 doi: 10.14457/KU.res.2020.19

ผลของ BA และ NAA ต่อการชักนำยอดของมะละกอแขกดำเกษตรในสภาพปลอดเชื้อ
Effects of BA and NAA on *In vitro* Shoot Induction of *Carica papaya* cv. Khaek Dam Kaset

ศุภธิดา อับดุลลากาซิม[1*] สุนิสา อุยะตุง[1] และ เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์[1]
Supatida Abdullakasim[1*] Sunisa U-yatung[1] and Kriengsak Thaipong[1]

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของเนื้อเยื่อ วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนยอดของมะละกอ โดยนำตายอดและตาข้างของต้นกล้ามะละกออายุ 2 เดือน มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม N-6-benzyladenine (BA) 0, 0.5, 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 1-naphthyl acetic acid (NAA) 0, 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ผลการทดลองพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% เวลา 15 นาที พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์น้อยที่สุด โดยเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ถูกชักนำให้เกิดยอดต่อชิ้นส่วนสูงสุดคือ 5.50 ยอด แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรอื่น ๆ และชุดควบคุมที่มีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเพียง 0.33 ยอด เมื่อเปรียบเทียบชนิดของชิ้นส่วน ได้แก่ ตายอด ตาข้างข้อที่ 1 และข้อที่ 2 ต่ออัตราการเกิดยอดพบว่า เนื้อเยื่อส่วนตายอดมีค่าเฉลี่ยการเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุดคือ 2.75 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เนื้อเยื่อส่วนตาข้างข้อที่ 2 และข้อที่ 1 ที่มีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเพียง 1.20 ยอด และ 0.65 ยอด ตามลำดับ ดังนั้นการใช้ชิ้นส่วนตายอดเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมที่สุดในการชักนำการเพิ่มจำนวนยอดในมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร

คำสำคัญ: สูตร MS, ตายอด, ตาข้าง, เนื้อเยื่อ

Abstract

In vitro culture of *Carica papaya* cv. Khaek Dam Kaset has been conducted to investigate the appropriate types of tissue and plant growth regulator concentrations for adventitious shoot induction. Apical and lateral buds of 2-month-old papaya seedlings were cultured in MS medium supplemented with N-6-benzyladenine (BA) at 0, 0.5, 1 and 3 mg/L and 1-naphthyl acetic acid (NAA) at 0, 0.1 and 0.5 mg/L for 2 months with completely randomized design. Surface sterilization with 10% clorox for 15 min gave the best control of microbial contamination. In addition, maximum 5.5 adventitious shoots per explant were induced in MS medium supplemented with 1 mg/L BA, which was significantly different from other treatments (0.33 shoots in control). Comparing among apical, upper and lower lateral buds, maximum 2.75 adventitious shoots per explant were induced from the apical bud, while 1.20 and 0.65 shoots were derived from lower and upper lateral buds, respectively. The overall results suggested that apical bud explant cultured in the MS medium supplemented with 1 mg/L BA gave the best adventitious shoot induction for Khaek Dam Kaset papaya.

Key words: MS medium, apical bud, lateral bud, meristematic tissue

คำนำ

มะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร เป็นมะละกอเนื้อแดงปลอด GMOs พัฒนาโดยภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มีคุณภาพผลเหมาะสมทั้งการบริโภคผลดิบ ผลสุกและการแปรรูป การขยายพันธุ์มะละกอที่นิยมในปัจจุบันคือเพาะเมล็ด หลังจากปลูกลงแปลงแล้วเมื่อมะละกอออกดอกจึงทำการคัดต้นที่มีลักษณะดอกสมบูรณ์เพศหรือดอกกระเทยไว้เท่านั้น ในปัจจุบันการตรวจสอบเพศของมะละกอสามารถทำได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์หรือปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

[1] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[1] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Sean, Kasetsart University, Kamphaeng Sean Campus, Nakhon Pathom 73140

* Corresponding author: fagrsds@ku.ac.th

 doi: 10.14457/KU.res.2020.19

(Polymerase chain reaction, PCR) และใช้คู่ไพรเมอร์จำเพาะสำหรับบ่งชี้เพศมะละกอ เพื่อย่นระยะเวลาในการคัดเลือกต้นที่มีดอกสมบูรณ์เพศ จากนั้นสามารถใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนต้นกล้ามะละกอที่มีดอกสมบูรณ์เพศ

ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยทั่วไปขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย อาทิ วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อมะละกอและสารควบคุมการเจริญเติบโต ดังรายงานการใช้เนื้อเยื่อส่วนยอดของมะละกอพันธุ์ Rainbow ขนาดประมาณ 5 เซนติเมตร มาทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดย แช่ในสารละลายแอลกอฮอร์ 70% เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในสารคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นจึงล้างด้วยน้ำสะอาดที่ปลอดเชื้อ จำนวน 3 ครั้ง พบว่ามีประสิทธิภาพอย่างดีในการฆ่าเชื้อจากเนื้อเยื่อดังกล่าว (Caple and Cheah, 2016) นอกจากนี้มีรายงานการนำตายอดและตาข้างจากต้นกล้าของมะละกอต้นที่มีดอกสมบูรณ์เพศ พันธุ์ Meizhonghong มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 6-Benzyladenine (BA) 0.5 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำยอดให้เกิดจำนวนยอดใหม่ (5.3 หรือ 5.9 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ) สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เติม BA หรือสูตรที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (มีจำนวนยอดเท่ากับ 0 หรือ 3.2 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ) (Wu *et al*., 2012) และมีรายงานการนำตายอดและตาข้างจากต้นกล้าของต้นที่มีดอกสมบูรณ์เพศของมะละกอพันธุ์ Rainbow มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครส 4% พบว่าสามารถชักนำการเกิดยอดในชิ้นส่วนมะละกอได้จำนวนมาก โดยมีการผลิตยอดเพิ่มขึ้นประมาณ 400 เปอร์เซนต์ต่อเดือน (Caple and Cheah, 2016) ซึ่งหลังจากเพิ่มจำนวนยอดแล้วต้องมีการย้ายเนื้อเยื่อลงสูตรอาหารที่ชักนำการยืดของยอดโดยเติมสารจิบเบอเรลลินต่อไป จากการวิจัยต่าง ๆ พบว่ามะละกอแต่ละพันธุ์มีเทคนิควิธีการฆ่าเชื้อและการตอบสนองต่อปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตเชิงการค้า

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 การทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนมะละกอแขกดำเกษตร

เพาะเมล็ดมะละกอแขกดำเกษตรในกระบะเพาะ เมื่อต้นกล้าอายุ 2 เดือน (Figure 1a) คัดเลือกต้นกล้าดอกสมบูรณ์เพศ โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ด้วยคู่ไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับบ่งชี้เพศมะละกอในการตรวจสอบ (ภัทราภรณ์ และคณะ, 2559) จากนั้นตัดชิ้นส่วนยอดของต้นกล้า ขนาดประมาณ 5-6 เซนติเมตร แล้วริดใบทิ้ง (Figure 1b) นำมาล้างน้ำที่ผสมน้ำยาล้างจานเล็กน้อย แล้วล้างต่อด้วยแอลกอฮอร์ 70% นาน 5 นาที แล้วนำชิ้นส่วนมาฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยคลอร็อกซ์ 10% ผสม Tween-20 จำนวน 1-2 หยอด ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 10 15 และ 20 นาที โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 6 ซ้ำ เมื่อสิ้นสุดการฟอกฆ่าเชื้อนำชิ้นส่วนพืชเข้าตู้ย้ายเนื้อเยื่อ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วตัดชิ้นส่วนมะละกอเป็นท่อน ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร โดยแบ่งเนื้อเยื่อเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนยอด ตาข้างข้อที่ 1 และตาข้างข้อที่ 2 (Figure 1c) นำแต่ละชิ้นส่วนพืชเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 55 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน จากนั้น 1 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วน และการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (contamination)

การทดลองที่ 2 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและชนิดเนื้อเยื่อที่เหมาะสมสำหรับชักนำยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร

2.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

นำชิ้นส่วนมะละกอบริเวณตายอด ตาข้างข้อที่ 1 และตาข้างข้อที่ 2 จากส่วนยอดของต้นกล้ามะละกอ ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว วางบนอาหารสูตรต่าง ๆ (Table 1) เปลี่ยนอาหารทุก 1 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ทรีทเมนต์ 6 ซ้ำ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (2 เดือน) บันทึกจำนวนยอดใหม่ (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช)

2.2 การศึกษาชนิดของเนื้อเยื่อที่เหมาะสมกับการเพิ่มจำนวนยอด

หลังจากทราบผลการทดลองในข้อที่ 2.1 ใช้สูตรอาหารที่สามารถชักนำการเกิดยอดได้มากที่สุด มาศึกษาเปรียบเทียบส่วนต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อมะละกอที่เหมาะสมสำหรับการเกิดยอดใหม่ ได้แก่ 1) ตายอด 2) ตาข้างข้อที่ 1 นับจากยอด และ 3) ตาข้างข้อที่ 2 นับจากยอด ทำทรีทเมนต์ละ 20 ซ้ำ หลังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 2 เดือน (เปลี่ยนอาหารทุก ๆ 1 เดือน) บันทึกจำนวนยอดใหม่

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลจากการทดลองที่ 2.1 และ 2.2 วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติทางสถิติด้วยวิธี one-way Analysis of Variance (ANOVA) จากนั้นทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์ ด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ p-value ≤ 0.05

 doi: 10.14457/KU.res.2020.19

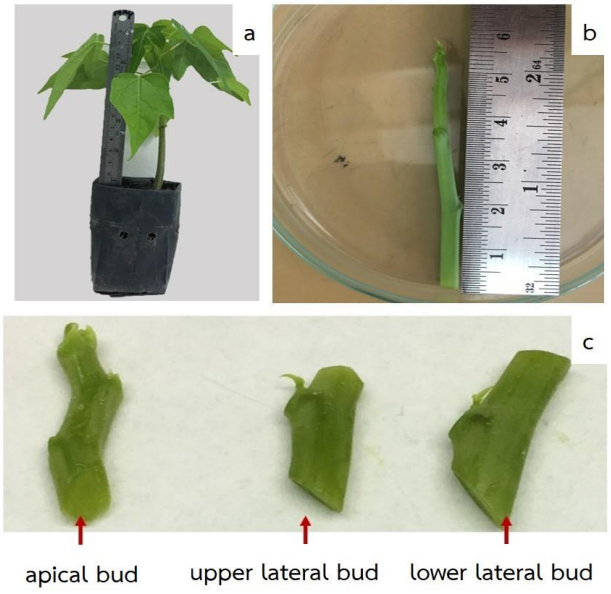

Figure 1 The two-month-old seedling of hermaphroditic *Carica papaya* cv. Khaek Dam Kaset.

Table 1 Medium formulation for adventitious shoot induction of *Carica papaya* cv. Khaek Dam Kaset.

	Treatments	Formulation
1.	MS (control)	Hormone free
2.	MS+BA0.5	BA 0.5 mg/L
3.	MS+BA0.5+NAA0.1	BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L
4.	MS+BA0.5+NAA0.5	BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L
5.	MS+BA1	BA 1 mg/L
6.	MS+BA1+NAA0.1	BA 1 mg/L + NAA 0.1 mg/L
7.	MS+BA1+NAA0.5	BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L
8.	MS+BA3	BA 3 mg/L
9.	MS+BA3+NAA0.1	BA 3 mg/L + NAA 0.1 mg/L
10.	MS+BA3+NAA0.5	BA 3 mg/L + NAA 0.5 mg/L

ผลและวิจารณ์

ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนมะละกอแขกดำเกษตร

จากการทดลองฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดมะละกอแขกดำเกษตร ด้วยคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 10% ที่ระยะเวลา 10 15 และ 20 นาที และย้ายลงอาหารสูตร MS เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่ฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 15 นาที มีการเจริญเติบโตได้ดี มีสีเขียวไม่ซีดและสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ เกิดการปนเปื้อนของเชื้อโรคต่ำที่สุด เท่ากับ 33% ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อนาน 10 นาที พบการปนเปื้อนของเชื้อโรคสูงที่สุด เท่ากับ 67% ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อด้วย 10% คลอรอกซ์ที่ระยะเวลา 20 นาที แม้พบการปนเปื้อนน้อยเพียง 16% แต่เนื้อเยื่อมีอาการเหลืองซีดเหลืองฉ่ำน้ำ และไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงเลือกใช้การฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 10% เป็นระยะเวลา 15 นาที ซึ่งการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมพบว่าสามารถควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ของเนื้อเยื่อมะละกอได้ดีและไม่ทำให้เนื้อเยื่อได้รับความเสียหาย (Litz and Conover, 1977)

ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตและชนิดเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการชักนำยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร

หลังจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำการเกิดยอดได้ดีที่สุดคือสูตร MS ที่เติม BA 1

 doi: 10.14457/KU.res.2020.19

มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีการเกิดยอดจำนวนเฉลี่ย 5.5 ยอดต่อหนึ่งชิ้นเนื้อเยื่อ รองลงมาคืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีการเกิดยอด 2.83, 1.83 และ 1.83 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อตามลำดับ (Table 2, Figure 2) ทั้งนี้การพัฒนาของยอดใหม่มีลักษณะเกิดเป็นกระจุกที่ส่วนปลายของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ (Figure 2) ส่วนอาหารสูตรอื่น ๆ มีการเกิดยอดน้อยเพียง ระหว่าง 0.30 - 0.83 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ผลการทดลองบ่งชี้ว่า BA ช่วยส่งเสริมการชักนำให้เกิดยอดใหม่ของมะละกอได้จำนวนมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจาก BA เป็นสารกลุ่มไซโตไคนินชนิดหนึ่ง มีคุณสมบัติชักนำการแบ่งเซลล์และส่งเสริมการเจริญเติบโตทางยอด (Werner et al., 2001) ดังมีรายงานการใช้สาร BA ความเข้มข้น 0.5 - 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำการเกิดยอดของมะละกอพันธุ์ Meizhonghong ได้ดีที่สุด โดยมีการเกิดยอด 5.3 - 5.9 ยอดต่อชิ้นส่วน (Wu *et al*., 2012) นอกจากนี้การใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซินโดยให้ความเข้มข้นของไซโตไคนินมีสัดส่วนสูงกว่าออกซินยังสามารถช่วยชักนำการเกิดยอดมะละกอได้ดี เช่น Litz and Conover (1977) รายงานว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BA (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) ความเข้มข้นสูงกว่า IBA (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เท่ากับ 10 เท่า สามารถชักนำการเกิดยอดของมะละกอได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่าการใช้ NAA ร่วมกับ BA ให้ผลในการชักนำยอดไม่ดีเท่าการใช้เฉพาะ BA อาจเนื่องมาจากสัดส่วนความเข้มข้นของฮอร์โมนทั้งสองชนิดยังไม่เหมาะสม นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในบางสูตรอาหาร ได้แก่ สูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร บริเวณโคนเนื้อเยื่อเกิดแคลลัสลักษณะคล้ายฟองน้ำสีขาวเกาะกันเป็นกลุ่ม (friable callus) ซึ่งในเวลาต่อมาพบว่าไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ (Figure 2; 1, 8 - 9) นอกจากนี้การใช้ BA ที่ความเข้มข้นสูง พบว่ากระตุ้นให้เกิดการสร้างแคลลัสปริมาณมาก โดยกลุ่มก้อนแคลลัสมีสีเขียวอ่อน สีเหลืองเข้ม หรือเป็นฟองน้ำสีขาว ซึ่งแคลลัสลักษณะเป็นก้อนสีเขียวอ่อนอาจมีแนวโน้มสามารถพัฒนาต่อไปได้ดี (Litz and Conover, 1977)

เมื่อพิจารณาชนิดของเนื้อเยื่อต่อปริมาณการเกิดยอดพบว่า ชิ้นส่วนบริเวณปลายยอดสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.75 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ ชิ้นส่วนตาข้างข้อที่ 2 มีค่าเฉลี่ย 1.20 ยอดต่อชิ้นส่วน และตาข้างข้อที่ 1 มีค่าเฉลี่ยการเกิดยอดน้อยที่สุดเท่ากับ 0.65 ยอดต่อชิ้นส่วน (Table 3) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการได้รับไซโตไคนินจากภายนอกอาจส่งผลช่วยเพิ่มระดับไซโตไคนินภายในต้นพืช (Werner et al., 2001) โดยเนื้อเยื่อบริเวณปลายยอดอาจมีการตอบสนองต่อปริมาณไซโตไคนินจากภายนอกได้ดีกว่าส่วนของตาข้าง ส่งผลทำให้มีเพิ่มจำนวนยอดต่อเนื้อเยื่อได้มากกว่า ซึ่งยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นยอดกระจุก (Figure 3)

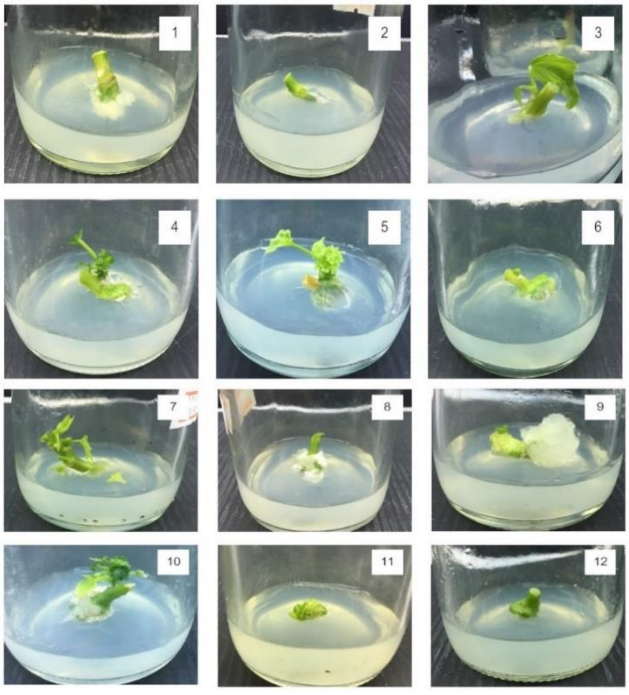

Figure 2 Growth development of the papaya's meristematic tissue (lateral buds) cultured on ten different media for two months. MS (control) (1-3), MS + BA0.5 (4), MS + BA1 (5), MS + BA3 (6), MS + BA0.5+NAA 0.1 (7), MS + BA0.5 + NAA0.5 (8), MS + BA1 + NAA0.1 (9), MS + BA1+NAA0.5 (10), MS + BA3 +NAA0.1 (11) and MS + BA3 + NAA0.5 (12).

 doi: 10.14457/KU.res.2020.19

Table 2 Adventitious shoot proliferation (shoots per explant) cultured on various concentrations of BA and NAA combinations for two months.

Formulation	Number of adventitious shoots per explant *
1. MS (control)	0.33[c]
2. MS+BA0.5	1.83[bc]
3. MS+BA0.5+NAA0.1	0.67[bc]
4. MS+BA0.5+NAA0.5	0.83[bc]
5. MS+BA1	5.50[a]
6. MS+BA1+NAA0.1	0.50[bc]
7. MS+BA1+NAA0.5	2.83[b]
8. MS+BA3	0.33[c]
9. MS+BA3+NAA0.1	0.67[bc]
10. MS+BA3+NAA0.5	1.83[bc]

* Values are expressed by mean. The same letters in each column indicate non-significant difference of mean values at p-value ≤ 0.5, using DMRT method.

Table 3 Effect of three different types of meristematic tissue on adventitious shoot production per explant cultured on MS+BA1 for two months.

Type of meristematic tissue	Number of adventitious shoots per explant *
Shoot bud	2.75[a]
Upper lateral bud	0.65[b]
Lower lateral bud	1.20[b]

* Values are expressed by mean. The same letters in each column indicate non-significant difference of mean values at p-value ≤ 0.5, using DMRT method.

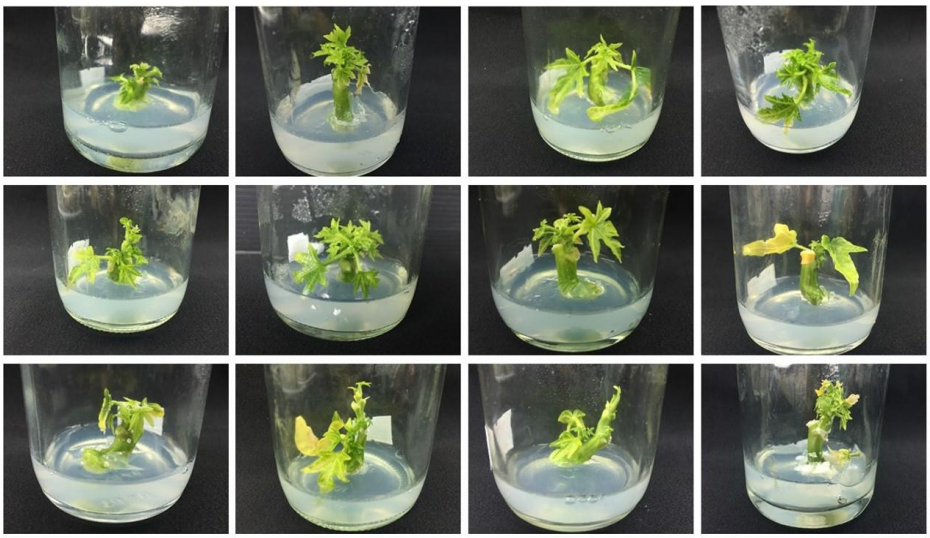

Figure 3 Multiple shoot induction of the papaya cultured on MS containing 1 mg/L BA for two months.

 doi: 10.14457/KU.res.2020.19

สรุป

1. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนยอดของมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรด้วยคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 10% เป็นระยะเวลา 15 นาที เหมาะสมที่สุดในการทดลองนี้

2. สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดมะละกอแขกดำเกษตรในสภาพปลอดเชื้อ คือ สูตรอาหาร MS ที่มีการเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. ชิ้นส่วนบริเวณตายอดสามารถชักนำการเกิดยอดได้จำนวนมากกว่าการใช้ชิ้นส่วนบริเวณตาข้าง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการกิจกรรมศูนย์กระจายพืชพันธุ์ดี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี พ.ศ. 2560-2561

เอกสารอ้างอิง

ภัทราภรณ์ ทรัพย์อุดมมาก, นงลักษณ์ คงศิริ, อลิษา ภู่ประเสริฐ, เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ และ ราตรี บุญเรืองรอด. 2559. การพัฒนาวิธีการระบุเพศมะละกอในระยะต้นกล้าต้นทุนต่ำ. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 34 (3): 33-38.

Caple, A.D. and K.T. Cheah. 2016. Micropropagation of hermaphrodite *Carica papaya* L. 'Rainbow' seedling via axillary bud pathway. Biotechnology BIO-12., Published by the College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR), University of Hawaii, USA.

Litz, R.E. and R.A. Conover. 1977. Tissue culture propagation of papaya. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 90: 245-246.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473–497.

Werner, T., V. Motyka, M. Strnad and T. Schmülling. 2001. Regulation of plant growth by cytokinin. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98(18): 10487–10492.

Wu, K., S. Zeng, Z. Chen and J. Duan. 2012. *In vitro* mass propagation of hermaphroditic *Carica papaya* cv. Meizhonghong. Pakistan Journal of Botany 44: 1669-1676.