน (Altman and Goren, 1971) แต่การหลุดร่วงจะลดลงเมื่อมีปริมาณ IBA เพิ่มมากขึ้น ซึ่งการที่ไม่เติม IBA ในอาหารไม่เกิดการหลุดร่วงในระยะแรกนั้น อาจเป็นเพราะปริมาณ IBA ที่มีอยู่ในชิ้นส่วนพืช และน้ำมะพร้าวที่เติมลงไปเพียงพอและเหมาะสมต่อการเกิด และการเจริญของยอดจากข้อ แต่เมื่อเติม IBA ลงไป ทำให้อัตราส่วนของออกซินกับสารอื่นเสียสมดุลย์ไป แต่การเติม IBA เพิ่มปริมาณลงไปกลับทำให้การหลุดร่วงลดลง เป็นเพราะ IBA ซึ่งเป็นออกซิน มีคุณสมบัติในการยับยั้งการหลุดร่วงและยืดระยะเวลาก่อนการหลุดร่วง เมื่อมีการใช้ในปริมาณที่เหมาะสม (Goren et al, 1974; Einset et al, 1981 ; Einset, 1987 ; Wurzburger and Goren, 1978 ; Lewis and Bakhshi, 1968a; Iwahori, 1989 ; Towill, 1987) นอกจากนั้นเป็นไปได้ว่าปริมาณ IBA ที่เติมลงไปนั้นส่วนหนึ่งเกิดการเสื่อมสลายไป ซึ่ง Epstein

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

et al (1978) พบว่า เกิดการสลายตัวของ IAA จากแคลลัสที่เลี้ยงในที่มีแสงมากกว่าการเลี้ยงในที่มืด

การศึกษาผลร่วมระหว่าง BAP และ GA_3 พบว่า BAP มีผลต่อการเกิดและการเจริญเติบโตของยอดจากข้อส้มโอ BAP ทำให้ตาหยุดการพักตัว (Zhu and Matsumoto, 1990) และ BAP 0.1 มก/ล + GA_3 0.1-5.0 มก/ล ทำให้ข้อมีการแตกตาแต่ตาเหล่านี้ไม่มีการเจริญเป็นยอดแม้ว่าจะย้ายข้อที่มีการแตกตาเหล่านี้ลงบนอาหารที่มีปริมาณ BAP มากขึ้นเป็น 1 มก/ล ก็ตาม ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นไปได้ว่าการเจริญเติบโตของยอดของข้อต้องการปริมาณไซโตไคนินที่ต่ำลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่เคยมีมาในอดีตว่า BAP ในปริมาณที่แตกต่างกันมีผลต่อการแตกตาและการเจริญเติบโตของยอดได้ไม่เหมือนกัน (Zhu et al, 1990a ; 1990b ; Pasqual and Ando , 1990 ; Huang, 1985) ในทางตรงกันข้ามเมื่อเลี้ยงข้อบนอาหารที่มี BAP 1 มก/ล มีการแตกตาและตาเจริญเติบโตเป็นยอด โดยมีขนาดของยอด ยาวเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณ GA_3 มากขึ้น GA_3 ไม่มีผลต่อการเกิดตา แต่ GA_3 ทำให้ยอดมีความยาวเพิ่มขึ้น (Kawase et al, 1989; Kochba et al, 1973 ; Altman and Goren, 1974b) และ GA_3 ความเข้มข้นที่เพิ่มมากขึ้น เช่นที่ 10 มก/ล ทำให้การขยายแผ่นใบถูกยับยั้ง (Guardiola et al, 1982) เมื่อเพิ่มปริมาณ BAP เป็น 10 มก/ล ทำให้ข้อที่เลี้ยงเกิดการแตกตา จำนวนตาที่ได้มีมากกว่าปกติเป็นกลุ่มตาอัดกันแน่น (cluster of buds) เนื่องจาก BAP กระตุ้นการเกิดตา (ประดิษฐ์และคณะ, 2531 ; Moore, 1986 ; Altman and Goren, 1974b; 1978; Kitto and Young, 1981 ; Grinblat, 1972 ; Edriss and Burger, 1984 ; Barlass and Skene, 1982) แต่ BAP ปริมาณมากจะยับยั้งการเจริญของตาและทำให้ยอดที่ได้มีขนาดสั้น (Edriss and Burger, 1984 ; Grinblat, 1972; Duran-Vila et al, 1989) แม้ว่าจะมีปริมาณ GA_3 มากขึ้นก็ตาม ข้อที่มีการแตกตาเป็นกลุ่มนี้ เมื่อนำไปเลี้ยงบน อาหารที่มี BAP ลดลงจาก 10 มก/ล เป็น 1 มก/ล กลุ่มตาเหล่านี้ก็ยังคงอยู่ในระยะแตกตาเช่นเดิม อีกทั้ง GA_3 ในปริมาณที่มากขึ้น อาจยับยั้งการเกิดยอดได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(Plummer et al, 1990 ; Guardiola et al, 1982)

นอกจากนั้นทั้ง BAP และ GA_3 ยังมีผลต่อการเกิดแคลลัสและการหลุดร่วงของยอด โดยขึ้นกับอัตราส่วนระหว่างสารเร่งการเจริญเติบโตมากกว่าปริมาณของสารตัวหนึ่งตัวใด จากการเลี้ยงชิ้อบนอาหารที่มี GA_3 0.1-5.0 มก/ล ร่วมกับ BAP เมื่อมี BAP มากขึ้น การเกิดลักษณะคล้ายแคลลัสบนรอยตัดด้านบนข้อหรือรอยตัดก้านใบ มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่ง BAP ทำให้การหลุดร่วงเกิดได้เร็วยิ่งขึ้น เมื่อมีปริมาณเอทธีลีนเพียงเล็กน้อย (Sipes and Einset, 1985) GA_3 ยังส่งเสริม ABA ในการชักนำให้เกิดแคลลัสบริเวณรอยต่อในการเลี้ยงตาส้ม (Altman and Goren, 1974a) โดย GA_3 กระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนบริเวณรอยต่อให้มากขึ้น (Lewis and Bakhshi, 1968 b) นอกจากนี้อัตราส่วนระหว่าง IAA ต่อ GA_3 ยังมีผลต่อการหลุดร่วงมากกว่าความเข้มข้นของสารแต่ละตัวด้วย (Lewis and Bakhshi, 1968 a)

น้ำมะพร้าวเป็นสารที่จำเป็นต่อการเกิดตาและการพัฒนาเป็นยอด ในอาหารที่ปราศจากน้ำมะพร้าว มีน้ำตาลเพียงร้อยละ 3 แม้จะมีการแตกตาแต่ตาก็มิได้พัฒนาเป็นยอด เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลเป็นร้อยละ 5 และ 7 ตาจึงจะเจริญเป็นยอดได้ แต่สั้นกว่ายอดที่ได้จากการเลี้ยงข้อบนอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 5 และ 7 และมีน้ำมะพร้าวรวมอยู่ด้วย และที่สำคัญในอาหารที่ปราศจากน้ำมะพร้าวนี้ ไม่ว่าจะมีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 3 หรือ 5 หรือ 7 ก็ตาม ใบของยอดใหม่ที่ได้จะเรียวเล็กแทบจะมองไม่เห็นแผ่นใบ อีกทั้งการหลุดร่วงของข้อเดิม ใบ และ/หรือยอดใหม่ มีได้สูงถึง 100% นอกจากนี้การเกิดเนื้อเยื่อคล้ายแคลลัสก็เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ที่ระดับน้ำตาลเท่ากัน เมื่อมีน้ำมะพร้าวเพิ่มมากขึ้น ความยาวยอดใหม่และความยาวใบเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kochba et al (1973) โดยเฉพาะอย่างยิ่งความกว้างใบ ซึ่งจะแผ่ขยายแผ่นใบอย่างชัดเจน ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะในน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อนมีสารที่ทำหน้าที่คล้ายออกซินและจิบเบอเรลลินอยู่ด้วย (Dix and Van Staden, 1982) Letham (1974) พบว่าในน้ำมะพร้าวยังมีสารจำพวกไซโตไคนิน อันได้แก่ 9-B-D-ribofuranosylzeatin, Zeatinglucoside (Van Staden, 1976) zeatin,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Zeatinriboside (Van Staden and Drewes, 1975) นอกจากนั้น Reynold (1987) อ้างถึง Shantz and Steward (1955) ซึ่งค้นพบสารจำพวก phenylurea ในน้ำมะพร้าวด้วย โดยสารเหล่านี้มีผลต่อเนื้อเยื่อได้เช่นเดียวกับ BAP (Mok et al, 1987 ; Fellman et al, 1987) นอกจากสารดังกล่าวแล้วยังพบว่าน้ำมะพร้าวมีสารพวกกรดอมิโน inositol และสารอื่นอีกเป็นจำนวนมาก

ในอาหารที่มีระดับน้ำมะพร้าวเท่ากัน เมื่อมีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ทำให้ขนาดของใบกว้างยิ่งขึ้น ปริมาณน้ำตาลที่ใช้อาจสูงได้ถึงร้อยละ 10 (Navarro et al, 1975) เนื่องจากน้ำตาลยับยั้งการขยายตัวของแคลลัส (Giladi et al,1977) โดยทั่วไปใช้อยู่ในช่วง 5 % (Brunet and Ibrahim, 1974 ; Einset, 1978 ; Kochba et al, 1974) แต่ Hidaka (1985a) พบว่าปริมาณน้ำตาลที่ใช้นั้นขึ้นอยู่กับพันธุ์พืชและชนิดของเนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยง (Einset,1978) นอกจากนั้นซูโครส 45 ก/ล ทำให้การต่อยอดกล้า Poncirus trifoliata ได้ผลดีถึง 50 % (Hosoi et al, 1980) และน้ำตาลซูโครสให้ผลดีกว่าการใช้น้ำตาลชนิดอื่นๆ (Button and Botha, 1975 ; Button, 1978 ; Kochba et al, 1982)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิด และการเจริญเติบโตของยอดจากข้อส้มโอที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้วสามารถสรุปได้ดังนี้

1. **ฤดูกาล** ฤดูกาลที่เหมาะสมสำหรับการตัดยอด และข้อส้มโอมาเลี้ยงในหลอดแก้วอยู่ในระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งจะช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการตัดยอดในช่วงอื่นมาเลี้ยง

2. **พันธุ์** การเกิดยอดและลักษณะการเจริญเติบโตของยอดแตกต่างกันไปตามลักษณะประจำพันธุ์

3. **ตำแหน่งข้อ** ข้อที่เหมาะสมสำหรับนำมาเลี้ยงในหลอดแก้วควรเป็นข้อตั้งแต่ลำดับที่ 4 นับจากยอดลงมา

4. **วัสดุปิดหลอด** การใช้จุกสำลีปิดหลอด ช่วยลดการหลุดร่วงของใบและ/หรือ ยอด แต่มีข้อเสีย คือ จุกสำลีทำให้สูญเสียความชื้นได้ง่าย ทำให้ชิ้นส่วนแห้งตายและเพิ่มเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้ง่าย การใช้แผ่นพลาสติกใสปิดหลอด ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงเนื่องจากการสะสมเอทธิลีนในหลอด แต่ยังคงช่วยรักษาความชื้นในหลอดไว้ได้

5. **การเปลี่ยนย้ายอาหาร** การเปลี่ยนย้ายอาหารทุก 7 วัน ช่วยลดการหลุดร่วงของใบและ/หรือยอด ได้มากกว่าการย้ายทุก 3 และ 5 วัน

6. **สภาพกายภาพของอาหาร** ความเข้มข้นของวุ้นที่ใช้เลี้ยงเหมาะสมที่สุด คือ 0.3 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เมื่อใช้จุกสำลีปิดหลอด

7. **สารควบคุมการเจริญเติบโต** การใช้ IBA 0.0025-2.5 มก/ล ไม่มีผลต่อการเกิดและการเจริญเติบโตของยอดจากข้อ แต่ช่วยลดการหลุดร่วงเมื่อมีปริมาณเพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

GA_3 เมื่อใช้ร่วมกับ BAP ไม่มีผลต่อการเกิดยอดใหม่ แต่ทำให้ยอดยืดยาว เมื่อใช้ระดับที่เหมาะสม คือ 1.0 มก/ล ร่วมกับ BAP 1 มก/ล โดยทำให้ตามีการเจริญและพัฒนาเป็นยอด

8. **น้ำตาลและน้ำมะพร้าว** น้ำมะพร้าวจำเป็นต่อการเลี้ยงข้อส้มโอ ช่วยลดการหลุดร่วงของข้อเดิม และการหลุดร่วงของใบและ/หรือยอดใหม่ น้ำมะพร้าว 10 % (ปริมาตร/ปริมาตร) เมื่อใช้ร่วมกับน้ำตาล 7 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทำให้ยอดยืดยาว เพิ่มจำนวนใบ ความยาวใบ และมีความกว้างใบเพิ่มมากขึ้น

9. การศึกษาต่อไปควรเน้นถึงปัจจัยต่างๆ ที่จะส่งเสริมให้ยอดมีการเจริญในอัตราที่ดีขึ้น เช่น การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต สารอินทรีย์ กรดอินทรีย์ต่างๆ

10. ศึกษาถึงการใช้สารเคมีใส่ในอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดเอทธิลีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved