

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการและส่วนประกอบของอาหารที่เหมาะสม ในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยียในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

การศึกษาผลของ IBA และ BAP ที่มีต่อการเจริญของยอดไฮเดรนเยีย เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+ น้ำมะพร้าว 10 % พบว่าความเข้มข้นของ IBA ที่เหมาะสม สำหรับใช้ในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยียคือ 0.05 มก/ล โดยยี่ร่วมกับ BAP ที่ระดับ 2.25 มก/ล ทำให้เกิดยอด 2.2 ยอด ซึ่งมีความสูงเฉลี่ย 1.06 ซม จาก 1 ชิ้นส่วนที่เลี้ยง (ตารางที่ 10 หน้า 53) โดยยี่ใช้ระยะเวลาในการเกิดยอด 14 วัน และทำให้ยอดเดิมมีความสูงเฉลี่ย 2.40 ซม มีใบเฉลี่ย 6.6 คู่ นอกจากนี้ยังพบว่า ไม่มีความจำเป็นต้องใช้ GA₃ ร่วมกับการใช้ IBA และ BAP ที่ความเข้มข้น 0.05 และ 2.25 มก/ล ตามลำดับ ในอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 % เพราะไม่มีผลต่อการเกิดยอด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ทำให้ลำต้นยืดยาว ใบเล็กแคบ มีสีเหลือง

สำหรับความเข้มข้นของ NAA และ kinetin ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าไม่มีผลต่อการเกิดยอดใหม่ ทั้งยังทำให้ยอดเดิมมีความสูงและจำนวนใบเพิ่มขึ้นจากเดิมเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

สารกระตุ้นการเจริญเติบโต น้ำมะพร้าว และน้ำตาล

โดยทั่วไปแล้ว สารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากภายนอก ที่ใส่ในอาหาร ส่งผลให้เกิดการเจริญเติบโต และการสร้างส่วนต่าง ๆ (morphogenesis) ของเซลล์ อวัยวะและเนื้อเยื่อ (Reynolds, 1987) เป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่า อัตราส่วนของออกซินและไซโตคินินมีผลทำให้เกิดยอดหรือราก กล่าวคือ ถ้ามีออกซินในความเข้มข้นสูง จะทำให้เกิดราก และจะยับยั้งการเกิดยอด

ในทางตรงกันข้าม ถ้ามีไซโตคินินในความเข้มข้นสูง จะทำให้เกิดยอดและยับยั้งการเกิดราก (Murashige, 1974) ส่วนสารกลุ่มจิบเบอเรลลินจะกระตุ้นการเจริญเติบโต (Pierik, 1984) ปัจจัยที่สำคัญในการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ความเข้มข้น และอัตราส่วนของสารชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ (Sutter, 1988) และนอกเหนือจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ อีกด้วย (ไพบูลย์ 2524) จะเห็นได้ว่า การขยายพันธุ์ไฮเดรนเยียใช้ได้เฉพาะ BAP ในระดับความเข้มข้นดังกล่าวแล้ว โดยเข้าร่วมกับ IBA การที่ BAP มีผลในการเกิดยอดมากกว่าการใช้ kinetin นั้น อาจเป็นเพราะชนิดของสารกระตุ้นการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ดังที่ Han and Stephens (1987) ได้รายงานผลของ BA 2iP และ kinetin ที่มีต่อการขยายพันธุ์ *Impatiens* ในสภาพปลอดเชื้อว่า BA และ 2iP มีผลในการกระตุ้นการเกิดยอดจำนวนมากได้ดีกว่า kinetin โดยเขาได้ให้เหตุผลว่า *Impatiens* อาจจะถูกซึม kinetin ได้น้อยกว่า 2iP และ BA จึงทำให้ไม่เกิดยอดจำนวนมาก ชนิดของไซโตคินิน จะเฉพาะเจาะจงต่อชิ้นส่วนไฮเดรนเยียที่เลี้ยงเช่นกัน เนื่องจาก kinetin ไม่สามารถใช้เลี้ยงไฮเดรนเยียให้ประสบความสำเร็จได้เหมือนการใช้ BAP นอกจากชนิดไซโตคินินจะเฉพาะเจาะจงแล้ว ระดับความเข้มข้นที่ใช้อย่างสำคัญอีกด้วย คือความเข้มข้นของ BAP ที่ใช้สูงหรือต่ำกว่า 2.25 มก/ล ในการทดลองนี้ไม่เหมาะสม เนื่องจากไม่พบการเกิดยอดเลยเมื่อระดับของ BAP ลดลงเหลือ 1/10 เท่า คือ 0.225 มก/ล โดยเข้าร่วมกับทุกระดับความเข้มข้นของ IBA ยกเว้นที่ระดับ 2.5 มก/ล ซึ่งไม่พบการเกิดยอดเมื่อใช้ BAP ระดับที่เหมาะสมคือ 2.25 มก/ล ร่วมด้วยที่เป็นเช่นนี้เป็นเพราะเมื่อใช้ IBA ที่ระดับสูงขึ้น โดยระดับของ BAP ไม่เปลี่ยนแปลง จะทำให้อัตราส่วนระหว่างไซโตคินิน : ออกซินน้อยลง จนไม่เหมาะสมสำหรับชักนำให้ไฮเดรนเยียเกิดยอดใหม่ ในทำนองเดียวกัน เมื่อลดระดับของ BAP ลงหรือเพิ่มขึ้นก็จะทำให้สมดุลที่เหมาะสมสำหรับการเกิดยอดใหม่เปลี่ยนไป

การใช้ GA₃ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พร้อมกับ IBA และ BAP 0.05 และ 2.25 มก/ล ตามลำดับ และน้ำมะพร้าว 10 % นั้น ไม่เหมาะสมสำหรับการใช้ในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยีย เพราะไม่มีผลต่อการเกิดยอดและยังทำให้คุณภาพของต้นต่ำกว่าปกติดังกล่าวข้างต้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไฮเดรนเยียไม่ต้องการสารกลุ่ม GA₃ จากภายนอกมาใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต

เพราะมีฮอร์โมนกลุ่มนี้ภายในยอดที่เลี้ยงเอง ในระดับที่เพียงพออยู่แล้ว เมื่อใส่ GA_3 ในอาหาร พร้อมกับ IBA และ BAP อาจมีผลทำให้อัตราส่วนของฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ ในพืชไม่เหมาะสม จากรายงานของ Engelke et al (1973) พบว่าการใช้ GA_3 ร่วมกับ 2iP กับ *Nicotiana tabacum* พันธุ์ Wisconsin # 38 มีผลต่อขนาดและรูปร่างของใบโดยที่อัตราส่วนระหว่าง GA_3 และ 2iP ที่สูง จะทำให้ต้นสูงชะลูดและมีใบเล็กแคบ ขณะที่อัตราส่วนระหว่าง GA_3 และ 2iP ที่ต่ำ จะทำให้ต้นเตี้ยและมีใบกลม ในทำนองเดียวกับ Tronchet and Tronchet (1967) อ้างโดย Engelke et al (1973) ได้ใช้ GA_3 และ kinetin กับ *Polygonum tataricum* พบว่า GA_3 ส่งเสริมการพัฒนาของใบ ให้มีลักษณะยาวแคบ ส่วน kinetin ทำให้ใบกว้าง

จากการทดลองยังพบว่า การเลี้ยงยอดไฮเดรนเยียบนอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าวร่วมกับ น้ำตาลทุกระดับที่ทดลอง พบว่าใบส่วนยอดมีสีเหลืองซีด ระดับความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวและ น้ำตาลเมื่อใช้ร่วมกันที่เหมาะสม สำหรับการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยีย คือ 10 % (ปริมาตร/ ปริมาตร) และ 3 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ (ตารางที่ 13 หน้า 62) ซึ่งทำให้ยอดเดิม มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.16 ซม และมีใบเฉลี่ย 5.4 คู่ การลดหรือเพิ่มระดับน้ำมะพร้าว หรือน้ำตาลในอาหารทำให้การเจริญของต้นไฮเดรนเยียลดน้อยลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะน้ำมะพร้าว มีส่วนประกอบของน้ำตาลซูโครสอยู่ด้วย และยังมีไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียม (Kual and Sabharwal, 1972) เมื่อเพิ่มหรือลดระดับน้ำมะพร้าวหรือน้ำตาล จึงทำให้มีน้ำตาลในระดับ ที่น้อยหรือมากเกินไปในระดับที่เหมาะสม ตามปกติใช้น้ำตาล สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 1-5 % (Pierik, 1984) น้ำตาลเป็นแหล่งของคาร์บอนหรือแหล่งพลังงาน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ของชิ้นส่วนที่เลี้ยงควรเลือกใช้ให้เหมาะสมทั้งชนิดและความเข้มข้นด้วย ดังเช่น รายงานของ Davis et al (1977) ได้ทดลองเลี้ยงปลายยอดของคาร์เนชั่น โดยใช้น้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุคโตส ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารสูตร MS โดยใช้แบบเดี่ยวหรือร่วมกัน 2 ชนิด พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของยอดสูงที่สุดเมื่อใช้น้ำตาลซูโครส 50 ก/ล กลูโคส 40 ก/ล และน้ำตาลซูโครสร่วมกับกลูโคสอย่างละ 20 ก/ล การใช้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว จะได้ ยอดที่มีสีเขียวเข้มมากกว่าการใช้น้ำตาลซูโครสหรือฟรุคโตส เขาพบว่าการใช้น้ำตาลฟรุคโตส ทำให้การเจริญเติบโตของคาร์เนชั่นเกิดน้อยที่สุด และทำให้ยอดมีสีเหลืองซีด (chlorotic)

นอกจากนี้ Schnapp and Preece (1986) พบว่าการเจริญเติบโตของยอดคาร์เนชั่นที่ได้รับ น้ำตาลซูโครส 5 ก/ล จะลดลงเมื่อเทียบกับการใช้น้ำตาลที่ระดับ 10-30 ก/ล และถ้าไม่ใช้น้ำตาลซูโครสในอาหารเลย จะมีผลกระทบต่อกรเจริญเติบโตของราก และความสูงของต้นที่สมบูรณ์ แต่เมื่อใช้น้ำตาลซูโครส 20 ก/ล คาร์เนชั่นจะมีความสูงและรากมากที่สุด

ลักษณะชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง

จากการศึกษาเกี่ยวกับชิ้นส่วนลักษณะต่าง ๆ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี IBA และ BAP 0.5 และ 2.25 มก/ล ตามลำดับ และน้ำมะพร้าว 10 % พบว่า ยอดที่แบ่งเป็น 4 ส่วน ตามยาวเกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 4.4 ยอด โดยยอดเหล่านี้มีการจ้ำน้ำ 20 % รองลงมาคือ ยอดแบ่งเป็น 2 ส่วนตามยาวเกิดยอดเฉลี่ย 2.8 ยอด ข้อ ข้อแบ่งเป็น 2 ส่วน และ 4 ส่วน ตามยาว เกิดยอดใกล้เคียงกันคือเฉลี่ย 1.6, 1.0 และ 0.86 ยอดตามลำดับ ส่วนยอดปกติที่นำมาเลี้ยงไม่เกิดการแตกยอดใหม่ (ตารางที่ 17 หน้า 69) เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดยอด พบว่าข้อใช้เวลาในการเกิดยอดใหม่น้อยที่สุด คือเฉลี่ย 12.0 วัน ส่วนยอดและข้อแบ่งเป็น 2 ส่วนตามยาว ใช้เวลาเฉลี่ย 14.0 และ 19.5 วัน ตามลำดับ ยอดแบ่งเป็น 4 ส่วนตามยาวใช้เวลาในการเกิดยอดใหม่ 27.0 วัน และยอดแบ่งเป็น 4 ส่วนตามยาว ใช้เวลาในการเกิดยอดนานที่สุด คือ 40 วัน จะเห็นได้ว่าวิธีการแบ่งยอดเป็นสองส่วนตามยาวน่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยีย เพื่อให้ได้ต้นจำนวนมาก ในระยะแรกของการขยายพันธุ์ เพราะจากประสบการณ์ที่พบในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยียในระยะแรกนั้น เมื่อนำปลายยอดมาเลี้ยงบนอาหารพบว่ามีอัตราปนเปื้อนสูงถึง 73 % ทั้งนี้เพราะหน่วยเติบโตของไฮเดรนเยียมีการป้องกันตามธรรมชาติที่ไม่ดี เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จึงมีการติดเชื้อแบคทีเรียสูง (Beauchesne, 1974) ที่เป็นคั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าบริเวณยอดของไฮเดรนเยียมีการผลิตสารน้ำหวาน ซึ่งช่วยในการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในบริเวณนั้นมามาก เมื่อนำมาฆ่าเชื้อแล้วจึงทำให้โอกาสปลอดเชื้อมีค่า แม้ว่าการปนเปื้อนนี้จะ เป็นเฉพาะบริเวณนอกเท่านั้นก็ตาม การแตกยอดใหม่จะพบเฉพาะในส่วนข้อ ยอดและข้อที่แบ่งเป็น 2 ส่วนหรือ 4 ส่วนตามยาว ในขณะที่

ที่ส่วนยอดซึ่งไม่ได้ทำการแบ่ง มีแต่การเจริญทางส่วนสูง ที่เป็นดังนี้เป็นเพราะมีอิทธิพลของตายอดข่มตาข้าง (apical dominance) เข้ามาเกี่ยวข้อง การแบ่งยอดออกเป็น 2 ส่วนตามยาว มีผลกระตุ้นให้ตาข้างหรือกระตุ้นการเจริญของตาข้าง ในการลดผลของตายอดข่มตาข้างลง การแตกยอดใหม่เกิดขึ้นในส่วนยอดที่แบ่งเป็นสองส่วนและสี่ส่วนตามยาวมากกว่าข้อหรือข้อแบ่งเป็นสองส่วนและสี่ส่วนตามยาว อาจเป็นเพราะว่าส่วนยอดมีจำนวนใบ 3 คู่ ซึ่งมีจำนวนชอกใบมาก ทำให้มีตาข้างซึ่งกำลังอยู่ในระยะที่เตรียมการเป็นหน่วยเติบโตของยอด (pre-existing meristem) ขณะที่ส่วนข้อมีเพียง 1 คู่ เมื่อผ่าแบ่งแล้ว ส่วนยอดที่แบ่งจึงมีโอกาสเกิดการเจริญและพัฒนาของตาข้างมากกว่าส่วนข้อ ในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Roest and Bokelmann (1981) ได้เลี้ยงคาร์เนชันพันธุ์ Scania 3C, Calypso, Dark Orchid Beauty, Jolivette, Sam's Pride และ Red Ivette โดยใช้ปลายยอด ซึ่งมีใบ 3 คู่ และข้อมีใบ 1 คู่ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงทั้งสองส่วนดังกล่าว จะผ่าแบ่งเป็นสองส่วนตามยาว พบว่า ตำแหน่งของชิ้นส่วนที่เลี้ยงมีความสำคัญในการเกิดยอด โดยที่ลำต้นส่วนบน (ส่วนยอด) มีการพัฒนาเป็นยอดมากกว่า ลำต้นส่วนล่าง (ข้อ) ซึ่งเขาได้ให้เหตุผลว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงที่ได้จากส่วนยอด จะอยู่ในระยะเริ่มแรกของการพัฒนาจึงเป็นชิ้นส่วนที่เหมาะสมสำหรับการเกิดยอดใหม่มากกว่าส่วนข้อที่ได้มีการพัฒนาไปแล้ว นอกจากนี้เขายังให้เหตุผลอีกว่า ชิ้นส่วนปลายยอดมีใบ 3 คู่ ขณะที่ข้อมีใบเพียง 1 คู่ ดังนั้นส่วนยอดจึงมีตาข้างมากกว่าส่วนข้อ ทำให้ส่วนยอดมีโอกาสเกิดยอดมากกว่าส่วนข้อ วิธีการแบ่งยอดตามยาวแบบนี้ได้เคยมีการใช้ในพืชหลายชนิด เพื่อเพิ่มจำนวนต้นตั้งเช่น Hosoki et al (1989) ได้ขยายพันธุ์ peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) พันธุ์ Takinoyosooi และ Sarah Bernhardt โดยใช้ปลายยอด มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของเกลือแวลลง 1/2 เท่าของที่ใช้ปกติ + BAP และ GA 0.5 และ 1 มก/ล ตามลำดับ พบว่าส่งเสริมการเจริญของตาข้างและเขาได้ทำการแบ่งปลายยอดตามยาวเพื่อเพิ่มจำนวนยอดอย่างต่อเนื่อง ซึ่งวิธีการดังกล่าวนี้โดยการคำนวณ จะทำให้ได้ต้น 700 และ 300 ต้น สำหรับพันธุ์ Takinoyosooi และ Sarah Bernhardt ตามลำดับ จากการใช้ตาเริ่มต้น 1 ตา ในระยะเวลา 1 ปี

Hosoki et al (1986, 1988) อ้างโดย Hosoki et al (1989) รายงานวิธีการเพิ่มปริมาณของ Japanese horseradish (Wasabi) (*Extrema japonica Maxim.*) อย่างรวดเร็วโดยวิธีการแบ่งยอดออกเป็นสองส่วนตามยาว เพื่อชักนำให้ตาข้างเจริญ ด้วยวิธีการนี้จะได้ต้น 1,000 ต้น จากการเลี้ยงปลายยอด 1 ยอด ในระยะเวลา 1 ปี การแบ่งยอดนี้สามารถเข้ากับพืชที่มีลำต้นเต็มได้ดี ดังรายงานของ Cronauer and Krikorian (1984) ได้ขยายกล้วยพันธุ์ Philippine Lacatan และ Grande Naine เพื่อให้ได้จำนวนต้นเพิ่มมากขึ้น โดยการเลี้ยงปลายยอดบนอาหารสูตร MS (1962) คัดแปลง เมื่อต้นมีความสูง 2 ซม. จะผ่าตามยาวผ่านปลายยอด นำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งเหลว จะเกิดยอดใหม่ขึ้นหลายยอด ส่วนกล้วย (plantain) พันธุ์ Pelipita นั้น ส่วนของยอดที่แบ่งครึ่งสามารถเกิดต้นได้ 18-27 ยอดภายในเวลา 4 สัปดาห์เท่านั้น

อาการต้นฉ่ำน้ำ (vitrification)

ลักษณะการฉ่ำน้ำถือว่าเป็นความผิดปกติทางสรีรวิทยาอย่างหนึ่ง ที่พบในการขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ โดยต้นพืชที่เลี้ยงมีใบขนาดใหญ่ หนา ใส ม้วนหรือย่น และหักเปราะง่าย (Kevers et al, 1984)

สำหรับการฉ่ำน้ำที่พบ เมื่อเลี้ยงยอดแบ่งเป็นสี่ส่วนตามยาวนั้น เข้าใจว่าสาเหตุหนึ่งเป็นผลมาจาก มีการสะสมของเอธิลีน ซึ่งเกิดจากรอยแผลที่เกิดจากการตัดแบ่ง และขาดทดลองที่ใช้เลี้ยงปิดด้วยแผ่นพลาสติก วัสดุที่ยางรัดของ ซึ่งทำให้มีการถ่ายเทก๊าซไม่ดี จึงทำให้มีการสะสมของเอธิลีนมาก การที่ยอดที่เกิดจากข้อแบ่งเป็น 2 และ 4 ส่วนตามยาว ไม่แสดงอาการฉ่ำน้ำ อาจเป็นรอยตัดมีน้อยกว่า จึงเป็นสาเหตุให้เกิดเอธิลีนในปริมาณที่น้อยกว่าด้วย ซึ่ง Hakkaart and Versluijs (1983) ให้ความเห็นว่าอาการหลักเลี้ยงการเกิดลักษณะฉ่ำน้ำ ทำได้โดยพยายามทำให้มีการแลกเปลี่ยนของก๊าซภายในภาชนะ เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิด ethylene retroinhibition โดยจากการทดลองเปรียบเทียบสำหรับหลอดทดลอง ในการเลี้ยงคาร์เนชั่น พันธุ์ Elvira และ Sam's Pride พบว่าฝาโลหะและจุก มีส่วนช่วยให้ได้ต้นปกติ

มากกว่า การใช้แผ่นอลูมิเนียมหรือพาราฟิล์ม เพราะผ้าที่มีลักษณะหลวมเช่น สำลี ฝ้ายและจุก มีการแลกเปลี่ยนของก๊าซที่ดีกว่า

จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าใบจ่าน้ำที่นำมาศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยานั้น ไม่มีคลอโรพลาสต์และเซลล์มีขนาดใหญ่ผิดปกติ ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Jones (1976), Werner and Boe (1980) อ้างโดย Kevers et al (1984) รายงานว่า ใบและลักษณะที่ผิดปกติของต้นจ่าน้ำ เกิดจากการขาดคลอโรฟิลล์ และเซลล์มีน้ำมากเกินไป (hyperhydricity) ในทำนองเดียวกัน จากการศึกษาของ Zimmerman and Cobb (1989) พบว่า ต้นพืชเนื้อที่จ่าน้ำมีน้ำมาก แต่มีคลอโรฟิลล์ และโปรตีนน้อยกว่าต้นปกติที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากนี้ผลการทดลองครั้งนี้ใบที่จ่าน้ำไม่มีเซลล์ชั้น palisade จะมีแต่ spongy mesophyll เท่านั้น เหมือนกับผลงาน ซึ่งรายงานโดย Debergh et al (1981)

สำหรับกลไกของการจ่าน้ำนั้น Kevers et al (1984) ให้ความเห็นว่าปรากฏการณ์เริ่มต้นน่าจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วที่ชั้นของผนังเซลล์เมมเบรน (membrane levels) โดยในระยะแรกนี้ไม่เกี่ยวกับกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) แล้วหลังจากนั้นจึงมี activities ของ ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)-synthase, acedic peroxidases และ PAL (phenylalanine aminonia-lyase) ซึ่งเป็นผลของการสังเคราะห์โปรตีนมาเกี่ยวข้อง ซึ่ง Goldberg et al (1983) อ้างโดย Kevers et al (1984) รายงานว่า PAL และ Acidic peroxidases จะเกี่ยวข้องับขบวนการสร้างลิกนิน (lignification) ในผนังเซลล์ ดังนั้น activities ที่ลดลง จะทำให้การสร้างลิกนินในพืชที่มีลักษณะจ่าน้ำลดลงด้วย Pearl (1967) อ้างโดย Kevers et al (1984) กล่าวว่า ลิกนิน และเซลลูโลส เป็นสารที่ช่วยให้เซลล์มีความแข็งแรง ดังนั้นถ้าเซลล์ขาดลิกนิน และเซลลูโลส อาจจะทำให้เกิดภาวะ "hyperhydric" ซึ่งทำให้พืชมีลักษณะจ่าน้ำเกิดขึ้น โดยคาดว่าเป็นผลมาจากความดันผนังเซลล์ลดลง

ลักษณะจ่าน้ำที่เกิดอาจขึ้นอยู่กับพันธุ์ ดังรายงานของ Hakkaart and Versluijs (1983) ซึ่งศึกษาลักษณะการจ่าน้ำของคาร์เนชั่นพบว่า คาร์เนชั่นพันธุ์ Daranja และพันธุ์ Polarthur เกิดลักษณะจ่าน้ำมาก ในขณะที่พันธุ์ Eolo เกือบจะไม่พบลักษณะจ่าน้ำเลย ลักษณะ

การฉ่ำน้ำ ยังขึ้นอยู่กับสภาพทางกายภาพของอาหารอีกด้วย ซึ่งรายงาน Debergh et al (1981) พบว่า การเพิ่มปริมาณน้ำในอาหารที่เลี้ยง globe artichoke จาก 6 เป็น 11 หรือ 20 ก/ล ทำให้การฉ่ำน้ำลดลง แต่จะมีผลทำให้อัตราการขยายพันธุ์ลดลงซึ่งเขาให้เหตุผลว่า เป็นเพราะการดูดน้ำและอาหารไปใช้เป็นไปไม่ดี แต่ไม่ใช่เป็นเพราะ Osmotic potential ในทำนองเดียวกัน ตามรายงานของ Hakkaart and Versluijs (1983) พบว่าการเลี้ยงปลายยอดคาร์เนชั่น ในอาหารเหลวจะเกิดลักษณะฉ่ำน้ำมากกว่าที่เลี้ยงบนอาหารร่วน นอกจากนี้เขายังได้ทดลองเพิ่มปริมาณน้ำในอาหารที่ใช้เลี้ยง โดยทดลองกับคาร์เนชั่นพันธุ์ Sam's Pride, Elvira และคาร์เนชั่นอีก 16 พันธุ์ พบว่าระดับวันที่เหมาะสมคือ 8 หรือ 10 ก/ล ซึ่งสามารถช่วยลดปริมาณต้นฉ่ำน้ำได้ แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นขึ้นทำให้ความสูงของต้นลดลง แต่ในการฉ่ำของไฮเดรนเยีย การเพิ่มปริมาณวุ้นไม่น่าจะมีผลมากนัก เพราะหากเป็นเพราะสาเหตุเรื่องความเข้มข้นของวุ้นแล้วน่าจะแสดงออกในต้นที่เกิดจากการแบ่งยอดออกเป็น 2 ส่วนบ้าง

อุณหภูมิ

นอกจากนี้การทดลองยังพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสม ในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยียคือ 28 °C ซึ่งทำให้เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 2.1 ยอด มีความสูงเฉลี่ย 0.79 ซม การลดอุณหภูมิลงเหลือ 26 °C ทำให้การเกิดยอดลดลงเหลือ 1.5 ยอด มีความสูง 0.38 ซม ส่วนการเลี้ยงยอดที่อุณหภูมิ 22 °C ไม่พบการเกิดยอดใหม่ (ตารางที่ 24 หน้า 84) อุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทั่วไปแล้วอยู่ประมาณ 22-28 °C (Pierik, 1984) โดยจะแตกต่างกันไปในแต่ละพืชและส่วนของพืชที่เลี้ยง ดังเช่น Fannesbech (1974) พบว่าอุณหภูมิมีความสำคัญในการชักนำให้เกิดยอดและราก ในการเลี้ยงส่วนของก้านใบของ *Begonia x cheimantha* พันธุ์ Astrid บนอาหารสูตร White ดัดแปลง ที่มี NAA และ BA 0.1 และ 0.5 มก/ล ตามลำดับ ซึ่งอุณหภูมิคงที่ที่ดีที่สุด สำหรับการเลี้ยงก้านใบคือ 18-21 °C ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้น การเลี้ยงจะมีอัตราการรอดน้อย จำนวนยอดและรากจะลดลง และถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า จะยับยั้งการพัฒนาของต้น การเลี้ยงที่อุณหภูมิ 15

หรือ 18 °ซ ก่อนเป็นเวลา 2-4 สัปดาห์ แล้วนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 24 °ซ ทำให้จำนวนยอดมีมากขึ้น และยอดมีการพัฒนามากขึ้น อุณหภูมิสูงที่ได้รับตลอดระยะเวลาของการเจริญเติบโตจะทำให้จำนวนยอดลดลงอย่างมาก การเลี้ยงก้านใบที่อุณหภูมิ 24 °ซ เป็นเวลา 3 วัน หรือ 28 °ซ เป็นเวลา 1 วันก่อน จำนวนยอดลดลงถึง 50% แต่การเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 7 วัน ไม่พบการเกิดยอดเลย Takayama and Misawa(1982) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม ในการเลี้ยงก้านใบของ *Begonia x hiemalis* พันธุ์ Schwabenland Red อยู่ระหว่าง 20-25 °ซ ซึ่งทำให้เกิดตาขึ้น สำหรับในกุหลาบ (*Rosa hybrida* L.) Bressan et al (1982) พบว่าอุณหภูมิคงที่ที่ 21 °ซ ทำให้อัตราการเกิดยอดจำนวนมากและเกิดรากมากที่สุด และต้นที่เกิดรากที่อุณหภูมิ 16, 21 หรือ 26 °ซ เมื่อย้ายปลูกลงดินมีอัตราการรอดสูง

อุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงนอกจาก จะมีผลต่อการเกิดยอดและรากดังที่กล่าวมาแล้ว ยังมีผลต่อการเกิดลักษณะจำนำด้วย ดังเช่น Hakkaart and Versluijs (1983) ได้เลี้ยงหน่วยเติบโตของคาร์เนชั่น พันธุ์ Emir ในช่วง 2 สัปดาห์แรกในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 26 °ซ หลังจากนั้นย้ายไปไว้ในที่มีแสงที่อุณหภูมิ 20 °ซ ต้นที่เจริญขึ้นมา จะมีใบจำนำน้อยกว่า การเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 4, 9, 17 หรือ 20 °ซ ในระยะเวลาเท่าเดิม แต่ถ้าเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 26 °ซ ตลอดเวลา จะทำให้การเจริญเติบโตไม่ดีเท่า นอกจากนี้ เขายังได้ทดลองเลี้ยงปลายยอดของคาร์เนชั่น พันธุ์ Red Lily Ann และ Sam's Pride โดยทำการเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 26 °ซ ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน พบว่าการเลี้ยงเริ่มแรกโดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 °ซ ในสภาพมืดจะดีที่สุดที่ 4 และ 3 วันตามลำดับ คือพบต้นจำนำน้อยกว่า

สรุปการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยีย และข้อเสนอแนะ

การขยายพันธุ์ไฮเดรนเยีย โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถทำได้สำเร็จ ซึ่งสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ความเข้มข้นของ IBA ที่เหมาะสมคือ 0.05 มก/ล โดยใช้ร่วมกับ BAP 2.25 มก/ล ซึ่งทำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.2 ยอด ความสูงเฉลี่ย 1.06 ซม โดยใช้ระยะเวลาในการเกิดยอด 14 วัน

2. น้ำมะพร้าวและน้ำตาลที่ใส่ในอาหารควรใช้ความเข้มข้น 10 (%) (ปริมาตร/ปริมาตร) และ 3% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ
3. ยอดแบ่งเป็น 2 ส่วนตามยาว ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS + IBA และ BAP 0.5 และ 2.25 มก/ล เป็นวิธีการที่เหมาะสม ในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยีย ให้ได้จำนวนต้นมากที่สุด ในระยะแรกของการขยายพันธุ์
4. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ไฮเดรนเยียคือ 28 °ซ
5. อัตราการขยายพันธุ์เพิ่มขึ้น 5.6 เท่า ทุก 4 สัปดาห์ หากแบ่งยอดเป็น 2 ส่วนตามยาว แต่เพิ่มขึ้นเป็น 2.2 เท่า ทุก 4 สัปดาห์ หากใช้ยอดที่ไม่ตัดแบ่ง
6. การศึกษาต่อไป น่าจะศึกษาการใช้ส่วนประกอบของน้ำมะพร้าว ในส่วนที่สามารถใช้สารสังเคราะห์ทดแทนได้ เช่น กรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งอาจจะทำให้เข้าใจบทบาทของน้ำมะพร้าว ที่มีต่อการเจริญของไฮเดรนเยียได้ดีขึ้น