อัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นแก้วมังกร

Optimum Concentration Rates of Growth Regulators in Dragon Fruit Stem Tissue Culturing Nutrient Media

เอื้อมขวัญ กิจไพฑูรย์

นักศึกษาชั้นปีที่ 4(2543) ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12121

อริยา สาตรพันธุ์

โรงเรียนจิตรลดา ถ.ราชวิถี เขตดุสิต กรุงเทพฯ 10300

บุญหงษ์ จงคิด

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12121

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงแก้วมังกร [*Hylocereus undatus* (Haw)] เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการสร้างแคลลัส, ยอด และราก ได้ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโรงเรียนจิตรลดา โดยการทดลองนี้ได้เริ่มตั้งแต่เดือน ธันวาคม 2542 จนถึง กรกฎาคม 2543 ตัดส่วนของลำต้นแก้วมังกรยาวประมาณ 3-5 เซนติเมตร มาล้างทำความสะอาด และฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยา clorox จากนั้นตัดลำต้นแก้วมังกรที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วให้ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) ที่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชดังนี้ อาหาร MS ที่เติม 1-napthaleneacetic acid (NAA) 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ benzyladenine (BA) 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่เติม NAAO.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร , อาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้อาหาร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชเป็นตัวควบคุม โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ จากการศึกษาพบว่าลำต้นแก้วมังกรเกิดแคลลัสได้ดี 100% ภายใน 3 สัปดาห์เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่มี NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการชักนำให้เกิดยอด พบว่าชิ้นส่วนแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด มีค่าเฉลี่ยการเกิดยอดเท่ากับ 1.2 และ 1.6 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ ส่วนการเกิดรากของแก้วมังกรพบว่าสูตรอาหารที่เร่งให้มีการเกิดรากได้ดีคืออาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดรากเฉลี่ย 0.6 และ 1.55 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชใน 3 สัปดาห์และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ ส่วนการศึกษาการชักนำให้ยอดต้นแก้วมังกรที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อเกิดราก โดยใช้สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0 , 0.5 , 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารที่มีความเข้มข้นของ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรให้จำนวนรากสูงที่สุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.05 และ 4.85 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชเมื่อเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ และเมื่อนำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารดังกล่าวย้ายออกปลูกลงดินโดยคลุมถุงพลาสติกในช่วงสัปดาห์แรก และเจาะรูเพิ่มมากขึ้นทุกสัปดาห์ จนครบ 8 สัปดาห์ แล้วนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมปกติ พบว่าต้นที่ได้รับการเพาะเลี้ยงสามารถมีชีวิตรอด 100%

Abstract

Based on CRD experimental design with 4 replications, investigation of optimal medium for Dragon fruit *Hylocereus undatus* (Haw) callus, shoot and root formations had been carried out from December 1999 to July 2000 under the plant tissue culture laboratory of Chitralada school. Surface sterilization of Dragon fruit shoot was done by use of 10% clorox plus 2 drops of Tween20 followed by 5% clorox plus 2 drops of Tween20. Atter sterilization the 1 cm-cut stems were rinsed with sterilized water and cultured on the Murashige and Skoog medium (MS) with various combinations of growth regulators i.e. MS medium with 0.1 mg/l of 1-napthaleneacetic acid(NAA) and 1.0 mg/l of benzyladenine(BA) , MS medium with 0.1 mg/l of NAA and 2.0 mg/l of BA, MS medium with 2.0 mg/l of NAA and 0.1 mg/l of BA, whereas MS medium without growth regulator was used as control. The results showed that 100% callus formation was evident after culturing for 3 weeks on the MS medium with 0.1 mg/l of NAA and 1.0 mg/l of BA as well as on MS medium with 0.1 mg/l of NAA and 2.0 mg/l of BA. In case of shoot formation, the cut stems of Dragon fruit on MS medium with 0.1 mg/l of NAA and 1.0 mg/l of BA could develop the best shoot formation for 1.2 and 1.6 shoots per 1 explant after culturing for 3 and 6 weeks, respectively. The best root formation could be detected on the MS medium with 2.0 mg/l of NAA and 0.1 mg/l of BA by giving 0.6 and 1.55 roots per 1 explant after culturing for 3 and 6 weeks, respectively. It was also evident that 2.0 mg/l of NAA concentration gave the greatest number of root per explant viz. 3.05 and 4.85 roots after culturing for 4 and 8 weeks, respectively. The young plants cultured from the optimal medium showed 100% survival when grown in the soil under natural conditions after covering with the porous plastic bag for 8 weeks.

1.คำนำ

ต้นแก้วมังกร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Hylocereus undatus (Haw) มีถิ่นกำเนิดในแถบประเทศอเมริกากลาง และได้มีการนำพันธุ์มาปลูกเผยแพร่ในประเทศเวียดนาม แก้วมังกรเป็นที่รู้จักกันเป็นอย่างดีในแถบเอเชีย เช่น สิงคโปร์ มาเลเซีย อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น และฮ่องกง เป็นไม้ผลที่ชาวต่างชาติที่มีเชื้อสายจีนนิยมกันมาก โดยเชื่อว่าสามารถช่วยรักษาโรคบางชนิด แก้วมังกรมีชื่อที่เป็นมงคล และมีผลที่สวยงามทำให้แก้วมังกรเป็นที่นิยมในหมู่ชาวจีน

แก้วมังกรเป็นพืชในตระกูลตะบองเพชร มีลักษณะต้นเลื้อย ลำต้นมีสามแฉก มีหยัก ๆ โดยรอบ มีสีเขียวเข้มตลอดลำต้น ยกเว้นเฉพาะช่วงที่แตกยอดอ่อนเท่านั้น ลำต้นอ่อนมีสีเขียวอ่อนเพียงชั่วระยะเวลาสั้น ๆ แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม รากของแก้วมังกรนั้นจะพันกันอย่างเหนียวแน่นในหลุมดิน และสามารถเกาะตามเสาที่ทำไว้ให้เกาะได้ ผลจะมีรูปร่าง กลม ๆ รีๆ เมื่อแก่จัดจะมีสีม่วงแดง หรือสีบานเย็น มีกลีบเลี้ยงสีเขียวติดอยู่โดยรอบผล การขยายพันธุ์ที่นิยมทำกันโดยทั่วไปจะขยายพันธุ์โดย การปักชำ การต่อกิ่งต่อยอด และการขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด[1]

ในด้านการค้า ข้อได้เปรียบของผลแก้วมังกรที่น่าสนใจคือสามารถเก็บไว้ในห้องเย็นได้โดยไม่เสียรูปทรงเป็นระยะเวลานานถึง 20 วัน และในปัจจุบันนี้เริ่มมีการสนใจในการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ จากแก้วมังกรมากขึ้น เช่น การทำแยม ทำสลัด และทำไอศกรีม เป็นต้น แก้วมังกรเป็นพืชที่น่าสนใจและมีแนวโน้มเป็นพืชเศรษฐกิจได้[2] และเนื่องจากยังไม่มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นแก้วมังกร[2,3] ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโต napthaleneacetic acid (NAA) และ benzyladenine (BA) ที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Murashige and Skoog Medium (MS) ทั้งนี้เพื่อให้เกิดกลุ่มเซลล์ (callus) ยอด และรากของต้นแก้วมังกรในปริมาณและเวลาที่ดีที่สุด

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช[4]

2.1.1 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากสูตรอาหาร MS (เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร)

2.1.2 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากสูตรอาหาร MS + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.1.3 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากสูตรอาหาร MS + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.1.4 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากสูตรอาหาร MS + NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปรับอาหารทุกสูตรให้มี pH = 5.8 ด้วย 1 N HCl หรือ 0.5 KOH จากนั้นบรรจุใส่ขวดแล้วนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2.2 การฟอกฆ่าเชื้อ

นำลำต้นของแก้วมังกรมาตัดให้มีขนาด 2-3 เซนติเมตร จากนั้นล้างด้วยน้ำผสม detergent แล้วนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาที เพื่อขจัดไขมันที่ผิว แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยา clorox 10% ผสมกับ สารเปียกใบ 1 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร นาน 15 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนของพืชมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง บันทึกอัตราการปนเปื้อนและอัตราความปลอดเชื้อ [5,6]

2.3 การเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรต่าง ๆ

นำชิ้นส่วนของต้นแก้วมังกรที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดส่วนปลายที่สัมผัสกับน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อออก ตัดออกเป็นชิ้น ๆ ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตรแล้วใช้ aseptic technique นำลำต้นไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้ง 4 สูตรที่เตรียมไว้ สูตรละ 10 ชิ้น และทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง [5,7] บันทึกการทดลองทุกสัปดาห์โดยหาอัตราการเกิดรากและเกิดยอดใหม่ในอาหารแต่ละสูตร และหาค่าเฉลี่ยจำนวนต้นใหม่ที่เกิดขึ้น

2.4 การชักนำให้เกิดราก

ตัดลำต้นแก้วมังกรที่มีความสูงประมาณ 2 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหาร 4 สูตรๆ ละ 10 ชิ้น และทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง บันทึกผลการทดลองทุกสัปดาห์โดยหาอัตราการเกิดรากในอาหารแต่ละสูตร และหาค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่เกิดขึ้น

2.5 การย้ายออกปลูกลงดิน

ใช้ปากคีบดึงต้นแก้วมังกรที่มีรากแข็งแรงออกจากอาหารสำหรับชักนำให้ออกราก ล้างด้วยน้ำสะอาด แช่ในสารละลายของยาป้องกันรา 1 นาที และปลูกในกระถางที่มีดินผสมที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว รดด้วยน้ำผสมปุ๋ยเจือจาง ครอบกระถางด้วยถุงพลาสติกเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ วางไว้ในห้องอุณหภูมิ 25± 2°C ช่วงแสง 16 ชั่วโมง/วัน เจาะรูที่ถุงพลาสติกเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ๆ ละ 10 รู และนำถุงพลาสติกออกในสัปดาห์ที่ 8 บันทึกอัตราการรอดชีวิต

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงต้นแก้วมังกร

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก้วมังกร (Hylocereus undatus (Haw)) ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่าอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดได้ดี คืออาหาร MS เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยการเกิดยอดเท่ากับ 1.2 และ 1.6 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ และ อาหาร MS เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยการเกิดยอดเท่ากับ 0.4 และ 1.45 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต(control) ที่มีค่าเฉลี่ยการเกิดยอดเท่ากับ 0.1 และ 0.45 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ ส่วนอาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยการเกิดยอดน้อยที่สุดเท่ากับ 0.1 และ 0.15 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ ดังแสดงใน ตารางที่ 1 และภาพที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 3 และ 6 สัปดาห์ (จำนวนยอดต่อ 1 ชิ้น ส่วนพืช)

media	3 สัปดาห์	6 สัปดาห์
MS+NAA 0.1 มก.ต่อลิตร+ BA 1.0 มก.ต่อลิตร	1.2a	1.6a
MS+NAA 0.1 มก.ต่อลิตร+ BA 2.0 มก.ต่อลิตร	0.4b	1.45a
MS+NAA 2.0 มก.ต่อลิตร+ BA 0.1 มก.ต่อลิตร	0.1c	0.15b
MS(control)	0.1c	0.45b

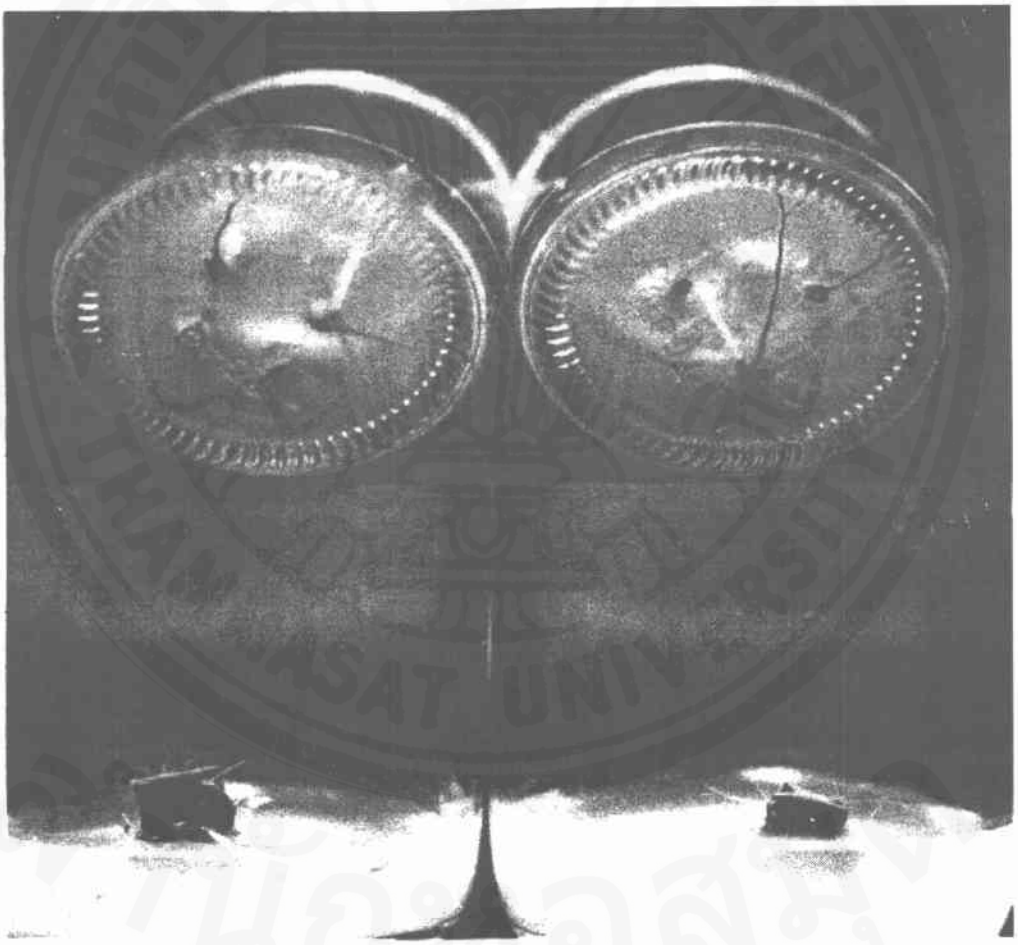
MS MS+NAA0.1+BA1.0 MS+NAA0.1+BA2.0

ภาพที่ 1 การเกิดยอดของเนื้อเยื่อต้นแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงในอาหารต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณรากที่เกิดขึ้น พบว่าสูตรอาหารที่ทำให้เกิดรากดี คือ MS ที่เติม NAA2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 0.6 และ 1.55 รากต่อ 1 ชิ้น ส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ และอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าเฉลี่ยรากเท่ากับ 0.2 และ 0.8 รากต่อ 1 ชิ้น ส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ ซึ่งเท่ากับอาหาร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (control) ส่วนในอาหารMS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่เกิดรากตลอด 6 สัปดาห์ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนรากเฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 3 และ 6 สัปดาห์ (จำนวนรากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช)

media	3 สัปดาห์	6 สัปดาห์
MS+NAA 0.1 มก.ต่อลิตร+ BA 1.0 มก.ต่อลิตร	0.2ab	0.8b
MS+NAA 0.1 มก.ต่อลิตร+ BA 2.0 มก.ต่อลิตร	0b	0c
MS+NAA 2.0 มก.ต่อลิตร+ BA 0.1 มก.ต่อลิตร	0.6a	1.55a
MS(control)	0.2ab	0.8b



ภาพที่ 2 การเกิดรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นแก้วมังกรในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ส่วนการเกิดแคลลัสนั้นเกิดได้ดี 100% ภายใน 3 สัปดาห์ ในชิ้นส่วนแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับในอาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถเกิดแคลลัสได้ 65% และ 85% เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (control) ซึ่งสามารถเกิดแคลลัสได้ 60% และ 100% ในเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ก็สามารถเกิดแคลลัสได้เองโดยไม่ต้องใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชแต่อย่างใด และแคลลัสที่ได้จากอาหารทั้ง 4 สูตรนี้จะมีลักษณะเป็นปุย ฟู สีเขียวอ่อน และเกิดขึ้นบริเวณรอยตัดของลำต้นแก้วมังกร ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 3

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 3 และ 6 สัปดาห์

media	3 สัปดาห์	6 สัปดาห์
MS+NAA 0.1 มก.ต่อลิตร+ BA 1.0 มก.ต่อลิตร	100a	100a
MS+NAA 0.1 มก.ต่อลิตร+ BA 2.0 มก.ต่อลิตร	100a	100a
MS+NAA 2.0 มก.ต่อลิตร+ BA 0.1 มก.ต่อลิตร	65b	85b
MS(control)	60b	100a

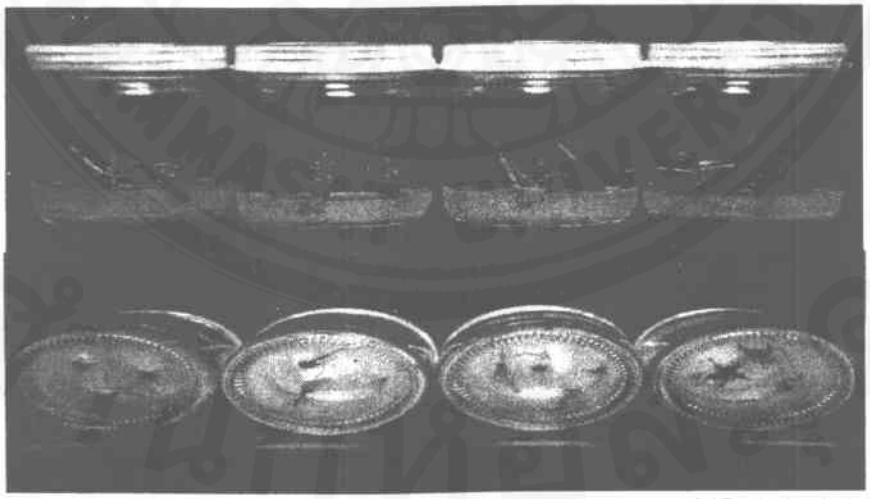
ภาพที่ 3 ลักษณะการเกิดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นแก้วมังกรเป็นเวลา 3 สัปดาห์

3.2 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ออกราก

การทดลองชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์พบว่าอาหารที่ชักนำให้เกิดรากได้ดี คือ อาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากเท่ากับ 3.05 และ 4.85 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ รากที่ได้มีปริมาณมาก ขนาดใหญ่ แข็งแรง สั้น และในอาหาร MS ที่เติม NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 1.7 และ 3.25 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ จำนวนรากน้อยกว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และรากมีขนาดเล็ก ผอมยาว ในขณะที่อาหาร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณรากน้อยเท่ากับ 1.4 และ 2.45 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ และรากมีลักษณะผอมยาวกว่า 2 สูตรข้างต้น เมื่อเทียบกับอาหาร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (control) พบว่ามีปริมาณการเกิดรากน้อยมากเท่ากับ 0.25 และ 0.55 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ โดยสูตรนี้จะมีปริมาณรากน้อยที่สุด และรากมีลักษณะผอมยาว ไม่แข็งแรง ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนรากเฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรในอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในปริมาณต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 4 และ 8 สัปดาห์ (จำนวนรากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช)

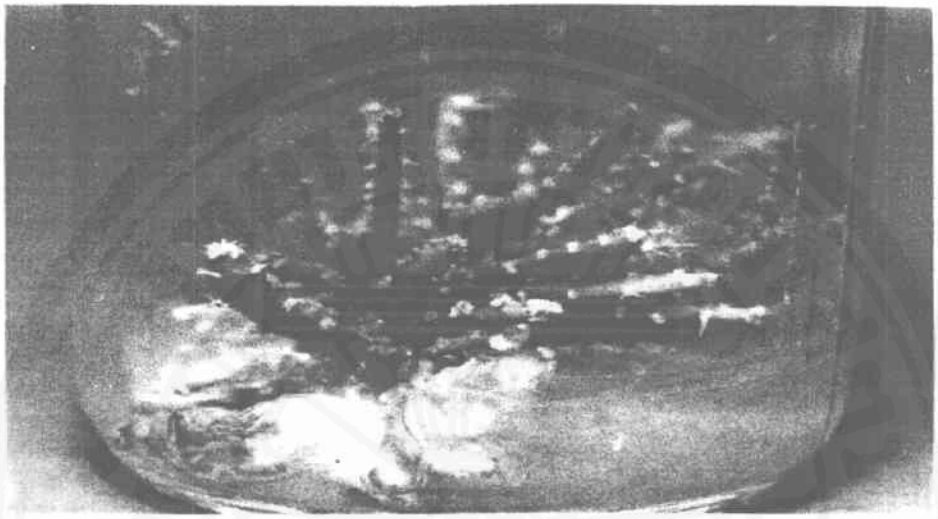
media	4 สัปดาห์	8 สัปดาห์
MS+NAA 0.5 มก.ต่อลิตร	1.4b	2.45b
MS+NAA 1.0 มก.ต่อลิตร	1.7b	3.25b
MS+NAA 2.0 มก.ต่อลิตร	3.05a	4.85a
MS(control)	0.25c	0.55c



MS MS+NAA0.5 MS+NAA0.5 MS+NAA0.5

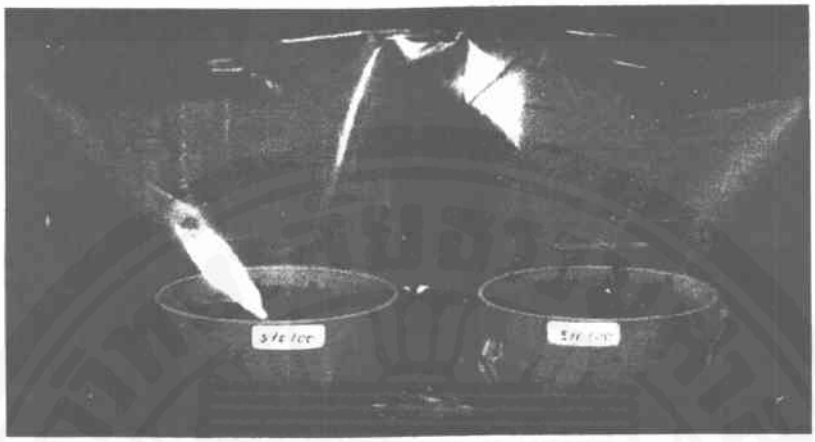
ภาพที่ 4 ลักษณะการเกิดรากจากการเพาะเลี้ยงต้นแก้วมังกรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ในอาหารที่มีการเติม NAA ในปริมาณที่ต่างกัน

เมื่อนำต้นแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 3 เดือน แล้วย้ายออกปลูกลงดินพบว่าต้นแก้วมังกรสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญเติบโตได้ดีทุกต้น ดังแสดงในภาพที่ 5-7



ภาพที่ 5 การเจริญของชิ้นส่วนแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน

ภาพที่ 6 ต้นแก้วมังกรที่ย้ายออกปลูกลงดินที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว



ภาพที่ 7 ต้นแก้วมังกรที่ย้ายออกปลูกลงดินที่อบฆ่าเชื้อแล้วโดยมีถุงพลาสติกใสครอบ และมีการการเจาะรูเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์เพื่อรักษาความชื้นและช่วยในการปรับตัวให้กับแก้วมังกรในระยะแรก

จากการทดลองการเจริญเติบโตของลำต้นแก้วมังกรในอาหาร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน พบว่าอาหารที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้ลำต้นมังกรเกิดยอดได้มากที่สุด เท่ากับ 1.2 และ 1.6 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ แต่ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีการเพิ่มปริมาณ BA ซึ่งเป็นสารที่ช่วยในการเกิดยอดนั้นกลับทำให้ปริมาณยอดที่ได้ลดลงโดยมียอดเฉลี่ยเกิดขึ้นเพียง 0.4 และ 1.45 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นสูงเกินไปสำหรับการชักนำให้เกิดยอดของแก้วมังกรจึงทำให้เกิดยอดลดลง และในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการเกิดยอดน้อยที่สุดเท่ากับ 0.1 และ 0.15 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ ซึ่งมียอดน้อยกว่าอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เนื่องมาจากมีปริมาณ BA ต่ำเพียง 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณ NAA ที่สูงถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็จะมีผลไปยับยั้งการเจริญทางยอดของต้นแก้วมังกร [8 ,9]

เมื่อพิจารณาการเกิดรากจากการทดลองในอาหาร 4 สูตรข้างต้น พบว่าอาหารที่ทำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คืออาหารที่มีการเติม NAA ในปริมาณสูง ก็คือ MS ที่มีการเติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้มีการเกิดรากเป็น 0.6 และ 1.55 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ โดยที่อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเท่ากับอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เท่ากับ 0.2 และ 0.8 รากต่อ 1 ชิ้น ส่วนพืชเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถทำให้เกิดรากได้ใน 6 สัปดาห์เนื่องมาจากปริมาณ NAA ที่ต่ำ และอิทธิพลของ BA ที่สูงมีผลไปยับยั้งการเกิดรากของแก้วมังกร [10]

ในการเกิดแคลลัสนั้น พบว่า อาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดแคลลัสได้ 100% ภายใน 3

สัปดาห์ ในขณะที่อาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช มีการเกิดแคลลัสเท่ากับ 60% ใน 3 สัปดาห์ และ 100% เพื่อเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ แสดงให้เห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรเป็นเวลา 6 สัปดาห์ก็สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้โดยไม่ต้องใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ส่วนอาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นให้การเกิดแคลลัสเป็น 65% และ 85 % เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ เนื่องมาจาก NAA ในปริมาณที่สูง 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรจะไปยับยั้งพัฒนาการการเกิดแคลลัสของชิ้นส่วนพืช[10]

ในการทดลองหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ออกราก พบว่าปริมาณ NAA มีผลโดยตรงต่อการเกิดรากของแก้วมังกร โดยแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณ NAA ที่สูงจะมีแนวโน้มให้ปริมาณรากมากกว่า มีขนาดใหญ่กว่า และแข็งแรงกว่าแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณ NAA ที่ต่ำ

การทดลองนี้จึงแสดงถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก้วมังกรเพื่อเป็นประโยชน์ในการขยายพันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์ และการศึกษาต่อไป

4. สรุปผลการทดลอง

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนแก้วมังกรให้มีปริมาณมาก โดยเพิ่มการเจริญเติบโตของยอด ราก และแคลลัสได้อย่างเหมาะสมและรวดเร็วทำได้โดยเพาะเลี้ยงลำต้นแก้วมังกรในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 1.6 ยอดต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช และทำให้เกิดรากได้เฉลี่ย 0.8 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช ในเวลา 6 สัปดาห์ และสามารถเกิดแคลลัสได้ 100% ในเวลา 3 สัปดาห์

ส่วนการย้ายชิ้นส่วนพืชดังกล่าวลงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถให้รากได้เฉลี่ย 4.85 รากต่อ 1 ชิ้นส่วนพืช ในเวลา 8 สัปดาห์ และเมื่อนำชิ้นส่วนพืชดังกล่าวมาออกปลูกในสภาพธรรมชาติก็สามารถมีชีวิตรอดได้ 100%

5. เอกสารอ้างอิง

[1] สุรพงษ์ โกสิยะจินดา , ผลแก้วมังกร , เคหะการเกษตร 23 , น.46-53 , 2542.

[2] เปรมปรี ณ สงขลา , สำรวจไม้ตลาดเศรษฐี (อตก.) , รายงานชาวสวน , น.61-63 , 2541.

[3] วรพจน์ สิริยุตตะ , แก้วมังกร , โรงพิมพ์จูปิตัส , กท.,73 น. , 2542.

[4] Murashige , T.and Skoog , F., A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture, Physiol. Plant, Vol. 15 , pp. 473-497 , 1962.

[5] อริยา สาตรพันธุ์ , หลักการเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช , คู่มือปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช , โรงเรียนจิตรลดา , กท., 21 น. , 2539.

[6] อรดี สหวัชรินทร์ , การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช , ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กท., 49 น., 2538.

[7] บุญยืน กิจวิจารณ์ , หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช , ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , 165 น.,2538.

[8] Murashige , T., Shalode , M.N., Hasegawa , P.M., Takaton , F.H. and Jones , J.B., Propagation of Asparagus through Root Apex Culture. Nutrient Medium for Formation of Plantlets, J.of the American Society for Hort. Science, Vol.97 , pp.158-161 , 1972.

[9] Stoltz, L.P.and Cody , R.P. , In Vitro Studies on the Asexual Propagation of Asparagus officinalis , Hort. Sc., Vol.5 , p.353 , 1970.

[10] Weaver , R.T., Plant Growth Substances in Agriculture, U. of California , California , 1972.