

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง ชนิดโลเวีย (*Nepenthes lowii* Hook.f.) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Appropriate medium for micropropagation of *Nepenthes lowii* Hook.f.

นาง อัจฉรา เมืองครุฑ

ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Atchara Muangkroot

Department of Plant Science, Faculty of Science Mahidol University

บทคัดย่อ

หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลเวีย (*Nepenthes lowii* Hook.f.) เป็นพืชเฉพาะถิ่นของเกาะบอร์เนียว เนื่องจากหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดนี้ผลิตหม้อที่มีลักษณะสวยงามแปลกตา ทำให้มีการนำหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดนี้ออกมาจากธรรมชาติเพื่อผลทางการค้าจำนวนมาก ส่งผลให้หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดนี้ในธรรมชาติมีจำนวนลดลง ซึ่งสหภาพสากลว่าด้วยการอนุรักษ์ (International Union for Conservation of Nature, IUCN) ได้ขึ้นบัญชีแดง (IUCN Red List of Threatened Species) ให้หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดนี้อยู่ในสถานภาพของสิ่งมีชีวิตที่เกือบอยู่ในข่ายใกล้การสูญพันธุ์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลเวียให้ได้จำนวนมากเพื่อการอนุรักษ์ ทั้งนี้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น การศึกษานี้จึงทดลองสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลเวียในหลอดทดลอง โดยนำยอดอ่อนปลอดเชื้อขนาด 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่มี N^6 -benzylaminopurine (BAP) เข้มข้น 0 - 5 มก./ล. พบว่าอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้ต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลเวียเกิดยอดใหม่มากที่สุดเฉลี่ย 34 ยอด/ชิ้นพืช ภายใน 32 สัปดาห์

คำสำคัญ : หม้อข้าวหม้อแกงลิง, *Nepenthes lowii* Hook.f., การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, N^6 -benzylaminopurine (BAP)

Abstract

Nepenthes lowii Hook.f. is an endemic pitcher plant of Borneo. Because of its beautiful pitcher, it is taken out from the natural habitat for commercial purpose which resulted in highly reduction of its population. Thus, it is one of vulnerable species of IUCN Red List of Threatened Species. For conservation, mass propagation of *N. lowii* is necessary. Tissue culture technique is a proper way to be used and the suitable medium for *in vitro* propagation of *N. lowii* was studied. The 1 cm of *in vitro* shoots were used as explants and were cultured on Murashige and Skoog (MS) agar medium supplemented with 0 - 5 mg/L N^6 -benzylaminopurine (BAP). The result revealed that MS agar medium supplemented with 2 mg/L BAP gave the highest number of shoots (34 shoots/explant) within 32 weeks of culture.

Keywords : pitcher plant, *Nepenthes lowii* Hook.f., *in vitro* propagation, N^6 -benzylaminopurine (BAP)

หลักการและเหตุผล

เนื่องจากงานด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์พืชหายากและพันธุ์พืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจนั้นเป็นหนึ่งในหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย และในบรรดาพืชที่อยู่ในความรับผิดชอบซึ่งมีไม่ต่ำกว่า 60 ชนิดนั้น มีพืชกินแมลง เช่น หม้อข้าวหม้อแกงลิงรวมอยู่ด้วย หม้อข้าวหม้อแกงลิงอยู่ในวงศ์ *Nepenthaceae* มีเพียงสกุลเดียวคือ *Nepenthes* ส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันมีการค้นพบหม้อข้าวหม้อแกงลิงในธรรมชาติมากกว่า 100 ชนิด และยังพบชนิดใหม่ๆ เพิ่มขึ้นแทบทุกปี ลักษณะเด่นของพืชกินแมลงสกุลนี้คือการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาปลายใบให้มีลักษณะเป็นกระเปาะเพื่อใช้ดักแมลงหรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่พลัดตกเข้ามา ซึ่งลักษณะของกระเปาะหรือโดยทั่วไปเรียกว่าหม้อนี้จะมีความแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดแม้ว่าหม้อข้าวหม้อแกงลิงส่วนใหญ่มีแหล่งกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่ในประเทศไทยยังมีผู้ศึกษาและบันทึกข้อมูลของพืชสกุลนี้น้อยมาก ทั้งนี้หม้อข้าวหม้อแกงลิงส่วนใหญ่พบในภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ของประเทศ หม้อข้าวหม้อแกงลิงจัดเป็นพืชกลุ่มอนุรักษ์ตามอนุสัญญา CITES ในบัญชีที่ 2¹ จึงเป็นพืชที่มีความสำคัญและควรจะอนุรักษ์สายพันธุ์ แต่จากการที่ชาวบ้านในท้องถิ่นมองว่าหม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นวัชพืช จึงทำให้ถูกกำจัดอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะเมื่อมีการขยายพื้นที่ทางการเกษตร นอกจากนี้ยังพบว่าสายพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการในตลาดไม้ดอกไม้ประดับนั้นส่วนมากจะถูกเก็บจากแหล่งอาศัยออกมาจำหน่าย จากสาเหตุที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงใกล้จะสูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ

สำหรับหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียาย (*Nepenthes lowii* Hook.f.) ซึ่งเป็นพืชที่ใช้ในการ

ศึกษานี้ เป็นพืชเฉพาะถิ่น (endemic) ของเกาะบอร์เนียว จากความสวยงามของหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียายนี้ จึงมีผู้นิยมนำมาใช้เป็นพ้อและแม่พันธุ์ในการสร้างลูกผสมหม้อข้าวหม้อแกงลิงพันธุ์ใหม่ๆ สำหรับใช้ทางการค้า สหภาพสากลว่าด้วยการอนุรักษ์ (International Union for Conservation of Nature, IUCN) ได้ทำการขึ้นบัญชีแดง (IUCN Red List of Threatened Species) ให้หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียายอยู่ในสถานภาพของสิ่งมีชีวิตที่เกือบอยู่ในข่ายใกล้การสูญพันธุ์ (VU - Vulnerable species) ซึ่งมีระดับความเสี่ยงขั้นอันตรายจากการสูญพันธุ์จากที่อาศัยตามธรรมชาติ¹ ดังนั้นเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์และการขยายพันธุ์และจากการที่ใช้พืชชนิดนี้มาประกอบการเรียนการสอนในสาขาต่างๆ ที่เกี่ยวข้องของภาควิชาฯ เช่น ฐานฐานวิทยาของพืช กายวิภาคของพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และไม้ดอกไม้ประดับและสวน ฯลฯ จึงเป็นเหตุให้เกิดความสนใจที่จะศึกษาการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้จำนวนมาก แต่เนื่องจากหม้อข้าวหม้อแกงลิงมีอัตราการเจริญเติบโตช้า^{2,3} และจากการการศึกษการขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียายในขั้นเบื้องต้นโดยการเพาะเมล็ดในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตที่ช้ามาก ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงถูกนำมาใช้เพื่อการขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดนี้ให้ได้จำนวนมาก แต่จากการค้นรายงานการวิจัยเรื่องการขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้งในประเทศและต่างประเทศพบว่ามีย่อยจำนวนน้อยมากและไม่มีความชัดเจนโดยเฉพาะหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียาย ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดนี้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีที่มี

ศักยภาพในการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากภายในระยะเวลาอันสั้น และต้นพืชที่ได้เป็นต้นที่ปลอดโรค⁴ ซึ่งจะทำให้พืชชนิดนี้ยังดำรงพันธุ์ไว้ได้ อีกทั้งยังช่วยลดจำนวนต้นไม้ที่ถูกเก็บออกจากป่ามาขายได้เป็นอย่างดี

งานวิจัยในขั้นแรกนี้เป็นการพัฒนาสูตรอาหารวุ้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณ และการเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียาย ซึ่งจะทำให้ได้องค์ความรู้ที่สามารถนำไปต่อยอดในการขยายพันธุ์พืชในกลุ่มนี้ต่อไป แต่ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียายที่รักษาพันธุ์อยู่ในสภาวะปลอดเชื้อในหลอดทดลอง มีจำนวนน้อยและไม่เพียงพอที่จะนำมาทำการทดลองกับสูตรอาหารพื้นฐานหลายๆ สูตรได้ ดังนั้นในแผนดำเนินการวิจัยนี้จึงใช้แต่สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)⁵ เป็นสูตรอาหารพื้นฐานในการขยายพันธุ์เพียงสูตรเดียว เนื่องจากสูตรอาหาร MS สามารถนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้หลากหลายชนิดเช่น พืชสวน พืชไร่ หรือพืชชั้นต่ำ และจากวัตถุประสงค์ที่ต้องการเพิ่มจำนวนยอดให้ได้จำนวนมากดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) ในกลุ่มของไซโทไคนิน (cytokinins) ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย โดยใช้ N⁶-benzylaminopurine (BAP) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ไซโทไคนินอย่างอ่อน มีพืชต่อพืชต่ำ และราคาไม่สูงมาก จึงถูกนำมาใช้เพิ่มจำนวนยอดของพืชหลายชนิดในหลอดทดลอง^{6,7} และเหมาะกับการนำมาศึกษาเพื่อต่อยอดในเชิงธุรกิจต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนางานที่ได้รับมอบหมายให้อยู่ในรูปงานวิจัย

2. เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียายในหลอดทดลอง

วิธีการศึกษา

นำยอดอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลวียายในสภาพปลอดเชื้อ ที่เพาะเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มีความสูงของยอดประมาณ 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช N⁶-benzylaminopurine (BAP) (Sigma, U.S.A.) ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7 ทำสูตรอาหารละ 12 ข้ว (12 ยอด) โดยเพาะเลี้ยง 1 ยอด/1 ขวดทดลอง และนำมาเลี้ยงในสภาวะห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงประมาณ 37 ไมโครโมลต่อลูกบาศก์เมตรต่อวินาที เพาะเลี้ยงนาน 32 สัปดาห์ โดยย้ายเนื้อเยื่อทุก 4 สัปดาห์ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา โดยนับจำนวนยอด และวัดความยาวของยอด ก่อนย้ายยอดที่เกิดขึ้นลงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่ไม่มี BAP เพื่อชักนำให้เกิดรากเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ข้อมูลด้านจำนวนและความยาวยอดที่ได้จากผลของการใช้สูตรอาหารต่างๆ ถูกนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม PASW เวอร์ชัน 18.0 แบบ ONE-WAY ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) เพื่อหาความแตกต่างของผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ก่อนการวิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษา

จากการนำยอดหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลเวีย (Nepenthes lowii Hook.f.) ในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 6 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีใบยาวขึ้นและเกิดหม้อขนาดเล็กโดยจะเห็นเป็นตุ่มเล็กๆ ที่ปลายใบสำหรับอาหารสูตร MS ที่มี BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีการเจริญเติบโตของตาข้าง (axillary bud) โดยสังเกตเห็นเป็นตุ่มเจริญขึ้น ซึ่งหลังจากนั้นตุ่มมีการเจริญเติบโตขึ้นเป็นยอดอ่อน เมื่อเวลาผ่านไป 32 สัปดาห์ พบว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เป็นชุดควบคุมมีความยาวยอดและขนาดของใบเพิ่มขึ้น รวมทั้งหม้อที่เกิดขึ้นใหม่มีความสมบูรณ์เห็นได้ชัดเจน (รูปที่ 1 A) สำหรับต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 1 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามียอดใหม่เจริญเพิ่มขึ้น (รูปที่ 1 B – F) ทั้งนี้

จำนวนและความยาวยอดที่เกิดขึ้นในทุกสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดใหม่เฉลี่ยสูงสุด (34 ยอด) (ตารางที่ 1) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BAP ให้มากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีแนวโน้มลดลงดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับความยาวยอดซึ่งเป็นตัวบ่งชี้อีกประการหนึ่งในการเจริญเติบโตของยอดอ่อน พบว่าสูตรอาหารที่ทำให้ความยาวของยอดสูงที่สุดได้แก่สูตรอาหาร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยมีความยาวยอดเฉลี่ย 1.94 เซนติเมตร และยอดที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP ที่ระดับความเข้มข้น 1 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดสั้นกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) จากการทดลองยังพบว่าไม่มีการเกิดขึ้นในทุกสูตรอาหารที่ทำการศึกษาดังนั้นจึงย้ายยอดที่เกิดขึ้นลงอาหารสูตร MS ที่ไม่มี BAP เพื่อชักนำให้เกิดรากเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งพบว่ายังไม่มีการเกิดรากขึ้น

5. ตารางและรูปภาพ

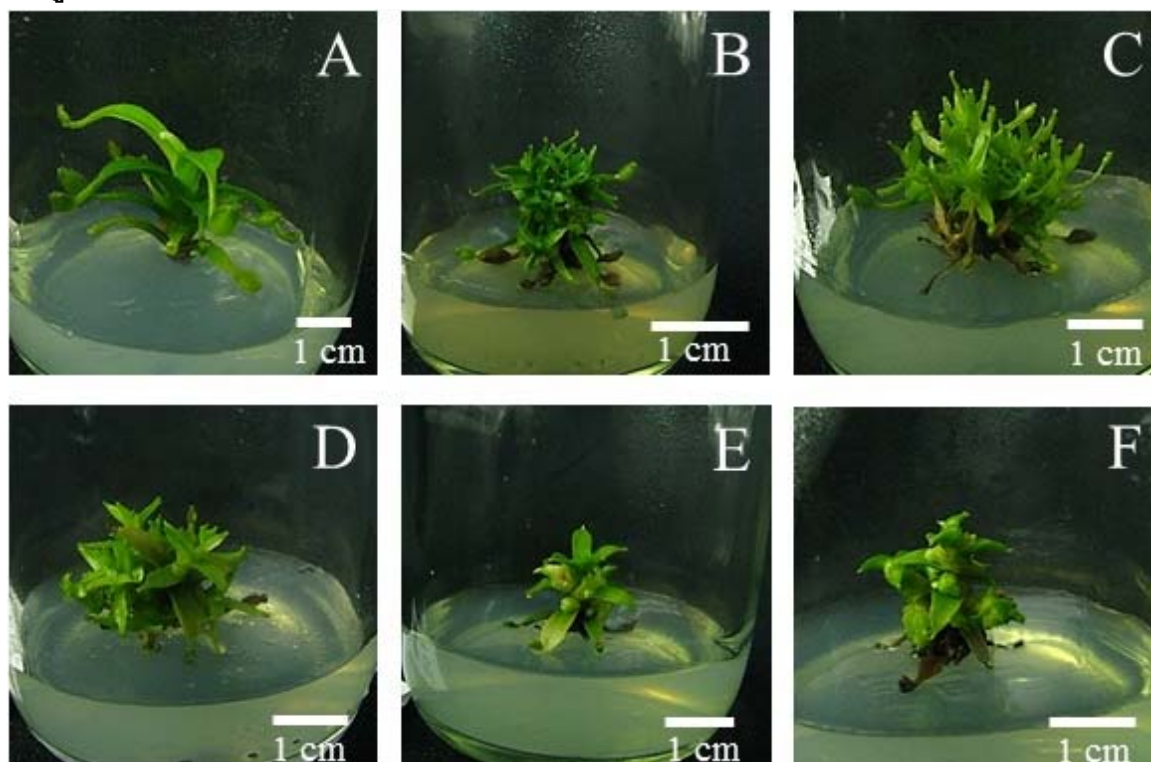
5.1 ตาราง

ตารางที่ 1 จำนวนยอดและความยาวยอดเฉลี่ยของหม้อข้าวหม้อแกงลิงโลเวียหลังจากเลี้ยงบนสูตรต่างๆ เป็นเวลา 32 สัปดาห์

สูตรอาหาร	จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอดเฉลี่ย (เซนติเมตร)
MS	1.40 ± 1.81 ^d	1.94 ± 0.08 ^a
MS + BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร	22.20 ± 3.54 ^b	0.35 ± 0.02 ^b
MS + BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร	34.00 ± 4.33 ^a	0.29 ± 0.02 ^b
MS + BAP 3 มิลลิกรัมต่อลิตร	14.80 ± 2.93 ^c	0.30 ± 0.02 ^b
MS + BAP 4 มิลลิกรัมต่อลิตร	9.90 ± 1.24 ^c	0.31 ± 0.02 ^b
MS + BAP 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	7.20 ± 0.96 ^c	0.30 ± 0.02 ^b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Standard error of mean, S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

5.2 รูปภาพ



รูปที่ 1 ลักษณะและจำนวนยอดของหม้อข้าวหม้อแกงลิงไลอิวาย (*Nepenthes lowii* Hook.f.) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BAP ที่ระดับความเข้มข้น A) 0 มิลลิกรัมต่อลิตร B) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร C) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร D) 3 มิลลิกรัมต่อลิตร E) 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ F) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 32 สัปดาห์

อภิปรายผลการศึกษา

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดไลอิวาย (*Nepenthes lowii* Hook.f.) เพื่อให้ได้ยอดอ่อนขนาด 1 เซนติเมตร เพื่อนำมาใช้เป็นชิ้นพืชเริ่มต้นสำหรับการทดลองนั้น ใช้เวลานานประมาณ 16 สัปดาห์ ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าพืชชนิดนี้มีการเจริญเติบโตช้าเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่น เช่น กุหลาบหนู หรือ ม่วงเทพรัตน์ ซึ่งใช้วิธีเดียวกันและเลี้ยงในภาชนะที่มีขนาดเท่ากันในสภาวะเดียวกัน (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ทั้งนี้พืชชนิดนี้ก็มีการเจริญเติบโตที่ช้าในธรรมชาติ^{2,3} นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารวุ้นสูตร MS ที่นำมาใช้เลี้ยงนั้นทำให้ต้นเจริญเติบโตได้แต่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณต้น ดังนั้นในการเพิ่มจำนวน

ให้มากขึ้นจึงจำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มของไซโตไคนิน (cytokinin) ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ BAP ที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งตัวและขยายขนาดของเซลล์พืช^{4,6,7} เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดอื่น เช่น หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดมิราบิลิส (*Nepenthes mirabilis* Druce)³ หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดแม็กฟาแลนไน (*Nepenthes macfarlanei*)⁸ และหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดคาเซียนา (*Nepenthes khasiana* Hook. f.)^{2,9} ที่มีการนำสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดนี้มาใช้เพื่อการเพิ่มจำนวนยอดได้สำเร็จ

จากการทดลองเพาะเลี้ยงยอดอ่อนบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BAP ความเข้มข้นต่างๆ กัน

พบว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BAP จะมีการเจริญเติบโตของตาข้าง (axillary bud) ลักษณะเป็นตุ่มยอดเล็กๆ หลังจากนั้นตุ่มยอดเล็กๆ จะเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อน มีใบ 2 - 6 ใบ แต่ไม่มีราก ตั้งแต่ 8 สัปดาห์ หลังการเพาะเลี้ยง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า BAP เป็นตัวชักนำให้เกิดยอดได้จริง ทั้งนี้เนื่องจาก BAP มีผลทำให้ภายในเนื้อเยื่อมีอัตราส่วนของไซโทไคนินสูงกว่าออกซิน เป็นผลทำให้เกิดการลดการข่มตาข้างลง ทำให้ตาข้างสามารถเจริญได้ และช่วยให้มีการแตกตาข้าง^{10,11} ผลจากการทดลองยังพบว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BAP ความเข้มข้นมากขึ้นส่งผลให้เกิดยอดจำนวนมากขึ้น แต่ความยาวยอดเฉลี่ยลดลง และสั้นกว่าในชุดควบคุม ดังที่พบในการศึกษาพืช *N. mirabilis*³ อย่างไรก็ตามยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้นตั้งแต่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป จะมีจำนวนยอดเฉลี่ยลดลง แต่ความยาวยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของ BAP ที่สูงขึ้นจะไปยับยั้งการเจริญและความยาวของยอด เช่นเดียวกับที่พบในการศึกษาพืช *Dendrobium lindleyi* Steud¹² ถึงแม้จะเป็นพืชชนิดอื่นก็ตาม นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงพืชที่ระดับความเข้มข้นของไซโทไคนินสูงๆ เป็นระยะเวลานาน จะส่งผลให้พืชเกิดอาการอวบน้ำ ทำให้พืชเจริญเติบโตช้าหรือตายได้¹³ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาการใช้ไซโทไคนินในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อชักนำให้พืชแต่ละชนิดเพิ่มจำนวนยอดใหม่ได้มากที่สุด

บทสรุปและประโยชน์ที่ได้จากการศึกษา

สรุปผลการทดลอง

อาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นอาหารสูตรที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดชนิดโล

วาย (*Nepenthes lowii* Hook.f.) โดยสามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด เฉลี่ย 34 ยอด

ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษา

1. พัฒนางานที่ได้รับมอบหมายให้เป็นงานวิจัย
2. ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลไว้อย่างในหลอดทดลอง เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารสูตรพื้นฐานในการขยายพันธุ์พืชชนิดนี้ให้ได้จำนวนมากต่อไป
3. ได้จำนวนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลไว้อย่างเพิ่มขึ้น เพื่อที่จะนำไปใช้ศึกษาต่อยอดในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากโดยธรรมชาติของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นพืชที่มีจำนวนรากน้อย และสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดไม่สามารถชักนำในการเกิดรากได้ ดังนั้นการศึกษารั้งต่อไปจึงควรจะศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดของหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ได้มีการสร้างรากในหลอดทดลองเพื่อจะได้เป็นต้นที่สมบูรณ์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบคุณทุนสนับสนุนการทำงานเพื่อพัฒนางานของบุคลากรสายสนับสนุน จากมหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งให้ทุนสนับสนุนส่วนหนึ่งในงานทดลองครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.งามนิจ ขึ้นบุญงาม ซึ่งเป็นพี่เลี้ยงที่ให้ความกรุณา ช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ให้ข้อคิดเห็นต่างๆ และชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหาที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย จนทำให้การวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. พวงผกา อัมพันธ์จันทร์ หัวหน้าภาควิชาพฤกษศาสตร์

ผศ.ดร.ทยา เจนจิตติกุล ที่กรุณาให้ความสนับสนุนในเรื่องของพืชทดลอง ขอขอบคุณ นายโรจนกร เจริญญา และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการ ที่ช่วยเหลือให้ งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี อีกทั้งขอขอบคุณ ครอบครัวที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในทุกๆ ด้าน ซึ่งมีส่วนทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Clarke C, Cantley R, Nerz J, Rischer H. and Witsuba A. The IUCN Red List of Threatened Species: *Nepenthes lowii*. Version 2014.3. [เข้าถึงเมื่อ 11 ธันวาคม 2557]. เข้าถึงได้จาก www.iucnredlist.org
- Nongrum I, Kumaria S, and Tandon P. Multiplication through *in vitro* seed germination and pitcher development in *Nepenthes khasiana* Hook. f., a unique insectivorous plant of India. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2009;84(3):329-332.
- Jala A. Effects of Different Light Treatments on the Germination of *Nepenthes mirabilis*. *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*. 2011;2(1):83-91.
- George EF, Hall MA and De Klerk GJ. Plant propagation by tissue culture, 3rd edition. Netherlands: Springer; 2008.
- Murashige T. and Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 1962;15(3):473-497.
- พีรเดช ทองอำไพ. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: ไดนามิคการพิมพ์; 2529.
- อรดี สหวัชรินทร์. หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2539.
- Chua LSL and Henshaw G. *In vitro* propagation of *Nepenthes macfarlanei*. *Journal of Tropical Forest Science*. 1999;11:631-638.
- Latha PG and Seeni S. Multiplication of the endangered Indian pitcher plant (*Nepenthes khasiana*) through enhanced axillary branching *in vitro*. *Plant cell, tissue and organ culture*. 1994;38(1):69-71.
- ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพของพืชเบื้องต้น. ขอนแก่น: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2545.
- Loc NH, Duc DT, Kwon TH. And Yang MS. Micropropagation of zedoary (*Curcuma zedoaria* Roscoe)—a valuable medicinal plant. *Plant cell, tissue and organ culture*. 2005;81(1):119-122.
- รัตนภรณ์ จงไพจิตรสกุล. ผลของไซโทไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ. *Rajabhat Journal of Science, Humanities & Social Sciences*. 2013;14(1):25-31.

13. Kadota M. and Niimi Y. Effects of cytokinin types and their concentrations on shoot proliferation and hyperhydricity in *in vitro* pear cultivar shoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003;72(3):261-265.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางอัจฉรา เมืองครุฑ
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี : วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ.2534
ผลงานทางวิชาการ	งานวิจัยเรื่อง สูตรอาหารเพื่อการ ขยายพันธุ์ต้นหัวร้อยรูหนาม (<i>Myrmecodia tuberosa</i> Jack.) โดย วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (นำเสนอใน งานการประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์ แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 7)
ตำแหน่งหน้าที่	นักวิทยาศาสตร์
การทำงานปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ สังกัดภาควิชา พฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล