

ผลของขนาดยอดและความเข้มข้นของเบนซิลอะดีนีนต่อการพัฒนา เป็นพืชต้นใหม่จากยอดพุทน้ำ

Effects of Shoot Size and N6-benzyladenine Concentration on Shoot Organogenesis of Phut Nam

เปรมฤดี ด้ายศ^{1*} เบญจวรรณ ชุสิริ¹ และกาญจณี เตชะวรารักษ์²

Premrudee Domyos^{1*}, Benjawan Shusiri¹ and Kanjanee Techaworarak²

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของขนาดยอดและความเข้มข้นของเบนซิลอะดีนีน (N6-benzyladenine, BA) ต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากยอดพุทน้ำ [Kailarsenia hygrophila (Kurz) Tirveng.] นำผลพุทน้ำมาเชื่อมบริเวณผิวโดยจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95% แล้วลนไฟ ตัดปลายด้านหัวและท้ายของผล ตัดเปลือกสีเขียวออก แล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นาน 2 สัปดาห์ พบว่ามีความปลอดภัย 100% ตัดชิ้นส่วนยอดความยาว 1 และ 2 ซม. วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1 3 และ 5 มก./ล. ทดลองแบบแฟกทอเรียล (factorial experiment) ในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) มี 5 ซ้ำ หลังจากเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่า ทั้งขนาดของชิ้นส่วนยอดและความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนและความสูงของยอดที่เกิดขึ้นใหม่แตกต่างกัน BA 3 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดใหม่จำนวนมากที่สุดและมีความสูงมากที่สุด ขนาดของชิ้นส่วนยอด พบว่า ขนาด 1 ซม. เกิดยอดใหม่จำนวนมากที่สุดและมีความสูงมากที่สุด แต่ไม่มีผลร่วมระหว่างขนาดของชิ้นส่วนยอดกับความเข้มข้นของ BA การตัดตัดลำต้นพุทน้ำจากยอดความยาว 2 ซม. วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติมกรดแนฟทาซีนแอซิดิก (α -naphthalene acetic acid, NAA) ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 มก./ล. เพื่อชักนำการเกิดราก วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด มี 5 ซ้ำ หลังเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ พบว่า ลำต้นพุทน้ำมีอัตราการเกิดราก จำนวนราก และความยาวรากมากที่สุดบนอาหารที่ไม่เติม NAA

คำสำคัญ : ชิ้นส่วนยอด การเพาะเลี้ยงยอด การชักนำราก การฆ่าเชื้อบริเวณผิว การปนเปื้อน

¹วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง สถาบันการอาชีวศึกษาเกษตรภาคใต้ จังหวัดพัทลุง 93000

¹ Phatthalung College of Agriculture and Technology, Southern Vocational Institute of Agriculture, Phatthalung 93000

² วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีกระบี่, สถาบันการอาชีวศึกษาเกษตรภาคใต้, จังหวัดกระบี่ 81130

² Krabi College of Agriculture and Technology, Southern Vocational Institute of Agricultural, Krabi 81130

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน (Corresponding author) e-mail: premrudee54@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this research was to investigate the effects of shoot size and benzyl-adenine concentration on shoot organogenesis of Phut Nam [*Kailarsenia hygrophila* (Kurz) Tirveng.]. The fruit explants were flame sterilized by dipping them in 95% alcohol followed by flaming. These explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium without plant growth regulator for 2 weeks and were 100% free from contamination. The culturing shoot explants at 1 and 2 cm in length were placed on MS medium supplemented with N6-benzyladenine (BA) at concentration of 1, 3 and 5 mg/L. The experiment separated two-factor factorial with completely randomized design (CRD), 5 replications. After 8 weeks in culture, it was found that the 1 cm shoot length or medium containing 3 mg/L BA showed the greatest number and height of new shoots and nonsignificant in interaction between shoot size and BA concentration. The excised stems from shoot cultured were placed on MS medium without or containing 0.25 and 0.5 mg/L α -naphthalenacetic acid (NAA) for root induction. After for 6 weeks in culture, stem explants gave the highest root formation, number and lengths on medium without NAA.

Keywords: shoot explant, shoot cultured, root induction, surface sterilization, contamination

บทนำ

พรุสวนพฤกษศาสตร์พัทลุงเป็นส่วนหนึ่งของป่าพรุรอบทะเลน้อย ตั้งอยู่ตำบลพางตุง อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง มีลักษณะเป็นป่าพรุน้ำจืดที่สมบูรณ์มาก มีซากอินทรีย์หนา แอ่งน้ำกระจายอยู่กลางพื้นที่ แอ่งน้ำใหญ่ พรุฝนน้ำบริเวณกว้างสลับกับเสม็ดขาว และมีเสม็ดเป็นไม้เด่นในสังคม โดยเสม็ดแดงเป็นพรุฝนน้ำหลัก พรุฝนน้ำรองลงไป เช่น หยีน้ำ กระทุ่ม กระจับ ไทร ทองหลาง หว่า เตยทะเล จิกน้ำ หว่า กระต้อมหนู กุ่มน้ำ เป็นต้น และมีพรุฝนน้ำ เช่น บัว กก กระจุต หย่ายุ่ง ประทะเล เป็นต้น [1, 2] จากการสำรวจของผู้วิจัยพบพุดน้ำ (Phut Nam) ขึ้นปะปนอยู่เป็นจำนวนมาก พุดน้ำ [*Kailarsenia hygrophila* (Kurz) Tirveng.] เป็นพืชชายน้ำ (marginal plant) ลักษณะวิสัยเป็นไม้พุ่ม สูง 1-3 เมตร ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก ปลายใบสอบแหลม ฐานแหลม สอบแคบ หรือมน ขอบใบเป็นคลื่น ดอกแบบช่อออกตามซอกใบ รูปประจักษ์ กลีบเลี้ยงสีเขียว กลีบดอกสีขาว เกสรเพศผู้สีน้ำตาล เกสรเพศเมียสีเหลืองอ่อน ผลสด สีเขียว รูปทรงกระบอกหรือรูปรี ปลายผลมีกลีบเลี้ยงติดอยู่ แยกเป็น 5 แฉก [3, 4] ปัจจุบันเป็นพืชที่เริ่มได้รับความสนใจในการนำมาปลูกเป็นไม้ประดับ จึงเป็นไปได้ว่าในอนาคตพุดน้ำในแหล่งธรรมชาติอาจมีจำนวนลดลง ด้วยพันธุกรรมพืชมีคุณค่า มีความสำคัญ และมีประโยชน์ทางเศรษฐกิจ การลดลงหรือการสูญหายของทรัพยากรพันธุกรรมจะทำให้ขีดความสามารถของการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ อาจลดลง [5] จึงจำเป็นต้องเก็บรักษาพันธุ์พืชเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรม โดยทั่วไปการเก็บรักษาพันธุ์พืชทำได้ 3 วิธี คือ การเก็บรักษาในแปลงปลูก วิธีนี้มีข้อจำกัดด้านการใช้พื้นที่มาก ค่าใช้จ่ายสูง เสี่ยงต่อการสูญเสียพันธุกรรมจากภัยธรรมชาติ โรคและแมลงศัตรู [6, 7] การเก็บรักษาในรูปของส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์ ได้แก่ เมล็ด

แง หัว ราก ตา และกิ่งพันธุ์ ซึ่งมีข้อจำกัดสำหรับเมล็ดที่เอ็มบริโอสูญเสียการงอกอย่างรวดเร็วเมื่อความชื้นภายในเมล็ดลดลงต่ำกว่า 50% [8] และเสียค่าใช้จ่ายมากขึ้นหากเมล็ดมีขนาดใหญ่ [9] และการเก็บรักษาด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่มีข้อดีคือ ใช้พื้นที่น้อย สะดวกต่อการจัดการ ลดความเสี่ยงต่อการสูญเสียพันธุ์กรรม คงไว้ซึ่งลักษณะทางพันธุกรรม และสามารถใช้ในการแลกเปลี่ยนพันธุ์กรรมของพืชระหว่างประเทศ [10] การเก็บรักษาพันธุ์พืชด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำได้ 3 วิธี ได้แก่ วิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะสั้น เป็นการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชไว้ในสภาพการเจริญเติบโตปกติในอาหารวิทยาศาสตร์ เมื่อเจริญเติบโตถึงระยะหนึ่งต้องเปลี่ยนอาหารใหม่และตัดแยกเนื้อเยื่อ วิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะปานกลาง เป็นวิธีการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ ทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงสภาพทางกายภาพ เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพอุณหภูมิต่ำ การเปลี่ยนสูตรอาหาร เป็นต้น และวิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะยาว เป็นวิธีการหยุดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช โดยเก็บรักษาในสภาพที่อุณหภูมิต่ำมาก ๆ คือ เก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196°C [11]

ผู้วิจัยประสงค์ที่จะเก็บรักษาพันธุ์พุดน้ำใบบริเวณป่าพรุสวนพฤกษศาสตร์พัทลุงโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยวิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะสั้น ในโครงการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุ์พืชในพื้นที่ชุ่มน้ำเขตห้ามล่าสัตว์ป่าทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง ซึ่งได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานจังหวัดพัทลุง ปีงบประมาณ 2559 การวิจัยครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของขนาดยอดและความเข้มข้นของเบนซิลอะดีนีน (N6-benzyladenine, BA) ต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากยอดพุดน้ำ อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุ์พุดน้ำด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาก่อน

วิธีดำเนินการวิจัย

แบ่งการทดลองเป็น 3 ตอน ดังนี้

1. ศึกษาการฆ่าเชื้อบริเวณผิวผลพุดน้ำ

ล้างผลพุดน้ำที่มียีสเชื้อราให้สะอาด เช็ดให้แห้ง จุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95% นาน 30 วินาที แล้วนำมาลนไฟ ร่อนจนเปลือกไฟดับ ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิว ใช้มีดตัดปลายด้านหัวและท้ายของผล ตัดเปลือกสีเขียวออก วางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในสภาพที่มีแสง 16 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกจำนวนผลที่ปลอดเชื้อ และหาเปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อ

2. ศึกษาผลของขนาดยอดและความเข้มข้นของเบนซิลอะดีนีนต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากยอดพุดน้ำ

นำผลพุดน้ำที่ปลอดเชื้อจากการทดลองที่ 1 ออกจากขวดเพาะเลี้ยง ผ่าผลเป็นสองซีก วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตนาน 8 สัปดาห์ จนเมล็ดงอกเป็นต้นพุดน้ำ ตัดแยกส่วนยอดออกจากลำต้น โดยตัด 2 ขนาด คือ ความยาว 1 และ 2 ซม. นำส่วนยอดวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 1 3 และ 5 มก./ล. สิ่งทดลองมี 5 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด ๆ ละ 2 ยอด วางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในสภาพที่มีแสง 16 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกจำนวนและความสูงของยอดที่เกิดขึ้น วิเคราะห์ความแปรปรวนตามการทดลองแบบแฟกทอเรียล (factorial experiment) ในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3. ศึกษาผลของกรดแนฟทาไลน์แอซิดต่อการชักนำการเกิดรากจากลำต้นพุทน้ำ

ตัดลำต้นพุทน้ำจากยอดลงมา 2 ซม. มีใบจำนวน 2 คู่ วางบนอาหารสูตร MS ไม่เติม (ควบคุม) และเติม กรดแนฟทาไลน์แอซิด (Naphthalene Acetic Acid, NAA) ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 0.25 และ 0.50 มก./ล. สิ่งทดลองมี 5 ซ้ำ ๆ ละ 2 ขวด ๆ ละ 2 ต้น วางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในสภาพที่มีแสง 16 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกอัตราการสร้างราก จำนวนราก ต่อยอด และความยาวราก วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย วิธี DMRT

ผลการวิจัย

1. ผลของการฆ่าเชื้อบริเวณผิวของผลพุทน้ำ

จากการฆ่าเชื้อบริเวณผิวของผลพุทน้ำ โดยการจุ่มผลพุทน้ำในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95% แล้วนำมาลนไฟ หลังเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ พบว่า ผลพุทน้ำมีความปลอดเชื้อ 100%

2. ผลของขนาดยอดและความเข้มข้นของเบนซิลอะดีนีนต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากยอดพุทน้ำ

การวางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดที่มีความยาว 1 และ 2 ซม. บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 3 และ 5 มก./ล. หลังเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ พบว่า ทั้งขนาดยอดและความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนและความสูงของยอดที่เกิดขึ้นแตกต่างกัน เมื่อพิจารณาขนาดยอด พบว่า ชิ้นส่วนยอดความยาว 1 ซม. เกิดยอดใหม่จำนวนมากที่สุดเฉลี่ย 1.93 ยอด และยอดมีความสูงมากที่สุดเฉลี่ย 2.61 ซม. ด้านความเข้มข้นของ BA พบว่า ความเข้มข้น 3 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้จำนวนมากที่สุดเฉลี่ย 1.83 ยอด และยอดมีความสูงมากที่สุดเฉลี่ย 2.95 ซม. แต่ไม่มีผลร่วมระหว่างขนาดยอดและความเข้มข้นของ BA ทั้งในด้านจำนวนและความสูงของยอดที่เกิดขึ้นใหม่ (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ ยังพบว่า ชิ้นส่วนยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. เกิดแคลลัสตรงบริเวณรอยตัด แคลลัสมีสีขาว และมีลักษณะอ่อนนุ่ม (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การชักนำให้เกิดยอดใหม่และแคลลัสแบบนุ่ม สีขาว บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล.

ตารางที่ 1 ผลของขนาดยอดพุทน้ำ และความเข้มข้นของ BA ต่อจำนวน และความสูงของยอดที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

ขนาดยอด (ชม.)	จำนวนยอด (ยอด)			ความสูงยอด (ชม.)		
	1	2	ค่าเฉลี่ย ^{1/}	1	2	ค่าเฉลี่ย ^{1/}
ความเข้มข้นของ BA (มก./ล.)						
1	1.44	0.80	1.12 ^b	2.12	1.92	2.02 ^c
3	2.44	1.22	1.83 ^a	3.14	2.76	2.95 ^a
5	1.92	1.20	1.56 ^a	2.56	2.26	2.41 ^b
ค่าเฉลี่ย ^{2/}	1.93 ^a	1.07 ^b		2.61 ^a	2.31 ^b	
F-test ขนาดยอด		**			**	
F-test ความเข้มข้นของ BA		**			**	
F-test ขนาดยอด X ความเข้มข้นของ BA		ns			ns	
CV (%)		20.32			8.48	

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

1/ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2/ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. ผลของกรดแนฟทาซีนแอสิดต่อการชักนำการเกิดรากจากลำต้นพุทน้ำ

ลำต้นพุทน้ำมีอัตราการสร้างรากและมีจำนวนรากแตกต่างกันบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม NAA ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 มก./ล. แต่มีความยาวรากไม่แตกต่างกัน ลำต้นพุทน้ำที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม NAA มีอัตราการสร้างราก จำนวนราก และความยาวรากสูงสุด เฉลี่ย 90% 5.4 ราก และ 2.06 ซม. ตามลำดับ (ภาพที่ 2, ตารางที่ 2)



ภาพที่ 2 ลักษณะรากที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงลำต้นพุทน้ำนาน 6 สัปดาห์

ตารางที่ 2 ผลของความเข้มข้นของ NAA ต่ออัตราการสร้างราก จำนวนราก และความยาวราก จากการเพาะเลี้ยงลำต้นพุทนนาน 6 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ NAA (มก./ล.)	อัตราการสร้างรากเฉลี่ย ^{1/} (%)	จำนวนรากเฉลี่ย ^{1/} (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
control	90 ^a	5.4 ^a	2.06
0.25	60 ^b	2.0 ^b	1.54
0.50	70 ^{ab}	4.5 ^a	1.66
F-test	*	**	ns
CV (%)	22.44	17.37	23.95

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

1/ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ผลพุทนนํามีเปลือกหนาจึงเลือกวิธีการชำเชื่อมบริเวณผิวโดยการจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95% แล้วลนไฟ ทำให้ผลพุทนนํามีความปลอดเชื้อ 100% เพราะความร้อนจากเปลวไฟสามารถฆ่าจุลินทรีย์ที่บริเวณเปลือกผลพุทนนํได้หมด เช่นเดียวกับการชำเชื่อมฝักกล้วยไม้ [12]

การชักนำการเกิดยอดใหม่หรือพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่โดยวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน พบว่า การเกิดยอดใหม่มีจำนวนเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้น แต่ที่ความเข้มข้น 5 มก./ล. การเกิดยอดใหม่ลดลง เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโทไคนิน ที่สามารถชักนำให้เกิดการพัฒนาของใบและยอด ความเข้มข้นของไซโทไคนินระดับหนึ่งที่เหมาะสมจะชักนำให้เกิดการพัฒนาของยอดใหม่ได้ดี หากความเข้มข้นน้อยเกินไปจะส่งเสริมให้เกิดยอดน้อย แต่ถ้าความเข้มข้นมากเกินไปจะไปยับยั้งการเกิดยอดและทำให้เกิดยอดน้อยลงเช่นกัน [13] จากการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. นอกจากเกิดยอดใหม่แล้วยังเกิดแคลลัสด้วย สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงส่วนยอดของโมกมัน [14] และการเพาะเลี้ยงส่วนยอดของ *Gypsophila paniculata* L. [15] ที่พบว่า การเติม BA ลงในอาหารที่เพาะเลี้ยง นอกจากจะกระตุ้นให้น้ำเนื้อเยื่อเกิดยอดแล้ว ยังกระตุ้นให้เกิดแคลลัส ด้านขนาดยอด พบว่า ขนาดยอดที่ต่างกันมีผลต่อจำนวนยอดและความสูง จากการศึกษพบว่า ชิ้นส่วนยอดความยาว 1 ซม. ให้จำนวนยอดและความสูงเฉลี่ยมากกว่าที่ความยาว 2 ซม. แตกต่างกับการชักนำการเกิดยอดจากยอดส้มแขกขนาด 1-1.5 และ 1.5-2 ซม. ที่พบว่าขนาดยอดที่ต่างกันไม่มีผลต่ออัตราการสร้างยอด [16]

สำหรับการชักนำการเกิดราก พบว่า ลำต้นพุทนนํที่เกิดรากจำนวนมากที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม NAA ขณะที่บนอาหารเติม NAA ความเข้มข้นสูงสามารถชักนำการเกิดรากได้จำนวนมากว่าที่ความเข้มข้นต่ำ สอดคล้องกับการชักนำการเกิดรากจากลำต้นส้มแขก [16] แต่ต่างจากการชักนำการเกิดรากจากลำต้นโมกมันที่ไม่เกิดรากเมื่อ

วางเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม NAA และ NAA ความเข้มข้นสูงสามารถชักนำการเกิดรากได้จำนวนน้อยกว่าความเข้มข้นต่ำ [14] และการชักนำการเกิดรากจากลำต้นพุดซ้อนที่ไม่เกิดรากบนอาหารทั้งที่ไม่เติมและเติม NAA [17] เนื่องจาก NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดออกซินมีสมบัติกระตุ้นให้เกิดราก [18] และการเกิดรากขึ้นกับสมดุลระหว่างออกซินกับไซโทไคนินภายในเนื้อเยื่อพืช หากสัดส่วนออกซินสูงกว่าไซโทไคนิน เนื้อเยื่อจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นราก [19] จึงเป็นไปได้ว่าบนอาหารที่ไม่เติม NAA เนื้อเยื่อลำต้นพุดน้ำอาจมีปริมาณออกซินที่สร้างจากยอดตามธรรมชาติและไซโทไคนินที่ได้รับจากการเติม BA ในอาหารเพาะเลี้ยงในระดับที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อเปลี่ยนแปลงเป็นราก

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปผลได้ดังนี้ คือ ผลพุดน้ำมีความปลอดภัย 100% เมื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวโดยการจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95% แล้วลนไฟฆ่าเชื้อ ขนาดยอดและความเข้มข้นของ BA ไม่มีผลร่วมกันในการชักนำการเกิดยอดใหม่หรือการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ แต่ขนาดยอดหรือความเข้มข้นของ BA มีผลต่อการเกิดยอดใหม่ทั้งด้านจำนวนและความสูงแตกต่างกัน โดยขนาดยอดความยาว 1 ซม. หรือความเข้มข้นของ BA ที่ระดับ 3 มก./ล. มีผลชักนำให้เกิดยอดใหม่จำนวนและความสูงมากที่สุด ลำต้นพุดน้ำมีอัตราการสร้างราก จำนวนราก และความยาวรากสูงสุด เมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม NAA

เอกสารอ้างอิง

- [1] นพรัตน์ บำรุงรักษ์. (2554). ป่าพรุของทะเลสาบสงขลา. กรุงเทพฯ: ลีโธ ดีไซน์ แอนด์ พรินท์.
- [2] กลุ่มงานวิชาการสำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 6. (ม.ป.ป.). สวนพฤกษศาสตร์พัทลุง. สืบค้นเมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม 2559, จาก http://paro6.dnp.go.th/paro6_technical/botanic_patt.html
- [3] องค์การสวนพฤกษศาสตร์. (ม.ป.ป.). ฐานข้อมูลตัวอย่างพรรณไม้แห้ง: พุดน้ำ. สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม 2559, จาก <http://www.qsbgo.org/Database/plantdb/herbarium/herbarium-specimen.asp?QSBGNO=47766>
- [4] กลุ่มงานความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้. (ม.ป.ป.). ระบบจัดการฐานความรู้ด้านความหลากหลายทางชีวภาพ: พุดน้ำ. สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม 2559, จาก http://biodiversity.forest.go.th/index.php?option=com_dofplant&view=showone&id=2268
- [5] Perry, M.C. (1990). International system for germplasm: New crop genetic resources and the international board for plant genetic resources. In Janick, J. and Simon, J. E. (Eds.), Advances in new crops. Portland: Timber Press, OR.
- [6] Matsumoto, T., Mochida, K., Itamura, H., & Sakai, A. (2001). Cryopreservation of Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) by vitrification of dormant shoot tips. Plant Cell Reports, 20, 398-402.
- [7] Rao, N. K., & Mal, B. (2002). Tropical fruit species in Asia: Diversity and conservation Strategies. In Drew, R. (Eds.), The International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits (pp. 179-190). Cairns: International Society for Horticultural Science.

-
- [8] วิชัย หวังวโรตม. (2545). ความมีชีวิตของเมล็ดมั่งคุดที่เก็บรักษาในสภาพชื้นและแห้ง. *วารสารวิชาการเกษตร*, 20, 169-174.
- [9] Bonner, F. T. (1990). Storage of seeds: potential and limitations for germplasm conservation. *FOREST Ecology and Management*, 35, 35-43.
- [10] Rao, N. K. (2004). Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African. Journal of Biotechnology*, 3, 136-145.
- [11] มณฑา วงศ์มณีโรจน์. (2540). เอกสารประกอบการอบรมทางวิชาการ เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นสูง. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [12] ไชนิยะ สมะลา พลวัต ภัทรกุลพิสุทธ และ สุรรัตน์ เย็นซ้อน. (2558). การขยายพันธุ์กล้วยไม้สิงโตพันจัก ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ. *แก่นเกษตร*, 4(2), 227-284.
- [13] Mok, D.W.S., & Mok, M.C. (1994). Cytokinins: Chemistry, Activity and Function. Florida: CRC Press, Inc.
- [14] กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล และ ลัดดาวัลย์ รักธรรม. (2558). การขยายพันธุ์โมกมัน [*Wrightia arborea* (Dennst.) Mabb.] ในหลอดทดลอง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 23(5), 833-845.
- [15] Kusey, E.W., Hammer, A.P., & Weiler, T.C. (1980). *In vitro* propagation of *Gypsophila paniculata* L. Bristol Fairy. *HortScience*, 15(5), 600-601.
- [16] ทศนี ขาวเนียม และ สมปอง เตชะโต. (2557). ผลของขนาดยอดและระยะเวลาเลี้ยงในอาหารเหลวต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่โดยตรงจากใบของส้มแขก. *แก่นเกษตร*, 4(3), 341-346.
- [17] สุธี ต้นสกุล. (2541). การขยายพันธุ์พุดซ้อนโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ วท.ม.(เกษตรศาสตร์). กรุงเทพฯ:มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [18] Hopkins, G.W. (1999). Introduction to Plant Physiology 2nd Editions. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- [19] รังสฤษดิ์ กาวีตะ. (2545). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.