



การขยายพันธุ์ต้นลิงลาว (*Tupistra albiflora* K. Larsen)

ในสภาพธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Natural Propagation and Micropropagation of *Tupistra albiflora* K. Larsen

จิราภรณ์ ปาลี

โปรแกรมวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย 57100

E-mail: jik_jaja@hotmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นลิงลาว (*Tupistra albiflora* K. Larsen) ซึ่งได้ทำการทดลองขยายพันธุ์ต้นลิงลาวด้วยวิธีการเพาะเมล็ดตามธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้กระบวนการวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม (Participatory Action Research: PAR) ระหว่างนักวิจัยกับชาวบ้านในตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ จากการทดลองพบว่าอัตราการงอกของเมล็ดตามธรรมชาติจะดีขึ้นเมื่อนำเมล็ดลิงลาวมาแช่ในน้ำอุ่นเป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปปลูก โดยมีอัตราการงอกของเมล็ด 84% ภายในเวลา 8 สัปดาห์ ขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดและเอ็มบริโอบนอาหารวุ้นสูตร MS นั้น พบว่า การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลอ่อนลิงลาวให้เปอร์เซ็นต์การงอกดีกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ด โดยมีอัตราการงอกสูงสุด 100% นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ยังมุ่งศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิงลาว โดยการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งจากการทดลองพบว่า เอ็มบริโอลิงลาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและรากสูงสุด 100% โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.0 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และพบการเกิดรากเฉลี่ย 2.0 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

คำสำคัญ: การขยายพันธุ์ การวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต้นลิงลาว

Received: July 27, 2016

Revised: December 07, 2016

Accepted: December 21, 2016

Abstract

The purpose of this research was to study a potential method for the proliferation of *Tupistra albiflora* K. Larsen. The natural propagation of seeds and *in vitro* propagation were examined. The methodological process was based on participatory action research (PAR) between researchers and folks in Thepsadej communities, Doisaket district in Chiang Mai province. The results showed that the natural germination of seeds was increased when the seeds were soaked with warm-water overnight before transplanting, which the germination rate was 84% within 8 weeks. While the result of *in vitro* propagation with mature seeds and embryos on MS agar medium demonstrated that the germination of the embryo culture was higher than those found in the *in vitro* mature seed culture. The embryo culture from young fruits gave the highest germination of 100%. In addition, the influence of BA on *in vitro* embryo culture of *T. albiflora* was also studied. The embryos were cultured on MS agar medium supplemented with 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 mg/l BA for 8 weeks. This research revealed that the MS agar medium containing 0.5 mg/l BA induced 100% of shoot and root formations with the highest number of 4.0 shoots per explant and the number of 2.0 roots per explant.

Keywords: Propagation, Participatory Action Research, Micropropagation, Embryo culture, *Tupistra albiflora*

1. บทนำ

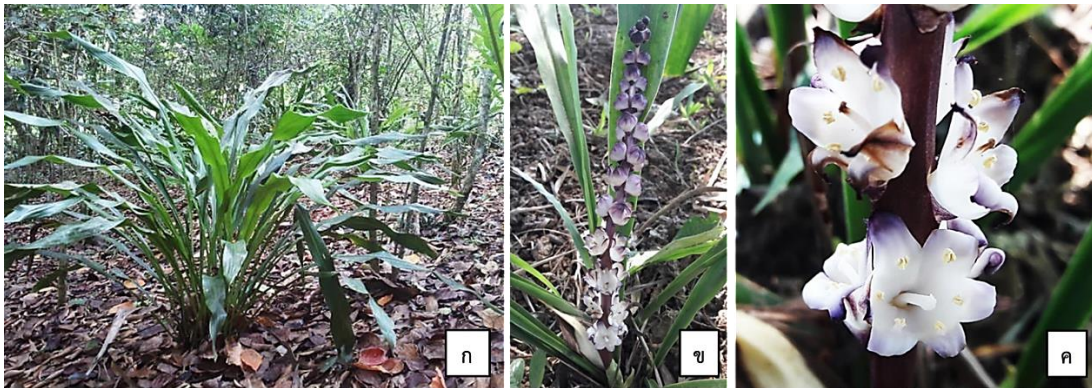
“ลิงลาว” (รูปที่ 1) เป็นพืชป่า สามารถพบได้ทั่วไปโดยเฉพาะพื้นที่สูงทางภาคเหนือ อาทิ ในจังหวัดเชียงราย และเชียงใหม่ เป็นต้น ลิงลาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tupistra albiflora* K. Larsen เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่จัดอยู่ในวงศ์ Asparagaceae [1-2] มีเหง้าอยู่ใต้ดิน ลักษณะใบคล้ายใบพลับพลึงแต่ขนาดเล็กกว่า ต้นลิงลาวจะมีการออกดอกในช่วงเดือนพฤศจิกายน – มกราคมของทุกปี ดอกออกเป็นช่อ ช่อดอกมี 3 สี คือ สีเขียวปนม่วง สีขาวอมม่วง และสีม่วงเข้ม ผลมีลักษณะกลม ผิวเปลือกหนาและขรุขระ ภายในมีเมล็ด 3 – 4 เมล็ด ดอกและผลอ่อนของลิงลาวสามารถนำมารับประทานเป็นอาหารได้ โดยนิยมนำมาประกอบอาหารในหลากหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นผัด แกง ต้ม หรือรับประทาน

ดอกสดเป็นเครื่องเคียงกับลาบหรือน้ำพริกก็ได้ ดอกลิงลาวสามารถนำไปขายสร้างรายได้เสริมให้กับชาวบ้านในชุมชนได้ โดยมีราคาอยู่ที่กิโลกรัมละ 100 – 120 บาท [3] ซึ่งจากงานวิจัยเรื่อง “การจัดการต้นลิงลาวสู่เศรษฐกิจชุมชนตามแนวทางการเศรษฐกิจพอเพียง พื้นที่ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่” พบว่า ต้นลิงลาวนอกจากจะเป็นพืชอาหารท้องถิ่นที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นพืชเศรษฐกิจของชุมชนแล้ว ยังมีคุณสมบัติในการอนุรักษ์พื้นที่ต้นน้ำลำธาร ช่วยป้องกันการชะล้างพังทลายของหน้าดินอีกด้วย [4] จากคุณสมบัติของต้นลิงลาวดังที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้มีการส่งเสริมและสนับสนุนให้ชาวบ้านในพื้นที่ ต.เทพเสด็จ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ ปลูกต้นลิงลาวผสมผสานในพื้นที่สวนเมือง สวนกาแฟ

รวมถึงพื้นที่เกษตรกรรมต่างๆ ส่งเสริมให้ปลูกต้น
ลิ้นจี่ในพื้นที่ลาดชันเพื่อป้องกันการพังทลายของ
หน้าดิน ซึ่งดอกและผลอ่อนของต้นลิ้นจี่ยังสามารถ
เก็บขายสร้างรายได้เสริมให้กับชาวบ้านใน
ชุมชนได้อีกทางหนึ่งด้วย

เมื่อความต้องการต้นพันธุ์ลิ้นจี่ของ
ชาวบ้านในชุมชนเพิ่มสูงขึ้น แต่การขยายพันธุ์ต้น
ลิ้นจี่โดยการเพาะเมล็ดในธรรมชาติยังทำได้
ค่อนข้างช้า อีกทั้งยังมีอัตราการงอกของเมล็ดที่
ค่อนข้างต่ำ ขณะที่การขยายพันธุ์โดยการแยกเหง้า
ต้องใช้เวลานานอย่างน้อย 1 ปี ต้นที่แยกมาปลูกจึงจะ
สามารถเก็บผลผลิตได้ [3] เทคนิคการเพาะเลี้ยง
เนื้อเยื่อพืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งซึ่งผู้วิจัยเล็งเห็นว่า
น่าจะสามารถช่วยขยายพันธุ์ต้นลิ้นจี่ได้ โดยเป็น
เทคนิคที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในด้านการ
ขยายพันธุ์พืช ซึ่งพบว่าสามารถขยายพันธุ์พืชให้ได้
จำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็วและพบว่า
ประสบความสำเร็จมาแล้วในการขยายพันธุ์พืช
หลายๆ ชนิด เช่น ผักหวานป่า [5] กระเจียวขาว [6]
หนอนตายหยาก [7] เป็นต้น นอกจากนี้เทคนิคการ
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังสามารถช่วยแก้ปัญหาการ
พักตัวของเมล็ดได้อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่
พบเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยง
เนื้อเยื่อต้นลิ้นจี่ ดังนั้น เพื่อการขยายพันธุ์ต้นลิ้น
จี่ให้เพียงพอและทันต่อความต้องการของชุมชน
รวมถึงการพัฒนาองค์ความรู้เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อต้นลิ้นจี่ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลัก
เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นลิ้น
จี่ให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งได้
ทำการทดลองขยายพันธุ์ต้นลิ้นจี่ด้วยวิธีการเพาะ
เมล็ดตามธรรมชาติและการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการ
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่
นำมาใช้ในการทดลองนี้จะใช้วิธีการเพาะเลี้ยง
เนื้อเยื่อเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลอ่อน
ลิ้นจี่ ซึ่งเมื่อได้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลิ้นจี่ที่ดี
ที่สุดแล้ว การนำสารควบคุมการเจริญเติบโต
Benzyladenine (BA) มาใช้ร่วมกับการเพาะเลี้ยง
เนื้อเยื่อลิ้นจี่ถือว่าเป็นอีกเรื่องหนึ่งที่น่าสนใจ โดย
BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโต
ไคนิน (Cytokinins) ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์ในการ
กระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ กระตุ้นให้มีการแตกตา
ข้าง ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดของพืชเพาะเลี้ยง
โดยมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
พืชหลายๆ ชนิดที่พบว่า BA มีผลต่อการเพิ่มจำนวน
ยอด อาทิเช่น ผักหวานป่า [5] หนอนตายหยาก [7]
และต้นพรมมิ [8] เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยนี้จึง
มุ่งศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต
BA ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลิ้นจี่อีกด้วย โดยต้น
พันธุ์ลิ้นจี่ที่ได้จะนำไปแจกจ่ายให้กับชาวบ้านใน
ชุมชนหรือองค์กรต่างๆ เพื่อเป็นการอนุรักษ์และใช้
ประโยชน์จากต้นลิ้นจี่อย่างยั่งยืนต่อไป



รูปที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของดงลิงลาว ก) ลักษณะนิสัย ข) ช่อดอก และ ค) ดอกดงลิงลาว

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ดงลิงลาวในสภาพธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ดงลิงลาวเป็นการวิจัยที่ใช้กระบวนการวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม (Participatory Action Research: PAR) ที่มุ่งเน้นให้ชาวบ้านในชุมชนได้มีส่วนร่วมในการศึกษาวิจัย โดยได้เลือกพื้นที่ในการวิจัย คือ บ้านปางกำแพงหิน หมู่ที่ 8 ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งพบว่าชาวบ้านในชุมชนดังกล่าวมีการใช้ประโยชน์จากดงลิงลาวในหลากหลายด้าน โดยส่วนของดงลิงลาวที่ใช้ในการทดลอง คือ เมล็ดและเอ็มบริโอจากผลอ่อนดงลิงลาว (รูปที่ 2) ที่เก็บมาจากพื้นที่ดังกล่าว ซึ่งทางทีมวิจัยชุมชนบ้านปางกำแพงหินจะทำการศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ดงลิงลาวด้วยวิธีการเพาะเมล็ดตามธรรมชาติ ขณะที่นักวิจัยศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ดงลิงลาวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองย่อย ดังต่อไปนี้



รูปที่ 2 ส่วนของดงลิงลาวที่ใช้ในการทดลอง ก) เมล็ด และ ข) เอ็มบริโอที่อยู่ในผลอ่อน

2.1.1 การเพาะเมล็ดตามธรรมชาติ

การขยายพันธุ์ดงลิงลาวด้วยวิธีการเพาะเมล็ดนั้น จะมีทีมวิจัยชุมชนบ้านปางกำแพงหิน ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ร่วมกันวางแผนและทำการทดลอง โดยการนำเมล็ดดงลิงลาว (ภาพ 2ก) มาแช่น้ำเพื่อคัดเอาเมล็ดที่ไม่ดีทิ้งไป จากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการคัดเลือกแล้วมาทำการทดลองตามวิธีการดังต่อไปนี้

วิธีที่ 1 การนำเมล็ดมาเพาะลงในกระบะทราย (วิธีดั้งเดิม)

วิธีที่ 2 การนำเมล็ดไปแช่น้ำอุ่น 1 คืน ก่อนย้ายลงปลูกในกระบะทราย

ซึ่งการเพาะเมล็ดในทั้ง 2 วิธี จะมีการจัดทำเป็นแปลงทดลอง โดยนำเมล็ดมาเพาะในกระบะทราย จำนวน 12 แถว แถวละ 10 เมล็ด ไร่

น้ำ 2 ครั้งต่อวัน (เช้าเย็น) บันทึกข้อมูลอัตราการงอกในทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.1.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ด

นำเมล็ดลิลลว (ภาพ 2ก) มาแช่น้ำเพื่อคัดเอาเมล็ดที่ไม่ดีทิ้งไป จากนั้นแช่เมล็ดที่ผ่านการคัดเลือกแล้วลงในยาฆ่าเชื้อราคาเบนดาซิม 0.2% เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน 5 วิธี ดังนี้

วิธีที่ 1 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 20% นาน 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง

วิธีที่ 2 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 5 นาที

วิธีที่ 3 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 10 นาที

วิธีที่ 4 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 15 นาที

วิธีที่ 5 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 20 นาที

ย้ายเลี้ยงเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อจากทั้ง 5 วิธี ลงในอาหารวุ้นสูตร Murashige and Skoog (MS) [9] ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ Gellan Gum 2 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.8 โดยเลี้ยงภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์

เซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและอัตราการงอกของเมล็ดในทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.1.3 การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลอ่อนลิลลว

ผลอ่อนของลิลลวจะถูกนำมาล้างน้ำให้สะอาดก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟ จากนั้นผ่าแบ่งครึ่งผลลิลลวเพื่อเอาเอ็มบริโอที่อยู่ภายในออกมา (ภาพ 2 ข) ย้ายเลี้ยงเอ็มบริโอลงในอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ Gellan Gum 2 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.8 โดยเลี้ยงภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและอัตราการงอกของเมล็ดในทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.2 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิลลว

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิลลวถูกนำมาใช้ในการศึกษาอิทธิพลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของลิลลว โดยผลอ่อนลิลลวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟ จะถูกนำมาผ่าแบ่งครึ่ง เพื่อนำเอาเอ็มบริโอที่อยู่ด้านในมาย้ายเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ Gellan Gum 2 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.8 โดยเลี้ยงภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและราก และจำนวนยอดและรากเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2.3.1 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นลิ้นจี่ในสภาพธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรีย และเปอร์เซ็นต์การงอก จะใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ การงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดหรือเอ็มบริโอที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดหรือเอ็มบริโอทั้งหมด}} \times 100$$

$$\% \text{ การปนเปื้อน} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่ปนเปื้อน}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

2.3.2 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิ้นจี่

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (เอ็มบริโอ) จะใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$\% \text{ การเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนเอ็มบริโอที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนเอ็มบริโอทั้งหมด}} \times 100$$

$$\% \text{ การเกิดราก} = \frac{\text{จำนวนเอ็มบริโอที่เกิดราก}}{\text{จำนวนเอ็มบริโอทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{จำนวนยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ} = \frac{\text{ผลรวมของยอดทั้งหมด}}{\text{จำนวนเอ็มบริโอทั้งหมด}}$$

$$\text{จำนวนรากเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ} = \frac{\text{ผลรวมของรากทั้งหมด}}{\text{จำนวนเอ็มบริโอทั้งหมด}}$$

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) โดยนำข้อมูลจำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ย

ต่อชิ้นเนื้อเยื่อมาทำการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนข้อมูล (One-way analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการ Turkey test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นลิ้นจี่ในสภาพธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ข้อมูลในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นถึงอัตราการงอกของลิ้นจี่ที่ทำการเพาะขยายพันธุ์ด้วยวิธีการต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งจากการทดลองพบว่า การเพาะเมล็ดตามธรรมชาติจะดีขึ้น เมื่อนำเมล็ดไปแช่น้ำอุ่นเป็นเวลา 1 คืน ก่อนย้ายเมล็ดลงปลูกในกระบะทราย ซึ่งพบการงอกของเมล็ดสูงถึง 84% ขณะที่การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น พบว่า การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเป็นวิธีการที่ดีที่สุดโดยให้อัตราการงอกสูงสุดที่ 100% ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดนั้นพบให้อัตราการงอกสูงสุดเพียง 40.0% เท่านั้น (โดยใช้วิธีการพอกฆ่าเชื้อวิธีที่ 2) ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้พบว่า สอดคล้องกับการทดลองของ Yildirim et al. [10] ที่ศึกษาเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกของ *Prunus armeniaca* L. cv. *Hacıhaliloğlu* ที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน ภายในระยะเวลา 14 วัน โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเป็นวิธีที่ดีที่สุด โดยให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงถึง 85% ขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดจะพบเปอร์เซ็นต์การงอก 75% ซึ่งรายละเอียดของผลการวิจัยและการวิจารณ์ผลการวิจัยแยกตามหัวข้อได้ดังนี้

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การออกและเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของลิงลาวที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วิธีการขยายพันธุ์		เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน	เปอร์เซ็นต์การออก
การเพาะเมล็ดตามธรรมชาติ	วิธีที่ 1 การนำเมล็ดมาเพาะลงในกระบะทราย (วิธีดั้งเดิม)	-	0.0%
	วิธีที่ 2 การนำเมล็ดไปแช่ในน้ำอุ่น 1 คืนก่อนย้ายลงปลูกในกระบะทราย	-	84.0%
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ด	วิธีที่ 1 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง	70.0%	10.0%
	วิธีที่ 2 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 5 นาที	40.0%	40.0%
	วิธีที่ 3 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 10 นาที	40.0%	30.0%
	วิธีที่ 4 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 15 นาที	30.0%	20.0%
	วิธีที่ 5 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 20 นาที	10.0%	0.0%
การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลอ่อนลิงลาว		0.0%	100.0%



รูปที่ 3 การงอกของเมล็ดจาก การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการที่ต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ก) การเพาะเมล็ดใน กระบะทราย (วิธีดั้งเดิม) ข) การแช่เมล็ดลงในน้ำอุ่น 1 คืน ก่อนนำไปเพาะในกระบะทราย ค) การ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ด (จากการฟอกฆ่าเชื้อวิธีที่ 2) และ ง) การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลอ่อนลาง

3.1.1 การเพาะเมล็ดตามธรรมชาติ

จากการทดลองนำเมล็ดลางไปเพาะ ขยายพันธุ์ในกระบะทรายด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน 2 วิธี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอก ของเมล็ดลางจะสูงขึ้นเมื่อนำเมล็ดลางมาแช่ ในน้ำอุ่นเป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปปลูกลงใน กระบะทราย โดยมีอัตราการงอกสูงถึง 84% ซึ่งต้น อ่อนลางที่ได้จะมีทั้งยอดและรากที่สมบูรณ์ (รูป ที่ 3ข) ขณะที่การเพาะเมล็ดด้วยวิธีดั้งเดิมจะไม่พบ การงอกของเมล็ดลางเลย (รูปที่ 3ก) แต่อย่างไรก็ ตาม เมื่อเพาะเมล็ดลางด้วยวิธีดั้งเดิมต่อเนื่องนาน 24 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดที่เพาะไว้มีอัตราการงอก 75%

อัตราการงอกของเมล็ดลางใน ธรรมชาติที่ค่อนข้างช้า อาจมีสาเหตุมาจากลักษณะ ของเมล็ดที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดหนาและแข็งห่อหุ้ม เอ็มบริโอที่อยู่ภายใน (รูปที่ 2ก) ซึ่ง คณีย์ [11] ได้ กล่าวไว้ว่าเปลือกหุ้มเมล็ดที่หนาหรือแข็ง มากๆ มักจะมีส่วนร่วมทำให้เกิดการพักตัวของ เมล็ด โดยเป็นตัวขัดขวางน้ำและออกซิเจนไม่ให้ซึม ผ่านเข้าไปภายในเมล็ด อีกทั้งยังจำกัดการเจริญ ของคัพภะอีกด้วย น้ำและออกซิเจนมีความสำคัญ ต่อการงอกของเมล็ด โดยน้ำจะช่วยให้เปลือกหุ้ม

เมล็ดอ่อนนุ่มลง เป็นตัวทำลายอาหารสะสม ภายในเมล็ด และช่วยชะล้างเอาสารระงับการงอก ออกไปจากเปลือกหุ้มเมล็ดแล้วจึงทำให้เมล็ดงอก ได้ ขณะที่ออกซิเจนนั้นเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการ สร้างพลังงานของเอ็มบริโอ แต่อย่างไรก็ตาม การ แช่เมล็ดในน้ำร้อน 40 °C ในระยะเวลาสั้นๆ สามารถลดปัญหาการพักตัวของเมล็ดจากสาเหตุนี้ ได้ ดังนั้น เมื่อทีมวิจัยชุมชนนำเมล็ดไปแช่ในน้ำอุ่น ก่อนเพาะ 1 คืน อาจเป็นผลทำให้เปลือกหุ้มเมล็ด อ่อนนุ่มลง ทำให้น้ำและออกซิเจนผ่านเข้าไป ภายในเมล็ดได้ หรืออาจช่วยชะล้างสารเคมีที่มีผล ต่อการพักตัวของเมล็ด ส่งผลทำให้เมล็ดลางงอก ได้ไวขึ้นกว่าวิธีดั้งเดิม ซึ่งสอดคล้องกับผลการ ทดลองของ McDonnell et al. [12] ที่พบว่าเมื่อนำ เมล็ด *Iliamna remota* มาแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70 – 90 °C เป็นเวลา 60 นาที ก่อนนำไปเพาะ จะช่วย ให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงขึ้น โดยอัตราการงอก ของเมล็ดจะสูงที่สุด (63.3%) เมื่อแช่เมล็ดในน้ำ ร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ก่อนนำไปเพาะ ขณะที่การ ทดลองของ Abubakar and Muhammad [13] พบว่า เมล็ด Tamarind (*Tamarindus indica*) ที่นำมาแช่ใน น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 30 นาที ก่อน นำไปเพาะ จะมีอัตราการงอกของเมล็ดสูงขึ้น

(80%) เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีอัตราการงอกเพียง 50% Tung and Serrano [14] กล่าวว่า การนำเมล็ดข้าว (*Oryza sativa*) มาแช่ในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปเพาะ ไม่เพียงแต่ช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดให้สูงขึ้น แต่ยังช่วยเพิ่มอัตราการหายใจ การทำงานของ α -amylase และการผลิตเอทิลินของเมล็ดให้สูงขึ้นอีกด้วย ในทางตรงกันข้าม จากการทดลองของ Aliloo and Darabinejad [15] กลับพบว่า การแช่เมล็ดในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 นาที ก่อนนำไปเพาะ ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด *Heliotropium europaeum* เลย

3.1.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ด

เนื่องจากเมล็ดลึงลาวที่ใช้ในการทดลองเป็นเมล็ดที่ตกหล่นตามพื้นดิน สภาพโดยทั่วไปของเมล็ดจึงค่อนข้างสกปรก ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดลึงลาวที่เหมาะสม โดยมีการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดที่แตกต่างกัน 5 วิธี ผลจากการทดลองพบว่า ที่ 8 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 5 คือ การฟอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 20 นาที จะพบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียต่ำสุดเพียง 10% เท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมนั้น นอกจากจะพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนแล้ว ยังเกี่ยวข้องกับสัมพันธ์กับการงอกของเมล็ดอีกด้วย ซึ่งจากการทดลองพบว่า อัตราการงอกของเมล็ดลึงลาวจะสูงสุดในชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 2 คือ การฟอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 5 นาที

โดยมีอัตราการงอกสูงถึง 40.0% (รูปที่ 3ค) แต่อย่างไรก็ตาม ต้นอ่อนลึงลาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดจะพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ที่มีทั้งยอดและรากต้องใช้เวลาอย่างน้อย 12 สัปดาห์ ขณะที่การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดด้วยวิธีที่ 5 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำสุดนั้นกลับไม่พบการงอกของเมล็ดลึงลาวเลย ทั้งนี้ อาจมีสาเหตุมาจากการเนื้อเยื่อของเอ็มบริโอที่อยู่ภายในเมล็ดถูกทำลายอันเนื่องมาจากการแช่เมล็ดใน 95% แอลกอฮอล์ นานเกินไป (20 นาที)

จากการทดลองพบว่า ปัญหาของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดลึงลาว คือ การปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรีย ซึ่งถือเป็นอีกหนึ่งปัญหาหลักของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดังนั้น การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชจึงเป็นอีกหนึ่งขั้นตอนที่ถือว่าสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยชนิดและความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมจะแตกต่างกันออกไปขึ้นกับหลายๆ ปัจจัย อาทิเช่น ชนิดของพืช ชิ้นส่วนที่ใช้ ขนาดของชิ้นส่วน เป็นต้น ซึ่งจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อมีผลต่อการปนเปื้อนและการรอดชีวิตของเมล็ดลึงลาว ขณะที่การทดลองของภพแก้ว และคณะ [16] พบว่า ความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อจะมีผลต่อการปนเปื้อนและการรอดของชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสี กุหลาบหิน และคว่ำตายหงายเป็น โดยอัตราการปนเปื้อนจะสูงสุด 100% (เปอร์เซ็นต์การรอดเป็น 0) เมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox 5% นาน 15 นาที ซึ่งการปนเปื้อนจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox 15% นาน 15 นาที เป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุด ซึ่งถึงแม้ว่าจะพบการปนเปื้อนถึง 40% แต่อัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อที่สูงถึง

60% ขณะที่ในชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox 20% นาน 15 นาที ถึงแม้จะไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย แต่ชิ้นส่วนใบอ่อนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นดังกล่าวจะถูกทำลายและซ้ตายไปในที่สุด (เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเป็น 0) ซึ่งพบว่าสอดคล้องกับผลการทดลองของ Sen et al. [17] ที่ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อใน *Achyranthes aspera* นอกจากนี้ยังพบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการฟอกฆ่าเชื้อในพืชหลายชนิด ตัวอย่างเช่น สดรอเบอร์รี่ [18] *Dioscorea birmanica* [19] *Andrographis paniculata* [20] เป็นต้น

3.1.3 การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลอ่อนลิงลาว

การทดลองเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลอ่อนลิงลาวบนอาหารวุ้นสูตร MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า เอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงไว้เริ่มมีการพัฒนา หรือมีอัตราการงอก 100% โดยสามารถสังเกตได้จากขนาดของเอ็มบริโอที่ใหญ่ขึ้นและความยาวที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4) และเมื่อเลี้ยงเอ็มบริโอต่อเนื่องนาน 8 สัปดาห์ พบว่า เอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงสามารถพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ที่มีทั้งยอดและรากได้ (รูปที่ 3ง) จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิงลาวเป็นวิธีการขยายพันธุ์ลิงลาวที่ดีที่สุด ซึ่งนอกจากจะให้อัตราการงอก 100% แล้ว ยังพบว่าเป็นวิธีที่สามารถผลิตต้นลิงลาวได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาเพียง 8 สัปดาห์



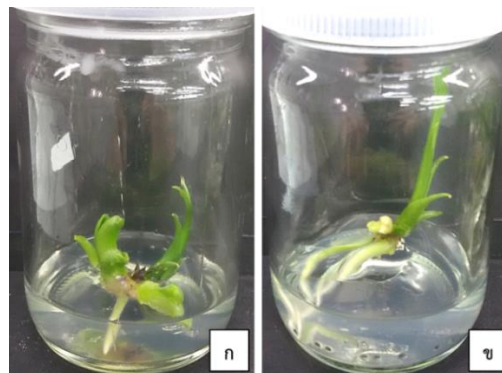
รูปที่ 4 การพัฒนาของเอ็มบริโอลิงลาว เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MS นาน 2 สัปดาห์

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเป็นเทคนิคที่นิยมนำมาใช้ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับการพักตัวของเมล็ด ซึ่งการพักตัวของเมล็ดนั้นอาจเกิดได้จากหลายๆ สาเหตุ อาทิเช่น การมีเปลือกหุ้มเมล็ดที่หนาหรือแข็งเกินไป เอ็มบริโอในเมล็ดยังไม่เจริญเต็มที่ที่ต้องการอุณหภูมิเฉพาะในการงอก หรือการปรากฏของสารระงับการงอกในเมล็ด เป็นต้น [11, 21-22] ซึ่งจากรายงานการทดลองเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในพืชหลายชนิด ตัวอย่างเช่น *Taxus baccata* [23-24], *Viola odorata* [25] *Fraxinus ornus* และ *Sorbus domestica* [26] พบว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถช่วยแก้ปัญหาเกี่ยวกับการพักตัวของเมล็ดได้ โดยช่วยกระตุ้นให้อัตราการงอกของพืชดีขึ้น หรือช่วยให้พืชงอกได้ไวขึ้น ดังการทดลองของ Nasr et al. [23] ที่พบว่า เอ็มบริโอของ *Taxus baccata* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS และ WPM จะงอกภายในระยะเวลาเพียง 2 สัปดาห์ และจะกลายเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์เมื่อเลี้ยงไว้นาน 4 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอนั้น ยังขึ้นกับหลายๆ ปัจจัยที่เกี่ยวข้อง อาทิเช่น วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ สูตรอาหารชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการ

เจริญเติบโต ชนิดและปริมาณของน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยง อายุของเมล็ดพืช วิธีการเก็บรักษาเมล็ดแสงและอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง [10, 23-25, 27-32] เป็นต้น ซึ่งในการทดลองขั้นต่อไป ผู้วิจัยได้เลือกศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิงลาว

3.2 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิงลาว

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลิงลาวบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่ไม่เติม และเติม BA ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารทุกๆ สูตร สามารถเจริญและพัฒนาเกิดเป็นยอดและรากได้ 100% (ตารางที่ 2) โดยเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อสูงสุด 4.0 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (รูปที่ 5ก) ขณะที่เอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA จะให้จำนวนรากเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อสูงสุด 2.5 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (รูปที่ 5ข) ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า BA ที่ความเข้มข้นต่ำ (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะกระตุ้นให้เอ็มบริโอลิงลาวเกิดยอดจำนวนมาก โดยคิดเป็น 2.7 เท่าของชุดควบคุมที่ไม่เติม BA ขณะที่ BA ความเข้มข้น 1.0 – 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร กลับมีผลทำให้ปริมาณยอดและรากลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติม BA



รูปที่ 5 การพัฒนาของเอ็มบริโอลิงลาวที่เวลา 8 สัปดาห์ ก) เอ็มบริโอที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ข) เอ็มบริโอที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่ไม่เติม BA

จากการศึกษารายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในพืชหลายชนิด พบว่า BA มีผลต่อการงอกของเอ็มบริโอ และช่วยกระตุ้นการสร้างยอดจำนวนมากจากเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงอีกด้วย ซึ่งความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมต่อการงอกและการชักนำให้เกิดยอดในพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ตัวอย่างเช่น ในการทดลองเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ walnut (*Juglans regia* L.) พบว่าความเข้มข้นของ BA มีผลต่อการงอกของเอ็มบริโอ โดยอัตราการงอกจะเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA เป็น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร กลับพบว่าอัตราการงอกลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติม BA [33] Yildirim et al. [10] ศึกษาผลของ BA, Kin, IAA, NAA และ 2,4-D ต่ออัตราการงอกของเอ็มบริโอ *Prunus armeniaca* L. cv. *Hacıhaliloğlu* พบว่า อาหารสูตรที่เติม BA (1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงได้ โดยพบการงอกสูงสุดถึง

100% ขณะที่อาหารสูตรที่เติม Kin, IAA, NAA และ 2,4-D จะมีผลทำให้อัตราการงอกของเอ็มบริโอลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมฮอร์โมน (72%)

Daffalla et al. [34] ศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, TDZ, NAA และ 2,4-D ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ *Boscia senegalensis* พบว่า อาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA หรือ NAA ในทุกความเข้มข้น (1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถกระตุ้นเอ็มบริโอให้เกิดยอดได้ โดยจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อจะสูงสุด (14.8 ยอด) ในสูตรอาหารที่เติม BA 3.0 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ขณะที่อาหารที่เติม TDZ หรือ 2,4-D จะชักนำเอ็มบริโอให้เกิดเป็นแคลลัส Jala et al. [35] ทำการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ *Globba* spp. พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อจะสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดังนั้น ในการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโปลิงลาว คือ อาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพราะไม่เพียงแต่ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อสูงสุดแล้ว ยังพบการเกิดรากสูงเป็นอันดับ 2 โดยให้จำนวนรากเฉลี่ย 2.0 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและราก จำนวนยอดและรากเฉลี่ยต่อชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อ ชิ้นเนื้อเยื่อ*	การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ยต่อ ชิ้นเนื้อเยื่อ*
0	100	1.5 ± 0.8^b	100	2.5 ± 0.7^a
0.5	100	4.0 ± 1.5^a	100	2.0 ± 0.8^a
1	100	1.0 ± 0.0^b	100	1.0 ± 0.0^b
2	100	1.0 ± 0.0^b	100	1.0 ± 0.0^b
3	100	1.0 ± 0.0^b	100	1.0 ± 0.0^b
4	100	1.0 ± 0.0^b	100	1.0 ± 0.0^b

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE. ตัวอักษรที่เป็นตัวกแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญภายในคอลัมน์เดียวกัน โดยใช้วิธี Turkey test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมต่อการเพาะขยายพันธุ์ต้นลิงลาวทั้งในสภาพธรรมชาติและในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า อัตราการงอกของเมล็ดลิงลาวที่ปลูกในสภาพธรรมชาติจะดีขึ้น ถ้านำเมล็ดมาแช่น้ำอุ่นเป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปเพาะ

โดยพบว่าเมล็ดลิงลาวมีอัตราการงอกสูงถึง 84% ภายในระยะเวลา 8 สัปดาห์ ขณะที่การเพาะเมล็ดด้วยวิธีดั้งเดิมจะไม่พบการงอกของเมล็ดที่ 8 สัปดาห์เลย ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้จะทำให้ชาวบ้านในชุมชนสามารถขยายพันธุ์ลิงลาวได้รวดเร็วยิ่งขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิม ส่วนการ

ขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นพบว่า ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ของการเก็บข้อมูล การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของลิ้นจี่จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุด 100.0% นอกจากนี้ จากการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของลิ้นจี่พบว่า อาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของลิ้นจี่ โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.0 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และพบการเกิดรากเฉลี่ย 2.0 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ผลจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของลิ้นจี่นอกจากจะช่วยกระตุ้นการงอกและแก้ปัญหาการพักตัวของเมล็ดลิ้นจี่แล้ว ยังสามารถช่วยขยายพันธุ์ลิ้นจี่ให้ได้จำนวนมาก ภายในระยะเวลาเพียง 8 สัปดาห์ อีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลุล่วงไม่ได้ถ้าไม่ได้รับการสนับสนุนจากหน่วยงานและชุมชนที่เกี่ยวข้อง ขอขอบคุณ โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาของสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) และมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงรายที่สนับสนุนด้านงบประมาณการวิจัย ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการวิจัยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณทีมวิจัยชุมชนบ้านปางกำแพงหินเป็นอย่างสูงที่มีส่วนร่วมในกระบวนการวิจัยตั้งแต่เริ่มจนเสร็จสิ้นกระบวนการวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] L.V. Averyanov, N. Tanaka, K.S. Nguyen, B.V. Truong, D.T. Nghiem, T.H. Nguyen. New species of *Ophiopogon*, *Peliosanthes* and *Tupistra* (Asparagaceae s.l.) in the flora of Vietnam. *Nord. J. Bot.* **34** (2016): 23–37.
- [2] ร. ภูมา, ศ. สดดี. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมณินันท์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557. กรุงเทพฯ: สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช; 2557. หน้า 578.
- [3] ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ. ลิ้นจี่: พืชท้องถิ่นสู่เศรษฐกิจชุมชนเทพเสด็จ. เชียงราย: มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย; 2555.
- [4] ว. นันตะยานา. การจัดการต้นลิ้นจี่สู่เศรษฐกิจชุมชนตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียงของตำบลเทพเสด็จ อำเภอคอยสะแก จังหวัดเชียงใหม่. *วารสารวิจัยเพื่อการพัฒนาเชิงพื้นที่*. **5** (2556): 5-20.
- [5] อ. เสละคร. ผลของ BA และ IBA ต่อการเพิ่มปริมาณหน่อและการออกรากของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ. *ราชภัฏเพชรบูรณ์สาร*. **1** (2557): 86-93.
- [6] อ. กงบังเกิด, พ. กมล. ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงกระเจียวขาว. *NU Science Journal*. **2** (2006): 183-201.
- [7] J. Palee, S. Dheeranupattana, A. Jatisatienr, S. Wangkarn. Effects of BA and NAA on Micropropagation and *Stemona* Alkaloids

- Production of *Stemona curtisii* Hook.f. *Chiang Mai J. Sci.* **40** (2013): 356-363.
- [8] ข. ขจรผดุงกิตติ, อ. จาละ. อิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรหมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *Thai Journal of Science and Technology.* **3** (2557): 7 - 14.
- [9] T. Murashige, F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15** (1962): 473-497.
- [10] H. Yildirim, E. Tilkat, A. Onay, H.Ç. Ozen. *In Vitro* Embryo Culture of Apricot, *Prunus armeniaca* L. cv. *Hacıhaliloğlu*. *International Journal of Science & Technology.* **2** (2007): 99-104.
- [11] ค. บุญเกียรติ. *สรีรวิทยาของพืช*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2539.
- [12] A. McDonnell, M. Grant, J. Coons. Effects of Hot Water on Breaking Seed Dormancy of the Endangered Kankakee Mallow (*Iliamna remota* Greene (Malvaceae). *Erigenia.* **25** (2012): 8-13.
- [13] Z.A. Abubakar, A. Muhammad. Breaking Seed Dormancy in Tamarind (*Tamarindus indica*) A Case Study of Gombe Local Government Area. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* **17** (2013): 83-87.
- [14] L.D. Tung, E.P. Serrano. Effects of warm water in breaking dormancy of rice seed. *Omonrice.* **18** (2011): 129-136.
- [15] A.A. Aliloo, S. Darabinejad. Evaluation of Different Techniques for Breaking Seed Dormancy of *Heliotropium europaeum* L. (Boraginaceae). *J. Biol. Environ. Sci.* **7** (2013): 87-91.
- [16] ภ. พุทธรักษ์, ร. จันทร์เดช, ว. อยู่คง. การขยายพันธุ์บนสื่อ กุหลาบหิน และคว่ำตายหงายเป็น โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง.* **2** (2555): 1-15.
- [17] M.K. Sen, M.A.H.M. Jamal, S. Nasrin. Sterilization factors affect seed germination and proliferation of *Achyranthes aspera* cultured in vitro. *Environmental and Experimental Biology.* **11** (2013): 119-123.
- [18] A. Jan, K.M. Bhat, S.J.A. Bhat, M.A. Mir, M.A. Bhat, I.A. Wani, J.A. Rather. Surface sterilization method for reducing microbial contamination of field grown strawberry explants intended for in vitro culture. *Afr. J. Biotechnol.* **12** (2013): 5749-5753.
- [19] อ. สองศรี, ข. จิระเกียรติกุล, ภ. ฤทธิไชย, อ. อรุณรัตน์. การฟอกกำจัดเชื้อขึ้นส่วนข้อของ *Dioscorea birmanica* เพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *ว. วิทย์. กษ.* **43 (พิเศษ)** (2555): 637-640.
- [20] D. Talei, M.S. Saad. M.K. Yusop, M.A. Kadir, A. Valdiani. Effects of Different Surface Sterilizers on Seed Germination and Contamination of King of Bitters (*Andrographis paniculata* Nees.). *Am-*

- Euras. J. Agric. & Environ. Sci.* **10** (2011): 639-643.
- [21] M.P. Bridgen. A Review of Plant Embryo Culture. *HortScience.* **29** (1994): 1243-1246.
- [22] H. Fathi, U. Jahani. Review of embryo culture in fruit trees. *Annals of Biological Research.* **3** (2013): 4276-4281.
- [23] S.M.H. Nasr, S. Modanloo, H. Jalilvand, A.J. Mofidabadi. Seed Dormancy Breakage of Recalcitrant Yew Species (*Taxus baccata* L.) Using Embryo Culture. *J. Biol. Sci.* **7** (2007): 781-785.
- [24] S.J. Davarpanah, M. Lahouti, R. Karimian. Micropropagation of Common Yew Using Embryo Culture. *Journal of Applied Biotechnology Reports.* **1** (2014): 77-80.
- [25] T. Barekat, M. Otrushy, B. Samsam-Zadeh, A. Sadrarhami and A. Mokhtari. A novel approach for breaking seed dormancy and germination in *Viola odorata* (A medicinal plant). *J. Nov. Appl. Sci.* **2** (2013): 513-516.
- [26] I. Arrillaga, T. Marzo, J. Segura. Embryo Culture of *Fraxinus ornus* and *Sorbus domestica* Removes Seed Dormancy. *HortScience.* **27** (1992): 371.
- [27] L.L. Song, H.N. Zhang, H.Q. Zhao, Y.L. Jiang, M.F. Hou. *In vitro* Germination and Seedling Development of *Taxus chinensis* var. *mairei* by Embryo Culture. *J. Agr. Sci. Tech.* **16** (2014): 1355-1363.
- [28] T. Tezuka, H. Yokoyama, H. Tanaka, S. Shiozaki, M. Oda. Seed and Embryo Germination in *Ardisia crenata*. *Journal of Botany.* **2012** (2012): 1-7.
- [29] S. Kaveri, S. Rao. *In vitro* seed germination and Embryo Culture in *Nothapodytes foetida* (Wight) Sleumer. *International Letters of Natural Sciences.* **48** (2015): 23-31.
- [30] B. Bürün, E.Ç. Poyrazoglu. Embryo Culture in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Turk J. Biol.* **26** (2002): 175-180.
- [31] Z. Abbasin, S. Zamani, S. Movahedi, G. Khaksar, B.E. Sayed Tabatabaei. *In vitro* Micropropagation of Yew (*Taxus baccata*) and Production of Plantlets. *Biotechnology.* **9** (2010): 48-54.
- [32] N. Mohan, S. Nikdad, G. Singh. Studies on seed germination and embryo culture of *Jatropha curcas* L. under *in vitro* conditions. *Biotechnol. Bioinf. Bioeng.* **1** (2011): 187-194.
- [33] K. Payghamzadeh, S.K. Kazemitabar. The effects of BAP, IBA and genotypes on *in vitro* germination of immature walnut embryos. *International Journal of Plant Production.* **4** (2010): 309-322.
- [34] H.H. Daffalla, E. Abdellatef, E.A. Elhadi, M.M. Khalafalla. Effect of Growth Regulators on *In Vitro* Morphogenic Response of *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. Poir. Using Mature Zygotic Embryos

- Explants. *Biotechnology Research International*, **2011** (2011): 1-8.
- [35] A. Jala, N. Chanchula, T. Taychasinpitak. Multiplication New Shoots from Embryo Culture on *Globba* spp. *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*, **4** (2013): 207-214.