



รายงานโครงการวิจัย

ศึกษาศักยภาพการผลิตมะละกอจากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการค้า
(โครงการวิจัยเดี่ยว)

Study Papaya Plantlet Technic for Commercial Production

หัวหน้าโครงการวิจัย

นายธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์

Mr. Tawatchai Nimkingrat

ปี พ.ศ. 2562



รายงานโครงการวิจัย

ศึกษาศักยภาพการผลิตมะละกอจากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการค้า
(โครงการวิจัยเดี่ยว)

Study Papaya Plantlet Technic for Commercial Production

หัวหน้าโครงการวิจัย

นายรัชชัย นิมกิงรัตน์

Mr. Tawatchai Nimkingrat

ปี พ.ศ. 2562

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
ผู้วิจัย	1
บทนำ	2
บทคัดย่อ	3
ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)	5
- การเปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของมะละกอที่ปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปลูกจากเมล็ดพันธุ์ดี	
ผลการวิจัย (Results) และอภิปรายผล (Discussion)	7
- การเปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของมะละกอที่ปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปลูกจากเมล็ดพันธุ์ดี	
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	12
ปัญหาอุปสรรคและแนวทางแก้ไข	12
บรรณานุกรม	12
ภาคผนวก	14

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะทำงานศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ตลอดจนบุคลากรทุกคนที่ให้ความร่วมมือในการดำเนินงานจนสามารถทำให้งานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย	นายธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
หัวหน้าการทดลอง	นายธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวณัฐรดา โสพิลา	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นายพฤกษ์ คงสวัสดิ์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นางสาวประภาพร ฉันทานุมัติ	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นางนิตยา คงสวัสดิ์	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นางปราณี เถาว์โท	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

บทนำ

มะละกอ (*Carica papaya* L.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการผลิตมะละกอได้เป็นอันดับ 8 ของโลก มีปริมาณผลผลิต 212,000 ตัน มูลค่า 1,925 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2553 และ 2554 มีปริมาณการส่งออกมะละกอสด 630 และ 995 ตัน มูลค่า 27 และ 50 ล้านบาท ตามลำดับ (สิริกุล, 2557) การผลิตมะละกอของไทยเริ่มมีการปรับเปลี่ยนเป็นการปลูกเพื่อการค้ามากขึ้น รัชณี (2546) มะละกอที่ปลูกด้วยเมล็ดจะพบต้นตัวเมีย ต้นตัวผู้ และต้นกระเทย มีความแปรปรวนของสายพันธุ์ ทั้งในเรื่องความอ่อนแอต่อโรคและคุณภาพของผล การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะสามารถขยายต้นพันธุ์ได้ในปริมาณมากและตรงตามพันธุ์ เกษตรกรไม่ต้องลงทุนดูแลต้นมะละกอหลายต้นก่อนการตัดเพื่อคัดเลือกเพศ ทำให้ประหยัดต้นพันธุ์และค่าปฏิบัติการอย่างมาก ในต่างประเทศมักจะพัฒนาพันธุ์มะละกอควบคู่กับการขยายพันธุ์โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์ลูกผสมที่ได้เพื่อลดขั้นตอนในการสร้างพันธุ์แท้ที่ต้องใช้เวลานานไม่น้อยกว่า 7-8 ปี (Unknown, 2009) และมีการปลูกมะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอในเชิงการค้ามากขึ้น เช่น เรดเลดี้ (RED LADY) Taiwan 786 (ลูกผสมเบอร์ 786) (นิรนาม, 2558) ในประเทศไทยเริ่มมีการผลิตมะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ มะละกอพันธุ์ Taiwan 786 จำหน่ายที่ราคาต้นละ 75 บาท ซึ่งเกษตรกรมีความต้องการสูงมากและยังไม่เพียงพอ

รัชณี (2546) ได้ศึกษาวิธีการผลิตมะละกอแช่ดำทำพระคุณภาพโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า อาหารสูตร MS สามารถเพิ่มปริมาณต้นมะละกอได้มากที่สุดได้ต้นเฉลี่ย 15.40 ต้นต่อยอด และเป็นอาหารสูตรชักนำให้ออกรากมากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายมากที่สุด Rajeevan (1983) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของมะละกอพันธุ์ Coorg Honey Dew พบว่าอาหารสูตร MS เต็ม NAA 0.5 – 10 μm และ ไคนินดิน 25–50 μm . เต็ม BA 2 μm เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอด อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร MS เต็ม Indole butyric acid (IBA) 10 μm Saker (1999) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของมะละกอพันธุ์ Honey Dew พบว่า อาหารสูตร MS เต็ม Naphthalene acetic acid (NAA) 0.5 มก.ต่อลิตร เต็ม benzyl adenine (BA) 0.5 มก. ต่อลิตร เต็มน้ำตาล 50 กรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 20.0 ± 0.95 ยอด และเกิดรากยาว 4.00 ± 0.25 เซนติเมตร และอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากดีที่สุดคือ อาหารสูตร MS เต็ม NAA 2 มก. ต่อลิตร หรือ Indole butyric acid (IBA) 0.6 มก. ต่อลิตร เต็ม adenine sulfate 60 มก. ต่อลิตร เกิดราก 75% มีความยาวรากถึง 3.15 เซนติเมตร Reuveni (1990) ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของมะละกอจากต้นสมบูรณ์เพศในอาหารเหลวสูตร MS เต็ม BA 0.5 มก. ต่อลิตร และ NAA 0.1 มก. ต่อลิตร พบว่าอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากดีที่สุดคือ อาหารสูตร MS เต็ม

adenine sulfate 160 มก. ต่อลิตร อาหารชักนำให้ต้นยึดตัว คือ MS เติมไคไนติน 1.0 มก. ต่อลิตร เติม NAA 0.05 มก. ต่อลิตร และก่อนออกปลูกในอาหารสูตร ½ macroelements MS เติม IBA 1.0 มก. ต่อลิตร การปลูกต้นมะละกอเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจมีความยุ่งยากในขั้นตอนการผลิตและเตรียมต้นพันธุ์ก่อนปลูกลงแปลงมากกว่าการปลูกจากเมล็ดทั่วไป แต่มีข้อดี คือ ได้ต้นพันธุ์ที่มีขนาดต้นเท่ากัน ผลผลิตมีขนาดและคุณภาพเหมือนกัน ต้นทุนการผลิตอาจลดลงจากการใช้ปุ๋ย สารเคมี และระยะเวลาปลูกที่สั้นลง

ด้วยเหตุนี้ จึงมีความจำเป็นต้องศึกษากระบวนการผลิตต้นกล้ามะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างจริงจัง โดยเฉพาะมะละกอพันธุ์การค้าหลักของไทย คือ พันธุ์แขกดำ พันธุ์แขกนวล และพันธุ์ปลักไม้ลาย เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตต้นพันธุ์มะละกอพันธุ์ดีของกรมวิชาการเกษตรด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำสู่การผลิตมะละกอพันธุ์ดีในเชิงการค้าต่อไป

บทคัดย่อ

การทดลองนี้ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ เป็นการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอ 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล เพื่อนำไปปลูกเปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพ ตลอดจนศึกษาข้อมูลด้านเศรษฐศาสตร์ ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาเบื้องต้นก่อนการทดลอง 1 ปี ปรากฏว่าได้เนื้อเยื่อที่มีแนวโน้มจะชักนำให้ได้ต้นมะละกอ จึงได้เสนอโครงการทดลองนี้ในปี พ.ศ. 2560-2562 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตต้นพันธุ์มะละกอพันธุ์ดีของกรมวิชาการเกษตรด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำสู่การผลิตมะละกอพันธุ์ดีในเชิงการค้า ด้วยเทคนิควิธีการ 2 แบบ คือ 1.) เตรียมเนื้อเยื่อจากตาข้างในสภาพแปลง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2560-2561 โดยเตรียมชิ้นส่วนพืชจากตาข้างของต้นพันธุ์ดีสมบูรณ์เพศในสภาพแปลงปลูกที่ให้ผลผลิตแล้ว ตัดยอดมะละกอสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้แตกตาข้าง นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมา ฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. ต่อลิตร นาน 2 เดือน พบว่า พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ จำนวน 100, 200 และ 50 ยอดตามลำดับ แต่เกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในระบบท่อลำเลียง ส่งผลให้มะละกอทั้ง 3 พันธุ์ เกิดความเสียหายทั้งหมด 2.) วิธีการปรับปรุงกระบวนการฟอกชิ้นส่วนพืชใหม่ ในปี พ.ศ. 2561-2562 เพื่อหาวิธีการที่จะให้ได้เนื้อเยื่อที่ปลอดจากเชื้อโรค โดยนำเมล็ดจากต้นพันธุ์คัดเลือกพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย มาเพาะและปลูกลงกระถางในสภาพโรงเรือน เมื่อมะละกอเริ่มออกดอก อายุประมาณ 6-7 เดือนหลังปลูก คัดต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้ต้นมะละกอแตกตาข้าง นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมา ตัดแต่งชิ้นส่วนที่ไม่ต้องการออก เหลือเฉพาะตาข้างมาเพาะเลี้ยงตามขั้นตอนเพิ่มปริมาณต้นบนอาหาร พบว่า มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 90 และพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 170 มก.ต่อลิตร เหมาะสำหรับมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ มีการตอบสนองต่ออาหารสูตรนี้ได้ดี เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 20 ขวด นำไปขยายเพิ่มปริมาณได้ 150 ขวด (ขวดละ 4 ยอด) และ

พันธุ์ปลุกไม้ลาย สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ แต่ยอดและใบมีอาการผิดปกติ ทำให้ไม่เจริญเติบโตและตายในที่สุด สำหรับพันธุ์แขนงไม่ได้ดำเนินการ

คำสำคัญ : มะละกอ, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

The experiment was conducted at Sisaket Horticultural Research Center. This study was to culture three papaya, namely 'Khaek Dam Sisaket', 'Pluk Mai Lai' and 'Khaek Nuan'. These plants were grown to compare their yield, quality and economic. The preliminary test was study before 1 year. The result trended to induce **papaya plant**. The project proposal was to present and conducted during 2017-2019. The result was to develop **tissue culture** technique. This method could offer mass propagation of good papaya varieties of the Department of Agriculture for commercial. The techniques were two methods. The first method, lateral buds were used during 2017-2018. Mature plants from field grown with good characteristics, fruit production and hermaphrodite were cut for one meter high from stem base to activate lateral buds. After budding, the first to fourth nodes from apical shoot were sterile and cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg NAA and 0.5 mg BA per liter. After two months, the shoots could develop and produced 100, 200 and 50 shoots of 'Khaek Dam Sisaket', 'Pluk Mai Lai' and 'Khaek Nuan', respectively. Bacterial contamination was found and damaged all three papaya shoots. The second method, the new sterile technique was developed for contamination free during 2018-2019. Seeds from selected 'Khaek Dam Sisaket' and 'Pluk Mai Lai' were sawed and potted

in the greenhouse. After 6-7 months planting, the papaya produced their flowers. Hermaphrodite plants were selected and cut for one meter high to activate lateral buds. The first to fourth nodes from apical shoot were cultured on MS medium. It found that the bacterial contamination reduced for 90 percent. The result showed that MS medium supplemented with 0.1 mg NAA, 0.5 mg BA, 80 mg adenine sulfate and 170 mg NaH_2PO_4 per liter was suitable for 'Khaek Dam Sisaket' grown. The shoots were produced three shoots per explant. Twenty bottles without contamination could be multiplied for 150 bottles (four shoots per bottle). 'Pluk Mai Lai' could produce shoots but the shoots and the leaves were abnormal. Finally, they could not grow and death. 'Khaek Nuan' did not operate.

Key words : Papaya, tissue culture

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของมะละกอที่ปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปลูกจากเมล็ดพันธุ์ดี

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอ 3 พันธุ์ คือ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล

อุปกรณ์

- 1) ต้นแม่พันธุ์ มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ พันธุ์ปลักไม้ลาย และพันธุ์แขกนวล
- 2) สารเคมีและเครื่องมือแก้ว
- 3) ตู้ย่ายเนื้อเยื่อ

- 4) ชั้นวางขวดทดลองติดตั้งระบบไฟฟ้า
- 5) หม้อน้ำความดัน
- 6) วัสดุการเกษตร เช่น กระจก ดินผสม ปุ๋ยเคมี

วิธีการ

ศึกษาขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอ 3 พันธุ์ คือ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล (ภาพผนวกที่ 1) โดยนำวิธีของรัชณี (2546) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอแขกดำท่าพระมาปรับใช้ ตั้งแต่การฟอกชิ้นส่วนพืช การชักนำให้เกิดยอด ชักนำให้เกิดราก จนได้ต้นสมบูรณ์ การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับมะละกอแต่ละพันธุ์

ขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

1.1) การเตรียมชิ้นส่วนพืช

1.1.1 คัดเลือกต้นมะละกอ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล ต้นสมบูรณ์เพศที่มีลักษณะดีเด่นและความทนทานโรคจุดวงแหวน ตัดตาข้างต้นกล้ามะละกอจากปลายยอดจนถึงข้อที่ 4 ตัดใบออก นำมาล้างด้วยน้ำผสมน้ำยาล้างจานและน้ำไหล หลังจากนั้นจุ่มแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาที แล้วฟอกด้วย Clorox 10% และ 5% ผสม Tween 20 1 - 2 หยด นาน 15 และ 5 นาทีตามลำดับ โดยเขย่าขวดเป็นครั้งคราว หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่ง 3 ครั้ง นำชิ้นส่วนที่ฟอกแล้ว ตัดแต่งส่วนที่ถูก Clorox ทำลายออก ตัดเป็นท่อนๆ แต่ละท่อนจะมีตาข้างที่อยู่บริเวณก้านใบ นำมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

1.1.2 นำเมล็ดมะละกอจากต้นที่พันธุ์ดี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย ฟอกฆ่าเชื้อและเพาะในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ต้นมะละกอแยกออกเป็น 2 ส่วน คือ ตัดส่วนปลายยอดนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เพื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัสและพัฒนาให้เป็นยอด ส่วนโคนต้นที่ถูกตัดปลายยอดออก เลี้ยงเพื่อให้แตกเป็นยอดอ่อน แล้วตัดยอดนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารและเหลือไว้ 1 ยอด นำออกปลูกอนุบาลในโรงเรือน

1.1.3 เมื่อต้นมะละกอพร้อมปลูก ย้ายลงปลูกในกระถางเพื่อรอตรวจสอบเพศ หากเป็นต้นสมบูรณ์เพศ จะนำยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใช้เป็นยอดพันธุ์ดีในการเสียบยอดบนต้นต่อที่ได้จากการเพาะเมล็ดต่อไป

1.2) ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS นำวิธีของ รัชณี (2546) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอแขกดำท่าพระมาปรับใช้ โดยนำชิ้นส่วนพืชที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ 170 มก. หลังจากครบ 1 เดือน ย้ายเนื้อเยื่อใส่สูตรเดิมอีกครั้ง แล้วย้ายใส่สูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. และ BA 0.1 มก. ต่อลิตร 1 ครั้ง หลังจากนั้นย้ายใส่สูตร MS ที่เติม kinetin 0.5 มก. ต่อลิตร เพื่อให้ต้นยึดตัวประมาณ 1 เดือน ย้ายใส่อาหารสูตรออกรากคือ MS ที่เติม IBA 2 มก. ต่อลิตร หลังจากนั้น 5 วัน ย้ายเนื้อเยื่อใส่ในอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนจนออกราก แล้วนำมาเลี้ยงในห้องที่ อุณหภูมิ 25 °C ได้รับแสง 1,500 ลักซ์ จำนวน 16 ชั่วโมงต่อวัน

การบันทึกข้อมูล

1. อัตราการตอบสนองของอาหารแต่ของมะละกอแต่ละพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. ปัญหาที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2559 สิ้นสุด กันยายน 2562 รวม 3 ปี
 สถานที่ดำเนินการ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ต.หนองไผ่ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ

การทดลองที่ 1.2 ศึกษากระบวนการออกปลูกในโรงเรือนอนุบาล

- ศึกษาปัจจัยที่ลดการสูญเสียในช่วงเวลา ศึกษาความสัมพันธ์ อุณหภูมิและฤดูที่ออกปลูก

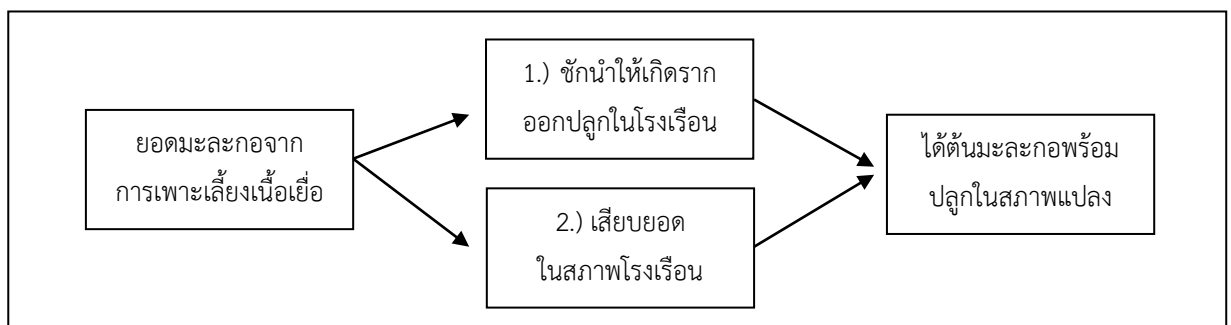
การบันทึกข้อมูล

1. ปัจจัยที่ลดการสูญเสียในช่วงเวลา ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิและฤดูที่ออกปลูก

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2559 สิ้นสุด กันยายน 2562 รวม 3 ปี
 สถานที่ดำเนินการ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ต.หนองไผ่ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ

การทดลองที่ 1.3 ศึกษาเปรียบเทียบแนวทางการผลิตต้นมะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเปลี่ยนยอดมะละกอพันธุ์ดีจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนต้นต่อมะละกอจากการเพาะเมล็ด



แผนภาพที่ 1 ขั้นตอนเปรียบเทียบแนวทางการผลิตต้นมะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการเปลี่ยนยอดมะละกอพันธุ์ดีจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนต้นต่อมะละกอจากการเพาะเมล็ด

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนก้านใบต่อความยาว 30 เซนติเมตร (วัดจากก้านใบที่หลุดถึงก้านใบสุดท้ายที่ติดกับลำต้น) ความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่ม และเส้นรอบวงโคนต้น วันออกดอก วันติดผล และวันเก็บเกี่ยว
2. บันทึกข้อมูลผลผลิต ได้แก่ จำนวนและรูปร่างผล (ความสม่ำเสมอของผล) สีเนื้อ น้ำหนักผล จำนวนผล/ต้น น้ำหนักผล/ต้น เปอร์เซ็นต์ช่องว่าง เปอร์เซ็นต์น้ำตาล ความกว้างช่วงหัวของผล ความกว้างช่วงท้ายของผล ความยาวของผล ความหนาของเนื้อ อัตราส่วนดอกสมบูรณ์เพศ : เพศเมีย
3. บันทึกข้อมูลอื่นๆ เช่น การเข้าทำลายของโรคแมลง ข้อมูลอุตุนิยมหาวิทยาลัยเป็นต้น
4. บันทึกข้อมูลประเมินการเกิดโรคใบจุดวงแหวน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2559 สิ้นสุด กันยายน 2562 รวม 3 ปี
สถานที่ดำเนินการ	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ต.หนองไผ่ อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ

ผลการวิจัย (Results) และอภิปรายผล (Discussion)

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบผลผลิตและคุณภาพของมะละกอที่ปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปลูกจากเมล็ดพันธุ์ดี

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาและบันทึกขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอ 3 พันธุ์ คือ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล

ปี 2560 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เตรียมชิ้นส่วนพืชโดยนำตาข้างจากต้นพันธุ์ดีในสภาพแปลงปลูก เนื่องจากเป็นต้นที่มีลักษณะพันธุ์ดี ตรงตามพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตแล้ว และเป็นต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดมะละกอสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร เพื่อให้แตกตาข้าง นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมาของมะละกอทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล จำนวน 62, 61 และ 33 ชิ้น ตามลำดับ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. ต่อลิตร นาน 2 เดือน พบว่า พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ ปลักไม้ลาย และแขกนวล มีการเกิดยอด จำนวน 100, 200 และ 50 ยอด มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (ภาพที่ 1 ง) ส่งผลให้มะละกอทั้ง 3 พันธุ์ เกิดความเสียหายร้อยละ 100 ดังตารางที่ 1 การคัดเลือกต้นพันธุ์ดีในสภาพแปลงปลูก พบว่าชิ้นส่วนพืชจากต้นที่คัดเลือกไว้มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียสูง การเตรียมชิ้นส่วนมะละกอเพื่อนำมาใช้ในการเริ่มต้นขยายพันธุ์ ควรดูแลรักษาต้นแม่พันธุ์ให้ปลอดจากเชื้อโรคให้มากที่สุด เนื่องจากมะละกอที่เก็บมาจากแปลงปลูกมีแบคทีเรียแฝงจำนวนมาก และบางครั้งเป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตช้ากว่าจะแสดงอาการปนเปื้อนเชื้อ

แบบที่เรียกใช้เวลานานกว่า 3 เดือน จึงปรับวิธีการเตรียมต้นแม่พันธุ์ โดยนำเมล็ดมะละกอจากต้นที่คัดเลือก 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย ฟอกฆ่าเชื้อและเพาะในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ต้นมะละกอแยกออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนปลายยอดตัดนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เพื่อกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณยอด ส่วนโคนต้นที่ถูกตัดปลายยอดออก เลี้ยงเพื่อให้แตกเป็นยอดอ่อน แล้วตัดยอดนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารและเหลือไว้ 1 ยอดพบว่า วิธีนี้มีการปนเปื้อนเชื้อราบนเมล็ดที่เพาะบนอาหารและปนเชื้อแบคทีเรียบนยอดที่ตัดนำมาเลี้ยงบนอาหาร ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชไม่สามารถเจริญเติบโตต่อได้

ปี 2561 ได้ปรับวิธีการเตรียมชิ้นส่วนพืชจากต้นแม่พันธุ์ โดยการนำเมล็ดจากต้นพันธุ์คัดเลือก จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย มาเพาะและปลุกลงในสภาพโรงเรือน เมื่อมะละกอเริ่มออกดอก อายุประมาณ 6-7 เดือน คัดต้นสมบูรณ์เพศ ตัดยอดสูงจากโคนต้นประมาณ 1 เมตร (ภาพที่ 1 ก) เพื่อให้ต้นมะละกอแตกตาข้าง จากการเพาะมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษทั้งหมด 50 ต้น พบเป็นมะละกอต้นตัวเมีย จำนวน 20 ต้น ต้นสมบูรณ์เพศ (ต้นกะเทย) จำนวน 30 ต้น คิดเป็นสัดส่วนเพศเท่ากับ 2 ต่อ 3 มะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายทั้งหมด 50 ต้น พบมะละกอเป็นต้นตัวเมีย จำนวน 20 ต้น ต้นสมบูรณ์เพศ (ต้นกะเทย) จำนวน 30 ต้น คิดเป็นสัดส่วนเพศเท่ากับ 2 ต่อ 3 นำตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากปลายยอดลงมา เพาะเลี้ยงตามขั้นตอนเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. ต่อลิตร นาน 2 เดือน พบว่า มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 50 ซึ่งการเกิดยอดขนาดเล็กของมะละกอทั้ง 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น

การตอบสนองต่อสูตรอาหาร 1/2MS เติม BA 0.5 มก. ต่อลิตร ของมะละกอแต่ละพันธุ์ หลังเลี้ยงบนอาหาร นาน 2 เดือน พบว่า พันธุ์แขกดำศรีสะเกษ แตกยอด ร้อยละ 0.96 ยังไม่แตกยอด ร้อยละ 20.19 เกิดยอดขนาดเล็ก แต่ใบและยอดมีสีเหลือง สีน้ำตาลและตาย ร้อยละ 78.85 พันธุ์ปลักไม้ลาย เกิดยอดใหม่ ร้อยละ 57.11 เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น ยังไม่แตกยอดและเหลืองตาย ร้อยละ 42.80 ดังตารางที่ 2 และยังพบว่ามะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายมีการแตกยอดหนาแน่นกว่าพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ

ปี 2562 ได้นำยอดมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นแม่พันธุ์ในกระถางที่ปลุกในโรงเรือนจนกระทั่งออกดอกและเลือกชิ้นส่วนจากต้นสมบูรณ์เพศ จำนวน 14 ยอด และตาข้างข้อที่ 1-4 นับจากยอดลงมาตัดแต่งชิ้นส่วนที่ไม่ต้องการออกเหลือเฉพาะตาข้างมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 170 มก. ต่อลิตร นาน 2 เดือน พบว่า การใช้ส่วนยอดมะละกอมาเพาะเลี้ยง เกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 100 ส่วนการใช้ชิ้นส่วนตาข้างของมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 90 แต่ยังมีเชื้อแบคทีเรียแฝงอยู่ และพบว่า พันธุ์แขกดำศรีสะเกษมีการตอบสนองต่ออาหารสูตรนี้ได้ดี (ภาพที่ 1 ข) สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ ซึ่งสอดคล้องกับ รัชณี (2546) พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอแขกดำทำพระด้วยอาหารสูตร MS สามารถเพิ่มปริมาณต้นมะละกอได้มากที่สุด และจากการเตรียมชิ้นส่วนพืชด้วยวิธีนี้เพาะเลี้ยงตามขั้นตอนไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 20 ขวด (20 ชิ้น) และสามารถนำไปขยายเพิ่มปริมาณได้ 150 ขวด

ขวดละ 4 ยอด ซึ่งมีแนวโน้มจะได้ต้นมะละกอ ส่วนมะละกอพันธุ์ปลักไม้ลาย พบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ร้อยละ 50 การใช้ส่วนของยอดประมาณเดือนที่ 3 จะพบอาการขึ้นส่วนพืชน้ำเฝ้ายออกมา (ภาพที่ 1 ค) และพบว่ามะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายไม่ตอบสนองต่ออาหารสูตรนี้ โดยยอดที่แตกใหม่จะมีลักษณะผิดปกติ ใบมีอาการฉ่ำน้ำ ทำให้ไม่เจริญเติบโต

การทดลองที่ 1.2 ศึกษากระบวนการออกปลูกในโรงเรือนอนุบาล ศึกษาปัจจัยที่ลดการสูญเสียในช่วงเวลาศึกษาความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิและฤดูที่ออกปลูก

- ไม่ได้ดำเนินการ เนื่องจากการทดลองนี้ต้องนำยอดมะละกอจากการทดลองที่ 1.1 ที่ผ่านการชักนำให้เกิดรากออกปลูกในโรงเรือนอนุบาล ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่วงการชักนำให้เกิดยอด ประสบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่ฝังในท่อน้ำท่ออาหาร ได้มีปรับปรุงวิธีการเตรียมต้นแม่พันธุ์ให้ปลอดโรคและลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียลงได้ แต่เมื่อสิ้นสุดโครงการในเดือนกันยายน 2562 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออยู่ในระหว่างการเพิ่มปริมาณต้นและยึดต้น ซึ่งมีแนวโน้มจะได้ต้นมะละกอ จึงทำให้ยังไม่สามารถดำเนินการในขั้นตอนการทดลองที่ 1.2 ศึกษากระบวนการออกปลูกในโรงเรือนอนุบาลต่อไปได้

การทดลองที่ 1.3 ศึกษาเปรียบเทียบแนวทางการผลิตต้นมะละกอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเปลี่ยนยอดมะละกอพันธุ์ดีจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนต้นต่อมะละกอจากการเพาะเมล็ด

- ไม่ได้ดำเนินการ เนื่องจากการทดลองนี้ต้องนำยอดมะละกอจากการทดลองที่ 1.1 มาเสียบยอดบนต้นต่อมะละกอจากการเพาะเมล็ดในสภาพโรงเรือน จึงทำให้ยังไม่สามารถดำเนินการในขั้นตอนการทดลองที่ 1.3 ได้

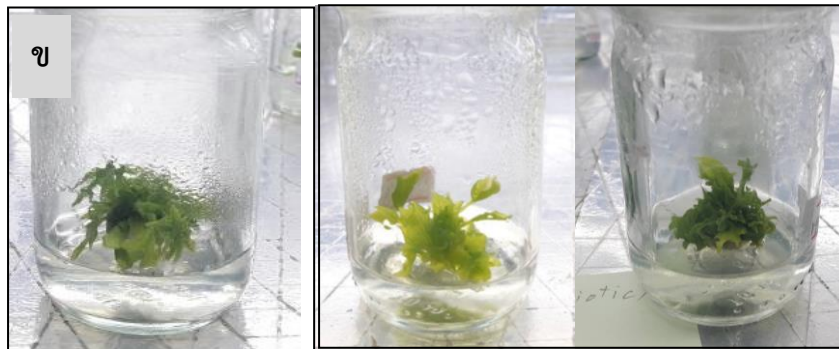
ตารางที่ 1 จำนวนยอดจากการเตรียมชิ้นส่วนมะละกอโดยการเก็บตาข้างจากต้นแม่พันธุ์ในสภาพแปลงปลูกเพื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. ต่อลิตร เมื่อเดือนกรกฎาคม 2560

พันธุ์	จำนวน (ขวด) (1 ชิ้นต่อขวด)	เวลาหลังเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช				ร้อยละ ความ เสียหาย	
		1 เดือน		2 เดือน			
		การแตกยอด (ยอด)	การปนเปื้อนเชื้อ แบคทีเรีย	การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย	จำนวนยอด (ยอด)		
		จำนวนยอด (ยอด)	คงเหลือ	จำนวนยอด (ยอด)	คงเหลือ		
แขกดำศรีสะเกษ	62	100	28	75	75	0	100
ปลักไม้ลาย	61	200	102	98	98	0	100
แขกนวล	33	50	30	20	20	0	100

ตารางที่ 2 การตอบสนองต่อสูตรอาหาร 1/2MS เติม BA 0.5 มก. ต่อลิตร ของมะละกอแต่ละพันธุ์ เมื่อเดือนพฤษภาคม 2561

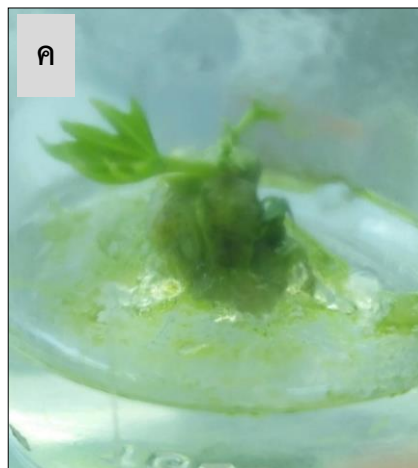
พันธุ์	พัฒนาการของยอด	ร้อยละ	ลักษณะอาการ/สีของใบหรือยอด	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้น
แขกดำศรีสะเกษ	แตกยอด	0.96	เขียว	3
	ยังไม่แตกยอด	20.19	เขียว	0
	เกิดยอดขนาดเล็ก	78.85	เหลือง/น้ำตาล/ ตาย	0
ปลักไม้ลาย	แตกยอด	57.11	เขียว	3
	ยังไม่แตกยอด	42.80	เหลือง/ตาย	0

หมายเหตุ : ยอดอ่อนมะละกอแสดงอาการใบเหลืองและซีด



ข แยกตำศรีสะเกษ

ค ปักชำ



ภาพที่ 1

ก. การอนุบาลต้นแม่พันธุ์มะละกอในโรงเรือนเพื่อคัดต้นสมบูรณ์เพศ

ข. ต้นมะละกอที่เลี้ยงบนอาหารสูตรเพิ่มปริมาณ (MS + NAA 0.1 มก. + BA 0.5 มก. + adenine sulfat 80 มก. + $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ 170 มก. ต่อลิตร)

- ค. การปนเปื้อนเชื้อของชิ้นส่วนยอดมะละกอหลังการเพาะเลี้ยง 3 เดือน
 ง. การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียจากชิ้นส่วนพืช หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

12

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ได้วิธีการเตรียมชิ้นส่วนพืชให้ปลอดโรคโดยการนำเมล็ดจากต้นพันธุ์คัดเลือกพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ และปลักไม้ลาย และได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณต้น สำหรับมะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ คือ อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก. BA 0.5 มก. adenine sulfate 80 มก. และ $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ 170 มก. ต่อลิตร เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น ซึ่งมีแนวโน้มจะได้ต้นมะละกอ

ข้อเสนอแนะ

มะละกอพันธุ์ปลักไม้ลายและพันธุ์แขกนวลควรศึกษาพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอด และควรศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการผลิตมะละกอจากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการค้าต่อไป

ปัญหาอุปสรรคและแนวทางแก้ไข

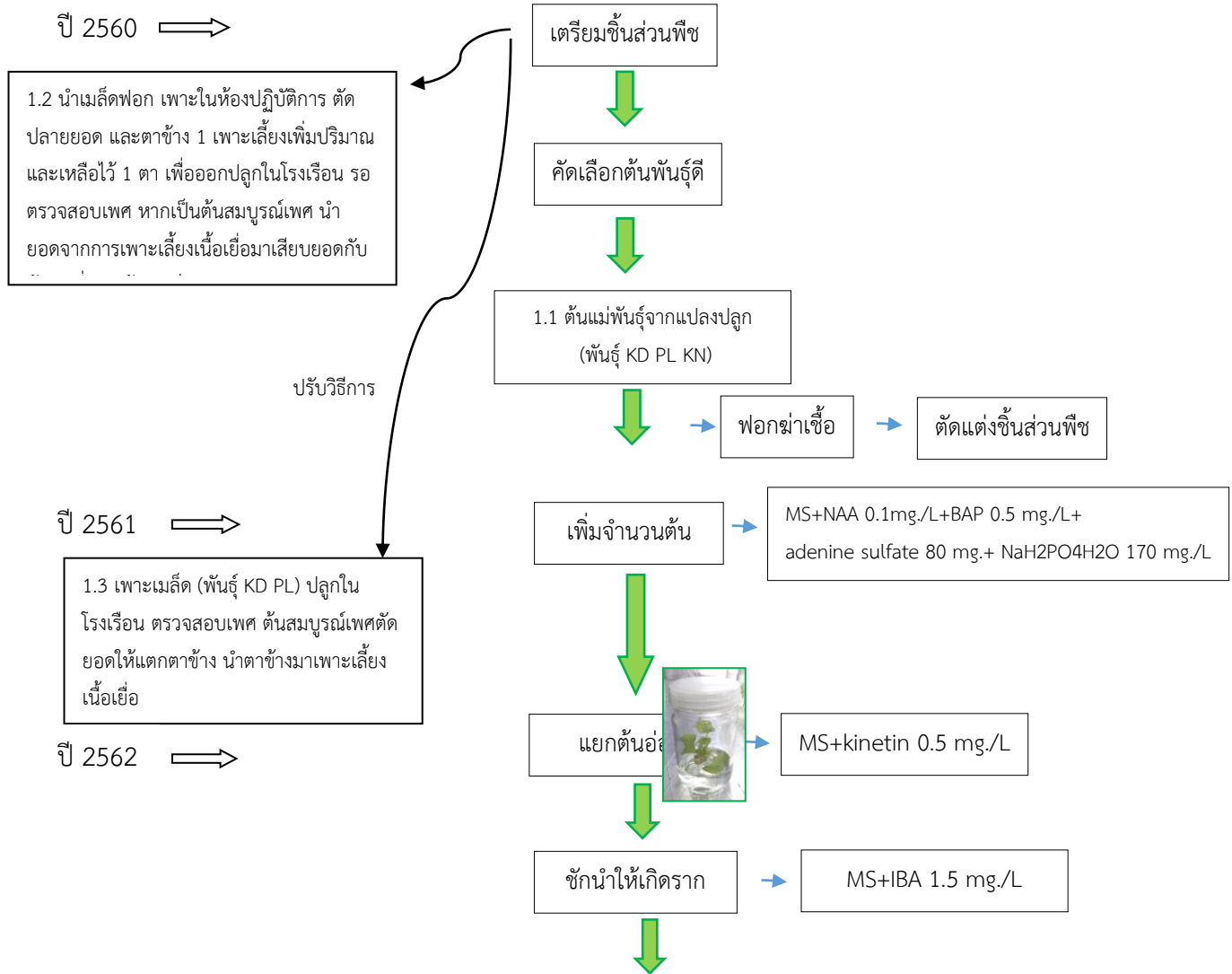
การศึกษายายพันธุ์มะละกอด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อโรคหลายชนิดโดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเนื้อเยื่อที่ปลูกในสภาพแปลงปลูกที่ไม่ได้รับการควบคุมหรือมีการทำความสะอาดไม่เพียงพอ จึงทำให้การทดลองไม่ประสบความสำเร็จ แนวทางแก้ไขการทดลองจึงได้ปรับเปลี่ยนมาปลูกต้นแม่พันธุ์ลงกระถางในสภาพโรงเรือน ทำให้การทดลองมีแนวโน้มจะได้ต้นมะละกอ

บรรณานุกรม

- นิรนาม. 2558. มะละกอ เรดเลดี้ (RED LADY) มะละกอลูกผสมเบอร์ 786 เป็นพืชแซมในสวนยางพารา. ระบบจัดการความรู้ สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง. สืบค้นจาก: http://km.rubber.co.th/index.php?option=com_content&view=article&id=1762:-red-lady-786-&catid=40:2011-05-11-03-00-30&Itemid=103 (ก.ค. 2558).
- รัชณี ศิริยาน วิไลวรรณ ประสาทศรี พุทธปราณี ดีเลิศ. 2546. มะละกอ. เอกสารวิชาการเรื่องเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. พิมพ์ครั้งที่ 1. ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. หน้า 116-120.

- รัชณี ศิริยาน วิไลวรรณ ประสาทศรี. 2546. ศึกษาวิธีการผลิตมะละกอแชกตำทำพระคุณภาพโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ผลงานฉบับเต็ม. กรมวิชาการเกษตร.
- สิริกุล วะสี. 2557. มะละกอพืชความหวังใหม่ของเกษตรกร. สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สวก.). 32 หน้า
- Rajeevan, M.S., and R.M. Pandey. 1983. PROPAGATION OF PAPAYA THROUGH TISSUE CULTURE. *Acta Hort* 131: In Vitro Culture, XXI IHC
- Reuveni, O., D.R. Shlesinger, and U. Lavi. 1990. In vitro clonal propagation of dioecious *Carica papaya* Plant Cell, Tissue and Organ Culture. *Jan* 13 1990, Volume 20, Issue 1, pp. 41-46.
- Saker, M.M., S.A. Bekheet, H.S. Taha, and A.A. Reda. 1999. In vitro Propagation of Papaya (*Carica papaya* L.)
- Unknown. 2009. Breeding the industry to grow bigger and better. Papaya Australia Annual Industry Report 2008.2009. Horticulture Australia by jlhd32, from <http://www.docstoc.com/docs/104460759/Papaya---Horticulture-Australia>

ภาคผนวก



อยู่ในระหว่างการเพิ่มปริมาณต้นและแยก
ต้นอ่อน มีแนวโน้มจะได้ต้นมะละกอ



ปลูกทดสอบในสภาพแปลงปลูก

ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอ