บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนอ้อย

ชิ้นส่วนของอ้อยที่นำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น แม้ว่าจะเป็นหน่อใหม่ แต่ก็มีจุลชีพติดมาที่ผิวมากมาย เนื่องจากหน่ออ้อยที่นำมาใช้นี้ได้จากต้นอ้อยที่ปลูกอยู่ในแปลงและกาบใบอ้อยนั้นมียนอยู่มาก โอกาสที่เชื้อราหรือแบคทีเรียจะติดอยู่ที่ผิวจึงมีมาก ผลการศึกษาวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวได้ผลตามตารางที่ 4 ในการทดลองนี้จึงได้เลือกวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนอ้อยที่จะนำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยแช่ในคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที เป็นวิธีมาตรฐานเพราะให้ผล 100 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำชิ้นส่วนแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ลอกกาบใบออกหลาย ๆ ชั้นจนเหลือท่อนอ้อยที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร จะเห็นกาบใบที่หุ้มส่วนภายในมีสีขาว ยกเว้นที่กาบใบนอกสุดออก ในขณะที่แช่สารละลายคลอร็อกซ์ ควรเขย่าขวดด้วย เพื่อให้สารละลายมีโอกาสแทรกเข้าไปในชิ้นส่วนได้ทั่วถึง ทำให้การฆ่าเชื้อเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบผลการศึกษาวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนอ้อยจากการทดลองละ 60 ซ้ำ

การทดลอง	จำนวนชิ้นส่วนที่ใช้ในการทดลอง	จำนวนชิ้นส่วนที่มี contamination	เปอร์เซ็นต์ contamination
คลอร็อกซ์ 10 % 10 นาที	60	15	25
คลอร็อกซ์ 10 % 20 นาที	60	-	-

2. ผลการศึกษาวิธีลดปริมาณ phenolic compound ในชิ้นส่วนอ้อย

ปัญหาที่สำคัญในการเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยปัญหาหนึ่ง คือ ชิ้นส่วนอ้อยที่นำมาเลี้ยงมักผลิต phenolic compound ซึ่งเห็นเป็นสารสีน้ำตาล โดยเฉพาะในเนื้อเยื่อที่ได้จากตายอดจะผลิตมากเป็นพิเศษ ข้อและใบอ่อนก็ผลิตสารนี้เช่นกัน แต่ในปริมาณที่น้อยกว่า ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองศึกษาวิธีลดสาร phenolic compound 3 วิธีเปรียบเทียบกับ control ซึ่งได้ผลดังนี้

2.1 L-cysteine. HCl ผลจากการแช่ชิ้นส่วนอ้อยในสารละลาย L-cysteine. HCl และเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารวุ้นที่มี L-cysteine. HCl บนชั้นที่มีแสงสว่างในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปรากฏว่าชิ้นส่วนยังคงผลิตสารสีน้ำตาลโดยเฉพาะในตายอด ผลที่ได้เมื่อประมาณโดยสายตาไม่ต่างจาก control เลย ข้อและใบอ่อนผลิตสารสีน้ำตาลเช่นกัน แต่น้อยกว่าตายอดประมาณเท่าตัว (ตารางที่ 5) จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า L-cysteine. HCl มิได้ช่วยลดสารสีน้ำตาลลงเลย

2.2 Physical condition เป็นอีกวิธีหนึ่งที่อาจจะลดปฏิกริยา oxidation โดยนำชิ้นส่วนเข้าสู่ที่มืด อุณหภูมิ 23-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ดังนี้

2.2.1 ที่มืด จากการนำชิ้นส่วนเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 7 วันหลังจากผ่าตัดจึงย้าย culture ออกสู่แสงสว่าง culture ยังคงผลิตสารสีน้ำตาล ตายอดผลิตสารสีน้ำตาลมากกว่าข้อและใบอ่อน แต่น้อยกว่า control (ตารางที่ 5)

2.1.2 น้ำกลั่นและที่มืด การลด phenolic compound โดยการผ่าตัดชิ้นส่วนอ้อยในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และเลี้ยงบนวุ้นอาหารในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน ผลปรากฏว่าเนื้อเยื่อผลิตสารสีน้ำตาลลดลง เนื้อเยื่อส่วนใหญ่มีสียาวครีม แต่บางส่วนยังคงผลิตสารสีน้ำตาลบ้าง วิธีนี้ จึงนับว่าเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการทดลองนี้ที่ช่วยลดสารสีน้ำตาลได้ดี โดยเฉพาะในข้อและใบอ่อน (ตารางที่ 5) ชิ้นส่วนยองพืชจึงมีโอกาสอยู่รอดมากขึ้นและเจริญให้คัลลัสได้ดี

2.3 Control เลี้ยงเนื้อเยื่อยองอ้อยคือ ตายอด ข้อและใบอ่อนบนอาหารวุ้นโดยตรง ตั้งไว้ในที่สว่าง พบว่ามีสาร phenolic compound ค่อนข้างมาก การที่เนื้อเยื่อผลิตสารนี้มากในที่สว่างอาจเนื่องจากแสงสว่างเป็นตัวช่วยให้ปฏิกริยา oxidation สูงขึ้น (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการศึกษาวิธีลดปริมาณสารละลายน้ำตาลในชิ้นส่วนอ้อยโดยเฉลี่ยจากการทดลอง ละ 30 ซ้ำ

การทดลอง	ปริมาณสารละลายน้ำตาลที่แต่ละชิ้นส่วนผลิต		
	ตายอด	ข้อ	ใบอ่อน
L-cysteine. HCl	4	2	2
มีด	3	2	2
น้ำกลั่น + ที่มีด	2	1	1
Control (ล่วาง)	4	2	2

4 = ปริมาณสารละลายน้ำตาลที่เนื้อเยื่อปล่อยลู่อาหารวุ้น ทำให้เนื้อเยื่อตายมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ของเนื้อเยื่อทั้งหมด

3 = ปริมาณสารละลายน้ำตาลที่เนื้อเยื่อปล่อยลู่อาหารวุ้น ทำให้เนื้อเยื่อตายประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ ของเนื้อเยื่อทั้งหมด

2 = ปริมาณสารละลายน้ำตาลที่เนื้อเยื่อปล่อยลู่อาหารวุ้น ทำให้เนื้อเยื่อตายประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของเนื้อเยื่อทั้งหมด

1 = ปริมาณสารละลายน้ำตาลที่เนื้อเยื่อปล่อยลู่อาหารวุ้น ทำให้เนื้อเยื่อตายประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ของเนื้อเยื่อทั้งหมด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนต่าง ๆ ของอ้อย

นำชิ้นส่วนของอ้อย คือ ตายอด ข้อและใบอ่อน ตัดเป็นท่อน ๆ ตามวิธีการที่ได้กล่าวไว้ในข้อที่ 2 ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการแช่สารละลายคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที โดยเติม tween 20 (ใช้ 1-2 หยดต่อสารละลายคลอร็อกซ์ 100 มิลลิลิตร) แล้วตัดชิ้นส่วนตามขนาดที่ต้องการในน้ำกลั่น นำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MSC ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน จึงนำยวด culture ออกสู่แสงสว่างเพื่อชักนำให้เกิดคัลลัส พบว่าชิ้นส่วนของอ้อยแต่ละส่วนนี้เจริญและให้คัลลัสต่างกันดังนี้

3.1 ตายอด ในสัปดาห์แรกหลังจากเลี้ยงในที่มืด 7 วัน จึงนำออกสู่ที่สว่าง พบว่าเนื้อเยื่อยังคงผลิตสารสีน้ำตาลออกมามาก ทำให้เนื้อเยื่อบางส่วนดำและตายไป เนื้อเยื่อส่วนที่เหลือมีสีขาวครีม และเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวหลังจากเลี้ยงในแสงสว่างได้ 2-3 วัน ต่อมาสัปดาห์ที่ 2 เนื้อเยื่อตายอดเขียวขึ้นและเริ่มสร้างคัลลัสตรงบริเวณรอยตัดที่ยังมีชีวิตอยู่ คัลลัสเหล่านี้เริ่ม differentiateให้ green nodule ในสัปดาห์ที่ 7 ตายอด differentiate ให้คัลลัสไม่มากเมื่อเทียบกับคัลลัสที่ได้จากใบอ่อน (ตารางที่ 6) เนื่องจากเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ตายไป

3.2 ข้อ เมื่อนำ culture ออกจากที่มืด เนื้อเยื่อส่วนใหญ่มีสีขาวครีมเฉพาะบริเวณรอยตัดที่สัมผัสกับอาหารวุ้นมีสารสีน้ำตาลเล็กน้อย เห็นชิ้นส่วนใหญ่ขึ้นมาก เนื้อเยื่อเริ่มมีสีเขียวหลังจากอยู่ในแสงสว่าง 3-4 วัน บริเวณรอยตัดเริ่มพูขึ้น เห็นเป็นคัลลัสใส ๆ และชิ้นส่วนเขียวขึ้น ในสัปดาห์ต่อมา เนื้อเยื่อรอบรอยตัดพูมากขึ้นเล็กน้อยและ differentiate เป็นคัลลัสซึ่งจะเจริญและเปลี่ยนไปเป็น green nodule ในสัปดาห์ที่ 8 คัลลัสที่เจริญจากข้อมีปริมาณใกล้เคียงกับคัลลัสที่ได้จากตายอดแต่น้อยกว่าใบมาก (ตารางที่ 6)

3.3 ใบอ่อน เมื่อนำ culture ออกจากที่มืดจะเห็นว่าใบอ่อนมีขนาดใหญ่ขึ้น มีสีขาวครีม เนื้อเยื่อผลิตสารสีน้ำตาลเพียงเล็กน้อย บางชิ้นส่วนไม่ผลิตเลย เนื้อเยื่อใบเริ่มมีสีเขียวหลังจากเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง 2-3 วัน และเริ่มเกิดคัลลัสตามบริเวณรอยตัดในอีก 5-6 วันต่อมา มีบางชิ้นส่วนที่เจริญให้คัลลัสลอยตัวที่ยังอยู่ในที่มืด ต่อมาขนาดคัลลัสมีขนาดใหญ่มากขึ้นในสัปดาห์ที่ 5 เห็นคัลลัสสีครีมเป็นส่วนใหญ่ คัลลัสเหล่านี้ประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะเป็น isodiametric มากมาย แต่มีบางส่วนที่เริ่ม differentiate เป็น green nodule นำคัลลัสระยะนี้มาชักนำให้เกิดมวลเซลล์ (ภาพที่ 2, 3)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบปริมาณศัลลัล่ที่เจริญจากอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉลี่ยจากการทดลอง ละ 30 ซ้ำ

ส่วนของพืช	ปริมาณศัลลัล่ (คะแนน)
ตายอด	1
ข้อ	1
ใบอ่อน	3

1 = ปริมาณศัลลัล่หนักประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักสด)

3 = ปริมาณศัลลัล่หนักประมาณ 3 กรัม (น้ำหนักสด)

4. ผลของ EMS ต่ออัตราการตายของศัลลัล่และ green nodule

นำศัลลัล่ที่เลี้ยงจากใบอ่อนที่มีอายุ 5-6 สัปดาห์มักทำให้เกิดมิวเตชัน โดย

4.1 แช่ศัลลัล่ใน EMS 25 ppm. (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2 แช่ศัลลัล่ใน EMS 25 ppm. (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.3 แช่ศัลลัล่ใน EMS 50 ppm. (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.4 แช่ศัลลัล่ใน EMS 50 ppm. (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.5 ปล่อยให้เกิดขึ้นเอง ซึ่งใช้เป็น control

การแช่ศัลลัล่ในสารละลาย EMS ซึ่งเป็น alkylating agent ในความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กันดังกล่าว ผลของ EMS ทำให้ศัลลัล่ตายไปบางส่วน ลักษณะการตายของศัลลัล่นั้น ศัลลัล่จะค่อย ๆ เปลี่ยนจากสีขาวครีมเป็นสีน้ำตาล จนในที่สุดเป็นสีน้ำตาลดำ ส่วนที่เป็น green nodule มีความสามารถทนต่อสารละลาย EMS มากกว่า (ตารางที่ 7, ภาพที่ 4)

ตารางที่ 7 ผลของ EMS ต่อการตายของคัลลัสและ green nodule โดยเฉลี่ยจากการทดลองละ 20 ซ้ำ

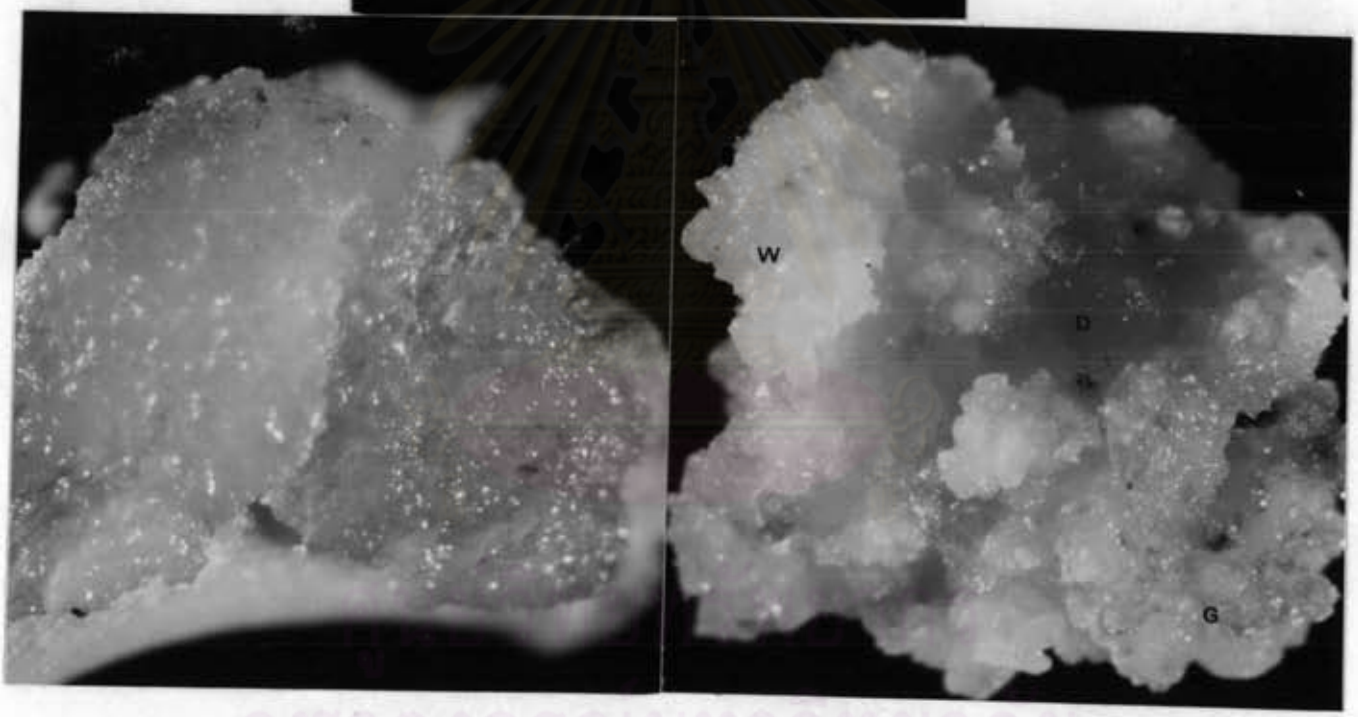
EMS (ppm.)/เวลา (ชม.)	ปริมาณคัลลัสที่ตาย (%)	
	คัลลัสสีขาว	green nodule
25/24	11.25	10.75
25/48	16.25	12.50
50/24	23.5	12
50/48	30.75	10.75
Control	0	0

5. ผลการศึกษาการเจริญและพัฒนาของคัลลัสที่ชักนำจากใบอ่อนด้วยลายตา

ลักษณะทางกายวิภาคของคัลลัสที่เจริญจากใบอ่อนและส่วนอื่นมีลักษณะคล้ายกัน เนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยงในวุ้นอาหารเพื่อชักนำให้เกิดคัลลัสจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง เห็นกลุ่มเซลล์เจริญออกจากรอยตัดหลังจากเลี้ยงในอาหารสูตร MSC ประมาณ 5-6 วันในที่ล่วงต่อจากนั้นกลุ่มเซลล์แบ่งตัวเพิ่มขึ้นโดยเบียดกันอยู่ เรียกกลุ่มเซลล์ในระยะนี้ว่า คัลลัส (ภาพที่ 2, 3)

เมื่อแช่คัลลัสในสารละลาย EMS แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MSC ขวดใหม่ ประมาณ 2 สัปดาห์ คัลลัสบางส่วนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไป (ภาพที่ 4) คัลลัสสีขาวครีมหรือสีเขียวที่อยู่รอดจะแบ่งตัวและขยายขนาดขึ้น เมื่อย้ายลงสู่อาหารวุ้นสูตร MS เพื่อชักนำให้เกิด regeneration คัลลัสส่วนใหญ่เริ่มเปลี่ยนเป็น white และ green nodule ภายใน 2 สัปดาห์ มองคล้ายมียอดอ่อน (growing point) เกิดขึ้น (ภาพที่ 5, 6) และเจริญไปเป็นยอด (ภาพที่ 7) ยอดที่ได้นี้คล้ายกับยอดของต้นอ่อนที่เจริญจากเมล็ด (ภาพที่ 8) รากเกิดขึ้นภายหลังโดยเจริญจากบริเวณส่วนโคนของต้น ขั้นตอนการเจริญของคัลลัสอ้อยจนเป็นต้นที่สมบูรณ์เป็นแบบ organogenesis คือ differentiate จากคัลลัสไปเป็นยอดก่อน แล้วจึงเจริญให้รากภายหลัง (ภาพที่ 9, 10)

ภาพที่ 2



ภาพที่ 3

ภาพที่ 4

ภาพที่ 2 คัลลัสที่เกิดจากใบอ่อนของอ้อย มีอายุ 5 สัปดาห์

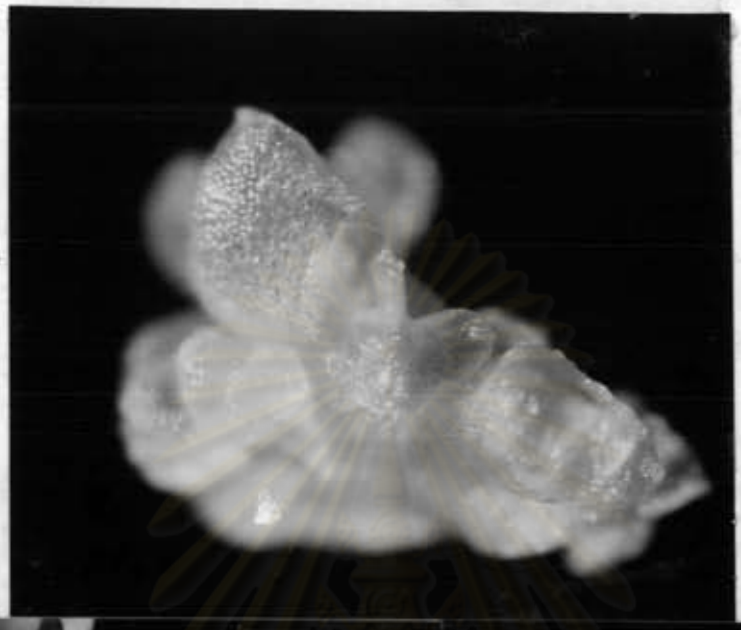
ภาพที่ 3 คัลลัสที่ขยายจากภาพที่ 2

ภาพที่ 4 ลักษณะคัลลัสหลังจากแช่ EMS แล้ว ผลของ EMS ทำให้คัลลัสบางส่วนเปลี่ยนไป

D คือ บริเวณที่คัลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและจะตายไปในที่สุด

W คือ บริเวณที่คัลลัสมีสีขาวครีม ส่วนนี้จะเจริญไปเป็น green nodule

G คือ บริเวณที่คัลลัสมีสีเขียว ซึ่งคัลลัสเริ่ม differentiate ไปเป็นยอดแล้ว



ภาพที่ 5

ภาพที่ 6

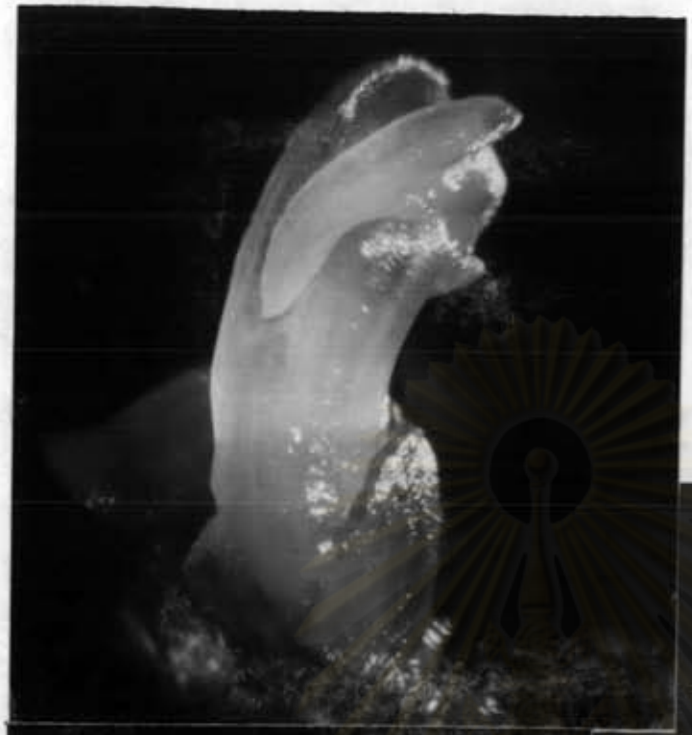
ภาพที่ 7

ภาพที่ 5 ระยะ white และ green nodule ซึ่งจะเจริญต่อไปเป็นยอด

ภาพที่ 6 ระยะ green nodule ที่เจริญมากขึ้น

ภาพที่ 7 green nodule ที่เริ่มพัฒนาไปเป็นยอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 8

ภาพที่ 9

ภาพที่ 10

ภาพที่ 8 ยอดที่เจริญจาก green nodule เริ่มเห็นใบอ่อนโผล่ออกมา

ภาพที่ 9 ยอดที่ลำมูรณ์ที่พัฒนาจากยอดในภาพที่ 8 ในระยะนี้ยังไม่มีราก

ภาพที่ 10 อ้อยที่ลำมูรณ์มีต้นและราก พร้อมที่จะนำออกจากขวด

ในการ regeneration ของคัลลัสนี้ บางครั้งพบว่าแทนที่เจริญไปเป็นยอด กลับเจริญและเปลี่ยนแปลงไปเป็นใบ (ภาพที่ 11, 12) แล้วเจริญไปเป็นต้นโดยไม่เจริญเป็น growing point ก่อน

6. การขยายปริมาณคัลลัสและชักนำให้เจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์

นำคัลลัสที่ผ่านการแช่ด้วย EMS ย้ายมาเลี้ยงในอาหารสูตร MSC ขวดใหม่ (MS + 2,4-D 3 ppm. + น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อชักนำคัลลัสที่อยู่รอดขยายปริมาณมากขึ้น จากนั้นจึงย้ายคัลลัสลงสู่อาหารสูตร MS เพื่อชักนำให้ regenerate ไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ คัลลัสบางส่วนจะ regenerate ไปเป็นยอดเมื่ออยู่ในอาหารสูตร MS แล้ว ประมาณ 2 สัปดาห์ (แต่บางส่วนอาจตายไป) และเจริญให้ต้นที่สมบูรณ์ภายในเวลา 4-5 สัปดาห์ ถ้าวัดขนาดของต้นที่ได้ในระยะนี้จากโคนถึงปลายใบมีขนาดประมาณ 3-5 เซ็นติเมตร เมื่อมีรากเกิดประมาณ 4-5 รากจึงนำออกปลูก

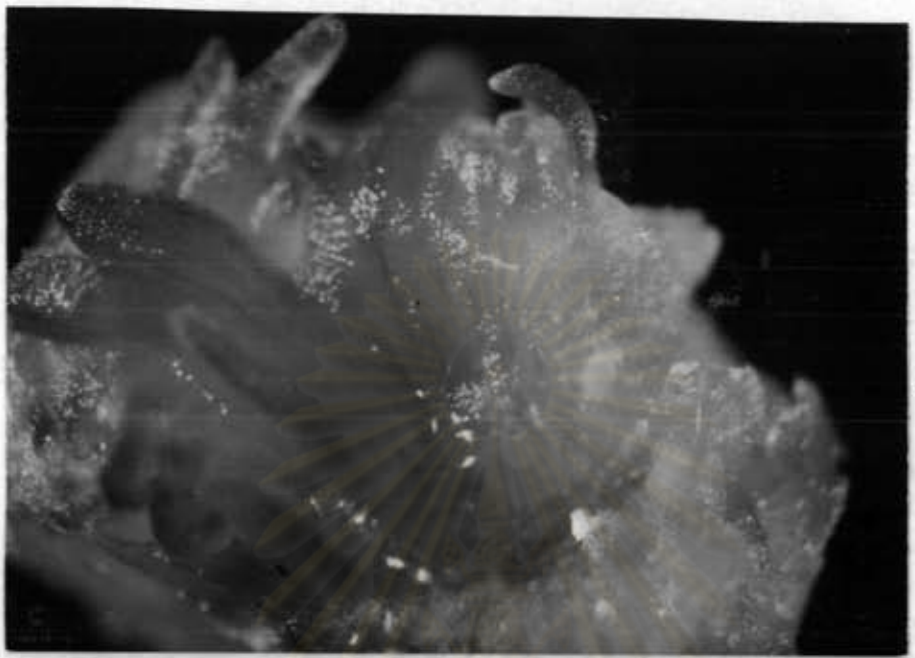
7. ผลการศึกษาวิธีปลูกกล้าอ้อยจากเนื้อเยื่อในสภาพแวดล้อมภายนอก

สภาพแวดล้อมภายในหลอดทดลองและภายนอกนั้นต่างกันมากทั้งในด้าน อุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง ฯลฯ อ้อยที่เลี้ยงในหลอดทดลองจึงไม่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ทันที ดังนั้น จึงได้ศึกษาวิธีการปลูกอ้อยจากเนื้อเยื่อที่ย้ายออกจากหลอดทดลองโดยปลูกในเครื่องปลูกต่าง ๆ ในถ้วยพลาสติกขนาด 300 มิลลิลิตรที่เจาะรูที่ฐาน 5 รู ดังนี้

7.1 ปลูกกล้าอ้อยในส่วนผสมของดินนา : ทรายหยาบ : ปุ๋ยคอกในอัตราส่วน 2:1:1 ที่นึ่งฆ่าเชื้อในสภาพแวดล้อมดังนี้

7.1.1 ในสภาพแวดล้อมปกติ

7.1.2 ในกระโจมพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำเป็นละอองฝอย จนความชื้นสัมพัทธ์สูงถึงประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ วันละ 5 ครั้ง



ภาพที่ 11

ภาพที่ 12

ภาพที่ 11 ใบอ่อนที่เจริญจากกลัสลัสโดยตรงโดยไม่ผ่านระยะ green nodule

ภาพที่ 12 กลุ่มใบเล็ก ๆ ที่เจริญมาจากใบในภาพที่ 11 ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นยอด โดยไม่เจริญเป็น growing point ก่อน

ผลการทดลองอ้อยไม่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปอย่างฉับพลันได้ เนื่องจากความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศภายนอกและในกระโจมพลาสติกต่ำกว่าในหลอดทดลองมาก ทำให้กล้าอ้อยแสดงอาการปลายใบเหี่ยวภายใน 10 นาที จึงค่อยตายไปในที่สุด กล้าอ้อยที่ปลูกในสภาพแวดล้อมปกติมีอัตราการตายถึง 90.91 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) ความชื้นสัมพัทธ์ในกระโจมพลาสติกสูงกว่าความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศเล็กน้อยเท่านั้น กล้าอ้อยจึงยังคงมีอัตราการตายสูงถึง 81.25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

7.2 ปลูกกล้าอ้อยในแกลบเผาที่ล้างสะอาด แล้วปล่อยให้กล้าอ้อยปรับตัวในกระบะพ่นหมอก ซึ่งพ่นน้ำทุก ๆ 1 นาที ครั้งละ 3 วินาที วิธีนี้ได้ผลดีกว่า 2 วิธีแรกที่ได้กล่าวมาข้างต้น แต่อัตราการตายยังคงสูงอยู่ถึง 64.29 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) เนื่องจากการเพิ่มความชื้นในบรรยากาศด้วยวิธีพ่นฝอยน้ำบ่อย ๆ ทำให้เชื้อราในเครื่องปลูกเจริญดีและเข้าทำลายต้นกล้าอ้อยด้วยโรคเน่าคอดิน กล้าอ้อยตายก่อนที่จะตั้งตัวได้

7.3 ปลูกกล้าอ้อยใน vermiculite ที่นึ่งฆ่าเชื้อและชุ่มด้วยสารละลาย Hoagland วางกล้าอ้อยในถุงพลาสติกแล้วฉีดพ่นด้วยน้ำสะอาดเพื่อเพิ่มความชื้นภายในถุง ปิดปากถุงแล้วนำกล้าอ้อยวางไว้บนชั้นที่มีแสงสว่างในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 5 วัน กล้าอ้อยเริ่มแตกรากสีขาวออกมา 5-6 ราก และใบอ้อยไม่แสดงอาการเหี่ยวเลย ระยะนี้กล้าอ้อยสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้แล้ว เนื่องจากมีรากมากขึ้นทำให้สามารถดูดน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ หลังจากนั้นนำกล้าอ้อยออกจากห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ เปิดปากถุงพลาสติกแล้ววางกล้าอ้อยบนชั้นใต้หลังคาเพื่อรับแสงสว่างครึ่งวันเช้าเป็นเวลา 3 วัน ต่อมาจึงนำถุงพลาสติกออก วิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อย ๆ ปรับกล้าอ้อยกับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ผลดีที่สุด โดยมีอัตราการตาย 31.18 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) การใช้ vermiculite ทำให้รากสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว จึงสามารถตั้งตัวได้ในเวลาไม่นานนัก

การปรับกล้าอ้อยจากหลอดทดลองให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอก จำเป็นต้องทำทีละขั้นตอน การใช้ vermiculite ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วดีกว่าการใช้ดินผสมที่นึ่งฆ่าเชื้อหรือแกลบเผาล้างสะอาดเนื่องจากรากสามารถชอนไชระหว่างก้อน vermiculite ได้ง่ายกว่า อีกทั้ง vermiculite อยู่กันอย่างหลวม ๆ ทำให้รากได้รับออกซิเจนอย่างทั่วถึง การให้ความชื้นโดยวางกล้าอ้อยในถุงพลาสติกเป็นการคงสภาพแวดล้อมให้คล้ายกับในหลอด

ทดลองมากที่สุด ทำให้กล้าอ้อยมีอัตราการตายน้อยที่สุด นอกจากนี้ขนาดของกล้าอ้อยในระยะเอาออกจากหลอดทดลองมีส่วนสำคัญต่อการอยู่รอด กล้าอ้อยที่นำออกจากหลอดควรมีความสูงนับจากโคนถึงปลายใบประมาณ 6-7 เซนติเมตรและมีรากที่สมบูรณ์

ตารางที่ 8 ผลการศึกษาวิธีการปลูกกล้าอ้อยจากหลอดทดลองในสภาพแวดล้อมภายนอก

การทดลอง	จำนวนทั้งหมด (ต้น)	จำนวนตาย (ต้น)	จำนวนรอด (ต้น)	เปอร์เซ็นต์ตาย	เปอร์เซ็นต์รอด
ดินผสม + สภาพแวดล้อมปกติ	154	140	14	90.91	9.09
ดินผสม + กระโจมพลาสติก	192	156	36	81.25	18.75
แกลบเผา + กระบะพ่นหมอก	196	126	70	54.29	35.71
vermiculite + ถุงพลาสติก	741	231	510	31.18	68.82

8. ผลการศึกษามิวเตชันทางด้านการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เมื่อกล้าอ้อยที่นำออกจากขวดหรือหลอดทดลองมาปลูกในสภาพธรรมชาติภายนอกโดยปลูกด้วย vermiculite จนกล้าอ้อยตั้งตัวดีแล้วซึ่งใช้เวลาประมาณ 15 วัน จึงย้ายมาปลูกที่เรือนเพาะชำสถานีอ้อยกาญจนบุรี กระทรวงอุตสาหกรรม โดยเปลี่ยนมาปลูกในถุงพลาสติกขนาด 8 x 10 นิ้ว และใช้ดินเป็นเครื่องปลูก วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design ทั้งหมด 5 การทดลอง การทดลองละ 8 บล็อค แต่ละการทดลองในแต่ละบล็อคมี 10 ต้น เมื่อปล่อยให้กล้าอ้อยที่ย้ายมานี้ปรับตัวเข้ากับสภาพที่ปลูกใหม่เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จึงเริ่มสังเกตผลของมิวเตชันด้านการเจริญ เช่น ความสูง ขนาดต้น (วัดจากเส้นผ่าศูนย์กลางรอบโคนต้น) รูปร่างและขนาดใบโดยวัดความกว้างของใบ (จากบริเวณที่กว้างที่สุด) และความยาวของใบตั้งแต่คอใบถึงปลายใบ ซึ่งลักษณะเหล่านี้บันทึกผลทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ติดต่อกัน ยกเว้นความหนาและรูปร่างของ dewlap ของใบ วัดเฉพาะในสัปดาห์ที่ 4 ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 9, 10, 11, 12 จะเห็นว่า

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบความสูงของต้นอ้อยที่เจริญจากหน่อที่ได้รับ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่ได้รับ EMS วัดผลเมื่อหน่ออายุ 22, 29, 36 และ 43 วัน

บล็อกที่	อายุหน่ออ้อย (วัน)	ความสูงของต้น (ซม.)																													
		EMS 25 ppm/24 ชม.						EMS 25 ppm/48 ชม.						EMS 50 ppm/24 ชม.						EMS 50 ppm/48 ชม.						EMS 0 ppm.					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	22	11.7	14.5	13.4	13.1	16.2	11.4	8.6	10.9	4.4	13.5	10.5	15.5	12.6	14.8	4.4	8.4	7.7	10.0	8.2	10.4	13.9	9.7	12.2	6.2	5.5	9.2	8.4	13.4	11.6	10.1
	29	16.4	17.2	11.3	13.8	17.0	16.8	12.9	16.1	7.3	21.4	13.6	15.5	15.8	18.2	5.1	11.9	9.2	13.9	9.8	15.7	18.0	15.5	14.7	8.3	12.0	13.9	12.1	15.4	17.7	16.6
	36	20.2	21.9	22.4	18.3	23.5	23.6	18.0	19.6	11.9	26.5	18.4	19.5	19.0	20.2	8.5	13.3	13.8	18.0	14.9	19.0	19.0	20.1	19.8	13.2	16.1	17.5	17.2	19.2	21.5	21.2
	43	26.7	25.9	22.8	23.8	27.0	28.1	21.9	24.5	15.5	26.9	22.0	23.2	22.5	23.2	13.0	15.2	17.0	22.4	20.0	22.2	22.3	24.7	22.2	17.0	17.9	21.4	22.5	21.7	27.1	21.1
2	22	9.3	12.4	7.7	12.5	13.4	15.0	17.4	12.7	5.8	5.7	7.4	10.5	7.5	10.5	6.5	5.2	14.5	11.4	10.3	11.5	15.5	6.6	12.4	13.9	7.3	5.2	7.1	6.1	10.4	13.1
	29	11.3	15.8	11.5	19.0	17.0	19.3	18.9	12.9	11.3	10.5	14.5	10.8	8.9	15.4	10.5	10.7	18.3	14.5	13.1	15.5	19.0	10.2	15.8	17.8	12.0	10.9	10.9	9.9	16.5	17.1
	36	15.9	21.3	17.0	23.5	20.7	26.2	24.8	15.6	16.2	17.3	19.5	14.5	12.7	20.5	14.3	15.9	26.0	19.8	18.7	20.5	24.0	16.3	21.8	22.5	15.9	15.9	18.0	14.5	22.5	23.6
	43	18.9	26.9	20.4	25.3	24.1	26.1	29.8	21.5	21.3	22.7	22.7	18.9	15.7	25.2	19.1	21.5	29.2	22.2	24.0	22.1	24.2	18.4	23.4	22.8	19.2	18.2	20.9	18.0	25.6	27.0
3	22	10.5	11.9	12.1	7.9	10.7	18.0	2.9	12.5	7.2	13.4	7.9	15.2	9.4	8.0	4.4	10.5	11.2	7.6	8.5	8.5	9.0	6.0	7.0	10.0	3.9	8.0	7.2	3.7	9.5	9.8
	29	15.0	18.4	14.5	11.2	14.0	18.9	7.4	19.0	10.0	18.8	13.2	21.0	12.7	10.8	14.8	14.9	10.8	14.5	11.3	12.2	9.0	10.9	13.2	15.6	6.4	8.3	12.0	7.9	13.5	12.3
	36	20.8	23.6	18.6	15.6	19.4	21.6	10.7	21.2	14.0	22.2	18.3	23.8	17.0	15.9	19.9	19.5	13.8	18.2	15.4	14.3	12.0	14.6	17.3	19.0	12.0	16.2	17.6	13.0	16.8	16.4
	43	24.7	28.6	23.7	19.4	22.0	24.1	14.2	25.3	17.3	24.0	21.1	24.1	21.1	19.0	24.2	23.3	18.5	20.7	20.7	19.7	16.5	19.1	23.1	23.0	15.3	21.3	21.5	16.8	19.5	20.5
4	22	10.6	13.4	4.8	10.4	10.1	8.2	5.9	8.1	12.5	7.2	7.5	10.7	11.5	14.2	9.6	11.6	8.5	11.0	10.4	15.3	12.3	10.2	11.9	10.4	7.8	6.4	7.4	12.9	10.4	7.5
	29	15.6	17.0	8.3	16.7	13.6	12.5	9.2	11.8	15.2	9.4	8.9	17.8	16.7	16.7	15.4	17.8	12.0	14.8	13.5	18.8	16.5	14.0	15.0	14.5	11.0	13.7	18.5	12.9	15.8	15.5
	36	21.4	20.2	12.8	21.2	19.2	17.5	12.5	16.1	21.4	14.6	13.0	13.6	23.0	22.6	22.2	25.0	17.5	20.0	18.7	24.4	21.6	20.5	20.0	19.7	16.4	15.0	15.5	18.4	19.3	13.7
	43	29.5	21.1	25.5	24.7	23.9	18.5	17.0	19.3	25.2	18.7	17.3	27.7	26.8	26.7	25.1	26.8	19.4	24.2	21.4	25.5	22.5	21.5	22.9	22.6	19.7	14.6	18.3	21.6	22.0	19.0
5	22	12.2	13.0	11.2	14.5	11.6	15.3	15.5	7.9	10.4	8.6	7.6	11.5	10.0	11.0	5.4	11.7	10.4	7.4	14.0	8.5	8.3	7.8	4.0	13.6	5.9	9.9	8.6	9.4	11.7	8.4
	29	17.5	17.5	13.3	19.6	15.9	20.5	18.8	13.0	12.5	10.7	8.4	19.0	14.5	13.3	8.8	18.8	12.5	10.5	10.4	13.9	10.4	13.5	14.0	8.7	10.4	14.0	10.4	13.2	14.0	8.5
	36	25.0	24.0	18.7	25.9	19.5	24.0	15.5	19.2	25.5	18.8	22.2	20.8	18.5	18.0	14.4	24.1	17.7	16.4	23.3	19.1	18.0	14.0	13.2	23.3	15.3	18.4	16.2	20.5	18.0	13.2
	43	26.4	23.5	20.9	27.3	24.3	25.0	19.5	21.4	27.8	22.4	26.9	22.7	21.7	20.1	17.5	28.7	22.4	17.4	24.1	21.1	19.4	15.2	16.6	22.3	18.7	18.8	19.0	24.0	22.1	18.2

ตารางที่ 10 การแปรของเส้นผ่าศูนย์กลางของโหนดที่เจริญจากตัวอ่อนที่ได้รับ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่ได้รับ EMS วัดและเมื่อกล้าอายุ 22, 29, 36 และ 43 วัน

บล็อกที่	อายุกล้าอ้อย (วัน)	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.)																											
		EMS 25 ppm/24 ชม.						EMS 25 ppm/48 ชม.						EMS 50 ppm/24 ชม.						EMS 50 ppm/48 ชม.						EMS 0 ppm.					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	22	3.34	4.02	4.30	3.60	4.70	3.74	3.30	3.94	2.00	5.30	3.46	3.74	4.00	3.92	1.80	3.20	3.20	3.70	3.60	4.20	4.24	4.34	3.30	2.60	3.42	3.50	3.06	3.66	5.28	3.94
	29	5.00	5.30	5.90	5.00	6.60	6.50	4.52	6.50	2.80	8.00	4.50	5.10	5.00	6.28	2.80	4.60	3.30	6.18	3.80	5.50	6.70	5.40	5.00	3.00	4.22	4.10	3.70	5.50	6.86	6.30
	36	7.10	7.10	6.60	6.16	8.60	9.30	6.16	7.50	4.52	7.20	5.68	6.70	6.40	6.40	3.50	4.10	4.12	6.28	4.40	5.50	6.20	6.60	5.50	3.92	4.48	5.16	4.72	5.78	7.50	6.40
	43	8.92	8.96	8.84	7.56	10.82	9.98	7.30	9.00	4.90	8.94	6.64	7.16	8.16	8.44	4 12	5.4	4.96	8.18	6.36	6.90	7.92	8.14	6.98	5 10	5.36	6.38	6.40	6.42	10.56	7.40
2	22	3.00	4.62	3.10	4.80	5.20	4.80	4.52	2.68	3.22	4.12	2.28	2.36	2.10	3.80	3.14	3.34	4.72	4.10	3.06	4.60	6.02	2.72	5.08	5.10	2.56	2.28	3.00	2.28	4.00	4.60
	29	3.50	5.70	3.90	6.50	7.26	7.40	6.68	3.20	4.20	4.30	6.80	3.70	4.20	8.08	3.30	5.30	8.80	7.00	4.20	5.50	7.46	3.40	6.68	6.80	3.70	3.80	4.52	3.30	5.10	7.10
	36	4.00	6.90	5.50	8.00	7.00	7.70	9.30	4.70	5.70	5.70	7.86	4.36	4.72	6.60	4.60	5.06	8.90	8.18	5.42	6.60	7.88	5.1	6.2	6.7	5.00	4.40	5.40	3.90	7.40	9.22
	43	4.90	8.70	7.26	8.80	9.62	9.42	10.6	5.82	6.90	7.56	8.80	5.64	5.70	7.74	5.58	6.06	10.10	8.30	6.70	7.12	7.90	5.44	7.76	8.1	6.20	5.42	6.72	5.20	8.64	10.10
3	22	4.24	4.72	4.20	3.14	3.90	5.80	1.90	5.60	2.46	4.52	2.90	6.00	2.76	2.60	3.30	3.44	2.50	3.64	2.90	3.80	2.70	2.76	3.10	3.70	3.20	3.20	4.30	2.72	3.40	2.60
	29	5.00	5.90	4.70	4.20	4.80	6.80	3.30	6.80	4.00	8.00	4.40	7.70	5.60	3.50	4.70	4.50	3.20	5.50	3.20	7.80	2.60	3.70	3.60	6.48	2.60	4.40	4.30	2.90	5.00	5.00
	36	6.90	8.00	6.60	5.60	6.50	6.90	3.50	7.18	5.00	5.30	5.00	7.86	6.10	4.20	6.20	5.92	3.84	5.30	4.92	5.92	4.00	4.50	5.84	6.22	3.50	5.82	5.70	5.68	6.10	5.40
	43	8.48	10.20	7.26	6.58	7.76	8.22	4.12	8.70	5.50	5.54	6.50	8.54	6.20	5.70	7.90	7.20	5.06	6.80	6.48	6.78	5.12	6.00	7.36	7.66	4.48	6.28	6.92	6.10	6.48	6.58
4	22	4.12	4.00	3.10	3.90	4.72	3.00	2.50	3.70	4.00	3.00	3.20	5.30	4.60	4.12	4.52	4.80	3.10	3.60	3.60	6.30	4.94	3.54	3.64	3.70	2.90	2.90	2.40	3.32	3.74	2.60
	29	5.24	4.82	3.24	5.30	4.72	4.00	2.68	4.48	5.50	3.50	3.50	6.90	5.50	5.20	5.40	6.00	4.12	4.80	4.20	5.90	5.28	4.50	4.70	4.20	3.40	3.10	3.60	4.70	4.12	3.10
	36	6.80	5.40	3.60	6.80	6.60	4.90	4.44	4.50	6.70	4.90	4.42	8.74	7.90	8.26	6.80	7.16	5.90	6.88	6.20	6.60	6.18	5.32	5.70	5.20	4.84	3.38	4.82	6.78	5.30	4.56
	43	8.12	6.58	4.60	8.12	7.86	6.60	4.82	5.90	7.60	5.56	5.80	9.90	8.64	8.50	8.00	9.28	5.90	7.52	6.50	9.20	8.16	8.24	7.50	7.58	6.00	4.12	6.00	7.90	6.18	5.50
5	22	4.82	4.22	3.26	5.30	4.00	5.90	3.04	3.40	4.48	3.20	4.40	3.54	4.00	4.30	2.80	4.52	4.52	3.14	4.10	3.64	3.40	3.70	2.70	5.68	3.74	3.40	2.58	3.54	3.00	3.20
	29	5.90	5.50	4.40	7.46	4.70	5.00	3.42	3.90	5.58	3.80	6.10	4.40	5.60	4.92	3.60	6.50	4.50	3.54	6.40	4.20	3.42	3.70	3.80	7.56	3.00	4.54	3.30	4.42	3.90	3.28
	36	7.76	6.30	4.82	9.60	6.50	6.68	4.60	5.46	7.40	5.30	7.32	6.30	8.50	6.20	4.30	7.48	6.10	4.14	6.40	5.20	5.32	4.60	4.22	6.00	4.20	3.90	4.10	5.58	5.60	5.30
	43	9.50	8.26	6.50	9.72	7.58	7.90	5.70	6.80	8.50	6.26	8.84	6.80	8.24	7.58	5.90	9.22	7.86	6.48	6.70	6.28	6.60	5.70	4.90	7.48	6.06	5.40	5.62	7.06	7.66	5.50

ตารางที่ 11 การแปรของขนาดและรูปร่างของใบอ้อยที่เจริญจากตัดสัดที่แช่ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่แช่ EMS วัดผลเมื่อกล้าอ้อยมีอายุ 22, 29, 36 และ 43 วัน

ขนาดและรูปร่างของใบ (ซม.)

EMS 25 ppm./24 ชม.

บล็อคที่	อายุกล้าอ้อย (วัน)	1 ก	1 ย	1 ย/ก	2 ก	2 ย	2 ย/ก	3 ก	3 ย	3 ย/ก	4 ก	4 ย	4 ย/ก	5 ก	5 ย	5 ย/ก	6 ก	6 ย	6 ย/ก
1	22	1.30	76.6	58.92	1.5	83.3	55.53	1.35	85.4	63.26	1.34	67.9	50.67	1.51	75.2	49.80	1.45	80.0	55.17
	29	1.37	76.6	55.91	1.5	83.7	55.80	1.39	85.8	61.73	1.34	67.9	50.67	1.59	85.8	53.96	1.47	80.1	54.49
	36	1.37	76.8	56.06	1.49	83.7	56.25	1.39	86.0	61.87	1.35	67.9	50.37	1.53	86.1	56.13	1.49	80.3	53.97
	43	1.37	76.8	56.06	1.51	83.7	55.43	1.39	86.0	61.87	1.34	67.9	50.37	1.57	86.1	51.59	1.49	80.3	53.97
2	22	1.00	60.4	60.4	1.01	63.8	68.12	1.00	55.2	55.20	1.44	85.1	59.10	1.27	73.6	57.92	1.33	75.2	56.54
	29	1.01	61.1	60.50	1.15	68.9	59.80	0.98	56.1	57.01	1.40	85.1	60.79	1.34	73.7	55.16	1.36	75.3	55.29
	36	1.02	60.2	59.02	1.19	68.8	57.82	0.99	56.2	56.88	1.43	85.1	59.51	1.33	73.4	55.11	1.33	75.6	56.67
	43	0.99	60.3	60.79	1.14	68.6	59.97	0.97	55.8	57.41	1.44	85.0	59.11	1.32	73.1	62.95	1.30	74.8	57.54
3	22	1.12	62.5	55.80	1.31	86.7	66.18	1.35	75.5	55.93	1.24	63.5	51.21	1.16	60.5	52.16	1.21	82.0	67.77
	29	1.16	62.0	53.54	1.36	88.0	64.71	1.21	76.3	62.95	1.22	63.9	52.38	1.09	61.0	55.96	1.31	82.3	62.87
	36	1.16	62.2	53.71	1.36	87.9	64.44	1.24	76.7	61.85	1.24	63.8	51.45	1.14	61.1	53.50	1.30	82.4	63.19
	43	1.08	62.2	57.49	1.33	87.3	65.73	1.22	76.5	62.50	1.26	63.6	50.64	1.13	61.1	53.88	1.27	81.8	64.21
4	22	1.31	82.81	63.21	1.07	66.90	62.52	0.67	37.30	55.84	1.67	73.10	62.69	1.23	86.30	70.39	1.26	65.50	51.98
	29	1.29	82.80	64.29	1.05	66.90	63.71	0.66	37.70	56.95	1.11	73.20	65.95	1.28	86.50	67.47	1.28	66.00	51.72
	36	1.25	82.50	66.00	1.10	66.80	60.62	0.67	37.70	56.44	1.14	73.30	64.30	1.26	86.50	68.87	1.26	65.90	52.14
	42	1.29	82.60	64.03	1.10	66.90	60.93	0.65	37.80	53.15	1.15	73.00	63.59	1.27	86.4	68.14	1.25	65.60	52.56
5	22	1.51	87.40	57.88	1.30	78.80	60.62	1.00	56.50	56.50	1.56	87.00	55.63	1.15	72.20	62.78	1.25	81.10	64.98
	29	1.56	87.10	55.83	1.30	79.00	60.58	0.98	56.10	57.24	1.50	86.70	57.80	1.12	72.00	64.40	1.27	81.00	63.68
	36	1.59	78.60	55.16	1.29	79.10	61.32	0.98	56.50	57.65	1.55	86.30	55.75	1.16	71.90	61.98	1.25	81.00	64.90
	43	1.57	87.70	55.86	1.29	79.40	61.74	0.98	56.00	57.03	1.55	86.00	55.34	1.10	72.00	65.45	1.24	80.00	64.52

EMS 25 ppm./48 ชม.

บล็อคที่	อายุกล้าอ้อย (วัน)	1 ก	1 ย	1 ย/ก	2 ก	2 ย	2 ย/ก	3 ก	3 ย	3 ย/ก	4 ก	4 ย	4 ย/ก	5 ก	5 ย	5 ย/ก	6 ก	6 ย	6 ย/ก
1	22	1.12	55.1	49.2	1.35	64.5	47.10	0.69	33.1	47.97	1.26	90.0	71.43	1.15	68.5	59.57	1.14	68.1	59.74
	29	1.14	55.6	48.94	1.37	64.6	47.15	0.69	33.3	48.26	1.30	90.1	69.52	1.16	68.4	59.06	1.15	68.2	59.30
	36	1.16	55.5	49.93	1.37	64.6	47.15	0.69	33.4	48.41	1.30	90.1	69.52	1.17	68.8	58.95	1.20	68.3	56.92
	43	1.18	55.8	63.45	1.37	64.9	47.37	0.69	33.4	48.40	1.30	90.4	69.75	1.17	68.8	58.90	1.20	68.3	57.11
2	22	1.40	80.2	57.29	0.86	42.5	49.19	1.01	57.0	56.44	0.98	44.1	45.00	1.10	59.4	54.0	0.88	46.6	52.83
	29	1.41	80.7	57.15	0.86	43.0	49.77	1.08	57.2	53.16	0.98	45.0	45.92	1.13	60.0	53.29	0.88	47.0	53.29
	36	1.41	80.8	57.22	0.86	43.3	50.35	1.09	57.5	52.75	0.98	45.0	45.92	1.12	60.3	53.14	0.88	47.0	53.17
	43	1.42	80.8	59.90	0.86	43.1	50.12	1.11	57.9	52.26	0.97	44.9	46.19	1.12	60.3	53.14	0.88	47.0	53.17
3	22	0.57	27.9	48.95	1.22	68.0	55.74	0.79	41.3	52.28	1.06	72.8	68.68	0.86	48.6	56.25	1.17	81.6	69.74
	29	0.57	28.1	49.30	1.25	68.5	54.80	0.83	41.5	49.76	1.08	73.4	67.84	0.85	48.3	56.82	1.22	82.2	67.60
	36	0.59	28.0	47.46	1.27	68.7	53.92	0.83	41.2	49.40	1.13	73.4	64.90	0.86	48.3	56.1	1.21	82.6	68.15
	43	0.58	28.2	48.62	1.27	68.3	53.95	0.81	41.6	51.11	1.12	72.5	64.50	0.84	48.4	57.62	1.21	81.7	67.52
4	22	0.86	40.00	46.51	1.05	61.20	58.29	1.56	87.3	56.03	0.87	45.50	52.06	1.03	54.80	53.20	1.58	76.40	48.35
	29	0.85	39.90	47.05	1.08	61.20	56.66	1.47	86.00	58.50	0.91	45.80	50.44	0.98	54.40	55.51	1.51	-	-
	36	0.84	39.80	47.16	1.07	61.00	57.01	1.55	86.10	55.53	0.86	45.60	52.78	1.00	54.80	54.80	1.55	-	-
	42	0.86	39.70	46.06	1.06	60.10	56.70	1.58	86.00	54.50	0.82	45.70	55.73	0.98	54.50	55.73	1.49	-	-
5	22	1.00	54.50	54.50	1.15	71.00	61.74	1.32	82.30	62.35	0.92	52.70	57.41	1.45	83.50	57.67	1.33	73.70	55.50
	29	0.97	54.60	56.06	1.18	71.30	60.32	1.30	82.40	63.38	0.91	52.50	57.69	1.40	83.50	59.64	1.37	74.00	54.01
	36	0.98	54.90	55.91	1.15	71.00	61.74	1.35	82.50	61.29	0.91	52.90	58.13	1.40	83.40	59.57	1.35	74.50	55.02
	43	0.98	54.90	55.91	1.07	70.60	65.98	1.35	82.30	61.05	0.92	52.80	57.77	1.50	83.40	55.60	1.36	73.70	54.11

EMS 50 ppm./24 ชม.

บล็อคที่	อายุกล้าอ้อย (วัน)	1 ก	1 ย	1 ย/ก	2 ก	2 ย	2 ย/ก	3 ก	3 ย	3 ย/ก	4 ก	4 ย	4 ย/ก	5 ก	5 ย	5 ย/ก	6 ก	6 ย	6 ย/ก
1	22	1.28	82.5	64.25	1.26	70.2	55.89	0.74	35.1	47.43	0.91	46.7	51.54	0.86	40.6	47.32	1.02	52.9	51.86
	29	1.36	82.5	60.48	1.28	70.5	50.08	0.74	35.4	47.84	0.92	46.9	50.76	0.93	41.5	44.72	1.03	53.1	51.55
	36	1.36	83.4	61.50	1.23	70.5	57.22	0.73	35.6	48.50	0.96	46.9	48.75	0.92	41.5	45.10	1.06	53.1	50.09
	43	1.35	83.2	61.63	1.28	70.6	55.53	0.74	35.6	48.24	0.92	47.9	52.18	0.92	41.5	45.11	1.06	53.4	50.38
2	22	0.50	41.0	82.0	1.12	78.8	70.36	0.86	47.4	55.12	1.04	52.3	50.29	1.23	73.4	59.67	1.20	64.0	53.33
	29	0.88	41.5	46.95	1.15	78.8	68.64	0.86	47.9	55.57	1.04	52.5	50.48	1.24	-	-	1.26	64.2	50.87
	36	0.89	41.5	46.63	1.15	79.2	68.98	0.87	48.0	55.30	1.04	52.9	50.87	1.28	-	-	1.28	64.2	50.22
	43	0.89	41.9	46.87	1.15	79.2	68.87	0.87	48.0	55.30	1.04	52.9	50.87	1.28	-	-	1.28	64.2	50.23
3	22	0.93	49.0	52.69	0.85	49.8	58.59	1.26	74.4	59.05	0.95	64.5	67.89	0.88	50.3	57.16	0.99	58.0	58.59
	29	0.95	50.4	52.94	0.85	49.5	57.96	1.28	74.3	57.96	0.92	65.0	70.65	0.89	50.7	56.97	0.98	58.6	59.67
	36	0.91	51.2	56.14	0.85	49.8	58.59	1.29	74.9	58.24	0.98	64.6	65.92	0.89	50.4	56.88	0.98	58.2	59.27
	43	0.92	49.9	54.00	0.84	49.6	59.19	1.27	74.2	58.52	0.98	-	-	0.87	49.8	56.98	0.97	58.5	60.19
4	22	1.39	73.90	53.17	1.39	82.00	58.99	1.39	77.40	55.68	1.40	84.70	60.50	1.00	52.20	52.20	1.17	71.00	60.68
	29	1.36	74.40	53.53	1.39	82.20	59.14	1.39	77.00	55.24	1.32	85.30	64.62	0.99	51.50	52.02	1.13	70.90	62.85
	36	1.36	73.80	54.26	1.39	82.40	59.28	1.35	77.10	57.28	1.37	84.90	61.97	1.00	51.80	51.70	1.16	71.40	61.66
	42	1.40	73.80	52.87	1.32	82.60	62.39	1.33	77.20	57.87	1.41	83.60	59.09	1.31	51.70	39.35	1.16	71.20	61.59
5	22	1.37	71.30	51.89	1.29	62.20	48.22	1.00	60.60	60.60	1.50	81.10	54.07	1.13	68.00	60.18	0.97	55.40	57.11
	29	1.39	71.70	51.58	1.27	62.00	48.74	1.01	59.30	58.71	1.50	81.00	54.00	1.13	67.80	60.00	0.94	55.50	58.92
	36	1.38	71.70	51.96	1.28	61.80	48.43	1.00	59.50	59.50	1.48	81.20	54.86	1.09	67.80	61.70	0.96	55.80	57.88
	43	-	-	-	1.92	61.80	47.91	1.02	59.80	58.63	1.53	81.00	53.08	1.12	68.10	60.80	0.98	55.50	56.86

EMS 50 ppm./48 ชม.

บล็อคที่	อายุกล้าอ้อย (วัน)	1 ก	1 ย	1 ย/ก	2 ก	2 ย	2 ย/ก	3 ก	3 ย	3 ย/ก	4 ก	4 ย	4 ย/ก	5 ก	5 ย	5 ย/ก	6 ก	6 ย	6 ย/ก
1	22	0.93	41.0	40.09	1.16	-	-	1.17	72.3	61.79	1.12	54.0	48.21	1.24	66.4	53.55	0.84	40.1	47.51
	29	1.28	41.5	32.42	1.16	-	-	1.21	72.5	59.91	1.11	54.6	49.37	1.24	66.0	53.23	0.86	40.7	47.22
	36	1.86	41.6	22.37	1.16	-	-	1.24	72.6	58.73	1.11	55.0	49.73	1.25	66.2	53.13	0.86	40.6	47.10
	43	1.86	41.6	22.37	1.16	-	-	1.22	72.6	59.51	1.11	55.1	49.46	1.25	66.2	53.04	0.84	40.6	48.33
2	22	1.10	58.8	53.45	1.02	58.5	57.35	1.46	77.5	53.08	0.81	46.1	56.91	1.33	65.5	49.25	1.27	70.5	55.51
	29	1.14	59.6	52.37	1.05	59.1	56.29	1.45	77.7	53.57	0.85	46.6	54.57	1.32	65.6	49.85	1.28	70.5	55.16
	36	1.10	59.3	53.91	1.05	59.0	56.19	1.50	77.7	51.80	0.90	47.8	53.11	1.33	65.3	48.95	1.20	70.1	58.42
	43	1.15	59.0	51.30	1.00	59.3	59.30	1.43	77.4	54.05	0.87	47.4	54.48	1.33	65.7	49.25	1.24	69.7	58.30
3	22	1.02	52.0	50.98	1.01	50.8	50.30	0.86	43.6	50.70	1.06	56.8	53.58	0.97	56.1	57.84	1.14	66.3	58.16
	29	1.02	52.5	51.47	1.05	51.1	48.67	0.85	44.2	52.12	1.03	57.1	55.44	0.99	56.7	57.04	1.15	67.1	58.45
	36	1.05	52.2	49.62	1.02	50.4	49.51	0.88	44.0	50.00	1.07	57.1	53.46	1.00	56.3	56.30	1.17	66.8	57.19
	43	1.04	52.3	50.19	1.02	50.3	49.41	0.84	43.8	52.27	1.04	57.0	54.81	1.00	56.5	56.72	1.20	67.0	55.93
4	22	1.08	62.00	57.40	1.48	77.90	52.64	1.48	81.00	54.80	1.13	60.90	53.89	1.19	68.10	57.23	1.20	70.00	58.33
	29	1.07	61.90	57.85	1.49	78.00	52.28	1.48	81.00	54.73	1.14	64.90	56.93	1.21	68.00	56.20	1.21	71.30	58.83
	36	1.09	61.20	56.35	1.52	77.80	51.12	1.47	80.70	55.05	1.12	63.50	56.49	1.27	68.00	53.54	1.21	71.30	58.83
	42	1.07	60.50	56.54	1.55	77.50	50.06	1.47	80.20	54.41	1.11	62.80	56.58	1.27	68.60	54.20	1.21	71.80	59.34
5	22	1.04	74.10	71.25	0.99	50.10	50.61	0.99	53.10	53.64	0.82	41.80	52.23	0.95	48.10	50.53	1.34	71.50	57.84
	29	1.05	74.30	70.76	0.94	50.00	53.08	0.96	53.00	55.44	0.79	41.70	52.78	0.97	48.10	49.49	1.28	77.40	60.47
	36	1.11	74.60	67.20	0.96	50.20	52.51	0.96	53.00	55.44	0.79	41.70	52.52	0.96	48.10	50.10	1.34	76.80	57.31
	43	1.30	74.00	71.84	0.96	50.00	52.08	0.98	52.80	53.77	-	-	-	0.96	48.20	50.10	1.42	76.90	54.15

EMS 0 ppm.

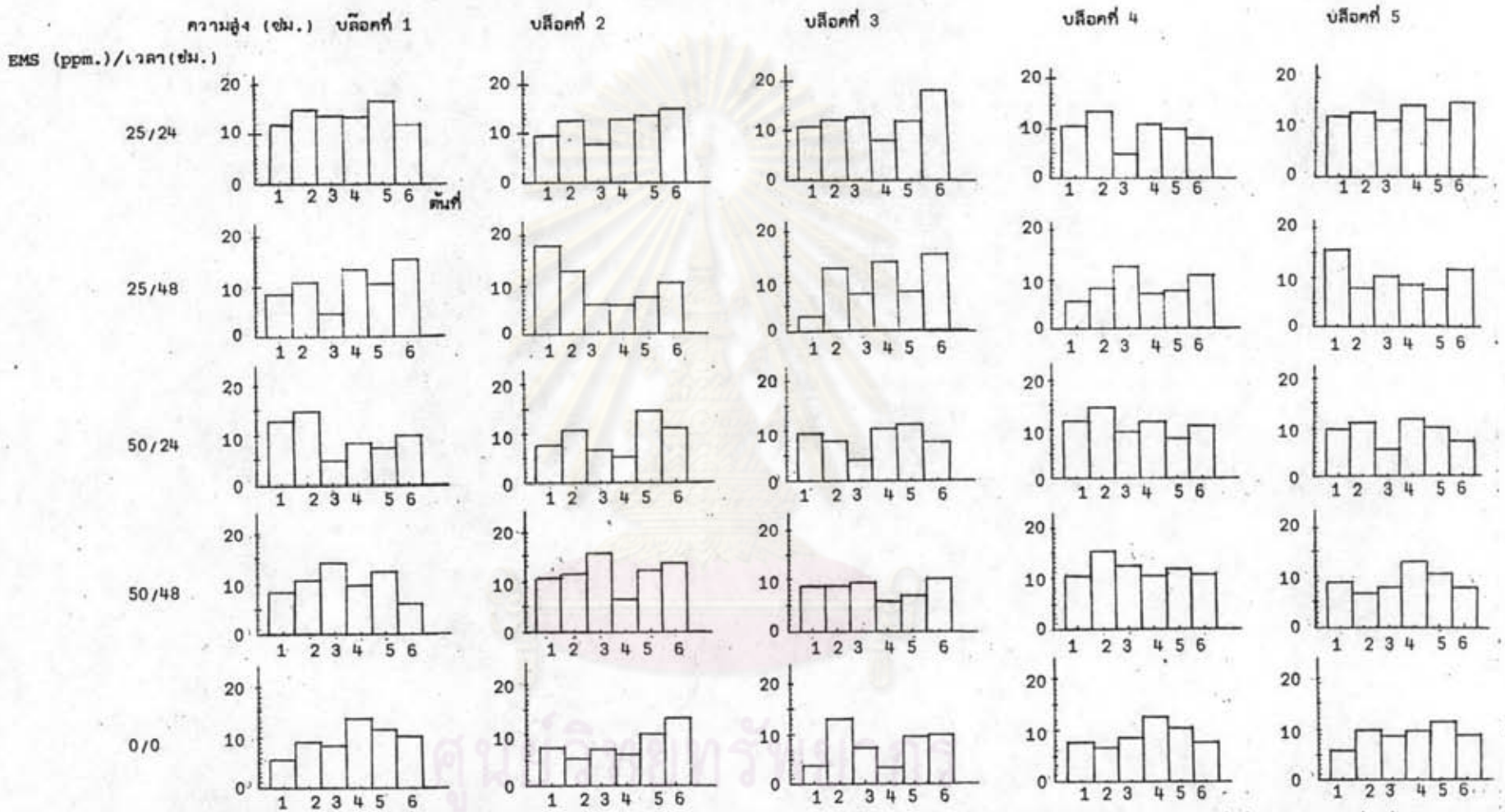
บล็อคที่	อายุกล้าอ้อย (วัน)	1 ก	1 ย	1 ย/ก	2 ก	2 ย	2 ย/ก	3 ก	3 ย	3 ย/ก	4 ก	4 ย	4 ย/ก	5 ก	5 ย	5 ย/ก	6 ก	6 ย	6 ย/ก
1	22	0.75	48.0	63.66	1.00	56.0	56.0	1.13	59.1	52.39	1.05	59.5	56.67	1.38	74.3	53.84	1.11	63.7	57.39
	29	0.88	48.6	54.98	1.0	56.5	56.5	1.17	59.7	51.20	1.05	59.5	56.77	1.40	75.0	53.57	1.14	63.7	55.97
	36	0.91	48.6	53.41	1.01	56.5	55.83	1.15	59.7	51.82	1.04	59.6	57.31	1.39	75.0	53.96	1.11	63.9	57.46
	43	0.86	48.8	56.48	1.02	56.5	55.28	1.14	59.7	52.28	1.01	59.6	59.01	1.34	75.7	56.32	1.11	63.9	57.36
2	22	0.93	50.4	54.19	0.83	45.5	54.82	0.86	42.0	48.84	0.75	38.5	51.33	1.20	77.4	64.50	1.43	77.3	54.06
	29	0.95	50.8	53.25	0.83	45.8	54.92	0.87	42.0	48.29	0.77	39.1	51.04	1.25	77.4	61.82	1.47	77.3	52.44
	36	0.96	50.8	52.92	0.84	45.7	54.40	0.88	41.9	47.72	0.76	39.0	51.05	1.25	77.5	62.20	1.47	77.2	52.45
	43	0.96	50.5	52.60	0.84	45.5	54.17	0.87	41.6	47.60	0.76	39.3	51.44	1.25	77.4	62.02	1.47	77.4	52.51
3	22	0.73	35.9	49.18	0.87	40.7	46.78	1.06	54.4	51.32	0.64	31.3	48.91	0.91	54.0	59.34	0.78	41.5	53.34
	29	0.76	36.0	47.37	0.87	40.9	47.01	1.05	54.7	52.00	0.65	31.7	49.07	0.89	54.0	60.40	0.84	41.7	49.41
	36	0.78	36.1	46.28	0.87	40.2	46.10	1.07	54.5	51.13	0.66	31.0	47.11	0.92	54.5	58.98	0.85	41.8	49.18
	43	0.78	35.8	45.78	0.86	39.8	46.17	1.03	54.3	52.72	0.64	31.9	50.16	0.91	54.1	59.19	0.82	41.8	51.10
4	22	0.98	51.90	52.96	0.78	35.70	45.77	0.94	48.50	51.82	1.32	69.80	52.88	1.15	64.80	56.35	0.95	46.50	48.95
	29	0.96	51.80	54.07	0.71	35.10	49.44	0.91	48.70	53.28	1.29	70.50	54.57	1.13	64.60	57.17	1.00	46.70	46.70
	36	0.98	52.10	53.16	0.72	35.20	48.75	0.96	48.60	50.52	1.31	70.40	53.91	1.13	64.70	57.26	0.94	46.50	49.26
	42	0.98	51.10	52.04	0.71	34.90	49.15	0.96	48.50	50.52	1.29	70.00	54.35	1.13	64.50	57.08	0.96	46.70	48.65
5	22	0.89	52.80	59.60	0.94	62.80	66.95	1.15	58.40	50.78	1.20	64.20	53.50	0.90	64.00	71.11	0.90	48.50	53.89
	29	0.85	52.30	61.67	0.94	62.60	66.74	1.00	58.30	58.30	1.16	64.00	55.17	0.94	64.30	68.70	1.01	48.00	47.52
	36	0.87	52.90	60.80	0.93	62.60	67.31	0.95	58.60	61.68	1.18	64.60	54.56	0.91	64.10	70.44	1.00	48.70	48.70
	43	0.86	52.50	61.05	0.92	62.00	67.25	0.98	58.90	60.22	1.14	64.40	56.49	0.97	64.40	66.12	1.00	48.60	48.60

ก = ความกว้าง ย = ความยาว ย/ก = อัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง

ตารางที่ 12 การแปรของความหนาของใบอ้อยที่เจริญจากตาที่ได้รับ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่ได้รับ EMS ปลูกในถุงเมื่อกล้าอายุ 43 วัน

บล็อกที่	อายุกล้าอ้อย (วัน)	ความหนา (ม)																											
		EMS 25 ppm/24 ชม.						EMS 25 ppm/48 ชม.						EMS 50 ppm/24 ชม.						EMS 50 ppm/48 ชม.						EMS 0 ppm.					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	43	15.83	17.17	18.11	16.94	18.83	17.78	15.83	16.00	14.61	17.00	15.22	14.61	18.33	-	12.89	15.44	13.94	18.06	11.39	15.78	17.28	15.72	16.72	14.67	13.92	15.48	15.44	15.44	16.72	16.42
2	43	15.00	17.33	15.17	16.78	19.00	18.39	18.39	14.78	16.50	15.83	17.06	14.78	16.00	15.39	14.67	14.06	17.67	17.78	16.56	15.89	15.06	15.67	16.22	14.44	16.67	14.83	17.22	16.22	19.61	19.39
3	43	15.72	18.61	15.22	14.67	16.28	16.17	11.44	14.39	12.83	14.39	14.94	14.11	14.56	13.33	16.33	-	13.50	15.28	14.11	15.22	13.00	15.39	13.89	16.61	13.00	15.11	16.56	12.83	13.89	13.00
4	43	16.94	16.83	12.89	17.72	17.56	16.39	13.11	16.11	18.56	14.11	15.83	-	17.50	17.89	19.00	19.00	15.28	15.89	16.50	17.78	16.89	15.11	16.22	15.83	15.44	13.11	16.94	14.83	16.72	15.11
5	43	18.00	18.83	16.33	16.78	17.28	17.67	14.78	15.78	17.67	14.00	16.50	16.72	-	17.94	17.17	16.67	17.78	15.00	15.06	15.94	15.39	-	15.22	16.06	13.89	14.33	13.28	16.28	14.22	14.22

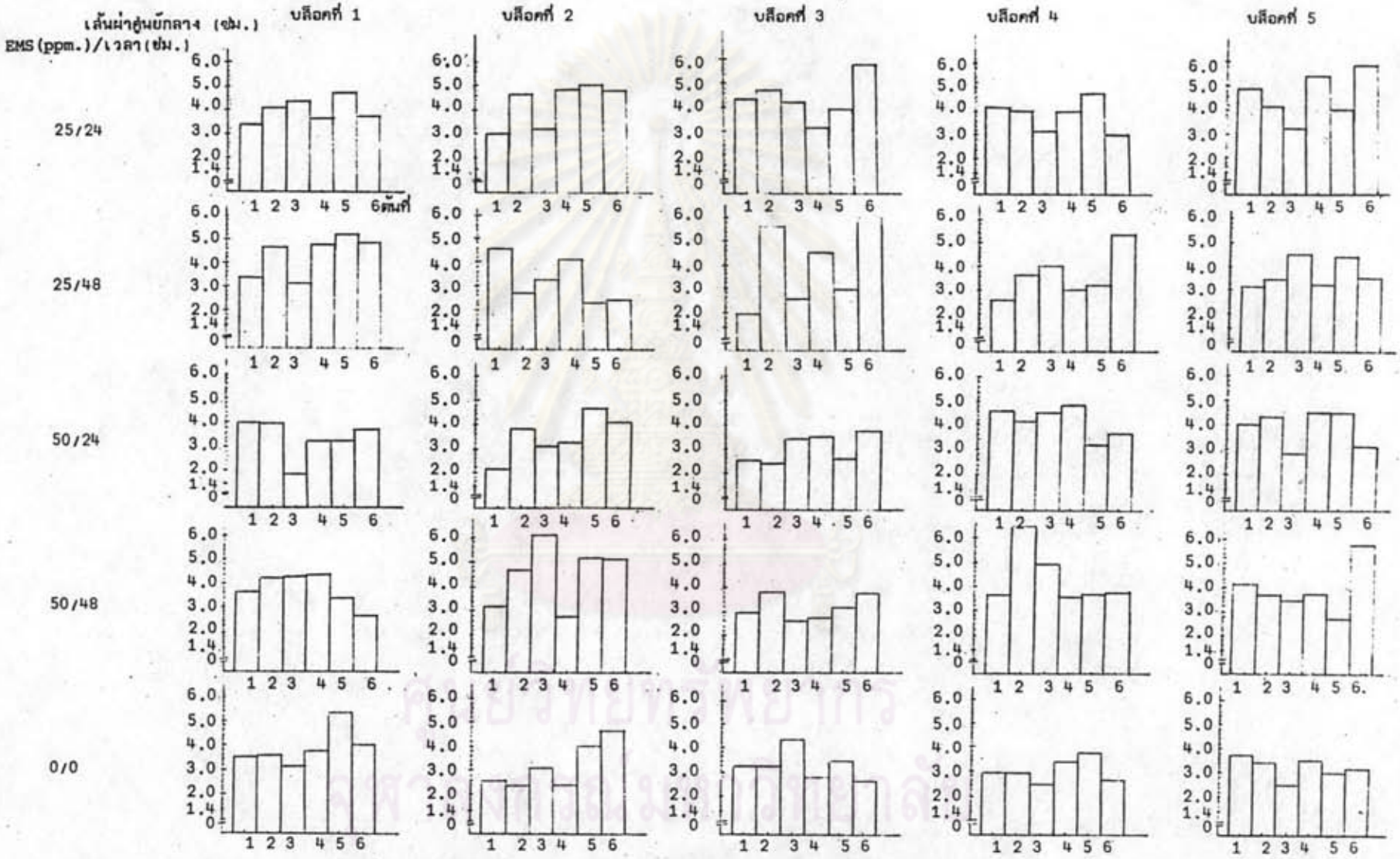
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางกราฟที่ 1 การแปรของความสูงของต้นอ้อยที่เจริญจากศัลลัสที่แช่ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่แช่ EMS วัดผลเมื่อกล้าอายุ 22 วัน

แกน x : แสดงลำดับที่ของต้นอ้อย อัตราส่วน 1 : 2

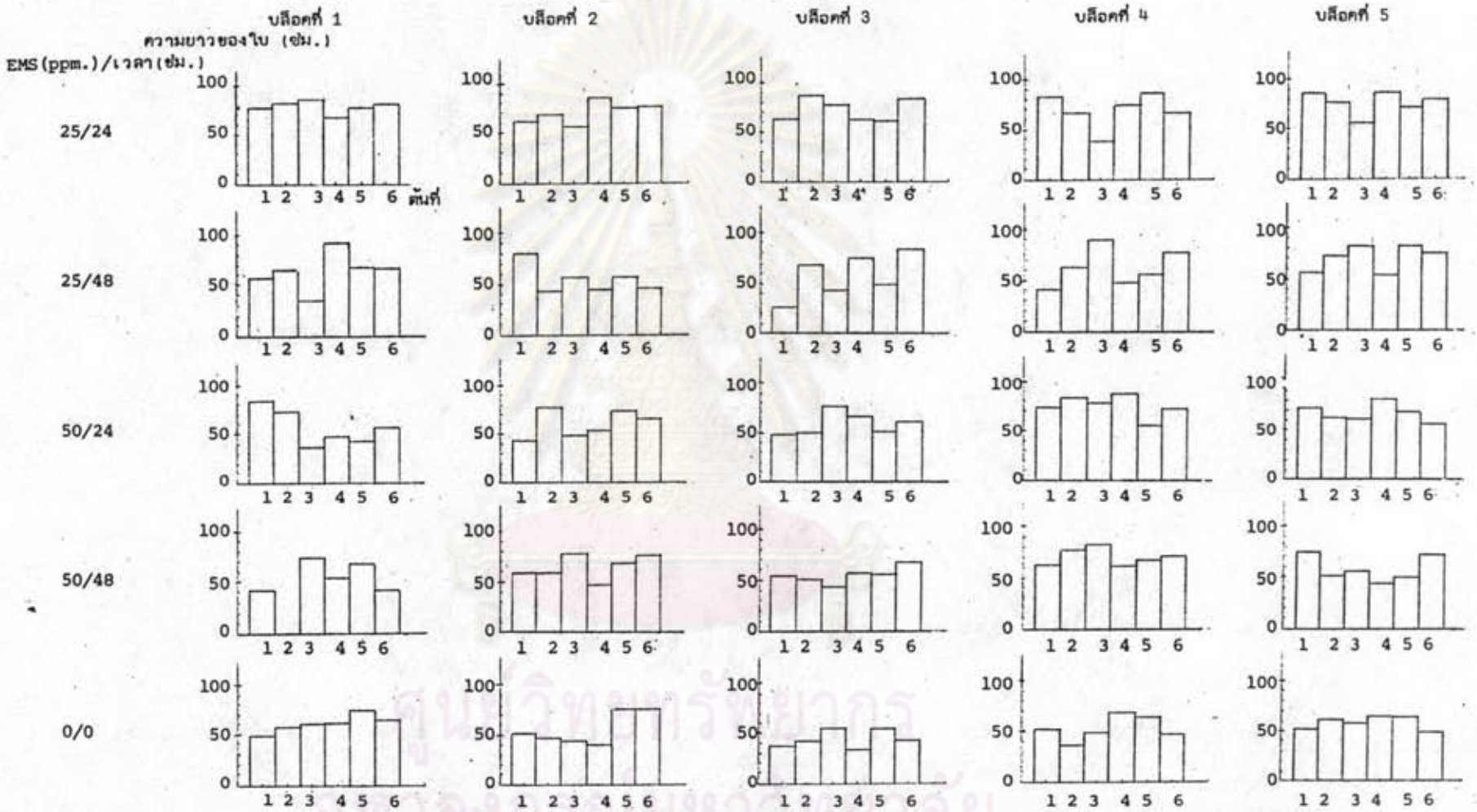
แกน y : แสดงความสูงของต้นอ้อย อัตราส่วน 1 : 10



ตารางกราฟที่ 2 การแปรของเส้นผ่าศูนย์กลางรอบโคนต้นของอ้อยที่เจริญจากศัลลัสที่แช่ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่แช่ EMS วัดผลเมื่อกล้าอ้อยอายุ 22 วัน

แกน x : แสดงลำดับที่ของต้นอ้อย อัตราส่วน 1 : 2

แกน y : แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางรอบโคนต้น อัตราส่วน 1 : 2

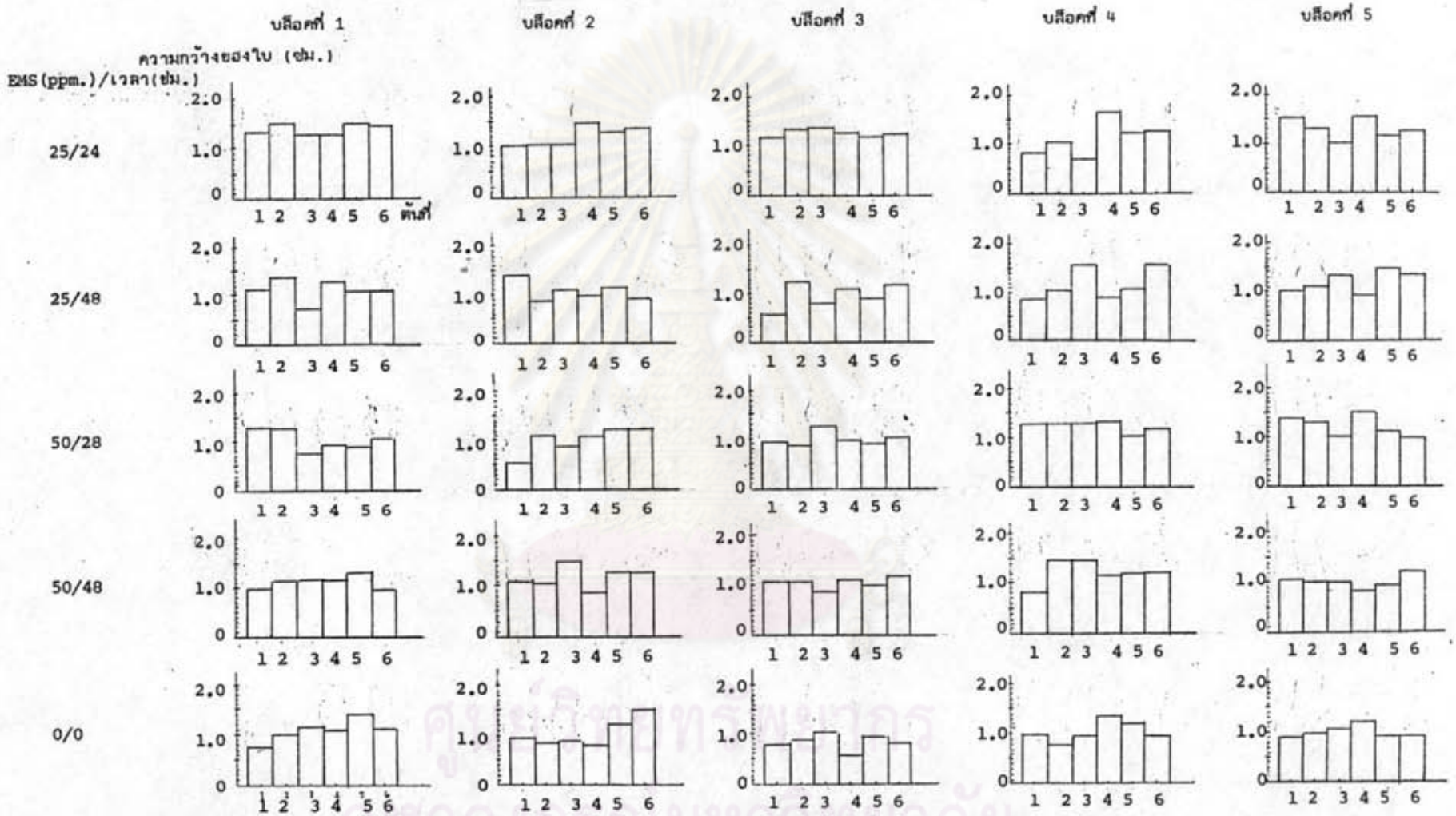


ตารางกราฟที่ 3 การแปรของความยาวใบของอ้อยที่เจริญจากตัดลิ่มที่แช่ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่แช่ EMS วัดผลเมื่อกล้าอ้อยอายุ 22 วัน

แกน x : แสดงลำดับที่ของต้นอ้อย อัตราส่วน 1 : 2

แกน y : แสดงความยาวของใบอ้อย อัตราส่วน 1 : 50

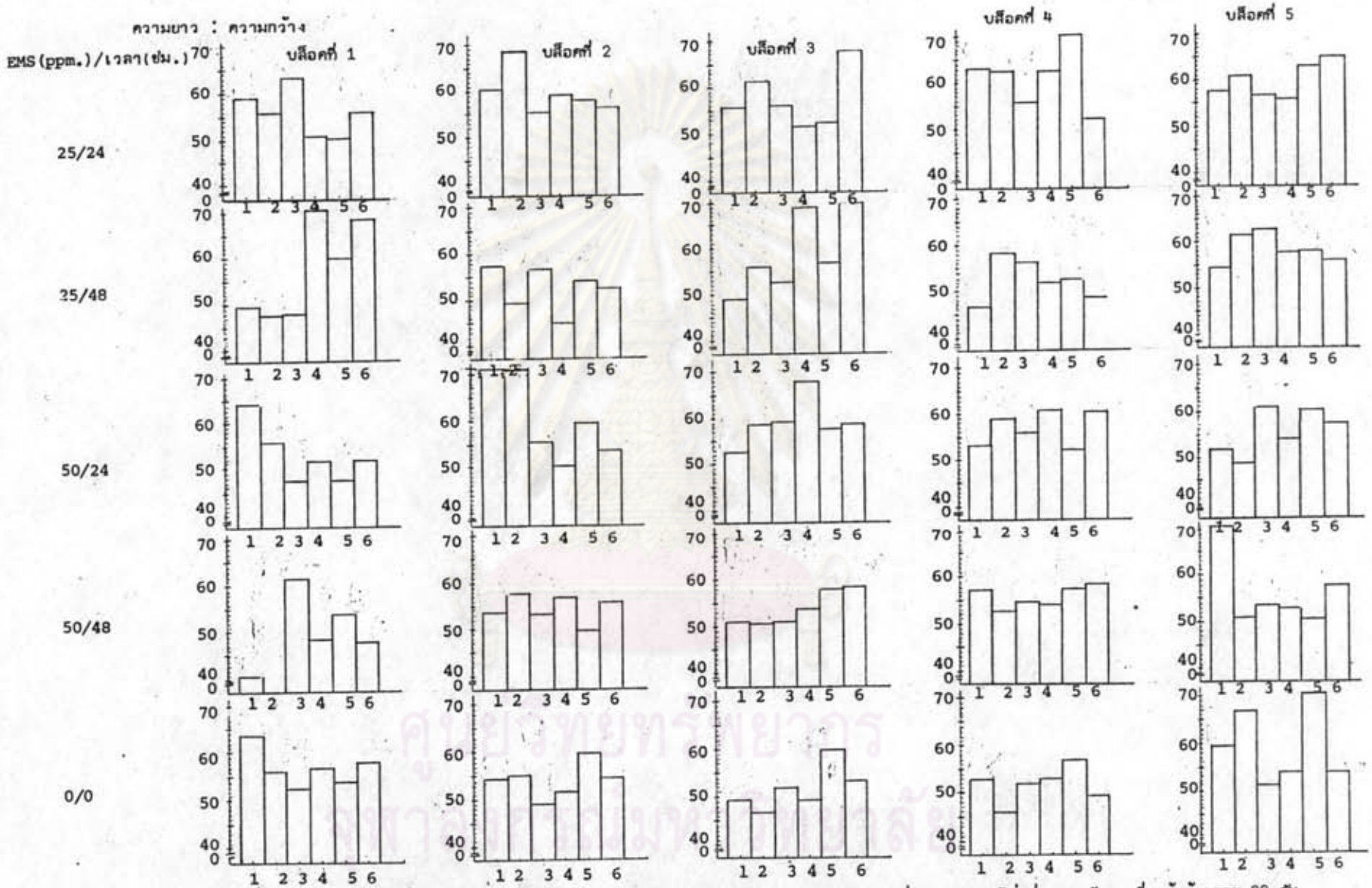
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางกราฟที่ 4 การแปรของความกว้างของใบอ้อยที่เจริญจากตัดลิ้นที่แช่ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่แช่ EMS วัดผลเมื่อกล้าอ้อยอายุ 22 วัน

แกน x : แสดงลำดับที่ของต้นอ้อย อัตราส่วน 1 : 2

แกนy : แสดงความกว้างของใบอ้อย อัตราส่วน 1 : 1

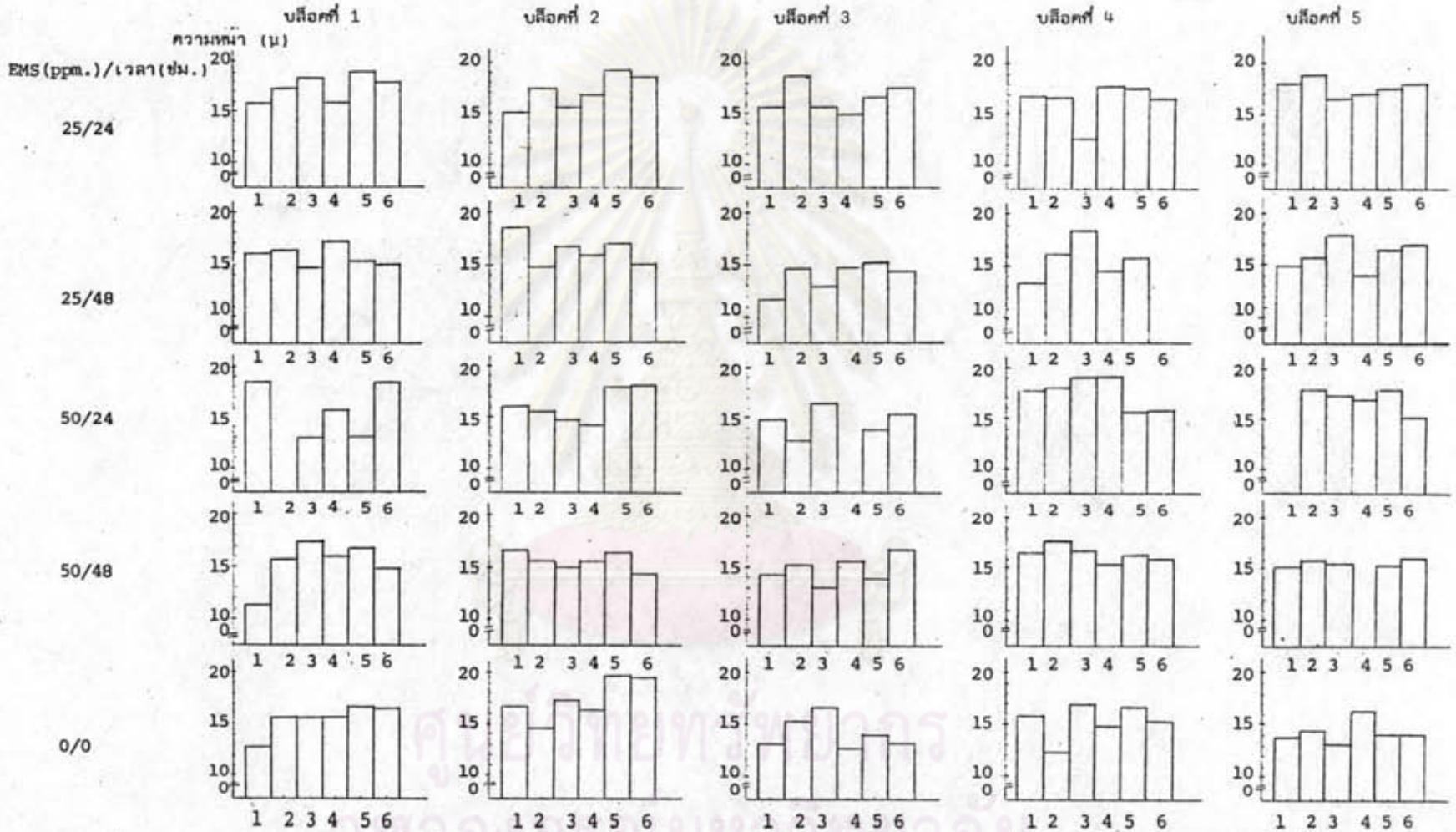


ตารางกราฟที่ 5 การแปรของรูปร่างของใบอ้อยที่เจริญจากตาที่แช่ EMS (25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่แช่ EMS วัดผลเมื่อกล้าอ้อยอายุ 22 วัน

แกน x : แสดงลำดับที่ของต้นอ้อย อัตราส่วน 1 : 2

แกน y : แสดงอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง อัตราส่วน 1 : 10

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางกราฟที่ 6 การแปรของความหนาของใบอ้อยที่เจริญจากตัดลัดที่แช่ EMS (25 และ 50 ppm.เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) และไม่แช่ EMS วัดผลเมื่อกล้าอ้อยอายุ 43 วัน

แกน x : แสดงลำดับที่ของต้นอ้อย อัตราส่วน 1 : 2

แกน y : แสดงความหนาของใบอ้อย อัตราส่วน 1 : 5×10^{-4}

ลักษณะการเจริญ ขนาดและรูปร่างของใบนั้นไม่ว่าจะชักนำด้วย EMS หรือไม่ก็ตาม มีการแปรไปต่าง ๆ มากบ้างน้อยบ้าง เมื่อนำมาศึกษาทางสถิติโดยทำ F-test (ภาคผนวก ก) และ Duncan's multiple-range test. (ตารางที่ 13, 14, 15) โดยเปรียบเทียบระหว่างต้นที่แช่ EMS กับต้นที่ไม่แช่ EMS ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 13 Duncan's multiple-range test ของผลของ EMS ต่อการแปรในด้านความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลาง (คำนวณจากผลการทดลองละ 80 ต้น) วัดผลเมื่อกล้าอ้อยมีอายุ 22 วัน

EMS (ppm.) / เวลา (ชม.)	ความสูง		เส้นผ่าศูนย์กลาง	
	ค่าเฉลี่ย (ซม.)	DMRT	ค่าเฉลี่ย (ซม.)	DMRT
25/24	14.5646	a	5.2119	a
25/48	13.3148	ab	5.0048	a
50/24	13.7773	a	5.0406	a
50/48	13.7126	a	5.2336	a
0/0	11.9333	b	4.7309	a

หมายเหตุ DMRT = Duncan's multiple-range test ตัวเลยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 13 แสดงให้เห็นว่าการแปรของความสูงกล้าอ้อยที่พบในการทดลองนี้ ผลที่เกิดจากการชักนำด้วย EMS ความเข้มข้นต่างกันและเวลาต่างกันให้ผลคล้ายกันและต่างไปจากต้นที่ไม่ได้ชักนำด้วย EMS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นกล้าอ้อยที่เจริญมาจากศัลลัสที่แช่ใน EMS 25 ppm. 48 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลคล้ายกับต้นที่ไม่ได้ชักนำด้วย EMS ส่วนในด้านขนาดของต้นซึ่งศึกษาจากการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางรอบโคนต้นนั้น ต้นที่ชักนำด้วย EMS และไม่ได้ชักนำให้ผลเหมือนกัน

ตารางที่ 14 Duncan's multiple-range test ของผลของ EMS ต่อการแปรด้านขนาดและรูปร่างของใบ (คำนวณจากผลการทดลองละ 80 ต้น) วัดผลเมื่อกล้าอ้อยมีอายุ 22 วัน

EMS (ppm.)/เวลา(ชม.)	ความยาว		ความกว้าง		ความยาว : ความกว้าง	
	ค่าเฉลี่ย (ซม.)	DMRT	ค่าเฉลี่ย (ซม.)	DMRT	ค่าเฉลี่ย	DMRT
25/24	81.5959	a	1.4404	a	57.1284	a
25/48	76.6798	ab	1.3223	bc	57.5739	a
50/24	75.5133	ab	1.3534	ab	55.9539	a
50/48	74.2243	ab	1.3665	ab	54.2319	a
0/0	69.7184	b	1.2498	c	55.4874	a

หมายเหตุ DMRT = Duncan's multiple-range test ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากผลการศึกษาขนาดของใบอ้อยโดยดูจากความยาวและความกว้างของใบอ้อยนั้น พบว่ามีการแปรต่าง ๆ กัน (ตารางที่ 11, ตารางกราฟที่ 3, 4 และ 5) แต่เมื่อศึกษารูปร่างของใบอ้อย โดยดูจากอัตราส่วนของความยาวใบต่อความกว้างของใบ พบว่าการแปรทางด้านรูปร่างใบที่เกิดจากการชักนำและไม่ได้ชักนำ EMS นั้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 14)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 Duncan's multiple-range test ของผลของ EMS ต่อการแปรด้านความหนาของใบ (คำนวณจากผลการทดลองละ 80 ต้น) วัดผลเมื่อกล้าอ้อยมีอายุ 43 วัน

EMS(ppm.)/เวลา (ชม.)	ความหนา	
	ค่าเฉลี่ย (μ)	DMRT
25/24	17.0588	a
25/48	16.2275	ab
50/24	16.4969	ab
50/48	16.0944	b
0/0	16.0495	b

หมายเหตุ DMRT = Duncan's multiple-range test ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเปรียบเทียบผลของ EMS ต่อการแปรทางด้านความหนาของใบของอ้อยที่ชักนำด้วย EMS กับต้นที่ไม่ได้ชักนำด้วย EMS นั้น ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าให้ผลคล้ายกัน ยกเว้นการทดลองที่ชักนำด้วย EMS 25 ppm. 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 15)

สำหรับผลของการแปรหรือมิวเตชันที่เกิดทางสัณฐานวิทยาอื่น ๆ เช่น ลักษณะของ dewlap และการทิ้งตัวของใบ พบว่าต้นกล้าอ้อยที่เจริญมาจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ชักนำให้เกิดมิวเตชันด้วย EMS และที่ไม่ได้ชักนำนั้นแสดงลักษณะที่แปรไปต่าง ๆ กันซึ่งลักษณะต่าง ๆ เหล่านี้ได้ศึกษาโดยละเอียดเมื่อกล้าอ้อยมีอายุ 43 วัน (หลังจากนำออกจากหลอดทดลอง) ซึ่งเป็นระยะที่สามารถสังเกตลักษณะเหล่านี้ได้ชัดเจน ลักษณะของ dewlap นั้นนับเป็นลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญลักษณะหนึ่งซึ่งใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของอ้อย (เกษม สุขสถาน และคณะ 2524)

ลักษณะของ dewlap ที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ คือ dewlap ที่ลำมานับจากยอดลงมาโดยเทียบกับ dewlap ของอ้อยที่นำมาใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ จากภาพที่ 13 แสดงให้เห็นการแปรของ dewlap ที่พบจากการทดลองนี้ ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็น 7 แบบ และบางต้นมี dewlap เหมือนกับต้นเดิมที่นำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 13 ก และ ฆ) และเมื่อนับจำนวนต้นที่มี dewlap แบบต่าง ๆ ที่พบในการทดลองนี้ จะได้จำนวนต่าง ๆ กันดังแสดงไว้ในตารางที่ 16

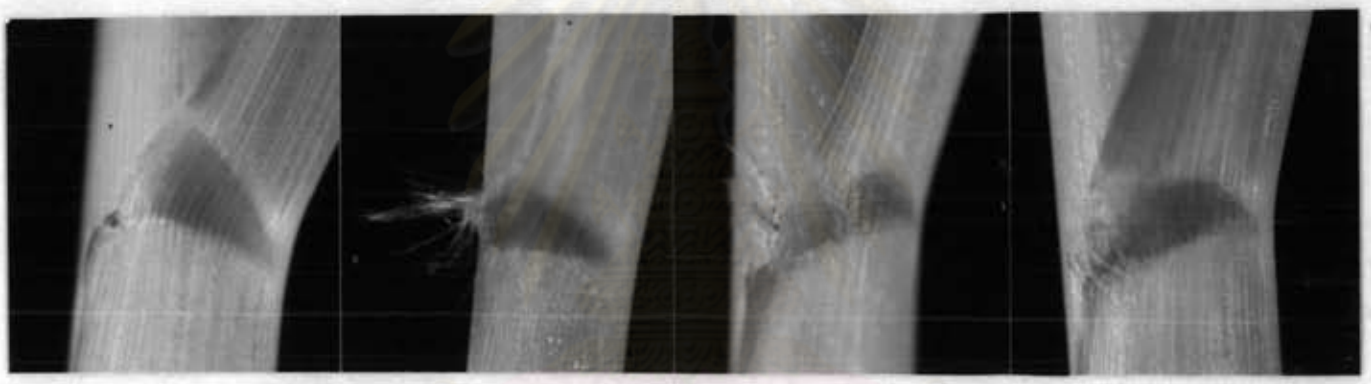
สำหรับการแปรต่อการทิ้งตัวของใบนั้น พิจารณาเฉพาะการทิ้งตัวของใบที่อยู่ยืน พบว่าอ้อยมีการทิ้งตัวของใบเหมือนพันธุ์เดิม (F156) เกือบทุกต้น โดยเห็นใบตั้งตรงและโค้งปลายใบ (ภาพที่ 14.1) พบเพียงหนึ่งต้นเท่านั้นที่มีการทิ้งตัวผิดไปจากเดิม (ภาพที่ 14.2) ซึ่งต้นนี้ได้จากพวกที่แช่ใน EMS 25 ppm. 24 ชั่วโมง

9. <u>ผลการทดสอบความสามารถต้านทานโรคแส้ดำ</u>

ในการทดสอบความสามารถต้านทานโรคแส้ดำนี้ ใช้อ้อยหน่อใหม่สูง 10-20 ซม. (วัดจากโคนจนถึงคอใบที่ 1) ซึ่งได้จากการเลี้ยงคัลลัสที่แช่ใน EMS เข้มข้น 25 และ 50 ppm. เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง อย่างละ 80 ต้น อ้อยที่ไม่ได้ชักนำด้วย EMS ซึ่งอาจเกิดการแปรจาก spontaneous mutation อีก 80 ต้น รวมเป็น 400 ต้น ใช้อ้อยที่เจริญจากคัลลัสแต่ไม่ได้แช่ EMS เป็น control อีก 80 ต้น และใช้หน่อพันธุ์ NCo310 ที่มีความสูงใกล้เคียงกับหน่ออ้อยที่เจริญจากคัลลัส 10 ต้น เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ NCo310 เป็นพันธุ์ที่ไวต่อโรคแส้ดำที่สุดในสายพันธุ์อ้อยทั้งหมดที่ปลูกในประเทศไทย จึงใช้เปรียบเทียบเพื่อให้แน่ใจว่าเชื้อราที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ให้ผลต่อการเป็นโรคนี้จริง

จากผลการทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคแส้ดำในหน่ออ้อยที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการฉีด chlamydospore suspension ของ <u>Ustilago scitaminea</u> Sydow เข้มข้น 10 กรัมต่อน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ลิตร ซึ่งมีความเข้มข้นของสปอร์ประมาณ 10^6 - 10^7 สปอร์ต่อน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรด้วยเข็มฉีดยา โดยฉีดที่บริเวณกาบใบเหนือตายอดของต้นกล้า (มิใช่บริเวณ growing point ดังที่ ลัวนิตย์ แวงวรรณ (2524) ได้รายงานไว้) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ครั้งละ 2 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 สัปดาห์ติดต่อกัน เปรียบเทียบกับ control ซึ่งฉีดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 มิลลิลิตร หลังจากฉีด spore

ก ข ค ง



จ ฉ ช ฌ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 13 เปรียบเทียบรูปร่างลักษณะต่าง ๆ ของ dewlap ลักษณะที่สังเกตคือความลาดเอียงจากแนวระดับ

13-ก dewlap ของอ้อยพันธุ์ F156 ซึ่งใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ

13-ข ถึง 13-ฌ dewlap รูปร่างต่าง ๆ ของอ้อยที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของใบอ่อน พบว่ามีลักษณะต่าง ๆ 7 ลักษณะ

13-ช dewlap ที่มีรูปร่างเช่นเดียวกับ dewlap ของพันธุ์เดิม (F156)

ตารางที่ 16 การแปรในทางรูปร่างของ dewlap แบบต่าง ๆ ในอ้อยที่ชักนำ จากศัลลัลในความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน เปรียบเทียบกับพันธุ์เดิม F156 วัดผลเมื่ออ้อยมีอายุ 43 วัน

EMS (ppm.)/ เวลา(ชม.)	จำนวนต้นทั้งหมด	รูปร่าง dewlap แบบ													
		ข		ค		ง		ฉ		ช		ซ		ญ	
		จำนวนต้น	%	จำนวนต้น	%	จำนวนต้น	%	จำนวนต้น	%	จำนวนต้น	%	จำนวนต้น	%	จำนวนต้น	%
25/24	48	0	0	1	2.08	21	43.75	2	4.16	4	8.23	20	41.66	0	0
25/48	48	1	2.08	1	2.08	31	64.58	1	2.08	3	6.25	11	22.91	0	0
50/24	48	0	0	1	2.08	26	54.16	0	0	0	0.	18	35.7	3	6.2
50/48	48	0	0	3	6.25	26	54.16	0	0	7	14.58	12	25.0	0	0
0/0	48	0	0	8	16.66	19	39.58	0	0	3	6.25	17	35.42	0	2.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 14.1 ภาพที่ 14.2

ภาพที่ 14 การทิ้งตัวของใบ

ภาพที่ 14.1 ใบที่ทิ้งตัวแบบปกติ สังเกตว่าใบตั้งตรงและโค้งปลายใบ

ภาพที่ 14.2 ใบที่ทิ้งตัวแบบผิดปกติ ใบแหลมตรง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

suspension แล้ว อ้อยแสดงอาการยอดเน่าภายใน 1-2 สัปดาห์ โดยเห็นใบยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 16) ลักษณะอาการคล้ายอาการยอดเน่าที่เกิดจากหนอนเจาะยอด ใบยอดไม่คลี่ออก เมื่อดึงใบยอดที่เน่าออก อาจเห็นหนอนแมลงวันซึ่งเป็น secondary infection อ้อยแตกหน่อใหม่ทางด้านข้างในสัปดาห์ต่อมา รายที่เป็นโรครุนแรงอาจแห้งตายไปทั้งเหง้า (ภาพที่ 17) ไม่แตกหน่อใหม่ให้เห็นอีกต่อไป ในขณะที่ต้นใช้เป็น control และต้นที่ต้านทานโรคคงเจริญต่อไปอย่างปกติ อ้อยที่เป็นโรคแสดงอาการขั้นสุดท้ายโดยเห็นที่ยอดมีลักษณะคล้ายแส้หรือก้านธูป (ภาพที่ 18) มีเชื่อบาง ๆ สีขาวหุ้มอยู่ ต่อมาเชื่อแตกปรือออกเห็น chlamydospore จำนวนมากหุ้มรอบแส้จนมีลักษณะเป็นแท่งสีดำ ระยะนี้อ้อยแตกกอมากผิดปกติคล้ายตะไคร้ (ภาพที่ 19) และมีอัตราการเจริญต่ำกว่าใน control ในการทดลองนี้ อ้อยแสดงอาการแส้ดำให้เห็นภายใน 14 สัปดาห์ (ภาพที่ 18) ซึ่งใช้เวลามากกว่าการทดลองของ สวนิตย์ แวงวรรณ (2524) (โดยอ้อยแสดงอาการให้เห็นภายใน 8 สัปดาห์เท่านั้น) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ทำการทดลองไม่เหมาะต่อการเจริญของ chlamydospore ในขณะที่ทำการทดลองเป็นฤดูแล้ง ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรค ในอ้อยที่ฉีดด้วย spore suspension จำนวน 410 ต้น (รวมทั้งหน่ออ้อยพันธุ์ NCo 310 10 ต้น) แสดงอาการเป็นโรค 408 ต้น ไม่แสดงอาการเป็นโรค 2 ต้น ส่วน control ซึ่งฉีดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อมีอาการปกติ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพความต้านทานโรคแส้ดำของอ้อยที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สายพันธุ์ใหม่ซึ่งต้านทานโรคแส้ดำได้ดี 2 ต้น ต้นหนึ่งได้จากการแช่ด้วย EMS เข้มข้น 25 ppm. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และอีกต้นหนึ่งได้จากการแช่ด้วย EMS 50 ppm. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ้อยทั้ง 2 ต้น ซึ่งเป็นอ้อยสายพันธุ์ใหม่ที่มีความต้านทานโรคแส้ดำนี้ได้ส่งให้สำนักงานอ้อยและน้ำตาลทราย กระทรวงอุตสาหกรรม ซึ่งได้ส่งต่อไปปลูกที่สถานีอ้อยกาญจนบุรี เพื่อทำการทดสอบคุณสมบัติอื่นต่อไป และจะได้เก็บไว้เพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์หรือขยายท่อนพันธุ์แจกจ่ายให้เกษตรกรต่อไป

ในการทดลองนี้คณะผู้ร่วมวิจัยทั้ง 2 แห่ง คือ ห้องปฏิบัติการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพระยาอนุกูลสยามกิจอุปนิกขิตสยามรัฐ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสถานีอ้อยกาญจนบุรี กระทรวงอุตสาหกรรม ได้ตกลงร่วมกันตั้งสายพันธุ์ที่ได้ใหม่ทั้ง 2 นี้ว่า

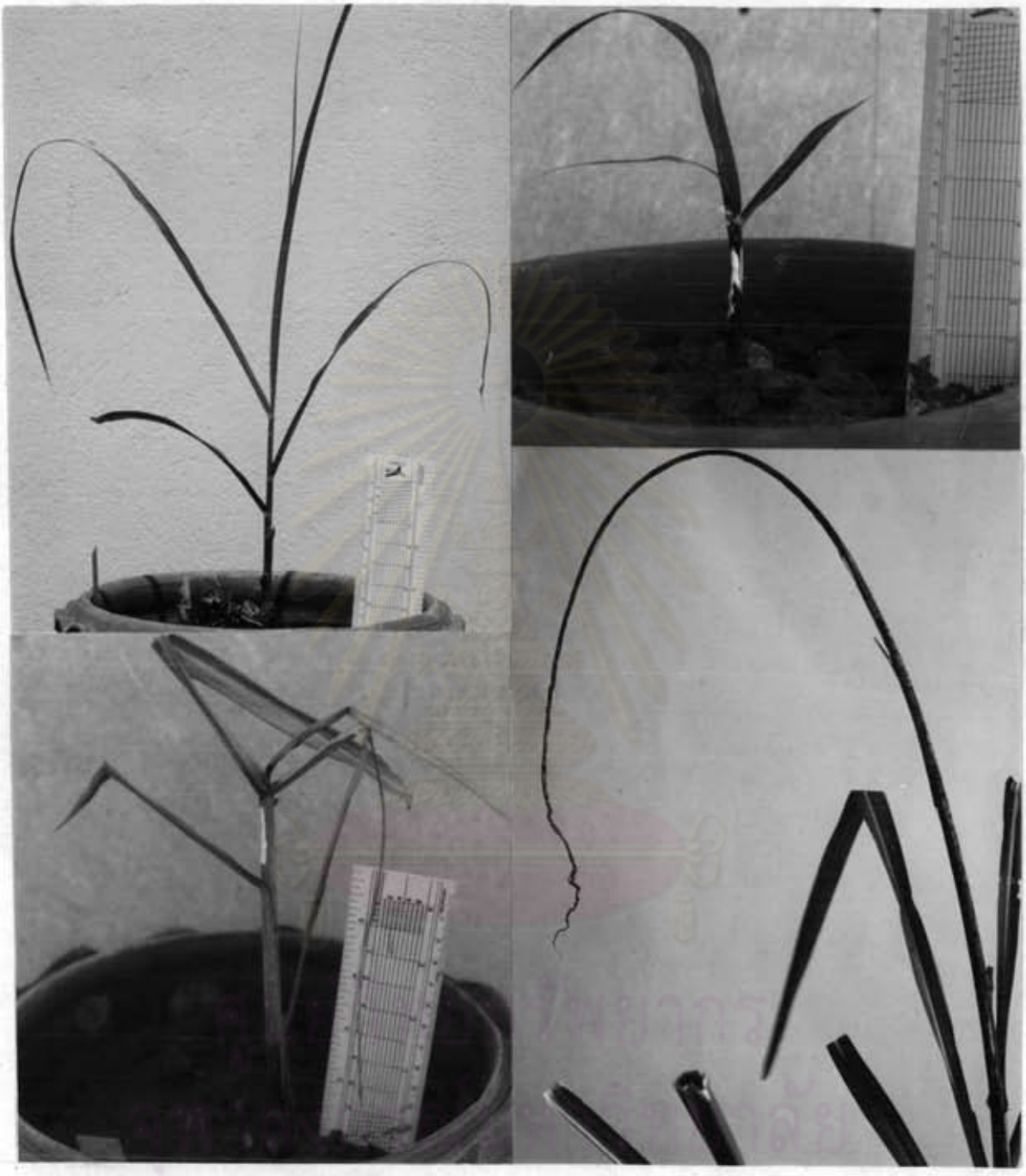
Saccharum officinarum cv. F156-CU.1 ได้จากศัลลัสที่แช่ด้วย EMS เข้มข้น 25 ppm. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 20.1)

และ Saccharum officinarum cv. F156-CU.2 เป็นอ้อยที่ได้จากศัลลัสที่แช่ด้วย EMS เข้มข้น 50 ppm.เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 20.2) ดังภาคผนวก ย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 15

ภาพที่ 16



ภาพที่ 17

ภาพที่ 18

ภาพที่ 15 ขนาดกล้าอ้อยที่ใช้ในการทดลองโรคแส้ดำ

ภาพที่ 16 อ้อยที่เริ่มแสดงอาการของโรค โดยใบยอดแห้งเป็นสีน้ำตาล

ภาพที่ 17 อ้อยที่เป็นโรคอย่างรุนแรง อ้อยจะแห้งตายไปทั้งเหง้าไม่แตกกอใหม่ให้เห็นอีกเลย

ภาพที่ 18 อาการสุดท้ายของอ้อยที่เป็นโรค คือ มีลักษณะคล้ายแส้โผล่ออกมาจากยอด

ภาพที่ 19 อ้อยที่เป็นโรคแสดงอาการแตกกอคล้ายตะไคร้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 20.1

ภาพที่ 20.2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 20 ลายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยโดยยักนำจากใบอ่อน (อายุ 5 เดือน)

ภาพที่ 20.1 อ้อยที่ยักนำจากคัลลัสที่แช่ในสารละลาย EMS 25 ppm. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ชื่อว่า Saccharum officinarum cv. F156-CU.1

ภาพที่ 20.2 อ้อยที่ยักนำจากคัลลัสที่แช่ในสารละลาย EMS 50 ppm. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ชื่อว่า Saccharum officinarum cv. F156-CU.2