บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1. การขยายพันธุ์หญ้าหวานโดยวิธีปลอดเชื้อ ทำได้โดยใช้เมล็ดหญ้าหวานสีดำแช่ในสารกำจัดเชื้อราคาเบ็นดาซิม ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 นาทีและนำเมล็ดไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมทวีน 20 2 หยด เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งจากนั้นไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ย้ายเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารวุ้น MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จะได้ต้นหญ้าหวานที่ปลอดเชื้อ จากนั้นทำการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก โดยการเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 5 สัปดาห์ และชักนำให้เกิดราก โดยย้ายชิ้นส่วนข้อที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารวุ้น MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ จะได้ต้นอ่อนหญ้าหวานที่มียอด และรากจำนวนมาก ทำการย้ายต้นอ่อนออกปลูกในดินผสมสำเร็จในโรงเรือนที่มีแสงรำไร เป็นเวลา 8 สัปดาห์จะทำให้ได้ต้นอ่อนที่รอดชีวิตมากที่สุด

2. การชักนำให้เกิดแคลลัส ทำได้โดยนำต้นหญ้าหวานที่ปลอดเชื้อจากเมล็ดหญ้าหวานสีดำ มาตัดชิ้นส่วนข้อ และเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จะได้ compact callus ที่มีความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของแคลลัสมากที่สุด

อภิปรายผล

1. การทดลองที่ 1 การทดสอบความมีชีวิตเมล็ดหญ้าหวานด้วยวิธีเทตระโซเลียม (Tetrazolium Test : TZ Test)

การทดสอบความมีชีวิตเมล็ดหญ้าหวานสีน้ำตาล และสีดำด้วยวิธีเทตระโซเลียม พบว่า เมล็ดสีน้ำตาล มีเมล็ดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 21.33 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดลีบฝ่อ 78.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดหญ้าหวานสีดำ เมื่อลอกเปลือกแล้วแยกเมล็ด พบว่า มีเมล็ดที่สมบูรณ์เฉลี่ย 64.67 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่ลีบฝ่อ 35.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Goettemoeller and Ching (1999) ที่รายงานว่า หญ้าหวานเมล็ดสีดำมีน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงกว่าเมล็ดสีน้ำตาล โดยเมล็ดสีดำจะมีอัตราการงอกของเมล็ด 60-65 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบความมีชีวิตเมล็ดหญ้าหวานสีน้ำตาลและสีดำ ด้วยวิธีเทตระโซเลียม สามารถแยกเมล็ดที่มีชีวิต และไม่มีชีวิตออกจากกันได้ โดยการนำเมล็ดพันธุ์มาแช่ในสารละลายเทตระโซเลียม เป็นเวลานานพอ จนสารซึมเข้าสู่ภายในเมล็ดไปยังอวัยวะต่าง ๆ ได้ทั่วถึง และหากเนื้อเยื่อหรือเซลล์นั้นยังมีชีวิตอยู่ มีการหายใจและปลดปล่อย H^+ ออกมาก็จะเกิดการทำปฏิกิริยากับสารเทตระโซเลียมให้เปลี่ยนเป็นสารฟอมาซานที่มีสีแดง ไม่ละลายน้ำ และไม่เคลื่อนที่ เนื้อเยื่อของอวัยวะที่ยังมีชีวิตอยู่นั้นจึงปรากฏเป็นสีแดง ส่วนบริเวณที่ไม่ติดสี แสดงถึงเซลล์ของเนื้อเยื่อนั้นไม่มีการหายใจหรือไม่มีชีวิตแล้ว จึงสามารถแยกเมล็ดที่มีชีวิต และไม่มีชีวิตออกจากกันได้ โดยพิจารณาว่าหากอวัยวะที่มีความสำคัญต่อการงอกของเมล็ดติดสีทั้งหมด หรือติดสีคลอบคลุมพื้นที่สำคัญเพียงพอ เมล็ดนั้นน่าจะงอกได้ และจัดเป็นเมล็ดที่ยังมีชีวิตอยู่ (viable seed) แต่ถ้าอวัยวะสำคัญไม่ติดสีเลย หรือติดสีเพียงบางส่วน แต่พื้นที่สำคัญที่จะพัฒนาเป็นต้นอ่อนนั้นไม่ติดสีเพราะเซลล์ตายนั้น เมล็ดจะถูกจัดเป็นเมล็ดที่ไม่มีชีวิต (non-viable seed) (ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ, 2550) ซึ่งพบว่าต้นอ่อนของเมล็ดสีดำของหญ้าหวานย้อมติดสีชมพูหรือแดงมากกว่าเมล็ดสีน้ำตาล แสดงว่า เมล็ดสีดำมีชีวิตมากกว่า โดยมีค่าเฉลี่ย 37.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าเนื้อเยื่อของเมล็ดสีน้ำตาล ซึ่งมีค่าเฉลี่ย การติดสีเพียง 9.33 เปอร์เซ็นต์ และ Jagatheeswari and Ranganathan (2012) รายงานว่า การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดหญ้าหวานทำได้ยากมาก เนื่องจากความไม่สมบูรณ์ของเมล็ด ที่ส่งผลให้เมล็ดเป็นหมันเป็นส่วนมาก เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์เป็นปัจจัยสำคัญที่จำกัดการเพาะปลูกพืชชนิดนี้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกเมล็ดหญ้าหวานสีดำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เพื่อให้ได้ต้นปลอดเชื้อสำหรับการย้ายเลี้ยงให้ได้ต้นหญ้าหวานที่ปลอดเชื้อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การทดลองที่ 2 การศึกษาการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเนื้อเยื่อและเมล็ดหญ้าหวาน

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนข้อ และเมล็ดของหญ้าหวาน โดยนำเนื้อเยื่อไปล้างทำความสะอาด แล้วเปิดน้ำ ไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที แช่เนื้อเยื่อในน้ำยาฆ่าเชื้อราคาเบ็นดาซิม ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการต่างๆ ดังนี้

วิธีที่ 1 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 นาที

วิธีที่ 2 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เวลา 10 นาที

วิธีที่ 3 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 นาที

วิธีที่ 4 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เวลา 10 นาที

วิธีที่ 5 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เวลา 10 นาทีแล้วแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 นาที ตามด้วยการแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 นาที

วิธีที่ 6 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เวลา 30 วินาทีและนำไปแช่ในสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 นาที

วิธีที่ 7 ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 นาที

จากนั้นจึงนำเนื้อเยื่อทั้งหมดมาล้างด้วยด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ก่อนนำชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 7 วิธี มีลักษณะเนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาล และแห้งตายทั้งหมดภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ เนื่องจากเนื้อเยื่อส่วนข้อของหญ้าหวานมีลักษณะที่เปราะบางมากจึงไม่สามารถทนต่อวิธีการฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 7 วิธีการได้ และเกิดการปนเปื้อนทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนใหญ่เมื่อปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จะไม่มีการพัฒนาเจริญเติบโตและตายในที่สุด และอาจเป็นเพราะระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปของสารฟอกฆ่าเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมอคิวริคคลอไรด์ ซึ่งเป็นสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ แต่ก็มีผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อของพืชสูงด้วยเช่นกัน (วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย กาญจนรี พงษ์ฉวี

และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์, 2552) มีเพียงเมล็ดหญ้าหวานที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 2 คือ การใช้สารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10% ผสม ทวีน-20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 10 นาที ที่มีการรอดชีวิตสูงสุด และพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เฉลี่ย 70 เปอร์เซ็นต์ และ ณัฐณิชา พูนชื่น (2546) รายงานว่าสารละลายคลอร็อกซ์ที่ใช้มีสารออกฤทธิ์คือ Sodium hypochloride ซึ่งมีคลอรีนความเข้มข้น 10-14 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งเมื่อพิจารณาคุณสมบัติทางเคมีพบว่า สารละลายคลอร็อกซ์ เป็นเบสที่รุนแรง (pH > 11) ซึ่งมีส่วนช่วยให้เอนไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์เสียสภาพ หรือมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ เปลือกหุ้มของเมล็ดหญ้าหวานสามารถป้องกันฤทธิ์การกัดกร่อน และการทำลายของเนื้อเยื่อภายในเมล็ดหญ้าหวานได้ จากการทดลองจึงพบว่าเมล็ดหญ้าหวาน เริ่มมีการงอกเฉลี่ย 29 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์แรก หลังจากนั้นมีการงอกเพิ่มขึ้นพร้อมทั้งมีการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในสัปดาห์ที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 3 และในสัปดาห์สุดท้าย เมล็ดมีการงอกและการเจริญเติบโตเฉลี่ย 28 เปอร์เซ็นต์ และให้ต้นปลอดเชื้อสำหรับการย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก และย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อเตรียมต้นปลอดเชื้อสำหรับการทดลองต่อไป สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุลักษณ์ แจ่มจำรัสและคณะ (2550) รายงานว่า ได้ทำการฟอกฆ่าเชื้อข้าวหอมมะลิ 105 โดยแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์(v/v) และ 7.5 เปอร์เซ็นต์(v/v) นาน 10 และ 5 นาที ตามลำดับ เก็บไว้ในที่มืด 2 วัน แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การงอกเป็นต้นกล้า 81.2 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อ 14.5 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Alam *et, al.,* (2001) ศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ *Dendrobium transparens* พบว่า เมล็ดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 78 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลางอก 50 วัน และงานวิจัยของ Liu *et, al.,* (2007) รายงานว่า ได้ทำการเพาะเมล็ดลูกผสมระหว่างพืช แอปริคอท และพลัม ซึ่งพบว่าเอ็มบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ดีมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และรัตนาภรณ์ บุญเรืองและคณะ (2011) ทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดถั่วคาวาลเคดให้เกิดยอดจำนวนมาก บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 4 มียอดจำนวนมากที่สุดจำนวน 5.29 ยอดต่อเมล็ด และมีความสูง 30.99 มิลลิเมตร สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มียอดจำนวน 4.69 ยอดต่อเมล็ด และมีความสูง 38.00 มิลลิเมตร และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีลักษณะลำต้นแคระแกร็นและไม่สามารถเกิดยอดได้อย่างชัดเจน

3. การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวาน

3.1 การชักนำยอด ในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนข้อหญ้าหวานจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ขนาด 1.5 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์แรกของการทดลองทุกชุดการทดลองมีการพัฒนาเกิดยอดใหม่ หลังจากนั้นจำนวนยอดจะเพิ่มมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ สัปดาห์ที่ 3 จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 4 จำนวนยอดส่วนใหญ่จะไม่เพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มเท่าเดิมหรือลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 8 บางชุดการทดลองยอดจะฝ่อและแห้งตายไป ยอดบางส่วนจะกลายเป็นแคลลัส และมีการเจริญของแคลลัสมากขึ้น ยกเว้นสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวที่มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนยอดทุก ๆ สัปดาห์ และพบว่า สูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.00±1.73 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เนื่องจาก TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ คือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมในการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานเกิดยอดจำนวนมาก สอดคล้องกับงานวิจัยของไตรรัตน์ ประทิศ (2555) ที่รายงานว่าอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำ คือ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานเกิดยอดได้เฉลี่ยสูงสุด 3.80± 0.39 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีลักษณะของลำต้นที่อวบ ใบมีสีเขียวเข้ม เช่นเดียวกับงานวิจัยของ กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2556) ซึ่งรายงานว่า TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานเจริญเป็นยอดได้จำนวนมากที่สุดเช่นเดียวกัน ในขณะที่เมื่อใช้ TDZ ร่วมกับ NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของออกซิน พบว่ามีผลในการยับยั้งการเกิดยอด ทำให้จำนวนยอดลดลง และจำนวนยอดเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของ NAA เพิ่มมากขึ้น และยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะไม่แข็งแรง ลำต้นลีบเล็กสีเหลือง เนื่องจากออกซินเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดตาข้าง และส่งเสริมการเกิดราก นอกจากนี้ยังพบว่า TDZ ความเข้มข้น 0.1 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังมีผลให้จำนวนยอดลดลงน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากชิ้นเนื้อเยื่อมีการสร้างแคลลัสที่มีลักษณะแน่น (compact callus) แทนการสร้างยอด จึงทำให้จำนวนยอดลดลง และงานวิจัยของอนุพันธ์ กงบังเกิด และพันทิตรา กมล (2006) รายงานว่า ชิ้นส่วนต้นกระเจียวขาวที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะชักนำให้เกิด

จำนวนตายอดสูงสุด และในอาหารสูตรที่มีการเติม NAA เพียงลำพัง ก็สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอด และ/หรือรากใหม่ได้เช่นกัน แต่เมื่อความเข้มข้นของ NAA เพิ่มมากขึ้น จะทำให้จำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีแนวโน้มลดลง และจากรายงานของ มิ่งขวัญ ทวีทรัพย์ (2549) ได้ทดสอบผลของสาร TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดของหน้าวัวพันธุ์ลินเนตโดยใช้ความเข้มข้นของ TDZ มี 5 ระดับ คือ 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารสูตรที่เติม TDZ ทุกระดับความเข้มข้น สามารถชักนำยอดได้มากกว่าในอาหารที่เติม BA ซึ่งสนับสนุนรายงานของ Chengalrayan and Gallo-Meagher (2001) ที่พบว่า TDZ มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดดีกว่าสารในกลุ่มไซโตไคนินชนิดอื่น ได้แก่ BA kinetin 2iP และ zeatin และ Murthy *et, al.*, (1998) ได้รายงานว่า TDZ ระดับความเข้มข้นต่ำ มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดโดยตรง แต่ต้องระมัดระวังในการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลานาน เนื่องจากมีผลในการชักนำให้เกิดแคลลัส ทั้งนี้เนื่องจาก TDZ ในระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ นั้นสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ ในกลุ่มไซโตไคนิน แต่มีผลไปยับยั้งการยืดยาวออกของยอด (Huetteman and Preece, 1993) และกำแพง ศรีวิยะ (2547) รายงานว่าอาหารที่เติม TDZ สามารถชักนำให้กล้วยไม้สกุลช้างเกิดยอดใหม่มากที่สุด ซึ่งการเติม TDZ ความเข้มข้นต่ำ (น้อยกว่า 1 μM) สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดได้มากกว่าความเข้มข้นสูง (Sankhla *et, al.*, 1996)

ผลการทดลองในด้านความยาวของยอดเฉลี่ยของหญ้าหวานพบว่าอาหารวุ้นสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) สามารถชักนำให้ยอด มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้ TDZ เพียงอย่างเดียว ความเข้มข้น 0.1, 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ความยาวของยอดจะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 สัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 4 จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 5 ความยาวยอดส่วนใหญ่จะไม่เพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มเท่าเดิมหรือลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 8 และเมื่อใช้ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว ความยาวของยอดเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นทุก ๆ สัปดาห์ แต่ความยาวของยอดเฉลี่ยมีแนวโน้มคงที่เมื่อใช้ NAA ความเข้มข้น 3, 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ส่วนชุดการทดลองอื่น ๆ ที่ใช้ ความเข้มข้นของ TDZ ร่วมกับ NAA จะมีความยาวยอดเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 1 ถึง สัปดาห์ที่ 4 และเริ่มลดลงหรือคงที่ในสัปดาห์ที่ 5 จนถึงสัปดาห์ที่ 8 ยอดที่ได้เตี้ยและสั้น บางชุดการทดลอง ยอดจะฝ่อแห้งตายไป แต่จะพบการสร้างแคลลัสจำนวนมากขึ้น และขนาดของแคลลัสใหญ่ขึ้นมาแทน ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ส่วนยอดหญ้าหวานขาดอาหารจนกระทั่งฝ่อ และแห้งตาย ทำให้ความยาวเฉลี่ยของยอดค่อนข้างคงที่และมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NAA มากขึ้น สอดคล้องกับ วราภรณ์ ฉุยฉาย (2552) รายงานว่า อาหารสูตรที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA มีแนวโน้มทำให้การพัฒนาความยาวของยอดลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของทั้ง TDZ และ NAA และยอดที่ได้จากการชักนำของ TDZ มีปัญหาในด้านการ

พัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้น้อย ยอดไม่ยืดตัวและออกรากได้ยาก (Murthy *et, al.*, 1998) เช่น ยอดของ *Hedychium coronarium* ที่ได้จากการชักนำโดย TDZ ร่วมกับ NAA ยอดจะสั้น และเกิดรากได้ยาก ในขณะที่ยอดที่ได้จากกการชักนำด้วย BA ร่วมกับ NAA ยอดจะยาวกว่า และเกิดรากได้ดีกว่า (Suriyon *et, al.*, 2008) สอดคล้องกับการรายงานของ Huetteman and Preece (1993) ซึ่งรายงานว่าเนื้อเยื่อมีการสร้างแคลลัส เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้นสูง และการสร้างแคลลัสมีผลในการยับยั้งการสร้างยอด ยอดที่ได้เตี้ยและสั้น

ทั้งนี้ วราภรณ์ ฉุยฉาย (2552) ได้อธิบายกลไกการทำงานของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ว่ามีผลต่อเมแทบอลิซึมของไซโตไคนินในเซลล์พืช โดยพบว่า TDZ เปลี่ยนสภาพของเนื้อเยื่อที่ต้องการไซโตไคนินมาเป็นสภาพที่สร้างไซโตไคนินได้ด้วยตนเอง ตัวอย่างเช่น แคลลัสของ *Phaseolus lunatus* ซึ่งปกติต้องการไซโตไคนินในการเจริญเติบโต สามารถเติบโตได้ในอาหารที่ไม่มีไซโตไคนินหลังจากสัมผัสกับ TDZ และยับยั้งการสลายตัวของไซโตไคนิน ในแคลลัสของถั่วเหลือง (Nielsen *et, al.*, 1995) และ Murthy *et, al.*, (1998) ได้รายงานจากการติดตาม TDZ ที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตภาพรังสีในเนื้อเยื่อ พบว่า TDZ อยู่ในสภาพเดิมนานถึง 48 ชั่วโมง เมตาบอไลต์ที่สำคัญของ TDZ ในเซลล์พืช คือ อนุพันธ์ของ กลูโคซิล (glucosyl) ซึ่งแสดงว่าการทำงานที่คล้ายไซโตไคนินของ TDZ นั้น TDZ ไม่ได้ถูกเปลี่ยนไปเป็นไซโตไคนินที่เป็นอนุพันธ์ของอะดีนีน และการที่ยอดที่ได้จากการชักนำของ TDZ มักไม่ยืดตัว จึงเป็นไปได้ว่า TDZ เข้าไปรบกวนเมแทบอลิซึมของจิบเบอเรลลินด้วย

3.2 การชักนำราก การชักนำให้เกิดรากนั้น พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อหญ้าหวานจนถึงสัปดาห์ที่ 8 จะมีเพียง 2 ชุดการทดลองเท่านั้นที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ คือ เนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า จะให้จำนวนราก และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คือ 14.47±6.22 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และ 3.13±0.54 เซนติเมตร ตามลำดับ รากที่ได้มีลักษณะปกติ คือ รากยาวเรียว สีเขียวจากโคน ปลายรากมีสีขาว รากมีการแตกแขนง และมีขนรากสีขาว และสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 4.73±3.66รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ลักษณะของรากที่เจริญจะอวบสั้น โคนรากมีขาว ตรงปลายรากจะมีขนรากสีขาว และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อหญ้าหวานบนสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับความเข้มข้นของ NAA ที่สูง จึงทำให้ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานไม่เกิดราก เนื่องจาก NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ที่มีผลในการชักนำราก และเร่งการยืดยาวของชิ้นส่วนราก ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำมาก และเมื่อใช้ TDZ ร่วมกับ NAA ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานก็ไม่เกิดรากเช่นกัน เนื่องจาก TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ถ้าใช้ร่วมกับ NAA ซึ่งเป็น

กลุ่มออกซิน พบว่า จะส่งเสริมการเกิดแคลลัสแทน ซึ่งแตกต่างจาก Dheeranupattana *et, al.*, (2007) รายงานการเพาะเลี้ยงยอดหญ้าหวาน บนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้เฉลี่ย 11 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และมีความยาวรากเฉลี่ย 2.13 เซนติเมตร และงานวิจัยของ Chotikadachanarong and Dheeranupattana (2013) ที่พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานบนอาหารวุ้น MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 11.18 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Hossain *et, al.*, (2008) ทำการเพาะเลี้ยงปลายยอด และข้อ ของหญ้าหวาน บนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด ซึ่งแตกต่างกับการทดลองอื่น ๆ ที่พบว่า การชักนำยอดของ TDZ มีปัญหาในด้านการพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้น้อย ยอดไม่ยืดตัว และออกรากได้ยาก (Murthy *et, al.*, 1998) เช่น ยอดของ *Hedychium coronarium* ที่ได้จากการชักนำโดย TDZ ร่วมกับ NAA ยอดจะสั้น และเกิดรากได้ยาก ในขณะที่ยอดที่ได้จากการชักนำด้วย BA ร่วมกับ NAA ยอดยาวกว่า และเกิดรากได้ดีกว่า (Suriyon *et, al.*, 2008) เช่นเดียวกับงานวิจัยของอนุพันธ์ กงบังเกิด และพันทิตรา กมล (2006) ที่พบว่า ชิ้นส่วนต้นกระเจียวขาวที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกความเข้มข้นจะมีอัตราการการเจริญของรากน้อยที่สุด ลักษณะของรากที่เจริญจะมีขนาดเล็กตรง สีเขียวจากโคนจนถึงปลายราก และต้นที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดคือ 7.0 รากต่อต้น

3.3 การชักนำแคลลัส จากการทดลองได้เกิดแคลลัส บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ทุกความเข้มข้น รวมทั้งสูตรอาหารที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่มีจำนวน และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแคลลัสที่แตกต่างกัน ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนแคลลัสเฉลี่ยสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 2.88±0.96 แคลลัสต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ทำให้เกิดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 2.35±0.40 เซนติเมตร และมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ทั้งนี้เนื่องจาก TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.1, 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานสร้างเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเป็นกลุ่มก้อนของแคลลัสที่แน่น และมีสีเขียว และเมื่อใช้ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ก็จะชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานเกิดแคลลัสได้เช่นกัน ทั้งชนิด friable callus และ compact callus สอดคล้องกับงานวิจัยของ กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2556) รายงานว่าเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลให้จำนวน

ยอดลดลงน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากชิ้นเนื้อเยื่อมีการสร้างแคลลัสที่มีลักษณะแน่น (compact callus) แทนการสร้างยอดจึงทำให้จำนวนยอดลดลง เช่นเดียวกับงานวิจัยของอัญชิสา ปานแก้ว และคณะ (2555) ได้นำส่วนของก้านใบอ่อนสบู่ดำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า การเพาะเลี้ยงก้านใบอ่อนสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสชนิด compact callus สูงที่สุด 84.38 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเทียบกับ TDZ ความเข้มข้น อื่น ๆ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงก้านใบอ่อนสบู่ดำบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงทุกสูตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นมีทั้งชนิด friable callus และ compact callus เช่นเดียวกับส่วนของก้านช่อดอกอ่อน เกิดแคลลัสส่วนใหญ่เป็น compact callus และเกิดได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เพียงชนิดเดียว ซึ่งได้แก่อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.2, 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร รายงานของ Martin *et, al.,* (2003) รายงานว่า เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ตั้งแต่ระดับ 0.20-0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่สูงกว่าในอาหารสูตรที่เติม BA 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร สอดคล้องกับรายงานของ Murthy *et, al.,* (1998) ที่รายงานว่า TDZ ระดับความเข้มข้นต่ำมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดโดยตรง แต่ต้องระมัดระวังในการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ระยะเวลานาน เนื่องจากมีผลในการชักนำให้เกิดแคลลัส ส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้นระดับสูงเนื้อเยื่อมีการเกิดแคลลัสสูง โดยมีการเกิดแคลลัสในทุกระยะเวลาการเลี้ยง เนื้อเยื่อมีการสร้างยอดจำนวนน้อย สอดคล้องกับการรายงานของ Huetteman and Preece (1993) ซึ่งรายงานว่าเนื้อเยื่อมีการสร้างแคลลัสเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้นสูง และการสร้างแคลลัสมีผลในการยับยั้งการสร้างยอด ยอดที่ได้จะเตี้ยสั้น

การชักนำให้เกิดแคลลัสนั้นมีปัจจัยหลายอย่าง โดยปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งคือ การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ที่รุนแรง เช่น กลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA และ 2,4-D หรือไซโตไคนิน เช่น TDZ และ BA โดยทั่วไปถ้าใช้ TDZ ความเข้มข้นต่ำจะได้แคลลัสที่แน่น สีเขียว แคลลัสเป็นกลุ่มของเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเป็นกลุ่มก้อนโดยไม่มีการกำหนดพัฒนา เมื่อได้รับการกระตุ้นที่เหมาะสม แคลลัสนั้นอาจพัฒนาไปเป็นยอด หรือเป็นโซมาติกเอ็มบริโอได้ ขึ้นกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ชักนำหรือกระตุ้น และชนิดของพืช (วราภรณ์ ฉุยฉาย, 2552) ซึ่งแคลลัสที่ได้สามารถพัฒนาเป็นต้นจำนวนมากต่อไปได้ เช่นเดียวกับอัญชิสา ปานแก้ว และคณะ (2555) รายงานว่า TDZ เป็นสารประกอบประเภท Phenyl urea สามารถช่วยกระตุ้นการเกิดเนื้อเยื่อเจริญเมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ และ TDZ สามารถชักนำให้

เกิดการพัฒนาของแคลลัส ทำลายการพักตัวของตา และส่งเสริมการเกิดออร์แกนโนเจเนเซิส ของ *Cayratia japonica* และมีการศึกษาและรายงานการค้นพบลักษณะเดียวกันนี้ในพืชชนิดอื่นๆ เช่น *Carica pentagona, Malus domestica* และ *Rubus* sp. อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส การเจริญเติบโตของแคลลัส รวมทั้งลักษณะของแคลลัส ยังขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดของเนื้อเยื่อ แสง และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งนิยมนำมาใช้ชักนำให้เกิดแคลลัส (Afshari *et, al.*, 2011)

4. การทดลองที่ 4 การศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตภายหลังการย้ายต้นอ่อนหญ้าหวานที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในโรงเรือน

นำต้นอ่อนหญ้าหวานจากชุดการทดลองใช้สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 8 สัปดาห์ มาทำการปลูกลงในดินผสมสำเร็จในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว โดยคลายเกลียวฝาขวดเป็นเวลา 1 วัน แล้วทำการเปิดฝาขวด ใช้ถุงพลาสติกใสหุ้ม ทิ้งไว้อีก 1 วัน จากนั้นนำต้นอ่อนมาล้างเอาวุ้นออกจนหมด แช่ต้นอ่อนในน้ำยาฆ่าเชื้อรา เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปปลูกในดินผสมที่เตรียมไว้ รดน้ำให้ชุ่ม ใช้ถุงพลาสติกใสคลุมไว้ นำไปไว้ในโรงเรือนที่มีแสงรำไร เป็นเวลา 2 วัน เปิดถุงพลาสติกที่คลุม และรดน้ำทุกวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนหญ้าหวานที่ได้จากการชักนำรากด้วยอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีอัตราการรอดชีวิต 86.67 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ต้นอ่อนได้รับการชักนำรากโดยการเติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร รอดชีวิตเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากจำนวนรากของต้นอ่อนที่ได้จากการชักนำ โดย NAA มีน้อยมาก และรากที่เกิดขึ้นก็มีความยาวน้อยกว่ารากที่เกิดจากชุดควบคุม จึงเป็นเหตุให้ต้นอ่อนสามารถดูดน้ำ และธาตุอาหารจากดินได้น้อยเป็นเหตุให้มีการตายของต้นอ่อนจำนวนมาก ภายหลังการย้ายออกปลูก

ต้นอ่อนที่ได้จากชุดควบคุมนั้น ภายหลังจากที่ย้ายออกปลูกมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด คือ มีจำนวนใบมากที่สุด จำนวนยอดมากที่สุดและความสูงของยอดมากที่สุด ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากมีระบบรากเจริญดี จึงลำเลียงน้ำและธาตุอาหารจากดินขึ้นสู่ลำต้นได้ดี อีกทั้งมีใบจำนวนมาก จึงทำให้สามารถสังเคราะห์แสง และผลิตอาหารได้มากจึงทำให้มีการเจริญเติบโตมากกว่าชุดการทดลองที่ต้นอ่อนได้รับการชักนำรากโดยการเติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4.19)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าชุดการทดลองที่เติมหรือไม่เติมออกซิน สามารถชักนำให้เกิดรากได้แตกต่างกัน อีกทั้งต้นอ่อนที่ชักนำรากโดยอาหารวุ้นสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อนำปลูกลงดิน สามารถรอดชีวิต 86.67 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่เติม

NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนภายหลังการย้ายออกปลูก 60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.10) แต่ต้นอ่อนที่ชักนำรากโดยอาหารวุ้นสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการเจริญเติบโตภายหลังการย้ายออกปลูกได้ดีกว่า ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความเห็นว่าอาหารวุ้นสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตนั้นเหมาะสมที่จะใช้ในการชักนำ ให้เกิดรากมากที่สุด เนื่องจากต้นอ่อนที่ได้มีอัตราการรอดชีวิตสูง การเจริญเติบโตดี และยังเป็นการลดต้นทุนในการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อผลิตต้นอ่อนหญ้าหวานอีกด้วย สอดคล้องกับ Anbazhagan *et, al.,* (2010) ได้รายงานการนำ ปลายยอด ข้อ และใบของหญ้าหวานเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BA, Kn และ IAA พบว่า สูตรผสมที่ชักนำให้เกิดยอดได้ผลดีที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และชักนำรากด้วยอาหารสูตร Nitsch (N_6) ความเข้มข้นครึ่งเท่า ที่เติม IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นย้ายต้นอ่อนหญ้าหวานลงในกระถางที่มี ทราย ดินและปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน ในอัตราส่วน 1:1:1 และนำไปไว้ในโรงเรือนเพาะชำ เวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงแปลงตามธรรมชาติ ต้นกล้ารอดชีวิตในสภาวะแวดล้อมตามธรรมชาติได้ 82 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Hossain *et, al.,* (2010) ได้นำปลายยอด และข้อของหญ้าหวาน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดได้ผลดี คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และชักนำรากด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม NAA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นย้ายต้นอ่อนหญ้าหวานลงในกระถางที่มีทรายผสมดิน ในอัตราส่วน 1:1 และนำไปไว้ในโรงเรือนเพาะชำที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงใน ที่ร่มเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ต้นกล้ารอดชีวิตได้ 69 เปอร์เซ็นต์ และกิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2556) พบว่า การนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปปลูกในดินผสมสำเร็จ แล้วนำไปไว้ในโรงเรือนที่มีแสงรำไร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดชีวิตลดลงเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ในสัปดาห์แรก และลดลงเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ภายหลังการปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในขณะที่ชุดการทดลองอื่น ๆ มีอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนน้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

1. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวาน เป็นแคลลัสที่มีประสิทธิภาพในการพัฒนาต่อได้ จึงควรมีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาแคลลัสให้เป็นต้น หรือเป็นเอ็มบริออยด์ เพื่อใช้ประโยชน์ในการวิจัยขั้นสูงต่อไป

2. แคลลัสที่เกิดจากชุดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต อาจนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สำหรับการประยุกต์ใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ CHIANG MAI RAJABHAT UNIVERSITY