ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล

Effect of NAA and TDZ on *In Vitro* Plantlet Induction of *Cryptocoryne Wendtii* "Brown"

วิมลมาศ บุญมี[1] อัจฉรี เรืองเดช[2*] บุปผา จงพัฒน์[2] นงนุช เลาหะวิสุทธิ์[2] และ สมเกียรติ สีสนอง[3]

Wimonmat Boonmee[1], Uscharee Ruangdej[2*], Buppha Jongput[2], Nongnuch Laohavisuti[2] and Somkiat Seesanong[3]

Received date: 3 มิ.ย. 66 Revised date: 21 ธ.ค. 66 Accepted date: 4 ม.ค. 67

DOI: https://doi.org/10.55003/kmaj.2024.11.22.015

บทคัดย่อ

ใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามสายพันธุ์ต่างประเทศที่สามารถขยายพันธุ์จนกลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีมูลค่าการส่งออกเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่ปริมาณยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด จึงทำการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อน โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตายอดของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล ลงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 1-naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.3 mg/L ร่วมกับ thidiazuron (TDZ) ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 mg/L เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ L ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 mg/ L มีความเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล โดยสามารถชักนำให้เกิดจำนวนต้นอ่อน (67.92±19.61 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น) จำนวนใบ (67.42±19.46 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น) และความสูงต้น (28.65±1.55 มิลลิเมตร/ต้น) เฉลี่ยมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบพายศรีลังกาสีน้ำตาลในอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสม จะสามารถเพิ่มปริมาณและเจริญเติบโตได้ดีภายในระยะเวลาที่สั้นลง ซึ่งเป็นการเพิ่มศักยภาพในการผลิตพรรณไม้น้ำให้ได้คุณภาพและทำให้สามารถเพิ่มมูลค่าของผลผลิตได้

คำสำคัญ: สารไทเดียซูรอน กรด1-แนฟทาลีนแอซีติก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล

Abstract

The exotic aquatic plant, *Cryptocoryne wendtii* "Brown", can develop into an economic crop with a continually increasing export value. Thailand is unable to produce to meet the demand. Therefore, this experiment aimed to study the optimum concentrations of growth regulators on plantlet induction. The sterile apical bud was cultured on semi-solid MS media (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with 1-naphthaleneacetic acid (NAA) at 0, 0.1, 0.2, 0.3 mg/L and thidiazuron (TDZ) at 0, 1, 2, 3 mg/L. In the sixth week, the semi-solid MS medium which contains 0.1 mg/L NAA and 2 mg/L TDZ showed the maximum new plantlets (67.92±19.61 plantlets/explant), leaves (67.42±19.46 leaves/explant) and height (28.65±1.55 mm./plantlet), had the highest average significance ($P<0.05$). Micropropagation of *C. wendtii* "Brown" in optimum culture medium could increase the volume within a shorter period and enhances the potential for quality and value-added to aquatic plant production.

Keywords: Thidiazuron (TDZ), 1-naphthaleneacetic acid (NAA), micropropagation, *Cryptocoryne wendtii* "Brown"

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[3] สำนักบริหารหลักสูตรสหวิทยาการเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1] Department of Biology, School of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

[2] Program in Fisheries Science. Division of Animal Production Technology and Fishery, School of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

[3] Office of Administrative Interdisciplinary Program on Agricultural Technology, School of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

[*]Corresponding author, E-mail: uscharee.ru@kmitl.ac.th

คำนำ

พรรณไม้น้ำสกุลใบพาย (*Cryptocoryne*) เป็นกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ใบพายศรีสังกาสีน้ำตาล *C. wendtii* “Brown” เป็นสายพันธุ์หนึ่งในห้าของชนิด *C. wendtii* อยู่ในวงศ์ Araceae นำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งประเทศไทยสามารถขยายพันธุ์และเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้มาก และจากการที่พรรณไม้น้ำสกุลใบพาย นี้มีจุดเด่นที่มีรูปร่างสีสันสวยแปลกตา (Figure 1) มีความทนทานสามารถปลูกประดับอยู่ในตู้ได้เป็นเวลานาน จึงเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศมากกว่า 30 ประเทศ เช่น เนเธอแลนด์ สหรัฐอเมริกา รัสเซีย ญี่ปุ่น ฮังการี แคนาดา ตุรกี นอร์เวย์ การ์ตา เป็นต้น จากข้อมูลสถิติชนิด ปริมาณและมูลค่าการส่งออก ของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร พบว่าใน พ.ศ. 2561 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกพรรณไม้น้ำสกุลใบพาย เป็นอันดับที่ 6 ของพรรณไม้น้ำที่ส่งออกทั้งหมด เฉพาะที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช (Rodloy, 2020) ประกอบกับการผลิตพรรณไม้น้ำสกุลใบพายโดยการเพาะเลี้ยงเชิงการค้ายังมีปริมาณไม่เพียงพอ จึงมีการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (micropropagation) และกลายมาเป็นเครื่องมือสำคัญในการขยายพันธุ์ โดยเฉพาะอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (media) ซึ่งความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้ พรรณไม้น้ำต่างชนิดกันจะมีความต้องการธาตุอาหารที่ต่างกันด้วย ดังนั้นจึงมีการค้นคิดสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชนิดของพรรณไม้น้ำ ซึ่งสูตรอาหารนั้นมีอยู่หลายสูตร แต่ที่นิยมใช้กันนั้นเป็นสูตร Murashige and Skoog (1962) และมีการเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือวิตามินเพิ่มไปในสูตรอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดอวัยวะต่าง ๆ ของพรรณไม้น้ำ

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (plant growth regulators) ทำหน้าที่กระตุ้นและมีส่วนร่วมในกระบวนการต่าง ๆ ที่นำไปสู่การพัฒนาของเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ โดยการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตหรือเกิดการพัฒนาของอวัยวะ (Jarassamrit, 1994) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่สำคัญต่อการขยายพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายชนิด โดยเฉพาะ 1-naphthaleneacetic acid (NAA) อยู่ในกลุ่มออกซิน (auxins) ที่กระตุ้นให้เกิดการขยายตัวของเซลล์พืช ช่วยให้เกิดราก และ thidiazuron (TDZ) เป็นสารสังเคราะห์ทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) มีหน้าที่ส่งเสริมการเจริญของใบ ยับยั้งการเจริญของราก เร่งชิ้นส่วนพืชให้เกิดยอด แต่ปริมาณที่ใช้สารน้อยกว่าไซโตไคนินชนิดอื่น ๆ (Barna & Wakhlu, 1995) ซึ่งสัดส่วนของฮอร์โมนแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญเติบโตและการกำเนิดอวัยวะของเซลล์ที่เลี้ยง (Kaveeta, 2002)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลใบพาย Herath *et al*. (2008) พบว่าอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 mg/L ร่วมกับ 6-benzylaminopurine (BA) 5 mg/L สามารถเพิ่มต้นอ่อนของ *C. beckettii* และ *C. bogneri* ได้ 43.0 และ 51.8 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ Pechkong *et al*. (2010) พบว่าการใช้ NAA 0.5 mg/L ร่วมกับ BA 3 mg/L สามารถเพิ่มต้นอ่อนของ *C. albida* มากที่สุดเท่ากับ 9.4 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วนความเข้มข้นของ IBA 0.2 mg/L ร่วมกับ BA 0.5 mg/L ทำให้ *C. wendtii* “Green” เกิดต้นอ่อนได้ 9.4 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ (Stanly *et al*., 2011) ส่วนการเติม NAA 0.1 mg/L ร่วมกับ BA 5 mg/L ในอาหารสำหรับเลี้ยง *C. parva* และ *C.* x *willisii* พบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อน 4.3 และ 4.1 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ (Boyagoda *et al*., 2016) แต่ Klaocheed *et al*. (2020) พบว่า ใช้ BA 3.0 mg/L เพียงอย่างเดียว ทำให้ *C. wendtii* เกิดต้นอ่อน 16.2 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยคือการศึกษาระดับความเข้มข้นของ NAA ร่วมกับ TDZ ในอัตราส่วนที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดต้นอ่อนของใบพายศรีสังกาสีน้ำตาลโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งจะเป็นวิธีการขยายพันธุ์ให้สามารถเพิ่มจำนวนมาก และเจริญเติบโตได้ดีภายในระยะเวลาที่สั้นลง ซึ่งเป็นการเพิ่มศักยภาพในการผลิตพรรณไม้น้ำให้ได้คุณภาพและทำให้สามารถเพิ่มมูลค่าของผลผลิตได้

Figure 1 *Cryptocoryne wendtii* "Brown"

วิธีการศึกษา

พรรณไม้น้ำที่ใช้ในการทดลอง

ต้นใบพายศรีลังกาสีน้ำตาลในสภาพปลอดเชื้อ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 4×4 factorial experiment in CRD โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 0.2 และ 0.3 mg/L และ TDZ 4 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 2 และ 3 mg/L ที่ใช้ร่วมกันในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ชุดการทดลองละ 12 ซ้ำ (replication)

ขั้นตอนการดำเนินงาน

เตรียมอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ NAA และ TDZ ในลักษณะใช้ร่วมกันทั้งหมด 16 ชุดการทดลอง นำเนื้อเยื่อส่วนตายอดมาปลูกลงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามชุดการทดลองที่กำหนดไว้ ชุดการทดลองละ 12 ซ้ำ จากนั้นนำไปวางบนชั้นเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ ช่วงการให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำใบพายศรีลังกาสีน้ำตาลเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ ได้แก่ จำนวนต้นอ่อน (นับจำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้น) จำนวนราก (นับจำนวนรากที่เกิดขึ้น) จำนวนใบ (นับจำนวนใบที่เกิดขึ้น) และความสูงต้น (วัดจากใบที่สูงที่สุดจนถึงโคนต้นโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์) รวมทั้งถ่ายภาพการเปลี่ยนแปลงของชิ้นเนื้อเยื่อของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS FOR WINDOWS Version 16.0

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตายอดของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาลบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS โดยการเติม NAA ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.2 และ 0.3 mg/l ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 mg/l พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ TDZ มีอิทธิพลร่วมกัน (Interaction) ต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value = 0.0000; Table 1, Figure 2 and 3) ซึ่งชุดการทดลองที่เติม NAA 0.1 mg/l ร่วมกับ TDZ 2 mg/l สามารถทำให้เกิดจำนวนต้นอ่อนมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ($P \leq 0.05$) โดยมีจำนวนต้นอ่อนเฉลี่ยเท่ากับ 67.92±19.61 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น (Figure 4)

Table 1 Effects of NAA, TDZ and interaction of NAA×TDZ on *Cryptocoryne wendtii* "Brown" growth at the sixth week of culture as P value

Factor	Shoot number (number/explant)	Leaf number (number/explant)	Plant height (mm)	Root number (number/explant)
NAA	0.0295	0.0110	0.0168	0.0000
TDZ	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
NAA×TDZ	0.0000	0.0006	0.0000	0.0000

P values are not significantly different at $P \geq 0.05$ level

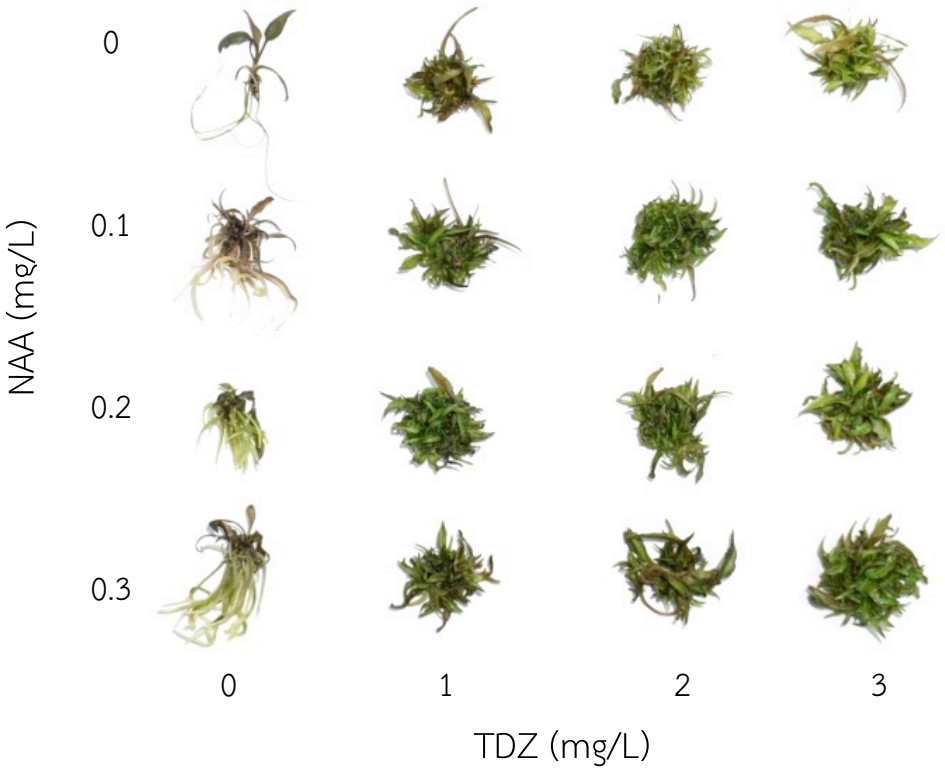

Figure 2 Effects of NAA and TDZ on *Cryptocoryne wendtii* "Brown" growth at the sixth week of culture.

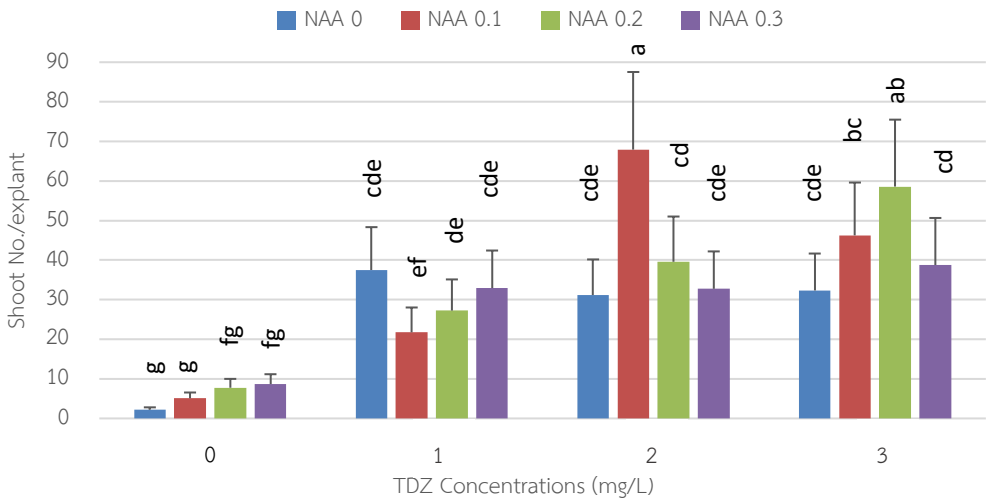

Figure 3 Effects of NAA and TDZ on *Cryptocoryne wendtii* "Brown" shoot number at the sixth week of culture. The data represent the mean ± SE indicated by same letters are not significant by DMRT ($P > 0.05$).

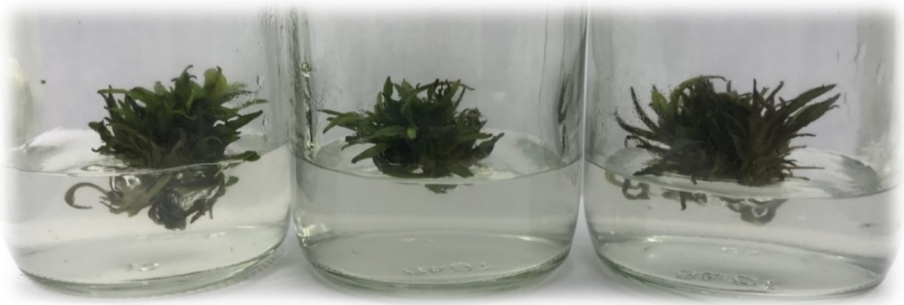

Figure 4 Shoot produced in apical bud of *Cryptocoryne wendtii* "Brown" on MS medium containing 0.1 mg/l NAA and 2 mg/l TDZ.

ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อจำนวนใบของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ TDZ มีอิทธิพลร่วมกันต่อการชักนำให้เกิดใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value = 0.0006; Table 1, Figure 2 and 5) ในชุดการทดลองที่เติม NAA 0.1 mg/l ร่วมกับ TDZ 2 mg/l และ NAA 0.2 mg/l ร่วมกับ TDZ 3 mg/l สามารถทำให้เกิดการแตกใบใหม่มากที่สุด ($P \leq 0.05$) มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 67.42 และ 70.33 ใบต่อชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น

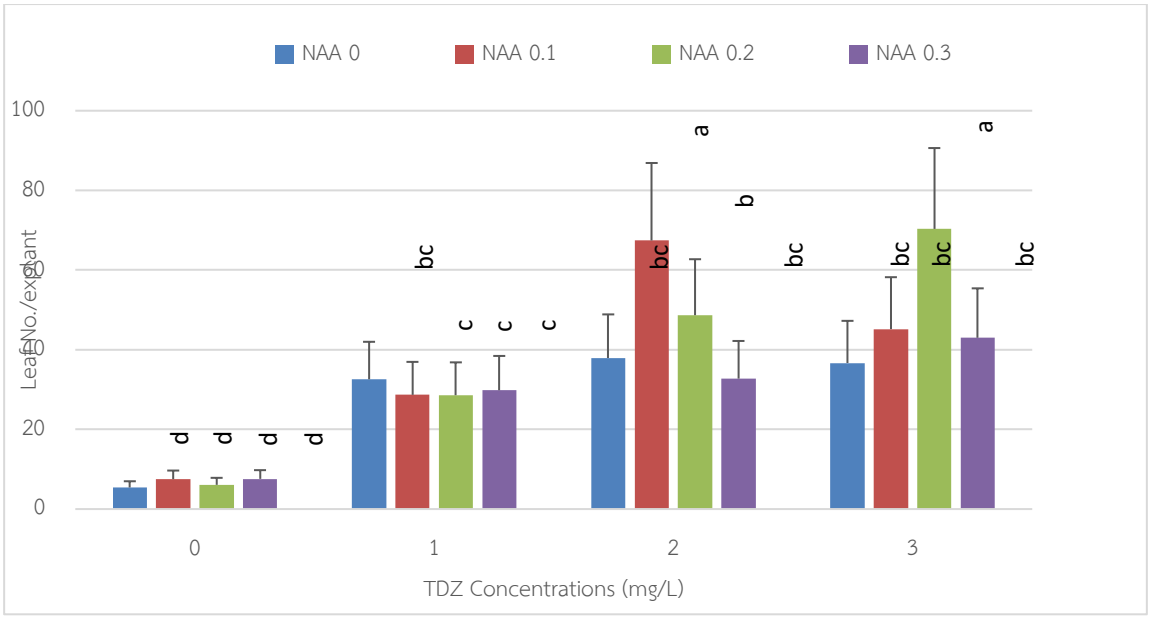

Figure 5 Effects of NAA and TDZ on *Cryptocoryne wendtii* "Brown" leaf number at the sixth week of culture. The data represent the mean ± SE indicated by same letters are not significant by DMRT (P > 0.05).

ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อความสูงต้นของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ TDZ มีอิทธิพลร่วมกันต่อความสูงต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value = 0.0000; Table 1, Figure 2 and 6) ซึ่งชุดการทดลองที่เติม NAA 0.1 mg/l ร่วมกับ TDZ 2 mg/l และ NAA 0.2 mg/l ร่วมกับ TDZ 3 mg/l ทำให้ความสูงต้นมากที่สุด (P≤0.05) โดยมีความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 28.65 และ 26.75 มิลลิเมตร/ต้น

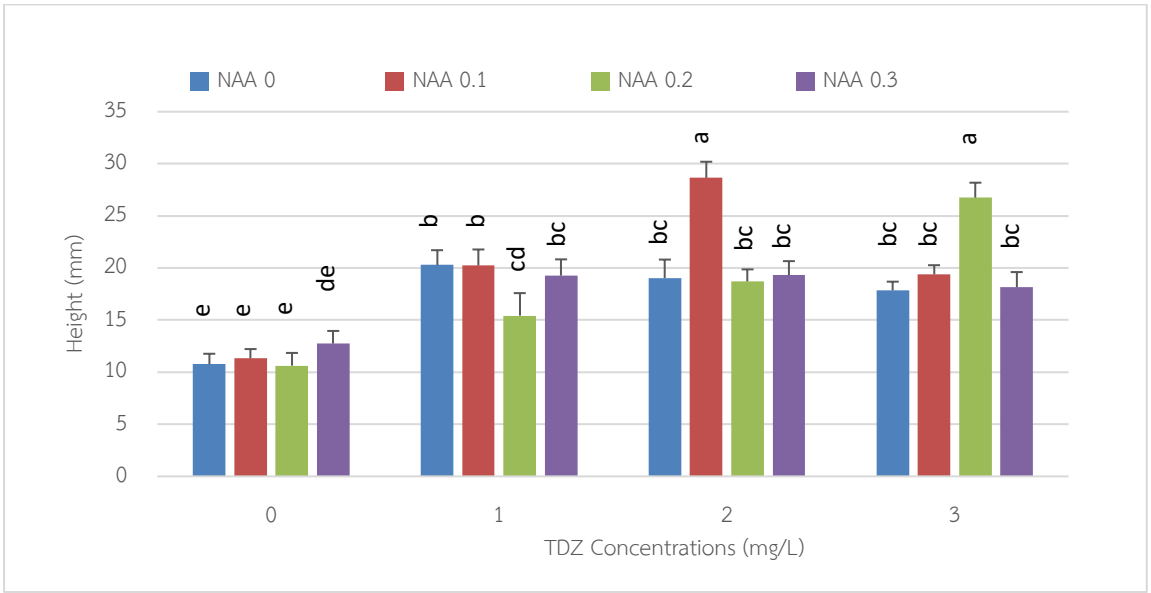

Figure 6 Effects of NAA and TDZ on *Cryptocoryne wendtii* "Brown" height at the sixth week of culture. The data represent the mean ± SE indicated by same letters are not significant by DMRT (P > 0.05).

ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อจำนวนรากของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ TDZ มีอิทธิพลร่วมกันต่อการชักนำให้เกิดรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.0000; Table 1, Figure 2 and 7) การเติม NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดรากมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติม NAA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤ 0.05)

โดยชุดการทดลองที่เติม NAA 0.3 mg/l มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 34.25 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น (Figure 8) แต่ชุดการทดลองที่เติม TDZ ส่งผลให้จำนวนรากลดลงตามความเข้มข้นของ TDZที่เพิ่มขึ้น

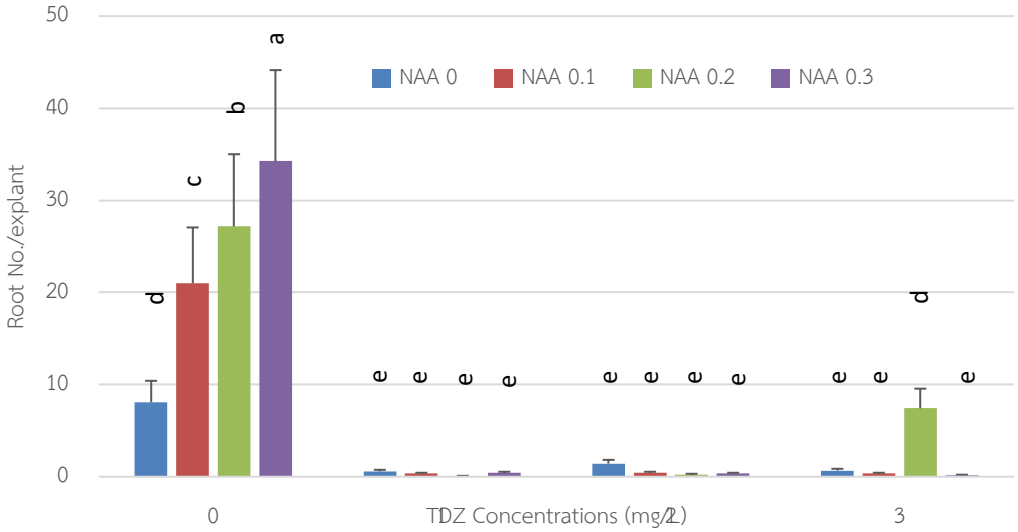

Figure 7 Effects of NAA and TDZ on *Cryptocoryne wendtii* "Brown" root number at the sixth week of culture. The data represent the mean ± SE indicated by same letters are not significant by DMRT ($P > 0.05$).

Figure 8 Roots produced in apical bud of *Cryptocoryne wendtii* "Brown" on MS medium containing 0.3 mg/l NAA and 0 mg/l TDZ.

จากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ TDZ มีอิทธิพลร่วมกันในการชักนำให้เกิดต้นอ่อน แตกใบใหม่ และความสูงต้นจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของใบพายศรีลังกาสีน้ำตาลในอาหารสังเคราะห์สูตร MS กล่าวคืออาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 mg/L ร่วมกับ TDZ 2 mg/L และ NAA 0.2 mg/L ร่วมกับ TDZ 3 mg/L มีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้น จำนวนใบ และความสูงต้นมากกว่าอาหารในชุดการทดลองอื่น ($P \leq 0.05$) โดยมีจำนวนต้นอ่อนเฉลี่ย 58.58 และ 67.92 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น, จำนวนใบเฉลี่ย 67.42 และ 70.33 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น และความสูงต้นเฉลี่ย 28.65 และ26.75 มิลลิเมตร/ต้น (Table 1) สอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Soontornyatara & Klammorn (2020) ที่เพาะเลี้ยงอโกลนีมา *Aglaonema simplex* พรรณไม้น้ำในวงศ์ Araceae พบว่าเมื่อเติม NAA ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2.5 mg/L สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อน (4.49 ต้น) ความสูงต้น (1.60 cm) ภายในเวลา 8 สัปดาห์ และสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนต้นแรกได้ภายใน 8.5 วัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญขึ้นอยู่สัดส่วนของออกซินกับไซโตไคนินเป็นตัวกำหนด (Jarassamrit, 1994; Kaveeta, 2002)

จากการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า TDZ ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin) เมื่อเติมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถกระตุ้นให้เกิดต้นอ่อน ใบใหม่ และความสูงได้มากกว่าอาหารที่ไม่เติม TDZ เนื่องจากฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินมีหน้าที่ในการส่งเสริมการแบ่งเซลล์ทำให้ส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ และลำต้นมีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น Techapinyawat, 1995) เช่นเดียวกับรายงานการทดลองของ Klomkamhaeng *et al*. (2019) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตายอดของอนูเบียสคอนเจนซิส *Anubias congensis* พรรณไม้น้ำในวงศ์ Araceae พบว่าอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 mg/L ชักนำให้เกิดยอด (5.40 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ) และใบมากที่สุด (7.30 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ) แต่การใช้ TDZ มีข้อจำกัดคือต้องคำนึงถึงอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดจำนวนยอดที่งอกขึ้นอย่างรวดเร็ว (Jarassamrit, 1994; Kaveeta, 2002) จากผลการทดลองครั้งนี้ไม่ส่งผลให้

เนื้อเยื่อใบพายศรีลังกาเกิดความผิดปกติ ซึ่งผลการทดลองแตกต่างจากพืชในวงศ์เดียวกัน ได้แก่ งานทดลองของ El-Mahrouk *et al*.(2016) ได้ พบว่าเกิดการบวมบริเวณฐานของยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Aglaonema* 'Valentine' ในอาหารมี TDZ 2 mg/l หน้าวัว *Spathyiphyllum cannifolium* มีลักษณะใบที่แคบลงจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยอาหารที่มี TDZ 0.5 – 1.8 mg/l (Dewir *et al*., 2018) และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Philodendron cannifolium* ด้วยอาหาร MS ที่มี TDZ .0.05 - 1.00 mg/l ทำให้ปริมาณของคลอโรฟิลล์ลดลงจนทำให้เซลล์เนื้อเยื่อตาย (Han & Park, 2008) Dewir *et al*. (2018) กล่าวว่าการใช้ TDZ ในการชักนำให้เกิดความผิดปกติของเนื้อเยื่อและยับยั้งการเพิ่มจำนวนต้นอ่อน เนื่องมาจากการใช้ความเข้มข้นของ TDZ มากเกินไป หรือเกิดจากการใช้ TDZ เป็นระยะเวลานานจนกระทั่งถึงระยะการพัฒนาส่วนต่างๆ ของพืช

จากผลทดลองพบว่าการเติม NAA ลงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ทุกระดับความเข้มข้นมีบทบาทกับรากโดยตรง คือ กระตุ้นให้เนื้อเยื่อเริ่มต้นส่วนตาข้างมีจำนวนรากเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน จากการเติม NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดรากมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (Figure 7) โดย NAA 0.3 mg/L มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 34.25 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับ Klaocheed *et al*. (2020) ศึกษาการใช้ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l เพื่อชักนำให้เกิดรากในใบพายศรีลังกา *Cryptocoryne wendtii* พบว่าจำนวนรากเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NAA จากการทดลองในกลุ่มพืชที่อยู่ในวงศ์ Araceae ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน ได้แก่ *Philodendron bipinnatifidum* (Alawaadh *et al*., 2020) *Aglaonema commutatum* (Aldeen & Abd El-Aal *et al*., 2021) จากการทดลองเห็นได้ว่าการเติม NAA ร่วมกับ TDZ มีผลทำให้การเกิดรากลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับการเติม NAA เพียงอย่างเดียว เนื่องจากการเติม TDZ มีผลยับยั้งต่อการเกิดของราก (Kaveeta, 2002) สอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Te-chato *et al*. (2006) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นหน้าวัว *Anthurium* sp. พืชในวงศ์ Araceae พบว่าการเติม TDZ ลงในอาหารเพาะเลี้ยง ทำให้ชิ้นเนื้อเยื่อของต้นหน้าวัวมีการเจริญของรากลดลงเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น เช่นเดียวกับรายงานการทดลองของ Klomkamhaeng *et al*. (2019) ที่พบว่าในอาหารที่เติม TDZ มีผลทำให้อนูเบียสคอนเจนชิส *A. congensis* เกิดรากน้อยกว่าอาหารที่ไม่เติม TDZ กล่าวคือ TDZ เป็นสารที่มีผลต่อการเจริญและพัฒนาในส่วนต่างๆ ของพืชในความเข้มข้นที่ต่ำ เมื่อเทียบกับสารตัวอื่นๆ ในกลุ่มไซโตไคนิน TDZ สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก และการเกิดแคลลัสขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ชิ้นส่วนพืช และชนิดของพืช การออกฤทธิ์ของ TDZ ยังเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเข้มข้นของสารกลุ่มออกซิน เมื่อสาร 2 ชนิดรวมกันส่งผลต่อการตอบสนองภายในเซลล์พืชสูงขึ้น การใช้ TDZ สูงเกินไป ทำให้ความแข็งแรงของยอด การเกิดราก และการพัฒนาเป็นส่วนต่างๆ ของพืชลดลง (Chouychai, 2009) ดังที่พบจากการทดลองนี้

สรุปผลการศึกษา

การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.1 และ 2 กับ 0.2 และ 3 mg/L มีความเหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ใบพายศรีลังกาสีน้ำตาล เนื่องจากทำให้ได้ต้นอ่อนเป็นจำนวนมากและต้นมีขนาดใหญ่ โดยมีจำนวนต้นอ่อนเฉลี่ย 58.58 และ 67.92 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น จำนวนใบเฉลี่ย 67.42 และ 70.33 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้น และความสูงต้นเฉลี่ย 26.75 และ 28.65 มิลลิเมตร/ต้น เพื่อให้ต้นทุนในการผลิตต่ำดังนั้นระดับของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่และแนะนำให้ใช้คือ NAA 0.1 mg/L ร่วมกับ TDZ 2 mg/L

เอกสารอ้างอิง

Alawaadh, A. A., Dewir, Y. H., Alwihibi, M. S., Aldubai, A. A., El-Hendawy, S., & Naidoo, Y. (2020). Micropropagation of lacy tree philodendron (*Philodendron bipinnatifidum* Schott ex Endl.). **HortScience**, 55(3), 294-299.

ALdeen, A. M. T., & Abd El-Aal, M. S. (2021). Enhancement of *Aglaonema commutatum* propagation using thidiazuron and naphthalene acetic acid in Vitro. **Lond. J. Med. Health Res**, 21, 7-14.

Barna, K. S., & Wakhlu, A. K. (1995). Effects of thidiazuron on micropropagation of rose. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, 31, 44–46.

Boyagoda, D. T. K., Jayamanne, S. C., & Herath, H. M. I. (2016). Development of micropropagation protocols for two different *Cryptocoryne* species in Sri Lanka (*Cryptocoryne parva* and *Cryptocoryne xwillisii*). In **Proceedings of the 6' Research Symposium of Uwa Wellassa University**, p. 3. UWU Publication.

Chouychai, W. (2009). Role of thidiazuron for plant tissue culture. **Journal of Yala Rajabhat University**, 4, 123-135. (in Thai).

Dewir, Y. H., Nurmansyah, N., Naidoo, Y., & Teixeira da Silva, J. A. (2018). Thidiazuron-induced abnormalities in plant tissue cultures. **Plant Cell Rep**, 37, 1451–1470.

El-Mahrouk, M. E., Dewir, Y. H., & Naidoo Y. (2016). Micropropagation and genetic fidelity of the regenerants of *Aglaonema*'Valentine' using randomly amplified polymorphic DNA. **HortScience**, 51, 398-402.

Han, B. H., & Park, B. M. (2008). In vitro micropropagation of *Philodendron cannifolium*. **Journal of Plant Biotechnology**, 35, 203-208.

Herath, H. M. I., Krishnarajah, S. A., & Wijesundara, D. S. A. (2008). Micropropagation of two endemic threatened *Cryptocoryne* species of Sri Lanka. **Tropical Agricultural Research & Extension**, 11, 19-24.

Jarassamrit, N. (1994). **Plant Hormones and Plant Growth Regulators**. Green Fence Publisher**.** (in Thai).

Kaveeta, R. (2002). **Plant Tissue Culture: Principle and Techniques**. Kasertsart University Publishing. (in Thai).

Klaocheed, S., Jehsu, W., Choojun, W., Thammasiri, K., Prasertsongskun, S., & Rittirat, S. (2020). Induction of direct shoot organogenesis from shoot tip explants of an ornamental aquatic plant, *Cryptocoryne wendtii*. **Walailak Journal of Science and Technology (WJST)**, 17(4), 293-302.

Klomkamhaeng, C., Laohavisuti, N., & Jongput, B. (2019). Micropropagation of *Anubias congensis* by using thidiazuron (TDZ). **King Mongkut's Agricultural Journal**, 37(4), 642-647. (in Thai).

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15, 473-497.

Pechkong, S., Sumanojitraporn, S., & Makkasap, C. (2010). **Surface Sterilization Study and Growth Regulators Effect in Tissue Culture of Aquatic Plant *Cryptocoryne albida***. Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute, Department of Fisheries. Technical Paper No. 9/2010. (in Thai).

Rodloy, A. (2020). **Marketing and Production Management of Aquatic Plants in Thailand for Exported and Sustainable Use of Resources**. Inland Aquaculture Research and Development Division, Department of Fisheries, Technical Paper No. 2/2020. (in Thai).

Soontornyatara, S., & Klammorn, P. (2020). Effect of different combinations of NAA and TDZ for shoot induction in vitro culture of *Aglaonema simplex* (Blume) Blume. **Acta Horticulturae**, 1298, 485-490.

Stanly, C., Bhatt, A., & Keng, C. L. (2011). An efficient in vitro plantlet regeneration of *Cryptocoryne wendtii* and *Cryptocoryne becketii* through shoot tip culture. **Acta Physiologiae Plantarum**, 33, 619-624.

Techapinyawat, S. (1995). **Plant Physiology**. Green Fence Publisher. (in Thai).

Te-chato, S., Susanon, T., & Sontikun, Y. (2006). Cultivar explant type and culture medium influencing embryogenesis and organogenesis in *Anthurium* spp. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, 28, 717-722.