

(แบบฟอร์ม)

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

-
1. **ชุดโครงการวิจัย** : โครงการวิจัยการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อ พันธุกรรมพืช (ชุดโครงการวิจัยเดี่ยว)
 2. **โครงการวิจัย** : โครงการวิจัยการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืช
 3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง 10 ชนิด โดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : *In vitro* conservation of 10 species of Zingiberaceae via slow growth technique.
 4. **คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าการทดลอง : นางสาวสุกัลยา ศิริพองนุกูล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน : นางรัชชก ทองเวียง สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
: นางศิริลักษณ์ อินทวงค์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่
: นายวรกิจ ห่องแขง สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

5. บทคัดย่อ

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

6. คำนำ

พืชสกุล *Zingiber* spp. *Alpinia* sp. *Curcuma* spp. และ *Kaempferia* spp. เป็นพืชในวงศ์ ZINGIBERACEAE หรือพืชวงศ์ขิง ซึ่งเป็นพันธุ์พืชล้มลุกอายุหลายปี ส่วนใหญ่มีลำต้นใต้ดินแบบเหง้า (rhizome)

หรือแบบหัว (tuber) ซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยสะสมอยู่มาก ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบพืชวงศ์ขิงอยู่ประมาณ 30 สกุล 200 ชนิด ในขณะที่รายงานชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยโดย เต็ม สมิตินันท์ ฉบับแก้ไข ปี 2544 ได้จำแนกพืชวงศ์ขิงในประเทศไทยไว้ 15 สกุล จำนวน 116 ชนิด (เต็ม, 2544; อรณูช, 2550) พืชวงศ์ขิง มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจทั้งด้านการนำมาใช้ในฐานะเป็นไม้ดอกไม้ประดับ เครื่องเทศ พืชสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในยารักษาโรคที่สำคัญหลายขนาน ปัจจุบันมีกระแสตื่นตัวเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรกันมากขึ้น ทั้งในด้านสมุนไพรการรักษาโรค การใช้สมุนไพรเพื่อความงาม การใช้น้ำมันหอมระเหยในสวคนธบำบัด และการนำมารับประทานเพื่อสุขภาพ (คมสัน, 2549; วุฒิ, 2552; อรณูช, 2550) รวมทั้งยังมีการนำมาใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชและโรคพืชในการทำเกษตรกรรม (ต. ชาตรี, 2553) เมื่อมีการนำไปใช้ประโยชน์มากขึ้น ประกอบกับสารสำคัญและส่วนที่นำไปใช้ประโยชน์เป็นลำต้นใต้ดินซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์หลัก จึงทำให้พืชเหล่านี้อยู่ในสถานะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากมีการปลูกพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นทดแทนมากขึ้น การนำออกมาจากป่ามากกว่าการปลูก และสภาพดินฟ้าอากาศที่แปรปรวนไม่ว่าจะเป็นสภาพแห้งแล้งอย่างรุนแรง หรือภาวะฝนตกหนักจนเกิดอุทกภัยในปัจจุบัน รวมทั้งยังไม่มีเทคโนโลยีที่แน่นอนในด้านการผลิตวัตถุดิบเพื่อผลิตภัณฑ์สมุนไพร ไม่มีพันธุ์ที่เหมาะสม ไม่มีการปลูกทดแทนเมื่อนำออกมาจากป่าเพื่อการใช้ประโยชน์ทรัพยากรพืชพื้นบ้านอย่างยั่งยืน ก็มีผลกระทบโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและการกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์นี้ อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพแปลงรวบรวมพันธุ์นั้น จำเป็นต้องใช้พื้นที่ขนาดใหญ่ และการดูแลรักษา ก็ต้องมีการใช้ทรัพยากรและงบประมาณค่อนข้างสูง การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชในหลอดทดลองด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยลดขนาดพื้นที่การเก็บรักษา และเพิ่มปริมาณหรือชนิดพืชที่ต้องการเก็บรักษาได้มากขึ้น

เทคนิคการเก็บรักษาในระยะปานกลาง (Medium term storage) เป็นเทคนิคย่อยที่แยกออกมาจากการเก็บรักษาด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตามปกติ เป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยการชะลอการเจริญเติบโตหรือการลดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในหลอดทดลองที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อให้เจริญช้าลง (Slow growth, Minimal growth) (รังสฤษดิ์, 2540; Shibli *et al.*, 2006) ซึ่งจะช่วยลดปริมาณงานหรือจำนวนครั้งของการเปลี่ยนถ่ายอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงได้ มีรายงานการศึกษาเพื่อเก็บรักษาขิง (*Zingiber officinale* Rosc. Cv. Rio de Janeiro) (จำนวน 33 พันธุ์ปลูก และ 1 พันธุ์ป่า) ในหลอดทดลอง พบว่า โดยร้อยละ 50 ของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ถึง 14 เดือนบนอาหาร CM (MS+9% sucrose+0.8% agar+0.1 mg/l-1 NAA+1 mg/l-1 BA) ภายใต้แสงสว่าง 16 และ 24 ชม./วัน และสามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 12 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร และบางพันธุ์สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 16-20 เดือน (Tyagi *et al.*, 2006) และการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร (*Magnolia sirindhornias* Noot. & Chalermglin) ในหลอดทดลองในสภาพชะลอการเจริญ พบว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร 3/4MS น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และสารแพคโคบิวทาโซล 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บรักษาปลายยอดได้นานสูงที่สุดถึง 7 เดือน (ศิริกุล, 2548) จึงเป็นที่มาของการทดลองนี้ ในการศึกษาเทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมเพื่อการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงโดยการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง

(1) การเตรียมและเพิ่มจำนวนต้นในสภาพปลอดเชื้อสำหรับการทดลอง

เลือกใช้ตัวอย่างทดลองจากพืชวงศ์ขิง จำนวน 10 ชนิด จาก 4 สกุล ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิงขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร

เก็บเหง้า (rhizome) ซึ่งมียอดอ่อนยาวอย่างน้อย 2-3 ซม. ล้างดินออกโดยล้างผ่านน้ำไหล ลอกกาบหรือใบชั้นนอกออก 1-2 ชั้น จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาดหรือผงซักฟอก 20 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดคราบผงซักฟอก วางผึ่งไว้ให้หมาด เริ่มฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 70 % ประมาณ 10 วินาที แล้วนำไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10% ที่เติม tween20 2 หยด แช่เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 10 นาที แช่เป็นครั้งคราว นำเนื้อเยื่อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 2 มก./ล. และ/หรือร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. เลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25±2 °C จากนั้นเพิ่มปริมาณยอดโดยการตัดส่วนของยอดที่งอกจากเหง้าย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม เปลี่ยนอาหารทุกๆ 3- 4 สัปดาห์ เพื่อใช้เป็นต้นพันธุ์สำหรับการทดลองต่อไป

(2) การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงในหลอดทดลองระยะปานกลางในสภาพชะลอการเจริญเติบโต

นำยอดที่มีความยาวประมาณ 1 ซม. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในข้อ (1) มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการชะลอการเจริญเติบโต สูตร MS full-strength (full-MS) และ MS half-strength (half-MS) ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับการเติม mannitol 0 1 หรือ 2% โดยทุกสูตรจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มก./ล. และ/หรือร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (factoria) 2x2x3 มีทั้งสิ้น 12 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 12 ช้ำ บันทึกผลการทดลองทุกเดือนโดยไม่เปลี่ยนอาหารใหม่จนกว่าจะพบว่ายอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งยอดเกินกว่า 50% ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดในทรีทเมนต์นั้นๆ โดยข้อมูลที่บันทึกเป็นระยะเวลา (เดือน) เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

(3) นำยอดที่รอดชีวิตมาฟื้นฟูสภาพหลังการเก็บรักษาบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. หรือ TDZ 1 มก./ล. หรือ kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจำนวนยอดที่เกิดขึ้นต่อช้ำ และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก

(4) นำพืชที่ผ่านการฟื้นฟูสภาพมาปรับสภาพ ก่อนนำออกปลูกในโรงเรือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเปรียบเทียบกับต้นแม่ที่อยู่ในสภาพธรรมชาติ

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

การทดลองนี้เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2555 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2558 โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาการเชื้อพันธุพืชและจุลินทรีย์ (บางเขน) สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง

การเตรียมและเพิ่มจำนวนต้นในสภาพปลอดเชื้อสำหรับการทดลอง

พืชวงศ์ขิงที่เลือกใช้เป็นตัวอย่างทดลองจำนวน 10 ชนิด จาก 4 สกุล ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิงขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร สามารถฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้เป็นวัสดุวิจัยได้สำเร็จ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ สกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร และสกุล *Zingiber* spp. 3 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว และไพลปลุกเสก

การเก็บรักษาในสภาพชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth storage)

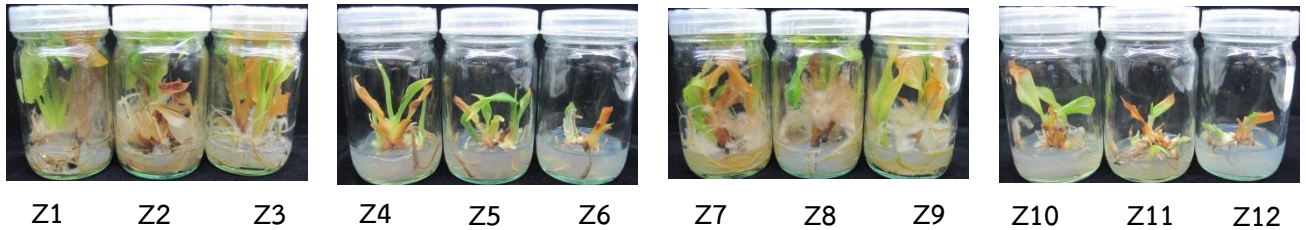
จากการเพาะเลี้ยงพืชตระกูลขิง 8 ชนิด ในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโต สูตร MS full-strength และ MS half-strength ที่เติม sucrose 3% หรือ 9% ร่วมกับการเติม mannitol 0 1 หรือ 2% โดยทุกสูตรจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. สำหรับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Curcuma* และ *Kaempferia* และ BA 2 มก./ล. สำหรับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Zingiber* เพาะเลี้ยงในสภาพควบคุมที่ ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °C วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (factorial) $2 \times 2 \times 3$ มีทั้งสิ้น 12 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 12 ซ้ำ (ตารางภาคผนวกที่ 2) สามารถเก็บรักษาพืชตระกูลขิงทั้ง 8 ชนิดได้นาน 7-10 เดือน โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

สกุล *Curcuma*

ว่านมหาเมฆ (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

หลังจากตัดย้ายว่านมหาเมฆ ลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโต ทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] (ภาพที่ 1) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 6.23 เดือน รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 5.46 และ 5.31 เดือน ตามลำดับ โดยความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร และระดับ sucrose ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่ง

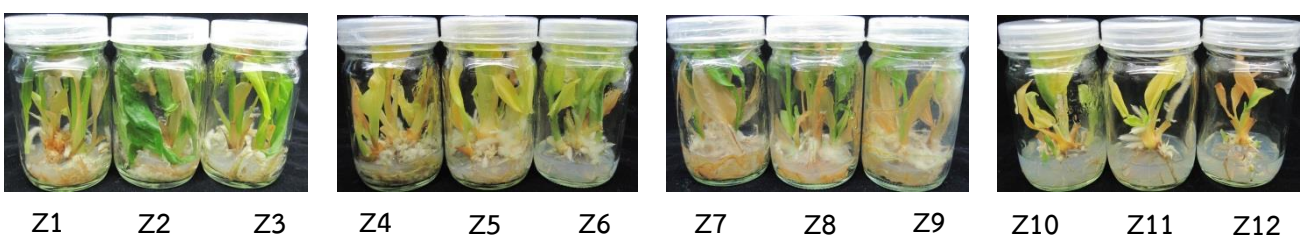
ปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกันได้แก่ สูตรอาหารกับระดับ sucrose และ สูตรอาหารกับระดับ mannitol (ตารางภาคผนวกที่ 4.1)



ภาพที่ 1 ว่านมหาเมฆ บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 6 เดือน

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.)

เมื่อย้ายต้นขมิ้นชันลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 8.00 เดือน (ภาพที่ 2) รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.62 และ 7.08 เดือน ตามลำดับ โดยความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร และระดับ sucrose ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกันได้แก่ สูตรอาหารกับระดับ sucrose (ตารางภาคผนวกที่ 4.2)

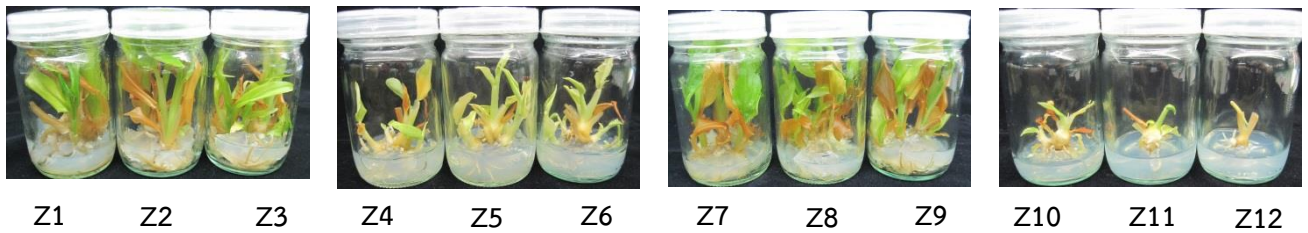


ภาพที่ 2 ขมิ้นขาว บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 8 เดือน

ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp)

เมื่อย้ายต้นขมิ้นขาวลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] (ภาพที่ 3) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 6.76 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3%

ร่วมกับ mannitol 0% [T1] โดยยึดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 6.46 และ 6.07 เดือน ตามลำดับ โดย ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร และระดับ sucrose ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ระดับ mannitol ให้ผลที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกันได้แก่ สูตรอาหารกับระดับ sucrose และระดับ sucrose กับระดับ mannitol (ตารางภาคผนวกที่ 4.3)

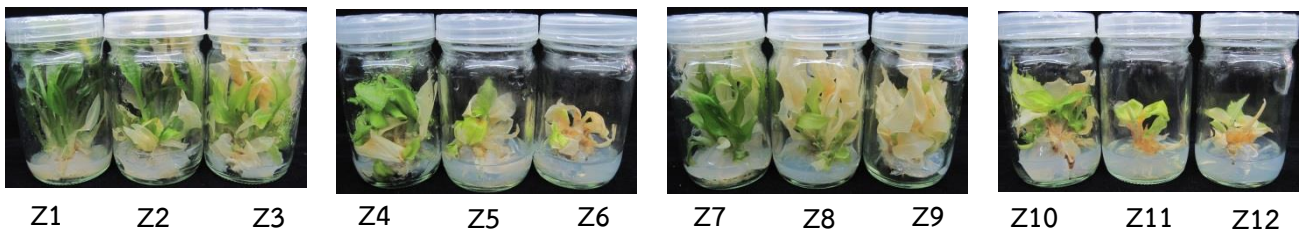


ภาพที่ 3 ขมิ้นขาว บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 7 เดือน

สกุล *Kaempferia*

กระแจะจันทร์ (*kaempferia* sp.)

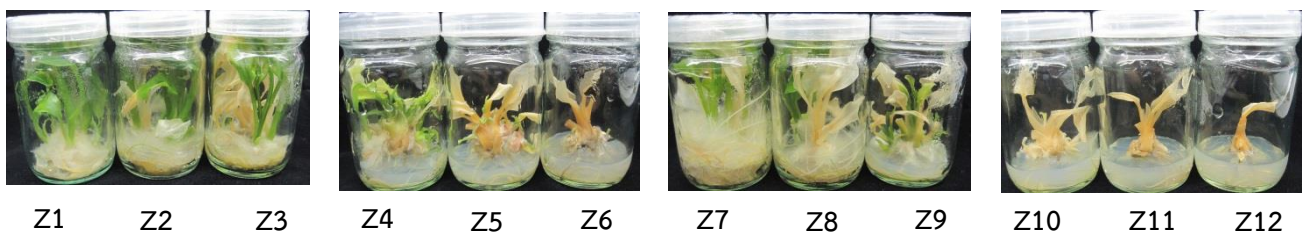
เมื่อย้ายต้นกระแจะจันทร์ลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] (ภาพที่ 4) โดยสามารถยึดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 10.69 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยึดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 10.46 และ 9.30 เดือน ตามลำดับ โดย ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร ระดับ sucrose และระดับ mannitol ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่ไม่พบว่าทั้ง 3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลร่วมกัน (ตารางภาคผนวกที่ 4.4)



ภาพที่ 4 กระแจะจันทร์ บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 11 เดือน

ว่านทิพยเนตร (*Kaempferia rotunda* L.)

เมื่อย้ายต้นว่านทิพยเนตรลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] (ภาพที่ 5) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 9.00 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.69 และ 7.30 เดือน ตามลำดับ โดยความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร ระดับ sucrose และระดับ mannitol ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และทั้ง 3 ปัจจัยมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ อนึ่ง ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหารกับระดับ mannitol มีอิทธิพลร่วมกัน อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างระหว่างสูตรอาหารกับระดับ sucrose และระดับ sucrose กับ ระดับ mannitol ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมกัน (ตารางภาคผนวกที่ 4.5)

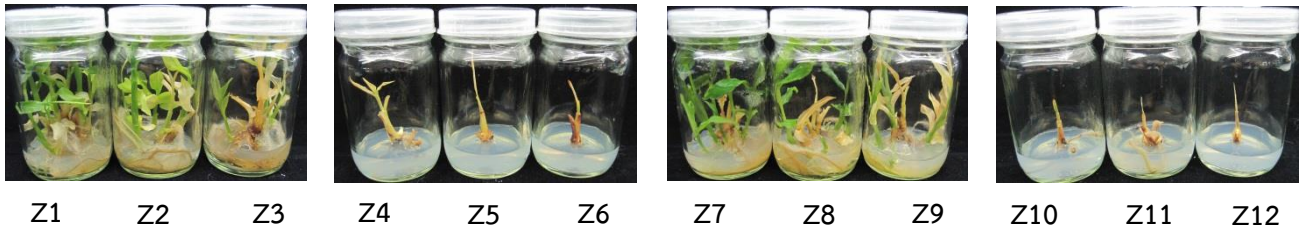


ภาพที่ 5 ว่านทิพยเนตร บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 9 เดือน

สกุล *Zingiber*

ไพลเหลือง (*Zingiber montanum* (J. König) Link ex A. Kietr

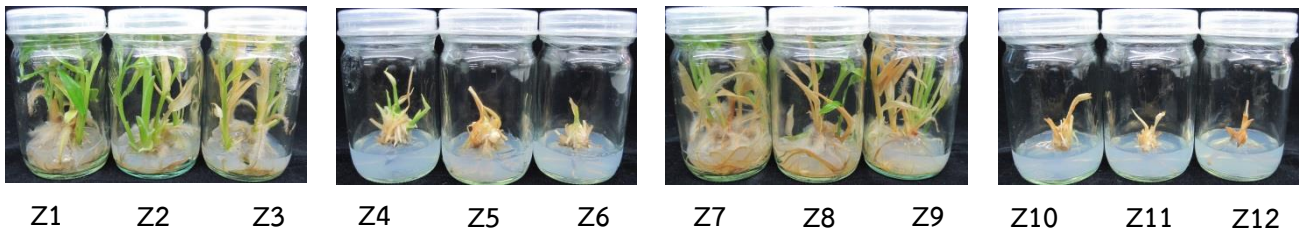
เมื่อย้ายต้นไพลเหลืองลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] และสูตร half-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T8] (ภาพที่ 6) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.69 เดือนเท่ากัน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร half-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T7] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.54 และ 6.85 เดือน ตามลำดับ โดยความแตกต่างของระดับ sucrose และระดับ mannitol มีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมกันทางสถิติของปัจจัยที่ศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย (สูตรอาหาร ระดับ sucrose และระดับ mannitol) (ตารางภาคผนวกที่ 4.6)



ภาพที่ 6 ไพลเหลือง บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 8 เดือน

ไพลปลุกเสก (*Zingiber sp.*)

เมื่อย้ายต้นไพลปลุกเสกลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] (ภาพที่ 7) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 9.62 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 1% [T2] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 2% [T3] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 9.46 และ 9.38 เดือน ตามลำดับ พบว่า ปัจจัยที่สนใจศึกษา 3 ปัจจัย แต่ละปัจจัยต่างก็มีอิทธิพลต่อผลการชะลอการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ความแตกต่างของสูตรอาหาร กับระดับ sucrose และ ระดับ sucrose กับ ระดับ mannitol มีอิทธิพลร่วมกัน ส่งผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 4.7)

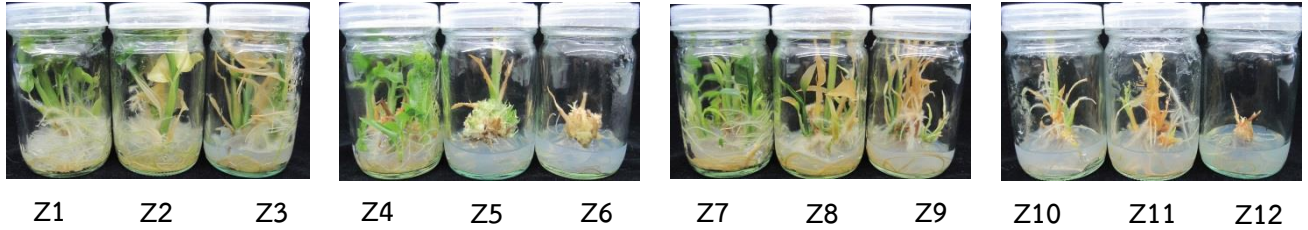


ภาพที่ 7 ไพลขาว บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 10 เดือน

ไพลขาว (*Zingiber sp.*)

เมื่อย้ายต้นไพลขาวลงเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T1] (ภาพที่ 8) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.85 เดือน รองลงมา ได้แก่ อาหารสูตร half-MS ที่เติม sucrose 3% ร่วมกับ mannitol 0% [T7] และ อาหารสูตร full-MS ที่เติม sucrose 9% ร่วมกับ mannitol 0% [T4] โดยยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7.23 และ 7.08 เดือน ตามลำดับ

พบว่า ปัจจัยที่สนใจศึกษา 3 ปัจจัย แต่ละปัจจัยต่างก็มีอิทธิพลต่อผลการชะลอการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 4.8)



ภาพที่ 8 ไพลขาว บนสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 8 เดือน

การฟื้นฟูภายหลังการชะลอการเจริญเติบโต

ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงพืชวงศ์ขิงในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ ได้นำยอดที่รอดชีวิตมาเพาะเลี้ยงเพื่อฟื้นฟูสภาพบนอาหาร 6 สูตร ได้แก่

- T1 อาหารสูตร full-MS ที่เติม kinetin 2 มก./ล.
- T2 อาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล.
- T3 อาหารสูตร full-MS ที่เติม TDZ 1 มก./ล.
- T4 อาหารสูตร full-MS ที่เติม kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- T5 อาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- T6 อาหารสูตร full-MS ที่เติม TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

ผลการฟื้นฟูบนอาหารทั้ง 6 สูตร พบว่า พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด สามารถฟื้นตัวและเจริญเติบโตได้ดี สามารถเกิดยอดและรากใหม่ได้ค่อนข้างดี (ตารางที่ 1) ทำให้สามารถนำไปย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนต่อไปได้ อย่างไรก็ตาม สูตรอาหาร full-MS ที่เติม TDZ 1 มก./ล. [T3] และอาหารสูตร full-MS ที่เติม TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. [T6] นั้น มีคะแนนการเกิดรากค่อนข้างต่ำเนื่องจากเกิดรากได้น้อยกว่าอาหารสูตรอื่น และมีแนวโน้มที่จะชักนำให้เกิดแคลลัสได้ด้วยเช่นกัน (ภาพที่ 9)

ตารางที่ 1 จำนวนยอดเฉลี่ยและคะแนนการเกิดรากเฉลี่ยบนอาหารทดลองเพื่อฟื้นฟู 6 สูตร เป็นเวลา 60 วัน

พืชวงศ์ขิง	%						S						R					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6
กระแจะจันทร์	60	80	80	80	80	60	2.7	4.2	4.7	4.5	5.3	3.1	1.2	2.1	2.1	1.8	2.3	1.2
ว่านทิพยเนตร	70	100	80	100	70	100	2.4	3.2	3.1	4.0	2.7	4.1	1.7	2.0	1.1	2.0	2.2	1.4
ว่านมหาเมฆ	100	100	100	100	100	100	1.9	2.5	3.3	2.6	2.7	3.4	1.6	1.6	0.2	2.5	2	0.4

พืชวงศ์ขิง	%						S						R					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6
ขมิ้นขาว	50	100	100	70	70	100	1.4	3.1	3.6	2.2	1.9	5.8	0.8	2.2	1.0	1.3	1.5	0.7
ขมิ้นชัน	100	80	100	80	100	80	2.4	2.3	3.7	1.8	2.2	3.3	2.0	1.6	0.7	2.0	2.2	1.1
ไพลเหลือง	30	90	50	60	70	70	1.5	2.8	0.3	1.0	1.1	0.7	0.4	1.0	0.0	0.5	0.5	0.0
ไพลปลุกเสก	80	80	70	80	70	70	1.4	2.6	2.2	2.0	1.3	1.5	0.4	0.1	0.0	2.0	0.7	0.1
ไพลขาว	30	80	40	70	60	40	1.2	1.6	2.0	2.4	2.0	1.6	1.6	1.9	0.3	1.4	1.6	0.5
เฉลี่ย	65	88	77	80	77	77	1.9	2.8	2.9	2.6	2.4	2.9	1.2	1.6	0.7	1.7	1.6	0.7

% = ร้อยละของการรอดชีวิตบนอาหารฟีนฟู

S = จำนวนยอดเฉลี่ย

R = คะแนนรากเฉลี่ย



อาหาร full-MS +TDZ 1 มก./ล.



อาหาร full-MS +TDZ 1 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.

ภาพที่ 9 ไพลขาว เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารเพื่อฟีนฟูภายหลังจากการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 60 วัน

การนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน

นำพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรฟีนฟูมาปรับสภาพเป็นเวลาอย่างน้อย 2-3 สัปดาห์ เมื่อล้างวุ้นอาหารออกจากรากจนสะอาดดีแล้ว จึงนำไปปลูกลงในถุงดำที่ใส่วัสดุปลูกเตรียมไว้ในโรงเรือน ตรวจสอบการรอดชีวิตของพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด พบว่า ทุกชนิดสามารถรอดชีวิตได้คิดเป็น 72% - 95% (ตารางที่ 2) และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (ภาพที่ 10)

ตารางที่ 2 ร้อยละของควมมีชีวิตรอดของพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน เป็นเวลา 60 วัน

พืชวงศ์ขิง	ร้อยละ	
	ตาย	รอด
1. ว่านมหาเมฆ	27.27	72.73
2. ขมิ้นชัน	4.35	95.65

3. ขมิ้นขาว	26.09	73.91
4. กระแจะจันทร์	16.67	83.33
5. ว่านทิพยเนตร	11.11	88.89
6. ไพลเหลือง	4.35	95.65
7. ไพลปลุกเสก	13.04	86.96
8. ไพลขาว	16.67	83.33
เฉลี่ย	14.94	85.05



ขมิ้นชันหลังจากนำออกปลูก อายุ 15 วัน



ขมิ้นชันหลังจากนำออกปลูก อายุ 60 วัน

ภาพที่ 10 ขมิ้นชันที่นำออกปลูกในสภาพโรงเรือนอายุ 15 วัน และ 60 วัน

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพืชวงศ์ขิงที่เลือกใช้เป็นตัวอย่างทดลองจำนวน 10 ชนิด จาก 4 สกุล ได้แก่ สกุล *Zingiber* spp. 4 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว ไพลชมพู และไพลปลุกเสก สกุล *Alpinia* sp. 1 ชนิด คือ ข่าลิง ขิงแห้ง สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ และสกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร สามารถพอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้เป็นวัสดุวิจัยได้สำเร็จ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ สกุล *Curcuma* spp. 3 ชนิด คือ ขมิ้นขาว ขมิ้นชัน และ ว่านมหาเมฆ สกุล *Kaempferia* spp. 2 ชนิด คือ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร และสกุล *Zingiber* spp. 3 ชนิด คือ ไพลเหลือง ไพลขาว และไพลปลุกเสก สำหรับ ไพลชมพู (*Zingiber* sp.) การพอกฆ่าเชื้อเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้นั้นมีลักษณะเป็นยอดที่เกิดจากเหง้าซึ่งปลูกอยู่ในดิน มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สูง นอกจากนี้การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียที่ชิ้นส่วนพืชซึ่งทำให้อาหารมีลักษณะขุ่นข้นกว่าปกติแพร่ออกจากชิ้นส่วนพืชอยู่ในอาหารซึ่งเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ภายในเนื้อเยื่อของพืช เช่น ในท่อลำเลียงน้ำ เป็นต้น และไม่อาจกำจัดได้โดยการพอกฆ่าเชื้อที่ผิว จึงทำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดการปนเปื้อนสูง ประกอบกับ

สภาพแวดล้อมภายในขวดเพาะเลี้ยงมีความเหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้รวดเร็วพร้อมทั้งปลดปล่อยสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมทำให้เนื้อเยื่อพืชตายได้ (กมลพรและคณะ, 2552) ในส่วนของพืชวงศ์ขิงสกุล *Alpinia* sp. ได้แก่ ข่าลิงขิงแห้ง นั้น ประสบปัญหาเหง้าพันธุ์ข่าลิงขิงแห้งหาได้ยากใช้เวลานานในการหาเหง้าพันธุ์ ถึงแม้จะได้เหง้าพันธุ์ในที่สุดแต่ไม่สามารถทำการทดลองได้ทันตามกำหนดเวลา

การเก็บรักษาในสภาพชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth storage)

จากการเพาะเลี้ยงพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ในอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 12 ทริทเมนต์พบว่า พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด สามารถคงมีชีวิตอยู่ในอาหารทดลองได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ในระยะเวลาที่ไม่เท่ากัน พืชวงศ์ขิงในสกุล *Kaempferia* ได้แก่ กระแจะจันทร์ และว่านทิพยนตร สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตได้นานที่สุด คืออยู่ในช่วง 9-10 เดือน รองลงมาเป็นพืชวงศ์ขิงในสกุล *Zingiber* ได้แก่ โพลเหลียง โพลปลุกเสก และโพลขาว สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้อยู่ในช่วง 7-9 เดือน ใกล้เคียงกับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Curcuma* ที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้อยู่ในช่วง 6-8 เดือน ความสามารถในการชะลอการเจริญเติบโตของสูตรอาหารทดลองทั้ง 12 ทริทเมนต์ แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่ศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย ได้แก่ 1. สูตรอาหาร full-MS และ half-MS 2. ระดับของ sucrose (3% และ 9%) และ 3. ระดับของ mannitol (0% 1% และ 2%) มีอิทธิพลต่อการยืดอายุการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิดในสภาพปลอดเชื้อ

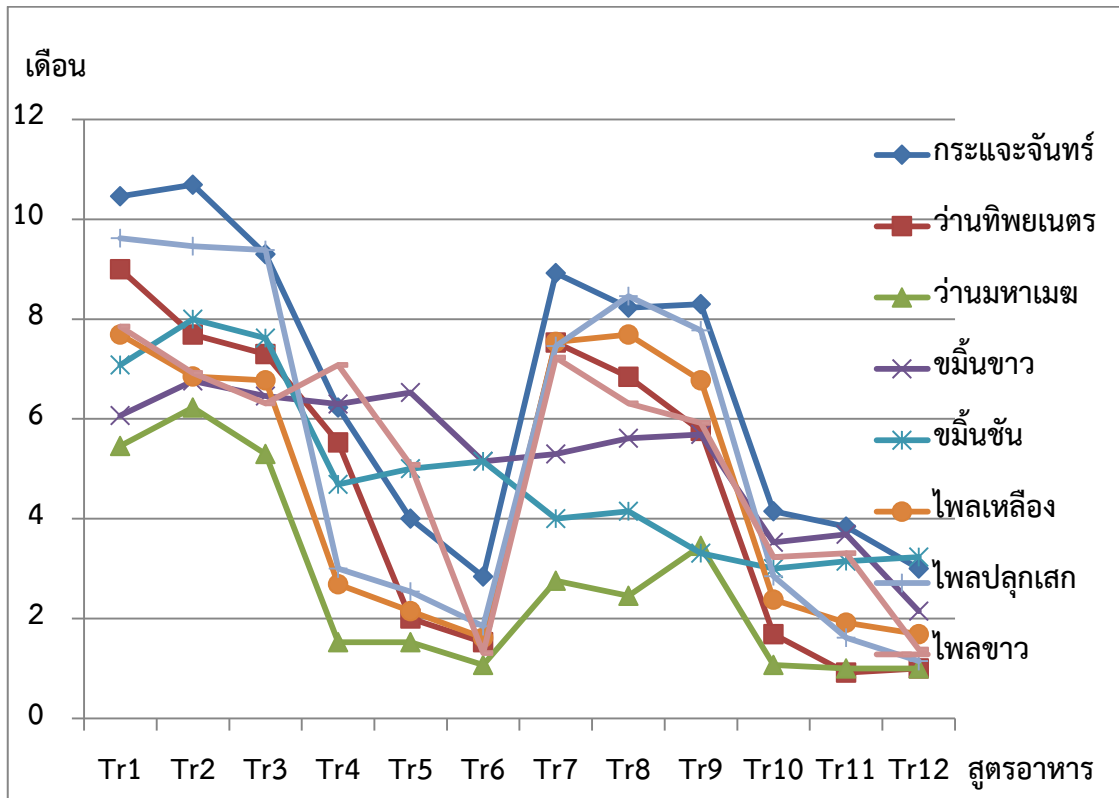
ปัจจัยที่ส่งผลอย่างเห็นได้ชัดคือระดับของ sucrose ในอาหารทดลอง พบว่า ระดับ sucrose 3% ให้ผลในการชะลอการเจริญเติบโตได้ดีกว่าที่ระดับ sucrose 9% (ภาพที่ 11) ใกล้เคียงกับรายงานผลการทดลองของสนธิชัย (2548) ในการลดการเจริญเติบโตของต้น ขิง โพล และขมิ้นอ้อยในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ความเข้มข้นของ sucrose ที่เหมาะสมของพืชดังกล่าวอยู่ในช่วง 40-60 ก./ล. (4%-6%) และเมื่อลดความเข้มข้นของสารอาหารอนินทรีย์ลงครึ่งหนึ่ง (half-MS) ความเข้มข้นของ sucrose ที่เหมาะสม จะลดลงเหลือ 40-50 ก./ล. (4%-5%) และในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร 3/4MS ร่วมกับ sucrose 3% (30 ก./ล.) สามารถเก็บรักษายอดจำปีสิรินธรได้นานถึง 4 เดือน (ศิริกุล, 2548) อย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น sucrose 9% นั้นไม่สามารถชะลอการเจริญเติบโตในพืชวงศ์ขิงในสกุล *Kaempferia* และ *Zingiber* อย่างเห็นได้ชัด (กราฟที่ 1) ต่างจากการทดลองของ Tyagi *et al.* (2006) ซึ่งรายงานว่า การทดลองการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิง (*Zingiber officinale* Rosc. Cv. Rio de Janeiro) (จำนวน 33 พันธุ์ปลุก และ 1 พันธุ์ป่า) ในหลอดทดลอง พบว่า โดยร้อยละ 50 ของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ถึง 14 เดือนบนอาหาร CM ซึ่งมี sucrose สูงถึง 9% (อาหารสูตร CM = MS+9% sucrose+0.8% agar+0.1 mg/l-1 NAA+1 mg/l-1 BA) และสามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 12 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร นอกจากนี้ อาหารสูตรที่มีระดับ sucrose 9% พบว่า ส่งผลให้จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดใหม่มีจำนวนน้อยกว่า และมีปริมาณรากน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเทียบกับอาหารที่มีระดับ sucrose 3% (กราฟที่ 2 และกราฟที่ 3) รวมทั้งส่งผลให้เกิดลักษณะผิดปกติ หรือชะงักการเจริญเติบโตแทนที่จะชะลอการเจริญเติบโต อันเนื่องจากผลของแรงดันออสโมซิสในอาหารโดยส่วนประกอบต่างๆในอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่ ปริมาณธาตุอาหารหลัก ระดับความเข้มข้นของ sucrose และระดับความเข้มข้น mannitol มี

ผลเกี่ยวข้องกับแรงดันออสโมซิสในอาหารจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการดูดซึมสารอาหารของเนื้อเยื่อพืชด้วย พืชในเขตเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องมีการเติมน้ำตาลลงไปในการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญ เนื่องจากการเจริญในเขตเพาะเลี้ยงนั้น พืชจะมีการสังเคราะห์แสงได้ไม่เต็มที่เหมือนในสภาพธรรมชาติ แต่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาล หรือ sucrose ที่สูงเกินไปจะส่งผลให้ประสิทธิภาพของแรงดันออสโมติกลดลง (วรรณดา และคณะ, 2557; Bramwel, 1990) สอดคล้องกับการศึกษาผลของการเพิ่มแรงดันออสโมติกของอาหารเพาะเลี้ยงมะละกอโดยการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นมากถึง 20 ก./ล. พบว่า สามารถลดการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนยอดได้มากกว่าการเติม mannitol (Suksa-ard *et al.*, 1997) อย่างไรก็ตาม ชนิดของพืชก็มีส่วนในการตอบสนองต่อระดับ sucrose ที่แตกต่างกันด้วย เช่น การศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชเนระพูสีไทย หรือต้นค่างควาดำ (วรินทร์พร และปิยะวดี, 2557) พบว่า อาหารสูตร half MS ที่เติม sucrose 90 ก./ล. (9%) เป็นสูตรที่เหมาะสมสำหรับชะลอการเจริญเติบโตที่สุด โดยต้นยังคงมีลักษณะปกติและมีชีวิตรอดอยู่ได้นานโดยไม่เปลี่ยนอาหารเป็นเวลา 6 เดือน

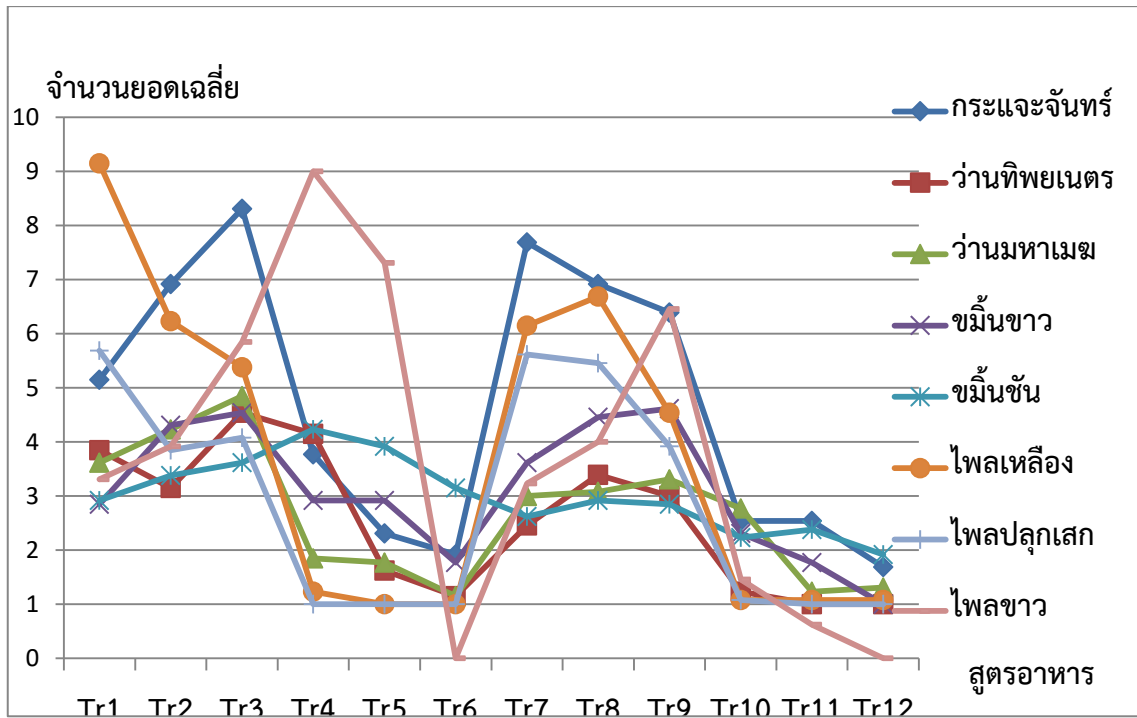
ระดับความเข้มข้นของ mannitol ในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อประสิทธิภาพของแรงดันออสโมติกเช่นเดียวกัน ซึ่งระดับความเข้มข้นของ mannitol ที่สูงมากเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อพืชได้ อย่างไรก็ตาม ระดับที่สูงมากเกินไปนั้น มีความแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด จากการทดลองนี้ จะเห็นได้ว่า ระดับ mannitol ที่สูงขึ้น (ในสูตรที่ใช้ธาตุอาหารหลัก และระดับ sucrose เหมือนกัน) ส่งผลให้พืชวงศ์ชิงแสดงจำนวนยอดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (กราฟที่ 2) แต่ความสูงของยอดลดลง (ไม่ได้แสดงข้อมูล) เนื่องจากความดันออสโมติกเพียงสูงขึ้นจากการเติม mannitol ทำให้การดูดซับไอออนของรากพืชผิดปกติ ดังนั้น การเจริญเติบโตของพืชจึงลดลง เช่นเดียวกับลักษณะของอ้อยพันธุ์ F140 และ SP1 ซึ่งเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ mannitol ขึ้น ส่งผลให้มีแนวโน้มการเกิดหน่อใหม่เพิ่มขึ้นเช่นกัน (สนธิชัย, 2534) และในส่วนของปริมาณรากที่เกิดขึ้น พบว่า มีปริมาณรากลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของ mannitol เพิ่มขึ้น (กราฟที่ 1 และกราฟที่ 3) สอดคล้องกับการเก็บรักษายอดจำปีสิรินธรในอาหารทดลองสูตร 3/4MS ที่เติม mannitol ร่วมกับ sucrose พบว่า เปอร์เซ็นต์และคะแนนความแข็งแรงลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของ mannitol เพิ่มขึ้น (ศิริกุล, 2548) เนื่องจากการใช้ mannitol ที่มีความเข้มข้นสูงส่งผลให้ค่าแรงดันออสโมติกในสารละลายเพิ่มขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพของการเกิดออสโมซิสลดลง และเมื่อใช้ร่วมกับ sucrose ที่ระดับความเข้มข้นสูงก็จะยิ่งส่งผลให้การแพร่ของน้ำเข้าสู่เซลล์พืชเป็นไปได้ยาก พืชจึงอยู่ในภาวะขาดน้ำ และในภาวะที่พืชขาดน้ำ mannitol ซึ่งพืชสามารถเปลี่ยนได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยเปลี่ยนจาก mannose ที่มีพลังงานต่ำกลายเป็น mannitol ที่มีพลังงานสูงได้นั้น จะสะสมเพิ่มมากขึ้น พืชจึงอยู่ในสภาวะที่มีแรงดันออสโมติกสูงเพิ่มมากขึ้น (Guicherd *et al.*, 1997) ทำให้เซลล์เข้าสู่สภาวะเสื่อมถอย กลายเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล และตายในที่สุด

ความแตกต่างของความเข้มข้นธาตุอาหารหลัก ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ full MS และ half MS นั้น แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างได้อย่างชัดเจน เนื่องจาก half MS นั้น มีระดับของธาตุอาหารต่ำกว่า full MS ถึง 1 เท่า ทำให้พืชวงศ์ชิงมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าเห็นได้จากใบที่ยังมีสีเขียวอยู่ และในอาหารสูตรที่ใช้ full MS นั้น สามารถชะลอการเจริญเติบโตในพืชวงศ์ชิงได้ระยะเวลานานกว่าอย่างเห็นได้ชัด (กราฟที่ 1) สอดคล้องกับผลของการเพาะเลี้ยงยอดจำปีสิรินธรภายหลังจากการเก็บรักษาในอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก MS และ

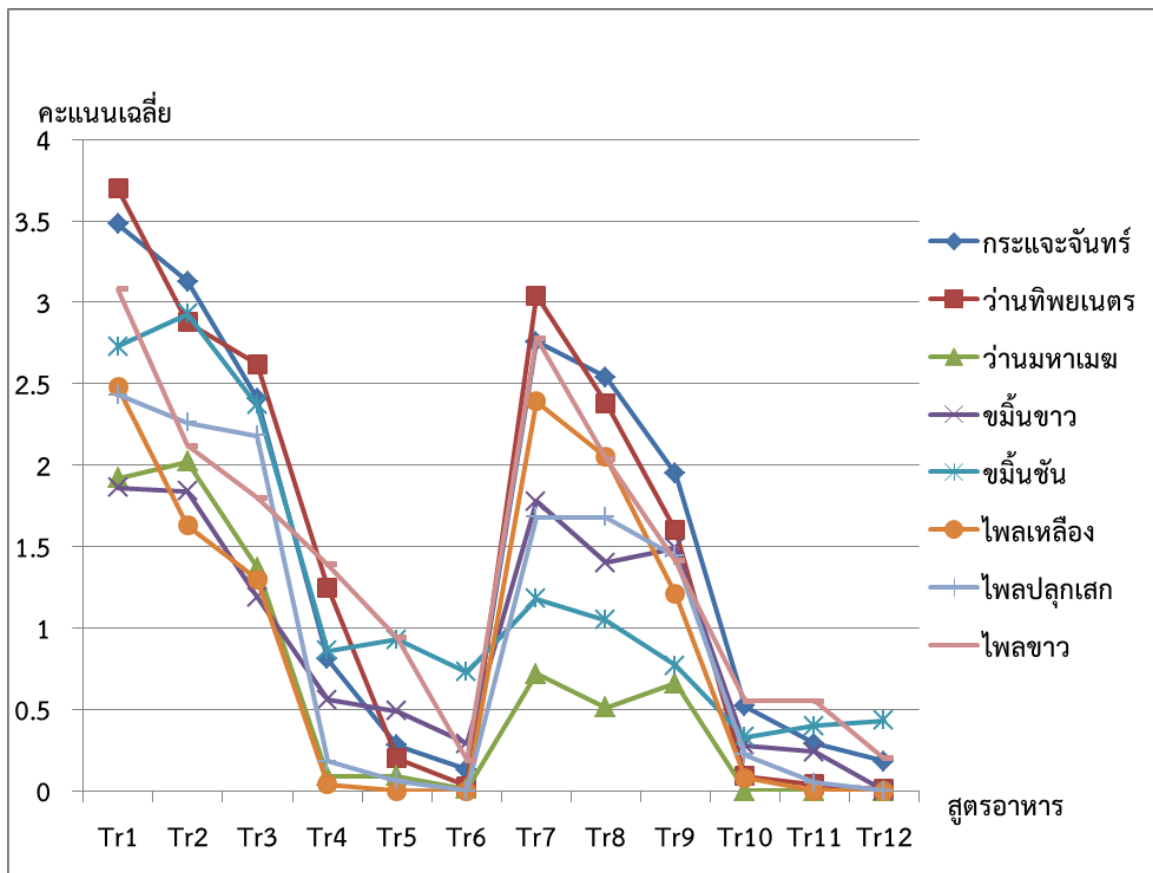
3/4MS สามารถเก็บรักษาได้นานกว่าการเลี้ยงบนอาหาร 1/2MS และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต รวมทั้งคะแนนความแข็งแรงอยู่ในเกณฑ์ดีกว่า (ศิริกุล, 2548)



กราฟที่ 1 ระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของฟัซงศ์ซึ่งบนสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร



กราฟที่ 2 จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นของพีชวงศ์ข้างบนสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร



กราฟที่ 3 คะแนนเฉลี่ยปริมาณรากที่เกิดขึ้นของพีชวงศ์ข้างบนสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร

9.

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1.) พืชวงศ์ขิงทั้งสามสกุล ได้แก่ สกุล *Curcuma* (ว่านมหาเมฆ ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว) สกุล *Kaempferia* (กระแจะจันทร์ และว่านทิพยเนตร) และสกุล *Zingiber* (ไพลเหลือง ไพลปลุกเสก และไพลขาว) สามารถคงมีชีวิตอยู่ในอาหารทดลองได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารใหม่ในระยะเวลาที่ไม่เท่ากัน คือ พืชวงศ์ขิงในสกุล *Kaempferia* สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในสูตรอาหารชะลอการเจริญเติบโตได้นานที่สุด 9-10 เดือน รองลงมา เป็นพืชวงศ์ขิงในสกุล *Zingiber* สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 7-9 เดือน ใกล้เคียงกับพืชวงศ์ขิงในสกุล *Curcuma* ที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 6-8 เดือน

2.) สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตพืชวงศ์ขิงทั้งสามสกุล คืออาหารที่ใช้สูตรธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% (30 ก./ล.) โดยสูตรอาหารที่ใช้ธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% ไม่เติม mannitol สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีใน ว่านทิพยเนตร ไพลเหลือง ไพลปลุกเสก และไพลขาว สูตรอาหารที่ใช้ธาตุอาหารหลัก full MS ร่วมกับ sucrose ความเข้มข้น 3% ที่ระดับความเข้มข้น mannitol เท่ากับ 1% สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีใน กระแจะจันทร์ ว่านมหาเมฆ ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว

3.) พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด สามารถฟื้นตัวและเจริญเติบโตได้ดีหลังจากเปลี่ยนอาหารเป็นอาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยสามารถเกิดยอดและรากใหม่ได้ดีบนอาหารสูตร full-MS ที่เติม BA 2 มก./ล. หรือ Kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. หรือไม่เติม NAA ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม อาหารสูตรที่เติม TDZ 1 มก./ล. และอาหารสูตรที่เติม TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดรากได้น้อยกว่าอาหารสูตรอื่น และมีแนวโน้มที่จะชักนำให้เกิดแคลลัสได้

4.) พืชวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วนำไปปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า ทุกชนิดสามารถรอดชีวิต และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

10.

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- สามารถนำข้อมูลสูตรอาหารที่เหมาะสมไปใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อการอนุรักษ์พืชสมุนไพรตระกูลขิง ในสภาพปลอดเชื้อให้กับกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร รวมทั้งนักวิจัยและผู้สนใจทั่วไป สามารถนำไปใช้ต่อยอดทางด้านการวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง และการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมสมุนไพรตระกูลขิงอื่นๆ หรือพืชสมุนไพรอื่นในกลุ่มเดียวกันหรือใกล้เคียงกันได้

11.

คำขอบคุณ (ถ้ามี)

-

12.

เอกสารอ้างอิง

- กมลพร ปานง่อม วรรณภา มั่งกิตะ และสุคนทิพย์ บุญวงศ์. 2552. การขยายพันธุ์อ้อม (*Strobilanthes cusia* (Nees) Kuntze) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่. 102 น.
- คมสัน หุตะแพทย์. 2549. การสกัดน้ำมันหอมระเหย. ออฟเซ็ทครีเอชั่น, กรุงเทพฯ. 108 น.
- ต. ชาตรี. 2553. สมุนไพรเพื่อการเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 5. นีออนบุ๊ก มีเดีย, กรุงเทพฯ. 110 น.
- เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. หอพรรณไม้กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม ปี 2544. ที่มา <http://www.dnp.go.th/botany/ThaiPlantName/Default.aspx> วันที่ 31 พฤษภาคม 2554.
- นันทวัน บุญยะประภัสร์. 2541. สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน เล่ม 2. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 640 น.
- รังสฤษดิ์ กาวีตะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 หน้า.
- วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย กาญจนวี พงษ์ฉวี และ รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2557. การเก็บรักษาพันธุ์หอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze ในสภาพปลอดเชื้อ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2557. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด.
- วรินทร์พร จิวัรัตน์สกุล และ ปิยะวดี เจริญวัฒนะ. 2557. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชเนระพูสีไทยในสภาพปลอดเชื้อโดยการชะลอการเจริญเติบโต. แก่นเกษตร. 42 (ฉบับพิเศษ 3) 562-566.
- วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2552. ย่อเภสัชกรรมไทย และสรรพคุณสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 3. ศิลป์สยามบรรณภัณฑ์และการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 223 น.
- สนธิชัย จันท์เปรม. 2534. การชะลอการเจริญเติบโตของอ้อยปลูกและอ้อยป่าในสภาพปลอดเชื้อ. ใน เรื่องเต็มการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29: รายงานผลการวิจัยสาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534. หน้า 575-581.
- สนธิชัย จันท์เปรม. 2548. การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยการลดการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ. ใน รายงานการประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว. วันที่ 20-22 ตุลาคม 2548. ณ ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชฯ คลองไผ่, นครราชสีมา. หน้า 384-389.

- ศิริกุล เกษา. 2548. การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จำปีสิรินธร *Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin ในหลอดทดลอง โดยการเก็บรักษาในภาวะชะลอการเจริญและการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สาขาวิชาพฤกษศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- อรนุช เกษประเสริฐ. 2550. พืชสมุนไพร วงศ์ Zingiberaceae. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 258 น.
- Bramwel, D. 1990. The Role of *In Vitro* Cultivation in Conservation of Endangered Species, Conservation Technique in Botanic Gardens. Koenigstein, Germany. pp. 3-15.
- Guicherd, P., J.P. Peltier, E. Gout and R. Bligny. 1997. Osmotic adjustment in *Fraxinus excelsior* L. : malate and mannitol accumulation in leaves under drought condition. Trees. 11: 155-161.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Shibli, R.A., M.A. Shatnawi, W.S. Subaih and M.M. Ajlouni. 2006. *In vitro* conservation and cryopreservation of Plant genetic resources: A review. World Journal of Agricultural Sciences 2 (4): 372-382.
- Suksa-ard, P., I. Kataoka, Y. Fujime and S. Subhadrabandhu. 1997. Effect of temperature, growth retardants and osmotic potential on growth of Papaya shoots conserved *in vitro*. Japanese Journal of Tropical Agriculture 41(1): 7-13.
- Tyagi, R.K., A. Agrawal and A. Yusuf. 2006. Conservation of Zingiber germplasm through *in vitro* rhizome formation. Scientia Horticulturae 108: 210-219.

13. ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

ส่วนประกอบ	มิลลิกรัมต่อลิตร
Macronutrients	
NH ₄ NO ₃	1,650.00
KNO ₃	1,900.00
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440.00
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370.00
KH ₂ PO ₄	170.00
Micronutrients	
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.20
MnSO ₄ ·7H ₂ O	6.90
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	6.14
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.85
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37.25
Organic compounds	
myo-inositol	100.00
glycine	2.00
nicotinic acid	0.50
pyridoxine-HCl	0.50
thiamine-HCl	0.50
Other	
sucrose	30,000.00
pH	5.70-5.80

ตารางภาคผนวกที่ 2 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

สูตรอาหารทดลอง	Full-MS strength		Half-MS strength	
	3% Sucrose	9% Sucrose	3% Sucrose	9% Sucrose

0% Mannitol	T1	T4	T7	T10
1% Mannitol	T2	T5	T8	T11
2% Mannitol	T3	T6	T9	T12

ตารางภาคผนวกที่ 3 ระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของพีชวงศ์ขิงบนอาหารทดลองชะลอการเจริญเติบโต
จำนวน 12 สูตร (เดือน)

สูตร อาหาร	สูตร												
	Tr1	Tr2	Tr3	Tr4	Tr5	Tr6	Tr7	Tr8	Tr9	Tr10	Tr11	Tr12	
พีชวงศ์ขิง													
กระแจะจันทร์	10.46	<u>10.69</u>	9.30	6.23	4.00	2.84	8.92	8.23	8.30	4.15	3.84	3.00	
ว่านทิพย์เนตร	<u>9.00</u>	7.69	7.30	5.53	2.00	1.53	7.53	6.84	5.76	1.69	0.92	1.00	
ว่านมหาเมฆ	5.46	<u>6.23</u>	5.30	1.53	1.53	1.07	2.76	2.46	3.46	1.07	1.00	1.00	
ขมิ้นขาว	6.07	<u>6.76</u>	6.46	6.30	6.53	5.15	5.30	5.61	5.69	3.53	3.69	2.15	
ขมิ้นชัน	7.08	<u>8.00</u>	7.62	4.69	5.00	5.15	4.00	4.15	3.31	3.00	3.15	3.23	
ไพลเหลือง	<u>7.69</u>	6.85	6.77	2.69	2.15	1.62	7.54	<u>7.69</u>	6.77	2.38	1.92	1.69	
ไพลปลุกเสก	<u>9.62</u>	9.46	9.38	3.00	2.54	1.85	7.46	8.46	7.77	2.85	1.62	1.15	
ไพลขาว	<u>7.85</u>	6.92	6.31	7.08	5.08	1.31	7.23	6.31	5.92	3.23	3.31	1.38	

ตารางภาคผนวกที่ 4.1 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของว่านมหาเมฆ จากการ
ทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

	Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชัน		11	536.3	48.7	69.26**
สูตรอาหาร		1	95.4	95.4	135.51**
ระดับ sucrose		1	369.2	369.2	524.43**
ระดับ mannitol		2	0.3	0.1	<1
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose		1	56.6	56.6	80.45**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol		2	9.2	4.6	6.56**
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol		2	1.8	0.9	1.34ns
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol		2	3.6	1.8	2.58ns
Error		144	101.3	0.7	
Total		155	637.7		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.2 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของขมึ้นชั้น จากการทดลอง
การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชัน	11	457.2	41.5	22.77**
สูตรอาหาร	1	301.8	301.8	165.32**
ระดับ sucrose	1	106.6	106.6	58.42**
ระดับ mannitol	2	3.9	1.9	1.08ns
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	36.0	36.0	19.75**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	3.5	1.7	<1
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	3.5	1.7	<1
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	1.6	0.8	<1
Error	144	262.9	1.8	
Total	155	720.1		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.3 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของขมึ้นขาว จากการทดลอง
การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชัน	11	292.6	26.6	11.46**
สูตรอาหาร	1	138.5	138.5	59.64**
ระดับ sucrose	1	78.9	78.9	34.00**
ระดับ mannitol	2	16.2	8.1	3.50*
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	38.0	38.0	16.36**

สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	0.3	0.1	<1
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	20.1	10.0	4.33*
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	0.4	0.2	<1
Error	144	334.4	2.3	
Total	155	627.1		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.4 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของกระแจะจันทร์ จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น	11	1266.5	115.1	37.67**
สูตรอาหาร	1	54.2	54.2	17.75**
ระดับ sucrose	1	1098.6	1098.6	359.45**
ระดับ mannitol	2	64.7	32.3	10.58**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	9.2	9.2	3.03ns
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	12.7	6.3	2.09ns
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	13.5	6.7	2.21ns
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	13.3	6.6	2.18ns
Error	144	440.1	3.0	
Total	155	1706.6		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.5 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของว่านทิพยเนตร จากการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น	11	1339.3	121.7	53.96**
สูตรอาหาร	1	93.8	93.8	41.59**
ระดับ sucrose	1	1072.3	1072.3	475.23**
ระดับ mannitol	2	118.8	59.4	26.33**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	2.8	2.8	1.25ns
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	23.7	11.8	5.26**
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	8.6	4.3	1.92ns
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	19.0	9.5	4.23*
Error	144	324.9	2.2	
Total	155	1664.2		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.6 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของไหลเหลือง จากการทดลอง
การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น	11	1056.2	96.0	121.95**
สูตรอาหาร	1	0.057	0.057	<1
ระดับ sucrose	1	1030.7	1030.7	1309.10**
ระดับ mannitol	2	19.4	9.7	12.37**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	1.4	1.4	1.83ns
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	1.8	0.942	1.20ns
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	0.2	0.1	<1
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	2.4	1.2	1.54ns
Error	144	113.4	0.8	
Total	155	1169.6		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.7 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของไหลปลูกเสก จากการทดลองการชะลอกการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น	11	1752.6	159.3	143.82**
สูตรอาหาร	1	46.3	46.3	41.80**
ระดับ sucrose	1	1660.7	1660.7	1499.02**
ระดับ mannitol	2	13.0	6.5	5.91**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	9.7	9.7	8.80**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	0.3	0.1	<1
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	16.3	8.1	7.40**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	6.0	3.0	2.73ns
Error	144	159.5	1.1	
Total	155	1912.2		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4.8 ความแปรปรวนของระยะเวลาการเก็บรักษาเฉลี่ยของไหลขาว จากการทดลองการชะลอกการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

Sum of Variation	df	SS	MS	F
ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น	11	750.8	68.3	36.12**
สูตรอาหาร	1	55.4	55.4	29.34**
ระดับ sucrose	1	397.4	397.4	210.29**
ระดับ mannitol	2	182.5	91.2	48.27**
สูตรอาหาร x ระดับ sucrose	1	16.7	16.7	8.82**
สูตรอาหาร x ระดับ mannitol	2	28.0	14.0	7.42**
ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	48.5	24.3	12.83**

สูตรอาหาร x ระดับ sucrose x ระดับ mannitol	2	22.3	11.1	5.89**
Error	144	272.2	1.9	
Total	155	1023.0		

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 5 จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นของพีชวงศ์ขิงในระหว่างการเพาะเลี้ยงพีชวงศ์ขิงบนอาหารสูตรชะลอการเจริญเติบโต 12 สูตร (ยอด)

สูตร อาหาร	สูตร												
	Tr1	Tr2	Tr3	Tr4	Tr5	Tr6	Tr7	Tr8	Tr9	Tr10	Tr11	Tr12	
พีชวงศ์ขิง													
กระแจะจันทร์	5.15	6.92	8.31	3.77	2.31	1.92	7.69	6.92	6.39	2.54	2.54	1.69	
ว่านทิพยเนตร	3.85	3.15	4.54	4.15	1.62	1.15	2.46	3.39	3.00	1.23	1.00	1.00	
ว่านมหาเมฆ	3.62	4.23	4.85	1.85	1.77	1.15	3.00	3.08	3.31	2.77	1.23	1.31	
ขมิ้นขาว	2.85	4.31	4.54	2.92	2.92	1.77	3.62	4.46	4.62	2.31	1.77	1.00	
ขมิ้นชัน	2.92	3.38	3.62	4.23	3.92	3.15	2.62	2.92	2.85	2.23	2.38	1.92	
ไพลเหลือง	9.15	6.23	5.38	1.23	1.00	1.00	6.15	6.69	4.54	1.08	1.08	1.08	
ไพลปลุกเสก	5.69	3.85	4.08	1.00	1.00	1.00	5.62	5.46	3.92	1.08	1.00	1.00	
ไพลขาว	3.31	3.92	5.85	9.00	7.31	0.00	3.23	4.00	6.46	1.46	0.62	0.00	