รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2558

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในยางพาราโดยใช้สารคอลชิซีนในหลอดทดลอง

Induce Mutation in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. by Colchicine *In vitro* Treatment

สุภาวดี รามสูตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในยางพาราโดยใช้สารคอลชิซีนในหลอดทดลอง

ผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร

ปีงบประมาณ 2558

ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) เป็นพืชเศรษฐกิจหลักและมีการปลูกกระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย พันธุ์ที่นิยมปลูกได้แก่ RRIM 600 การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้สารโคลชิซินในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนของยางพารา 2 ชนิด ได้แก่ ปลายยอด และข้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เติม IAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ และโคลชิซิน 5 ระดับความเข้มข้นได้แก่ 0, 0.05, 0.01, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อินคูเบทบนเครื่องเขย่าเลี้ยงนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเดิม ร่วมด้วยผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่เติมสารละลายโคลชิซิน วางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นย้ายไปยังอาหารใหม่สูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่า โคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0. 2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 93.33, 86.67, 53.33, 60 และ 73.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแต่ละ ความเข้มข้นของโคลชิซินที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา 72 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง (76 และ 64 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วยสมการรีเกรสชั่น พบว่าสารละลายโคลชิซินที่สามารถชักนำให้ปลายยอดมีอัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) คือที่ความเข้มข้น 0.04 และ 0.12 เปอร์เซ็นต์ จุ่มแช่นาน 48 ชั่วโมง สำหรับชิ้นส่วนข้อให้อัตราการรอดชีวิตสูงในระดับโคลชิซินที่ลดลง และในแต่ละความเข้มข้นของโคลชิซินที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 72 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) ความเข้มข้น 0.009 และ 0.024 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา 48 ชั่วโมง (0.07 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์) และ 72 ชั่วโมง (0.005 และ 0.03 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตรวจสอบการสร้างยอดของชิ้นส่วนปลายยอดของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.01 ระยะเวลาการจุ่มแช่โคลชิซิน 48 ชั่วโมง มีการสร้างยอดสูงสุด 3.00 ± 0.82 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนสูงสุด 3.00 ± 0.71

ขนาดยอดเฉลี่ย 1.13 ± 0.51 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 2.75 ± 0.96 ใบต่อชิ้นส่วน สูงกว่าชุดควบคุม (2.80 เปอร์เซ็นต์, 2.80 ยอด, 0.80 เซนติเมตร และ 2.60 ใบ) ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อทำการตรวจสอบการสร้างยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ขนาดยอด และจำนวนใบเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า การสร้างยอดของชิ้นส่วนข้อที่ได้รับสารโคลชิซินทุกระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่ต่างกัน อยู่ในช่วง 0.50 - 1.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 0.33 - 0.67 ยอดต่อชิ้นส่วน ขนาดยอด 0.03 - 0.10 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 0.33 - 0.50 ใบต่อชิ้นส่วน น้อยกว่าชุดควบคุม (2.00 เปอร์เซ็นต์, 1.33 ยอด, 0.60 เซนติเมตร และ 1.67 ใบ) ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ลักษณะชิ้นส่วนปลายยอดและข้อที่ทรีตด้วยโคลชิซิน พบว่าอัตราการรอดชีวิตค่อยๆลดลงตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เลี้ยงร่วมกับโคลชิซินที่เพิ่มขึ้น และมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ เช่น ใบบิดม้วนและใบขาวซีดหรือบางชิ้นส่วนไม่มีการพัฒนา มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีน้ำยางสีขาว จึงไม่สามารถนำไปศึกษาตรวจสอบชุดโครโมโซมได้ และพบว่าชิ้นส่วนปลายยอดสามารถให้อัตราการรอดชีวิตและพัฒนาสร้างยอดได้ดีกว่าชิ้นส่วนข้อ

คำสำคัญ: โคลชิซิน, การกลายพันธุ์, ในหลอดทดลอง, ยางพารา

Abstract

The Title	Induce Mutation in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. by Colchicine *Invitro* Treatment
The Author	Assistant Professor Dr. Supawadee Ramasoot
Year	2015

Hevea brasiliensis Muell. Arg. is the main crops plants and cultivation general distribution all regions of Thailand. Popular variety rubber three was RRIM 600. The present study was to investigate the effects of chlochicine mutation induction of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. variety 'RRIM 600' *in vitro*. Shoot tips and nodes were used and cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with 1 mg/l IAA, 5 mg/l BA, 3 % sucrose and different concentration of chlochicine at 0, 0.05, 0.01, 0.1 and 0.2 %. All culture media were incubated on rotary shaker for 24, 48 and 72 hour and then were cultured on original formula the same culture media but added 0.2 % activated charcoal without cholchicine for 1 month. The culture were maintained at 25 ± 2 °C under a 14-h photoperiod with photosynthetic photon flux density of 3,000 lux. After culturing for 3 months found that concentration of chlochicine at 0, 0.01, 0.05, 0.1 and 0.2 % gave the highest percentage of survival rate at 93, 33, 86.67, 53.33, 60 and 73.33 respectively. All concentration of chlochicine at 24 hour gave the highest percentage of survival rate at 80, 72 hour (76 %) and 48 hour (64 %), respectively not significant difference ($p \leq 0.05$). Regression analysis found that concentration of chlochicine at 0.04 and 0.12 % for 48 hour gave half survival rate (LD_{50}) shoot tip induction. For microcutting explants gave the highest percentage of survival rate when decreasing. All concentration of chlochicine decrease. and concentration of chlochicines at 24 hour gave the highest percentage of survival rate at 72 for LD_{50} at 0.009 and 0.024 %, 48 hour (0.07 and 0.15 %) and 72 hour (0.05 and 0.03 %), respectively.

Morphological characteristic were to investigate shoot induction from shoot tip culture of rubber tree. The study found that concentration of chlochicine at 0.01 for 48 hour gave the highest percentage of shoot formation at 3.00 ± 0.82 % , average number of shoots at 3.00 ± 0.71 shoots/explant, average size of shoot at 1.13 ± 0.51 cm., average number of leaves at 2.75 ± 0.96 leave/explant than in the control. (2.80 %, 2.80 shoots, 0.80 cm. and 2.60 leaves), respectively significant difference ($p \leq 0.05$). For microcutting culture, Shoot formation derived from node

explant that were treated with concentration of chlochicines and different times 0.50-1.00 % gave averge number of shoot at 0.33-0.67 shoot/explant, average size of shoot at 0.03-0.10 cm. and average number of leave at 0.33-0.50 leave/explant less than the control (2.00 %, 1.33 shoots, 0.60 cm. and 1.67 leaves), respectively significant difference ($p \leq 0.05$). For morphological characteristic of shoot tip and node explants treated chlochicine, the survival rates were gradually decreasing followed by increasing concentrations and incubation times. The present study found that abnormal plant were leaf roll and pale white leaves. In addition, some explants were not development, dark brown to black of explants and running white latex. So we can not to detect the chromosome. However shoot tip explants gave the highest percentage of survival rate than node explants.

Keyword : Colchicine, Mutation, *In vitro*, *Hevea brasiliensis*

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการกองทุนสนับสนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ประสานงานและให้ข้อเสนอแนะในการวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้คำแนะนำและเสนอแนะในการวิจัย และขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต ที่ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษาโครงการวิจัย ให้คำปรึกษา แนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆแก่ข้าพเจ้าโดยตลอดจนรายงานการวิจัยเสร็จสมบูรณ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร

กุมภาพันธ์ 2559

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

บทคัดย่อ ..... **ก**

Abstract ..... **ค**

กิตติกรรมประกาศ ..... **จ**

สารบัญ ..... **ฉ**

สารบัญตาราง ..... **ช**

สารบัญภาพ ..... **ฌ**

สารบัญตารางภาคผนวก ..... **ฎ**

บทที่

1 บทนำ **1**

ความเป็นมาและความสำคัญ 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 5

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5

ขอบเขตของการวิจัย 5

นิยามศัพท์ 5

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง **8**

พื้นที่ปลูกยางพาราในประเทศไทย 8

ความสำคัญของยางพาราต่อเศรษฐกิจและสังคม 9

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของยางพารา 14

พันธุ์ยางพารา 19

โรคและแมลงศัตรูยางพารา 21

การใช้สารเคมีเพิ่มชุดโครโมโซม 27

การขยายพันธุ์ยางพาราโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 28

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้โคลชิซินในการปรับปรุงพันธุ์พืช 31

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

3 วิธีดำเนินการวิจัย.....**33**

วัสดุพืช.....33

อุปกรณ์.....33

วิธีการทดลอง.....34

4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย.....**36**

5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....**49**

บรรณานุกรม.....**51**

ภาคผนวก.....**56**

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	พื้นที่ปลูกยางของประเทศไทย พ.ศ. 2554-2556	9
2	ปริมาณการส่งออกยางแยกตามประเภท พ.ศ. 2553-2557	10
3	มูลค่าสินค้าเกษตรกรรม (กสิกรรม, ปศุสัตว์, ประมง) ส่งออกที่สำคัญ พ.ศ. 2556-2558	11
4	มูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์ยางของไทย พ.ศ. 2555-2557	13
5	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	37
6	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	39
7	ผลของระดับความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาจุ่มแช่ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600	42
8	ผลของระดับความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาจุ่มแช่ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600	46

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะลำต้นของยางพารา	15
2	ลักษณะใบของยางพารา	16
3	ลักษณะดอกของยางพารา	16
4	ลักษณะผลของยางพารา	17
5	ลักษณะเมล็ดของยางพารา	17
6	ลักษณะน้ำยางพารา	18
7	ลักษณะอาการของโรครากขาว	21
8	ลักษณะอาการของโรคราแป้ง	24
9	ลักษณะอาการของโรคใบจุดก้างปลา	25
10	ลักษณะอาการของโรคราสีชมพู	25
11	ลักษณะปลวกที่ทำลายต้นยาง	26
12	ลักษณะหนอนทรายที่ทำลายต้นยาง	26
13	สูตรโครงสร้างทางเคมีของโคลชิซิน	27
14	โครงสร้างลำต้น ใบ ดอกและหัวของ *Colchicum autumnale* L.	27
15	ลักษณะเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM 600	33
16	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง	37
17	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง	38
18	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง	38
19	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง	39
20	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

21 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 หลังจุ่มแช่ด้วย.....40
สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ทรีตด้วย.....43
สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น
5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน
(บาร์ = 1 ซม.)

23 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ทรีตด้วย.....47
สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น
5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน
(บาร์ = 1 ซม.)

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
1	องค์ประกอบของอาหารสูตร MS	58
2	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	64
3	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน	65
4	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน	66
5	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน	66
6	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนขนาดยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน	67
7	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนใบเฉลี่ยของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน	67
8	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน	68
9	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน	68

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

10 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนขนาดยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อยางพารา.....69
พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ
เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน
11 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนใบเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อยางพารา.....69
พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ
เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) เป็นไม้ยืนต้นสกุล Hevea อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE เป็นพืชยืนต้นขนาดใหญ่ มีอายุยืนยาวหลายสิบปี สูงได้ถึง 25 เมตร ต้นอ่อนเจริญเร็วมากทำให้เกิดช่วงปล้องยาว เมื่ออายุน้อยเปลือกสีเขียวแต่เมื่ออายุมากขึ้นสีของเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเทาอ่อน เทาดำ ประกอบด้วยส่วนต่างๆ คือ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด และน้ำยาง (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2543) ยางพารามีความสำคัญทางเศรษฐกิจในระดับโลก เป็นพืชให้น้ำยางสามารถผลิตน้ำยางคือ cis1,4-polyisoprene ได้ แม้ว่าในปัจจุบันมีพืชอย่างน้อย 2,000 ชนิดที่สามารถผลิตน้ำยางที่มี polyisoprene แต่มีเพียงน้ำยางที่ได้มาจากยางพาราเท่านั้นที่เป็นตัวหลักในอุตสาหกรรม เนื่องจากสามารถผลิตน้ำยางได้ปริมาณมากและมีคุณสมบัติทางการค้าที่ดีเยี่ยม (Priya *et al.*, 2006) ปัจจุบันประเทศไทยเป็นผู้นำการผลิตและส่งออกยางธรรมชาติมากที่สุดเป็นอันดับ 1 ของโลก (พสุธา และคณะ, 2554) ในปี 2554 ประเทศไทยมีพื้นที่ที่กรีดยางได้เป็นอันดับ 2 รองจากอินโดนีเซีย ในปี 2555 พื้นที่การปลูกยางในประเทศทั้งหมดประมาณ 19.2 ล้านไร่ ผลิตน้ำยางได้ประมาณ 3.6 ล้านตันต่อปี ยางพาราทำรายได้จากการส่งออกยางธรรมชาติให้ประเทศถึงปีละ 336,304 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) ในปี 2556 มีปริมาณการผลิตยาง 4.17 ล้านตัน และปริมาณการส่งออก 3.66 ล้านตัน (สถาบันวิจัยยาง, 2557) และคาดว่าแนวโน้มราคายางพาราในปี 2558 จะสูงกว่าปี 2557 เนื่องจากมาตรการแก้ปัญหาราคายางตกต่ำของภาครัฐที่มีต่อเนื่อง และการเพิ่มผลผลิตยางพาราไม่มากเหมือนในอดีต นอกจากนี้ความร่วมมือของภาคเอกชนและผู้ผลิตยางรายใหญ่ 3 ประเทศ ได้แก่ ไทย อินโดนีเซีย และมาเลเซีย ที่มีมาตรการการจำกัดการส่งออกยางไปตลาดโลก และเศรษฐกิจโลกที่คาดว่าจะขยายตัวดีขึ้น ทำให้ความต้องการใช้ยางของโลกเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ IRSG (International Rubber Study Group) ประมาณความต้องการใช้ยางในปี 2558 มีจำนวน 12.4 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจากปีก่อนร้อยละ 3.7 (กฤษณี, 2558)

พื้นที่ปลูกยางพาราในประเทศไทยประมาณ 16.7 ล้านไร่ ในจำนวนนี้พื้นที่ภาคใต้ปลูกยางพารามากที่สุด รองลงมาคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคเหนือ ตามลำดับ (สถาบันวิจัยยาง, 2553) และมีแนวโน้มในการขยายพื้นที่เพาะปลูกยางเพิ่มขึ้น เนื่องจากราคายางพาราที่เพิ่มสูงขึ้นซึ่งเป็นผลมาจากราคายางสังเคราะห์ และความต้องการในอุตสาหกรรมการผลิตสูงขึ้น (สถาบันวิจัยยาง, 2547)

ประเทศผู้ใช้ยางส่วนใหญ่ เช่น จีน ญี่ปุ่น มีการขยายฐานการผลิตในไทยมากขึ้น การใช้ยางพาราในอุตสาหกรรมภายในประเทศประกอบด้วย

1. ยางยานพาหนะ เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าการส่งออกสูงสุดของประเทศในปี 2557 มีมูลค่าการส่งออก 115,369.6 ล้านบาท ได้แก่ ล้อรถยนต์ ล้อเครื่องบิน ล้อรถจักรยายนต์ ล้อรถจักรยาน และล้อรถอื่นๆ (สถาบันวิจัยยาง, 2557)

2. ยางยืดและยางรัดของ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ยางธรรมชาติจำนวนมากในส่วนผสมยางยืดใช้ในอุตสาหกรรมตัดเย็บเสื้อผ้าต่างๆ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2543)

3. ถุงมือยางทางการแพทย์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าส่งออกรองจากยางยานพาหนะ ปี 2557 มีมูลค่าการส่งออก 36,197.3 ล้านบาท ถุงมือยางที่ผลิตในประเทศไทย ประกอบด้วย ถุงมือตรวจโรค และถุงมือผ่าตัด (สถาบันวิจัยยาง, 2557)

4. รองเท้าและอุปกรณ์กีฬา รองเท้ายางและพื้นรองเท้าที่ทำจากยางธรรมชาติรวมทั้งอุปกรณ์กีฬาบางชนิด (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2543)

5. อุปกรณ์และสื่อการเรียนการสอน โดยเฉพาะทางด้านการแพทย์ จะใช้วัสดุจำพวกยางและนำเข้าจากต่างประเทศ ยางพาราสามารถนำไปใช้ผลิตสื่อการสอน การฝึกปฏิบัติงานได้เป็นอย่างเช่นกันโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากยางฟองน้ำ เช่น โมเดล ร่างกายมนุษย์, สัตว์ แขนเทียมสำหรับฝึกทางการแพทย์ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2543)

ดังนั้นความต้องการยางพันธุ์ดีจึงเพิ่มขึ้น การขยายพันธุ์ยางนิยมใช้วิธีการติดตา โดยจะใช้ยางพันธุ์ดั้งเดิมเป็นต้นตอ และติดตาด้วยยางพันธุ์ดี ยางพันธุ์ดีที่ปลูกในประเทศไทยประมาณ 75 - 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นพันธุ์ RRIM 600 ซึ่งมีผลผลิตน้ำยางสูงและสามารถปรับตัวได้ดีในเกือบทุกพื้นที่ (สถาบันวิจัยยาง, 2547) เหมาะแก่การนำมาขยายพันธุ์และส่งเสริมการปลูก แต่มีความอ่อนแอต่อโรค เกษตรกรจำเป็นต้องดูแลรักษาให้มีอายุอย่างน้อย 25 - 30 ปี จึงเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ที่เกษตรกรจะต้องประสบปัญหาเรื่องโรคระบาดในระยะใดระยะหนึ่งของการทำสวนยาง โรคยางพาราที่พบในประเทศไทยเกิดขึ้นได้ทุกระยะการเจริญเติบโตและทุกส่วนของต้นยาง ซึ่งสามารถจำแนกตามส่วนต่างๆของต้นยางที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย ได้แก่ โรคใบ โรคกิ่งก้าน โรคลำต้น และโรคราก (สถาบันวิจัยยาง, 2549) ตัวอย่างเช่น โรคใบร่วงไฟทอปโทราที่เกิดจากเชื้อไฟทอปโทรา (*Phytophthora palmivora*) โรคราแป้งเกิดจากเชื้อออยเดียม (*Oidium heveae*) และโรครากขาวที่เกิดจากเชื้อ *Rigidoporus lignosus* (สถาบันวิจัยยาง, 2553) ส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ยางลดลง และในอนาคตหากเกิดการระบาดของโรคดังกล่าว อาจควบคุมได้ยากทำให้ต้นยางชะงักการเจริญเติบโตผลผลิตลดลงหรืออาจรุนแรงจนถึงยืนต้นตาย ยางพาราเป็นไม้ยืนต้นที่ใช้ระยะเวลานานในการออกดอกและการผสมเกสร ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ตามวิธีการมาตรฐานจึงต้องใช้เวลานาน

รวมทั้งใช้แรงงานจำนวนมาก การคัดเลือกพันธุ์ยางพาราจะต้องผสมข้ามหลายชั่วรุ่นและต้องศึกษาในแปลงปลูกหลายปี

ปัจจุบันมีวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพหลายด้านเข้ามาเสริมเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว เช่น เทคนิคไมโครคัดติ้ง (ปัทมาและภัทราวุฒิ, 2534) วิธีนี้คาดว่าสามารถผลิตต้นยางที่ปราศจากต้นตอให้ผลิตน้ำยางสูงกว่าวิธีการขยายพันธุ์แบบเดิม เทคนิคการเพาะเลี้ยงอับเกสร (Chen, 1984) การเพาะเลี้ยงเปลือกหุ้มเมล็ดอ่อน (Te-chato and Chartikul, 1993) การเพาะเลี้ยงเซลล์ร่วมกับสารพิษจากเชื้อ *Phytophthora* spp. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์เซลล์ที่ต้านทานต่อโรคใบร่วง (Te-chato *et al.*, 1995) การขยายพันธุ์ยางพาราโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้จากส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นเพื่อให้เจริญเป็นพืชต้นใหม่ กระบวนการสร้างพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมี 2 กระบวนการ คือ ออกาโนเจนิซีสและเอ็มบริโอเจนิซีส ซึ่งทั้งสองกระบวนการนี้พืชต้นใหม่ที่ได้อาจเกิดขึ้นโดยตรงจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงหรือเกิดขึ้นโดยผ่านการสร้างแคลลัส ต่างกันตรงที่กระบวนการเอ็มบริโอเจนิซีสให้พืชต้นใหม่มีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอระยะต่าง ๆ เหมือนกับการสร้างเอ็มบริโอจากการผสมพันธุ์ ส่วนกระบวนการออกาโนเจนิซีสมีการสร้างยอดหรือรากหรือทั้งยอดและรากพร้อมกันแต่ไม่เชื่อมต่อกัน (Venkatachalam *et al.*, 2007) การขยายพันธุ์ยางพาราทำได้โดยวิธีอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ แต่ยางพาราเป็นพืชผสมข้าม การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศก่อให้เกิดการรวมตัวของยีนแบบสุ่ม ลูกผสมที่ได้จึงมีลักษณะแตกต่างไปจากพันธุ์เดิม ส่วนการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยวิธีการไมโครคัดติ้งและกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจนีซีสสามารถผลิตพืชที่ตรงตามสายพันธุ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยางพาราเริ่มครั้งแรกโดย Bouychou (1953) อ้างโดย Carron และคณะ (1989) มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้แคลลัสเป็นเครื่องมือในการศึกษาระบบการผลิตน้ำยางในระดับเซลล์ ต่อมา Chua (1966) อ้างโดย Carron และคณะ (1989) ทำการวางเลี้ยงชิ้นส่วนของใบเลี้ยง และลำต้นของต้นกล้ายางพาราบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) พบว่าความดันออสโมติกและความเป็นกรดด่างของอาหารมีผลต่อการชักนำการเจริญเติบโตของแคลลัส และอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสชักนำการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนได้ดีกว่าน้ำตาลกลูโคส แมนโนสหรือฟรุกโตส Paranjothy และ Ghandimathi (1974) อ้างโดย Chen (1984) ชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้ายางพารา พบว่าแคลลัสที่ชักนำจากบางชิ้นส่วนไม่สามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ เมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่ และแคลลัสที่ชักนำจากอับละอองเกสรสามารถเกิดเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส Wilson และ Street (1975) ชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของต้นกล้ายางพารา บนอาหารสูตร MS เติม 2,4 - dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นเวลา 4 - 5 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่ได้ประกอบด้วยเซลล์สีเหลืองอ่อนซึ่งเป็นเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์สีน้ำตาลซึ่งเป็นเซลล์ที่ตาย เรียกแคลลัสนี้ว่า O callus จากนั้นย้ายแคลลัสอายุ 21 วัน ไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรเดิม พบว่ามีเซลล์ขนาดเล็กพัฒนาออกมาจากแคลลัส และเมื่อนำเซลล์ที่ได้เหล่านี้กลับมาวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสามารถชักนำแคลลัสชนิดใหม่ที่ประกอบด้วยเซลล์สีเหลืองอ่อนมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

เรียกแคลลัสนี้ว่า R callus และเมื่อวางเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตรเดิมเซลล์บางเซลล์มีการแบ่งตัวเป็นกลุ่มก้อนคล้ายเอ็มบริออยด์ อย่างไรก็ตามไม่สามารถชักนำเอ็มบริออยด์เป็นพืชต้นใหม่ได้ วิธีการขยายพันธุ์พืชยืนต้นที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน คือ วิธีการไมโครคัตติ้ง เพราะสามารถเพิ่มจำนวนพืชต้นใหม่ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น และต้นที่ได้มีความสม่ำเสมอสูงให้ลักษณะที่ตรงตามพันธุ์ นอกจากใช้ในการเพิ่มปริมาณพืชต้นใหม่แล้วเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังสามารถผลิตพืชที่ปราศจากเชื้อไวรัสและการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมในหลอดทดลองเป็นต้น เทคนิคการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการไมโครคัตติ้งเป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ เนื่องจากสามารถใช้ชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นพืชได้หลายชิ้นส่วน เช่น ปลายยอด ข้อ ปล้อง และลำต้น (Paranjothy and Gandhimathi,1976; Senevirathne, 1991 and Sirisom and Te-chato, 2012) ความสำเร็จในการเกิดพืชต้นใหม่นั้นก็แตกต่างกันตามชิ้นส่วนของพืชที่ใช้ โดยปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการชักนำการเกิดยอดการยืดยาวของยอด และการชักนำให้เกิดการสร้างรากของยางพารา ได้แก่ ชิ้นส่วนพืช สารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเป็นต้น Te-chato และ Muangkaewngam (1992) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นกล้ายางพาราพันธุ์ GT1 และพันธุ์ PB5/51 ที่ได้จากการเพาะเมล็ด พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดของยางพาราพันธุ์ GT1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอด 95.69 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ย 2.99 ยอด โดยชิ้นส่วนข้อให้จำนวนยอดสูงกว่าชิ้นส่วนยอด มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3 - 4 ยอดต่อชิ้นส่วน

การปรับปรุงพันธุ์พืชสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การผลิตลูกผสมจากต้นพ่อแม่พันธุ์ดี (ครรชิต, 2541) การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการฉายรังสี (Irfag and Nawab, 2001) และการชักนำการกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมี เช่น โคลชิซิน ชักนำให้เพิ่มชุดโครโมโซม เรียกว่าการชักนำพืชให้เกิดพอลีพลอยด์ (polyploidy) (กนิษฐา, 2542) วิธีการเหล่านี้สามารถนำมาประยุกต์กับการปรับปรุงพันธุ์ยางพาราได้เช่นกัน การใช้สารก่อกลายพันธุ์โคลชิซินซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้าง spindle fiber (จรัสศรี, 2548) เพื่อเพิ่มชุดโครโมโซม โดยได้มีการทดลองใช้โคลชิซินในพืชหลายชนิด ไซนิยะและสมปอง (2555) ศึกษาพอลีพลอยด์ของต้นปาล์มน้ำมันทรีตด้วยโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน (0, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์) ในช่วงระยะเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.20 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลที่ดีที่สุดในการผลิตต้นกล้าเตตระพลอยด์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของต้นเตตระพลอยด์มีความหนาและใบสีเขียวเข้ม และมีดอก ขนาดของปากใบของต้นเตตระพลอยด์มีขนาดใหญ่ สำหรับในยางพารายังไม่มีรายงานการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีนี้มาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้เป็นการศึกษาการใช้สารโคลชิซินในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในหลอดทดลอง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน และระยะเวลาที่มีผลต่อการเพิ่มชุดโครโมโซมของยางพาราพันธุ์ RRIM 600

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าในหลอดทดลองเพื่อพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในอนาคต

1.2.3 เพื่อเป็นแนวทางขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในสภาพปลอดเชื้อ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 พัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ยางพาราพันธุ์ RRIM 600

1.3.2 ขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมยางพารา

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 นำมาจุ่มแช่ในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0, 0.05, 0.01, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.5 นิยามศัพท์

1. โคลชิซิน (Colchicine)

สารเคมีที่ใช้ในการชักนำให้เกิดพอลีพอยด์ในพืชส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม alkylating agents ตัวอย่างสารเคมีในกลุ่มนี้ คือ โคลชิซิน ซึ่งมีชื่อทางเคมีว่า Acetyltrimethylcolchicinic acid : (S)-N-(5,6,7,9-tetrahydro-1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxobenzo(a)heptalen-7-yl) acetamin มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 399.43 มีสูตรโครงสร้างคือ $C_{22}H_{25}NO_6$ (Matthew, 1998) โคลชิซินมีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอ่อนเก็บรักษาในที่มืดอุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียส ถึง -25 องศาเซลเซียส เป็นสารประกอบอัลคาลอยด์ สกัดได้จากเมล็ดและหัวของพืชพวก *Colchicum autumnale* L. เป็นสารที่เป็นพิษต่อร่างกาย โคลชิซินถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ประมาณปี ค.ศ. 1920 ซึ่งเป็นการค้นพบโดยบังเอิญ เมื่อสารละลายโคลชิซินสัมผัสกับเซลล์ที่กำลังแบ่งเซลล์ส่งผลต่อการยับยั้งการสร้างและพัฒนาเส้นใยสปินเดิล (Snyder, 2007)

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง แต่มีการปฏิบัติภายใต้สภาพที่ควบคุมเรื่องความสะอาดแบบปลอดเชื้อ อุณหภูมิ และแสง ด้วยการนำชิ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิต เช่น ลำต้น ยอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ และชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ (สุภาวดี, 2555)

3. การกลายพันธุ์ (Mutation)

การกลายพันธุ์ คือ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต อาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่เป็นลักษณะใหม่ๆ แตกต่างจากลักษณะเดิม ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต มีประโยชน์ในการช่วยเพิ่มความแปรปรวนในพืช ซึ่งเป็นการเพิ่มความสำเร็จในการคัดเลือกพืชให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ (นพพร, 2543)

4. ในหลอดทดลอง (*In vitro*)

การขยายพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคของการเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำส่วนที่เล็กมากของพืชอาจเป็นส่วนของเซลล์เนื้อเยื่อ อวัยวะ หรือเอ็มบริโอ มาเลี้ยงในหลอดแก้ว หรือภาชนะอื่นๆ ในสภาพปลอดเชื้อ (สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2557)

5. ความสามารถในการเกิดสัณฐานของพืช (Totipotency)

ความสามารถของเซลล์พืชที่พร้อมจะพัฒนากลับไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ใหม่ การเปลี่ยนกลับนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากมายเกี่ยวกับขบวนการต่างๆ ภายในพืช เช่น การเกิดสัณฐานจนเกิดเป็นใบ ลำต้น ราก ซึ่งเป็นลักษณะสุดท้ายที่ปรากฏขึ้น เริ่มต้นเซลล์จะมีการแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่อง และมีการยืดขยายขนาด มีการเปลี่ยนแปลงสภาพไปเรื่อยๆ ซึ่งเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนผลสุดท้ายจะออกมาเป็นอวัยวะซึ่งมีรูปร่างลักษณะที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากกระบวนการเปลี่ยนสภาพที่แตกต่างกัน (ศิวพงศ์, 2546)

6. การพัฒนาเป็นอวัยวะ (Organogenesis)

กระบวนการเกิดส่วนใดๆ ของต้นพืช (organ) เช่น ยอดหรือราก ซึ่งการเกิดยอดหรือรากนี้เกิดจากจุดกำเนิดอื่นๆ (adventitious origin) ไม่ใช่จาก shoot bud การที่ชิ้นส่วนพืชใดจะให้กำเนิดต้นพืชผ่านกระบวนการ organogenesis หรือ embryogenesis ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนิน และปัจจัยอื่นๆ เช่น อายุของชิ้นส่วน อาหาร และสภาพแวดล้อม บริเวณที่เกิดอวัยวะพืช (organ formation) คือชั้นของเซลล์รอบนอก 1 – 6 ชั้น เมื่อเกิดแคลลัสกลุ่มของเซลล์อาจมีทั้ง morphogenic callus คือ พวกที่สามารถจะพัฒนาต่อไปเป็นต้นพืชโดยผ่านกระบวนการ organogenesis และ embryogenesis บางส่วนของแคลลัสจะเป็น nonmorphogenic ซึ่งในที่สุดไม่สามารถเกิดเป็นส่วนของต้นพืชได้ ไม่ว่าจะเป็นรากหรือยอด (อารีย์, 2541)

7. การชักนำยอด (Shoot induction)

การชักนำยอดเป็นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอีกวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์โดยนำชิ้นส่วนพืช เช่น ปลายยอด ข้อ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบเพื่อชักให้เกิดยอด (บุญยืน, 2544)

8. ไมโครคัตติง (Microcutting)

การพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงเพื่อชักนำพืชต้นใหม่โดยตรงไม่ผ่านกระบวนการสร้างแคลลัสทำให้ได้พืชที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์ การพัฒนาวิธีดังกล่าวประกอบด้วยการเลือกชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสม โดยทั่วไปแล้วใช้ชิ้นส่วนที่มีจุดเจริญปลายยอดซึ่งเรียกว่า organized explants ร่วมกับสูตรอาหารที่เหมาะสมนับเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่นิยมกันมากในปัจจุบัน เพราะสามารถเพิ่มจำนวนพืชต้นใหม่ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง ได้แก่ ปลายยอด (shoot tip) ลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) ข้อ (node) ปล้อง (internode) (ปัทมา และภัทราวุฒิ, 2534)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พื้นที่ปลูกยางพาราในประเทศไทย

ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อน อยู่ระหว่างเส้นศูนย์สูตร มีส่วนเหนือสุดที่ละติจูด 20 องศา 27 ลิปดาเหนือ ในเขตอำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ส่วนใต้สุดที่ละติจูด 5 องศา 37 ลิปดาเหนือ ในเขตอำเภอเบตง จังหวัดยะลา ดังนั้น ภาคใต้และบางจังหวัดของภาคตะวันออกซึ่งเป็นเขตปลูกยางเดิม จึงมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการปลูกยาง ต่อมาได้มีการขยายพื้นที่ปลูกยางไปยังแหล่งปลูกยางใหม่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการปลูกยาง ได้แก่ สภาพภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิต่ำ การขาดความชื้น ลมแรง สภาพพื้นที่ดิน เช่น พื้นที่สูง ลาดชัน ความลึกของดิน โครงสร้าง เนื้อดิน การระบายน้ำและสมบัติทางเคมีของดินต่ำ แต่ดูเหมือนว่ายางพารามีคุณสมบัติที่สามารถปรับตัวเองให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆได้เป็นอย่างดี ในปี 2521 สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตรร่วมกับนิคมสร้างตนเอง กรมประชาสงเคราะห์ ได้ทดลองปลูกยางในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันฝนตกน้อยกว่าในภาคใต้ พบว่า ต้นยางเจริญเติบโตเป็นที่น่าพอใจ สามารถเปิดกรีดได้เมื่ออายุ 6 ปีครึ่งถึง 7 ปี และให้ผลผลิตเฉลี่ย 200 กิโลกรัมต่อไร่

นอกจากนี้ยังได้ทดสอบปลูกยางพาราในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ เปรียบเทียบกับภาคใต้ สรุปได้ว่า ต้นยางในภาคใต้เปิดกรีดได้เร็วกว่าต้นยางในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือประมาณ 6 เดือน โดยต้นยางที่ปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เปิดกรีดได้เมื่ออายุ 7 ปี ปัจจุบันนี้ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกยางพาราประมาณ 22 ล้านไร่ โดยภาคใต้มีพื้นที่ปลูกสูงสุด รองลงมาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามการค้นคว้าวิจัยจำเป็นต้องดำเนินการเพื่อเป็นข้อมูลในการจัดการสวนยางอย่างถูกต้อง เช่น ในการคัดเลือกพันธุ์ยางที่เหมาะสม เป็นต้น รวมถึงการจัดการดิน โดยการปลูกพืชคลุมดิน และใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อเพิ่มธาตุอาหารและช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดิน เพิ่มอินทรียวัตถุ ทำให้ดินโปร่ง มีการระบายน้ำดี และสามารถเก็บความชื้นในดิน ซึ่งจะมีผลทำให้เพิ่มศักยภาพการผลิตยาง (สถาบันวิจัยยาง, 2553)

ตารางที่ 1 พื้นที่ปลูกยางของประเทศไทย พ.ศ. 2554-2556

หน่วย : ไร่

พื้นที่ปลูก	ปี 2554	ปี 2555	ปี 2556
ภาคเหนือ	867,402	1,145,933	1,229,615
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	3,477,303	4,171,696	4,395,849
ภาคกลาง (ภาคตะวันออก)	2,209,644	2,615,885	2,613,771
ภาคใต้	11,906,882	14,024,835	13,937,479
รวมทั้งประเทศ	18,461,231	21,958,349	22,176,714

ที่มา : ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักเศรษฐกิจการเกษตร (2557)

2.2 ความสำคัญของยางพาราต่อเศรษฐกิจและสังคม

ยางพาราเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยอีกชนิดหนึ่ง พบว่ามีเกษตรกรตลอดจนผู้ที่ทำธุรกิจเกี่ยวข้องกับยางพาราประมาณ 1 ล้านครอบครัว จำนวนไม่น้อยกว่า 6 ล้านคน ประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งออกยางพาราและผลิตภัณฑ์ยางพาราเป็นอันดับ 1 ของโลก นับตั้งแต่ พ.ศ. 2534 เป็นต้นมา โดยใน พ.ศ. 2557 ประเทศไทยมีการผลิตยางพาราจำนวน 4,323,975 เมตริกตัน มีการส่งออกจำนวน 3,770,649 เมตริกตัน (ตารางที่ 2) ซึ่งสามารถทำรายได้เข้าประเทศได้ปีละกว่า 477,930.87 ล้านบาท แต่การส่งออกยางพาราส่วนใหญ่อยู่ในรูปวัตถุดิบแปรรูปขั้นต้น ซึ่งมีมูลค่าเพิ่มต่ำ เช่น ยางแผ่นรมควัน ยางแท่ง และน้ำยางข้น ทำให้มีผลต่อการสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศและการยกระดับรายได้ของเกษตรกรไม่มากเท่าที่ควร และหากเรื่องนี้ได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ก็จะส่งผลดีต่อประเทศและเกษตรกรชาวสวนยางพาราอย่างมหาศาล ดังนั้นยางพาราก็ยังคงเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความจำเป็นในการส่งเสริมอาชีพและมีโอกาสในการพัฒนาให้ดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 2 ปริมาณการส่งออกยางแยกตามประเภท พ.ศ. 2553-2557

หน่วย : เมตริกตัน

ปี	ยางแผ่นรมควัน	ยางแท่ง	น้ำยางข้น	ยางผสม	อื่นๆ	รวม
2553	719,442	1,106,412	556,050	427,661	56,879	2,866,447
2554	747,284	1,300,814	519,628	339,942	44,713	2,952,381
2555	642,241	1,318,417	554,862	565,229	40,583	3,121,332
2556	793,613	1,392,262	681,970	713,299	83,797	3,664,941
2557	715,354	1,574,605	674,919	744,739	61,032	3,770,649

ที่มา : สถาบันวิจัยยาง (2557)

ยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของภาคใต้และของประเทศไทยโดยเฉพาะน้ำยาง (latex) ซึ่งเป็นผลิตผลที่ได้จากท่อลำเลียงอาหารในส่วนเปลือกของต้นยางพารา สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการทำผลิตภัณฑ์ยางชนิดต่างๆ สำหรับใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ตั้งแต่อุตสาหกรรมเช่น การผลิตยางรถยนต์ ไปจนถึงอุปกรณ์ที่ใช้ในครัวเรือน น้ำยางที่ได้จากต้นยางพารามีคุณสมบัติบางอย่างที่ยางสังเคราะห์ (synthetic rubber) ไม่สามารถทำให้เหมือนได้ (สำนักงานพัฒนา การวิจัยการเกษตร, 2552) ดังนั้นยางพาราจึงมีความสำคัญต่อประเทศไทยด้านต่างๆ ดังนี้

2.2.1 ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

ยางพารามีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยใน 3 ด้าน คือ

1. การฟื้นฟูเศรษฐกิจของประเทศ เนื่องจากยางพาราเป็นพืชที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นจำนวนมาก โดยในปี พ.ศ. 2556 – 2558 มีมูลค่าการส่งออกยางธรรมชาติ สูงถึง 249,296 193,754 และ 115,104 ล้านบาท ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสินค้าเกษตรกรรมอื่นๆ มีมูลค่าการส่งออกมากเป็นอันดับหนึ่งของประเทศ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 มูลค่าสินค้าเกษตรกรรม (กสิกรรม, ปศุสัตว์, ประมง) ส่งออกที่สำคัญ พ.ศ. 2556-2558

มูลค่า : ล้านบาท

VALUE : MILLION BAHT

รายการสินค้า	2556/2013	2557/2014	2558/2015 (ม.ค.-ส.ค.)
1. ยางพารา	249,296.4	193,754.8	115,104.3
2. ข้าว	133,851.2	174,852.4	94,893.6
3. ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	98,344.6	114,638.0	82,281.4
4. ไก่แปรรูป	60,470.1	61,315.2	42,725.4
5. ผลไม้สด แช่เย็น แช่แข็งและแห้ง	32,012.7	40,725.7	30,664.8
6. กุ้งสด แช่เย็น แช่แข็ง	28,531.7	27,700.4	12,646.9
7. ปลาหมึกสด แช่เย็น แช่แข็ง	10,291.6	11,383.6	6,506.9
8. เนื้อปลาสด แช่เย็น แช่แข็ง	8,711.7	10,311.8	6,383.6
9. ผักและผลิตภัณฑ์	6,744.4	8,933.1	6,620.5
10. ไก่สดแช่เย็นแช่แข็ง	6,329.6	12,650.0	9,106.8

ที่มา : กรมศุลกากร (2557)

2. การกระจายรายได้ของเกษตรกรที่ประกอบอาชีพทำสวนยางพาราจำนวนมากกว่า 6 ล้านคนทั่วประเทศ

3. เกษตรกรมีรายได้ที่แน่นอนและมีจำนวนเพิ่มขึ้น ทำให้เกษตรกรชาวสวนยางพารามีรายได้จากการทำสวนยางพาราเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยางพารายังเป็นพืชที่ปลูกแล้วส่งผลให้มีรายได้สม่ำเสมอเกือบตลอดทั้งปี ราคาผันผวนไม่มากนักจึงสร้างรายได้ที่แน่นอนให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกยางมากกว่าปลูกพืชชนิดอื่นๆ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2552)

2.2.2 ความสำคัญทางสังคม

ยางพาราเป็นพืชที่ทำให้เกิดการสร้างงานและอาชีพในชนบทจึงสามารถช่วยลดและแก้ปัญหาการเคลื่อนย้ายของแรงงานจากชนบทสู่สังคมเมือง และส่งผลให้เกิดความเข้มแข็งของชุมชนให้ครอบครัวมีความอบอุ่นมากขึ้น (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2552)

2.2.3 การรักษาสภาพแวดล้อม

ยางพาราเป็นพืชที่ทีอายุมากกว่า 20 ปี มีพื้นที่ปลูกทั่วประเทศมากกว่า 12.3 ล้านไร่ กระจายอยู่ทุกจังหวัดในภาคใต้ ยางพาราจึงเป็นพืชทดแทนป่าไม้ที่มีจำนวนลดลง และเป็นการเพิ่มพื้นที่สีเขียวของประเทศให้มีมากขึ้น อีกทั้งภายในสวนยางพารายังมีพืชชนิดอื่นๆที่สามารถปลูกร่วมได้ จึงทำให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพมากขึ้น รวมทั้งเป็นที่อาศัยของสัตว์ต่างๆ ตามธรรมชาติ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2552)

2.2.4 อุตสาหกรรมไม้ยางพารา

อุตสาหกรรมไม้ยางพาราเป็นอุตสาหกรรมที่เป็นอนาคตของประเทศไทย เนื่องจากประเทศต่างๆเกือบทั่วโลกมีการปิดป่าทำให้เกิดการขาดแคลนไม้ในการบริโภค จึงส่งผลให้ไม้ยางพาราเป็นที่ต้องการมากขึ้น นอกจากจะทำรายได้ให้เกษตรกรชาวสวนยางทางหนึ่งแล้วยังทำให้เกิดรายได้เข้าประเทศมากขึ้นจากการส่งออกผลิตภัณฑ์จากไม้ยางพารา และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปีด้วย (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2552)

2.2.5 อุตสาหกรรมยางพารา

ผลผลิตของยางพารายังสามารถพัฒนาต่อไปในอนาคตได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ยางพาราหลายประเภทได้นำมาใช้ในชีวิตประจำวันของคนทั่วโลก เช่น ยางรถยนต์ และเครื่องมือแพทย์ เป็นต้น (ตารางที่ 4) หากมีการผลิตผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ เช่น เขื่อนยาง หรือใช้ยางพาราทำถนน ก็จะทำให้มีการใช้ยางพารามากขึ้นซึ่งจะทำให้ยางพารามีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นโอกาสในการพัฒนาของประเทศไทยในฐานะผู้ผลิตยางพารามากเป็นอันดับหนึ่งของโลกด้วย (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2552)

ตารางที่ 4 มูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์ยางของไทย พ.ศ. 2555-2557

หน่วย : ล้านบาท

ประเภทผลิตภัณฑ์	2555	2556	2557
ยางรีเครม	58.70	97.50	133.90
ยางวัลคาไนซ์อื่นๆ	116.50	113.70	95.90
ยางยืด	10,733.20	9,776.60	8,760.60
ยางปูพื้น/กระเบื้องติดผนัง	1,054.10	141.30	184.70
ท่อยาง	7,173.50	7,716.20	9,323.80
สายพาน	3,965.00	4,192.40	4,165.90
ยางยานพาหนะ	101,899.20	103,926.30	115,369.60
ยางในยานพาหนะ	3,045.60	3,128.90	3,445.40
ยางที่หล่อดอกใหม่	2,728.50	2,517.30	2,716.90
ถุงยางอนามัย	4,163.20	4,295.10	4,622.40
หัวนมเลี้ยงทารก	24.30	59.80	50.90
ถุงมือ	36,456.70	32,494.30	36,197.30
ผ้ายาง	531.00	497.50	602.40
ปะเก็น/ซีลยาง	2,749.00	2,916	3,120.20
ยางรัดของ	3,514.80	2,826.40	2,653.90
ยางลบ	56.00	59.70	50.60
ผลิตภัณฑ์ยางอื่นๆ	15,440.46	16,582.00	18,558.20
รวม	193,669.76	191,341.00	210,052.60
ยางคอมปาวด์	66,150.00	65,862.70	50,993.19
รวมทั้งหมด	259,819.76	257,203.70	261,045.79

ที่มา : กรมศุลกากร (2557)

2.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของยางพารา

ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) เป็นไม้ยืนต้นสกุล Hevea อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE เนื่องจากยางเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ และเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ จึงมีลักษณะต่างๆ คล้ายคลึงกับพืชยืนต้นที่มีใบเลี้ยงคู่ทั่วๆไป จะแตกต่างกันก็เฉพาะส่วนรายละเอียดปลีกย่อยซึ่งจะเป็นลักษณะประจำพันธุ์เท่านั้น ต้นยางพาราประกอบด้วยส่วนต่างๆ คือ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด น้ำยาง (พูนผล, 2542) ซึ่งแต่ละส่วนมีลักษณะดังนี้

2.3.1 ราก (Root)

เป็นระบบรากแก้ว (tap root system) คือ มีรากแก้ว (tap root) รากแขนง (lateral root) รากฝอย (fibrous root) รากแก้วยาวประมาณ 1.5-2.5 เมตร ทำหน้าที่ยึดลำต้นเป็นส่วนใหญ่ รากแขนงแตกออกจากรากแก้วแผ่ออกไปไกลรอบทรงพุ่มของต้นยาง ทำหน้าที่ยึดลำต้นและดูดซึมธาตุอาหารและน้ำ รากฝอยเป็นรากที่แตกออกจากรากแขนง แผ่กระจายทั่วไปบริเวณทรงพุ่ม อยู่หนาแน่นมากบริเวณผิวดิน ลึกจากผิวดินไม่เกิน 30 เซนติเมตร ทำหน้าที่ดูดซึมธาตุอาหารและน้ำไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของต้นยาง (พูนผล, 2542)

2.3.2 ลำต้น (Stem)

เป็นส่วนสำคัญเนื่องจากเป็นส่วนที่จะต้องกรีดเพื่อเอาน้ำยาง ต้นยางพาราเป็นไม้เนื้ออ่อน เนื้อไม้สีขาวปนเหลือง (ภาพที่ 1) ลำต้นของยางพาราประกอบด้วยส่วนสำคัญๆ 3 ส่วน คือ

1. เนื้อไม้ (wood) แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อไม้แข็ง (pith) และส่วนที่เป็นไม้เนื้ออ่อน (wood) ส่วนที่เป็นไม้เนื้อแข็งจะอยู่ด้านในกลางลำต้น โดยส่วนที่เป็นเนื้อไม้จะอยู่ถัดออกมา
2. เยื่อเจริญ (cambium) เป็นเยื่อบางๆ อยู่โดยรอบเนื้อไม้หรืออยู่ระหว่างเนื้อไม้กับเปลือกไม้ เยื่อเจริญจะแบ่งตัวตลอดเวลา ถ้าแบ่งตัวออกทางด้านนอกจะกลายเป็นเปลือกไม้ แต่ถ้าแบ่งตัวเข้าทางด้านในจะเป็นเนื้อไม้ เนื้อเยื่อเจริญมีหน้าที่สร้างความเจริญเติบโตให้กับต้นยาง
3. เปลือกไม้ (bark) อยู่ถัดจากเยื่อเจริญออกมาด้านนอกสุด เป็นส่วนที่มีความสำคัญมากเพราะท่อน้ำยางจะอยู่ในส่วนนี้ เปลือกยางพาราแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ
   3.1 เปลือกชั้นใน (soft bark zone) อยู่ติดกับเยื่อเจริญ เป็นส่วนของเนื้อเยื่อและท่อน้ำยางที่สร้างขึ้นมาใหม่ จึงมีจำนวนวงท่อน้ำยางหนาแน่นและสมบูรณ์ที่สุด เปลือกชั้นนี้จะมีความอ่อนนุ่มเนื่องจากไม่มี stone cell อยู่เลย ความหนาของเปลือกชั้นนี้ค่อนข้างบางหรือประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ของความหนาของเปลือกทั้งหมดเท่านั้น การกรีดยางถ้าจะให้ได้น้ำยางมากที่สุดต้องกรีดให้ตัดท่อน้ำยางที่อยู่ในเปลือกชั้นนี้ให้มากที่สุด ทั้งนี้ต้องไม่ถึงเยื่อเจริญ

3.2 เปลือกชั้นกลาง (hard bark zone) อยู่ถัดจากเปลือกชั้นในออกมาทางด้านนอกเป็นชั้นที่เยื่อเจริญสร้างขึ้นก่อน แล้วถูกดันออกมาด้านนอกหลังจากมีการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นมาแทนที่เปลือกชั้นนี้จะมี stone cell เกิดขึ้น ทำให้เปลือกยางแข็ง ท่อน้ำยางไม่สมบูรณ์และขาดเป็นช่วงๆ ท่อน้ำยางจึงมีน้อย แม้จะเป็นชั้นของเปลือกที่หนากว่าชั้นอื่น คือ มีความหนาประมาณ 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ของความหนาของเปลือกทั้งหมด

3.3 เปลือกชั้นนอก (cork) อยู่ด้านนอกสุด มีสีน้ำตาลตกกระประกอบด้วนเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ทำหน้าที่ห่อหุ้มป้องกันรักษาความชื้นให้แก่ส่วนของเปลือกที่อยู่ถัดเข้าไปข้างใน ส่วนนี้ไม่มีท่อน้ำยาง

การเจริญเติบโตของต้นยางในระยะแรกจะเจริญในทางสูงก่อน เมื่อเจริญในทางสูงได้ระยะหนึ่งแล้วจึงจะเจริญออกทางด้านข้าง ยางพาราที่มีอัตราการเจริญเติบโตปกติจะมีเส้นรอบวงของลำต้นขยายออกเพิ่มขึ้นปีละประมาณ 8 เซนติเมตร (วัดตรงบริเวณที่สูงจากพื้นดิน 150 เซนติเมตร) (พูนผล, 2542)

ภาพที่ 1 ลักษณะลำต้นของยางพารา

ที่มา : กรมวิชาการเกษตร (2549)

2.3.3 ใบ (Leaf)

ใบยางเป็นใบประกอบ (compound leaf) โดยทั่วไป 1 ก้านใบ (petiole) จะมีใบย่อย (leaf let) 3 ใบ แต่บางพันธุ์ ใบย่อยบางส่วน 1 ก้านใบจะมีใบย่อย 4-5 ใบ ใบมีสีเขียวเข้มเป็นมัน สีเขียวเข้มหรือเป็นมันมากน้อยเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับพันธุ์ (ภาพที่ 2)ใบมีหน้าที่หลักในการสังเคราะห์แสง หายใจและคายน้ำ ใบยางจะแตกออกมาเป็นชั้นๆ เรียกว่า ฉัตร (whorl) ระยะเวลาเริ่มแตกฉัตรจนถึงใบในฉัตรนั้นแก่เต็มที่ประมาณ 2-3 เดือน ปกติยางจะผลัดใบในฤดูแล้งทุกปี ยกเว้นยางเล็กที่ยังไม่ได้แตกกิ่งก้านสาขา หรือยางเล็กที่มีอายุไม่ถึง 3 ปี จะไม่ผลัดใบ ช่วงระยะเวลาที่ยางผลัดใบนับตั้งแต่ใบร่วงจนถึงใบใหม่แตกออกมาและแก่เต็มที่ประมาณ 2-3 เดือน (พูนผล, 2542)

ภาพที่ 2 ลักษณะใบของยางพารา

ที่มา : http://www live-rubber.com

2.3.4 ดอก (Flower)

ดอกยาง ทำหน้าที่ผสมพันธุ์ ดอกยางจะออกตามปลายกิ่งของยางหลังจากที่ต้นยางผลัดใบ โดยออกพร้อมๆ กับใบอ่อนที่แตกออกมาใหม่ ดอกมีลักษณะเป็นช่อแบบ Panicle หรือ Compound raceme แต่ละช่อมีหลายกิ่ง ซึ่งจะมีทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ในช่อเดียวกัน (ภาพที่ 3) โดยมีดอกตัวผู้มากกว่าดอกตัวเมีย ปกติยางจะออกดอกปีละ 2 ครั้ง โดยจะออกในราวเดือนกุมภาพันธุ์ถึงเดือนมิถุนายนครั้งหนึ่ง และจะออกในราวเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคมอีกครั้งหนึ่ง การออกดอกครั้งแรกเป็นการออกตามฤดูกาล ซึ่งจะได้ผลและเมล็ดมากกว่าการออกดอกครั้งที่ 2 (พูนผล, 2542)

ภาพที่ 3 ลักษณะดอกของยางพารา

ที่มา : http://botanykuszone1.weebly.com

2.3.5 ผล (Fruit)

ผลยางเกิดจากกการผสมเกสรของเกสรตัวผู้และตัวเมีย ยางพาราเป็นพืชที่มีการผสมแบบเปิด พันธุ์ไหนจะผสมกับพันธุ์ไหน หรือเกสรตัวผู้จากต้นใดจะไปผสมกับเกสรตัวเมียจากต้นใดก็ได้ เพราะมีโอกาสที่จะกลายพันธุ์ได้ง่าย ผลยางมีลักษณะเป็นพู โดยปกติจะมี 3 พู ในแต่ละพูจะมีเมล็ดอยู่ภายในผลอ่อนจะมีสีเขียว (ภาพที่ 4) ถ้าแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแข็ง ผลยางจะโตเต็มที่ใช้เวลาประมาณ 2 เดือนครึ่งถึง 3 เดือน เมื่อแก่จัดผลจะแตกและร่วงหล่นมาเอง (พูนผล, 2542)

ภาพที่ 4 ลักษณะผลของยางพารา

ที่มา : ปรีดา และวริยา (2557)

2.3.6 เมล็ด (Seed)

เมล็ดยางมีสีน้ำตาลลายขาวคล้ายสีของเมล็ดละหุ่ง มีขนาดยาวประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5-2.5 เซนติเมตร หนักประมาณ 3-6 กรัม (ภาพที่ 5) เมล็ดประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ เปลือกเมล็ด (seed Coat) เอ็นโดสเปอร์ม (endosperm) และต้นอ่อน (embryo) เปลือกจะทำหน้าที่ป้องกัน เอ็นโดสเปอร์ม และต้นอ่อนมิให้ได้รับอันตรายจากสภาพแวดล้อมต่างๆ เอ็นโดสเปอร์มทำหน้าที่สะสมอาหารสำหรับต้นอ่อนในระยะแรก ส่วนต้นอ่อนซึ่งประกอบด้วยใบเลี้ยง ปลายรากและยอดอ่อนนั้นจะทำหน้าที่เจริญเติบโตเป็นต้นยางต่อไป

เมล็ดยางเมื่อหล่นใหม่ๆ จะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงมากแต่เปอร์เซ็นต์ความงอกนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ววันละประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นในสภาพปกติเมล็ดยางจะรักษาความงอกไว้ได้ประมาณ 20 วันเท่านั้น ถ้าต้องการที่จะนำเมล็ดยางไปเพาะสำหรับใช้ประโยชน์ก็จะต้องเลือกหาแต่เมล็ดที่หล่นใหม่ๆและต้องรีบเพาะทันที (พูนผล, 2542)

ภาพที่ 5 ลักษณะเมล็ดของยางพารา

ที่มา : http://www.reothai.co.th

2.3.7 น้ำยาง (Latex)

น้ำยางเป็นของเหลวสีขาวถึงขาวปนเหลืองขุ่นข้น (ภาพที่ 6) อยู่ในท่อน้ำยางซึ่งเรียงตัวกันอยู่ในเปลือกของต้นยาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเปลือกด้านในซึ่งติดกับเยื่อเจริญ การจะเอาน้ำยางออกจากต้นจะต้องใช้มีดกรีดยางเพื่อตัดท่อน้ำยางให้ขาดออกจากกัน ในน้ำยางจะมีส่วนประกอบหลักที่สำคัญอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยางและส่วนที่ไม่ใช่ยาง ตามปกติในน้ำยางจะมีเนื้อยางแห้งประมาณ 25-45 เปอร์เซ็นต์ เนื้อยางแห้งนี้เองเป็นวัสดุมหัศจรรย์ที่มนุษย์นำไปใช้ประโยชน์ต่อการดำรงชีพ จนกลายมาเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับชีวิตประจำวันของสังคมมนุษย์ในปัจจุบัน

น้ำยางมีความหนาแน่น 0.98 มี pH ประมาณ 6.8 เมื่อตรวจดูในห้องปฏิบัติการจะพบว่ามีอนุภาคขนาดต่างๆ กันแขวนลอยอยู่ในของเหลว อนุภาคเหล่านี้จะมีประจุเป็นลบ ผลักกันอยู่ตลอดเวลา ทำให้อนุภาคเหล่านั้นแขวนลอยและคงสภาพเป็นน้ำยางอยู่ได้ จนกว่าจะมีสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่างๆ มารบกวนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งจะทำให้น้ำยางเสียเสถียรภาพและจับตัวกันเป็นก้อน น้ำยางประกอบด้วย

ปริมาณของแข็งทั้งหมด	22-48	เปอร์เซ็นต์
ปริมาณเนื้อยางแห้ง	20-45	เปอร์เซ็นต์
สารจำพวกโปรตีน	1.5	เปอร์เซ็นต์
สารพวกเรซิน	2.0	เปอร์เซ็นต์
คาร์โบไฮเดรต	1.0	เปอร์เซ็นต์
สารอนินทรีย์	0.5	เปอร์เซ็นต์

ในส่วนประกอบของน้ำยางสามารถแบ่งออกเป็นส่วนสำคัญได้ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเนื้อยางประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ไม่ใช่ยางประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ไม่ใช่เนื้อยางนี้ประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ และส่วนของลูตอยด์ (lutoid) และสารอื่นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (พูนผล, 2542)

ภาพที่ 6 ลักษณะน้ำยางพารา

ที่มา : http://taisabai.com

2.4 พันธุ์ยางพารา

พันธุ์ยาง เป็นเทคโนโลยีที่มีความสำคัญที่สุดในการปลูกสร้างสวนยาง ทั้งนี้เพราะผลตอบแทนที่ได้รับจากการประกอบอาชีพสวนยางจะมากหรือน้อยเพียงใดนั้น ขึ้นอยู่กับพันธุ์ยางที่นำไปปลูก ตามปกติพันธุ์ยางแต่ละพันธุ์จะตอบสนองต่อสภาพพื้นที่และสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกยางต่างๆ แตกต่างกัน ยางพันธุ์ดีนอกจากจะให้ผลผลิตน้ำยาง หรือเนื้อไม้สูง ควรพิจารณาลักษณะรองต่างๆ ที่สำคัญ เช่น การเจริญเติบโตดี ต้านทานโรค ลม ปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมต่างๆ และมีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับการแปรรูปทางอุตสาหกรรม

ขณะเดียวกันในปัจจุบัน มีการเพิ่มพื้นที่ปลูกยางจากแหล่งปลูกยางเดิมในภาคใต้และภาคตะวันออก ไปยังแหล่งปลูกยางใหม่ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และบางจังหวัดของภาคตะวันออก ซึ่งสภาพแวดล้อมของพื้นที่ปลูกเหล่านี้มีข้อจำกัดหลายประการ ทั้งในด้านความอุดมสมบูรณ์ต่ำของดิน ปริมาณและการกระจายตัวของฝนน้อย การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความชื้นของอากาศมาก และสภาพแวดล้อมอื่นๆ ที่ทำให้การปลูกยางในพื้นที่เหล่านี้มีระยะเวลาของการเปิดกรีดช้าลงและให้ผลผลิตน้ำยางต่ำกว่าในพื้นที่ปลูกยางเดิม ดังนั้นการที่จะได้รับผลผลิตคุ้มค่ากับการลงทุน ผู้ปลูกควรเลือกใช้พันธุ์ยางที่เหมาะสม ทั้งในด้านการควบคุมการระบาดของโรค การกำจัดวัชพืช ตลอดจนการเก็บเกี่ยวผลผลิตที่เหมาะสม (พูนผล, 2542)

2.4.1 การจำแนกพันธุ์ยางพารา

การจำแนกพันธุ์ยางพารามี 2 วิธี คือ การจำแนกพันธุ์ยางพาราโดยสายตาโดยมองจากลักษณะภายนอกที่ยางพาราแต่ละพันธุ์แสดงออกมาให้เห็น และการจำแนกพันธุ์ยางพาราทางวิทยาศาสตร์โดยการศึกษาและจัดทำลายพิมพ์ DNA แม้จะเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง แต่มีขั้นตอนการปฏิบัติที่ยุ่งยาก ต้องใช้เวลา เสียค่าใช้จ่ายมาก จึงนิยมใช้วิธีการจำแนกพันธุ์ยางพาราด้วยสายตามากกว่า เพราะเป็นวิธีที่ตรวจสอบได้ง่าย และตรวจสอบได้จำนวนมาก สะดวกรวดเร็ว สามารถบอกชนิดของพันธุ์ยางได้ทันที การเป็นนักจำแนกพันธุ์ยางที่ประสบผลสำเร็จได้นั้น จึงต้องอาศัยการสังเกต หมั่นฝึกฝนเพิ่มความชำนาญ และที่สำคัญต้องมีหัวศิลป์ด้วย (พรรณพิชญา, 2554)

2.4.2 การเลือกพันธุ์ยาง

ในการเลือกพันธุ์ยางปลูก มีข้อแนะนำ ดังนี้

1) เลือกพันธุ์ยางที่มีความต้านทานต่อโรคระบาดในท้องถิ่น
2) พิจารณาถึงลักษณะภูมิประเทศ เช่น พื้นที่ที่มีลมแรงให้เลือกพันธุ์ที่ต้านทานแรงลมได้ดี
3) เลือกพันธุ์ยางปลูกให้เหมาะกับสภาพความอุดมสมบูรณ์ของดิน
4) พันธุ์ยางที่ใช้ปลูก จะต้องเหมาะสมกับความลึกของหน้าดิน สภาพความลาดชันของพื้นที่ และระยะปลูก

2.4.3 พันธุ์ยางที่แนะนำให้ปลูก

สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร ได้จัดทำคำแนะนำพันธุ์ยางแก่เกษตรกรทุก ๆ 4 ปี โดยใช้ข้อมูลจากผลงานวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ยาง เพื่อแนะนำพันธุ์ยางที่ให้ผลผลิตน้ำยางสูงเป็นหลักตั้งแต่ปี 2504 เป็นต้นมา แต่เนื่องจากปัจจุบันไม้ยางพารามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมไม้ของประเทศ ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนจากผลผลิตเนื้อไม้เพิ่มขึ้น ดังนั้นคำแนะนำพันธุ์ยางฉบับใหม่ปี 2554 สถาบันวิจัยยางจึงได้เปลี่ยนแปลงคำแนะนำจากเดิมโดยแบ่งพันธุ์ยางแนะนำเป็น 3 กลุ่ม คือ พันธุ์ยางที่ให้ผลผลิตน้ำยางสูง พันธุ์ยางที่ให้ผลผลิตน้ำยางและเนื้อไม้สูง และพันธุ์ยางที่ให้ผลผลิตเนื้อไม้สูง เพื่อให้เกษตรกรเลือกพันธุ์ได้ตามวัตถุประสงค์ของการปลูก ดังนี้ (สถาบันวิจัยยาง, 2554)

กลุ่มที่1 พันธุ์ยางผลผลิตน้ำยางสูง ได้แก่ พันธุ์ RRIT 251, RRIT 226, BPM 24, RRIM 600 ข้อสังเกต ไม่ควรปลูกในพื้นที่ที่มีโรคใบร่วงไฟทอปโทรา และโรคเส้นดำ ระบาดอย่างรุนแรง

กลุ่มที่ 2 พันธุ์ยางผลผลิตน้ำยางและเนื้อไม้สูง ได้แก่ พันธุ์ PB 235, RRIC 110 ข้อสังเกต ยางพันธุ์นี้มีการเจริญเติบโตดีมาก เปิดกรีดได้เร็ว เนื่องจากทรงพุ่ม มีขนาดใหญ่ไม่ควรปลูกระยะระหว่างต้นน้อยกว่า 3 เมตร ข้อจำกัด ไม่แนะนำการกรีดถี่ที่มีวันกรีดติดต่อกัน เพราะต้นยางจะเกิดอาการเปลือกแห้ง

กลุ่มที่ 3 พันธุ์ยางผลผลิตเนื้อไม้สูง ได้แก่ พันธุ์ฉะเชิงเทรา 50, แอฟรอส 2037, BPM 1

2.4.4 พันธุ์ยางพารา RRIM 600 (Rubber Research Institute of Malaysia)

ใบมีรูปร่างป้อมปลายใบสีเขียวอมเหลือง ลักษณะฉัตรเป็นกรวย มีขนาดเล็ก ในระยะ 2 ปีแรกลำต้นตรง แต่เรียวเล็ก การแตกกิ่งช้า ลักษณะการแตกกิ่งเป็นมุมแหลม กิ่งที่แตกค่อนข้างยาว ทรงพุ่มขนาดปานกลางเป็นรูปพัด เริ่มผลัดใบเร็ว ในระยะก่อนเปิดกรีดและระหว่างกรีดการเจริญเติบโตปานกลางเปลือกเดิมบาง เปลือกงอกใหม่หนาปานกลาง ผลผลิตระยะแรกอยู่ในระดับปานกลาง แต่จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในปีต่อมา ให้ผลผลิตเนื้อยาง 10 ปีกรีดเฉลี่ย 289 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี มีจำนวนต้นเปลือกแห้งน้อย อ่อนแอต่อโรคใบร่วงที่เกิดจากเชื้อไฟทอปโทราและโรคเส้นดำ ต้านทานต่อโรคราแป้งและโรคใบจุดนูนในระดับปานกลาง อ่อนแอต่อโรคราสีชมพู ต้านทานลมระดับปานกลาง การปรับตัวและให้ผลผลิตได้ดีในเกือบทุกพื้นที่ ทนทานต่อการกรีดถี่ได้มากกว่าพันธุ์อื่นๆ (พูนผล, 2542)

2.5 โรคและแมลงศัตรูยางพารา

2.5.1 โรครากขาว (White root disease)

เชื้อราโรครากขาวสามารถเข้าทำลายรากยางพาราได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่อายุ1 ปีขึ้นไป ในระยะเริ่มแรกจะไม่เห็นลักษณะผิดปกติของต้นยางพาราส่วนที่อยู่เหนือพื้นดิน เมื่อส่วนรากถูกทำลายเสียหายจนไม่สามารถดูดน้ำและธาตุอาหารได้ จึงแสดงอาการใบเหลืองและใบร่วง สำหรับต้นยางเล็กที่เป็นโรค พุ่มใบทั้งหมดจะมีสีเหลืองผิดกติ ถ้าเป็นต้นยางใหญ่ พุ่มใบบางส่วนจะดูเสมือนว่าแก่จัดและเหลือง ซึ่งจะแตกต่างกับสีเขียวเข้มของพุ่มใบต้นยางที่สมบูรณ์อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 7)

สาเหตุของโรครากขาว เกิดจากเชื้อรา *Rigidoporus lignosus* (Klotzsch) imazeki

ภาพที่ 7 ลักษณะอาการของโรครากขาว

ที่มา : http://www.live-rubber.com

เมื่อระบบรากถูกทำลายมากขึ้น จะแสดงอาการให้เห็นที่ทรงพุ่ม ซึ่งเป็นระยะที่รุนแรงและไม่สามารถรักษาได้ บริเวณรากที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะปรากฏกลุ่มเส้นใยสีขาวเจริญแตกสาขาปกคลุม และเกาะติดแน่นกับผิวราก เมื่อเส้นใยอายุมากขึ้นจะกลายเป็นเส้นกลมนูนสีเหลืองซีดเนื้อไม้ของรากที่เป็นโรคในระยะแรกจะแข็งกระด้างเป็นสีน้ำตาลซีด ในระยะรุนแรงจะกลายเป็นสีครีม ถ้าอยู่ในที่ชื้นแฉะจะอ่อนนิ่ม ดอกเห็นมีลักษณะเป็นแผ่นครึ่งวงกลมแผ่นเดียวหรือซ้อนกันเป็นชั้นๆ ผิวด้านบนเป็นสีเหลืองส้ม โดยมีสีเข้มอ่อนเรียงสลับกันเป็นวง ผิวด้านล่างเป็นสีส้มแดงหรือสีน้ำตาล ขอบดอกเห็ดเป็นสีขาว (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.2 โรครากสีน้ำตาล (Brown root disease)

โรครากน้ำตาล มักพบกับต้นยางที่หักโค่น อาการของต้นยางที่เป็นโรครากน้ำตาล ถ้าสังเกตจากทรงพุ่มจะมีลักษณะเหมือนกับโรครากขาวและโรครากแดง

สาเหตุของโรครากน้ำตาล เกิดจากเชื้อรา *Phellinus noxius* (Comer) G.H. Cunn.

ลักษณะอาการของโรครากน้ำตาล รากที่ถูกทำลายจะปรากฏเส้นใยสีน้ำตาลปนเหลืองเป็นขุยเหมือนกำมะหยี่ ปกคลุมผิวราก และเกาะยึดดินทรายไว้ทำให้รากมีลักษณะขรุขระ เส้นใยเมื่อแก่จะเป็นแผ่นสีน้ำตาลดำ เนื้อไม้ที่เป็นโรคในระยะแรกจะเป็นสีน้ำตาลซีด ต่อมาจะปรากฏเส้นสีน้ำตาลเป็นเส้นเดี่ยวลายสลับฟันปลาอยู่ในเนื้อไม้ รากที่เป็นโรคมานาน เมื่อตัดตามขวางจะเห็นสายเส้นใยที่แทรกในเนื้อไม้มีลักษณะคล้ายรวงผึ้ง เนื้อไม้จะเบาและเห้ง ดอกเห็ดจะเป็นแผ่นหนาและแข็ง ลักษณะครึ่งวงกลมขนาดค่อนข้างเล็ก ผิวด้านบนเป็นรอยย่นเป็นวงสีน้ำตาลเข้ม ผิวด้านล่างเป็นสีเทา (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.3 โรครากแดง (Red root disease)

เชื้อราโรครากแดงมักพบระบาดในสวนยางที่มีตอและรากไม้ใหญ่ๆ ฝังลึกอยู่ในดิน เชื้อราเจริญเติบโตค่อนข้างช้า จึงมักพบกับต้นยางที่กรีดได้แล้วเป็นส่วนใหญ่

สาเหตุของโรครากแดง เกิดจากเชื้อรา *Ganoderma pseudoferreum* (Wakef) Over & Steinm

ลักษณะอาการของโรครากแดง ต้นยางที่ถูกเชื้อรากแดงเข้าทำลายจะแสดงอาการที่ทรงพุ่มเช่นเดียวกับโรครากขาว ส่วนรากที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะปกคลุมด้วยเส้นใยสีน้ำตาลแดง ซึ่งส่วนปลายของเส้นใยที่กำลังเจริญจะเป็นสีขาวครีม ลักษณะเส้นใยแก่จะจับกันเป็นแผ่นสีน้ำตาลแดงเป็นมันวาวเห็นได้ชัดเจนเมื่อ ล้างด้วยน้ำ รากมีลักษณะขรุขระ เนื่องจากมีก้อนดินและหินเกาะติดอยู่ เนื้อไม้ของรากที่เป็นโรคจะเป็นสีน้ำตาลซีดและกลายเป็นสีเนื้อในระยะต่อมา วงปีของเนื้อไม้จะหลุดแยกออกจากกันได้ง่าย ดอกเห็ดเป็นแผ่นแข็งด้านบนเป็นรอยย่นสีน้ำตาลแดงเข้ม ด้านล่างเป็นสีขี้เถ้า ขอบดอกเป็นสีขาวครีม (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.4 โรคตายยอด (Die Back)

สาเหตุการเกิดโรค เกิดจากเชื้อรา และเกิดจากปลูกในพื้นที่ที่สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหาร มีน้อยหรือมากเกินไป หรือมีสารพิษตกค้างในดิน หรือ ปลูกในสภาพที่เหมาะสมแก่การเกิดโรค

ลักษณะอาการของโรค กิ่งก้านหรือยอดแห้งตายจากปลายกิ่งหรือยอดเข้าหาส่วนโคนทีละน้อยน้อยแล้วลุกลามไปจนถึงโคนต้น ในที่สุดต้นยางจะยืนต้นตาย ถ้าอาการรุนแรงต้นยางจะแห้งตายตลอดทั้งต้น เปลือกล่อนออกจากเนื้อไม้ มีเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราสีดำหรือสีขาวเกิดขึ้นบริเวณเปลือกด้านใน นอกจากนี้มีแบคทีเรียและไส้เดือนฝอยอาศัยอยู่ทั่วไป ถ้าอาการไม่รุนแรงต้นยางมักแห้งหรือตายเฉพาะกิ่งยอด ส่วนของลำต้นหรือกิ่งก้านที่ยังไม่ตายจะแตกแขนงออกมาใหม่ (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.5 โรคเปลือกแห้ง

สาเหตุการเกิดโรค เกิดจากการกรีดเอาน้ำยางมากเกินไป ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณเปลือกที่ถูกกรีดมีธาตุอาหารมาหล่อเลี้ยงไม่เพียงพอ จนทำให้เปลือกยางบริเวณนั้นแห้งตาย

ลักษณะอาการของโรคที่เกิด

อาการระยะแรก สังเกตได้จากการที่ความเข้มข้นของน้ำยางจางลง หลังจากกรีดเปลือกยางจะแห้งเป็นจุดๆ อยู่ตามรอยกรีด ระยะต่อมาเปลือกที่ยังไม่ได้กรีดจะแตกแยกเป็นรอยและล่อนออก ถ้ากรีดต่อไปเปลือกยางจะแห้งสนิท ไม่มีน้ำยางไหลออกมา (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.6 โรคใบร่วงและฝักเน่าจากเชื้อไฟทอปโทรา (Phytophthora Leaf Fall and Pod Rot)

สาเหตุการเกิดโรค เกิดจากเชื้อรา

ลักษณะอาการของโรคที่เกิด ใบยางร่วงพร้อมก้านทั้งที่ยังมีสีเขียวสด มีรอยช้ำดำ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอนอยู่บริเวณก้านใบ กลางรอยช้ำมีหยดน้ำยางเกาะติดอยู่ เมื่อนำใบยางที่เป็นโรคมาสะบัดเบาๆ ใบย่อยจะหลุดจากก้านใบทันที ส่วนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ยังไม่ร่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแกมส้ม แล้วแห้งคาต้นก่อนที่จะร่วง ฝักยางที่ถูกทำลายเปลือกเป็นรอยช้ำฉ่ำน้ำ ต่อมาจะเน่าดำค้างอยู่บนต้นไม่แตกและไม่ร่วงหล่นตามธรรมชาติ กรณีที่เกิดกับต้นยางอ่อน เชื้อราจะเข้าทำลายบริเวณยอดอ่อนก่อนทำให้ยอดเน่า แล้วจึงลุกลามเข้าทำลายก้านใบและแผ่นใบทำให้ต้นยางยืนต้นตาย (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.7 โรคเส้นดำ (Black Stripe)

สาเหตุการเกิดโรค เกิดจากเชื้อรา

ลักษณะอาการของโรคที่เกิด บริเวณเหนือรอยกรีดในระยะแรกเปลือกจะเป็นรอยช้ำ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นรอยนูนสีดำหรือสีน้ำตาล ขยายขึ้นลงเป็นเส้นตามแนวยืนของลำต้น เมื่อเฉือนเปลือกออกดูจะพบรอยนูนสีดำนั้นเป็นลายเส้นดำบนเนื้อไม้ อาการขั้นรุนแรงทำให้เปลือกของหน้ากรีดบริเวณที่เป็นโรคปริ เน่า มีน้ำยางไหลตลอดเวลา จนเปลือกเน่าหลุดไปในที่สุด เปลือกงอกใหม่เสียหาย กรีดซ้ำไม่ได้ อายุการให้ผลผลิตลดลงเหลือ 8 – 16 ปี ถ้าการเข้าทำลายของเชื้อไม่รุนแรง เปลือกจะเป็นปุ่มปม (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.8 โรคราแป้ง หรือโรคใบที่เกิดจากเชื้อออยเดียม (Powdery mildew or Oidium Leaf Disease)

สาเหตุการเกิดโรค เกิดจากเชื้อรา

ลักษณะอาการของโรคที่เกิด ใบอ่อนปลายใบจะบิดงอ มีสีดำ ร่วงหล่นจากต้น เส้นใยสีขาวเทาใต้แผ่นใบ เมื่อเจริญต่อไปเห็นรอยแผลสีเหลืองซีด แล้วเปลี่ยนเป็นรอยไหม้สีน้ำตาล (ภาพที่ 8) ขนาดและรูปร่างของแผลไม่แน่นอน นอกจากนี้เชื้อยังเข้าทำลายที่ดอกยาง โดยเชื้อราปกคลุมดอกก่อนที่จะดำแล้วร่วง (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

ภาพที่ 8 ลักษณะอาการของโรคราแป้ง

ที่มา : สถาบันวิจัยยาง (2549)

2.5.9 โรคใบไหม้ลาตินอเมริกัน (South American Leaf Blight)

สาเหตุการเกิดโรค เกิดจากเชื้อรา

ลักษณะอาการของโรคที่เกิด เชื้อราเข้าทำลายใบยางหรือเนื้อเยื่อส่วนต่างๆในขณะที่ยังอ่อน เช่น ดอกยาง ฝัก กิ่งอ่อน ถ้าใบอ่อนอายุไม่เกิน 1 สัปดาห์ รอยแผลเป็นสีเทาดำ เห็นปุยสีเขียวมะกอกด้านใต้ใบ ใบยางม้วนและบิดย่นแล้วร่วง ในใบเพสลาด แผลจะลุกลามขึ้นด้านบนใบ ใบยางจะหดย่น เปลี่ยนเป็นสีม่วงและใบย่อยร่วง ในใบแก่พบกลุ่มสปอร์สีดำบริเวณขอบแผลด้านบนใบ ต่อมาเนื้อเยื่อตรงแผลจะหลุดเกิดเป็นช่องโหว่ตามรอยแผล (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

2.5.10 โรคใบจุดก้างปลา

สาเหตุการเกิดโรค เกิดจากเชื้อรา

ลักษณะอาการของโรคที่เกิด แผลบนใบมี 2 ลักษณะ เป็นจุดกลมทึบสีน้ำตาลดำ ขอบแผลสีเหลืองและแผลลายก้างปลา (ภาพที่ 9) ต่อมาใบจะร่วง สำหรับแผลบนกิ่งก้านเป็นรูปยาวรีตามความยาวของกิ่งก้าน กลางแผลจะช้ำต่อมากิ่งก้านจะแห้งตาย (สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร, 2549)

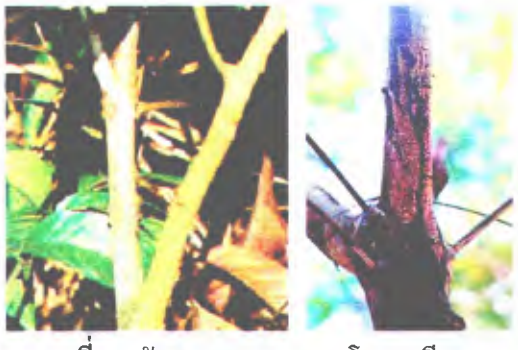
ภาพที่ 9 ลักษณะอาการของโรคใบจุดก้างปลา

ที่มา : สถาบันวิจัยยาง (2549)

2.5.11 โรคราสีชมพู (Pink Disease)

สาเหตุ เกิดจากเชื้อรา *Corticium salmonicolor* Berk. & Br.

ลักษณะอาการของโรคที่เกิด บริเวณที่ถูกทำลายจะเป็นรอยปริ มีน้ำยางไหลซึมเป็นทางยาว และมีเส้นใยสีขาว คล้ายใยแมงมุมปกคลุม (ภาพที่ 10) เมื่อเชื้อราเจริญลุกลามเข้าถึงเนื้อไม้จะเห็นผิวเปลือกเป็นแผ่นสีชมพู และมีกิ่งใหม่แตกออกบริเวณใต้รอยแผล (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

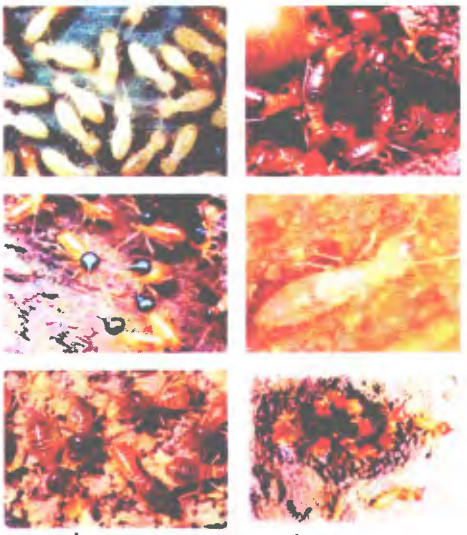


ภาพที่ 10 ลักษณะอาการของโรคราสีชมพู

ที่มา : สถาบันวิจัยยาง (2549)

2.5.12 ปลวก (Termites)

ลักษณะการทำลาย ปลวกมี 2 ชนิด คือ ชนิดที่กินเนื้อไม้ที่ตายแล้ว ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อต้นยาง และชนิดกินเนื้อไม้สด ซึ่งจะกัดกินรากและภายในลำต้นจนเป็นโพรง (ภาพที่ 11) ทำให้พุ่มใบยางมีสีเหลืองผิดปกติ ต้นยางเสียหายถึงตายได้ (สถาบันวิจัยยาง, 2549)



ภาพที่ 11 ลักษณะปลวกที่ทำลายต้นยาง

ที่มา : สถาบันวิจัยยาง (2549)

2.5.13 หนอนทราย (Grub of cockchafers)

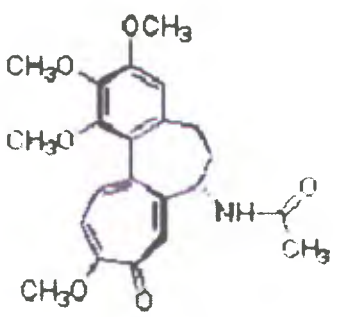
ลักษณะการทำลาย หนอนทรายเป็นตัวอ่อนของด้วงชนิดหนึ่ง รูปร่างเหมือนตัวซี (C) ขนาดลำตัวยาวประมาณ 3 – 5 เซนติเมตร สีขาว (ภาพที่ 12) หนอนทรายกัดกินรากยางจนรากไม่สามารถดูดหาอาหารเลี้ยงลำต้นได้ทำให้พุ่มใบยางมีสีเหลืองผิดปกติ ต้นยางตายเป็นหย่อมๆ พบมากในแปลงต้นกล้ายางที่ปลูกในดินทราย (สถาบันวิจัยยาง, 2549)

ภาพที่ 12 ลักษณะหนอนทรายที่ทำลายต้นยาง

ที่มา : สถาบันวิจัยยาง (2549)

2.6 การใช้สารเคมีเพิ่มชุดโครโมโซม

สารเคมีที่ใช้ในการชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์ในพืชส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม alkylating agents ตัวอย่างสารเคมีในกลุ่มนี้ คือโคลชิซิน ซึ่งมีชื่อทางเคมีว่า Acetyltrimethylcolchicinic acid : (S)-N- (5,6,7,9 - tetrahydro - 1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxobenzo(a) heptalen-7-yl) acetamin มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 399.43 มีสูตรโครงสร้างคือ $C_{22}H_{25}NO_6$ (ภาพที่ 13) (Matthew, 1998) โคลชิซินมีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอ่อนเก็บรักษาในที่มืดอุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียส ถึง -25 องศาเซลเซียส เป็นสารประกอบอัลคาลอยด์ สกัดได้จากเมล็ดและหัวของพืชพวก *Colchicum autumnale* L. (ภาพที่ 14) (Snyder, 2007) เป็นสารที่เป็นพิษต่อร่างกาย โคลชิซินถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ประมาณปี ค.ศ. 1920 ซึ่งเป็นการค้นพบโดยบังเอิญเมื่อสารละลายโคลชิซินสัมผัสกับเซลล์ที่กำลังแบ่งเซลล์ ส่งผลต่อการยับยั้งการสร้างและพัฒนาเส้นใยสปินเดิล



ภาพที่ 13 สูตรโครงสร้างทางเคมีของโคลชิซิน

ที่มา : Matthew (1993)

ภาพที่ 14 โครงสร้างลำต้น ใบ ดอกและหัวของ *Colchicum autumnale* L.

ที่มา : Snyder (2007)

2.7 การขยายพันธุ์ยางพาราโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) หมายถึงการนำเนื้อเยื่อหรือชิ้นส่วนพืช เช่น ลำต้น ใบ ดอก ตา เป็นต้น มาทำให้ปราศจากเชื้อโรค แล้ววางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยทั่วไปเมื่อนำชิ้นส่วนพืชมาทำการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองสามารถชักนำการเกิดเป็นพืชต้นใหม่จากชิ้นส่วนที่เลี้ยงโดย 2 กระบวนการ คือ กระบวนการเอมบริโอเจนเนซิส (embryogenesis) และกระบวนการออกาโนเจนเนซิส (organogenesis) กระบวนการทั้งสองข้างต้นประกอบด้วยกระบวนการที่ชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่โดยตรงเรียกว่า direct organogenesis/embryogenesis และกระบวนการเกิดพืชต้นใหม่โดยผ่านการสร้างแคลลัสเรียกว่า indirect organogenesis/embryogenesis (สมปอง, 2539)

ดนุพงศ์ และคณะ (2557) ศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนของยางพารา 4 ชนิด ได้แก่ ลำต้นอ่อนเหนือใบเลี้ยง, ใบเลี้ยง,ใบอ่อน และเมล็ดอ่อน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MB (Enjaric *et al.*, 1982) เติม 2,4-D เข้มข้น 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีแสงและสภาพมืด พบว่า ชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสได้ดีในสภาพมีแสงคือ ลำต้นอ่อนเหนือใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MB เติม 2,4-D เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัส 87.50 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนที่ชักนำแคลลัสได้ดีในสภาพมืดคือ เมล็ดอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MB เติม 2,4-D เข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัส 100%

วุฒิชัย และสมปอง (2557) ศึกษาการตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของยางพาราในหลอดทดลองโดยเครื่องหมายโมเลกุล โดยนำแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอที่ชักนำได้ในหลอดทดลองมาตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมและเปรียบเทียบกับต้นแม่ด้วยเครื่องหมาย RAPD ใช้ไพรเมอร์จำนวน 7 ไพรเมอร์ คือ OPAB-01, OPAD-01, OPAD-10, OPB-17, OPN-16, OPR-02 และ OPZ-04 พบว่า ไพรเมอร์ OPZ-04 ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างในตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากแคลลัส แสดงว่าแคลลัสที่ชักนำได้มีความแปรปรวนทางพันธุกรรม ดังนั้นการใช้เทคนิค RAPD และไพรเมอร์ OPZ-04 สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบการตรงตามพันธุ์ของต้นยางพาราจากกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้

สุนทรียา และสมปอง (2557) ศึกษาผลของ IAA (Indole-3-acetic acid) และ BA (6 - benzyadenine) ต่อการงอกของเมล็ดยางพารา นำเมล็ดยางพาราพันธุ์พื้นเมืองมาแยกเอาส่วนของเมล็ดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด แล้วนำเมล็ดมาจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อทำซ้ำอีก 2 ครั้ง ตัดแต่งเอาเฉพาะส่วนที่มีคัพภะ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA เข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ผงถ่าน 0.05 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.7 โดยวางเลี้ยงในสภาพมืด หรือมีแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน

ที่ความเข้มแสง 1,900-2,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 13 วัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด และความยาวยอด พบว่าเมล็ดของยางพาราสามารถงอกได้สภาพที่มีแสงและที่มืด แต่การเพาะเมล็ดในสภาพที่มีแสงให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่สูงกว่าการเพาะเมล็ดในที่มืด เนื่องมาจากเมล็ดที่นำมาเพาะเลี้ยงนั้นเป็นเมล็ดที่เพิ่งร่วงจากต้น ความชื้นในเมล็ดยังสูง เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมทำให้เมล็ดงอกได้เร็ว หลังจากเมล็ดงอกแล้วส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยงยืดยาวเกิดการสังเคราะห์แสง และเจริญเติบโตได้ดีกว่า นอกจากนี้พบว่าการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การงอกสูงสุดที่ 93.3 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเมล็ดงอกได้ 60 เปอร์เซ็นต์ และได้ศึกษาผลของ BA และ IBA (Indole-3-yl-butyric acid) ต่อการชักนำให้เกิดยอด นำต้นอ่อนของยางพาราพันธุ์พื้นเมือง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมาตัดแยกส่วนยอดและส่วนข้อของลำต้นใต้ใบเลี้ยงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 0, 1, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.7 โดยวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 ±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 1,900 – 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 40 วัน บันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนรากและความยาวราก พบว่าชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าอาหารที่เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงสุด คือ 4.67 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคืออาหารที่เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอด 3.78 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ชิ้นส่วนปลายยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนใบต่อชิ้นส่วนสูงสุด คือ 6.56 ใบต่อชิ้นส่วน

สุนทรียา และสมปอง (2558) ศึกษาการชักนำการสร้างต้นยางพาราในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคไมโครคัตติ้ง เริ่มจากการนำยอดและข้อ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 5, 10 และ 14 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมหรือไม่เติม IBA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพให้แสง 20 ไมโครโมล์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 14 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 40 วัน พบว่ายอดเพาะเลี้ยงอาหารเติม BA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 3.44 ยอดต่อชิ้นส่วน และจำนวนใบ 2.44 ใบต่อชิ้นส่วน สำหรับศึกษาการชักนำการยืดยาวของยอด เริ่มจากการนำชิ้นส่วนยอดรวมที่ได้ (ยอด ข้อที่มี 1 ตา และข้อที่มี 2 ตา) มาเลี้ยงในอาหารที่แตกต่างกัน (อาหารแข็ง อาหารแข็งร่วมกับอาหารเหลว และอาหารเหลว) เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าชิ้นส่วนยอดรวมที่มาจากข้อที่มี 2 ตาอาหารแข็งร่วมกับอาหารเหลว (การเททับ) คือ อาหารแข็งเติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเหลวเติม BA เข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA (α-Naphthalene acetic acid) เข้มข้น 0.06

มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวของยอดที่เพิ่มขึ้นสูงสุด คือ 0.61 เซนติเมตร นอกจากนี้การชักนำรากโดยการวางเลี้ยงชิ้นส่วนของยอดเดียวบนอาหารที่เติม IAA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากสูงสุด คือ 3 รากต่อชิ้นส่วน และความหนาราก 0.93 มิลลิเมตร

ภาณินี และคณะ (2558) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) พันธุ์ดั้งเดิมจากการเพาะเลี้ยงตาสีเขียวในหลอดทดลอง โดยนำตายางสีเขียวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างๆ วางเลี้ยงภายใต้การให้แสงเป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า อาหารที่เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพให้แสงมีอัตราการเกิดยอดสูงสุด 60 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอด 1.4 ยอด/ตา ที่เพาะเลี้ยงโดยสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวนี้ใช้ในการเพิ่มปริมาณยอดเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิมที่มีความสำคัญทางการเกษตรเพื่อที่จะใช้เป็นต้นตอต่อไปในอนาคต

Sirisom and Te-chato (2012) ศึกษาผลเปปโตนและซิลเวอร์ไนเตรตต่อการชักนำยอดของยางพาราในหลอดทดลอง โดยใช้ปลายยอดของต้นกล้ายางพารานอกหลอดทดลองที่ได้รับการคัดเลือก พบว่าความเข้มข้นไนเตรต 3 - 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่มีการเติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่าน 0.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิดการสร้างยอดรวมในทุกชิ้นส่วนพืช ในอัตราเฉลี่ยระหว่าง 2 - 3 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช อย่างได้ก็ตามจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืช ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในทุกความเข้มข้นที่การตรวจสอบมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากจำนวนเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืชที่สร้างยอด บนสูตรอาหารในชุดควบคุมที่ปราศจากการเติมซิลเวอร์ไนเตรต เมื่อความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรตลดลง 0 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืชเพิ่มสูงขึ้น ผลที่ดีที่สุดที่ประสบความสมเร็จโดยใช้สูตรอาหารที่มีการเติมซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากกว่า 5 ยอดต่อชิ้นส่วน ลักษณะของยอดมีสีเขียวเข้มและเจริญเติบโตแข็งแรง ในขณะที่พืชได้รับอาหารที่ปราศจากการเติมซิลเวอร์ไนเตรตยอดจะเป็นสีเขียวอ่อนและเสื่อมสภาพหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังพบว่าเปปโตนความเข้มข้น 0 – 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่ประสบความสำเร็จในการชักนำยอดรวม พบว่าจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืชลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม บางอ่อนมีการพัฒนาเมื่อมีเติมเปปโตนลงในอาหาร ยอดมีขนาดเล็กลง และมีการเสื่อมสภาพ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้โคลชิซินในการปรับปรุงพันธุ์พืช

ชยานิจ และคณะ (2554) ทำการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมในดาหลาโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการเพาะเลี้ยงตาข้างดาหลาพันธุ์บัวแดงใหญ่ พันธุ์แดงอินโด และพันธุ์บานเย็น บนอาหาร MS เติม BA เข้มข้น 20 - 30 μM นำยอดอ่อนมาเพิ่มปริมาณและเลี้ยงร่วมกับโคลชิซิน ความเข้มข้น 0.03 0.06 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นาน 1 2 และ 3 วัน พบว่าอัตราการมีชีวิตรอดของยอดอ่อนลดลง เมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินสูงขึ้น และระยะเวลาในการเลี้ยงร่วมกันนานขึ้น การใช้โคลชิซิน ความเข้มข้น 0.09 เปอร์เซ็นต์ (w/v) กับดาหลาทั้ง 3 พันธุ์ ทำให้หน่ออ่อนตายทั้งหมด เมื่อทำการวัดระดับชุดของโครโมโซมจากใบของต้นอ่อนในรุ่น M1V2 ที่ผ่านการใช้โคลชิซินเข้มข้น 0.03 และ 0.06% (w/v) โดยวิธี flow cytometry พบว่าดาหลาทั้ง 3 พันธุ์มีโครโมโซมเป็น mixoploid ต่อจากนั้นนำต้นอ่อนที่มีปริมาณนิวเคลียสใน area ของ 4n ที่มากกว่า 60 เปอร์เซ็นตร์ ที่วัดได้จากเครื่อง flow cytometer ไปขยายเพิ่มปริมาณจนถึงรุ่น M1V4 แล้วนำไปวัดระดับชุดโครโมโซมอีกครั้งเพื่อคัดเลือกต้น tetraploid พบว่าพันธุ์บัวแดงใหญ่มีระดับชุดโครโมโซมเป็น 4n (tetraploid) จำนวน 5 ต้นจากการใช้โคลชิซินความเข้มข้น 0.06 % (w/v) นาน 2 และ 3 วัน ส่วนพันธุ์บานเย็นและแดงอินโดยังคงมีจำนวนโครโมโซมเป็น mixoploid ไม่สามารถคัดเลือกต้นที่เป็น tetraploid ได้

ไซนิยะ และสมปอง (2555) ศึกษาพอลีพลอยด์ของต้นปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) โดยนำ secondary somatic embryo (SSE) ที่ได้รับการทรีตด้วยโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน (0, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์) ในช่วงระยะเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ในอาหารเหลวสูตร MS วางเลี้ยงบนเครื่องเขย่าเลี้ยง ที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.20 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลที่ดีที่สุดในการผลิตต้นกล้าเตตระพลอยด์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของต้นเตตระพลอยด์มีความหนาและใบสีเขียวเข้มและมีดอก ขนาดของปากใบของต้นเตตระพลอยด์มีขนาดใหญ่ เต่มีความหนาแน่นต่ำกว่าในต้นดิพพลอยด์ ผลเป็นที่น่าพึงพอใจเมื่อเปรียบเทียบกับ DNA มาตรฐานของ *Oryza sativa* cv. 'Nipponbare'

รังษี และอมรรัชฎ์ (2550) ศึกษาการสร้างมันสำปะหลังเตทราพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้ดำเนินการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ คือ ระยอง 7 ระยอง 90 และเกษตรศาสตร์ 50 โดยใช้ตาข้างและตายอดอายุ 30 – 45 วัน ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายเมอร์คิวลิคคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ผสมซูโครส 20 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 – 45 วัน ได้ต้นกล้ามันสำปะหลังที่สมบูรณ์และแข็งแรง ซึ่งถูกใช้เป็นชิ้นส่วนสำหรับชักนำให้เป็นมันสำปะหลังโพลิพลอยด์ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการใช้สารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.002 – 0.003 เปอร์เซ็นต์ ผสม DMSO 2 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าให้อัตราการรอดชีวิต 33 - 58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถเจริญและพัฒนาต่อไปเป็นต้นกล้าที่มีลักษณะ

โพลิพลอยด์ที่มีต้นเตี้ย ข้อถี่ ใบหนา สีเขียวเข้ม หยักเว้าน้อย การเจริญเติบโตช้า มีรากใหญ่และสั้น รวมทั้งมีปริมาณน้อยกว่าต้นปกติ การคัดเลือกมันสำปะหลังโพลิพลอยด์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยวิธีการตัดเป็นข้อๆ ละ 1 ตา จะได้ต้นกล้ามันสำปะหลังโพลิพลอยด์ที่ไม่มีลักษณะ Chimera 100 เปอร์เซ็นต์

สถาพร และคณะ (2554) ศึกษาการเพิ่มชุดโครโมโซม และการผลิตต้นกล้าที่มีโครโมโซม 3 ชุดของมะนาวน้ำหอม มะนาวแป้นทะวาย และคัมควอท โดยใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน 5 ความเข้มข้น (0.00, 0.01, 0.03, 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์) กับกิ่งมะนาวน้ำหอม มะนาวแป้นทะวาย และคัมควอท พบว่าความยาวยอด ความกว้างและความยาวปากใบในมะนาวน้ำหอม และความยาวปากใบคัมควอทมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ร้อยละ 81.43 ของต้นกล้ามะนาวแป้นทะวายที่ได้รับโคลชิซิน พบเพียงร้อยละ 0.88 เป็นต้นที่มีโครโมโซม 3 ชุด จากสารโคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 ต้น และต้นกล้าที่เหลือยังคงเป็นต้นที่มีโครโมโซมปกติ อย่างไรก็ตามสารโคลชิซีนมีประสิทธิภาพในการผลิตต้นกล้ามะนาวแป้นทะวายที่มีโครโมโซม 3 ชุด

สันติ และรุ่งนภา (2557) ศึกษาผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย กำหนดความเข้มข้นของโคลชิซีน 4 ระดับ ได้แก่ 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับต้นกล้าสับปะรดที่ไม่ให้สาร (control) บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกล้าสับปะรดต่อเนื่องหลังให้สาร 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของโคลชิซีนไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางด้านจำนวนใบใหม่ ความสูงทรงพุ่ม ขนาดความกว้างและความยาวใบที่ระยะหลังให้สาร 4 และ 8 สัปดาห์ ส่วนทางด้านขนาดของปากใบพบว่า ต้นกล้าสับปะรดที่ให้โคลชิซีนระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของปากใบใหญ่มากที่สุด โดยปากใบมีความกว้าง 21.48 ไมโครเมตร และความยาว 24.30 ไมโครเมตร

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ

3.1.1 วัสดุพืช

เมล็ดยางพาราอายุ 2-3 เดือนหลังจากแตกออกจากผล (ภาพที่ 15)โดยทำการรวบรวมยางพาราพันธุ์ RRIM 600 จากสวนยางของเกษตรกร ต.พรหมโลก อ.พรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช มายังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ภาพที่ 15 ลักษณะเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM 600

ที่มา : ปรีดา และวริยา (2557)

3.1.2 วัสดุสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- สารโคลชิซิน (Colchicine)
- สารเคมีที่ใช้เป็นองค์ประกอบในสูตรอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตร MS
- ฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโต BA IBA และ IAA
- น้ำตาลซูโครส
- ผงถ่าน
- แอลกอฮอล์เข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- น้ำกลั่น

3.2 อุปกรณ์ในเตรียมอาหาร

- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (ยี่ห้อ A_Z, CHINA)
- ไมโครปิเปต
- เครื่องคนสารละลาย
- หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) (ยี่ห้อ HIRAYAMA, Japan)

- เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ METTLER TOLEDO, Switzerland)
- เครื่องแก้วประกอบด้วย ขวดปรับปริมาตร กระบอกตวง บิกเกอร์ ฟลาสก์ ปิเปต ขวดเพาะเลี้ยง
- ไมโครเวฟ (ยี่ห้อ SHARP, Japan)
- กล้องบันทึกภาพ (ยี่ห้อ Samsung galaxy win, Korea)

3.3 อุปกรณ์ย้ายเลี้ยง

- เครื่องมือย้ายเลี้ยง ได้แก่ มีดผ่าตัด ปากคีบ นึ่งฆ่าเชื้อ
- กระดาษชำระ, ผ้า, และจานเพาะเลี้ยง นึ่งฆ่าเชื้อ
- ปิเปตปลายตัดนึ่งฆ่าเชื้อ
- ฟอยล์นึ่งฆ่าเชื้อ
- แอลกอฮอล์ 70% และ 95 %
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ตู้ย้ายเลี้ยง (Laminar air flow) (ยี่ห้อ TELSTAR, Spain)

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องวางเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ชั้นวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- หลอดไฟฟ้า
- เครื่องปรับอากาศ (Air condion)
- เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) (ยี่ห้อ SATO, Japan)
- เครื่องจับเวลา (Timer)
- เครื่องเขย่าเลี้ยง (ยี่ห้อ INFORS AG CH-4103 BOTTMINGEN, Switzerland)

3.5 วิธีการ

3.5.1 การเตรียมวัสดุพืช

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 อายุ 2-3 เดือน หลังจากแตกออกจากผลโดยทำการรวบรวมยางพาราพันธุ์ RRIM 600 มายังห้องปฏิบัติการ จากนั้นนำเปลือกหุ้มเมล็ดออกนำเมล็ดไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานจากนั้นล้างด้วยน้ำประปา ฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยคลอร็อก 20 เปอร์เซ็นต์ เติม Tween 20 ประมาณ 1-2 หยด เพื่อลดแรงตึงผิว จากนั้นใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลา เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำเข้าตู้ย้ายเลี้ยง

3.5.2 การชักนำการงอกของคัพภะ

นำชิ้นส่วนคัพภะของยางพาราเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ย้ายเลี้ยงทุกๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 2 เดือน

3.5.3 ศึกษาความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาจุ่มแช่ต่ออัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดและชิ้นส่วนข้อ

นำชิ้นส่วนปลายยอดและข้อจากการศึกษาที่ 3.5.2 มาจุ่มแช่ในอาหารเหลวสูตร MS เติม IAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผสมโคลชิซิน 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ อินคูเบทบนเครื่องเขย่านาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการกรองแยกชิ้นส่วนปลายยอดและข้อออกจากสารละลายโคลชิซิน ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อจนสารละลายโคลชิซินหมด ซับด้วยกระดาษชำระนึ่งฆ่าเชื้อจนแห้ง นำชิ้นส่วนปลายยอดและข้อไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมที่เติมผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้แข็งด้วยผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ บันทึกอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ในแต่ละความเข้มข้นของโคลชิซิน ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ชิ้นส่วน วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 3 ปัจจัย ในแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) 2×5×3 Factorial in CRD เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test) เมื่อวางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน เปลี่ยนสูตรอาหารเป็น สูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมง ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ย้ายเลี้ยงทุก ๆ 1 เดือน

3.5.4 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ อายุ 3 เดือน หลังจุ่มแช่โคลชิซินจากการศึกษาที่ 3.5.3 มาตรวจสอบผลการทดลองจำนวน 5 ชิ้นส่วนในแต่ละชุดการทดลอง ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การสร้างยอด ทำการวัดขนาดยอด จำนวนยอดและจำนวนใบ เปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้น ระยะเวลาในการจุ่มแช่สารโคลชิซิน และชุดควบคุม

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของความเข้มข้นของโคลชิซิน และระยะเวลาจุ่มแช่ต่อการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600

หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อในอาหารเหลวสูตร MS เติม IAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผสมโคลชิซิน 5 ระดับ ความเข้มข้น คือ 0, 0.05, 0.01, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ อินคูเบทบนเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเดิม ร่วมด้วย ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่เติมสารละลายโคลชิซิน เมื่อวางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน จากการตรวจสอบอัตราการรอดชีวิตของปลายยอดและข้อ พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดและข้อให้อัตราการรอดชีวิตที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่โคลชิซินสูงสุดเท่ากัน 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นย้ายไปยังอาหารใหม่ สูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ พบว่า หลังจากเพาะเลี้ยงปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 เป็นระยะเวลา 3 เดือน ชิ้นส่วนปลายยอดที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่สูงขึ้นส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตลดลง โดยโคลชิซินความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 93.33, 86.67, 53.33, 60 และ 73.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ ณัฐพร (2553) พบว่าอัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้ช้างแดงเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการจุ่มแช่โคลชิซินที่นานขึ้น ในแต่ละความเข้มข้นของโคลชิซินที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 16) รองลงมา 72 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง (76 และ 64 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (ภาพที่ 17 และ 18) ไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วยสมการ regression พบว่าสารละลายโคลชิซินที่สามารถชักนำให้ปลายยอดมีอัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) คือที่ความเข้มข้น 0.04 และ 0.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจุ่มแช่นาน 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 17) เช่นเดียวกับชิ้นส่วนข้อให้อัตราการรอดชีวิตสูงในระดับโคลชิซินที่ลดลง (ตารางที่ 6) และในแต่ละความเข้มข้นของโคลชิซินที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 72 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) ความเข้มข้น 0.009 และ 0.024 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 19) รองลงมา 48 ชั่วโมง (0.07 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์) และ 72 ชั่วโมง (0.005 และ 0.03 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (ภาพที่ 20 และ 21)

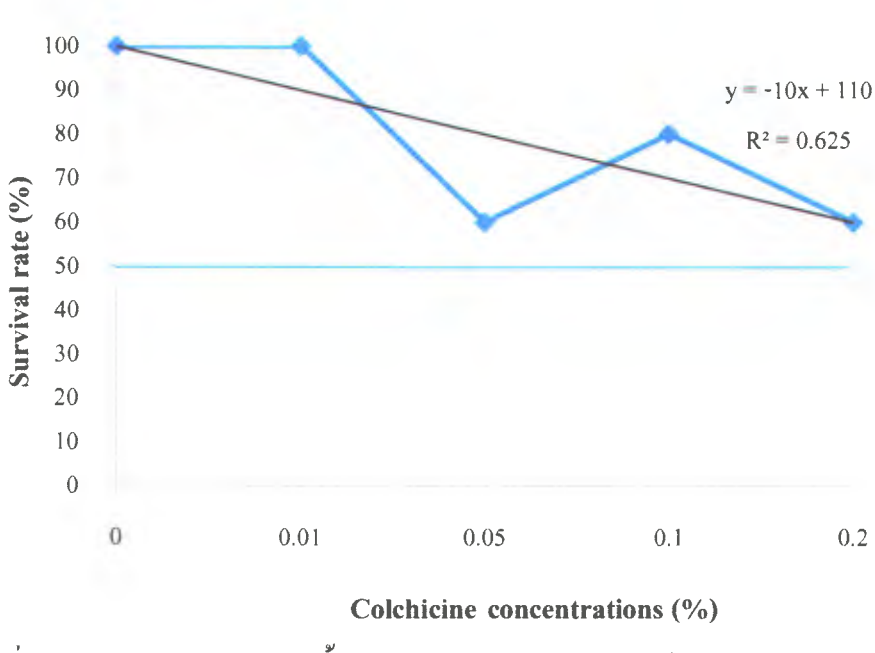
ตารางที่ 5 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลาย

ความเข้มข้น	อัตราการรอดชีวิต (%)			เฉลี่ย *
โคลชิซิน (%)	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	
0	100	80	100	93.33 a
0.01	100	80	80	86.67 a
0.05	60	40	60	53.33 b
0.1	80	40	60	60.00 b
0.2	60	80	80	73.33 ab
เฉลี่ย ns	80	64	76	
C.V. (%)		20.39		

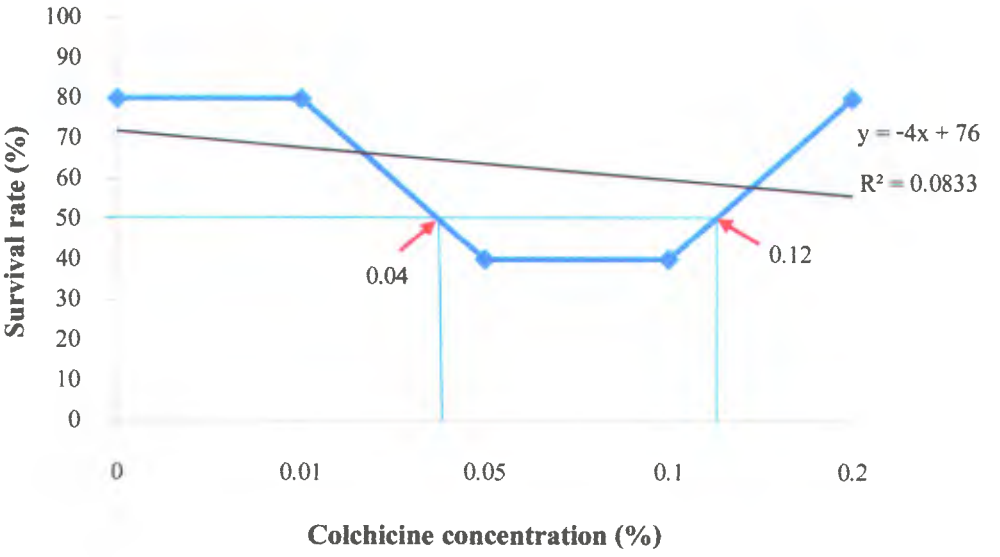
โคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

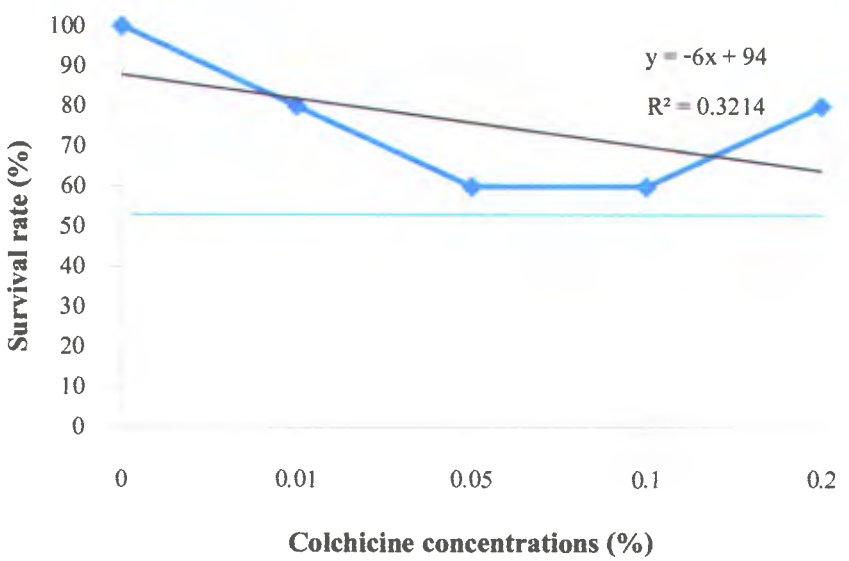
ns ไม่มีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$



ภาพที่ 16 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 17 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 18 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

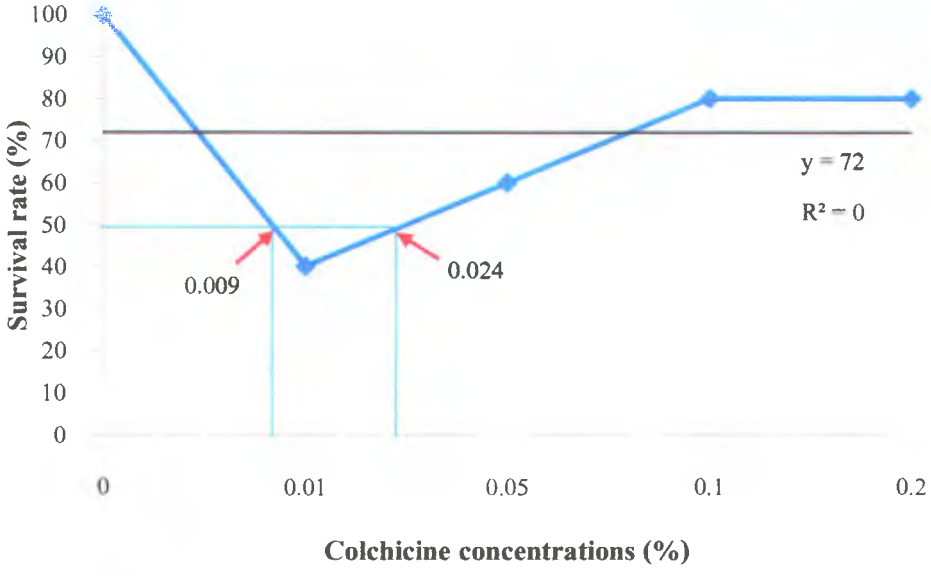
ตารางที่ 6 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น	อัตราการรอดชีวิต (%)			เฉลี่ย *
โคลชิซิน (%)	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	
0	100	100	80	93.33 a
0.01	40	60	-	33.33 b
0.05	60	80	80	73.33 ab
0.1	80	20	60	53.33 ab
0.2	80	80	60	73.33 ab
เฉลี่ย^{ns}	72	68	56	
C.V. (%)		27.59		

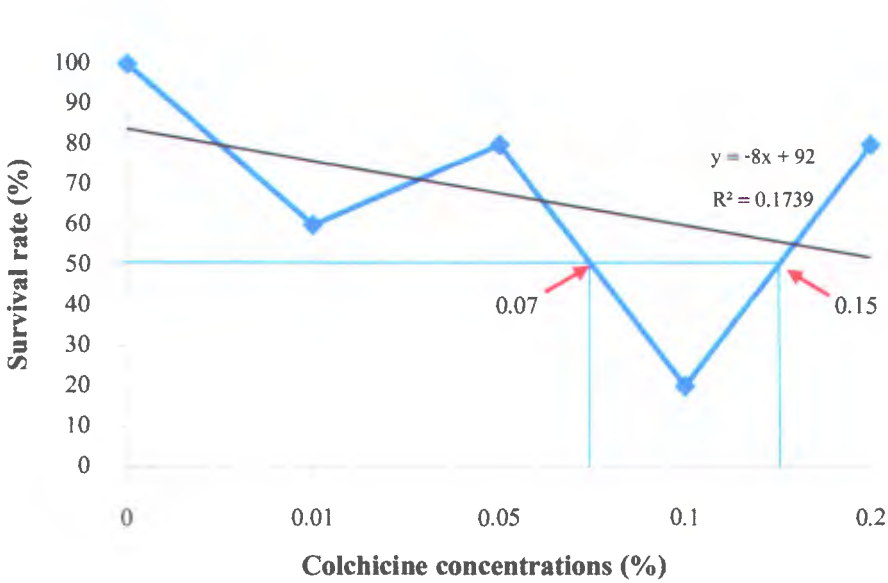
* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

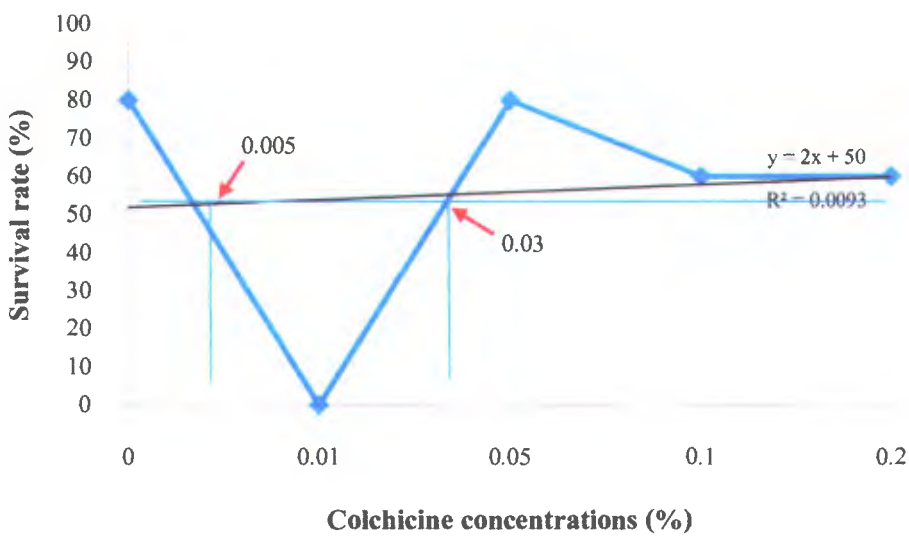
\- ชิ้นส่วนตายหรือเกิดการปนเปื้อน



ภาพที่ 19 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 20 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 21 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 หลังจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

2. ผลของความเข้มข้นของโคลชิซิน และระยะเวลาจุ่มแช่ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600

เมื่อทำการตรวจสอบการสร้างยอดของชิ้นส่วนปลายยอดของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.01 และระยะเวลาการจุ่มแช่โคลชิซิน 48 ชั่วโมง มีการสร้างยอดสูงสุด 3.00±0.82 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการจุ่มแช่โคลชิซินที่ต่างกัน เมื่อทำการตรวจสอบจำนวนยอดเฉลี่ย ขนาดยอด และจำนวนใบ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.01 และระยะเวลาการจุ่มแช่โคลชิซิน 48 ชั่วโมง ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนสูงสุด 3.00 ± 0.71 ขนาดยอดเฉลี่ย 1.13 ± 0.51 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 2.75 ± 0.96 ใบต่อชิ้นส่วน สูงกว่าชุดควบคุม (2.80 ยอด 0.80 เซนติเมตร, 2.60 ใบ) ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับทุกระดับความเข้มข้นและระยะเวลาของการจุ่มแช่โคลชิซิน โดยที่ความเข้มข้นของโคลชิซินที่ระดับอื่นๆ (0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์) ที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแล้วชิ้นส่วนพืชไม่มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์ (ตารางที่ 7)

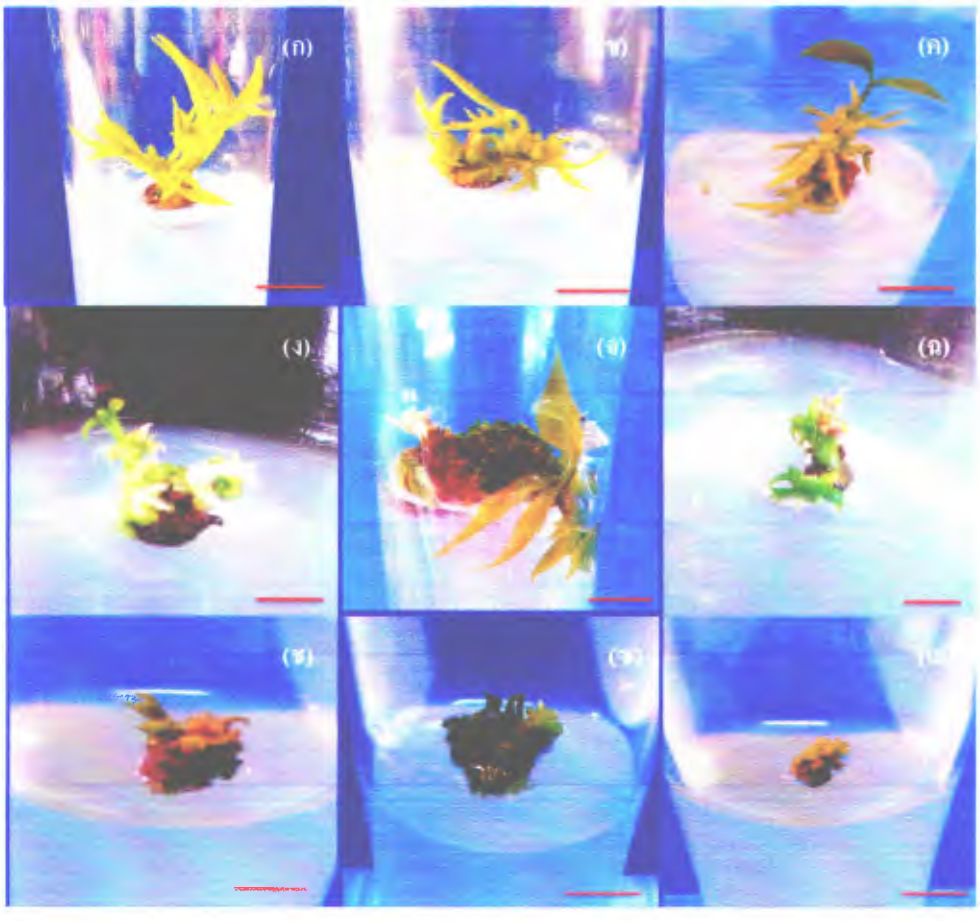
ลักษณะของชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.01 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน มีการสร้างยอดสูงสุด สังเกตจะมีลักษณะเป็นยอดเล็กๆรวมกันเป็นกระจุกสีเขียว และบางชิ้นส่วนมีการแตกใบอ่อนขึ้นมา 2 - 3 ใบ บริเวณโคนมีขนาดใหญ่และเข็ง มีสีน้ำตาล แต่ไม่มีการสร้างราก เมื่อระยะเวลานานใบเริ่มเหี่ยวเป็นสีน้ำตาลและร่วงลง และที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นของโคลชิซิน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปนานประมาณ 3 - 4 เดือน ชิ้นส่วนก็เริ่มเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำและตายลงในที่สุด (ภาพที่ 22)

ตารางที่ 7 ผลของระดับความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาจุ่มแช่ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600

โคลชิซิน (%)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	การสร้างยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย/ชิ้นส่วน	ขนาดยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย/ชิ้นส่วน
0		2.80 ± 0.84 a	2.80 ± 0.84 a	0.80 ± 0.53 a	2.60 ± 0.89 a
0.01	24	1.80 ± 0.84 b	1.80 ± 0.84 b	0.53 ± 0.22 b	2.75 ± 0.71 a
	48	3.00 ± 0.82 a	3.00 ± 0.71 a	1.13 ± 0.51 a	2.75 ± 0.96 a
	72	2.33 ± 0.84 a	1.60 ± 1.14 b	0.40 ± 0.10 b	2.33 ± 0.58 a
0.05	24	1.50 ± 0.58 b	1.00 ± 0.71 bc	0.35 ± 0.13bc	1.67 ± 0.58bc
	48	2.00 ± 0.82 ab	1.60 ± 1.14 b	0.45 ± 0.13 b	1.67 ± 0.58bc
	72	1.67 ± 0.58 b	1.20 ± 0.84 bc	0.40 ± 0.10 b	1.67 ± 0.58bc
0.1	24	1.50 ± 0.71 b	0.40 ± 0.55 c	0.43 ± 0.15 b	1.67 ± 0.58bc
	48	1.50 ± 0.71 b	0.80 ± 0.84 c	0.30 ± 0.17bc	2.33 ± 0.58 a
	72	1.67 ± 0.58 b	1.00 ± 1.00 bc	0.28 ± 0.14bc	1.67 ± 0.58bc
0.2	24	1.50 ± 0.71 b	0.40 ± 0.55 c	0.40 ± 0.10 b	1.33 ± 0.58c
	48	1.67 ± 0.58 b	1.20 ± 1.10 bc	0.33 ± 0.15bc	1.67 ± 0.58bc
	72	-	-	-	-
F-test		*	*	*	*
C.V. (%)		15.73	32.36	35.90	11.25

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

\- ชิ้นส่วนตายหรือเกิดการปนเปื้อน



ภาพที่ 22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ทรีตด้วยสารโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและ IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 ซม.)

ก, ข, ค. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ไม่ทรีตด้วยสารโคลชิซิน

ง. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

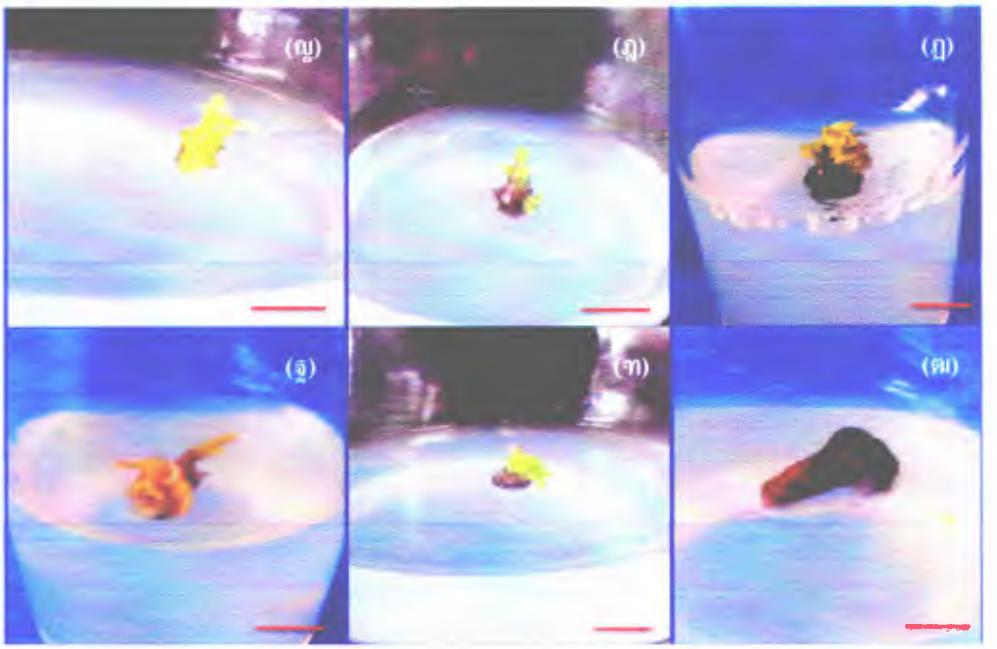
จ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ฉ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ช. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ซ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ฌ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 22 (ต่อ)

ญ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ฎ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ฏ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ฐ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ฑ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ฒ. ชิ้นส่วนปลายยอดที่ทรีตด้วยสาร โคลชิซินเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เมื่อทำการตรวจสอบการสร้างยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ขนาดยอด และจำนวนใบเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า การสร้างยอดของชิ้นส่วนข้อที่ได้รับสารโคลชิซินทุกระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่ต่างกัน อยู่ในช่วง 0.50 - 1.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 0.33 - 0.67 ยอดต่อชิ้นส่วน ขนาดยอด 0.03 - 0.10 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 0.33 - 0.50 ใบต่อชิ้นส่วน น้อยกว่าชุดควบคุม (2.00 เปอร์เซ็นต์, 1.33 ยอด, 0.60 เซนติเมตร และ 1.67 ใบ) ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับทุกระดับความเข้มข้นและระยะเวลาของการจุ่มแช่โคลชิซิน (ตารางที่ 8)

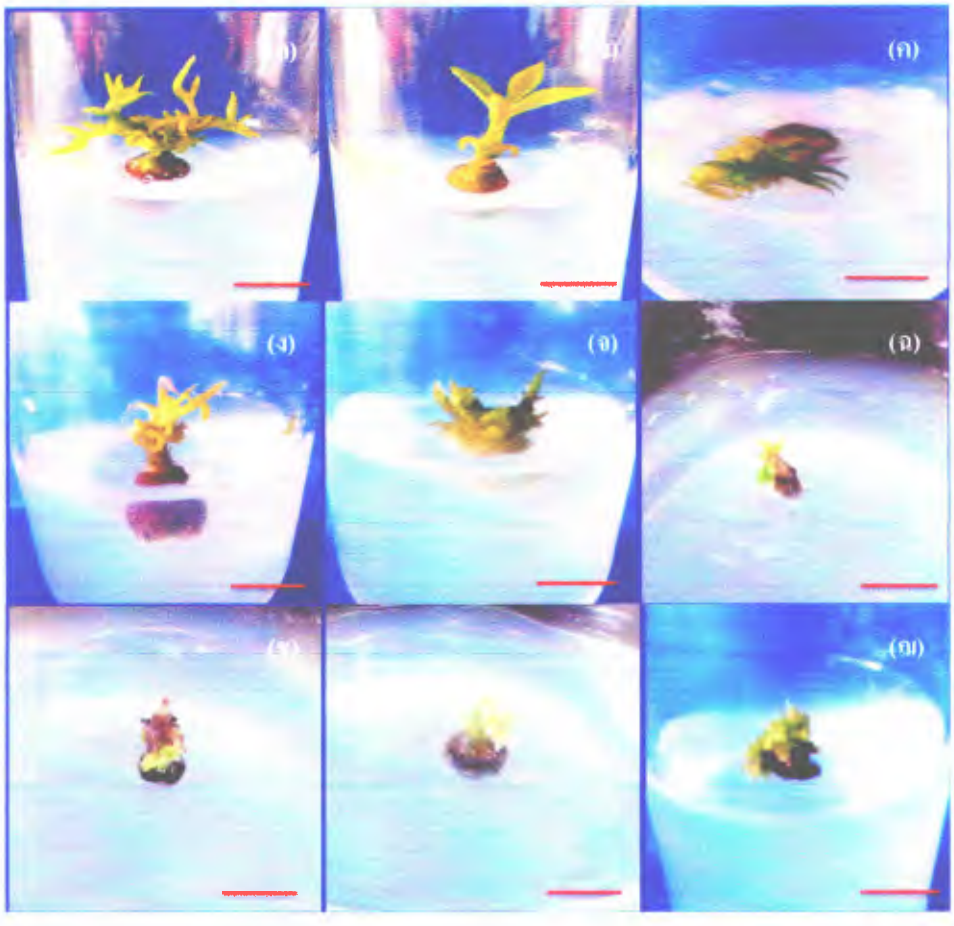
ลักษณะของชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.2 เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ชิ้นส่วนพืชมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาสร้างยอดน้อย มีน้ำยางสีขาวไหลออกมา ชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำไม่มีการสร้างราก และมีการปนเปื้อนเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 23) ทำให้ชิ้นส่วนไม่มีอัตราการรอดชีวิต ซึ่งอาจเป็นเพราะชิ้นส่วนที่ใช้แตกต่างกัน รวมถึงความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับโคลชิซิน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Nguyen และคณะ (2003) อ้างโดย ณัฐพร (2553) รายงานว่าความแปรปรวนของอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืชอาจเกิดจากจำนวนซ้ำในการทดลองน้อยเกินไป ควรเพิ่มจำนวนซ้ำของการทดลองให้มากขึ้นเพื่อลดความแปรปรวนของการทดลอง นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ว่าความไม่สม่ำเสมอของชิ้นส่วนและชนิดของพืชที่ใช้ส่งผลให้การตอบสนองต่อความเข้มข้น และระยะเวลาการให้โคลชิซินแตกต่างกัน นอกจากนี้ระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ส่งเสริมการสร้างสารประกอบพวกฟีนอลิกขึ้นจึงส่งผลให้มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ แม้ว่าผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิตของพืชมีความไม่สม่ำเสมอในระยะเวลาอันสั้น แต่ในระยะยาวเมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำยอดหรือเพิ่มความแข็งแรงของยอด พบว่า อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนลดลง เมื่อเลี้ยงต่อไปจนกระทั่งอายุครบ 4 เดือนหลังจุ่มแช่ พบว่าไม่มีการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืช ซึ่งอัตราการรอดชีวิตที่ลดลงเป็นผลของสารโคลชิซินที่มีต่อเซลล์ของชิ้นส่วนพืช โดยสารโคลชิซินมีความสามารถในการแทรกซึมเข้าไปยังส่วนต่างๆ ภายในเซลล์ และมีผลทำให้ความหนืด (viscosity) ของไซโตพลาสซึมเปลี่ยนแปลงไป การทำงานของเซลล์ผิดปกติ (วิชุตา, 2537)

ตารางที่ 8 ผลของระดับความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาจุ่มแช่ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600

โคลชิซิน (%)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	การสร้างยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย/ชิ้นส่วน	ขนาดยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย/ชิ้นส่วน
0		2.00 ± 1.00 a	1.33 ± 0.58 a	0.60 ± 0.25 a	1.67 ± 0.58 a
0.01	24	0.67 ± 0.58 c	0.67 ± 0.58 b	0.08 ± 0.08 b	0.33 ± 0.58 c
	48	1.00 ± 1.41 b	0.50 ± 0.71 c	0.10 ± 0.14 b	0.50 ± 0.71 b
	72	0.50 ± 0.71 d	0.50 ± 0.71 c	0.08 ± 0.11 b	0.50 ± 0.71 b
0.05	24	0.67 ± 0.58 c	0.33 ± 0.58 d	0.03 ± 0.06 c	0.50 ± 0.71 b
	48	0.50 ± 0.71 d	0.50 ± 0.71 c	0.05 ± 0.07bc	0.50 ± 0.71 b
	72	0.50 ± 0.71 d	0.50 ± 0.71 c	0.08 ± 0.11bc	0.50 ± 0.71 b
0.1	24	-	-	-	-
	48	-	-	-	-
	72	0.50 ± 0.71 d	0.50 ± 0.71 c	0.05 ± 0.07bc	0.50 ± 0.71 b
0.2	24	0.50 ± 0.71 d	0.50 ± 0.71 c	0.05 ± 0.07bc	0.50 ± 0.71 b
	48	0.50 ± 0.71 d	0.50 ± 0.71 c	0.05 ± 0.07bc	0.50 ± 0.71 b
	72	0.50 ± 0.71 d	0.50 ± 0.71 c	0.05 ± 0.07bc	0.50 ± 0.71 b
F-test		*	*	*	*
C.V. (%)		29.04	34.88	46.69	36.03

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

\- ชิ้นส่วนตายหรือเกิดการปนเปื้อน



ภาพที่ 23 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ทรีตด้วยสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 ซม.)

ก, ข, ค. ชิ้นส่วนข้อที่ไม่ทรีตด้วยสารโคลชิซิน

ง. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

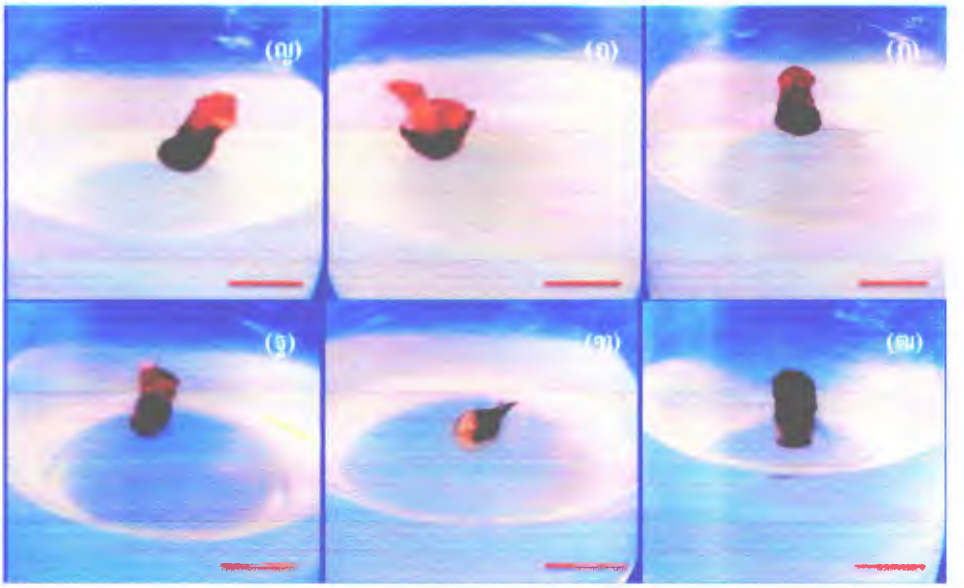
จ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ฉ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ช. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ซ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ฌ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 23 (ต่อ)

ญ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
ฎ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
ฏ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
ฐ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
ฑ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
ฒ. ชิ้นส่วนข้อที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3. การตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยา

จากการตรวจสอบชุดโครโมโซม เมื่อนำใบยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ที่ทรีตด้วยสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน นำไปตรวจสอบจำนวนปากใบ (guard cell) จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ และตรวจสอบชุดโครโมโซม พบว่า ปากใบและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ ไม่สามารถนับจำนวนได้ เนื่องจากใบยางพาราในหลอดทดลองมีขนาดเล็กและบาง จึงไม่สามารถลอกเพื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้

อย่างไรก็ตามชิ้นส่วนพืชดังกล่าวได้นำไปส่งตรวจจำนวนชุดโครโมโซมด้วยเครื่อง flow cytometer ที่ประเทศญี่ปุ่น แต่พบว่าในระหว่างการนำชิ้นส่วนพืชไปตรวจสอบชุดโครโมโซมที่ประเทศญี่ปุ่นด้วยระยะทางที่ไกลระหว่างการขนส่ง จึงทำให้ชิ้นพืชเกิดการปนเปื้อนเชื้อ จึงไม่สามารถตรวจสอบชุดโครโมโซมได้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อในอาหารเหลวสูตร MS เติม IAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และโคลชิซิน 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 0.05, 0.01, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ อินคูเบทบนเครื่องเขย่าเป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเดิม ร่วมด้วย ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่เติมสารละลายโคลชิซิน วางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นย้ายไปยังอาหารใหม่สูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงปลายยอดยางพาราพันธุ์ RRIM 600 เป็นระยะเวลา 3 เดือน ชิ้นส่วนปลายยอดมีอัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) คือที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.04 และ 0.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจุ่มแช่นาน 48 ชั่วโมง การสร้างยอดสูงสุด 3.00 ± 0.82 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนสูงสุด 3.00 ± 0.71 ขนาดยอดเฉลี่ย 1.13 ± 0.51 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 2.75 ± 0.96 ใบต่อชิ้นส่วน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

สำหรับชิ้นส่วนข้อมีอัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) คือที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.009 และ 0.024 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจุ่มแช่นาน 24 ชั่วโมง การสร้างยอดของชิ้นส่วนข้อที่ได้รับสารโคลชิซินทุกระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ต่างกัน อยู่ในช่วง 0.50 - 1.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 0.33 - 0.67 ยอดต่อชิ้นส่วน ขนาดยอด 0.03 - 0.10 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 0.33 - 0.50 ใบต่อชิ้นส่วน น้อยกว่าชุดควบคุม (2.00 เปอร์เซ็นต์, 1.33 ยอด, 0.60 เซนติเมตร และ 1.67 ใบ) ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

การชักนำให้เกิดการปรับปรุงพันธุ์ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า เมื่อนำชิ้นส่วนปลายยอดและข้อมาทรีตด้วยโคลชิซิน พบว่าอัตราการรอดชีวิตค่อยๆลดลงตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เลี้ยงร่วมกับโคลชิซินที่เพิ่มขึ้น และมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ เช่น ใบบิดม้วน และใบขาวซีด หรือบางชิ้นส่วนไม่มีการพัฒนามีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีน้ำยางสีขาว จึงไม่สามารถนำไปศึกษาตรวจสอบชุดโครโมโซมได้ และพบว่าชิ้นส่วนปลายยอดสามารถให้อัตราการรอดชีวิตและพัฒนาสร้างยอดได้ดีกว่าชิ้นส่วนข้อ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การทดลองในครั้งต่อไปควรเพิ่มจำนวนซ้ำในการทดลองให้มากกว่านี้ เพื่อลดความแปรปรวนของการทดลอง

5.2.2 ทดลองใช้สารก่อกลายพันธุ์ชนิดอื่น เช่น ออริซาลีน และ EMS หรือสิ่งก่อกลายพันธุ์ เช่น รังสีอัลตราไวโอเลตเพื่อพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ยางพาราให้เพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในยางพารา สายพันธุ์อื่นเพื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์

บรรณานุกรม

กนิษฐา คุ้มวณิชย์. (2542). **ผลของสารสกัดเมล็ดดองดึง *Gloriosa superb* Linn. ที่มีต่อการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ของแตงโม *Citrullus lanatus* Mats & Nakai ในหลอดทดลอง**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กรมวิชาการเกษตร. (2549). **ลักษณะลำต้นและใบยางพารา**. ค้นเมื่อ กรกฎาคม,25, 2558. จาก http://www .arda.or.th /kasetinfo/south/para/controller/index.php.

กรมศุลกากร. (2557). **มูลค่าสินค้าเกษตรกรรม**. ค้นเมื่อ กันยายน,2, 2558. จาก http://www.ops3.moc.go.th/ export/recode_export_rank/report.asp.

กฤษณี พิสิฐศุภกุล (2558). **สถานการณ์ยางพาราปี 2557 และแนวโน้มปี 2558 โดยธนาคารแห่งประเทศไทย สำนักงานภาคใต้**. ค้นเมื่อสิงหาคม,10, 2558. จาก https://www.bot.or.th/thai/MonetaryPolicy/Southern/ Southern/ReasearchPaper/Rubber2014andTrend2015.pdf.

ครรชิต ธรรมมศิริ. (2541). **เทคโนโลยีการผลิตพืช**. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน): กรุงเทพฯ.

จรัสศรี นวลศรี. (2548). **การเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดโครโมโซมและการปรับปรุงพันธุ์พืช**. ในเอกสารคำสอน วิชาการปรับปรุงพันธุ์พืชสวน. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. หน้า 73-97.

ชนะ วันหนุน. (2557). **ยางพารา**. ค้นเมื่อ กันยายน,8, 2558. จาก http://botanykuszonel.weebly.com.

ชยานิจ ดิษฐบรรจง, กษิดิศ ดิษฐบรรจง, เบ็ญจมาศ ทรงพระ, และ สุทธาชีพ ศุภเกสร. (2554). **การเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมในดาหลาโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร.

ณัฐพร เกิดสุวรรณ. (2553). **ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและเซลล์วิทยาของกล้วยไม้ช้างแดง**. สงขลา : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ดนุพงศ์ วรรณพงศ์, สุมนา นีระ, และ สุภัทร์ อิศรางกูร ณ อยุธยา. (2557). ผลของ 2,4-D ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารแก่นเกษตร**, 42 (3): 391-396.

นพพร สายมพล. (2543). **เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญยืน กิจวิจารณ์. (2544). พิมพ์ครั้งที่ 2. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ขอนแก่น : คลังนานาวิทยา.

ปัทมา ชนะสงคราม และภัทราวุฒิ จิวตระกูล. (2534). การขยายพันธุ์ยางพาราด้วยเทคนิคไมโครคัตติ้งในหลอดทดลอง. **วิทยาสารเกษตรศาสตร์**, 25: 133-138.

พูนผล ธรรมธวัช. (2542). **ยางพารา**. หาดใหญ่ : เซาท์เทิร์นรับเบอร์.

พรรณพิชญา สุเสวี. (2554). **การจำแนกพันธุ์ยางพารา**. ค้นเมื่อ กันยายน,8, 2558. จาก http://www.live-rubber.com.

พสุธา ระวังสุข, ถนัด ตันสกุล และ นิลวรรณ ฟูเฟื่องสิน. (2554). **สถานการณ์ยางพาราปี 2554 และแนวโน้มปี 2555 โดยธนาคารแห่งประเทศไทยสำนักงานภาคใต้**. ค้นเมื่อ สิงหาคม,10, 2558. จาก http://www.bot.or.th/Thai/EconomicConditions/Thai/South.

ภาณินี ช่วยมี, สุรีรัตน์ เย็นช้อน, และ สมปอง เตชะโต. (2558). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) พันธุ์ดั้งเดิมจากการเพาะเลี้ยงตาสีเขียวในหลอดทดลอง. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์**, 2 (2): 17-20.

รังษี เจริญสถาพร, อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว, และโอภาษ บุญเส็ง. (2550). **การสร้างมันสำปะหลังเตทราพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วิชุตา รุ่งเรือง. (2537). **ผลของโคลชิซินและรังสีแกมมาที่มีผลต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ Double Spathe ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ**. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วุฒิชัย ศรีช่วย และ สมปอง เตชะโต. (2557). การตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของยางพาราในหลอดทดลองโดยเครื่องหมาย. **วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์**, 6 (2): 117-124.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. (2546). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. อุดรธานี : สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักเศรษฐกิจการเกษตร. (2557). **พื้นที่ปลูกยางพาราของประเทศไทย**. ค้นเมื่อ กันยายน, 2, 2558. จาก http://www.rubberthai.com/statistic/stat_index.htm.

สมปอง เตชะโต. (2539). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ** (พิมพ์ครั้งที่ 3). สงขลา. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สถาบันวิจัยยาง. (2547). **ผลงานวิจัยและพัฒนายางพารา ปี 2537-2546**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สถาบันวิจัยยาง. (2549). **โรคและศัตรูยางพาราที่สำคัญในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สถาบันวิจัยยาง. (2553). **ข้อมูลวิชาการยางพารา 2553**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สถาบันวิจัยยาง. (2554). คำแนะนำพันธุ์ยาง. **วารสารยางพารา**, 32 (1): 4-34.

สถาบันวิจัยยาง. (2557). **สถิติยางไทย**. ค้นเมื่อ สิงหาคม,10, 2558. จาก http://www.rubberthai.com/statistic/stat_index.htm.

สถาพร มณี, สห ตุลพงศ์, สุรีย์พร เจรียงประเสริฐ, และ เศรษฐา ศิริพินทุ์. (2554). **การเพิ่มชุดโครโมโซม และการผลิตต้นกล้าที่มีโครโมโซม 3 ชุดของมะนาวน้ำหอม มะนาวแป้นทะวายและคัมควอท โดยใช้สารโคลชิซีนและไตรฟลูราลิน**. หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชสวน คณะผลิตกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สันติ ช่างเจรจา และ รุ่งนภา ช่างเจรจา. (2557). ผลของความเข้มข้นของโคลชิซินต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย. **วารสารแก่นเกษตร**, 42 (3): 8-11.

สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. (2557). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ค้นเมื่อ กันยายน,2, 2557. จาก http://kanchanapisek.or.th.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (2543). **ลักษณะทางพฤษศาสตร์ยางพารา**. ค้นเมื่อ กรกฎาคม,25, 2558. จาก http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/para/controller/index.php.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (2543). **อุตสาหกรรมยางพารา**. ค้นเมื่อ กรกฎาคม,25, 2558. จาก http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/para/used/01-03.php.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (2552). **ความสำคัญของยางพาราต่อเศรษฐกิจและสังคม**. ค้นเมื่อ สิงหาคม,19, 2558. จาก http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/para/history/01-10.php.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2556). **สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2555**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุภาวดี รามสูตร. (2555). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. เอกสารประกอบการสอนรายวิชาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

สุนทรียา กาละวงศ์ และ สมปอง เตชะโต. (2557). การปรับปรุงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยางพาราเพื่อเตรียมการปลูกถ่ายยีน. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์**, 1 (3): 13-19.

สุนทรียา กาละวงศ์ และ สมปอง เตชะโต. (2558). การชักนำการสร้างต้นยางพาราในหลอดทดลองโดยใช้เทคนิคไมโครคัตติ้ง. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์**, 2 (2): 21-26.

อารีย์ วรัญญูวัฒก์. (2541). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ : อติสรรค์.

Carron, M.P., Enjalric F. and Deschamps, A. (1984). Progress of research into in fds, vegetative propagation of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. IRCA, CR. Coll. Exp. Phys. Am. *Hevea* IRRDB, IRCA, **Montpellier**, pp. 427-435.

Carron, M.P., Enjalric F. and Deschamps, A. (1989). Rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *In* Biotechnology in Agriculture and Forestry (ed. Y.P.S. Bajaj) Vol.5 pp. 222-245. Berlin: **Springer Verlag**.

Chen, Z. 1984. **Rubber (*Hevea*) *In* Plant Cell Culture**. (ed. W.R. Sharp) pp. 546-571, New York : McMilan Publ.Co.

Lnfag, M. and Nawab, K. (2001). Effect to gamma irradiation on some morphological of three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Journal of Biological Sciences**, 1 (10): 935-937.

Matthew, J.D. (1998). **Colchicine**. Virginia: Department of Medicinal Chemistry, Medical College of Virginia, Commonwealth University.

Nguyen, T.P.T., Kenji, U., Ikuo, M., Yukio, O. and Hiroshi, O. (2003). Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* thought colchicines and oryzalin treatments. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 72: 19-25.

Paranjothy, K. and Gandimathi, H. (1976). **Tissue and Organ Culture of *Hevea***. Proceedings of International Rubber Conference pp. 59-84.

Priya, P., Venkatachalam, P. and A. Thulaseedharan. (2006). Molecular cloning and characterization of the rubber elongation factor gene and its promoter sequence from rubber tree (*Hevea brasiliensis*): A gene involved in rubber biosynthesis. **Plant Science**, 171: 470-480.

Samala, S. and Te-chato, S. (2012). Ploidy induction through secondary somatic embryo (SSE) of oil palm by colchicines treatment. **Journal of Agricultural Technology**, 8 (1): 337-352.

Snyder, L.A. (2007). **Description and Natural History of the *Autumm Crocus***. Accessed on 6,06, 2014. Available: http://biotech.icmb.utexas.edu/botany/acrohst.html.

Seneviratne, P. (1991). **Micropropagation of juvenile and mature *Hevea brasiliensis***. Ph. D Thesis University of Bath, UK.

Sirisom, Y. and Te-chato, S. (2012). The effect of peptone and silver nitrate on *in vitro* shoot formation in *Hevea brasiliensis* Muell.Arg. **Journal of Agricultural Technology**, 8 (4): 1509-1516.

Te-chato, S. and Muangkaewngam, A. (1992). Tissue culture of rubber: I: *In vitro* micropropagation of rubber. **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 14: 123-132.

Te-chato, S. and Chartikul, M. (1993). Certain factors affecting callus formation induction from integument subsequent to plantlet regeneration. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, 15: 235-241.

Te-chato, S., Suranilpong, P. and Chuenjit, S. (1995). Screening of rubber calli resistant to Phytophthora. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, 17: 7-15.

Venkatachalam, P., Kumari P., Jayasree S., Sushmakumari R., Jayashree K., Rekha S., Sobha P., Priya R., Kala G. and Thulaseedharan, A. (2007). Current perspectives on application of biotechnology to assist the genetic improvement of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): An Overview. **Functional Plant Science and Biotechnology**, 1: 1-17.

Wilson, H.M. and Street, H.E. (1975). The growth, anatomy and morphogenetic potential of callus and cell suspension culture of *Hevea brasiliensis*. **Annatomical Botany,** 39: 671-682.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600

ภาคผนวก ข. การเตรียมอาหารสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อที่ทรีตด้วยโคลชิซิน ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ

ภาคผนวก ค. การวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600

ภาคผนวก ง. การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการรอดชีวิต, เปอร์เซ็นต์การสร้างยอด, จำนวนยอดเฉลี่ย, ขนาดยอดเฉลี่ย, จำนวนใบเฉลี่ย หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

ภาคผนวก ก. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600

การเตรียมธาตุอาหารสูตร MS โดยชั่งสารแต่ละชนิดดังตารางภาคผนวกที่ 1 ละลายสารแต่ละชนิดโดยใช้น้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร (volumetric flack) แล้วเทใส่ขวดเก็บสารละลายปิดฝาเก็บในตู้เย็น

ตารางภาคผนวกที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

องค์ประกอบ	ปริมาณสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO	1,650.00
KNO_3	1,900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2 2H_2O$	440.00
$MgSO_4 7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
KI	0.83
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4 1H_2O$	16.90
$ZnSO_4 7H_2O$	10.60
$CuSO_4 5H_2O$	0.025
$Na_2MoO_4 2H_2O$	0.25
$CoCl_2 6H_2O$	0.025
ธาตุเหล็ก	
$FeSO_4 7H_2O$	27.80
Na_2EDTA	37.30
สารอินทรีย์	
Myo-inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine HCl	0.50
Thaiamine HCl	0.10
Glycine	2.00

ภาคผนวก ข. การเตรียมอาหารสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อที่ทรีตด้วยโคลชิซิน ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ

เตรียมอาหารปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1. เตรียมสต็อกอาหาร MS
2. เตรียมบีกเกอร์พลาสติกขนาด 1,000 มิลลิลิตร เขียนระบุสูตรอาหารที่เตรียมติดไว้ข้างบีกเกอร์
3. ใส่น้ำกลั่นลงไปในบีกเกอร์ประมาณ 200 มิลลิลิตร
4. ปิเปตสารละลายจากสูตร MS ประกอบด้วย
   - สต็อก A1 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
   - สต็อก A2 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
   - สต็อก B ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
   - สต็อก C ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
   - สต็อก D ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
   - สต็อก organic ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
5. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต
   - BA ปริมาตร 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
   - IBA ปริมาตร 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
6. เติมน้ำตาล 30 กรัม
7. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
8. ปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยสารละลาย NaOH และ HCl ให้มีค่าเป็น 5.7
9. เติมผงวุ้น 7.5 กรัม คนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้ว
10. นำอาหารไปให้ความร้อนในไมโครเวฟเพื่อให้วุ้นละลาย
11. นำอาหารใส่หลอดทดลองปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาหลอด
12. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
13. นำอาหารที่เตรียมเสร็จเก็บไว้ในห้องปลอดเชื้อเพื่อเตรียมวางเลี้ยง

ภาคผนวก ค. การวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600

ขั้นตอนการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 หลังทรีตด้วยโคลชิซิน

1. เปิดตู้ Laminar air flow ใช้แอลกอฮอล์ 70 % ฉีดตู้และเช็ดด้วยผ้าที่นึ่งฆ่าเชื้อ
2. นำวัสดุอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเข้าตู้ Laminar air flow (อุปกรณ์ทุกชิ้นต้องฉีดฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ก่อนนำเข้าตู้) ได้แก่
   2.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS + 5 mg/L BA + 1 mg/L IBA + 30 g/L sucrose + 7.5 g/L agar, pH 5.7
   2.2 เครื่องมือผ่าตัด ได้แก่ มีดผ่าตัด ปากคีบ นึ่งฆ่าเชื้อ
   2.3 กระดาษชำระ, ผ้า และจานเพาะเลี้ยง นึ่งฆ่าเชื้อ
   2.4 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
   2.5 แร็ป
3. เปิด U.V.C. ทิ้งไว้ 20 นาที เพื่อฆ่าเชื้อภายในตู้ย้ายเลี้ยง
4. จุ่มมีดผ่าตัดและปากคีบในแอลกอฮอล์ 95 % และผ่านเปลวไฟ 3 ครั้ง
5. นำชิ้นส่วนปลายยอดและข้อที่ครบระยะเวลาการจุ่มแช่ด้วยโคลชิซินมาล้างในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและซับด้วยกระดาษชำระที่รองด้วยจานเพาะเลี้ยง
6. ใช้ปากคีบ คีบชิ้นส่วนปลายยอดและข้อยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ขนาด 1 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เตรียมไว้ (1 ชิ้นส่วนพืช/หลอด)
7. ปิดฝาหลอดทดลองพันแร็ป และนำไปวางเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ให้แสงประมาณ 14 ชั่วโมง/วัน ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์
8. ย้ายเลี้ยงทุกๆ 1 เดือน
9. บันทึกผลการทดลองและถ่ายภาพ

ภาคผนวก ง. การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการรอดชีวิต, เปอร์เซ็นต์การสร้างยอด, จำนวนยอดเฉลี่ย, ขนาดยอดเฉลี่ย, จำนวนใบเฉลี่ย หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

ความเข้มข้นของโคลชิซิน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	3466.666667	4	866.6667	4.642857	0.022322
Residual	1866.666667	10	186.6667		
Total	5333.333333	14	380.9524		

ระยะเวลาจุ่มแช่โคลชิซิน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	693.3333333	2	346.6667	0.896552	0.433626
Residual	4640	12	386.6667		
Total	5333.333333	14	380.9524		

C.V. = 20.39 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

ความเข้มข้นของโคลชิซิน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	6240	4	1560	3.441176	0.0514
Residual	4533.333333	10	453.3333		
Total	10773.33333	14	769.5238		

ระยะเวลาจุ่มแช่โคลชิซิน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	693.3333333	2	346.6667	0.412698	0.670907
Residual	10080	12	840		
Total	10773.33333	14	769.5238		

C.V. = 27.59 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดของชิ้นส่วนปลายยอดยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	3.19442619	4	0.798607	7.873072	0.005177
Residual	0.912916667	9	0.101435		
Total	4.107342857	13	0.315949		

C.V. = 15.73 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนปลายยอดยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	10.49066667	4	2.622667	11.43605	0.000948
Residual	2.293333333	10	0.229333		
Total	12.784	14	0.913143		

C.V. = 32.36 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนขนาดยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนปลายยอดยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	0.509588095	4	0.127397	3.538988	0.053365
Residual	0.323983333	9	0.035998		
Total	0.833571429	13	0.064121		

C.V. = 35.90 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนใบเฉลี่ยของชิ้นส่วนปลายยอดยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	2.74462619	4	0.686157	12.53975	0.001006
Residual	0.492466667	9	0.054719		
Total	3.237092857	13	0.249007		

C.V. = 11.25 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดของชิ้นส่วนข้อยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	4.842893333	4	1.210723	25.12569	3.37E-05
Residual	0.481866667	10	0.048187		
Total	5.32476	14	0.38034		

C.V. = 29.04 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	3.370093333	4	0.842523	16.70127	0.0002
Residual	0.504466667	10	0.050447		
Total	3.87456	14	0.276754		

C.V. = 34.88 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนขนาดยอดเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	0.732106667	4	0.183027	10.81292	0.001182
Residual	0.169266667	10	0.016927		
Total	0.901373333	14	0.064384		

C.V. = 46.69 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจำนวนใบเฉลี่ยของชิ้นส่วนข้อยางพารา พันธุ์ RRIM 600 ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

EFFECT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	ProbF
Treatment	2.845573333	4	0.711393	14.66186	0.000346
Residual	0.4852	10	0.04852		
Total	3.330773333	14	0.237912		

C.V. = 36.03 เปอร์เซ็นต์