# การขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด [*Lepironia articulata* (Retz.) Domin] ในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็ง จังหวัดนครศรีธรรมราช

# *In Vitro* Propagation and Germplasm Conservation of *Lepironia articulata* (Retz.) Domin in Phru Kuan Kreng Wetlands, Nakhon Si Thammarat

**เปรมฤดี ดำยศ**

**Premrudee Domyos**

**วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต**

**สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรทะเลและชายฝั่ง**

**มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of**

**Doctor of Philosophy in Marine and Coastal Resources Management**

**Prince of Songkla University**

**2556**

**ชื่อวิทยานิพนธ์** การขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด [*Lepironia articulata* (Retz.) Domin] ในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็ง จังหวัดนครศรีธรรมราช

**ผู้เขียน** นางเปรมฤดี ดำยศ

**สาขาวิชา** การจัดการทรัพยากรทะเลและชายฝั่ง

---

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**

........................................................

(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม**

....................................................................

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวนิจ กิตติธรกุล)

**คณะกรรมการสอบ**

................................................ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สนธิชัย จันทร์เปรม)

..............................................................กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

..............................................................กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวนิจ กิตติธรกุล)

..............................................................กรรมการ

(ดร.ทัศนี ขาวเนียม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำหรับการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรทะเลและชายฝั่ง

..............................................................................

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบพระคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

ลงชื่อ……………………..………………….. 
(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต) 
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ………………...………………………. 
(นางเปรมฤดี ดำยศ) 
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ…………………………………...…….
(นางเปรมฤดี ดำยศ)
นักศึกษา

**ชื่อวิทยานิพนธ์** **การขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด [Lepironia articulata (Retz.) Domin] ในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็ง จังหวัดนครศรีธรรมราช**

**ผู้เขียน** **นางเปรมฤดี ดำยศ**

**สาขาวิชา** **การจัดการทรัพยากรทะเลและชายฝั่ง**

**ปีการศึกษา** **พ.ศ. 2556**

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ (1) เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดต้นกระจูดที่สมบูรณ์จากการเพาะเลี้ยงดอก ผล และหน่อกระจูด (2) เพื่อศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต และ (3) เพื่อศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์การขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับชุมชน วิธีการวิจัยประกอบด้วยการวิจัยเชิงทดลองทางวิทยาศาสตร์ และการวิจัยทางสังคมศาสตร์ ซึ่งมีกลุ่มเป้าหมายประกอบด้วยสมาชิกในชุมชน และเจ้าหน้าที่หน่วยงานต่าง ๆ ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 23 คน

การชักนำการเกิดหน่อจากการเพาะเลี้ยงดอก ผล และหน่อจากต้นกระจูดที่ขึ้นในสภาพธรรมชาติ และดอกกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง พบว่า จำนวนหน่อที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อมีจำนวนเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้นและมีจำนวนหน่อเฉลี่ยมากที่สุดในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความ เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (3.33 ± 0.69 หน่อ) หน่อที่ชักนำจากการเพาะเลี้ยงดอกบนอาหารสูตรเดียวกันที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวน 1.00 ± 0.00 หน่อ สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณหน่อ คือ อาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงดอกมีการเพิ่มปริมาณหน่อได้มากกว่า (12.00 ± 2.16 หน่อ) หน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อ (4.08 ± 0.83 หน่อ) หน่อกระจูดสร้างรากจำนวนมากที่สุด (1.90 ± 0.74 ราก) ในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตร่วมกับเติมผงถ่านความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ต้นกระจูดมีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และแตกหน่อใหม่ (2.50 ± 0.71 หน่อ) หลังปรับสภาพและย้ายปลูกในกระถาง

การเก็บรักษาหน่อกระจูดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในอาหารสูตร ½ MS เติม BA ร่วมกับแมนนิทอล ซอร์บิทอล และพาโคลบิวทราโซล ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า หน่อกระจูดรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารทุกสูตร และสร้างหน่อใหม่ที่มีจำนวนและความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุดบนอาหารที่เติม BA ความ

เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับแมนนิทอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ($5.50 \pm 1.29$ หน่อ และ $5.09 \pm 0.24$ เซนติเมตร) หรือร่วมกับซอร์บิทอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ($6.50 \pm 1.73$ หน่อ และ $4.57 \pm 0.26$ เซนติเมตร) หรือร่วมกับพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ($13.00 \pm 1.15$ หน่อ และ $1.31 \pm 0.15$ เซนติเมตร) เมื่อนำหน่อกระจูดที่เก็บรักษาบนอาหารที่มีพาโคลบิวทราโซลย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อเจริญเติบโต มีลักษณะปกติ และสร้างหน่อใหม่ โดยเฉพาะหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สร้างหน่อได้จำนวนมากที่สุด ($6.75 \pm 0.96$ หน่อ) และหน่อมีความสูงมากที่สุด ( $4.51 \pm 1.71$ เซนติเมตร) สำหรับการเก็บรักษาปลายยอดกระจูดโดยใช้เทคโนโลยีผลิตเมล็ดเทียม พบว่า เมล็ดเทียมที่ได้จากการหุ้มปลายยอดด้วยอาหารเหลวสูตร MS เติมซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่เติมและเติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อย้ายมาชักนำการเกิดใหม่บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมล็ดเทียมอายุ 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยมากกว่าเมล็ดเทียมอายุ 6 เดือน เมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารที่ไม่เติมพาโคลบิวทราโซลมีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยสูงสุดทั้งที่อายุ 3 และ 6 เดือน คือ $66.67 \pm 0.49$ และ $26.67 \pm 0.46$ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมล็ดเทียมมีการแตกหน่อมากที่สุดเฉลี่ย $4.90 \pm 1.10$ หน่อ หน่อมีความสูงเฉลี่ย $4.72 \pm 0.39$ เซนติเมตร และหน่อที่ได้มีลักษณะปกติ

ผลจากการสนทนากลุ่ม ซึ่งประกอบด้วย ตัวแทนชุมชน ผู้ใหญ่บ้าน เจ้าหน้าที่องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง และครู รวมจำนวน 23 คนพบว่า สาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็ง โดยเฉพาะตำบลเคร็งมีปริมาณลดลง คือ การบุกรุกพื้นที่ป่าพรุเพื่อยึดครองที่ดินนำไปปลูกปาล์มน้ำมันของกลุ่มนายทุน ปัจจุบันชุมชนยังไม่มีการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดหรืออนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด แต่มีแนวคิดที่จะจัดทำแปลงอนุรักษ์กระจูดในป่าพรุที่เป็นสาธารณะหรือเป็นพื้นที่สงวน องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งมีแผนที่จะนำกระจูดไปปลูกในวงบ่อซีเมนต์บริเวณองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยามีแผนที่จะใช้กระจูดเป็นพืชศึกษาในการดำเนินงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ชุมชนเห็นว่าการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความสำคัญและมีประโยชน์อย่างมาก เพราะทำให้มีพันธุ์กระจูดสำรองไว้ใช้เมื่อยามขาดแคลน และให้โรงเรียนเป็นแหล่งนำองค์ความรู้จากผลงานวิจัยใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการเรียนรู้ที่บูรณาการเข้ากับหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น และบูรณาการในงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน เพื่อให้การเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในชุมชนประสบผลสำเร็จ จะต้องมีการสร้างทัศนคติและจิตสำนึกในการ

อนุรักษ์ทรัพยากรกระจูดในชุมชน รวมทั้งประชาสัมพันธ์ให้หน่วยงานได้รับรู้การอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชน และของบประมาณเพื่อสนับสนุนการดำเนินงานจากหน่วยงานต่าง ๆ

**Thesis Title** ***In Vitro*** **Propagation and Germplasm Conservation of** ***Lepironia articulata*** **(Retz.) Domin in Phru Kuan Kreng Wetlands, Nakhon Si Thammarat**

**Author** **Mrs. Premrudee Domyos**

**Major Program** **Marine and Coastal Resources Management**

**Academic Year** **2013**

## ABSTRACT

The objectives of this research are to (1) optimize culture media for induction of plantlet regeneration from various explants, inflorescent, fruit and sucker, (2) investigate the methods for germplasm conservation by *in vitro* slow growth, and (3) identify approaches to employing the experimental results for local communities. Both scientific experimental and social research methods are employed in the research. The target group for social research is comprised of community members and leaders, as well as officials of local agencies, who are somehow related to *Lepironia articulata* in Kreng Subdistrict, Cha-uad District, Nakhon Si Thammarat Province.

Induction of multiple shoots using *in vivo* spike, nut, shoot, and *in vitro* spike explants of *Lepironia articulata* was carried out. The results show that the multiple shoot formation was achieved from only *in vivo* shoots and *in vitro* young spike. Multiple shoots from culturing young shoot were enhanced by increasing the concentration of BA from 1 to 3 mg/L and the highest average number of shoots (3.33 ± 0.69 shoots) was observed in MS medium containing 3 mg/L BA. In the case of multiple shoot induction from young spike, shoots were only obtained from the young spike inside 1 mm involcral bract and the highest average number of shoots was equally observed in 2 and 3 mg/L BA containing MS medium (1.00 ± 0.00 shoots). A maximum of average number of shoots (12.00 ± 2.16 shoots) were observed on proliferation medium with the addition of 5 mg/L BA. The regenerated shoots were successfully rooted on MS medium without plant growth regulators together with 0.1% AC. Survival rate of hardened plants after transferred to greenhouse conditions was 100% and generated new shoots at 2.50 ± 0.71 shoots.

The *in vitro* conservation was investigated by suppression of shoot growth on ½ MS medium containing BA (1 and 3 mg/L) in combination with mannitol or sorbitol (1, 3 and 5%) or paclobutrazol (1, 3 and 5 mg/L). The shoot tips cultivated in different treatments for 3 and 6 months without subculturing show 100% survival rate up to 6 months of storage. BA at 1 mg/L plus 5% mannitol or 5% sorbitol or 5 mg/L paclobutrazol resulted in minimal growth of normal plant at 5.50 ± 1.29 shoots with 5.09 ± 0.24 cm, 6.50 ± 1.73 shoots with 4.57 ± 0.26 cm, and 13.00 ± 1.15 shoots with 1.31 ± 0.15 cm, respectively. These conserved shorter shoots in all concentrations of paclobutrazol could be converted into normal growth after 8 weeks of culture when they were transferred to proliferation medium, especially shorter shoots in 5 mg/L paclobutrazol gave the highest number and height of new shoots.

Twenty-three participants of the focus group included local villagers, village headman, members of local authorities, and school teachers. They exchanged ideas to seek alternative approaches to genetics conservation of *L. articulata* and use of the experimental. The key cause of rapid decrease in the natural growth of *L. articulata* in Phru Kuan Kreng wetlands is invasions of forest land for oil palm plantation initiated by influential business groups. At present, the community members have no approach to conserving *L. articulate* yet. Suggestions derived from the focus groups are as follows: to set up a conservation plot in the peat forest or public space; *ex situ* conservation could be undertaken through plantation in cement pond bands along roadsides in front of Kreng Subdistrict Administrative Organization (SAO) office. A local school planned to use *L. articulata* as a learning resource in its botanical garden to serve Plant Genetic Conservation Project under the Royal initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindthorn. All participants agreed that *in vitro* propagation and germplasm conservation of *L. articulata*, new knowledge for the communities, could be very useful to them, as resources in reserve in shortage periods. In addition, the research results could be employed in local schools by being integrated into local school curriculum, as well as in botanical garden projects. In order to enhance the community conservation, it is necessary to promote *L. articulata* conservation attitudes and awareness among villagers; as well as informing all agencies of the community conservation projects and soliciting funding for the projects from different organizations.

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องด้วยได้รับคำแนะนำ การตรวจแก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดจนให้กำลังใจ และความปรารถนาดีจากอาจารย์ที่ปรึกษาทั้งสองท่าน คือ ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวนิจ กิตติธรกุล ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สนธิชัย จันทร์เปรม และ ดร.ทัศนี ขาวเนียม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องและให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเพื่อความสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประวิทย์ โตวัฒนะ ประธานหลักสูตรปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรทะเลและชายฝั่ง และ ดร. ศิริพร ประดิษฐ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้อำนวยการ ครู และบุคลากรทางการศึกษาวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ นายก รองนายก และเจ้าหน้าที่องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช ตลอดจนผู้ใหญ่บ้าน ประชาชน และครูโรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.สมพร ดำยศ และครอบครัว ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจด้วยความรัก ความห่วงใย และความปรารถนาดีตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

ความดีอันเป็นผลจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

เปรมฤดี ดำยศ

# สารบัญ

# สารบัญ (ต่อ)

# รายการตาราง

# รายการตาราง (ต่อ)

# รายการตาราง (ต่อ)

# รายการตารางภาคผนวก

## รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

# รายการรูป

# รายการรูป (ต่อ)

# บทที่ 1

# บทนำ

## บทนำต้นเรื่อง

กระจูด (kra chuut) เป็นพืชล้มลุกมีชื่อเรียกแตกต่างกัน คือ ประเทศออสเตรเลียเรียกว่า grey sedge และ blue sedge ประเทศมาเลเซียเรียกว่า tube sedge มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lepironia articulata* (Retz.) Domin อยู่ในสกุลเลบปิโรเนีย (Genus *Lepironia*) และจัดอยู่ในพืชวงศ์กก (Family Cyperaceae) มักขึ้นเป็นกลุ่มใหญ่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ หรือในระบบนิเวศพื้นที่ชุ่มน้ำตามแนวชายฝั่ง บึงน้ำในแผ่นดิน และป่าบึง ทั่วโลกพบพืชที่จัดอยู่ในสกุลนี้ 5 ชนิด (species) กระจายพันธุ์ในทวีปเอเชียบริเวณคาบสมุทรอินโดจีน เช่น เวียดนาม กัมพูชา ไทย ลาว มาเลเซีย อินโดนีเซีย เกาะบอร์เนียว เกาะสุมาตรา อินเดีย ศรีลังกา ญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน ไต้หวัน ชายฝั่งตะวันออกของทวีปออสเตรเลีย ไมโครนีเซีย หมู่เกาะฟิจิ เกาะมาดากัสการ์ และเกาะนิวคาลิโดเนีย (ราชบัณฑิตยสถาน, 2538; Cowie *et al*., 2000; Stevens and Dowling, 2002; Sim, 2007; Shi, 2010) สำหรับประเทศไทยพบเพียงชนิดเดียว คือ ชนิดอาร์ทิคูลาทา (*articulata*) หรือกระจูด (David and Tetsuo, 1998) โดยมีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้และภาคตะวันออก บริเวณที่เป็นพื้นที่ชุ่มน้ำ หนองบึงน้ำจืด ตามแนวบริเวณชายฝั่งทะเลที่มีสภาพป่าชายหาดเป็นแนวขวางกั้นระหว่างแหล่งน้ำจืดและทะเล ระบบนิเวศพื้นที่ชุ่มน้ำที่กระจูดขึ้นอยู่จะมีสภาพน้ำท่วมขังตลอดปี ในภาคตะวันออกพบกระจูดมากในพื้นที่ชุ่มน้ำธรรมชาติในเขตพื้นที่อำเภอแกลง จังหวัดระยองเพียงแห่งเดียว ส่วนการกระจายพันธุ์ในภาคใต้พบในทุกจังหวัดที่มีพื้นที่ติดกับชายฝั่งทะเลและมีสภาพเป็นหนองบึงน้ำจืดในเขตพื้นที่ป่าชายหาดและป่าพรุ โดยขึ้นปะปนเป็นพืชพื้นล่างให้กับหมู่ไม้เสม็ดขาว พบกระจูดมากที่สุดในจังหวัดนครศรีธรรมราช รองลงมาในจังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี พัทลุง นราธิวาส และจังหวัดพังงา จังหวัดที่พบกระจูดน้อย ได้แก่ จังหวัดสงขลา ปัตตานี สตูล และจังหวัดภูเก็ต และจังหวัดที่ไม่พบกระจูดเลย ได้แก่ จังหวัดยะลา กระบี่ ตรัง และจังหวัดระนอง (วัชนะ และกิตติพงษ์, 2549)

การนำกระจูดมาใช้ประโยชน์อย่างหลากหลาย เช่น ประเทศออสเตรเลียใช้แง่งเป็นอาหาร (Anonymous, 2011) ปลูกเป็นไม้ประดับ ปลูกในพื้นที่ชุมน้ำเพื่อป้องกันการกัดเซาะ (erosion) ดูดซึมธาตุอาหารพืชและเป็นพืชกรองน้ำ (filter plant) ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Cowie *et al*., 2000; Stevens and Dowling, 2002) ในสาธารณรัฐประชาชนจีนใช้ลำต้นจักสานเสื่อและ

ตะกร้า (Shi, 2010) และประเทศไทยมีการใช้ประโยชน์กระจูดตามภูมิปัญญาท้องถิ่นคือ ใช้จักสานเป็นเครื่องใช้ภายในครัวเรือนเพื่อใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวัน มีการถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นมาเป็นเวลาหลายสิบปี โดยเฉพาะหัตถกรรมกระจูดในภาคใต้ให้คุณค่าทางวัฒนธรรม คือ ให้คุณค่าเชิงเศรษฐกิจ เนื่องจากผู้ประกอบการส่วนใหญ่มีอาชีพหลักทางการเกษตร ทำหัตถกรรมกระจูดเป็นอาชีพเสริม ช่วยเพิ่มรายได้ให้แก่ครอบครัว คุณค่าเชิงสังคม กล่าวคือ ผู้ประกอบการส่วนใหญ่เป็นแม่บ้าน จึงมีโอกาสทำงานบ้านและให้การอบรมเลี้ยงดูบุตรควบคู่กันไปเป็นการสร้างสัมพันธภาพอันดีให้กับสมาชิกในครอบครัว คุณค่าเชิงศิลปะ เพราะลายสานที่ปรากฏในหัตถกรรมกระจูดเป็นลายสานที่วิจิตรงดงาม เกิดจากการสั่งสม สืบทอด เรียนรู้ และการคิดค้นเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่องมาเป็นเวลาช้านาน และคุณค่าเชิงประโยชน์ใช้สอย เพราะผลิตภัณฑ์กระจูดมีความคงทนต่อการใช้งาน (สุภาคย์, ม.ป.ป.) เอกลักษณ์ของหัตถกรรมกระจูดอยู่ที่รูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นมาเพื่อความเหมาะสมกับประโยชน์ใช้สอย และอยู่ที่ลักษณะลายสานที่ผลิตขึ้นมาเพื่อประโยชน์ในเชิงศิลปะ ผลิตภัณฑ์กระจูดมีการปรับปรุงให้มีรูปแบบแปลกใหม่อย่างต่อเนื่อง โดยได้รับการสนับสนุนจากหน่วยงานภาครัฐ เช่น กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม พาณิชย์จังหวัด พัฒนาชุมชน และสหกรณ์การเกษตร ทำให้ผลิตภัณฑ์กระจูดได้รับความนิยมจากผู้ใช้มากขึ้น และตลาดมีความต้องการผลิตภัณฑ์กระจูดเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ชุมชนมีความต้องการนำผลผลิตกระจูดมาเป็นวัตถุดิบในการสร้างผลิตภัณฑ์สนองต่อตลาดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง

พรุควนเคร็งอยู่ในเขตอำเภอเชียรใหญ่ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ อำเภอร่อนพิบูลย์ อำเภอชะอวด และอำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช มีพื้นที่เชื่อมต่อจังหวัดพัทลุงและจังหวัดสงขลา มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 223,320 ไร่ มีลักษณะเป็นที่ราบลุ่มตั้งอยู่ตอนเหนือของทะเลน้อย สภาพทั่วไปมีที่ดอนและเนินเขากระจายอยู่ในพื้นที่ พื้นที่ส่วนใหญ่มีน้ำท่วมขังตลอดปี มีกระจูด ปรือ และเสม็ดขึ้นอยู่ทั่วไป (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2552) พรุควนเคร็งเป็นแหล่งกระจูดที่มีความอุดมสมบูรณ์และมีคุณสมบัติดีที่สุดในการนำมาจักสานแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ชาวบ้านในพรุควนเคร็งมีอาชีพเก็บกระจูดและจักสานกระจูดเป็นทั้งอาชีพหลักและอาชีพเสริม ปัจจุบันประมาณร้อยละ 80 ของครัวเรือนในพรุควนเคร็งมีอาชีพเกี่ยวข้องกับกระจูด (นฤมล, 2555; สุพพัต, 2555)

ในช่วงทศวรรษที่ 2530 ชาวบ้านในพรุควนเคร็งได้นำกระจูดมาแปรรูปเกิดเป็นผลิตภัณฑ์มากขึ้น ประกอบกับในช่วงทศวรรษที่ 2540 เป็นต้นมารัฐบาลมีนโยบายสนับสนุนด้านการส่งเสริมผลิตภัณฑ์ชุมชน “หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์” (นฤมล, 2555) ส่งผลให้ชาวบ้านเก็บกระจูดจากแหล่งน้ำธรรมชาติมาใช้จำนวนมาก จนทำให้กระจูดที่จะงอกทดแทนส่วนที่ถูกเก็บเกี่ยวเจริญเติบโตไม่ทันต่อความต้องการ แม้จะมีการปลูกกระจูดทดแทนในแปลงส่วนบุคคลบ้าง แต่ก็ยัง

มีปริมาณไม่เพียงพอต่อการนำมาใช้ ทำให้ปริมาณทรัพยากรกระจูดทั้งในแหล่งน้ำธรรมชาติและในแปลงส่วนบุคคลลดลงอย่างรวดเร็ว จนถึงปัจจุบันพบว่าทรัพยากรกระจูดกำลังจะหมดไปจากพื้นที่พรุ เนื่องจากสภาพป่าพรุควนเคร็งถูกบุกรุกและถูกทำลายเป็นจำนวนมากเพื่อยึดครองที่ดินนำไปปลูกพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ คือ ยางพารา และปาล์มน้ำมัน นอกจากนี้ การสร้างเขื่อนปากพนัง การขุดคลองผ่านป่าพรุ การปลูกป่าเสม็ด การลักลอบตัดและถอนกระจูด ความขัดแย้งในการใช้ประโยชน์จากที่ดิน ตลอดจนการเกิดไฟไหม้ป่าพรุทั้งที่เกิดขึ้นเองจากธรรมชาติและจากการลักลอบเผาป่าพรุเพื่อล่าสัตว์ ล้วนส่งผลให้ระบบนิเวศป่าพรุควนเคร็งเปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือ เกิดน้ำท่วมขัง เกิดปัญหาดินเปรี้ยว น้ำเปรี้ยว น้ำในพรุแห้ง และไฟไหม้ป่าพรุ การเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศป่าพรุดังกล่าวทำความเสียหายอย่างรุนแรงต่อสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรกระจูด อีกทั้งวิธีการเก็บเกี่ยวกระจูดโดยวิธีการตัดต้นกระจูดด้วยเคียวแทนการถอน แม้จะมีข้อดีที่สามารถเก็บเกี่ยวกระจูดได้คราวละมาก ๆ และประหยัดเวลา แต่ก็มีข้อเสียคือ ทำให้ต้นกระจูดแคระแกร็นและงอกทดแทนช้า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การตัดต้นกระจูดที่ระดับใต้ผิวน้ำทำให้แง่งกระจูดเน่าตายเป็นบริเวณกว้าง เมื่อกระจูดตายหญ้าชนิดต่าง ๆ เช่น หญ้าปล้อง หญ้าไทร จะขึ้นมาแทนที่ อีกทั้งในการตัดกระจูดด้วยเคียวนั้น ต้องรวบต้นกระจูดแก่และอ่อนเข้าเป็นฟ่อนแล้วตัด ทำให้ต้นกระจูดอ่อนส่วนหนึ่งถูกตัดไปด้วย จึงทำให้ปริมาณกระจูดลดลงอย่างรวดเร็วกว่าการถอน (สุพัทธ์ และคณะ, 2548; ทิพย์อักษร, 2549; ศุกลภัทร และคณะ, 2553; เฉลิมพร, 2554)

เนื่องจากกระจูดมีเพียงชนิด (species) เดียวในประเทศไทย (David and Tetsuo, 1998) เมื่อปริมาณกระจูดลดลงอย่างรวดเร็วจากสาเหตุดังที่กล่าวมาข้างต้น ย่อมทำให้พันธุกรรมของกระจูดมีแนวโน้มลดลงหรืออาจสูญหายได้ในอนาคต พันธุกรรมพืชมีคุณค่า มีความสำคัญและมีประโยชน์อย่างมากทั้งทางเศรษฐกิจและการให้บริการชีวิตมนุษย์ ตลอดจนมีความผูกพันกับวิถีชีวิตและวัฒนธรรมของท้องถิ่น เมื่อมีการสูญพันธุ์ของชนิด จะส่งผลให้ปัจจัยสี่และผลิตผลทางอุตสาหกรรมสูญสิ้นไปด้วยทั้งในปัจจุบันและอนาคต และการสูญหายของทรัพยากรพันธุกรรมจะทำให้ขีดความสามารถของการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ อาจลดลง (Reed, 1988; Perry, 1990) จึงจำเป็นต้องทำการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมของกระจูด โดยทั่วไปการเก็บรักษาพันธุ์พืชทำได้ 3 วิธี คือ การเก็บรักษาในลักษณะของการปลูกในแปลงปลูก ซึ่งมีข้อจำกัดคือ ใช้พื้นที่มาก ค่าใช้จ่ายสูง เสี่ยงต่อการสูญเสียพันธุกรรมที่เก็บรักษาจากภัยธรรมชาติ โรคและแมลงศัตรู (บุญยืน, 2544; รังสฤษดิ์, 2545; Matsumoto *et al.,* 2001; Rao and Mal, 2002) การเก็บรักษาในรูปของส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์ ได้แก่ เมล็ด แง่ง หัว ราก ตา และกิ่งพันธุ์ มีข้อดีคือ ประหยัดพื้นที่ สะดวกต่อการจัดการ แต่ก็มีข้อจำกัดสำหรับเมล็ดพืชที่มีเอ็มบริโอสูญเสียการงอกอย่างรวดเร็วเมื่อความชื้นภายในเมล็ดลดลงต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (วิชัย,

2545) และข้อจำกัดเกี่ยวกับขนาดของเมล็ด คือ เสียค่าใช้จ่ายมากขึ้นถ้าเมล็ดมีขนาดใหญ่ (Bonner, 1990) จากข้อจำกัดในการเก็บรักษาทั้งสองวิธีดังกล่าว จึงได้มีการพัฒนาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์พืชด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งมีข้อดีคือ ใช้พื้นที่น้อย สะดวกต่อการจัดการ ลดความเสี่ยงต่อการสูญเสียพันธุกรรมที่เก็บรักษาจากภัยธรรมชาติ โรคและแมลงศัตรู คงไว้ซึ่งลักษณะทางพันธุกรรมของพันธุ์พืชที่เก็บรักษา และสามารถใช้ในการแลกเปลี่ยนพันธุกรรมของพืชระหว่างประเทศ (บุญยืน, 2544; รังสฤษดิ์, 2545; Rao, 2004) สำหรับวิธีการเก็บรักษาพันธุ์พืชด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำได้ 3 วิธี คือ วิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะสั้น เป็นการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชไว้ในสภาพการเจริญเติบโตปกติในอาหารวิทยาศาสตร์ เมื่อเนื้อเยื่อเจริญเติบโตถึงระยะหนึ่งจึงเปลี่ยนอาหารใหม่และตัดแยกเนื้อเยื่อ แต่มีข้อเสีย คือ เสียเวลาในการตัดแยกเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารบ่อย ๆ ประมาณ 1-2 เดือน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช วิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะปานกลาง เป็นวิธีการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ เพื่อลดปัญหาการตัดแยกเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารบ่อย ทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงสภาพทางกายภาพ เช่น การเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพอุณหภูมิต่ำ การเปลี่ยนสูตรอาหาร การเพิ่มหรือลดสารที่เป็นองค์ประกอบของอาหารให้อยู่ในระดับที่ต่างจากความต้องการปกติ หรือการใช้วิธีการต่าง ๆ ร่วมกับการใช้สารชะลอการเจริญเติบโต และวิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะยาว เป็นวิธีการหยุดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช โดยเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพที่อุณหภูมิต่ำมาก ๆ คือ เก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ - 196 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานโดยไม่ต้องปลี่ยนอาหารใหม่ (มณฑา, 2540)

สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์กระจูด ปัจจุบันมีการเก็บรักษาพันธุกรรมในรูปตัวอย่างพันธุ์พืชปลูกที่ศูนย์รวบรวมพรรณไม้ตะวันออก จังหวัดระยอง การเก็บรักษาลักษณะนี้มีข้อจำกัด คือ ใช้พื้นที่ค่อนข้างมาก เสียค่าใช้จ่ายในการดูแลมาก และเสี่ยงต่อการสูญเสียพันธุกรรมขณะเก็บรักษา ในขณะที่การเก็บรักษาพันธุกรรมในรูปของเมล็ดมีข้อจำกัดคือ เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำหรือไม่งอก (วัชนะ และกิตติพงษ์, 2549; Andrea *et al*., 2010) ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาการขยายพันธุ์และการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยการนำส่วนต่าง ๆ ของกระจูด ได้แก่ หน่อ ดอก และผล มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อกระตุ้นให้เกิดต้นกระจูดที่สมบูรณ์ปริมาณมาก และทำการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในระยะปานปลางในสภาพชะลอการเจริญเติบโต รวมถึงศึกษาวิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชน และการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็ง ตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช เพื่อจัดทำข้อเสนอแนะเชิงนโยบายเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด

ต่อไป อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุ์กระจูดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาก่อน

**การตรวจเอกสาร**

**1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระจูด**

กระจูดเป็นพืชล้มลุกที่มีอายุหลายปี ชอบขึ้นในที่น้ำขังตามริมทะเลสาบที่เป็นดินโคลน ซึ่งเรียกว่า พรุ พบมากทางภาคใต้และภาคตะวันออกของประเทศไทย กระจูดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lepironia articulata* (Retz.) Domin อยู่ในสกุลเลบปิโรเนีย (Genus *Lepironia*) จัดอยู่ในพืชวงศ์กก (Family Cyperaceae) มีชื่อพื้นเมืองว่า กกกระจูด (ภาคกลาง) กก (ระยอง) จูดและกระจูด (ภาคใต้) กรือจุ (นราธิวาส) และวิจุ๊ (มลายู) กระจูดมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตามรายงานของ David และ Tetsuo (1998) สุรชัย (2538) และ วัชนะ และกิตติพงษ์ (2549) ดังนี้คือ

แง่ง (rhizome) มีใบเกล็ดสีน้ำตาลอมเทาที่ด้านปลายเล็กน้อย ลำต้น (culm) มีลักษณะแข็งเป็นกลุ่มแน่นตามแนวของแง่ง มีขนาด 10-20×0.2-0.7 เซนติเมตร ลำต้นสูงประมาณ 1-2 เมตร ลักษณะกลม ผิวเรียบคล้ายทรงกระบอก ด้านในกลวงมีเยื่ออ่อนสีเขียวอ่อนคั่นเป็นข้อ ๆ ใบลดรูป มีกาบใบแผ่ออก กาบบนสุดยาว 12-26 เซนติเมตร ปลายตัดเฉียง มีใบประดับรูปลิ่มแคบคล้ายทรงกระบอกยาว 2.2-6.0 เซนติเมตร ดอกเป็นช่อดอกชนิดช่อเชิงลด จำนวน 1 ช่อ รูปทรงรีหรือรูปขอบขนานคล้ายทรงกระบอก มีขนาด 10-35×3-7 มิลลิเมตร มีสีเขียวถึงสีน้ำตาลกาแฟ หรือสีน้ำตาลออกม่วง กาบประดับรูปไข่หรือรูปทรงกลมแกมไข่ มีขนาด 3.2-6.7×3.0-6.2 มิลลิเมตร ปลายมนและมักโค้งลงเล็กน้อย เมื่อแก่เต็มที่จะร่วงง่าย กลุ่มดอกย่อยมีจำนวนเท่ากับกาบประดับ กลีบประดับมีจำนวน 2-15 กลีบ เป็นรูปหอกแกมแถบมีความยาว 4-6 มิลลิเมตร สันของกลีบเป็นขนครุย ผลเป็นแบบผลเปลือกแข็งเมล็ดเดียว รูปไข่ หรือรูปไข่กลับถึงรูปไข่กลับทรงกว้าง ผลนูน 2 ด้าน มีขนาด 3-4×2.0-2.8 มิลลิเมตร (ไม่นับจงอยที่ยาว 0.5 มิลลิเมตร) ผลแข็งสีน้ำตาล ผิวเรียบตึง เห็นแนวเส้นตามยาวไม่ชัด มักมีหนามละเอียดที่ส่วนปลาย (รูปที่ 1)


**รูปที่ 1** ลักษณะแง่ง ลำต้น และดอกของกระจูด

ก. แง่ง (rhizome)

ข. ลำต้น (culm)

ค. ดอกชนิดช่อเชิงลด (spike)

ที่มา : วัชนะ และกิตติพงษ์ (2549)

**2. การขยายพันธุ์กระจูด**

การขยายพันธุ์กระจูดทำได้โดยการเพาะเมล็ดและการแยกแง่งที่แตกหน่อ และที่นิยมคือ การแยกแง่งที่แตกหน่อ เนื่องจากเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ ในสภาพธรรมชาติกระจูดมีการแตกหน่อและเจริญขึ้นเป็นลำต้นใหม่ตลอดทั้งปี เมื่อปี พ.ศ. 2472 มีการริเริ่มนำกระจูดจากแหล่งธรรมชาติมาทดลองปลูกในตำบลพนางตุง อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง จนปี พ.ศ. 2504 มีการปลูกกระจูดบริเวณที่ลุ่มชายฝั่งทะเลน้อยอย่างกว้างขวางทางด้านเหนือ ด้านตะวันออก และด้านใต้ ในปลายทศวรรษที่ 2530 กระจูดในแหล่งน้ำธรรมชาติลดลงและงอกทดแทนเจริญเติบโตไม่ทันต่อความต้องการประชาชนในท้องถิ่น จึงต้องใช้วิธีการปลูกกระจูดในแปลงหรือเรียกว่าการทำนากระจูด พื้นที่ปลูกกระจูดต้องมีน้ำท่วมขังตลอดปี หรือแห้ง 2-3 เดือน การทำนากระจูดมีกรรมวิธีคล้ายการทำนาข้าว (นาดำ) คือ ก่อนปลูกต้องตกแต่งพื้นที่ให้เรียบ ไม่ยกคันนา ปลูกในช่วงเวลาที่ในนามีน้ำขังหรือน้ำแฉะ โดยนำกล้ากระจูดมาเป็นกอ ๆ กอหนึ่ง ๆ มี 10-20 ต้น ปักให้ห่างกัน 70-100 เซนติเมตร คอยกำจัดวัชพืชอื่น ๆ ระวังแมลงศัตรู เช่น ตั๊กแตน หนู นก นาก เป็นต้น ประมาณ 12 เดือน หรือบางแห่งประมาณ 3 ปี กระจูดจะโตได้ขนาดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ คือ ลำต้นยาวไม่น้อยกว่า 1 เมตร กระจูดส่วนหนึ่งจะถอนไปใช้งานคงเหลือต้นอ่อนหรือต้นที่มีความยาวไม่พอไว้ถอนครั้งต่อไป เมื่อถอนต้นกระจูดไปแล้วหน่อก็จะแตกต้นใหม่ขึ้นมาทดแทน นากระจูดแต่ละแปลงสามารถถอนกระจูดหมุนเวียนต่อเนื่องกันไปได้ 9-10 ปี หรือเมื่อเห็นว่ากระจูดขึ้นหนาแน่นเกินไปและมีต้นแห้งตาย จึงจะมีการปลูกใหม่ (มูลนิธิสารานุกรมไทย, 2542; วัชนะ และกิตติพงษ์, 2549; ศุกลภัทร และคณะ, 2553; จักสานบ้านกวี, ม.ป.ป.) อีกวิธีหนึ่ง

คือ แยกแง่งที่แตกหน่อแล้วไปปลูกในบ่อหรือสระใหญ่ ๆ ที่มีโคลนเลนก้นสระ ให้มีน้ำขังประมาณ 30 เซนติเมตร ประมาณ 1 ปี กระจูดจะโตเต็มที่ (ราชบัณฑิตยสถาน, 2538) สำหรับการทดลองปลูกกระจูดที่ศูนย์รวมพรรณไม้ภาคตะวันออก จังหวัดระยอง โดยวัชนะ และกิตติพงษ์ (2549) ประสบผลสำเร็จในการปลูกจากวิธีการแยกแง่งที่แตกหน่อ โดยนำกอกระจูดที่เป็นต้นพันธุ์มาแช่น้ำให้ท่วมราก ประมาณ 10-15 วัน จะมีรากใหม่งอกออกมา แยกกอต้นพันธุ์เป็นกอย่อย ๆ แต่ละกอต้องมีหน่อและรากที่งอกใหม่อย่างน้อย 1 หน่อขึ้นไป ตัดส่วนปลายลำต้นทิ้งทั้งหมดให้เหลือเฉพาะลำต้นส่วนโคนยาวประมาณ 40-50 เซนติเมตร นำกอย่อยไปปลูกในภาชนะปลูกที่เป็นกระถางหรือถุงพลาสติก ใส่วัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทรายหยาบผสมปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอกเพียงเล็กน้อย หรืออาจใช้ทรายหยาบเพียงอย่างเดียวใส่ลงให้รอบในภาชนะปลูก รดน้ำให้ชุ่มตลอดเวลาหรืออาจให้น้ำท่วมขังส่วนโคนของต้น ประมาณหนึ่งเดือนจะสังเกตเห็นการเจริญเติบโตของหน่อกระจูดอย่างต่อเนื่อง ในกรณีที่นำกอต้นพันธุ์มาแยกกอย่อย ทำการตัดส่วนปลายใบทิ้ง แล้วนำไปปลูกในภาชนะเลยพบว่า การเจริญเติบโตจะไม่สม่ำเสมอ ส่วนการทดลองขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมาก เช่นเดียวกันกับการขยายพันธุ์กระจูดที่ประเทศมาเลเซียก็ใช้เมล็ดและแง่ง พบว่า การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดมีอัตราการงอกช้า (Sim, 2003) สำหรับการปลูกกระจูดในสภาพธรรมชาติที่ประเทศออสเตรเลียแนะนำใช้อัตรา 5-7 กอต่อตารางเมตร ระยะระหว่างกอ 30 เซนติเมตร และการปลูกในกระถางแนะนำให้ใช้วัสดุปลูกประกอบด้วยอินทรียวัตถุที่มีธาตุอาหารพืชไม่มากนัก คือ ดินลูกรัง พีท และทรายแม่น้ำ อย่างละ 1 ส่วน ผสมให้เข้ากันและปูทับด้วยทรายหนา 2-3 นิ้ว ในสภาพน้ำขัง (Cowie *et al*., 2000; Stevens and Dowling, 2002)

### 3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์กก

เนื่องจากพืชที่จัดอยู่ในวงศ์กกหลายชนิดติดเมล็ดน้อย เมล็ดมีคุณภาพต่ำ มีระยะพักตัวและมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์ Addison (1952) เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอที่เจริญเติบโตไม่เต็มที่จากผลแห้งเมล็ดร่อนของ *Carex lurida* Wahl., *C. stipata* Muhl. และ *C. scoparis* Schk. บนอาหารสูตร White (1943) ที่ประกอบด้วยเกลือ น้ำตาล ไกลซีน ไทอะมิน ไนอะซิน และไพริดอกซิน เติมวุ้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เอ็มบริโอมีขนาดใหญ่ขึ้นหลังเพาะเลี้ยง 10-16 วัน เอ็มบริโอของ *C. lurida* เจริญเติบโตในอาหารที่เติมน้ำตาลเดกซ์โทรส น้ำตาลมอลโทส น้ำตาลแลกโทส น้ำตาลเลวูโลส และน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ พัฒนา

เป็นยอดและรากในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลเดกซ์โทรส พบว่า ยอดและรากเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 2 และ 6 เปอร์เซ็นต์

Meney และ Dixon (1988) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์กกสกุล *Caustis* เนื่องจากพืชสกุลนี้ไม่สามารถขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดในสภาพธรรมชาติได้โดยเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ Chinese Puzzle (*Caustis dioica* R. Br.) นำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งในสภาพสุญญากาศด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวีน 80 (Tween 80) ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และแช่ไว้ค้างคืนก่อนล้างครั้งสุดท้าย ตัดเอ็มบริโอวางเลี้ยงบนกระดาษกรองในอาหารเหลวสูตร ½ MS ที่เติมกรดจิบเบอเรลลิก ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ และซีเอทิน ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ในที่มืด อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ต่อมาย้ายมาวางเลี้ยงในที่มีแสง (16 ชั่วโมงต่อวัน) พบว่าเอ็มบริโอ 76 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดใหญ่ และยาวขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยง 6 วัน หน่อและรากพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์หลังเพาะเลี้ยง 8 วัน และหลังจากเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ทำการย้ายเลี้ยงต้นที่สมบูรณ์บนอาหารแข็งสูตร ½ MS พบว่า พืชต้นใหม่ที่ได้รอดชีวิตทั้งหมด

Rossetto (1990) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของ Chinese Puzzle โดยตัดตาจากแง่ง ล้างด้วยน้ำประปานาน 2 ชั่วโมง และฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 6-7 นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดวางเลี้ยงในอาหารเหลวและบนอาหารแข็งสูตร ½ MS เติมกรดจิบเบอเรลลิก ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์และซีเอทินความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดมีอัตราการรอดชีวิต 13 เปอร์เซ็นต์ มีเพียง 2 เปอร์เซ็นต์ ที่อยู่ได้นานมากกว่า 1 เดือน และมีความยาวไม่เกิน 1 เซนติเมตร การเจริญของเนื้อเยื่อปลายยอดในอาหารเหลวและบนอาหารแข็งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อีกทั้ง ยังมีการปล่อยสารประกอบฟีโนลออกมาปริมาณมาก และมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียมากทุกสิ่งทดลอง ต่อมา Rossetto และคณะ (1992) ได้เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ โดยนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในระบบสุญญากาศนาน 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ตัดเอ็มบริโอวางบนอาหารสูตร ½ MS เติมซีเอทินความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และกรดจิบเบอเรลลิกความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ ในที่มืด เมื่อเอ็มบริโอมีการเจริญเติบโต จึงย้ายมาวางเลี้ยงในที่มีแสง นอกจากนี้ ยังได้เพาะเลี้ยงปลายยอดโดยใช้ต้นที่มีอายุ 8 สัปดาห์ ลอกกาบใบออกจนเห็นตา ล้างด้วยน้ำประปา 1-2 ชั่วโมง ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วย

น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดวางเลี้ยงบนอาหารแข็งและในอาหารเหลวในที่มืด ทำการเพิ่มจำนวนยอดในอาหารสูตร ½ MS เติมออกซินชนิด IBA (indole-3-butyric acid) หรือ NAA (α -naphthaleneacetic acid) ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ และไซโทไคนินชนิด BA ($N^6$-benzylaminopurine) ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ เกิดกลุ่มยอดสูงสุดบนอาหารที่มี IBA ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ สำหรับการชักนำรากพบว่า เกิดรากจำนวนมากที่สุดเมื่อย้ายเลี้ยงในอาหารสูตร ½ MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Meney and Dixon, 1995) และบนอาหารสูตร ½ MS เติมผงถ่าน 0.12 กรัมต่อลิตร (Johnston *et al*., 1994) สำหรับการชักนำการเกิดพืชต้นใหม่จากแคลลัสโดยการฉายรังสีนั้น Webber และคณะ (2003) ได้ทดลองฉายรังสีโฟตอน (photon) ขนาด 100, 150, 200 และ 300 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที (μmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) บนแคลลัสของ *Caustis blakei* เพื่อชักนำการเกิดพืชต้นใหม่ พบว่า รังสีโฟตอนขนาด 300 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที สามารถชักนำให้แคลัสชนิดที่เกาะกันแน่น (compact callus) พัฒนาเป็นพืชต้นใหม่หลังจากฉายรังสี 9 สัปดาห์ ในขณะที่แคลลัสชนิดที่เกาะกันหลวม (friable callus) พัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ในสัปดาห์ที่ 21

Panaia และคณะ (2009) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์กกสกุล *Lepidosperma* และสกุล *Tetraia* โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดและเอ็มบริโอของ *Lepidosperma drummondi, L. tenue, Tetraia capillaries* และ *T. octandra* ที่อุณหภูมิ 15 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่า เมล็ดไม่งอก ในขณะที่เอ็มบริโอมีการเจริญเติบโต กล่าวคือ เอ็มบริโอของ *L. drummondi* และ *L. tenue* เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ได้ 40 และ 77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ บนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และเอ็มบริโอของ *T. capillaries* และ *T. octandra* เจริญเติบโตได้ 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า เอ็มบริโอของ *T. octandra* และ *L. tenue* เจริญเติบโตได้น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เอ็มบริโอของ *L. drummondi* และ *T. capillaries* ไม่มีการเจริญเติบโต หลังจากนั้น Panaia และคณะ (2011) ทำการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอและหน่อจากแง่งของ *L. drummoudi* พบว่าเอ็มบริโอสามารถพัฒนาเป็นเอ็มบริออยด์ในอาหารสูตร ½ MS เติม 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเอ็มบริโอ 1 เอ็มบริโอพัฒนาได้ 30 เอ็มบริออยด์ และหลังจากนั้น 6 สัปดาห์ได้ 350 เอ็มบริออยด์ เมื่อย้ายเลี้ยงเอ็มบริออยด์ที่ได้ครั้งแรกในอาหารสูตรเดิมทุก ๆ 4 สัปดาห์ ได้เอ็มบริออยด์รุ่นที่สองมากกว่า 74,000 เอ็มบริออยด์ ส่วนหน่อมีอัตราการพัฒนาต่ำกว่า 1.43 หน่อต่อ 8 สัปดาห์

สำหรับการเพาะเลี้ยงผลที่บากเป็นร่อง และเมล็ดของ *L. concavum* R. Br., *L. laterale* R. Br. และ *L. longitudinal* Labill. บนอาหารสูตร ½ MS เติมกรดจิบเบอเรลลิก ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ และซีเอทินความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ในที่มืด พบว่า ผลไม่มีการงอก ผลที่บากเป็นร่องมีการงอกเล็กน้อย และเมล็ดมีการงอกมากที่สุดภายในเวลา 7-18 วัน โดยเมล็ดของ *L. concavum*, *L. laterale* และ *L. longitudinal* งอก 86, 64 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 5 สัปดาห์ ซึ่งการงอกของเมล็ดขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตของเมล็ด เมล็ดที่เจริญเติบโต เต็มที่มีการงอกเร็วกว่าเมล็ดที่เจริญเติบโตไม่เต็มที่ นอกจากนี้ ยังเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด ต่อมาแคลลัสพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้บนอาหารสูตรเดิมที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช การศึกษาครั้งนี้บ่งบอกได้ว่าวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถขยายพันธุ์พืชสกุล *Lepidosperma* ได้ปริมาณมากในเวลาอันสั้น (Andrea *et al*., 2010)

Mohamed-Yassen และคณะ (1992) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์กกสกุล *Cyperus* โดยการเพาะเลี้ยงใบของ *Cyperus alternifolius* L. (umbrella sedge) ในอาหารสูตร MS ที่เติมผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และแมนนิทอล 0, 0.5, 0.1 และ 0.2 มิลลิโมลาร์ เพื่อศึกษาผลของแรงดันออสโมซิส อาหารสูตร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 0, 4, 8 และ 12 กรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่เติมผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเกลือ 0.06, 0.13, 0.25, 0.50 และ 1.00 กรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาความทนเค็ม อาหารทุกสูตรปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 เพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง 18 ชั่วโมง อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่า มีการสร้างหน่อ ราก และดอกหลังเพาะเลี้ยง 14 วัน ความเข้มข้นของแมนนิทอล ผงวุ้น และเกลือ มีผลต่อความยาวของยอดและจำนวนราก โดยความยาวของยอดลดลงเมื่อความเข้มข้นของแมนนิทอลและ ผงวุ้นเพิ่มขึ้น และความเข้มข้นของเกลือลดลง จำนวนยอดลดลงเมื่อความเข้มข้นของแมนนิทอลเพิ่มขึ้น จำนวนรากลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือลดลง ดอกที่ได้จากการชักนำสามารถพัฒนาเป็นยอดจำนวนมากได้ พืชต้นใหม่ที่ได้สามารถย้ายปลูกลงดินได้ง่าย

**4. การเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

ปัจจุบันพืชพรรณหลายชนิดที่มีอยู่ตามธรรมชาติได้สูญพันธุ์ไป กำลังจะสูญพันธุ์ หรือมีปริมาณลดลงและจะขาดแคลนในอนาคต เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม หรือเกิดจากการทำลายของมนุษย์เอง จึงมีความจำเป็นต้องมีการเก็บรักษาพันธุ์พืช โดยทั่วไปมักเก็บรักษาไว้ในรูปเมล็ดพันธุ์ ซึ่งมีข้อจำกัดคือ ต้องปลูกพืชอย่างต่อเนื่องเพื่อสร้างเมล็ดที่ยังคงความมีชีวิต เมื่อนำมาเก็บรักษาไว้ในระยะเวลานาน อีกทั้งเมล็ดของพืชบางชนิดมีอายุสั้นและติดเมล็ด

น้อยหรือไม่ติดเมล็ด เพื่อลดข้อจำกัดของวิธีการใช้เมล็ดในการเก็บรักษาพันธุ์พืช จึงได้นำวิธีการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมาใช้ เพราะสามารถเก็บรักษาได้ในหลายลักษณะของชิ้นส่วนพืช ได้แก่ เมล็ด ยอด ราก เอ็มบริโอ แคลลัส หรือเซลล์ไร้ผนัง และสามารถคงความมีชีวิตไว้ได้เป็นระยะยาวนาน เช่น การเก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการนำเนื้อเยื่อมาใช้ ก็ละลายผลึกน้ำแข็งโดยแช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส จากนั้นก็ชักนำให้เนื้อเยื่อพัฒนาและเจริญเติบโตเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ (อภิชาติ, 2548) อีกวิธีหนึ่ง คือ การปรับสภาพของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้มีส่วนผสมของสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิดและมีสารที่ทำให้เกิดความเครียดของน้ำภายในเซลล์พืชที่อยู่ในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ ทำให้เซลล์พืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ช้ามาก ๆ เพื่อเป็นการประหยัดแรงงาน เวลา และอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการย้ายเลี้ยงบ่อย ๆ จนกว่ามีความต้องการจะเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อ ก็ย้ายเนื้อเยื่อพืชเหล่านั้นไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรที่เพิ่มปริมาณยอดให้ได้จำนวนต้นตามที่ต้องการ การเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีประโยชน์ คือ ใช้พื้นที่เก็บรักษาน้อย พืชที่เก็บรักษาปลอดภัยจากแมลง เชื้อโรคและไวรัส ไม่ต้องทำการย้ายเลี้ยงบ่อย เนื่องจากถูกจำกัดการเจริญเติบโต สามารถเพิ่มปริมาณได้เมื่อต้องการ และสะดวกในการขนส่งหรือแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนพืช (บุญยืน, 2544) จากการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองพบว่า พื้นที่ 1 ตารางเมตร เก็บรักษาพืชได้ 2,500 ต้น ซึ่งมากกว่าการเก็บในสวนหรือไร่นา ไม่ต้องเสียเวลาในการดูแล และลดค่าใช้จ่ายได้จำนวนมาก (สมปอง, 2538)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเก็บรักษาพันธุ์พืช เป็นการเก็บเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อรักษาเนื้อเยื่อนั้นให้ตรงตามพันธุ์ Wilkin และ Dodds (1983) แบ่งการเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ 3 วิธี คือ

1) การเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชในสภาพที่มีการเจริญเติบโตตามปกติ (normal growth storage) ทำได้โดยย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่ในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมอย่างสม่ำเสมอ

2) การเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชในสภาพที่ทำให้มีการเจริญเติบโตต่ำ (minimal growth storage) ทำได้หลายวิธี ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสภาวะทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ สภาวะอากาศภายในหลอดทดลองหรือขวดเพาะเลี้ยง การเปลี่ยนแปลงสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงโดยการลดหรือเพิ่มธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์จากระดับปกติ หรือลดปัจจัยบางอย่างที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตตามปกติ รวมทั้งการใช้สารชะลอการเจริญเติบโต เช่น กรดแอบไซซิค (abscisic acid; ABA) สารไซโคลเซล (cyclocel) หรือสารประกอบที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ เช่น น้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar-alcohol) เช่น แมนนิทอล (mannitol) ซอร์บิทอล (sorbitol) เป็นต้น

3) การเก็บรักษาเซลล์ เนื้อเยื่อ และส่วนของพืชในสภาพแช่เยือกแข็ง (ultralow-temperature storage หรือ cryopreservation) โดยเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส วิธีนี้ต้องมีการป้องกันหรือลดอันตรายแก่เซลล์และเนื้อเยื่อจากการเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ เนื่องจากการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วหรือลดอุณหภูมิลงอย่างช้า ทำโดยแช่เนื้อเยื่อในสารเคมีที่เรียกว่า cryoprotectant เช่น DMSO (dimethyl-sulfoxide) กลีเซอรอล น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นต้น สารเหล่านี้ช่วยลดขนาดและอัตราการเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ ป้องการการสูญเสียน้ำในระยะแรกของการลดอุณหภูมิ รวมถึงการคงรูปของเยื่อหุ้มเซลล์ สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ภายในเซลล์ สาร cryoprotectant นี้ต้องใช้ในสัดส่วนที่เหมาะสม เช่น DMSO 5-10 เปอร์เซ็นต์ กลีเซอรอล 5-10 เปอร์เซ็นต์ หรือใช้มากกว่าหนึ่งชนิดรวมกันในอัตราส่วนที่พอเหมาะ

**5. การเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะปานกลางหรือด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต**

การเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะปานกลางหรือด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต ทำได้หลายวิธีตามรายงานของ รังสฤษดิ์ (2545) ได้แก่ การลดอุณหภูมิ (reduce temperature) โดยการลดอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อลง 5-20 องศาเซลเซียส ตรวจดูการเจริญเติบโตและเปลี่ยนอาหารหลังเก็บรักษาไว้ 1-2 ปี การลดปริมาณสารอาหาร (reduce medium) โดยลดความเข้มข้นของอาหารที่ใช้ในการชะลอการเจริญ เติบโตลงเหลือครึ่งหนึ่ง หรือหนึ่งในสี่ส่วน ขึ้นกับชนิดของพืช การใช้สารยับยั้งกระบวนการออสโมซิส (osmotic inhibitor) ซึ่งเหมาะกับการเก็บรักษายอด เช่น การใช้แมนนิทอล 3-6 เปอร์เซ็นต์ (w/v) จะทำให้การดูดซึมธาตุอาหารต่าง ๆ ของพืชลดลง การใช้สารชะลอการเจริญเติบโต (growth retardant) เช่น การใช้ไซโคเซล 2 กรัมต่อลิตร กรดแอบไซซิค 5-10 มิลลิกรัมต่อลิตร พาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) การลดการหายใจ เช่น การใช้พาราฟินเหลว (liquid paraffin) เททับชิ้นส่วนพืช หรือให้ชิ้นส่วนพืชอยู่ตรงกลางแล้วใช้อาหารเททับอีกครั้งหนึ่ง และการประยุกต์ใช้หลายวิธีร่วมกัน (combination) ในกรณีที่การใช้วิธีใดวิธีหนึ่งที่ได้กล่าวมาแล้วก่อให้เกิดผลเสีย อาจจำเป็นต้องใช้ปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อร่วมกัน

ในการชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช Grout (1995) แนะนำให้เก็บรักษาโดยการลดอุณหภูมิ แสง และความเข้มแสงลงประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์จากระดับปกติ เช่นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 500-1,000 ลักซ์ ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน หรือใช้สารชะลอการเจริญเติบโต เช่น กรดแอบไซซิค ไซโคลเซล หรือใช้สารควบคุมแรงดันออสโมซิส เช่น แมนนิทอล ซอร์บิทอล สำหรับการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ควรเก็บรักษาปลายยอดและโซมาติกเอ็มบริโอ

การเก็บรักษาพันธุ์พืชแบบชะลอการเจริญเติบโตประสบผลสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น Lersrutaiyotin และคณะ (1992) อ้างโดย น้องนุช (2542) นำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงปลายยอดของอ้อยพันธุ์ F 140 พันธุ์ Roc 3 และพันธุ์สุพรรณ 1 เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0 และ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน แล้วนำมาเลี้ยงต่อที่ 27 องศาเซลเซียส พบว่า แคลลัสที่เก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นอ้อยได้ แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเจริญเติบโตของแคลลัสได้โดย ไม่ทำลายเซลล์ ต่อมานำต้นอ้อยพันธุ์สุพรรณ 1 และ พันธุ์ CO 2 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไมโออินอซิทอล 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไกลซิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 5 และ 15 องศาเซลเซียส นาน 1-2 เดือน แล้วย้ายไปที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นอ้อยที่เก็บรักษาที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 เดือน สามารถเจริญเติบโตได้ ในขณะที่ต้นอ้อยที่เก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส นั้นตาย ส่วน Paul และคณะ (1993) เก็บรักษาอ้อยจำนวน 200 สายพันธุ์ บนอาหารที่มีเกลือแร่และวิตามิน แต่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางฟีโนไทป์

น้องนุช (2542) เก็บรักษายอดอ้อยพันธุ์ KU 50 และสายพันธุ์ 851-56 ที่มีความยาว 2 เซนติเมตร ในสภาพหลอดทดลอง โดยใช้แมนนิทอลความเข้มข้น 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ พาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเมพิควอทคลอไรด์ ความเข้มข้น 750 และ 1,000 พีพีเอ็ม ที่อุณหภูมิ 5 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3, 4 และ 5 เดือน และนำกลับมาเลี้ยงในสภาพปกติเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าแมนนิทอลความเข้มข้น 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ มีผลในการลดความสูงของต้นอ้อยได้มาก แต่มีอิทธิพลต่อจำนวนหน่อน้อยกว่าการใช้พาโคลบิว-ทราโซลและเมพิควอทคลอไรด์ ต้นอ้อยซึ่งเก็บรักษาที่ 15 องศาเซลเซียส มีความสูงและการแตกหน่อดีกว่าที่ 5 และ 25 องศาเซลเซียส สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส คือ สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส คือ สูตร MS ที่เติมเมพิควอทคลอไรด์ ความเข้มข้น 750 พีพีเอ็ม และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ สูตร MS ที่เติมแมนนิทอล ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ Muhammad และ Sadar (2004) เก็บรักษาอ้อยสายพันธุ์ Katha บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และสารยับยั้งกระบวนการออสโมซิส พบว่า แมนนิทอล ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาต้นอ้อยได้นาน 165 วัน มีการ

รอดชีวิต 75 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่อาหารที่มีแมนนิทอล ความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาต้นอ้อยได้นาน 105 วัน มีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

Lambardi และคณะ (nd.) เก็บรักษาปลายยอดมะกอก (*Olea europaea* L.) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า สามารถเก็บรักษาในที่มืดได้นาน 8 เดือน นรารัตน์ (2547) ทำการชะลอการเจริญเติบโตของยอดกล้วยหินโดยนำยอดกล้วยหินวางบนก้อนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ซูโครส กลูโคส และซอร์บิทอล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เลี้ยงในขวดขนาด 4 ออนซ์ และใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เก็บในที่มืดและที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ยอดกล้วยหินที่เก็บรักษาโดยใช้น้ำกลั่น และสารละลายน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ที่ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน มีการรอดชีวิตสูงสุด 25 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาได้นาน 6 เดือน ศิริกุล และคณะ (2549) เก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธรในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก ¾ MS ซูโครส ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บรักษาปลายยอดได้นาน 7 เดือน มีการรอดชีวิต 73.3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ วรารัตน์ (2549) เก็บรักษาปลายยอดของมังคุดและลองกองในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้สารชะลอการเจริญ เติบโต พบว่า กรดแอบไซซิคมีประสิทธิภาพในการชะลอการเจริญเติบโตของยอดมังคุดและลองกองมากกว่าสารพาโคลบิวทราโซล โดยการเก็บรักษาในอาหารที่เติมกรดแอบไซซิคความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 เดือน มีผลยับยั้งการเจริญของปลายยอด และปลายยอดมังคุดและลองกองสามารถสร้างยอดใหม่ได้เฉลี่ย 8.1 และ 2.1 ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และยังพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นเป็น 14 กรัมต่อลิตร สามารถลดการเจริญเติบโตของปลายยอดของพืชทั้งสองชนิดได้ ลัดดาวัลย์ (2552) เก็บรักษาปลายยอดหญ้าแฝกบนอาหารสูตร ½ MS เติมพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 เดือน ที่อุณหภูมิ $27 \pm 1$ องศาเซลเซียส โดยไม่มีการย้ายเลี้ยง ให้อัตราการสร้างยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 75 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.76 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาวยอด 2-6 มิลลิเมตร

del CMontalvo-Peniche และคณะ (2007) เก็บรักษาเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของ Herbanero pepper (*Capsicum chinensis* Jacq.) 3 สายพันธุ์ คือ Nux, RPs และ MT ในอาหารสูตร Santana-Buzzy และคณะ (2006) ซึ่งดัดแปลงโดยลดการใช้เกลือไนเตรตลง 50 เปอร์เซ็นต์ หรือเพิ่มเกลือไนเตรตเป็น 150 เปอร์เซ็นต์ ซูโครส ความเข้มข้น 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ แมนนิทอล ความเข้มข้น 2, 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ หรือ ซอร์บิทอล ความเข้มข้น 2, 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 35 สัปดาห์ โดยไม่มีการย้ายเลี้ยง พบว่า แมนนิทอล ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้

ต้นพืชที่ได้มีการเจริญเติบโตน้อยและไม่มีผลทางด้านสรีรวิทยาและด้านคุณภาพ ต้นพืชที่ได้มีขนาดเล็ก ลำต้นและใบมีสีเขียว เช่นเดียวกับต้นทั่วไป

Rishi และคณะ (2006) ศึกษาผลของมาเลอิกไฮดราไซด์ (maleic hydrazide; MH) ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ได้แก่ 2, 4, 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร และเวลาที่ได้รับแสง 0, 16 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน ต่อการสร้างและเก็บรักษาแง่งขิง (*Zingiber officinale* Rosc. cv. Rio De Janeiro) โดยใช้อาหารสูตร MS เติมซูโครส 9 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า แง่งขิงที่เก็บรักษาในอาหารเติม MH ทุกความเข้มข้น และให้แสง 16 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 14 เดือน มีอัตรารอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ และในที่มืดมีอัตรารอดชีวิต 20 เปอร์เซ็นต์ แง่งขิงที่เก็บรักษาไว้ที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ทุกจีโนไทป์สร้างแง่งได้ขนาดต่าง ๆ กัน จำนวน 3-15 แง่งภายในเวลาอย่างน้อยที่สุด 12 เดือน แต่บางจีโนไทป์ใช้เวลา 16-20 เดือน เมื่อทดสอบความมีชีวิตหลังจากย้ายเลี้ยงพบว่า เกิดหน่อใหม่และหน่อใหม่ที่ได้มีการเจริญเติบโตเมื่อย้ายปลูกลงดิน

**6. การเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีผลิตเมล็ดเทียม**

เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดเทียม (encapsulation technology or artificial seeds technology) พัฒนามาจากแนวคิดของ Murashige (Murashige, 1977) เมล็ดเทียม (artificial seeds, somatic seeds, synthetic seeds, clonal seeds, synseeds หรือ somaseeds) เป็นเมล็ดที่เกิดจากการนำโซมาติกเอ็มบริโอมาห่อหุ้มด้วยสารที่มีลักษณะเป็นวุ้น (Redenbaugh *et al*., 1986) หรือเป็นแคปซูลที่เกิดจากการนำชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะพืชมาห่อหุ้มด้วยสารที่ประกอบด้วยอาหารเพาะเลี้ยง และชิ้นส่วนพืชนั้นสามารถเจริญเป็นต้นพืชได้ (Kamada, 1985) สารที่ห่อหุ้มชิ้นส่วนพืชมีสองชั้น ได้แก่ ชั้นนอกเป็นสารที่ให้ความแข็งแรงแก่เมล็ดที่เปรียบเสมือนเป็นเปลือกหุ้มเมล็ด ชั้นในประกอบด้วยธาตุอาหารพืชที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และฮอร์โมนพืชที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ด ที่เปรียบเสมือนเป็นเอนโดสเปิร์ม (Khor and Loh, 2005) ส่วน Bapat และ Mhatre (2005) ให้ความหมายของเมล็ดเทียมว่า เป็นเมล็ดที่เกิดจากการห่อหุ้มโซมาติกเอ็มบริโอ ปลายยอด หรือเนื้อเยื่อเจริญอื่น ๆ ที่สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชได้ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือสภาวะทั่วไปตามธรรมชาติ

เมล็ดเทียมมี 2 ชนิด ได้แก่ เมล็ดเทียมชนิด desiccated artificial seeds เป็นเมล็ดเทียมที่เกิดจากการนำชิ้นส่วนพืชมาห่อหุ้มด้วยสารพอลิออกซีเอทิลีน (polyoxyethylene) หรือไม่ห่อหุ้ม มาทำให้แห้งโดยการระเหยน้ำออกไป วิธีการนี้จึงเหมาะกับพืชที่ทนต่อสภาพแห้ง และ

เมล็ดเทียมชนิด hydrated artificial seeds เป็นเมล็ดเทียมที่เกิดจากการนำชิ้นส่วนพืชมาห่อหุ้มด้วยสารไฮโดรเจล (hydrogel) วิธีการนี้เหมาะกับส่วนขยายพันธุ์ของพืชที่มีอายุสั้น หรือไม่ทนต่อสภาพแห้ง (Ara *et al*., 2000) สารที่เป็นไฮโดรเจล เช่น โซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) โพแทสเซียมอัลจิเนต (potassium alginate) โซเดียมเพกเตท (sodium pectate) คาร์แรจีแนน (carrageenan) คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) เจลาติน (Redenbaugh *et al*., 1984; Rai *et al*., 2008)

การผลิตเมล็ดเทียมมีประโยชน์ในด้านการขยายพันธุ์พืชหายาก พืชใกล้สูญพันธุ์ พืชลูกผสมหายาก พืชสมุนไพร และพืชเศรษฐกิจ (Mandal *et al*., 2000) พืชที่ได้ที่มีพันธุกรรมเหมือนเดิม (Srivastava *et al*., 2009) ง่ายต่อการดูแลรักษาเนื่องจากเมล็ดเทียมมีขนาดเล็ก สะดวกในการย้ายปลูกในแปลงหรือเรือนเพาะชำ (Singh *et al*., 2009) ใช้ในการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชโดยไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อโรค (Maruyama *et al*., 1997) และใช้อนุรักษ์พันธุกรรมพืชที่ปลอดเชื้อโรคทั้งในระยะสั้นและระยะยาว การเก็บรักษาเมล็ดเทียมในระยะสั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เมล็ดมีการเจริญเติบโตอย่างช้า ๆ โดยการลดอุณหภูมิหรือความเข้มแสง ใช้สารชะลอการเจริญเติบโต ใช้สารควบคุมแรงดันออสโมติก ปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของธาตุอาหารหรือน้ำตาล หรือใช้หลาย ๆ วิธีร่วมกัน สำหรับเก็บรักษาเมล็ดเทียมในระยะยาวทำได้โดยเก็บในไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส (Rai *et al*., 2008) การผลิตเมล็ดเทียมนอกจากมีประโยชน์ดังที่กล่าวมาแล้วยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ความไม่สมบูรณ์ของโซมาติกเอ็มบริโอหรือชิ้นส่วนพืชอื่น ๆ ทำให้มีปัญหาในการงอกและการเจริญเป็นต้นพืช อัตราในการเปลี่ยนโซมาติกเอ็มบริโอหรือชิ้นส่วนพืชอื่น ๆ ที่นำมาทำเมล็ดเทียมเป็นต้นพืชมีข้อจำกัดเนื่องจากคุณภาพของเมล็ดเทียม เมล็ดเทียมมีการเจริญเติบโตเต็มที่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมจึงทำให้เมล็ดเทียมงอกเป็นต้นพืชได้ยาก เมล็ดเทียมไม่มีระยะพักตัวและไม่มีความทนทานต่อความเครียด จึงเป็นข้อจำกัดในการเก็บรักษาเมล็ดเทียม (Ara *et al*., 2000) การเก็บเมล็ดเทียมที่อุณหภูมิต่ำ (4-8 องศาเซลเซียส) ทำให้ความมีชีวิตของเมล็ดลดลงและเมล็ดเทียมเจริญเป็นต้นพืชได้จำนวนน้อย (Makowcznska and Andrzejewska-Gole, 2005)

ชิ้นส่วนพืชที่นำมาผลิตเมล็ดเทียม ได้แก่ microbulb microtuber แง่ง หน่อ ส่วนของตายอดหรือตาข้าง แคลลัส และโพรโทคอร์ม ควรมีขนาด 3-5 มิลลิเมตร (Standardi and Piccioni, 1998) ใช้โซเดียมอัลจิเนตสร้างไฮโดรเจลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีผลต่อเนื้อสัมผัส ขนาดและรูป-ร่างของเมล็ดเทียม ถ้าสารละลายโซเดียมอัลจิเนตมีความเข้มข้นต่ำ ทำให้ใช้เวลานานในการสร้าง

ไฮโดรเจลและเมล็ดเทียมที่ได้จะแตกง่าย หากมีความเข้มข้นสูง ทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดเทียมแข็ง ส่งผลให้หน่องอกออกมาได้ยาก (Naik and Chand, 2006; Singh *et al*., 2006)

อาหารเพาะเลี้ยงและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เติมในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเพื่อทำหน้าที่เป็นเอนโดสเปิร์มเทียมมีผลต่อความมีชีวิต การงอก และส่งเสริมการสร้างราก (Germana *et al*., 1998; Ma *et al*., 2011) เช่น การใช้อาหารสูตร MS และซูโครส เพื่อเพิ่มความต้านทานในการดึงน้ำออก ป้องกันไม่ให้ชิ้นส่วนพืชอยู่ในสภาพแห้ง และรักษาความมีชีวิต การเติมสารกำจัดรา สารกำจัดแมลง สารปฏิชีวนะเพื่อป้องกันไม่ให้ชิ้นส่วนพืชติดเชื้อโรค (Bhojwani and Razdan, 1996; Katouzi *et al*., 2011) การเติมแมนนิทอลและพาโคลบิวทราโซล ช่วยเพิ่มความทนทานต่อสภาพแห้งและความเย็น (Janda *et al*., 2007) และการเติมกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) ช่วยในการตอบสนองต่ออุณหภูมิต่ำ ๆ (Lisek and Orlikowska, 2004)

การเก็บรักษาเมล็ดเทียมในระยะสั้น 6-12 เดือน โดยทั่วไปเก็บไว้ในภาชนะบรรจุที่ฆ่าเชื้อแล้วอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนการเก็บรักษาในระยะยาวโดยเก็บในไนโตรเจนเหลว อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียสในระยะเวลาต่าง ๆ กัน สำหรับการทำให้เมล็ดเทียมงอกเป็นต้นพืช นิยมนำเมล็ดเทียมวางเลี้ยงบนอาหาร ซึ่งอาจเติมหรือไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้ชักนำการเกิดยอดและราก

การผลิตเมล็ดเทียมจากปลายยอดหรือตาข้างประสบผลสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น Ballester และคณะ (1997) พบว่า เมล็ดเทียมจากปลายยอดของกุหลาบพันปี (*Camella japonica*) เก็บรักษาเป็นเวลา 75 วัน ที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส และ 18-20 องศาเซลเซียส มีการรอดชีวิต 10 และ 7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เก็บรักษาปลายยอดในขวดเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน มีการรอดชีวิตเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ การผลิตเมล็ดเทียมจากปลายยอดหรือตาข้าง ควรแช่ในออกซินก่อนนำไปห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต (Ara *et al*., 2000) สามารถเก็บในที่อุณหูมิต่ำ ๆ ได้แต่อุณหภูมิต้องสูงกว่า 0 องศาเซลเซียส Singh และคณะ (2006) ผลิตเมล็ดเทียมจากปลายยอดของ *Phyllanthus amarus* พบว่าโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 75 มิลลิโมลาร์ มีความเหมาะสมที่สุดในการผลิตเมล็ดเทียม เมล็ดเทียมที่ได้สามารถงอกเป็นต้นพืชได้ 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ต้นพืชที่ได้มีการเจริญของปลายยอดและรากตามปกติ ปัจจัยที่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดเทียม ได้แก่ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต ระยะเวลาในการเก็บรักษา การเติมและไม่เติมอาหารสูตร MS ในเอนโดสเปิร์มเทียม Naik และ Chand (2006) นำส่วนของข้อของทับทิมมาผลิตเมล็ดเทียมโดยใช้โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 1-6 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับอาหารสูตร MS ที่

เติม BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 0.54 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับสารละลายแคลซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50-125 มิลลิโมลาร์ พบว่า โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ มีความเหมาะสมที่สุดในการผลิตเมล็ดเทียม สามารถเก็บรักษาเมล็ดเทียมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียลได้นานกว่า 30 วัน เมล็ดเทียมงอกเป็นต้นได้มากที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 0.54 ไมโครโมลาร์ และน้อยที่สุดบนอาหารสูตร ½ MS Singh และคณะ (2009) พบว่า การใช้โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เหมาะที่สุดในการผลิตเมล็ดเทียมจากปลายยอดของ *Spilanthes acmella* (L.) Murr. หลังจากเก็บรักษาเมล็ดเทียมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 วัน เมล็ดเทียมงอกเป็นต้นพืชได้มากที่สุดบนอาหารสูตร MS และการใช้อาหารสูตร MS เป็นเอนโดสเปิร์มเทียมทำให้ปลายยอดงอกเป็นต้นที่มีรากขณะอยู่ในเมล็ดเทียม

การผลิตเมล็ดเทียมในพืชสมุนไพร *Plantago asiatica* L. โดย Makowcznska และ Andrzejewska-Gole (2005) นำปลายยอดขนาด 0.5 เซนติเมตร หุ้มด้วยอาหารสูตร MS ที่เติมโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 และ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไม่เติมหรือเติมซูโครสความเข้มข้น 3 และ 3.5 เปอร์เซ็นต์ และไม่เติมหรือเติม IBA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และร่วมกับแซคคาโรส ความเข้มข้น 1.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยโซเดียม-อัลจิเนตความเข้มข้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับแซคคาโรสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และ IBA เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถงอกเป็นต้นพืชได้ 72 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยโซเดียม-อัลจิเนตความเข้มข้น 3 และ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่เติมแซคคาโรสและ IBA งอกเป็นต้นพืชได้เพียง 12 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต้นพืชที่ได้มีลักษณะปกติ Srivastava และคณะ (2009) ผลิตเมล็ดเทียมจากพืชสมุนไพร *Cineraria maritime* จากปลายยอดและส่วนของข้อขนาด 3-5 มิลลิเมตร โดยใช้อาหารสูตร ½ MS ซูโครสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน รักษาความชื้นของเมล็ดเทียมโดยสเปรย์น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วทุก ๆ 15 วัน หลังจากย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เมล็ดเทียมเริ่มงอกเป็นต้นพืช และภายใน 4 สัปดาห์เมล็ดเทียมงอกเป็นต้นพืชได้ 82 เปอร์เซ็นต์

นราวัตน์ (2547) ผลิตเมล็ดเทียมกล้วยหินโดยนำชิ้นส่วนตายอด 0.3 เซนติเมตร แช่ใน ABA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วจุ่มในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น

3 เปอร์เซ็นต์ ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นและอาหารเหลวสูตร MS หยดในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ เก็บรักษาเมล็ดเทียมบนสำลีในขวดเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 15 และ 30 วัน ในที่มืดให้ความชื้นด้วยอาหารเหลวสูตร ¼ MS จากนั้นย้ายเมล็ดเทียมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS มี BA ความเข้มข้น 22 ไมโครโมลาร์เป็นเวลา 15 วัน พบว่า เมล็ดเทียมมีการรอดชีวิตลดลงเมื่อเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น โดยที่ 0 วันมีการรอดชีวิต 86.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเก็บรักษาเป็นเวลา 15 และ 30 วัน มีการรอดชีวิต 49.17 และ 21.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบการเก็บรักษาเมล็ดเทียมในที่มืดและสว่าง พบว่า เมล็ดเทียมที่เก็บรักษาในที่มืดมีการงอก (53.33 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าการเก็บรักษาในที่สว่าง (51.67 เปอร์เซ็นต์)

สมปอง และลัดดาวัลย์ (2549) ผลิตเมล็ดเทียมหญ้าแฝกจากยอดอ่อนขนาด 3-5 มิลลิเมตร หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต (Wako) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดเทียมงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และพัฒนาเป็นต้นกล้าที่แข็งแรงในเวลา 2 สัปดาห์ ต่อมา ลัดดาวัลย์ (2552) ผลิตเมล็ดเทียมหญ้าแฝกจากชิ้นส่วนปลายยอดขนาด 3 มิลลิเมตร โดยใช้โซดียมอัลจิเนต (Fluka) ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากแคลเซียมคลอไรด์ หยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.28 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปแช่ในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า เมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีการรอดชีวิตสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ และการรอดชีวิตลดลงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตลดลง

## 7. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเห็นความสำคัญจากผลการสำรวจของหน่วยงานต่าง ๆ ที่พบว่าทรัพยากรธรรมชาติของประเทศไทยถูกคุกคามในหลายลักษณะ ทำให้พืชพรรณหลายชนิดสูญพันธุ์ จึงทรงมีพระราชดำริเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช โดยเมื่อปี พ.ศ. 2504 พระองค์ทรงอนุรักษ์ต้นยางนา โดยการเพาะเมล็ดยางนาซึ่งได้จากต้นพันธุ์ที่อำเภอท่ายาง จังหวัดเพชรบุรี แล้วปลูกในบริเวณวังไกลกังวลและในแปลงสาธิตใกล้พระตำหนักเรือนต้น สวนจิตรลดา จำนวน 1,250 ต้น ปี พ.ศ. 2528 ในวันพืชมงคล พระองค์ทรงมีพระกระแสรับสั่งให้ทำการอนุรักษ์ต้นขนุนหลังพระที่นั่งไพศาลทักษิณ ในพระบรมมหาราชวัง โดยการใช้เทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต่อมามีการอนุรักษ์พันธุ์พืชที่เป็นเอกลักษณ์ของพระที่นั่งต่าง ๆ ได้แก่ พุดสวน มณฑา ยี่หุบ ที่อยู่

ในพระบรมมหาราชวัง และสมอไทยที่อยู่ในพระที่นั่งอัมพรสถาน ปีพ.ศ. 2529 ทรงมีพระราชดำริให้อนุรักษ์พันธุ์หวายโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อป้องกันการขาดแคลนหวายในอนาคต และทรงจัดให้มีการอนุรักษ์พืชสมุนไพรขึ้นในโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา เพื่อรวบรวมพันธุ์พืชสมุนไพรมาปลูกเป็นแปลงสาธิต รวบรวมข้อมูลสรรพคุณและการนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งยังให้มีการศึกษาขยายพันธุ์สมุนไพรโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและขยายความรู้สู่ประชาชน

ปี พ.ศ. 2535 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ทรงสืบทอดพระราชปณิธานต่อจากพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว โดยมีพระราชดำริกับนายแก้วขวัญ วัชโรทัย เลขาธิการพระราชวังและผู้อำนวยการโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ให้ดำเนินงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ในปี พ.ศ. 2536 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ทรงมีพระราชดำริที่จะให้ดำเนินการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชที่มิใช่พืชเศรษฐกิจไว้ โดยเฉพาะพืชพรรณที่อยู่ตามเกาะต่าง ๆ ซึ่งยังไม่มีผู้สนใจมากนัก และทรงพระราชทานแนวทางการสอนและการอบรมให้เด็กมีจิตสำนึกในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชว่า “...ควรใช้วิธีปลูกฝังให้เด็กเห็นความงดงามความน่าสนใจของพืชพรรณ และเกิดความปิติที่จะศึกษาและอนุรักษ์ต่อไป...” และมีพระราชดำริให้จัดทำศูนย์ข้อมูลพันธุกรรมพืช ที่มีโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่แสดงลักษณะของพืชพรรณออกมาเป็นภาพสี เพื่อสะดวกในการค้นคว้าอ้างอิง เมื่อวันที่ 28 ธันวาคม พ.ศ. 2538 ทรงพระราชทานแนวทางการดำเนินงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน โดยการนำต้นไม้มาปลูกเพิ่มเติมให้เด็กรู้จักให้เด็กหัดเขียนตำราจากสิ่งที่เรียนในสวนพฤกษศาสตร์ด้วย วันที่ 22 เมษายน พ.ศ. 2541 ทรงมีพระราชดำริให้ดำเนินการสำรวจพืชพรรณบริเวณเกาะแสมสารและเกาะข้างเคียงทั้ง 9 เกาะ ให้ศึกษาตั้งแต่ยอดเขาถึงใต้ทะเล ให้รวบรวมพันธุ์ไม้นานาชนิดทั้งบนบกและพืชน้ำ โดยเน้นระบบนิเวศ รวมทั้งสัตว์ต่าง ๆ ด้วย วันที่ 3 กันยายน พ.ศ. 2541 ทรงริเริ่มให้มีการจัดกลุ่มเยาวชนต่าง ๆ เข้ามาศึกษาธรรมชาติ สอนให้รักธรรมชาติ โดยให้ความสำคัญกับเยาวชนที่มีฐานะยากจน และในปี พ.ศ. 2548 ทรงมีรับสั่งให้อนุรักษ์พืชพรรณและทำ DNA Fingerprint (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี, 2549)

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) เริ่มดำเนินการตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 มีวัตถุประสงค์เพื่อดำเนินการอนุรักษ์พันธุ์พืชในประเทศไทย และจัดทำธนาคารพืชพรรณ ปัจจุบันมีหน่วยงานต่าง ๆ มากกว่า 40 หน่วยงาน เข้าร่วมดำเนินงานสนองพระราชดำริ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี (2549) ได้สรุปข้อมูลต่าง ๆ ของโครงการไว้ ดังนี้

**7.1 เป้าหมายรวมของโครงการ**

เพื่อสร้างบุคคลากร อนุรักษ์และพัฒนาทรัพยากรพันธุกรรมพืชให้เกิดประโยชน์ถึงมหาชนไทย

**7.2 วัตถุประสงค์**

เพื่อให้เข้าใจและเห็นความสำคัญของพันธุกรรมพืช ร่วมคิดร่วมปฏิบัติจนเกิดประโยชน์ถึงมหาชนชาวไทย และให้มีระบบข้อมูลพันธุกรรมพืชสื่อถึงกันได้ทั่วประเทศ

**7.3 กิจกรรมในโครงการ**

โครงการอนุรักษ์พันธุ์พืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ฯ ดำเนินกิจกรรมหลักจำนวน 8 กิจกรรม คือ

1) กิจกรรมปกปักพันธุกรรมพืช

(1) ทำการสำรวจ ทำรหัสประจำต้น และขึ้นทะเบียนพันธุกรรมพืชในพื้นที่ขององค์กรในศูนย์ศึกษาการพัฒนาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ป่าที่ชาวบ้านร่วมกันปกปักรักษา ป่าในสถาบันการศึกษา ป่าที่ใช้พื้นที่เป็นสวนสัตว์

(2) ทำการสำรวจ ทำรหัสประจำต้นและขึ้นทะเบียนพันธุกรรมพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศมาปลูกดูแลรักษาในลักษณะสวนรวบรวมพันธุ์พืชโดยเอกชน

(3) สนับสนุนให้มีอาสาสมัครปกปักรักษาพันธุกรรมพืชในระดับหมู่บ้าน

(4) สนับสนุนให้มีการฝึกอบรมและศึกษาด้านอนุกรมวิธานพืช

2) กิจกรรมเก็บรวบรวมพันธุกรรมพืช

(1) ออกสำรวจ เก็บรวบรวมพันธุกรรมพืชในพื้นที่เป้าหมาย เป็นพื้นที่ที่จะมีการเปลี่ยนแปลงจากการพัฒนา เช่น พื้นที่สร้างอ่างเก็บน้ำ พื้นที่สร้างถนนหรือขยายทางหลวงหรือทางต่าง ๆ พื้นที่สร้างสายส่งไฟฟ้าแรงสูง และในพื้นที่อื่น ๆ ที่จะพัฒนาเปลี่ยนแปลงจากสภาพเดิม

(2) ตัวอย่างที่เก็บรวบรวม มีทั้งการเก็บตัวอย่างแห้ง และการดอง

(3) การเก็บพันธุกรรมพืชมีการเก็บในรูปเมล็ด ต้นพืชที่มีชีวิตและชิ้นส่วนพืชที่มีชีวิต

3) กิจกรรมปลูกรักษาพันธุกรรมพืช

(1) มีการประสานงานระหว่างหน่วยงานที่ร่วมโครงการส่วนพระองค์ ฯ ศูนย์ศึกษาพัฒนาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ศูนย์บริการการพัฒนาการขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ พื้นที่ของกรมวิชาการเกษตร กรมป่าไม้ กรมส่งเสริมการเกษตร

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย สถาบันการศึกษาต่าง ๆ ที่สมัครเข้าร่วมโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช

(2) มีการศึกษาวิจัยในการเก็บรักษาทั้งในรูปของเมล็ด เนื้อเยื่อ ต้นพืชที่มีชีวิต

(3) ศึกษาตรวจสอบพืชปราศจากโรคก่อนการเก็บรักษา

4) กิจกรรมการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืช

(1) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ จากแหล่งกำเนิดพันธุกรรม

(2) ทำการศึกษาค้นคว้าสัณฐานวิทยาของต้นพืชที่ปลูกดูแลรักษา

(3) ทำการศึกษาด้านสรีรวิทยาของพืชที่มีชีวิตที่เก็บรวบรวมดูแลรักษา

(4) ทำการศึกษาด้านชีวเคมีของพืชมีชีวิตที่เก็บรวบรวมมาปลูกดูแลรักษา

(5) การศึกษาด้านพันธุกรรม

(6) การศึกษาการจำแนกสายพันธุ์ด้านชีวโมเลกุลพืช

5) กิจกรรมศูนย์ข้อมูลพันธุกรรมพืช

(1) จัดทำโปรแกรมสำหรับระบบธนาคารข้อมูลในด้านการสำรวจเก็บรวบรวมการอนุรักษ์การประเมินคุณค่าพันธุกรรมและการใช้ประโยชน์

(2) นำข้อมูลที่ได้จากการสำรวจเก็บตัวอย่างและเก็บรวบรวมพันธุกรรมพืชเก็บเข้าไว้ในระบบธนาคารข้อมูล

(3) นำข้อมูลของตัวอย่างพืชที่เก็บรวบรวมไว้เดิมโดยองค์กรอื่น เช่น กรมป่าไม้ กรมวิชาการเกษตร นำเข้าเก็บไว้ในระบบของธนาคารข้อมูล

6) กิจกรรมการนำไปใช้ประโยชน์

(1) กิจกรรมแผนพัฒนาพันธุ์พืชเฉพาะสกุล

(2) ให้มีการร่วมมือพัฒนาพันธุ์พืชของกรมวิชาการเกษตร สถาบันการ-ศึกษาที่มีหน่วยงานพัฒนาพันธุ์พืช ศูนย์บริการการพัฒนาการขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่ อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

7) การสร้างจิตสำนึกด้านการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช

(1) จัดพื้นที่เป็นสวนพฤกษศาสตร์ และแสดงพืชพรรณ

(2) ให้การศึกษาแก่นักเรียน นิสิต นักศึกษา โดยนำชมสวนพฤกษศาสตร์ที่จัดพืชพรรณ

(3) จัดทำสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน เพื่อให้เยาวชนมีจิตสำนึกด้านอนุรักษ์พันธุกรรมพืช

(4) ประชุมสัมมนาเชิงปฏิบัติการของเจ้าหน้าที่ในสนามและเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติการเพื่อสร้างความเข้าใจในเรื่องการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช การสร้างสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน การใช้ประโยชน์จากสวนพฤกษศาสตร์เพื่อเป็นสื่อการสอนในวิชาต่าง ๆ

8) กิจกรรมพิเศษสนับสนุนการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืช

กิจกรรมทั้ง 8 กิจกรรมดังกล่าวเป็นการปฏิบัติในพื้นที่ทั่วทุกภาคของประเทศ ซึ่งมีประโยชน์ดังนี้

1) เป็นแหล่งพันธุกรรมพืช ทั้งการเก็บในสภาพเมล็ด เนื้อเยื่อ ในระยะสั้น ระยะปานกลาง และระยะยาว

2) เป็นธนาคารพืชพรรณและเป็นแหล่งฐานข้อมูลในการพัฒนาพันธุ์พืช

3) การพึ่งตนเองในทางเทคโนโลยีการพัฒนาพันธุ์พืช เพื่อประโยชน์ต่อการเกษตรของประเทศ

4) การกระตุ้นหน่วยงานต่าง ๆ ที่ดำเนินการไปแล้ว ได้ร่วมมือกันพัฒนาเครือข่ายงานพันธุกรรมทางพืชของประเทศอย่างจริงจังและถาวร

งานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน เป็นกิจกรรมหนึ่งในการสร้างจิตสำนึกด้านการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ให้กับเยาวชนและบุคคลทั่วไปให้เข้าใจถึงความสำคัญและประโยชน์ของพันธุกรรมพืช ให้รู้จักหวงแหน รู้จักการนำไปใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ซึ่งมีความสำคัญต่อการจัดการ การอนุรักษ์ และใช้ทรัพยากรของประเทศ ซึ่งสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี พระราชทานพระราชดำริให้ดำเนินการกับเยาวชน โดยการฝึกอบรมให้เห็นประโยชน์ ความงดงาม เกิดความปีติที่จะทำการอนุรักษ์ แทนที่จะสอนให้เกิดความเครียด ในกิจกรรมนี้มี “งานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน” เป็นสื่อ ดังนั้น สวนพฤกษศาสตร์จึงเป็นแหล่งที่รวบรวมพันธุ์พืชชนิดต่าง ๆ ที่มีชีวิต จัดปลูกตามความเหมาะสมกับสภาพถิ่นอาศัยเดิม มีห้องสมุด และสถานที่เก็บรวบรวมตัวอย่างพรรณไม้ การรักษาสภาพ อาจเป็นตัวอย่างแห้ง ตัวอย่างดอง หรือเก็บรักษาโดยวิธีอื่น ๆ พันธุ์พืชที่ทำการรวบรวมได้นั้นจะเป็นแหล่งข้อมูลและเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับพันธุ์ไม้ และเป็นแหล่งพักผ่อนหย่อนใจ นอกจากนี้ งานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน ยังเป็นงานสร้างจิตสำนึกในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชทรัพยากรชีวภาพและกายภาพ โดยมีการสัมผัส การเรียนรู้ การสร้างและปลูกฝังคุณธรรม การเสริมสร้างปัญญาและภูมิปัญญา ผลที่คาดว่าจะได้รับ จากงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียนมีดังนี้

1) เกิดความร่วมมือร่วมใจระหว่างโรงเรียนกับชุมชน ครู นักเรียน ผู้ปกครอง

2) เป็นแหล่งข้อมูลพืชพรรณและภูมิปัญญาท้องถิ่น ที่กระจายทั่วประเทศในเขตการศึกษาต่าง ๆ

3) เป็นส่วนหนึ่งของศูนย์พฤกษศาสตร์โรงเรียน โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ในอนาคตเชื่อมต่อกันด้วยระบบข้อมูล

4) นักเรียน เยาวชนจะมีสำนึกในการอนุรักษ์พืชพรรณของท้องถิ่น มีการศึกษาค้นคว้า อันก่อให้เกิดผู้เชี่ยวชาญระดับท้องถิ่น เกิดองค์ความรู้

5) เมื่อนักเรียนเยาวชนได้ซึมซับเกี่ยวกับพืชพรรณธรรมชาติ ก่อให้เกิดจิตใจที่อ่อนโยนมีสมาธิในการเรียนการทำงาน ผลงานผลการเรียนดีขึ้น

สรุปได้ว่า สวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียนเป็นที่รวบรวมพรรณไม้แห้ง พรรณไม้ดอง มีห้องสมุดสำหรับค้นคว้า มีการศึกษาต่อเนื่อง รวมทั้งโรงเรียนเป็นที่รวบรวมพรรณไม้ท้องถิ่นที่หายาก ใกล้สูญพันธุ์ และเป็นที่รวบรวมภูมิปัญญาท้องถิ่น อีกทั้งใช้ในการศึกษาและเป็นประโยชน์ต่อเนื่องในการสอนวิชาต่าง ๆ เป็นการดำเนินการให้สอดคล้องกับสภาพท้องถิ่น

**8. พื้นที่ศึกษา**

พรุควนเคร็ง ตั้งอยู่ในเขตอำเภอเชียรใหญ่ เฉลิมพระเกียรติ ร่อนพิบูลย์ ชะอวด และอำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง มีพื้นที่เชื่อมต่อจังหวัดพัทลุงและจังหวัดสงขลา ระหว่างพิกัดมุมบนซ้ายที่ 615000N 884000E และพิกัดมุมล่างขวาที่ 633000N 860000E มีเนื้อที่ประมาณ 86,942 ไร่ อยู่ในป่าสงวนแห่งชาติและป่าถาวร ตามมติคณะรัฐมนตรี สภาพพื้นที่เป็นพื้นที่ชุ่มน้ำประเภทพรุ ที่ตั้งอยู่ในพื้นที่ราบลุ่มในพื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา เป็นพื้นที่ตอนในถัดจากพรุควนขี้เสี้ยน เดิมเป็นพรุที่มีระบบนิเวศที่สมบูรณ์ แต่ได้ถูกไฟไหม้อย่างรุนแรง ต่อมามีการประกาศเป็นเขตอนุรักษ์ ป่าพรุได้ฟื้นตัวใหม่แต่ยังมีพื้นที่จำนวนมากที่ยังคงปกคลุมด้วยกระจูดและหญ้า สำหรับพื้นที่โดยรอบพื้นที่พรุเป็นเขตที่มีการขยายตัวของพื้นที่เกษตรกรรม โดยเฉพาะปาล์มน้ำมัน ลักษณะภูมิประเทศมีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 5 เมตร พื้นที่มีความกว้าง 7.16 กิโลเมตร ความยาว 21.08 กิโลเมตร เป็นที่ราบลุ่มตั้งอยู่ตอนเหนือของทะเลน้อย สภาพทั่วไปมีที่ดอนและเนินเขากระจายอยู่ในพื้นที่ พื้นที่ส่วนใหญ่มีน้ำท่วมขังตลอดปี มีกระจูด ปรือ และเสม็ดขึ้นอยู่ทั่วไป (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2552)

คุณภาพน้ำมีค่าเป็นกรดอ่อน ในฤดูแล้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ย 6.51 มีค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 6.72 และ 6.37 ในต้นฤดูฝนมีค่าเฉลี่ย 6.51 ค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 6.65 และ 6.24 และในปลายฤดูฝนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.02 มีค่าสูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ

5.86 และ 4.18 ค่าความเป็นกรด-ด่างโดยรวมมีค่าอยู่ระหว่าง 5-9 ซึ่งเป็นค่าของน้ำในแหล่งธรรมชาติทั่วไปยกเว้นน้ำใต้ดินพีทมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.18 และ 4.32 ซึ่งต่ำกว่า 5 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2552) จากการศึกษาคุณภาพน้ำในพื้นที่พรุควนเคร็ง ตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยปิยวรรณ และประวิทย์ (2555) ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2554 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 ซึ่งได้แบ่งเป็นพื้นที่พรุสมบูรณ์ พื้นที่พรุแปรสภาพหลังไฟไหม้ และพื้นที่พรุเปลี่ยนแปลงเพื่อการเกษตร พบว่า ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ระหว่าง 2.00-5.78 ซึ่งมีสภาพเป็นกรดเป็นไปตามลักษณะของพื้นที่พรุ โดยพื้นที่พรุแปรสภาพหลังไฟไหม้มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าบริเวณอื่น

ตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช มีพื้นที่ทั้งหมด 110,016 ไร่ สภาพเป็นป่าพรุประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นป่าพื้นที่ราบลุ่มมีน้ำขังตลอดปี ประชากรประกอบอาชีพขึ้นอยู่กับสภาพพื้นที่ เช่น ทำนา เลี้ยงสัตว์ ทำสวน จักสานผลิตภัณฑ์กระจูด และรับจ้างทั่วไป มีหมู่บ้านจำนวน 11 หมู่บ้าน ได้แก่ หมู่ที่ 1 บ้านควนป้อม หมู่ที่ 2 บ้านไทรหัวม้า หมู่ที่ 3 บ้านควนยาว หมู่ที่ 4 บ้านควนเคร็ง หมู่ที่ 5 บ้านทุ่งใคร หมู่ที่ 6 บ้านโคกเลา หมู่ที่ 7 บ้านย่านแดง หมู่ที่ 8 บ้านนอกอ่าว หมู่ที่ 9 บ้านควนชิง หมู่ที่ 10 บ้านบางน้อย และหมู่ที่ 11 บ้านใสขนุน มีโรงเรียนประถมศึกษา จำนวน 7 แห่ง ได้แก่ โรงเรียนวัดควนเคร็ง โรงเรียนบ้านควนชิง โรงเรียนวัดควนยาว โรงเรียนวัดควนป้อม โรงเรียนบ้านทุ่งใคร โรงเรียนวัดปากควน และโรงเรียนบ้านย่านแดง โรงเรียนมัธยมศึกษา จำนวน 1 แห่ง คือ โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา (องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง, ม.ป.ป.)

## 9. พลวัตการใช้ประโยชน์ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่พรุควนเคร็ง

จากผลการศึกษาเรื่องการวางแผนเพื่อการจัดการทรัพยากรในพรุควนเคร็งเพื่อการวิเคราะห์ความต้องการฝึกอบรมเพื่อการจัดการทรัพยากรอย่างยั่งยืน (สมบูรณ์ และคณะ, 2545) โครงการกระจูดกับวิถีการผลิตของคนเคร็งจากยุคใช้สอยสู่ยุคการผลิตภัณฑ์สินค้า (ศุกลภัทร และคณะ, 2553) และเรื่องพลวัตการใช้ประโยชน์ทรัพยากรป่าพรุควนเคร็ง (นฤมล, 2555) สรุปการใช้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่พรุควนเคร็งได้ดังนี้

### 9.1 การใช้ประโยชน์ทรัพยากรกระจูดในยุคป่าเขียว (ก่อน พ.ศ. 2505)

ใจกลางของพื้นที่พรุควนเคร็งเป็นควน ประกอบด้วย ควนเคร็ง ควนยาว ควนป้อม ควนชิง ควนไทร ควนราบ และควนตีน พื้นที่โดยรอบเป็นพรุมีน้ำท่วมขังตลอดปี ทำให้ป่าพรุในแถบนี้มีความอุดมสมบูรณ์ของพันธุ์ไม้นานาชนิด จึงเรียกบริเวณเหล่านี้ว่า “ป่าเขียว”

ชาวบ้าน ใช้ประโยชน์จากความอุดมสมบูรณ์ของป่าพรุโดยการล่าสัตว์ จับปลา นำสัตว์มาเลี้ยงบริเวณที่ราบทุ่งหญ้า ถอนกระจูด และหาของป่า บ้านเรือนในตำบลเคร็งส่วนใหญ่จะตั้งอยู่บนเนินควนต่าง ๆ ไต่ลาดจากเนินควนก็จะเป็นพื้นที่ไม้ผล แปลงผัก นา และดงกระจูดที่แผ่กว้างถัดออกไปรอบ ๆ เนินควนตั้งแต่บ้านควนยาว บ้านควนป้อม บ้านควนชิง บ้านควนราบ และบ้านควนเคร็ง กระจูดในแถบนี้มีความอุดมสมบูรณ์ขึ้นเป็นพืดหนาแน่นติดต่อกันเป็นบริเวณกว้าง ชาวบ้านเรียกว่า “ดงกระจูด” กระจูดที่พรุควนเคร็งมีลักษณะพิเศษ คือ ลำต้นเท่ากันตลอดตั้งแต่โคนถึงปลาย ทำให้เส้นกระจูดสวย เหนียวและทน จึงนิยมนำกระจูดมาจักสานเป็นเสื่อ กระสอบนั่ง กระสอบนอน และกระสอบหนาด

**9.2 การใช้ประโยชน์ทรัพยากรกระจูดในยุคหลังวาตภัย (พ.ศ. 2505- พ.ศ. 2539)**

เกิดวาตภัยในเขตพื้นที่พรุควนเคร็งครั้งรุนแรง ในปี พ.ศ. 2505 และปีต่อมาเกิดภาวะแห้งแล้งและฝนทิ้งช่วง เกิดไฟไหม้นานร่วม 3 เดือน โดยเฉพาะบริเวณที่ไม่มีน้ำท่วมขัง เหตุการณ์ดังกล่าวส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงครั้งใหญ่ของป่าพรุควนเคร็ง กล่าวคือ ชาวบ้านเข้าไปขนลำเลียงไม้มาใช้ประโยชน์และเข้าจับจองพื้นที่ทำกินได้สะดวกขึ้น ประกอบกับเกิดไฟไหม้อีกหลายครั้ง ทำให้พื้นที่ป่าพรุเสียสมดุลทางธรรมชาติและเสื่อมโทรมลงเป็นบริเวณกว้าง ความหลากหลายของพืชพรรณดั้งเดิมมีจำนวนลดลง พันธุ์ไม้บางชนิดเริ่มหมดไปจากป่าพรุ จนกระทั่งปี พ.ศ. 2517 มีการประกาศให้พื้นที่พรุควนเคร็งบางส่วนเป็นป่าสงวนแห่งชาติ และในปี พ.ศ. 2535 มีการประกาศให้พื้นที่ควนเคร็งเป็นเขตห้ามล่าสัตว์ป่าทะเลน้อย ทำให้ระบบการพึ่งพิงทรัพยากรป่าไม้เป็นหลักของชาวบ้านในชุมชนและภายนอกชุมชนค่อย ๆ ลดลง การหาสัตว์ป่าทำได้ยากขึ้น เนื่องจากมีกฎหมายควบคุม

ผลิตภัณฑ์กระจูดเป็นสินค้าที่มีการขยายตัวมากขึ้นในปลายทศวรรษที่ 2510 และในทศวรรษที่ 2520 ผลิตภัณฑ์จากกระจูดได้เปลี่ยนจากการจักสานเพื่อใช้สอยมาเป็นการจักสานเพื่อจำหน่าย และยึดเป็นอาชีพอย่างจริงจัง โดยมีหน่วยงานทางราชการเข้ามาส่งเสริมและสนับสนุนให้ชาวบ้านรวมตัวจัดตั้งเป็นกลุ่มแม่บ้านด้านผลิตภัณฑ์กระจูด มีการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์และการตลาด ประกอบกับมีชาวบ้านบ้านทะเลน้อยเข้ามาซื้อกระจูดสดปริมาณมากขึ้น เมื่อเกิดความต้องการกระจูดมากขึ้นทั้งจากคนในและนอกชุมชน ทำให้มีการใช้ทรัพยากรกระจูดเพิ่มปริมาณมากขึ้น ประมาณปี พ.ศ. 2530 เริ่มเกิดอาชีพถอนกระจูดขาย เพราะการถอนกระจูดมีรายได้ดีกว่าการจักสาน คนที่ไม่ถนัดในการจักสานและอาศัยอยู่ไม่ไกลจากดงกระจูดจำนวนมากจึงหันมายึดอาชีพถอนกระจูดขายเพิ่มจำนวนมากขึ้น มีการจับจองหรือการครอบครองสิทธิดงกระจูดที่มีการระบุเขตแดนชัดเจนขึ้น มีการดูแลตกแต่งดงกระจูด มีการปลูกกระจูดหรือทำนากระจูดเพิ่มในที่ดินของตนเอง มีการขุดคูรอบ ๆ ดงกระจูดเพื่อใช้เป็นแนวกันไฟป่า การกระทำเช่นนี้ก่อให้

เกิดดงกระจูดขึ้นแน่นเต็มพื้นที่ที่รายรอบชุมชน เนื่องจากกระจูดในพื้นที่สาธารณะ ซึ่งมีต้นเสม็ดขึ้นสลับอยู่เป็นหย่อม ๆ มีลักษณะต้นสูง เอามาทำตอกหรือเส้นกระจูดได้สวยกว่ากระจูดที่ปลูก จึงทำให้เกิดการจับจองดงกระจูดในพื้นที่ป่าพรุขยายกว้างออกไป หรือมีการขอซื้อต่อจากผู้จับจองเดิม ชาวบ้านในชุมชนที่มีดงกระจูดเป็นของตัวเองมาแต่ดั้งเดิมจะออกไปถอนกระจูดระยะทางประมาณ 500 เมตรจากหมู่บ้าน ขณะผู้ที่จับจองดงกระจูดในพื้นที่สาธารณะอาจต้องเดินทางด้วยเรือจากหมู่บ้านไปถอนระยะทางประมาณ 1 กิโลเมตร ส่วนการถอนกระจูดของชาวบ้านนอกชุมชนเริ่มลดลงเพราะเจ้าของจะไม่อนุญาตให้เข้าถอน

ในยุคนี้กระจูดมีบทบาทสำคัญต่อชาวบ้านทุกกลุ่มในชุมชนเคร็ง ไม่ว่าจะเป็นกลุ่มถอนกระจูด กลุ่มถอนและแปรรูปกระจูด กลุ่มซื้อกระจูดมาแปรรูป กลุ่มรับซื้อกระจูด กลุ่มแปรรูปกระจูดและจัดจำหน่าย เนื่องจากผลิตภัณฑ์กระจูดสามารถทำรายได้ให้กับครอบครัวเป็นหลัก ชาวบ้านส่วนใหญ่จึงหันมายึดเป็นอาชีพหลักในการดำรงชีวิต ทำให้ทรัพยากรกระจูดที่มีอยู่ตามธรรมชาติถูกใช้เป็นปริมาณมากจนงอกทดแทนและเจริญเติบโตไม่ทันต่อความต้องการในช่วงปลายทศวรรษที่ 2530

**9.3 การใช้ประโยชน์ทรัพยากรกระจูดในยุคการเกษตรเชิงพาณิชย์ (พ.ศ. 2540-ปัจจุบัน)**

ในช่วงทศวรรษ 2540 รัฐบาลมีนโยบายสนับสนุนด้านการส่งเสริมผลิตภัณฑ์ชุมชน “หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์” (One Tambol One Product: OTOP ) ผลิตภัณฑ์กระจูดจึงได้รับความนิยมและเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศมากขึ้น ส่งผลให้ชาวบ้านในพรุควนเคร็งเก็บกระจูดและจักสานกระจูดเป็นอาชีพหลักเพิ่มขึ้นจนถึงปัจจุบันประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของครัวเรือนทั้งหมดมีอาชีพเกี่ยวกับกระจูด

การเก็บกระจูดจะมีพื้นที่กระจูดที่สามารถเก็บได้ 2 ลักษณะ คือ ดงกระจูดที่มีเจ้าของต้องขออนุญาตก่อน อีกพื้นที่เป็นดงกระจูดสาธารณะที่อยู่ในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติหรือเขตห้ามล่าสัตว์ป่าทะเลน้อย มีลักษณะเป็นทรัพยากรที่สามารถใช้ร่วมกันได้ ชาวบ้านในพรุควนเคร็งสามารถเข้าไปเก็บกระจูดได้อย่างเสรี แต่จะจำกัดสิทธิ์ไม่ให้คนภายนอกชุมชนเข้ามาใช้และเก็บกระจูดอย่างเช่นในอดีต ตั้งแต่กลางทศวรรษ 2540 ดงกระจูดที่มีเจ้าของทั้งในแปลงปลูกและในที่สาธารณะได้รับดูแล ตกแต่ง ขุดคูโดยรอบทำแนวกันไฟไหม้ รวมถึงมีการปลูกกระจูดเพิ่มในพื้นที่ครอบครอง และดงกระจูดสาธารณะยังคงมีชาวบ้านเข้าไปจับจองอย่างต่อเนื่อง จนทำให้ทรัพยากรกระจูดในป่าพรุควนเคร็งแทบไม่มีที่ว่างจากการถือสิทธิครอบครองของคนในชุมชน ยกเว้นบริเวณที่ออกไปเก็บเกี่ยวยากลำบาก เช่น บริเวณน้ำลึก การเดินทางไกลไม่สะดวก

ช่วงปลายทศวรรษ 2540 จนถึงปัจจุบัน เมื่อระบบนิเวศป่าพรุเปลี่ยนแปลงไปอย่างมากทั้งพันธุ์ไม้ พันธุ์สัตว์ รวมไปถึงความอุดมสมบูรณ์ของดินและน้ำในป่าพรุ เกิดปัญหาดินเปรี้ยวและน้ำเปรี้ยว ส่งผลให้ชาวบ้านปรับเปลี่ยนระบบการผลิตทางการเกษตร หันมาปลูกยางพาราและปาล์มน้ำมันเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะการปลูกปาล์มน้ำมันได้รับการส่งเสริมสนับสนุนจากสถานีพัฒนาที่ดินจังหวัดนครศรีธรรมราชตามโครงการพัฒนาพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนครศรีธรรมราช และโครงการพัฒนาลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา โดยการปรับปรุงพื้นที่นาร้างเพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน การปรับปรุงและพัฒนาพื้นที่ดินเปรี้ยวจัดเพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน (สถานีพัฒนาที่ดินนครศรีธรรมราช, 2550) ซึ่งเป็นการขานรับนโยบายส่งเสริมให้มีการปลูกปาล์มน้ำมันเป็นพืชพลังงานทดแทนของรัฐที่กำหนดเป็นแผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี พ.ศ. 2551-2565 และแผนพัฒนาอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์มปี 2551-2555 โดยมีพื้นที่เป้าหมายที่มีศักยภาพขยายปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่ดินเปรี้ยว 540,942 ไร่ จากพื้นที่ทั้งหมด 1,889,243 ไร่ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) ซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมให้เกิดไฟไหม้ป่าพรุควนเคร็งเพื่อเข้าไปครอบครองที่ดินป่าพรุเพื่อการเกษตรหรือเพื่อผลประโยชน์อื่น ๆ อันเป็นสาเหตุสำคัญในยุคนี้ที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในแหล่งธรรมชาติมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว เช่น ปี พ.ศ. 2552 เกิดไฟป่าทำความเสียหายแก่แหล่งทรัพยากรกระจูดในตำบลเคร็งเพียงตำบลเดียวรวม 1,119 ไร่ จากพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 7,000 ไร่ ที่อุดมไปด้วยทรัพยากรกระจูด (กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม, 2555) ปี พ.ศ. 2553 เกิดไฟป่าจำนวน 330 ครั้ง พื้นที่ป่าพรุเสียหาย 19,095 ไร่ และปี พ.ศ. 2555 เกิดไฟป่าจำนวน 129 ครั้ง พื้นที่ป่าพรุเสียหาย 12,179 ไร่ ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการจุดไฟเผาวัชพืชเพื่อเตรียมพื้นที่การเกษตรแล้วไหม้ลุกลามเข้าสู่ป่าพรุ และการจุดไฟเผาป่าเพื่อให้ป่าพรุมีสภาพเสื่อมโทรม แล้วเข้าจับจองเป็นที่ทำกิน (ส่วนควบคุมไฟป่า, 2555) ทำความเสียหายแก่ทรัพยากรกระจูดในตำบลเคร็งกว่า 600 ไร่ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เคยได้รับความเสียหายจากไฟป่าเมื่อปี พ.ศ. 2553 และดงกระจูดกำลังฟื้นสภาพขึ้นมาใหม่ ต้นกระจูดกำลังเติบโตอย่างสวยงามและเก็บเกี่ยวได้ ซึ่งต้องใช้เวลาถึง 2 ปี (บ้านเมือง, 2555)

## 10. การใช้ทรัพยากรกระจูดอย่างยั่งยืน

การใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืน หมายถึง การใช้ทรัพยากรต่าง ๆ ตามหลักอนุรักษ์วิทยา ทำให้มนุษย์มีทรัพยากรต่าง ๆ ใช้ได้อย่างต่อเนื่องตลอดไปในอนาคต หรือมนุษย์ในอนาคตก็ยังมีทรัพยากรใช้ประโยชน์ได้อย่างยุคปัจจุบัน หรือดีกว่า ความยั่งยืนจะต้องพิจารณาทั้ง 3 ด้าน (เกษม และคณะ, 2543) คือ

1) ความยั่งยืนทางเศรษฐศาสตร์ หมายถึง การนำทรัพยากรใด ๆ มาใช้ในปัจจุบันจะต้องไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อสังคม จนทำให้สวัสดิภาพหรือคุณภาพชีวิตของมนุษย์ต้องตกต่ำลง

2) ความยั่งยืนทางความหลากหลายทางชีวภาพ หรือระบบนิเวศ หมายถึง การนำทรัพยากรใด ๆ มาใช้ ต้องไม่มีผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพ หรือมีผลต่อการเปลี่ยน-แปลงระบบนิเวศ ไม่เกินกว่าความสามารถของระบบที่จะปรับตัวสู่สภาพเดิมตามธรรมชาติ

3) ความยั่งยืนทางคุณภาพชีวิต หมายถึง การที่มนุษย์รู้จักวิธีการนำทรัพยากรมาใช้เพื่อสนองความต้องการขั้นพื้นฐานอย่างถูกหลักการอนุรักษ์ คือ การใช้ทรัพยากรอย่างมีเหตุผลอย่างฉลาด ประหยัด ไว้เพื่ออนาคต

การใช้ประโยชน์ทรัพยากรธรรมชาติจำเป็นต้องกำหนดแนวทางในการจัดการใช้ประโยชน์ให้ชัดเจน ตามรายงานของวราพร (2536) ดังนี้คือ

1) ทรัพยากรส่วนใดควรสงวนรักษาไว้คงสภาพเดิม โดยจัดให้เป็นพื้นที่อนุรักษ์ การจัดการพื้นที่อนุรักษ์ต้องเป็นไปเพื่อรักษาองค์ประกอบและความสัมพันธ์ในระบบให้คงอยู่ได้

2) ทรัพยากรส่วนใดควรยินยอมให้มีการใช้ประโยชน์ แต่ต้องมีวิธีการดูแลป้องกัน และรักษาไว้ให้คงประโยชน์ต่อไป โดยต้องใช้ตามหลักการอนุรักษ์ คือ ใช้อย่างประหยัด ใช้ให้ได้นานที่สุด ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และมีผลเสียหายน้อยที่สุด โดยอาศัยหลักวิชาการมาช่วยในการบริหารจัดการ

3) ทรัพยากรส่วนใดที่เสื่อมสภาพไปแล้ว ควรได้รับการปรับปรุง บูรณะ ฟื้นฟูให้มีสภาพดีขึ้น

หลักการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืนจำเป็นต้องทราบลักษณะการใช้ ประเภทของทรัพยากรที่ใช้ และรูปแบบการใช้ทรัพยากรตามวิธีการอนุรักษ์ โดยต้องใช้ในปริมาณและอัตราที่ธรรมชาติสามารถฟื้นตัวเองได้ หรือเกิดทดแทนกัน และต้องป้องกันไม่ให้เกิดผลเสียหายต่อองค์ประกอบอื่น ๆ ในระบบ หรือหากจำเป็นก็ให้เกิดผลเสียหายน้อยที่สุด ดังนั้น การใช้ประโยชน์ทรัพยากรอย่างยั่งยืนจึงเป็นรูปแบบการใช้ประโยชน์ทรัพยากรที่ประสานกลมกลืนกับธรรมชาติ เปิดโอกาสให้กลไกของธรรมชาติดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง โดยสามารถรักษาความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศต่าง ๆ ให้ดำรงอยู่ได้

เฉลิมพร (2554) เสนอรูปแบบการใช้ประโยชน์ผลผลิตกระจูดอย่างยั่งยืนเพื่อให้ประชาชนในท้องถิ่นสามารถนำผลผลิตกระจูดจากป่าพรุควนเคร็ง บ้านกุมแป ตำบลบ้านตูล อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช มาใช้ประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจของชุมชนได้อย่างยั่งยืน คือ การช่วยกันอนุรักษ์ทรัพยากรป่าพรุควนเคร็ง ซึ่งเป็นแหล่งผลิตของผลผลิตกระจูด ให้มีความ

สมดุลทางธรรมชาติ โดยควรมีการฟื้นฟูทรัพยากรป่าพรุ ควรมีมาตรการในการจัดการพื้นที่ให้เหมาะสมเพื่อให้ป่าพรุควนเคร็งกลับมาเป็นป่าพรุที่มีความหลากหลายและอุดมสมบูรณ์ ให้ความรู้แก่ประชาชนเกี่ยวกับวิธีการเก็บเกี่ยวต้นกระจูดที่จะนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้อง คือ ใช้วิธีการตัดเพื่อให้ผลผลิตกระจูดมีระดับความสูงลำต้นที่สม่ำเสมอ ควรมีการเพาะขยายพันธุ์ ปลูกบำรุงดูแลรักษาผลผลิตกระจูดทั้งในพื้นที่ป่าพรุและพื้นที่ส่วนตัว เพื่อให้มีผลผลิตเพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ มีการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ให้หลากหลาย มีการขยายตลาดให้กว้างขวางขึ้น สอดคล้องกับ วัชนะ และกิตติพงษ์ (2549) ที่เสนอแนวทางที่จะทำให้ประชาชนในท้องถิ่นภาคตะวันออกและภาคใต้สามารถนำกระจูดในแหล่งน้ำธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจของชุมชนได้อย่างยั่งยืน คือ การช่วยกันอนุรักษ์แหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของกระจูด ให้มีความสมดุลทางธรรมชาติ เข้าใจและเรียนรู้วิธีการเก็บเกี่ยวต้นกระจูดที่จะนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้อง หาแนวทางในการเพาะขยายพันธุ์และปลูกบำรุงดูแลรักษากระจูด ทั้งในพื้นที่แหล่งน้ำธรรมชาติและพื้นที่ส่วนตัวเพื่อให้มีกระจูดเพียงพอต่อการใช้งาน เพื่อให้สอดคล้องกับทิศทางเศรษฐกิจการตลาดที่มีความต้องการสินค้า OTOP ที่ผลิตจากกระจูดทั้งในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกและภาคใต้

**คำถามวิจัย**

(1) สามารถขยายพันธุ์กระจูดโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้หรือไม่อย่างไร

(2) วิธีการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำได้อย่างไร

(3) แนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับชุมชน มีอย่างไรบ้าง

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

(1) เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดต้นกระจูดที่สมบูรณ์จากการเพาะเลี้ยงดอก ผล และหน่อกระจูด

(2) เพื่อศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต

(3) เพื่อศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับชุมชน

**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

(1) ประโยชน์ในเชิงการนำไปใช้ จะได้ทราบเทคนิควิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับชุมชน ซึ่งจะเป็นแนวทางในการจัดทำข้อเสนอแนะเชิงนโยบายในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด เพื่อเตรียมการแก้ไขปัญหาการขาดแคลนทรัพยากรกระจูดในอนาคต อีกทั้งเป็นการรักษาเอกลักษณ์ของท้องถิ่น

(2) ประโยชน์ในเชิงวิชาการ ข้อค้นพบเกี่ยวกับเทคนิควิธีการขยายพันธุ์และการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะนำไปสู่การสร้างองค์ความรู้ในหลักสูตรการฝึกอบรมและการเรียนการสอน โดยเฉพาะในส่วนของวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หรือหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น

# บทที่ 2

# วิธีการวิจัย

**วิธีดำเนินการ**

**1. การขยายพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**

**1.1 การเพาะเลี้ยงดอกกระจูด**

<u>การทดลองที่ 1.1.1</u> การฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูด

คัดเลือกดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร (รูปที่ 2) ล้างด้วยน้ำยาล้างจานและน้ำประปา 3 ครั้งเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออก แช่ดอกกระจูดในเอทิล-แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ทำการฟอกฆ่าเชื้อสิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 10 ดอก แล้ววางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขวดละ 1 ดอก วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้อง ที่มีอุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบความปลอดเชื้อ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Different (LSD)

**รูปที่ 2** ดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร

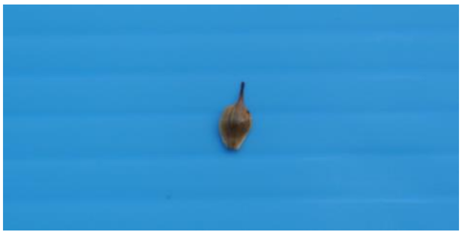
การทดลองที่ 1.1.2 การเพาะเลี้ยงดอกกระจูด

คัดเลือกดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำยาล้างจานและน้ำประปา 3 ครั้งเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออก แช่ดอกกระจูดในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้ววางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขวดละ 1 ดอก วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ คัดเลือกดอกกระจูดที่ปลอดเชื้อวางเลี้ยงบนอาหารจำนวน 10 สูตร ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด คือ อาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือเติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม 2,4-D ความ เข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของดอก หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ หาเปอร์เซ็นต์ดอกบาน ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**1.2 การเพาะเลี้ยงผลกระจูด**

การทดลองที่ 1.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อผลกระจูด

คัดเลือกดอกกระจูดที่แก่เต็มที่ ล้างด้วยน้ำยาล้างจานและน้ำประปา 3 ครั้ง เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออก แช่ดอกกระจูดในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จำนวน 30 ดอก ตัดกาบประดับออก นำผลกระจูดออกมา คัดเลือกผลที่สมบูรณ์ (รูปที่ 3) จำนวน 150 ผล แบ่งผลออกเป็น 15 ชุด ๆ ละ 10 ผล ฟอกฆ่าเชื้อผลด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่ง ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ฟอกฆ่าเชื้อสิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 10 ผล นำผลมาเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขวดละ 1 ผล วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบความปลอดเชื้อ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD



**รูปที่ 3** ผลกระจูด

การทดลองที่ 1.2.2 การเพาะเลี้ยงผลกระจูด

คัดเลือกดอกกระจูดที่แก่เต็มที่ ล้างด้วยน้ำยาล้างจานและน้ำประปา 3 ครั้ง เพื่อเอาสิ่งสกปรกออก แช่ดอกกระจูดในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ ทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จำนวน 100 ดอก ตัดกาบประดับออก นำผลออกมาและคัดเลือกผลที่สมบูรณ์จำนวน 700 ผล ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำผลมาเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขวดละ 4 ผล วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้องที่มีอุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ คัดเลือกผลกระจูดที่ปลอดเชื้อวางเลี้ยงบนอาหารจำนวน 7 สูตร ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด คือ อาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือเติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของดอก หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

**1.3 การชักนำการเกิดหน่อรวมจากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูด**

การทดลองที่ 1.3.1 การฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนกระจูด

คัดเลือกแง่งกระจูดที่มีหน่อทางส่วนปลาย (รูปที่ 4) ล้างแง่งกระจูดด้วยน้ำประปาที่กำลังไหลเพื่อสิ่งสกปรกออกนาน 20 นาที แช่ในน้ำยาล้างจานผสมน้ำประปา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาที่กำลังไหลนาน 1 ชั่วโมง ตัดแง่งกระจูดทางด้านปลายให้ติดหน่อจำนวน 2 หน่อติดกัน โดยหน่อที่ 1 และหน่อที่ 2 มีความสูง 0.5-1 และ 2-3 เซนติเมตร ตามลำดับ แช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 หน่อ โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มและระยะเวลาต่างกัน 5 สิ่งทดลอง คือ

1) 4% นาน 30 นาที 2% นาน 20 นาที

2) 5% นาน 30 นาที 2% นาน 20 นาที

3) 6% นาน 30 นาที 2% นาน 20 นาที

4) 4% นาน 30 นาที 2% นาน 20 นาที 1% นาน 20 นาที

5) 5% นาน 30 นาที 2% นาน 20 นาที 1% นาน 20 นาที

สิ่งทดลองที่ 1, 2 และ 3 ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 4 หรือ 5 หรือ 6 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วลอกใบเกล็ดสีน้ำตาลที่หุ้มแง่งบริเวณหน่อที่ 1 และหน่อที่ 2 ออก จนหมด ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที สำหรับสิ่งทดลองที่ 4 และ 5 ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 และ 2 เช่นเดียวกับสิ่งทดลองที่ 1-3 จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 3 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที (ทุกครั้งที่แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ เติมทวีน 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์) ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ลอกกาบใบที่หุ้มหน่อที่ 1 และหน่อที่ 2 ออก ตัดปลายแง่งส่วนที่ซีดออก วางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำสิ่งทดลองละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวด วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบความปลอดเชื้อและความมีชีวิต หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

**รูปที่ 4** หน่อกระจูดสองหน่อติดกัน

การทดลองที่ 1.3.2 การชักนำการเกิดหน่อรวมจากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูด

ฟอกฆ่าเชื้อหน่อกระจูดโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 20

นาที ตามกรรมวิธีในการทดลองที่ 1.3.1 วางเลี้ยงบนอาหารจำนวน 7 สูตร คือ อาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือเติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วม กับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้ววางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ คัดเลือกหน่อกระจูดที่ปลอดเชื้อไว้สิ่งทดลองละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 หน่อ ตรวจสอบการสร้างหน่อใหม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หาเปอร์เซ็นต์การสร้างหน่อใหม่ หาค่าเฉลี่ยจำนวนและความสูงของหน่อใหม่ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

<u>การทดลองที่ 1.3.3</u> การชักนำการเกิดหน่อรวมจากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดลำดับที่ต่างกัน

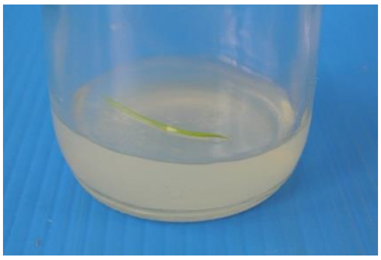
ทำการฟอกฆ่าเชื้อแง่งกระจูดเช่นเดียวกับในการทดลองที่ 1.3.2 แล้วตัดแยกหน่อกระจูด 3 แบบตามลำดับที่ของหน่อกระจูด คือ หน่อที่ 1 (อยู่ปลายสุด) หน่อที่ 2 (อยู่ถัดจากหน่อที่ 1) และหน่อที่ 1 กับหน่อที่ 2 (สองหน่อติดกัน) วางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขวดละ 1 หน่อ วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ คัดเลือกหน่อกระจูดที่ปลอดเชื้อไว้สิ่งทดลองละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด ตรวจสอบการสร้างหน่อใหม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หาเปอร์เซ็นต์การสร้างหน่อใหม่ หาค่าเฉลี่ยจำนวนและความสูงของหน่อใหม่ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

**1.4 การชักนำการเกิดหน่อรวมจากดอกกระจูดเพาะเลี้ยง**

<u>การทดลองที่ 1.4.1</u> การชักนำการเกิดหน่อรวมจากดอกกระจูดเพาะเลี้ยง

คัดเลือกลำต้นกระจูดจากการเพาะเลี้ยง ซึ่งส่วนปลายของลำต้นมีดอกที่ถูกห่อหุ้มด้วยใบประดับ (รูปที่ 5) ขนาดของดอกกำหนดจากขนาดใบประดับที่มีความยาว 1 และ 2 มิลลิเมตร ตัดลำต้นให้ต่ำกว่าตำแหน่งของใบประดับลงมา 2 เซนติเมตร วางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ขวดละ 1 ชิ้นส่วน ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

ตรวจสอบการสร้างหน่อรวมหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ หาเปอร์เซ็นต์การสร้างหน่อ ค่าเฉลี่ยของจำนวนและความสูงของหน่อ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



**รูปที่ 5** ลำต้นกระจูดจากการเพาะเลี้ยงตรงส่วนปลายมีดอก
อยู่ภายในใบประดับที่มีความยาว 1 มิลลิเมตร

**1.5 การเพิ่มปริมาณหน่อกระจูด**

การทดลองที่ 1.5.1 การเพิ่มปริมาณหน่อกระจูดที่ได้จากหน่อเพาะเลี้ยง

นำหน่อกระจูดขนาดความสูง 1 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อวางเลี้ยงบนอาหารจำนวน 9 สูตร ขวดละ 1 หน่อ ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด คือ อาหารสูตร MS เติม KN ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัม ต่อลิตร หรือเติม BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว (CW) 15 เปอร์เซ็นต์ วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบการสร้างหน่อใหม่หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หาค่าเฉลี่ยและ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

การทดลองที่ 1.5.2 การเพิ่มปริมาณหน่อกระจูดที่ได้จากดอกเพาะเลี้ยง

นำหน่อกระจูดที่ได้จากดอกเพาะเลี้ยง วางเลี้ยงในอาหารจำนวน 3 สูตร ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด คือ อาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบการสร้างหน่อใหม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

**1.6 การชักนำการสร้างแคลลัสจากดอกและลำต้นเพาะเลี้ยง**

การทดลองที่ 1.6.1 การชักนำการสร้างแคลลัสจากดอกและลำต้นเพาะเลี้ยง

คัดเลือกดอกกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร วางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขวดละ 1 ดอก สูตรละ 12 ขวด คัดเลือกต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสูง 3 เซนติเมตร ตัดลำต้นตรงบริเวณโคนลำต้น ให้สูงจากโคนขึ้นมา 1 เซนติเมตร ลอกกาบใบออกจนหมด ตัดลำต้นข้างในสุดซึ่งมีสีเขียวอ่อนยาว 1 เซนติเมตร วางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ที่บรรจุอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขวดละ 1 ท่อน สูตรละ 12 ขวด วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน และในที่มืดโดยวางในกล่องกระดาษทึบแสง ตรวจสอบการเกิดแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

**1.7 การชักนำการเกิดราก**

การทดลองที่ 1.7.1 การชักนำการเกิดราก

ตัดหน่อกระจูดความสูง 2 เซนติเมตร วางเลี้ยงในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตร่วมกับเติมผงถ่าน (AC) 0.1 เปอร์เซ็นต์ สูตรละ 10 หน่อ ตรวจสอบการสร้างราก หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ หาเปอร์เซ็นต์ของหน่อที่เกิดราก หาค่าเฉลี่ยจำนวนและความยาวราก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามการทดลองแบบรวมกลุ่ม (group experiment) โดยการทดสอบ ที (t-test)

**1.8 การปรับสภาพพืชและย้ายปลูกลงดิน**

นำต้นกระจูดที่มีรากอย่างน้อยจำนวน 2 ราก (รูปที่ 6) ออกจากอาหารเพาะเลี้ยง ล้างวุ้นที่ติดมากับรากออกจนสะอาด แล้วปลูกลงในขวดขนาด 8 ออนซ์ ซึ่งมีทรายหยาบ ขุยมะพร้าว และขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1 : 1 : 1 ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปิดฝาเพื่อควบคุมความชื้น จำนวน 10 ขวด วางบนชั้นวางเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ย้ายปลูกในแก้วพลาสติกที่มีทรายหยาบ ขุยมะพร้าว และขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1 : 1 : 1 ในสภาพที่ชุ่มน้ำเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นย้ายปลูกในกระถางที่มีทรายหยาบ ดินลูกรัง และมูลโค อัตราส่วน 2 : 1 : 1 ในสภาพที่ชุ่มน้ำ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตรวจสอบความมีชีวิต

**รูปที่ 6** ต้นกระจูดที่มีรากจำนวน 2 ราก

**2. การเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต**

**2.1 การเก็บรักษาหน่อกระจูดในอาหารที่เติมสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต**

ตัดหน่อกระจูดจากการเพาะเลี้ยงที่มีความสูง 1 เซนติเมตร วางเลี้ยงในอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 1 หรือ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมสารยับยั้งการออสโมซิส 2 ชนิด คือ แมนนิทอล หรือซอร์บิทอล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ หรือเติมสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช คือ พาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 6 ออนซ์ ที่มีอาหารปริมาตร 30 มิลลิลิตร ขวดละ 1 หน่อ ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจสอบการสร้างหน่อใหม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนตามการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Factorial in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

คัดเลือกหน่อกระจูดสูง 1 เซนติเมตร อายุการเก็บรักษา 6 เดือน ในอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สิ่งทดลองละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 หน่อ เพื่อศึกษาการเจริญของหน่อ เนื่องจากหน่อมีลักษณะสั้น โค้งงอและมีสีเขียวเข้ม แตกต่างจากลักษณะปกติของหน่อกระจูดในอาหารสูตรอื่น ๆ ตรวจสอบการสร้างหน่อใหม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หาค่าเฉลี่ยจำนวนและความสูงของหน่อใหม่ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

**2.2 การเก็บรักษาหน่อกระจูดโดยใช้เทคนิคการผลิตเมล็ดเทียม**

ตัดหน่อกระจูดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาด 0.5 เซนติเมตร ลอยในอาหารเหลวสูตร MS ปราศจากแคลเซียมคลอไรด์ เติมซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมอัลจิเนต (Fluka) ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ หรือลอยในอาหารสูตรเดียวกันเติมพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ไปเปตปลายตัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ดูดหน่อกระจูดทีละหน่อ หยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ หรือ 0.147 เปอร์เซ็นต์ ตั้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ล้างเมล็ดเทียมที่ได้ด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ปลอดเชื้อ วางเมล็ดเทียมบนสำลีชุ่มน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2 ออนซ์ ขวดละ 3 เมล็ด สูตรละ 5 ขวด เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วทุก 6 สัปดาห์ หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 3 และ 6 เดือน ย้ายเมล็ดเทียมวางบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจสอบการงอก หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หาเปอร์เซ็นต์การงอก ค่าเฉลี่ยจำนวนและความสูงของหน่อ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

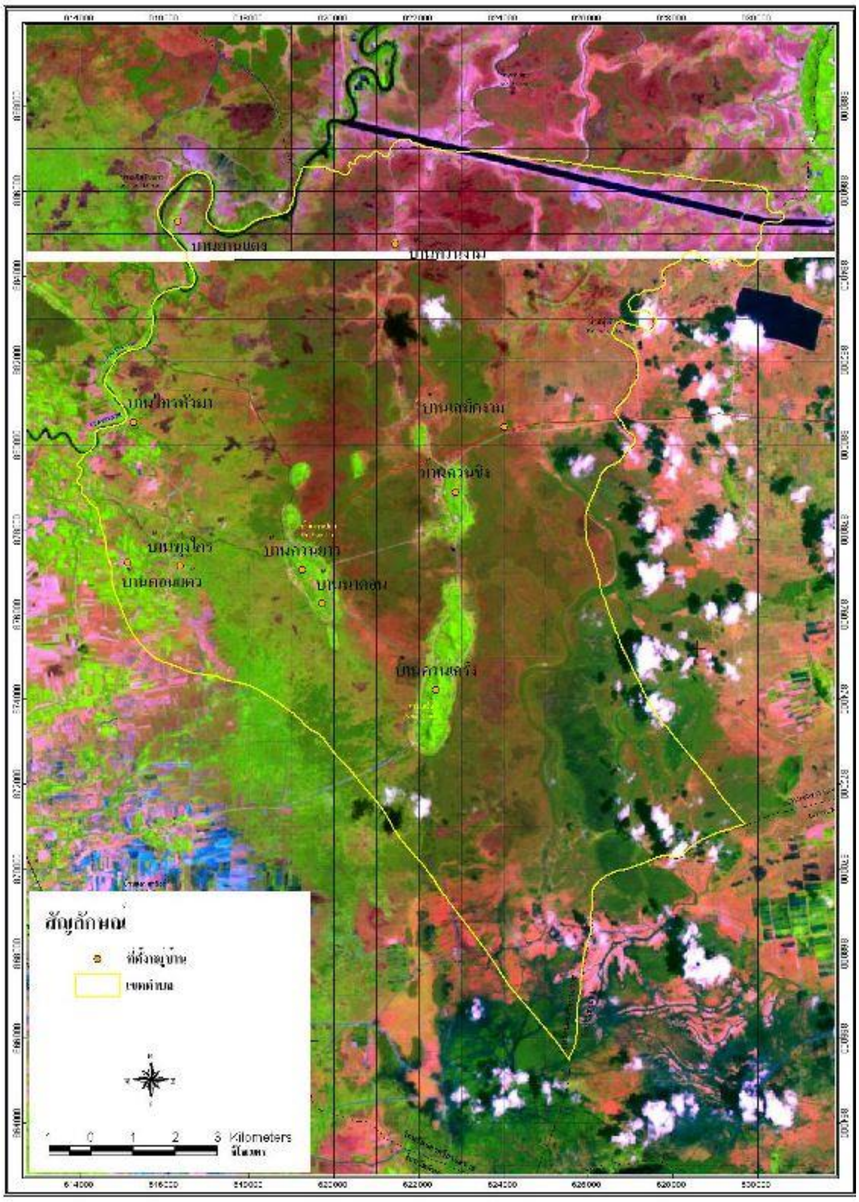
**3. ศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

เป็นการศึกษาวิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนในพื้นที่ชุมน้ำพรุควนเคร็ง จังหวัดนครศรีธรรมราช และแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อจัดทำข้อเสนอแนะเชิงนโยบายเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ผู้วิจัยได้อธิบายถึงพื้นที่ดำเนินการวิจัย กลุ่มเป้าหมาย ขั้นตอนในการวิจัย การเก็บรวบรวมข้อมูล และการวิเคราะห์ข้อมูล ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

**3.1 พื้นที่ดำเนินการวิจัย**

ผู้วิจัยศึกษาเอกสาร บทความ และงานวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็ง ทั้งจากหนังสือพิมพ์ และจากเว็บไซต์ ได้ข้อมูลที่เป็นปัจจุบันว่าตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งเป็นแหล่งที่มีทรัพยากรกระจูดมากที่สุดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งของจังหวัดนครศรีธรรมราช (รูปที่ 7) จึงได้ศึกษาข้อมูลพื้นฐานชุมชนตำบลเคร็งจากเว็บไซต์องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง ข้อมูลแหล่งกระจูดในธรรมชาติของตำบลเคร็ง จากการสัมภาษณ์แบบไม่เป็นทางการนายประมูล ภารชาตรี ผู้ใหญ่บ้านหมู่ที่ 2 บ้านไทรหัวม้า

ตำบลเคร็ง และนายสมเอก อินทร์ช่วย อดีตนายกองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง มีชุมชนที่ตั้งถิ่นฐานอยู่ในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งตำบลเคร็งทั้งหมด 11 ชุมชน และชุมชนที่มีทรัพยากรกระจูดในพื้นที่มีเพียง 6 ชุมชน คือ ชุมชนบ้านควนป้อม (หมู่ที่ 1) ชุมชนบ้านควนยาว (หมู่ที่ 3) ชุมชนบ้านควนเคร็ง (หมู่ที่ 4) ชุมชนบ้านโคกเลา (หมู่ที่ 6) ชุมชนบ้านควนชิง (หมู่ที่ 9) และชุมชนบ้านใสขนุน (หมู่ที่ 11) ผู้วิจัยได้เชิญตัวแทนจาก 4 ชุมชน คือ ชุมชนบ้านควนป้อม ชุมชนบ้านควนยาว ชุมชนบ้านควนชิง และชุมชนบ้านใสขนุน ตามความพร้อมและความสมัครใจในการร่วมสนทนากลุ่ม




**รูปที่ 7** แผนที่ตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช

**3.2 กลุ่มเป้าหมาย**

กลุ่มเป้าหมายสำหรับการวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วย 3 กลุ่ม คือ

1) กลุ่มประชาชน ได้แก่ ผู้ที่เกี่ยวข้องกับทรัพยากรกระจูด ทั้งในด้านที่เป็นเจ้าของแปลงกระจูด ผู้ถอนกระจูด และหรือผู้แปรรูปกระจูด ประกอบด้วยประชาชนชุมชนบ้านควนป้อม จำนวน 3 คน ชุมชนบ้านควนยาว จำนวน 3 คน ชุมชนบ้านควนชิง จำนวน 3 คน ชุมชนบ้านใสขนุน จำนวน 4 คน รวมจำนวน 13 คน

2) กลุ่มเจ้าหน้าที่ ได้แก่ เจ้าหน้าที่ในหน่วยงานของรัฐที่มีความเกี่ยวข้องกับทรัพยากรกระจูด ประกอบด้วย

(1) เจ้าหน้าที่ในท้องถิ่น คือ ผู้ใหญ่บ้าน จำนวน 4 นาย

(2) เจ้าหน้าที่องค์การบริหารส่วนตำบล จำนวน 4 นาย

3) กลุ่มครู ได้แก่ ครูที่มีความเกี่ยวข้องกับทรัพยากรกระจูดของโรงเรียนมัธยมศึกษาในตำบลเคร็ง จำนวน 1 แห่ง คือ โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา จำนวน 2 คน

**3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล**

การวิจัยเชิงคุณภาพใช้การสนทนากลุ่ม โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) การเข้าสู่ชุมชน ผู้วิจัยแนะนำตัวอย่างไม่เป็นทางการในเดือนเมษายน พ.ศ. 2556 กับผู้ใหญ่บ้านหมู่ที่ 1 บ้านควนป้อม หมู่ที่ 3 บ้านควนยาว หมู่ที่ 4 บ้านควนเคร็ง หมู่ที่ 6 บ้านโคกเลา หมู่ที่ 9 บ้านควนชิง และหมู่ที่ 11 บ้านใสขนุน ตามรายชื่อและหมายเลขโทรศัพท์ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากนายสมเอก อินทร์ช่วย อดีตนายกองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง เพื่อสอบถามข้อมูลแหล่งธรรมชาติและการใช้ทรัพยากรกระจูดของชุมชน ต่อมาในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2556 ได้ติดต่ออีกครั้งเพื่อขอความอนุเคราะห์จัดหาตัวแทนชุมชนเข้าร่วมสนทนากลุ่มเรื่องวิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชน และแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้รับคำแนะนำจากผู้ใหญ่บ้านให้ประสานกำนันหรือผู้ใหญ่บ้านหมู่ที่ 3 เชิญประชุม ซึ่งต่อมากำนันแนะนำให้ประสานองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งจัดทำหนังสือเชิญประชุม ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2556 ได้ติดต่อนายไสว ทองดำ นายกองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง เพื่อแนะนำตัว อธิบายภาพรวมของผลงานวิจัย วัตถุประสงค์ของการสนทนากลุ่ม และกลุ่มเป้าหมายในการสนทนากลุ่ม นายไสว ทองดำ จึงมอบหมายให้นายสุทัศน์ สงขาว รองนายกองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง ทำหน้าที่เป็นผู้ประสานงานในครั้งต่อ ๆ ไป เดือนกันยายน พ.ศ. 2556 ผู้วิจัยนำหนังสือราชการจากสถาบันทรัพยากรทะเลและชายฝั่ง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ขอความอนุเคราะห์องค์การ

บริหารส่วนตำบลเคร็ง เชิญผู้ใหญ่บ้าน ประชาชน และครูในพื้นที่ศึกษามาร่วมการสนทนากลุ่ม และขอใช้ห้องประชุมสำนักงานองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งเป็นสถานที่จัดสนทนากลุ่ม

2) การสนทนากลุ่ม

ผู้วิจัยได้จัดการสนทนากลุ่มแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อวันที่ 8 ตุลาคม พ.ศ. 2556 ณ ห้องประชุมสำนักงานองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง ระหว่างเวลา 13.00 น.-16.00 น. มีขั้นตอนดังนี้

(1) ผู้วิจัยแนะนำตัวและทีมงาน อธิบายขั้นตอนในการดำเนินการสนทนาและขออนุญาตบันทึกภาพและบันทึกเสียง

(2) ฉายสไลด์สรุปผลงานวิจัยเป็นการนำเข้าสู่ประเด็นการสนทนากลุ่ม ประกอบด้วยหัวข้อ ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ปัญหา คำถามวิจัย แนวทางแก้ปัญหา วัตถุประสงค์ สรุปผลการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสรุปประเด็นปัญหาที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดมีปริมาณลดลงในพื้นที่พรุควนเคร็ง

(3) ดำเนินการสนทนากลุ่มตามประเด็นคำถาม ดังนี้

- สาเหตุใดที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลง
- วิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนและแนวคิดในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดเป็นอย่างไร
- ความคิดเห็นเกี่ยวกับผลงานวิจัยและแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอย่างไร
- ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนเป็นอย่างไร

ผู้วิจัยและทีมงานได้ทักทายและทำความรู้จักผู้เข้าร่วมสนทนากลุ่มจากหมู่บ้านที่เดินทางมาถึงห้องประชุมก่อนเป็นรายบุคคล โดยเฉพาะกลุ่มประชาชน และใช้ภาษาถิ่นใต้ในการสนทนา และผู้ร่วมสนทนาส่วนใหญ่ทั้งที่มาจากหมู่บ้าน องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง และครูมีความรู้จักคุ้นเคยกันมาก่อน จึงทำให้บรรยากาศในการสนทนามีความเป็นกันเอง มีความสนใจและตั้งใจชมสไลด์สรุปผลงานวิจัย สรุปประเด็นปัญหาที่ทำให้กระจูดมีปริมาณลดลงในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็ง และกระจูดที่เพาะเลี้ยงและเก็บรักษาไว้ในขวดเพาะเลี้ยง ตลอดจนที่ปลูกลงดินในกระถาง ผู้ร่วมสนทนาทุกคนร่วมกันให้ข้อมูล ข้อคิดเห็น และข้อเสนอแนะต่าง ๆ ตามความรู้หรือภูมิปัญญา หรือประสบการณ์ด้วยความเต็มใจและภาคภูมิใจกับทรัพยากรกระจูดในแหล่งธรรมชาติของชุมชนที่มีคุณค่า มีความผูกพัน และเป็นวิถีชีวิตของคนตำบลเคร็ง ดีใจที่

คนภายนอกชุมชนให้ความสนใจและเห็นคุณค่าของทรัพยากรกระจูด เข้ามาในชุมชนเพื่อศึกษาค้นคว้าทดลองวิจัยเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดที่คนในชุมชนซึ่งอยู่ในแหล่งธรรมชาติของกระจูดไม่เคยคิดและไม่เคยพูดคุยกันมาก่อน ดังนั้น การสนทนากลุ่มครั้งนี้จึงนับว่ามีความสำคัญในการเริ่มต้นจุดประกายความคิดให้ผู้ร่วมสนทนาเกิดความตระหนักและร่วมกันเสนอแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนตำบลเคร็ง

**3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล**

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการสนทนากลุ่มและข้อมูลประกอบอื่น ๆ โดยการวิเคราะห์และสังเคราะห์เชิงเนื้อหา คือ จัดกลุ่มของประเด็นการวิเคราะห์และจำแนกข้อมูลเป็นหมวดหมู่ วิเคราะห์และสังเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้อมูลชุดต่าง ๆ ของผลการสำรวจภาคสนามและโดยวิธีการวิเคราะห์แบบอุปนัย คือ ตีความผลการวิจัยเป็นประเด็นย่อย แล้วสร้างข้อสรุปเป็นประเด็นภาพรวม

**วัสดุและอุปกรณ์**

**1. วัสดุ**

**1.1 พืชทดลอง**

พืชทดลองที่ใช้ในการศึกษานี้คือ กระจูดที่เจริญตามธรรมชาติในสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ได้แก่ แง่ง หน่อ ลำต้น และดอก (รูปที่ 8)

**รูปที่ 8** แง่ง ลำต้น หน่อ และดอกกระจูดที่ขึ้นในสภาพธรรมชาติ

**1.2 สารเคมี**

1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบด้วย

1) สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) (รายละเอียดในตารางภาคผนวกที่ 16)

2) น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทราย)

3) วุ้นตรานางเงือก

4) ผงถ่าน (activated charcoal; AC)

5) น้ำมะพร้าว (coconut water; CW)

1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

1) โซเดียมไฮโพคลอไรต์ (NaOCl) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

2) เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

3) ทวีน 80 (Tween 80)

4) น้ำยาล้างจาน (Teepol)

1.2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

1) BA

2) NAA

3) KN (kinetin)

4) 2,4-D

1.2.4 สารเคมีที่ใช้ในการเก็บรักษาชิ้นส่วนกระจูดระยะปานกลาง

1) แมนนิทอล (MN)

2) ซอร์บิทอล (SB)

3) พาโคลบิวทราโซล (PBZ)

1.2.5 สารเคมีที่ใช้ในการทำเมล็ดเทียม

1) โซเดียมอัลจิเนต (Fluka)

2) แคลเซียมคลอไรด์

**2. อุปกรณ์**

**2.1 อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง**

2.1.1 เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง

2.1.2 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง

2.1.3 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็กไฟฟ้า

2.1.4 เตาแม่เหล็กไฟฟ้า

**2.2 อุปกรณ์ในการฆ่าเชื้อ**

2.2.1 หม้อนึ่งอัดไอ

2.2.2 ตู้อบความร้อนแห้ง

**2.3 อุปกรณ์ในการย้ายเลี้ยง**

2.3.1 ตู้ย้ายเลี้ยง

2.3.2 ตะเกียงบุนเสน

2.3.3 ปากคีบ

2.3.4 ด้ามมีดและใบมีดผ่าตัด

2.3.5 ช้อนตักสาร

2.3.6 กระดาษกรอง

**2.4 อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยง**

2.4.1 ชั้นวางเลี้ยง

2.4.2 กล่องกระดาษทึบแสง

**2.5 อุปกรณ์เครื่องแก้ว**

2.5.1 บีกเกอร์

2.5.2 ขวดปรับปริมาตร

2.5.3 ขวดรูปชมพู่

2.5.4 กระบอกตวง

2.5.5 ไปเปต

2.5.6 จานเพาะเลี้ยง

2.5.7 ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 2, 4 และ 8 ออนซ์

## 2.6 อุปกรณ์ในการบันทึกภาพและเสียง

2.6.1 กล้องบันทึกภาพแบบดิจิตอล

2.6.2 เครื่องบันทึกเสียง

# บทที่ 3

# ผล

## 1. ผลการขยายพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ผลการศึกษาการขยายพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังรายละเอียดต่อไปนี้

### 1.1 ผลการเพาะเลี้ยงดอกกระจูด

#### 1.1.1 การฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูด

จากการฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์มีผลต่อความปลอดเชื้อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ดอกกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ มีความปลอดเชื้อสูงสุด 82.00 ± 1.30 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1 และตารางภาคผนวกที่ 1)

ตารางที่ 1 ความปลอดเชื้อของดอกกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์

| ความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมไฮโพคลอไรต์ (%) | ความปลอดเชื้อ (เปอร์เซ็นต์) |
|---|---|
| 1 | 32.00±0.84 [c] |
| 2 | 50.00±1.14 [b] |
| 3 | 82.00±1.30 [a] |
| F-test | ** |
| $LSD_{.05}$ | 1.53 |
| C.V. (%) | 19.60 |

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

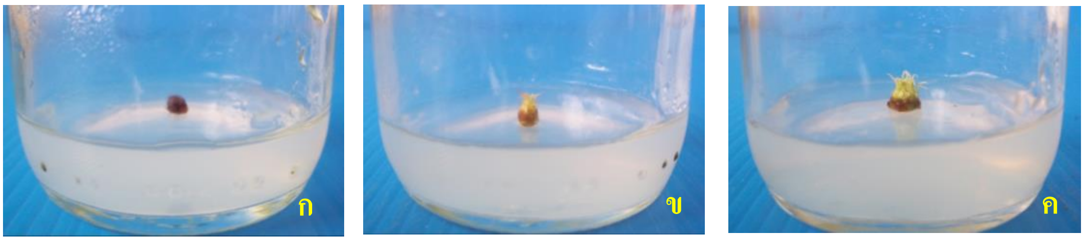
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

**1.1.2 การเพาะเลี้ยงดอกกระจูด**

จากเพาะเลี้ยงดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ดอกกระจูดทั้งหมดมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้นโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.40 ± 0.47 เซนติเมตร บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ดอกกระจูด 60.00 เปอร์เซ็นต์ มีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.50 ± 0.54 เซนติเมตร ดอกบานและมีเกสรเพศผู้ยื่นออกมา บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ดอกกระจูด 50.00 เปอร์เซ็นต์ มีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.55 ± 0.42 เซนติเมตร ดอกบานและมีเกสรเพศผู้ยื่นออกมาจำนวนมากกว่าบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2 และรูปที่ 9) ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ดอกกระจูดทั้งหมดมีขนาดเท่าเดิมและมีสีน้ำตาลเข้มกว่าเดิม

<u>ตารางที่ 2</u> เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย จำนวน และเปอร์เซ็นต์ดอกบาน จากการเพาะเลี้ยงดอกกระจูดบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

| ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มก./ล) | เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (ซ.ม.) | ดอกบาน | |
|---|---|---|---|
| | | จำนวน (ดอก) | เปอร์เซ็นต์ |
| BA (1) | 0.40±0.47 | 0 | 0.00 |
| BA (2) | 0.50±0.54 | 12 | 60.00 |
| BA (3) | 0.55±0.42 | 10 | 50.00 |
| 2,4-D (1) | 0.30±0.00 | 0 | 0.00 |
| 2,4-D (3) | 0.30±0.00 | 0 | 0.00 |
| 2,4-D (5) | 0.30±0.00 | 0 | 0.00 |
| NAA (0.2) + BA (1) | 0.30±0.00 | 0 | 0.00 |
| NAA (0.2) + BA (2) | 0.30±0.00 | 0 | 0.00 |
| NAA (0.2) + BA (3) | 0.30±0.00 | 0 | 0.00 |




**รูปที่ 9** ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของดอกกระจูดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์
ก. 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ข. 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ค. 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

**1.2 ผลการเพาะเลี้ยงผลกระจูด**

**1.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อผลกระจูด**

จากการฟอกฆ่าเชื้อดอกกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ตัดกาบประดับออก และนำผลกระจูดออกมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์มีผลต่อความปลอดเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ กล่าวคือ ผลกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีความปลอดเชื้อสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3 และตารางภาคผนวกที่ 2)

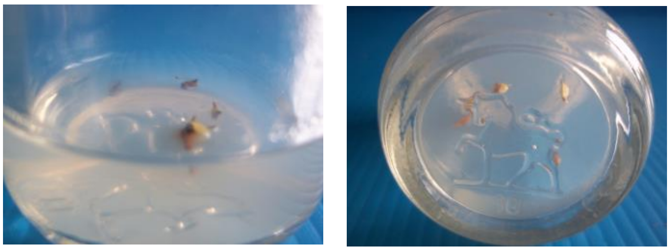
ตารางที่ 3 ความปลอดเชื้อของผลกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์

| ความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมไฮโพคลอไรต์ (%) | ความปลอดเชื้อ (เปอร์เซ็นต์) |
|---|---|
| 0.0 | 92.00±0.83 |
| 0.5 | 96.00±0.55 |
| 1.0 | 100.00±0.00 |
| F-test | ns |
| C.V. (%) | 6.01 |

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

**1.2.2 การเพาะเลี้ยงผลกระจูด**

จากเพาะเลี้ยงผลกระจูดบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือเติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ผลกระจูดมีการเปลี่ยนแปลงบนอาหารบางสูตร กล่าวคือ ผลกระจูดบนอาหารที่เติม NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า เปลือกหุ้มผลปริแตกเห็นโครงสร้างภายในมีสีเขียว 2.5, 7.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 10) ต่อมาในสัปดาห์ที่ 5 โครงสร้างสีเขียวนั้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งหมดและยังคงสภาพเดิมแม้จะเพาะเลี้ยงไว้นานถึง 6 เดือน



**รูปที่ 10** ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของผลกระจูดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

**1.3 ผลการชักนำการเกิดหน่อรวมจากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูด**

**1.3.1 การฟอกฆ่าเชื้อหน่อกระจูด**

จากการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ที่มีความเข้มข้นต่างกันในเวลาที่แตกต่างกัน แล้วตัดหน่อสองหน่อติดกันที่อยู่ทางส่วนปลายแง่งของต้นแม่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์และระยะเวลาที่ฟอกฆ่าเชื้อมีผลต่อความปลอดเชื้อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ หน่อกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที และ 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที มีความปลอดเชื้อสูงสุด $72.50 \pm 0.82$ เปอร์เซ็นต์ให้หน่อที่มีชีวิต 27.59 เปอร์เซ็นต์ และหน่อที่ตายสูงสุดถึง 72.41 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่หน่อกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที 2 เปอร์เซ็นต์ นาน

20 นาที และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที มีความปลอดเชื้อ 55.00 เปอร์เซ็นต์ ให้หน่อที่มีชีวิตสูงสุด 72.73 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4 และตารางภาคผนวกที่ 3)

ตารางที่ 4 ความปลอดเชื้อ หน่อที่มีชีวิต และหน่อที่ตายจากการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้นและเวลาต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 1 สัปดาห์

| ความเข้มข้นของสารละลาย | การเปลี่ยนแปลง (เปอร์เซ็นต์) | | |
|---|---|---|---|
| โซเดียมไฮโพคลอไรต์ (%) / เวลา (นาที) | ความปลอดเชื้อ | หน่อที่มีชีวิต | หน่อที่ตาย |
| 4 / 30 และ 2 / 20 | $20.00 \pm 0.82^{d}$ | 50.00 | 50.00 |
| 5 / 30 และ 2 / 20 | $37.50 \pm 1.26^{c}$ | 46.67 | 53.33 |
| 6 / 30 และ 2 / 20 | $72.50 \pm 0.82^{a}$ | 27.59 | 72.41 |
| 4 / 30 และ 2 / 20 และ 1 / 20 | $40.00 \pm 0.82^{bc}$ | 67.50 | 32.50 |
| 5 / 30 และ 2 / 20 และ 1 / 20 | $55.00 \pm 1.29^{ab}$ | 72.73 | 27.27 |
| F-test | ** | - | - |
| $LSD_{.05}$ | 1.54 | - | - |
| C.V. (%) | 23.03 | - | - |

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

### 1.3.2 การชักนำการเกิดหน่อรวมจากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูด

จากเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือเติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อการเกิดหน่อใหม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ ในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำการเกิดหน่อใหม่ได้ ขณะที่อาหารที่เติม BA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำการเกิดหน่อได้ทุกความเข้มข้น คิดเป็น 100.00 เปอร์เซ็นต์ โดย BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรชักนำการเกิดหน่อได้จำนวนมากที่สุดเฉลี่ย $3.33 \pm 0.69$ หน่อ หน่อมีความสูง

เฉลี่ย 5.50 ± 0.55 เซนติเมตร และแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ BA ความเข้มข้น 2 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 5 ตารางภาคผนวกที่ 4 และ 5 รูปที่ 11 และรูปที่ 12)

<u>ตารางที่ 5</u> เปอร์เซ็นต์การสร้างหน่อใหม่ จำนวน และความสูงเฉลี่ยของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มก./ล.) | การสร้างหน่อใหม่ (เปอร์เซ็นต์) | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ) | ความสูงเฉลี่ย (ซ.ม.) |
|---|---|---|---|
| PGR-free medium | 0.00 | 0.00±0.00 d | 0.00±0.00 c |
| BA (1) | 100.00 | 1.33±0.29 c | 7.50±0.89 a |
| BA (2) | 100.00 | 2.33±0.47 b | 5.83±0.33 b |
| BA (3) | 100.00 | 3.33±0.69 a | 5.50±0.55 b |
| NAA (0.2) + BA (1) | 0.00 | 0.00±0.00 d | 0.00±0.00 c |
| NAA (0.2) + BA (2) | 0.00 | 0.00±0.00 d | 0.00±0.00 c |
| NAA (0.2) + BA (3) | 8.33 | 0.08±0.00 d | 0.25±0.50 c |
| F-test | - | ** | ** |
| $LSD_{.05}$ | - | 0.50 | 0.67 |
| C.V. (%) | - | 33.78 | 16.79 |

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD


**รูปที่ 11** หน่อใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ข. 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ค. 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

**รูปที่ 12** หน่อใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดบนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

**1.3.3 การชักนำการเกิดหน่อรวมจากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดลำดับที่ต่างกัน**

จากเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดลำดับที่ต่างกันบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อทุกลำดับที่เกิดหน่อใหม่ได้ 100.00 เปอร์เซ็นต์ และลำดับที่ของหน่อมีผลต่อการเกิดหน่อใหม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ หน่อที่ 1 และหน่อที่ 2 ที่ตัดแยกเป็นหน่อเดี่ยวเกิดหน่อใหม่ได้จำนวนน้อยกว่าหน่อที่ 1 กับหน่อที่ 2 สองหน่อติดกัน ที่เกิดหน่อใหม่ได้จำนวนมากที่สุดเฉลี่ย $3.26 \pm 0.29$ หน่อ และหน่อมีความสูงเฉลี่ย $5.26 \pm 0.70$ เซนติเมตร (ตารางที่ 6 ตารางภาคผนวกที่ 6 และ 7 และรูปที่ 13)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การสร้างหน่อใหม่ จำนวนและความสูงเฉลี่ยของหน่อใหม่ที่ได้ จากการเพาะเลี้ยงหน่อลำดับที่ต่างกันบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| หน่อที่ | การสร้างหน่อใหม่ (เปอร์เซ็นต์) | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ) | ความสูงเฉลี่ย (ซ.ม.) |
|---|---|---|---|
| 1 | 100.00 | 1.00±0.00 [c] | 2.96±0.13 [c] |
| 2 | 100.00 | 1.42±0.18 [b] | 3.84±0.58 [b] |
| 1 กับ 2 | 100.00 | 3.26±0.29 [a] | 5.26±0.70 [a] |
| F-test | - | ** | ** |
| $LSD_{.05}$ | - | 0.27 | 0.73 |
| C.V. (%) | - | 10.34 | 13.19 |

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD


**รูปที่ 13** หน่อใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดลำดับที่ต่างกันบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. หน่อที่ 1 ข. หน่อที่ 2 ค. หน่อที่ 1 กับหน่อที่ 2

**1.4 การชักนำการเกิดหน่อรวมจากดอกกระจูดเพาะเลี้ยง**

จากการเพาะเลี้ยงดอกกระจูดที่มีขนาดต่างกัน ซึ่งกำหนดขนาดดอกจากขนาดของใบประดับที่ห่อหุ้มอยู่ คือ ใบประดับยาว 1 และ 2 มิลลิเมตร บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ขนาดดอกภายในใบประดับมีผลต่อจำนวนหน่อที่ชักนำได้ กล่าวคือ ดอกภายในใบประดับยาว 1 มิลลิเมตร ชักนำให้เกิดหน่อได้บนอาหารที่เติม BA ทุกความเข้มข้น โดย BA ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยเท่ากัน คือ 1.00 ± 0.00 หน่อ หน่อที่ได้มีความสูงเฉลี่ยสูงสุดในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนดอกภายในใบประดับยาว 2 มิลลิเมตร ไม่สามารถชักนำการเกิดหน่อได้ (ตารางที่ 7) แต่ดอกมีการพัฒนาเป็นดอกกระจูดที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและดอกบานในสัปดาห์ที่ 6 หลังเพาะเลี้ยง (รูปที่ 14)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การสร้างหน่อ จำนวนและความสูงหน่อเฉลี่ย จากดอกกระจูดเพาะเลี้ยงขนาดต่างกันบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

| ความเข้มข้นของ BA (มก./ล.) | การสร้างหน่อ (เปอร์เซ็นต์) | | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ) | | ความสูงเฉลี่ยของหน่อ (ซ.ม.) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 ม.ม. | 2 ม.ม. | 1 ม.ม. | 2 ม.ม. | 1 ม.ม. | 2 ม.ม. |
| 1 | 58.33 | 0 | 0.58±0.34 | 0 | 0.83±0.31 | 0 |
| 2 | 100.00 | 0 | 1.00±0.00 | 0 | 4.68±0.76 | 0 |
| 3 | 100.00 | 0 | 1.00±0.00 | 0 | 1.95±0.21 | 0 |


**รูปที่ 14** หน่อและดอกกระจูดที่ได้จากดอกกระจูดเพาะเลี้ยงที่อยู่ภายในใบประดับที่มีขนาดต่างกันบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ก. หน่อที่ได้จากดอกกระจูดที่อยู่ภายในใบประดับยาว 1 มิลลิเมตร

ข. ดอกที่พัฒนาจากดอกกระจูดที่อยู่ภายในใบประดับยาว 2 มิลลิเมตร

ค. ดอกกระจูดบานหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

**1.5 ผลการเพิ่มปริมาณหน่อกระจูด**

**1.5.1 การเพิ่มปริมาณหน่อกระจูดที่ได้จากหน่อเพาะเลี้ยง**

จากการนำหน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง มาเพิ่มปริมาณหน่อบนอาหารสูตร MS เติม KN ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว (CW) 15 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อจำนวนและความสูงของหน่อใหม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 8 ตารางภาคผนวกที่ 8 และ 9) กล่าวคือ BA ชักนำให้เกิดหน่อใหม่ได้จำนวนมากกว่าการใช้ KN ทุกความเข้มข้น และ BA ทุกความเข้มข้นมีผลต่อจำนวนหน่อไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีผลต่อความสูงของหน่อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดย BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อมากที่สุดเฉลี่ย $4.08 \pm 0.83$ หน่อ และ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้หน่อที่มีความสูงมากที่สุดเฉลี่ย $4.55 \pm 0.64$ เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวนั้น พบว่า BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อมากที่สุดเฉลี่ย $3.58 \pm 0.61$ หน่อ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ BA ความเข้มข้น 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 15)

ตารางที่ 8 จำนวนและความสูงเฉลี่ยของหน่อจากการเพิ่มปริมาณหน่อที่ได้จากหน่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (มก./ล.) | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ) | ความสูงเฉลี่ยของหน่อ (ซ.ม.) |
|---|---|---|
| KN (1) | $2.43 \pm 0.51^{bc}$ | $1.88 \pm 0.29^{e}$ |
| KN (3) | $1.75 \pm 0.33^{cd}$ | $2.25 \pm 0.59^{de}$ |
| KN (5) | $1.25 \pm 0.33^{d}$ | $2.60 \pm 0.16^{cde}$ |
| BA (3) | $3.33 \pm 0.78^{ab}$ | $4.55 \pm 0.64^{a}$ |
| BA (5) | $4.08 \pm 0.83^{a}$ | $3.03 \pm 0.38^{bcde}$ |
| BA (7) | $3.40 \pm 0.71^{ab}$ | $3.25 \pm 0.53^{bcd}$ |
| BA (3) + CW 15% | $3.58 \pm 0.61^{ab}$ | $3.68 \pm 0.64^{abc}$ |
| BA (5) + CW 15% | $2.73 \pm 1.28^{bc}$ | $4.05 \pm 1.55^{ab}$ |
| BA (7) + CW 15% | $2.48 \pm 1.20^{bc}$ | $4.48 \pm 1.24^{a}$ |
| F-test | ** | ** |
| $LSD_{.05}$ | 1.16 | 1.15 |
| C.V. (%) | 28.75 | 23.98 |

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD


**รูปที่ 15** หน่อกระจูดจากการเพิ่มปริมาณหน่อที่ได้จากหน่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. KN ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ CW ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์

**1.5.2 การเพิ่มปริมาณหน่อกระจูดที่ได้จากดอกเพาะเลี้ยง**

จากการนำหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงดอกมาเพิ่มปริมาณบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนและความสูงของหน่อใหม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดหน่อได้จำนวนมากที่สุดเฉลี่ย $12.00 \pm 2.16$ หน่อ มีความสูงมากที่สุดเฉลี่ย $4.60 \pm 0.37$ เซนติเมตร (ตารางที่ 9 ตารางภาคผนวกที่ 10 และ 11 และรูปที่ 16)

ตารางที่ 9 จำนวนและความสูงเฉลี่ยของหน่อกระจูดจากการเพิ่มปริมาณหน่อที่ได้จากดอกเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| ความเข้มข้นของ BA (มก./ล.) | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ) | ความสูงเฉลี่ยของหน่อ (ซ.ม.) |
|---|---|---|
| 3 | 9.25±1.71 [b] | 4.30±0.34 [a] |
| 5 | 12.00±2.16 [a] | 4.60±0.37 [a] |
| 7 | 5.25±0.96 [c] | 3.70±0.38 [b] |
| F-test | ** | ** |
| $LSD_{.05}$ | 2.69 | 0.58 |
| C.V. (%) | 19.06 | 8.67 |

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD


**รูปที่ 16** หน่อกระจูดจากการเพิ่มปริมาณหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงดอกบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. BA ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร

**6. การชักนำการสร้างแคลลัสจากดอกและลำต้นเพาะเลี้ยง**

การชักนำการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร และลำต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง บนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มีแสงสว่างและในที่มืด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ไม่สามารถชักนำการสร้างแคลลัสได้จากทั้งสองชนิด ทั้งในที่มีแสงสว่างและในที่มืด แต่ดอกกระจูดมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีสีเขียวอ่อน และดอกบานเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง สำหรับในที่มืดดอกมีการขยายขนาด และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ส่วนลำต้นซึ่งเพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่างเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และที่เพาะเลี้ยงในที่มืดลำต้นมีลักษณะบวม โค้งงอและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (รูปที่ 17)

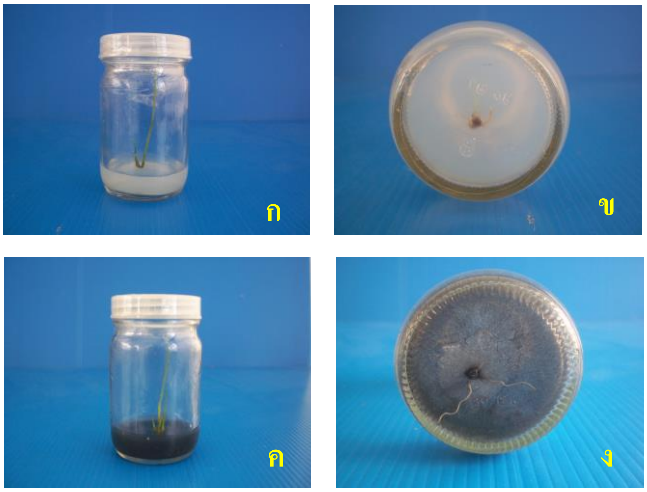

**รูปที่ 17** ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของดอกและลำต้นกระจูดเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์
ก. การเปลี่ยนแปลงของดอกกระจูดในที่มีแสงสว่าง
ข. การเปลี่ยนแปลงลำต้นกระจูดในที่มีแสงสว่าง

**7. การชักนำการเกิดราก**

การชักนำการเกิดรากจากหน่อกระจูดสูง 2 เซนติเมตร บนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือไม่เติมร่วมกับการเติมผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า จำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ยในอาหารสูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้งเติมและไม่เติมผงถ่านไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หน่อกระจูดมีแนวโน้มสร้างรากจำนวนมากที่สุดเฉลี่ย $1.90 \pm 0.74$ ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย $1.75 \pm 1.41$ เซนติเมตร บนอาหารสูตรที่เติมผงถ่าน (ตารางที่ 10 และรูปที่ 18) นอกจากนี้ยังพบว่า บนอาหารที่เติมผงถ่านมีการแตกหน่อใหม่ (เฉลี่ย $3.52 \pm 0.46$ หน่อ) มากกว่าบนอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน (เฉลี่ย $2.28 \pm 0.73$ หน่อ)

ตารางที่ 10 จำนวนและความยาวรากเฉลี่ยที่ชักนำการเกิดรากบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (PGR-free) และที่ไม่เติมและเติมผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ (PGR-free + AC 0.1%)

| อาหารสูตร MS | จำนวนรากเฉลี่ย (ราก) | | ความยาวรากเฉลี่ย (ซ.ม.) | |
|---|---|---|---|---|
| | $\bar{x}$ | t | $\bar{x}$ | t |
| PGR-free | 1.70±0.67 | $0.633^{ns}$ | 1.13±0.25 | $0.137^{ns}$ |
| PGR-free + AC (0.1%) | 1.90±0.74 | | 1.75±1.41 | |




**รูปที่ 18** การชักนำการเกิดรากบนอาหารสูตร MS
ก.- ข. ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช
ค.- ง. ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ร่วมกับการเติมผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์

**8. การปรับสภาพพืชและย้ายปลูกลงดิน**

จากการปรับสภาพต้นกระจูดที่มีรากอย่างน้อยจำนวน 2 ราก โดยปลูกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทรายหยาบ ขุยมะพร้าว และขี้เถ้าแกลบอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายปลูกในกระถางที่มีทรายหยาบ ดินลูกรัง และมูลโค อัตราส่วน 2 : 1 : 1 ในสภาพที่ชุ่มน้ำเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ต้นกระจูดรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และต้นกระจูดมีการแตกหน่อใหม่เฉลี่ย 2.50 ± 0.71 หน่อ (รูปที่ 19)


**รูปที่ 19** การปรับสภาพต้นกระจูดจากการเพาะเลี้ยงและย้ายปลูกลงดิน
ก.- ข. การปรับสภาพต้นกระจูด
ค.- ง. ปลูกลงดินในกระถาง

## 2. ผลการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต

### 2.1 การเก็บรักษาหน่อกระจูดในอาหารที่เติมสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต

ผลการศึกษาการเก็บรักษาหน่อกระจูดในอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และร่วมกับการเติมแมนนิทอล (MAN) หรือซอร์บิทอล (SB) ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ หรือพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน มีรายละเอียดต่อไปนี้

#### 2.1.1 ผลของความเข้มข้นของ BA

ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนหน่อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูงของหน่อ (ตารางผนวกที่ 12 และ 13) โดย BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 15.78 ± 7.17 หน่อ มากกว่าความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 10.53 ± 4.63 หน่อ (ตารางที่ 11) ด้านความสูงของหน่อกระจูด พบว่า ในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หน่อมีความสูงเฉลี่ย 4.59 ± 2.21 และ 4.63 ± 2.08 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

#### 2.1.2 ผลของการใช้สารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช

สารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 3 ชนิด มีผลต่อจำนวนและความสูงของหน่อกระจูดแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ 12 และ 13)

ตารางที่ 11 จำนวนหน่อเฉลี่ยจากการเก็บรักษาหน่อกระจูดบนอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกันร่วมกับการไม่เติมและเติมสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช 3 ชนิดที่มีความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน

| ความเข้มของ BA (มก./ล.) / สูตรอาหาร | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ)[1/] | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 3 | ค่าเฉลี่ย |
| ½ MS | 7.25±1.70 ijkl | 16.25±3.86 d | 11.75±6.36 de |
| ½ MS + MAN (1 %) | 10.50±2.51 fgh | 13.50±1.29 efg | 12.00±2.12 d |
| ½ MS + MAN (3 %) | 7.00±0.81 jkl | 10.50±1.00 fgh | 8.75±2.47 fg |
| ½ MS + MAN (5 %) | 5.50±1.29 l | 8.50±1.91 hijkl | 7.00±2.12 g |
| ½ MS + SB (1 %) | 10.25±1.26 ghi | 9.50±2.89 hijk | 9.88±0.53 def |
| ½ MS + SB (3 %) | 9.50±289 hijk | 10.00±1.41 ghij | 9.75±0.35 ef |
| ½ MS + SB (5 %) | 6.50±1.73 kl | 14.25±1.50 de | 10.38±5.48 def |
| ½ MS + PBZ (1 มก./ล.) | 19.75±1.26 c | 30.00±2.16 a | 24.88±7.25 a |
| ½ MS + PBZ (3 มก./ล.) | 16.00±0.82 de | 24.25±2.22 b | 20.13±5.48 b |
| ½ MS + PBZ (5 มก./ล.) | 13.00±1.15 efg | 21.00±3.16 c | 17.00±5.66 c |
| ค่าเฉลี่ย[2/] | 10.53±4.63 b | 15.78±7.17 a | 13.15±6.87 |
| F-test ความเข้มข้น BA | | ** | |
| F-test สูตรอาหาร | | ** | |
| F-test ความเข้มข้น BA × สูตรอาหาร | | ** | |
| $LSD_{.05}$ ความเข้มข้น BA | | 2.22 | |
| $LSD_{.05}$ สูตรอาหาร | | 3.14 | |
| $LSD_{.05}$ ความเข้มข้น BA × สูตรอาหาร | | 0.99 | |
| C.V. (%) | | 16.90 | |

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

[1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

กล่าวคือ การเติมพาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้นให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากกว่าการไม่เติมและการเติมแมนนิทอลและซอร์บิทอลทุกความเข้มข้น เมื่อพิจารณาเฉพาะพาโคลบิวทราโซล พบว่าบนอาหารที่เติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากที่สุด 24.88 ± 7.25 หน่อ รองลงมา คือ ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 20.13 ± 5.48 และ 17.00 ± 5.66 หน่อ แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11) ด้านความสูงของหน่อ พบว่า การเติมพาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้นให้หน่อที่มีความสูงเฉลี่ยน้อยกว่าการไม่เติมและการเติมแมนนิทอลและซอร์บิทอลทุกความเข้มข้น เมื่อพิจารณาเฉพาะพาโคลบิวทราโซล พบว่าในอาหารที่เติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หน่อมีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.44 ± 0.18 เซนติเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่หน่อมีความสูงเฉลี่ย 1.81 ± 0.49 เซนติเมตร แต่แตกต่างกันทางสถิติกับที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่หน่อมีความสูงเฉลี่ย 2.38 ± 0.06 เซนติเมตร (ตารางที่ 12)

ลักษณะของหน่อที่สร้างใหม่บนอาหารที่เติมแมนนิทอลและซอร์บิทอลมีความสูงและสีเขียวตามปกติเช่นเดียวกับหน่อที่เจริญบนอาหารที่ไม่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช หน่อที่เจริญบนอาหารที่เติมแมนนิทอลหรือซอร์บิทอลมีสีเขียวอ่อนกว่า และบนอาหารที่มีพาโคลบิวทราโซลหน่อมีลักษณะหดสั้น โค้งงอ สีเขียวเข้ม พาโคลบิวทราโซลที่ความเข้มข้นสูงมีผลทำให้เกิดสีน้ำตาลตรงส่วนปลายลำต้นของหน่อเริ่มต้นเช่นเดียวกับแมนนิทอลที่ความเข้มข้นสูง (รูปที่ 20)

**2.1.3 ผลของปฏิกิริยาระหว่างความเข้มข้นของ BA และสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช**

อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของ BA และการเติมและไม่เติมสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อจำนวนหน่อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูง (ตารางที่ 11 และ 12 ตารางภาคผนวกที่ 12 และ 13) โดย BA ทั้งสองความเข้มข้นร่วมกับพาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้นให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากที่สุดและหน่อมีความสูงน้อยที่สุด พิจารณาเฉพาะพาโคลบิวทราโซล พบว่า โดยรวมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อและความสูงเฉลี่ยมากที่สุด 24.88 ± 7.25 หน่อ และ 2.38 ± 0.06 เซนติเมตร รองลงมาคือ ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 20.13 ± 5.48 และ 17.00 ± 5.66 หน่อ ความสูงเฉลี่ย 1.81 ± 0.49 และ 1.44 ± 0.18 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการใช้ร่วมกับ BA พบว่า ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรให้จำนวนหน่อและความสูงเฉลี่ยมากกว่าความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พิจารณาเฉพาะแมนนิทอล พบว่า โดยรวมแมนนิทอลความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อและความสูงเฉลี่ยมากที่สุด

ตารางที่ 12 ความสูงเฉลี่ยของหน่อจากการเก็บรักษาหน่อกระจูดบนอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกันร่วมกับไม่เติมและเติมสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน

| ความเข้มของ BA (มก./ล.) / สูตรอาหาร | ความสูงเฉลี่ย (ซ.ม.) | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 3 | ค่าเฉลี่ย |
| ½ MS | 7.89±0.61 | 8.38±0.33 | 8.13±0.35 [a] |
| ½ MS + MAN (1 %) | 6.61±0.33 | 6.35±0.20 | 6.48±0.18 [b] |
| ½ MS + MAN (3 %) | 5.69±0.42 | 5.37±0.67 | 5.54±0.23 [c] |
| ½ MS + MAN (5 %) | 5.09±0.24 | 4.81±0.45 | 4.95±0.19 [de] |
| ½ MS + SB (1 %) | 5.99±0.82 | 5.59±0.52 | 5.79±0.28 [c] |
| ½ MS + SB (3 %) | 5.02±0.60 | 5.03±0.29 | 5.03±0.01 [d] |
| ½ MS + SB (5 %) | 4.57±0.26 | 4.63±0.22 | 4.59±0.04 [e] |
| ½ MS + PBZ (1 มก./ล.) | 2.34±0.52 | 2.43±0.29 | 2.38±0.06 [f] |
| ½ MS + PBZ (3 มก./ล.) | 1.46 ±0.32 | 2.16±0.16 | 1.81±0.49 [g] |
| ½ MS + PBZ (5 มก./ล.) | 1.31±0.15 | 1.56±0.39 | 1.44±0.18 [g] |
| ค่าเฉลี่ย | 4.59±2.21 | 4.63±2.08 | 4.61±2.14 |
| F-test ความเข้มข้น BA | | ns | |
| F-test สูตรอาหาร | | ** | |
| F-test ความเข้มข้น BA × สูตรอาหาร | | ns | |
| $LSD_{.05}$ สูตรอาหาร | | 0.43 | |
| C.V. (%) | | 9.31 | |

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

12.00 ± 2.12 หน่อ และ 6.48 ± 0.18 เซนติเมตร รองลงมาคือ ความเข้มข้น 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 8.75 ± 2.47 และ 7.00 ± 2.12 หน่อ ความสูงเฉลี่ย 5.54 ± 0.23 และ 4.95 ± 0.19 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการใช้ร่วมกับ BA พบว่า ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อและความสูงเฉลี่ยมากกว่าความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และพิจารณาเฉพาะซอร์บิทอล พบว่า โดยรวมซอร์บิทอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากที่สุด 10.38 ± 5.48 หน่อ รองลงมาคือ ความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 9.88 ± 0.53 และ 9.75 ± 0.35 หน่อ ตามลำดับด้านความสูง พบว่า ซอร์บิทอลความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ความสูงเฉลี่ยมากที่สุด 5.79 ± 0.28 เซนติเมตร รองลงมาคือ ความเข้มข้น 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ความสูงเฉลี่ย 5.03 ± 0.01 และ 4.59 ± 0.04 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการใช้ร่วมกับ BA พบว่า ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรให้จำนวนหน่อและความสูงเฉลี่ยมากกว่าความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้น BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับซอร์บิทอล ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากกว่าความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 10.25 ± 1.26 และ 9.50 ± 2.89 หน่อ ตามลำดับ

เมื่อนำหน่อกระจูดสูง 1 เซนติเมตร อายุการเก็บรักษา 6 เดือน บนอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PBZ ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ PBZ มีผลต่อจำนวนหน่อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูง โดยหน่อกระจูดที่เก็บรักษาในอาหารที่เติม PBZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อมากที่สุดเฉลี่ย 6.75 ± 0.96 หน่อ และหน่อมีความสูงเฉลี่ย 4.51 ± 1.71 เซนติเมตร หน่อกระจูดที่ได้มีความสูงเป็นไปตามลักษณะปกติ (ตารางที่ 13 ตารางภาคผนวกที่ 14 และ 15 และรูปที่ 21)


**รูปที่ 20** การเก็บรักษาหน่อกระจูดบนอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตรเดียวกันเติมแมนนิทอล (MAN) ซอร์บิทอล (SB) ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) พาโคลบิวทราโซล (PBZ) ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก. BA (1)

ข. BA (1) + MAN (1, 3 และ 5)

ค. BA (1) + SB (1, 3 และ 5)

ง. BA (1) + PBZ (1, 3 และ 5)

จ. BA (3)

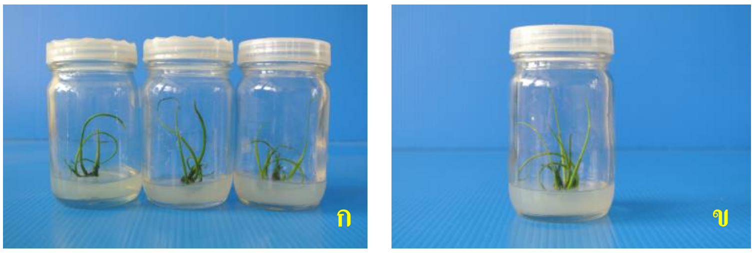
ฉ. BA (3) + MAN (1, 3 และ 5)

ช. BA (3) + SB (1, 3 และ 5)

ซ. BA (3) + PBZ (1, 3 และ 5)

ตารางที่ 13 จำนวนและความสูงเฉลี่ยของหน่อกระจูดที่ได้จากการนำหน่อกระจูดที่เก็บรักษาบนอาหารที่เติม PBZ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| ความเข้มข้น (มก./ล.) | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ) | ความสูงเฉลี่ย (ซ.ม.) |
|---|---|---|
| PBZ (1) | 4.00±1.15 b | 4.41±0.57 |
| PBZ (3) | 4.75±0.50 b | 4.61±1.99 |
| PBZ (5) | 6.75±0.96 a | 4.51±1.71 |
| F-test | ** | ns |
| $LSD_{.05}$ | 1.46 | - |
| C.V. (%) | 20.29 | 21.23 |




**รูปที่ 21** หน่อกระจูดที่เก็บรักษาบนอาหารที่เติม PBZ เป็นเวลา 6 เดือน มีการสร้างหน่อใหม่เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ก. หน่อกระจูดที่มาจากอาหารที่เติม PBZ ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ข. หน่อกระจูดที่มาจากอาหารที่เติม PBZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 10 สัปดาห์

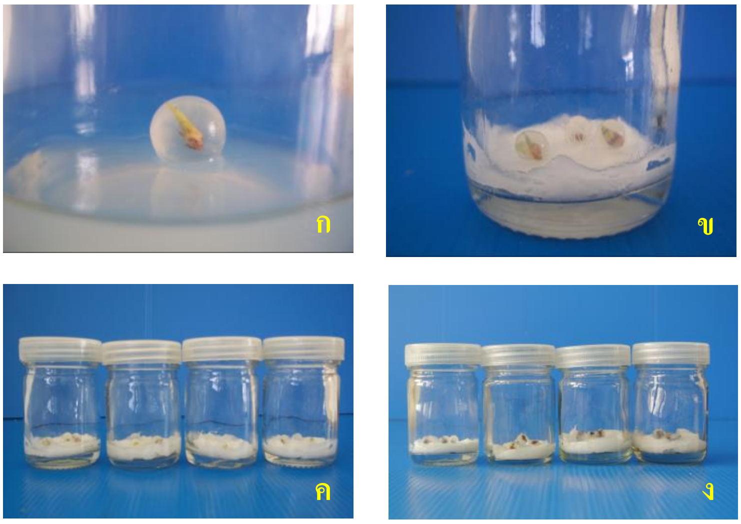
**2.2 การเก็บรักษาหน่อกระจูดโดยใช้เทคนิคการผลิตเมล็ดเทียม**

เก็บรักษาเมล็ดเทียมกระจูดในอาหารสูตร MS และอาหารสูตรเดียวกันที่เติม PBZ ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน และ 6 เดือน แล้วนำเมล็ดเทียมนั้นมาชักนำการเกิดใหม่ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อกระจูดในเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารทุกสูตรอายุ 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าที่อายุ 6 เดือน โดยหน่อกระจูดที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS มีการงอกมาก

ที่สุดที่อายุเก็บรักษา 3 และ 6 เดือน คือ 66.67 ± 0.49 และ 26.67 ± 0.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ หน่อกระจูดที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม PBZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่หน่อกระจูดที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม PBZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรอายุ 6 เดือน มีการงอก 0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 14 และรูปที่ 22)

<u>ตารางที่ 14</u> การงอกของเมล็ดเทียมอายุ 3 และ 6 เดือน หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| สูตรอาหาร | 3 เดือน | | | 6 เดือน | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวนเมล็ดทั้งหมด (เมล็ด) | จำนวนเมล็ดที่งอก (เมล็ด) | การงอก (เปอร์เซ็นต์) | จำนวนเมล็ดทั้งหมด (เมล็ด) | จำนวนเมล็ดที่งอก (เมล็ด) | การงอก (เปอร์เซ็นต์) |
| MS | 15 | 10 | 66.67±0.49 | 15 | 4 | 26.67±0.46 |
| MS + PBZ (1 มก./ล.) | 15 | 4 | 26.67±0.46 | 15 | 2 | 13.33±0.35 |
| MS + PBZ (3 มก./ล.) | 15 | 2 | 13.33±0.35 | 15 | 1 | 6.67±0.26 |
| MS + PBZ (5 มก./ล.) | 15 | 2 | 13.33±0.35 | 15 | 0 | 0.00 |

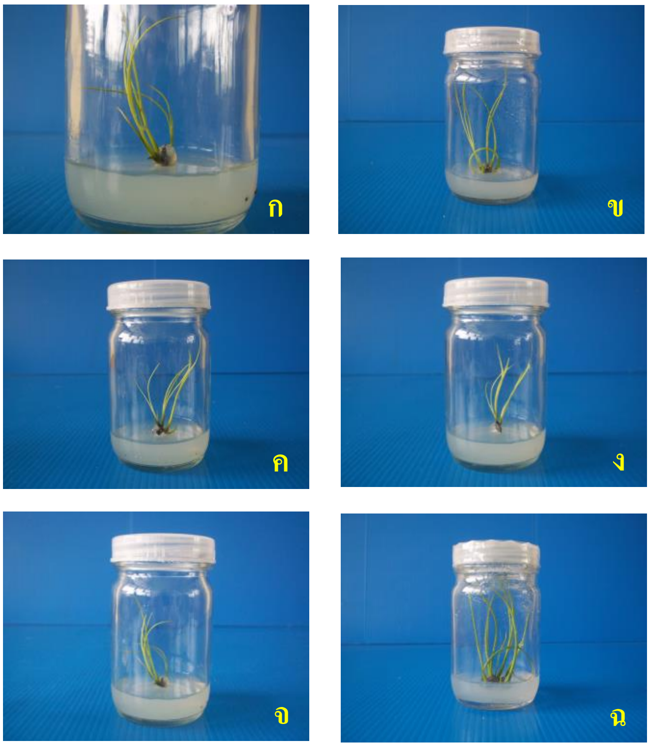



**รูปที่ 22** การเก็บรักษาเมล็ดเทียมกระจูดที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS และอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ก.-ข. ลักษณะเมล็ดเทียมกระจูด
ค. เมล็ดเทียมกระจูดที่เก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน
ง. เมล็ดเทียมกระจูดที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน

เมื่อนำเมล็ดเทียมกระจูดอายุ 3 เดือน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อกระจูดในเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารทุกสูตรหลังจากงอกมีการแตกหน่อใหม่ หน่อที่ได้มีการเจริญในลักษณะปกติ หน่อที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS ไม่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชมีจำนวนหน่อมากที่สุดเฉลี่ย 4.90 ± 1.10 หน่อ หน่อมีความสูงมากที่สุดเฉลี่ย 4.72 ± 0.39 เซนติเมตร (ตารางที่ 15 และรูปที่ 23)

<u>ตารางที่ 15</u> จำนวนและความสูงเฉลี่ยของหน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดเทียมอายุ 3 เดือน บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| สูตรอาหาร | จำนวนเมล็ด (เมล็ด) | จำนวนหน่อเฉลี่ย (หน่อ) | ความสูงเฉลี่ย (ซ.ม.) |
|---|---|---|---|
| MS | 10 | 4.90±1.10 | 4.72±0.39 |
| MS + PBZ (1 mg/L) | 4 | 4.25±0.50 | 4.15±0.13 |
| MS + PBZ (3 mg/L) | 2 | 4.00±0.00 | 4.10±0.14 |
| MS + PBZ (5 mg/L) | 2 | 4.00±0.00 | 4.15±0.07 |




**รูปที่ 23** การงอกของเมล็ดเทียมและสร้างหน่อใหม่บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ลักษณะการงอกของหน่อกระจูดจากเมล็ดเทียม

ข. การงอกจากเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS

ค. การงอกจากเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. การงอกจากเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. การงอกจากเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฉ. ต้นกระจูดจากเมล็ดเทียมหลังเพาะเลี้ยง 10 สัปดาห์

**3. ผลการสนทนากลุ่มเรื่องแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

ผลการสนทนากลุ่มเรื่องแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีผู้แทนประชาชนจากหมู่ที่ 1, 3, 9 และ 11 ผู้ใหญ่บ้านจากหมู่ที่ 1, 3, 9 และ 11 ผู้แทนครู และผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง จำนวน 23 คนเมื่อวันที่ 8 ตุลาคม พ.ศ. 2556 เวลา 13.00-16.00 น. มีประเด็นคำถามในการสนทนากลุ่ม ดังนี้

3.1 ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลงเนื่องจากสาเหตุใด

3.2 วิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนและแนวคิดในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดเป็นอย่างไร

3.3 ความคิดเห็นเกี่ยวกับผลงานวิจัยและแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยาย-พันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอย่างไร

3.4 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนเป็นอย่างไร

จากผลการสนทนากลุ่มสามารถสรุปตามประเด็นต่าง ๆ ได้ดังนี้

**3.1 สาเหตุที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลง**

ผู้ให้ข้อมูลหลัก ซึ่งประกอบด้วยประชาชน เจ้าหน้าที่ และครู ได้แสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับสาเหตุที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลงเรียงลำดับความสำคัญ สรุปดังนี้

1) พื้นที่ป่าพรุถูกบุกรุกเพื่อยึดครองที่ดินนำไปปลูกพืชเศรษฐกิจอื่นที่สำคัญ คือ ยางพารา และปาล์มน้ำมัน โดยเฉพาะการบุกรุกจากกลุ่มนายทุน ซึ่งจัดเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้กระจูดมีปริมาณลดลง เพราะมีผลทำให้พื้นที่ที่เป็นแหล่งกระจูดตามธรรมชาติลดลง ผู้แทนประชาชนหมู่ที่ 3 เสนอคำพูดที่พูดกันมากในปัจจุบันว่า “ไฟมาป่าพรุอยู่ แบคโฮมาป่าพรุหมด” นอกจากนี้นายทุนบางรายสร้างรั้วกั้นอาณาเขตพื้นที่ที่ครอบครอง ทำให้ชาวบ้านไม่สามารถเข้าในพื้นที่เพื่อตัดกระจูด หรือหาปลาได้ แม้กระทั่งถ่อเรือผ่านพื้นที่นั้น ๆ ก็ไม่สามารถทำได้ ปัจจัยที่ส่งเสริมการบุกรุกพื้นที่เพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน เช่น โครงการปรับปรุงและพัฒนาพื้นที่ดินเปรี้ยวจัดเพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน และโครงการเปลี่ยนนาร้างเป็นนาปาล์ม

2) การตัดกระจูดโดยใช้เคียวทำให้กระจูดบริเวณที่ถูกตัดไม่งอกใหม่ หรือถ้างอกก็จะเจริญเติบโตช้า ผู้ใหญ่บ้านหมู่ที่ 11 ให้ข้อคิดเห็นว่า การตัดที่ถูกต้องควรเลือกตัดเฉพาะกระจูดที่เจริญเติบโตเต็มที่ หากไม่เลือกตัดก็ควรตัดเป็นหย่อมเว้นหย่อม หลังจากนั้นประมาณ 1 ปี กระจูดจะงอกใหม่เต็มพื้นที่ นอกจากนี้ ยังพบเห็นวิธีการเก็บกระจูดโดยการขุด ผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งมองว่า เหตุผลที่ทำให้มีการตัดกระจูดเป็นเพราะพื้นดินในอดีตนั้นอ่อนนุ่มทำให้ถอนกระจูดได้ง่าย แต่ปัจจุบันดินเริ่มแข็งทำให้การถอนกระจูดทำได้ยากลำบาก จึงหันมาใช้วิธีการตัดแทน ผู้แทนประชาชนหมู่ที่ 3 กล่าวว่าปัจจุบันมีวิธีการเก็บกระจูดแบบใหม่ที่เริ่มพบเห็นในตำบลเคร็ง คือ การตัดกระจูดโดยใช้เครื่องตัดหญ้าแบบสะพายหลัง ซึ่งถือว่าเป็นการใช้กระจูดแบบทำลายล้าง เพราะการตัดวิธีนี้เป็นการทำลายกระจูดต้นอ่อนและต้นเล็ก ๆ ที่ยังไม่ได้ขนาดตามความต้องการของตลาดมากกว่าการตัดด้วยเคียวหรือการขุด วิธีการตัดกระจูดด้วยเครื่องตัดหญ้าแบบสะพายหลังนี้ สร้างความประหลาดใจให้กับผู้ร่วมสนทนากลุ่มคนอื่น ๆ ที่ไม่เคยทราบมาก่อน แต่ผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งกล่าวสนับสนุนว่าขณะนี้มีการใช้วิธีนี้จริง ๆ และขอความร่วมให้ช่วยกันสอดส่องดูแลด้วย

3) ตลาดมีความต้องการผลิตภัณฑ์กระจูดมาก ทำให้ความต้องการต้นกระจูดซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์กระจูดมากตามไปด้วย กระจูดที่ตำบลเคร็ง 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์กระจูดภายในตำบล ส่วนอีก 50 เปอร์เซ็นต์ หรือวันละประมาณ 4 คันรถกระบะส่งไปจำหน่ายที่ตำบลทะเลน้อย อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง

4) ค่าครองชีพที่สูงขึ้นร่วมกับการเปลี่ยนแปลงวิถีชีวิตของคนตำบลเคร็งจากแบบพอมีพอกินในอดีตมาเป็นวิถีชีวิตแบบคนเมืองที่เกินความพอเพียง ผู้แทนครูกล่าวว่าตั้งแต่มีการเปิดเมือง มีถนนลาดยางเข้ามาในตำบล คนตำบลเคร็งมีการใช้สอยอย่างเกินความจำเป็น คนสูงวัยที่คิดวิเคราะห์เป็นนั้นไม่มีปัญหา แต่เด็ก ๆ ใช้จ่ายอย่างฟุ่มเฟือยตามกระแสทุนนิยม พ่อแม่ให้เงินลูกมาโรงเรียนวันละ 20 บาทเหมือนเมื่อก่อนไม่ได้แล้วเพราะเด็กใช้จ่ายไม่เพียงพอ จะเห็นได้จากเมื่อครั้งที่นำนักเรียนไปทัศนศึกษา พอรถจอดเด็ก ๆ ถือธนบัตรใบละห้าร้อย เดินเข้าร้านเซเว่นเอเลฟเว่นซื้อของกินกันคนละเป็นร้อยบาท ที่เป็นเช่นนี้ครูมองว่าเป็นเพราะผู้ปกครองไม่อยากให้บุตรหลานของตนน้อยหน้าเพื่อน ๆ จึงทำให้ครอบครัวมีค่าใช้จ่ายในครัวเรือนเพิ่มสูงขึ้นส่งผลถึงทรัพยากรกระจูด กล่าวคือ จากที่เคยตัดกระจูดวันละ 10 กำในอดีต จึงไม่เพียงพอทำให้ต้องตัดกระจูดปริมาณมากขึ้น

5) การขุดคลองผ่านป่าพรุและการเกิดไฟไหม้ป่าพรุส่งผลกระทบไม่มากนักต่อการลดลงของปริมาณกระจูด กล่าวคือ มีผลกระทบประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ กรณีขุดคลองผ่านป่าพรุแม้ทำให้เสียพื้นที่ป่าพรุที่เป็นแหล่งกระจูดไปบางส่วน แต่ทำให้มีน้ำขังอยู่ในป่าพรุตลอดทั้งปี

ส่งผลให้กระจูดเจริญเติบโตงอกงามและให้ผลผลิตมาก กรณีไฟไหม้ป่าพรุผู้แทนประชาชนหมู่ที่ 3 ให้ความเห็นว่าเป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นเป็นประจำทุกปีมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน จนถือเป็นวิถีชีวิตของคนตำบลเคร็ง แต่ในอดีตข่าวสารไม่ได้แพร่สู่สังคมภายนอกอย่างรวดเร็วเหมือนปัจจุบัน และทุกคนมีความเห็นว่าการเกิดไฟไหม้ป่าพรุก่อให้เกิดผลดีเนื่องจากหลังจากไฟไหม้ป่าพรุประมาณ 1-2 ปี กระจูดจะเจริญเติบโตงอกงาม หากปีใดไม่มีไฟไหม้และไม่มีน้ำท่วมขังในป่าพรุปีนั้นกระจูดจะไม่เจริญเติบโตงอกงาม กระจูดจะมีลำต้นส่วนปลายเรียวไม่สวย สำหรับการลักลอบเผาป่าเพื่อล่าสัตว์ เช่น เต่า ปัจจุบันไม่มีการลักลอบเผาป่าเพื่อล่าสัตว์ เนื่องจากสัตว์ในป่าพรุลดลงจำนวนมากจนแทบไม่มีให้พบเห็น สำหรับสาเหตุจากความขัดแย้งในการใช้ประโยชน์จากที่ดิน เริ่มมีมาประมาณ พ.ศ. 2540 เป็นต้นมา หรือตั้งแต่เริ่มกำหนดเป็นเขตห้ามล่าสัตว์ป่าทะเลน้อย คนในตำบลเคร็งถูกจำกัดสิทธิในการใช้ประโยชน์จากที่ดิน จนไม่สามารถเข้าไปจับจองพื้นที่เพื่อปลูกกระจูดในแหล่งธรรมชาติ ซึ่งเริ่มจากการถางต้นเสม็ด รื้อขอนไม้เอาไปกองรวมเป็นหย่อม ๆ แล้วปลูกกระจูด เพราะผิดกฎหมาย

**3.2 วิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนและแนวคิดในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด**

ผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งแสดงความคิดเห็นว่า กระจูดเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของตำบลเคร็ง มีความผูกพันกับวิถีชีวิตและวัฒนธรรมของคนตำบลเคร็ง ตั้งแต่แรกเกิดจนตาย กล่าวคือ เมื่อเกิดก็ใช้กระจูดสานเป็นกระสอบนั่ง แล้วนำเด็กวางลงในกระสอบเพื่อเป็นการป้องกันภัยอันตรายต่าง ๆ พอเด็กโตขึ้นก็เริ่มฝึกให้สานกระจูดเป็นเสื่อ กระสอบหนาด กระสอบนั่ง เมื่อตายก็จะนำเสื่อมารองศพแล้วบรรจุลงในโลงศพ จึงเห็นได้ว่า กระจูดนั้นมีคุณค่า มีความสำคัญ และมีประโยชน์อย่างมากทั้งทางเศรษฐกิจและการให้บริการชีวิต จึงจำเป็นต้องทำการเก็บรักษาพันธุ์กระจูด เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการเตรียมการแก้ไขปัญหาการขาดแคลนทรัพยากรกระจูดในอนาคต แต่ปัจจุบันตำบลเคร็งยังไม่มีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดตามวิธีที่ผู้วิจัยให้ความรู้ คือ การเก็บรักษาในลักษณะพืชปลูกหรือนำมาปลูกในแปลงปลูก การเก็บรักษาในลักษณะส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์ เช่น เมล็ด และการเก็บรักษาโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในอดีตมีการขยายพันธุ์กระจูดโดยนำกระจูดไปปลูกในพื้นที่ว่างในป่าพรุเพื่อจับจองพื้นที่ โดยการถางต้นเสม็ด รื้อขอนไม้ที่มีอยู่เดิม เอาไปกองไว้เป็นหย่อม ๆ แล้วจึงปลูกกระจูด และคนที่ปลูกกระจูดจะเป็นเจ้าของดงกระจูดนั้น เจ้าของดงกระจูดจะถอนกระจูดเพื่อนำไปใช้ในครัวเรือน หรือมีผู้มาประมูล และผู้ที่ประมูลได้จะถอนกระจูดได้ตลอดทั้งปี เมื่อครบรอบปีก็จะมีการประมูลใหม่ แต่เมื่อมีการประกาศเขตห้ามล่าสัตว์ป่าทะเลน้อย คนตำบลเคร็งไม่กล้าที่จะเข้าไปปลูกกระจูดในป่าพรุเพราะกลัวผิดกฎหมาย ผู้แทนประชาชนหมู่ 11 กล่าวว่า เคยเห็นกระจูดหน่อเล็ก ๆ อยู่เป็นกระจุก

คล้ายกับต้นกระจูดในขวดเพาะเลี้ยงที่นำมาเป็นตัวอย่างลอยมากับน้ำ และคิดว่าหน่อกระจูดเหล่านี้ลอยไปถึงที่ใดก็คงจะงอกบริเวณนั้น

ผู้แทนครูแสดงความคิดเห็นว่า เมื่อได้ดูสไลด์แสดงผลงานวิจัยการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทำให้คิดได้ว่า คนในท้องถิ่นที่มีวิถีชีวิตผูกพันอยู่กับกระจูด ขาดความตระหนัก ขาดการคิดวิเคราะห์ในการใช้ทรัพยากรกระจูด และคิดว่าเป็นไปไม่ได้ที่กระจูดจะหมดไปจากป่าพรุ ขณะที่คนนอกพื้นที่ให้ความสนใจในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ตนเชื่อว่ามีความเป็นไปได้ที่กระจูดอาจหมดไปในอนาคต ผู้เข้าร่วมสนทนากลุ่มจึงได้ร่วมกันเสนอแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด สรุปได้ดังนี้

1) จัดทำแปลงอนุรักษ์กระจูดในป่าพรุที่เป็นสาธารณะหรือเป็นพื้นที่สงวนตรงบริเวณสร้างสะพานการท่องเที่ยวซึ่งมีพื้นที่อยู่ในหมู่ที่ 3 และ 11 แล้วปลูกต้นเสม็ดล้อมไว้ ปักป้ายแสดงเป็นแปลงอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของตำบลเคร็ง จัดทำป้ายนิเทศให้ความรู้เกี่ยวกับกระจูด จัดให้มีหน่วยงานมาร่วมมาดูแล และในวันสำคัญต่าง ๆ จะนำนักเรียนมาร่วมกันปลูกกระจูดในแปลงนี้ไว้สำหรับการขยายพันธุ์ต่อไปในพื้นที่ป่าพรุ

2) องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง จะจัดทำโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด โดยจะนำกระจูดมาปลูกในวงบ่อซิเมนต์บริเวณองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง มีป้ายนิเทศแสดงชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ และป้ายแสดงความรู้ต่าง ๆ เกี่ยวกับลักษณะพฤกษศาสตร์ ความสำคัญ และการใช้ประโยชน์จากกระจูด เป็นต้น

3) โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา ซึ่งดำเนินการงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน ซึ่งเป็นกิจกรรมหนึ่งในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี และโรงเรียนได้เลือกกระจูดเป็นพืชศึกษา จะดำเนินกิจกรรมเก็บรวบรวมพันธุกรรมพืชและกิจกรรมปลูกรักษาพันธุกรรมพืช เพื่อเป็นแหล่งศึกษาดูงาน ขยายผลไปสู่โรงเรียนอื่น ๆ ตลอดจนเป็นวิทยากรถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ให้ชุมชน

**3.3 ความคิดเห็นเกี่ยวกับผลงานวิจัยและแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

ผู้แทนครูและผู้แทนประชาชนหมู่ที่ 3 แสดงความคิดเห็นตรงกันว่า คนในพื้นที่ซึ่งอยู่ในแหล่งธรรมชาติของทรัพยากรกระจูดนั้นคาดการณ์ผิดเนื่องจากเห็นว่ากระจูดมีปริมาณมาก จึงไม่ตระหนักในคุณค่าของกระจูดเท่าที่ควร แต่ในอนาคตกระจูดอาจหมดไปจากป่าพรุ ดังนั้นการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นวิธีการที่สำคัญมาก สอดคล้องกับความคิดเห็นของกลุ่มผู้ใหญ่บ้านที่เห็นว่าการอนุรักษ์พันธุกรรม

โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นสิ่งที่ดีมาก ถ้าคิดว่าในอนาคตข้างหน้าเกิดการเปลี่ยนแปลงแหล่งกระจูดตามธรรมชาติจากการบุกรุกพื้นที่เพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน กระจูดก็คงจะสูญพันธุ์ไป ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระจูดอาจทำให้มีพันธุ์กระจูดสำรองไว้ใช้ยามขาดแคลนหรือเมื่อกระจูดใกล้จะสูญพันธุ์

สำหรับแนวความคิดที่ชุมชนจะนำผลการวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ ผู้แทนครูให้ความคิดเห็นว่า โรงเรียนสามารถนำผลงานวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการเรียนการสอนโดยบูรณาการเข้ากับหลักสูตรท้องถิ่น ซึ่งปัจจุบันโรงเรียนเปิดหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น ที่เกี่ยวกับกระจูดอยู่จำนวน 2 รายวิชา คือ งานผลิตภัณฑ์กระจูด 1 และงานผลิตภัณฑ์กระจูด 2 ซึ่งเป็นรายวิชาเพิ่มเติมให้กับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 3 เนื่องจากพบว่านักเรียนส่วนใหญ่สานกระจูดไม่เป็น มีนักเรียนเพียง 2 คนที่สานกระจูดลายสองได้ ในอนาคตเมื่อหมดสิ้นคนรุ่นอายุ 50 ปีขึ้นไปที่สานกระจูดเป็น ก็จะไม่มีคนสานกระจูดอีกต่อไป ดังนั้น จึงมีแนวคิดจะนำองค์ความรู้ จากผลการวิจัยนี้สร้างเป็นหน่วยการเรียนในรายวิชาดังกล่าว โดยอาจเพิ่มเป็นหน่วยการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด นอกจากนี้ ยังคิดว่าจะนำไปใช้ประโยชน์ในงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ซึ่งโรงเรียนกำหนดกระจูดเป็นพืชหลักที่ใช้ในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช โดยจะเก็บพันธุกรรมกระจูดในรูปเมล็ด ต้นกระจูดที่มีชีวิต และศึกษาวิจัยในการเก็บรักษาทั้งในรูปของเมล็ด ต้นพืชที่มีชีวิต หรือเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทางด้านผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเห็นว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นความรู้ใหม่ โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระจูด จึงเห็นด้วยกับความคิดเห็นของครู และจะใช้โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยาเป็นต้นแบบในการเรียนรู้ หากมีผู้สนใจอยากเรียนรู้เกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ก็สามารถไปเรียนรู้ได้ที่โรงเรียน และกล่าวยืนยันว่าการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีความจำเป็นมากที่ต้องเรียนรู้ และต้องอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดไว้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อชุมชนในอนาคต

**3.4 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชน**

ผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งเห็นว่า ปัจจุบันยังไม่มีหน่วยงานใดที่ทำหน้าที่รับผิดชอบอย่างชัดเจนเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด หน่วยงานที่มีอยู่ทำหน้าที่เพียงให้การสนับสนุนส่งเสริมด้านการทำผลิตภัณฑ์กระจูด เช่น สำนักงานพัฒนาชุมชน สำนักงานเกษตรอำเภอ จึงเสนอว่า องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งต้องคิดหาวิธีการให้หน่วยงานต่าง ๆ ที่รับผิดชอบได้รับรู้ว่าชุมชนได้รวมตัวกันเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด และต้องให้หน่วยงาน

ระดับสูง ๆ ขึ้นไปจนถึงหน่วยงานระดับประเทศให้การสนับสนุนการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชน

ผู้แทนประชาชนจากหมู่ที่ 3 กล่าวว่าเดิมจังหวัดนครศรีธรรมราชมีชื่อเสียงด้านเครื่องถมสามกษัตริย์ ต่อมาคือ ผลิตภัณฑ์กระจูด ซึ่งเป็นสินค้าที่มีมาตรฐานไปทั่วโลก จังหวัดนครศรีธรรมราชมีความเกี่ยวข้องกับลุ่มน้ำสองลุ่มน้ำ คือ ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลาและลุ่มน้ำปากพนัง และจากผลงานวิจัยของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์พบว่า กระจูดที่ตำบลเคร็งมีความเหนียวเหมาะกับการทำผลิตภัณฑ์ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับกระจูดจากที่อื่น ๆ เช่น ที่พังงา จึงเสนอว่าน่าจะขอความช่วยเหลือด้านการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดจากโครงการพัฒนาพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนังอันเนื่องมาจากพระราชดำริและโครงการพัฒนาลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา

ผู้แทนครูแสดงความคิดเห็นว่า หน่วยงานที่มีความเป็นไปได้ในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดเป็นอันดับแรกคือโรงเรียน จึงขอให้องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งให้ความช่วยเหลือในการขอสนับสนุนงบประมาณจากจังหวัดนครศรีธรรมราชในการดำเนินการจัดตั้งห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อใช้ในการจัดการเรียนการสอนหรือการดำเนินงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน ตลอดจนใช้ในการจัดทำแปลงอนุรักษ์กระจูดตรงบริเวณสร้างสะพานการท่องเที่ยวซึ่งอยู่หมู่ที่ 3 และหมู่ที่ 11 และสร้างความตระหนักและกระตุ้นให้ชุมชนมีส่วนร่วมในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งกล่าวว่า หากมีโอกาสองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็งจะของบประมาณสนับสนุนจากบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) และจะนำโรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยาเข้าร่วมโครงการด้วย สำหรับด้านการจัดทำหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น หน่วยการเรียนอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ผู้แทนครูจะขอความร่วมมือด้านองค์ความรู้จากผู้วิจัย

ในการจัดสนทนากลุ่มครั้งนี้ ผู้เข้าร่วมสนทนากลุ่มเห็นว่า เป็นการเริ่มต้นที่ดีที่ผู้แทนองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง ผู้แทนผู้ใหญ่บ้าน ผู้แทนประชาชน และผู้แทนครู ได้รับทราบความคิดจากบุคคลภายนอกชุมชนที่เห็นคุณค่า เห็นความสำคัญ และหวงแหนทรัพยากรกระจูดที่มีแนวโน้มลดลงจากการปัจจัยหลายประการดังที่กล่าวมาข้างต้น โดยศึกษาวิจัยการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นเทคโนโลยีขั้นสูงที่เป็นองค์ความรู้ใหม่ ที่ชุมชนไม่เคยรู้มาก่อน อีกทั้งเป็นครั้งแรกที่ผู้เข้าร่วมสนทนากลุ่มอันเป็นตัวแทนผู้มีส่วนได้เสียเกี่ยวกับทรัพยากรกระจูด ได้มาร่วมประชุมหาแนวทางอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดในลักษณะของการมีส่วนร่วม

# บทที่ 4

# บทวิจารณ์

## 1. การขยายพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

### 1.1 การฟอกฆ่าเชื้อดอก ผล และหน่อกระจูด

เก็บกระจูดในช่วงเดือนพฤษภาคม - มิถุนายน พ.ศ. 2555 จากพื้นที่พรุควนเคร็ง ตำบลเคร็ง อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งมีสภาพน้ำท่วมขัง การทำความสะอาดชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง ได้แก่ ดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ดอกแก่ที่ติดผลแล้ว และหน่อ การทำความสะอาดโดยนำมาล้างด้วยน้ำประปาร่วมกับน้ำยาล้างจานจนสะอาด ตัดเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการ สำหรับหน่อซึ่งฝังอยู่ใต้ดินสภาพมีน้ำท่วมขัง หลังจากล้างเอาสิ่งสกปรกออกแล้ว นำมาล้างในน้ำประปาที่กำลังไหลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชเริ่มด้วยการแช่ดอกหรือหน่อกระจูดในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ก่อนแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ที่มีความเข้มข้น จำนวนครั้งและระยะเวลาในการแช่ต่างกัน ขณะฟอกฆ่าเชื้อเติมทวีน-80 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า ดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที มีความปลอดเชื้อมากที่สุด 82.00 ± 1.30 เปอร์เซ็นต์ ผลกระจูดที่แกะออกจากการดอกแก่ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ผลกระจูดมีความปลอดเชื้อ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่หน่ออ่อนกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์จำนวนสองครั้ง ครั้งแรกใช้ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที และครั้งที่สองใช้ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ปลอดเชื้อ 72.50 ± 0.82 เปอร์เซ็นต์ เห็นได้ว่า ชิ้นส่วนดอก ผล และหน่อมีความปลอดเชื้อแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่อยู่ของชิ้นส่วนพืช โดยเฉพาะหน่อซึ่งฝังอยู่ในดินมีการสัมผัสกับเชื้อจุลินทรีย์มากมีความปลอดเชื้อน้อยที่สุด แม้จะเลือกใช้โซเดียมไฮโพคลอไรต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อมากที่สุดและนิยมใช้กันมากที่สุด ความเข้มข้นที่แนะนำ เช่น 2 เปอร์เซ็นต์ ที่เตรียมจากสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ระยะเวลาในการแช่ 5-30 นาที (Yeoman and Macleod, 1977 cited by Bhojwani and Razdan, 1996) การใช้

สารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้นสูงและใช้ระยะเวลานานมีผลทำให้เนื้อเยื่อตาย เห็นได้จากหน่อที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ จำนวนสองครั้ง คือ ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที และ 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที แม้จะให้ความปลอดเชื้อสูง แต่ให้หน่อที่ปลอดเชื้อตาย 72.41 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าหน่อกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์จำนวนสามครั้ง คือ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที มีความปลอดเชื้อ 55.00 ± 1.29 เปอร์เซ็นต์ แต่ให้หน่อที่ปลอดเชื้อตายเพียง 27.27 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้นสูงมีผลทำลายสมบัติของกรดอะมิโน (Kantouch and Ardel-Fattah, 1971) กรดนิวคลีอิก (Hayatsu *at al*., 1971) เอมีนและเอไมด์ (Bietz and Sandford, 1971)

การตัดแยกหน่อกระจูดหลังจากฟอกฆ่าเชื้อแต่ละครั้ง พบว่า มีการปล่อยสารสีน้ำตาล ซึ่งเป็นสารประกอบฟีโนล แม้จะล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อหลายครั้ง ก็ยังพบว่าระยะแรกของการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำการเกิดยอด หน่อกระจูดที่วางเลี้ยงยังคงปล่อยสารสีน้ำตาล สอดคล้องกับรายงานของ Jarret และคณะ (1985) และ Chinsuk และ Silayoi (2001) ว่าเมื่อพืชเกิดบาดแผลจะปล่อยสารประกอบฟีโนลออกมา และมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ตลอดจนยับยั้งการแบ่งเซลล์และการเพิ่มขนาดของเซลล์ (Noggle, 1983) ในการทดลองนี้ได้แก้ไขโดยการย้ายหน่อกระจูดไปวางเลี้ยงบนอาหารใหม่เป็นระยะ ๆ เพื่อลดการสร้างสารดังกล่าว

**1.2 การชักนำการเกิดหน่อจากการเพาะเลี้ยงดอก ผล และหน่อกระจูด**

การเพาะเลี้ยงดอกกระจูดที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ซึ่งตัดจากต้นกระจูดที่ขึ้นในสภาพธรรมชาติไม่สามารถชักนำการเกิดหน่อได้ ดอกมีการเปลี่ยนแปลงโดยดอกมีขนาดใหญ่ขึ้นและบานในเวลาต่อมา ดอกกระจูดภายในใบประดับที่มีความยาว 1 มิลลิเมตร ซึ่งตัดจากต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อ สามารถชักนำการเกิดหน่อใหม่จากการเพาะเลี้ยงได้ ในขณะที่ดอกกระจูดภายในใบประดับที่มีความยาว 2 มิลลิเมตร ไม่สามารถชักนำหน่อได้ ทั้งนี้เพราะดอกอ่อนกระจูดที่มีขนาดต่าง ๆ กันนั้นมีอายุหรือความแก่อ่อนต่างกัน กล่าวคือ ดอกขนาดใหญ่มีอายุมากกว่าดอกขนาดเล็ก ดอกขนาดเล็กซึ่งมีอายุน้อยมีความสามารถในสร้างหน่อใหม่ได้ดีกว่า เนื่องจากดอกภายในใบประดับที่มีความยาว 1 มิลลิเมตร ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญซึ่งเซลล์มีความสามารถในการแบ่งเซลล์สูง ในขณะที่ดอกขนาดใหญ่กว่านี้เนื้อเยื่อมีการแปรสภาพเป็นเนื้อเยื่อถาวรจึงตอบสนองต่อการสร้างเซลล์หรือเนื้อเยื่อใหม่ต่ำ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Yildiz และคณะ (2003) ที่เพาะเลี้ยงลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ของต้นกล้า *Linum usitatissimum* อายุ 7, 12 และ 17 วัน พบว่า ลำใต้ใบเลี้ยงที่ตัด

จากต้นกล้าอายุ 7 วัน เกิดกลุ่มยอดได้จำนวนมากที่สุดและมีจำนวนลดลงตามอายุของต้นกล้าที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีอายุมากมีความสามารถในการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ (regeneration capacity) ต่ำ เนื้อเยื่อยิ่งมีอายุมากความสามารถในการเกิดใหม่ยิ่งลดลง แตกต่างกับผลการทดลองของ Konar และ Nataraja (1969) ที่พบว่าความสามารถในการเกิดใหม่จากการเพาะเลี้ยงดอกของ *Ranunculus scelertus* L. เพิ่มขึ้นในช่วงระหว่างดอกบาน

การเพาะเลี้ยงผลกระจูดไม่สามารถชักนำการเกิดหน่อใหม่ได้ แต่ผลมีการเปลี่ยน-แปลงโดยเปลือกผลปริแตกเล็กน้อยพอสังเกตเห็นเมล็ดภายในมีสีเหลืองอ่อน แต่เมล็ดไม่มีการพัฒนาต่อไปแม้จะเพาะเลี้ยงไว้นานถึง 6 เดือน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมล็ดกระจูดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมาก สอดคล้องกับรายงานของ วัชนะ และกิตติพงษ์ (2549) ที่ไม่ประสบผลสำเร็จในขยายพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเมล็ดเนื่องจากเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมาก และ Sim (2003) ที่รายงานว่าเมล็ดมีอัตราการงอกช้า

สำหรับการชักนำการเกิดหน่อจากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูด พบว่า สามารถชักนำให้เกิดหน่อใหม่ได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนหน่อที่ได้มีจำนวนเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้น โดย BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากที่สุด สอดคล้องกับรายงานของ Sieler และคณะ (1997) ที่พบว่าจำนวนกลุ่มยอดของ *Caustis dioica* (Chinese Puzzle) มีจำนวนเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการทดลองนี้ไม่สามารถชักนำการเกิดหน่อได้บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือเติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างจากผลการทดลองของ Yildiz และ Ozgen (2004) ที่ชักนำการเกิดกลุ่มยอดจากการเพาะเลี้ยงลำต้นใต้ใบเลี้ยงของ *Linum usitatissimum* ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA เป็น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า หน่อกระจูดเริ่มมีการสร้างหน่อใหม่แต่มีปริมาณน้อยมาก สอดคล้องกับคำแนะนำของ Khosravi และคณะ (2007) ในการเพิ่มจำนวนของตาข้างหรือใบใหม่ต่อชิ้นส่วนพืชของ *Rosa hybrid* cv. Iceberg ในอาหารที่เติม BA และ NAA พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของ BA มีผลกระตุ้นอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ NAA นอกจากนี้ Rossetto และคณะ (1992) ยังพบว่า NAA เป็นออกซินที่มีผลทำให้จำนวนและขนาดของกลุ่มยอด Chinese Puzzle ลดลง การศึกษานี้พิสูจน์ให้เห็นว่าไซโทไคนินมี ความจำเป็นต่อการสร้างหน่อใหม่และการใช้ไซโทไคนินร่วมกับออกซิน

ในสัดส่วนที่ไม่เหมาะสมนั้นไม่สามารถชักนำให้เกิดหน่อใหม่ได้ สรุปได้ว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช รวมทั้งสัดส่วนของออกซินและไซโทไคนินที่เหมาะสม เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการแปรสภาพของเซลล์และการเกิดสัณฐานวิทยา เพื่อสร้างเนื้อเยื่อหรืออวัยวะใหม่ของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (George, 1993) และในการชักนำการเกิดหน่อใหม่จากการเพาะเลี้ยงหน่ออ่อนกระจูด มีความจำเป็นต้องใช้ BA ในความเข้มข้นที่เหมาะสม เช่นเดียวกับกับผลการทดลองในพืชอื่น ๆ (Vijaya *et al*.,1991; Al-Kaabi *et al*., nd.)

เมื่อนำหน่อกระจูดลำดับที่ต่างกันเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า หน่อทุกลำดับที่นำมาเพาะเลี้ยงสามารถเกิดหน่อใหม่ได้ และลำดับที่ของหน่อมีผลต่อการเกิดหน่อใหม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ การเพาะเลี้ยงหน่อที่ 1 และหน่อที่ 2 ที่เป็นหน่อเดี่ยว ๆ มีการเกิดหน่อใหม่ได้จำนวนน้อยกว่าหน่อที่ประกอบด้วยหน่อที่ 1 กับหน่อที่ 2 ที่อยู่ติดกัน เป็นเพราะหน่อกระจูดที่ตัดแยกเป็นหน่อเดี่ยว ๆ ไม่ว่าเป็นหน่อที่ 1 หรือหน่อที่ 2 นั้นมีขนาดเล็กกว่าหน่อกระจูดสองหน่อที่อยู่ติดกัน จึงมีข้อจำกัดในด้านปริมาณอาหารสะสม และฮอร์โมนที่สะสมอยู่ภายในเนื้อเยื่อ หน่อที่มีขนาดใหญ่มีการสะสมอาหารและฮอร์โมนมากกว่า จึงสร้างหน่อใหม่ได้จำนวนมากกว่าหน่อที่มีขนาดเล็ก นั่นคือ ความสามารถในการสร้างหน่อใหม่ของชิ้นส่วนพืชขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารและฮอร์โมนที่สะสมในชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นมากกว่าที่จะขึ้นอยู่กับธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในอาหารเพาะเลี้ยง (Pierik, 1987)

ในการเพิ่มปริมาณหน่อรวมของกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อ ในอาหารสูตร MS ที่เติมที่เติม KN ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติมน้ำมะพร้าว (CW) 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อจำนวนและความสูงของหน่อใหม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในอาหารที่เติม BA อย่างเดียวความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อใหม่เฉลี่ยมากที่สุด $4.08 \pm 0.83$ หน่อ และจำนวนหน่อใหม่เฉลี่ยลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับความสูงเฉลี่ยของหน่อพบว่าในอาหารที่เติม BA อย่างเดียวความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้หน่อมีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด $4.55 \pm 0.64$ เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ยลดลงเมื่อมีความเข้มของ BA เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของ BA ที่สูงขึ้น มีผลทำให้จำนวนหน่อใหม่และความสูงของหนอใหม่ลดลง สอดคล้องกับการทดลองในพืชชนิดอื่น ๆ เช่น *Sorghum bicotor* (Baskaran *et al*., 2005) หากพิจารณาผลการใช้ BA อย่างเดียว หรือ BA ร่วมกับน้ำมะพร้าว (CW) และ KN พบว่า BA สามารถชักนำให้เกิดหน่อใหม่ได้

ปริมาณมากกว่าการใช้ KN ทุกความเข้มข้น และเมื่อความเข้มข้นของ KN เพิ่มขึ้นส่งผลให้จำนวนหน่อใหม่ลดลง สอดคล้องกับผลการชักนำการเกิดยอดรวมจากการปลายยอดอินทผลัม (*Phoenix dactylifera*) ที่พบว่าการใช้ KN ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนตายอด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ BA และ 2iP โดย KN ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำยอดรวมสูงสุด 37 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับ BA ความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2iP ความเข้มข้น 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำยอดรวมสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ (Al-Kaabi *et al*., nd.) การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้ไซโทไคนินความเข้มข้นต่ำ (3 มิลลิกรัมต่อลิตร) และความเข้มข้นสูง (7 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทำให้ความสามารถในการเกิดหน่อใหม่ลดลง เช่นเดียวกับการทดลองในพืชอื่น ๆ เช่น อินทผลัม (Al-Kaabi *et al*., nd.) *Rosa hybrid* cv. Iceberg (Khosravi *et al.,* 2007) เพราะไซโทไคนินที่ความเข้มข้นสูง ๆ ทำให้สัดส่วนของไซโทไคนินและออกซินเสียสมดุล จึงส่งผลให้การสร้างหน่อใหม่ลดลง (Helal *et al*., nd.) เนื่องจากไซโทไคนินที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลในการส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ไซโทไคนินออกซิเดส และไซโทไคนินสังเคราะห์นี้อาจไปลดระดับของของไซโทไคนินที่อยู่เดิมภายในชิ้นส่วนพืชทำให้เกิดการเสียสมดุลระหว่างไซโทไคนินกับออกซิน (Palmer and Palni, 1987; Motyka and Kaminek, 1990) หน่อกระจูดที่เพาะเลี้ยงมีการเพิ่มปริมาณหน่อใหม่จำนวนเฉลี่ยสูงสุดเมื่อใช้ KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA ความเข้มข้น 3 มิลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ชี้ให้เห็นว่า การเพิ่มปริมาณหน่อกระจูดขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของไซโทไคนินที่ใช้ สอดคล้องกับการศึกษาในพืชอื่น (Tsay *et al*., 1989; Shasany *et al*., 1998; Sharma and Singh, 1997)

น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากกว่าการใช้ BA อย่างเดียวที่ความเข้มข้นเดียวกัน สอดคล้องกับผลการเพาะเลี้ยงปลายยอดกล้วยหินของ Promsorn และ Kanchanapoom (2006) ซึ่งรายงานว่า ปลายยอดกล้วยหินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ เกิดหน่อรวม (12.33 หน่อ) มากกว่าบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นเดียวกันเพียงอย่างเดียว (5.44 หน่อ) ที่เป็นเช่นนี้เพราะในน้ำมะพร้าวมีน้ำตาล วิตามิน เกลือแร่ กรดอะมิโน และฮอร์โมนพืช โดยเฉพาะไซโทไคนิน (Yong *et al*., 2009) จึงมีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด รวมทั้งกล้วยไม้และพืชสมุนไพรจีนที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เพราะไซโทไคนินในน้ำมะพร้าวมีบทบาทส่งเสริมการแบ่งเซลล์และการเจริญ เติบโต (Huan *et al*., 2004) ความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวโดยทั่วไปนิยมใช้ 15 เปอร์เซ็นต์ แต่มีพืชบางชนิดสามารถตอบสนองต่อน้ำมะพร้าวในความเข้มที่สูง

กว่า เช่น Mohammad และ Ali (2010) ใช้น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดยอดรวมมากที่สุดในการเพาะเลี้ยงต้นกล้า *Cyamopsis tetragonolobust* นอกจากนี้ยอดที่ได้มีความสูงกว่าด้วย

การเพิ่มปริมาณหน่อรวมโดยใช้หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงดอก ในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุดชักนำให้เกิดหน่อรวมได้จำนวนมากที่สุดเฉลี่ย 12.00 ± 2.16 หน่อ ความสูงหน่อเฉลี่ย 4.60 ± 0.37 เซนติเมตร ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการเพิ่มปริมาณจากหน่อรวมจากการเพาะเลี้ยงหน่อ กล่าวคือ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างหน่อรวมเฉลี่ยสูงสุด 4.08 ± 0.83 หน่อ และมีความสูงเฉลี่ย 3.03 ± 0.38 เซนติเมตร การตอบสนองต่อการสร้างสร้างหน่อรวมแตกต่างกันอาจเนื่องจากชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นมีความแตกต่างกันทางเนื้อเยื่อซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเจริญของตาดอก และตายอด (ปลายยอด) แสดงว่า ตาดอกมีความสามารถในการสร้างหน่อใหม่ได้ดีกว่าตายอด เช่นเดียวกับเพาะเลี้ยงส่วนของข้อที่มีตาข้างและปลายยอดกุหลาบ (*Rosa* L.) ซึ่งพบว่า กลุ่มยอดที่ชักนำจากตาข้างมีปริมาณมากกว่าที่ชักนำจากตายอด (Horn, 1992)

**1.3 การชักนำการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงดอกและลำต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง**

จากการทดลองไม่ประสบผลสำเร็จในชักนำการสร้างแคลลัสจากดอกและลำต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งในที่มีแสงสว่างและในที่มืด แต่ดอกอ่อนมีการขยายขนาด มีสีเขียวอ่อน และดอกบานเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง ส่วนในที่มืดดอกมีการขยายขนาดแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ในขณะที่ลำต้นที่เพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่างเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ในที่มืดลำต้นมีลักษณะบวม โค้งงอ และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในที่สุด การใช้ 2,4-D ในการชักนำการเกิดแคลลัสประสบผลสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวของสหรัฐเอมริกาพันธุ์ LaGrue พันธุ์ Katy และพันธุ์ Alan ในอาหารสูตร MS พบว่า การเติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรชักนำแคลลัสได้มากที่สุด และปริมาณแคลลัสลดลงเมื่อ 2,4-D มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น สำหรับการใช้ NAA และ KN ให้ผลในการชักนำการเกิดแคลลัสน้อยมาก (Al-Khayri *et al*., 1996) ในขณะที่การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวไทยพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 1 ชัยนาท 1 และปทุมธานี 1 พบว่า ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสม คือ 2, 1.5, 2.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Rattana *et al*., 2012) การชักนำแคลลัสจากเนื้อเยื่ออ้อยใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (Gill *et al*., 2004) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนพืชและจีโนไทป์ของพืช

(Raina, 1989) Michiba และคณะ (1990) รายงานว่า 2,4-D ความเข้มข้นสูง มีผลไปยับยั้งการเจริญของแคลลัส *Doritaenopsis* อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้พบว่า 2,4-D ไม่สามารถชักนำให้สร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนดังกล่าวได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความเข้มข้นที่ใช้ไม่เหมาะสมอาจต้องลดระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ลง หรืออาจต้องเปลี่ยนไปใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินชนิดอื่น ได้แก่ IAA, NAA และ 2,4,5-T (2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid) ซึ่งมีรายงานว่าชักนำแคลลัสได้ดีในพืชหลายชนิด (Bhaskaran and Smith, 1990)

**1.4 การชักนำการเกิดราก การปรับสภาพพืช และย้ายปลูกลงดิน**

การชักนำการเกิดรากจากหน่อกระจูดที่มีความสูง 2 เซนติเมตร ในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตร่วมกับการเติมผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ พบว่า หน่อกระจูดเกิดรากได้ในอาหารทั้งสองสูตร และหน่อกระจูดในสูตรที่เติมผงถ่านสร้างรากได้จำนวนมากกว่าในสูตรที่ไม่เติมผงถ่าน รากที่ได้มีขนาดใหญ่และแข็งแรง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nakamura และคณะ (1994) ที่สามารถชักนำรากของ *Shorea roxburghii* ได้ในเวลาประมาณ 2 เดือน โดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในอาหารเพาะเลี้ยง ลักษณะรากที่ได้ไม่ยาว Wong (1986) รายงานว่าหน่อกล้วยเกิดรากได้เองในอาหารไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เพราะที่ปลายยอดมีการสังเคราะห์ออกซินและส่งต่อไปยังส่วนอื่น ๆ ของลำต้น ผงถ่านที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงความเข้มข้น 0.12 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ต้น *Caustis blakei* เกิดรากจำนวนมาก (Johnston *et al*., 1994) เช่นเดียวกับผลการวิจัยของ Hwang และคณะ (1984) ที่พบว่าต้นกล้วยหอมกลุ่ม Cavendish เกิดรากจำนวนมากในอาหารที่เติมผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ Choi และ Chung (1989) พบว่าต้นกล้วยไม้ *Cymbidium* sp. เกิดรากอากาศที่มีขนาดใหญ่ ยาวและแข็งแรง ในอาหารที่เติมผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร Moraes และ Faria (2005) รายงานการชักนำรากของกล้วยไม้ 3 ชนิด ในทำนองเดียวกันว่า อาหารสูตร ½ MS เติมผงถ่านความเข้มข้นต่างกันส่งเสริมการสร้างรากจำนวนมาก รากมีขนาดใหญ่และยาว การเติมผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตรในอาหารเหมาะสำหรับกล้วยไม้ *Miltonia flavescens* และ *Laelia flava* และการเติมผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตรเหมาะสำหรับ *Oncidium trulliferum* เห็นได้ว่า รากที่ชักนำได้ในอาหารที่เติมผงถ่านจะมีจำนวนมาก รากยาว มีขนาดใหญ่และแข็งแรง เป็นเพราะผงถ่านมีผลไปกระตุ้นการสร้างราก (Caldas *et al*., 1990; George and Ravishankar, 1997) และทำให้เกิดสภาพดำมืดเหมาะแก่การเจริญเติบโตของราก (Pan and van Staden, 1998; Thomas, 2008) จากผลการทดลองยังพบว่ามีการแตกหน่อใหม่เพิ่มขึ้น โดยในอาหารที่เติมผงถ่านมีการแตกหน่อใหม่จำนวนมากกว่าในอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน เป็นเพราะ

ผงถ่านดูดซับสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโต และปล่อยสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโต (Pan and Van, 1998; Thomas, 2008) จึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของแง่ง (rhizome growth) (Kim and Lee, 1992)

จากการปรับสภาพต้นกระจูดที่มีรากอย่างน้อยจำนวน 2 ราก โดยปลูกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทรายหยาบ ขุยมะพร้าว และขี้เถ้าแกลบอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายปลูกในกระถางที่มีทรายหยาบ ดินลูกรัง และมูลโค อัตราส่วน 2 : 1 : 1 ในสภาพที่ชุ่มน้ำ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ต้นกระจูดรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และต้นกระจูดมีการแตกหน่อใหม่เฉลี่ย 2.50 ± 0.71 หน่อ วิธีการนี้มีความเหมาะสมที่จะปรับสภาพและย้ายต้นกระจูดปลูกลงดิน ซึ่งได้ดัดแปลงวัสดุปลูกจากรายงานของ วัชนะ และกิตติพงษ์ (2549) ที่ประสบผลสำเร็จในการปลูกต้นกระจูดที่เก็บรวบรวมจากสภาพธรรมชาติปลูกในภาชนะปลูกที่เป็นกระถางหรือถุงพลาสติกบรรจุวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทรายหยาบผสมปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอกเพียงเล็กน้อย หรือใช้ทรายหยาบเพียงอย่างเดียว รดน้ำให้ชุ่มหรือ ให้น้ำท่วมขังโคนต้น และจากคำแนะนำของ Cowie และคณะ (2000) และ Stevens และ Dowling (2002) ที่ใช้ดินลูกรัง พีท และทรายแม่น้ำอย่างละ 1 ส่วน ผสมให้เข้ากันและปูทับด้วยทรายในสภาพน้ำขังก็เพียงพอต่อการส่งเสริมให้อัตรารอดชีวิตหลังย้ายลงดินปลูกสูง

**2. การเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต**

**2.1 การเก็บรักษาหน่อกระจูดในอาหารที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโต**

จากการเก็บรักษาหน่อกระจูดที่มีความสูง 1 เซนติเมตรในขวดเพาะเลี้ยงด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโตไว้นาน 6 เดือน อาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 1 หรือ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับแมนนิทอล หรือซอร์บิทอล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ หรือพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า หน่อกระจูดมีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการเก็บรักษาปลายยอดอ้อยในอาหารที่เติมแมนนิทอลความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 105 วัน (Muhammad and Sadar, 2004) ปลายยอดมันเทศมีการรอดชีวิต 82 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ในอาหารที่เติมซอร์บิทอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (Golmirzaie and Toledo, 1998) และต้นกล้ามันเทศที่เก็บรักษาในอาหารสูตร MS ที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตชนิดกรดแอบไซซิคความเข้มข้น 5-20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการรอดชีวิต 70-85 เปอร์เซ็นต์ หลังเก็บรักษาเป็นเวลา 8 เดือน (Jarret and Gawel, 1991)

**2.1.1 ผลของความเข้มข้นของ BA**

ความเข้มข้นของ BA มีผลต่อจำนวนหน่อที่สร้างใหม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ไม่มีผลต่อความสูงของหน่อกระจูด โดย BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย (15.78 ± 7.17 หน่อ) มากกว่าที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (10.53 ± 4.63 หน่อ) สอดคล้องกับรายงานของ Sieler และคณะ (1997) ที่พบว่าจำนวนกลุ่มยอดของ *Caustis dioica* (Chinese Puzzle) มีจำนวนเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้น

**2.1.2 ผลของการใช้สารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช**

สารที่ใช้เพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ สารยับยั้งการออสโมซิส 2 ชนิด คือ แมนนิทอล และซอร์บิทอล และสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช คือ พาโคลบิวทราโซล หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าสารทั้งสามชนิดนี้มีผลต่อจำนวนหน่อและความสูงของหน่อกระจูดแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง พาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้นให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากกว่าแต่ความสูงเฉลี่ยของหน่อน้อยกว่าการไม่เติม (ชุดควบคุม) และเติมแมนนิทอลและซอร์บิทอลทุกความเข้มข้น เป็นที่น่าสังเกตว่าหน่อกระจูดที่ได้สั้น ลำต้นโค้ง และมีสีเขียวเข้ม เช่นเดียวกับผลการเก็บรักษาปลายยอดอ้อยพันธุ์ KU50 นาน 5 เดือน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ใบมีสีเข้ม หนาขึ้น ข้อปล้องหดสั้นลง แต่ตายระหว่างการเก็บรักษาจำนวนมาก เนื่องจากไม่สามารถทนทานต่อความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลที่ใช้คือ ความเข้มข้น 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ที่รอดชีวิตมีการแตกหน่อน้อยที่สุด (น้องนุช, 2542) การศึกษานี้ยังพบว่า หน่อกระจูดที่เก็บรักษาในอาหารที่มีพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยน้อยที่สุด 17.00 ± 5.66 หน่อ และหน่อมีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.44 ± 0.18 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สอดคล้องกับรายงานของ วรารัตน์ (2549) ซึ่งพบว่าเมื่อความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้น ปลายยอดลองกอง และมังคุดมีการสร้างยอดลดลง โดยพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยน้อยที่สุด (2 ยอด) และมีอัตรารอดชีวิต 60 เปอร์เซ็นต์ หลังเก็บรักษาเป็นเวลา 12 เดือน เช่นเดียวกับผลการเก็บรักษาปลายยอดหญ้าแฝกที่พบว่า ปลายยอดหญ้าแฝกให้จำนวนยอดเฉลี่ยและความยาวยอดเฉลี่ยน้อยที่สุดในอาหารที่เติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 12 เดือน ที่อุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส (ลัดดาวัลย์, 2552) ผลการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร (*Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin) ในอาหารสูตร ¾ MS ซูโครสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร และพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเก็บรักษาปลายยอดได้นาน 7 เดือน มีการรอดชีวิต 73.3 ± 8.2 เปอร์เซ็นต์ (ศิริกุล, 2549) และ

รายงานของ Pateli และคณะ (2004) ที่พบว่าเมื่อความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้น ใบของ *Epidendrum radicans* มีขนาดเล็กและหนา เนื่องจาก พาโคลบิวทราโซลเป็นสารชะลอการเจริญเติบโต ที่มีผลยับยั้งการยืดยาวของหน่อและทำให้ลำต้นสั้น โดยไปขัดขวางการสังเคราะห์กรดจิบเบอเรลลิก (Ninnemann *et al*., 1964) พาโคลบิวทราโซลมีผลยับยั้งเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการสร้างกรดจิบเบอเรลลิก ทำให้ไม่สามารถสร้างกรดนี้ได้ แต่การแบ่งเซลล์ยังคงเกิดขึ้น เซลล์ใหม่ที่ได้ไม่มีการยืดยาว ส่งผลให้ยอดและข้อสั้น (Hazarika, 2003; William, 2006; Chaney, 2008) นอกจากนี้พาโคลบิวทราโซล มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของใบโดยการยับยั้งไม่ให้มีการขยายขนาดของใบ ทำให้ใบมีขนาดเล็กและหนา (Chaney, 2008) เพราะกรดจิบเบอเรลลิกมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการยืดยาว และการขยายขนาดของเซลล์ (Nickell, 1982) การที่ยอด หน่อ หรือใบของพืชมีสีเขียวเข้ม ยังไม่พบรายงานใดที่อธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างพาโคลบิวทราโซลกับการเกิดสีเขียว หรือการสร้างคลอโรพลาสต์ หรือสร้างสารคลอโรฟิลล์ จึงอาจอธิบายได้ว่า หากพาโคลบิวทราโซลมิได้มีผลต่อการสร้างรงควัตถุสีเขียว และเซลล์ยังคงแบ่งเซลล์ตามปกติ แต่ไม่ขยายขนาดยืดยาวจึงเป็นไปได้ว่าเมื่อเซลล์มีปริมาตรน้อยลง ในขณะที่คลอโรพลาสต์ภายในเซลล์มีปริมาณคงเดิม เป็นผลให้คลอโรพลาสต์อยู่เบียดกันแน่นแทนการกระจายตัวเหมือนในเซลล์ปกติ จึงทำให้เห็นชิ้นส่วนพืชมีสีเขียวเข้ม นอกจากนี้ ยังพบว่าในอาหารที่เติมพาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้น ส่งผลให้หน่อกระจูดมีการแตกรากจำนวนมาก โดยเริ่มแตกรากในช่วงสัปดาห์ที่ 8 หลังการเก็บรักษา สอดคล้องกับรายงานของ William และ Chaney (2005) ที่ว่าพาโคลบิวทราโซลมีบทบาทส่งเสริมการสร้าง ABA ที่มีผลต่อการลดการเปิดของปากใบ ลดการเจริญ-เติบโตของยอด เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำ และสร้างรากฝอยเพิ่มขึ้นเพื่อการดูดน้ำ

จำนวนหน่อใหม่ที่สร้างในอาหารที่เติมแมนนิทอลและซอร์บิทอลความเข้มข้น 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่าในอาหารสูตรควบคุม ยกเว้นแมนนิทอลความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่ให้จำนวนหน่อไม่แตกต่างกับอาหารสูตรควบคุม จำนวนหน่อเฉลี่ยและความสูงเฉลี่ยของหน่อลดลงตามความเข้มข้นของแมนนิทอลที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากทั้งแมนนิทอลและซอร์บิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์มีคุณสมบัติในการปรับศักย์ออสโมซิส (osmotic potential) ดังนั้น การเติมน้ำตาลแอลกอฮอล์ลงในอาหารเพาะเลี้ยง เช่น แมนนิทอล ทำให้พืชเกิดความเครียดน้ำ (water stress) เนื่องจากขาดน้ำ (Zang and Komatsu, 2007) พืชจึงดูดน้ำและแร่ธาตุได้น้อยลง ส่งผลต่อการแบ่งเซลล์ การขยายตัวของเซลล์ การสังเคราะห์โปรตีน การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ลดการตรึงไนโตรเจน เป็นต้น จึงทำให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตช้า และยับยั้งการสร้างยอด (เฉลิมพล, ม.ป.ป.; Salisbury and Loss, 1985; Thompson *et al*., 1986; Bajaj, 1995) แต่เพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชหลายชนิดได้นานขึ้น เช่น เบญจมาศ (Shibli, 1991) เช่นเดียวกับการเก็บรักษาเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของ Habanero pepper (*Capsicum Chinese* Jacq.) บนอาหารที่เติมแมนนิทอลและซอร์บิทอลความเข้มข้น 2, 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 35 สัปดาห์ พบว่า ความสูงของลำต้นและจำนวนใบลดลงตามความเข้มข้นของแมนนิทอลและซอร์บิทอลที่เพิ่ม ซึ่งแมนนิทอลและซอร์บิทอลความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ให้ความสูงของลำต้นและจำนวนใบน้อยกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ (del CMontalvo-Peniche *et al.*, 2007) และยังสอดคล้องกับรายงานของ น้องนุช (2542) ที่พบว่า แมนนิทอลความเข้มข้น 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมในการเก็บรักษาปลายยอดอ้อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้นาน 5 เดือน ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 2.3 และ 1.0 ยอด Golmizaie และ Toledo (1998) รายงานการเก็บรักษาปลายยอดมันฝรั่งในอาหารที่เติมซอร์บิทอลความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 6-8 องศาเซลเซียส ว่าสามารถเก็บรักษาได้นาน 2-4 ปี โดยไม่เปลี่ยนอาหาร เมื่อนำมาชักนำการเจริญใหม่ไม่ปรากฏต้นที่มีลักษณะผิดปกติ สำหรับการเก็บรักษาปลายยอดมันเทศในอาหารที่เติมซอร์บิทอลความเข้มข้น 10-40 กรัมต่อลิตร สามารถเก็บรักษาได้นาน 6-12 เดือนโดยไม่เปลี่ยนอาหาร และในอาหารที่เติมแมนนิทอลความเข้มข้น 20-40 กรัมต่อลิตร เก็บรักษาได้นาน 1 ปี โดยไม่เปลี่ยนอาหาร และสรุปว่าการเก็บรักษาปลายยอดมันฝรั่ง และมันเทศโดยใช้แมนนิทอลและซอร์บิทอลเป็นวิธี ที่นิยมใช้มากที่สุด ต้นกล้าที่ได้หลังจากการชักนำการเจริญใหม่มีการเจริญเติบโตอย่างปกติหลังย้ายเลี้ยง 1-2 ครั้ง

ลักษณะของหน่อกระจูดที่สร้างใหม่บนอาหารที่เติมแมนนิทอล และซอร์บิทอลในการศึกษานี้ มีความสูงและสีเขียวเป็นปกติเช่นเดียวกับหน่อที่เจริญบนอาหารที่ไม่เติมสารชะลอการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามหน่อที่เจริญบนอาหารที่มีแมนนิทอลและซอร์บิทอลมีสีเขียวอ่อนกว่าปกติ เช่นเดียวกับต้นกล้าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 หอมจันทร์ และพันธุ์ กข 6 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมแมนนิทอลความดันออสโมซิส -0.42 หรือ -0.94 เมกะปาสคาล (MPa) มีสีเขียวน้อยกว่าต้นกล้าบนอาหารไม่เติมแมนนิทอล เนื่องจากแมนนิทอลทั้งสองระดับมีผลลดการสร้างคลอโรฟิลล์ เอ และบี (Cha-um *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนหน่อเฉลี่ยในอาหารเติมซอร์บิทอลมีจำนวนเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างจากการทดลองอื่น ๆ

#### 2.1.3 ผลของอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของ BA และสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช

อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของ BA และการเติมและไม่เติมสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อจำนวนหน่อแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ให้ผลไม่

แตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูง โดย BA สองความเข้มข้นร่วมกับพาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้น ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยมากที่สุดและหน่อมีความสูงน้อยที่สุด จำนวนหน่อที่สร้างแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะแมนนิทอลและพาโคลบิวทราโซลตรงข้ามกับความสูงของหน่อแปรผกผันกับความเข้มข้นของสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืชทั้งสามชนิด นั่นคือ กระจูดมีจำนวนหน่อเพิ่มขึ้นและหน่อมีความสูงลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืชทั้งสามชนิด

กล่าวโดยสรุป วิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาหน่อกระจูดเมื่อแยกพิจารณาตามชนิดของสารที่เติมเพื่อชะลอการเจริญเติบโต คือ เก็บรักษาในอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือร่วมกับแมนนิทอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ หรือร่วมกับซอร์บิทอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากให้จำนวนหน่อและความสูงเฉลี่ยน้อยกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ

เมื่อตัดแยกหน่อกระจูดอายุการเก็บรักษา 6 เดือน ในอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PBZ ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความสูง 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อกระจูดมีการสร้างหน่อใหม่และมีความสูงเป็นไปตามลักษณะปกติ และหน่อกระจูดจากที่เก็บรักษาในอาหารที่เติม PBZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อมากที่สุดเฉลี่ย $6.75 \pm 0.96$ หน่อ และหน่อมีความสูงเฉลี่ย $4.51 \pm 1.71$ เซนติเมตร (ตารางที่ 13) ให้ผลใกล้เคียงกับการเพิ่มปริมาณหน่อกระจูดในอาหารสูตรเดียวกันเติม BA ความเข้มข้นเท่ากัน (แต่ไม่เติมสารชะลอการเจริญเติบโต) คือ ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย $9.25 \pm 1.71$ หน่อ ความสูงของหน่อเฉลี่ย $4.30 \pm 0.34$ เซนติเมตร (ตารางที่ 9) แสดงให้เห็นว่า หน่อกระจูดที่เก็บรักษาในอาหารที่เติมพาโคล-บิวทราโซล แม้จะมีลักษณะทางฟีโนไทป์แตกต่างไปจากอาหารสูตรควบคุม คือ หน่อสั้น โค้งงอ และลำต้นสีเขียวเข้ม เมื่อนำมาชักนำการเกิดใหม่ก็สามารถแตกหน่อใหม่และหน่อใหม่ที่ได้มีลักษณะปกติ

**2.2 การเก็บรักษาหน่อกระจูดโดยใช้เทคนิคการผลิตเมล็ดเทียม**

โดยทั่วไปการผลิตเมล็ดเทียมใช้เทคนิคการเติมโซเดียมอัลจิเนตลงในอาหารเหลวสูตร MS แล้วนำไปหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพื่อให้เกิดการสร้างตัวเป็นเม็ดห่อหุ้มปลายยอดหรือต้นอ่อน อาหารดังกล่าวทำหน้าที่เป็นเอนโดสเปิร์มเทียมมากกว่าที่เตรียมจากอาหารสูตร ½ MS หรือน้ำกลั่น เนื่องจากเมล็ดเทียมมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่า (Pattnaik *et al.*, 1995; Singh *et al.*, 2009; Hegazi, 2011; Kanchanapoom and Promsorn, 2012) การเติมซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

ในอาหารทำให้เมล็ดเทียมมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าการเติมที่ความเข้มข้นต่ำกว่า เช่น 1 หรือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ หรือความเข้มข้นสูงกว่า เช่น 6 เปอร์เซ็นต์หรือไม่เติม (Makowcznska *et al*., 2005; Singh *et al*., 2006; Rai *et al*., 2008; Singh *et al*., 2009; Hegazi, 2011) ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่ใช้อยู่ในช่วง 1 ถึง 6 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50-150 มิลลิโมลาร์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นส่วนพืช เช่น โซมาติกเอ็มบริโอ ปลายยอด ตาข้าง หรือขนาดของชิ้นส่วนพืช เช่น ขนาด 2-3 หรือ 3-5 มิลลิเมตร หรือขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์หรือแหล่งผลิตโซเดียมอัลจิเนต เช่น บริษัท Wako หรือ Sigma หรือ Fluka โดยทั่วไปใช้โซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในการผลิตเมล็ดเทียมของพืชหลายชนิด (Naik and Chand, 2006; Singh *et al*., 2009; Verma *et al*., 2010; Hegazi, 2011; Katouzi *et al*., 2011; Thiruvengadam *et al*., 2012) เนื่องจากโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นต่ำ 1-2 เปอร์เซ็นต์ กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เมล็ดเทียมที่ได้รูปร่างไม่กลม อ่อนนุ่ม แตกง่าย แต่เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูง ขณะที่ใช้โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นสูง 4-5 เปอร์เซ็นต์ กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ เมล็ดเทียมที่ได้รูปร่างกลมและแข็ง อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ (Thiruvengadam *et al*., 2012; Sudarshana *et al*., 2013) แต่ก็มีการใช้และประสบผลสำเร็จในการผลิตเมล็ดเทียมพืชหลายชนิด เช่น เมล็ดเทียมปลายยอดพืชป่า 3 ชนิด คือ *Cedrela odorata* L. *Guazuma critina* Mart. และ *Jacaranda mimosaefolia* D. ที่ใช้โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ (Maruyama *et al*., 1997) และจากรายงานของ ลัดดาวัลย์ (2552) เปรียบเทียบการใช้โซเดียมอัลจิเนตจาก 3 บริษัท คือ Sigma Fluka และ Wako ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.28 เปอร์เซ็นต์ หุ้มปลายยอดหญ้าแฝกหลังเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า โซเดียมอัลจิเนตจากบริษัท Wako ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการสร้างยอดสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ สำหรับอุณหภูมิในการเก็บรักษา โดยทั่วไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ 4-8 องศาเซลเซียส (Ballester *et al*., 1997; Makowcznska *et al*., 2005; Naik and Chand, 2006; Singh *et al*., 2009; Hegazi *et al*., 2011; Thiruvengadam *et al*., 2012) การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเมล็ดเทียมมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ เพราะอุณหภูมิที่ต่ำมีผลยับยั้งกระบวนการหายใจของพืช (Redenbaugh *et al*., 1987 cited Thiruvengadam, 2012; Naik and Chand, 2006) จึงมีการทดลองเก็บรักษาเมล็ดเทียมพืชที่อุณหภูมิสูง 18-25 องศาเซลเซียส (Ballester *et al*., 1997; Nower *et al*., 2007; Srivastava *et al*., 2009; Verma *et al*., 2010; Kanchanapoom and Promsorn, 2012; Sudarshana *et al*., 2013) เมล็ดเทียมมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้น เช่น Sudarshana และคณะ (2013) รายงานว่าที่

อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสเมล็ดเทียม *Artemisia vukgaris* L. มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าที่อุณหภูมิ 4 และ 20 องศาเซลเซียส

ในการศึกษานี้ได้ผลิตเมล็ดเทียมหุ้มปลายยอดกระจูดขนาด 0.5 เซนติเมตร โดยใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่เติมซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เติมโซเดียมอัลจิเนต (Fluka) ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ กับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เหตุผลที่ใช้โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นนี้เพราะการใช้ที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดเทียมงอกเป็นต้นหลังวางเลี้ยงบนสำลีที่ชุ่มด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 วัน 75.00 เปอร์เซ็นต์ (จำนวน 9 เมล็ด จากทั้งหมด 12 เมล็ด) ซึ่งไม่มีความเหมาะสมที่จะเก็บรักษาเมล็ดเทียมเป็นระยะเวลานาน ๆ (ไม่ปรากฏในรายงานผลการทดลอง) นอกจากนี้ในการทดลองได้เติมพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารก่อนหยดปลายยอดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งยังไม่พบรายงานการทดลองในลักษณะนี้ที่ใช้พาโคลบิวทราโซลมาก่อน คงมีเพียงรายงานการเติมกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) ความเข้มข้น 25 และ 50 ไมโครโมลาร์ ในอาหารเหลวสูตร MS เพื่อส่งเสริมความมีชีวิตของเมล็ดเทียมจากปลายยอดทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) และพบว่า กรดแอบไซซิค ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ส่งผลให้เมล็ดเทียมมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ และเมล็ดเทียมในอาหารสูตรที่ไม่เติมกรดซาลิไซลิก (Katouzi *et al*., 2011)

ผลการเก็บรักษาเมล็ดเทียมปลายยอดกระจูดในอาหารสูตร MS และอาหารสูตรเดียวกันที่เติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน และ 6 เดือน แล้วนำเมล็ดเทียมนั้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อกระจูดในเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารทุกสูตรอายุการเก็บรักษา 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าที่อายุการเก็บรักษา 6 เดือน แสดงว่า ระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดเทียมมีผลต่อการงอก โดยเมล็ดเทียมที่มีระยะเวลาเก็บรักษานานมีเปอร์เซ็นต์การงอกน้อยกว่าที่ระยะเวลาเก็บรักษาสั้น ๆ สอดคล้องกับการทดลองของ Kanchanapoom และ Promsorn (2012) ที่พบว่าเมล็ดเทียมจากปลายยอดกล้วยหิน (*Musa balbisiana*) ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 15 วันมีการงอก (49.20 ± 9.20 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าที่เวลา 30 วัน (21.70 ± 7.70 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับเมล็ดเทียมจากปลายยอด *Capparis orientalis* Duh. ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 15 วันมีการงอก (81.80 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าที่เวลา 30 วัน (69.10 เปอร์เซ็นต์) (Hegazi, 2011) เช่นเดียวกับเมล็ดเทียมจากปลายยอด *Solanum nigrum* L. ที่เก็บรักษาเป็นเวลานานส่งผลให้อัตราการงอกลดลง (Verma, 2010) การที่เมล็ดเทียมมีความสามารถในการงอกลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเมล็ดเทียมถูกห่อหุ้มด้วยอัลจิเนตและ

สูญเสียความชื้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา จึงมีผลยับยั้งการหายใจ (Redenbaugh *et al*., 1987 cited Thiruvengadam, 2012; Naik and Chand, 2006) หรือเนื่องจากขาดก๊าซออกซิเจน (Sudarshana *et al*., 2013) จากการศึกษานี้เป็นที่น่าสังเกตว่า แม้มีการเติมน้ำกลั่นเพื่อให้ความชื้นทุก 6 สัปดาห์ ในช่วงระยะเวลาที่เก็บรักษา แต่เมล็ดเทียมส่วนใหญ่มีขนาดเล็กลงจากเดิม เนื่องจากสูญเสียความชื้นทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดเทียมมีความแข็งมากขึ้น และอาหารในเอนโดสเปิร์มเทียม รวมทั้งพาโคลบิวทราโซลมีความเข้มข้นมากขึ้น ทำให้ปลายยอดดูดน้ำและแร่ธาตุได้ยาก นอกจากนี้พาโคลบิวทราโซลที่เข้มข้นขึ้นอาจเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ จึงส่งผลต่อความมีชีวิตของเมล็ดเทียม

เมื่อพิจารณาผลของพาโคลบิวทราโซลต่อการงอกของเมล็ดเทียมพบว่า เมล็ดเทียมที่ห่อหุ้มอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีเปอร์เซ็นต์การงอกมากกว่าที่ห่อหุ้มด้วยอาหารสูตรเดียวกันที่เติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งที่อายุเก็บรักษา 3 และ 6 เดือน และเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเทียมกระจูดลดลงตามความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลที่เพิ่มขึ้น ที่อายุเก็บรักษา 3 เดือน พาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การงอกมากกว่าที่ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับ ที่อายุเก็บรักษา 6 เดือน ยกเว้นพาโคลบิวทราโซลที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เปอร์เซ็นต์การงอกเป็น 0 แสดงให้เห็นว่า พาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นสูงอาจเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อมีผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกลดลง สอดคล้องกับรายงานการทดลองนำเมล็ดเทียมจากปลายยอดแพร์ (*Pyrus communis* L.) มาชักนำการงอกใหม่บนอาหารสูตร MS ที่เติมพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า เมล็ดเทียมงอกได้ในอาหารที่เติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงความเข้มข้นเดียวเท่านั้น คือ มีการงอกเฉลี่ย 1.67 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดเริ่มงอกในสัปดาห์ที่ 12 ขณะที่ไม่เติมพาโคลบิวทราโซลมีการงอกเฉลี่ย 15.83 เปอร์เซ็นต์ และเริ่มงอกในสัปดาห์ที่ 10 ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลที่เพิ่มขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกลดลง (Nower *et al*., 2007) และยังพบว่าพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดของสตรอเบอรีพันธุ์ Senga Sengana และยับยั้งการเพิ่มจำนวนยอดของราสเบอรี (raspberry) หลังเก็บรักษานาน 3 เดือน (Lisek and Orlikowska, 2004) นอกจากนี้ยังยับยั้งไม่ให้เมล็ดเทียมจากการหุ้มตาของ *Aechmea fasciata* พัฒนาเป็นต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติมพาโคลบิวทราโซล (Badr-Elden *et al*., 2007)

ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อการงอกของเมล็ดเทียม Sudarshana และคณะ (2013) รายงานว่า เมล็ดเทียมจากการหุ้มโซมาติกเอ็มบริโอ *Artemisia vulgaris* L. มีการงอก 81 และ 80 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 และ

1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการงอกลดลงเหลือ 45 เปอร์เซ็นต์ การใช้ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการงอก 79 เปอร์เซ็นต์ การใช้ KN ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการงอก 81 เปอร์เซ็นต์ การใช้ $GA_3$ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการงอก 81 เปอร์เซ็นต์ การใช้ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ $GA_3$ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการงอก 89 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น การใช้ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรในการทดลองนี้ อาจเป็นความเข้มข้นที่ไม่มีความเหมาะสมต่อการชักนำการเกิดใหม่ เนื่องจากอาจเป็นความเข้มข้นที่สูงจึงจำเป็นต้องลดความเข้มข้นลง

หน่อหรือต้นกระจูดที่ได้หลังจากการชักนำการเกิดใหม่ ทั้งจากใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมและเติมพาโคลบิวทราโซลทุกระดับความเข้มข้นมีลักษณะทางฟีโนไทป์เหมือนลักษณะปกติ ทั้งลักษณะการแตกหน่อและความสูงของหน่อ เช่นเดียวกับเมล็ดเทียมพืชหลายชนิดที่มีความคงที่ของจีโนไทป์หรือไม่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรม (Withers and Engelmann, 1998; Makowcznska *et al*., 2005; Srivastava *et al*., 2009; ลัดดาวัลย์, 2552; Kanchanapoom and Promsorn, 2012)

## 3. แนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

### 3.1 สาเหตุที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลง

จากการศึกษาเอกสารผู้วิจัยสรุปสาเหตุสำคัญ 4 ประการ ที่ทำให้กระจูดในแหล่งธรรมชาติพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งมีปริมาณลดลง ดังนี้ (ศุกลภัทร และคณะ, 2553; สุพัทธ์ และคณะ, 2548; เฉลิมพร, 2554; ทิพย์อักษร, 2549)

1) ตลาดมีความต้องการผลิตภัณฑ์กระจูดปริมาณมาก ประชาชนในท้องถิ่นจึงเก็บเกี่ยวกระจูดจากแหล่งธรรมชาติจำนวนมาก ทำให้กระจูดที่จะงอกทดแทนไม่ทันต่อความต้องการ

2) พื้นที่ป่าพรุถูกบุกรุกและถูกทำลายเป็นจำนวนมาก เพื่อยึดครองที่ดินนำไปปลูกพืชเศรษฐกิจอื่นที่สำคัญ ได้แก่ ยางพารา และปาล์มน้ำมัน

3) ระบบนิเวศป่าพรุมีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการสร้างเขื่อนปากพนัง การขุดคลองผ่านป่าพรุ การปลูกป่าเสม็ด การลักลอบตัดและถอนกระจูด ความขัดแย้งในการใช้ประโยชน์จากที่ดิน การเกิดไฟไหม้ป่าพรุทั้งที่เกิดขึ้นเองจากธรรมชาติและจากการลักลอบเผาป่าพรุเพื่อล่าสัตว์ เพื่อทำให้เป็นพื้นที่เสื่อมโทรม ทำความเสียหายอย่างรุนแรงทรัพยากรกระจูด

4) การเก็บเกี่ยวกระจูดผิดวิธี โดยการตัดต้นกระจูดด้วยเคียวแทนการถอนทำให้ ตัดต้นกระจูดอ่อนไปด้วย ต้นที่งอกใหม่แคระแกร็นและงอกช้า และการตัดต้นกระจูดที่ระดับใต้ผิวน้ำทำให้แง่งกระจูดเน่าตายเป็นบริเวณกว้าง

ความคิดเห็นจากการสนทนากลุ่มมีความสอดคล้องกับการศึกษาเอกสาร และสรุปว่า สาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้กระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลง คือ นายทุนบุกรุกพื้นที่ป่าพรุเพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน ส่งผลให้พื้นที่ที่เป็นแหล่งกระจูดตามธรรมชาติลดลง จนมีคำกล่าวที่ว่า "ไฟมาป่าพรุอยู่ แบคโฮมาป่าพรุหมด" สะท้อนให้เห็นถึงความเสียหายที่รุนแรงยิ่งกว่าการเกิดไฟไหม้ป่าพรุ ขณะที่สังคมภายนอกให้ความสำคัญทางข่าวสารว่าไฟไหม้ป่าพรุเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้กระจูดมีปริมาณลดลงเนื่องจากถูกเผาไหม้ไปพร้อม ๆ กับไฟไหม้ป่าพรุ สร้างความเดือดร้อนให้กับผู้มีอาชีพเกี่ยวกับกระจูด เพราะกว่าจะเก็บเกี่ยวได้อีกก็ต้องรอเวลา 1-2 ปี และสร้างความเดือดร้อนให้กับประชาชนและนักเรียนจากผลกระทบของหมอกควันที่เกิดขึ้น (บ้านเมือง, 2555) แต่ประชาชนตำบลเคร็งเห็นว่า ไฟไหม้ป่าพรุนั้นเป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นเป็นประจำทุกปีจนถือเป็นส่วนหนึ่งในวิถีชีวิต และการเกิดไฟไหม้ดงกระจูด (แปลงกระจูด) นั้นส่งผลดีทำให้กระจูดและเสม็ดเจริญงอกงาม ปัจจัยที่ส่งเสริมการบุกรุกพื้นที่เพื่อปลูกปาล์มน้ำมันส่วนหนึ่งมาจากภาครัฐ เช่น โครงการปรับปรุงและพัฒนาพื้นที่ดินเปรี้ยวจัดเพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน และโครงการเปลี่ยนนาร้างเป็นนาปาล์ม สอดคล้องกับการศึกษาจากเอกสารที่สถานีพัฒนาที่ดินจังหวัดนครศรีธรรมราช ตามโครงการพัฒนาพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ และโครงการพัฒนาลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา ที่ดำเนินโครงการการปรับปรุงและพัฒนาพื้นที่ดินเปรี้ยวจัดเพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน และโครงการปรับปรุงพื้นที่นาร้างเพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน (สถานีพัฒนาที่ดินนครศรีธรรมราช, 2550) เพื่อสนองนโยบายส่งเสริมให้มีการปลูกปาล์มน้ำมันเป็นพืชพลังงานทดแทนของรัฐที่กำหนดเป็นแผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี พ.ศ. 2551-2565 และแผนพัฒนาอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์มปี 2551-2555 โดยมีพื้นที่เป้าหมายที่มีศักยภาพขยายปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่ดินเปรี้ยว 540,942 ไร่ จากพื้นที่ทั้งหมด 1,889,243 ไร่ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550)

จากการศึกษาเอกสารพบว่า กรณีปัญหาไฟไหม้ป่าพรุควนเคร็ง ป่าพรุผืนสุดท้ายของภาคใต้ตอนบน ที่ติดต่อกันมากว่า 3 ปี จนพื้นที่ป่าพรุเสียหายรวมมากกว่า 96,591 ไร่ มีสาเหตุหลักมาจากการบุกรุก แผ้วถาง และลักลอบเผาป่า (วรัญญา, 2556) เผาเพื่อบุกรุกที่ดินในเขตป่าอนุรักษ์ ให้เป็นป่าเสื่อมโทรม และยึดเป็นเจ้าของ หรือขายให้แก่นายทุน (ผู้จัดการออนไลน์, 2555) ดังนั้น ในความเป็นจริงปัญหาไฟไหม้ป่าพรุควนเคร็งในปัจจุบัน หลายหน่วยงานที่เกี่ยวข้องสรุปตรงกัน

ว่า การเกิดไฟไหม้ไม่ได้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติเหมือนในอดีต แต่เกิดขึ้นจากฝีมือมนุษย์ที่จงใจจุดไฟเผา เพื่อให้เป็นพื้นที่เสื่อมโทรมก่อนเข้าไปยึดครองทำการเกษตร (หนังสือพิมพ์ไทยโพสต์, 2556) คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้เสนองานวิจัยเรื่อง “ผลกระทบของไฟไหม้ป่าพรุควนเคร็งปี 2555” และได้เสนอทางออกสำคัญในการแก้ไขปัญหา คือ การกำหนดแนวเขตให้ชัดเจน โดยทำแบบมีส่วนร่วมทั้งจากภาครัฐและประชาชน และการสร้างให้ประชาชนมีจิตสำนึกในการอนุรักษ์ ไม่บุกรุกแผ้วถาง เผา และทำลายป่า (วรัญญา, 2556)

ข้อมูลจากการสนทนากลุ่มพบว่า การเปลี่ยนวิธีการเก็บเกี่ยวกระจูด ซึ่งเดิมใช้วิธีการถอนมาเป็นการตัดด้วยเคียว หรือการขุด มีสาเหตุมาจากพื้นดินมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพจากที่เคยอ่อนนุ่มเป็นแข็ง ทำให้ถอนกระจูดได้ยากลำบาก ปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด 50 เปอร์เซ็นต์ ของผลผลิตกระจูดที่เก็บเกี่ยวได้ส่งจำหน่ายไปยังตำบลทะเลน้อย อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง ประกอบกับค่าครองชีพที่สูงขึ้น สังคมของชุมชนตำบลเคร็งเปลี่ยนเป็นสังคมเมือง การดำรงชีวิตของคนไม่มีความพอเพียง ใช้จ่ายอย่างขาดการคิดวิเคราะห์ สิ่งเหล่านี้ล้วนมีอิทธิพลต่อรายได้และรายจ่ายของครัวเรือน ดังนั้น เพื่อให้ครอบครัวมีรายได้เพิ่มมากขึ้นจึงจำเป็นต้องเก็บเกี่ยวกระจูดด้วยวิธีการตัดด้วยเคียวเพื่อให้ได้ปริมาณมาก ซึ่งวิธีการตัดด้วยเคียวที่เหมาะสม ควรเลือกตัดเฉพาะต้นที่โตได้ขนาด หรือตัดเป็นหย่อมเว้นหย่อมเพื่อ ให้กระจูดสามารถเจริญเติบโตขยายเต็มพื้นที่หลังจากตัดประมาณ 1 ปี นอกจากนี้ ยังพบประเด็นปัญหาใหม่ในการเก็บเกี่ยวกระจูดที่คาดว่าส่งผลรุนแรงกว่าการตัดด้วยเคียวหรือการขุด คือ การตัดด้วยเครื่องตัดหญ้าแบบสะพายหลัง และเชื่อว่าวิธีการนี้ยิ่งเป็นการทำให้ทรัพยากรกระจูดลดลงอย่างรวดเร็ว เพราะนอกจากตัดกระจูดได้ปริมาณมากเป็นบริเวณกว้างในเวลาอันรวดเร็วแล้ว ยังเป็นการทำลายกระจูดต้นอ่อนที่ไม่ได้ขนาดปริมาณมากเช่นกัน

**3.2 วิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนและแนวคิดในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด**

ทุกคนเห็นพ้องกันว่า กระจูดมีคุณค่า มีความสำคัญ และมีประโยชน์อย่างมากทั้งทางเศรษฐกิจและการให้บริการชีวิต จึงจำเป็นต้องทำการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการเตรียมการแก้ไขปัญหาการขาดแคลนทรัพยากรกระจูดในอนาคต แต่ปัจจุบันตำบลเคร็งยังไม่มีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด จึงได้เสนอแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ดังนี้

1) จัดทำแปลงอนุรักษ์กระจูดในป่าพรุที่เป็นสาธารณะหรือเป็นพื้นที่สงวน บริเวณสร้างสะพานการท่องเที่ยวซึ่งมีพื้นที่อยู่ในหมู่ที่ 3 และ 11 แล้วปลูกต้นเสม็ดล้อมไว้ ปักป้ายแสดงเป็นแปลงอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของตำบลเคร็ง จัดทำป้ายนิเทศให้ความรู้เกี่ยวกับกระจูด จัดให้มี

หน่วยงานมาร่วมมาดูแล และในวันสำคัญต่าง ๆ จะนำนักเรียนมาร่วมกันปลูกกระจูดในแปลงนี้ไว้สำหรับการขยายพันธุ์ต่อไปในพื้นที่ป่าพรุ แนวคิดนี้สอดคล้องกับหลักการจัดการและการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืน คือ ทรัพยากรส่วนใดควรจะสงวนรักษาไว้ให้คงสภาพเดิม โดยจัดให้มีพื้นที่อนุรักษ์ การจัดการพื้นที่อนุรักษ์จะต้องเป็นไปเพื่อรักษาองค์ประกอบและความสัมพันธ์ให้ระบบคงอยู่ได้ (วราพร, 2536 อ้างโดย เฉลิมพร, 2554) อาศัยการมีส่วนร่วมจากหน่วยงานของรัฐ ภาคเอกชน และประชาชนในท้องถิ่นที่เป็นผู้มีส่วนได้เสียมาร่วมมือกันวางแผนในการดำเนินการป้องกัน สงวน รักษาและอนุรักษ์ไว้ เสริมสร้างความรู้ ความเข้าใจ ต่อบุคคลที่เกี่ยวข้องและผู้ที่เข้าไปใช้ประโยชน์ให้เกิดความตระหนักถึงคุณค่าความสำคัญของทรัพยากรธรรมชาติอันควรอนุรักษ์ (อนุรักษ์, ม.ป.ป.)

2) องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง จะจัดทำโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการนำกระจูดมาปลูกในวงบ่อซิเม็นต์บริเวณองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง มีป้ายนิเทศให้ความรู้ทางด้านลักษณะพฤกษศาสตร์ ความสำคัญและการใช้ประโยชน์จากกระจูด เช่นเดียวกับการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในลักษณะของพืชปลูกที่ศูนย์รวบรวมพรรณไม้ตะวันออก จังหวัดระยอง (วัชนะ และกิตติพงษ์, 2549)

3) โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา จะดำเนินกิจกรรมเก็บรวบรวมพันธุกรรมและกิจกรรมปลูกรักษาพันธุกรรมกระจูด ในงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน เพื่อเป็นแหล่งศึกษาดูงาน และจะขยายผลไปสู่โรงเรียนอื่น ๆ ตลอดจนเป็นวิทยากรถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ให้ชุมชน ซึ่งเป็นการดำเนินงานตามกิจกรรมในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ที่มีเป้าหมายเพื่อสร้างบุคคลากร อนุรักษ์และพัฒนาทรัพยากรพันธุกรรมพืชให้เกิดประโยชน์ถึงมหาชนไทย กิจกรรมการสร้างจิตสำนึกด้านการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชโดยจัดพื้นที่เป็นสวนพฤกษศาสตร์และแสดงพืชพรรณให้การศึกษาแก่นักเรียน นักศึกษา โดยนำชมสวนพฤกษศาสตร์ที่จัดพืชพรรณ และจัดทำสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน เพื่อให้เยาวชนมีจิตสำนึกด้านอนุรักษ์พันธุกรรมพืช (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี, 2549)

### 3.3 การใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

แนวทางที่ชุมชนจะนำผลงานวิจัยเกี่ยวกับการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปใช้ประโยชน์ได้มากที่สุดคือ โรงเรียน โดยเฉพาะโรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา แล้วขยายผลไปยังโรงเรียนอื่น ๆ ดังนี้

1) จัดทำหน่วยการเรียน “การอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด” โดยบูรณาการในรายวิชาที่เป็นสาระการเรียนรู้ท้องถิ่น ซึ่งอาจทำในลักษณะหนังสือเรียน บทเรียนสำเร็จรูป ชุดการเรียน หรือชุดสื่อผสม ที่มีความเหมาะสมกับระดับของผู้เรียน สอดคล้องกับพระราชบัญญัติการศึกษาแห่งชาติ พ.ศ. 2542 และแก้ไขเพิ่มเติม (ฉบับ ที่ 2) พ.ศ. 2545 และ (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2553 มาตรา 27 ให้สถานศึกษาขั้นพื้นฐานมีหน้าที่จัดทำสาระของหลักสูตรตามวัตถุประสงค์ในส่วนที่เกี่ยวกับสภาพปัญหาในชุมชนและสังคม ภูมิปัญญาท้องถิ่น และคุณลักษณะอันพึงประสงค์ ทำให้โรงเรียนสังกัดสำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐานต้องจัดทำหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น (สำนักนิติการ, ม.ป.ป.) เนื่องจากตำบลเคร็งมีความโดดเด่นด้านทรัพยากรและผลิตภัณฑ์กระจูด โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยาจึงได้พัฒนาหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น จำนวน 2 รายวิชา คือ วิชาผลิตภัณฑ์กระจูด 1 และผลิตภัณฑ์กระจูด 2 เพื่อให้นักเรียนเกิดความรักและภาคภูมิใจในท้องถิ่นและสอดคล้องกับวิถีชีวิต โดยผู้มีภูมิปัญญาในท้องถิ่น และชุมชนมีส่วนร่วมในการจัดการศึกษา ทำให้เกิดการพัฒนาคุณภาพการศึกษาและพัฒนาชุมชนให้เข้มแข็งมีความยั่งยืนต่อไป ดังนั้น การเพิ่มหน่วยการเรียน “การอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด” ที่นำผลงานวิจัยด้านการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นส่วนหนึ่งของเนื้อหา จึงมีความเป็นไปได้อย่างยิ่ง เพราะโรงเรียนมีอิสระในการบริหารการเรียนรู้และการจัดการเรียนการสอนที่มีเป้าหมายจัดการศึกษาร่วมกับชุมชน เช่น การจัดทำสาระหลักสูตร ปรับโครงสร้างหลักสูตรให้ยืดหยุ่นและสอดคล้องกับสภาพท้องถิ่น ใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่นและแหล่งเรียนรู้ในชุมชน จัดการเรียนรู้โดยมุ่งเน้นผู้เรียนเป็นสำคัญออกแบบกิจกรรมการเรียนให้ผู้เรียนมีคุณภาพ ตามมาตรฐานที่หลักสูตรกำหนด (สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐาน, 2548) ดังนั้น หน่วยการเรียน “การอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด” จึงเป็นการออกแบบกิจกรรมการเรียนให้ผู้เรียนได้บูรณาการกระบวนการเรียนรู้โดยใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่นและแหล่งเรียนรู้ในชุมชน พัฒนากระบวนการจัดการเรียนรู้ให้สอดคล้องกับความต้องการของท้องถิ่น ทำให้ผู้เรียนรู้จักท้องถิ่นของตนเองมากขึ้น เกิดความคิด ความภาคภูมิใจ ตลอดจนความผูกพันกับท้องถิ่น และใช้ประโยชน์จากทรัพยากรที่มีในท้องถิ่นอย่างยั่งยืน ส่งผลให้เกิดการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนในอนาคต

2) บูรณาการในงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน โดยกำหนดให้ “กระจูด” เป็นพืชศึกษา ในงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียนเป็นงานสร้างจิตสำนึกในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดที่นักเรียนได้สัมผัส เกิดการเรียนรู้ การสร้างและปลูกฝังคุณธรรม การเสริมสร้างปัญญาและภูมิปัญญาด้านทรัพยากรกระจูดและการใช้ประโยชน์ (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี, 2549) ดังนั้น โรงเรียนสามารถนำองค์ความรู้เกี่ยวกับการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ใช้ในการดำเนินกิจกรรมตามองค์ประกอบทั้ง 5 องค์ประกอบได้ครบถ้วน ดังนี้

(1) องค์ประกอบที่ 1 การจัดทำป้ายชื่อ เพื่อให้นักเรียนรู้จักชื่อกระจูดจากการสัมผัส

(2) องค์ประกอบที่ 2 การรวบรวมพันธุ์กระจูดเข้าปลูกในโรงเรียน มีการศึกษาค้นคว้าเพื่อให้ได้ชื่อที่ถูกต้องตามวิธีการทำป้ายชื่อ บันทึกแหล่งที่เก็บรวบรวมข้อมูลและการใช้ประโยชน์ของท้องถิ่น

(3) องค์ประกอบที่ 3 การศึกษาข้อมูลด้านต่าง ๆ เช่น การศึกษาด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา การปลูก การขยายพันธุ์ การศึกษาธรรมชาติแห่งชีวิต รู้การเปลี่ยนแปลง รู้ความแตกต่าง เห็นคุณประโยชน์ และรู้ค่าของทรัพยากรกระจูด

(4) องค์ประกอบที่ 4 การเขียนรายงาน โดยนำผลการศึกษามาเขียนรายงานแบบวิชาการ การเขียนรายงานเชิงพรรณนา คุณธรรม คติธรรม เป็นข้อมูลเก็บไว้ในมุมของสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน และมีการนำเสนอซึ่งจะก่อให้เกิดผู้เชี่ยวชาญท้องถิ่นด้านกระจูด

(5) องค์ประกอบที่ 5 การนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ โดยการบูรณาการวิชาการในการเรียนการสอน เช่น บูรณาการวิชาวิทยาศาสตร์ ภาษาไทย ภาษาอังกฤษ คณิตศาสตร์ ศิลปะ เกษตร สุขศึกษา สังคมศึกษา พุทธศาสนา เป็นต้น บูรณาการในการใช้ประโยชน์ทางสังคมและสิ่งแวดล้อม ใช้ประโยชน์ด้านการอนุรักษ์ การขยายพันธุ์และการปลูก เช่น การทำโครงงานวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับการปลูกกระจูด โดยใช้ต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อศึกษาอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลต่อเจริญเติบโตของกระจูด

แนวทางการใช้ประโยชน์จากผลงานวิจัยที่กล่าวมานี้ ทำให้เกิดความร่วมมือร่วมใจกันระหว่างโรงเรียนกับชุมชน ครู นักเรียน และผู้ปกครอง นักเรียนได้ซึมซับและมีจิตสำนึกในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด เกิดนักอนุรักษ์พัฒนาบนฐานเศรษฐกิจพอเพียง และโรงเรียนจะเป็นแหล่งข้อมูลพืชพรรณและภูมิปัญญาท้องถิ่นของทรัพยากรกระจูด สอดคล้องกับ Motaleb (2010) ที่รายงานว่า การปลูกฝังแนวคิดในการอนุรักษ์ทรัพยากรให้คนรุ่นใหม่ ควรใช้วิธีการการเรียนรู้ระหว่างครูกับนักเรียน และเด็กกับพ่อแม่ เนื่องจากความรู้ถูกถ่ายทอดจากครูสู่นักเรียน จากนักเรียนสู่พ่อแม่ ญาติ และเพื่อนบ้าน

# บทที่ 5

# บทสรุปและข้อเสนอแนะ

## บทสรุป

### 1. การขยายพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สรุปผลการศึกษาการขยายพันธุ์กระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังต่อไปนี้

1.1 ดอกกระจูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที มีความปลอดเชื้อสูงสุด แต่ไม่สามารถชักนำการเกิดหน่อได้ในอาหารทุกสูตร

1.2 ผลกระจูดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที มีความปลอดเชื้อสูงสุด แต่ไม่สามารถชักนำการเกิดหน่อได้ในอาหารทุกสูตร

1.3 หน่อสองหน่อติดกันที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที ให้หน่อที่มีชีวิตสูงสุด และสามารถชักนำการเกิดหน่อใหม่ได้ ในอาหารที่เติม BA ทุกความเข้มข้น โดยเกิดหน่อมากที่สุดในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนหน่อเฉลี่ย $3.33 \pm 0.69$ หน่อ และหน่อมีความสูงเฉลี่ย $5.50 \pm 0.55$ เซนติเมตร ลำดับที่ของหน่อที่นำมาเพาะเลี้ยงมีผลต่อการเกิดหน่อใหม่ โดยหน่อที่ประกอบด้วยหน่อที่ 1 กับหน่อที่ 2 (สองหน่อติดกัน) ให้หน่อใหม่จำนวนมากกว่าหน่อที่ 1 และหน่อที่ 2 ที่แยกเพาะเลี้ยงเป็นหน่อเดี่ยว ๆ

1.4 ดอกกระจูดที่อยู่ภายในใบประดับยาว 1 มิลลิเมตร เกิดหน่อใหม่ในอาหารสูตร MS เติม BA ทุกความเข้มข้น โดย BA ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยเท่ากัน คือ $1.00 \pm 0.00$ หน่อ

1.5 การเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยสูงสุด $4.08 \pm 0.83$ หน่อ แต่หน่อมีความสูงมากที่สุดเฉลี่ย $4.55 \pm 0.64$ เซนติเมตร ในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่การ

เพาะเลี้ยงหน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงดอก ให้หน่อรวมมากที่สุด 12.00 ± 2.16 หน่อในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสูงเฉลี่ย 4.60 ± 0.37 เซนติเมตร

1.6 ดอกกระจูดขนาด 0.3 เซนติเมตร และลำต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไม่สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้บนอาหารที่มี 2,4-D ทุกความเข้มข้น ทั้งในที่มืดและที่มีแสงสว่าง

1.7 หน่อกระจูดสูง 2 เซนติเมตร สร้างรากจำนวนมากที่สุดเฉลี่ย 1.90 ± 0.74 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 1.75 ± 1.41 เซนติเมตร ในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชร่วมกับเติมผงถ่านความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

1.8 ต้นกระจูดที่มีรากอย่างน้อยจำนวน 2 ราก เมื่อปรับสภาพโดยปลูกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทรายหยาบ ขุยมะพร้าว และขี้เถ้าแกลบอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายปลูกในกระถางที่มีทรายหยาบ ดินลูกรัง และมูลโค อัตราส่วน 2 : 1 : 1 ในสภาพชุ่มน้ำเป็นเวลา 2 สัปดาห์ มีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และแตกหน่อใหม่เฉลี่ย 2.50 ± 0.71 หน่อ

**2. การเก็บรักษาพันธุ์กระจูดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีชะลอการเจริญเติบโต**

2.1 การเก็บรักษาหน่อกระจูดสูง 1 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าหน่อกระจูดมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุดในอาหารสูตร ½ MS ที่เติมสารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต ดังนี้

2.1.1 อาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับแมนนิทอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 5.50 ± 1.29 หน่อ หน่อมีความสูงเฉลี่ย 5.09 ± 0.24 เซนติเมตร

2.1.2 อาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับซอร์บิทอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 6.50 ± 1.73 หน่อ หน่อมีความสูงเฉลี่ย 4.57 ± 0.26 เซนติเมตร

2.1.3 อาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 13.00 ± 1.15 หน่อ หน่อมีความสูงเฉลี่ย 1.31 ± 0.15 เซนติเมตร

2.2 หน่อกระจูดสูง 1 เซนติเมตร ที่มีอายุการเก็บรักษา 6 เดือน ในอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับพาโคลบิวทราโซลเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรมีการแตกหน่อใหม่มากที่สุดเฉลี่ย 6.75 ± 0.96 หน่อ และหน่อมีความสูงเฉลี่ย 4.51 ± 1.71

เซนติเมตร เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หน่อมีลักษณะปกติ

2.3 เมล็ดเทียมที่ผลิตจากการนำปลายยอดมาหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การงอกมากกว่าการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน เมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยอาหารสูตรที่ไม่เติมพาโคลบิวทราโซลมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าทั้งที่อายุ 3 และ 6 เดือน คือ $66.67 \pm 0.49$ และ $26.67 \pm 0.46$ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.4 เมล็ดเทียมกระจูดอายุ 3 เดือน ที่มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีการแตกหน่อมากที่สุดเฉลี่ย $4.90 \pm 1.10$ หน่อ หน่อมีความสูงเฉลี่ย $4.72 \pm 0.39$ เซนติเมตร และหน่อมีลักษณะปกติ

## 3. แนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

### 3.1 สาเหตุที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลง

สาเหตุสำคัญที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดมีปริมาณลดลงเรียงลำดับความสำคัญได้ดังนี้

1) การบุกรุกพื้นที่ป่าพรุเพื่อยึดครองที่ดินนำไปปลูกปาล์มน้ำมันของกลุ่มนายทุน

2) การเปลี่ยนวิธีเก็บเกี่ยวกระจูดจากการถอนมาเป็นการตัดด้วยเคียวหรือการขุดทั้งกอ และปัจจุบันตัดด้วยเครื่องตัดหญ้าแบบสะพายหลัง เป็นผลมาจากความต้องการตัดกระจูดให้ได้ปริมาณมาก และสภาพดินที่แข็งกว่าอดีตทำให้ถอนลำบาก

3) การตัดกระจูดปริมาณมากเพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดที่เพิ่มสูงขึ้น

4) ค่าครองชีพที่สูงขึ้น คนขาดความพอเพียง ทำให้มีการตัดกระจูดปริมาณมากขึ้น เพื่อให้มีรายได้เพียงพอกับค่าใช้จ่ายในครัวเรือน

5) การเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศป่าพรุ เช่น การขุดคลองผ่านป่าพรุ ไฟไหม้ป่าพรุที่เกิดตามธรรมชาติมีผลกระทบไม่มากนัก และไฟไหม้ป่าพรุกลับเป็นปัจจัยที่ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของกระจูด หากปีใดไม่มีไฟไหม้และไม่มีน้ำท่วมขังในป่าพรุ ปีนั้นกระจูดจะไม่เจริญ เติบโตงอกงาม

สาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้ทรัพยากรกระจูดในพื้นที่ชุ่มน้ำพรุควนเคร็งและตำบลเคร็งมีปริมาณลดลง คือ การบุกรุกพื้นที่ป่าพรุเพื่อยึดครองที่ดินนำไปปลูกปาล์มน้ำมันของกลุ่มนายทุน

**3.2 วิธีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชนและแนวคิดในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด**

1) ชุมชนยังไม่มีการดำเนินการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดในตำบลเคร็ง

2) แนวคิดในการนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดในตำบลเคร็ง มีดังนี้

(1) จะจัดทำแปลงอนุรักษ์กระจูดในป่าพรุที่เป็นสาธารณะหรือเป็นพื้นที่สงวน แล้วปลูกต้นเสม็ดล้อมไว้ ปักป้ายแสดงเป็นแปลงอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด จัดทำป้ายนิเทศให้ความรู้เกี่ยวกับกระจูด จัดให้มีหน่วยงานมาร่วมมาดูแล และในวันสำคัญต่าง ๆ ควรนำนักเรียนมาร่วมกันปลูกกระจูดในแปลงนี้ไว้สำหรับการขยายพันธุ์ต่อไปในพื้นที่ป่าพรุ

(2) องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง จะจัดทำโครงการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดโดยการนำกระจูดมาปลูกในวงบ่อซิเม็นต์บริเวณองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง มีป้ายนิเทศแสดงชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ และป้ายแสดงความรู้ต่าง ๆ เกี่ยวกับลักษณะพฤกษศาสตร์ ความสำคัญและการใช้ประโยชน์จากกระจูด เป็นต้น

(3) โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา ใช้กระจูดเป็นพืชศึกษาในดำเนินการงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี

**3.3 ความคิดเห็นเกี่ยวกับผลงานวิจัยและแนวทางการใช้ประโยชน์จากการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

1) การอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นองค์ความรู้ใหม่ของชุมชน ชุมชนมองว่าเป็นวิธีการที่สำคัญและมีประโยชน์มาก หากมองว่าในอนาคตข้างหน้าเกิดการเปลี่ยนแปลงแหล่งกระจูดตามธรรมชาติจากการบุกรุกพื้นที่เพื่อปลูกปาล์มน้ำมัน กระจูดก็คงจะสูญพันธุ์ไป ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระจูดอาจทำให้มีพันธุ์กระจูดไว้สำรองเมื่อกระจูดใกล้สูญพันธุ์จริง ๆ

2) ให้โรงเรียนเป็นแหล่งนำองค์ความรู้จากผลงานวิจัยใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการเรียนการสอนที่บูรณาการเข้ากับหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น ที่จัดการเรียนการสอนอยู่แล้ว 2 รายวิชา คือ ผลิตภัณฑ์กระจูด 1 และผลิตภัณฑ์กระจูด 2 โดยสร้างหน่วยการเรียนเพิ่มเติม เช่น หน่วยอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด และบูรณาการในงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน

**3.4 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของชุมชน**

1) การสร้างความตระหนักและกระตุ้นให้ชุมชนมีส่วนร่วมในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด

2) ประชาสัมพันธ์ให้หน่วยงานที่มีความเกี่ยวข้องกับชุมชนและทรัพยากรธรรมชาติ ได้รับรู้ถึงความร่วมมือกันระหว่างองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง โรงเรียน และชุมชนในการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดหรืออนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด

3) ของบประมาณสนับสนุนในการดำเนินงานจาก โครงการพัฒนาพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนังอันเนื่องมาจากพระราชดำริ โครงการพัฒนาลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา องค์การบริหารส่วนจังหวัดนครศรีธรรมราช และบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) หรือ ปตท. เป็นต้น

4) การจัดทำหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น หน่วยการเรียนอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด จะขอความร่วมมือด้านองค์ความรู้จากผู้วิจัย

**ข้อเสนอแนะ**

**1. ข้อเสนอแนะเชิงนโยบายเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมของกระจูด**

การที่ปริมาณกระจูดลดลงอย่างรวดเร็วในปัจจุบัน ย่อมส่งผลให้พันธุกรรมของกระจูดมีแนวโน้มลดลงหรืออาจสูญหายได้ในอนาคต เนื่องจากพันธุกรรมกระจูดมีความสำคัญ มีคุณค่า และมีประโยชน์ทางเศรษฐกิจและสังคม การให้บริการชีวิตมนุษย์ ตลอดจนมีความผูกพันกับวิถีชีวิตและวัฒนธรรมของท้องถิ่น เมื่อมีการสูญหายของพันธุกรรมกระจูด จะทำให้ขีดความสามารถของการพัฒนาผลิตภัณฑ์กระจูดและการนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ อาจลดลงได้ทั้งในปัจจุบันและอนาคต ผู้วิจัยจึงขอเสนอแนะกิจกรรมเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ดังนี้

**1.1 ข้อเสนอแนะต่อโรงเรียน**

1.1.1 กำหนดไว้ในหลักสูตรสถานศึกษา สาระการเรียนรู้ท้องถิ่น รวมทั้งให้บูรณาการในการจัดการเรียนการสอนกลุ่มสาระการเรียนรู้ 8 กลุ่มสาระ ได้แก่ สาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ ศิลปะ ภาษาไทย ภาษาต่างประเทศ สังคมศึกษา ศาสนา และวัฒนธรรม การงานอาชีพและเทคโนโลยี และกลุ่มสาระการเรียนรู้สุขศึกษาและพลศึกษา โดยคำนึงถึงความถูกต้องเหมาะสม และสอดคล้องกับบริบทของวิชาและระดับของผู้เรียน

1.1.2 จัดให้มีงานสวนพฤกษศาสตร์ในโรงเรียน โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี และกำหนดกระจูดเป็นพืชศึกษา

1.1.3 จัดการเรียนการสอนโดยใช้กระบวนการวิจัยผ่านวิธีการสอนต่าง ๆ ที่เน้นการใช้กระบวนการคิด หรือกระบวนการวิจัยอย่างง่าย เช่น การจัดการเรียนการสอนแบบโครงงาน การจัดการเรียนการสอนแบบใช้วิจัยเป็นฐาน เป็นต้น

1.1.4 จัดบอร์ดนิทรรศการผลงานการประกวดกิจกรรมที่เกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด เช่น โครงงานวิทยาศาสตร์ โครงงานสังคมศึกษา เรียงความ ภาพจิตรกรรม เป็นต้น

1.1.5 จัดทำฐานข้อมูลพันธุกรรมกระจูดที่สามารถเข้าถึงได้อย่างแพร่หลาย

**1.2 ข้อเสนอแนะต่อองค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง**

1.2.1 เสริมสร้างความตระหนักแก่สาธารณชนเกี่ยวกับความสำคัญและความจำเป็นในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด โดยการประชาสัมพันธ์ การเผยแพร่ความรู้และข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับกระจูด เช่น ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ นิเวศวิทยา วิธีการอนุรักษ์พันธุกรรม คุณค่าทางสังคมวัฒนธรรมและสิ่งแวดล้อม ประโยชน์ เป็นต้น ร่วมกับชุมชนรักษาความรู้ดั้งเดิมและภูมิปัญญาท้องถิ่นเกี่ยวกับการปลูก การเก็บเกี่ยวผลผลิต ตลอดจนการแปรรูปผลิตภัณฑ์

1.2.2 จัดทำโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดในถิ่นที่อยู่ตามธรรมชาติโดยไม่ถูกคุกคาม หรือมีการใช้มาตรการการจัดการในถิ่นที่อยู่ตามธรรมชาติตามข้อตกลงของชุมชนในพื้นที่

1.2.3 จัดทำฐานข้อมูลพันธุกรรมกระจูดที่สามารถเข้าถึงได้อย่างแพร่หลาย

1.2.4 จัดหาแหล่งทุนสนับสนุนการดำเนินงานในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดของโรงเรียน

1.2.5 บริการความรู้เรื่องกระจูดแก่ผู้สนใจทั่วไป เกษตรกร และองค์กรต่าง ๆ ของรัฐและเอกชน

**1.3 ข้อเสนอแนะต่อองค์การบริหารส่วนจังหวัดนครศรีธรรมราช**

1.3.1 ส่งเสริมการศึกษาและเสริมสร้างความตระหนักแก่สาธารณชนเกี่ยวกับความสำคัญและความจำเป็นในการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด ทั้งการศึกษาในระบบและนอกระบบทุกระดับ ตั้งแต่การศึกษาขั้นพื้นฐานไปจนถึงการศึกษาขั้นสูง โดยมีกลุ่มเป้าหมายเป็นนักเรียน นักศึกษา เยาวชน และสาธารณชนทั่วไป

1.3.2 ให้มีการเก็บรักษาพันธุ์กระจูดไว้นอกถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติในสภาพของตัวอย่างที่มีชีวิต (living collection) เช่น สวนพฤกษศาสตร์ สถานที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.3.3 ให้มีการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดในถิ่นที่อยู่ตามธรรมชาติและกำหนดให้มีพื้นที่ปกปักพันธุกรรมกระจูดในถิ่นที่อยู่ตามธรรมชาติของแต่ละอำเภอหรือแต่ละตำบลที่มีกระจูด

1.3.4 จัดทำฐานข้อมูลพันธุกรรมกระจูดที่สามารถเข้าถึงได้อย่างแพร่หลาย

1.3.5 จัดทำเว็บไซต์เพื่อเผยแพร่ความรู้ด้านความหลากหลายของกระจูด

1.3.6 ผลิตสื่อเพื่อใช้ในการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์กระจูดอย่างยั่งยืน เช่น แผ่นพับ จุลสาร สารคดี เป็นต้น

1.3.7 จัดตั้งเครือข่ายเพื่อการดำเนินงานอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด เป็นการเพิ่มช่องทางในการสื่อสาร แลกเปลี่ยนข้อมูล ข่าวสาร เทคโนโลยี องค์ความรู้ หรือวิธีการที่เป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์ รวมทั้งช่วยในการกำหนดแนวทางแก้ไขปัญหา แนวทางในการกำหนดมาตรการเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูด

1.3.8 จัดอบรมเชิงปฏิบัติการ สัมมนาทางวิชาการ และนำเสนอผลงานวิจัยเกี่ยวกับสถานภาพ การขยายพันธุ์ การเก็บรักษาพันธุ์ และการใช้ประโยชน์กระจูด

**1.4 ข้อเสนอแนะต่อกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืชกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม**

1.4.1 จัดทำแผนการจัดการแหล่งทรัพยากรกระจูดอย่างยั่งยืน เน้นการหลีก-เลี่ยงการเก็บเกี่ยวผลผลิตกระจูดในปริมาณมากเกินความเหมาะสม มุ่งการแบ่งปันผลประโยชน์อย่างยุติธรรมและเท่าเทียมกัน และการมีส่วนร่วมของชุมชนท้องถิ่น

1.4.2 จัดทำแผนที่แสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนและพื้นที่แหล่งธรรมชาติของกระจูด

1.4.3 ดำเนินการฟื้นฟูและคืนสภาพให้แก่ระบบนิเวศป่าพรุแหล่งธรรมชาติของกระจูด

1.4.4 จัดทำโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมกระจูดในพื้นที่พรุควนเคร็ง

1.4.5 ประมวลผลงานวิจัยและพัฒนาฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพและระบบนิเวศวิทยาป่าพรุ

**2. ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยครั้งต่อไป**

2.1 จากผลการวิจัยพบว่า สามารถชักนำการเกิดหน่อได้จากดอกอ่อนกระจูดที่อยู่ภายในใบประดับขนาดความยาว 1 มิลลิเมตร ที่ตัดจากลำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยง และหน่อที่ได้นี้มีการเพิ่มปริมาณได้จำนวนมากกว่าหน่อที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูด จึงควรตรวจหาระยะพัฒนาการของดอก และตรวจสอบพันธุกรรมของต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงดอกอ่อนและหน่อกระจูด

2.2 ควรศึกษาวิธีการปลูกและปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของต้นกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมื่อปลูกในสภาพธรรมชาติจนสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ทั้งในและนอกถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ เช่น จำนวนหน่อเริ่มต้น ระยะปลูก ปัจจัยวัสดุปลูก ความเป็นกรด-ด่างของดิน ภาชนะที่ใช้ปลูก เป็นต้น

# เอกสารอ้างอิง


กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. แผนพัฒนาอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์ม ปี 2551-2555. กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม. 2555. จนท.รังวัด"แจ้งความ" ควานหามือเผาป่าพรุ. แหล่งข้อมูล http://www.deqp.go.th/index.php?option=com..., (เข้าถึงเมื่อ 12/12/2555).

เกษม จันทร์แก้ว, สากล สถิตวิทยานันท์, สนิท อักษรแก้ว และสมพร อิศวิลานนท์. 2543. สิ่งแวดล้อมกับคุณภาพชีวิต. *ใน* สิ่งแวดล้อมเทคโนโลยีและชีวิต, น. 132-209. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี. 2549. แผนแม่บทโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ระยะ 5 ปีที่ 4 ( ตุลาคม 2549-กันยายน 2555). กรุงเทพฯ : โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี สวนจิตรลดา.

จักรสานบ้านกวี. ม.ป.ป. กระจูดคืออะไร. แหล่งข้อมูล http:// baankawee.com/kajood1.html, (เข้าถึงเมื่อ 01/05/2555).

เฉลิมพร รูปสง. 2554. การวิเคราะห์การใช้ประโยชน์ผลผลิตกระจูดอย่างยั่งยืน ในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง บ้านกุมแป อำเภอชะอวด จังหวัดนครศรีธรรมราช. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เฉลิมพล แซมเพชร. ม.ป.ป. สรีรวิทยาการผลิตพืชไร่. เชียงใหม่: ภาควิชาพืชไร่นา คณะวิชาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ทิพย์อักษร มันปาติ. 2549. จับตาปาล์มน้ำมันกับการหายไปของป่าพรุ. สำนักข่าวประชาธรรม 3 กรกฎาคม 2549.

นรารัตน์ พรหมศร. 2547. การขยายพันธุ์และเก็บรักษาต้นกล้วยหิน (*Musa balbissiana* ‘Kluai Hin’) ในสภาพปลอดเชื้อ. สงขลา : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

น้องนุช พจน์ชัยกุล. 2542. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมอ้อยในหลอดทดลอง. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นฤมล ขุนวีช่วย. 2555. พลวัตการใช้ประโยชน์ทรัพยากรป่าพรุควนเคร็ง. *ใน* การจัดการและการใช้ประโยชน์ทรัพยากรป่าพรุควนเคร็งอย่างยั่งยืน. น. 19-35. นครศรีธรรมราช : มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

บ้านเมือง. 2555. ไฟป่าพรุควนเคร็งเสียหายแล้วนับหมื่นไร่. แหล่งข้อมูล http://www.banmuang.co.th/2012/08/ไฟป่าพรุเคร็งเสียหาย/, (เข้าถึงเมื่อ 12/12/2555).

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น : คลังนานาวิทยา.

ปิยวรรณ เนื่องมัจฉา และประวิทย์ เนื่องมัจฉา. 2555. ผลกระทบของการใช้ประโยชน์ที่ดินต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและดินในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง. *ใน* การจัดการและการใช้ประโยชน์ทรัพยากรป่าพรุควนเคร็งอย่างยั่งยืน. น. 75-90. นครศรีธรรมราช : มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

ผู้จัดการออนไลน์. 2555. ไฟไหม้ป่าพรุเหมือนทุบหม้อข้าวชาวบ้านหาเช้ากินค่ำ. แหล่งข้อมูล http://www.manager.co.th/south/viewnews.aspx?NewsID=9550000102394, (เข้าถึงเมื่อ 12/9/2555).

มณฑา วงศ์มณีโรจน์. 2540. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ. *ใน* เอกสารประกอบการอบรมทางวิชาการ เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชั้นสูง, น. 31-39. ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลองพืชทดลอง. นครปฐม : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน.

มูลนิธิสารานุกรมไทย. 2542. สารานุกรมวัฒนธรรมไทย ภาคใต้ เล่ม 1. กรุงเทพฯ : มูลนิธิสารานุกรมไทย ธนาคารไทยพาณิชย์.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2538. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. กรุงเทพฯ : เพื่อนพิมพ์.

ลัดดาวัลย์ มูสิกะปาละ. 2552. เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์หญ้าแฝกพันธุ์สงขลา 3 (*Vetiveria zizanioides* Nash) ในไนโตรเจนเหลว. สงขลา: วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วราพร ศรีสุพรรณ. 2536. หลักการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืน. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการประเพณี ครั้งที่ 3, น. 319-333. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล.

วรารัตน์ เกียรติเมธา. 2549. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมของมังคุด (*Garcinia mango*stana L.) และลองกอง (*Lansium domesticum* Corr.) ในสภาพปลอดเชื้อ. นครศรีธรรมราช : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.

วรัญญา จันทราทิพย์. 2556. ม.เกษตรเสนองานวิจัยชิ้นแรกของไทย..แก้ปัญหาไฟไหม้เรื้อรังป่าพรุควนเคร็งป่าพรุผืนสุดท้ายของภาคใต้ตอนบน. แหล่งข้อมูล http:///www.greenewstv.com/ ม-เกษตรเสนองานวิจัยชิ้น/, (เข้าถึงเมื่อ 24/10/2556).

วัชนะ บุญชัย และกิตติพงษ์ เกิดสว่าง. 2549. การศึกษาพฤกษศาสตร์กกกระจูด (*Lepironia articulata*) เพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. ระยอง : ศูนย์รวมพรรณไม้ภาคตะวันออก องค์การสวนพฤกษศาสตร์.

วิชัย หวังวโรดม. 2545. ความมีชีวิตของเมล็ดมังคุดที่เก็บรักษาในสภาพชื้นและแห้ง. วารสารวิชาการเกษตร 20 : 169-174.

ศุกลภัทร รักษ์ทอง, เสาวภาพร เดชเปีย, อรัญญา คงจันทร์ และศิริเพชร คงจันทร์. 2553. โครงการยุววิจัยประวัติศาสตร์ท้องถิ่น โครงการกระจูดกับวิถีการผลิตของคนเคร็ง : จากยุคใช้สอยสู่ยุคการผลิตภัณฑ์สินค้า. นครศรีธรรมราช: โรงเรียนชะอวดเคร่งธรรมวิทยา.

ศิริกุล เกษา, พัชรา ลิมปนะเวช, สุมิตรา คงชื่นสิน ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ และพรชัย จุฑามาศ. 2549. การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จำปีสิรินธร *Magnolia sirindhorniae* Noot. and *Chalermglin* ในหลอดทดลองโดยเก็บรักษาในสภาวะชะลอการเจริญเติบโตและการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว. *ใน* เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 : สาขาพืช. น. 688-694. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถานีพัฒนาที่ดินนครศรีธรรมราช. 2550. รายงานผลการดำเนินงานปีงบประมาณ 2550 งานพัฒนาที่ดิน โครงการพัฒนาพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนครศรีธรรมราช. สถานีพัฒนาที่ดินนครศรีธรรมราช สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 11 กรมพัฒนาที่ดิน.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2552. โครงการสำรวจสถานภาพพื้นที่ชุ่มน้ำประเภทพรุของประเทศไทย: รายงานฉบับสมบูรณ์ เล่ม 1 ความเป็นมาและภาพรวมผลการศึกษา. แหล่งข้อมูล http://wetland.onep.go.th/wetlands/wetland_peat/wetland/frontend/theme/download/html, (เข้าถึงเมื่อ 12/06/2555).

สมบูรณ์ เจริญจิระตระกูล, อาแว มะแส, ปราโทย์ แก้ววงศ์ศรี และปริญญา บัณฑิโต. 2545. การวางแผนเพื่อการจัดการทรัพยากรในพรุควนเคร็ง : การวิเคราะห์ความต้องการฝึกอบรมเพื่อการจัดการทรัพยากรที่ยั่งยืน. สงขลา : รายงานการวิจัย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมปอง เตชะโต. 2538. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเศรษฐกิจ หลักการและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมปอง เตชะโต และลัดดาวัลย์ มูสิกะปาละ. 2549. การผลิตเมล็ดเทียมหญ้าแฝกเพื่อปลูกอนุรักษ์ดินและน้ำภาคใต้. สงขลา: รายงานการวิจัย ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ส่วนควบคุมไฟป่า. 2555. ประมวลสรุปสถานการณ์การดำเนินการควบคุมไฟป่าในพื้นที่ป่าพรุควนเคร็ง (ในห้วงเดือนมิถุนายน – สิงหาคม 2555). ส่วนควบคุมไฟป่า สำนักป้องกันปราบปรามและควบคุมไฟป่า กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. แหล่งข้อมูล http://www.dnp.go.th/forestfire/2555/Fire_June-Aug55.pdf, (เข้าถึงเมื่อ 12/12/2555).

สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐาน. 2548. การบริหารแบบยึดโรงเรียนเป็นฐาน. กรุงเทพฯ: โครงการหนึ่งอำเภอ หนึ่งโรงเรียนในฝัน.

สำนักนิติการ กระทรวงศึกษาธิการ. ม.ป.ป. พระราชบัญญัติการศึกษาแห่งชาติ พ.ศ. 2542 และแก้ไขเพิ่มเติม (ฉบับ ที่ 2) พ.ศ. 2545 และ (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2553. แหล่งข้อมูล http://www.ed-law.moe.go.th/law_1.php, (เข้าถึงเมื่อ 20/10/56).

สุภาคย์ อินทอง. ม.ป.ป. หัตถกรรมกระจูดภาคใต้. สงขลา : สถาบันทักษิณคดีศึกษา มหาวิทยาลัยทักษิณ.

สุพัทธ์ พู่ผกา, มนตรี อิสรไกรศีล, นุสนธ์ สงเอียด, ปิติวงษ์ ตันติโชดก และอุทัย ดุลยเกษม. 2548. การศึกษาลำดับความสำคัญของปัญหาและความต้องการของประชาชน เพื่อการวิจัยและพัฒนาพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง. นครศรีธรรมราช : มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.

สุพพัต เหมทานนท์. 2555. การศึกษาสภาพเศรษฐกิจ สังคม และการใช้ประโยชน์ที่ดินบริเวณพรุควนเคร็ง. *ใน* การจัดการและการใช้ประโยชน์ทรัพยากรป่าพรุควนเคร็งอย่างยั่งยืน. น. 9-18. นครศรีธรรมราช : มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. วัชพืชในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แพร่พิทยา.

หนังสือพิมพ์ไทยโพสต์. 2556. สกัดไฟป่าพรุควนเคร็ง. แหล่งข้อมูล http://www.ryt9.com/s/tpd/1715593, (เข้าถึงเมื่อ 24/10/2556).

องค์การบริหารส่วนตำบลเคร็ง. ม.ป.ป. สภาพและข้อมูลพื้นฐาน. แหล่งข้อมูล http://www.kreang.go.th/, (เข้าถึงเมื่อ 09/12/2555).

อนุรักษ์ ปิ่นทอง. ม.ป.ป. พื้นฐานวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม. แหล่งข้อมูล http://reg.k.su.ac.th/teacher/anurak/Lesson5.htm., (เข้าถึงเมื่อ 15/10/2556).

อภิชาติ วรรณวิจิตร. 2548. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 28 เรื่องที่ 5 เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร: การสร้างเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมและการเก็บรักษาพันธุ์พืชและพันธุ์สัตว์. แหล่งข้อมูล http://kanchanapisek.or.th/kp6/New/sub/book/book.php?book=28&Chap=5&page=t28-5-suggestion.html, (เข้าถึงเมื่อ 1/06/2555).

Addison, E. L. 1952. The growth of exised immature sedge embryo in culture. Bulletin of the Torrey Botanical Club 79 : 59-62.

Al-Kaabi, H. H., Rhiss, A. and Hassan, M. A. nd. Effect of auxins and cytokinins on the *in vitro* production of date palm (*Phoenixda ctylifer* L.) bud generative tissues and on the number of differentiated buds. UAE University, Plant Tissue Culture Laboratory. [Online] Available: http://www.pubhort.org/datepalm/Datepalm2/datepalm2 6.pdf. (accessed on 20/06/2013)

Al-Khayri, J. M, Shamblin, C. E., McNew, R. W. and Anderson, S. E. 1996. Callus induction and plant regeneration of U.S. rice genotypes as affected by medium constituents. *In vitro* Cellular and Development Biology-Plant 32: 227-232.

Andrea, K., Shane, T. and John, D. 2010. *In situ* seed development and *in vitro* regeneration of three diffult-to-propagate *Lepidosperma* species (Cyperaceae). Australian Journal of Botany 58 : 107-114.

Anonymous. 2011. Lepironia articulata. [Online] Available: http://www.survival.org.au/bf_Lepironia.php. (accessed on 23/05/2012)

Ara, H., Jasiswall, U. and Jaiswal, V. S. 2000. Synthetic seeds: prospects and limitations. Current Science 78: 1438-1444.

Badr-Elden, A. M., Nower, A. A. and Arafa, A. M. S. 2007. *In vitro* synthetics seeds of *Aechmea fasciata* for germplasm conservation and exchange. Annals of Agricultural Sciencs, Moshtohor 45: 307-324.

Bajaj, Y. P. S. 1995. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organ culture for the conservation of germplasm and biodiversity. *In* Biotechnology in Agriculture and Foresty. (ed. Y. P. S. Bajaj), pp. 3-18. New York : Springer-Verlag.

Ballester, A., Janeiro, L. V. and Vieitez, A. M. 1997. Cold storage of shoot cultures and alginate encapsulation of shoot tips of *Camellia japonica* L. and *Camellia reticulate* Lindley. Scientia Horticulturae 71: 67-78.

Bapat, V. A. and Mhatre, M. 2005. Bioencapsulation of somatic embryos in woody plants. *In* Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plant. (eds. S. M. Jain and P. K. Gupta), pp. 539-552. Dordrecht: Springer.

Baskaran, P., Raja, R. B. and Jayabalan, N. 2005. A simple approach to improve plant regeneration from callus culture of *Sorgum bicolor* for crop improvement. Journal of Agriculture Technology 1: 179-192.

Bhaskaran, S. and Smith, R. H. 1990. Regeneration in cereal tissue culture-A review. Crop Science. 30: 1328-1337.

Bhojwani, S. S. and Razdan, M. K. 1996. Plant Tissue Culture: Theory and Practice: Amsterdam: Elsevier Science B.V.

Bietz, J. A. and Sandford, P. A. 1971. Reaction of sodium hypochlorite with amines and amides: Automation of the method. Analytical Biochemistry 44: 122-133.

Bonner, F. T. 1990. Storage of seeds: potential and limitations for germplasm conservation. Forest Ecology and Management 35 : 35-43.

Caldas, L. S., Haridasan, P. and Ferreira, E. M. 1990. Meios Nutritivos. *In* Técnicas e Aplicações de Culturas de Tecidos de Plantas. (eds. Torres, A. C. and Caldas, L. S.), pp. 37-70. Brasília, ABCTP.

Chaney, W. R. 2008. Growth Retardants: A Promising Tool for Managing Urban Trees. Purdue Extension. Purdue University. [Online] Available: http://www.extension. Purdue.edu/exmedia/FNR/FNR-252-W.pdf. (accessed on 23/08/2012)

Cha-um, S., Nhung, N. T. H. and Kirdmanee, C. 2010. Effect of mannitol-and salt-induced iso-osmotic stress on proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of rice cultivars (*Oryza sativa* L. spp. *Indica*). Pakistan Journal of Botany 42: 927-941.

Chinsuk, A. and Silayoi, B. 2001. Effect of culture media and growing media on Kluai Bep. Kasetsart Journal (Nat. Sci.). 35: 368-377.

Choi, S. O. and Chung, J. D. 1989. Effects of media on multiplication of rhizomes and growth of seedlings through assymbiotic seed germination of oriental Cymbidium. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 30: 294-302.

Cowie, I. D., Short, P. S. and Osterkamp, M. M. 2000. Floodplain Flora: A Flora of the Coastal Floodplains of the Northern Territory, Australia. Australian Biological Resources Study, Canberra.

David, A. S. and Tetsuo, K. 1998. Flora of Thailand: Cyperaceae. Vol. 6 part 4. Forest Herbarium, Royal Forest Department, Bangkok. 266-268.

del CMontalvo-Peniche, M., Iglesias-Andreu, L. G., Mijangos-Cortes, J. O., Nahuat-Dzib, S. L., Barahona-Perez, F., Canto-Flick, A. and Santana-Buzzy, N. 2007. *In vitro* germplasm conservation of Herbanero pepper (*Capsicum chinensis* Jacq.). HortScience 42 : 1247-1252.

George, E.F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture. 2nd ed. Part 1. The Technology. Exegetics Ltd, Basingstoke, UK.

George, P. S. and Ravishankar, G.A. 1997. *In vitro* multiplication of *Vanilla planifolia* using axillaries bud explants. Plant Cell Reports 16: 490-494.

Germana, M. A., Amanuele, P. and Alvaro, S. 1998. Effect of encapsulation on *Citrus reticulate* Balanco somatic embryo conversion. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 55: 235-238.

Gill, K. N., Gill, R, and Gosal, S. S. 2004. Factor enhancing embryogenesis and plant regeneration in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Indian Journal of Biotechnology 3: 119-123.

Golmizaie, A. and Toledo, J. 1998. *In vitro* conservation of potato and sweetpotato germplasm. CIP Program Report 1997-98: 351-356.

Grout, B. 1995. Genetic Preservation of Plant Cells *In Vitro*. New York: Springer.

Hayatsu, H., Pan, H. and Ukita, T. 1971. Reaction of sodium hypochlorite with nucleic acids and their constituents. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 19: 2189-2192.

Hazarika, B. N. 2003. Acclimatization of tissue-cultured plant. Current Science 85: 1704-1712.

Hegazi, G. A. E. 2011. Viability of encapsulation shoot tip of *Capparis orientalis* Duh. Nature and Science 9: 223-228.

Helal, H., Kaabi, A., Rhiss, A. and Hassan, M. A. nd. Effect of auxins and cytokinins on the *in* vitro production of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) bud generative tissue and on the number of differentiated buds. [Online] Available: http://www.pubhort.org/datepalm/datepalm2/datepalm2_6.pdf. (accessed on 23/10/2013)

Horn, W. A. H. 1992. Micropropagation of rose (*Rosa* L.). *In* Biotechnology in Agriculture and Forestry. (ed. Y. P. S. Bajaj), pp. 320-342. New York: Springer.

Huan, L. V. T., Takamura, T. and Tanaka, M. 2004. Callus formation and plant regeneration from callus through somatic embryo structures in *Cymbidium* orchid. Plant Sci. 166: 1443–1449.

Hwang, S. C., Chen, C. L. and Lin, H. L. 1984. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. HortScience 9: 231-233.

Janda, T., Horvath, E., Szalai, G. and Paldi, E. 2007. Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. *In* Salicylic Acid-A Plant Hormone. (eds. S. Hayat and A. Ahmad), pp. 91-150. Dordrecht: Springer.

Jarret, R. L. and Gawel, N. 1991. ABA induced quiescence of sweetpotato *in vitro*. Horticulturae 26: 737.

Jarret, R. L, Rodriguez, W. and Fernandez, R. 1985. Evaluation, tissue culture propagation, and dissemination of 'Saba' and 'Pelipita' plantains in Costa Rica. Scientia Horticulturae 25: 137-147.

Johnston, M. E., Swarbrick, J. T., Wearing, A. H. and Webber, J. H. 1994. The influence of harvesting on the growth and development of the bush harvested sedge, *Caustis dioica.* Proc. 3rd Natl. Worksh for Australian Native Flowers. University of Queensland Colledge, Australia.

Kamada, H. 1985. Artificial seed. *In* Practical Technology on the Mass Production of Clonal Plants. (ed. R. Tanaka), pp. 48. Tokyo: CMC Publisher.

Kanchanapoom, K. and Promsorn, N. 2012. Micropropagation and *in vitro* germplasm conservation of endangered *Musa balbisiana* 'Kluai Hin' (BBB group). Aferican Journal of Biotechnology 11: 6464-6469.

Kantouch, A. and Ardel-Fattah, S. H. 1971. Action of sodium hypochlorite on a-amino acids. Chemicke Zvesti 25: 222-230.

Katouzi, S. S. S., Majd, A., Fallahian, F. and Bernard, F. 2011. Encapsulation of shoot tips in alginate beads containing salicylic acid for cold preservation and plant regeneration in sunflower (*Helianthus annuus* L.) AJCS 11: 1469-1474.

Khor, E. and Loh, C. S. 2005. Artificial seed. *In* Application of Cell Immobilization Biotechnology. (eds. V. Nedovic and R. Willaert), pp. 527-537. Dordrecht: Springer.

Khosravi, P., Kermani, M. J., Nematzadeh, G. A. and Bihamta, M. R. 2007. A protocol for Mass production of *Rosa hybrid* cv. Iceberg through *in vitro* propagation. Iranian Journal of Biotecnology 5: 100-104.

Kim J. Y. and Lee, J. S. 1992. Effect of cultural conditions on rhizome growth and organogenesis of *Cimbidium lancifolium* native Korea *in vitro*. Journal of the Korean Society for Horticultural Science 33:471-476.

Konar, R. N. and Nataraja, K. 1969. Morphogenesis of isolated floral buds of *Ranunculus scelertus* L. *in vitro*. Acta Botanical Neerlandica 18: 680-699.

Lambardi, M., Beneli, C., De Carlo, A., Fabbri, A. and Grassi, S. nd. Medium- and long-term *in vitro* conservation of Olive germplasm (*Olea europaea* L.). IV International Symposium on Olive Growing. [online] Avilable: http://www.actahort.org/books/586/586_14.htm, (acessed on 26/06/2012)

Lisek, A. and Orlikowska, T. 2004. *In vitro* storage of strawberry and raspberry in calcium alginate beads at 4$^{o}$C. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 78: 167-172.

Ma, X. M., Wu, C. F. and Wang, G R. 2011. Application of artificial seeds in rapid multiplication of *Pseudostellaria heterophylla*. Aferican Journal of Biotechnology 10: 15744-15748.

Makowcznska, J. and Andrzejewska-Gole, E. 2005. Somatic seeds of *Plantago asiatica* L. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 75: 17-21.

Mandal, J., Pattnaik, S. and Chand, P. K. 2000. Alginate encapsulation of axillary buds of *Ocimum americanum* L. (hoary basil), *O. basilicum* L. (sweet basil), *O. sanctum* (sacred basil). *In vitro* Cellular and Developmental Biology Plant 36: 287-292.

Maruyama, E., Kinoshita, I., Ishii, K., Shigenag, H., Ohba, K and Saito, A. 1997. Alginate encapsulation technology for the propagation of the tropical forest trees: *Cedrella odorela, Guazuma crinite, Jacaranda mimosaefolia* D. Don. Silvae Genetica 46: 17-23.

Matsumoto, T., Mochida, K., Itamura, H. and Sakai, A. 2001. Cryopreservation of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) by vitrification of dormant shoot tips. Plant Cell Reports 20 : 398-402.

Meney, K. A. and Dixon, K.W. 1988. Phenology, reproductive biology and seed development in four rush and sedge species from Western Australia Herbarium. Department of Agriculture, South Perth, Australia.

Meney, K. A. and Dixon, K. W. 1995. *In vitro* propagation of Western Australian Rushes (Restionaceae and related families) by embryo culture. Part 1 *In vitro* embryo culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 41 : 107-113.

Michiba, K., Okamoto, T. and Mii, M. 2001. Increasing ploiding level in cell suspension cultures of *Doritaenopsis* by exogenous application of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Physiol. Planta. 112: 142-148.

Mohamed-Yassen, Y., Davenport, T. L., Splitstoesser, W. E. and Litz, R. E. 1992. A laboratory exercise for teaching tissue culture technique using *Cyperus alternifolius* as a source of explants. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 105 : 215-217.

Mohammad, S. and Ali, M. 2010. Effect of coconut water on callus growth of *Cyamopsis tetragonolobust*. Pharmacia 1: 25-27.

Moraes. L. and Faria, R. T. 2005. Activated charcoal for *in vitro* propagation of Brazilian orchids. Acta Horticulturae 683: 383-390.

Motaleb, M. A. 2010. Approaches to conservation of medicinal plants and traditional knowledge: A focus on the Chittagong Hill Tracts. IUCN (International Union for Conservation of Nature), Bangladesh Country Office, Dhaka, Bangladesh.

Motyka, V. and Kamínek, M. 1990. Regulation of cytokinin catabolism in tobacco callus cultures. *In* Progress in Plant Cellular and Molecular Biology. (eds. H. J. J. Nijkamp, L. H. W. Van der Plas and J. Van Aartrijk), pp. 492-497. Dordrecht Boston London: Kluwer Academic Publishers.

Muhammad, S. and Sadar, U. S. 2004. *In vitro* conservation of sugarcane (*Sacchaum officinarum* L.) germplasm. Pakistan Journal of Botany 36: 549-556.

Murashige, T. 1977. Plant cell and organ cultures as horticultural practices. Acta Horticulturae 78: 17-30.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15 : 473-497.

Nakamura, K., Vaario, L. M., Soda, R. and Ide, Y. 1994. Tissue culture of *Shorea Roxburghii*. *In* Proceedings of the International Workshop of Bio-Refor. pp. 132-134. Kanger.

Naik, S. K. and Chand, P. K. 2006. Nutrient-alginate encapsulation of *in vitro* nodal segments of pomegranate (*Punica granatum* L.) for germplasm distribution and exchange. Scientia Horticulturae 108: 247-252.

Nickell, L. G. 1982. Plant Growth Regulators. New York: Springer.

Ninnemann, H., Zeevaart, JAD., Kende, H. and Lang, A. 1964. The plant growth retardant CCC as inhibitor of gibberellin biosynthesis in *Fusarium moniliforme*. Planta. 61: 229-235.

Noggle, G. R. 1983. Introduction Plant Physiology. 2nd ed. New Jersey: Pretice-Hall.

Nower, A. A., Enas, A. M. and Rizkalla, A. A. 2007. Synthetic seeds of pear (*Pyrus communis* L.) rootstock storage *in vitro*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 1: 262-270.

Palmer, M. V. and Palni, L. M. S. 1987. Substrate effects on cytokinin metabolism in soybean callus tissue. Journal of Plant Physiology 126: 365-371.

Pan, M. J. and van Staden, J. 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture-A review. Plant Growth Regulation 26: 155-163.

Panaia, M., Bunn, E. and McComb, J. 2011. Primary and repetitive secondary somatic embryogenesis of *Lepidosperma drummoudii* (Cyperacece) and *Baaloskion tetraphyllum* (Restionaceae) for land restoration and horticulture. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 47 : 379-386.

Panaia, M., Bunn, E., Turner, R. and McComb, J. 2009. Incubation temperature critical to successful stimulation of *in vitro* zygotic embryo growth four Australian native Cyperaceae species. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 97 : 197-202.

Pateli, P., Papafotiou, M. P. and Chronopoulos, J. C. 2004. Comparative effects of four plant growth retardants on growth of *Epidendrum radicans*. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 79: 303-307.

Pattnaik, S., Sahoo, Y and Chand, P. 1995. Efficient plant retrieval from alginate-encapsutated vegetative buds of mature mulberry trees, Scientia Horticulturae 61: 227-239.

Paul, W.J., Taylor, D. and Snezana, D. 1993. Development of an *in vitro* culture technique for conservation of *Saccharum* spp. hybrid germplasm. Plant Cell 34 : 117-222.

Perry, M. C. 1990. International system for germplasm: New crop genetic resources and the international board for plant genetic resources. *In* Advances in New Crops. (eds. J. Janick and J. E. Simon), pp. 75-84. Portland, O. R. : Timber Press.

Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro* Culture of High Plants. Dordrect: Martinus Nijhoff Publishers.

Promsorn, N. and Kanchanapoom, K. 2006. Conservation and Micropropagation of *Musa balbisiana* 'Kluai Hin'. BRT Research Reports 2549: 127-130.

Rai, M. K., Jaiswal, V. S. and Jaiswal, U. 2008. Encapsulation of shoot tips of guana (*Psidium guajava* L.) for short-term storage and germplasm exchange. Scientia Horticulturae 118: 33-38.

Raina, S. K. 1989. Tissue culture in rice improvement: Status and potential. Advances in Agronomy 42: 339-398.

Rao, N. K. 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. African Journal of Biotechnology 3 : 136-145.

Rao, N. K. and Mal, B. 2002. Tropical fruit species in Asia: Diversity and conservation strategies. *In* Proceedings of the International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits. (eds. R. Drew), pp. 179-190. Cairns, Australia : ISHS Acta Horticulture 575.

Rattana, K., Theerakulpisut, P. and Bunnag, S. 2012. The effect of plant growth regulators and organic supplements on callus induction and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). Asian Journal of Plant Sciences 11: 182-189.

Redenbaugh, K., Nichol, J. W., Kossler, M. E. and Paasch, B. D. 1984. Encapsulation of somatic embryos for artificial seed production. *In Vitro* Cellular Developmental Biology-Plant 20: 256-257.

Redenbaugh, K., Passch, B. D., Nichol, J. W., Kossler, M. E., Viss, P. R. and Walker, K. A. 1986. Somatic seeds: encapsulation of asexual plant embryos. Journal of Biotechnology 4: 797-801.

Reed, B. M. 1988. The *in vitro* genebank of temperate fruit and nut crops at the national clonal germplasm repository-corvallis. Consulation on the management of field and *in vitro* Genebanks, CIAT, International Plant Genetic Resource Institute. Rome.

Rishi, K. T., Anuradha, A. and Akkara, Y. 2006. Conservation of *Zingibe*r germplasm through *in vitro* rhizome formation. Scientia Horticulturae 108 : 210-219.

Rossetto, M. 1990. *In vitro* propagation of *Caustis dioica* and *Leptocarpus scariosus.* M.Sc. Thesis, Biochemistry Department, University of Western Australia, Perth.

Rossetto, M., Dixon, K. W., Meney, K. A. and Bunn, E. 1992. *In vitro* propagation of Chinese Puzzle (*Caustis dioica* Cyperaceae) a commercial sedge species from Western Australia. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 30 : 65-67.

Salisbury, F. B. and Loss, C. W. 1985. Plant Physiology. 3rd ed. Wedsworth, Inc Belmont.

Sharma, T. R. and Signh, B. M. 1977. High frequency *in vitro* propagation of disease-Free *Zingiber officinale* Rosc. Plant Cell Reports 17: 68-72.

Shasany, A. K., Khunaja, S. P. S., Dhawan, S., Yadav, V., Sharma, S. and Kumr, S. 1998. High regenerative nature of *Mentha arvensis* internodes. Journal of Biosciences 23: 641-646.

Shibli, R. A. 1991. *In vitro* acclimatization of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. after *in vitro* water stress. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 1:97-100.

Shi, L. C. 2010. *Lepironia articulata* (Retzius) Domin. FOC. 23: 171. [Online] Available:http://flora.huh.harvard.edu/china/mss/volume23/Flora_of_China_Vol_23_Cyperaceae_except_C arex.pdf. (accessed on 23/05/2012)

Sieler, I. M., Rossetto, M. and Dixon, K. W. 1997. Micropropagation of *Caustis dioica* (Chinese Puzzle). Biotechnology in Agriculture and Forestry 39 : 220-231.

Sim, C. H. 2003. The use of constructed wetlands for wastewater treatment. Wetland International-Malaysia Office.

Sim, C. H. 2007. Nutrient removal using common reed (*Phragmites karka*) and tube sedge (*Lepironia articulate*) in a constructed surfaceflow wetland system in Putrajaya, Malaysia. Ph.D. Thesis, University Putra Malaysia.

Singh, A. K., Sharma, M. Varshney, R. Agarwal, S. S. and Bansal, K. C. 2006. Plant regeneration from alginate-encapsulated shoot tips of *Phyllanthus amarus* Schum and Thonn, a medicinally important plant species. *In Vitro* Cellular Developmental Biology-Plant 42: 109-113.

Singh, S. K., Rai, M. K., Asthana, P., Pandey, S., Jaiswal, V. S. and Jaiswal, U. 2009. Plant regeneration from alginate-encapsulation shoot tips of *Spilanthes acmella* (L.) Murr., a medicinally important and herbal pesticidal plant species. Acta Physiol Plant 31: 649-653.

Srivastava, V., Khan, S. A. and Banerjee, S. 2009. An evaluation of genetic fidelity of encapsulated microshoots of the medicinal plant: *Cineraria maritime* following six months of storage. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 99: 193-198.

Standardi, A. and Piccioni, E. 1998. Recent perspective on synthetic seed technology using nonembryogenic *in vitro*-derived explants. International Journal of Plant Sciences 59: 968-978.

Stevens, K. M. and Dowling, R. M. 2002. Wetland Plants of Queensland. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria.

Sudarshana, M. S., Rajashekar, N., Niranjan, M. H. and Borzabad, R. K. 2013. *In vitro* regeneration of multiple shoots from encapsulated somatic embryo of *Artemisia vulgaris* L. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences 6: 11-15.

Thiruvengadam, M., Praveen, N. and Chung, M. 2012. Plant regeneration from alginate-encapsulated shoot tips of *Momordica dioica* for short term storage and germplasm exchange and distribution. Plant Omics Journal 5: 266-270.

Thomas, T. D. 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. Biotechnology Advances 26: 618-631.

Thompson, M. R., Douglas, H., Obata, Sasamoto and Thorpe, T. A. 1986. Mannitol metabolism in cultured plant cells. Plant Physiology 67: 365-369.

Tsay, H. S., Gau, T. G. and Chen, C. C. 1989. Rapid clonal propagation of *Pinellia ternate* by tissue culture. Plant Cell Report 8: 450-454.

Verma, S. K., Rai, M. K., Asthana, P., Jaiswal, V. S. and Jaiswal, U. 2010. *In vitro* plantlets from alginate-encapsulated shoot tips of *Solanum nigrum* L. Scientia Horticulturae 124: 517-552.

Vijaya, N., Satyanarayana, G., Prakash, J. and Pierik, R. L. M. 1991. Effect of culture media and growth regulators on *in vitro* propagation of rose. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture 12: 209-214.

Webber, J., Margaret, E. J. and Alan, H. W. 2003. High irradiance increase organogenesis in friable callus of *Cautis blakei* Kuk. (Cyperacece). *In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 39 : 139-141.

White, P. R. 1943. A Handbook of Plant Tissue Culture. Lancaster, Pa: The Jacques Catlell Press.

William. R. C. 2006. Growth retardants: A promisting tool for managing urban trees. [Online] Available: http://www.ces.purdue.edu/extmedia/FNR/FNR-252W.pdf. (accessed on 23/05/2012)

William, R. and Chaney, A. 2005. Paclobutrazol treatment can leave a tree more stress tolerant. U.S.A.: An Advanstar Plublication.

Wilkin, C. R. and Dodds, J. H. 1983. Tissue culture conservation of woody species. *In* Tissue Culture of Tree. (ed. J. H. Dodds), pp. 113-136. Westsport Connecticus : The AVI Publishing Companies.

Withers, L. A. and Engelmann, F. 1998. *In vitro* conservation of plant genetic resources. *In* Agriculture Biotechnology. (ed. A. Altman), pp. 57-87. Marcel Dekker, New York.

Wong, W. C. 1986. *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.): initiation, proliferation and development of shoot-tip cultures on defined media. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6: 159-166.

Yildiz, M. and Ozgen, M. 2004. The effect of a submersion pretreatment on *in vitro* explant growth and shoot regeneration from hypocotyl of flax (*Linum usitatissimum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 77: 111-115.

Yildiz, M., Ulukan, H. and Özbay, A. 2003. The effect of different growth medium, gelling agents and explant age on shoot regeneration from hypocotyl explants in flax (*Linum usitatissimum*). 13rd Biotechnology Congress, Canakkale, Turkey.

Yong, J. W. H., Ge, L., Ng, Y. F. and Tan, S. N. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. Molecules 14: 5144-5164.

Zang, X. and Komatsu, S. 2007. A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. Phytochem. 68: 426-437.

# ภาคผนวก

**ตารางภาคผนวกที่ 1** จำนวนดอกกระจูดที่ปลอดเชื้อเมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 62.5333 | 31.2667 | 25.3514** |
| Error | 12.0000 | 14.8000 | 1.2333 | |
| Total | 14.0000 | 77.3333 | | |

C.V. = 19.60%

**ตารางภาคผนวกที่ 2** จำนวนผลกระจูดที่ปลอดเชื้อเมื่อฟอกฆ่าเชื้อผลกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 20 นาที หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 1.6000 | 0.8000 | 2.4000ns |
| Error | 12.0000 | 4.0000 | 0.3333 | |
| Total | 14.0000 | 5.6000 | | |

C.V. = 6.01%

**ตารางภาคผนวกที่ 3** จำนวนหน่อกระจูดที่ปลอดเชื้อเมื่อฟอกฆ่าเชื้อผลกระจูดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้นต่างกันในเวลาที่แตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 4.0000 | 57.2000 | 14.3000 | 13.6191** |
| Error | 15.0000 | 15.7500 | 1.0500 | |
| Total | 19.0000 | 72.9500 | | |

C.V. = 23.03%

**ตารางภาคผนวกที่ 4** จำนวนหน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 6.0000 | 44.4886 | 7.4148 | 64.0784** |
| Error | 21.0000 | 2.4300 | 0.1157 | |
| Total | 27.0000 | 46.9186 | | |

C.V. = 33.78%

**ตารางภาคผนวกที่ 5** ความสูงของหน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อกระจูดบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 6.0000 | 274.0550 | 45.6758 | 218.1211** |
| Error | 21.0000 | 4.3975 | 0.2094 | |
| Total | 27.0000 | 278.4525 | | |

C.V. = 16.79%

**ตารางภาคผนวกที่ 6** จำนวนหน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อลำดับที่ต่างกันบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 14.4493 | 7.2247 | 188.4723** |
| Error | 12.0000 | 0.4600 | 0.0383 | |
| Total | 14.0000 | 14.9093 | | |

C.V. = 10.34%

**ตารางภาคผนวกที่ 7** ความสูงของหน่อกระจูดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อลำดับที่ต่างกันบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 13.4679 | 6.7340 | 23.9355** |
| Error | 12.0000 | 3.3760 | 0.2813 | |
| Total | 14.0000 | 16.8440 | | |

C.V. = 13.19%

**ตารางภาคผนวกที่ 8** จำนวนหน่อกระจูดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณหน่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นที่ต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 8.0000 | 26.4572 | 3.3072 | 5.1839** |
| Error | 27.0000 | 17.2250 | 0.6380 | |
| Total | 35.0000 | 43.6823 | | |

C.V. = 28.75%

**ตารางภาคผนวกที่ 9** ความยาวของหน่อกระจูดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณหน่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 8.0000 | 29.3890 | 3.6736 | 5.8449** |
| Error | 27.0000 | 16.9699 | 0.6285 | |
| Total | 35.0000 | 46.3589 | | |

C.V. = 23.98%

**ตารางภาคผนวกที่ 10** จำนวนหน่อกระจูดที่เพิ่มขึ้นจากการเพิ่มปริมาณหน่อจากดอกเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 92.1667 | 46.0833 | 16.2647** |
| Error | 9.0000 | 25.5000 | 2.8333 | |
| Total | 11.0000 | 117.6667 | | |

C.V. = 19.06%

**ตารางภาคผนวกที่ 11** ความยาวของหน่อกระจูดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณหน่อจากดอกเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 1.7817 | 0.8909 | 6.7517** |
| Error | 9.0000 | 1.1875 | 0.1319 | |
| Total | 11.0000 | 2.9692 | | |

C.V. = 8.67%

**ตารางภาคผนวกที่ 12** จำนวนหน่อกระจูดจากการเก็บรักษาบนอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารที่ใช้ชะลอการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 19.0000 | 3149.7002 | 165.7737 | 33.5461** |
| Factor A | 1.0000 | 551.2502 | 551.2502 | 111.5515** |
| Factor B | 9.0000 | 2331.2002 | 259.0222 | 52.4160** |
| A × B | 9.0000 | 267.2498 | 29.6944 | 6.0090** |
| Error | 60.0000 | 296.5000 | 4.9417 | |
| Total | 79.0000 | 3446.2002 | | |

C.V. = 16.90%

**ตารางภาคผนวกที่ 13** ความสูงหน่อกระจูดจากการเก็บรักษาบนอาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารที่ใช้ชะลอการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 19.0000 | 333.2500 | 17.5395 | 95.0287** |
| Factor A | 1.0000 | 0.0216 | 0.0216 | $0.1168^{ns}$ |
| Factor B | 9.0000 | 330.7893 | 36.7544 | 199.1348** |
| A × B | 9.0000 | 2.4391 | 0.2710 | $1.4684^{ns}$ |
| Error | 60.0000 | 11.0742 | 0.1846 | |
| Total | 79.0000 | 344.3242 | | |

C.V. = 9.31%

**ตารางภาคผนวกที่ 14** จำนวนหน่อกระจูดที่ได้จากการนำหน่อกระจูดที่เก็บรักษาบนอาหารที่เติม PBZ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 33.5000 | 16.7500 | 20.1000** |
| Error | 9.0000 | 7.5000 | 0.8333 | |
| Total | 11.0000 | 41.0000 | | |

C.V. = 20.29%

**ตารางภาคผนวกที่ 15** ความสูงของหน่อกระจูดที่ได้จากการนำหน่อกระจูดที่เก็บรักษาบนอาหารที่เติม PBZ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

| SOV | DF | SS | MS | F |
|---|---|---|---|---|
| Treatments | 2.0000 | 0.0800 | 0.0400 | 0.0436ns |
| Error | 9.0000 | 8.2488 | 0.9165 | |
| Total | 11.0000 | 8.3288 | | |

C.V. = 2123%

**ตารางภาคผนวกที่ 16** องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashige and Skoog (MS)

| สารอาหาร | สูตรเคมี | ปริมาณ (มก./ล.) |
|---|---|---|
| **ธาตุอาหารหลัก** | | |
| แอมโมเนียมไนเตรท | $NH_4NO_3$ | 1,650.000 |
| โพแทสเซียมไนเตรท | $KNO_3$ | 1,900.000 |
| แคลเซียมคลอไรด์ | $CaCl_2.2H_2O$ | 440.000 |
| แมกนีเซียมซัลเฟต | $MgSO_4.7H_2O$ | 370.000 |
| **ธาตุอาหารรอง** | | |
| โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต | $KH_2PO_4$ | 170.000 |
| กรดบอริก | $H_3BO_3$ | 6.200 |
| แมงกานีสซัลเฟต | $MnSO_4.4H_2O$ | 22.300 |
| ซิงค์ซัลเฟต | $ZnSO_4.7H_2O$ | 8.600 |
| โพแทสเซียมไอโอไดด์ | KI | 0.830 |
| โซเดียมโมลิบเดท | $Na_2MoO_4.2H_2O$ | 0.250 |
| คอปเปอร์ซัลเฟต | $CuSO_4.5H_2O$ | 0.025 |
| โคบอลต์ไดคลอไรด์ | $CoCl_2.6H_2O$ | 0.025 |
| โซเดียมเอทธิลีนไดอะมีนเตตระ-อะเซเตท | $Na_2$ $EDTA.2H_2O$ | 37.300 |
| เฟอร์รัสซัลเฟต | $FeSO_4.7H_2O$ | 27.800 |
| **สารอินทรีย์** | | |
| ไกลซีน | $C_2H_5NO_2$ | 2.000 |
| มาย-โอ-อินโนซิทอล | $C_6H_{12}O_6$ | 100.000 |
| กรดนิโคทินิค | $C_6H_5NO_2$ | 0.500 |
| ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ | $C_5H_{11}NO_3.HCl$ | 0.500 |
| ไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์ | $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ | 0.100 |
| ซูโครส | - | 30,000.000 |
| ผงวุ้น | - | 800.000 |
| ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.6 | | |

# ประวัติผู้เขียน

**ชื่อ สกุล** นางเปรมฤดี ดำยศ

**รหัสประจำตัวนักศึกษา** 5310033009

**วุฒิการศึกษา**

| วุฒิ | ชื่อสถาบัน | ปีที่สำเร็จการศึกษา |
|---|---|---|
| วิทยาศาสตรบัณฑิต (ศึกษาศาสตร์) | มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี | 2522 |
| วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ) | มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ | 2532 |

**ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)**

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ปีงบประมาณ 2555 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน**

ครู วิทยฐานะครูเชี่ยวชาญ

วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง สถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร ภาคใต้

สำนักงานคณะกรรมการการอาชีวศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

**การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน**

Domyos, P. and Te-chato, S. 2013. *In vitro* propagation of *Lepironia articulata* in Kuan Kreng Peatlands, Nakhon Si Thammrat. Journal of Agricultural Technology 9(6): 1595-1605.

Domyos, P. and Te-chato, S. 2013. *In vitro* propagation and germplasm conservation of *Lepironia articulata* in Kuan Kreng Wetland, Nakhon Si Thammrat. Proceeding of International Graduate Research Conference 2013. Chiang Mai University, Thailand. 20 December 2013. pp ST-16-172.