

อิทธิพลของน้ำตาลซูโครสต่อการเก็บรักษาพันธุกรรมของเนตรม่วง

ด้วยเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในระดับห้องปฏิบัติการ

Effects of Sucrose on *Microchirita purpurea* D.J.Middleton & Tribon

Germplasm Preservation by *in vitro* Minimal Growth Technique

พรพรรณ สุขุมพินิจ* และ สราวุธ แสงสว่างโชติ

Pornpan Sukhumpinij* and Sarawut Sangsawangchote

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จันทบุรี 22000 ประเทศไทย

Faculty of Agricultural Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi 22000, Thailand

*E-mail: pornpan.s@rbru.ac.th

Received: May 23, 2024

Revised: Sep 04, 2024

Accepted: Sep 09, 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเก็บรักษาพันธุกรรมของเนตรม่วง (*Microchirita purpurea* D.J.Middleton & Tribon) ด้วยเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในระดับห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 2 ต้น โดยชุดการทดลองทั้ง 6 ชุด คือ ต้นเนตรม่วงที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige & Skoog (MS) ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการเจริญเป็นเวลา 12 สัปดาห์พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเนตรม่วงได้ โดยส่งผลให้มีความสูงเฉลี่ยของต้นน้อยที่สุด (2.05 เซนติเมตร) ซึ่งทำให้สามารถขยายเวลาในการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ออกไปได้มากกว่า 3 เดือน นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารสังเคราะห์สูตร MS มีผลต่อความสูงเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย แต่ไม่มีผลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของลำต้น การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารสังเคราะห์สูตร MS มีผลต่อการเก็บรักษาพันธุกรรมของเนตรม่วงด้วยเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตในระดับห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: เนตรม่วง การเก็บรักษาพันธุกรรม เทคนิคการชะลอการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส

Abstract

This research aimed to study the effect of sucrose on *Microchirita purpurea* D.J.Middleton & Tribon germplasm preservation by *in vitro* minimal growth technique. The experiment was conducted using a completely randomized design with 6 treatments, 4 replicates per treatment and 2 explants per replicate. The 6 treatments were *M. purpurea* shoot explants grown on Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with 6 different sucrose concentrations of including 0, 2, 4, 6, 8 and 10%. After growth for 12 weeks, it was found that the 10% sucrose supplementation could slow down the growth of *M. purpurea* resulting in the lowest average plant height (2.05 cm). This could prolong the subculture time for more than 3 months. Furthermore, it was also found that sucrose concentrations in MS medium affected average plant height and average leaf number but not average diameter of stem. This study demonstrated that sucrose concentrations in MS medium influenced *M. purpurea* germplasm preservation by *in vitro* minimal growth technique.

Keywords: *Microchirita purpurea* D.J.Middleton & Tribon, Germplasm preservation, Minimal growth technique, Sucrose

1. บทนำ

เนตรม่วงเป็นหนึ่งในพืชไทยชนิดใหม่ถูกค้นพบและตีพิมพ์ เมื่อ พ.ศ. 2557 มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Microchirita purpurea* D.J.Middleton & Tribon จัดเป็นพืชล้มลุกปีเดียว ลำต้นสูง 0.25 ถึง 1 เมตร ใบเรียงตรงข้าม แผ่นใบรูปไข่ ปลายเรียวแหลม โคนใบรูปหัวใจ กลีบดอกสีม่วงเข้ม โคนเชื่อมติดกันเป็นรูปประขัง ปลายแยกออกเป็น 5 แฉก ปลายมน ผักสีอ่อน สีเขียว โคนไม่บิด พบการกระจายพันธุ์เฉพาะประเทศไทย ในจังหวัดจันทบุรี เนตรม่วงจัดเป็นพืชเฉพาะถิ่น พบได้เฉพาะบริเวณหน้าผาหินปูนในเขตแก่งหางแมว เขาชะเมา เขาเวกต [1] (Figure 1) มีแหล่งอาศัยอยู่ในระบบนิเวศที่ค่อนข้างเปราะบาง จึงเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์อย่างมาก หากเกิดการทำลายหรือมีการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ สิ่งมีชีวิตบริเวณนั้น รวมถึงต้นเนตรม่วงก็จะได้รับผลกระทบไปด้วย และเนื่องจากเนตรม่วงเป็นพืชชนิดใหม่ การวิจัยหรือการศึกษาในด้านต่าง ๆ ยังมีน้อย ดังนั้นจึงควรเร่งดำเนินการศึกษาวิจัยการเพาะขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณต้นเนตรม่วง รวมถึงการศึกษาเกี่ยวกับการเก็บรักษาพันธุกรรมในสภาพปลอดเชื้อเพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์เนตรม่วงไว้สำหรับใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาสายพันธุ์ต่อไปในอนาคตได้

การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชส่วนใหญ่เป็นการเก็บรักษาในรูปของเมล็ดพันธุ์พืช ซึ่งต้องเก็บในอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ แต่เมล็ดพันธุ์พืชบางชนิดมีอายุสั้นจึงไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน เกิดการสูญหายของพันธุกรรมพืชและเสี่ยงต่อการกลายพันธุ์ได้ ดังนั้นจึงมีการนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ในด้านการศึกษาเชื้อพันธุ์พืช [2] โดยสามารถแบ่งการเก็บรักษาได้ตามระยะเวลาที่ทำการเก็บได้แก่ การเก็บรักษาระยะสั้นถึงปานกลาง (Minimal growth preservation) ซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น การเก็บรักษาโดยการชะลอการเจริญเติบโต การเก็บรักษาโดยใช้เทคนิคเมล็ดเทียม และการเก็บรักษาระยะยาวโดยการเก็บแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) หรือไอของไนโตรเจนเหลว วิธีการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อระยะสั้นถึงปานกลางหรือเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโต สามารถทำได้โดยการเดิมสารชะลอ หรือสารยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งช่วยให้พืชมี

อัตราการเจริญเติบโตอย่างช้า ๆ ไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารบ่อย [3] สามารถเก็บรักษาได้ 2 เดือน ถึง 2 ปี โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหาร ซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น วิธีการลดอุณหภูมิ การลดสภาพแสงในการเพาะเลี้ยง การดัดแปลงสภาพบรรยากาศ การปรับแต่งอาหารเพาะเลี้ยงโดยการเพิ่มตัวยับยั้งการออสโมซิส (Osmosis) เช่น ซูโครส (Sucrose) และแมนนิทอล (Mannitol) ในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งสามารถทำได้โดยการเติมน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูง เนื่องจากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้พืชเกิดความเครียดอันเนื่องมาจากการออสโมซิส ซึ่งมีผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ จึงสามารถยืดระยะเวลาในการเปลี่ยนถ่ายอาหารครั้งต่อไปได้นานขึ้น [4] ดังรายงานของ Moges et al. [5] ได้ศึกษาการเก็บรักษาแอฟริกันไวโอเลต (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) ด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโตพบว่า สามารถเก็บรักษายอดของแอฟริกันไวโอเลต ไวได้นาน 12 สัปดาห์ ในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมน้ำตาลซูโครส 0.18 โมลาร์ (Molar) น้ำตาลแมนนิทอล 0.16 โมลาร์ หรือน้ำตาลซอร์บิทอล (Sorbitol) 0.16 โมลาร์ นอกจากนี้ Jewruttanasakul and Charoenwattana [6] ได้ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชตระกูลทูสไทย (*Tacca chantrieri* Andre) ด้วยวิธีการชะลอการเจริญเติบโต พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร ½ Murashige & Skoog (MS) ที่เติมซูโครส 90 กรัมต่อลิตร สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และ Getjinda [7] ได้ศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเหลียงจันทบุรี (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.) ด้วยน้ำตาลซูโครส พบว่าน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้น 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถชะลอการเจริญเติบโตทางด้านความสูงได้มากขึ้นคือ 1.66, 1.23 และ 0.97 เซนติเมตร ตามลำดับ และการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ยังสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตทางด้านความกว้างหรือขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำลูกกล้วยได้มากที่สุดคือ 0.30 และ 0.32 เซนติเมตร ตามลำดับ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสในการชะลอการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเนตรม่วงให้มีการเจริญเติบโตช้าลง และเพื่อยืดระยะเวลาการเปลี่ยนถ่ายอาหาร ซึ่งทำให้สามารถลดค่าใช้จ่าย เช่น สารเคมี รวมไปถึงแรงงานในการปฏิบัติงานได้



Figure 1 *Microchirita purpurea* D.J.Middleton & Tribon

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) โดยใช้อาหารสูตร Murashige & Skoog (MS) [8] ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีทั้งหมด 6 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 2 ต้น

2.2. การเตรียมต้นเนตรมวงปลอดเชื้อ

ทำการเพาะเมล็ดเนตรมวงโดยการพอกฆ่าเชื้อเมล็ดด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite) ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่เติมผงวุ้น พบว่า เมล็ดเนตรมวงสามารถงอกได้ดี ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลาเฉลี่ย 10 วัน จากนั้นจึงย้ายต้นอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 1 องศา

เซลเซียส และให้แสงฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เพื่อชักนำให้เกิดต้น และเพิ่มปริมาณต้นเนตรมวงในสภาพปลอดเชื้อ ย้ายต้นเนตรมวงที่ได้จากการเพิ่มปริมาณลงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นระยะเวลา 1 เดือน

2.3. การชะลอการเจริญเติบโต

ทำการคัดเลือกต้นเนตรมวงที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร มาทำการศึกษาการชะลอการเจริญเติบโต ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาพันธุ์กรรมของต้นเนตรมวงในสภาพปลอดเชื้อ ด้วยการชะลอการเจริญเติบโต โดยไม่เปลี่ยนถ่ายอาหารเป็นระยะเวลา 3 เดือน

2.4. การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์สถิติ

เก็บบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นเนตรมวงทุก ๆ 2 สัปดาห์ โดยบันทึกข้อมูล ความสูง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้น และจำนวนใบ จากนั้นนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูล โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) กำหนดความเชื่อมั่นทางสถิติ $p \leq 0.05$

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ภายหลังการทดลองศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสต่อการชะลอการเจริญเติบโตของต้นเนตรมวงในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเติมน้ำตาลซูโครสแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า การเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันส่งผลให้ความสูงของต้นเนตรมวงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเลี้ยงต้นเนตรมวงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ต้นเนตรมวงมีความสูงเฉลี่ยของต้นน้อยที่สุด คือ 2.05 เซนติเมตร รองลงมาคือ การไม่เติมน้ำตาลซูโครส, การเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 6, 8, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความสูงเฉลี่ยของต้น เท่ากับ 2.35, 3.36, 3.51, 5.03 และ 5.26 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 1) ในขณะที่การเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันลงในการอาหารสังเคราะห์สูตร MS ส่งผลให้ต้นเนตรมวงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของลำต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ต้นเนตรมวงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.34 ถึง 0.43 เซนติเมตร (Table 2) ส่วนจำนวนใบของต้นเนตรมวงภายหลังการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า การเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันส่งผลให้จำนวนใบของต้นเนตรมวงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 10.00 ใบ รองลงมา คือ การเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 2, 4, 6, 10 เปอร์เซ็นต์ และไม่เติมน้ำตาลซูโครส ซึ่งมีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 7.40, 7.30, 6.40, 5.40 และ 2.80 ใบ ตามลำดับ (Table 3) จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS สามารถชะลอความสูงของต้นเนตรมวงได้ดีที่สุด ส่งผลให้ต้นเนตรมวงมีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 2.05 เซนติเมตร ซึ่งสามารถชะลอความสูงได้มากที่สุด และสามารถยืดระยะเวลาในการเปลี่ยนถ่ายอาหารออกไปได้นานถึง 3 เดือน

โดยทั่วไปในการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อควรมีการเปลี่ยนถ่ายอาหารเพาะเลี้ยงทุก ๆ 1 เดือน เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองและ Figure 2 พบว่า การเติมน้ำตาลซูโครส

ที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ไม่สามารถชะลอความสูงต้นได้ จึงทำให้ต้นเนตรมวงเจริญเติบโตได้ดี โดยปกติน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 2 ถึง 4 เปอร์เซ็นต์ ใช้สำหรับเป็นแหล่งพลังงานให้กับพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ [4] สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Sukhumpinij [9] ซึ่งใช้น้ำตาลซูโครสในการเก็บรักษากล้วยไม้เลี้ยงจันทบูร พบว่า น้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถยืดเวลาการย้ายเลี้ยง (Subculture) ออกไปได้มากกว่า 6 เดือน โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sukhumpinij et al. [10] ซึ่งศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสต่อการชะลอการเจริญเติบโตต้นกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือในสภาพปลอดเชื้อ ภายหลังการทดลอง พบว่าการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถควบคุมการเจริญเติบโตทางด้านความสูงได้มากที่สุด และยืดระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารไปได้ถึง 6 เดือน นอกจากนี้ Sidavong et al. [11] ได้ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตของเอื้องคำกั่ว พบว่า การเติมน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถชะลอความสูงของกล้วยไม้เอื้องคำกั่วได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายอาหารเพาะเลี้ยงได้นานถึง 38 สัปดาห์ ส่วน Ashmore [12] รายงานว่าการชะลอการเจริญเติบโตสามารถขยายช่วงเวลาการย้ายเลี้ยงออกไปได้ 1-4 ปีในพืชหลายชนิด ในการลดหรือชะลอการเจริญเติบโตของพืชด้วยการปรับแต่งอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อยืดระยะเวลาการเปลี่ยนถ่ายอาหารเพาะเลี้ยงออกไปให้นานยิ่งขึ้น สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเติมสารชะลอการเจริญเติบโต สารยับยั้งการเจริญเติบโต การลดปริมาณธาตุอาหาร [13] รวมถึงการเติมตัวยับยั้งการออสโมซิส เช่น การเติมน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูง เช่น น้ำตาลซูโครส หรือ แมนนิทอล ลงในอาหารเพาะเลี้ยง [14] โดยน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้พืชเกิดความเครียดเนื่องจากการออสโมซิส จึงมีผลไปยังการเจริญเติบโตของพืชได้ [4] ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สามารถใช้น้ำตาลซูโครส เพื่อการเก็บรักษาพันธุ์กรรมต้นเนตรมวงด้วยการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้ โดยไม่ต้องใช้น้ำตาลแมนนิทอลที่มีราคาสูงกว่า ทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อที่ต้องใช้สารเคมีและแรงงานในการเปลี่ยนถ่ายอาหาร Sarkar and Naik [15] รายงานว่าการใช้น้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้นสูงอาจเป็นอันตรายต่อพืชที่ทำการเก็บรักษา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

Table 1 Effect of sucrose concentrations in MS medium on plant height of *M. purpurea*

Sucrose (%)	Plant height (cm) at different times (weeks) of growth					
	2	4	6	8	10	12
0	0.96	1.41	1.80	2.14 ^b	2.30 ^b	2.35 ^{bc}
2	1.12	1.61	2.32	3.36 ^a	4.61 ^a	5.03 ^a
4	0.88	1.47	2.51	3.55 ^a	4.87 ^a	5.26 ^a
6	0.92	1.42	2.05	2.51 ^{ab}	3.03 ^b	3.36 ^b
8	0.77	1.08	1.80	2.14 ^b	3.07 ^b	3.51 ^b
10	0.85	1.01	1.30	1.60 ^b	1.95 ^b	2.05 ^c

Means with different superscripts within a column are significantly different ($p \leq 0.05$).

Table 2 Effect of sucrose concentrations in MS medium on stem diameter of *M. purpurea*

Sucrose (%)	Stem diameter (cm) at different times (weeks) of growth					
	2	4	6	8	10	12
0	0.15	0.18	0.23 ^{bc}	0.28	0.31	0.34
2	0.17	0.21	0.25 ^{abc}	0.30	0.35	0.36
4	0.17	0.23	0.26 ^{ab}	0.40	0.36	0.43
6	0.17	0.21	0.25 ^{abc}	0.31	0.32	0.37
8	0.17	0.23	0.30 ^a	0.37	0.39	0.41
10	0.15	0.16	0.20 ^c	0.26	0.29	0.34

Means with different superscripts within a column are significantly different ($p \leq 0.05$).

Table 3 Effect of sucrose concentrations in MS medium on leaf number of *M. purpurea*

Sucrose (%)	Leaf number (leaves) at different times (weeks) of growth					
	2	4	6	8	10	12
0	2.10 ^b	2.24 ^c	2.40 ^c	3.30 ^b	2.90 ^b	2.80 ^c
2	2.70 ^{ab}	3.80 ^{ab}	4.80 ^{ab}	6.10 ^{ab}	7.10 ^a	7.40 ^{ab}
4	3.00 ^a	4.70 ^a	6.10 ^a	7.70 ^a	6.80 ^a	7.30 ^{ab}
6	2.40 ^{ab}	3.30 ^{abc}	4.90 ^{ab}	5.60 ^{ab}	5.50 ^a	6.40 ^b
8	3.00 ^a	3.60 ^{abc}	5.00 ^{ab}	7.30 ^a	7.50 ^a	10.00 ^a
10	2.00 ^b	3.10 ^{bc}	3.70 ^{bc}	4.80 ^{ab}	5.60 ^a	5.40 ^{bc}

Means with different superscripts within a column are significantly different ($p \leq 0.05$).



Figure 2 Growth of *M. purpurea* on MS medium supplemented with different sucrose concentrations for 12 weeks

4. บทสรุป

จากการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสต่อการเก็บรักษาพันธุ์กรรมด้วยเทคนิคการชะลอการเจริญเติบโตของเนตรม่วงในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (12 สัปดาห์) พบว่าการเจริญเติบโตทางด้านความสูง และจำนวนใบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ต้นเนตรม่วงมีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 2.05 เซนติเมตร แสดงว่าที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสนี้สามารถควบคุมการเจริญเติบโตทางด้านความสูงได้มากที่สุด และสามารถยืดระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงไปได้ถึง 3 เดือน และการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 10.00 ใบ ในขณะที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของลำต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของลำต้นอยู่ในช่วง 0.34 ถึง 0.43 เซนติเมตร

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยที่ควรทำต่อ คือ ควรมีการศึกษาการชะลอการเจริญเติบโตเนตรม่วงด้วยเทคนิคอื่น ๆ เช่น การใช้สารยับยั้งการเจริญเติบโต เช่น กรดแอบไซซิก (Abscisic acid) หรือสารแพคโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol) เพื่อชะลอการเจริญเติบโตของต้นให้สามารถเก็บรักษาอยู่ในอาหารได้นานยิ่งขึ้น

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ปีงบประมาณ 2566 ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี สำหรับการอนุเคราะห์สถานที่ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

6. References

- [1] Middleton, D.J. and Triboun, P. 2013. New species of *Microchirita* (Gesneriaceae) from Thailand. *Thai Forest Bulletin (Botany)*. 41: 13-22.
- [2] Razdan, M.K. 2003. *An Introduction to Plant Tissue Culture*. 2nd edition. Enfield: Science Publishers, Inc.
- [3] Thammasiri, K. 1998. *Orchid Technology*. Bangkok: Amarin Printing and Publishing. (in Thai)
- [4] Kaveeta, R. 2002. *Plant Tissue Culture: Principles and Techniques*. Bangkok: Kasetsart University. (in Thai)
- [5] Moges, A.D., Karam, N.S. and Shibli, R.A. 2003. Slow growth *in vitro* preservation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). *Horticultural Science*. 17(4): 223-230.

- [6] Jewruttanasakul, V. and Charoenwattana, P. 2014. *In vitro* conservation of bat flower (*Tacca chantrieri* Andre) through minimal growth. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 42(3): 562-566. (in Thai)
- [7] Getjinda, K. 2019. *In vitro* Preservation of *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. M.Sc. Thesis, Rambhai Barni Rajabhat University. (in Thai)
- [8] Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. 15(3):473-497.
- [9] Sukhumpinij, P. 2019. Effect of sucrose on *in vitro* germplasm preservation in *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. **Acta Horticulturae**. 1262: 63-66.
- [10] Sukhumpinij, P., Siriphong, K. and Karnphungton, A. 2020. Effects of sucrose on *in vitro* slow growth of *Dendrobium hercoglossum* Rchb.f. **Rajabhat Rambhai Barni Research Journal**. 14(1): 52-56. (in Thai)
- [11] Sidavong, S and et al. 2022. Effect of NAA Combined with BA, or Sucrose on Growth of *Dendrobium signatum* Rchb.f. Protocorms *in vitro*. In: **Proceedings of the 16th Ubon Ratchathani University Research Conference: Research and Innovation for Sustainable Development Goals in the Next Normal**, 11-12 July 2022. Ubon Ratchathani, Thailand. (in Thai)
- [12] Ashmore, S.E. 1997. **Status Report on the Development and Application of *in vitro* Techniques for the Conservation and Use of Plant Genetic Resources**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute.
- [13] Engelmann, F. 1991. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm - A review. **Euphytica**. 57: 227-243.
- [14] Grout, W.V. 1991. Conservation *in vitro*. **Acta Horticulturae**. 289: 171-178.
- [15] Sarkar, D. and Naik, P.S. 1998. Factors affecting minimal growth conservation of potato microplants *in vitro*. **Euphytica**. 102: 275-280.