บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษา ปัจจัยที่มีผลต่อการแตกยอดและคุณภาพของปอสาที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้ว สามารถแบ่งกลุ่มปัจจัยที่ทดลองได้ 3 กลุ่ม คือ

1. ส่วนประกอบของอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของปอสา

1.1 ผลของ riboflavin

จากการศึกษาผลของ riboflavin ที่มีต่อการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของปอสา พบว่า ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของปอสา แต่ทางด้านคุณภาพนั้น สีของใบมีแนวโน้มเข้มขึ้น นอกจากนี้แล้ว ปริมาณการเกิดแคลลัสที่ฐานของต้นมีขนาดลดลง ซึ่งจากรายงานของ George and Sherrington (1984) กล่าวว่า riboflavin 0.004 มก/ล สามารถยับยั้งการเกิดแคลลัส ที่ยอดของ Eucalyptus ficifolia ได้ วรวรรณ และนพมณี (2532) ได้รายงานผลของ riboflavin ต่อการเกิดแคลลัสของปอสาว่า riboflavin ระดับความเข้มข้น 2 และ 4 มก/ล ในสูตรอาหาร MS ที่มี KIN 2 มก/ล และ IAA 0.2 มก/ล มีผลทำให้การเกิดแคลลัสลดลง ซึ่งจะส่งผลให้การเจริญเติบโตของต้นปอสาดีขึ้น และสีของใบที่ได้ก็เข้มขึ้นด้วย ในการทดลองครั้งนี้ การใช้ riboflavin สามารถลดการเกิดแคลลัสตรงบริเวณฐานของต้นปอสาที่นำมาเลี้ยงได้ แต่ไม่สามารถกำจัดได้หมด อาจเนื่องมาจากปริมาณที่ใช้ยังต่ำเกินไป นอกจากนั้นอาจเกี่ยวข้องกับการใช้ในสูตรอาหารที่มีชนิดของไซโตไคนินต่างกัน ซึ่งในการทดลองนี้ เมื่อมีการใช้ BAP แคลลัสสามารถเกิดขึ้นได้ในทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อเปลี่ยนมาใช้ KIN กลับพบว่าไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลย แม้ว่าปริมาณของ KIN จะสูงถึง 8 มก/ล แต่กลับมีรากเกิดขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า riboflavin มีผลต่อการเกิดราก ซึ่งจากงานของ Drew et al. (1991) ที่ทำมะละกอ พบว่า การเติม riboflavin ที่ระดับความเข้มข้น 1 μM ลงในอาหารที่มี IBA ความเข้มข้น 10 μM มีผลต่อรากและเปอร์เซ็นต์ยอดที่ออกราก โดยยอดจะเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 11 วัน แต่ถ้าใช้ riboflavin ความเข้มข้นสูงหรือต่ำกว่านี้ เปอร์เซ็นต์การเกิดรากจะต่ำและรากจะเกิดช้า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 ผลของปริมาณวุ้น

จากการทดลองผลของปริมาณวุ้นที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นปอสา พบว่า การใช้วุ้นที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลทำให้ การเพิ่มปริมาณและคุณภาพของปอสาดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่ใช้วุ้น โดยการใช้ปริมาณวุ้น 6 ก/ล มีผลทำให้ต้นมีความสูงมากที่สุด และจำนวนต้นที่ได้จากการแตกตาข้างจะมากที่สุด เมื่อมีการใช้วุ้น 8 ก/ล ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากวิธีที่ไม่ใช้วุ้น ส่วนในด้านคุณภาพนั้นผลที่เด่นชัดที่สุดคือ สามารถลดการฉ่ำน้ำได้ โดยระดับความเข้มข้นสูงสุด คือ 12 ก/ล มีผลทำให้ต้นปอสามีการฉ่ำน้ำน้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม การใช้วุ้นระดับความเข้มข้นที่สูงกลับทำให้ปริมาณของต้นที่ได้จากการขยายพันธุ์ลดลงไปด้วย เช่นเดียวกับการศึกษาใน globe artichoke (Cynara scolymus) ที่พบว่าการเพิ่มปริมาณวุ้นในอาหารสามารถลดการฉ่ำน้ำ แต่ทำให้ต้นที่ได้จากการขยายพันธุ์ลดลงไปอย่างมาก (Debergh et al.,1981) โดยปกติการใช้วุ้นจะมีผลต่อค่าพลังงานที่ทำงานได้ต่อโมลของน้ำลดลง เนื่องจากการดูดติดระหว่างโมเลกุลของน้ำกับโมเลกุลของสารบางชนิด ดังนั้นความสามารถในการนำน้ำและแร่ธาตุไปใช้ในสภาพที่อยู่ในขวดแก้วจึงลดลง (Debergh et al., 1981 : Debergh, 1983) ในด้านการเจริญเติบโตของต้นปอสา ในด้านความสูงของต้น และการขยายพันธุ์จึงลดลงไปด้วย แต่จากการทดลองกับคาร์เนชั่นพันธุ์ Arthur Sim โดยย้ายพวกที่มีลักษณะฉ่ำน้ำที่เคยเจริญบนอาหาร ซึ่งมีวุ้นเป็นส่วนผสมในระดับต่าง ๆ กัน คือ 0 5 10 และ 15 ก/ล มาเลี้ยงบนอาหารที่มีวุ้น 15 ก/ล พบว่ามีผลช่วยลดลักษณะการฉ่ำน้ำได้ โดยไม่มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงเลย (กาญจนา, 2525) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการเพิ่มปริมาณวุ้นจะมีการสร้าง wax ในกระหล่ำปลีและเบญจมาศ ซึ่งมีผลในการลดความชื้นสัมพัทธ์ในขวด ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของปากใบดีขึ้น (Short et al., 1987) การเพาะเลี้ยงแอปเปิลที่อยู่ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่ำช่วยทำให้การอยู่รอดของต้นเมื่อย้ายปลูกออกจากขวดแก้วดีขึ้น (Brainerd and Fuchlgami, 1981) การลดความชื้นสัมพัทธ์ลงโดยการเอาต้นที่เลี้ยงไปวางไว้บนแผ่นเย็นซึ่งเป็นสาเหตุให้ ไอน้ำกลั่นตัวเป็นหยดน้ำอยู่บนอาหารวุ้นทำให้ลดการฉ่ำน้ำได้เช่นกัน (Maene and Debergh, 1987) ในการทดลองครั้งนี้ สามารถกล่าวได้ว่า ระดับความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสม คือ 8 ก/ล เพราะนอกจากจะลดการฉ่ำน้ำของปอสาลงได้แล้ว ยังทำให้ได้จำนวนต้นจากการขยายพันธุ์มากที่สุดด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต

การศึกษาสารไซโตไคนิน คือ BAP และ KIN ร่วมกับ ออกซิน คือ IBA (การทดลองที่ 2 และ 3) พบว่าสารไซโตไคนินทั้ง 2 ชนิด ให้ผลแตกต่างกันในด้านการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของปอสา เช่นเดียวกับการทดลองในหม่อน (Morus nigra L.) BAP ให้ผลดีกว่า KIN ในการเพิ่มปริมาณยอดและการเจริญเติบโต (Yadav et al.,1990) และผลงานของกรรณิการ์ (2534) ในการศึกษากับไฮเดรนเยีย พบว่า การใช้ IBA ร่วมกับ BAP มีผลในการเกิดยอดมากกว่าการใช้ KIN อาจเป็นเพราะชนิดของไซโตไคนินที่แตกต่างกัน ดังที่ Han and Stephens (1987) ได้รายงานผลของ BAP 2ip และ KIN ที่มีต่อการขยายพันธุ์ เทียนบ้าน (Impatiens) ในสภาพปลอดเชื้อว่า BAP และ 2ip มีผลในการกระตุ้นการเกิดยอดจำนวนมากกว่า และดีกว่า KIN เขาให้เหตุผลว่า เทียนบ้าน อาจจะดูดซึม KIN ได้น้อยกว่า BAP และ 2ip จึงทำให้เกิดยอดน้อยกว่า จากการทดลองครั้งนี้ พบว่า BAP ให้ผลในการเพิ่มปริมาณต้นได้มากกว่า KIN อาจเป็นเพราะว่า BAP ที่ใช้ในระดับนี้เหมาะสมสำหรับการแตกยอดใหม่ แต่อาจจะเข้มข้นเกินไปสำหรับการยืดยาวของต้น ดังนั้นเมื่อใช้ KIN ที่ระดับเดียวกันจึงแสดงอาการต้นยืดมากกว่า สาเหตุก็เพราะว่า KIN เป็นไซโตไคนินที่อ่อนกว่า (weak cytokinin) และ BAP ก็ทำให้ยอดเสียหายมากกว่า นอกจากนี้ระดับ BAP และ KIN ที่สูงมีผลทำให้เกิดการฉ่ำน้ำมากขึ้น ในขณะที่มีการใช้ BAP และ KIN ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ร่วมกับ IBA ระดับความเข้มข้น 0.3 มก/ล มีผลทำให้การฉ่ำน้ำลดลง Leshem (1987b) แนะนำว่าความไม่สมดุลย์ของออกซินและไซโตไคนินจะกระตุ้นการฉ่ำน้ำ และยังได้มีการศึกษาใน globe artichoke พบว่า การใช้ BAP จะกระตุ้นการฉ่ำน้ำภายในสภาพที่ส่งเสริมให้เกิด เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ และ matrix potential สูง (Debergh, 1983) เช่นเดียวกับ การศึกษาในแตงโม ที่ไซโตไคนินมีผลในการกระตุ้นการฉ่ำน้ำ ซึ่งสามารถฟื้นกลับได้โดยการลดระดับของไซโตไคนินลง (Leshem et al., 1988) การลดระดับ KIN ในสนและคาร์เนชั่นจะทำให้การฉ่ำน้ำลดลง ซึ่งปกติจะถูกกระตุ้นโดย BAP มากกว่า KIN (Dencso, 1987) จากการทดลองของ Phan and Hegedus (1986) พบว่าการใช้ BAP ที่สูงขึ้นมีผลกระตุ้นให้เกิดการฉ่ำน้ำมากขึ้น เขาให้เหตุผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ว่า พืชอาจจะมีการผลิตลิกนินไม่ทันกับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ใน Norway spruce การใช้ BAP จะเกิดการฉ่ำน้ำ แต่เมื่อเพิ่มระดับวุ้นให้สูงขึ้นมีผลทำให้การนำเอา BAP ไปใช้ลดลง ซึ่งส่งผลให้การฉ่ำน้ำลดลงเช่นกัน (von Arnold and Erikson, 1984) ในการทดลองครั้งนี้ ต้นที่ฉ่ำน้ำอาจจะมีการพัฒนาเป็นไปได้ในหลายทาง คือ ตำแหน่งยอด เมื่อทดลองต่อไปเป็นเวลานาน ๆ จะมีการยืดยาว และเกิดการพัฒนายอดใหม่มาแทนยอดเดิม และยอดใหม่นี้อาจจะมีการ พัฒนาที่ปกติ คือให้ยอดที่ไม่ฉ่ำน้ำเกิดขึ้น ส่วนยอดเดิมก็จะมีการพัฒนาไปเป็นใบ ดังนั้นการฉ่ำน้ำก็จะเปลี่ยนตำแหน่งจากยอดไปเป็นตำแหน่งใบแทน นอกจากนั้นแล้วจากการสังเกตด้วยสายตา พบว่า ลักษณะของยอดจะเป็นแอ่งอยู่ตรงกลาง จึงเป็นไปได้ว่ามีการฉาบของน้ำเกาะอยู่ ดังนั้นจริง ๆ แล้วการฉ่ำน้ำอาจจะไม่ถึงขั้นรุนแรง เมื่อยอดมีการพัฒนาเต็มที่เพื่อไปเป็นใบ จึงไม่พบการฉ่ำน้ำที่ตำแหน่งใบ ก็จะกลับเป็นต้นที่ปกติเหมือนเดิม หรือยอดที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ก็ยังแสดงการฉ่ำน้ำเหมือนเดิม ก็จะไปแสดงผลอยู่ที่ตำแหน่งยอดและใบแทน ส่วนในตำแหน่งยอดและใบ นั้น ก็จะมีเปอร์เซ็นต์ของการฉ่ำน้ำลดลง หรือเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน โดยที่หากเปอร์เซ็นต์การฉ่ำน้ำลดลง อาจจะเป็นไปได้ว่า ยอดอาจจะมีการพัฒนาที่ปกติขึ้น จึงเปลี่ยนตำแหน่งไปอยู่ที่ใบ หรือหากการฉ่ำน้ำอยู่ในระดับที่ไม่รุนแรง คือ คะแนนระดับ 1 หรือ 2 อาจมีการปรับสภาพกลายเป็นต้นปกติไป แต่หากว่ามีเปอร์เซ็นต์ของการฉ่ำน้ำเพิ่มขึ้น ก็อาจจะเป็นไปได้ว่ายอดเดิมเมื่อมีการพัฒนายอดขึ้นมาใหม่นั้น ก็ยังเกิดการฉ่ำน้ำอยู่ ซึ่งอาจจะมาจากทั้งตำแหน่งยอด และตำแหน่งยอดและใบได้เหมือนกัน ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าการฉ่ำน้ำของปอสาสามารถผันกลับได้ 2 กรณี คือ (1) ต้นปอสามีการพัฒนาของยอดใหม่ที่ปกติขึ้นมาแทนยอดเดิมที่ฉ่ำน้ำ (2) ระดับของการฉ่ำน้ำหากยังไม่รุนแรงสามารถผันกลับได้ จากการทดลองกับต้นแอปเปิล M.26 ที่ฉ่ำน้ำ พบว่า บางต้นผันกลับได้ โดยเริ่มแรกจะพัฒนาเป็นใบ humid vitrified จากนั้นจะเป็น dry vitrified และสุดท้ายก็จะกลับมาเป็นใบปกติ (Gaspar et al., 1987) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะมีการเจริญเติบโตกลับไปเป็นแบบปกติตราบเท่าที่การฉ่ำน้ำที่เกิดขึ้นไม่พัฒนามากเกินไป

จากการวัดปริมาณก๊าซเอทธิลีน คาร์บอนไดออกไซด์ และออกซิเจน ที่มีต่อการร่วงของใบ และความเสียหายของใบหรือยอด จากตารางที่ 41 หน้า 92 โดยปกติแล้วเป็นผลโดยตรงมาจาก ก๊าซ C_2H_2 ส่วนก๊าซ O_2 และ CO_2 นั้น เป็นผลทางอ้อมที่มีต่อก๊าซ C_2H_2 คือจะมีผลในการส่งเสริมหรือลบล้างการเกิดก๊าซ C_2H_2 เป็นที่น่าสังเกตว่า ปริมาณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ก๊าซ C_2H_4 ของกลุ่มเปอร์เซ็นต์ที่มีใบร่วงมาก จะมีการเพิ่มอย่างรวดเร็วในระยะแรก ในวันที่ 2 และ 3 ซึ่งติดต่อกันนานถึง 2 วัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าปริมาณก๊าซ C_2H_4 ในระยะแรกนี้ มีผลกระตุ้นการร่วงของใบมากกว่ากลุ่มอื่น ส่วนกลุ่มเปอร์เซ็นต์ใบร่วงปานกลางก็เพิ่มขึ้นในวันที่ 2 เช่นเดียวกัน และเพิ่มมากอีกครั้ง ในวันที่ 6 ในขณะที่กลุ่มเปอร์เซ็นต์ใบร่วงน้อยมีปริมาณก๊าซ C_2H_2 เพิ่มขึ้นในวันที่ 3 และเพิ่มขึ้นในปริมาณที่น้อยกว่าทุกกลุ่ม ถึงแม้ว่าจะสูงกว่าทุกกลุ่มในวันที่ 7 ก็ตาม จากเหตุการณ์ที่กล่าวมานี้ อาจจะเป็นเหตุผลใช้อธิบายได้ว่า การที่กลุ่มเปอร์เซ็นต์ร่วงมากเป็นผลมาจาก C_2H_2 ที่เพิ่มมากขึ้นในวันที่ 2 และ 3 และกลุ่มเปอร์เซ็นต์ใบร่วงปานกลาง และกลุ่มเปอร์เซ็นต์ใบร่วงน้อยซึ่งมีปริมาณ C_2H_2 เพิ่มสูงในวันที่ 6 และ 7 ยังอาจไม่ทันแสดงผลเกี่ยวกับการร่วงของใบให้เห็นในช่วงเวลาที่ทดลอง การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่า เซลล์บริเวณรอยต่อของก้านใบมีการสลายตัวของผนังเซลล์ (ภาพที่ 8 หน้า 66) ทำให้เกิดการหลุดร่วงขึ้น Huberman et al. (1989) และ Goldschmidt and Leshem (1971) ได้ทำการศึกษาบริเวณรอยต่อที่เกิดการหลุดร่วงของพืชจำพวกส้มและมะนาว พบว่า ผนังเซลล์จะมีการบวมพองตัวและเละเหลว ส่วนประกอบของผนังเซลล์เสื่อมสลายและส่งผลให้เซลล์หลุดแยกตัวออกจากกัน อันเป็นผลจากการชักนำของเอทธิลีนจะกระตุ้นเร่งการทำงานของเอนไซม์ cellulase และ polygalacturonase ที่ย่อยสลายผนังเซลล์ (Huberman and Goren, 1979 ; Sagee et al., 1990) นอกจากนั้นเอทธิลีนยังทำให้ปริมาณของ IAA ลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนรูปจาก IAA ไปเป็น ICA (indole-3-carboxylic acid), IAA conjugate, IAA - glucose ester และ macromolecular conjugates (Riov et al., 1987 ; Sagee et al., 1990 ; IAA ที่ลดลง อาจทำให้สมดุลย์ของสารเร่งการเจริญเติบโตสูญเสียไป และทำให้ฮอร์โมนที่ช่วยชะลอการหลุดร่วงลดลง ซึ่งจากการศึกษาในส้มโอก็ให้ผลเช่นเดียวกัน คือ ใบที่มีการหลุดร่วง เซลล์บริเวณรอยต่อของก้านใบและแผ่นใบ มีการสลายตัวของผนังเซลล์ ทำให้เกิดการหลุดร่วงขึ้น และยังพบว่า การใช้ IBA ความเข้มข้น 2.5 มก/ล จะช่วยลดการหลุดร่วงของใบได้ดีกว่าการใช้ IBA ความเข้มข้นต่ำคือ 0.0025- 0.25 มก/ล (สุรีย์พร, 2534) ในด้านปริมาณของก๊าซ CO_2 ของแต่ละกลุ่ม (จากตารางที่ 41) มีรูปแบบการเพิ่มปริมาณคล้าย ๆ กับก๊าซ C_2H_4 ซึ่งดนัย (2533)ได้กล่าวถึง ขบวนการสังเคราะห์ C_2H_4 ว่าจะได้ก๊าซ CO_2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ออกมาด้วย แต่อย่างไรก็ตามในช่วงท้ายของการวัดก๊าซ ปรากฏว่าปริมาณก๊าซ CO_2 ลดลง ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับการนำก๊าซ CO_2 ไปใช้ในขบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งตรงกับรายงานของ Kozai et al. (1990) ; Kozai and Iwanami (1988) ในปี 1989 Solarovo ได้รายงานว่ายอดหรือกล้าที่มีคลอโรฟิลในขวด ในระยะที่มีการให้แสงจะมีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิต่ำ เนื่องจากมีปริมาณก๊าซ CO_2 ต่ำ ในด้านปริมาณก๊าซ O_2 กลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์ใบร่วงมากในช่วงท้ายการวัดก๊าซ ปริมาณก๊าซ O_2 จะลดลง อาจเนื่องมาจาก ก๊าซ O_2 ถูกใช้ในการส่งเสริมให้มีการสัง-เคราะห์ C_2H_4 มากขึ้น (Burg, 1962) นอกจากนั้นยังพบว่าในวันที่ 7 ของการทดลอง ปริมาณก๊าซ C_2H_4 เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในช่วงแรกที่ได้รับบาดแผล แล้วมีการกระตุ้นให้เกิดขบวนการ autocatalytic คือ มีการสร้าง C_2H_4 โดยตัวของพืชเอง ซึ่งเกิดขึ้นในอวัยวะที่กำลังเกิดบาดแผลหรือเสื่อมชรา ดังนั้นในการที่ใบหรือยอดของปอสาเกิดความเสียหาย ต้นปอสาก็จะมีการผลิต C_2H_4 เพิ่มขึ้นเช่นกัน

2. พันธุ์และภาชนะที่มีต่อการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของปอสา

2.1 พันธุ์

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของยอดปอสาพันธุ์ เบอร์ 589 และ เบอร์ 710 พบว่า ปอสาพันธุ์ เบอร์ 589 มีการเจริญเติบโตของต้น การแตกตาข้าง จำนวนต้นได้ดีกว่า และขนาดของแคลลัสใหญ่กว่า เบอร์ 710 โดยที่ปอสาทั้งสองพันธุ์ มีปริมาณของก๊าซ C_2H_4 เพิ่มขึ้นและลดลงแตกต่างกัน ซึ่งจากรายงานของ Biddington (1992) กล่าวว่า ปริมาณของก๊าซ C_2H_4 ในขวดเลี้ยงจะขึ้นอยู่กับชนิดพืชด้วย และก๊าซ C_2H_4 จะมีผลต่อพืชต่างสกุลและชนิดของพืชต่าง ๆ กัน ซึ่งในด้านของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชนั้น ก๊าซ C_2H_4 จะมีผลต่อพืชในหลาย ๆ ด้าน ได้แก่ ช่วยในการเจริญเติบโตของแคลลัสของทานตะวัน (Robinson et al.,1987) มีผลทั้งในด้านส่งเสริมและยับยั้งการพัฒนาของตา adventitious ของ Pinus radiata (Kumar et al., 1987) มีผลยับยั้งในการเลี้ยง anther ของ กะหล่ำดาว var. gemmifera (Biddington and Robinson, 1991) ส่งเสริมการเกิดดอกในขวดของเจตมูลเพลิงแดง (Plumbago indica) (Nitsch and Nitsch, 1969) และทำให้ปริมาณของคลอโรฟิลลดลงใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Magnolia soulageana (de Proft et al.,1985) ซึ่งจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการสร้างเอทธิลีนของพืชแต่ละพันธุ์จะมีปริมาณที่แตกต่างกัน และผลของเอทธิลีนอาจจะแสดงออกทั้งทางด้านส่งเสริมหรือยับยั้งที่แตกต่างกันออกไป ส่วนปริมาณก๊าซ CO_2 พันธุ์เบอร์ 589 มีปริมาณที่น้อยกว่า เบอร์ 710 ซึ่ง Kozai et al. (1988) กล่าวว่า ปริมาณก๊าซ CO_2 ที่สูง ได้จากการเพิ่มขึ้นในช่วงมืดซึ่งเป็นระยะที่สั้น และเมื่อกลับมาอยู่ในช่วงที่ให้แสงแล้วปริมาณก๊าซ CO_2 จะลดลง จากการทดลองจึงอาจเป็นไปได้ว่าก๊าซ CO_2 ของพันธุ์ เบอร์ 589 ถูกใช้ในขบวนการสังเคราะห์แสงได้มากกว่า พันธุ์เบอร์ 710 ดังนั้นลักษณะทางพันธุกรรมของพืชแต่ละพันธุ์ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโต โดยพันธุ์พืชแต่ละพันธุ์จะมีประสิทธิภาพในการสร้างสารต่าง ๆ ตลอดจนการนำเอาธาตุอาหารและสารต่าง ๆ ไปใช้ก็จะแตกต่างกันไปด้วย

2.2 ภาชนะที่ใช้เลี้ยง

จากการเปรียบเทียบภาชนะที่ใช้เลี้ยง พบว่า ในหลอดแก้วจะมีปริมาณก๊าซออกซิเจนมากกว่าในขวดแก้ว แต่ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเอทธิลีนในขวดแก้วจะมากกว่าในหลอดแก้ว ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับ (1) ชนิดของฝา ซึ่งหลอดแก้วมีการใช้พลาสติกหุ้ม ซึ่งต่างกับในขวดแยมที่มีการใช้พลาสติกหุ้มเช่นกัน แต่มีการปิดทับด้วยฝาปิดสนิทอีกชั้นหนึ่ง ดังนั้นการถ่ายเทของอากาศในขวดแก้วจึงเป็นไปได้ยาก ทำให้เกิดการสะสมของก๊าซเอทธิลีนและคาร์บอนไดออกไซด์สูง ซึ่งจากการทดลองของ Hakkaart and Versluijs (1983) ได้ทำการเปรียบเทียบชนิดของฝากับหลอดทดลอง พบว่า ฝาสำลี ฝาโลหะ และจุก มีส่วนช่วยให้ได้ต้นปกติมากกว่าการใช้แผ่นอลูมินัมหรือพาราฟิลม์ เพราะฝาที่มีลักษณะหลวม เช่น สำลี ฝาโลหะ และจุกมีการแลกเปลี่ยนของก๊าซดีกว่า และสุรีย์พร และ พิมพ์ใจ (2534) ยังได้ทำการทดลอง โดยใช้แผ่นพลาสติกใสปิดหลอดทดลอง ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสะสมก๊าซ C_2H_4 ภายในหลอดมากซึ่งไปมีผลต่อการเร่งการหลุดร่วงของใบและ/หรือยอดใหม่ ถึงแม้ว่าการใช้สำลีปิดหลอดทดลองช่วยลดการหลุดร่วงของใบและ/หรือยอดใหม่ แต่ก็ทำให้พืชสูญเสียความชื้น ชิ้นส่วนแห้งตายและยังเพิ่มการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในระยะหลังอีกด้วยซึ่งจากรายงานของ Dillen and Buysens (1989) ก็พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชนิดของภาชนะและฝาปิดมีผลต่อการแลกเปลี่ยนก๊าซ การระเหยของน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทธิลีนที่อยู่ในที่ว่างในภาชนะ (2) จำนวนต้นจากการทดลองในขวดแก้ว มีจำนวนต้นมากถึง 20 ต้น ในขณะที่หลอดแก้วมีเพียง 1 ต้น เท่านั้น ดังนั้นในขวดแก้วที่มีปริมาณก๊าซออกซิเจนลดลง อาจเนื่องมาจากถูกนำไปใช้ในการหายใจ แล้วปลดปล่อยก๊าซคาร์บอน-ไดออกไซด์ออกมา ทำให้ปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ในขวดแก้วเกิดการสะสมมากขึ้น ส่วนปริมาณของเอทธิลีนที่สูงกว่าในหลอดแก้วนั้น อาจจะเกิดจากบาดแผล จากรอยตัดของยอดในระยะแรกของการเลี้ยง ซึ่งมีมากถึง 20 ยอด รวมถึงการที่มีฝาปิดสนิท จึงเกิดการสะสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเอทธิลีนมากกว่าในหลอดแก้ว ดังรายงานของ de Proft et al., 1985) ที่พบว่า ปริมาตรของที่ว่างภายในภาชนะ มีความสัมพันธ์กับปริมาตรของอาหารและจำนวนของยอด ซึ่งจะไปมีผลต่อความเข้มข้นและสัดส่วนของก๊าซในที่ว่างภายในภาชนะด้วย ซึ่งจากการทดลองปริมาณที่ว่างในขวดแก้วมีมากกว่าในหลอดแก้วถึง 15 เท่า

3. ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของใบที่ฉ่ำน้ำ

การฉ่ำน้ำเป็นความผิดปกติทางสรีรวิทยาที่มีการสร้างลิกนิน และคิวติเคิลลดลง ขนาดของเซลใหญ่ขึ้น เนื่องจากมีการแพร่กระจายของน้ำเข้าไปในเนื้อเยื่อเหล่านั้น (Gaspar et al., 1987) ความผิดปกติส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ใบ (Ziv, 1986 ; Gaspar et al., 1987) โดยใบของต้นฉ่ำน้ำมักจะใส หนา ม้วนขึ้น ยืดยาว ฉ่ำน้ำ เปราะและหักง่าย (Gaspar et al., 1987) จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาเกี่ยวกับโครงสร้างของใบปอสาในการทดลองครั้งนี้พบว่าใบที่ฉ่ำน้ำจะมีเซลล์อิพิเดอร์มิสที่มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ มีปริมาณเนื้อเยื่อ palisade น้อย พบ mesophyll ที่จัดไม่เป็นระเบียบ โดยมี parenchyma น้อย และมีช่องว่างระหว่างเซลล์มาก ท่อน้ำและท่ออาหารมีน้อย และเรียงแบบไม่ปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับใบที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ ซึ่งจากการทดลองของกรรณิการ์ (2534) รายงานว่า ใบฉ่ำน้ำของไฮเดรนเยีย ไม่มีชั้นของ palisade จะมีแต่ spongy mesophyll เท่านั้น และใน globe artichoke Debergh et al.,(1981) ก็ได้รายงานว่า ใบที่ฉ่ำน้ำ เซลล์เอพิเดอร์มิสมีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ ในคาร์เนชั่น สายพันธุ์ Ceris Royallete ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งเหลว ใบที่ฉ่ำน้ำส่วนใหญ่จะมี spongy parenchyma ที่มี air space ใหญ่ มีเซลล์ parenchyma น้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(Leshem,1983) ผลการทดลองนี้ อาจอธิบายได้ว่าสาเหตุของการฉ่ำน้ำ เกิดจาก (1) การสะสมของปริมาณก๊าซเอทธิลีน ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขบวนการทางเมตะ-บอลิซึม โดยจะไปกระตุ้น peroxidase ที่จะไปมีผลต่อกิจกรรมของ phenylalanine ammonia lyase และกิจกรรมของ phenol ซึ่งจะทำให้การสะสมลิกนินน้อยลง และสูญเสียความยืดหยุ่นของผนังเซลล์ (Kevers et al.,1984) (2) การเพิ่มปริมาณวุ้นในอาหารที่เลี้ยง globe artichoke จาก 6 เป็น 11 หรือ 20 ก/ล ทำให้การฉ่ำน้ำลดลง ซึ่ง Debergh et al. (1981) ให้เหตุผลว่าเกิดจากผลของ matrix potential ถึงแม้ว่าปริมาณวุ้นจะมีผลทำให้การฉ่ำน้ำลดลง แต่ก็ทำให้อัตราการขยายพันธุ์ลดลง (3)สารควบคุมการเจริญเติบโต การเพิ่มความเข้มข้นของ BAP ที่สูง จะกระตุ้นให้เกิดการฉ่ำน้ำมากขึ้น เนื่องจาก BAP ไปเร่งการแบ่งเซลล์ ทำให้การผลิตลิกนินไม่เพียงพอต่อปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Phan, 1991) นอกจากนั้นแล้วยังมีรายงานที่เกี่ยวข้องกับสาเหตุของการฉ่ำน้ำอื่น ๆ อีก ซึ่งได้แก่ ความชื้นสูง ปริมาณของธาตุอาหาร และคาร์โบ-ไฮเดรตที่มากเกินไป และความเข้มแสงต่ำ (Ziv, 1986 ; Gaspar et al.,1987) นอกจากปัจจัยที่กล่าวถึงแล้ว ยังมีปัจจัยของอุณหภูมิที่เกี่ยวข้องกับการฉ่ำน้ำ ซึ่งจากรายงานของ กาญจนา (2531) ที่ทดลองระดับของอุณหภูมิ 20 24 และ 28 °ซ กับกุหลาบมอญ พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโต คือ 20 °ซ แต่เมื่ออุณหภูมิที่เลี้ยงสูงขึ้นเป็น 28 °ซ คลอโรพลาสต์ในเซลล์ palisade และ spongy parenchyma จะลดลง และเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 24 °ซ เซลล์ spongy parenchyma มีขนาดเพิ่มขึ้น และคลอโรพลาสต์ จะหายไปพร้อมกับ palisade parenchyma ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ก็ส่งผลกระทบต่อการฉ่ำน้ำได้เช่นกัน

ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างทำการทดลอง

ในขณะที่ทำการทดลอง พบว่า มี endogenous bacteria เกิดขึ้น (ภาพผนวกที่ 1) ซึ่ง Cassells et al. (1988) รายงานว่า มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่อาศัยอยู่ในเซลล์ หรือระหว่างเซลล์ของเนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโตได้ และ Matthews (1981) กล่าวว่า จุลินทรีย์เหล่านั้นอาจจะรุนแรงหรืออาจจะอยู่เฉพาะในท่อน้ำหรือท่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

อาหาร อาจจะอยู่เป็นที่หรืออาจจะอยู่แบบทั้งระบบ หรือ recycle ได้ Cassells et al. (1988) พบว่า จุลินทรีย์เหล่านี้จะรอดจากการถูกฟอกฆ่าเชื้อและไปแสดงอาการให้เห็นในอาหารชุดต่อไป แม้ว่าบางชนิดจะถูกยับยั้งโดยความเข้มข้นของเกลือหรือน้ำตาลสูง และระดับของความเป็นกรดเป็นด่างจุลินทรีย์ที่ปรับตัวได้จะทำให้ต้นในขวดเจริญช้าลง พวกที่ปรับตัวได้น้อยอาจจะขยายตัวในเนื้อเยื่อของชิ้นส่วนและมีการใช้ธาตุอาหารมาก ซึ่งได้ธาตุอาหารจากการรั่วไหลของเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหายแล้ว จะทำให้พืชตายได้จากการที่มันขยายตัวมาก หากเป็นลักษณะของจุลินทรีย์ที่แสดงออกก็จะพบเกิดการเจริญรอบ ๆ ชิ้นส่วน โดยอาจจะเห็นได้จากการที่นำเอาขวดที่เลี้ยงมาส่องตรงแสง ส่วนจุลินทรีย์ที่ไม่แสดงออก จะไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยการสังเกต และอาจจะแสดงผลอย่างรวดเร็วเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรใหม่ โดยเฉพาะในอาหารที่ลดความเข้มข้นของน้ำตาลลง ซึ่งจากปัญหาที่เกิดขึ้นนี้จะไปมีผลทำให้การขยายพันธุ์ของปอสาถูกจำกัด นอกเหนือจากปัญหาที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ปัญหานี้จะแก้ได้ยากเพราะการเจริญของจุลินทรีย์อยู่ภายในเนื้อเยื่อพืช แต่วิธีการฆ่าเชื้อโดยทั่วไปจะเป็นการฆ่าเชื้อที่ชิ้นส่วนเท่านั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ปัจจัยที่มีผลต่อการแตกยอดและคุณภาพของปอสาที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้ว สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ส่วนประกอบของอาหาร

1.1 riboflavin ในการทดลองนี้ยังให้ผลไม่ชัดเจน ควรทำการศึกษาต่อไป โดยการเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้นเพื่อลดการเกิดแคลลัส เพื่อที่จะนำไปสู่การทำ single node culture

1.2 ปริมาณวุ้น 8 ก/ล เหมาะสมที่สุด โดยให้จำนวนยอดมากที่สุดและการฉ่ำน้ำเกิดขึ้นน้อย

1.3 ควรใช้ BAP ความเข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.3 มก/ล ในการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของปอสา และควรมีการใช้ KIN ความเข้มข้น 1-2 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.3 มก/ล สลับในบางครั้ง ในกรณีที่ยอดที่ได้มีขนาดเล็กในช่วงเพิ่มความสูงของยอดหรือในขั้นตอนการเตรียมต้นพืชเพื่อการออกราก

2. พันธุ์และภาชนะที่ใช้เลี้ยง

2.1 ปอสาแต่ละเบอร์ มีความสามารถในการใช้และปลดปล่อยปริมาณก๊าซและการเจริญเติบโตได้ไม่เท่ากัน ถึงแม้จะอยู่ในสภาพแวดล้อมเดียวกัน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงส่วนประกอบของอาหารและปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับพันธุ์ด้วย

2.2 ภาชนะ การใช้หลอดแก้วที่ปิดฝาด้วยพลาสติกใสทนร้อนเพียงชั้นเดียวดีกว่าการใช้ขวดแก้วที่ปิดฝาด้วยพลาสติกใสทนร้อนแล้วมีฝาปิดสนิททับอีกชั้นหนึ่ง ซึ่งเป็นสภาพปกติที่ใช้เลี้ยงปอสาในห้องปฏิบัติการนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การตรวจสอบโครงสร้างใบ

การใช้ BAP ความเข้มข้น 0.3 มก/ล ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.3 มก/ล โครงสร้างของใบจะดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบใบจากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อด้วยกัน ดังนั้นควรใช้สารควบคุมการเจริญที่ระดับนี้ปรับสภาพของต้นก่อนนำพืชออกปลูก แต่ในขั้นตอนการขยายพันธุ์ ควรจะใช้ BAP ความเข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.3 มก/ล ซึ่งโครงสร้างของใบจะดีรองลงมา ซึ่งในแง่การขยายพันธุ์แล้วจะได้ปริมาณมาก แล้วค่อยนำมาปรับสภาพต้นก่อนออกปลูกต่อไป

4. การฉ่ำน้ำของต้นปอสา สามารถผันกลับได้ 2 กรณีคือ ต้นปอสามีการพัฒนาของยอดใหม่ที่ปกติขึ้นมาแทนยอดเดิมที่ฉ่ำน้ำ และต้นที่ฉ่ำน้ำสามารถกลับมาเจริญเป็นแบบปกติได้ หากว่าการฉ่ำน้ำนั้นยังไม่พัฒนามากจนเกินไป

5. ข้อเสนอแนะ ในการทดลองครั้งต่อไป ควรมีการศึกษาถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อคุณภาพของต้นปอสา เช่น ศึกษาชนิดของฝาและภาชนะที่เหมาะสม ความเข้มของแสง และการปรับสภาพของต้นก่อนการนำออกปลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved