

การปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกส้มเปลือกอ่อนและส้มต่าง ๆ ให้มีเมล็ดน้อยหรือไม่มีเมล็ดโดยการฉายรังสี

นายทรงพล สมศรี<sup>๑/</sup>

### ๑. บทคัดย่อ

ได้ทำการเพาะเมล็ดส้มพันธุ์ต่าง ๆ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ๒mg/l พบว่า เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ด และได้ทำการตัดย้าย (Sub culture) เพื่อกระตุ้นการแตกยอด เพิ่มจำนวนยอด และเพิ่มจำนวนต้นให้มากขึ้น เพื่อสำหรับเตรียมการเข้าฉายรังสี จากการ Subculture ได้ V๔ ต้นส้มในขวดที่ทำการ Subculture เกิดการ contamination ด้วยเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย ทำให้ต้นส้มบางส่วนตาย ทำให้เหลือต้นส้มเพียง ๒ สายพันธุ์ ได้แก่ ส้มสายน้ำผึ้ง จิราพร จำนวน ๔ ขวด และส้มสายน้ำผึ้งเชียงใหม่ จำนวน ๙ ขวด และส้มต่าง ๆ ได้แก่ RT#๖, RT#๗-๒, LM#๘, RT#๘, LM#๘-๓, LM#๖, RT#๕-๒, RT#๒, ส้มซ่าและส้มจี๊ด สำหรับส้มจี๊ดได้ดำเนินการตามขั้นตอนตั้งแต่เพาะเมล็ด ในสูตรอาหาร ทำการ Subculture แล้วนำไปฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ แล้ว ทำการ Subculture จนถึง M<sub>๑</sub>V<sub>๔</sub> ซึ่งจะทำให้การนำออกจากขวดไปเพาะเลี้ยงในโรงเรือน และนำลงปลูกและคัดเลือกให้ได้พันธุ์ไม่มีเมล็ดหรือเมล็ดน้อยต่อไป ส่วนพันธุ์ต่าง ๆ จะดำเนินการศึกษาต่อไป เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ไปปลูกดูคุณภาพของผลผลิตและเพื่อหาพันธุ์ที่ไม่มีเมล็ด /เมล็ดน้อยเพื่อใช้ในการทดสอบพันธุ์ต่อไป

---

<sup>๑/</sup>สำนักผู้เชี่ยวชาญ

## ๒. คำนำ

ส้มเปลือกอ่อน มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่งของประเทศจากสถิติข้อมูลปี พ.ศ. ๒๕๕๗ พื้นที่ปลูกลดลงเนื่องจากประสบปัญหาเรื่องโรครินนิ่ง โดยพื้นที่ปลูกเหลือเพียง ๘๖,๘๙๕ ไร่ ผลผลิต ๑๓๗,๗๒๘ ตัน (สำนักเศรษฐกิจการเกษตร, ๒๕๕๗) พันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่ คือพันธุ์เขียวหวาน และพันธุ์โชกุนหรือสายน้ำผึ้ง (*Citrus reticulata*) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีเมล็ด ปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมบริโภคส้มที่ไร้เมล็ดหรือเมล็ดน้อย ซึ่งสะดวกในการบริโภคและราคาของส้มไร้เมล็ดจะแพงกว่า ดังนั้น การปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์ตรงตามความต้องการของตลาดนับเป็นสิ่งสำคัญ ทั้งนี้การปรับปรุงคุณภาพของไม้ผลหรือพืชสวนอื่น ๆ เช่น การไม่มีเมล็ด เป็นอีกลักษณะหนึ่งที่ควรทำการศึกษา และเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตสำหรับการปรับปรุงลักษณะ ๑ หรือ ๒ ลักษณะของพืชนั้น การใช้เทคโนโลยีด้าน Mutation หรือ Transformation มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการปรับปรุงลักษณะดังกล่าว การใช้เทคนิคการกลายพันธุ์ในไม้ผลหลายชนิดรวมทั้ง Calamandarin (*Citrus manderensis*) เพื่อชักนำให้เกิดความหลากหลายแล้วทำการคัดเลือกและประเมินผลจากการกลายพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ โดยใช้ gamma ray อัตราต่าง ๆ (๐-๕๐ Krad) ซึ่งมีผลทำให้การเจริญเติบโตของยอดและรากชะงักลง, ยับยั้งการงอกของเมล็ด, ใบมันงอ หรือใบด่าง Froneman *et.al* (๑๙๙๖) กล่าวว่า ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ส้มด้วย Gamma ray เพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์และได้พันธุ์ใหม่ไม่มีเมล็ด โดยฉายรังสีในปริมาณ ๓ - ๗ Krad กับกิ่งตา พบว่า ส้มเขียวหวาน (*C. reticulata*) และส้มติดเปลือก Navel oranges (*C. sinensis*) ตอบสนองดี Tulmann- Neto *et. al* (๑๙๙๖) รายงานว่า ได้ทำการฉายรังสีกิ่งตาด้วยอัตรา ๔ Krad และการใช้เทคนิค ตัดแต่งกิ่ง แบบ Cutting back ได้กิ่ง M๑V๑ แตกมาจากกิ่งที่ฉายรังสี จากนั้น ๖ ตาแรกจากกิ่งนี้ถูกใช้เพื่อให้ได้รุ่นต่อไป คือ M๑V๒ นำตาจากกิ่ง M๑V๒ มาทาบบนเพื่อให้ได้กิ่ง M๑V๓ ทำการคัดเลือกจากต้นที่ยังมีชีวิตอยู่ได้ ๒๑๗ ต้น พบว่าต้นใหม่ที่ได้มีลักษณะแตกต่างจากต้นที่ไม่ได้ฉายรังสีหลายลักษณะ เช่น ความสูงของทรงพุ่ม จำนวนเมล็ดต่อผล ผลผลิต รูปร่างผล และสีฐานของใบ และพบว่าตาที่ ๕ และ ๖ จากกิ่ง M๑V๑ เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะสีฐานของใบและผลมากที่สุด ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในส้มสายน้ำผึ้งและส้มต่าง ๆ เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่ไม่มีเมล็ดหรือเมล็ดน้อย เพื่อเผยแพร่สู่เกษตรกรและตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค

## ๓. วิธีดำเนินการ

๑. นำเมล็ดพันธุ์ส้มได้แก่ โชกุน#๑(ยะลา), โชกุน#๒ (ยะลา), โชกุน#๓, โชกุน#๔ (ยะลา), สายน้ำผึ้ง#๑, สายน้ำผึ้ง#๒, สายน้ำผึ้ง#๓ (บิลเลียนฟาร์ม), สายน้ำผึ้ง#๔ (อ. ฝาง), สายน้ำผึ้ง#๕ (ธนาร), สายน้ำผึ้ง#๖ (สุโขทัย) และส้มนัมเบอร์วัน (ธนาร) และส้มพันธุ์ต่าง ๆ จาก ศวพ.แพร่ ได้แก่ RT#๖, RT#๗-๒, LM#๘, RT#๘, LM#๘-๓, LM#๖, RT#๕-๒, RT#๒, ส้มซ่าและส้มจี๊ด ฟอกฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเพาะในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashigi & Skoog (๑๙๖๒) เมื่อเมล็ดงอกตัดชิ้นส่วนของ cotyledonary node มาเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ๒ mg/l ทำการตัดย้าย (Sub culture) เป็นจำนวน ๔ ครั้งเพื่อให้ได้จำนวนยอดมากพอ

๒. นำต้นกล้าส้มต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปทำการฉายรังสี และ subculture จนถึง M<sub>๑</sub>V<sub>๔</sub> แล้วนำออกจากขวดไปเพาะเลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำ

๓. นำต้นกล้าส้มพันธุ์ต่าง ๆ ที่ฉายรังสีไปปลูกกลางแจ้ง

๔. ปฏิบัติดูแลรักษาโดยการใส่ปุ๋ย ให้น้ำ ตามหลักการเกษตรที่ดีที่เหมาะสมของการปลูกส้ม

๕. บันทึกการเจริญเติบโต วัดขนาด ความสูง และเส้นรอบวงจากจากพื้นดิน ๓๐ เซนติเมตร วัดทรงพุ่ม ทิศเหนือ/ใต้ และตะวันออก/ตะวันตก

๖. เก็บเกี่ยวเมื่อให้ผลผลิต ตรวจสอบคุณภาพ ความหวาน จำนวนเมล็ด โรคและแมลง และผลผลิต

๗. รวบรวมและวิเคราะห์ผล

๘. สรุปและเขียนรายงาน

๙. เมื่อได้พันธุ์ส้มเขียวหวานพันธุ์ใหม่ และผสมชนิด/พันธุ์ต่างๆ ที่ไม่มีเมล็ดหรือมีเมล็ดน้อยเสนอเป็นพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตร

๑๐. ขยายพันธุ์ จำหน่ายแจกแก่เกษตรกร และผู้สนใจทั่วไป

**สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล :**

๑. สถาบันวิจัยพืชสวน

๒. ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

๓. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่

**ระยะเวลาดำเนินงาน** เริ่มต้น ตุลาคม ๒๕๕๔ สิ้นสุด กันยายน ๒๕๕๘

### ผลการทดลองและวิจารณ์

ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดใน สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ๒mg/l เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดใน การชักนำให้เกิดยอดของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ด และได้ทำการตัดย้าย (Sub culture) เพื่อกระตุ้นการแตก ยอด เพิ่มจำนวนยอด และเพิ่มจำนวนต้นให้มากขึ้น เพื่อสำหรับเตรียมการเข้าฉายรังสี ซึ่งส้มที่ได้เข้าฉายรังสีแล้ว ทำการ Sub culture ให้ได้ถึง  $M_0$   $V_4$  บางพันธุ์เกิดการ contaminate ด้วยเชื้อราและแบคทีเรีย ทำให้บางส่วน ต้องตายไป จากการ Subculture ได้  $V_4$  ต้นส้มในขวดที่ทำการ Subculture เกิดการ contamination ด้วยเชื้อ รา และเชื้อแบคทีเรีย ทำให้ต้นส้มบางส่วนตาย ทำให้เหลือต้นส้มเพียง ๒ สายพันธุ์ ได้แก่ ส้มสายน้ำผึ้ง จิราพร จำนวน ๔ ขวด และส้มสายน้ำผึ้งเขียวใหม่ จำนวน ๙ ขวด และ RT#๖, RT#๗-๒, LM#๘, RT#๘, LM#๘-๓, LM#๖, RT#๕-๒, RT#๒, ส้มซ่าและส้มจี๊ด ต่อมาได้นำต้นอ่อนส้มจี๊ดไปฉายรังสีแบบ Chronic ที่ปริมาณรังสีแตกต่างกัน คือ ๐, ๑๑๔๐.๙๙, ๒๒๘๘.๕๖ และ ๓๘๗๕.๒๕ rad แล้วทำการตัดย้าย จากรุ่น  $M_0$   $V_0$  จนถึงรุ่น  $M_0$   $V_4$  ในสูตร อาหาร MS โดยการฉายรังสีในปริมาณรังสี ๐ rad ทำการ Subculture ได้  $V_4$  ๒๐ ขวด ปริมาณรังสี ๑๑๔๐.๙๙ Rad ทำการ Subculture ได้  $V_4$  ๑๖ ขวด ปริมาณรังสี ๒๒๘๘.๕๖ rad ทำการ Subculture ได้  $V_4$  ๒๓ ขวด ปริมาณรังสี ๓๘๗๕.๒๕ rad ทำการ Subculture ได้  $V_4$  ๑๗ ขวด (ตารางที่ ๑)

ตารางที่ ๑ จำนวนส้มเปลือกกล่อนที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และยังคงอยู่ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เดือนกันยายน ๒๕๕๘

| ลำดับ | ชื่อสายพันธุ์           | รหัสย่อ | จำนวนขวด | สูตรอาหารที่ใช้ |
|-------|-------------------------|---------|----------|-----------------|
| ๑     | ส้มสายน้ำผึ้ง จิราพร    | จิราพร  | ๔        | MS              |
| ๒     | ส้มสายน้ำผึ้ง เขียวใหม่ | ชม.     | ๙        | MS              |
| ๓     | Citrumelo (SA๑๓๐๗)      | RT#๖    | ๑๖       | MS              |
| ๔     | Citrumelo (F๘๐/๙)       | RT#๗-๒  | ๕๔       | MS              |
| ๕     |                         | LM#๘    | ๙        | MS              |
| ๖     |                         | RT#๘    | ๒        | MS              |
| ๗     |                         | LM#๘-๓  | ๖        | MS              |
| ๘     |                         | LM#๖    | ๒        | MS              |

|    |         |         |     |    |
|----|---------|---------|-----|----|
| ๙  |         | RT#๕-๒  | ๕   | MS |
| ๑๐ |         | RT#๒    | ๒๕  | MS |
| ๑๑ | ส้มซ่า  | ส้มซ่า  | ๑๗  | MS |
| ๑๒ | ส้มจี๊ด | ส้มจี๊ด | ๖๐  | MS |
|    |         | รวม     | ๒๐๙ |    |

หมายเหตุ : ส้มสายน้ำผึ้งจิราพร และส้มสายน้ำผึ้งเชียงใหม่ ต้นกล้าอ่อนมีขนาดเล็ก ไม่สามารถนำเข้าฉายรังสีได้  
: ทำการฉายรังสีส้มเปลือกอ่อนคือส้มจี๊ด

จากผลการทดลองพบว่า การเจริญเติบโตของต้นกล้าอ่อนส้มจี๊ดในต้นที่ไม่ได้รับการฉายรังสี จะมีการเจริญเติบโตที่ช้า คือมีความสูงโดยเฉลี่ย ๑.๖๑ เซนติเมตร ซึ่งสูงน้อยกว่าต้นที่ได้รับการฉายรังสี โดยปริมาณรังสีที่มีความสูงมากที่สุด คือที่ความเข้มข้น ๒๒๘๘.๕๖ rad มีความสูงโดยเฉลี่ย ๓.๖๓ เซนติเมตร และมีจำนวนยอดสูงที่สุดอยู่ที่ ๑.๙๓ ยอด (ตารางที่ ๒, ภาพที่ ๑)

ตารางที่ ๒ การเจริญเติบโตด้านความสูง และจำนวนยอดของต้นส้มจี๊ดในสภาพปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ

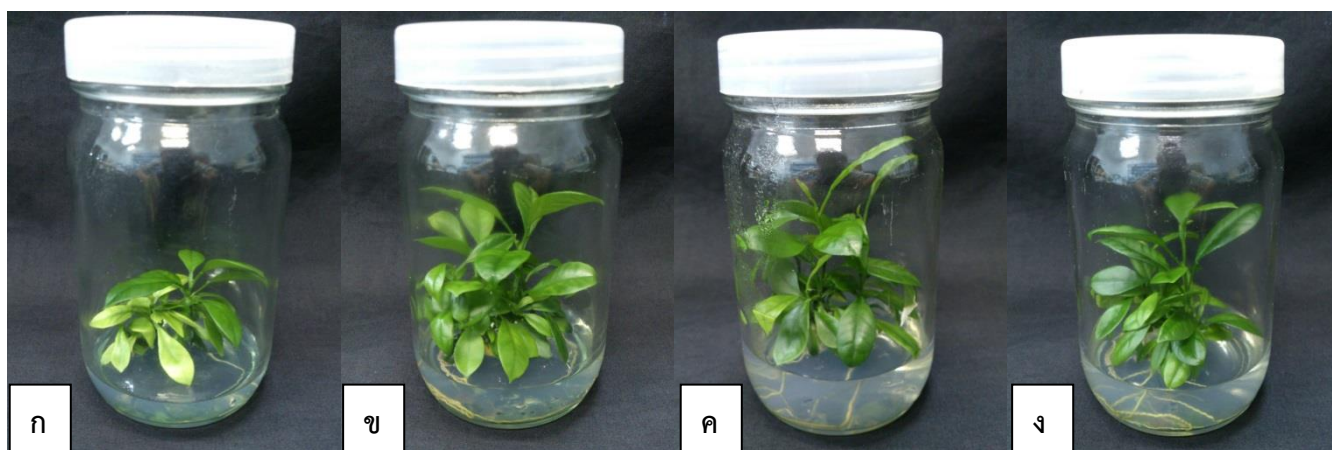
| กรรมวิธี | ปริมาณรังสี<br>(rad) | ความสูงต้น (ซม.) |           |           | จำนวนยอด |
|----------|----------------------|------------------|-----------|-----------|----------|
|          |                      | ค่าสูงสุด        | ค่าต่ำสุด | ค่าเฉลี่ย |          |
| ๑        | ๐                    | ๓.๕              | ๐.๖       | ๑.๖๑      | ๑.๖๙     |
| ๒        | ๑๑๔๐.๙๙              | ๘                | ๐.๖       | ๓.๓๒      | ๑.๕๘     |
| ๓        | ๒๒๘๘.๕๖              | ๘.๕              | ๑         | ๓.๖๓      | ๑.๙๓     |
| ๔        | ๓๔๓๕.๒๕              | ๘                | ๑         | ๓.๕๙      | ๑.๕๒     |

นอกจากนี้ ได้แสดงค่าดัชนีความสมบูรณ์และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้าอ่อนส้มจี๊ดรุ่น  $M_0V_4$  ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในอาหารสูตร MS โดยการฉายรังสีแบบ Chronic ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า ต้นกล้าอ่อนส้มจี๊ดในแต่ละปริมาณรังสี มีความสมบูรณ์แข็งแรงไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่างต่างกัน ดังนี้โดยปริมาณรังสีที่ ๐ rad มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดอยู่ที่ ๑๐๐ เปอร์เซ็นต์ และในปริมาณรังสีที่ ๒๒๘๘.๕๖ และ ๓๔๓๕.๒๕ rad มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน คือ ๙๑.๙๑ และ ๙๔.๔๕ เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ ๓)

ตารางที่ ๓ ความสมบูรณ์และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้าอ่อนส้มจี๊ดรุ่น  $M_0V_4$  ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในอาหารสูตร MS โดยการฉายรังสีแบบ Chronic ในปริมาณรังสีที่ต่างกัน ที่ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี

|                                                                   | ปริมาณรังสี (rad) |         |         |         |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------|---------|---------|---------|
|                                                                   | ๐                 | ๑๑๔๐.๙๙ | ๒๒๘๘.๕๖ | ๓๔๓๕.๒๕ |
| ดัชนีแสดงค่าความสมบูรณ์ของต้นกล้าอ่อนส้มจี๊ด <sup>๑</sup> (ระดับ) | ๖.๒               | ๖.๒๔    | ๕.๘๕    | ๖.๑๗    |

| เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้าอ่อน (%)                                                                                                                                                 | ๑๐๐ | ๗๒.๗๐ | ๙๑.๙๑ | ๙๔.๔๕ |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------|-------|-------|
| <p>*ดัชนีแสดงค่าความสมบูรณ์ของต้นกล้าอ่อน : ๑ = ตาย, ๒ = อาการผิดปกติ ๗๖-๑๐๐%, ๓ = อาการผิดปกติ ๕๑-๗๕%, ๔ = อาการผิดปกติ ๒๖-๕๐%, ๕ = อาการผิดปกติ ๑-๒๕%, ๖ = สมบูรณ์, ๗ = สมบูรณ์มาก</p> |     |       |       |       |



ภาพที่ ๑ ต้นกล้าอ่อนส้มจี๊ดที่ได้รับการฉายรังสี ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ไม่ได้ฉายรังสี (ข) ปริมาณรังสี ๑๑๔๐.๙๙ rad (ค) ๒๒๘๘.๙๖ rad (ง) ๓๔๗๕.๒๕ rad

#### ๔. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ต้นส้มพันธุ์ต่าง ๆ ที่ฉายรังสีแล้วในขวดที่ทำกร Subculture เกิดการ contamination ด้วยเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย ทำให้ต้นส้มบางส่วนตาย จึงเหลือส้มต่าง ๆ ที่ทำการ Subculture แต่ยังไม่ได้อายุรังสี กำลังขยายปริมาณเพื่อเตรียมเข้าฉายรังสีต่อไป ส่วนส้มจี๊ดที่ฉายรังสีแล้วอยู่ในระยะ  $M_0 V_{\infty}$  เพื่อเตรียมนำออกจากขวดไปเพาะเลี้ยงในโรงเรือนและทำการคัดเลือกให้ได้พันธุ์มีเมล็ดน้อยหรือไม่มีเมล็ดต่อไป

#### ๕. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำต้นส้มพันธุ์ต่าง ๆ และส้มจี๊ด ที่ได้จากการฉายรังสีเพื่อนำไปปลูก ดูคุณภาพของผลผลิตและเพื่อหาพันธุ์ที่ไม่มีเมล็ด / เมล็ดน้อย เพื่อใช้ในการทดสอบพันธุ์ต่อไป

#### ๖. เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร <http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/tangerine.pdf>

Froneman, I.J., Breedt H.J. and Koekernoer P.J.J. ๑๙๙๖. Promising seedless citrus selections from the ITSC mutation breeding programmer Inligtings bulletin-Instituut-vir-Tropiese en-Subtropiese-Gewasse. ๒๙๒:๑๒-๑๖.

Tulmann-Neto, A., Menten J.O.M., Ando A., Pompeu Junior J., Figueiredo J.O., Ceravolo L., Namekata T., Rossi A.C. ๑๙๙๖. Induction and selection of mutants in the orange Pera using gamma radiation. Technisch-Documet-Staring-Centrum,-Instituut-voor Onderzoek-van-het-Landelijk-Gebied. ๓๑:๗๔๓-๗๕๒.