บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์กระเจียวแดงในสภาพปลอดเชื้อ สามารถแบ่งกลุ่มปัจจัยทดลองได้ 3 กลุ่มดังนี้

1. การศึกษาเกี่ยวกับขนาด อายุชิ้นส่วนพืช และสภาพทางกายภาพของอาหารเพื่อการขยายพันธุ์

1.1 ขนาดของชิ้นส่วนพืช

จากการศึกษาเกี่ยวกับขนาดของชิ้นส่วนพืชที่ได้จากต้นเดิม ที่เลี้ยงไว้ในสภาพปลอดเชื้ออยู่ก่อนแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS + kinetin 0.5 มก/ล พบว่าขนาดของพืชมีความสำคัญ โดยชิ้นส่วนขนาดใหญ่จะสามารถเกิดต้นได้มากกว่าชิ้นส่วนขนาดเล็ก คือ ชิ้นส่วนพืชขนาด 5 มม ที่ไม่มีการผ่าแบ่งจะเกิดต้นเฉลี่ยได้ 1.9 ต้น ซึ่งมากกว่าจำนวนต้นใหม่ที่ได้เมื่อแบ่งส่วนขนาดดังกล่าวให้เป็น 1/2 และ 1/4 ส่วน คือได้ต้น 1.3 และ 0.7 ต้น ตามลำดับ ในทำนองเดียวกับการตัดชิ้นส่วนให้มีขนาดใหญ่ขึ้น คือ 10 มม โดยไม่ผ่าแบ่ง เกิดต้นได้ 1.8 ต้น ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการใช้ต้นขนาดเดียวกัน แต่ผ่าแบ่งเป็น 1/2 ส่วน คือได้ต้น 2.0 ต้น ซึ่งมากกว่าจำนวนต้นที่ได้ใหม่ คือ 0.5 ต้น เมื่อแบ่งต้นให้มีขนาดเล็กลงไปอีกเป็น 1/4 ส่วน การที่ชิ้นส่วนพืชขนาดใหญ่เกิดต้นได้มากกว่าชิ้นส่วนขนาดเล็ก อาจจะเป็นเพราะชิ้นส่วนขนาดใหญ่มีจำนวนตาข้างมากกว่าชิ้นส่วนขนาดเล็ก ในกรณีที่เลี้ยงชิ้นส่วนพืชขนาดต่าง ๆ โดยไม่ผ่าแบ่งต้นเลย ชิ้นส่วนขนาด 5 และ 10 มม เกิดต้น 1.9 และ 1.8 ต้น ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าจำนวนต้นที่ได้เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 20 มม ซึ่งเกิดต้นเพียง 1.0 ต้น ในขณะที่เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่มีขนาดใหญ่ขึ้น คือ 40 มม เกิดต้นได้ 1.6 ต้น ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าชิ้นส่วนพืชขนาด 20 มม มีจำนวนของส่วนที่เป็นกาบใบ ซึ่งเหลืออยู่ภายหลังตัดชิ้นส่วนมาทดลองเลี้ยงเป็นจำนวนมากกว่าชิ้นส่วนพืชที่ตัดขนาดเล็กกว่านี้คือ 5 และ 10 มม ซึ่งกาบใบนี้อาจส่งผลไปยับยั้งการเจริญของตาข้างไว้ อิทธิพลของกาบใบนี้น่าจะให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อตัดชิ้นส่วนให้มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขนาด 40 มม หรือทำให้เกิดต้นจำนวนน้อยกว่าเมื่อตัดต้นให้มีขนาด 20 มม เพราะมีกาบใบที่ยาวกว่า แต่ที่ไม่เป็นเช่นนั้น อาจเป็นเพราะชิ้นส่วนที่มีขนาด 40 มม นั้นมีใบที่พัฒนาแล้วม้วนตัวอยู่โดยมีกาบใบหุ้มอยู่ด้านนอก อิทธิพลของสารที่ผลิตขึ้นจากใบนี้อาจส่งผลหักล้างอิทธิพลของสารที่ผลิตออกมาจากกาบใบในการควบคุมไม่ให้ตาข้างเจริญได้

นอกจากนี้ขนาดของชิ้นส่วนพืชยังมีผลถึงน้ำหนักแห้งของต้นที่ได้ ในแนวโน้มเดียวกับจำนวนต้นดังกล่าวไว้ข้างต้น คือ ชิ้นส่วนขนาดใหญ่ทำให้ได้น้ำหนักแห้งมากกว่าชิ้นส่วนขนาดเล็กเมื่อมีการผ่าแบ่งต้น เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 5 มม หรือ 5 มม แบ่งเป็น 1/2 และ 1/4 ส่วน ให้น้ำหนักแห้งของต้น 72.1 มก และลดลงเป็น 41.6 และ 10.7 มก ตามลำดับ ชิ้นส่วนขนาด 10 มม หรือ 10 มม แบ่งเป็น 1/2 และ 1/4 ส่วน ให้น้ำหนักแห้ง 71.3, 69.8 และ 11.7 มก ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักแห้งของต้นนี้ มีความสัมพันธ์เป็นปฏิภาคตรงกับจำนวนต้นที่เกิดขึ้น เช่นเดียวกับเมื่อไม่มีการตัดแบ่งต้น โดยชิ้นส่วนขนาด 5 มม ที่ไม่ผ่าแบ่ง ให้น้ำหนักแห้งไม่แตกต่างจากเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนพืชขนาด 10 และ 20 มม ที่ไม่ผ่าแบ่ง และใกล้เคียงกับน้ำหนักแห้งที่ได้เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 40 มม ที่ให้น้ำหนักแห้งสูงสุด คือ 93.7 มก น้ำหนักแห้งที่ได้เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 20 มม สัมพันธ์เป็นปฏิภาคกลับกับจำนวนต้นที่ได้ เป็นเพราะชิ้นส่วนที่เลี้ยงมีขนาดใหญ่อยู่แล้วทำให้น้ำหนักแห้งไม่แตกต่างจากการเลี้ยงชิ้นส่วนขนาดอื่น

ขนาดของชิ้นส่วนพืช มีผลต่อความสูงและจำนวนใบของต้นในแนวโน้มเดียวกันกับจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของต้น เมื่อพิจารณาในแง่ของการตัดต้นขนาดเดียวกัน แล้วผ่าแบ่งต้นและการตัดต้นให้มีขนาดต่างกันโดยไม่ผ่าแบ่งต้น ไม่ว่าจะเลี้ยงบนอาหารวุ้นหรือในอาหารเหลว เช่น เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 5 มม 5 มม แบ่งเป็น 1/2 และ 1/4 ส่วน ต้นมีความสูง 60.6, 59.4 และ 17.6 มม ตามลำดับ และมีจำนวนใบ 2.4, 2.0 และ 0.4 ใบ ตามลำดับ อาจเป็นเพราะอาหารสะสมในชิ้นส่วนพืชขนาดใหญ่ มีมากกว่าในชิ้นส่วนขนาดเล็กกว่า ทำให้ต้นมีความสูงและมีจำนวนใบมาก แต่เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนพืชขนาดใหญ่ที่สุดคือ 40 มม ต้นที่ได้กลับมีความสูงน้อยกว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 20 และ 10 มม บนอาหารวุ้น และต้นที่ได้มีความสูงน้อยกว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 20 มม ในอาหารเหลว เข้าใจว่าใบที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนที่ตัดให้มีขนาด 40 มม เป็นใบที่เจริญอยู่ก่อนแล้ว แต่ยังไม่โผล่พ้นก้านใบออกมา ใบที่เจริญแล้วนี้เป็นใบวงนอกของลำต้นเทียม ซึ่งมีความสามารถยืดตัวได้น้อยกว่าใบที่พัฒนาจากวงชั้นในเข้าไป ซึ่งจะเห็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ว่าใบจากชิ้นส่วนขนาด 10 และ 20 มม น่าจะเป็นใบที่พัฒนาจากวงในจึงยืดตัวได้สูงกว่า

เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดต้น พบว่า ชิ้นส่วนที่ไม่ผ่าแบ่ง จะเกิดต้นได้เร็วกว่าชิ้นส่วนขนาดเดียวกัน แต่ผ่าแบ่งเป็น 1/2 ส่วน และชิ้นส่วนที่แบ่ง 1/2 ส่วนนี้เกิดต้นได้เร็วกว่าชิ้นส่วนที่แบ่งให้เล็กลงอีกเป็น 1/4 ส่วน คือ ใช้เวลา 7.0 วัน, 11.2-14.0 วัน และ 16.3-18.6 วัน ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น และใช้เวลา 7.0, 14.0 และ 14.0-15.7 วัน ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว ซึ่งอธิบายได้ในแง่ของอาหารสะสมในชิ้นส่วนพืชขนาดใหญ่ มีมากกว่าในชิ้นส่วนขนาดเล็ก เช่นเดียวกับขนาดของพืชที่มีผลต่อความสูงและจำนวนใบ แต่เมื่อพิจารณาดูชิ้นส่วนที่ไม่มีการผ่าแบ่งเลย ขนาด 5, 10, 20 และ 40 มม ทั้งที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นและในอาหารเหลวใช้เวลาในการเกิดต้น 7 วันพร้อมกัน เป็นเพราะใบที่ยังไม่คลี่ที่อยู่ใกล้รอยตัดใผล่พ้นรอยตัดออกมาเหมือนกัน ขนาดของชิ้นส่วนที่เล็กเพียง 5 และ 10 มม แล้วแบ่ง 1/4 ส่วน นอกจากมีผลต่อวันที่เริ่มเกิดต้นโดยใช้เวลานานแล้วยังมีผลทำให้ชิ้นส่วนที่เกิดต้นลดลงเหลือเพียง 60-80% ไม่ว่าจะเลี้ยงในอาหารสภาพใดก็ตาม แต่ชิ้นส่วนขนาดเดียวกันนี้ และขนาดที่ใหญ่กว่า แต่ไม่ผ่าแบ่ง นอกจากจะใช้เวลาสั้นที่สุดสำหรับการแตกหน่อแล้ว ยังให้เปอร์เซนต์การเกิดต้นถึง 100% ซึ่งอธิบายได้ในแง่ของอาหารสะสมที่มีอยู่ในชิ้นส่วนขนาดเล็ก มีน้อยกว่าในชิ้นส่วนขนาดใหญ่ และยังอาจเป็นเพราะรอยแผลที่เกิดจากการตัดของชิ้นส่วนขนาดเล็กมีผลต่อการเจริญเป็นต้นของชิ้นส่วน ชิ้นส่วนที่มีขนาดเล็กจึงไม่สามารถเจริญเป็นต้นได้หมดทุกชิ้น

ขนาดชิ้นส่วนพืชที่นำมาขยายพันธุ์ นอกจากจะมีผลต่อการเริ่มเกิดต้นแล้ว ยังมีผลต่อการเริ่มเกิดรากด้วย คือชิ้นส่วนที่มีขนาดใหญ่ 10, 20 และ 40 มม จะเริ่มเกิดรากในเวลา 7.0-9.8 วันหลังจากเลี้ยง โดยเร็วกว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาดอื่นที่เล็กลง ซึ่งใช้เวลา 14.0-22.4 วัน เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น แนวโน้มดังกล่าวไม่ชัดเจนเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาดต่าง ๆ ในอาหารเหลว ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากความแปรปรวนของชิ้นส่วนพืชที่ทำการตัด สำหรับเปอร์เซนต์การเกิดรากนั้น การตัดชิ้นส่วนขนาดเล็ก 5 หรือ 10 มม ผ่าแบ่ง 1/4 ส่วน จะออกรากเพียง 40-80% ของเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารทั้งสองสภาพ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ใหญ่กว่านี้ให้เปอร์เซ็นต์การออกรากสูงถึง 100% ทั้งนี้รากที่ได้เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนขนาดเล็ก 5 และ 10 มม แบ่งเป็น 1/4 ส่วน มีจำนวนน้อย ทั้งยังมีขนาดสั้นส่งผลให้น้ำหนักแห้งของรากน้อยตามไปด้วย ในขณะที่ชิ้นส่วนขนาดใหญ่ขึ้น นอกเหนือจากที่กล่าวแล้ว ไม่ว่าจะเป็นการตัดต้นให้เป็น 1/2 ส่วน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือตัดให้มีขนาดต่างกัน แต่ไม่ตัดแบ่งเลย เกิดรากจำนวนมากขึ้น แม้ว่าจำนวนรากที่ได้จะไม่มีความสัมพันธ์ชัดเจนนัก กับขนาดของต้นที่ใช้ก็ตาม

จะเห็นได้ว่าวิธีการตัดแบ่งต้นให้มีขนาด 10 มม แล้วแบ่งครึ่งตามยาว น่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กระเจียวแดงให้ได้จำนวนต้นมากที่สุดโดยใช้ต้นเริ่มต้น เพื่อการขยายพันธุ์น้อยกว่าวิธีอื่นที่ให้จำนวนต้นใหม่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการตัดแบ่งต้นออกเป็น 2 ส่วน ตามยาว น่าจะมีผลกระตุ้นให้เกิดตาข้างหรือกระตุ้นการเจริญของตาข้างโดยลดผลของตายอดที่ข่มตาข้างลง (apical dominant) วิธีการตัดแบ่งต้นแบบนี้ได้เคยมีการใช้ในพืชหลายชนิด เช่น Hussey (1975) ได้ตัดแบ่งต้นไฮยาซิน (Hyacinth) เพื่อขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนมาก โดยเขานำต้นไฮยาซินเล็ก ๆ ที่ได้จากการเลี้ยงส่วนต่าง ๆ เช่น ชิ้นส่วนของ scale รังไข่ ชิ้นส่วนของใบ มาตัดใบเหนือส่วนที่เป็นหัวขนาดเล็กออก ตัดรากให้เหลือ 3 มม แล้วตัดส่วนของหัวเล็กนั้นตามยาวออกเป็น 2, 3 หรือ 4 ส่วน แล้วนำแต่ละส่วนไปเลี้ยงบนอาหารวุ้น พบว่าการแบ่งหัวเล็กออกเป็น 2 ส่วนนั้น แต่ละส่วนสามารถเจริญต่อไปได้ โดยจะเกิดใบที่บิดเบี้ยวก่อน 1-2 ใบจากนั้นจะได้ใบที่ปกติและเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ในระยะเวลา 8-12 สัปดาห์ ซึ่งเขาสันนิษฐานว่า ใบที่บิดเบี้ยวนี้เป็นผลมาจากการตัดแบ่งนั่นเอง และพบว่าการตัดแบ่งต่อไปอีก 4 ครั้ง ก็ยังได้ต้นที่ปกติ ส่วนหัวเล็กที่แบ่งมากกว่า 2 ส่วน ไม่สามารถอยู่รอดได้ การตัดแบ่งยอดนี้ ใช้ในพืชที่มีลำต้นเป็นลำต้นเทียมได้ดีดังที่มีรายงานไว้ เกี่ยวกับกล้วย คือ Cronauer และ Krikorian (1984) ขยายพันธุ์กล้วยพันธุ์ Philippine Lacatan และ Grande Naine พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนต้นให้มากขึ้นได้โดยการเลี้ยงปลายยอดบนอาหารสูตร (1962) ดัดแปลงเมื่อต้นมีความสูง 2 ซม แล้วผ่าตามยาวผ่านปลายยอด นำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งเหลวจะเกิดยอดใหม่ขึ้นอีกหลายยอด การตัดแบ่งครั้งต่อไปต้องเว้นระยะไป 8 สัปดาห์เป็นอย่างน้อย สำหรับกล้วย (plantain) พันธุ์ Pelipita นั้น ส่วนของยอดที่แบ่งครึ่งสามารถให้ต้นได้ 18-27 ยอด ในเวลา 4 สัปดาห์เท่านั้น การขยายพันธุ์ต้นกล้วย โดยวิธีนี้สามารถคงอัตราการเจริญเติบโตได้นานถึง 4 ปี

1.2 อายุของชิ้นส่วนพืช

เมื่อเปรียบเทียบอายุของชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงในอาหารเดิมก่อนย้ายคือ 2, 4 6 และ 8 สัปดาห์ ปรากฏว่าชิ้นส่วนจากต้นที่มีอายุ 2 สัปดาห์ ให้จำนวนต้นน้อยที่สุดคือ 0.8 ต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นั้น ในขณะที่ชิ้นส่วนจากต้นที่มีอายุ 4, 6, 8 สัปดาห์ ให้จำนวนต้น 1.5, 1.5 และ 1.7 ต้น ตามลำดับ อาจจะเป็นเพราะต้นกระเจียวแดงที่มีอายุ 2 สัปดาห์นี้อยู่ในระยะที่มีการพัฒนาจุดกำเนิดตาข้าง แต่อาหารสะสมในต้นยังมีไม่เพียงพอ หรือระดับฮอร์โมนไม่เหมาะสม แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่า น้ำหนักแห้งของต้นที่เกิดจากชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์นี้ไม่ต่างกับต้นที่ได้จากชิ้นส่วน 4, 6 หรือ 8 สัปดาห์ นั้นน่าจะเป็นเพราะได้มีการเลี้ยงชิ้นส่วนไว้นานถึง 8 สัปดาห์ จึงทำให้การเจริญของชิ้นส่วนที่มาจากต้นอายุ 2, 4, 6 หรือ 8 สัปดาห์ เจริญขึ้นมาทันกัน ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเซลล์ที่อยู่ในระยะแบ่งตัวได้ดีที่สุดอยู่ในบริเวณใกล้รอยต่อของรากมากกว่าที่จะอยู่ตามกาบในที่สูงขึ้นไป

เมื่อพิจารณาอายุชิ้นส่วนพืชที่มีต่อความสูงของต้นและจำนวนใบ พบว่าความสูงของต้นมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามอายุของชิ้นส่วนที่เพิ่มขึ้น ไม่ว่าจะเลี้ยงในอาหารสภาพใดก็ตาม ชิ้นส่วนที่มีอายุ 2 สัปดาห์ให้จำนวนใบที่น้อยกว่าชิ้นส่วนอายุ 4-8 สัปดาห์ นั่นคือ ชิ้นส่วนอายุมากขึ้นมีอาหารสะสมอยู่มากขึ้น มีผลทำให้การเจริญของต้นในแง่ความสูงและจำนวนใบดีขึ้นตามลำดับ

อายุของชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงให้ผลชัดเจนในเรื่องเปอร์เซนต์การเกิดต้น คือ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงไว้ก่อนย้าย 4-8 สัปดาห์ จะเกิดต้น 100% ยกเว้นเมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 4 สัปดาห์และย้ายจากอาหารวุ้นไปไว้ในอาหารเหลว ซึ่งเกิดต้น 80% แต่ชิ้นส่วนที่มีอายุเพียง 2 สัปดาห์ในทุกสภาพที่ทดลองมีเปอร์เซนต์การเกิดต้นต่ำเพียง 20-60% แต่วันที่เริ่มเกิดต้นใช้เวลาน้อยที่สุดเพียง 7 วัน ในทุกสภาพที่ใช้เลี้ยง ในทำนองเดียวกัน เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนอายุเพียง 2 สัปดาห์ มีเปอร์เซนต์เกิดรากเพียง 20-80% ในขณะที่ชิ้นส่วนอายุ 4-8 สัปดาห์ให้เปอร์เซนต์ออกราก 80-100% ชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ให้มีแนวโน้มให้จำนวนรากน้อยกว่าชิ้นส่วนที่มีอายุมากขึ้น แต่ไม่ชัดเจนนักแต่ในแง่ของความยาวรากเป็นแนวโน้มที่ชัดเจนโดยเมื่อชิ้นส่วนอายุมากขึ้นความยาวรากก็จะมากขึ้นตามลำดับเช่นเดียวกับน้ำหนักแห้งของราก การที่มีเปอร์เซนต์การเกิดต้น เกิดรากของชิ้นส่วนที่มีอายุมากสูงกว่าชิ้นส่วนที่มีอายุน้อย คงเนื่องมาจากเหตุผลเช่นเดียวกันกับที่อายุของชิ้นส่วนที่มีผลต่อการเกิดต้น

จะเห็นได้ว่าชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมในการนำมาขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นควรมีอายุระหว่าง 4-8 สัปดาห์ ซึ่งจะได้ต้นจำนวนมากกว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ และได้ต้นที่สมบูรณ์ทั้งในแง่ของจำนวนใบ ความสูง และน้ำหนักแห้งของต้น ตลอดจนได้ต้นที่มีราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จำนวนมาก

อายุของชิ้นส่วนพืชมีผลต่อการสร้างอวัยวะ (organ formation) ดังมีรายงานในพืชหลายชนิด เช่น Takayama และ Misawa (1980) รายงานว่าอายุของกลีบหัว (bulb scale) ของ Lilium เป็นปัจจัยสำคัญต่อการสร้างอวัยวะ โดยพบว่ากลีบหัวของหัวที่มีอายุน้อยหรือกลีบหัวส่วนในของหัวที่มีอายุมากจะมีการสร้างหัวย่อยและเกิดรากได้ดี เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม ในขณะที่การเลี้ยงกลีบหัวที่มีอายุมากจะไม่มีการสร้างหัวแต่เกิดแคลลัสขึ้นแทน ทั้งนี้เป็นผลมาจากกลีบหัวดังกล่าวมีส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างกัน คือกลีบหัวด้านในมีระดับของไนโตรเจนสูง แต่ระดับของน้ำตาลต่ำกว่าในกลีบด้านนอก และระดับของฮอร์โมนก็เป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างอวัยวะต่าง ๆ ของ Lilium แต่อย่างไรก็ตามกลไกต่าง ๆ เกี่ยวกับการสร้างอวัยวะมีความซับซ้อนมาก นอกจากนี้จากรายงานของ Simmonds และ Werry (1987) สามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญของตา Begonia x hiemalis ที่ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ดัดแปลงโดยย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว สูตรเดียวกัน โดยใช้ความเร็วของเครื่องเขย่า 100 รอบ/นาที เขาพบว่าช่วงเวลาที่เลี้ยงส่วนของพืชบนอาหารวุ้นและในอาหารเหลวมีความสำคัญต่อการเกิดตา (adventitious bud) และการเจริญของตาในลำดับต่อมา การเลี้ยงต้นพืชบนอาหารวุ้นเป็นเวลา 6 สัปดาห์ก่อนย้ายไปเลี้ยงในอาหารเหลวให้ผลดีกว่าการเลี้ยงบนอาหารวุ้นนาน 3 สัปดาห์ ทั้งนี้อาจขึ้นกับระยะการพัฒนาของตาก็ได้ โดยเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นนาน 3 สัปดาห์ ได้ตาที่มีขนาดเล็กมากจึงไม่สามารถเจริญในอาหารเหลวได้ดีเท่ากับตาที่มีขนาดใหญ่กว่า ซึ่งได้จากการเลี้ยงบนอาหารวุ้นนาน 6 สัปดาห์

1.3 สภาพทางกายภาพของอาหาร

จากการทดลองที่ 1 จะเห็นว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในสภาพอาหารเหลวมีผลให้มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของต้นมากกว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารวุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุคงเนื่องมาจากในขณะเขย่า ชิ้นส่วนพืชไม่มี polarity end ดังนั้นในสภาพที่เหมาะสำหรับการเกิดตาจึงมีต้นเกิดขึ้นมาก และสภาพของอาหารยังมีความสัมพันธ์กับขนาดของชิ้นส่วนที่ใช้เลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสรุปได้ว่า การเลี้ยงชิ้นส่วนขนาด 10 มม แล้วแบ่งครึ่งตามยาวควรเลี้ยงในอาหารเหลว ซึ่งจะให้จำนวนต้นมากถึง 2.8 ต้น มีความสูง 72.8 มม มีใบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 ใบ และมีน้ำหนักแห้งของต้น 114.5 มก ในระยะเวลา 6 สัปดาห์ หลังจากเริ่มเลี้ยง

ส่วนการทดลองที่ 2 เมื่อพิจารณาสภาพอาหารก่อนเลี้ยง และอาหารที่ใช้เพื่อย้ายชิ้นส่วน พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารเหลวไม่ว่าจะย้ายมาจากอาหารวุ้นหรืออาหารเหลว ให้จำนวนต้น 1.8 ต้นเท่ากัน ซึ่งไม่ต่างจากจำนวนต้นที่ได้ คือ 1.1 ต้น เมื่อย้ายชิ้นส่วนจากอาหารวุ้นมาบนอาหารวุ้น แต่มากกว่าจำนวนต้นที่ได้คือ 0.8 ต้น เมื่อย้ายชิ้นส่วนจากอาหารเหลวมาบนอาหารวุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารเหลวไม่ว่าจะย้ายมาจากอาหารวุ้นหรืออาหารเหลวให้น้ำหนักแห้งของต้น 177.1 และ 161.8 มก ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าเมื่อย้ายชิ้นส่วนจากอาหารทั้งสองสภาพ มาบนอาหารวุ้น ซึ่งได้น้ำหนักแห้งของต้น 20.1 และ 26.0 มก ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในสภาพอาหารเหลวยังได้ต้นที่มีความสูงและจำนวนใบมากกว่าเมื่อเลี้ยงในสภาพอาหารวุ้นอีกด้วย ไม่ว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงจะมีอายุเท่าใดก็ตาม แต่การย้ายชิ้นส่วนมาเลี้ยงในอาหารเหลวจะเกิดต้นช้ากว่าการย้ายมาเลี้ยงบนอาหารวุ้น เมื่อชิ้นส่วนที่เลี้ยงมีอายุ 4-8 สัปดาห์ เป็นไปได้ว่า ชิ้นส่วนจมอยู่ในอาหารเหลวตลอดเวลาในระยะแรกของการเลี้ยง ทำให้ชิ้นส่วนสัมผัสกับอากาศน้อย ส่งผลให้เกิดต้นช้ากว่าการเลี้ยงในอาหารวุ้น สำหรับเปอร์เซนต์การเกิดต้นนั้น พบว่าเมื่อย้ายชิ้นส่วนมาเลี้ยงในอาหารเหลว ชิ้นส่วนสามารถเกิดต้นในอาหารเหลวได้มากกว่าเมื่อย้ายมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นเมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 2 สัปดาห์ แต่เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนที่มีอายุมากขึ้นคือ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนสามารถเกิดต้นได้ถึง 100% ไม่ว่าจะเลี้ยงในอาหารสภาพใด ยกเว้นเมื่อย้ายชิ้นส่วนอายุ 4 สัปดาห์ จากอาหารวุ้นไปยังอาหารเหลวที่เกิดต้นได้ 80% สำหรับผลของสภาพอาหารที่มีต่อวันที่เริ่มเกิดรากนั้น ไม่มีความชัดเจนนัก แต่เปอร์เซนต์ชิ้นส่วนที่เกิดรากมีเพียง 20-40% เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนอายุ 2 สัปดาห์ในอาหารวุ้นและเปอร์เซนต์เพิ่มมากขึ้นเป็น 60-80% เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนอายุเท่ากันในอาหารเหลว และเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนอายุมากขึ้นเป็น 4-8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนเกิดรากได้ 80-100%

เมื่อพิจารณาจำนวนราก พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารเหลว จะให้ต้นที่มีจำนวนรากมากกว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น ไม่ว่าชิ้นส่วนจะมีอายุเท่าใดก็ตามแต่เมื่อพิจารณาความยาวของราก พบว่าต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลวเกิดรากที่สั้นกว่าต้นที่เลี้ยงบนอาหารวุ้น เมื่อชิ้นส่วนที่เลี้ยงมีอายุ 4-8 สัปดาห์ ทั้งนี้เห็นได้ว่า จำนวนรากและความยาวรากมีความสัมพันธ์กัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นปฏิภาคกลับ ยกเว้นเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนพืชอายุ 2 สัปดาห์ในอาหารเหลว ซึ่งความยาวรากที่ได้กลับมากกว่าความยาวรากเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารวุ้น ในกรณีนี้เป็นไปได้ว่าอายุชิ้นส่วนเข้ามาเป็นปัจจัยร่วมด้วย ทำให้ชิ้นส่วนพืชอายุ 2 สัปดาห์มีความสามารถในการเพิ่มความยาวรากน้อยเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น และเมื่อพิจารณาถึงน้ำหนักแห้งของราก พบว่าน้ำหนักแห้งของรากมีความสัมพันธ์เป็นปฏิภาคตรงกับจำนวนรากที่เกิดขึ้น ดังนั้นน้ำหนักแห้งของรากที่เลี้ยงในอาหารเหลวจึงมากกว่าน้ำหนักแห้งของรากที่ได้จากอาหารวุ้น

จะเห็นได้ว่า การเลี้ยงชิ้นส่วนกระเจียวแดงในอาหารเหลว ไม่ว่าจะย้ายมาจากอาหารวุ้นหรืออาหารเหลวก็ตาม เป็นวิธีที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กระเจียวแดงให้ได้จำนวนมาก ต้นที่ได้มีความสูง จำนวนใบ และน้ำหนักแห้งของต้นมาก และต้นมีรากที่สมบูรณ์ ทั้งนี้ปัจจัยหลายประการ ที่ส่งเสริมการเกิดหรือกระตุ้นการเจริญของตาและการเจริญทั่วไปในอาหารเหลว อาทิ การที่ผิวของพืชได้สัมผัสโดยตรงกับอาหารที่ทำให้อนุภาคต่าง ๆ ซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อมากขึ้น ทั้งความมีอิสระของตาข้างจากการข่มของตายอด ส่งผลให้มีการเจริญของตาข้างได้ดี (Ziv, 1983) นอกจากนี้การเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารเหลวโดยใช้เครื่องเขย่ายังทำให้มีการถ่ายเทอากาศได้ดี (Bhagyalakshmi และ Singh, 1988; Ziv, 1983) ทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซดีขึ้น เพราะตามปกติเซลล์พืชมีการผลิตกาซคาร์บอนไดออกไซด์และกาซเอธิลีน ซึ่งอาจเกิดขึ้นถึงระดับที่สามารถลดการเจริญเติบโตได้ และอาจมีการสะสมพวก volatile metabolite ต่าง ๆ เช่น ethanol และ acetaldehyde ขึ้นได้ถ้ามีการถ่ายเทอากาศไม่ดี (Simmonds และ Werry, 1987) และยังเป็นไปได้ว่าสารที่ใช้ในการเจริญของพืชมีประสิทธิภาพดีในอาหารเหลวมากกว่าในอาหารวุ้น ทั้งนี้เพราะธาตุอาหารที่แตกตัวเป็นอิสระมีมากขึ้น ส่งผลให้ต้นพืชได้ธาตุอาหารเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวมากขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้น (Bhagyalakshmi และ Singh, 1988) อีกประการหนึ่งคือ ในวุ้นอาจมีสารอื่นปะปนอยู่ด้วย ซึ่งสารเหล่านี้อาจเป็นตัวยับยั้งการเจริญของพืชได้ เช่น พบว่ามี Na^+ เป็นปริมาณสูงในวุ้นบางชนิด (Debergh, 1983)

โดยเหตุที่เมื่อได้ทำภาพตัดขวางของใบจากต้นที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่ามีความหนามากกว่า เซลล์มีขนาดใหญ่กว่า เซลล์พาเรนไคมาพองตัวมากกว่าใบที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารวุ้น ยิ่งไปกว่านั้น พาลิเสดและสปอนจิพาเรนไคมาของใบที่ได้จากต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

บนอาหารวุ้น จะมีขนาดเล็กอยู่ชิดติดกันจนจำแนกไม่ได้ ต่างกับที่มีอยู่ในใบที่ได้จากต้นในอาหารเหลว และอาจเป็นไปได้ว่าปัจจัยอีกประการหนึ่งที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้น คือ ปริมาณเกลือที่ละลายอยู่ในอาหาร และอาจติดมากับชิ้นส่วนที่นำมาอบแห้งนั้น จึงสันนิษฐานว่า สาเหตุที่น้ำหนักแห้งของต้นที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลวสูงกว่าต้นที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารวุ้นนั้น เกิดจากใบที่หนาและใหญ่นี้ส่วนหนึ่ง

เทคนิคการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารเหลวนี้ ประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น กะหล่ำปลี (Walkey และ Woolfitt, 1970) Lilium (Takayama และ Misawa, 1983b) Ruscus hypophyllum (Ziv, 1983) และบีโกเนีย (Simmonds และ Werry, 1987)

2. การศึกษาเกี่ยวกับส่วนประกอบของอาหาร

การศึกษาผลของสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ที่มีต่อการแตกหน่อและการเจริญของต้นกระเจียวแดง เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ดัดแปลง พบว่าไม่มีความจำเป็นต้องใช้ NAA ในการขยายพันธุ์กระเจียวแดงร่วมกับการใช้ kinetin เมื่อใช้วิธีการแบ่งครึ่งต้นตามความยาว พบว่าความเข้มข้นของ kinetin ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการขยายพันธุ์กระเจียวแดงอยู่ในช่วงตั้งแต่ 0-1.0 มก/ล ทำให้เกิดต้นจำนวน 2.5-3.1 ต้น ที่มีลักษณะดี ใบและรากมีความสมบูรณ์ มีความสูงตั้งแต่ 22.9-35.9 มม มีใบจำนวน 0.8-1.0 ใบ มีรากจำนวน 1.3-5.7 และรากยาว 8.5-10.2 มม โดยชิ้นส่วนพืชใช้ระยะเวลาในการเกิดต้นและราก 8.5-11.1 วัน และ 15.1-19.8 วัน ตามลำดับ มีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนที่เกิดต้น 80-100% และมีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนที่เกิดราก 60-90% สำหรับความเข้มข้นของ BAP ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการขยายพันธุ์กระเจียวแดง อยู่ในระดับตั้งแต่ 0.05-1.0 มก/ล ซึ่งมีผลทำให้เกิดต้นจำนวน 2.8-3.7 ต้น มีความสูง 28.1-38.8 มม มีใบ 1.1-1.7 ใบ ได้น้ำหนักแห้งของต้น 67.2-103.2 มก เกิดรากจำนวน 0.7-5.0 และรากยาว 4.0-18.8 มม ได้น้ำหนักแห้งของราก 0.8-5.4 มก โดยชิ้นส่วนใช้ระยะเวลาในการเกิดต้นและราก 8.5-12.6 วัน และ 16.6-27.3 วัน ตามลำดับ มีเปอร์เซนต์ชิ้นส่วนที่เกิดต้น 100% เท่ากัน แต่เปอร์เซนต์ชิ้นส่วนที่เกิดรากมีตั้งแต่ 40-100% ลักษณะต้นและใบของกระเจียวแดงที่ได้เมื่อใช้ kinetin

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือ BAP มีความแตกต่างกันคือ เมื่อใส่ BAP ในอาหาร สังเกตได้ว่าต้นมีความอวบหนามากกว่าต้นที่ได้เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่ไม่ใส่ BAP เลยหรือในอาหารที่ใส่ kinetin และสังเกตได้ว่าใบของต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ใส่ BAP มีสีเขียวอ่อนกว่าใบของต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่ใส่ BAP ในอาหารเลยหรือใช้ kinetin แทน นอกจากนี้พบว่า ไม่มีความจำเป็นที่ต้องใช้ GA_3 ร่วมกับการใช้ kinetin ความเข้มข้น 0.25 มก/ล ในอาหารเหลว เพราะไม่มีผลทำให้จำนวนต้นเปลี่ยนแปลงทั้งยังทำให้คุณภาพของต้นด้อยลงไป ต้นมีลักษณะผอมบาง ก้านใบและใบม้วนงอบิดเบี้ยวใบมีสีซีดจาง และยังทำให้รากมีสีน้ำตาลสั้นกุดอีกด้วย

โดยทั่วไปแล้ว สารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากภายนอกที่ใส่เข้าไปในอาหารส่งผลให้เกิดการเจริญเติบโตและการสร้างส่วนต่าง ๆ (morphogenesis) ของเซลล์ อวัยวะและเนื้อเยื่อ (Reynolds, 1987) เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่า อัตราส่วนของอ๊อกซินและไซโตคินินมีผลทำให้เกิดยอดหรือราก โดยถ้ามีอ๊อกซินในความเข้มข้นสูง จะทำให้เกิดรากและยับยั้งการเกิดยอด ในทางตรงกันข้าม ถ้ามีไซโตคินินในความเข้มข้นสูง จะทำให้เกิดยอดและยับยั้งการเกิดราก ส่วนสารกลุ่มจิบเบอริลิน จะกระตุ้นการเจริญเติบโตโดยทั่ว ๆ ไปของอวัยวะ (Murashige, 1974) ปัจจัยที่สำคัญในการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตขึ้นกับชนิดของสารกระตุ้นการเจริญ เติบโตนั้น ความเข้มข้น และอัตราส่วนของสารชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ (Sutter, 1988) นอกจากนี้ยังขึ้นกับสภาพแวดล้อมด้วย (ไพบูลย์, 2524) จะเห็นได้ว่าการขยายพันธุ์กระเจี๊ยวแดงสามารถใช้ได้ทั้ง kinetin หรือ BAP ในระดับความเข้มข้นดังกล่าวแล้ว การที่ใบของต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ BAP มีสีเขียวอ่อนกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับใบของต้นที่เลี้ยงอาหารที่ไม่มี BAP เลย หรือใช้ kinetin เป็นเพราะชนิดของสารกระตุ้นการเจริญเติบโตแตกต่างกัน โดย BAP อาจทำให้มีการสูญเสียคลอโรฟิลในใบได้ ดังที่ Hussey (1977) ได้รายงานผลของ BAP ที่มีต่อการเลี้ยงต้นแกลดิโอลัส (gladiolus) ในสภาพปลอดเชื้อว่า BAP กระตุ้นการเจริญของตาและส่งเสริมการพัฒนาของตาข้าง และยังกระตุ้นการเจริญของใบ ที่ความเข้มข้นสูงทำให้ใบกว้างขึ้นแต่ใบอาจบิดเบี้ยวและมีการสูญเสียคลอโรฟิล Cronauer และ Krikorian (1984) พบว่าการเกิดยอดใหม่ของกล้วย มีจำนวนแตกต่างกันตามพันธุ์และสารกระตุ้นการเจริญเติบโตที่ใช้ในอาหาร คือไซโตคินิน พบว่า เมื่อเลี้ยงแต่ละครั้งส่วนของยอดในอาหารที่ไม่มีฮอร์โมนใด ๆ จะเกิดต้นที่มีรากเพียง 2 ต้นเท่านั้น แต่การใช้ BAP 5 มก/ล ในอาหารจะทำให้จำนวนต้นเพิ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มากขึ้นโดยไม่มีรากเป็น 9.1 ต้น โดยเฉลี่ย kinetin ก็สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้เช่นกัน แต่ไม่มีผลยับยั้งการเกิดราก การใช้ทั้ง BAP พร้อมกับ kinetin ในอาหารนั้น พบว่าอัตราส่วนของ BAP และ kinetin ไม่มีความสำคัญเท่ากับการรักษาระดับความเข้มข้นของ ไซโตคินิน ที่ใช้ให้อยู่ในระดับ 5 มก/ล การใช้ไซโตคินินมากกว่า 5 มก/ล ไม่มีผลทำให้จำนวนยอดเพิ่มมากขึ้นแต่อย่างใด และพบว่าเมื่อได้จำนวนต้นมากโดยไม่มีรากนั้น ความสูงของต้นจะไม่เกิน 19 มม จากการทดลองในกระเจียวแดงครั้งนี้ พบว่าการใช้ kinetin หรือ BAP ในระดับความเข้มข้นสูงเกินกว่า 1 มก/ล ในอาหารเหลวมีผลทำให้การเจริญของกระเจียวแดงน้อยลงเป็นลำดับ ตามระดับของ kinetin หรือ BAP ที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะต้นพืชได้รับสารเกินระดับที่เหมาะสม และเป็นไปได้ว่าชิ้นส่วนพืชมีการสร้างก๊าซเอธิลีนขึ้นมามากเกินระดับที่พืชสามารถทนได้ ทั้งนี้มีรายงานว่า อัตราส่วนของสารกลุ่มออกซินและไซโตคินินบางระดับเป็นสาเหตุที่ทำให้เนื้อเยื่อพืชมีการผลิตก๊าซเอธิลีนมากขึ้นดังที่มีรายงานในการเลี้ยงเซลล์ของกุหลาบ โดยก๊าซเอทธิลีนนั้นมีผลไปลดการเจริญเติบโตและมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Wulster และ Sacalis, 1980) ส่วนการใช้ GA_3 ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารพร้อมกับ kinetin 0.25 มก/ล นั้นไม่เหมาะสมสำหรับการใช้ในการขยายพันธุ์กระเจียวแดง เพราะไม่มีผลต่อจำนวนต้น และยังทำให้ต้นผอมบาง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะกระเจียวแดงไม่ต้องการสารกลุ่ม GA_3 จากภายนอกมาใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต เพราะมีฮอร์โมนกลุ่มนี้ภายในตัวชิ้นส่วนพืชเองในระดับที่เพียงพอแล้วเมื่อใส่ GA_3 ในอาหารพร้อมกับ kinetin อาจมีผลทำให้อัตราส่วนของฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ ในพืชไม่เหมาะสม และเป็นไปได้ว่าการใช้ GA_3 พร้อมกับ kinetin ในอาหารในระยะเริ่มแรกของการเจริญนั้นไม่เหมาะสม เพราะสารกลุ่มจิบเบอริลินมีผลระงับขบวนการสร้างอวัยวะต่าง ๆและน่าจะใช้สารกลุ่มนี้หลังจากที่พืชมีการสร้างอวัยวะต่าง ๆ ขึ้นเรียบร้อยแล้วเพื่อกระตุ้นการเจริญของอวัยวะต่าง ๆ เหล่านั้น (Murashige, 1974)

เมื่อใช้ KNO_3 และ NH_4NO_3 พร้อมกันหรือตัวใดตัวหนึ่งในอาหารเหลว ในระดับที่สูงกว่าระดับปกติ ทำให้ได้ต้นที่มีความสูง จำนวนใบ จำนวนและความยาวราก และน้ำหนักแห้งของราก ลดลงไปเล็กน้อย แต่ไม่มีผลทำให้จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของต้นแตกต่างกันอย่างมีนัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำคัญทางสถิติ อาจกล่าวได้ว่า ระดับของไนโตรเจนที่ใช้สำหรับการขยายพันธุ์กระเจียวแดงโดยทั่วไปนั้น อยู่ในระดับปกติที่ใช้ในอาหารสูตรมาตรฐาน หรืออาจลด KNO_3 หรือ NH_4NO_3 ตัวใดตัวหนึ่งหรือทั้งสองตัวลงไปครึ่งส่วนก็ได้ และไม่มีความจำเป็นต้องใช้ไนโตรเจนในระดับที่สูงกว่าปกติ ทั้งนี้ไนโตรเจนจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขบวนการที่ต้องใช้ไนโตรเจนในเมตาบอลิสม เช่น ขบวนการสังเคราะห์โปรตีน และขบวนการแบ่งเซลล์ (Veliky และ Rose, 1973) มีรายงานว่า NH_4^+ เป็นแหล่งไนโตรเจนโดยตรงมากกว่า NO_3^- เพื่อที่จะใช้ในการผลิตโปรตีน แต่เซลล์ของพืชมักจะเจริญไม่ดีนัก ถ้าใช้เฉพาะ NH_4^+ ในอาหาร ในเซลล์พืชบางชนิดเช่น Agrostemma githago นั้น NH_4NO_3 ให้การเจริญที่ดี แต่ก็ยังน้อยกว่าการใช้เฉพาะ KNO_3 หรือการใช้ KNO_3 พร้อมกับ NH_4NO_3 แต่พบว่าการใช้เฉพาะ KNO_3 นั้นแม้ว่าเซลล์สามารถเจริญได้ดีเหมือนการเลี้ยงเซลล์ในอาหารสูตร MS ปกติก็ตามแต่พบว่า การเลี้ยงเซลล์ในช่วงที่สองถัดมาจะเกิดระยะ lag period ที่ยาวนานขึ้น แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของเซลล์ A. githago ต้องการทั้ง KNO_3 และ NH_4NO_3 ในการเจริญเติบโต (Takayama et al, 1977)

จากการทดลองยังพบว่า ไม่มีความจำเป็นต้องใช้น้ำมะพร้าวเพื่อการขยายพันธุ์กระเจียวแดงเมื่อใช้อาหารเหลวสูตร MS ดัดแปลง แม้ว่าน้ำมะพร้าวจะไม่มีผลทำให้จำนวนต้นเปลี่ยนแปลงไป แต่มีผลทำให้น้ำหนักแห้งของต้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ นอกจากนี้ยังทำให้ใช้ระยะเวลาในการเกิดต้นและรากนานขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลหรือน้ำมะพร้าวที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย ทั้งนี้มีความสูงและจำนวนใบลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ระดับของน้ำตาลที่ใช้ในการขยายพันธุ์กระเจียวแดงควรอยู่ในระดับ 2-3% ซึ่งทำให้จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของต้นอยู่ในระดับที่น่าพอใจ การใช้น้ำตาล 5% หรือน้ำมะพร้าว 10 และ 20% ในอาหารทำให้การเจริญของต้นกระเจียวแดงลดน้อยลงไป ยอดที่แตกใหม่ไม่สามารถเจริญได้ดี ยอดมีสีน้ำตาล ทั้งนี้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรทซึ่งจำเป็นในการเจริญของพืช ตามปกติมักใช้ในระดับ 2-3% (Murashige, 1974) Takayama และ Misawa (1979) กล่าวว่าผลของน้ำตาลที่มีต่อการสร้างอวัยวะน่าจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของ osmotic potential กล่าวได้ว่าในสภาพที่มีอัตราส่วนของอ๊อกซินต่อไซโตคินินเหมือนกัน การเกิดอวัยวะจะขึ้นกับปริมาณและคุณภาพของคาร์โบไฮเดรท ซึ่งส่งผลไปถึงธรรมชาติของเมตาบอลิสม และ osmotic pressure

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้ Schenk และ Hilderbrandt (1972) ให้เหตุผลว่าการใช้น้ำตาลซูโครสในระดับที่สูงขึ้น ทำให้ unabsorbable osmoticum ให้ผลมากกว่าน้ำตาลซูโครส ทำให้การเจริญเติบโตลดน้อยลง ดังเช่นที่ Lazzeri et al (1987) รายงานว่า embryogenesis ของถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อลดความเข้มข้นของน้ำตาลลงจาก 12 ถึง 1.5% ตามลำดับ นอกจากนี้เป็นไปได้ว่าน้ำตาลในระดับที่สูงจะยับยั้งการทำงานของไซโตคินิน ทำให้มีการเจริญลดน้อยลง ดังเช่น Takayama และ Misawa (1983b) พบว่า การใช้น้ำตาลในอาหารปริมาณสูงถึง 90 ก/ล คือ 9% จะยับยั้งปฏิกิริยาของไซโตคินินในการเพิ่มจำนวนกลีบหัวของ Lilium สำหรับการเกิดสีน้ำตาลของต้นกระเจียวแดง เมื่อใช้น้ำตาลและหรือน้ำมะพร้าวในปริมาณสูงกว่าระดับที่เหมาะสม อาจเป็นเพราะมีการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับอนุมูลของแอมโมเนียมหรือกรดอะมิโนในอาหาร (Schenk และ Hiilderbrandt, 1972) ผลของน้ำมะพร้าวที่มีต่อการเจริญของต้นพืช อธิบายได้เช่นเดียวกับการใช้น้ำตาลซูโครสในระดับที่มากเกินไปในอาหาร ทั้งนี้น้ำมะพร้าวมีส่วนประกอบของน้ำตาลอยู่ด้วย เช่น inositol และยังมีไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม ที่แม้ว่าตามปกติจะสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ตลอดจนการ differentiation ได้ก็ตาม (Kaul และ Sabharwal, 1972)

เนื่องจากรายงานการขยายพันธุ์พืชสกุลกระเจียวในสภาพปลอดเชื้อ ยังมีอยู่น้อยมาก แต่คาดว่าการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตในอาหารจะแตกต่างกันไปตามชนิดของกระเจียว จากรายงานหนึ่งของ Yasuda et al (1988) กล่าวว่าการทดลองขยายพันธุ์กระเจียวหลายชนิดนั้น การใช้ NAA พร้อมกับ kinetin จะทำให้เกิดต้นขึ้นได้เมื่อเลี้ยงตาข้าง เมื่อใช้เฉพาะ NAA ทำให้เกิดแคลลัสขึ้นได้ ส่วนสารจากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว สารสกัดจากยีสต์ casamino acid นั้น ไม่มีความจำเป็นต่อการเลี้ยงพืชสกุลกระเจียว และแนะนำว่า BA ในระดับ 0.05-1.0 มก/ล เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดต้นของกระเจียวบางชนิดโดยไม่ทำให้เกิดแคลลัสขึ้น

จากการศึกษาการขยายพันธุ์กระเจียวแดงในสภาพปลอดเชื้อนี้ แม้ว่าจะเป็นเพียงแนวทางบางประการที่ชี้ให้เห็นเทคนิค ตลอดจนปัจจัยบางอย่างที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนต้น ซึ่งนับว่าให้ผลเป็นที่น่าพอใจพอสมควร อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์กระเจียวแดงยังมีข้อจำกัดบางประการ อาทิในระยะแรกเมื่อนำปลายยอดมาเลี้ยงในอาหารพบว่ามีอัตราปนเปื้อนสูงถึง 70%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทั้งนี้เพราะตาของกระเจียวแดงที่นำมาตัดปลายยอดได้จากหัวที่อยู่ใต้ดิน ซึ่งมีจุลินทรีย์ต่าง ๆ ปะปนอยู่มาก แม้ว่าจะใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ และคลอรอกซ์แล้วก็ตาม อาจต้องมีการปรับปรุงการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของพืชเพื่อลดอัตราการปนเปื้อนลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการขยายพันธุ์กระเจียวบางชนิดที่หาได้ยากหรือมีต้นจำนวนน้อย และจากการเลี้ยงส่วนปลายยอดของกระเจียวแดงในระยะแรกบนอาหารวุ้น แม้ว่าอัตราการเจริญจะอยู่ในระดับที่น่าพอใจ แต่น่าจะมีการปรับปรุงวิธีการหรือส่วนประกอบของอาหารหรือเทคนิคต่าง ๆ ให้เหมาะสมขึ้นเพื่อลดช่วงระยะเวลานี้ให้สั้นลงไปก็จะเป็นประโยชน์มากขึ้น และแม้ว่าจะได้ทดลองใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ การใช้ไนโตรเจนตลอดจนสารอินทรีย์ในระดับต่าง ๆ เพื่อเพิ่มจำนวนและการเจริญของต้นในอาหารแล้วก็ตาม น่าจะมีการทดลองให้สารกลุ่มอื่น อาทิเช่น กรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ สารกระตุ้นการเจริญเติบโตตัวอื่น ๆ เช่น 2iP, TIBA (2,3,4-triiodobenzoic acid) ตลอดจนปรับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดต้นมากขึ้นทั้งในแง่ของการกระตุ้นการเจริญของตาข้างการกระตุ้นให้เกิด adventitious bud ซึ่งรวมไปถึงการส่งเสริมการเจริญของต้นเพื่อขยายพันธุ์กระเจียวแดงให้รวดเร็วขึ้น ทั้งนี้อาจศึกษาไปถึงการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส เพื่อกระตุ้นให้เกิดต้นตามมา แม้ว่าการเกิดต้นผ่านแคลลัสอาจจะทำให้มีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นก็ตาม แต่ก็เป็นแนวทางหนึ่งที่จะปรับปรุงให้ได้กระเจียวที่มีลักษณะดีเด่นต่าง ๆ ขึ้นได้ จากประสบการณ์การเกิดแคลลัสนี้ พบในการเลี้ยงกระเจียว (Curcuma spp.) หลายชนิดเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น ดังภาพที่ 17 หน้า 159

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 17 ต้นที่เกิดจากแคลลัสของกระเจียวบางชนิด

จากการเลี้ยงกระเจียวแดงบนอาหารวุ้น ไม่พบว่าเกิดแคลลัสเหมือนการเลี้ยงกระเจียวชนิดอื่น แต่ในบางครั้งพบว่ากระเจียวแดงเกิดลักษณะเป็นปมสีเขียวหรือเขียวปนน้ำตาล และเกิดเนื้อเยื่อที่เกาะกันหนากว่าปกติ เกิดขึ้นบริเวณโคนต้น ซึ่งต่อมาพบว่ามีการเกิดต้นจากบริเวณนี้ได้มากกว่าปกติ ดังภาพที่ 18 หน้า 160 ซึ่งน่าจะได้มีการศึกษาในรายละเอียดให้มากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 18 ปมสีเขียวบนน้ำตาลที่ได้จากบริเวณโคนต้นของกระเจียวแดง

การขยายพันธุ์กระเจียวแดงโดยวิธีการเขย่าในอาหารเหลว ร่วมกับการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตในอาหารตลอดทุกครั้ง เมื่อย้ายอาหารในระยะหลังจากที่ได้ต้นที่เจริญจากปลายยอด ซึ่งใช้เวลา 4 เดือนแล้ว จะได้ต้นถึง 6^8 ต้น (1,679,616 ต้น) จากการใช้ตาเริ่มต้น 1 ตา ในระยะเวลา 1 ปี โดยการคำนวณ

3. การศึกษาเกี่ยวกับการย้ายออกปลูก

จากการศึกษาการย้ายปลูกต้นกระเจียวแดงในกระถาง พบว่ากระเจียวแดงมีอัตราการอยู่รอดสูงประมาณ 95% และเมื่อย้ายต้นไปปลูกในดินหรือเครื่องปลูกก็จะมีการเจริญต่อไปได้ดี และสามารถลงหัวได้เมื่อใบยุบแล้ว การย้ายต้นกระเจียวแดงออกปลูกเป็นจำนวนมากอาจทำได้สะดวกขึ้น โดยการใช้กระบะพลาสติกแทนกระถาง ดังภาพที่ 19 หน้า 161 พบว่า ถ้ามีการดูแลรักษาความชื้นให้เหมาะสม และไม่มีโรค แมลงรบกวน ก็จะมีอัตราการรอดถึง 100%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 19 ต้นกระเจียวแดงที่ย้ายปลูกในกระบะพลาสติก อายุหลังย้าย 3 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สรุปการขยายพันธุ์กระเจียวแดง

การขยายพันธุ์กระเจียวแดงโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้สำเร็จ ซึ่งสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. เลี้ยงปลายยอดขนาด 0.5x1.0 มม จากตาอ่อนบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) + kinetin 0.25 มก/ล ได้ต้นที่สมบูรณ์พร้อมที่จะย้ายไปในอาหารใหม่ที่เพิ่มความเข้มข้นของ kinetin เป็น 0.5 มก/ล ในเวลา 14 สัปดาห์ และสามารถย้ายเพื่อเพิ่มปริมาณได้อีกบนอาหารสูตรเดิมทุก 8 สัปดาห์ โดยการตัดต้นให้มีขนาด 10 มม แล้วมาแบ่งครึ่งตามยาว

2. ชิ้นส่วนที่ถูกตัดแบ่งตามยาวที่มีขนาดใหญ่ สามารถเกิดต้นได้มากกว่าชิ้นส่วนขนาดเล็ก โดยการตัดต้นให้มีขนาด 10 มม แล้วแบ่งครึ่งตามยาว แล้วเลี้ยงในอาหารสูตร MS + kinetin 0.25 มก/ล เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กระเจียวแดงให้ได้จำนวนต้นมากที่สุดโดยใช้จำนวนต้นเริ่มต้นเพื่อการขยายพันธุ์น้อยกว่าการตัดต้นให้มีขนาดอื่น

3. ต้นพืชที่นำมาตัดให้มีขนาดดังกล่าว อายุ 4 6 และ 8 สัปดาห์ มีความเหมาะสมมากกว่าต้นอายุ 2 สัปดาห์ ไม่ว่าจะได้ต้นมาจากการเลี้ยงบนอาหารวุ้นหรือในอาหารเหลวก็ตาม

4. ความเข้มข้นของ kinetin ที่เหมาะสมอยู่ในระดับ 0-1.0 มก/ล ซึ่งให้จำนวนต้นเฉลี่ย 2.5-3.1 ต้น หรืออาจใช้ BAP ความเข้มข้นระดับเดียวกันก็ได้

5. น้ำตาลซูโครสที่ใส่ในอาหารควรอยู่ในระดับความเข้มข้น 2-3%

6. จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่าตาใหม่ที่เกิดขึ้นอาจพัฒนาจากจุดกำเนิดที่มีอยู่แล้ว และ/หรือเกิดโดยตรงจากชิ้นส่วนเริ่มเลี้ยง โดยไม่ผ่านแคลลัสเดียวกับการเกิดราก

7. ต้นกระเจียวแดง อายุ 2 เดือนที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS + kinetin 0.5 มก/ล สามารถย้ายออกปลูกในกระถางได้ โดยมีการรอดตายสูงถึง 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved