

Received: June 26, 2024; Revised: January 8, 2025; Accepted: March 26, 2025

ผลของ BA (6-benzyladenine) และน้ำมะพร้าวต่อการเจริญเติบโตของต้นผักเป็ดแดง
ใบด่าง (*Alternanthera reineckii* ‘rosanervig’) ในสภาวะปลอดเชื้อ

The effect of BA (6-benzyladenine) and coconut water on the growth of
variegated red duckweed (*Alternanthera reineckii* ‘rosanervig’) in vitro

รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ¹ มะลิวัลย์ คุดะโค² บัญชา นิลเกิด² คณิน สายออยู่² และภควรรณ เศรษฐมมงคล^{2*}

Rachanimuk Hiransuchalert¹, Maliwan Kutako², Bancha Nilkerd², Kanin Saiyoo²
and Pakawan Setthamongkol^{2*}

¹คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

¹Faculty of Science, Burapha University, Chonburi Province

²คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี

²Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi Campus, Chanthaburi Province

*Corresponding Author E-mail Address : pakawan-p@buu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของไซโตไคนินที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นผักเป็ดแดงใบด่าง (*Alternanthera reineckii* ‘rosanervig’) โดยการนำชิ้นส่วนบริเวณตา และลำต้นมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA (6-benzyladenine) ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 mg/L และน้ำมะพร้าว 0, 10 และ 15% รวมทั้งหมด 12 ชุดการทดลอง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ และให้ความเข้มแสง 3,000 lux 8 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 28 วัน พบว่า การเติมน้ำมะพร้าว 10% ร่วมกับ BA 1, 2 และ 4 mg/L ส่งผลให้ต้นอ่อนพืชมีจำนวนใบเฉลี่ยเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของจำนวนใบเท่ากับ 23.33 ± 9.79 , 22.83 ± 9.91 และ 27.83 ± 2.48 ใบ/ต้น ตามลำดับ สำหรับการเติมน้ำมะพร้าว 0-15% และ BA 0-4 mg/L พบว่า ความยาวใบ และความสูงต้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) การเติมน้ำมะพร้าว 10% สามารถชักนำให้เกิดจำนวนราก และความยาวรากมากที่สุด คือ 10.33 ± 4.03 ราก และ 1.13 ± 0.32 cm ตามลำดับ ส่วนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ร่วมกับ BA 4 mg/L ทำให้เนื้อเยื่อมีจำนวนยอดมากที่สุด 8.00 ± 2.61 ยอด/ต้น แต่เมื่อพิจารณาลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า จำนวนยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นแคลลัส ต้นอ่อนแคระแกร็น และมีรากน้อยไม่ยึดเกาะกับอาหาร ในขณะที่การเติมน้ำมะพร้าว 10% เพียงอย่างเดียวทำให้ต้นอ่อนมีรากแข็งแรง ใบมีสีแดงสด และนุ่มไม่แห้งกรอบ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นผักเป็ดแดงใบด่างที่เหมาะสมต่อการส่งออกจึงควรใช้น้ำมะพร้าว 10% เป็นสารควบคุมการเติบโตในอาหารสังเคราะห์สูตร MS

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไซโตไคนิน น้ำมะพร้าว ต้นผักเป็ดแดงใบด่าง

Abstract

This study investigated the effects of cytokinin on the growth of red duckweed *Alternanthera reineckii* ‘rosanervig’ using tissue culture techniques. Explants from the bud and stem sections were cultured on MS (Murashige and Skoog) medium supplemented with the growth regulator BA (6-benzyladenine) at concentrations of 0, 1, 2, and 4 mg/L, combined with coconut water at 0%, 10%, and 15%, resulting in 12

experimental conditions. Tissue cultures were maintained in a controlled environment at a temperature of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ with a light intensity of 3,000 lux for 8 hours per day over 28 days. The results revealed that the addition of 10% coconut water combined with BA at 1, 2, and 4 mg/L did not significantly increase the average number of leaves per plant ($p>0.05$) (23.33 ± 9.79 , 22.83 ± 9.91 , and 27.83 ± 2.48 leaves per plant, respectively). Furthermore, the addition of coconut water at 0–15% and BA at 0–4 mg/L had no significant effect on leaf length or plant height ($p>0.05$). Coconut water at 10% alone induced the highest number of roots (10.33 ± 4.03 roots) and root length (1.13 ± 0.32 cm). The medium supplemented with 10% coconut water and 4 mg/L BA resulted in the highest number of shoots (8.00 ± 2.61 shoots per plant). However, morphological evaluation revealed that these shoots appeared as callus-like structures, with stunted growth and poorly developed roots that did not adhere well to the medium. In contrast, plants grown on medium supplemented with 10% coconut water alone exhibited robust roots, bright red leaves, and smooth, non-brittle foliage. Therefore, the optimal tissue culture condition for propagating *A. reineckii* ‘rosanervig’ under aseptic conditions for export purposes is the use of 10% coconut water as a growth regulator in MS medium.

Keywords: Tissue culture, Cytokinin, Coconut water, *Altemanthera reineckii*

บทนำ

พรรณไม้ในสกุล *Altemanthera* เป็นพรรณไม้ที่กำลังได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายไปทั่วโลกเนื่องจากสามารถนำไปประดับตกแต่งในตู้ปลาทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ได้อย่างงดงามและเป็นธรรมชาติ พรรณไม้ในสกุลนี้มีปริมาณและมูลค่าการส่งออกสูง 20 อันดับแรกของชนิดพรรณไม้ที่ทำ การส่งออกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557-2561 จากการรวบรวมข้อมูลของกรมประมงในปี พ.ศ. 2560-2561 พบว่า พืชในกลุ่ม *Altemanthera* มีมูลค่าการส่งออกอยู่ในช่วง 577,610-1,144,359 บาท (Rodloy, 2020) ซึ่งส่วนใหญ่มีการนำเข้าจากต่างประเทศแล้วนำมาขยายพันธุ์เพื่อจำหน่าย โดยวิธีปักชำและชำน้ำสามารถขยายพันธุ์ได้ง่าย เติบโตเร็ว ราคาไม่สูงมาก แต่มีปริมาณการส่งออกสูง ต้นผักเป็ดหรือต้นผักเป็ดแดงใบต่างหรือ เرنิก “โรซานเอนวิส” (*Altemanthera reineckii* “rosanervig”) เป็นพืชในวงศ์ *Amaranthaceae* ใบมีสีชมพูถึงแดงสดพร้อมลายต่าง บนใบ ลำต้นตรงหรือเลื้อยไปตามดิน จัดเป็นพรรณไม้ประเภทปลูกประดับกลางแจ้งและหลังตู้ ต้องการแสงมาก แม้จะเติบโตได้อย่างรวดเร็วจากการขยายพันธุ์แบบปักชำแต่ก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการนอกจากนี้ยังต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศอีกด้วย (Rodloy, 2020)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นการขยายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพอีกวิธีหนึ่งที่สามารถผลิต และเพิ่มจำนวนต้นอ่อนปลอดเชื้อที่มีความแข็งแรงได้ในปริมาณมากได้ผลผลิตที่มีความสม่ำเสมอและผลิตได้ทุกฤดูกาล สารควบคุมการเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ออกซิน (Auxin) และไซโตไคนิน (Cytokinin) โดยไซโตไคนินมีหน้าที่เร่งการแบ่งเซลล์ช่วยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ชักนำให้เกิดยอด ช่วยการขยายตัวของเซลล์ และชักนำการสังเคราะห์รงควัตถุ ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ ไซโตไคนินจากการสังเคราะห์ ได้แก่ Kinetin (6-Furfurylaminopurine), BAP (6-benzylaminopurine) และไซโตไคนินจากธรรมชาติ ได้แก่ Zeatin, 2-ip (6-y,y-Dimethylallylamino purine) (Phongchawee et al., 2014) และน้ำมะพร้าว มีสารไซโตไคนินชนิดทรานส์ซีเอติน (Trans-zeatin) ซึ่งเป็นไซโตไคนินส่วนใหญ่ที่พบในน้ำมะพร้าวที่สามารถช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเกิดยอดใหม่ของพืชได้ (Thiangpuk, 2015) โดยมีการนำน้ำมะพร้าวใส่ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 10-20% เพื่อชักนำการเกิดต้นพืชได้ (Neera et al., 2014) ดังนั้นวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาชนิด และความเข้มข้นของสารไซโตไคนิน ได้แก่ BA และน้ำมะพร้าวต่อการเติบโตของต้นผักเป็ดแดงใบต่าง (*A. reineckii* ‘rosanervig’) ในสภาวะปลอดเชื้อเพื่อทำให้ทราบชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเติบโตที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีการเติบโตที่ดี มีคุณลักษณะเหมาะสมต่อการจัดจำหน่าย และส่งออกต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

นำต้นผักเบ็ดแดงใบต่าง *A. reineckii* 'rosanervig' ปลอดเชื้อที่มีอายุประมาณ 2 เดือน ลักษณะต้นพันธุ์มีความแข็งแรงสูงประมาณ 2 cm มีใบประมาณ 7-10 ใบ และจำนวนราก 7-10 ราก สีของใบไม่ซีดเห็นลายใบต่างชัดเจน มาตัดแต่งเอาใบและรากออกให้เหลือบริเวณตาและลำต้นสูงประมาณ 1 cm จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชย้ายลงเลี้ยงในขวดอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 mg/L และน้ำมะพร้าว (ยี่ห้อ Cocomax ประเทศไทย) 0, 10 และ 15% รวมทั้งหมด 12 ชุดการทดลอง ทำการทดลองชุดละ 6 ซ้ำ วางขวดชุดการทดลองในห้องควบคุมอุณหภูมิประมาณ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสง 10 ชั่วโมง/วัน ด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 3,000 lux บันทึกผลการเติบโตของเนื้อเยื่อ ได้แก่ จำนวนใบ และจำนวนรากทุก 7 วันเป็นเวลา 28 วัน และบันทึกผลความยาวใบ (cm) จำนวนยอด และความสูงต้น (cm) ต่อด้านเนื้อเยื่อด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) ในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 28 ของการทดลอง) ดำเนินการทดลองเดียว โดยการตรวจวัดอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดการทดลอง

การวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของ จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด และความสูงต้นของเนื้อเยื่อต้นผักเบ็ดแดงใบต่าง ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัย

1. ผลของสารควบคุมการเติบโตของต้นผักเบ็ดแดงใบต่าง

การศึกษาผลของชนิด และปริมาณไซโตไคนินที่แตกต่างกันต่อการชักนำให้เกิดใบของต้นผักเบ็ดแดงใบต่างทุก 7 วันเป็นเวลา 28 วัน พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ต้นผักเบ็ดแดงใบต่างเริ่มมีการชักนำให้เกิดใบ และมีจำนวนใบเพิ่มมากขึ้นในวันสุดท้ายของการทดลองโดยมีจำนวนใบเฉลี่ยในวันที่ 28 ของการทดลองเท่ากับ 13.33 ± 4.46 ถึง 27.83 ± 2.48 ใบ/ต้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นผักเบ็ดแดงใบต่างด้วยน้ำมะพร้าว 10% ร่วมกับสารควบคุมการเติบโต BA 1, 2 และ 4 mg/L (อาหารสูตรที่ 6, 7 และ 8) มีผลทำให้ต้นผักเบ็ดแดงใบต่างมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน เท่ากับ 23.33 ± 9.79 , 22.83 ± 9.91 และ 27.83 ± 2.48 ใบ/ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 สูตรดังกล่าว พบว่า มีจำนวนใบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 1) ในขณะที่ต้นผักเบ็ดแดงใบต่างเริ่มมีการสร้างรากภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน และพบว่า ต้นผักเบ็ดแดงใบต่างที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน ด้วยสูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าว และ BA (สูตรอาหารที่ 1) และสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% (สูตรอาหารที่ 5) มีจำนวนรากในวันสุดท้ายของการทดลองสูงแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่า 10.33 ± 3.27 และ 10.33 ± 4.03 ราก/ต้น ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่าการเติม BA 4 mg/L ในสูตรอาหารที่ปราศจากน้ำมะพร้าว (สูตรอาหารที่ 4) และสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำมะพร้าว 15% (สูตรอาหารที่ 12) มีผลทำให้ต้นผักเบ็ดแดงใบต่างไม่สามารถสร้างรากจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง (Table 2)

Table 1 The average number of leaves of variegated watercress tissues when cultured in media containing different growth regulators

Formula	Coconut water (%)	BA (mg/L)	Average number of leaves of variegated red watercress plants (Leaves/Stems) (Average $\pm$ SD)			
			Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
1	0	0	$4.17 \pm 0.41^{b,3}$	$7.00 \pm 3.29^{b,23}$	$10.00 \pm 4.56^{b,12}$	$14.00 \pm 5.44^{b,1}$
2	0	1	$5.00 \pm 2.00^{b,3}$	$8.83 \pm 2.86^{ab,23}$	$11.67 \pm 4.68^{b,12}$	$15.67 \pm 6.65^{b,1}$
3	0	2	$4.17 \pm 2.93^{b,2}$	$7.33 \pm 6.28^{b,12}$	$9.67 \pm 6.44^{b,12}$	$14.83 \pm 9.97^{b,1}$
4	0	4	$6.17 \pm 2.86^{b,2}$	$8.83 \pm 5.04^{ab,12}$	$11.83 \pm 6.15^{b,12}$	$15.83 \pm 8.57^{b,1}$
5	10	0	$6.17 \pm 2.99^{b,3}$	$10.00 \pm 4.10^{ab,23}$	$13.50 \pm 5.32^{b,12}$	$17.33 \pm 7.87^{b,1}$

6	10	1	7.83±5.19 ^{ab,3}	13.67±6.35 ^{ab,23}	17.50±8.14 ^{ab,12}	23.33±9.79 ^{ab,1}
7	10	2	6.00±4.77 ^{b,3}	12.17±7.83 ^{ab,23}	17.00±9.49 ^{ab,12}	22.83±9.91 ^{ab,1}
8	10	4	10.50±3.02 ^{a,4}	15.17±3.13 ^{a,3}	22.67±1.03 ^{a,2}	27.83±2.48 ^{a,1}
9	15	0	5.17±0.98 ^{b,2}	7.67±3.14 ^{b,2}	9.00±3.03 ^{b,2}	13.33±4.46 ^{b,1}
10	15	1	6.00±4.60 ^{b,1}	10.00±7.59 ^{ab,1}	12.50±8.57 ^{b,1}	15.50±10.41 ^{b,1}
11	15	2	5.67±1.63 ^{b,2}	10.50±6.38 ^{ab,12}	13.17±8.59 ^{b,12}	15.00±9.21 ^{b,1}
12	15	4	6.67±1.21 ^{b,3}	11.00±1.90 ^{ab,23}	13.50±3.38 ^{b,12}	16.67±4.50 ^{b,1}

Note: Different numbers ^{1, 2, 3, 4} in the same row indicate statistically significant difference (p<0.05)

Different letters ^{a, b} in the same column indicate statistically significant difference (p<0.05)

Table 2 The average number of root formation of variegated red watercress tissues when cultured in a medium containing different growth control substances.

Formula	Coconut water (%)	BA (mg/L)	Average number of roots of variegated red watercress (Roots/Stem) (Average±SD)			
			Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
1	0	0	0.83±0.98 ^{a,3}	5.50±2.51 ^{a,2}	7.33±1.51 ^{a,2}	10.33±3.27 ^{a,1}
2	0	1	0.00±0.00 ^{b,2}	0.50±0.55 ^{cd,2}	1.17±0.75 ^{bcd,12}	2.17±1.83 ^{cd,1}
3	0	2	0.00±0.00 ^{b,1}	0.67±1.21 ^{bcd,1}	1.00±1.55 ^{bcd,1}	1.33±2.16 ^{cd,1}
4	0	4	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
5	10	0	0.00±0.00 ^{b,3}	2.83±2.71 ^{b,23}	5.83±3.92 ^{a,2}	10.33±4.03 ^{a,1}
6	10	1	0.00±0.00 ^{b,2}	2.33±1.63 ^{bc,1}	2.83±1.60 ^{bc,1}	3.17±1.33 ^{c,1}
7	10	2	0.00±0.00 ^{b,2}	2.83±2.99 ^{b,12}	3.00±2.83 ^{bc,12}	3.67±3.14 ^{bc,1}
8	10	4	0.33±0.82 ^{b,1}	1.67±1.86 ^{bcd,1}	1.83±1.83 ^{bcd,1}	2.17±2.23 ^{cd,1}
9	15	0	0.00±0.00 ^{b,3}	1.17±1.60 ^{bcd,3}	3.33±1.63 ^{b,2}	6.00±2.61 ^{b,1}
10	15	1	0.00±0.00 ^{b,3}	1.33±1.03 ^{bcd,2}	2.00±0.63 ^{bcd,12}	2.50±0.84 ^{cd,1}
11	15	2	0.00±0.00 ^{b,2}	0.50±0.84 ^{cd,12}	0.83±0.75 ^{cd,12}	1.17±1.17 ^{cd,1}
12	15	4	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d

Note: Different numbers ^{1, 2, 3} in the same row indicate statistically significant difference (p<0.05)

Different letters ^{a, b, c, d} in the same column indicate statistically significant difference (p<0.05)

ผลการศึกษา พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ส่งผลให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีจำนวนยอดเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 4.33 ± 2.80 ถึง 8.00 ± 2.61 ยอด/ต้น ทั้งนี้สูตรอาหารทุกชุดการทดลองไม่มีผลต่อความยาวใบ โดยต้นผักเป็ดแดงใบต่างทุกชุดการทดลองมีความยาวใบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.62 ± 0.26 ถึง 0.90 ± 0.26 cm ส่วนต้นผักเป็ดแดงใบต่างที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าว และ BA (สูตรอาหารที่ 1) ต้นอ่อนมีความสูง 2.53 ± 3.56 cm ซึ่งส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกับชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) นอกจากนี้ พบว่า การเติมน้ำมะพร้าว 10 และ 15% (สูตรอาหารที่ 5 และ 9) ทำให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีรากยาวสูงสุด 1.13 ± 0.32 และ 0.77 ± 1.3 cm ซึ่งมีค่าแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 3) โดยสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ใช้ต้นทุนในการเพาะเลี้ยงต่ำกว่ามะพร้าว 15% และยังคงทำให้ต้นอ่อนมีรากที่ยาว

Table 3 Growth of variegated watercress tissue cultured in medium containing different growth regulators on day 28 of the experiment.

Formula	Coconut water (%)	BA (mg/L)	Growth of variegated red watercress tissue (Average±SD)			
			Leaf length (cm)	Root length (cm)	Trunk height (cm)	Number of peaks (Shoot/Stem)
1	0	0	0.90±0.26 ^a	0.52±0.12 ^{bc}	2.53±3.56 ^a	1.83±1.60 ^d
2	0	1	0.87±0.15 ^a	0.22±0.12 ^{bc}	1.03±0.12 ^b	2.67±0.82 ^{cd}
3	0	2	0.64±0.35 ^a	0.05±0.07 ^c	1.17±0.27 ^{ab}	1.67±0.82 ^d
4	0	4	0.63±0.34 ^a	0.00±0.00 ^c	1.09±0.24 ^{ab}	1.50±1.64 ^d
5	10	0	0.84±0.32 ^a	1.13±0.32 ^a	1.18±0.27 ^{ab}	5.50±3.56 ^{abc}
6	10	1	0.72±0.16 ^a	0.57±0.23 ^{bc}	1.42±0.33 ^{ab}	5.83±2.93 ^{ab}
7	10	2	0.75±0.04 ^a	0.60±0.49 ^{bc}	1.64±0.60 ^{ab}	4.33±2.80 ^{bcd}
8	10	4	0.74±0.10 ^a	0.38±0.33 ^{bc}	1.24±0.30 ^{ab}	8.00±2.61 ^a
9	15	0	0.62±0.26 ^a	0.77±1.32 ^{ab}	1.01±0.16 ^b	3.17±2.93 ^{bcd}
10	15	1	0.69±0.35 ^a	0.23±0.17 ^{bc}	0.97±0.51 ^b	2.50±1.87 ^d
11	15	2	0.88±0.37 ^a	0.12±0.10 ^c	0.90±0.45 ^b	3.33±1.97 ^{bcd}
12	15	4	0.83±0.03 ^a	0.00±0.00 ^c	1.16±0.18 ^{ab}	2.00±1.67 ^d

Note: Different letters ^{a, b, c, d} in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0.05$)

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อต้นผักเปิดแดงใบต่างที่เพาะเลี้ยงด้วยสารควบคุมการเติบโตที่แตกต่างกัน

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนผักเปิดแดงใบต่างที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า ขึ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ร่วมกับ BA 4 mg/L (สูตรอาหารที่ 8) มีจำนวนใบมากที่สุดแต่ใบมีลักษณะแคระแกร็น และมีรากน้อยไม่ยึดเกาะกับอาหาร ขณะที่การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีการเติมน้ำมะพร้าว และ BA (สูตรอาหารที่ 1) ทำให้ต้นผักเปิดแดงใบต่างลำต้นสูงที่สุด ใบมีความยาว และมีรากจำนวนมากออกตามข้อของลำต้น โดยต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำมะพร้าวเป็นองค์ประกอบจะมีใบสีซีด และแห้งกรอบ นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% (สูตรอาหารที่ 5) ส่งผลให้รากต้นผักเปิดแดงใบต่างมีความยาวรากมากที่สุด รากยึดเกาะกับอาหารได้ดี ใบสีสดแสงสด สีใบไม่ซีด และใบมีความนุ่ม (Figure 1)

เมื่อวัดการเติบโตของเนื้อเยื่อต้นผักเปิดแดงใบต่างในสภาวะปราศจากเชื้อเป็นเวลา 28 วัน พบว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ร่วมกับ BA 1 และ 4 mg/L (สูตรอาหารที่ 6 และ 8 ตามลำดับ) ทำให้ต้นอ่อนมีจำนวนใบเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยมาก โดยสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ร่วมกับ BA 4 mg/L ทำให้ต้นอ่อนมีจำนวนใบเฉลี่ยสูง 27.83 ± 2.48 ใบ/ต้น และมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูง 8.00 ± 2.61 ยอด/ต้น แต่เมื่อพิจารณาลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า จำนวนใบและยอดที่เกิดขึ้นมากนั้นมีลักษณะเป็นแคลลัส ต้นอ่อนมีลำต้นเตี้ย และแคระแกร็น ไม่เหมาะสมต่อการจำหน่าย ขณะที่การเติมน้ำมะพร้าว 10% เพียงอย่างเดียวทำให้ต้นผักเปิดแดงใบต่างมีจำนวนใบ จำนวนยอด และความสูงต้นค่อนข้างมารากแข็งแรง ใบมีสีสดแสงสดใส และนุ่มไม่แห้งกรอบ ซึ่งเหมาะสมต่อการจัดจำหน่าย และส่งออก

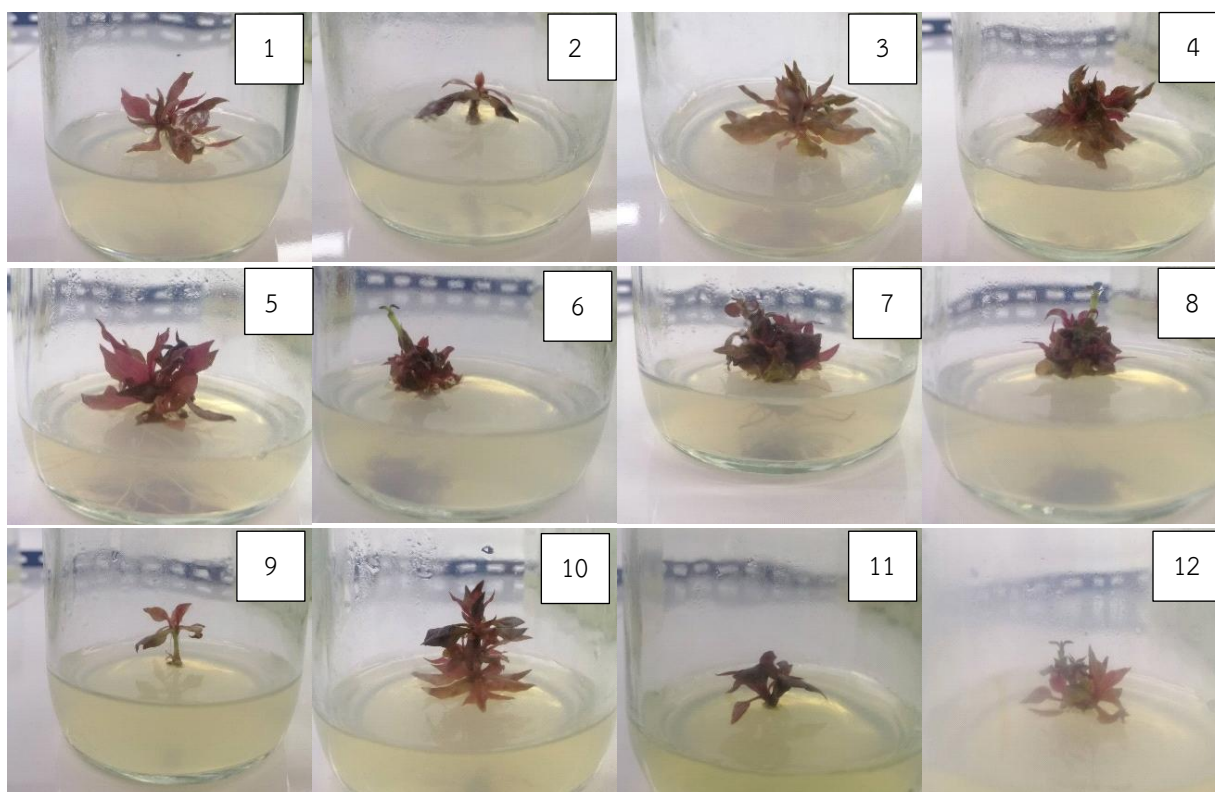


Figure 1 Shoot emergence characteristics of variegated red watercress grown on MS media supplemented with different concentrations of BA and coconut water for 28 days.

Note: The numbers in each image represent plant tissues from different experimental sets grown on different media.

- | | |
|--|------------------------------------|
| When 1 = Free from plant growth regulators | 7 = Coconut water 10% + BA 2 mg/L |
| 2 = BA 1 mg/L | 8 = Coconut water 10% + BA 4 mg/L |
| 3 = BA 2 mg/L | 9 = Coconut water 15% |
| 4 = BA 4 mg/L | 10 = Coconut water 15% + BA 1 mg/L |
| 5 = Coconut water 10% | 11 = Coconut water 15% + BA 2 mg/L |
| 6 = Coconut water 10% + BA 1 mg/L | 12 = Coconut water 15% + BA 4 mg/L |

การอภิปรายผล

การศึกษาผลของสารไซโตไคนินที่มีผลต่อการเติบโตของต้นผักเป็ดแดงใบต่างเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว และ BA ความเข้มข้นที่ต่างกันเป็นเวลา 28 วัน ทั้งนี้เลือกใช้น้ำมะพร้าวสำเร็จรูปเพื่อควบคุมปัจจัยในการผลิตให้มีค่าคงที่ และเกษตรกรสามารถนำวิธีการเพาะเลี้ยงไปใช้ในการผลิตเชิงพาณิชย์ได้ ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า น้ำมะพร้าวเข้มข้น 10% มีผลทำให้เนื้อเยื่อต้นผักเป็ดแดงใบต่างสร้างยอดจำนวนมาก และสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ร่วมกับการควบคุมการเติบโต BA 1, 2 และ 4 mg/L ทำให้เกิดการสร้างใบจำนวนมาก ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการขยายพันธุ์ต้น *Cryptocoryne retrospiralis* (Roxburgh) Fischer ในอาหาร MS สภาพปลอดเชื้อที่ พบว่า การใช้ BA ระดับความเข้มข้น 2 และ 4 mg/L สามารถชักนำให้เกิดใบ และยอดอ่อนได้มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รองลงมา คือ BA 1 mg/L ในขณะที่การไม่เติม BA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผลทำให้ต้นอ่อนสร้างใบ และยอดอ่อนน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Phongchawee et al., 2014) เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ การเกิดยอด การเจริญเติบโตของยอด และกิ่งใบ (Trigiano & Gray, 2000) และในน้ำมะพร้าวยังมีสารอินทรีย์ในกลุ่มไซโตไคนินซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่มีคุณสมบัติกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์

พืช ควบคุมการขยายตัว และเปลี่ยนแปลงของเซลล์พืช จึงมีการนำน้ำมะพร้าวมาใช้เป็นในส่วนของประกอบอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดย Selakorn et al. (2020) ได้ทดสอบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้วยนา (Musa (AAA group) 'Kluai Nak') ด้วยอาหารสูตร MS ผสมน้ำมะพร้าวในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน คือ 0, 15, 20 และ 25% พบว่า การใส่น้ำมะพร้าวปริมาณน้อยในอาหารสูตร MS (น้ำมะพร้าว 15%) มีผลทำให้กล้วยมีจำนวนหน่อเฉลี่ยสูงสุด 8.25 หน่อ/ยอดที่เพาะเลี้ยง และมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.73 cm ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมะพร้าวระดับความเข้มข้นอื่น ๆ การเสริมน้ำมะพร้าวในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นการเติมอินทรีย์สารที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเติบโตของเนื้อเยื่อพืช สอดคล้องกับงานวิจัยของ Santarunai (2015) ที่ได้ทดสอบเสริมสารอินทรีย์จากวัตถุดิบที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมะพร้าว 15% กล้วยหอม 15% มันฝรั่ง 15% และน้ำมะเขือเทศ 15% ในอาหาร MS สำหรับเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เหลืองจันทร์พุด (Dendrobium friedericksianum Rchb. f.) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า น้ำมะพร้าว 15% ส่งเสริมการเกิดยอด ความสูงต้น จำนวน และความยาวใบเฉลี่ยสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sudhanyaratana et al. (2016) ที่พบว่า การเติมน้ำมะพร้าว 15% ในอาหารสูตร MS ทำให้ต้นกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน (Musa (ABB) 'Namwa Mali-Ong') มีร้อยละการเกิดยอดสูงสุด 100% และมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งในการทดลองดังกล่าวหากมีการทดสอบใช้น้ำมะพร้าวที่เข้มข้นต่ำกว่า 15% อาจให้ผลการเติบโตที่แตกต่างจากนี้ได้

การสร้างรากของต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีค่าแปรผกผันกับปริมาณ BA โดยอาหารชุดควบคุม และอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% มีผลทำให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างสร้างรากจำนวนมาก และอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% ทำให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีรากยาวสูงสุด แสดงให้เห็นว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปราศจาก BA ทำให้ต้นผักเป็ดแดงสร้างรากได้ดี และรากมีความยาวสมบูรณ์ดีกว่าชุดการทดลองที่มีการเติม BA นอกจากนี้การเติม BA ความเข้มข้นสูง 4 mg/L มีผลทำให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างไม่สร้างรากตั้งแต่แรกจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง สอดคล้องกับการศึกษาของ Phongchawee et al. (2014) ที่พบว่า การใส่ BA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากกว่า 1 mg/L มีผลยับยั้งการเกิดรากของต้นอ่อนใบพายมวกเหล็กแหลม (Cryptocoryne retrospiralis (Roxburgh) Fischer) ได้ เนื่องจากไซโตไคนินเป็นสารควบคุมการเติบโตของพืชที่สร้างจากระบบรากแล้วลำเลียงเข้าสู่เนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของยอดและใบพืช อย่างไรก็ตามหากมีปริมาณไซโตไคนินระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปจะส่งผลยับยั้งการเกิดราก และชักนำให้เกิดแคลลัสแทน (Kaweetah, 1997) ทั้งนี้ในน้ำมะพร้าวมีสารไซโตไคนินชนิดทรานส์-ซีตินในปริมาณประมาณ 181.93 นาโนโมลาร์ (Srisukh, 2016) ซึ่งคิดเป็นปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณ BA ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนี้น้ำมะพร้าวยังมีส่วนผสมของน้ำตาลฟรุคโตส กลูโคส และซูโครสเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณ 5.25, 7.25 และ 9.18 mg/L ตามลำดับ (Jala, 2010) น้ำตาลปริมาณสูงในน้ำมะพร้าวเป็นแหล่งสารอาหารให้กับพืช และความไม่สมดุลของฮอร์โมนระหว่างไซโตไคนินและออกซินเป็นตัวชักนำทำให้พืชสร้างรากหรือแคลลัสได้ สอดคล้องกับ Neera et al. (2014) ที่ได้ทดสอบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นแก่นตะวัน (Helianthus tuberosus L.) ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้สาร BA Kinetin และน้ำมะพร้าวในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน พบว่า การเติมน้ำมะพร้าว 15% ลงในอาหาร MS สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อน และรากได้สูง 3.34 ต้น/ชิ้นส่วน และ 3.00 ราก/ชิ้นส่วน ตามลำดับ โดยน้ำมะพร้าวมีแนวโน้มชักนำให้พืชเพิ่มจำนวนรากได้ เนื่องจากน้ำมะพร้าวเป็น Weak cytokinin การใส่น้ำมะพร้าวลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงชักนำให้เกิดได้ทั้งต้นอ่อนและราก ในขณะที่ BA เป็น Strong cytokinin การเติม BA จึงทำให้พืชไม่มีการสร้างราก (Chantha et al., 2004) น้ำมะพร้าวยังมีผลทำให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่าง ใบมีใบสีแดงสด สีใบไม่ซีด และอ่อนนุ่ม สอดคล้องกับการศึกษาของ Santarunai (2015). ที่พบว่า การเติมน้ำมะพร้าว 15% ในอาหารสูตร MS ช่วยทำให้ต้นกล้วยไม้เหลืองจันทร์พุด (D. friedericksianum Rchb. f.) มีลำต้นสีเขียวสดใส มีรากจำนวนมาก และรากยาวแข็งแรง ทั้งนี้พืชแต่ละชนิดมีความต้องการสารควบคุมการเติบโตหรือฮอร์โมนพืชในระดับที่ต่างกัน

บทสรุป

สูตรอาหาร MS ที่มีส่วนผสมของน้ำมะพร้าว 10% เพียงอย่างเดียว และน้ำมะพร้าว 10% ที่เติมสารควบคุมการเติบโตชนิด BA มีผลทำให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีจำนวนใบเฉลี่ย และจำนวนยอดเฉลี่ยสูง แต่หากเติม BA ในระดับความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้ลำต้นมีลักษณะกระแกรกรืน และมีรากน้อยไม่ยึดเกาะกับอาหาร โดยอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10% เพียงอย่างเดียวทำให้ต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีจำนวนรากมาก รากมีความยาวสูงสุด และรากสามารถยึดเกาะกับอาหารได้ดี ใบมีสีแดงสด

และใบมีความนุ่ม ในขณะที่สูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าวจะส่งผลทำให้ใบของต้นผักเป็ดแดงใบต่างมีสีซีด และแห้งกรอบ ดังนั้นสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นผักเป็ดแดงใบต่างที่ให้ผลการเติบโตที่ดี มีลักษณะที่เหมาะสมต่อการจัดจำหน่าย และส่งออก คือสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10%

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณชนรรค์ เทียนรุ่งศรี กรรมการบริหาร บริษัทไวท์เครนอควาติกฟลานท์ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างพืช และสถานที่ในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี ที่ให้การสนับสนุนการทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Chantha, P., Kongpetchsak, P., & Doksanthia, S. (2004). *Plant hormones* [Unpublished manuscript]. Faculty of Science, Srinakharinwirot University. (In Thai)
- Jala, A. (2010). A tissue culture protocol for propagation of native and rare orchid, *Pecteilis sagarikii* Sedenf. *Journal of Science and Technology*, 18(2), 28-39. (In Thai)
- Kaweetah, R. (1997). *Plant tissue culture: principles and techniques*. Kasetsart University, Promotion and Training Office Printing Division. (In Thai)
- Srisukh, V. (2016, October 13). *Young coconut water, a natural health drink*. Mahidol University. <https://n9.cl/b67p6j>. (In Thai)
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15(1), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Neera, S., Soonthorn, W., Mongkolpun, P., & Hongpukdee, P. (2014). Effect of cytokinins and coconut water on in vitro shoot induction of Kaentawan (*Helianthus tuberosus* L.). *Khon Kaen Agriculture Journal*, 42(2), 1-7. (In Thai)
- Phongchawee, K., Praditsan, R., Pipatcharoenchai, W., & Srisongkhram, Y. (2014). *In vitro propagation of aquatic plant Cryptocoryne retrospiralis (Roxburgh) fischer*. Freshwater fisheries research and development division Department of Fisheries. (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. (In Thai)
- Santarunai, N. (2015). Effect of medium and plant growth regulator on development and flowering (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) of orchid in vitro. In P. Samreangrum (Ed.), *The National Conference and Research Presentation. Create and Development to Approach ASEAN Community II* (pp. 155-162). Nakhonratchasima College. http://journal.nmc.ac.th/th/admin/Journal/2558Vol3No1_68.pdf. (In Thai)
- Selakorn, O., Sutaphan, S., Phasinam, K., & Kassanuk, T. (2020). The optimal concentration of coconut water on multiple shoot induction of *Musa* (AAA group) 'Kluai Nak' in vitro. *YRU Journal of Science and Technology*, 5(1), 1-6. (In Thai)
- Sudhanyaratana, N., Aoki, S., & Rattana, K. (2016). Tissue culture and the analysis of ploidy stability of *Musa* (ABB) "Namwa Mali-Ong". *Journal of Multidisciplinary in Social Sciences*, 9(3), 1-14. (In Thai)
- Thiangpuk, C. (2015). Coconut juice: great natural food. *Food*, 45(2), 39-42. (In Thai)
- Trigiano, R. N., & Gray, D. J. (2000). *Plant tissue culture concept and laboratory exercises*. CRC Press.