รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุดปี 2558

1. ชุดโครงการวิจัย: วิจัยและพัฒนาการเพิ่มผลผลิตอ้อย

2. โครงการวิจัย: การบริหารจัดการศัตรูอ้อย

กิจกรรม: การจัดการโรคใบขาวแบบผสมผสาน

3. ชื่อการทดลอง: การจัดการธาตุอาหารเพื่อฟื้นฟูอ้อยที่เป็นโรคใบขาวในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสภาพไร่

ชื่อการทดลอง: Nutrient management of white leaf disease of sugarcane tissue culture and in the field for the restoration

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	: กาญจนา กิระศักดิ์	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
ผู้ร่วมงาน	: ทักษิณา ศันสยะวิชัย	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	วีระพล พลรักดี	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	นิลุบล ทวีกุล	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

5. **บทคัดย่อ**

โครงการวิจัยนี้ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาในอาหารสังเคราะห์ที่ดัดแปลงธาตุอาหารต่าง ๆ มี 5 การทดลอง 2) ย้ายต้นกล้าอ้อยจากการทดลองบางส่วนลงปลูกในกระถางภายในโรงมุ้ง 3) ปลูกอ้อยในแปลงเกษตรกรร่วมกับการจัดการธาตุอาหาร โดยขั้นตอนที่ 1 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการมากและน้อยบางชนิดและความเป็นกรดด่างในอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลอง พบว่า หน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS หลังเปลี่ยนอาหารใหม่ครั้งที่ 4 (4 เดือน) มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 75.3 % และจำนวนหน่อเพิ่มขึ้นได้สูงสุด 171.3 หน่อ และหน่ออ้อยไม่แสดงอาการใบขาว สำหรับการเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยบนอาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่ไม่มีซิงค์ซัลเฟต หน่ออ้อยแสดงอาการใบขาวเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 9 วัน หลังจากเปลี่ยนอาหารใหม่ ครั้งที่ 3 (ค่าคะแนนสีใบ 1.63) และหลังเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่ไม่มีซิงค์ซัลเฟตและแมงกานีสซัลเฟต หน่ออ้อยแสดงอาการใบขาวเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 9 วัน หลังจากเปลี่ยนอาหารใหม่ ครั้งที่ 2 (ค่าคะแนนสีใบ 1.73) จากนั้นหน่ออ้อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายหลังเลี้ยงได้ 30 วัน และอาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไนเตรท 2 เท่า หลังการเพาะเลี้ยงได้ 27 วัน จากการเปลี่ยนอาหารใหม่ครั้งที่ 2 หน่ออ้อยแสดงอาการใบขาว (ค่าคะแนนสีใบ 1.60) สำหรับอาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต และ MMS ไม่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต หน่ออ้อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายตั้งแต่เริ่มต้นเพาะเลี้ยงครั้งแรก อาหาร

สังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ไม่มีเฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอ หน่ออ้อยตายเมื่อเริ่มต้นเพาะเลี้ยง ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาผลการแสดงอาการใบขาวจากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผลการทดลองพบว่าการปลูกในกระถาง ไม่พบอ้อยแสดงอาการใบขาว การเจริญเติบโตด้านความสูงสุดเมื่ออ้อยอายุ 6 เดือน จากต้นกล้าอ้อยที่มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนสูตรอาหาร MMS (132.9 เซนติเมตร) การแตกหน่อสูงสุดจากอ้อยอายุ 3 เดือน จากต้นกล้าอ้อยที่มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนสูตรอาหาร MMS (9 หน่อ) สำหรับขั้นตอนสุดท้าย ศึกษาผลการแสดงอาการใบขาวอ้อยในไร่เกษตรกรที่มีการดัดแปลงปริมาณธาตุอาหารตามค่าวิเคราะห์ มี 4 กรรมวิธีคือ 1) ใส่ปุ๋ยตามเกษตรกร 2) ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ 3) ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N P K และเพิ่มธาตุซิลิกอน และ 4) ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N เพิ่มอัตราขึ้นเป็น 2 เท่า ผลการทดลองกับอ้อยปลูกพันธุ์ K95-84 ไม่พบการแสดงอาการใบขาวในทุกกรรมวิธี ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และ CCS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี
คำหลัก: ธาตุอาหารพืช เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

This project consists of three stages: 1) Tissue culture of sugarcane stick PHYTOPLASMA plasma synthetic derivative elements of a fifth experiment 2) transplanting of the seedlings cane experimental part to grow in pots inside the plant nets 3) sugarcane grow in the field with nutrient management, the first step is study of the effect of minus and increasing the nutrients that plants need much less certain, and the pH of the synthetic affecting performances. symptoms of a white cane shoots in *in vitro*. The results showed that shoots cane cultured on modified MS media after 4 times subculture (4 month), overall survival up to 75.3% and the multiple shoot cane up to a maximum of 171.3 and disappear white leaf disease symptom.

Multiple shoot cane appear white leaf disease symptom in modified MS media without zinc sulfate and apply ammonium nitrate 2 times after the third and second times subculture respectively. Furthermore the modified MS media without zinc sulfate and manganese sulfate, there are not manganese sulfate, potassium dihydrogen phosphate and ferrous sulphate and sodium EDTA. They induce brown color multiple shoot after the first and second subculture. (1.63 leaf color score) respectively and died at 30 days. The second step, the results show normal sugarcane plant all of treatment to growing up at 6 months. Finally, at the last step to grow sugarcane plant in the field. There are 4 treatments as 1) 1) fertilizer by farmers 1) fertilizer by farmers 2) fertilizer based on the soil analysis 3) fertilizer based on the analysis of NPK and adding elemental silicon and 4) fertilizer-based the analysis N rate is two times the experiment with sugarcane planting K95-84 var. The results do not found white leaf disease symptom and yield, yield components and CCS no statistically significant differences in all treatments.

6. คำนำ

ปัญหาโรคใบขาวในอ้อยที่เกิดการแพร่ระบาดรุนแรง ส่งผลต่อการผลิตอ้อยและน้ำตาลเป็นอย่างมาก เนื่องจากเมื่อมีใบขาวระบาดในแปลงปลูกใด อ้อยจะแสดงอาการใบขาวและไม่เจริญเติบโต ไม่ให้ลำ และแห้งตายไป พื้นที่บริเวณนั้นจะไม่สามารถเก็บผลผลิตอ้อยได้ โดยเฉพาะอ้อยตอแสดงอาการรุนแรงมากกว่าอ้อยปลูก สาเหตุเนื่องจากการขาดคลอโรฟิลล์สำหรับการสังเคราะห์แสง และมีการสร้างเม็ดแป้งขึ้นมามากเกินความต้องการของต้นอ้อย และเม็ดแป้งอยู่แทนที่ออร์แกเนลต่าง ๆ ภายในคลอโรพลาสต์ มีผลให้ภายในคลอโรพลาสต์เสื่อมสภาพ ไม่สามารถสร้างคลอโรฟิลล์ได้ (Hatsuga *et al*., 2004) ดังนั้นทำอย่างไรจึงจะสามารถรักษาสภาพอ้อยและฟื้นฟูต้นที่เป็นโรคใบขาวไว้ และให้ต้นอ้อยที่แสดงอาการใบขาวสามารถสร้างคลอโรฟิลล์ สำหรับนำมาใช้ในการสังเคราะห์แสง เพื่อสร้างอาหารและเลี้ยงลำต้นอ้อยที่เป็นโรคใ

บขาว ให้สามารถเจริญเติบโตต่อไปจนกระทั่งให้ผลผลิตได้

งานวิจัยที่ได้ปฏิบัติมาก่อนหน้านี้ในเรื่องของการกระตุ้นให้อ้อยมีความต้านทานต่อโรคมากขึ้นด้วยตัวอ้อยเอง โดย กอบเกียรติ และคณะ (2553) ได้วิจัยในเรื่องการจัดการสมดุลธาตุอาหารพืชเพื่อเพิ่มความทนทานต่อโรคใบขาวอ้อย พบว่าธาตุอาหารหลายชนิดมีผลต่อการแสดงออกของโรคใบขาวอ้อยในสภาพแปลงปลูก ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงได้นำผลงานวิจัยที่ผ่านมาใช้เป็นอีกหนึ่งแนวทาง สำหรับการพัฒนางานวิจัยในด้านนี้ โดยการประยุกต์ใช้สารอาหารที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ในต้นพืช แต่เนื่องจากการทดลองให้ธาตุอาหาร ซึ่งเป็นสารอาหารในสภาพแปลงปลูก ควบคุมสภาพแวดล้อมได้ยากกว่าในสภาพปลอดเชื้อ จึงเลือกใช้วิธีการปรับปรุงธาตุอาหารในสภาพปลอดเชื้อเป็นเบื้องต้น สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อนำไปเป็นแนวทางที่จะใช้ในการประยุกต์พัฒนาในสภาพแปลงปลูกต่อไป โดยวิธีการให้สารอาหารหรือแร่ธาตุสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการสร้างคลอโรฟิลล์ เช่น เหล็ก แมกนีเซียม แมงกานีส และโซเดียม เป็นต้น ซึ่งการทดลองนี้เป็นการดัดแปลงให้ธาตุอาหารเพิ่มหรือลดปริมาณในอาหารสังเคราะห์กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้าอ้อยที่ติดเชื้อไฟโตพลาสมาแต่ยังไม่แสดงอาการเป็นโรคใบขาวให้เห็น และทำการศึกษาผลพัฒนาการของต้นอ้อยในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้รับผลกระทบจากการได้รับธาตุอาหารต่าง ๆ ต่อการแสดงออกของอาการใบขาวที่เกิดขึ้นจากเชื้อไฟโตพลาสมา จากนั้นในขั้นตอนสุดท้าย จึงนำแนวทางนี้ไปประยุกต์ใช้ทดสอบในสภาพแปลงปลูกจริง

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

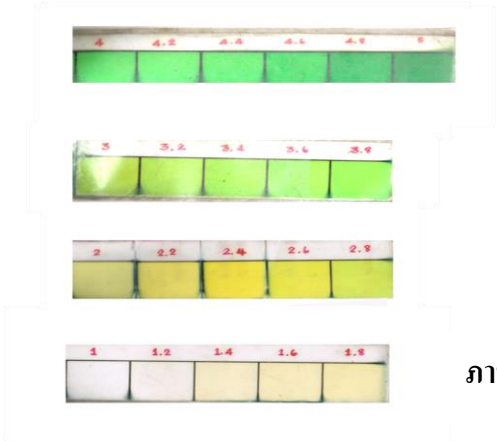
1. เนื้อเยื่ออ้อย

   ต้นกล้าอ้อยและแคลลัสติดเชื้อไฟโตพลาสมา ที่ไม่แสดงอาการใบขาว

2. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตรต่าง ๆ

   อาหารสังเคราะห์สูตรหลัก MS (Murashige and Skoog, 1962)

3. แถบเทียบสีมาตรฐาน



ภาพที่ 1 แถบสีมาตรฐานที่ใช้ในการเปรียบเทียบสีใบอ้อย

4. อุปกรณ์สำหรับปลูกอ้อย

กระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว วัสดุปลูก (ทราย ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.8-6.0) พื้นที่ปลูกอ้อย (สภาพไร่) และปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0, 18-46-0 และ 0-0-60

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาในอาหารสังเคราะห์ที่ดัดแปลงธาตุอาหารต่าง ๆ ตามแผนการทดลอง
2. ย้ายหน่ออ้อยจากการทดลองบางส่วนลงปลูกในกระถางภายในโรงมุ้ง
3. ปลูกอ้อยในแปลงเกษตรกรร่วมกับการจัดการธาตุอาหาร

ขั้นตอนที่ 1

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ มี 6 วิธีการทดลอง ๆ ละ 15 ขวด ขวดละ 2 หน่อ

ใช้หน่ออ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมา ที่พัฒนามาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอดและจากแคลลัส และขยายเพื่อเพิ่มปริมาณหน่ออ้อยจำนวนมาก โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 พีพีเอม กรดซิตริก 150 พีพีเอม และน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6-5.8 นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ควบคุมอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที และเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยไว้ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสง 1000-3000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน เปลี่ยนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณต้นกล้าทุก 1-2 เดือน ขยายเพิ่มปริมาณไว้ใช้กับทุกการทดลอง หลังจากนั้นย้ายหน่ออ้อยที่มีอายุ 1 เดือน ลงการทดลองที่ 1 ทุกวิธีการ เมื่อเริ่มต้นเพาะเลี้ยง แล้วมีการเปลี่ยนอาหาร 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงนาน 1 เดือน เก็บบันทึกผลการทดลอง เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต สีใบ (ให้เป็นค่าคะแนน 1-5 โดยเปรียบเทียบกับแถบสีมาตรฐานที่กำหนดจากสีขาวจนกระทั่งเป็นสีเขียว) ทุก 3-5 วัน และนับจำนวนต้นเมื่ออายุ 1 เดือน ก่อนเปลี่ยนอาหารแต่ละครั้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลองนี้ นำผลการทดลองไปใช้ดัดแปลงสูตรอาหารสังเคราะห์ของการทดลองที่ 2 3 4 และ 5

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการมากและน้อยบางชนิดในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

ประกอบด้วย 6 วิธีการทดลอง โดยทุกวิธีการทดลองประกอบด้วยสูตรอาหารสังเคราะห์หลัก คืออาหารสูตร MS (ตารางภาคผนวก) ที่เติม BA 2 พีพีเอม กรดซิตริก 150 พีพีเอม และน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร (MMS) ดังวิธีการทดลองคือ

วิธีการทดลองที่ 1) MMS

วิธีการทดลองที่ 2) MMS ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต

วิธีการทดลองที่ 3) MMS เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตเป็น 2 เท่าจากสูตร MMS ปกติ

วิธีการทดลองที่ 4) MMS เพิ่มปริมาณแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง

วิธีการทดลองที่ 5) MMS เพิ่มปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต, แคลเซียมคลอไรด์, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตอย่างละ 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง

วิธีการทดลองที่ 6) MMS ไม่เติมแมงกานีสซัลเฟตกับซิงค์ซัลเฟต

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อยบางชนิดในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

ประกอบด้วย 4 วิธีการทดลอง คือ

วิธีการทดลองที่ 1) MMS

วิธีการทดลองที่ 2) MMS ไม่เติมแมงกานีสซัลเฟต

วิธีการทดลองที่ 3) MMS ลดปริมาณแมงกานีสซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง

วิธีการทดลองที่ 4) MMS เพิ่มแมงกานีสซัลเฟตเป็น 2 เท่า

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลกระทบของค่าความเป็นกรดด่างในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

ประกอบด้วย 5 วิธีการทดลอง คือ

วิธีการทดลองที่ 1) MMS ค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6-5.8

วิธีการทดลองที่ 2) MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4

วิธีการทดลองที่ 3) MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2

วิธีการทดลองที่ 4) MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0

วิธีการทดลองที่ 5) MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อยบางชนิดในอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

ประกอบด้วย 4 วิธีการทดลอง คือ

วิธีการทดลองที่ 1) MMS

วิธีการทดลองที่ 2) MMS เพิ่มแมงกานีสซัลเฟต 1 เท่า

วิธีการทดลองที่ 3) MMS MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต

วิธีการทดลองที่ 4) MMS เพิ่มโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 เท่า

วิธีการทดลองที่ 5) ไม่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

การทดลองที่ 1-4 บันทึกผลการทดลอง เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต สีใบ (ให้เป็นค่าคะแนน เปรียบเทียบกับแถบสีมาตรฐานที่กำหนดจากขาวเป็นเขียว ค่าคะแนน 1-5) ทุก 3-5 วัน และนับจำนวนต้นเมื่ออายุ 1 เดือน ก่อนเปลี่ยนอาหารแต่ละครั้ง ทำการเปลี่ยนอาหารทั้งหมด 4 ครั้ง

การทดลองที่ 5 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มสารประกอบกลุ่มธาตุเหล็กในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีการทดลองที่ 1) MMS

วิธีการทดลองที่ 2) MMS เพิ่มเฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอ 1 เท่า

วิธีการทดลองที่ 3) MMS ไม่มีเฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอ

วิธีการทดลองที่ 4) MMS เพิ่มเฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอ 1/2 เท่า

บันทึกผลการทดลอง เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต สีใบ (ให้เป็นค่าคะแนน เปรียบเทียบกับแถบสีมาตรฐานที่กำหนดจากขาวเป็นเขียว ค่าคะแนน 1-5) ทุก 3-5 วัน และนับจำนวนต้นเมื่ออายุ 1 เดือน ก่อนเปลี่ยนอาหารแต่ละครั้ง ทำการเปลี่ยนอาหารทั้งหมด 4 ครั้ง และย้ายลงอาหารใหม่สูตรออกราก หลังจากนั้นอนุบาลต้นกล้าและย้ายปลูกลงกระถาง

ขั้นตอนที่ 2

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB 5x4 ปัจจัย 4 ซ้ำ

ปัจจัย A ประกอบด้วยกล้าอ้อยที่มาจาก 1) อาหารสังเคราะห์สูตรขยายพันธุ์ (MS) 2) อาหารสังเคราะห์สูตรขยายพันธุ์เพิ่มแมกนีเซียมซัลเฟต 1 เท่า (MS เพิ่ม 1x $MgSO_4$)
3) อาหารสังเคราะห์สูตรขยายพันธุ์ เพิ่มโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 เท่า (MS เพิ่ม 1x KH_2PO_4) 4) อาหารสังเคราะห์สูตรขยายพันธุ์เพิ่มเฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอ 1 เท่า (MS เพิ่ม 1x $FeSO_4$) และ 5) อาหารสังเคราะห์สูตรขยายพันธุ์เพิ่มเฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอ 1/2 เท่า (MS เพิ่ม 1/2x $FeSO_4$)

ปัจจัย B ประกอบด้วย 1) ใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K 2) ใส่ปุ๋ยเกินอัตราสมดุลธาตุอาหาร N 1 เท่า 3) ใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่มซิลิกอน และ 4) ใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่มแมกนีเซียมซัลเฟต เฟอรัสซัลเฟต ซิงค์ซัลเฟต และโบรอน (บอร์แรกซ์)

การทดลอง ทำการย้ายต้นกล้าอายุ 1 เดือน ลงปลูกในกระถางที่บรรจุทราย แบ่งใส่ปุ๋ยตามแผนการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งแรกใส่พร้อมปลูก ครั้งที่ 2 เมื่ออ้อยอายุ 3 เดือน วางกระถางไว้ในโรงมุ้งที่ป้องกันแมลง รดน้ำ

ทุก ๆ วันละ 1 ครั้ง บันทึกการเจริญเติบโตด้านความสูงและจำนวนหน่อ 1 3 และ 6 เดือน และการแสดงอาการใบขาว

ขั้นตอนที่ 3

วิธีการ

การดำเนินการทดลองปีงบประมาณ 2558 เป็นการนำผลการทดลองจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้ในสภาพไร่ ทำการทดลองบนพื้นที่ 2 ไร่ ในแปลงเกษตรกรที่ บ้านตะบอง ต.โบสถ์ อ.พิมาย จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นเขตใบขาวระบาดรุนแรง โดยเก็บตัวอย่างดิน 2 ชั้น คือ 0-20 และ 20-50 เซนติเมตรวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารก่อนปลูก เก็บใบอ้อยจากต้นพันธุ์ใบที่ 3 จากยอด หรือ ใบแรก (มองเห็นคอใบ) ส่งตรวจเชื้อใบขาวของท่อนพันธุ์ และปลูกอ้อยวันที่ 23 พฤศจิกายน 2557 พันธุ์ 95-84 เป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก ใส่ปุ๋ยสูตร 16-8-8 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่รองพื้นครั้งแรก ปลูกแถวคู่ ระหว่างร่อง 1.6 ม. ปฏิบัติดูแลตามปกติก่อนใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ตามแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยตามเกษตรกร

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N P K และเพิ่มธาตุซิลิกอน

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N เพิ่มอัตราขึ้นเป็น 2 เท่า

บันทึกจำนวนต้นงอก นับจำนวนต้นที่แสดงอาการใบขาว และการเจริญเติบโตเมื่ออ้อยอายุ 4 เดือน

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2554 – กันยายน 2558 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และแปลงเกษตรกรที่บ้านตะบอง ต.โบสถ์ อ.พิมาย จังหวัดนครราชสีมา

8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการมากและน้อยบางชนิดในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

ผลการทดลอง หลังเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อบนทุกสูตรอาหารสังเคราะห์เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและจำนวนหน่ออ้อย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ระหว่างหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารสังเคราะห์ MMS ที่ให้การรอดชีวิตสูงสุด 64.4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ให้จำนวนหน่ออ้อยเฉลี่ย 46.6 หน่อ และสูตรอาหารสังเคราะห์ MMS ที่ไม่มีธาตุอาหารแมงกานีสซัลเฟตและซิงค์ซัลเฟต มีการรอดชีวิตต่ำสุด 25.5 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนหน่ออ้อยเฉลี่ย 9.33 หน่อ (ตารางที่ 1) การเปลี่ยนแปลงสีใบ หลังการเพาะเลี้ยงตั้งแต่วันแรกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในทุกวิธีการทดลอง

จนกระทั่งถึง 27 วัน ใบของหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารสังเคราะห์ MMS มีค่าคะแนนเฉลี่ย 2.8 ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มปริมาณแอมโนเนียมไนเตรต 2 เท่า ค่าคะแนนสีใบหน่ออ้อยเฉลี่ย 1.9 (ใบมีสีขาวครีม) สูตรอาหารสังเคราะห์ MMS ที่เพิ่มปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 2 เท่า และลดซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง ให้ค่าคะแนนสีใบหน่ออ้อยที่ 2.36 (ใบสีเหลืองอ่อน) และ สูตร MMS ที่ไม่เติมธาตุแมงกานีสซัลเฟตและซิงค์ซัลเฟต ค่าคะแนน 2.16 (ใบสีเหลืองอ่อน) สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีใบของวิธีการทดลองที่ 1-6 ในวันแรกของการเพาะเลี้ยงสีใบของหน่ออ้อยมีค่าคะแนน 3.10, 3.23, 3.06, 3.06, 3.16 และ 3.26 ตามลำดับ (ใบมีสีเขียวอ่อน) เมื่อเพาะเลี้ยงไปจนกระทั่ง 30 วัน สีใบของทุกวิธีการพัฒนาให้ค่าคะแนนลดต่ำลงเหลือ 2.56, 2.4, 2.2, 2.53, 2.23 และ 2.26 ตามลำดับ (สีใบอยู่ช่วงสีเหลืองอ่อนถึงสีเขียวอ่อน) (ตารางที่ 2) ซึ่งสีใบในทุกวิธีการทดลองยังคงเป็นสีเขียว ไม่แสดงอาการใบขาวให้เห็น

เมื่อเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยอายุครบ 1 เดือน ย้ายหน่ออ้อยทั้งหมดไปยังอาหารใหม่สูตรอาหารสังเคราะห์เดิมครั้งที่ 1 พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในทุกวิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยสูงสุดมาจากสูตรอาหารสังเคราะห์ MMS 52.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต สูตร MMS เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตเป็น 2 เท่า สูตร MMS เพิ่มปริมาณแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟต ลงครึ่งหนึ่ง และสูตร MMS เพิ่มปริมาณโพแทสเซียมไนเตรต, แคลเซียมคลอไรด์, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง ซึ่งมีการรอดชีวิตเฉลี่ย 34.3, 34.0, 28.6 และ 22.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสูตร MMS ไม่เติมแมงกานีสซัลเฟต กับซิงค์ซัลเฟต เริ่มตายหลังการเพาะเลี้ยงหน่ออ้อย 22 วัน และตายหมดก่อนเปลี่ยนอาหารครั้งต่อไป และการเปลี่ยนแปลงของสีใบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญของสูตรอาหาร MMS และ สูตรอาหาร MMS ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ที่มีค่าคะแนนสีใบ 2.4 และ 2.66 (ใบสีเหลืองอ่อน) ตามลำดับ สูตรอาหาร MMS ไม่เติมแมงกานีสซัลเฟตและซิงค์ซัลเฟต ค่าคะแนนสีใบ 0.83 (ใบสีขาวปนน้ำตาล) หลังการเพาะเลี้ยงหน่ออ่อนได้ 22 วัน ซึ่งในสูตรอาหารนี้สีใบมีการเปลี่ยนแปลงเริ่มขึ้นหลังการเพาะเลี้ยงได้ 6 วัน ค่าคะแนน 2.33 (ใบสีเหลืองอ่อน) และค่าคะแนนสีใบลดลงชัดเจนเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 9 วัน คือ 1.73 (ใบสีขาวครีม) และลดลงเหลือ 1.6 เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 16 วัน (ใบสีขาว) และเปลี่ยนเป็นสีขาวปนน้ำตาลในช่วงที่เพาะเลี้ยงได้ 22-27 วัน (ค่าคะแนน 0.83-0.86) ใบของหน่ออ้อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งหมดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (ตารางที่ 2) สำหรับการเพิ่มปริมาณหน่อ พบว่าสูตรอาหาร MMS มีจำนวนหน่อสุทธิ 67.3 หน่อ ซึ่งความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตเป็น 2 เท่า ที่มีจำนวนหน่อสุทธิ 7.33 หน่อ ในขณะที่สูตรอาหารอื่นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหาร MMS เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 1 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 การเปลี่ยนแปลงสีใบให้ค่าคะแนนที่ไม่ความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสูตรอาหาร ยกเว้นในสูตรอาหาร MMS ที่ไม่มีซิงค์ซัลเฟตที่การเปลี่ยนแปลงสีใบชัดเจน มีค่าคะแนนลดลงตามอายุหลังการเพาะเลี้ยงจากวันเริ่มต้นค่าคะแนน 2.6 เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 9 วัน ค่าคะแนนสีใบลดลงเหลือเพียง 1.63 และลดลงเหลือเพียง 1.46 หลังการเพาะเลี้ยงได้ 27 วัน และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหน่ออ้อยตายลงหลังเพาะเลี้ยง 30 วัน และในสูตรอาหาร MMS เพิ่มแอมโมเนียมไนเตรต 2 เท่า ช่วงหลังของการเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยมีการเปลี่ยนแปลงสีใบจากเหลืองอ่อนเป็นในสีขาวครีมโดยให้ค่าคะแนนลดลงเหลือเพียง 1.70 ในการเปลี่ยนอาหารครั้งนี้ เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการรอดชีวิตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนสูตร

อาหารที่เหลือมาจากการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 โดยสูตรอาหารที่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุดคือสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต 2 เท่า (76.1) รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 2 เท่า และลดซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง (68.7) สูตร MMS (59.0) สูตร MMS เพิ่มปริมาณโปรแตสเซียมไนเตรต, แคลเซียมคลอไรด์, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง (39.0) และจำนวนหน่อสุทธิมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญของสูตรอาหาร MMS ที่จำนวนหน่อสุทธิสูงสุด 72.0 หน่อ และต่างกันสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต 2 เท่า ที่ให้จำนวนหน่ออ้อยสุทธิต่ำสุด 5.33 หน่อ ซึ่งเป็นวิธีการที่ให้จำนวนหน่ออ้อยสุทธิที่ต่ำสุดในสูตรอาหารนี้ แต่ไม่แตกต่างกันกับสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณโปรแตสเซียมไนเตรต, แคลเซียมคลอไรด์, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่งซึ่งให้หน่ออ้อย 16.0 หน่อ (ตารางที่ 1) หลังจากทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 ซึ่งเป็นครั้งสุดท้าย ทุกสูตรอาหารมีจำนวนหน่อและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดต่ำลง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 2 เท่า และลดซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง ให้ปริมาณหน่อสุทธิสูงสุด 44.3 หน่อ แต่เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยที่ 44.2 ต่ำกว่าสูตรอาหาร MMS ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุดที่ 61.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีจำนวนหน่อรองลงมาอยู่ที่ 35.0 หน่อ และสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณโปรแตสเซียมไนเตรต, แคลเซียมคลอไรด์, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุด 23.8 และมีจำนวนหน่อสุทธิต่ำสุดเช่นเดียวกันที่ 9.66 หน่อ (ภาพที่ 2, 3 และ ตารางที่ 1) การเปลี่ยนแปลงสีใบมีการเปลี่ยนแปลงมากในสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มแอมโมเนียมไนเตรต 2 เท่า หลังการเพาะเลี้ยงได้เพียง 3 วัน ใบเปลี่ยนจากสีเหลืองมาเป็นสีขาวครีม จากค่าคะแนน 2.45 เหลือเพียง 1.3 และคงค่าคะแนนนี้จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไป 17 วันหลังการเพาะเลี้ยง ในขณะที่สูตรอาหาร MMS มีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของคะแนนสีใบ กับสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 2 เท่า และลดซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง และสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณโปรแตสเซียมไนเตรต, แคลเซียมคลอไรด์, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 เท่า และลดปริมาณซิงค์ซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง หลังเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยได้ 17 วัน โดยให้ค่าคะแนนที่ 2.73, 2.55 และ 2.50 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ในสูตรอาหารสังเคราะห์สามารถชักนำให้หน่อมีการเปลี่ยนแปลงสีใบที่ให้ค่าคะแนนต่ำ แสดงอาการใบเหลือง ใบขาวครีม และใบขาวให้เห็นได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในเดือนที่ 2 หรือเมื่อเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 ยกเว้นสูตรอาหารสังเคราะห์ที่มีสารอาหารปกติที่ให้ค่าคะแนนระดับกลาง คือใบยังคงมีสีเขียวอ่อน และยังคงเพิ่มปริมาณต้นกล้าได้มากจนกระทั่งถึงเดือนที่ 4 ในขณะที่วิธีการอื่น ๆ โดยเฉพาะสูตรอาหารสังเคราะห์ที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตและซิงค์ซัลเฟต หน่ออ้อยตายตั้งแต่เพาะเลี้ยงไปได้เพียง 1 เดือน แต่วิธีการที่ไม่มีเฉพาะสังกะสี หน่ออ้อยตายช้ากว่าหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีทั้งแมงกานีสและสังกะสี ซึ่งปกติแล้วบทบาทของแร่ธาตุอาหารทั้งสองชนิดนี้ พืชมีความต้องการเพียงเล็กน้อยเพื่อนำไปใช้โดยตรงต่อขบวนการสังเคราะห์แสง และเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ โดยเฉพาะสังกะสีช่วยตรึงแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ การขาดธาตุอาหารทั้งสองชนิดจึงมีผลต่อกระทบขบวนการสังเคราะห์แสงของพืชอย่างรุนแรงและมีผลกระทบต่อเนื่องไปกับการใช้ธาตุไนโตรเจนและธาตุเหล็ก (http//gis.agr.ku.ac.the_learningtissuedocumentlession4.pdf) ในขณะที่สูตรอาหารสังเคราะห์ที่มีปริมาณไนโตรเจนมากเกินกว่าปกติ ต้นกล้าอ้อยเกิดอาการเป็นพิษตายไปเช่นกัน เนื่องจากไนโตรเจนเป็น

องค์ประกอบของกรดอะมิโน กรดนิวคลีอิค โคเอนไซม์ และเอ็นไซม์ ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พืชสามารถดูดใช้ธาตุอาหารในรูปไนเตรทได้ดีกว่ารูปแอมโมเนียม พืชจึงสะสมไนเตรทไว้ในรูปกลูตามีนเป็นส่วนใหญ่ เพื่อที่พืชจะได้นำไนเตรทไปใช้เพื่อเปลี่ยนไปเป็นกลูตามีน คลอโรฟิลล์ และสารประกอบอื่น ๆ การขาดไนโตรเจนทำให้พืชไม่มีการสร้างระบบของเนื้อเยื่อลำเลียง แต่ถ้ามีแอมโมเนียมากเกินไปอาจเกิดผลเสียได้ โดยไนโตรเจนไปชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานทางสรีรวิทยา และชักนำให้เกิดผลกระทบเสียหายต่อพันธุกรรมเนื้อเยื่อพืชได้ (Kintzios *et al*., 2004) สำหรับสูตรอาหารสังเคราะห์อื่น ๆ ที่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แคลเซียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท ที่เพิ่มมากขึ้นกว่าปกติในอาหารสังเคราะห์ หน่ออ้อยยังคงเจริญเติบโตได้ แต่สามารถกระตุ้นให้หน่ออ้อยแสดงอาการใบขาวปนเขียว ใบเหลืองได้ และในอาหารสังเคราะห์ที่เพิ่มธาตุพวกนี้เข้าไปมากเกินความต้องการของพืช มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตที่ผิดปกติไปบ้าง แต่ไม่มากพอที่ทำให้เกิดพิษกับหน่ออ้อย หน่ออ้อยจึงยังคงมีชีวิตรอดได้ถึง 4 เดือนของการเพาะเลี้ยง แต่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำ และไม่สามารถเพิ่มปริมาณหน่ออ้อยใหม่ได้ ซึ่งเกี่ยวข้องกับปริมาณธาตุอาหารหลักคือ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมและแคลเซียม โดยสภาพทั่วไปฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบของนิวคลีโอโปรตีน และฟอสฟอไลปิด NADP ATP อยู่ในแวคิวโอล และไซโตพลาสซึมมีผลเกี่ยวเนื่องกับเมตาโบลิสซึมและการช่วยดูดใช้ธาตุโพแทสเซียม การมีปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มในอาหารสังเคราะห์มากกว่าปกติ จึงเป็นการสะสมสารละลายฟอสฟอรัส ที่มีผลสัมพันธ์กับอัตราของการสังเคราะห์โปรตีนและกลไกการทำงานภายในพืชที่สูงกว่าปกติ ทำให้ระบบการพัฒนาการของพืชผิดปกติไปจากเดิม และยังมีผลเกี่ยวข้องกับกิจกรรมการเชื่อมต่อของฟอสฟอรัสกับกลไกการทำงานโพรลีนของ พิวรีนผ่านทางการสะสมของ pentose phosphate pathway

(http//gis.agr.ku.ac.the_learningtissuedocumentlession4.pdf, Tester and Blatt, 1989; Guardia and Benlloch, 1980; Milazzo *et al*., 1998) ในพืชบางชนิดมีความต้องการโพแทสเซียมสูงกว่าพืชอื่น ๆ เพราะมีส่วนสำคัญในขบวนการสังเคราะห์แสง การหายใจ คายน้ำ และเคลื่อนย้ายน้ำตาล นอกจากนี้ยังมีกระทบต่อการไหลเวียนแร่ธาตุอื่น ๆ สำหรับธาตุแคลเซียม เป็นองค์ประกอบสำคัญของเนื้อเยื่อต่าง ๆ และคลอโร พลาสต์ ซึ่งในพืชปกติ 60% ของแคลเซียมมีการสะสมไว้ในคลอโรพลาสต์ภายในใบของพืช สำหรับพืชที่ขาดแคลเซียมจะมีความผิดปกติในการแบ่งเซลล์ได้ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณความเข้มข้นของแคลเซียม อาจมีผลกระทบร่วมกับการป้องกันการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มไขมัน หรือความสมบูรณ์ของกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ (httpgis.agr.ku.ac.the_learningtissuedocumentlession4.pdf ,Leshem and Luric, 1995) ธาตุอาหารทุกตัวต้องมีความสมดุลซึ่งกันและกัน เนื่องจากมีการทำงานเชื่อมต่อกัน ถ้ามีธาตุอาหารใดขาดหรือเกินไปจากปกติย่อมส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตกับพืช และอาจเกิดเป็นพิษทำลายเนื้อเยื่อพืชได้ มากไปกว่านั้นประสิทธิภาพของธาตุอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผลกระทบมากขึ้นกว่าเดิมได้ แต่ต้องเกี่ยวข้องและต้องขึ้นกับปัจจัยทางเคมี กายภาพ และชีววิทยาของเนื้อเยื่อพืชประกอบกันด้วย (Kintzios *et al*., 2004)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อยบางชนิดในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

นำผลการทดลองจากการทดลองที่ 1 มาดัดแปลงสูตรอาหารสังเคราะห์ เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุอาหารแมงกานีสซัลเฟตที่มีผลกระทบต่อการพัฒนาการของหน่ออ้อย คือสูตรอาหาร MMS, สูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต, สูตรอาหาร MMS ลดปริมาณแมงกานีสลงครึ่งหนึ่ง และสูตรอาหาร MMS เพิ่มแมงกานีสเป็น 2 เท่า ผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยเริ่มต้นใน 1 เดือนแรก เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่ออ้อยและจำนวนหน่ออ้อยสุทธิไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยสูตรอาหารสังเคราะห์ MMS มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 86.6 รองลงมาได้จากสูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต และ มีแมงกานีสซัลเฟตเพียงครึ่งหนึ่ง (76.6 และ 76.6) ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยที่สุดได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มปริมาณแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า (ตารางที่ 3) ซึ่งจำนวนหน่ออ้อยสุทธิจากสูตรอาหาร MMS ที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตให้ปริมาณหน่ออ้อยเฉลี่ยสูงสุด 54.6 หน่อ รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มปริมาณแมงกานีส 2 เท่า (49.3 หน่อ) สูตรอาหาร MMS ที่มีแมงกานีสซัลเฟตครึ่งหนึ่ง (47.3 หน่อ) และ สูตรอาหาร MMS (46.0 หน่อ) (ตารางที่ 3) สำหรับการเปลี่ยนแปลงของสีใบในการเริ่มต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย การเปลี่ยนแปลงของสีใบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย 12 วัน โดยหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MMS ให้ค่าคะแนนเฉลี่ยสูงสุด 2.90 (ใบสีเขียวอ่อน) ไม่แตกต่างกับสูตรอาหาร MMS ที่มีปริมาณแมงกานีสซัลเฟตครึ่งหนึ่ง (2.7, ใบสีเขียวอ่อน) แต่แตกต่างกับการเปลี่ยนแปลงสีใบของหน่ออ้อยจากสูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต (2.43, ใบสีเหลืองอ่อน) และสูตรอาหาร MMS ที่เพิ่มปริมาณแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า (2.58, ใบสีเหลืองอ่อน) แต่สูตรอาหาร MMS ที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตและเพิ่มแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า ให้สีใบไม่ต่างกัน สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีใบในแต่ละช่วงเวลาหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุกสูตรอาหารมีค่าคะแนนสีใบในวันเริ่มต้นสูงและค่าคะแนนลดลงจนกระทั่งเพาะเลี้ยงไปได้ 27 วัน แต่เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 30 วัน ค่าคะแนนสีใบเพิ่มขึ้นเปลี่ยนกลับคืนมาเหมือนเดิม ดังสูตรอาหาร MMS เริ่มเพาะเลี้ยงวันแรกมีค่าคะแนนเฉลี่ย 2.83 หลังเพาะเลี้ยง 27 วัน ค่าคะแนนสีใบลดลงเหลือ 2.67 และเมื่อเพาะเลี้ยง 30 วัน ค่าคะแนนสีใบเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเป็น 2.83 ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงบนสูตร MMS ที่ลดปริมาณแมงการนีสซัลเฟตลงครึ่งหนึ่งให้ค่าคะแนนที่ 2.75 (วันเริ่มต้น) , 2.60 (27 วัน) และ 2.74 (30 วัน) และสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า มีค่าคะแนนสีใบ 2.76, 2.55 และ 2.71 ตามลำดับ ยกเว้นสูตรอาหาร MMS ที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตที่ค่าคะแนนสีใบที่เปลี่ยนแปลงไปไม่เปลี่ยนกลับมาเท่ากับวันเริ่มเพาะเลี้ยง ซึ่งค่าคะแนนสีใบเริ่มเพาะเลี้ยงคือ 2.73 หลังเพาะเลี้ยง 27 วัน มีค่าคะแนน 2.41 และ 30 วัน ค่าคะแนน 2.61 ตามลำดับ

เมื่อเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยเป็นระยะเวลา 1 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตยังคงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสูตรอาหารสังเคราะห์ ซึ่งสูตรอาหาร MMS ที่มีแมงกานีสซัลเฟตครึ่งหนึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด (82.3) รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS (76.2) สูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า (70.4) และสูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยที่สุด (69.3) (ตารางที่ 3) และปริมาณหน่ออ้อยที่เพิ่มปริมาณสุทธิไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน โดยสูตรอาหาร MMS ให้จำนวนหน่อสุทธิสูงสุด 101.3 หน่อ รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ที่มีแมงกานีสซัลเฟตครึ่งหนึ่ง (85.3) และเพิ่มแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า (85.3) สำหรับจำนวนหน่อสุทธิต่ำสุดได้จาก

สูตรอาหารที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต (77.3) (ภาพที่ 5 และ ตารางที่ 3)และการเปลี่ยนแปลงสีใบในทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยทุกสูตรอาหารในวันเริ่มของการเพาะเลี้ยงมีค่าคะแนนเฉลี่ย 2.46, 2.44, 2.51 และ 2.52 ตามลำดับ แต่หลังเพาะเลี้ยงพบว่าค่าคะแนนสีใบเฉลี่ยมีการพัฒนาให้ค่าคะแนนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 2.83, 2.61, 2.76 และ 2.84 ตามลำดับ ซึ่งค่าคะแนนเฉลี่ยสีใบที่ยังคงให้ค่าคะแนนต่ำสุดอยู่บนสูตรอาหาร MMS ที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต (ตารางที่ 4) หลังจากนี้ทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 พบว่าหน่ออ้อยเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงในเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเริ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยสูตรอาหาร MMS ซึ่งเป็นสูตรอาหารควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 90.3 ซึ่งแตกต่างกับสูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตที่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยต่ำสุด 64.3 แต่จำนวนหน่อสุทธิไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยสูตรอาหาร MMS ยังคงให้จำนวนหน่อสุทธิสูงสุด 112.6 หน่อ รองลงมาคือสูตรอาหารMMS ที่เพิ่มปริมาณแมงกานีสเป็น 2 เท่า (80.6 หน่อ) สูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต (62.6) และ สูตรอาหาร MMS ลดปริมาณแมงกานีสซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง (61.3) ตามลำดับ (ตารางที่ 3) สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าคะแนนสีใบในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 สูตรอาหาร MMS ให้ค่าคะแนนเฉลี่ยสีใบแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย 27-30 วัน (2.95 และ 2.98 ตามลำดับ) โดยแตกต่างกับสูตรอาหาร MMS ที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตที่ให้ค่าคะแนนเฉลี่ยของสีใบที่ 2.81 และ 2.85 ตามลำดับ แต่สูตรอาหาร MMS ให้ค่าคะแนนการเปลี่ยนแปลงสีใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกับสูตรอาหารอื่น (ตารางที่ 4) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยครบ 3 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในทุกสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยสูตรอาหาร MMS ยังคงให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 75.3 รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS เพิ่มปริมาณแมงกานีสซัลเฟต 2 เท่า (64.3) สูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต (56.6) และสูตรอาหาร MMS ลดปริมาณแมงกานีสซัลเฟตลงครึ่งหนึ่ง (53.3) แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในจำนวนหน่อสุทธิและการเปลี่ยนแปลงของค่าคะแนนสีใบเฉลี่ยเมื่อหน่ออ้อยมีอายุครบ 4 เดือน ซึ่งจำนวนสุทธิสูงสุดจากสูตรอาหาร MMS (171.3 หน่อ) จำนวนหน่อสุทธิต่ำสุดจากสูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต 33.3 หน่อ และสูตรอาหาร MMS ลดปริมาณแมงกานีสลงครึ่งหนึ่ง 71.3 หน่อ สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าคะแนนสีใบเฉลี่ยจากสูตรอาหาร MMS ให้ค่าคะแนนเฉลี่ยของสีใบสูงสุด 3.03 ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับค่าคะแนนเฉลี่ยสีใบของหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงอยู่บนสูตรอาหาร MMS ไม่มีแมงกานีสซัลเฟตคือ 2.71 (ตารางที่ 4) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยที่มีเชื้อไฟโตพลาสมาเริ่มต้นเป็นระยะเวลา 1 เดือนนั้น เนื้อเยื่ออ้อยยังคงแสดงความเป็นปกติอยู่ได้ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงและขยายผลต่อไป เนื้อเยื่ออ้อยเริ่มแสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ไม่มีความสมบูรณ์ของธาตุอาหารมีผลต่อความแข็งแรงของเนื้อเยื่ออ้อยให้เห็นเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ รวมถึงการเพิ่มปริมาณหน่ออ้อยเป็นไปแนวทางลดลงและการพัฒนาเปลี่ยนแปลงสีใบออกไปในทางสีเหลือง แต่ในขณะเดียวกันถึงแม้จะขยายผลนานถึง 4 เดือน เนื้อเยื่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงอยู่บนอาหารที่มีธาตุอาหารครบสมบูรณ์ เนื้อเยื่อหน่ออ้อยยังคงให้ความแข็งแรง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด สีใบแสดงให้เห็นเป็นสีเขียว และจำนวนหน่อก็เพิ่มขึ้นมากเป็นปกติของการขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ ในการทดลองนี้ยืนยันผลให้เห็นชัดเจนว่าธาตุอาหารแมงกานีสมีความจำเป็นต่อการรอดชีวิต การขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณ รวมถึงการพัฒนาสีของใบ ซึ่งถ้าพืชขาดธาตุแมงกานีสนานวันมากขึ้นจะมีผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของพืชได้ ทั้งนี้เนื่องจากแมงกานีสมีบทบาทต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ เกี่ยวข้องกับขบวนการ

สังเคราะห์แสง รวมถึงเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเอนไซม์ของพืชด้วย และพืชแต่ละชนิดมีความต้องการธาตุอาหารที่แตกต่างกันไป (สัมฤทธิ์ 2537; Declerck and Korban, 1994)

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลกระทบของค่าความเป็นกรดด่างในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองนี้ ใช้ผลการทดลองจากการทดลองที่ 1 มาดัดแปลงสูตรอาหารสังเคราะห์ เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างที่มีผลกระทบต่อการพัฒนาการของหน่ออ้อย คือสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6 (สูตรควบคุม) สูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4, 5.2, 5.0 และ 4.5 ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยเริ่มต้นใน 1 เดือนแรก เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่ออ้อยบนสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4 (90 %) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กับสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6 และ 5.0 (76.6 และ 73.3 %) ตามลำดับ และไม่แตกต่างกับสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0 และ 4.5 (80.0 และ 80.0 %) ตามลำดับ (ตารางที่ 5) จำนวนหน่ออ้อยสุทธิจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4 ให้ปริมาณหน่ออ้อยเฉลี่ยสูงสุด 24.0 หน่อ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับสูตร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 ที่ให้จำนวนหน่อต่ำสุด 11.3 หน่อ รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6, 5.2 และ 5.0 (22.6, 14.6 และ 14.0 หน่อ) ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับสูตรที่ให้จำนวนหน่อสุทธิสูงสุด (ตารางที่ 5) สำหรับการเปลี่ยนแปลงของสีใบในการเริ่มต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย การเปลี่ยนแปลงของสีใบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย 27 วัน โดยหน่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MMS ให้ค่าคะแนนเฉลี่ยสูงสุด 2.90 (ใบสีเขียวอ่อน) แตกต่างกับการเปลี่ยนแปลงสีใบของหน่ออ้อยจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2 ที่ให้ค่าคะแนนสีใบน้อยที่สุด 2.62 (ใบสีเหลืองอ่อน) และไม่แตกต่างกับสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2, 5.0 และ 4.5 มีค่าคะแนนของสีใบหน่ออ้อยที่ 2.73, 2.81 และ 2.68 ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีใบในทุกสูตรอาหารมีค่าคะแนนสีใบลดลงหลังจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่ออ้อยได้ 3-9 วัน อยู่ในช่วงค่าคะแนน 2.33-2.53 และค่าคะแนนสีใบเริ่มพัฒนาเพิ่มขึ้นเปลี่ยนกลับคืนมาเหมือนเดิมหลังการเพาะเลี้ยงได้ 12 วัน ที่มีค่าคะแนนตั้งแต่ 2.59-2.83 (ตารางที่ 6)

เมื่อเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยเป็นระยะเวลา 1 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและจำนวนหน่อสุทธิไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสูตรอาหารสังเคราะห์ ซึ่งสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและจำนวนหน่อสุทธิเฉลี่ยสูงสุด (89.5 % และ 22.0 หน่อ ตามลำดับ) รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 (84.1 %) สูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0 (73.1 %) สูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4 (72.7 %) และสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยที่สุด (69.4 %) (ตารางที่ 5) และสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 ให้จำนวนหน่อสุทธิน้อยที่สุด 10.6 หน่อ และสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2 ให้จำนวนหน่อสุทธิรองลงมาจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่า

ความเป็นกรดด่างที่ 5.6 จำนวน 20.6 หน่อ ตามด้วยสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4 และ 5.0 จำนวนหน่อ 16.6 และ 16.0 หน่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และการเปลี่ยนแปลงสีใบที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เริ่มขึ้นหลังจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่ออ้อยเป็นเวลา 9, 12, 17, 22, 27 และ 30 วัน เป็นต้นไป โดยค่าคะแนนสีใบมีค่าสูงสุดตามวันที่เพาะเลี้ยงคือ 2.93, 2.98, 2.98, 3.00, 3.08 และ 3.08 ตามลำดับ ได้จากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2 ซึ่งค่าคะแนนที่เพิ่มขึ้นเปรียบเทียบได้กับใบอ้อยอยู่ในช่วงค่าคะแนนที่ใบอ้อยมีสีเขียว และค่าคะแนนต่ำสุดจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0 คือ 2.73, 2.76, 2.79, 2.81, 2.85 และ 2.89 ตามลำดับ เป็นค่าคะแนนที่ใบอ้อยอยู่ในช่วงค่าคะแนนที่ใบอ้อยมีสีเขียวอ่อน (ภาพที่18, 20 และ ตารางที่ 6) หลังจากนี้ทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 พบว่าจำนวนหน่ออ้อยสุทธิและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตยังคงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) โดยสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 75.5 รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2, 5.4 และ 5.0 (65.5, 63.2 และ 62.7) ตามลำดับ และสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยต่ำสุด (51) และจำนวนหน่อสุทธิสูงสุด 24.6 หน่อ จากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6 เป็นสูตรควบคุม รองลงมาคือสูตรอาหารMMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2 (23.3 หน่อ) สูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4 และ 5.0 (22.0 และ 22.0 หน่อ) และ สูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 ให้จำนวนหน่อสุทธิน้อยที่สุด 13.3 หน่อ (ตารางที่ 5) สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าคะแนนสีใบในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 สูตรอาหาร MMS ให้ค่าคะแนนเฉลี่ยสีใบแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่วันแรกที่เพาะเลี้ยงจนกระทั่งเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยได้ 30 วัน โดยทุกสูตรอาหารการเปลี่ยนแปลงสีใบพัฒนาให้ค่าคะแนนเพิ่มขึ้นตามวันที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2 ให้ค่าคะแนนเฉลี่ยสีใบสูงสุดตั้งแต่วันแรกจนกระทั่งครบ 1 เดือน คือ 3.08-3.22 รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6, 5.4 และ 4.5 ให้สีใบ3.00-3.13, 2.95-3.13 และ 2.9-3.05 ตามลำดับ และค่าคะแนนต่ำสุดจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0 อยู่ที่ค่าคะแนน 2.76-2.86 (ตารางที่ 6) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยครบ 3 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในทุกสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) โดยสูตรอาหาร MMS ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 66.4 รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.4, 5.2, 5.0 (56.6, 44.8 และ 44.4 ตามลำดับ) (ตารางที่ 5) และจำนวนหน่อสุทธิต่ำสุดจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 (29.3) และจำนวนหน่อสุทธิในทุกความค่าความแตกต่างของการปรับค่าความเป็นกรดด่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6 ให้จำนวนหน่อสุทธิสูงสุด 41.3 หน่อ รองลงมาคือ สูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2, 5.4 และ 5.0 (31.3 23.3 และ 22.6 หน่อ) ตามลำดับ และจำนวนหน่อสุทธิต่ำสุดจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 (10.6 หน่อ) (ตารางที่ 5) สำหรับค่าคะแนนการเปลี่ยนแปลงสีใบตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 1 เดือนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6 ให้ค่าคะแนนสูงสุด 3.14-3.24 รองลงมาคือสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2, 5.4 และ 4.5 ให้ค่าคะแนน 3.09-3.15, 3.06-3.15 และ 3.05-3.15 ตามลำดับ และค่าคะแนนต่ำสุดจากสูตรอาหาร MMS ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0 อยู่ที่ค่าคะแนน 2.98-3.09 (ตารางที่ 6)

สำหรับการทดลองที่ดัดแปลงค่าความเป็นกรดด่างที่ระดับต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงเนื้อเนื้อเยื่อหน่ออ้อยในเดือนแรก เปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ นั้น พบว่าในทุกสูตรอาหารที่มีค่าของการดัดแปลงความเป็นกรดด่าง ไม่มีผลต่อการพัฒนาให้หน่ออ้อย แต่มีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงแสดงอาการใบขาวให้เห็นได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ แต่มีเพียงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่ออ้อยที่ลดต่ำลงของสูตรอาหารที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น และไม่สามารถพัฒนาให้มีการเพิ่มขยายปริมาณหน่ออ้อยได้ดีเท่ากับสูตรอาหารปกติที่เป็นสูตรควบคุม เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างเกี่ยวข้องกับการดูดใช้แร่ธาตุอาหารของพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโต พืชหลายชนิดเจริญเติบโตได้ในช่วงความเป็นกรดด่างของวัสดุปลูกที่เหมาะสมเท่านั้น ธาตุอาหารพืชที่มีอยู่ในวัสดุปลูกจะคงสภาพที่เป็นประโยชน์ต่อพืชให้ใช้ได้ง่ายและมีปริมาณมากที่ความเป็นกรดด่างที่ช่วงหนึ่ง ถ้าวัสดุมีค่าความเป็นกรดด่างสูงหรือต่ำกว่าช่วงที่เป็นประโยชน์ ธาตุอาหารมีการเปลี่ยนสภาพเป็นรูปที่ยากต่อการดูดไปใช้ประโยชน์ นอกจากนี้ธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อย เช่น สังกะสี เหล็ก และ แมงกานีส เป็นต้น สามารถแตกตัวออกมาอยู่ในสภาพที่เป็นประโยชน์และพืชใช้ได้ง่าย เมื่อวัสดุปลูกพืชอยู่ในสภาพความเป็นกรดอย่างอ่อนถึงระดับปานกลาง ซึ่งก็คือช่วงค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5-6.0 (http://www.ilab.asia/ilab/iLab_library.aspx?content=00411, http://www.bwc.ac.th/e-learning/virachai/phdin.html, http://r07.ldd.go.th/WEB_R07_Version2/07_KM/DATA/Km12.pdf) สำหรับอาหารสังเคราะห์สูตรที่นิยมใช้ทั่วไปเป็นสูตรมาตรฐานมีการปรับค่าความเป็นกรดด่างไว้ที่ 5.6-5.8 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดด่างที่ลอกเลียนมาจากค่าความเหมาะสมในการดูดธาตุอาหารของพืชได้ ในสภาพแปลงปลูกที่วัสดุปลูกมาจากดินตามธรรมชาติ เป็นค่าที่ใช้และเหมาะสมกับพื้นที่ดินในต่างประเทศ ดังนั้นสูตรอาหารสังเคราะห์ MS เป็นสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่คิดค้นโดยชาวต่างชาติ จึงใช้ค่าความเป็นกรดด่างที่ระดับนี้ แต่สำหรับในประเทศไทยมีคำแนะนำว่าค่าความเป็นกรดด่างของดินที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.2-5.8 แต่จากงานทดลองกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่ออ้อยได้ปรับค่าความเป็นกรดในอาหารสังเคราะห์เพิ่มขึ้นถึง 4.5 ซึ่งเนื้อเยื่อยังคงรอดชีวิตและการเพิ่มจำนวนหน่อสุทธิอยู่ได้จนกระทั่งถึงการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 แต่เป็นไปในอัตราที่ต่ำ ทั้งนี้น่าจะเป็นเพราะว่าอัตราการแลกเปลี่ยนอนุมูลลบ ที่ได้จากธาตุอาหารที่พืชต้องการมาก เช่น ไนเตรท และฟอสเฟต เป็นต้น และอนุมูลบวก เช่น โพแทสเซียม แอมโมเนียม และ แมกนีเซียม เป็นต้น ของธาตุอาหารยังมีการเปลี่ยนแปลงไปไม่มาก และในอาหารสังเคราะห์ประกอบไปด้วยธาตุอาหารที่ให้ความสมดุลในค่าของไนโตรเจนที่พืชมีความต้องมากสำหรับการเจริญเติบโต โดยในรูปของแอมโมเนียมไนเตรท ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่ให้ทั้งอนุมูลประจุบวกและประจุลบควบคู่กัน แม้ว่าในอาหารสังเคราะห์จะถูกปรับให้มีความเป็นกรดสูงถึง 4.5 ก็ไม่มีผลกระทบที่ส่งผลให้เนื้อเยื่ออ้อยได้รับภาวะเครียดจนกระทั่งถึงขั้นแสดงอาการใบขาวเห็น เพียงแต่มีกระทบต่อการลดอัตราการเจริญเติบโตลงเท่านั้น และการสังเคราะห์แสงของเนื้อเยื่ออ้อยที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากแสงที่ให้มีการควบคุมเป็นแสงสังเคราะห์ ซึ่งในช่วงที่พืชสังเคราะห์แสงตลอด 16 ชั่วโมง ในสภาพปลอดเชื้อนั้น เนื้อเยื่อที่อยู่ในสภาพเวลากลางวันอาจทำให้เกิดไฮโดรเจนไอออน อาจมีการทำลายด่างบางส่วนที่เกิดจากการดูดซึมไนเตรทเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ และจากการดูดซึมอนุมูลลบอื่นๆ ไปได้บ้าง แต่พบว่าโดยภาพรวมแล้ว ทิศทางของการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างในเวลากลางวัน ยังคงมีทิศทางไปในทางที่เป็นด่างเพิ่มขึ้น นั่นจึงเป็นการชี้บอกได้อย่างหนึ่งว่า ถึงแม้จะปรับค่าความเป็น

กรดในอาหารให้มีมากขึ้นก็ตาม แต่ช่วงที่พืชสังเคราะห์แสงก็ช่วยให้ค่าความเป็นกรดของอาหารลดลงได้ (http://www.phutalay.com/home/?p=770) ดังนั้นสภาพความเป็นกรดในอาหารสังเคราะห์ที่ให้กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย จึงส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่ออ้อยที่เพาะเลี้ยงได้ไม่มากจนกระทั่งถึงมีผลทำให้เนื้อเยื่ออ้อยตายไป

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อยบางชนิดในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย 1 เดือน และเปลี่ยนอาหารใหม่ 1 ครั้ง สีใบยังคงมีสีเขียวอ่อน ให้ค่าคะแนนเฉลี่ย 3.2 การเพาะเลี้ยงหน่ออ่อนอ้อยครั้งแรก การรอดชีวิตของหน่ออ่อนในวิธีการทดลองที่ 4 ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุด 76.6 % และต่ำสุด 50.0 % ของวิธีการทดลองที่ 2 และวิธีการที่ 15 และ 17 หน่ออ่อนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายลง 17 และ 8 วัน ตามลำดับ การขยายเพิ่มปริมาณหน่อวิธีการทดลองที่ 1 มีปริมาณหน่อเพิ่มสูงสุดเฉลี่ย 9 หน่อ จำนวนหน่อเพิ่มน้อยที่สุดจากวิธีทดลองที่ 2 คือ 3 หน่อ เมื่อย้ายหน่ออ่อนที่เหลือลงอาหารสังเคราะห์ใหม่ (การเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2) พบว่า วิธีการทดลองที่ 2 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 100 % และจำนวนหน่อเพิ่มขึ้นสูงสุด 7.5 หน่อ รองลงมาคือวิธีการทดลองที่ 4 และ 6 (80 และ 75.9%, จำนวนหน่อ 2 และ 4.67 หน่อ ตามลำดับ) กรรมวิธีที่ 3 และ 4 ตายไปตั้งแต่การเพาะเลี้ยงในเดือนแรก สำหรับกรรมวิธีอื่น ๆ การเปลี่ยนสีใบอยู่ในระดับค่าคะแนนเฉลี่ย 3.2 ในทุกกรรมวิธี และกรรมวิธี 3, 4 และ 5 ใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตาย สำหรับอัตราการรอดชีวิตและจำนวนหน่อสุทธิในการเพาะเลี้ยงครั้งแรกและครั้งที่ 2 ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ให้อัตราการรอดชีวิตและจำนวนหน่อสุทธิสูงสุด (ตารางที่ 7)

การทดลองที่ 5 ศึกษาผลกระทบจากการลดและเพิ่มสารประกอบกลุ่มธาตุเหล็กในอาหารสังเคราะห์ที่มีต่อการแสดงอาการใบขาวของหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย 1 เดือน และเปลี่ยนอาหารใหม่ 1 ครั้ง สีใบยังคงมีสีเขียวอ่อน ให้ค่าคะแนนเฉลี่ย 3.0-3.4 การเพาะเลี้ยงหน่ออ่อนอ้อยครั้งแรก การรอดชีวิตของหน่ออ่อนในวิธีการทดลองที่ 2 และ 4 ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุด 100% และต่ำสุด 33.3 % จากวิธีการทดลองที่ 1 การขยายเพิ่มปริมาณหน่อวิธีการทดลองที่ 4 มีปริมาณหน่อเพิ่มสูงสุดเฉลี่ย 8 หน่อ และวิธีการที่ 3 อ้อยไม่แตกหน่อ เมื่อย้ายหน่ออ่อนที่เหลือลงอาหารสังเคราะห์ใหม่ (การเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2) พบว่า วิธีการทดลองที่ 1 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 100 % แต่จำนวนการเพิ่มหน่อต่ำสุดเพียง 4 หน่อ สำหรับวิธีการทดลองที่ 4 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุด 57 % แต่มีการเพิ่มจำนวนหน่อสูงสุด 10.6 หน่อ และวิธีการที่ 3 เพาะเลี้ยงได้เพียง 5 วัน เนื้อเยื่อหน่ออ่อนอ้อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายทั้งหมด เมื่อเปลี่ยนอาหารครั้งแรกกรรมวิธีที่ 3 หน่ออ้อยไม่สามารถพัฒนาต่อไป และกรรมวิธีที่ 4 หน่ออ้อยตายและการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 สำหรับกรรมวิธีอื่น ๆ การเปลี่ยนสีใบอยู่ในระดับค่าคะแนนเฉลี่ย 3.2 ในทุกกรรมวิธี สำหรับในการเพาะเลี้ยงครั้งแรกอัตราการรอดชีวิตสูงสุดคือกรรมวิธีที่ 4 และจำนวนหน่อสุทธิสูงสุดจากกรรวิธีที่ 2 และครั้งที่ 2 และ 3 กรรมวิธีที่ 1 ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด แต่จำนวนหน่อสุทธิไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 8)

ขั้นตอนที่ 2

ผลการทดลอง การปลูกอ้อยในกระถาง พบว่าอ้อยเจริญเติบโตอายุ 1 เดือนหลังย้ายปลูก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูงและจำนวนหน่อ (ตารางที่ 9 และ 10) ในการให้ธาตุอาหารที่แตกต่างกัน และไม่พบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว และเมื่ออ้อยอายุ 3 เดือน ด้านความสูงมีความแตกต่างกันทางสถิติของอ้อยที่มาจากการเพาะเลี้ยงเริ่มต้นต่างสูตรอาหารสังเคราะห์ โดยต้นอ้อยที่มาจากสูตรอาหารสังเคราะห์ MS และสูตร MS เพิ่มเฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอ 1 เท่า ให้การเจริญเติบโตด้านความสูงเฉลี่ยดีที่สุด 44.5 และ 41.6 เซนติเมตร ตามลำดับ ความสูงเฉลี่ยต่ำสุดได้จากสูตรMS เพิ่มโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 เท่า 32.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 11) สำหรับจำนวนหน่อของอ้อยที่มาจากสูตรอาหารสังเคราะห์เริ่มต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแตกต่างกันทางสถิติเมื่อปลูกในธาตุอาหารที่แตกต่างกัน โดยการใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่มซิลิกอนให้จำนวนหน่อเฉลี่ยสูงสุด 6.05 หน่อ และเฉลี่ยน้อยที่สุดเมื่อใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่มแมกนีเซียมซัลเฟต เฟอรัสซัลเฟต ซิงค์ซัลเฟต และโบรอน (บอร์แรกซ์) 4.35 หน่อ (ตารางที่ 12) และไม่พบอาการใบขาว

และเก็บผลผลิตอ้อยอายุ 6 เดือน เนื่องจากการปลูกอ้อยในกระถางไม่สามารถให้ลำได้ เพราะพื้นที่กระถางมีจำกัด เป็นเพียงการศึกษาด้านการเจริญเติบโตเบื้องต้นและการแสดงอาการใบขาวของอ้อยหลังย้ายปลูกจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเท่านั้น ซึ่งความสูงของอ้อยที่ที่มาจากอาหารสังเคราะห์สูตร MS ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุด132.9 เซนติเมตร และความสูงน้อยที่สุดได้จากสูตรอาหาร MS เพิ่มเฟอรัสซัลเฟตครึ่งเท่า 107.8 เซนติเมตร และจำนวนหน่ออ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 13 และ 14) และไม่พบอาการใบขาว

ขั้นตอนที่ 3

ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินได้ผลดังตารางที่ 15 นำค่าของ OM มาใช้คำนวณค่าของ N ได้ 0.246 % ซึ่งกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินใช้การใส่ตามคำแนะนำของ กอบเกียรติ และคณะ (2555) คือ ค่าวิเคราะห์ OM น้อยกว่า 1 % ให้ใส่ปุ๋ย N 18 กิโลกรัมต่อไร่ ค่า Avai.P น้อยกว่า 15-30 ppm. ให้ใส่ปุ๋ย P 6 กิโลกรัมต่อไร่ และ Exch. K มากกว่า 90-120 ppm. ให้ใส่ปุ๋ย K 6 กิโลกรัมต่อไร่

สำหรับผลการตรวจโรคใบขาวของท่อนพันธุ์อ้อย ใบอ้อยที่ส่งตรวจโรคใบขาว ใบสีเขียว ลำต้นสมบูรณ์ ตรวจเชื้อพบที่ 210 bp (+) และ SecA (+/-) จึงใช้ต้นพันธุ์จากแปลงนี้ทำการทดลอง

หลังปลูกอ้อยพบว่าการงอกของอ้อยทุกกรรมวิธีมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบต้นที่แสดงอาการใบขาว สำหรับผลการเจริญเติบโตอ้อยอายุ 4 เดือน พบว่า ความสูงและจำนวนหน่อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี ดังตารางแสดงผลการเจริญเติบโต (ตารางที่ 16) ผลการทดลองพบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีอ้อยแสดงอาการใบขาว

เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อยอายุ 12 เดือน พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติของผลผลิต องค์ประกอบผลผลิตและความหวาน (ตารางที่ 17) และไม่พบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS หลังเปลี่ยนอาหารใหม่ 4 ครั้ง มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 75.3 % และจำนวนหน่อเพิ่มขึ้นได้สูงสุด 171.3 หน่อ และไม่แสดงอาการใบขาว
2. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่ไม่มีซิงค์ซัลเฟต หน่ออ้อยแสดงอาการใบขาวเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 9 วัน หลังจากเปลี่ยนอาหารใหม่ ครั้งที่ 3
3. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่ไม่มีทั้งซิงค์ซัลเฟตและแมงกานีสซัลเฟต หน่ออ้อยแสดงอาการใบขาวเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 9 วัน หลังจากเปลี่ยนอาหารใหม่ ครั้งที่ 2
4. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไนเตรท 2 เท่า หน่ออ้อยแสดงอาการใบขาวเมื่อเพาะเลี้ยงได้ 27 วัน หลังจากเปลี่ยนอาหารใหม่ ครั้งที่ 2
5. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่ไม่มีแมงกานีสซัลเฟต หน่ออ้อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายตั้งแต่เริ่มต้นเพาะเลี้ยง
6. อาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร MMS ที่ไม่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต หน่ออ้อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตาย ตั้งแต่เริ่มต้นเพาะเลี้ยง
7. การย้ายปลูกต้นกล้าอ้อยที่ได้จากอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ลงกระถางเป็นเวลา 6 เดือน ไม่พบอาการใบขาวและมีการแตกหน่อได้สูงสุดเมื่ออายุ 3 เดือน แต่หน่อไม่พัฒนาและทะยอยตาย
8. อ้อยปลูกพันธุ์ K95-84 ในแปลงเกษตรกร การดัดแปลงธาตุอาหาร ไม่มีผลต่อการแสดงอาการใบขาว ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และ CCS

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นแนวทางแก้ปัญหาต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาว ให้มีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตต่อไปได้

11. คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ นางสมจินตนา ทุมแสน นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการตรวจแก้ไขและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งกับงานวิจัยในครั้งนี้ด้วย พร้อมทั้งขอบคุณทีมงานห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาและผู้ช่วยวิจัยศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ที่ช่วยปฏิบัติงานวิจัยจนกระทั่งได้ผลสำเร็จ

12. เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ นิลุบล ทวีกุล ศุจิรัตน์ สงวนรังสิริกุล ศุภกาญจน์ ล้วนมณี และทักษิณา ศันสยะวิชัย. 2553. การจัดการสมดุลธาตุอาหารพืชเพื่อเพิ่มความทนทานต่อโรคใบขาวของอ้อย. รายงานผลงานวิจัย ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ประจำปี 2552. ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 302-304.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช:หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ มก. บางเขน กรุงเทพฯ. 219 หน้า

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2537. สรีรวิทยาพืชสวน. พิมพ์ครั้งที่ 1. ศิริภัณฑ์ ออฟเซ็ท. ขอนแก่น. 227 หน้า

Declerck, V and SS. Korban. 1994. Effect of sucrose of macronutrients and plant growth regulator concentrations on shoot proliferation of *Cornus florida*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 38: 57-60.

Guardia, MD and M. Benlloch. 1980. Effects of potassium and gibberellic acid on stem growth of whole sunflower plants. Physiology Plant. 49: 443-448.

Hatsuga, N., Kuroyanagi, M., Yamad, K., Meshi, T., Tsuda, S., Kondo, M., Nishimura, M. and I. Hara-Nishimura. 2004. A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. Science 305, 855–858.

http//gis.agr.ku.ac.the_learningtissuedocumentlession4.pdf

http//r07.ldd.go.th/WEB_R07_Version2/07_KM/DATA/KM12.pdf

http//www.bwc.ac.th/e-learning/virachai/phdin.html

http//www.ilab.asia/ilab/iLab_library.aspx?content=00411

http//www.phutalay.com/home/?p=770

Kintzios, S., Stavropoulou, Er. and S. Skamneli. 2004. Accumulatio of selected macronutrients and carbohydrates in melon tissue cultures: association with pathways of in vitro dedifferentiation and differentiation (organogenesis, somatic embryogenesis). Plant Science. 167(3): 655-664.

Leshem, B. and S. Luric. 1995. Ca antagonists affect root regeneration in cultured melon cotyledons. Journal of Plant Physiology. 146: 343-347.

Milazzo, MC., Kellett, G., Haynesworth, K. and K. Shetty. 1998. Reguration of benzyladenine induced *in vitro* shoot organogenesis and endogenous proline in melon (*Cucumis melo* L.) by exogenous proline, ornithine, and proline analogues. Journal of Agriculture Food Chemistry. 46: 2402-2406

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physio. Plant. 15: 473-497.

Tester, M and MR. Blatt. 1989. Direct measurement of K^+ channels in thylakoid membranes by incorporation of vesicles in to planer lipid bilayers. Plant Physiology. 91: 249-252.

Table 1 The effect of reducing or increasing the nutrients in media to survival and number of shoot cultural sugarcane

Treatment	After culture		subculture 1		subculture 2		subculture 3	
	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.
1	64.4a	46.6a	52.5a	67.3a	59.0ab	72.0a	61.5a	35.0a
2	53.3a	26.0ab	34.3ab	14.6b	-	-	-	-
3	56.6ab	28.6ab	22.1b	7.33b	76.1a	53.3ab	-	-
4	57.7ab	39.3ab	28.6ab	40.0ab	68.7a	52.6ab	44.2ab	44.3a
5	55.5ab	23.3ab	34.0ab	22.0b	39.0b	16.0c	23.8b	9.66b
6	25.5b	9.33b	-	-	-	-	-	-
CV (%)	36.3	32	69	62.4	73.8	60.8	100	100

Table 2 Changes the color of sugarcane leaves after culture in *in vitro*

Treatment	Colur leaf (score 1-5)								
	After culture								
	0	3	6	9	12	17	22	27	30
1	3.10	3.26	2.80	2.83	2.86	2.73	2.56	2.80a	2.56a
2	3.23	3.30	2.80	2.73	2.90	2.50	2.13	2.60ab	2.40a
3	3.06	3.30	2.76	2.53	2.63	2.60	2.56	1.90d	2.20b
4	3.06	3.30	2.96	2.90	2.83	2.63	2.43	2.36bc	2.53ab
5	3.16	3.40	2.83	2.83	2.63	2.60	2.23	2.56a_c	2.23ab
6	3.26	3.30	3.00	3.06	3.00	2.80	2.63	2.16cd	2.26ab
CV (%)	7.29	15.4	24.6	27.3	20.4	12.3	13.7	10.1	8.51
	subculture 1								
Treatment	0	3	6	9	12	17	22	27	30

1	2.46	2.53	2.33	2.20	2.16	2.33	2.40a	2.33ab	2.40
2	2.83	2.30	2.20	2.50	2.56	2.50	2.66a	2.46a	2.56
3	2.63	2.56	2.36	2.26	2.26	2.46	2.30ab	2.40ab	2.43
4	2.66	2.43	2.30	2.20	2.30	2.33	2.20ab	2.26ab	2.26
5	2.50	2.70	2.40	2.40	1.53	1.53	1.56ab	1.60ab	1.60
6	2.63	2.36	2.33	1.73	1.60	1.60	0.83b	0.86b	-
CV (%)	12.2	17.1	14.3	30.3	30.3	29.5	28.6	44.2	45.4
	subculture 2								
Treatment	0	3	6	9	12	17	22	27	30
1	2.86	2.80	2.73	2.60	2.63	2.66	2.73	2.60	2.60
2	2.60	2.53	2.40	1.63	1.73	1.60	1.53	1.46	-
3	2.73	2.43	2.70	2.66	2.70	2.46	2.46	1.60	1.70
4	2.60	2.56	2.63	2.63	2.63	2.56	2.56	2.56	2.63
5	2.55	2.40	2.40	2.60	2.70	2.40	2.45	2.65	2.70
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CV (%)	4.75	5.36	36.0	36.8	36.9	36.5	5.47	5.47	5.47
	subculture 3								
Treatment	0	3	6	9	12	17	22	27	30
1	2.65a	2.76a	2.73a	2.73a	2.80a	2.73a	2.73a	2.73a	2.73a
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	2.45b	1.30bc	1.30bc	1.30bc	1.30bc	-	-	-	-
4	2.55ab	2.55ab	2.71ab	2.45ab	2.51ab	2.55b	2.55b	2.55b	2.55b
5	2.55ab	2.55ab	2.55ab	2.40ab	2.73a	2.50b	2.50b	2.50b	2.50b
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CV (%)	2.80	2.80	2.80	3.53	1.73	0.86	2.19	1.17	0.84

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

(T1= MMS, T2= MMS; no $ZnSo_4$, T3=MMS; x2NH_4NO_3 plus, T4= MMS; x2$MnSO_4$ with ½ $ZnSo_4$ plus, T5= MMS; x2 KNO_3, $CaCl_2$, KH_2PO_4 with ½ $ZnSo_4$ plus and T6= MMS; no $ZnSo_4$ and $MnSO_4$)

Table 3 The effect of reducing or increasing the nutrients in media to survival and number of shoot cultural sugarcane

Treatment	After culture	subculture 1	subculture 2	subculture 3

	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.
1	86.6	46	76.2	101.3	90.3a	112.6	75.3	171.3a
2	76.6	54.6	69.3	77.3	64.3b	62.6	56.6	33.3b
3	76.6	47.3	82.3	85.3	74.8ab	61.3	53.3	71.3b
4	66.6	49.3	70.4	85.3	71.3ab	80.6	64.3	112.6ab
CV (%)	21.9	36.1	19.0	40.3	18.2	51.6	21.7	53.1

Table 4 Changes the color of sugarcane leaves after culture in *in vitro*

Treatment	Colur leaf (score 1-5)								
	After culture								
	0	**3**	**6**	**9**	**12**	**17**	**22**	**27**	**30**
1	2.83	2.76	2.76	2.76	2.90a	2.64	2.51	2.67	2.83
2	2.73	2.62	2.60	2.51	2.43c	2.52	2.43	2.41	2.61
3	2.75	2.68	2.63	2.57	2.71ab	2.61	2.49	2.60	2.74
4	2.76	2.81	2.76	2.62	2.58bc	2.42	2.46	2.55	2.71
CV (%)	3.72	3.9	4.2	5.8	5.0	7.0	4.9	8.5	4.74
	subculture 1								
Treatment	**0**	**3**	**6**	**9**	**12**	**17**	**22**	**27**	**30**
1	2.46	2.62	2.76	2.83	2.83	2.83	2.83	2.83	2.83
2	2.44	2.55	2.61	2.61	2.61	2.61	2.61	2.61	2.61
3	2.51	2.62	2.66	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76
4	2.52	2.72	2.73	2.84	2.84	2.84	2.84	2.84	2.84
CV (%)	3.6	4.4	4.2	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
	subculture 2								
Treatment	**0**	**3**	**6**	**9**	**12**	**17**	**22**	**27**	**30**
1	2.85	2.85	2.88	2.83	2.83	2.86	2.95	2.95a	2.98a
2	2.90	2.90	2.80	2.75	2.78	2.80	2.81	2.81b	2.85b

3	2.80	2.80	2.78	2.78	2.78	2.83	2.85	2.88ab	2.98a
4	2.86	2.86	2.83	2.81	2.85	2.86	2.86	2.86ab	2.90ab
CV (%)	2.37	2.37	2.3	3.2	2.4	2.9	2.84	1.94	2.36
	subculture 3								
Treatment	**0**	**3**	**6**	**9**	**12**	**17**	**22**	**27**	**30**
1	2.85	2.85	2.9	2.9	3.01	3	3.06	3.01	3.03a
2	2.83	2.83	2.83	2.85	2.90	2.85	2.85	2.86	2.71b
3	2.9	2.85	2.85	2.96	3.03	3.01	2.98	2.98	2.98a
4	3.01	3.0	3.05	3.05	3.01	3.06	3.05	3.05	3.10a
CV (%)	5.38	5.38	5.35	4.73	4.65	5.54	5.40	5.22	3.05

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

(T1= MMS, T2= MMS; no $MnSO_4$, T3= MMS; ½ $MnSO_4$ plus and T4= MMS; x2 $MnSO_4$)

Table 5 The effect of pH nutrients in media to survival and number of shoot cultural sugarcane

Treatment	After culture		subculture 1		subculture 2		subculture 3	
	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.
1	76.6b	22.6ab	89.5	22	51	24.6	66.4	41.3
2	90.0a	24.0a	72.7	16.6	63.2	22	56.6	23.3
3	80.0ab	14.6ab	69.4	20.6	65.5	23.3	44.8	31.3
4	73.3b	14.0ab	73.1	16	62.7	22	44.4	22.6
5	80.0ab	11.3b	84.1	10.6	75.5	13.3	29.3	10.6
CV (%)	7.22	39.3	39.2	77.3	29	86.5	44.7	100

Table 6 Changes the color of sugarcane leaves after culture in *in vitro*

Treatment	Colur leaf (score 1-5)								
	After culture								
	0	3	6	9	12	17	22	27	30
1	2.67	2.33	2.46	2.52	2.70	2.77	2.83	2.90a	2.74
2	2.57	2.45	2.35	2.45	2.71	2.80	2.76	2.62b	2.58
3	2.68	2.45	2.48	2.45	2.74	2.83	2.75	2.73ab	2.67
4	2.66	2.40	2.39	2.46	2.66	2.73	2.75	2.81ab	2.73
5	2.70	2.39	2.34A	2.53	2.59	2.80	2.75	2.68ab	2.63
CV (%)	9.01	3.60	4.20	5.60	6.10	5.60	4.60	5.00	11.6
	subculture 1								
Treatment	0	3	6	9	12	17	22	27	30
1	2.70	2.70	2.70	2.73b	2.78bc	2.80bc	2.83b	2.91b	2.95b
2	2.90	2.91	2.91	2.75ab	2.83b	2.88b	2.88b	2.93b	2.94b
3	2.71	2.71	2.73	2.93a	2.98a	2.98a	3.00a	3.08a	3.08a
4	2.66	2.66	2.68	2.73b	2.76c	2.79c	2.81b	2.85b	2.89b
5	2.78	2.78	2.80	2.81ab	2.83b	2.86bc	2.88b	2.91b	2.98ab
CV (%)	4.9	5.0	4.6	3.6	1.3	1.7	1.9	2.6	2.4
	subculture 2								
Treatment	0	3	6	9	12	17	22	27	30
1	3.00ab	3.00ab	3.00ab	3.03a	3.03ab	3.06a	3.09ab	3.10ab	3.13a
2	2.95ab	2.95ab	2.96ab	3.00ab	3.03ab	3.05a	3.06ab	3.09ab	3.13a
3	3.08a	3.08a	3.08a	3.1a	3.11a	3.11a	3.14a	3.17a	3.22a
4	2.76b	2.76b	2.76b	2.71b	2.73b	2.75b	2.81b	2.81b	2.86b
5	2.90ab	2.90ab	2.90ab	2.90ab	2.91ab	2.91ab	2.96ab	2.98ab	3.05ab
CV (%)	5.95	5.95	5.9	5.7	5.6	5.5	5.14	5.49	3.84
	subculture 3								
Treatment	0	3	6	9	12	17	22	27	30
1	3.14	3.14	3.1	3.2	3.21	3.23	3.29	3.29	3.29
2	3.06	3.06	3.06	3.06	3.06	3.13	3.16	3.15	3.15
3	3.1	3.09	3.12	3.15	3.16	3.20	3.20	3.20	3.20

4	2.98	3.0	2.98	3.06	3.07	3.07	3.09	3.09	3.09
5	3.05	3.1	3.05	3.13	3.13	3.15	3.15	3.15	3.15
CV (%)	4.62	4.62	4.23	4.16	3.60	3.95	3.84	4.25	4.25

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

(T1= MMS, T2= MMS; adjust pH 5.4, T3= MMS; adjust pH 5.2, T4= MMS; adjust pH 5.0 and T5= MMS; adjust pH 4.5)

Table 7 The effect of reducing or increasing the nutrients in media to survival and number of shoot cultural sugarcane

Treatment	After culture		subculture 1		subculture 2		subculture 3	
	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.
1	66.6	20.3	65.6	45.6	86.4a	95.3a	82.4a	54.6ab
2	50	14	53.4	57	71.5a	74.0a	55.1b	67.0a
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	77.7	22.6	71.8	39.3	30.4b	36.6b	73.8a	35.0b
5	-	-	-	-	-	-	-	-
CV (%)	66.3	78.2	64.1	70.9	24.4	45	16.3	49

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

(T1= MMS, T2= MMS; 1x $MnSO_4$ plus, T3= MMS; no $MnSO_4$, T4= MMS; x1 KH_2PO_4 plus and T5= MMS; no KH_2PO_4)

Table 8 The effect of reducing or increasing the nutrients in media to survival and number of shoot cultural sugarcane

Treatment	After culture		subculture 1		subculture 2		subculture 3	
	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.	survival (%)	Shoot no.

1	33.3b	13.6ab	100a	39.3	76.5	32	42.6a	54.6
2	83.3a	17.0a	85.9a	41.6	65	41.6	31.7b	34.3
3	83.3a	9.5b	-	-	-	-	-	-
4	100a	15.0ab	60.7b	39	-	-	-	-
CV (%)	19.9	20.1	32	45.2	44.7	34.5	18.7	49

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

(T1= MMS, T2= MMS; x1$FeSO_4$-EDTA plus, T3= MMS; no $FeSO_4$-EDTA, และ T4=MMS; x½ $FeSO_4$-EDTA plus)

Table 9 The Height sugarcane was a month age

Height (cm.)					
Sugarcane seeding/ from culture media	**Treatment**				**Average**
	1	**2**	**3**	**4**	
1) MMS	11.6	11.5	12.3	12.8	12.03
2) MMS เพิ่ม 1x $MgSO_4$	9.0	10.1	8.9	10.5	9.63
3) MMS เพิ่ม 1x KH_2PO_4	11.5	11.6	12.8	12.3	12.03
4) MMS เพิ่ม 1x $FeSO_4$	10.9	9.8	12.1	11.9	11.16
5) MMS เพิ่ม 1/2x $FeSO_4$	11.0	10.9	13.9	12.4	12.03
Average	10.8	10.8	12.0	12.0	11.4
CV (%)	13.4				

Table 10 The number of tiller sugarcane was a month age

Number of tiller					
Sugarcane seeding/ from culture media	**Treatment**				**Average**
	1	**2**	**3**	**4**	
1) MMS	5.00	3.75	4.50	2.50	3.94
2) MMS เพิ่ม 1x $MgSO_4$	6.25	6.50	6.50	3.25	5.63

3) MMS เพิ่ม 1x KH_2PO_4	4.75	3.75	3.25	6.00	4.44
4) MMS เพิ่ม 1x $FeSO_4$	2.25	3.75	4.25	3.00	3.31
5) MMS เพิ่ม 1/2x $FeSO_4$	3.50	2.75	5.50	4.25	4.00
Average	4.35	4.10	4.80	3.80	4.26
CV (%)	46.6				

Table 11 The Height sugarcane was 3 months of age

Height (cm.)					
Sugarcane seeding/ from culture media	Treatment				Average
	1	2	3	4	
1) MMS	44.7	43.7	46.0	43.5	44.5a
2) MMS เพิ่ม 1x $MgSO_4$	32.5	40.3	37.4	36.9	36.7b
3) MMS เพิ่ม 1x KH_2PO_4	32.3	31.4	35.1	31.7	32.6c
4) MMS เพิ่ม 1x $FeSO_4$	45.0	44.6	39.7	37.1	41.6a
5) MMS เพิ่ม 1/2x $FeSO_4$	30.7	39.1	35.8	34.3	35.0bc
Average	37.0	39.8	38.8	36.7	38.1
CV (%)	13				

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

Table 12 The number of tiller sugarcane was 3 months of age

Number of tiller		
Sugarcane seeding/	Treatment	Average

from culture media	1	2	3	4	
1) MMS	9.00a	4.75bcd	5.5bcd	2.25d	5.38
2) MMS เพิ่ม 1x $MgSO_4$	7.00ab	6.25ab	7.25ab	2.5cd	5.75
3) MMS เพิ่ม 1x KH_2PO_4	4.00bcd	6.00ab	6.00ab	7.25ab	5.81
4) MMS เพิ่ม 1x $FeSO_4$	4.00bcd	4.50bcd	5.75abc	4.5bcd	4.69
5) MMS เพิ่ม 1/2x $FeSO_4$	4.00bcd	4.75bcd	5.75abc	5.25bcd	4.94
Average	5.60ab	5.25ab	6.05a	4.35b	5.31
CV (%)	44.8				

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

Table 13 The Height sugarcane was 6 months of age

Height (cm.)					
Sugarcane seeding/ from culture media	Treatment				Average
	1	2	3	4	
1) MMS	123.8	137.3	133.6	137.0	132.9a
2) MMS เพิ่ม 1x $MgSO_4$	106.3	127.0	135.8	118.3	121.8ab
3) MMS เพิ่ม 1x KH_2PO_4	110.4	109.0	110.3	104.9	108.6b
4) MMS เพิ่ม 1x $FeSO_4$	126.3	133.3	120.0	105.5	121.3ab
5) MMS เพิ่ม 1/2x $FeSO_4$	86.0	120.8	113.5	111.0	107.8b
Average	110.5	125.5	122.6	115.3	118.5
CV (%)	12.2				

In the same row and column with the same letter are not significance at 95% confidence level using DMRT

Table 14 The number of tiller sugarcane was 6 months of age

Number of tiller

Sugarcane seeding/ from culture media	Treatment				Average
	1	2	3	4	
1) MMS	7.25	3.75	5.00	2.75	4.69
2) MMS เพิ่ม 1x $MgSO_4$	5.25	4.50	4.00	3.75	4.38
3) MMS เพิ่ม 1x KH_2PO_4	4.75	5.50	4.75	6.00	5.25
4) MMS เพิ่ม 1x $FeSO_4$	4.75	4.00	4.75	3.75	4.31
5) MMS เพิ่ม 1/2x $FeSO_4$	4.00	4.00	4.25	6.00	4.56
Average	5.20	4.35	4.55	4.45	4.64
CV (%)	44.2				

Table 15 Soil analysis

parameter		value
pH		5.37
OM	(%)	0.47
Avai. P	(ppm)	28
Exch. K	(ppm)	149
Ca	(ppm)	379
Mg	(ppm)	50.9
Avai. Zn	(ppm)	0.86

Table 16 The sugarcane growth was at 4 months of age

Treatment	Sugarcane growth	
	height (cm.)	Tiller no.
Famer practice	64.0	2.63
Fertilizer from soil analysis	66.1	2.85
Fertilizer from soil analysis as N P K and add silicon	62.4	2.40

Fertilizer from soil analysis as N and add x2N	61.1	2.68
CV (%)	9.05	18.6

Table 17 Yield and agronomic traits of sugarcane

Treatment	Cane yield (kg/rai)	Stalk no. (stalks/rai)	Stalk length (m.)	Internode no. (Internode/stalk)	Stalk diameter (mm.)	Stalk weight (weight/stalk)	CCS (%)
Famer practice	10793.5	7225.0	2.1	28.7	33.0	1.6	15.1
Fertilizer from soil analysis	10635.9	7012.5	2.1	29.4	33.9	1.7	15.0
Fertilizer from soil analysis as N P K and add silicon	9842.3	6475.0	2.0	28.7	33.1	1.6	15.0
Fertilizer from soil analysis as N and add x2N	9394.0	6587.5	2.0	28.0	34.1	1.8	15.1
CV (%)	19.6	14.3	7.97	6.31	4.07	10.6	2.15

13. ภาคผนวก

ตาราง สูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashige and Skoog , 1962)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัม/ลิตร)
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
$ZnSO_4.5H_2O$	8.6
H_3BO_3	6.2
KI	0.33
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025

$CoCl_2.H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.25
Nicotinic acid	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Pyridoxine-HCl	0.5
Glycine	2.0
Myo-inosital	100
Agar	8000
Sucrose	30000
pH 5.7	

(รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ, 2545)