บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง ได้แก่ ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง ปริมาณน้ำตาลซูโครส ช่วงแสง (photoperiod) และสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator) เป็นต้น สำหรับปัจจัยแสงนั้น มีรายงานการวิจัยหลายฉบับ ได้กล่าวถึงผลของแสงที่มีต่อการเกิดยอดหรือการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาให้กลายเป็นอวัยวะที่จำเพาะ เช่น ส่วนสะสมอาหารต่างๆ ได้แก่ หัว (tuber, bulb และ corm) และ เหง้า (rhizome) เป็นต้น (Sharma and Singh 1995) นอกจากนี้ น้ำตาลยังเป็นปัจจัยขององค์ประกอบอาหารที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงในพืชหลายชนิด (Zel และคณะ,1997; Lim *et al*., 1998) และรวมไปถึงสารชะลอการเจริญเติบโต (Plant growth retardants) ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของพืช

จากการนำตาเหง้าของหน่อกะลาและข่ามาเลี้ยงบนอาหารแข็ง Murashige และ Skoog (MS) (1962) ที่เติมฮอร์โมน BAP ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้แสง 8 ชั่งโมงต่อวัน พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนของรากหรือเหง้าใต้ดิน มักทำได้ยากเนื่องจากมักมีการปนเปื้อนจำนวนมาก ดังนั้นเทคนิคการล้างตัวอย่างพืชให้สะอาดปราศจากการปนเปื้อนจึงมีความสำคัญมาก ในการทดลองนี้พบว่าในสัปดาห์ที่ 6 ข่าและหน่อกะลาที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จะถูกชักนำให้เกิดรากและใบเฉลี่ยมากกว่าที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน BAP และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สอดคล้องกับการศึกษาของ Kambaska และ Santilata (2009) ซึ่งพบว่าการชักนำให้เกิดยอดใหม่ของขิงในอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดยอดมากกว่าเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BAP1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ ยังพบว่าอัตราการเจริญเติบโต การเกิดยอด และจำนวนยอดของหน่อกะลาจะมากกว่าข่า การทดลองนี้ได้ทำการเพิ่มจำนวนของข่าและหน่อกะลาเพื่อให้มีจำนวนมากพอสำหรับการทำการทดลอง และเก็บไว้เป็นต้นพันธุ์สำหรับทำการเพิ่มจำนวนเพื่อทำการทดลองต่อไป

ในการทดลองนี้ จะศึกษาผลของแสงและปริมาณน้ำตาลซูโครสที่มีต่อการเกิดเหง้าของหน่อกะลาและข่า จึงได้ทำการเพิ่มจำนวนยอดของข่าและหน่อกะลาโดยการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร MS (1962) เป็นเวลา 60 วันแล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 30, 60, 90 และ 120 กรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้

สภาวะที่ให้แสง 0 (ที่มืด), 8, 16 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ที่สภาวะการให้แสงที่ 24 ชั่วโมงต่อวัน ในทุกสูตรอาหาร มีแนวโน้มที่จะทำให้มีการสร้างยอดใหม่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบช่วงการให้แสงอื่นๆ และอาหาร MS ที่มีปริมาณน้ำตาล 120 กรัมต่อลิตร ให้สภาวะการให้แสงที่ 24 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด (6.2 ยอดต่อชิ้นส่วน) เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสและช่วงการให้แสงอื่นๆซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Prathanturarug และคณะ (2003) และนิตยา และคณะ (2547) ที่พบว่า ระยะเวลาการให้แสงที่เหมาะสมในขมิ้นชัน จะสามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดใหม่ได้ดี เนื่องจากแสงจะไปกระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์แสงของชิ้นส่วนพืชที่มีคลอโรฟิลล์ ทำให้เซลล์ในส่วนที่ได้รับแสงมีการพัฒนาเป็นยอด และยังสามารถสร้างรากใหม่ได้ดีที่สุดเช่นกัน (42 ราก ต่อชิ้นส่วน)โดยพบว่า ปริมาณน้ำตาลซูโครส และระยะเวลาการให้แสงที่มากขึ้น จะมีผลต่อการชักนำให้มีการสร้างรากได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kongbangkerd และ Wawrosch (2005) และ Martin (2002) ที่รายงานว่า การเพิ่มความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลและแหล่งคาร์บอน มีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดการแตกรากใหม่เพิ่มขึ้น ส่วนในอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลน้อยในทุกสภาวะการให้แสง จะมีผลต่อการชักนำให้อัตราการสร้างรากเกิดขึ้นได้ค่อนข้างต่ำ (Wawrosch และคณะ, 2001) จากการทดลอง พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร ภายใต้แสงสว่าง 0, 8, 16 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน นั้นจะให้จำนวนรากค่อนข้างต่ำกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น สำหรับความยาวยอด พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ 30 กรัมต่อลิตร ภายใต้แสงสว่าง 8, 16 และ24 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด เป็น 16.2, 15.8 และ15.5 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$) และสามารถชักนำให้มีความยาวยอดดีกว่าชิ้นส่วนหน่อกะลาที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีปริมาณน้ำตาล 60, 90 และ120 กรัมต่อลิตรในสภาวะการให้แสงที่เท่ากัน นอกจากนี้ ยังพบว่า ชิ้นส่วนหน่อกะลาที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ภายใต้แสงสว่าง 8, 16 และ 24 ชั่วโมงต่อวันยังสามารถชักนำให้เกิดการสร้างรากที่มีความยาวมากที่สุด เป็น 11.1, 11.3 และ11.4 เซนติเมตร ตามลำดับ และค่าความยาวรากทั้ง 3 ค่านี้ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$) จากการชักนำหน่อกะลาให้เกิดการสร้างไมโครไรโซม พบว่า การวางเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้แสง ที่ 8, 16 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สามารถ

การสร้างไมโครไรโซมได้ทุกสภาวะ และในอาหาร MS ที่มีปริมาณน้ำตาลที่ 90 และ 120 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดไมโครไรโซมสูงสุด คือ 90% ไมโครไรโซมที่ได้มีลักษณะเป็นปมที่บริเวณโคนของลำต้น คล้ายเหง้า มีสีแดง สามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน ผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zheng และคณะ (2008) ซึ่งพบว่า การเพาะเลี้ยงขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) บนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 80-110 กรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่ชักนำให้เกิดเหง้าที่มีน้ำหนักและจำนวนมากที่สุด แต่ มีความแตกต่างจากงานวิจัยของ Islam และคณะ (2004) ซึ่งพบว่า การเพาะเลี้ยงขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) จากชิ้นส่วนตาเหง้าบนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 9 0 กรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในที่มืด จะสามารถชักนำให้เกิดเหง้าจำนวนมากและมีขนาดใหญ่ที่สุด แต่เมื่อเลี้ยงใน ที่มีแสงสว่าง จะทำให้ขนาดและจำนวนของเหง้าลดลงเล็กน้อยแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม อาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 0-50 กรัมต่อลิตร และที่ 110 กรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่ทำให้ ขมิ้นชันมีการสร้างเหง้าลดลง นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่น ๆ ที่ให้ผลทั้งสอดคล้องและแตกต่างกับผลการวิจัยที่ได้ เช่น จากรายงานของ Shirgurkar และคณะ (2001) ได้กล่าวถึงผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหาร MS ที่มีต่อขนาดและจำนวนเหง้าของขมิ้นชัน พบว่า น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่ำสุดที่ 20 กรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่ทำให้เกิดเหง้าจำนวนน้อยและมีขนาดเล็ก ที่ความเข้มข้น 40 และ 6 0 กรัมต่อลิตร ให้เหง้าขนาดใหญ่ขึ้นและจำนวนมากขึ้นด้วย ที่ความเข้มข้น 8 0 กรัมต่อลิตร ขนาดของเหง้าจะใหญ่ขึ้นแต่มีจำนวนเหง้าลดลง และที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 100 กรัมต่อลิตร ทั้งขนาดและจำนวนเหง้าจะลดลง ส่วน Nayak และ Kumar Naik (2006) ได้ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครส ฮอร์โมน BA และช่วงเวลาที่ให้แสงสว่างในการเพาะเลี้ยงขมิ้น (*Curcuma longa* L.) พบว่า ทั้งสามปัจจัยมีความสำคัญต่อการเกิดเหง้า แต่ที่สำคัญที่สุด คือ น้ำตาลซูโครส รองลงมาเป็นช่วงเวลาที่ถูกแสงสว่าง และปริมาณฮอร์โมน ผลจากการทดลองพบว่า อาหาร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 13.3 ไมโครโมลาร์ (μM) วางเลี้ยงในที่ถูกแสง 4 ชั่วโมง ต่อวัน จะทำให้เกิดเหง้ามากที่สุด อย่างไรก็ตาม ประสิทธิผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสขึ้นกับระยะเวลาการถูกแสง และความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ในอาหาร MS แต่เมื่อเพิ่มน้ำตาลซูโครส เป็น 90 กรัมต่อลิตร กลับทำให้มีจำนวนเหง้าลดลง นอกจากนี้ ยังพบว่า ขนาดของยอดที่นำมาเพาะเลี้ยง มีผลต่อการเกิดการเกิดเหง้า ถ้าหากยอดมีขนาดสั้นกว่า 4 มิลลิเมตร จะไม่เกิดการชักนำเป็นเหง้า พบว่า ขนาดของยอดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีผลต่อขนาดและน้ำหนักของเหง้า ถ้ายอดที่มีขนาดเล็กจะทำให้

เกิดเหง้าขนาดเล็ก ยอดมีขนาดปานกลางจะทำให้เกิดเหง้าขนาดปานกลาง และยอดที่มีขนาดใหญ่ขึ้นก็จะทำให้เกิดเหง้าขนาดใหญ่ขึ้นด้วย (Shirgurkar และคณะ, 2001)

นอกจากนี้ ยังมีรายงานการวิจัยต่างๆ เกี่ยวกับผลของฮอร์โมน cytokinins น้ำตาลซูโครส และช่วงเวลาถูกแสงของขมิ้นชัน (*Curcuma aromatic*) พบว่า การเกิดเหง้าดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน (Nayak 2000) สำหรับการศึกษาใน *Curcuma longa* L. พบว่า การเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้แสงช่วงเวลาสั้นๆต่อวัน ในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสสูง (60-80 กรัมต่อลิตร) ทำให้สามารถชักนำให้เกิดการสร้างเหง้าได้ดี เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hashemy และคณะ (2009) พบว่า การให้แสงที่มีความเข้มต่ำ ช่วงเวลาสั้น จะทำให้เกิดการสร้างเหง้าได้ดี

ส่วนการศึกษาผลของแสงและปริมาณน้ำตาลซูโครสที่มีต่อการเกิดเหง้าของข่า พบว่า ข่าที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ให้แสง 0 ชั่วโมงต่อวัน (ที่มืด) จะถูกชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร ให้แสง 0 ชั่วโมงต่อวัน และ บนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ให้แสง 24 ชั่วโมงต่อวัน จะชักนำให้เกิดยอดที่มีความยาวมากที่สุด ส่วนการชักนำให้เกิดรากมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 24 ชั่วโมงต่อวัน บนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร ส่วนการชักนำให้เกิดรากยาวมากที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ให้แสง 24 ชั่วโมงต่อวัน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 120 กรัมต่อลิตร พบว่า จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวน ราก และความยาวรากลดลง สำหรับการวางเลี้ยงในที่มืด พบว่า มีการแตกยอดน้อยลง ลำต้นเล็กผอมบาง และไม่พบการสร้างเหง้าในทุกสภาวะของการเพาะเลี้ยงข่าในหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงหน่อกะลาและข่า พบว่าให้ผลแตกต่างกัน เช่น ผลการตอบสนองต่อแสง ซึ่งอาจเป็นเพราะความแตกต่างกันของต้นพันธุ์ที่ใช้ ดังนั้น การพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงให้มีจำนวนเหง้าเพิ่มมากขึ้นอาจทำได้โดยวิธีการอื่น เช่น การเพิ่มปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต (ฮอร์โมน) ปริมาณแร่ธาตุ หรือส่วนยอดที่นำมาใช้ในการชักนำให้เกิดเหง้า ควรมีขนาดที่เท่ากัน

อย่างไรก็ตาม การพัฒนาวิธีการชักนำให้เกิดเหง้าที่มีขนาดใหญ่ในปริมาณมากของข่าและหน่อกะลา โดยไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดต่างๆ จะทำให้ได้ต้นพันธุ์ที่สามารถนำไปเพาะเลี้ยงโดยการควบคุมสภาวะของการทดลองได้อย่างเหมาะสม โดยไม่ขึ้นกับสภาพดินฟ้าอากาศ และยังสามารถทำการขนย้ายได้ง่าย นอกจากนี้ การชักนำให้เกิดเหง้าของหน่อกะลายังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน