วารสารเกษตร 20 (1) : 1- 9 (2547)

Journal of Agriculture 20 (1) : 1- 9 (2004)

การขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อ

In vitro Propagation of Pitcher Plant (*Nepenthes thorelii*)

อำพร ขุมดินพิทักษ์[1/] อดิศร กระแสชัย[1/] และ ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย[2/]

Amporn Khumdinpitag[1/] Adisorn Krasaechai[1/] and Theeraphon Phornsawatchai[2/]

Abstract : Propagation of *Nepenthes thorelii* by seed germinating under *in vitro* condition was conducted. It was found that modified Vacin and Went (1949) and Half-MS proved to be suitable media for seed germination and growth of seedling. Scarification by puncturing the seed using fine needle before germinating under *in vitro* condition accelerated seed germination with higher survival percentage. Shoot tip was suitable for tissue culture propagation while shoot proliferation occurred well on Murashige and Skoog (1962) media with the addition of BAP 0.5 mg/l. For root induction, IBA 0.1 mg/l should be added to Half-MS medium.

บทคัดย่อ: การขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมล็ดสามารถงอกและเจริญเติบโตในอาหาร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง และ Half -MS การทำ Scarification โดยการเจาะปลายเมล็ดช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ส่วนการขยายพันธุ์โดยใช้เนื้อเยื่อพบว่า การใช้ส่วนยอดที่เลี้ยงบนอาหาร Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มก/ล สามารถสร้างยอดใหม่ที่สมบูรณ์ได้เป็นจำนวนมากที่สุด และยอดที่เกิดขึ้นสามารถชักนำให้ออกรากได้ดีบนอาหาร Half-MS ที่มี IBA ความเข้มข้น 0.1 มก/ล

Index words: Nepenthes, Pitcher plant, Propagation, Scarification

หม้อข้าวหม้อแกงลิง การขยายพันธุ์พืช

[1/]ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[2/]สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/]Department. of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

[2/]Insitute for Science and Technology Research and Development, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

คำนำ

หม้อข้าวหม้อแกงลิง *(Nepenthes spp.)* เป็นพืชเขตร้อน มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย เป็นไม้ล้มลุกกึ่งไม้เถา เป็นพืชที่มีลักษณะพิเศษต่างจากพืชโดยทั่วไป คือ มีการสร้างกระเปาะที่สามารถผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสลายแมลงที่ตกลงไปในกระเปาะได้ (James and Patricia, 1996) นอกจากนี้กระเปาะยังมีรูปทรง ลวดลาย และสีสรรสวยงามแปลกตากว่าพืชอื่น เป็นพืชที่มีศักยภาพเพื่อการนำมาใช้เป็นไม้ประดับได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามมีการศึกษาทางด้านการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อไว้น้อยมาก และมีรายงานว่าบางชนิดไม่สามารถขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อได้โดยใช้ส่วนของลำต้น เนื่องจากยากต่อการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนพืช (Walker, 2000) การศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาความเป็นไปได้โดยใช้วิธีการเพาะเมล็ดก่อนแล้วจึงนำต้นกล้าที่ได้มากระตุ้นเพื่อเพิ่มปริมาณ ต้นอ่อนให้มากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

นำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 % เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นฟอกต่อด้วยคลอร็อกซ์ 15 % นาน 20 นาที นำมาเพาะบนอาหาร 8 สูตร คือ Murashige and Skoog (1962) (MS), Half–MS (H-MS), Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (VW) และ White (1963) ที่ไม่เติม และเติมน้ำมะพร้าว 15 % (+Cw) โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำกรรมวิธีละ 20 ซ้ำๆ ละ 1 เมล็ด

2. ศึกษาการทำ Scarification ที่เหมาะสมในสภาพปลอดเชื้อ

นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการเดียวกับข้อ 1 มาทำ scarification ทั้งหมด 3 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีการตัดปลายเมล็ดออกประมาณ 0.1 มม และกรรมวิธีการเจาะปลายเมล็ด จากนั้นนำมาเพาะบนอาหาร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำกรรมวิธีละ 20 ซ้ำๆ ละ 1 เมล็ด

3. ผลของ BAP ต่อการแตกยอดของชิ้นส่วนพืช

นำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาย้ายเปลี่ยนลงในอาหาร H-MS เป็นเวลา 5 เดือน เพื่อปรับสภาพต้นกล้าให้มีความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน นำมาตัดแบ่งออก เป็น 2 ส่วน คือชิ้นส่วนยอด และชิ้นส่วนโคน โดยแต่ละชิ้นส่วนมี 3–4 ใบ และตัดปลายใบออกให้เหลือติดกับลำต้น 4–5 มม จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหาร MS (1962) ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ actorial in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 แบบของชิ้นส่วน จำนวน 2 แบบ คือชิ้นส่วนยอด และชิ้นส่วนโคน และ ปัจจัยที่ 2 คือ อาหาร MS(1962) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก/ล รวม 10 กรรมวิธี ทำกรรมวิธีละ 5 ซ้ำๆ ละ 1 ชิ้นส่วน

4. ผลของ IBA ต่อการเกิดราก

ใช้ต้นอ่อนที่ได้จากการชักนำการแตกยอดโดยใช้ BAP จากหัวข้อ 3 โดยตัดส่วนยอดที่แตกใหม่มาเลี้ยงในอาหาร MS (1962) ที่เติม BAP 0.5 มก/ล เพื่อให้พืชมีการปรับสภาพในอาหารสูตรเดียวกันเป็นเวลา 3 เดือน ตัดเอาเฉพาะชิ้นส่วนยอดมาเลี้ยงในอาหาร MS (1962) ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.1 0.5, 1.0 และ

2.0 มก/ล โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 5 กรรมวิธี ทำกรรมวิธีละ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ยอด

ผลการทดลอง

1. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

เมล็ดที่เพาะในอาหาร MS (1962), VW (1949) ดัดแปลง มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 95 % รองลงมาคือ อาหาร H-MS และ White (1963) มีเปอร์เซ็นต์การงอก 90 % และ 85 % ตามลำดับ และเมล็ดที่เพาะในอาหาร MS+Cw และ H-MS+Cw มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากันคือ 75 % ส่วนอาหาร VW+Cw และ White+Cw เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำสุด 70 %

ส่วนจำนวนวันเมล็ดงอกพบว่า เมล็ดที่เพาะในอาหาร MS (1962), VW (1949) ดัดแปลง,VW+Cw และ H-MS ทำให้เมล็ดมีการงอกได้เร็วใกล้เคียงกัน คือ 27.7, 28.7, 29.5 และ 30.2 วัน ตามลำดับ ส่วนการเพาะเมล็ดในอาหาร H-MS+Cw และ White+Cw มีจำนวนวันเมล็ดงอกเฉลี่ยใกล้เคียงกัน 34.6 และ34.9 วัน ตามลำดับ (ภาพที่ 1)

หลังจากเมล็ดงอกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้าในอาหาร VW (1949) ดัดแปลง มีความสูงและจำนวนใบเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ 5.6 มม และ 5.1 ใบ ส่วนความกว้าง และความยาวใบอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันกับต้นกล้าในอาหาร H-MS ที่ไม่เติมและเติมน้ำมะพร้าว15 % ส่วนขนาดกระเปาะพบว่า ต้นกล้าในอาหาร VW (1949) ดัดแปลง ที่ไม่เติม และเติมน้ำมะพร้าว 15 % มีขนาดทั้งความกว้างและความยาวมากกว่าต้นกล้าในอาหารสูตรอื่นๆ และยังมีขนาดของกระเปาะที่แตกต่างกัน กับต้นกล้าในอาหาร White+Cw ซึ่งกระเปาะมีความกว้างเพียง 1.1 มม และความยาว 1.3 มม (ตารางที่ 1)

Table 1 Shoot height, number of leaf, leaf size and pitcher size of seedling.

Medium	Shoot height (mm.)	No. of leaf	Leaf size (mm.)		Pitcher size (mm.)	
			Width	Lenght	Width	Lenght
MS	5.0±0.3d	4.6±0.5ab	3.6±2.2b	6.0±1.5cd	1.3±0.3ab	1.8±0.6ab
MS+Cw	3.9±0.7c	4.3±0.5a	3.4±0.7ab	5.0±0.8bc	1.1±0.4ab	1.6±0.9a
H-MS	5.0±0.5d	4.8±0.7ab	4.2±1.0b	6.8±1.2d	1.5±0.6ab	2.2±0.7ab
H-MS+Cw	4.3±0.6c	4.4±0.6a	3.9±0.8b	5.6±1.2c	1.4±0.5ab	2.0±0.7ab
VW	5.6±0.8e	5.1± 0.6b	4.3±1.1b	6.1±1.3cd	1.7±0.5b	2.5±0.6b
VW+Cw	5.0±0.6d	4.6±0.5ab	4.0±0.7b	6.1±0.9cd	1.7±0.4b	2.0±0.5ab
White	2.6±0.2b	4.5±0.7a	2.9±1.2ab	4.2±1.1b	1.6±0.4ab	2.1±0.7ab
White+Cw	1.6±0.5a	4.2±0.4a	1.8 ±0.7a	2.8±0.7a	1.1±0.2a	1.3±0.5a
LSD $_{p=0.05}$	0.36	0.37	0.73	0.72	0.27	0.42

ต้นกล้าที่เพาะในอาหาร VW (1949) และ White (1963) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100 % รองลงมาคือต้นกล้าในอาหาร H-MS+Cw, VW+Cw, H-MS, White+Cw และ MS ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 93.3, 92.8, 88.8, 78.5 และ 63.2 % ตามลำดับ ส่วนต้นกล้าที่เพาะในอาหาร MS+Cw มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุด 53.3 % (เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต คำนวณจากเมล็ดที่งอกทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธีเท่ากับ 100 %) ส่วนคุณภาพของต้นกล้า พบว่า ต้นกล้าในอาหาร VW (1949) ใบมีลักษณะเป็นมัน หนา และเรียวยาว ส่วนต้นกล้าในอาหาร H-MS และ VW+Cw ใบยาวแต่มีลักษณะบางและโค้งงอ สำหรับต้นกล้าในอาหาร White (1963) และ White+Cw ใบหงิกงอในบางต้น และบริเวณปลายกระเปาะเป็นสีน้ำตาลแดง (ภาพที่ 2)

2. ศึกษาการทำ Scarification ที่เหมาะสมในสภาพปลอดเชื้อ

การตัดปลายเมล็ดหรือเจาะทำให้เมล็ดงอกได้ภายใน 17-18 วัน ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมต้องใช้เวลาถึง 36 วัน (ภาพที่ 3) ส่วนเปอร์เซ็นต์การงอกไม่มีความแตกต่างกันคือ ทั้ง 3 วิธี โดยอยู่ระหว่าง 90-95 %

หลังจากเมล็ดงอกเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ต้นกล้ามีความสูงที่แตกต่างกัน โดยกรรมวิธีตัดปลายเมล็ด มีความสูงมากที่สุดคือ 7.8 มม ซึ่งใกล้เคียงกับกรรมวิธีที่เจาะปลายเมล็ดที่มีความสูง 7.4 มม ส่วนกรรมวิธีควบคุมมีความสูงต่ำสุด 5.8 มม สำหรับจำนวนใบ ขนาดใบ และขนาดกระเปาะ พบว่า ต้นกล้าในกรรมวิธีเจาะปลายเมล็ดมีค่าสูงสุดตรงข้ามกับกรรมวิธีตัดปลายเมล็ด ซึ่งมีขนาดใบ และขนาดกระเปาะต่ำสุด (ตารางที่ 2)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ 10 พบว่า ในกรรมวิธีควบคุมต้นกล้ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงถึง 94.4 % รองลงมาคือ กรรมวิธีเจาะปลายเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 78.9 % ส่วนกรรมวิธีตัดปลายเมล็ดออก มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุด 44.4 % ส่วนคุณภาพของต้นกล้าในแต่ละกรรมวิธีมีลักษณะไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4)

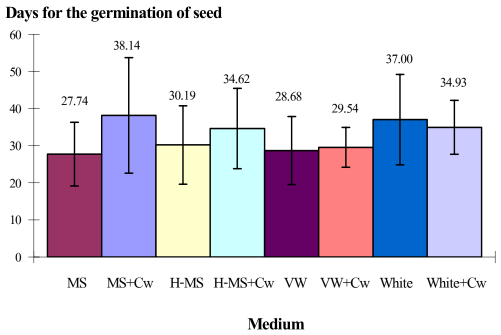


Figure 1 **Days for the germination of seed.**

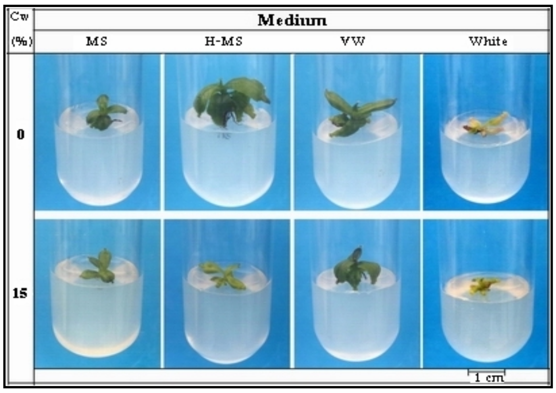


Figure 2 **Seedling from seed germinated on MS (1962), VW (1949) and White (1963) media without and with coconut water 15 % after 8 weeks.**

Table 2 **Seedling height, number of leaf, leaf size and pitcher size of seedling derived from scarification.**

Treatment	Seedling height (mm.)	No. of leaf	Leaf size (mm.)		Pitcher size (mm.)	
			Width	Lenght	Width	Lenght
Control	5.8±0.8a	4.8 ±0.8a	4.3±0.6	5.6±1.0ab	1.9±0.2ab	3.2±0.4ab
Cut the end of seed	7.8 ±1.3b	5.8± 0.5b	3.9±0.9	5.4±1.1a	1.9±0.3a	2.9±0.4a
Puncture the seed	7.4 ±2.0b	5.8± 0.4b	4.5±0.5	6.8±1.6b	2.1±0.4b	3.4±0.9b
$LSD_{p=0.05}$	0.99	0.43	ns	0.87	0.32	0.52

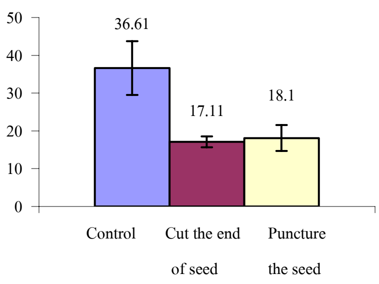


Figure 3 **Days for the germination of seed.**

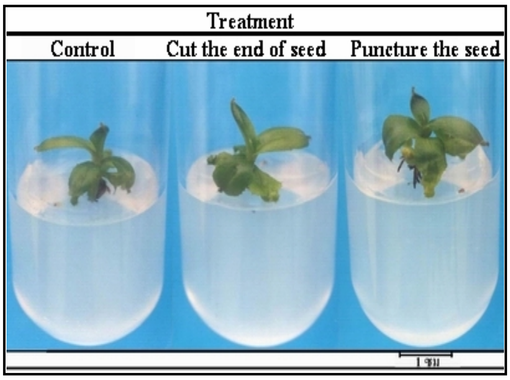


Figure 4 **Seedling from scarification under *in vitro* condition after 10 weeks.**

3. ผลของ BAP ต่อการแตกยอดของชิ้นส่วนพืช

นำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนยอด และส่วนโคน แล้วนำไปเลี้ยงในอาหาร MS (1962) ที่เติม BAP ที่ 0, 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก/ล นาน 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนโคน ไม่สามารถเกิดยอดใหม่ได้ในทุกระดับความเข้มข้น และชิ้นส่วนพืชเริ่มเสื่อมสภาพและตายภายใน 1 สัปดาห์ (ภาพที่ 5) แต่สำหรับ ชิ้นส่วนยอด สามารถเกิดยอดใหม่ได้ที่ทุกระดับความเข้มข้น ส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มี BAP จะไม่เกิดยอดใหม่ แต่อย่างใด โดยการใช้ BAP ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก/ล ทำให้แตกยอดใหม่ได้ 100 % ภายในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ของการทดลอง โดยในสัปดาห์ที่ 2 ที่ 5.0 มก/ล ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ได้สูงสุด 60 % รองลงมา คือ ที่ 0.5 มก/ล โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ 40 % ส่วน BAP ที่ 1.0 และ 3.0 มก/ล ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่เท่ากัน คือ 20 %

ส่วนจำนวนวันที่ใช้เกิดยอดใหม่พบว่า มีความใกล้เคียงกันในทุกระดับความเข้มข้นของBAP

ตั้งแต่ 14-16 วัน (ภาพที่ 5) BAP ที่ 0.5 มก/ล ทำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดยอดใหม่ที่สมบูรณ์มากที่สุดคือ 3.0 ยอด/ชิ้นส่วน ส่วนขนาดใบพบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BAP มีขนาดความกว้างของใบมากที่สุดคือ 0.7 ซม และใบมีความยาวมากที่สุดที่ความเข้มข้น 0.5 มก/ล อย่างไรก็ตาม BAP ตั้งแต่ 3 มก/ล ขึ้นไปทำให้ตาที่มุมใบเพิ่มมากขึ้น(ตารางที่ 3)

ยอดใหม่ที่ได้จากการกระตุ้นของ BAP ในระดับต่ำ (0.5-1.0 มก/ล) ให้ใบที่เป็นปกติ ส่วนที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (0.3-0.5 มก/ล) ให้ยอดใหม่มีลักษณะสั้นป้อม ใบหดสั้นและหนาขึ้น มีสีเขียวอ่อนและมีลักษณะอวบน้ำเล็กน้อย (ภาพที่ 6)

4. ผลของ IBA ต่อการเกิดราก

พบว่าเมื่อตัดกิ่งข้างที่เกิดขึ้นมาเลี้ยงในอาหาร H-MS ที่เติม IBA 0, 0.1 0.5, 1.0 และ 2.0 มก/ล จะเกิดรากได้ถึง 100% ในทุกระดับความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มก/ล จะเกิดรากได้เร็วที่สุด (ภาพที่ 7) และพบว่า IBA ที่ 0.1 มก/ล ให้จำนวนรากมากที่สุดคือ14.3ราก และรากมีความยาวมากที่สุดเช่นเดียวกันโดยเฉลี่ย 0.7 ซม (ตารางที่ 4)

Table 3 **Number of new shoot, shoot height, number of leaf, leaf width, leaf length and number of axillary bud of explant on MS media with BAP for 8 weeks.**

BAP (mg/l)	No. of new shoot	Shoot height (cm)	No. of leaf	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	No. of axillary bud
0	- a	- a	- a	0.7c	1.3c	- a
0.5	3.0c	0.8c	5.5c	0.6b	1.5d	2.4b
1.0	2.8bc	0.6c	5.1c	0.5b	1.3c	3.6b
3.0	2.6bc	0.3b	2.4b	0.4a	0.5b	9.2c
5.0	2.4b	0.3b	1.9b	0.4a	0.3a	15.2d
$LSD_{p=0.01}$	0.23	0.06	0.40	0.04	0.05	0.69

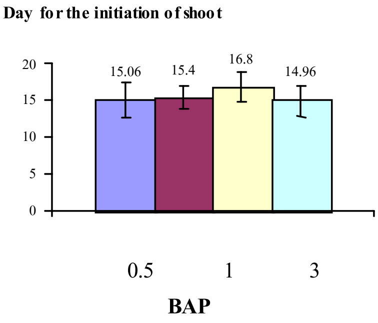


Figure 5 **Day for the initiation of new shoot of explant on MS media with BA.**

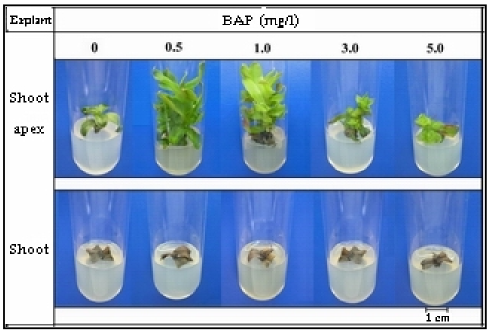


Figure 6 **Explant on MS media with BAP after 8 weeks.**

Table 4 Number of root, root length, shoot diameter, shoot height and number of leaf from axillary shoot culture on MS media with IBA for 5 weeks.

IBA (mg/l)	No. of root	Root length (cm)	Shoot diameter (cm)	Shoot height (cm)	No. of leaf
0	5.3[a]	0.4[b]	0.2[a]	2.2[a]	7.8
0.1	14.3[c]	0.7[c]	0.3[b]	2.8[c]	8.5
0.5	8.6[b]	0.3[a]	0.3[b]	2.5[b]	8.1
1.0	6.5[ab]	0.2[a]	0.5[c]	2.4[b]	8.2
2.0	5.9[a]	0.2[a]	0.6[d]	2.1[a]	7.3
$LSD_{p=0.01}$	1.36	0.80	0.36	0.12	ns

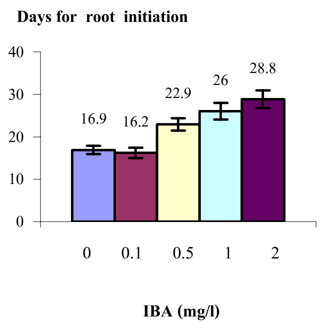


Figure 7 Days for root initiation of axillary shoot on H-MS medium with IBA.

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

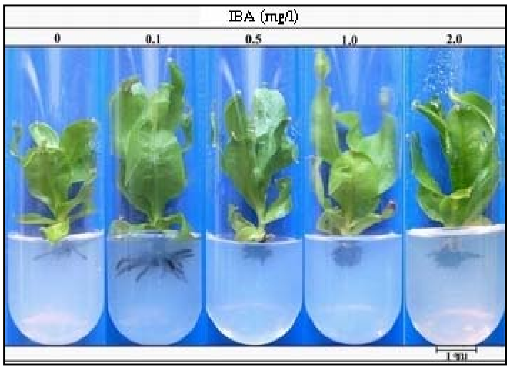
1.การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

อาหาร VW (1949) ดัดแปลง และ MS (1962) สามารถทำให้เมล็ดงอกได้เร็วในอัตราที่ใกล้เคียงกัน เปอร์เซ็นต์การงอกสูงถึง 95 % และมีเปอร์เซ็นต์การรอดสูง 100 % ส่วนต้นกล้าในอาหาร MS (1962) มีเปอร์เซ็นต์การรอดเพียง 63.2 % อย่างไรก็ตาม

ต้นกล้าที่ได้จากอาหาร VW (1949) ดัดแปลง มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักมีความเหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิงมากกว่า

Figure 8 Number of root on the axillary shoot on H-MS medium with IBA for 5 weeks.

อาหารอื่นๆ ส่วนอาหาร MS (1962)อาจมีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักสูงเกินไปโดยเฉพาะ



ธาตุไนโตรเจน ซึ่งในสภาพธรรมชาติของพืชชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพดินที่ขาดธาตุไนโตรเจน (James and Patricia, 1996) ส่วนเมล็ดที่เพาะในอาหาร H-MS เมล็ดมีอัตราการงอกช้า แต่หลังจากเมล็ดงอกแล้ว ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตได้ดีในระดับที่ใกล้เคียงกันกับต้นกล้าในอาหาร VW (1949) ดัดแปลง อาจเนื่องมาจากอาหารสูตรนี้มีการปรับลดส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักลงเหลือเพียง ½ เท่าของ MS (1962) ทำให้เหมาะต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า

เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเมล็ดในอาหารสูตรต่างๆ ที่ไม่เติม และเติมน้ำมะพร้าว 15 % พบว่าเมล็ดที่เพาะในอาหารสูตรต่างๆ ที่ไม่เติมน้ำมะพร้าวทำให้เมล็ดมีการงอกได้เร็ว เปอร์เซ็นต์การงอกสูงและมีความสม่ำเสมอมากกว่าอาหารทุกสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 15 % อาจเป็นเพราะสูตรอาหารเหล่านั้นมีส่วนประกอบที่เหมาะสมเพียงพอต่อการงอกของเมล็ดอยู่แล้ว การเพิ่มน้ำมะพร้าวอาจส่งผลให้มีสารอาหารบางอย่างมีอยู่ในระดับที่สูงเกินไปจึงทำให้เมล็ดงอกช้าและมีการเจริญเติบโตไม่ดีนัก ยกเว้นเมล็ดที่เพาะในอาหาร White (1963) ที่ไม่เติมน้ำมะพร้าว เมล็ดมีการงอกช้ากว่าอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว อาจเนื่องมาจาก อาหาร White (1963) มีธาตุอาหารที่ไม่เหมาะต่อการงอกของเมล็ด ซึ่งมีธาตุแมกนีเซี่ยมสูงกว่าอาหารสูตรอื่นๆ และเมื่อใบพืชมีธาตุแมกนีเซียมมากกว่า 20-25 % เป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ พืชจะชะงักการเจริญเติบโต และแสดงอาการเหมือนการขาดแมกนีเซียม คือใบมีสีเหลืองซีด (Scott and Robson, 1990) ดังนั้นเมื่อมีการเติมน้ำมะพร้าวลงไปอาจช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น

2. ศึกษาการทำ Scarification ที่เหมาะสมในสภาพปลอดเชื้อ

การตัดหรือเจาะเมล็ดทำให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น แต่ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอก อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าการตัดหรือเจาะเมล็ดจะสามารถย่นระยะเวลาการงอกของเมล็ดได้เกือบถึง 100 % และการเจาะปลายเมล็ดต้นกล้ามีเปอร์เซ็นต์การรอดถึง 79.9 % ส่วนการตัดปลายเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การรอดเพียง 44.4 % โดยที่ต้นกล้าเริ่มตายไปภายหลังการงอกได้ประมาณ 1 สัปดาห์ ขณะที่ต้นกล้ายังไม่สามารถสร้างใบจริงขึ้นมาได้ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า ในการทดลองทำ scarification โดยวิธีการตัดปลายเมล็ดในครั้งนี้อาจมีการตัดส่วนของใบเลี้ยง และ endosperm ออกมากเกินไปจึงทำให้เมล็ดมีอาหารสะสมไม่เพียงพอต่อการพัฒนาของเอมบริโอได้

3. ผลของ BAP ต่อการแตกยอดของชิ้นส่วนพืช

ชิ้นส่วนโคนไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดกิ่งแขนงได้เลย และชิ้นส่วนจะตายในเวลาต่อมา ซึ่งอาจเกิดจากชิ้นส่วนพืชมีความบอบช้ำจากเทคนิคการตัดชิ้นส่วนซึ่งต้นกล้าที่นำมาใช้ทดลองส่วนของลำต้นค่อนข้างแข็ง แต่ใบอวบ และอ่อนมาก และอีกสาเหตุหนึ่งที่อาจเป็นไปได้ คือ ชิ้นส่วนโคนมีฮอร์โมนอ็อกซินต่ำกว่าส่วนยอด จึงทำให้อัตราส่วนของอ็อกซิน และไซโตไคนินอยู่ในระดับที่ไม่เหมาะสมในการกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตของตาข้างได้ประกอบกับชิ้นส่วนอยู่ในสภาพอ่อนแอ จึงทำให้ชิ้นส่วนตายไปในเวลารวดเร็ว เช่นเดียวกับ ประทุมพร (2538) ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นประยงค์ โดยใช้ชิ้นส่วนยอด และส่วนข้อจากตำแหน่งต่างกัน เลี้ยงในอาหาร WPM พบว่า ใน 2 สัปดาห์แรก ชิ้นส่วนยอดมีการเจริญเติบโตได้ดี แต่ชิ้นส่วนข้อไม่มีการเปลี่ยนแปลง และเมื่อถึงสัปดาห์ที่ 4 ชิ้นส่วนข้อทั้งหมดและชิ้นส่วนยอดบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายไป ในการทดลองนี้ การใช้ BAP ที่ความ

เข้มข้น 0.5 มก/ล ทำให้ชิ้นส่วนยอดเกิดกิ่งแขนงที่มีความสมบูรณ์มากที่สุด อย่างไรก็ตาม BAP ที่ ความเข้มข้น 5.0 ให้ตาข้างจำนวนมากถึง 15.2 ตา/ชิ้นส่วน แต่หลังจากย้ายเปลี่ยนอาหารมาเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP 0.5 มก/ล พบว่ามี ตาข้างดังกล่าวไม่ถึง 20 % ที่สามารถเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นยอดอ่อนปกติได้ ส่วนใหญ่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแห้งไป นอกจากนั้นการใช้ BAP ที่สูงขึ้นยังทำให้โคนต้นของชิ้นส่วนมีการขยายขนาดขึ้นลักษณะคล้ายก้อนแคลลัสสีดำ

4. ผลของ IBA ต่อการเกิดราก

การใช้ IBA ทุกระดับความเข้มข้นสามารถชักนำการเกิดรากได้ทุกชิ้นส่วน แต่ความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำรากมากที่สุดคือ 0.1 มก/ล โดยทำให้เกิดรากได้เร็วที่สุด และมากที่สุด และยังให้การเจริญเติบโตได้ดี ส่วน IBA ที่ระดับความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้ชิ้นส่วนพืชมีการเกิดรากได้ช้าลง รวมทั้งยังมีผลทำให้โคนต้นมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น โดยมีลักษณะคล้ายก้อนแคลลัส มีสีดำ โดยเฉพาะ IBA ความเข้มข้น 2.0 มก/ล ทำให้โคนต้นขยายขนาดใหญ่ที่สุด มีจำนวนราก ความยาวรากลดลง และรากที่ได้ไม่มีความสมบูรณ์ เช่นเดียวกับ ธีรพล (2545) ได้ศึกษาการชักนำยอดอ่อนของต้นสันโศกให้ออกรากโดยใช้ NAA ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 มก/ล พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การออกรากน้อยลง เนื้อเยื่อบริเวณฐานมีการเจริญเติบโตสร้างแคลลัสมากขึ้น รากมีขนาดใหญ่โดยที่ผิวรากมีลักษณะพองเพิ่มมากขึ้น และยังส่งผลให้ความยาวของรากลดลงตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ต้นสันโศก. รายงานวิจัย. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 34 น.

ประทุมพร กันทพนม. 2538. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการตอน การปักชำ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประยงค์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 142 น.

James, A. D. and W. Patricia. 1996. Carnivorous Plant of the World. Timber Press, Inc., Hong Kong. 206 p.

Scott, B. J. and A.D. Robson. 1990. Distribution of magnesium in subterranean clover in relation to suppey. Aust. J. Agric. Res. 41 : 499-510

Walker, R. 2000. “Tissue culture in the Home Kitchen’’.The Carnivorous plant tissue culture. [online]. Available http://www2.labs.agilent.com/botany/cp/slides/tc/tc.htm (28 October 2001).