รายงานผลงานวิจัย
สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้

เรื่อง การศึกษาการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์สายพันธุ์ต่าง ๆ (*Broussonetia papyrigera* Vent.) โดยวิธีรวดเร็ว

STUDIES ON GROWTH AND RAPID MULTIPLICATION OF DIFFERENT ISOLATES OF PAPER MULBERRY (*Broussonetia papyrifera* Vent.)

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2532

จำนวน 55,995 **บาท**

หัวหน้าโครงการ นางสาววรวรรณ ศักดิ์วงศ์

ผู้ร่วมงาน นางนพมณี โทปุญญานนท์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

วันที่ 15 **เดือน** มกราคม **พ.ศ.** 2536

S 299/49

คำนิยม

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์สาสายพันธุ์ต่าง ๆ (Broussonetia papyrifera Vent.) ด้วยวิธีรวดเร็ว ได้สำเร็จลุล่วงโดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2532

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนเสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ในด้านต่าง ๆ นับตั้งแต่การสำรวจและรวบรวมพันธุ์สาในท้องที่ต่าง ๆ ตลอดจนให้คำแนะนำและข้อมูลต่าง ๆ ในการวิจัยตั้งแต่ต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

ผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
คำนำ	2
วัตถุประสงค์	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
การตรวจเอกสาร	4
วิธีการดำเนินงาน	19
ผลการทดลอง	23
วิจารณ์และสรุปผล	29
เอกสารอ้างอิง	30

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	แสดงผลของความเข้มข้น riboflavin ที่เหมาะสมในการลดแคลลัสที่เกิดตรงส่วนฐานของชิ้นส่วน	27
2.	แสดงผลของขนาดและความเข้มข้นของออกซินที่เหมาะสมต่อการออกรากสาโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	29

การศึกษาการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์สาสายพันธุ์ต่าง ๆ (Broussonetia papyrifera Vent.) โดยวิธีรวดเร็ว

Studies on growth and rapid multiplication of different isolates of paper mulberry (Broussonetia papyrifera Vent.)

วรวรรณ ศักดิ์วงศ์ และนพมณี โทปุญญานนท์ [1/]

WORAWAN SAKWONG AND NOPMANEE TOPOONYANONT

[1/] ฝ่ายวิจัย
สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

ทำการขยายพันธุ์สา (Brossonetia papyrifera Vent.) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้เมล็ดเป็นชิ้นส่วนพืชตั้งต้น นำมาเลี้ยงในอาหาร Murashige and Skoog (1962) ที่มีการใช้สาเร่งการเจริญเติบโต ไคเนติน 2, 4 และ 8 มก/ลิตร ร่วมกับ IAA หรือ NAA 0.1, 0.2 และ 0.4 มก/ลิตร เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มปริมาณต้นสา นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการออกรากของต้นสาภายในขวด ซึ่งได้แก่ IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 1 และ 2 มก/ลิตร

ผลการทดลองปรากฏว่า อาหารที่เหมาะสมที่สุดในการขยายพันธุ์สาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่อาหาร MS ที่มีไคเนติน 2 มก/ลิตร, ร่วมกับ IAA 0.2 มก/ลิตร ส่วนอาหารออกรากใช้อาหารสูตรเดียวกัน แต่ใช้ IBA 1 มก/ลิตร กระตุ้นการออกรากแต่เพียงอย่างเดียว

ABSTRACT

The propagation of paper mulberry (Broussonetia papyrifea Vent.) by tissue culture using paper mulberry seeds as starting materials cultured on Murashige and Skoog (1962) medium with growth regulators which were kinetin 2 , 4 and 8 mg/l with NAA 0.1 , 0.2 and 0.4 mg/l. We found out certain kinds of growth regulotors and the optimal concentration for multiplication and rooting in vitro were IBA or NAA at 1 and 2 mg/l

It should be concluded that the best medium for culturing paper mulberry tissues was the MS medium with kinetin 2 mg/l and IAA 0.2 mg/l. For rotting , we used the MS medium with IBA 1 mg/l.

คำนำ

ปัจจุบันการทำกระดาษสาและการใช้ประโยชน์จากกระดาษสาเพื่อแปรรูป ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ นับเป็นอุตสาหกรรมในครอบครัว ซึ่งเป็นที่นิยมและได้รับการส่งเสริมอย่างกว้างขวาง จึงทำรายได้นับเป็นมูลค่าเพิ่มขึ้นทุกปี ทำให้ความต้องการใช้กระดาษสาสูงขึ้นและลดการสูญเสียเงินตราในการนำผลิตภัณฑ์กระดาษเข้าประเทศ ซึ่งต้นเป็นพืชชนิดหนึ่งซึ่งสามารถลดปัญหาดังกล่าวได้รวมทั้งปัญหาการพังทะลายของดิน ช่วยอนุรักษ์น้ำและฟื้นฟูสภาพป่าไม้ได้เป็นอย่างดี งานวิจัยด้านต่าง ๆ เกี่ยวกับต้นสาอย่างต่อเนื่องยังมีน้อย ขณะเดียวกันความต้องการใช้กระดาษสาเพิ่มมากขึ้นทุกปี และประสบปัญหาปริมาณวัตถุดิบป้อนตลาดไม่สม่ำเสมอ ในลักษณะกฎหมายต้นสาเป็นไม้ที่ไม่มีในบัญชีไม้หวงห้ามและของป่าหวงห้ามตาม พ.ร.บ.ป่าไม้ ฉะนั้น เมื่อปลูกหรือมีต้อสาอยู่ในที่ดินกรรมสิทธิ์ก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ แต่ถ้ามีต้นสาขึ้นอยู่ในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติก็ถือเป็นไม้หวงห้ามโดยปริยาย เวลาตัดฟันก็ต้องขออนุญาตจากพนักงานเจ้าหน้าที่ก่อนตามระเบียบ

ดังนั้นหากมีการวิจัยในด้านการปลูกต้นสาเพื่อนำข้อมูลมาใช้ประโยชน์ในการผลิตต้นสาให้พอเพียงกับความต้องการใช้ภายในประเทศ และการส่งออกกระดาษสาหรือผลิตภัณฑ์จากกระดาษสา จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจและรวบรวมพันธุ์สาที่ปลูกในแหล่งต่าง ๆ ในภาคเหนือ เพื่อคัดเลือกพันธุ์สาที่มีการเจริญเติบโตดีและให้ผลผลิตสูง

2. เพื่อหาวิธีขยายพันธุ์สาโดยวิธีรวดเร็ว เพื่อให้สามารถผลิตสาได้เป็นจำนวนมาก

3. เพื่อตรวจสอบลักษณะตรงตามพันธุ์จากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับต้นเดิม

4. เพื่อศึกษาการปรับตัวของต้นสาที่ได้จากการเพาะเนื้อเยื่อในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติและการเจริญเติบโต

5. เพื่อศึกษาระยะปลูกของสาที่มีต่อผลผลิต

6. เพื่อศึกษาผลตอบแทนที่ได้จากการปลูกต้นสาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถหาพันธุ์สาที่มีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูง ทนทานต่อสภาพแวดล้อม ตามธรรมชาติได้ดี และเป็นการแก้ปัญหาการขาดแคลนสาที่มีคุณภาพดี

2. สามารถหาพันธุ์สาที่เหมาะสมกับแหล่งปลูกและการใช้ประโยชน์ เพื่อประโยชน์ในการส่งเสริมการปลูกสาแก่เกษตรกรในท้องที่ที่มีการทำกระดาษสา และแหล่งส่งเปลือกสาไปจำหน่ายภายในและต่างประเทศ

3. สามารถหาวิธีขยายพันธุ์สาให้ได้ปริมาณมาก ต้นทุนต่ำ เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตต้นพันธุ์สาให้พอเพียงกับความต้องการของตลาด

4. ทำให้การใช้ทรัพยากรที่มีอยู่เกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพ

5. ทำให้เกษตรกรหรือผู้ปลูกสาสามารถลดต้นทุนการปลูก และการทำกระดาษสา ซึ่งเป็นการเพิ่มรายได้ของครอบครัว

6. ผลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานอื่นในการนำไปปรับใช้ในงานวิจัยด้านต่าง ๆ ต่อไป

การตรวจเอกสาร

สา เป็นไม้ที่ไม่มีปรากฏในบัญชีไม้หวงห้ามและของป่าหวงห้ามตาม พ.ร.บ.ป่าไม้ ดังนั้น สาจะเป็นไม้ที่สามารถตัดได้ในพื้นที่ที่มีกรรมสิทธิ์ แต่ในเขตพื้นที่ป่าสงวนการตัดต้นสามีความผิดตามกฎหมาย(เจษฎา, 2525) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องการศึกษาถึงวิธีการขยายพันธุ์สาหลาย ๆ วิธี เพื่อสามารถปลูกสาสำหรับทำอุตสาหกรรมกระดาษต่อไปได้ วิธีการหนึ่งที่จะให้ได้ต้นสาที่มีคุณภาพเป็นจำนวนมากและใช้เวลาอันสั้น ได้แก่ การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ โดยทั่วไปยอมรับแล้วว่ามีการทำลายป่ามากกว่าการสร้างป่า ไม่ว่าจะเป็นการสร้างตามธรรมชาติหรือโดยมนุษย์ จึงเป็นที่แน่ชัดว่าจะเกิดการขาดแคลนไม้และผลิตภัณฑ์จากป่าภายในสิ้นศตวรรษนี้ (Thorpe et al., 1991)

. ต้นสา ปอสา (นฤเบศร์ , 2531) หรือไม้ปอกระสา (สรรเสริญและมนตรี , 2517) มีชื่อพื้นเมืองเรียกกันหลายชื่อแล้วแต่ความเคยชินและความนิยมในแต่ละท้องถิ่น เช่น ภาคกลาง ภาคเหนือ เรียก ปอสา ภาคเหนือและชาวเงี้ยวเรียกสายแล ภาคกลางเรียก หมอนี หมูพี ภาคใต้เรียกปอฝ้าย ภาคตะวันตกเรียกหมกพี้ นครราชสีมาเรียก ชำฉา นครสวรรค์เรียก ฉำฉา ชาวกะเหรี่ยงในจังหวัดกำแพงเพชรเรียก ชะตะโค หรือเชงชะ ชาวกะเหรี่ยงจังหวัดกาญจนบุรีเรียก เชาะชะ เชะชะ และ ชะตะโค (นฤเบศร์ , 2531, 2532)

ต้นสาเป็นพืชที่ให้เส้นใยจากเปลือกของลำต้นใช้เป็นวัตถุดิบในการทำกระดาษหลายชนิด เพราะมีคุณสมบัติป้องกันแมลงกัดกิน ไม่หยาบและเนื้ออ่อย เนื้อเก็บไว้ได้นาน ต้นสาเป็นพืชในตระกูล Moraceae เช่นเดียวกับหม่อนและขนุน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Broussonetia papyrifera Vent.

ต้นสามีแหล่งกำเนิดอยู่ในประเทศจีน คาบสมุทรเกาหลี เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับในประเทศไทยพบต้นสาขึ้นกระจายอยู่ทั่ว ๆ ไป เช่น ภาคเหนือที่ อ.แม่จัน อ.เวียงป่าเป้า อ.พาน อ.แม่สาย อ.แม่สรวย จ.เชียงราย , อ.หางดง อ.สันกำแพง อ.เชียงดาว อ.เมือง จ.เชียงใหม่ , ริมเชื่อนภูมิพล จ.ตาก , อ.สวรรคโลก จ.สุโขทัย , อ.วังชิ้น จ.แพร่ , อ.งาว อ.แมเมาะ จ.ลำปาง , อ.แม่จริม อ.เชียงกลาง อ.เมือง จ.น่าน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่บริเวณเขื่อนน้ำพรม จ.ชัยภูมิ , ดงลาน อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น , อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา , อ.ศรีสวัสดิ์ อ.เมือง จ.กาญจนบุรี (------, 2532 ; เยาวนิจและกฤษดา , 2532)

ลักษณะทั่วไป ต้นสาเป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลาง **เป็นพืชเส้นใยชนิดหนึ่ง ให้เส้นใยจากเปลือกของลำต้น** มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว ทรงพุ่มต้นใหญ่ แตกต้นหรือกระโดงจากไหล ส่วนใหญ่พบในป่าเบญจพรรณ ขึ้นตามริมดอย และบริเวณหนองน้ำ ชอบความชุ่มชื้นและเจริญได้ดีในบริเวณริมต้นน้ำลำธาร ต้นสาพบทั่วไปในเขตเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี อินโดนีเซีย และมาเลเซีย เป็นต้น (สรรเสริญและมนตรี , 2517)

ชนิดของต้นสา ต้นสาในตระกูล Broussonetia มีถิ่นกำเนิดในเอเชีย ที่รวบรวมได้มี

1. ต้นสาไทย (Broussonetia papyrifera Vent) จำนวนโครโมโซม 2n : 26 3n : 39 ภาษาญี่ปุ่นเรียก Kozo ปัจจุบันมีอยู่ 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ที่มีกิ่ง ก้าน ใย เป็นสีเขียว และพันธุ์ที่มีกิ่ง ก้าน ใบ เป็นสีม่วง ซึ่งพันธุ์โดยทั่วไปจะพบพันธุ์ที่มีสีม่วงเป็นส่วนใหญ่

2. ต้นสาญี่ปุ่น (B. kazinoki Sieb) จำนวนโครโมโซม 2n : 26 ภาษาญี่ปุ่นเรียก Kozo มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะญี่ปุ่น เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 2 เมตร มีทั้งชนิดใบมนและใบ 5 แฉก ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ในต้นเดียวกัน (monoecious) แต่คนละดอก คุณภาพเส้นใยดีกว่าปอสาไทย มีอายุการให้ผลผลิต 10-15 ปี อายุ 5-7 ปีให้ผลผลิตสูงสุด แบ่งออกเป็น 5 ชนิด

Aka Kozo ลำต้นสีแดง ใช้ทำกระดาษคุณภาพดี

Kuru Kozo ลำต้นสีดำ

Shiko Kozo ลำต้นสีขาว

Yama Kozo เป็นต้นสาที่ขึ้นในที่สูง เปลือกบางกว่าต้นสาชนิดอื่น

B. kaemferi (Tsuru Kozo) เป็นต้นสาชนิดไม้เลื้อย พบในเกาะกิวชิว ประเทศญี่ปุ่น มีลักษณะและคุณสมบัติเหมือน Kozo

ลำต้น ต้นสาเป็นไม้พุ่มขนาดกลาง ลำต้นมีลักษณะกลม สีน้ำตาลค่ำ เมื่ออายุมากจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อตัดต้นหรือกิ่งจะมีน้ำยางสีขาวข้นไหลออกมาระหว่างเปลือกกับแกนต้น

เปลือก ลักษณะเรียบ สีเทา

ใบ มี 2 ชนิด คือใบหยัก (palmate leaf) มี 3-5 แฉก และมน (single leaf) ขนาดกว้าง 6-12 ซ.ม. และยาว 8-18 ซ.ม. ปลายใบแหลม ฐานใบโค้งเข้าคล้ายรูปหัวใจ ปกติใบทั้ง 2 ชนิดนี้อยู่แยกต้นกัน แต่บางต้นอาจพบใบทั้ง 2 ชนิด ลักษณะคล้ายกันอยู่ ใบมีขนอ่อนสีขาวปกคลุม ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย หลังใบสีเขียวแก่ท้องใบสีเขียวอ่อนออกเทา มีขนอ่อนสีขาว ก้านใบยาว 3-10 ซ.ม. หูใบ(stipule) ยาว 1-3 ซ.ม. (นฤเบศร์,2531)

ดอก ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่แยกกันคนละต้น (dioecious) ดอกตัวเมียเป็นแบบ spike ดอกอยู่เป็นกลุ่มค่อนข้างกลมแน่น (dense globulae) สีขาว มีชนรอบยาวประมาณ 3-4 ซ.ม. ดอกแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ขนาด 0.5-2.5 ซ.ม. ดอกตัวผู้เป็นแบบ dense spike ยาวประมาณ 2-5 ซ.ม. ดอกมีกลีบดอก 4 กลีบ เกสรตัวผู้ 4 อัน ออกดอกเมื่ออายุมากกว่า 1 ปี ออกดอกปีละครั้ง ระยะเวลาการออกดอกไม่แน่นอน ตั้งแต่เดือนมิถุนายน-กุมภาพันธ์

ผล เป็นผลรวม มีเมล็ดเล็ก ๆ มากมายอยู่รวมกันเป็นผลกลมโดยรอบ เมื่อแก่มีสีแดง ผลแก่ในฤดูฝน

เมล็ด เมล็ดขนาดเล็ก เบา มีความงอกประมาณ 70-80%

การเจริญเติบโต ต้นสามีการเจริญเติบโตรวดเร็วมากในช่วงที่มีฝนตกชุก ต้นสาอายุ 1 ปี สูง 2-3 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 5.4-6.0 ซ.ม. และมีกิ่ง 2-4 กิ่ง (----------, 2532)

ราก ระบบรากตื้นแผ่กระจายกว้าง(stolon)หลังจากต้นสามีอายุมากกว่า 1 ปี รากสามารถจะแตกเป็นต้นอ่อนได้โดยเฉพาะในเขตที่มีความชุ่มชื้นสูง แต่ในสภาพแห้งแล้งปอสาจะมีการขยายพันธุ์โดยการออกดอกเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์มากกว่าที่จะแตกต้นอ่อนใหม่จากราก

การขยายพันธุ์ โดยใช้เมล็ด ไหล (stolon) ราก (--------,2532;มนัส, 2533) และลำต้นปักชำ (---------- , 2532)การปลูกที่นิยมและได้ผลดีต้องปลูกด้วยไหล (ต้นอ่อนที่แตกมาจากรากที่เลื้อยไปตามผิวดิน (มนัส , 2533)

1. การปลูกด้วยไหล ยาวประมาณ 1 นิ้ว โดยการขุดไหลที่มีต้นอ่อนออกมายาวประมาณ 1 ฟุตให้มีรากติดแล้วนำไปปลูกในหลุมที่ขุดเตรียมไว้ ก่อนปลูกควรตัดใบทิ้งออกให้หมด หลังจากนั้นกลบดินให้แน่นพอควร รดน้ำให้ชุ่มชื้นติดต่อกันประมาณ 5-7 วัน ใบอ่อนจะเริ่มแตก

2. การปลูกด้วยเมล็ด โดยการนำเมล็ดมาเพาะในดินผสมขุยมะพร้าว หลังจากนั้น 7-10 วัน เมล็ดจะงอก ทิ้งไว้ 30 วัน เริ่มย้ายกล้าลงถุงพลาสติก ขนาด 4 x 6 ซ.ม. โดยใช้ดินผสม ดิน : ทราย : ปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1 : 1 : 1 หลังจากย้ายกล้า 25-30 วัน จึงนำไปปลูกในแปลง

3. การปลูกด้วยราก โดยการตัดแขนงรากต้นสาที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ม.ม. ยาว 10 ซ.ม. มาชำในทรายผสมขี้เถ้าแกลบ ทิ้งไว้ประมาณ 10 วัน จะมีใบอ่อนเริ่มแตก จึงย้ายชำในถุงพลาสติกขนาด 8 x 12 ซ.ม. นาน 30 วัน จึงย้ายปลูกในแปลง

การเลือกวิธีปลูกขึ้นกับสภาพที่ปลูก ถ้าพื้นที่อยู่ใกล้แหล่งที่มีต้นสา ควรใช้วิธีปลูกด้วยไหล แต่ถ้าอยู่ในแหล่งที่ไม่มีต้นสาและต้องการปลูกในพื้นที่มาก ๆ ควรปลูกด้วยเมล็ดหรือรากจะสิ้นเปลืองน้อยกว่า

ระยะปลูก มนัส (2533) ได้ทดลองปลูกสาระยะต่าง ๆ คือ

1. ระยะปลูก 3 x 3 เมตร จำนวน 178 ต้นต่อไร่ เมื่ออายุ 1-2 ปี ตัดได้น้ำหนัก 4-12 กิโลกรัมต่อต้น หรือผลผลิตต้นสด 712-2136 กิโลกรัมต่อไร่ ได้เปลือกแห้ง 14.2-42.7 กิโลกรัมต่อไร่

2. ระยะปลูก 1 x 1 เมตร จำนวน 1,600 ต้นต่อไร่ เหมาะสำหรับปลูกปอสาเพื่อลอกเอาเยื่อ

จากการทดลองปลูกระยะ 3 x 3 เมตรเป็นระยะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการตัดต้นสา อายุ 1 ปี เพราะทรงพุ่มจะชนกันพอดี ขนาดของกิ่งที่จะตัดลอกเปลือกมีคุณภาพดี ไม่แก่เกินไป

ดินและปุ๋ย ต้นสาเจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินร่วนซุย โดยเฉพาะบริเวณใกล้แหล่งน้ำหรือที่มีความชื้นสูง

โรคและแมลง มีเพลี้ยอ่อนดูดกินน้ำเลี้ยงตามใบ ในช่วงฤดูร้อน ระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเมษายน และโรคที่ลำต้นและรากทำให้ลำต้นล้ม และไส้เดือนฝอย (รพีพร , 2531)

การตัด นัยนา (2531) กำหนดอายุตัดกิ่งสาครั้งแรกอายุ 1 ปี และตัดครั้งต่อไปทุก 6 เดือน จำลอง (2526) ให้ตัดต้นสาสูงจากโคนต้นประมาณ 20-50 ซ.ม. เพื่อให้ต้นมีโอกาสแตกกิ่งก้านสาขาขึ้นใหม่ วันทนีและคณะ (2526) รายงานว่าต้นสาอายุ 3 ปี ให้ปริมาณเยื่อสูงสุด เยื่อจากต้นสาที่มีอายุน้อยฟอกได้เยื่อที่มีความขาวสูงกว่าเยื่อจากต้นสาที่มีอายุมาก วิทยา(2532) กิ่งสาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 ซ.ม. จะให้เยื่อหรือเส้นใยที่เหมาะสมในการนำมาผลิตกระดาษทำให้ได้กระดาษสามีคุณภาพที่ดีกว่า

เยื่อ คุณสมบัติของเยื่อจากต้นและกิ่งทั้งที่ฟอกและไม่ฟอกของต้นสา เปรียบเทียบกับเยื่อใยจากต่างประเทศและกระดาษพิมพ์เขียวที่หาใช้ได้ในท้องตลาดเมืองไทย โดยกำหนดให้ค่าต่าง ๆ ของเยื่อใยยาวจากต่างประเทศมีค่าเป็น 100 ซึ่งพบว่าเยื่อสามีคุณภาพอยู่ระหว่าเยื่อใยจากต่างประเทศและกระดาษพิมพ์เขียว ซึ่งเยื่อฟอกของสาอาจนำมาใช้ทำกระดาษพิมพ์เขียนได้ เยื่อไม่ฟอกอาจใช้ทำกระดาษห่อของ ถุงกระดาษ และกล่องกระดาษได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ส่วนเนื้อไม้ดีกว่าเปลือกในการทำเยื่อกระดาษ คือให้ปริมาณ เซลลูโลสสูงทำให้ได้ปริมาณเยื่อสูงกว่า แต่เปลือกมีความเหมาะสมดีกว่าเนื้อไม้ คือให้เยื่อใยยาว ซึ่งให้ความแข็งแรงแกกระดาษที่ผลิตขึ้นได้ดีกว่าเยื่อที่ได้จากเนื้อไม้ (สรรเสริญ และมนตรี, 2517) ในไม้ที่ขนาดเล็กลงอัตราส่วนระหว่างเนื้อไม้ต่อเปลือกจะค่อย ๆ ต่ำลง ดังนั้น ในไม้ที่เล็กแม้เนื้อไม้จะให้เส้นใยสั้นลงแต่ก็มีเปลือกซึ่งให้อัตราเส้นใยยาวในอัตราสูงขึ้น สรุปได้

ว่า ในการใช้ต้นสาทำเยื่อกระดาษโดยใช้ทั้งไม้และเปลือกปนกันนั้นมีความเหมาะสมที่จะใช้กับไม้ทุกขนาด รวมทั้งต้นและกิ่งก้านสาขาโดยไม่ต้องอาศัยเยื่อพิเศษมาปรับปรุงคุณภาพให้ดีขึ้น ถ้าหากนำมาใช้เป็นกระดาษสำหรับพิมพ์เขียนและกระดาษอื่น ๆ (สรรเสริฐ และมนตรี, 2517) ต้นสาอายุ 3-4 ปี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 7-10 ซ.ม. มีอัตราส่วนระหว่างเปลือกและเนื้อไม้โดยน้ำหนักเป็น 1 : 7 และระหว่างกิ่งและต้น 1 : 2.5 มีคุณสมบัติทางเคมีประกอบด้วยปริมาณโฮโลเซลลูโลสและอัลฟ่าเซลลูโลส 46% ความยาวเส้นใยยาว 2.4-7.1 ซ.ม. ความยาวของเส้นใย ความกว้างของเซลและผนังเซลลดลงเมื่ออยู่ในระดับสูงขึ้น (สรรเสริฐ และมนตรี, 2517) เส้นใยจากส่วนโคนของลำต้นมีความยาวมากกว่าเส้นใยตามส่วนของลำต้นที่สูงขึ้นไป ซึ่งมีความยาวลดน้อยลงตามลำตัว ดังนั้น การตัดส่วนโคนของลำต้นให้ใกล้ชิดพื้นดินมากก็จะได้เส้นใยที่มีคุณภาพสูงในการทำกระดาษ (มนตรี, 2527)

การปลูกสาในประเทศไทยเริ่มได้ไม่นานนัก เพราะในอดีตต้นสาหาง่ายและความต้องการของตลาดน้อย ชัยยศ(2526) รายงานการปลูกสาในประเทศไทยตามลำดับคือ

พ.ศ. 2522 บริษัทสยาม แจแปน จำกัด ได้นำต้นสาจากประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเรียกว่า Kozo(B. kazinoki) 2n : 26 เข้ามาทดลองปลูกในไร่เกษตรกร อ.เชียงคาน จ.เลย และต่อมาปี พ.ศ. 2524 สาขาป่อป่าน ได้นำมาปลูกศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ และผลผลิตที่สถานีทดลองพืชไร่เลยและโนนสูง

พ.ศ. 2522 สาขาป่อป่าน ได้รวบรวมพันธุ์สาจากภาคเหนือ มาทดลองศึกษาที่สถานีทดลองพืชไร่พระพุทธบาท จ.สระบุรี

พ.ศ. 2523 ได้รวบรวมพันธุ์สาจากภาคกลางและภาคตะวันตกมาปลูกทดลองศึกษาที่สถานีทดลองพืชไร่อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี

พ.ศ. 2523 บริษัท อ.ไทยการช่าง จำกัด นำสาพันธุ์ Tsuru Kozo (B. kaemferi) มาทดลองปลูกในไร่เกษตรกร อ.สวรรคโลก จ.สุโขทัย

พ.ศ. 2524 สาขาป่อป่าน ได้ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์และผลผลิตของสาพันธุ์ไทยพื้นเมืองที่สถานีทดลองพืชไร่อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี และที่สถานีทดลองพืชไร่พระพุทธบาท จ.สระบุรี

พ.ศ. 2525 สาขาป่อป่าน ได้พบสาไทยพันธุ์ต้นเขียว ที่ อ.ปากชม จ.เลย

พ.ศ. 2526 องค์การอุตสาหกรรมป่าไม้ได้รับต้นสาพันธุ์คาจิโนกิ จากประเทศญี่ปุ่น มาปลูกที่แปลงขยายพันธุ์ที่ส่วนป่าทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี และที่โครงการหลวงบ้านวัดจันทร์ จ.เชียงใหม่ (อำนวย, 2526)

พ.ศ. 2531 (รพีพร, 2531) ที่ อ.เชียงกลาง และอ.แม่จริม จ.น่าน ได้ปลูกสาพันธุ์พื้นเมืองของไทยที่มีลักษณะดี และต้นสาที่นำเมล็ดพันธุ์มาจากประเทศญี่ปุ่น (Kozo B) ในพื้นที่ 200 ไร่ อัตราปลูก 300 ต้น/ไร่

การใช้ประโยชน์จากกระดาษสา ได้มีการนำกระดาษสามาใช้ประโยชน์อย่างมากมาย เนื่องจากกระดาษสามีความคงทนนับ 100 ปี ย้อมสีให้สวยงามได้ง่ายเพราะสามารถซึมซับน้ำได้ง่าย เหนียวและยืดหยุ่นดี ย่อยสลายไปตามธรรมชาติ ไม่สร้างมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม (จันทร์เพ็ญ, 2534) ทางภาคเหนือโบราณใช้กระดาษสาทำ "ปับสา" หรือ "พับสา" (เฉลียว, 2532) ซึ่งเป็นสมุดเพื่อบันทึกธรรมะ คัมภีร์ หรือ ตำราต่าง ๆ คล้ายกับสมุดข่อยมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมพับทบไปมาซึ่งสามารถเขียนได้ทั้ง 2 ด้าน สะดวกต่อการเก็บรักษาและการอ่าน ซึ่งเป็นการออกแบบที่น่าทึ่งทั้งในแง่ประโยชน์ใช้สอยและความงามในการประดิษฐ์ตกแต่งปกสมุด ไม่ว่าจะเป็นภาพเขียนหรือการลงรักปิดทองอย่างวิจิตรและสวยงาม ทำให้ดูมีค่าสำหรับใช้จดบันทึกบทสวดมนต์ ตำราพระพุทธศาสนาและบทคาถาต่าง ๆ ที่ใช้ในการรักษาเจ็บไข้ได้ป่วยทำพิธีกรรม ตลอดทั้งตำราโหราศาสตร์ ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานนับร้อยปีโดยไม่แตกหักแห้งกรอบ และที่สำคัญแมลงไม่กินเหมือนสมุดข่อยจึงสามารถเก็บสืสรรบทความไว้ได้ตลอดไป นอกจากนี้การใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์จากกระดาษสาที่ยังนิยมใช้มาจนถึงปัจจุบันคือ การนำมาทำฉนวนพลุไฟ โคมบูชา ตุง(ธงชัย)ถวายเป็นพุทธบูชาในวันเพ็ญเดือน 12 และสำหรับปักบนเจดีย์ทรายวันเทศกาลสงกรานต์เป็นตุงอีกลักษณะ จะเป็นรูปสัตว์ประจำปีเกิด เช่น ชวด ฉลู ขาล เถาะ ฯลฯ (มนูญ, 2527) ปัจจุบันกระดาษสาได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลายอย่าง และดัดแปลงรูปแบบมากขึ้นจากเดิมที่นำมาทำเป็นร่ม ว่าว พลุไฟ ป้องไฟ (นฤเบศร์, 2531 ; เยาวนิจ, 2532)

ในทางการแพทย์ได้นำกระดาษสามาใช้ประโยชน์หลายอย่าง (เฉลียว, 2532 ; นฤเบศร์, 2531 ; อนุชาติ, 2532) ที่โรงพยาบาลมหาราช จ. เชียงใหม่เป็นโรงพยาบาลแห่งแรกที่นำกระดาษสามาเป็นภาระดาษเช็ดมือ (นฤเบศร์, 2531) ใช้กระดาษสาสำหรับห่ออุปกรณ์และวัสดุทางการแพทย์ เช่น ห่อถุงมือ สายสวน เครื่องมือผ่าตัด ปากคีบ เครื่องมือตรวจรักษาเป็นชุด ชวดสำหรับต่อระบายน้ำหรือหนอง เป็นต้น เนื่องจากกระดาษสาที่นำมาใช้ห่อสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อีกหลายครั้งเพราะมีคุณสมบัติคงทน เหนียว เมื่อยับก็ทำให้เข้ารูปเข้ารอยหรือเรียบได้ง่าย ไอน้ำความร้อนและความดันสูงไม่ทำให้กระดาษสาเปลี่ยนสภาพ และเนื่องจากมีความโปร่งพอสมควร ไอน้ำและความร้อนก็ซึมแทรกเข้าไปถึงเครื่อง

มือได้อย่างดี คุณสมบัติอย่างนี้ยากที่จะหากระดาษชนิดอื่นมาเทียบได้ การใช้กระดาษสาสำหรับทำกระดาษเช็ดทำความสะอาดเหมือนกระดาษทิชชู เช่น ใช้ซับเลือดหนองและสิ่งสกปรกอื่น ๆ เนื่องจากกระดาษสาเหนียว ไม่ยุ่ยหรือขาดง่ายเมื่อถูกน้ำ และไม่เปียกง่าย ทำให้การซับได้ผลดีมาก ไม่ขาดติดมือเหมือนกระดาษทิชชู การใช้กระดาษสารองตัวเด็กแรกเกิดเพื่อชั่งน้ำหนักเพราะน้ำหนักเบา นุ่มเหนียว ซับน้ำได้ดีไม่เปียกง่าย ไขที่อยู่ตามตัวเด็กแรกเกิดจึงไม่สามารถผ่านกระดาษสู่ตาชั่งได้ เป็นการสะดวก สะอาด ปลอดภัยได้ผลดีและประหยัดมาก โรงพยาบาลมหาราช จ.เชียงใหม่ ใช้กระดาษสามาเมื่อประมาณ 40 กว่าปีแล้ว และมีปริมาณการใช้ประมาณ 1 ล้านแผ่นต่อปี ชุดผ่าตัดที่ทำจากกระดาษสา (อนุชาติ,2532) เป็นชุดผ่าตัดที่มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ครั้งเดียวทิ้ง (disposable) ซึ่งมีประโยชน์มากเพราะไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการซักรีดทำความสะอาด อีกทั้งไม่ต้องเสี่ยงต่อการติดเชื้อในกลุ่มเจ้าหน้าที่ทำความสะอาดซักรีด

ในราวปี พ.ศ. 2528 (มนูญ, 2527) สำนักงานเงินทุนหมุนเวียนกรมส่งเสริมอุตสาหกรรม ได้เริ่มฟื้นฟูขบวนการผลิตกระดาษสา ซึ่งกำลังจะสูญหายไปเพราะไม่มีตลาดจำหน่ายให้กลับฟื้นฟูอีกครั้งหนึ่ง และส่งเสริมในเชิงธุรกิจและพัฒนาคิดค้นประโยชน์ใช้สอย ทั้งในด้านการพัฒนาการผลิตรูปแบบเงินทุน และตลาดอย่างต่อเนื่อง โดยเริ่มประสานงานโดยมูลนิธิสังฆประชานุเคราะห์ และสภาสตรีแห่งชาติในพระบรมราชินูปถัมภ์ในโครงการแม่ชีอาสาพัฒนา จากวันนั้นจนกระทั่งบัดนี้กระดาษสาใช้ชื่อภาษาอังกฤษว่า SAA PAPER ได้กระจายไปทั่วโลกในผลิตภัณฑ์ใหม่ ๆ ที่ตลาดโลกยอมรับ จนเป็นจุดเด่นและสนใจของชาวต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน สิงคโปร์ ออสเตรเลีย ฟินแลนด์ และเยอรมัน ผลิตภัณฑ์ที่น่าสนใจได้แก่

ดอกไม้ประดิษฐ์ (-------- ,2532 ; จันทร์เพ็ญ,2534) การทำดอกไม้กระดาษสาเป็นการลงทุนที่ถูกมาก เพราะกระดาษสาเป็นวัสดุพื้นบ้านที่หาได้ง่าย มีผู้ประดิษฐ์ดอกได้เทียมเสียนแบบดอกไม้จริงจนกลายเป็นธุรกิจส่งออกรายใหญ่ ดอกไม้ที่ทำจากกระดาษสาเหนียว แมลงไม่กัดกิน ดอกไม้ผ้าขาดง่ายต้นทุนสูง บางชนิดสวยสู้ดอกไม้กระดาษสาไม่ได้ เช่น กุหลาบ กล้วยไม้ ดูสวยกว่าและสีสันดูเป็นธรรมชาติมากกว่า ดอกไม้ที่ทำจากกระดาษสายังมีคุณสมบัติพิเศษ คือ เวลาบรรจุกล่องไม่ยุ่น ดอกไม้ที่ขายดีมาก ได้แก่ กุหลาบ สแตติส ซิลเวอร์ทรี เยอบีรา ลิลลี่ ดอกบัว จิบโซฟิลล่า และพวกไม้ใบไม้ต้น และดอกไม้ในฝันอีกกว่า 50 แบบ นอกจากนี้ดอกไม้ในวรรณคดี ได้แก่ สารภี รสสุคนธ์ ลัดดาวัลย์ บัวน้ำ บัวดิน ปีบ พวงแสด พวงทอง อังกาบ แก้วเจ้าจอม จันทร์กระพ้อ รวงผึ้ง เล็บมือนาง

นอกจากนี้ยังใช้ประโยชน์จากกระดาษสา (จำลอง, 2526 ; จงกลนี, 2532) ทำบาติกและบัตรอวยพรกระดาษสา เหมาะต่อการประดับตกแต่ง บัตรอวยพรในโอกาสต่าง ๆ ปฏิทินแขวน สมุดจดบันทึก นามบัตร ของที่ระลึก ศิลปภาพฉีก ภาพวาด ว่าว กระดาษห่อของขวัญ ห่อของแตก กระดาษลอกลาย และใช้สำหรับห่อผ้าไหมทำให้แมลงไม่กัดกิน นอกจากนี้ยังใช้ตัดเย็บเสื้อผ้า ชุดวิวาห์ เพราะมีลักษณะคล้ายผ้าออแกนซ่า เนื้อบางและสีสดใส เนื่องจากแผ่นกระดาษสามีความสวยงานของเส้นใยสาสอดแทรกอยู่ในเนื้อกระดาษ และความนุ่มนวล ให้ความรู้สึกที่เป็นธรรมชาติ ชัยวัฒน์ (2532) ใช้กระดาษสาเคลือบสารเคมีซึ่งทำให้ทนไฟทำกระดาษรองพนักศีรษะ ซึ่งการบินไทยต้องใช้จำนวนมากและต้องสั่งซื้อจากไต้หวัน ซึ่งคุณภาพของกระดาษสาทนไฟ เมื่อเอาไฟจ่อจะลุกไหม้เฉพาะบริเวณที่ถูกไฟเท่านั้น ไม่ลุกลามไปยังบริเวณใกล้เคียง

ตั้งแต่ปี 2530 (วิทยา, 2532) ตลาดของกระดาษสาขยายตัวอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเป็นวัตถุดิบในการผลิตดอกไม้ประดิษฐ์เพื่อการส่งออก และประเทศไทยเป็นรายเดียวของโลกที่ผลิตดอกไม้ประดิษฐ์ส่งออก ซึ่งมีมูลค่าถึงปีละกว่า 100 ล้านบาท ทำให้การผลิตกระดาษสาไม่พอกับปริมาณความต้องการ จากสถิติการสำรวจข้อมูลการผลิตกระดาษสาในภาคเหนือของประเทศไทย พ.ศ. 2530 (มนัส, 2533) มีความต้องการใช้กระดาษสาถึง 56,275 กิโลกรัม ในขณะที่มีกำลังสามารถผลิตได้เพียง 23,230 กิโลกรัม ซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากต้นสาที่ขึ้นตามธรรมชาติ จากสถิติการสั่งซื้อเปลือกสาของญี่ปุ่น ปี 2530 ได้สั่งซื้อเปลือกสาจากไทยเป็นมูลค่า 6 ล้านบาทและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากประเทศญี่ปุ่นประสบปัญหาพื้นที่เพาะปลูกน้อยลง นอกจากสั่งซื้อเปลือกสาจากประเทศไทยแล้ว ยังได้พยายามนำพันธุ์สาจากญี่ปุ่นมาทดลองปลูกในประเทศไทยด้วย

ปัญหาในขณะนี้ คือ ต้นสากำลังขาดแคลน (นฤเบศร์, 2531) ในขณะที่ตลาดสินค้าชนิดนี้กำลังขยายตัวเพิ่มขึ้น วิทยา (2532) กล่าวว่าชาวบ้านต้องเดินทางไกลครั้งละกว่าสิบกิโลเมตรจากบ้านเพื่อเข้าป่าหาต้นสาที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ แล้วโค่นต้นลงมาเพียงเพื่อลอกต้นสาเอามาขายให้พ่อค้าในเมืองที่รับซื้อเอาไปขายต่อให้ชาวบ้านเอาไปทำกระดาษสา การหาเปลือกสาคราวต่อไปพวกเขาก็จะต้องเดินทางไกลเพิ่มขึ้นอีกเพื่อหาต้นสาที่ยังไม่ถูกโค่นและต้องเพิ่มระยะการเดินทางขึ้นเรื่อย ๆ เพราะต้นสาที่อยู่ใกล้ ๆ บ้านถูกโค่นหมดแล้ว

มนัส (2532) ได้ศึกษาการปลูก การขยายพันธุ์และการเก็บเกี่ยวต้นสาโดยเก็บรวบรวมต้นสาที่ขึ้นตามธรรมชาติจากเชียงใหม่ นครราชสีมา เลย กาญจนบุรี สุพรรณบุรี และพันธุ์ญี่ปุ่นมาปลูกขยายพันธุ์ในแปลงทดลองโดยแบ่งการขยายพันธุ์ออกเป็น 4 วิธี คือ ปักชำราก กิ่ง ไหล และเพาะเมล็ด พบว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของแขนงรากมีผลต่อการเกิดรากแตกต่างกัน แขนงรากที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่กว่าเกิดรากมากกว่าเพราะมีปริมาณอาหารสะสมมาก และมีจุดกำเนิดรากพร้อมที่จะเกิดรากและยอดที่จะกลายเป็นใบ ซึ่งมักพบในแขนงรากที่แก่ การชำแขนงรากต้นสาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 10 ม.ม. ยาว 10 ม.ม. มีปริมาณรากออกมามากกว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ม.ม. หรือน้อยกว่า สำหรับวัสดุที่ใช้ได้ผลดีในการปักชำแขนงรากต้นสา ได้แก่ ทรายผสมถ่านแกลบ อัตรา 1:1 การขยายพันธุ์โดยปักชำทั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1 ซ.ม. ยาว 6 นิ้ว จุ่มด้วยฮอร์โมนเร่งราก Seradix เบอร์ 1,2 และ 3 ชำในทรายผสมถ่านแกลบ ปรากฏว่ากิ่งปักชำไม่ออกรากแต่มีใบอ่อนออกมาจากตาข้าง แสดงว่า ฮอร์โมน Seradix ไม่มีผลต่อการเกิดราก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะกิ่งของต้นสามีไส้ (pith) กลวง ไม่มีเนื้อไม้ มีเฉพาะเปลือกและเนื้อที่อยู่ใต้เปลือกซึ่งมีอาหารสะสมน้อยจึงเกิดเฉพาะตาใบ พอแตกยอดได้ระยะหนึ่งก็ตาย อาหารไม่เพียงพอที่จะกระตุ้นให้เกิดจุดกำเนิดราก แต่อย่างไรก็ตามยังต้องศึกษาชนิดของฮอร์โมนเร่งรากและขนาดของกิ่งปักชำอีกต่อไป การขยายพันธุ์ด้วยไหล(stolon) ยังเป็นต้นอ่อนแตกออกมาจากรากที่เลื้อยตามผิวดิน หลังจากตัดออกมาโดยให้มีรากติดอยู่ นำมาปักชำในถุงพลาสติก ปรากฏว่าไหลต้นสาออกราก 99.25 % หลังจากปักชำได้ 30 วัน สำหรับการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด หลังจากต้นสาอายุ ประมาณ 1 ปี จะเริ่มออกผล นำเมล็ดไปผึ่งลมให้แห้งแล้วนำไปเพาะในดินผสมขุยมะพร้าว งอก 66 % เมื่อเปรียบเทียบการงอกของรากในการขยายพันธุ์ด้วยไหล แขนงรากและเมล็ด พบว่าไหลมีรากงอก 99.25 % แขนงราก 76.25 % และเมล็ด 66 % สรุปว่าการขยายพันธุ์ด้วยไหล แขนงรากและเมล็ดเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่ดีที่สุด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณและขนาดพันธุ์ปลูก ถ้ามีแหล่งต้นสาที่ขึ้นตามธรรมชาติมากก็อาจใช้วิธีขยายพันธุ์ด้วยไหล แต่ถ้ามีแหล่งต้นสาน้อยอาจขยายพันธุ์ด้วยรากและเมล็ด ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและประหยัด

รายงานแรกเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของไม้ยืนต้น คือ รายงานของ Gautheret, (1934, 1937 ; อ้างโดย Bonga, 1977 ; Sommer & Brown, 1977) สามารถกระตุ้นให้แคมเบียมของสนเกิดแคลลัสขึ้น แต่ไม่สามารถที่จะกระตุ้นให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ จนกระทั่งอีก 3 ปีต่อมา เมื่อมีการพัฒนาเทคนิคต่าง ๆ ให้ดีขึ้นจึงสามารถทำให้เกิดเป็นส่วนของลำต้นได้ จากนั้นเรื่อยมาได้มีผู้สนใจศึกษาวิธีการกระตุ้นเนื้อเยื่อของไม้ยืนต้นจนสามารถทำให้เกิดเป็นแคลลัส และต้นพืชที่สมบูรณ์ได้จากการนำเนื้อเยื่อของกัน อย่างไรก็ตามไม่ใช่วิธีการง่ายนัก ในการที่จะชักนำให้ไม้ยืนต้นอีกหลายชนิดเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ใหม่ได้เหมือนกับที่ประสพผลสำเร็จมาแล้วในไม้ล้มลุกหลายชนิด

จึงสามารถกล่าวได้ว่า การขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศทั้งพวกไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็ง โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถทำได้ 3 วิธีคือ 1. การกระตุ้นให้ตาข้างแตกเป็นต้น 2. การกระตุ้นให้เกิดตาใหม่ 3. โดยผ่านวิธี somatic embryogenesis ใน 2 วิธีแรกนั้น การชักนำให้เกิดต้นทำได้โดยการเจริญเติบโตของตาที่จะให้ตานั้นเจริญเป็นต้นต่อไป ในทางตรงกันข้าม somatic embryogenesis จะทำให้เกิด bipolar embryo โดยผ่านขั้นตอนที่คล้ายกับการเกิด zygotic embryogenesis แนวโน้มที่จะได้จำนวนกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มสูงขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็ยากที่จะผลิตกล้านั้น ๆ จากการใช้วิธีการที่กล่าวมาข้างบนทำให้ในระยะ 20 ปีที่ผ่านมานี้ มีการขยายพันธุ์ของพวก angiosperm 70 ชนิด และ gymnosperm 30 ชนิด แต่ส่วนใหญ่เป็นการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น มีเพียงบางชนิดที่สามารถขยายได้เป็นปริมาณมาก ๆ

ในที่นี้จะกล่าวถึงการขยายพันธุ์พืชกลุ่มที่มีเนื้อไม้โดยการนำเอาอวัยวะส่วนต่าง ๆ มาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น (organogenesis) วิธีการนี้เป็นวิธีการที่ใช้กันมากในการทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับพวกที่มีเนื้อไม้ขบวนการนี้มีหลายขั้นตอน ซึ่งสามารถสรุปได้อย่างน้อย 4 ระยะ คือ 1. การเริ่มต้นโดยการกระตุ้นตา 2. การพัฒนาของต้นและการเพิ่มปริมาณต้น 3. การออกรากของต้นที่พัฒนาเต็มที่แล้ว 4. การปรับสภาพต้น และในบางกรณีระยะที่ 3 และ 4 จะทำพร้อม ๆ กัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการออกรากนอกของชวด (Thorpe & Patel, 1984)

การเริ่มต้นโดยการกระตุ้นตา

วิธีการนี้จะใช้ส่วนของยอด ตาข้าง หรือกิ่งขนาดเล็ก แล้วกระตุ้นให้ตาเหล่านั้นเจริญเติบโตเป็นต้น โดยไม่มีการผ่านการเกิดแคลลัสแต่อย่างใด ซึ่งจะให้ได้ต้นที่ตรงตามพันธุ์ แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือ การขยายพันธุ์จะค่อนข้างช้าเพราะปริมาณตาที่นำมาทำมีน้อย และการเพิ่มปริมาณต้นในระยะเริ่มต้นจะทำได้ช้าเพราะมีจำนวนตาข้างน้อย แต่สุดท้ายก็จะได้อัตราที่เร็วขึ้นและคงที่ วิธีการนี้ได้ผลกับพวกสนบางชนิด แต่พวกพืชที่มีดอก (angiosperm) ที่ประสบผลสำเร็จวิธีนี้คือ เชอรี่ป่า (Cornu et al., 1981), แอสเพน (Ahuja, 1984), ยูคาลิปตัส (Gupta et al., 1981) และสัก (Gupta et al., 1980) ฯลฯ

มีปัจจัยหลายอย่างที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมของต้นไม้ในขวด (Murashige, 1974) ได้แก่ 1. อวัยวะพืชที่นำมาเลี้ยง 2. อายุและสรีรวิทยาของอวัยวะนั้น ๆ 3. ฤดูการที่นำมาทำ 4. ขนาดของชิ้นส่วน 5. คุณภาพโดยทั่วไปของต้นที่นำมาทำ นอกจากนี้การทำ pre-treatment กับต้นที่นำมาทำก็มีความจำเป็นกับพืชบางชนิด ความสำเร็จในการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนมีความจำเป็น และบางครั้งเกี่ยวข้องกับการทำงานหลายขั้นตอน (Thorpe & Patel, 1984)

เนื่องจากการขยายพันธุ์สามารถทำได้ดีในส่วนที่อ่อนมากกว่าส่วนที่แก่ จึงมีทางเลือก 2 ทางคือ เลือกชิ้นส่วนที่อ่อนที่สุดภายในต้น และทำให้ส่วนของต้นที่จะนำใช้อ่อนก่อนโดยวิธีการพิเศษ (Bonga, 1987) การใช้การปักชำของกิ่งที่อยู่ใกล้ลำต้น ยอดที่ตั้งตรงที่ได้จากส่วนฐานของต้น และยอดที่พัฒนามาจาก sphaeroblasts จะอ่อนกว่ากิ่งที่มาจากส่วนอื่น ๆ ดังนั้นการใช้ (หน่อที่แทงออกมาใหม่ใกล้ลำต้นใหญ่ที่ถูกตัดไป) และการทำให้แตกพุ่มจึงเป็นเรื่องปกติ เช่น โครงการขยายพันธุ์สนประสพผลสำเร็จโดยการใช้ยอดที่แตกออกมาไม่กี่ปีของต้น redwood เพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น (Boulay, 1979) ในสนบางชนิด เช่น Pinus rediata ยอดที่ได้หลังจากการคลุมต้นหรือ pruning โดยมีการกำหนดชิ้นส่วนในอายุ physiological age เมื่อเวลาเริ่ม pruning จะเป็นแหล่งชิ้นส่วนพืชที่ดีที่สุด (Libby et al, 1972)

มีพืชหลายชนิดโดยเฉพาะพวกสนเนื่องจาก juvenile sprouts ไม่มี จึงต้องมีการทำให้ส่วนของพืช rejuvenate ก่อนหรือในระหว่าง cloning (Bonga, 1987) มี

การพ่นกิ่งก้านที่คัดเลือกด้วยไซโตไคนิน (จะนิยมใช้ BA มากที่สุด) บอย ๆ (Abo El-Nil, 1982) หรืออาจใช้วิธีการ regrafting เช่น การนำเอา scion จากต้นที่แก่มาเสียบยอดกับกล้า root stocks ซึ่งจะเป็นการยืดคงลักษณะกรรมความอ่อนของ scion ของยางพารา ยูคาลิปตัส และ Douglas fir ได้ (Franclet et al., 1987)

สูตรอาหารที่นิยมใช้ในการเลี้ยงพืชที่มีเนื้อไม้คือ MS (Murashige & Skoog, 1962) หรือ woody plant medium (WPM, Lloyd & McCown, 1980) จะใช้มากกับพวกไม้มีดอก การกระตุ้นการเกิดยอดส่วนใหญ่จะใช้ BA เช่น Pinus pinaster (David & David, 1977) หรือ Betula platyphylla (McCown & Amos, 1979) โดยใช้ความเข้มข้นสูงถึง 25 uM

การพัฒนาของต้นและการเพิ่มปริมาณต้น

จุดประสงค์หลักของระยะนี้คือ การผลิตยอดที่สามารถเกิดรากได้สูงสุด ในพวก angiosperm ยอดที่เกิดในชวดช่วงแรกจะต้องได้รับไซโตไคนิน (4.5-25 uM) เพื่อทำลาย apical dominance และกระตุ้นการแตกกิ่งก้านของตาข้างจากซอกใบ (Hu & Wang, 1983) ขบวนการนี้สามารถจะทำซ้ำได้ที่จะผลิตวงจรของต้นที่ออกรากได้ในช่วงเวลาเป็นสัปดาห์ถึงบางเดือน โดยปกติออกซินจะมีปฏิกิริยาร่วมกับไซโตไคนิน กระตุ้นการเกิดแคลัส ส่วนสารเร่งการเจริญเติบโตตัวอื่น เช่น GA_3 ก็ใช้ได้ในบางโอกาส แต่ในทางตรงกันข้ามในพวกสนขบวนการจะเกี่ยวข้องกับการพัฒนาเนื้อเยื่อส่วนข้อ ที่เกิดขึ้นระหว่างระยะการกระตุ้นตาให้กลายเป็นยอดด้วยprimary needles จากนั้นยอดเหล่านี้จะเพิ่มปริมาณ ดังนั้นแนวโน้มที่จะผลิตต้นเป็นจำนวนมากจึงเป็นไม่ได้ วิธีการที่ใช้ได้มีการคิดค้นขึ้นมา เพื่อให้ต้นจำนวนมากและในเวลาเดียวกันจะทำให้เกิดแคลัสน้อยที่สุด

โดยปกติ การเกิดยอดจริง ๆ จาก juvenile leaf primordia ในสนต้องมีการย้ายลงสู่อาหารที่มีระดับของสารเร่งการเจริญเติบโต และ/หรือ สูตรอาหารที่เหมาะสม และบ่อยครั้งที่จะรวมถึง activated charcoal ด้วย(Biondi & Thorpe,1982; Thorpe & Biondi, 1984) ในบางกรณี shoot primordia ที่เกิดในการเลี้ยงเริ่มแรกและต้องย้ายลงในอาหารที่ช่วยยืดก้าน แต่ในพวกสนส่วนใหญ่ไม่ต้องการสารเร่งการเจริญเติบโตในระยะนี้

การออกรากของต้นที่พัฒนาเต็มที่แล้ว

ขบวนการนี้สามารถทำรวมกับการปรับสภาพต้นกล้าก็ได้ ขึ้นอยู่กับว่าจะออกรากในหรือนอกขวด ถ้าหากออกรากภายในขวด จะมีเครื่องปลูก 2 ชนิดและออกซินหลาย ๆ ตัว เป็นพื้นฐานเครื่องปลูกดังกล่าว ได้แก่ อาหารวุ้น กับเครื่องปลูกที่ไม่ใช้ดิน เช่น พีท เวอรมิคูไลท์ และ เพอรท์ ทำให้ชื้นด้วยอาหารเหลวหรือน้ำประปา โดยทั่วไปยอดที่ออกรากได้จะนำมาแช่ในสารละลายออกซินในเวลาอันสั้น ส่วนใหญ่จะใช้ IBA ในทางกลับกันออกซินระดับความเข้มข้นต่ำอาจใส่ลงในอาหาร หรือจุ่มยอดในผงช่วยให้เกิดราก(rooting powder) ที่ขายเป็นการค้าที่ฆ่าเชื้อแล้ว นอกจากนี้มีสารเคมีหลายชนิดที่เรียกว่า "auxin synergists" หรือ rooting "co - factor" ที่เพิ่มการตอบสนองการออกรากของออกซินที่ให้ไป (Jarvis, 1986) เช่น Smith & Thorpe (1977) แสดงให้เห็นว่า การใช้ aromatic amino acids และ phenolic ธรรมดา สามารถเร่งการเกิด root primordia ของ Pinus radiata และ Pythoud et al. (1986) สังเกตเห็นผลร่วมระหว่างวิตามินดี และ IBA ในการเกิดรากฝอยของ Populus tremuta

เมื่อเครื่องปลูกเป็นอาหารวุ้น ความเข้มข้นของเกลือจะลดลงเหลือ $^{1}/_{2}$ หรือ $^{1}/_{4}$ และน้ำตาลซูโครสจะลดลงเหลือ 1-2% อาหารที่มีเกลือต่ำ เช่น WPM และ GD (Gresshoff & Doy, 1972) จะเพิ่มเปอร์เซนต์การออกรากของ axillary shoots จากไม้เนื้อแข็ง (Chalupa, 1987) ในบางครั้งก็มีการเพิ่มปริมาณวุ้นในสภาพในเรือนโรงอนุบาล จะมีแบบ intermitten mist เครื่องปลูกที่ไม่ใช้ดินหรือเป็นทราย การบังร่มเงาหรือการให้ความร้อนที่เครื่องปลูก แต่มีพวกไม้เนื้ออ่อนบางชนิดเท่านั้นที่ออกรากง่างนอกขวด ส่วนไม้เนื้อแข็ง ได้แก่ Salix, Betula และ Ulmus spp. ที่ออกรากง่ายมากในส่วนผสมของพีท และเพอไลท์ หรือทราย (Chalupa, 1987) อัตราการอยู่รอดอาจจะเพิ่มขึ้นถ้ามีการ hardening เล็กน้อยก่อนจะลงในกะบะออกราก และอีกครั้งยอดจะถูก pulse ด้วยออกซินหรือจุ่มลงในผลออกรากก่อนจะเอาไปไว้ในเครื่องปลูก

ประโยชน์หลักของการออกรากนอกขวดก็คือ การออกรากและการปรับสภาพต้นสามารถจะพร้อมกันได้ ข้อควรคำนึงที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ มีการเกิดแคลลัสน้อยมากตรงส่วนฐานของยอดเหล่านี้ ซึ่งทำให้มั่นใจว่าการเชื่อมต่อของยอดและรากจะต่อเนื่องกัน ในวุ้น

การออกรากจะเกิดพร้อมกันมากกว่าเพราะยอดปักลงในอาหาร (Mohammed & Vidaver, 1988) แต่อย่างไรก็ตามรากที่เกิดโดยวิธีนี้มักจะหนาและไม่มีรากขน และจะเป็นปัญหามากถ้าทิ้งต้นกล้าไว้ในอาหารออกรากนาน ๆ และอาจเกิดแคลัสตรงฐานของกล้า และถ้ารากเกิดจากกลุ่มเซลเหล่านี้การเชื่อมต่อของยอดและรากอาจจะไม่ดี ในขณะที่ยอดที่ออกรากในเครื่องปลูกที่ไม่ใช่วุ้นภายในขวดจะออกรากปกติ และต้นกล้าเหล่านี้สามารถปรับตัวได้ในสภาพที่ไม่ปลอดเชื้อ แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าหากเครื่องปลูกแฉะหรือแห้งเกินไป การออกรากลดลง และถ้าใช้ออกซินสูงเกินไปก็จะเกิดแคลัสได้เช่นกัน

ปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

ปัจจัยอื่น ๆที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์พืชพวกที่มีเนื้อไม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายประการ ประการแรกได้แก่ การเกิดสารพิษสีน้ำตาล (browning) ซึ่งเกิดจากขบวนการ oxidation ของสารประกอบฟีนอลิคที่บริเวณผิวตัด (Wetmore and Morell, 1949; Reinert and White, 1956 ; Brown and Lawrence, 1968 ; Butcher, 1977; Murashige,1974 ; Monaco et al., 1977; Bonga, 1977 ; Concalves, 1977; Sondahl and Sharp, 1977 ; Gupta et al., 1979 ; Sommer and Brown, 1977 ; Daugall, 1977) โดยปกติสารประกอบฟีนอล และ phenolic oxidase ในต้นพืชนั้นจะอยู่เป็นสัดส่วนในที่เฉพาะเจาะจงภายในเซลถ้าเกิดบาดแผลหรือรอยตัดมันจะมารวมกันแล้วเกิด oxidation ซึ่งเป็นพิษต่อเซลพืช และทำให้เซลตายในที่สุด White (1953; อ้างโดย Reinert and White, 1956) ประสพความล้มเหลวในการเพาะเลี้ยงแคมเบียมของสน โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นน้อยมากถึงแม้จะมีการย้ายแคลลัสไว้บนอาหารที่เตรียมใหม่หลายครั้ง ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาการเกิดสารพิษสีน้ำตาลขึ้น ดังนั้นจึงได้มีผู้พยายามยับยั้งการเกิดสารที่เป็นพิษต่อการเจริญของเนื้อเยื่อดังกล่าว โดยใช้สาร antioxidant ต่าง ๆ เป็นต้นว่า การผสม ascorbic acid ความเข้มข้น 10^{-3} M ลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อของ Equisetum hiemale (Wetmore and Morell, 1949) และ ascorbic acid ความเข้มข้น 50 มก/ลิตร ผสมลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงแคมเบียมของ Pinus palmtris (Brown and Lawrence, 1968) แต่ในการเพาะเลี้ยง Tumore

ของ Picia glauca ถึงแม้จะผสม ascorbic acid ความเข้มข้น 50 - 100 มก/ลิตร ลงในอาหารเนื้อเยื่อยังคงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายภายใน 2 - 3 วันต่อมา หรือแม้แต่การแช่เนื้อเยื่อใน ascorbic acid ความเข้มข้น 150 มก/ลิตร นาน 48 ชั่วโมง ก็ยังคงล้มเหลว แต่การผสม tyrosine ความเข้มข้น 40 มก/ลิตร ลงในอาหาร ปรากฏว่าเนื้อเยื่อมีชีวิตอยู่ได้ 3 สัปดาห์ จึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Reinert and White, 1956) การแช่เนื้อเยื่อใน ascorbic acid 100 มก/ลิตร ผสม citric acid 150 มก/ลิตร ก่อนการเพาะเลี้ยงสามารถป้องกันการเกิดสารพิษสีน้ำตาลได้ในพืชหลายชนิด (Jones and Murashige, 1974 ; Anderson, 1974 ; Cheng, 1975 ; Miller and Murashige, 1976) การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบางชนิดใช้ activated charcoal ผสมลงในอาหารด้วยเพื่อให้ดูดสารที่เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อพืช (Collins and Genovesi, 1982) การเติม 1-2 % activated charcoal ลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงอับเรณูของยาสูบ พบว่า เกิดพืชต้นเล็ก ๆ มากมาย เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เติม activated charcoal ทั้งนี้เพราะ activated charcoal จะดูดเอาฮอร์โมนที่หลั่งออกมาจากผนังเซลของอับเรณูที่กลายเป็นสีน้ำตาล และฮอร์โมนนี้จะทำลายเซลของอับเรณูตายในเวลาต่อมา(Anagnartakis, 1974) แต่ใน Eucalyptus grandis นั้น การเติม activated charcoal 0.8% ลงในอาหารจะยับยั้งการเกิดแคลลัสของเนื้อเยื่อจากใบ เนื่องจาก activated charcoal ได้ดูดสารบางอย่างในอาหารซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อพืช การป้องกันการเกิดสีน้ำตาลจึงทำโดยแช่ใน saline - sugar medium 3 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยง (Concaves et at., 1977) และใน กาแฟ (Coffea racemosa) การเติม activated charcoal 0.01 -2% ลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากใบ พบว่า เนื้อเยื่อยังคงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายภายใน 2 -3 วัน แต่ถ้าแช่เนื้อเยื่อใน cystein 50 - 100 มก/ลิตร ก่อนการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ผสม 10- 50 มก/ลิตร cystein จะสามารถป้องกันการเกิดสารสีน้ำตาลได้ (Sondahl and Sharp, 1977) ส่วนการเพาะเลี้ยงข้อจากกิ่งของ Eucalyptus grandis นั้น สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้โดยแช่ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วนาน 2 ชั่วโมง ก่อนการเพาะเลี้ยง (Cresswell and Nitch, 1975)

การฉ่ำน้ำก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับไม้พวกที่มีเนื้อไม้ ซึ่งปรากฏว่าเป็นความผิดปกติทางสรีรวิทยาที่การสร้างลิกนินและคิวติเคิลลดลง และขนาดของเซลใหญ่ขึ้น เนื่องจากมีการ diffusion ของน้ำเข้าไปในเนื้อเยื่อเหล่านี้ (Gaspar et al, 1987) ใบจากต้นฉ่ำน้ำ มักจะใส หนา ม้วนขึ้น ยืดยาว และในสนจะมีใบเข้มและรวมอัดกันแน่น ก้านของต้นเหล่านี้จะอ้วน ฉ่ำน้ำและเปราะ (Boulay, 1985; Gaspar et al., 1987) ยอดนี้จะชยายต่อไปยากและออกรากยากเช่นกัน (Boulay, 1985) และเมื่อย้ายต้นเหล่านี้เพื่อปลูกจะเหี่ยวเร็วและติดเชื้อได้ง่าย (Gaspar et al., 1987)

สภาพที่ใช้ในการเก็บชวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ปัจจัยอย่างหนึ่งที่มีผลต่อความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็คือ สภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จากรายงานต่างๆ เท่าที่ได้ศึกษามาในพืชยืนต้นสภาพที่ใช้ในการเก็บชวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไป ได้แก่ อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วงระหว่าง 25 - 28 องศาเซลเซียส สำหรับในกาแฟ (Coffea racemosa) พบว่า ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 28 องศาเซลเซียส จะทำให้การผลิตสารสีน้ำตาลจากเนื้อเยื่อเพิ่มมากขึ้น (Sondahl and Sharp, 1977)

ความต้องการของแสงสว่างนั้น พืชบางชนิดต้องการความมืดในการเกิดต้นหรือราก เช่นในการเพาะเลี้ยงรากของ Populus tremyloides ต้องการความมืดประมาณ 6 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดตายอด ถ้าได้รับแสงสว่างตายอดนี้จะไม่เกิดขึ้น จะเห็นได้ว่าแสงเป็นตัวจำกัดการเกิดตายอด (Winton, 1970) สำหรับคุณภาพของแสง (light quality) ได้มีผู้ทดลอง พบว่า แสงสีแดงและแสงสีน้ำเงินมีความสำคัญในการชักนำให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบของพีทูเนีย ในขณะที่แสงฟาร์-เรด มักจะชะงักการเกิดยอด แต่ผลของแสงสีแดงและแสงฟาร์เรดนั้น สามารถลบล้างกันได้ขึ้นกับว่าเนื้อเยื่อได้รับแสงชนิดใดหลังสุด กล่าวคือ ถ้าได้รับแสงสีแดงหลังจากที่เนื้อเยื่อได้รับแสงฟาร์เรดมาก่อน ก็สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากมาย

วิธีการดำเนินงาน

1. การสำรวจและการรวบรวมพันธุ์สาที่เจริญในแหล่งต่าง ๆ ในภาคเหนือ

ได้ดำเนินการสำรวจต้นสาในเขตภาคเหนือในจังหวัดต่างๆ คือ เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน แพร่ น่าน และตาก

2. การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

ใช้เมล็ดแก่ที่เก็บจากต้นสาที่มีลักษณะต้นตรง เปลือกลำต้นหนา นำเมล็ดมาเพาะบนกระดาษกรองที่ทำให้ชุ่มน้ำด้วยน้ำกลั่นในจานเลี้ยงเชื้อ (Petri-dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตรใช้ปากคีบนำเมล็ดวางบนกระดาษกรองจำนวนจานละ 100 เมล็ด เก็บไว้ในกล่องความชื้นเริ่มนับจำนวนต้นที่งอกตั้งแต่ 7 วันไปจนถึง 1 เดือน

3. การขยายพันธุ์ด้วยไหล

นำท่อนไหลที่มีตาที่ยังไม่งอก ตัดเป็นท่อนขนาดประมาณ 6-8 นิ้ว ชำในกระบะพลาสติก ซึ่งมีวัสดุปลูกคือ ขี้เถ้าแกลบและทรายละเอียด อัตราส่วน 1 : 1

4. การปักชำกิ่ง

นำกิ่งสาจากต้นที่มีลักษณะต้นตรง เปลือกลำต้นหนา ใช้กิ่งที่เริ่มมีสีน้ำตาลและมีลักษณะเต็ม ลำต้นไม่กลวง เพื่อให้มีอาหารสะสมในต้นพอที่จะเลี้ยงต้นใหม่ได้ ซึ่งมีตาข้างประมาณ 3-4 ตา ตัดเป็นท่อนขนาดประมาณ 6-8 นิ้ว ปิดทับส่วนรอยตัดที่ยอดด้วยแผ่น parafilm เพื่อลดการคายน้ำ เปรียบเทียบกับการปักชำยอด ชำในกระบะพลาสติกซึ่งมีวัสดุปลูกคือ ขี้เถ้าแกลบและทรายละเอียด อัตราส่วน 1 : 1 ใช้ฮอร์โมนจุ่มรากแบ่งเป็นชนิดและความเข้มข้นดังนี้

IBA	1,000	ppm.
NAA	1,000	ppm.
NAA	2,000	ppm.
NAA	3,000	ppm.
NAA	4,000	ppm.
NAA	5,000	ppm.
Seradix เบอร์ 2		
Seradix เบอร์ 3		
Roottone		

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชิ้นส่วนตั้งต้น

มีการทดลองใช้ทั้งเมล็ดและตาของสาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น เมล็ดของสาได้จากต้นสาที่มีลักษณะต้นตรง เปลือกลำต้นหนา และตาของสาได้โดยการคัดเลือกจากต้นที่มีอายุประมาณ 5 - 8 ปี และลำต้นมีลักษณะตั้งตรง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ

นำเมล็ดมาฆ่าเชื้อในเอทธานอล 70 เปอร์เซนต์ นาน 3 - 5 วินาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซนต์ นาน 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จึงเพาะในอาหารตั้งต้น ส่วนตาของสาทำการฆ่าเชื้อด้วยเอทธานอล 70 เปอร์เซนต์ นาน 3 - 10 วินาที แล้วฟอกด้วยเมอคิวร์คคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซนต์ นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งจึงย้ายลงในขวดเลี้ยงต่อไป

อาหารตั้งต้น

อาหารตั้งต้นประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและรองของสูตร Murashige and Skoog (1962) โดยมี thiamine 1 มก/ลิตร , myo-inositol 100 มก/ลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร NaFeEDTA 35 มก.ต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร มีการปรับ pH ให้ได้ 5.8 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ปริมาณอาหาร 30 มิลลิลิตรต่อขวด

การควบคุมสภาพแวดล้อม

ขวดที่เลี้ยงเมล็ดและตา จะนำไปเก็บไว้ในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 25 °C และให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

การวางแผนการทดลอง

ต้นที่เจริญเติบโตขึ้นมาจะได้จากการเพาะเมล็ดทั้งหมด ส่วนการเลี้ยงตาไม่ประสพผลสำเร็จ เนื่องจากชิ้นส่วนจะมีสารสีน้ำตาลออกมาและตายในที่สุด จึงได้นำต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาทำการทดลองต่อไป โดยมีการทำการทดลอง 3 การทดลองต่อเนื่องกัน ได้แก่

การทดลองที่ 1 การหาปริมาณสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสม

ทำการทดลองแบบ 3 x 2 x 3 Factorial in CRD โดยศึกษาความสัมพันธ์ของไคเนติน ความเข้มข้น 2, 4 และ 8 มก/ลิตร กับ IAA และ NAA ความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.4 มก/ลิตร เพื่อศึกษาถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของต้นสา

การหาปริมาณ Riboflavin ที่เหมาะสมในการลดแคลัสที่เกิดตรงส่วนฐานของชิ้นส่วน

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยศึกษาความเข้มข้นของ Riboflavin ระดับ 0 , 2 และ 4 มก/ลิตร ที่จะไปมีผลต่อการยับยั้งการเกิดของแคลัส

การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของออกซินที่เหมาะสมที่สุดของการออกรากต้นสาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยศึกษาชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ได้แก่ IBA และ NAA ในระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก.ต่อลิตร

ผลการทดลอง

1. การสำรวจและรวบรวมพันธุ์สาที่เจริญในแหล่งต่าง ๆ ในภาคเหนือ

จากการดำเนินการสำรวจต้นสาที่เจริญในเขตภาคเหนือในจังหวัดต่าง ๆ คือ เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน แพร่ น่าน และตาก พบว่า ต้นสาเป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลาง ส่วนใหญ่พบในป่าเบญจพรรณ ขึ้นตามริมดอยและบริเวณหนองน้ำ ในบริเวณที่มีความชุ่มชื้นสูงและเจริญได้ดีในบริเวณริมต้นน้ำลำธาร ส่วนบนภูเขานั้นต้นสาสามารถเจริญเติบโตได้แต่พบว่ายิ่งมีความสูงของระดับพื้นที่สูงของระดับพื้นที่สูงขึ้น ต้นสาจะเจริญเติบโตลดลง

2. การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

เมล็ดมีความงอกไม่สม่ำเสมอ ทยอยงอกตั้งแต่หลังการเพาะ 7 วัน ไปเรื่อย ๆ จนถึงประมาณ 1 เดือนจึงงอกส่วนใหญ่ เปอร์เซนต์ความงอกประมาณ 80 %

3. การขยายพันธุ์ด้วยไหล

ส่วนใหญ่ประสบปัญหาไหลไม่ค่อยงอกเป็นต้นอ่อนและมักเน่าเนื่องจากถูกเชื้อราเข้าทำลาย

4. การปักชำกิ่ง

การปักชำส่วนยอดมักไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจาก เป็นส่วนที่อ่อนเกินไปภายในลำต้นกลวงมีอาหารสะสมน้อยแต่มีการคายน้ำสูง ทำให้ไม่รอด แต่การปักชำกิ่งที่เริ่มมีสีน้ำตาล ลำต้นเต็มไม่กลวง โดยใช้ IBA 1,000 ppm. NAA 1,000 , 2,000 , 3,000 ,4,000 และ 5,000 ppm. Seradix เบอร์ 2 ,4 และ Roottone ช่วยให้การเกิดรากเร็วขึ้น ภายในเวลา 2-3 สัปดาห์หลังการปักชำ เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งเกิดรากภายใน 4 สัปดาห์ หลังจากการปักชำ

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การทดลองที่ 1 การหาปริมาณสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสม

ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของสา มีดังนี้คือ IAA ความเข้มข้นต่ำ คือ 0.1 และ 0.2 มก/ลิตร จะทำให้ต้นสาเจริญเติบโตได้ดีตามปกติ และมีแคลัสเกิดขึ้นที่ฐาน แต่ถ้าความเข้มข้นสูง 0.4 มก/ลิตร จะเกิดแคลัสมากเกินไป และต้นกลับเตี้ยลง ในขณะที่ NAA กลับไม่ช่วยส่งเสริมให้ต้นสาเจริญเติบโตตามปกติ ไม่ว่าความเข้มข้นจะเป็นเท่าใดก็ตาม นอกจากนี้แคลัสที่เกิดขึ้นมีสีน้ำตาลและเกิดขึ้นมากจนแทบจะปกคลุมต้นที่เจริญขึ้นมาทั้งหมด ใบจะไหม้

ส่วนความเข้มข้นของไคเนตินที่เหมาะสมที่สุดคือ 2 มก/ลิตร โดยต้นจะเจริญเติบโตตามปกติ เมื่อเทียบกับความเข้มข้น 4 และ 8 มก/ลิตร กล่าวคือ ไคเนติน 4 มก/ลิตร ต้นที่ได้จะมีทั้งต้นปกติและต้นฉ่ำน้ำบ้าง ส่วนไคเนติน 8 มก/ลิตร ต้นสากลับไม่เจริญเติบโต ใบไหม้ และเกิดการฉ่ำน้ำ จึงกล่าวได้ว่า ความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมที่สุดในการทำให้ต้นสาเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ได้แก่ อาหารมาตรฐาน MS ที่มีไคเนติน 2 มก/ลิตร และ IAA 0.2 มก/ลิตร

การทดลองที่ 2 การหาปริมาณ riboflavin ที่เหมาะสมในการลดแคลัสที่เกิดตรงส่วนฐานของชิ้นส่วน

จากผลการทดลองที่ 1 แม้จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างไคเนตินและ IAA แล้วก็ตาม แต่การเกิดแคลัสตรงบริเวณรอยตัดก็ยังเป็นปัญหาต่อการเจริญเติบโตของสาที่เพาะเลี้ยงโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การกำจัดแคลัสในระยะนี้จึงนำเป็นอย่างยิ่ง จากการรายงานของ George and Sherrington (1984) กล่าวว่า riboflavin 0.004 มก/ลิตร สามารถยับยั้งการเกิดแคลัสที่ยอดของ Eucalyptus ficifolia ได้ การทดลองที่ 2 นี้จึงได้มีการทดลองใช้ riboflavin ความเข้มข้น 0,2 และ 4 มก/ลิตร เพื่อยับยั้งการเกิดแคลัสของสา โดยทดลองในอาหารสูตรเดียวกับอาหารดั้งต้น และเติมไคเนติน 2 มก/ลิตร และ IAA 0.2 มก/ลิตร ซึ่งผลการทดลองเป็นดังนี้คือ

ต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี riboflavin จะเกิดแคลัสมากจนคลุมต้นเกือบมิดในเวลา 4 สัปดาห์ และต้นฉ่ำน้ำ ใบมีอาการใบไหม้ แต่ต้นที่เลี้ยงในอาหารที่มี riboflavin ไม่ว่าความเข้มข้นจะเป็น 2 หรือ 4 มก/ลิตร จะมีเพียงบางต้นที่เกิดแคลัสเพียงเล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่จะไม่เกิดแคลัส ต้นเจริญเติบโตสูงขึ้นตามลำดับ คือ 2.8 และ 3.5 เซนติเมตร ตามระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น นอกจากนี้ใบจะมีสีเขียวเข้ม ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่า riboflavin หรือวิตามิน B_2 นอกจากจะช่วยยับยั้งการเกิดแคลัสแล้ว ยังช่วยทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้นด้วย ดังแสดงในภาพที่ 1

ดังนั้นอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์สา ได้แก่ อาหารมาตรฐานดั้งต้น ที่มีไคเนติน 2 มก/ลิตร IAA 0.2 มก/ลิตร และ riboflavin 2 มก/ลิตร โดยใช้ส่วนข้อเดี่ยวเลี้ยงในอาหารดังกล่าว นาน 6 -8 สัปดาห์ จะได้ต้นที่มีความสูงประมาณ 4 -5 เซนติเมตร ซึ่งจะนำไปขยายต่อหรือนำไปกระตุ้นให้ออกรากต่อไป

การทดลองที่ 3 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของออกซิเจนที่เหมาะสมที่สุดของการออกรากต้นสาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำต้นจากการทดลองที่ 2 มาทดลองการออกรากในอาหารที่มีออกซิน 2 ชนิด คือ IBA และ NAA โดยทั้งสองมีความเข้มข้น 1 และ 2 มก/ลิตร ผลปรากฏว่า IBA 1 มก/ลิตร จะมีเปอร์เซนต์การออกรากสูงสุด คือ 47.5 เปอร์เซนต์ ในเวลา 4 สัปดาห์ ส่วน IBA 2 มก/ลิตร กลับทำให้เปอร์เซนต์การออกรากลดลงเหลือ 16 เปอร์เซนต์โดยไม่เกิดอาการใบเหลืองแต่อย่างใด เมื่อนำเอาต้นที่ออกรากออกปลูก ผลปรากฏว่า ต้นรอดทั้งหมด ในขณะที่ NAA ความเข้มข้นทั้ง 2 ระดับ นอกจากจะให้เปอร์เซนต์ต้นที่ออกรากต่ำ คือ 15.5 และ 14 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ใบจะเกิดอาการไหม้อย่างรุนแรงเมื่อนำออกปลูก ต้นจะตายไปมาก ดังแสดงในภาพที่ 2

นอกจากนี้ ได้นำเอาต้นที่ไม่ออกรากในขวดออกปลูกพร้อมกับต้นที่ออกราก โดยนำไปจุ่มในผงเร่งการออกราก ผลปรากฏว่า ต้นสามารถออกรากได้ภายใน 2 อาทิตย์ ดังนั้นเพื่อลดต้นทุนการผลิต จึงอาจจะมีการกระตุ้นให้ต้นสาออกรากภายนอกขวด

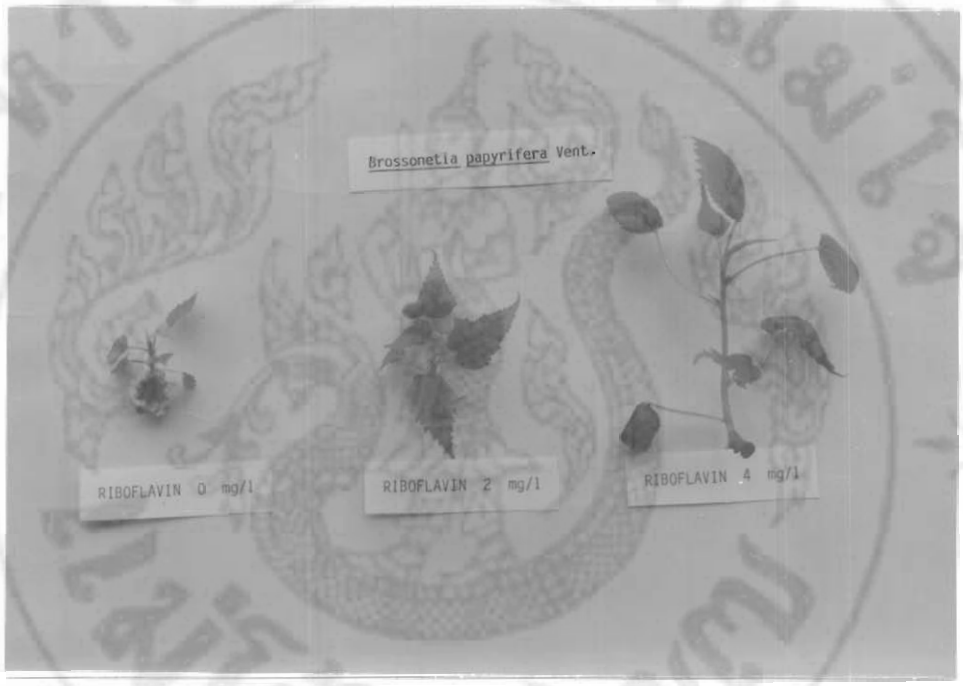
6. การศึกษาผลตอบแทน (cost/benefit) จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสา

จากการศึกษาผลตอบแทน(Cost/benefit)จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสา พบว่าต้นทุนในการผลิตต้นสาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็น 5.40 บาทต่อต้น โดยแยกเป็นต้นทุนในการเพาะเลี้ยงในห้องทอลอง 2.4 บาท การอนุบาลหลังนำต้นออกจากขวด 1 บาท ค่าปลูกและดูแลหลังการออกขวดจนเป็นต้นที่สามารถตั้งตัวและนำไปปลูกในแปลงได้เป็น 2 บาท

อย่างไรก็ตามค่าใช้จ่าย (cost) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสาจากจำนวน 5,000 ต้น ถ้าหากนำไปใช้ในการขยายพันธุ์สาในปริมาณที่มากขึ้น ต้นทุนอาจจะลดลงอีก

ส่วนค่าใช้จ่ายในการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด การปักชำไหล การปักชำกิ่ง ในการศึกษาครั้งนี้ยากที่จะประเมินออกมาได้เนื่องจากเปอร์เซนต์การรอดต่ำ

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

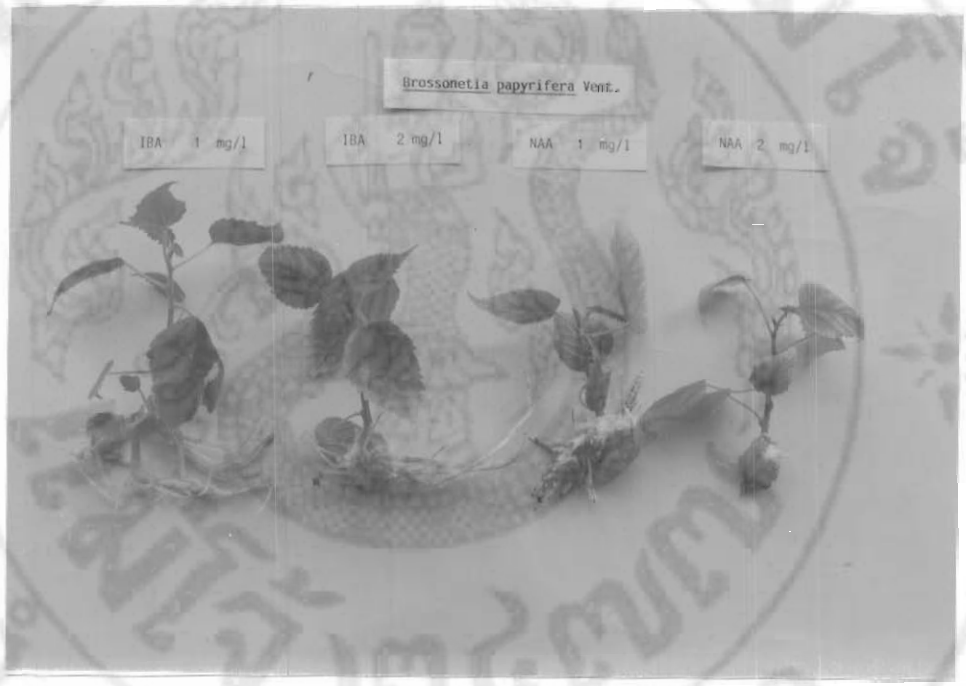


ภาพที่ 1 แสดงผลของความเข้มข้น riboflavin ที่เหมาะสมในการลดแคลลัสที่เกิดตรงส่วนฐานของชิ้นส่วน

riboflavin 0 มก/ลิตร เกิดแคลลัสคลุมต้น ต้นฉ่ำน้ำ และใบไหม้

riboflavin 2 มก/ลิตร เกิดแคลลัสเพียงเล็กน้อยหรือไม่เกิด ใบสีเขียวเข้มให้ต้นสูง

riboflavin 4 มก/ลิตร เกิดแคลลัสเพียงเล็กน้อยหรือไม่เกิด ใบมีสีเขียวเข้ม ให้ต้นสูงที่สุด



ภาพที่ 2 แสดงผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซินที่เหมาะสมต่อการออกรากสาโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

IBA 1 และ 2 มก/ลิตร ออกรากสูงสุด และไม่เกิดอาการใบเหลือง

NAA 1 และ 2 มก/ลิตร ออกรากน้อยกว่าการใช้ IBA ใบแสดงอาการเหลืองและไหม้

วิจารณ์และสรุปผล

การขยายพันธุ์สาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้ โดยเริ่มจากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อแล้วจึงนำต้นที่ได้มาขยายต่อไป แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาการขยายพันธุ์สาโดยการนำตายอดหรือตาข้างจากต้นที่โตเต็มที่ ซึ่งมีการพิสูจน์คุณภาพเยื่อที่นำมาทำกระตายแล้ว ซึ่งเป็นการคัดเลือกต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพดี เพราะการใช้เมล็ดยังมีข้อด้อยที่ต้นที่ได้อาจจะไม่เหมือนกับต้นแม่ เนื่องจากสาเป็นพืชผสมข้าม เมล็ดที่ได้อาจมีความแตกต่างออกไป

การเพิ่มปริมาณต้นสาให้ได้จำนวนมาก ควรเลี้ยงในอาหารที่มีธาตุอาหารหลักและรองตามสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มี thiamine 1 มก/ลิตร , myo-inositol 100 มก/ลิตร, ซูโครส 30 กรัม/ลิตร, NaFeEDTA 35 มก/ลิตร วุ้น 8 กรัม/ลิตร riboflavin 2 มก/ลิตร โดยมีสารเร่งการเจริญเติบโต ไคเนติน 2 มก/ลิตร และ IAA 0.2 มก/ลิตร ส่วนอาหารออกรากจะเปลี่ยนสารเร่งการเจริญเติบโตเป็น IBA 1 มก/ลิตร เพียงอย่างเดียว

จากการสังเกตขณะขยายพันธุ์สาในขวด พบว่า เมื่อเลี้ยงต้นไปนานสักระยะหนึ่ง บางต้นจะมีของเหลวชุ่นขาวไหลออกมาจากส่วนฐานรอยตัด จากนั้นต้นจะชะงักการเจริญเติบโตและตายในที่สุด จากรายงานของ Cassels (1991, in Debergh and Zimmerman, 1991) กล่าวว่า ของเหลวดังกล่าวนั้นได้แก่ จุลินทรีย์ที่พัฒนาภายในชิ้นส่วนพืชและสามารถแสดงออกหลังจากมีการฟอกฆ่าเชื้อและได้ชิ้นส่วนที่สะอาดแล้วก็ตาม และจุลินทรีย์เหล่านี้จะทำให้ผลผลิตลดลง ในกรณีการขยายพันธุ์สาในที่นี้ นอกจากจะลดการเจริญเติบโตแล้ว ต้นที่ถูกกระตุ้นในอาหารออกราก เมื่อมีจุลินทรีย์จะไม่เกิดรากเลย จึงทำให้เปอร์เซนต์การออกรากต่ำกว่าที่คาดหวังไว้

จึงสามารถสรุปได้ว่า การขยายพันธุ์สาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้ดี และไม่มีปัญหายุ่งยากแต่อย่างใด ดังนั้นการพัฒนาอุตสาหกรรมกระดาษสาจึงน่าจะเป็นไปได้ด้วยดี ถ้าหากไม่มีปัญหาด้านวัตถุดิบคือ เยื่อกระดาษที่จะป้อนเข้าโรงงานต่อไป

เอกสารอ้างอิง

------.2531. "กระดาษสาพัฒนาก้าวไกล". ไทยรัฐ. (14 กรกฎาคม 2531) :19.

------.2531. "กระดาษสาพัฒนาถึงขั้นไฮเทคใช้กันไปในเครื่องบิน-โรงแรม" ประชาชาติธุรกิจ (10 ธันวาคม 2531) : 11.

------.2532. การทำกระดาษสาในภาคเหนือ. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 5.

------.2532. ดอกไม้กระดาษสา. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 33-35.

เจษฎา เหลืองแจ่ม.2525.ปอกระสา.ข่าวสารเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.11:51-56.

จงกลนี เขจรานนท์. 2532. สวยด้วยกระดาษสา. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 42-44.

จันทร์เพ็ญ จีระวรารักษ์. 2534. บุษบาอมตะหัตถกรรมจากกระดาษสา. กินรี 8(11): 96-105.

จำลอง มุกเพชร. 2526. กรรมวิธีผลิตกระดาษสาจากต้นปอสาแบบพื้นบ้าน.น.3.1-3.4 ใน การพัฒนาปอสาเพื่ออุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ.

ชัยวัฒน์ กลั่นนาค. 2532. กระดาษสาทนไฟ. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 35-36.

ไชยยศ เพชรบูรณิน. 2526. การเกษตรของปอสา. น.2.1-2.5 ใน การพัฒนาปอสาเพื่ออุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ.

ไชยยศ เสมสันทัด. 2532. ว่าวกระดาษสา. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 39-41.

เฉลียว ปิยะชน. 2532. การใช้กระดาษสาในการแพทย์. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 19-21.

นัยนา นิยมวัน. 2531. โครงการพัฒนากระดาษสาแบบครบวงจร. 58 หน้า.

นฤเบศร์ สมฤทธิ์. 2531. เสน่ห์กระดาษสายังไม่สิ้น. สารคดี 38 : 121-132.

นฤมล เชิดชื่น. 2532. การ์ดอวยพรจากกระดาษสา. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 37-39.

มนัส กัมพุกุล. 2532. การศึกษาการปลูก การขยายพันธุ์และการเก็บเกี่ยวต้นสาเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับทำเยื่อกระดาษสา ในรายงานผลการวิจัยประจำปี 2532. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มนัส กัมพุกุล. 2533. การศึกษาการปลูก การขยายพันธุ์และการเก็บเกี่ยวต้นสาเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับทำเยื่อกระดาษและกระดาษสา. ข่าวงานวิจัยและเทคโนโลยี 9(4) : 3-4.

มนัส กัมพุกุล. 2533. คำแนะนำการปลูกต้นสา. เทคโนโลยี 11(3) : 3-6.

มนูญ จันทร์ประสิทธิ์. 2532. ประโยชน์ใช้สอยจากกระดาษสา. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 25-27.

มนตรี พรหมโชติกุล. 2527. กระดาษสาและกระดาษสาญี่ปุ่น น. 105-116. ใน การป่าไม้เพื่อการพัฒนาชนบท. เอกสารประชุมประจำปีกรมป่าไม้ 2527. เล่ม 1 กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ.

เมษ ตุงคะเศรธน์. 2526. การค้าเปลือกสาในประเทศไทย. น.7.1-7.4 ใน การพัฒนาปอสาเพื่ออุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ.

ทวีป คล้ำประเสริฐ. 2531. "ตระเวณเมืองน่าน ชมพิพิธภัณฑ์-บ้านแสงดาว" มติชนรายวัน (14 สิงหาคม 2531) : 19.

เยาวนิจ ทองพาหุลัจจะ และกฤษณา รวยอาจิณ. 2532. การทำกระดาษสาในภาคเหนือ อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 6.

รพีพร สุวรรณกุล. 2531."ต่างชาติกับปอกะสา" เดลินิวส์(15 ตุลาคม 2531) : 12.

วันทนี สาตราคม, นิโลบล เดชาติวงศ์ และรุ่งอรุณ ศิริพันธุ์. การศึกษาเกี่ยวกับการทำเยื่อกระดาษจากปอกะสา. ใน การพัฒนาปอกะสาเพื่ออุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ

วิทยา นาคธร. 2532. กว่าจะมาเป็นกระดาษสา. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 16.

สรรเสริญ เจริญศรี และมนตรี พรหมโชติกุล. 2517. การทำเยื่อกระดาษจากไม้และเปลือกปอกะสาโดยกรรมวิธีซัลเฟต. เลขที่ 5/52 กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ. 18 หน้า.

อนุชาติ พาชนะสารวุฒิ. 2532. งานวิจัยคุณภาพของชุดผ้าตัดกระดาษสา. อุตสาหกรรมสาร 32(4) : 22.

Abo El-Nil, M.M.1982. Method of asexual reproduction of coniferous trees. US Patent No 4,353,134.

Ahuja, M.R.1984. A commercially feasible micropropagation method for aspen. Silvae Genet 33 : 174 - 176.

Anagnartakis, S.L.1974. Haploid plants from anthers of tobacco enhancement with charcoal. Planta.115 : 281 - 283.

Anderson, W.C. 1974. Propagation of Rhododendron by tissue culture. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 24 : 129 - 135.

Biondi, S.; T.A. Thorpe. 1982. Clonal propagation of forest tree species. In Rao, A.N.(Ed.) Tissue Culture of Economically Important Plants (pp.197 - 204). Costed & Asian Network of Biological Sciences. Singapore.

Bonga,J.M. 1987. Clonal propagation of mature trees : Problems and possible solution. In Bonga,J.M.; D.J. durzan (Eds.) Cell and Tissue Culture in Forestry.Vol.1.(pp.249-271).Martinus Nijhoff, Dordrecht.

Bonga, J.M. 1977. Applications of tissue culture in forestry. In : Reinert,J. and Y.P.S.Bajaj (Eds.) Plant Cell Tissue and Organ Culture (pp. 93-107). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.

Boulay, M. 1979. Multiplication et clonage rapide de Sequoia sempervirens par la culture in vitro.Ann AFOCEL. No12:49-56:6/79.

Boulay, M. 1985. Some practical aspects and applications of the micropropagation of forest trees. In In vitro Propagation of Forest Tree Species (pp. 51-81). Proc. Intl. Symp. May, 1984. Bologna, Italy.

Brown, L.C. and R.H. Lawrence. 1968. Culture of pine callus on a defined medium. Forest Science., 14 : 62 - 63.

Cassels, A.C. 1991. Problems in tissue culture: Culture contamination. In Debergh, P.C. and Zimmerman (Eds.) Micropropagation:Technology and Application (pp.31-44). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London.

Chalupa, V. 1987. European hardwoods. In Bonga J.M. and D.J. Durzan (Eds.)Cell and Tissue Culture in Forestry. Vol.3 (pp.224-246). Martinus Nijhoff, Dordrecht.

Cheng, T. 1975. Adventitious bud formation in culture of douglus fir (Pseudosuga mensiesil). Plant Sci. Lett., 53 : 97 - 102.

Collins, G.B. and A.D. Genovesi. 1982. Anther culture and its application to crop improvement. In Application of plant cell and tissue culture to agriculture and industry.The University of Guelph Co-op book store. Ontario, Canada.

Concalves, A.N.; M.A. Machado; L.S. Caldas; W.R. Sharp and H.D.M. Mello. 1977. Tissue culture of Eucalyptus. In Larson, P.O.; E.F. Peddock and V. Raghavan (Eds.) Plant cell and tissue culture (pp. 509-526). Ohio State University press. pp. 509 - 526.

Cornu, D.; J.L. Riffaud and P. Capelli. 1981 In vitro propagation of wild cherry tree (Prunus avium L.).In Colloque International sur la Culture In Vitro des Essences Forestieres(pp.133-134).AFOCEL.

Cresswell, R. and C. Nitsch. 1975. Organ culture of Eucalyptus grandis. Planta. 125 : 87 - 90.

David, A. and H. David. 1977. Manifestation de diverses potentialite organogenes d'organes ou de fragments d'organes de pin maritime (Pinus pinaster Sol)en culture in vitro.CR Acad Sci Paris. Ser C 284 : 627 - 630.

Dougall, D.K.1977. Factor affecting the yields of secondary products in plant tissue culture. In Larson, P.O. ; E.F. Peddock and V.Raghavan (Eds.) Plant cell and tissue culture (pp.727-743). Ohio State University press.

Dunstan D.I. and T.A. Thorpe. 1986. Regeneration in forest trees. In Vasil, I.K. (Ed.) Cell Culture and Somatic Cell Genetics in Plants, Vol. 3 (pp. 223-241). Academic Press, New York.

Franclet A.; M. Boulay; F. Bekkaoui; Y. Fouret; B. Verschoore-Martauzet and N. Walker. 1987. Rejuvenation. In Bonga, J.M. and D.J.Durzan (Eds.) Cell and Tissue Culture in Forestry, Vol.1 (pp. 232-248). Martinus Nijhoff, Dordrecht.

Gaspar, T.; C. Kevers; P. Debergh; L. Maene; M. Paques and P.Boxus. 1987. Vitrification: Morphological, physiological and ecological aspects. In Bonga, J.M. and D.J. Durzan (Eds.) Cell and Tissue Culture in Forestry, Vol. 1 (pp. 152 - 167). Martinus Nijhoff, Dordrecht.

George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation and tissue culture: Handbook and directory of commercial laboratories. Exegetics Limited. Great Britain. 709 p.

Gresshoff, P.M. and C.H. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid Lycopersicon esculentum (tomato). Planta. 107: 473-497.

Gupta, P.K.; A.L. Nadgir; A.F. Mascarenhas and V. Jagannathan. 1980. Tissue culture of forest trees : Clonal multiplication of Tectona grandis (teak) by tissue culture. Plant Sci. Lett. 17: 259 - 268.

Gupta, P.K.; A.F. Mascarenhas and V. Jagannathan. 1981. Tissue culture of forest trees: Clonal propagation of mature trees of Eucarlyptus citrriodora Hook by tissue culture. Plant. Sci. Lett. 20 : 195-201.

Hu C-Y and P.J. Wang. 1983. Meristem, shoot tip and bud cultures. In Evans, D.A.; W.R. Sharp; P.V. Ammirato and Y. Yamada (Eds.) Handbook of Plant Cell Culture, Vol.1(pp. 177-227). MacMillan, New York.

Jarvis, B.C. 1986. Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings. In Jackson, M.B.(Ed.) New Root Formation in Plants and Cuttings(pp. 191-222). Martinus Nijhoff, Boston.

Jones, J.B. and T.Murashige. 1974. Tissue culture propagations of Aechmea farcilata and other Bromeliad. Proc.In. Plant Prop.Soc., 24 : 117 - 126.

Libby, W.J.; A.G. Brown and J.M.Fielding. 1972. Effects of hedging radiata pine on production,rooting and early growth of cuttings, NZ J. For. Sci. 2 : 263 - 283.

Lloyd, G.B. and B.H McCown . 1980. Commercially - feasible micropropagation of mountain-laurel, Kalmia latifolia by use of shoot tip culture. Comb. Proc. Intl. Plant. Prop. Soc. 30 : 412-427.

McCown, B.H. and R. Amos. 1979. Initial trials with commercial micropropagation of birch selections. Comb. Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 29 : 387-393.

Mohammed, G.H. and W.E. Vidaver. 1988. Root production and plantlet development in tissue-cultured conifers. Plant Cell Tissue Organ Culture. 14 : 137 - 160.

Monaco, L.C.,M.R. Sondahl, A. Carvalho, O.J. Crocomo and W.R. Sharp. 1977. Applications of tissue culture in the improvement of Coffea. In Reinert, J. and Y.P.S. Bajaj(Eds.)Plant cell tissue and organ culture(pp.93-107).Springer-Verlag, Berlin,Heidelberg.

Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture Annu. Rev. Plant Physiol. 25 : 135 - 166.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.

Pythoud, F., A.J. Buchala and A. Schmid. 1986. Adventitious root formation ingreen cuttings of Populus tremula: Characterization of the effect of vitamin D and indoleybutyric acid. Physiol. Plant. 68: 93-99.

Reinert, J. and P.R. White. 1956. The cultivation in vitro of tumor tissue and normal tissue of Picea glauca. Physiol. Plant., 9 : 177 - 189.

Smith, D.R. and T.A. Thorpe. 1977. Root initiation in cuttings of Pinus radiata seedlings : Effects of aromatic amino acids and simple phenylpropanoids. Bot. Gaz. 138 : 434-437.

Sommer, H.E. and C.L. Brown. 1977. Application of tissue culture to forest tree improvement. In Larsen, P.O., E.F. Reddock and V. Raghavan(Eds.) Plant cell and tissue culture (pp. 461-493). Ohio State University press.

Sondahl, M.R. and W.R. Sharp. 1977. Research in Coffea spp. and applications of tissue culture methods. In Larsen,P.O., E.F. Peddock and U. Raghavan (Eds.) Plant cell and tissue culture (pp.527-584). Ohio State University press.

Thorpe, T.A. and S. Biondi.1984. Conifers. In Sharp, W.R., D.A. Evans; P.V. Ammirato and Y. Yamada (Eds.) Handbook of Plant Cell Culture, Vol. 2 (pp. 435-470). Macmillan, New York.

Thorpe, T.A. and K.R. Patel. 1984. Clonal propagation : Adventitious buds. In Vasil, I.K.(Ed.) Cell Culture and Somatic Cell Genetics in Plants, Vol. 1 (pp. 49-60). Academic Press, New York.

Wetmore, R.H. and G. Morell. 1949. Polyphenol oxidase as a problem in organ culture and auxin diffusion studies of horsetails and ferus. Amer. J. Bot., 36 : 830.

Winton, L.L. 1970. Shoot and tree production from aspen tissue cultures. Amer. J. Bot., 57(8) : 904 - 909.