การขยายพันธุ์กระบองเพชรสายพันธุ์ยิมโนแม่ลูกดกด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation of *Gymnocalycium Damsii* by Tissue Culture Techniques

ฉัตรทริกา ฤทธิรงค์[1] สุจิรา คีรีเพ็ชร[1] ผการัตน์ โรจน์ดวง[1] และสุภาวดี รามสูตร[2]

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 84100

[2]สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 84100

*อีเมล์ phakarat.r@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสูตรอาหารที่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำชิ้นส่วนกระบองเพชร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS), เติม Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Benzylaminopurine (BA) ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กระบองเพชรที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด คือ 0.70 ยอดต่อชิ้นส่วน และสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยได้มากที่สุด คือ 21.70 รากต่อชิ้นส่วน

คำสำคัญ: กระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก Naphthaleneacetic (NAA) Benzylaminopurina (BA) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ABSTRACT

This research Study was to investigate the effect of medium on cactus survival and growth of Gymnocalycium Damsii by organogenesis. In vitro of Gymnocalycium Damsii on MS medium supplemented with Naphthaleneacetic (NAA) concentrations 0-4 mg/l and Benzylaminopurine (BA) concentrations 0-4 mg/l. After culture for 4 weeks, the cactus was cultured on MS medium supplemented with BA concentrations 4.0 mg/l resulted the highest survival rate was 100 percent, with BA concentration 1.0 and 4.0 mg/l resulted the highest shoot induction average is 0.70 shoots per piece and with NAA concentrations 4.0 mg/l resulted the highest root induction average is 21.70 roots per piece.

Keywords: Gymnocalycium Damsii, naphthaleneacetic (NAA), benzylaminopurina (BA), plant tissue culture

บทนำ

กระบองเพชรสกุล Gymnocalycium ชื่อสกุลมาจากภาษากรีก 2 คำ คือคาว่า gymnos แปลว่า เปลือย และ calyx แปลว่า วงกลีบเลี้ยง รวมหมายถึงกลีบเลี้ยงเปลือยหรือไม่มีขน มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้แถบอาร์เจนตินา อุรุกวัย ปารากวัย และโบลิเวีย มีอยู่ราว 80 ชนิด สกุลนี้มีชื่อสามัญว่า “Chin Cactus” ส่วนนักปลูกเลี้ยงชาวไทยเรียกว่า “ยิมโน” บางชนิดได้รับความนิยมและมีราคาสูงกว่าปกติสกุลนี้มีผู้นำมาปลูกเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์เป็นเวลานานแล้ว จนได้ลูกผสมที่แปลกแตกต่างจากเดิม เช่น ยิมโนด่าง หรือบางต้นก็มีหนามยาวและใหญ่กว่าเดิมทนสภาพอากาศร้อน นับเป็นกระบองเพชรที่ปลูกเลี้ยงในเมืองไทยง่ายสกุลหนึ่ง ลักษณะทั่วไป ลำต้นเดี่ยวหรือแตกหน่อจากตุ่มหนาม หนามมีรูปทรงและขนาดหลากหลาย

ดอกออกจากตุ่มหนามบริเวณยอด มีหลายสี เช่น ขาว ชมพู เขียว และเหลือง บานตอนกลางวันและหุบกลางคืน แต่ละดอกบานได้นาน 3-4 วัน ผลรูปไข่ถึงรูปกระสวย เมื่อสุกมีสีแดงส้ม เขียวอมฟ้า หรือชมพูสด ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก [1] เนื่องจากกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก เป็นที่ต้องการทางตลาดสูงเนื่องด้วยเป็นไม้ประดับที่มีความสวยงาม แต่ทั้งนี้มีการขยายพันธุ์ที่ล่าช้า และเสี่ยงต่อการเกิดโรคพืช ทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจจะศึกษาการขยายพันธุ์กระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกให้มีจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้นด้วยเทคนิควิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จัดเป็นศาสตร์ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnology) สาขาหนึ่ง และได้มีการพัฒนาไปอย่างกว้างขวาง ซึ่งมีบทบาทอย่างมากในด้านเกษตรกรรม ด้านอุตสาหกรรม ด้านการแพทย์และการศึกษาค้นคว้าวิจัยทุกสาขาเกี่ยวกับพืช ปัจจุบันมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปใช้ในด้านการปรับปรุงพันธ์ขยายพันธุ์และขยายพันธุ์พืชในเชิงการค้า[2] การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้นให้ได้มากในระยะเวลาอันสั้น โดยใช้อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) มีการควบคุมปริมาณและความเข้มข้นของฮอร์โมน BA และ NAA [3] ในแต่ละ Treatment อุณหภูมิและความเข้มแสงให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชในการวิจัยครั้งนี้ศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหารที่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกด้วยกระบวนการออร์แกโนเจเนซีส (organogenesis)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสูตรอาหารที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. ศึกษาสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดและรากในกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก

วิธีการวิจัย

1. ออกแบบการทดลอง โดยทำการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกของสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog) และศึกษาผลต่อการชักนำยอดและรากของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกที่ผ่านการตัดตามยาวและเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ประกอบไปด้วยฮอร์โมน BA และ NAA ที่มีความแตกต่างในแต่ละการทดลอง 10 ขวด ๆ ละ 1 ชิ้นส่วน

2. ขั้นเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ขนาดกลาง

2.1 อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ขนาดกลางที่ปริมาตร 600 มิลลิลิตร

2.2 เตรียม stock ของสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog) โดยการปิเปต stock A1, A2, B, C, D, และ Organic

A1	12	มิลลิลิตร
A2	12	มิลลิลิตร
B	6	มิลลิลิตร
C	6	มิลลิลิตร
D	6	มิลลิลิตร
Organic	2	มิลลิลิตร

2.3 เติมน้ำตาล 18 กรัม (ซูโครส , ฟรักโตส และเมทานอล)

2.4 เติมฮอร์โมน BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 : สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

Treatment	ชื่อสูตรอาหาร	ความเข้มข้นฮอร์โมน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรฮอร์โมนที่ใช้ (มิลลิลิตร)
1	MS free	0	BA 0
2	MS	1	BA 0.45
3	MS	2	BA 0.9
4	MS	3	BA 1.35
5	MS	4	BA 1.8
6	MS free	0	NAA 0
7	MS	1	NAA 0.45
8	MS	2	NAA 0.9
9	MS	3	NAA 1.35
10	MS	4	NAA 1.8

2.5 ปรับค่าความเป็นกรด - เบส ให้อยู่ที่ 5.7

2.6 เติมผงวุ้น 4.8 กรัม เพื่อให้อาหารแข็ง

2.7 นำอาหารเข้าเครื่องไมโครเวฟเพื่อหลอมวุ้นเป็นเวลา 3-5 นาที

2.8 เทอาหารลงในขวดขนาด 4 ออนซ์

2.9 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้เครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 104 กิโลปาสคาล เป็นเวลา 15 นาที [4]

3. ขั้นตอนการเตรียมชิ้นส่วนพืช

3.1 นำต้นอ่อนของกระบองเพชร ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

3.2 วางเนื้อเยื่อให้แห้งบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.3 นำเนื้อเยื่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาตัดครึ่งหนึ่งของต้นอ่อนกระบองเพชรและวางเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ชนิดอาหารแข็ง

4. การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

4.1 นำชิ้นส่วนกระบองเพชรตามยาวและเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ประกอบไปด้วยฮอร์โมน BA และ NAA ที่ความ

เข้มข้นตามตารางที่ 1 แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวด ๆ ละ 1 ชิ้นส่วน

4.2 นำขวดอาหารที่มีชิ้นส่วนพืช เพาะเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นและแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง/วัน [5]

5. การเปลี่ยนถ่ายอาหารและบันทึกผล

5.1 ทำการเปลี่ยนถ่ายอาหาร 30 วัน ต่อ 1 ครั้ง

5.2 วัดขนาดและเก็บผลเฉลี่ยตัวอย่างอย่างละ 5 จาก 10 ตัวอย่าง ต่อ 1 ทรีทเมนท์

5.3 นำขวดเพาะเลี้ยงไปเพาะเลี้ยงที่ห้องเพาะเลี้ยง อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์

5.4 วางแผนการทดลองแบบ 4×3×4 Factorial in CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีDuncan's multiple range test (DMRT)

5.5 บันทึกผลการทดลอง โดยการบันทึกการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ดังนี้ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต, เปอร์เซ็นต์จำนวนยอดและเปอร์เซ็นต์ความยาวต้น พร้อมทั้งบันทึกภาพ

ผลการวิจัยและอภิปราย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก Gymnocalycium Damsii ครั้งนี้ได้ทำการศึกษาสูตรอาหารที่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกด้วยกระบวนการออร์แกโนเจเนซีส (organogenesis) และสูตรอาหารที่ส่งผลให้เกิดรากและยอด มีผลการทดลองดังนี้

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

จากปัจจัยที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก บนสูตรอาหาร MS เติม BA ที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ที่ความเข้มข้น 0,1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาล 13.5 กรัม ปรับค่า pH เท่ากับ 5.7 และเติมผงวุ้น 3.6 กรัม หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กระบองเพชรที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต คือ 96.66 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต คือ 93.33 เปอร์เซ็นต์ และ รองลงมาที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต คือ 93.33 เปอร์เซ็นต์

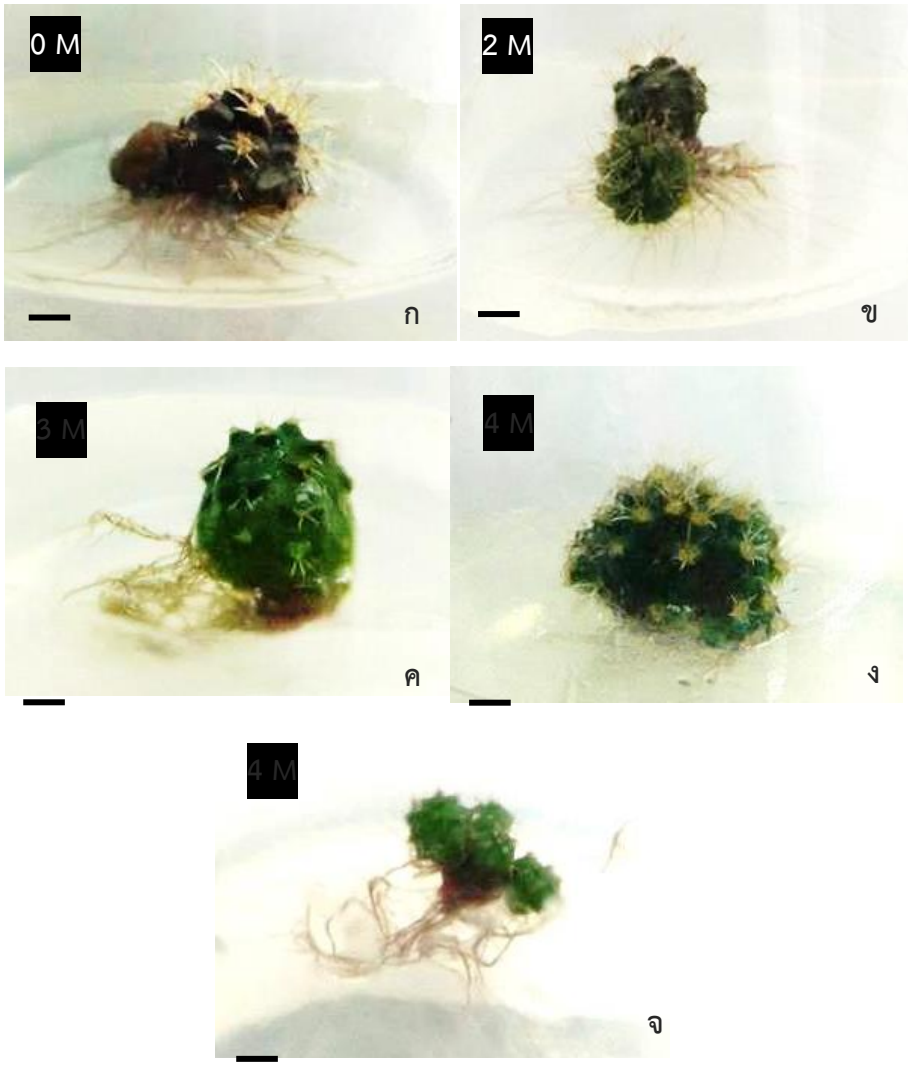
เปอร์เซ็นต์จำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วน)

จากปัจจัยการศึกษาระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ส่งผลต่อการชักนำยอดของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก บนสูตรอาหาร MS เติม BA ที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาล 13.5 กรัม ปรับค่า pH เท่ากับ 5.7 และเติมผงวุ้น 3.6 กรัม หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าการชักนำให้เกิดยอดของกระบองเพชร ที่เติม BA เข้มข้น 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BA เข้มข้น 1.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดจำนวนยอดเฉลี่ยได้มากที่สุด คือ 0.70 ยอดต่อชิ้นส่วน ดังตารางที่ 2 และภาพที่ 1

ตารางที่ 2 : ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ควบคุมปริมาณน้ำตาลและวุ้นหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

Culturemedia	ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน
Tr1	BA 0.0	0.20b
Tr2	BA 1.0	0.70b
Tr3	BA 2.0	0.23b
Tr4	BA 3.0	0.40b
Tr5	BA 4.0	0.70b
F-Test	*	
C.V. (%)	69.59	

จากตาราง พบว่า กระบองเพชรที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า กระบองเพชรที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.70 ยอดต่อชิ้น จากตาราง พบว่า กระบองเพชรที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.70 ยอดต่อชิ้นส่วน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Eugenio P. และคณะ พบว่าประสิทธิภาพการชักนำยอดสูงสุดของการะเพาะเลี้ยงกระบองเพชรสายพันธ์ *C. gigantean* บนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5.3 ยอดต่อชิ้นส่วนและในการเพาะเลี้ยงกระบองเพชรสายพันธุ์ *P. pringlei* และ *S. thurberi* ให้ผลดีที่สุดในการวางชิ้นส่วนเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 3.8 และ 4.3 ยอดต่อชิ้นส่วน [7] พบว่าจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสฮาโวเทียบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดจุดสีเขียว 75.00 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนการเกิดจุดสีเขียว 48.75 จุด ตามลำดับ เนื่องจากฮอร์โมน BA ที่มีความเข้มข้นไม่มาก เป็นปริมาณฮอร์โมนที่ช่วยเร่งการเกิดตุ่มหนามในกระบองเพชรและช่วยให้เกิดยอดได้ดีดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 : ลักษณะของยอดที่ได้จากการแคลลัสของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก บนสูตรอาหาร MS เติม BA ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

ก. อาหารสูตร MS + BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ข. อาหารสูตร MS + BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. อาหารสูตร MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ง. อาหารสูตร MS + BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. อาหารสูตร MS + BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

เปอร์เซ็นต์จำนวนราก (รากต่อชิ้นส่วน)

จากปัจจัยที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ส่งผลต่อการชักนำรากของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกระบองเพชรโนแม่ลูกดก การเพาะเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกในสภาพปลอดเชื้อ การผ่าตัดชิ้นส่วนกระบองเพชร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 เติมน้ำตาล 13.5 กรัม ปรับค่า pH เท่ากับ 5.7 และเติมผงวุ้น 3.6 กรัม หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า การชักนำให้เกิดรากของกระบองเพชร ที่เติม NAA เข้มข้น 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า NAA เข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยจำนวนรากได้มากที่สุด คือ 21.70 รากต่อชิ้นส่วน ดังตารางที่ 3

ตารางที่ : 3 ค่าเฉลี่ยจำนวนรากของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ควบคุมปริมาณน้ำตาลและวุ้นหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

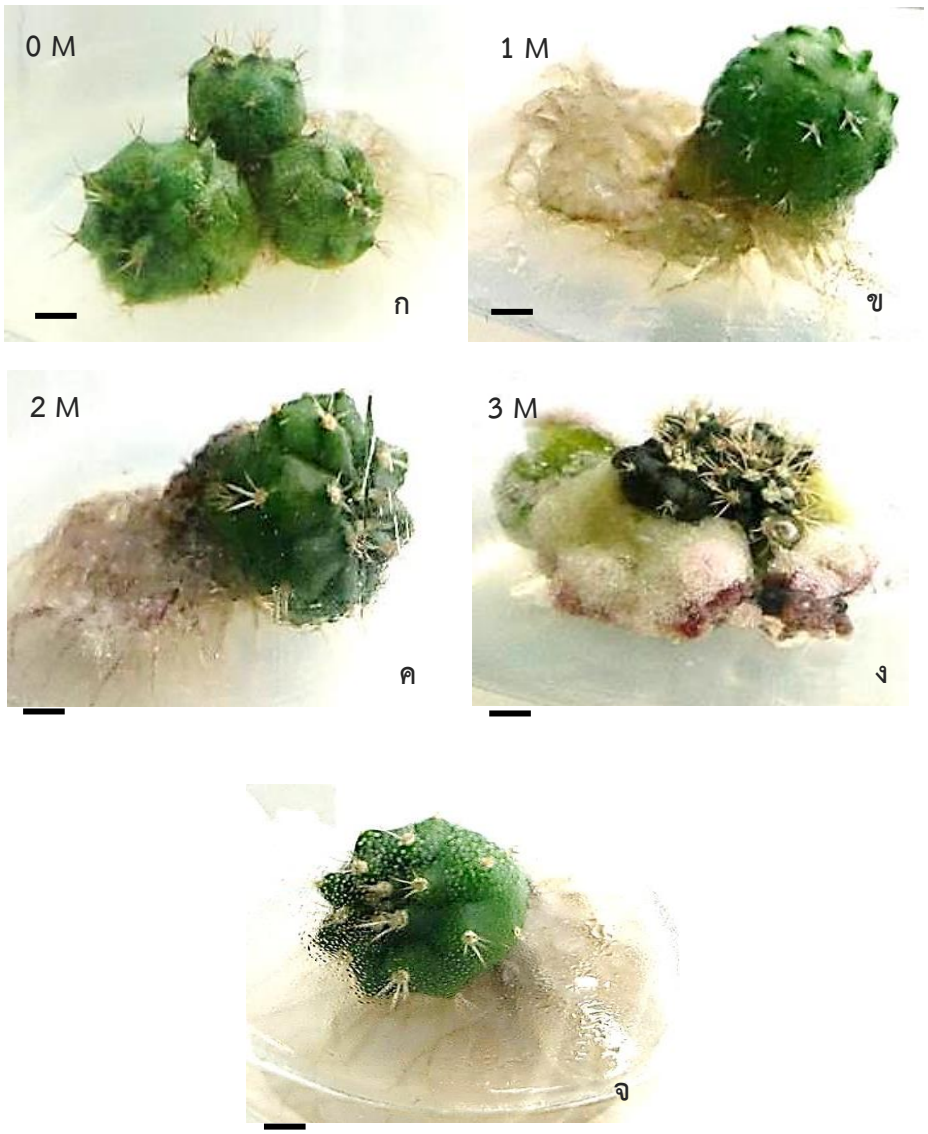
Culturemedia	ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน
Tr6	NAA 0.0	12.79a
Tr7	NAA 1.0	13.20a
Tr8	NAA 2.0	14.20a
Tr9	NAA 3.0	20.03ab
Tr10	NAA 4.0	21.70b
F-Test	*	
C.V. (%)	81.47	

จากตารางผลของจำนวนรากหลังจากการเพาะเลี้ยงกระบองเพชรสายพันธุ์ยิมโนแม่ลูกดกบนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA พบว่า การชักนำให้เกิดรากของกระบองเพชร ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า กระบองเพชรที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยได้มากที่สุด คือ 21.70 รากต่อชิ้นส่วน รองลงมาที่เติม NAA ความเข้มข้น 3, 2, 1และ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 20.03, 14.20, 13.20 และ 12.79 รากต่อชิ้นส่วนตามลำดับ อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตรมีการชักนำรากได้ดีที่สุด เนื่องจากเป็นสูตรอาหารที่มีปริมาณฮอร์โมน NAA สูงสุด ตามคุณสมบัติของสารกลุ่มออกซินในการกระตุ้นการออกรากมีสองรูปแบบคือกระตุ้นให้เกิดจุดกำเนิดราก (root initiation) และกระตุ้นการเจริญของราก (root development) โดยในการกระตุ้นให้เกิดจุดกำเนิดรากพืชมักต้องการออกซินในระดับความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูงเพื่อทำให้เนื้อเยื่อพัฒนาเกิดเป็นตาราก (root buds) จากนั้นออกซินที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าช่วยส่งเสริมให้พัฒนายืดยาวต่อไป [8] ดังภาพที่ 2

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสูตรอาหารที่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของกระบองเพชรยิมโนลูกดกด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกระบองเพชรยิมโนลูกดกบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ที่ ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนของกระบองเพชรยิมโนลูกดกที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เติม BA เข้มข้น 1.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ยได้มากที่สุด คือ 0.70 ยอดต่อชิ้นส่วน และหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA เข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยได้มากที่สุด คือ 21.70 รากต่อชิ้นส่วน



ภาพที่ 2 : ลักษณะของรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นแคลลัสของกระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดก บนสูตรอาหาร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

ก. อาหารสูตร MS + NAA ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. อาหารสูตร MS + NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. อาหารสูตร MS + NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. อาหารสูตร MS + NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. อาหารสูตร MS + NAA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข้อเสนอแนะ

1. สามารถทำการทดลองนำอวัยวะส่วนอื่นๆ ของกระบองเพชร มาขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อศึกษา

การเจริญเติบโต

2. สามารถนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงปลูกสถานที่จริงได้ เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของกระบองเพชรต่อไป

3. ควรนำสูตรอาหาร ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ศึกษาต่อเพื่อนำไปใช้กับกระบองเพชรสายพันธุ์อื่นและเพื่อประโยชน์ในการปลูกกระบองเพชรชนิดอื่นต่อไป

การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำไปใช้ด้านการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชรวมถึงการขยายพันธุ์พืช [5]
2. มีข้อที่เป็นประโยชน์สูงสุดสำหรับผู้ที่สนใจด้านการขยายพันธุ์กระบองเพชรสายพันธุ์ยิมโนแม่ลูกดก
3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้นให้ได้มากในระยะเวลาอันสั้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาววริญา นวลนุช เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านอุปกรณ์และเครื่องมือ และให้คำแนะนำเป็นอย่างดีมาโดยตลอดจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้รับการช่วยเหลือและกำลังใจจากคุณพ่อ คุณแม่ และเพื่อนๆ ตลอดจนบุคคลต่าง ๆที่ให้ความช่วยเหลืออีกมากที่ผู้วิจัยไม่สามารถกล่าวนามได้ทั้งหมด ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง จึงกราบขอบพระคุณและขอบคุณไว้ในโอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] ภวพล ศุภนันทนานนท์, *แคคตัส (CACTUS)*. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน, 2559.

[2] สุภาวดี รามสูตรม, *ตำราการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช Plant Tissue culture*. นครศรีธรรมราช: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช, 2559.

[3] สมปอง เตชะโต, *บทปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก (พิมพ์ครั้งที่ 3).* สงขลา:มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2552.

[4] ประสาทพร สมิตะมาน, *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: เทคนิคและการประยุกต์ใช้.* เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2541.

[5] รังสกฤษฎ์ กาวีต๊ะ, *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค (พิมพ์ครั้งที่ 3)*. กรุงเทพฯ :มหาวิยาลัย เกษตรศาสตร์, 2545.

[6] P. Eugenio, E. Martha and L. M. De, “In Vitro Conservation of Turbinicarpus (Cactaceae) Under Slow Growth Conditions”, *Journal of Bioone***,** vol. 17, pp. 51-57, 2012.

[7] นูรมา มาสากี, สมปอง เตชะโต และสุรีรัตน์ เย็นช้อน, “ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัส และยอดของฮาโวเทียในหลอดทดลอง,”*วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, ปีที่ 3, ฉ. 2, น. 76-82, 2559.

[8] พีรเดช ทองอำไพ, *ฮอรโมนพืชและสารสังเคราะห: แนวทางการใช้ประโยชนในประเทศไทย*. กรุงเทพฯ: วิชัยการพิมพ์, 2537.