สัณฐานวิทยาและผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง
Morphology and Effect of Temperature on Stoage Life of *Nepenthes* spp. Pollen

อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย

Amornrat Kaewkhumpai

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Agricultural Science and Technology
Prince of Songkla University
2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สัณฐานวิทยาและผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

Morphology and Effect of Temperature on Stoage Life of *Nepenthes* spp. Pollen

อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย
Amornrat Kaewkhumpai

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Agricultural Science and Technology
Prince of Songkla University
2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	สัณฐานวิทยาและผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง
ชื่อผู้เขียน	นางสาวอมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(ดร.สุรพล ฐิติธนากุล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีร ศรีสวัสดิ์)

.....กรรมการ
(ดร.สรายุทธ อ่อนสนิท)

เยาวพรรณ สนธิกุล.....กรรมการ
(ดร.เยาวพรรณ สนธิกุล)

.....กรรมการ
(ดร.สุรพล ฐิติธนากุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....สุรพล ฐิติธนากุล.....
(ดร.สุรพล ฐิติธนากุล)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย.....
(นางสาวอมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย
(นางสาวอมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ สัณฐานวิทยาและผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง
ชื่อผู้เขียน นางสาวอมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร
ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

หม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นพืชดอกที่มีเพศผู้และเพศเมียแยกต้นกัน และมีการออกดอกเหลื่อมเวลากัน ทำให้จำเป็นต้องมีการเก็บรักษาละอองเกสรเพศผู้ไว้ในยามที่ดอกเพศเมียบานพร้อมผสม การเก็บรักษาละอองเกสรเพศผู้จึงมีความสำคัญมาก หากใช้ละอองเกสรที่หมดอายุหรือตายแล้ว การผสมพันธุ์และความสามารถในการงอกก็จะลดลงทำให้การผสมและขยายพันธุ์ไม่ประสบผลสำเร็จ งานวิจัยนี้จึงเล็งเห็นความสำคัญเพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของละอองเกสร สีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมในการทดสอบความงอกของละอองเกสร และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ใช้ในการเก็บรักษาละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิง ผลการศึกษาสัณฐานวิทยาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้งสามชนิดมีรูปร่างแบบทรงกลม ติดกัน 4 พู ผนังชั้นนอกประกอบด้วยแท่งหนามแหลมกระจายตัวทุกทิศทาง ความสูงของแท่งหนามและการกระจายตัวของแท่งหนามต่อพื้นที่ 100 ตารางไมโครเมตร แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p<0.01) มีค่าความสูงแท่งหนามสูงสุดคือ ชนิด *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. thorelii* และ *N. mirabilis* var. globosa มีความสูงเฉลี่ย 0.77, 0.60 และ 0.55 ไมโครเมตร ตามลำดับ และค่าการกระจายตัวของแท่งหนามบนผนังเกสร มีค่าเฉลี่ยสูงสุดคือ *N. thorelii*, *N. mirabilis* var. globosa และ *N. mirabilis* var. mirabilis เท่ากับ 85, 58.16 และ 43.93 แท่ง ตามลำดับ สีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ได้แก่ สี Aceto orcein ในส่วนของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelii* คือ สี 2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมในอาหารสังเคราะห์ต่อการความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis และ *N. thorelii* ได้แก่ 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ได้แก่ 15 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาอุณหภูมิในการเก็บรักษาละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิต ได้นานถึง 90 วัน และรักษาความงอก ได้นานถึง 12 วัน ละอองเกสร *N. thorelii* เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรได้นานถึง 12 และ 15 วัน ตามลำดับ และละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa สามารถรักษาความมีชีวิต ได้นานถึง 18 และ 21 วัน สามารถรักษาความงอกได้นานถึง 15 วัน ดังนั้นการเก็บรักษาละอองเกสรด้วยความเย็น เป็นการยืดอายุของละอองเกสร ไว้ใช้สำหรับการผสมพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงให้ประสบผลสำเร็จได้ดียิ่งขึ้น

คำสำคัญ : หม้อข้าวหม้อแกงลิง, ละอองเกสร, อุณหภูมิ

Thesis Title Morphology and Effect of Temperature on Stoage Life of *Nepenthes* spp.

Author Miss Amornrat KaewKhumpai

Major Program Agricultural Science and Technology

Academic Year 2017

Abstract

Nepenthes are dioeciously plants. The flowering times vary, which causes problems with the propagation of nepenthes: pollen storage is essential for pollination and breeding. Assessment of pollen germination can facilitate breeding programs**.** This study targeted the optimal concentration of sugar and finding staining that reveals the germination and viability of pollen, and pollen morphology was imaged by scanning electron microscope. The optimal temperature for male pollen storage was tested experimentally. The pollen were prolate-spheroidal in shape with scabrate exine sculpturing of pollen cell wall. As a highlight of this study, we found that the sculpturing-scabrate height and density per 100 μm^3 of pollen exine had significant differences (p<0.01) distinguishing the species. The rank order of sculpturing-scabrate height was *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. thorelii* and *N. mirabilis* var. globose (0.77, 0.60, and 0.55 µm, respectively). The average sculpturing-scabrate density gave the rank order *N. thorelii*, *N. mirabilis* var. globosa and *N. mirabilis* var. mirabilis (85.00, 58.16 and 43.93, respectively). The pollen of *N. mirabilis* var. globosa, *N. mirabilis* var. mirabilis and *N. thorelii* were tested by Aceto orcein and 2, 3, 5-Triphenyl tetrazolium chloride. The highest pollen germination of *N. mirabilis* var. mirabilis and *N. thorelii* was found on a medium supplemented with 5% sucrose, while the highest pollen germination of N. mirabilis var. globosa was on a medium supplemented with 15% sucrose. In addition, pollen viability and germination decreased with storage time. *N. mirabilis var.* mirabilis pollen was stored at -80°C for 15 days. *N. thorelii* at -20°C for 9 days, and *N. mirabilis* var. globose at 4°C for 15 days. The stains did not inform about success in pollen germination. In conclusion, pollen storage with cooling is necessary to address problems with fluctuations in the time of nepenthes flowering, and for success of the Nepenthes pollinating program**.**

Keywords: *Nepenthes* spp., Pollen, Temperature

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่านจึงขอขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณแหล่งทุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

ขอขอบคุณแหล่งทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2559 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบพระคุณ ดร.สุรพล ฐิติธนากุล ที่ได้ให้คำปรึกษาและชี้แนวทางในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งอาจารย์ได้สละเวลาเพื่อให้คำปรึกษา คำแนะนำ และตรวจสอบแก้ไขรายงานวิจัยให้สมบูรณ์มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ดร. สรายุทธ อ่อนสนิท ดร. เยาวพรรณ สนธิกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีร ศรีสวัสดิ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง คณะกรรมการสอบในครั้งนี้ ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะต่างๆ ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ และเครื่องมือกลางที่อนุเคราะห์เครื่องมือครุภัณฑ์ และสารเคมี หอบรรณสารสนเทศ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่อนุเคราะห์ในการสืบค้นข้อมูลส่งผลให้การดำเนินงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เรือนจำชั่วคราวทุ่งเขน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี และเจ้าหน้าที่มหาวิทลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตตรัง ให้ความอนุเคราะห์เอื้อเฟื้อสถานที่ และความสะดวก ในการเก็บตัวอย่างในครั้งนี้

ขอขอบคุณนายชยันต์ ยอดธรรมรัตน์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ที่อนุเคราะห์ภาพถ่ายช่อดอกหม้อข้าวหม้อแกงลิง เพื่อประกอบเล่มวิทยานิพนธ์

สุดท้ายนี้ คุณประโยชน์ใดๆ อันพึงจะเกิดจากงานวิจัย ฉบับนี้ขอเป็นเครื่องบูชาพระคุณบิดา มารดา และคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ตลอดมา

อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย

เมษายน 2561

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... (5)
Abstract ..... (6)
กิตติกรรมประกาศ ..... (7)
สารบัญ ..... (8)
รายการตาราง ..... (9)
รายการตารางภาคผนวก ..... (10)
รายการภาพ ..... (12)
บทที่1 บทนำ (Introduction) 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 ตรวจสอบเอกสาร 3
1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย 35
บทที่ 2 วิธีการวิจัย (Research Methodology) 36
2.1 วิธีการดำเนินการ 36
2.1.1 เก็บตัวอย่างละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิง 36
2.1.2 การศึกษาลักษณะทางสัญฐานวิทยาของละอองเกสรเพศผู้ 36
2.1.3 การทดสอบหาสีย้อมและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสม 37
2.1.4 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษา
ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง 38
2.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 39
2.2 วัสดุและอุปกรณ์ 40
บทที่ 3 ผลการวิจัย (Results) 41
3.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง 41
3.2 การศึกษาสีย้อมและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารสังเคราะห์
ของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน 47
3.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง 86
บทที่ 4 บทวิจารณ์ (Discussions) 90
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion) 96
บรรณานุกรม 97
ภาคผนวก 103
ประวัติผู้เขียน 114

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 การจัดแบ่งรูปร่างของละอองเกสรเป็นลำดับชั้นต่างๆ โดยใช้สัดส่วนของ polar axis และ equatorialaxis....10
2 การจัดแบ่งขนาดของละอองเกสร เป็นลำดับชั้นต่างๆ....12
3 ชนิดหม้อข้าวหม้อแกงลิงในประเทศไทย....18
4 อุณหภูมิ เปอร์เซ็นต์ความงอก และระยะเวลาในการเก็บรักษาละอองเกสรของพืช....28
5 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรพืชแต่ละชนิดทดสอบด้วยสีย้อม....32
6 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรต่อความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส ในอาหารสูตรสังเคราะห์....34
7 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยขนาดความยาว (polar axis, P) ความกว้าง (equatorial axis, E) และ P/E ของละอองเกสร....43
8 ขนาดความกว้าง ความยาวของแท่งหนาม และการกระจายของแท่งหนามต่อพื้นที่บนผนังเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด...46
9 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis....55
10 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิต *N. mirabilis* var. mirabilis....56
11 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis....59
12 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่อุณหภูมิต่างๆ กับการทดสอบความงอก *N. mirabilis* var. mirabilis....60
13 เปอร์เซ็นต์ความงอกและความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis....62
14 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa....65
15 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่อุณหภูมิต่อการทดสอบด้วยสีย้อม ละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa....66
16 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa....69
17 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่อุณหภูมิต่างๆ กับการทดสอบความงอก *N. mirabilis* var. globosa....70
18 ความสัมพันธ์ความงอกและความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa....73
19 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร *N. thorelii* (suratensis)....76
20 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่อุณหภูมิต่อการทดสอบด้วยสีย้อม ละอองเกสร *N. thorelii* (suratensis)....77
21 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร *N. thorelii* (suratensis)....81
22 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่อุณหภูมิต่างๆ กับการทดสอบความงอก *N. thorelii* (suratensis)....82
23 ความสัมพันธ์ความงอกและความมีชีวิตของละอองเกสร *N. thorelii* (suratensis)....83

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

1 ความมีชีวิตของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC 103

2 ความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 3 5 10 15 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ 104

3 ค่าเฉลี่ยของความมีชีวิตของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ -80°C 105

4 ค่าเฉลี่ยของความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ -80°C 106

5 ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ -80°C 107

6 ค่าเฉลี่ยความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ที่เก็บรักษาทีอุณหภูมิห้อง (28-31°C),4°C, -20°C และ -80°C 108

7 ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของละอองเกสร *N. thorelii* เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ-80°C 109

8 ค่าเฉลี่ยความงอกของละอองเกสร *N. thorelii* เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ -80°C 110

รายการภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิงกลุ่มโลว์แลนด์และกลุ่มไฮแลนด์ 4
2 ลักษณะลำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii* 4
3 ลักษณะหม้อของหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis 5
4 โครงสร้างภายนอกหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii* 6
5 โครงสร้างภายในหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii* 7
6 ลักษณะช่อดอกหม้อข้าวหม้อแกงลิง 8
7 ลักษณะดอกหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa 9
8 การวัดขนาดของละอองเกสร 10
9 รูปร่างของละอองเกสรทางด้านขั้ว และทางด้านข้าง 11
11 ลักษณะละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่พบได้จากบอร์เนียว 13
12 ฝักหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis 14
13 ลักษณะเมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis 14
14 ลักษณะการผสมเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa 15
15 การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการเนื้อเยื่อพืช 17
16 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิงพันธุ์ *N. ampullaria* Jack 19
17 ลักษณะรูปร่างหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. gracilis* Korth 20
18 ลักษณะรูปร่างหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis 20
19 ลักษณะรูปร่างหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa 21
20 ลักษณะรูปร่างหม้อพันธุ์ *N. thorelii* (suratensis) 22
21 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. andamana* 22
22 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. kongkandana* 23
23 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. rosea* 24
24 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. krabiensis* 24
25 ลักษณะการติดสีของละอองเกสร *Citrus reticulata* Blanco สี Aceto carmine 29
26 ลักษณะการติดสีของละอองเกสร *Crotalaria juncea* สี Aceto orcein 30
27 ลักษณะละอองเกสรข้าวย้อมด้วยสี Iodine 30
28 ลักษณะละอองเกสร Spartina anglica ย้อมด้วยสี Cotton Blue 31
29 ลักษณะละอองเกสรกล้วยย้อมด้วยสี TTC 31
30 การงอกของหลอดเรณูลำไยบนยอดเกสรเพศเมีย 35

31 การงอกของหลอดแกสรบนยอดเกสรเพศเมีย (*Persea americana*) 35
32 ลักษณะละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน..... 41
33 ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน..... 42
34 ลักษณะลวดลายบนผนังละอองเกสรที่เป็นตุ่มยื่นออกไปจากผนังละออง
เกสร ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด..... 45
35 ลักษณะละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis
ย้อมด้วยสีย้อมทั้ง 5 ชนิด ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง 47
36 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ทดสอบด้วยสีย้อม 5 ชนิด 49
37 เปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสรหม้อ ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์
ที่มีน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้นต่างกัน 7 ระดับ 51
38 ลักษณะการงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงในอาหารสูตรสังเคราะห์
ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง 52
39 ลักษณะการงอกหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมียหม้อข้าวหม้อแกงลิง.....53
40 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่ทดสอบความมีชีวิตทันที อุณหภูมิ 28-31, 35, 40, 45
องศาเซลเซียส ต่อความมีชีวิตของละอองเกสร 57
41 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที อุณหภูมิห้อง
(28-31 องศาเซลเซียส), 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ต่อความงอกของละอองเกสร
ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์
ละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ย้อมด้วยสี Iodine 61
42 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มี
น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และความมีชีวิตของละอองเกสรทดสอบ
ด้วยสีย้อมAceto orceinและ Iodine 63
43 ความสัมพันธ์ของละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิตทันที อุณหภูมิห้อง
(28-31 องศาเซลเซียส) 35, 40, 45 องศาเซลเซียส ต่อความมีชีวิตของละอองเกสร
N. mirabilis var. globosa.....67
44 ความสัมพันธ์ระหว่างละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที อุณหภูมิห้อง
(28-31) 35 40 45 องศาเซลเซียส กับความงอกของละอองเกสร
N. mirabilis var. globosa 71
45 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสรที่น้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์
และความมีชีวิตของละอองเกสรทดสอบด้วยสีย้อม.....74
46 ความสัมพันธ์ระหว่างละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control)
อุณหภูมิห้อง (28-31), 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส กับความมีชีวิตของละอองเกสร
N. thorelii ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine และ Aceto orcein..... 78

47 ความสัมพันธ์ระหว่างละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที อุณหภูมิห้อง (28-31), 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส กับความมีชีวิตของละอองเกสร *N. thorelii* ทดสอบด้วยสีย้อม Iodine, Cotton Blue และ TTC 79
48 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสรที่น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และความมีชีวิตของละอองเกสรทดสอบด้วยสีย้อม ละอองเกสร *N. thorelii* 83
49 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสรที่น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และความมีชีวิตของละอองเกสร ย้อมด้วยสี TTC 85
50 ความมีชีวิตของละออง *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน 86
51 ความงอกของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน 86
52 ความมีชีวิตของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน 88
53 ความงอกของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน 88
54 ความมีชีวิตของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thoralii* เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน 90
55 ความงอกของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thoralii* ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน 90

รายการภาพภาคผนวก

ภาพภาคผนวกที่ **หน้า**

1 ลักษณะของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ระยะเวลาเก็บรักษา 15 วัน ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)..... 111
2 พื้นที่การเก็บตัวอย่างละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis อ่างเก็บน้ำเขาตอก อำเภอเคียนซา จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 111
2 พื้นที่การเก็บตัวอย่างละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดตรัง..... 112
4 พื้นที่การเก็บตัวอย่างละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii* เรือนจำชั่วคราวทุ่งเขน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 112

คำย่อ (Abbreviation)

ชื่อเต็ม	ชื่อย่อ
Nepenthes mirabilis var. mirabilis	*N. mirabilis*
Nepenthes mirabilis var. globosa	*N. viking*
Nepenthes thorelii (suratensis)	*N. thorelii*
International Union of Conservation or Nature and Natural Resource	IUCN
Lactophenol Cotton Blue	Cotton Blue
2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride	TTC
Scanning Electron Microscopy	SEM
Complete Randomized Design	CRD

บทที่ 1

บทนำ (Introduction)

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หม้อข้าวหม้อแกงลิงจัดอยู่ในวงศ์ Nepenthaceae มีเพียงสกุลเดียวคือ *Nepenthes* เป็นพืชเถาวัลย์ไม้เลื้อยแบบแยกเพศ (dioecious plant) ส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เติบโตได้ในป่าฝนเขตร้อน กระจายตัวทั่วไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในแหล่งที่สภาพแวดล้อมไม่เอื้อต่อการเติบโตของพรรณไม้ทั่วไปหรือพื้นที่ดินขาดธาตุอาหาร เช่น ป่าพรุชุ่มน้ำ ทุ่งหญ้าสะวันนา และผาหินปูน โดยพบการกระจายตัวเป็นกลุ่มเล็กๆ จากพื้นราบระดับน้ำทะเลจนถึงภูเขาความสูงมากกว่า 2,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554) โดยพืชสกุลนี้มีลักษณะเด่นชัดแตกต่างจากพืชในกลุ่มอื่น คือ มีวิวัฒนาการโครงสร้างปลายใบเป็นกระเปาะหม้อเพื่อใช้ในการดักล่อเหยื่อ เช่น มด ตัวต่อ ยุง ผีเสื้อ มอด และไส้เดือนฝอย เป็นต้น เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจนให้แก่ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง (Marina *et al*., 2018) โดยวิวัฒนาการปรับตัวในแต่ละสภาพพื้นที่ส่งผลให้หม้อข้าวหม้อแกงลิงมีความหลากหลายทางรูปทรงและสีสันแตกต่างกันไป จึงทำให้เป็นที่นิยมของตลาดไม้สวยงามทั้งในและต่างประเทศ

ในปัจจุบันพบว่า สถานการณ์ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงซึ่งเป็นพืชอนุรักษ์มีจำนวนลดลง เนื่องจากหม้อข้าวหม้อแกงลิงมีความต้องการของตลาด ทำให้มีการเก็บรวบรวมจากแหล่งธรรมชาติมาใช้ประโยชน์เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ มีการปรับพื้นที่บริเวณที่หม้อข้าวหม้อแกงลิงสามารถเจริญเติบโตได้ในธรรมชาติ มาใช้เพื่อการเกษตรเชิงเดี่ยว และใช้ในการสร้างสิ่งปลูกสร้าง เช่น ฟาร์มปศุสัตว์ บ้านเรือน ทำให้ปริมาณและชนิดของหม้อข้าวหม้อแกงลิงลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว จนอาจสูญพันธุ์ไปจากแหล่งธรรมชาติ ซึ่งบางชนิดเหลืออยู่ในเฉพาะพื้นที่ของหน่วยงานราชการหรือพื้นที่ป่าสาธารณะเท่านั้น เช่น หม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes thorelii* (suratensis) เหลือเพียงแหล่งเดียวในธรรมชาติ พบภายในพื้นที่อนุรักษ์ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงของเรือนจำชั่วคราวทุ่งเขน จังหวัดสุราษฎร์ธานี ส่วนหม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes mirabilis* var. globosa พบได้ในป่าพรุ บนเกาะคอเขา อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา สวนพฤกษศาสตร์ภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จังหวัดตรัง และพื้นที่ป่าภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตตรัง โดยสหภาพสากลว่าด้วยการอนุรักษ์ (International Union for Conservation of Nature, IUCN) ได้ขึ้นบัญชีแดง (IUCN Red List of Threatened Species) ให้หม้อข้าวหม้อแกงลิงอยู่ในสถานภาพของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในข่ายใกล้สูญพันธุ์ ด้วยสาเหตุนี้จึงมีความจำเป็นที่ต้องให้ความสำคัญต่อการเก็บรักษา และการอนุรักษ์พันธุ์ ไม่ว่าจะเป็นการอนุรักษ์ในพื้นที่ธรรมชาติ การเก็บรวบรวมตัวอย่างของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง เพื่อศึกษาลักษณะการดำรงชีวิต และขยายพันธุ์เพื่อผลิตลูกผสมให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

แต่การขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงให้ได้จำนวนมากเพื่อการอนุรักษ์ ยังมีปัญหาบางประการในการจับคู่ผสมภายใต้การควบคุมโดยมนุษย์ (control pollination) และการผสมในธรรมชาติ คือ ช่วงเวลาการออกดอกของต้นพ่อแม่พันธุ์ไม่พร้อมกันสำหรับบางชนิดคู่ผสม โดยจากการสังเกตช่อดอกตัวผู้พบว่าจะบานก่อนช่อดอกตัวเมียเสมอ ทำให้ยากที่จะผสมได้สำเร็จ ดังนั้นการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรเพศผู้ เพื่อให้ละอองเกสรคงความมีชีวิตและคงความงอกของละอองเกสร อาจเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ช่วยยืดอายุของเกสร เพื่อรอผสมกับช่อดอกเพศเมียที่บานตามหลังได้ และเป็นวิธีที่สามารถช่วยให้การผสมทั้งพันธุ์แท้และลูกผสมสำเร็จได้ดียิ่งขึ้น โดยพบว่า การเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ละอองเกสรมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 3-6 วัน ซึ่งละอองเกสรที่ถูกเก็บไว้เป็นเวลานานจะมีความสามารถในการมีชีวิตและการงอกลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม ปัจจัยที่มีผลต่ออายุของละอองเกสร ได้แก่ อุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิจะมีอิทธิพลต่อความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร อุณหภูมิเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ละอองเกสรเพศผู้เป็นหมัน และส่งผลให้การผสมเกสรเกิดความล้มเหลว เช่น ในละอองเกสรของข้าวและมะพร้าวน้ำหอม เมื่อได้รับอุณหภูมิสูงกว่า 27 องศาเซลเซียส ทำให้ความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรลดลง (เจษฎา และคณะ, 2553; ภูมิ, 2556) ในทางกลับกันการเก็บรักษาละอองเกสรของพืชบางชนิดไว้ที่อุณหภูมิต่ำสามารถยืดอายุความมีชีวิตของละอองเกสรได้นานขึ้น เช่น *Malus pumila* L., *Carica papaya* L., *Malus domestica*., *Vitis vinifera* ละอองเกสรยังความมีชีวิตได้นานถึง 5-8 สัปดาห์ (เกรียงศักดิ์, 2551; Perveen *et al*., 2008; Mehri *et al*., 2015) ทั้งนี้ข้อมูลด้านการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสร และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานวิจัย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสร และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาละอองเกสร เพื่อให้ละอองเกสรยังคงความมีชีวิตและความงอก โดยละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง 2 ชนิด 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. thorelii* และ *N. mirabilis* var. globosa เพื่อประโยชน์ในการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ และการขยายพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์ต่อไป

1.2 การตรวจเอกสาร (Reviews of Literature)

1.2.1 หม้อข้าวหม้อแกงลิง

หม้อข้าวหม้อแกงลิงมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Nepenthes* spp. ชื่อสามัญ Tropical Pitcher Plant หรือ Monkey Cup อยู่ในกลุ่มพืชกินแมลงชนิดหนึ่ง หม้อข้าวหม้อแกงลิงโดยส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในพื้นที่เขตร้อนชื้นแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และกระจายพันธุ์ทางตะวันออกถึงทวีปออสเตรเลีย และทางตะวันตกถึงเกาะมาดากัสการ์ พบมากในประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ ปาปัวนิวกีนี และไทย

หม้อข้าวหม้อแกงลิงมีการบันทึกครั้งแรกโดย Flacourt ชาวฝรั่งเศส ในปี ค.ศ. 1658 โดยค้นพบตัวอย่างพืชที่ซื้อมาจากนักสะสมพืชชาวพื้นเมือง และบันทึกพืชชนิดนั้นว่า Amramitico ตามชื่อท้องถิ่น ต่อมาถูกตั้งชื่อตามหลักทางพฤกษศาสตร์ว่า *Nepenthes madagascariensis* Poiret และ *Nepenthes distillatoria* L. ค้นพบในประเทศศรีลังกา (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554) ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงส่วนใหญ่เจริญอยู่ในบริเวณที่มีน้ำท่วมขัง หรือทางเล็กๆ ที่มีน้ำไหลผ่าน เป็นบริเวณที่ขาดธาตุไนโตรเจน มีการปรับตัวเพื่อความอยู่รอด โดยส่วนของปลายใบจะมีการพัฒนาไปเป็นกระเปาะหรือหม้อ ใช้สำหรับล่อเหยื่อ และจะปล่อยน้ำย่อยออกมา ย่อยสารอาหารจากเหยื่อ ที่มีสารประกอบไนโตรเจน เพื่อทดแทนธาตุไนโตรเจนจากดิน ด้วยลักษณะของปลายใบที่เปลี่ยนสภาพไปเป็นหม้อที่สวยงาม มีความหลากหลายทั้งขนาด รูปทรง และสีสัน ทำให้ได้รับความนิยมนำมาปลูกเลี้ยงเป็นไม้ประดับ และจัดจำหน่ายทางการค้า (ภัทรา และวีระ, 2551)

1.2.2 การจัดจำแนกหม้อข้าวหม้อแกงลิง

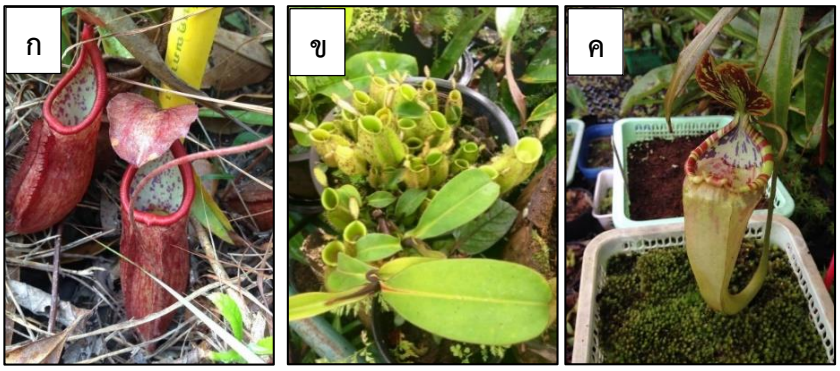
การจัดจำแนกตามถิ่นที่พบพืชสกุล Nepenthes ในปัจจุบันได้ค้นพบพันธุ์แท้มากกว่า 160 ชนิด เจริญในบริเวณพื้นที่ป่าพรุ บนเขา หินปูน หรือตามทุ่งหญ้าโล่งแจ้งที่แห้งแล้ง แต่มีทางน้ำเล็กๆ ไหลผ่าน สามารถจำแนกตามถิ่นที่พบ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

1. กลุ่มโลว์แลนด์ (Lowland pitcher plant หรือ L/L)

ตั้งแต่พื้นราบไปจนถึงพื้นที่สูงไม่เกิน 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล อุณหภูมิตอนกลางวันอยู่ในช่วง 27-35 องศาเซลเซียส และตอนกลางคืนอยู่ในช่วง 21-27 องศาเซลเซียส เช่น *Nepenthes ampullaria*, *N. mirabilis* และ *N. thorelii* เป็นต้น (ภาพที่ 1)

2. กลุ่มไฮแลนด์ (Highland pitcher plant หรือ H/L)

ตั้งแต่พื้นที่สูง 1,000-3,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล อุณหภูมิตอนกลางวันอยู่ในช่วง 21-29 องศาเซลเซียส และกลางคืนอยู่ในช่วง 12-18 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปมีสภาพเป็นภูเขาสูง อากาศเย็น ฝนตกชุก และมีความชุ่มชื้นสูง เช่น *Nepenthes lowii*, *N. sumatrana*, *N. rajah* เป็นต้น (ภาพที่ 1) (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554)



ภาพที่ 1 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิงกลุ่มโลว์แลนด์และกลุ่มไฮแลนด์

ก: *N. thorelii*

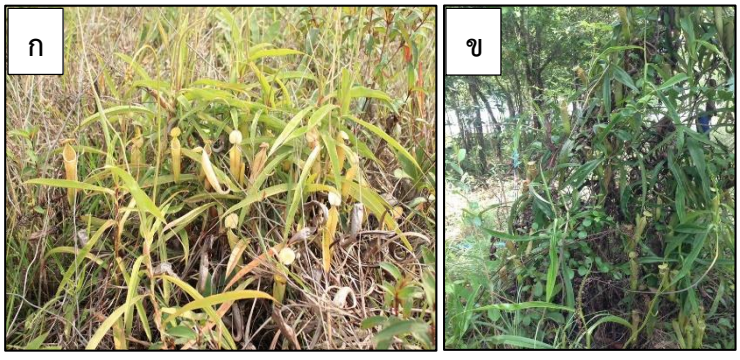
ข: *N. ampullaria*

ค: *N. sumatrana*

1.2.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1. ลำต้น

ลำต้นมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก สีเขียวอ่อน หรือแดงเข้ม ลำต้นอาจมีขนหรือไม่มีขน บริเวณลำต้นจะมีตาภายใน ตานี้จะมีเนื้อเยื่อยอดอ่อนอยู่ภายใน ซึ่งเนื้อเยื่ออ่อนนี้สามารถแตกออกเป็นใบใหม่ได้ หากใบเก่าหักขาดลงหรือตายไป ลำต้นที่มีการเจริญเติบโตในพื้นที่โล่งแจ้งจะเลื้อยไปกับพื้นดินหรือเกาะไม้พุ่มขนาดเล็ก อยู่รวมกันเป็นกอหนาแน่นอาจมีความยาวที่มากกว่า 2-5 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 เซนติเมตร จะต้องอิงอาศัยกับต้นไม้ที่อยู่บริเวณใกล้เคียงเพื่อช่วยพยุงลำต้น (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ลักษณะลำต้นของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii*

ก: แบบทรงพุ่ม

ข: แบบเถาวัลย์ไม้เลื้อย

2. ใบ

ใบเดี่ยว รูปขอบขนานถึงรูปไข่ ปลายเรียวแหลม ใบยาว 12-18 เซนติเมตร ปลายใบมีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่พิเศษ เป็นถุงดักแมลงหรือหม้อ ใบแบ่งออกเป็นหลายส่วนที่มีความสำคัญในการแยกความแตกต่างกันในแต่ละชนิด โดยเริ่มจากส่วนของปลายใบ เป็นส่วนที่เชื่อมกับหม้อ เรียกว่า สาย ส่วนต่อมาเรียกว่า เนื้อใบ ส่วนปลายสุดของใบเรียกว่า ปลายใบ ส่วนเนื้อใบที่อยู่กับลำต้นเรียกว่า โคนใบ ส่วนของใบเรียกว่า ขอบใบ ขอบใบอาจเรียบเป็นคลื่นหรือมีขน เส้นใบมี 2 ลักษณะ คือ เส้นใบแบบแนวยาวและเส้นใบแบบฝอย

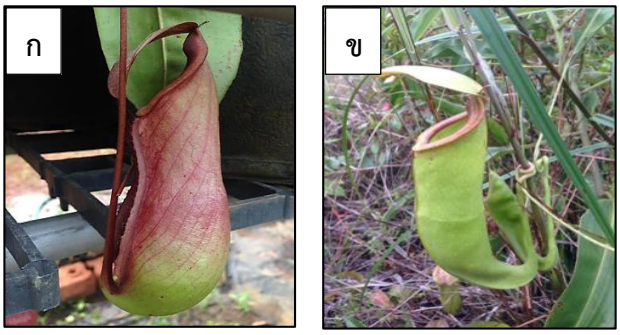
3. หม้อ

หม้อล่าง (Lower pitcher หรือ Terrestrial pitcher)

หม้อล่างเกิดบริเวณปลายใบที่บริเวณโคนใบใกล้กับพื้นดิน มีทั้งทรงกลมและทรงกระบอก หม้อมีสีสันสดใส ปากหม้อหันเข้าหาสายดิ่ง ทำหน้าที่ล่อเหยื่อ ส่วนหน้ามีปีก (wing หรือ ladder) สองอันเป็นชายครุยจากโคนไปถึงขอบหม้อ ช่วยให้แมลงไต่ขึ้นไปยังปากหม้อได้สะดวก

หม้อบน (Upper pitcher หรือ Aerial pitcher)

หม้อบนเกิดเมื่อลำต้นเจริญเติบโตขึ้นจนเป็นเถาเลื้อยยาว หม้อจะกรวยก้นแหลม รูปทรงจะเปลี่ยนไป และเปลี่ยนเป็นสีเขียวเรียบๆ ปากหม้อหันออกจากสายดิ่ง หม้อจะลดบทบาทการหาเหยื่อ โดยส่วนหน้าของหม้อจะลดรูปไปเหลือเพียงริ้วบางๆ ไม่มีชายครุย (สวัสดิ์, 2554; พัชญ์สิตา และคณะ, 2554) (ภาพที่ 3)

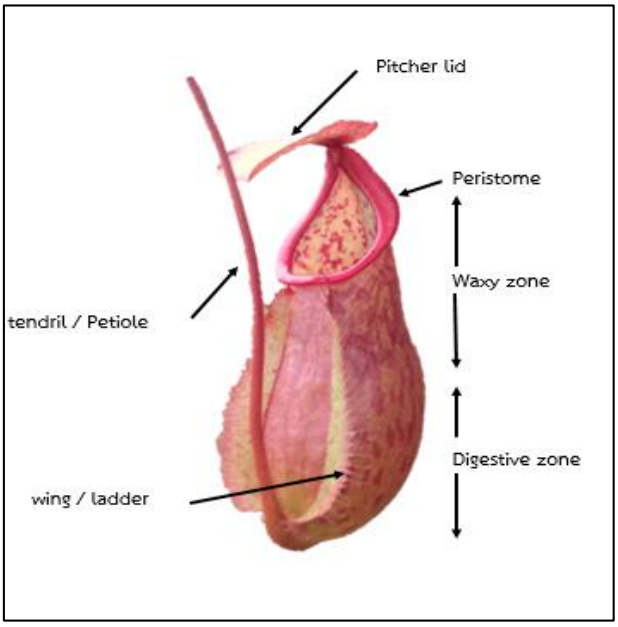


ภาพที่ 3 ลักษณะหม้อของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis
ก: หม้อล่าง
ข: หม้อบน

โครงสร้างของหม้อข้าวหม้อแกงลิง

หม้อระยะเริ่มแรกจะมีขนาดเล็ก เจริญเติบโตเป็นหม้อหรือกระเปาะขนาดใหญ่ขึ้น ลักษณะทรงกลมหรือทรงกระบอก หม้อประกอบด้วย ปาก (peristome หรือ lip) มีขนาดประมาณ 14-17 มิลลิเมตร (Wang *et al*., 2009) ผิวเรียบเป็นมันหรือเป็นซี่ฟัน มีสีสันและลวดลายแตกต่างกันออกไปในแต่ละชนิด ภายในหม้อมีต่อมน้ำหวานไว้สำหรับล่อเหยื่อ โดยเหยื่อส่วนใหญ่จะเป็นแมลงในกลุ่ม Diptera เช่น แมลงวันดอกไม้และยุง กลุ่ม Hymenoptera เช่น ผึ้ง มด และตัวต่อ

(Lestariningsih *et al*., 2017) ส่วนของฝา (operculum หรือ lid) มีหน้าที่ดึงดูดแมลง ให้เข้ามาหาโดยใช้สีสันที่สดใส และต่อมน้ำหวานอยู่ข้างใต้ฝาหม้อ เมื่อหม้อเจริญเติบโตเต็มที่ฝาจะเปิดออก และไม่สามารถปิดได้ นอกจากนี้ฝาหม้อยังทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้น้ำฝนตกลงไปในหม้อ จนทำให้น้ำย่อยในก้นหม้อเจือจางลง ผนังด้านในของหม้อจะมีส่วนที่มีขี้ผึ้ง (Waxy zone) ซึ่งอยู่บริเวณด้านบน และส่วนที่ย่อยซากเหยื่อ (Digestive zone) อยู่ก้นหม้อ ซึ่งจะมีน้ำย่อยอยู่ภายในหม้อ ประกอบด้วยน้ำและเอนไซม์ จำพวกที่มีกรดอะมิโนในรูปของโปรตีนที่ถูกผสมขึ้นเพื่อย่อยเหยื่อ (Hatano *et al*., 2012) บริเวณใต้ฝาครอบปากถุงจะมีสีสันที่เกิดจากเนื้อเยื่อ เรียกว่า ขอบปากถุง มีลักษณะที่เรียกว่าฟัน ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้แมลงหนีออกจากถุงดักแมลง ที่ฐานของฝามีเดือย (spur) ส่วนหน้าของหม้อล่างมีปีก (wing หรือ ladder) สองอันเป็นชายครุยจากโคนไปถึงขอบหม้อ ช่วยให้แมลงไต่ขึ้นไปยังปากหม้อได้สะดวก (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 โครงสร้างภายนอกของหม้อข้าวหม้อแกงลิง

โครงสร้างภายในของหม้อ ในแต่ละส่วนจะมีหน้าที่ผลิตน้ำย่อยออกมาผสมกับน้ำตามธรรมชาติที่ขังอยู่ภายในหม้อ เมื่อเหยื่อพลัดตกลงไปภายในหม้อ เหยื่อจะพยายามหาทางปีนหนีขึ้นมาด้านบนหม้อ ซึ่งจะพบกับผิวหม้อส่วนบนที่ลื่น เหยื่อที่ตกลงไปภายในหม้อจะค่อยๆ จมน้ำแล้วถูกย่อยสลายด้วยน้ำย่อยจนเป็นสารอนินทรีย์ และถูกดูดซึมเข้าสู่ลำต้น (ภาพที่ 5) โครงสร้างภายในของหม้อแบ่งออกเป็น 3 ส่วน

ส่วนล่อเหยื่อ (Attractive zone)

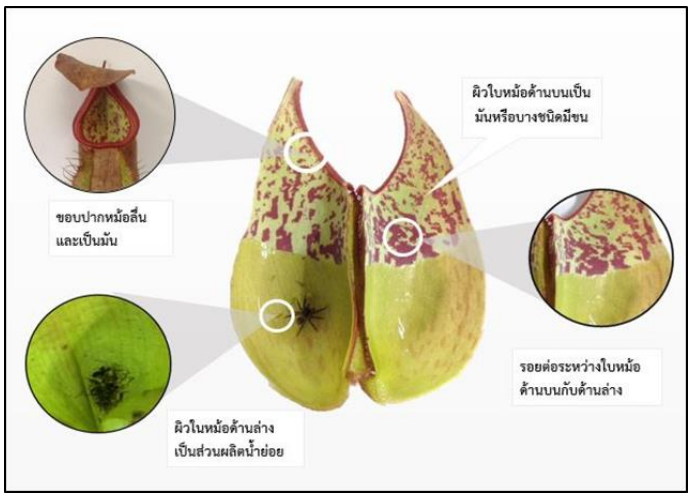
ส่วนล่อเหยื่อประกอบด้วย ตัวหม้อ ปาก และฝา ที่มีสีสันและลวดลายสวยงาม มีผิวเรียบลื่น ทำให้เหยื่อพลัดตกลงไปในหม้อได้ง่าย และมีการผลิตต่อมน้ำหวานออกมาบริเวณรอบปากถุงเพื่อเป็นการล่อเหยื่อ เช่น มด ตัวต่อ ยุงตัวเต็มวัย ตัวอ่อนของยุง ผีเสื้อ มอด แมลงปีกแข็ง แมลงสาบ แมงมุม และไส้เดือนฝอย เป็นต้น (Marina *et al*., 2018)

ส่วนที่มีขี้ผึ้ง (Waxy zone)

โดยส่วนที่มีขี้ผึ้งจะทำหน้าที่ให้เหยื่อที่ตกลงภายในหม้อ ไม่สามารถปีนกลับขึ้นมาได้ หรือทำให้ขาพวกมด และแมลงไม่สามารถเกาะอยู่ได้ ซึ่งอยู่บริเวณด้านในหม้อที่อยู่ลึกจากบริเวณปากลงไปประมาณหนึ่งในสามของตัวหม้อ ผิวจะเรียบลื่นคล้ายเคลือบด้วยขี้ผึ้งที่ประกอบด้วยสารในกลุ่ม แอลเคน (alkanes) แอลดีไฮด์ (aldehydes) แอลกอฮอล์ (primary alcohols) กรดไขมัน (free fatty acids) เอสเทอร์ (esters) และเทอร์ปีนอยด์ (triterpenoids) (Wang *et al*., 2009)

ส่วนที่ย่อยซากเหยื่อ (Digestive zone)

ส่วนที่ย่อยซากเหยื่อเป็นส่วนที่อยู่ลึกที่สุด มีต่อมเล็กๆ เป็นจำนวนมาก ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ เช่น โปรตีนเอส (proteases) ไคนิเนส (chitinases) กรดอินทรีย์ (organic acids) คลอรีน (chlorine) โซเดียมไอโอนิก (sodium ions) และน้ำ เป็นต้น โดยเอนไซม์เหล่านี้มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนๆ (Wang *et al*., 2009) เมื่อมีแมลงตกลงไปจะปล่อยเอนไซม์ย่อยสลายซากเหยื่อ เพื่อดูดซึมธาตุอาหารจากเหยื่อ (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554)



ภาพที่ 5 โครงสร้างภายในหม้อของหม้อข้าวหม้อแกงลิง

4. ดอก

หม้อข้าวหม้อแกงลิงจัดเป็นพืชที่มีดอกไม่สมบูรณ์เพศ ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้น (Dioecious) ออกดอกเป็นช่อตามส่วนยอดของลำต้น มีส่วนดอกย่อยที่เกิดบนก้านช่อดอก ดอกย่อยที่อยู่ด้านล่างจะแก่และบานก่อนดอกอื่นๆ ที่อยู่ถัดขึ้นไปจากด้านบน ก้านช่อดอกยาวประมาณ 50-100 เซนติเมตร ในส่วนของดอกย่อยบริเวณกลีบเลี้ยงของดอกเพศผู้และเพศเมีย พบต่อมน้ำหวาน (nectary gland) ทำหน้าที่ผลิตน้ำหวาน (nectar) เพื่อล่อเหยื่อจำพวก ผีเสื้อ แมลงวัน และผึ้ง ให้ลงมาตอมดอกเพื่อช่วยในการผสมเกสร มีการหลั่งน้ำหวานในช่วงตอนเย็น ตอนกลางคืนบริเวณกลีบเลี้ยงอุดมไปด้วยน้ำหวาน ที่มีความเข้มข้นประมาณ 3-12 เปอร์เซ็นต์ และหยุดหลั่งน้ำหวานในช่วงตอนเช้า ดอกเพศผู้สามารถผลิตน้ำหวานได้มากกว่าดอกเพศเมีย อัตราในการผลิตน้ำหวานของดอกเพศผู้อยู่ที่ประมาณ 1.3-1.5 ไมโครลิตรต่อชั่วโมง (Kato, 1993)

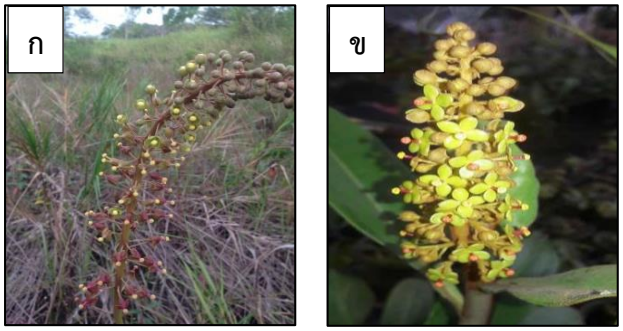
สามารถจำแนกช่อดอกออกเป็น 2 กลุ่ม

กลุ่มที่มีช่อดอกแบบ Raceme (ช่อกระจะ)

ลักษณะของช่อแบบองุ่น เป็นช่อดอกเดียวที่ประกอบด้วยก้านดอกย่อยขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งแต่ละก้านดอกย่อยนั้นจะมีขนาดใกล้เคียงกัน สายพันธุ์ที่พบในลักษณะแบบนี้ เช่น *N. mirabilis N. gracilis* และ *N. veitchii* เป็นต้น

กลุ่มที่มีช่อดอกแบบ Pinnacle (ช่อแตกแขนง)

ลักษณะช่อดอกจะเป็นกลุ่มช่อดอกย่อย เป็นกลุ่มๆ กลุ่มหนึ่งจะมีดอกย่อยตั้งแต่ 3-7 ดอก ซึ่งก้านดอกย่อยแต่ละดอกมีขนาดไม่เท่ากัน สายพันธุ์ที่พบในลักษณะแบบนี้ เช่น *N. ampullaria N. bicalcarata* และ *N. masoalensis* เป็นต้น (ภาพที่ 6) (สวัสดิ์, 2554)



ภาพที่ 6 ลักษณะช่อดอกหม้อข้าวหม้อแกงลิงแบบ ช่อดอกแบบ Pinnacle และ ช่อดอกแบบ Raceme
ก: *N. mirabilis* var. mirabilis
ข: *N. ampullaria*
อนุเคราะห์ภาพถ่ายโดย: ชยันต์ ยอดธรรมรัตน์

ดอกเพศเมีย

ดอกเพศเมียมีช่อดอกยาว ดอกย่อยมีสีเขียว จำนวนดอกย่อยต่อช่อดอกเพศเมียมีน้อยกว่าดอกเพศผู้ มีประมาณ 10-30 ดอก ดอกย่อยจะมีกลีบเลี้ยงสีเขียวจำนวน 4 กลีบ แต่ละกลีบเลี้ยงพบต่อมน้ำหวาน ลักษณะเกสรตัวเมียมีสีเขียว รูปรี ไม่มีก้านชูเกสร และจะเชื่อมต่อกับส่วนรังไข่ติดเหนือวงกลีบ (superior ovary) ภายในรังไข่แบ่งออกเป็น 4 ช่อง และแต่ละช่องมีผนังกั้นอย่างชัดเจน ซึ่งภายในมีไข่จำนวนมาก บริเวณยอดเกสรเพศเมียของหม้อข้าวหม้อแกงลิงจะเป็นชนิดเปียกเหนียว (wet stigma) มีการสังเคราะห์สารเมือกเหนียว (stigma fluid) ไว้ยึดเกาะละอองเกสรเพศผู้ที่ตกบนยอดเกสรเพศเมียและช่วยกระตุ้นการงอกของหลอดละอองเกสร ดอกเพศเมียเมื่อพร้อมที่จะผสมจะเกิดการบานของดอก เมื่อไข่ได้รับการผสมจะพัฒนาเป็นเมล็ด (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554) ช่วงระยะเวลาการบานของดอก คือ ตอนเช้าเวลาประมาณ 7.00-10.00 น. และช่วงค่ำเวลาประมาณ 19.00-22.00 น.

ดอกเพศผู้

ดอกเพศผู้จะมีช่อดอกลักษณะเป็นช่อยาว มีดอกย่อยขนาดเล็ก เรียงสลับบนก้านช่อดอก จำนวนของดอกย่อยต่อหนึ่งช่อดอก มีประมาณ 20-40 ดอก ก้านดอกและกลีบเลี้ยงมี 4 กลีบ สีม่วงแดง ซึ่งแต่ละกลีบจะมีต่อมน้ำหวานเพื่อผลิตน้ำหวานในการล่อเหยื่อ ช่อดอกจะมีอับเรณูอยู่บนก้านชูเกสร เมื่ออับละอองเกสรแก่เต็มที่จะแตกออก มีส่วนของละอองเกสร (pollen grain) ลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ จำนวนมาก มีสีเหลืองและกลิ่นหอมอ่อนๆ ละอองเกสรทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ละอองเกสรแพร่กระจายไปตามลม น้ำ และติดขาแมลง ช่วงเวลาการบานของดอกเพศผู้มี 2 ช่วง ได้แก่ ตอนเช้าเวลาประมาณ 10.00-12.00 น. และช่วงค่ำเวลาประมาณ 19.00-22.00 น. (ภาพที่ 7)

ภาพที่ 7 ดอกหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa

ก: ช่อดอกเพศเมีย

ข: ช่อดอกเพศผู้

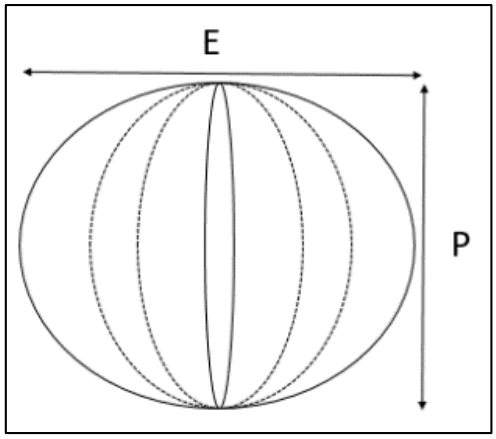
ละอองเกสร

ละอองเกสรจะบรรจุอยู่ภายในอับเกสร (anther) และเมื่ออับเกสรแก่จะแตกออก มีละอองเกสรหรือเรณูบรรจุอยู่ภายใน ละอองเกสรมีสีเหลือง ขนาดเล็กจำนวนมากเกาะอยู่รวมกัน ส่วนประกอบภายในของละอองเกสร ประกอบด้วย vegetative nucleus และ generative nucleus ไซโทพลาสซึม เซลล์เมมเบรน และผนังเซลล์ ภายในไซโทพลาสซึม ประกอบด้วย Golgi apparatus mitochondria และ Endoplasmic reticulum ส่วนผนังเซลล์ด้านนอกสุด มีส่วนประกอบที่แข็ง เรียกว่า เอกซีน (exine) ภายในเซลล์ละอองเกสรไม่มีคลอโรพลาสต์ กระบวนการสังเคราะห์แสงจึงไม่เกิดขึ้น ในส่วนของผนังละอองเกสร ประกอบด้วยสารเคมีที่ทนทานต่อการสลายตัว ได้แก่ สารกลุ่ม pectinous คือ sporopollenins หรือสารที่ เรียกว่า pollenin และภายในโพรโทพลาสซึมของละอองเกสรมีสารเคมีในรูปโครงสร้างแตกต่างกัน คือ โปรตีน กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต monocarboxylic กรดไขมัน แมกนีเซียม แคลเซียม ทองแดง เหล็ก ซิลิคอน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และคลอรีน เป็นต้น

การศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาของละอองเกสร

รูปร่างของละอองเกสร (shape of pollen)

การจำแนกรูปร่างลักษณะของละอองเกสร จะต้องวัดขนาดของละอองเกสรในแนวแกนระหว่างขั้วทั้งสองของละอองเกสร (polar axis, P) และค่าความกว้างของละอองเกสรในแนวเส้นศูนย์สูตร (equatorial axis, E) (ภาพที่ 8) แล้วใช้สัดส่วนของ P/E เป็นเกณฑ์ หากค่า P/E ตกอยู่ในช่วงใด ให้เรียกรูปร่างของละอองเกสร ตามลำดับชั้น Erdtman (1952) (ตารางที่ 1)



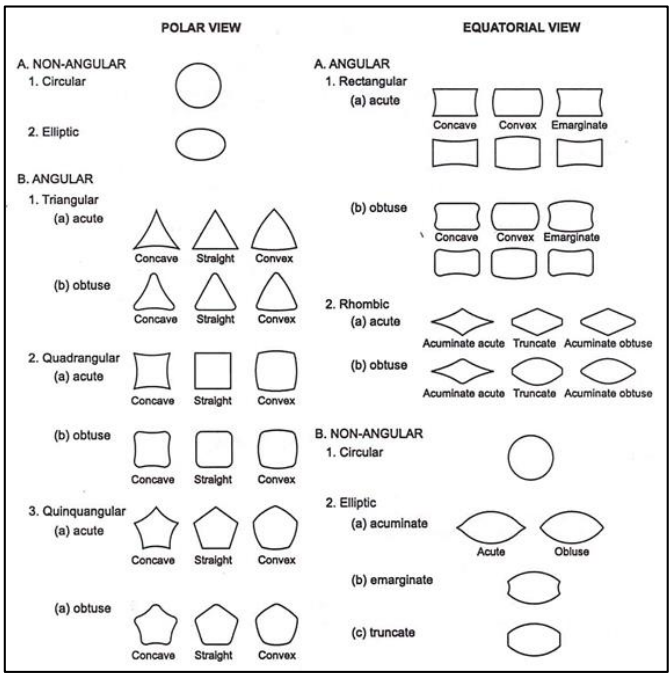
ภาพที่ 8 การวัดขนาดของละอองเกสร ในแนวแกนระหว่างขั้วทั้งสองของละอองเกสร และค่าความกว้างของละอองเกสรในแนวเส้นศูนย์สูตร

ตารางที่ 1 การจัดแบ่งรูปร่างของละอองเกสรเป็นลำดับชั้นต่างๆ โดยใช้สัดส่วนของ polar axis และ equatorial axis

Shape classes	P/E	100X P/E
Peroblate	<4/8	<50
Oblate	4/8-6/8	50-75
Subsheroidal	6/8-8/6	75-133
suboblate	6/8-7/8	75-88
oblate spheroidal	7/8-8/8	88-100
prolate spheroidal	8/8-8/7	100-114
subprolate	8/7-8/6	114-133
Prolate	8/6-8/4	133-200
Perprolate	>8/4	>200

หลักการศึกษารูปร่างลักษณะของละอองเกสร แบ่งออกเป็น 2 แบบ

1. รูปร่างของละอองเกสรทางด้านขั้ว (polar view)
2. รูปร่างของละอองจากการสังเกตุทางด้านข้าง (equatorial view) (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 รูปร่างของละอองเกสรทางด้านขั้ว และทางด้านข้าง
ที่มา: www.biologydiscussion.com

การศึกษาลักษณะการเกิด (occurring) ของละอองเกสร เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในการจำแนกชนิดของละอองเกสรที่ต้องการศึกษา สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภท คือ

1. ลักษณะเป็นเรณูเดี่ยว (monad)
2. ลักษณะติดกันเป็น 2 พู (dyads)
3. ลักษณะติดกันเป็น 4 พู (tetrads)
4. ลักษณะติดกันมากกว่า 4 ละอองเกสรขึ้นไป (polyads)
5. ลักษณะเป็นเรณูเดี่ยว แต่มีถุงพองออกทั้งสองด้านของละอองเกสร (saccate pollen grain)

ขนาดของละอองเกสร (Size of pollen)

ขนาดของละอองเกสรวัดจากความยาวของละอองเกสร โดยไม่รวมถึงส่วนต่างๆ ที่ยื่น (sculpturing) ออกมาจากผนังละอองเกสร (ตารางที่ 2) โดยทั่วไปขนาดของละอองเกสร จะเป็นค่าระหว่างความยาวของละอองเกสรในแนวแกนระหว่างขั้วทั้งสองของละอองเกสร และความกว้างของละอองเกสรในแนวศูนย์สูตร ซึ่งขนาดของละอองเกสรจะอยู่ในรูปของ PxE และมีหน่วยเป็นไมโครเมตร

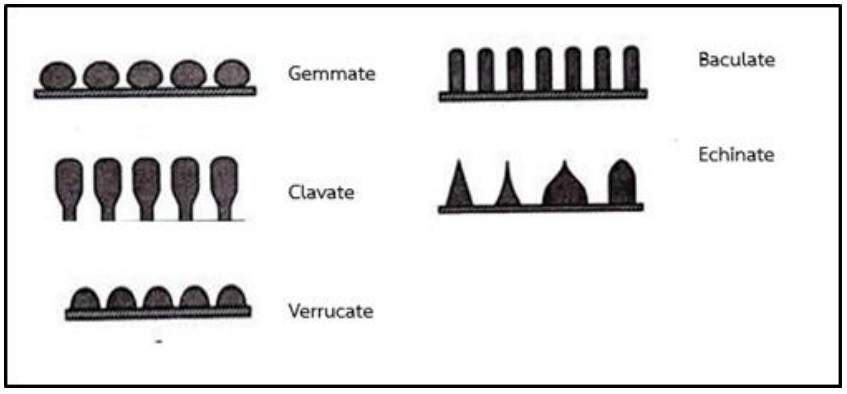
ตารางที่ 2 การจัดแบ่งขนาดของละอองเกสร เป็นลำดับชั้นต่างๆ

ชื่อเรียกตามขนาดของละอองเกสร	ขนาดละอองเกสร (µm)
ละอองเกสรขนาดเล็กมาก (very small)	<10
ละอองเกสรขนาดเล็ก (small)	10-25
ละอองเกสรขนาดกลาง (medium)	25-50
ละอองเกสรขนาดใหญ่ (large)	50-100
ละอองเกสรขนาดใหญ่มาก (very large)	100-200
ละอองเกสรขนาดใหญ่มาก (giantic)	>200

โครงสร้างผนังละอองเกสร (Exine structure)

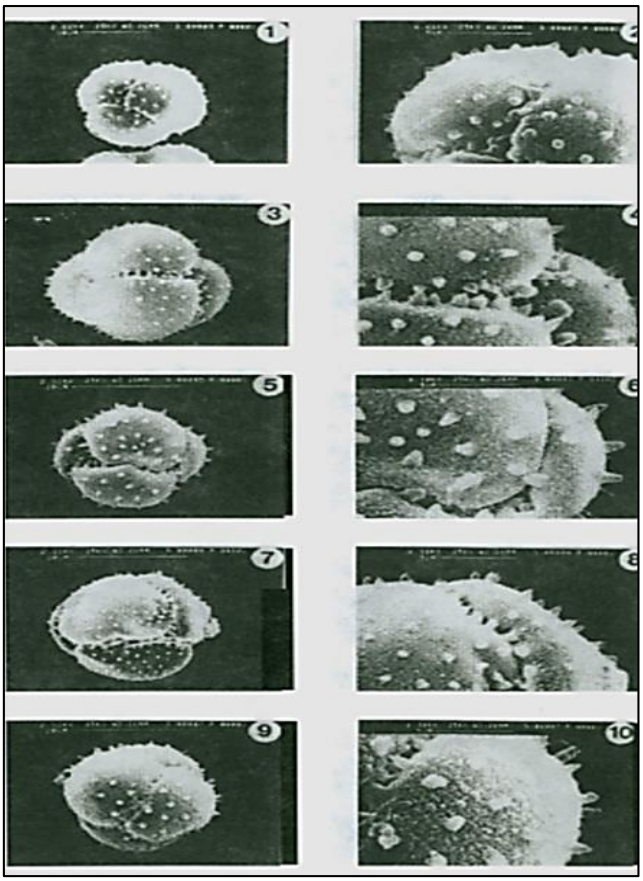
การศึกษาโครงสร้างของผนังละอองเกสร จะบ่งบอกถึงวิวัฒนาการของพืชและความแตกต่างของละอองเกสรในพืชแต่ละชนิด โดยผนังของละอองเกสรแบ่งออกเป็น 2 ชั้น คือ ผนังชั้นนอก (Exine) ประกอบด้วยชั้น sexine และ nexine และผนังชั้นใน (intine) ส่วนสำคัญในการศึกษาโครงสร้างของผนังละอองเกสร คือ ส่วนของ sexine ซึ่งเป็นชั้นที่ทำให้เกิดลวดลายบนผนังละอองเกสร ลวดลายที่พบบนผนังละอองเกสรมีหลายรูปแบบ (ภาพที่ 10)

1. verrucate เป็นตุ่มกลม ขนาดยาวกว่า 1 µm มีขนาดกว้างมากกว่าความสูง
2. gemmate ลักษณะเหมือน verrucatate แต่ส่วนฐานคอดเล็กกว่า
3. baculate เป็นตุ่มยาวคล้ายแท่งเสา โดยมีความสูงมากกว่าความกว้าง ขนาดยาวมากกว่า 1 µm
4. clavate เป็นตุ่มยื่นออกจากผนังละอองเกสร โดยมีความสูงมากกว่าความกว้าง ส่วนฐานคอด
5. echinate เป็นตุ่มที่ยื่นออกไปจากผนังละอองเกสร มีลักษณะปลายแหลมสูง 1-3 µm



ภาพที่ 10 ลวดลายแบบต่างๆ บนผนังละอองเกสร
ที่มา: ดัดแปลงจาก Erdtman (1952)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง 27 ชนิด ละอองเกสรมีขนาดตั้งแต่ 27-38.9 ไมโครเมตร ทุกชนิดไม่พบช่องเปิดของละอองเกสร (ภาพที่ 11) (Adam and wilcock, 1999)



ภาพที่ 11 ลักษณะละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่พบได้จากเกาะบอร์เนียว ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

1. *N. mirabilis* 10 µm
2. *N. mirabilis* 5 µm
3. *N. reinwardtiana* 20 µm
4. *N. reinwardtiana* 5 µm
5. *N. rafflesiana* 20 µm
6. *N. rafflesiana* 5 µm
7. *N. northiana* 20 µm
8. *N. northiana* 5 µm
9. *N. villosa* 20 µm
10. *N. villosa* 5 µm

ที่มา: Adam and Wilcock, 1999

5. ฝักและเมล็ด

เมื่อไข่ได้รับการผสมจะพัฒนาไปเป็นเมล็ด เมล็ดของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจะอยู่ภายในฝัก ซึ่งเจริญมาจากรังไข่ ฝักคล้ายแคปซูล รูปร่างรีเรียวยาว ผนังหนาและเหนียว ฝักมีสีเขียว เมื่อฝักเริ่มแก่จะเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 12) และจะแตกออกตามยาวเป็น 4 พู แต่ละพูมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมากอัดแน่น ประมาณ 50-500 เมล็ด ขนาดยาวประมาณ 0.2-1 มิลลิเมตร รูปร่างเป็นรูปไข่หรือรูปทรงกระบอก (cylindrical) เปลือกเมล็ดมีสีเหลืองน้ำตาล เมื่อลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออกพบเอ็มบริโอที่มีสีขาวขุ่นอยู่ภายในเยื่อหุ้มเมล็ด (ภาพที่ 13)

ภาพที่ 12 ฝักหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis
ก: ลักษณะฝักเป็นสีเขียว
ข: ลักษณะฝักเริ่มแก่เป็นสีน้ำตาล

ภาพที่ 13 ลักษณะเมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis
ก: เมล็ด
ข: ลักษณะเอ็มบริโอที่ลอกเปลือกหุ้มออก

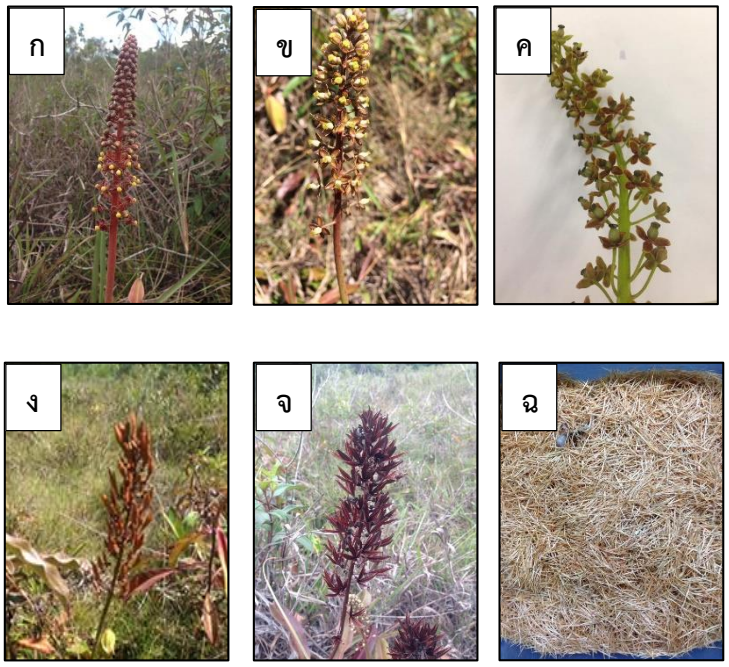
ขั้นตอนการผสมเกสรมีดังนี้

1. เมื่อดอกเพศผู้เริ่มบาน กลีบเลี้ยงทั้ง 4 กลีบ จะเปิดออกให้เห็นอับเกสรอยู่ภายใน หลังจากนั้น 2-4 ชั่วโมง อับเกสรจะแตกออก พบละอองเกสรอยู่ภายในจำนวนมาก

2. สังเกตดอกเพศเมียที่เริ่มบาน หากมีน้ำหวานหรือสารเมือกเหนียวอยู่บริเวณยอดเกสรสีเขียว แสดงว่าดอกเพศเมียมีความพร้อมในการผสมเกสร

3. นำละอองเกสรเพศผู้มาเคาะบนดอกเพศเมีย หลังจากการผสมเกสรแล้ว ภายในระยะ 1-2 วัน น้ำหวานของเกสรเพศเมียจะแห้งไป ยอดเกสรมีสีเข้มขึ้นหรือกลายเป็นสีน้ำตาลแสดงถึงการผสมติด รังไข่หรือฝักของดอกเพศเมียที่ได้รับการผสมจะขยายขนาดขึ้น

4. ต้นที่สมบูรณ์ ฝักจะเติบโตขึ้นเรื่อยๆ ฝักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แสดงว่าเมล็ดแก่เต็มที่พร้อมนำไปขยายพันธุ์ (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554) (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ลักษณะการผสมเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa

ก: ดอกเพศผู้ที่เริ่มบาน

ข: ดอกเพศเมียที่เริ่มบาน

ค: เกสรเพศเมียที่ได้รับการผสม

ง: ฝักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

จ: ฝักเริ่มแตก

ฉ: เมล็ด

1.2.4 การปลูกเลี้ยงและการดูแลรักษาหม้อข้าวหม้อแกงลิง

การปลูกเลี้ยงหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพแวดล้อมที่ไม่ได้อยู่ตามธรรมชาติ ควรเลือกปลูกชนิดที่เลี้ยงง่าย สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม ที่มีความชื้นต่ำได้ดีกว่าชนิดที่พบในพื้นที่สูงที่ต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอากาศเย็นถึงจะเจริญเติบโตได้ดี การปลูกและการดูแลรักษาต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง ผลิตหม้อที่มีลักษณะสีสันสวยงาม มีการเจริญเติบโตที่ดี ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1. สายพันธุ์

สำหรับสภาพอากาศในประเทศไทย เหมาะที่จะปลูกเลี้ยงหม้อข้าวหม้อแกงลิงในกลุ่มโลว์แลนด์ เช่น *N.mirabilis, N. thorelii, N. gracilis* และ *N. ampullaria* เป็นต้น

2. เครื่องปลูก

เครื่องปลูกควรมีลักษณะโปร่งๆ สามารถถ่ายเทอากาศได้สะดวก มีความชื้นสูง ระบายน้ำได้ดี ไม่อมน้ำไว้มากจนระบบรากแฉะ ในการปลูกจะมีส่วนประกอบหลักของเครื่องปลูก เช่น กาบมะพร้าวสับ ขุยมะพร้าว ทรายหยาบ ใบก้ามปู เปลือกสน สเฟกนัมมอส และหินภูเขาไฟ

3. น้ำและความชื้น

ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ปลูกเลี้ยงโดยทั่วไป ส่วนของใบจะปกคลุมกระถาง ส่งผลให้น้ำไหลลงวัสดุปลูกไม่สะดวก ต้นอาจได้รับน้ำไม่เพียงพอ ดังนั้นต้องให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ ให้น้ำวันละ 1-2 ครั้ง ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ปลูก และหากให้น้ำในปริมาณที่มากเกินไป มีความชื้นในเครื่องปลูกสูงอากาศจึงไม่สามารถแทรกตัวเข้าไปสัมผัสกับรากได้ ทำให้รากเน่า เชื้อราเข้าทำลายระบบรากและลำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง ส่วนของปลายใบจะไม่มีการพัฒนาไปเป็นหม้อ หรือหม้อจะฝ่อ มีขนาดเล็ก

4. แสง

หม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นพืชที่ชอบแสงมากๆ แต่จะไม่ชอบแดดกลางแจ้งโดยตรง และควรได้รับแสงอย่างน้อยครึ่งวัน หากร่มเกินไป ส่วนปลายใบที่พัฒนาออกมาเป็นหม้อจะฝ่อ หรือไม่เกิดหม้อ แสงแดดที่ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงควรได้รับขึ้นอยู่กับแต่ละพันธุ์ เช่น *N. ampullaria* ขึ้นอยู่ในป่าทึบมีความต้องการปริมาณแสงแดดน้อย แต่เมื่อนำมาปลูกเลี้ยงสามารถค่อยๆ เพิ่มแสงแดดได้จนถึงแสงแดด 50 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ตาข่ายพรางแสง หรือ ซาแรน (Slan) ช่วยกรองแสง

5. การให้ปุ๋ยบำรุง

โดยปกติต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงขนาดเล็ก ไม่สามารถดักจับแมลงเป็นอาหารได้มาก นักจำเป็นต้องการปุ๋ยอนินทรีย์ เพื่อเร่งการเจริญเติบโตจนสามารถล้างหม้อดักจับแมลงขนาดใหญ่และล่อเหยื่อได้ปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต หากต้องการใส่ปุ๋ยควรใส่ในปริมาณน้อย และพอเหมาะกับต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง โดยปุ๋ยที่นิยมใช้ส่วนใหญ่ เช่น ปุ๋ยละลายช้าสูตรเสมอ 14-14-14 และ16-16-16 หรือสูตรเร่งดอก ใส่ประมาณ 5-10 เม็ดต่อกระถาง ปริมาณขึ้นอยู่ขนาดของกระถาง ปุ๋ยละลายช้าใส่ 1 ครั้ง อยู่ได้นาน 3-6 เดือน หรือปุ๋ยจากมูลสัตว์ (มูลวัว) (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554; สวัสดิ์, 2554)

1.2.5 การขยายพันธุ์หม้อข้าวหม้อแกงลิง

1. การปักชำกิ่ง

การนำเอาส่วนกิ่ง หรือลำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง โดยใช้ส่วนของข้อใบที่มีตาข้างโคนใบ 2-3 ตาข้าง นำไปปักชำลงในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ขุยมะพร้าว ขุยมะพร้าวผสมทรายหยาบ ขี้เถ้าแกลบ พีตมอสผสมเพอร์ไลต์ หรือเปลือกสน เพื่อให้ส่วนของรากงอกและแตกยอดอ่อน เจริญเติบโตเป็นพืชต้นใหม่ได้ดี นำต้นที่ปักชำเก็บไว้ในโรงเรือนที่มีความชื้นสัมพันธ์ 10-100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้กิ่งชำสามารถสร้างหม้อใหม่จนสมบูรณ์ จึงจะย้ายปลูกในสภาพแปลงปกติ

2. การเพาะเมล็ด

การเพาะเมล็ด เป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่ให้จำนวนต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงจำนวนมาก โดยอาศัยการนำเกสรเพศผู้และดอกเพศเมียจากคนละต้นมาผสมกัน ต้นแม่พันธุ์และต้นพ่อพันธุ์ชนิดเดียวกันสามารถให้ลูกผสมที่แตกต่างกัน เนื่องด้วยหม้อข้าวหม้อแกงลิงแต่ละต้น ให้ลักษณะของหม้อที่มีเอกลักษณ์ สีสัน และรูปทรงเฉพาะตัว การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ดมีหลายขั้นตอน เริ่มตั้งแต่การคัดเลือกต้นแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ การผสมเกสร การเก็บเกสรเพศผู้ การเก็บเมล็ด การเพาะเมล็ด และการย้ายปลูกต้นกล้า

3. การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ

การเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อเป็นวิธีการกระตุ้นเซลล์หรือชิ้นส่วนของเมล็ด การตัดชำข้อ และปลายยอด ให้เกิดการเจริญเติบโตบนอาหารสังเคราะห์ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่สามารถควบคุมได้ในสภาพปลอดเชื้อ (ภาพที่ 15) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหม้อข้าวหม้อแกงลิง มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มจำนวนหรือการอนุรักษ์พืชในสกุลหม้อข้าวหม้อแกงลิง ที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ เป็นการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิง เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว และต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ได้เป็นต้นที่ปลอดจากเชื้อโรค

ภาพที่ 15 การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการเนื้อเยื่อพืช

1.2.4 ชนิดพืชในสกุลหม้อข้าวหม้อแกงลิงในประเทศไทย

ปัจจุบันมีนักวิชาการและนักสะสมพืชกินแมลงให้ความสนใจ มีการค้นพบพืชในสกุลหม้อข้าวหม้อแกงลิง ในประเทศไทยแล้วจำนวน 15 ชนิด 1 สายพันธุ์ย่อย (ตารางที่ 3)

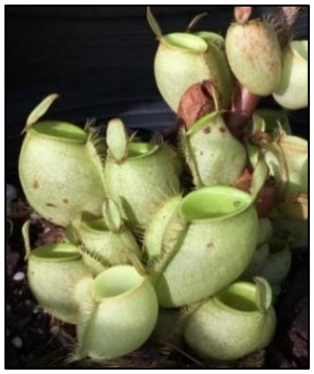
ตารางที่ 3 หม้อข้าวหม้อแกงลิงที่สามารถพบได้ในประเทศไทย

ชื่อวิทยาศาสร์	ชื่อสามัญ	แหล่งที่พบ
N. ampullaria Jack	หม้อแกงค่าง	สงขลา พัลลุง ปัตตานี สตูล นราธิวาส
N. gracilis Korth	หม้อใบไผ่	ตรัง สงขลา พัลลุง ปัตตานี สตูล นราธิวาส
N. mirabilis var. mirabilis	เขนงนายพราน ลิงค์นายพราน สมิงพราหมณ์	พบได้ทุกภาค ยกเว้นภาคเหนือ
N. mirabilis var. globosa	ไวกิ้ง	ตรัง พังงา
N. suratensis	เสือสุราษฎร์	สุราษฎร์ธานี
N. andamana	เสือพังงา	พังงา
N. kongkandana	เสือสงขลา	สงขลา
N. rosea	เสือเขียวภูเขา	กระบี่
N. krabiensis	เสือภูเขากระบี่	กระบี่
N.kampotiana Lecomte.	เสือเขมร	ตราด
N. kerrii	เสือสตูล	สตูล
N. sanguinea L.	หม้อแกงลิงเขา	นราธิวาส
N. smilesii Hemsl	น้ำเต้าพระฤาษี	เลย เพชรบูรณ์
N. thai	ไทย	นราธิวาส
N. thorelii Locomte	น้ำเต้าลม	อุบลราชธานี

1.2.5 หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดที่สามารถพบได้ในภาคใต้ของประเทศไทย

1. *Nepenthes ampullaria* Jack

ชื่อไทย: หม้อแกงค่าง และหม้อคางคก
ถิ่นกำเนิด: พัทลุง สงขลา สตูล ปัตตานี นราธิวาส
การกระจายพันธุ์: มาเลเซีย สิงค์โปร์ เกาะบอร์เนียว สุมาตรา และนิวกินี
นิเวศวิทยา: บริเวณป่าพรุดินทราย
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นมีความสูง 3-8 เมตร ใบเรียวและเรียบ ใบยาว 1-3 เซนติเมตร กว้าง 0.3-0.7 เซนติเมตร มีขนนุ่มปกคลุมผิวใบ ในส่วนของใบที่อยู่สูงจากระดับพื้นดิน ปลายใบที่อยู่สูงจะเปลี่ยนเป็นมือเกาะเลื้อยสูงขึ้นไปบนยอดไม้ ลักษณะดอกเป็นแบบช่อกระจะ 1 ก้านดอก จะมี 3 ดอกย่อย ปลายเกสรเพศผู้เมื่อเริ่มบานมีสีแดง
ลักษณะหม้อ: มีหม้อที่ทำหน้าที่จับแมลงและไม่มีหม้อจับแมลง หม้อค่อนข้างกลม ฝาปิดแคบเรียว หม้อมีสีเขียวอมเหลือง สีแดงอมน้ำตาล และสีเขียวอ่อนลายจุด มีความสูง 3-8 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-15 เซนติเมตร เมื่อต้นมีขนาดใหญ่มักมีหม้อผุดกลมๆ ขึ้นที่โคนต้น หม้อผุดจะไม่มีแผ่นใบ (ภาพที่ 16) (พัชญ์สิตา และคณะ, 2554; เต็ม, 2549; Handayani *et al*., 2005)



ภาพที่ 16 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. ampullaria* Jack

2. *Nepenthes gracilis* Korth

ชื่อไทย: หม้อใบไผ่
ถิ่นกำเนิด: พบได้ในพื้นที่ใกล้เคียงที่พบ *N. ampullaria*
การกระจายพันธุ์: มาเลเซีย สิงคโปร์ และเกาะสุมาตรา
นิเวศวิทยา: บริเวณที่ดินเป็นดินลูกรัง หรือป่าเสื่อมโทรม
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นสูงประมาณ 12.6-16.2 เซนติเมตร ใบเรียวแหลม ยาว 11-13 เซนติเมตร ดอกเป็นแบบช่อกระจะ ช่อดอกมีขนาดเล็ก 1 ก้านดอกมี 1 ดอกย่อย
ลักษณะหม้อ: ขนาดประมาณ 1-3 นิ้ว รูปเพรียวยาวคอดตรงกลาง มีหลายสี เช่น สีเขียว สีแดง และสีม่วงคล้ำ ปากหม้อบาง ฝาหม้อจะมีลักษณะคล้ายสปริง มีลักษณะของหม้อผุดเช่นเดียวกับ *N. ampullaria* (ภาพที่ 17) (Susanti and kencanawati, 2018)

ภาพที่ 17 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. gracilis*

3. *Nepenthes mirabilis* var. mirabilis

ชื่อไทย: เขนงนายพราน กระบอกน้ำนายพราน ลึงค์นายพราน และสมิงพราหมณ์
ถิ่นกำเนิด: พบได้ในแทบทุกภาคของประเทศไทย
การกระจายพันธุ์: ตั้งแต่จีนตอนใต้ จนถึงออสเตรเลีย
นิเวศวิทยา: พื้นที่ตามหนองน้ำ ที่โล่ง เฉอะแฉะ หรือบึงน้ำซึ่งมีน้ำท่วมขังเป็นประจำ
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นมีขนาดเล็ก เนื้อไม้เหนียว สูง 10 เมตร หนาไม่เกิน 10 มิลลิเมตร ระยะระหว่างข้อไม่เกิน 15 เซนติเมตร ใบเดี่ยวยาวทรงรีรูปไข่ หรือรูปปลายหอก มีขอบใบจักฟันเลื่อย ใบบาง ยาวประมาณ 5-14 เซตติเมตร กว้างประมาณ 1-4 เซนติเมตร
ลักษณะหม้อ: หม้อมีรูปทรงกระบอก หรือรูปทรงทรงยาว และค่อนข้างป้อม ปากหม้อกลม มีความสูงประมาณ 5-8 เซนติเมตร เส้นรอบวง 4-7 เซนติเมตร ปากหม้อบาง กว้าง 0.3-1 เซนติเมตร ยาว 1-1.5 เซนติเมตร ฝาปิดเป็นรูปไข่หรือวงรี ยาว 1-1.8 เซนติเมตร และกว้าง 1-1.5 เซนติเมตร มีสีแดงอมม่วง สีเขียวอมน้ำตาลแดง โดยส่วนใหญ่จะมีสีเขียวสดหรือสีแดงดำ แดงม่วง และชมพูส้มอมน้ำตาล สายดิ่งยาว 15-18 เซนติเมตร (ภาพที่ 18)
(พัชญ์สิตา และคณะ, 2554; Handayani *et al*., 2005)

ภาพที่ 18 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis

4. *Nepenthes mirabilis* var. globosa

ชื่อไทย: ไวกิ้ง (Viking)

ถิ่นกำเนิด: พืชถิ่นเดียวของไทย (Endemic species)

การกระจายพันธุ์: พบที่เกาะคอเขา จังหวัดพังงา และจังหวัดตรัง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นสูงประมาณ 4-6 เมตร ลำต้นเป็นทรงกลมสีแดง ใบเดี่ยวรูปวงรีถึงวงรีขอบขนาน ใบหยักเป็นลอนคลื่น มีซี่ฟันเลื่อยตลอดขอบใบ ช่อดอกแบบกระจะ 1 ก้านดอกจะมีดอกย่อย 1 ดอก

ลักษณะหม้อ: หม้อจะอ้วนกลม ปากหม้อที่ยกชันขึ้นดูเหมือนหัวเรือไวกิ้ง เป็นกระเปาะสีเขียวเหลือบแดง หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะให้หม้อสีแดงสด (ภาพที่ 19) *N. mirabilis* var. globosa เป็นชนิด *N. mirabilis* ที่แตกแขนงย่อยออกมา แต่ยังไม่จัดเป็นชนิดใหม่ เนื่องจากมีความใกล้ชิดกันอย่างมาก ต้องอาศัยการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมหรือความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยใช้หลักฐานทางโมเลกุล เช่น รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ หรือรูปแบบแถบโปรตีนที่ได้จากการตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลแบบต่างๆ ในการแยกความแตกต่างของชนิดพันธุ์ โดยมีเพียงรูปลักษณะภายนอกบางอย่างที่เปลี่ยนแปลงไป

ภาพที่ 19 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa

5. *Nepenthes thorelli* (suratensis)

ชื่อไทย: เสือสุราษฎร์

ถิ่นกำเนิด: เป็นพืชเฉพาะถิ่นของไทย อยู่ในความดูแลของกรมราชทัณฑ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี เดิมมีการกระจายในป่าทุ่งหญ้าตลอดแนวชายป่าของจังหวัดสุราษฎร์ธานี

นิเวศวิทยา: ทุ่งที่ราบลุ่ม ทุ่งหญ้าสะวันนา ในพื้นที่ดินทรายที่ค่อนข้างชุ่มชื้น

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นเรียวเล็ก ลำต้นเรียวเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตร มีความสูงประมาณ 3 เมตร ช่วงลำต้นจะไล่สีจากสีเขียวไปแดง ใบหนาคล้ายแผ่นหนัง รูปร่างเป็นรูปปลายหอกแกมขอบขนาน (linear to lanceolate)

ลักษณะหม้อ: หม้อล่างใกล้พื้นดินสีแดงสดครึ่งหม้อล่าง รูปทรงไข่ แล้วแคบลงที่ครึ่งบน มีเอวบริเวณกึ่งกลาง ส่วนหม้อบน รูปทรงกระบอก หรือทรงกรวยแคบ ครีบกว้าง มีสีเขียวอ่อน ผนังหม้อด้านนอกมีลายประสีแดง ภายในมีลายประสีม่วง (ภาพที่ 20)

ภาพที่ 20 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii*

6. *Nepenthes andamana*

ชื่อไทย: เสือพังงา
ถิ่นกำเนิด: เกาะคอเขา และเกาะพระทอง จังหวัดพังงา
นิเวศวิทยา: ทุ่งหญ้าสะวันนา ดินทรายที่ชุ่มน้ำ หรือตามขอบหนองน้ำบนเกาะชายฝั่งทะเล
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้เลื้อย สูงประมาณ 3 เมตร ใบเดี่ยวรี ใบเรียงตัวเป็นเกลียว ใบรูปไข่หรือรูปปลายหอก ยาว 15-30 เซนติเมตร กว้าง 2-3.5 เซนติเมตร จะมีลักษณะแผ่นใบเกลี้ยง มีขนบริเวณโคนใบและปลายใบ
ลักษณะหม้อ: หม้อล่างมีลักษณะยาว ก้นหม้อเป็นกระเปาะ มีเอวช่วง 1 ใน 3 จากก้น ด้านบนทรงกระบอก จะมีสีเขียวจนถึงสีส้มลายสีแดงเข้มจนถึงแดงน้ำตาล ปากหม้อสีแดงคล้ำ ส่วนหม้อบนจะมีหม้อเขียวอ่อนสด ภายในหม้อจะมีลายกระสีน้ำตาลแดง มีฝาปิด (lid) ลักษณะเป็นรูปหัวใจ มีขีดสีแดงบริเวณปากหม้อ (ภาพที่ 21)

ภาพที่ 21 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. andamana*

7. *Nepenthes kongkandana*

ชื่อไทย: เสือสงขลา

ถิ่นกำเนิด: อำเภอเทพา และอำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นเป็นไม้เลื้อย รูปทรงกระบอก สูงประมาณ 3- 5 เมตร มีความหนาเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-8 เซนติเมตร ใบยาวประมาณ 10-30 เซนติเมตร กว้าง 1.5-3 เซนติเมตร ใบคล้ายรูปหอก ไม่มีก้านใบ แผ่นใบมีขนทั้งบนและใต้ใบ ใบเขียว สายดิ่งยาว 5-25 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร ดอกเพศผู้มีช่อดอกแบบกระจะ ดอกย่อยประมาณ 40-180 ดอก ดอกมีสีเขียวเหลือบแดง ขนาดตามความยาว 2-4 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร ช่อดอกเพศเมีย ช่อดอกแบบกระจะ มีความสูง 100 เซนติเมตร ดอกย่อย 20-40 ดอก มีส่วนของรังไข่ยาว 2 เซนติเมตร ดอกเป็นสีเขียว

ลักษณะหม้อ: หม้อเป็นรูปทรงกระบอก หม้อล่างยาว 10-18 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร มีสีเขียว สีส้ม สีแดง หรือสีแดงดำ หม้อบนยาว 10-20 เซนติเมตร กว้าง 1.5-2 เซนติเมตร จะมีสีเขียวอ่อน ปากหม้อมีลักษณะคล้ายรูปไข่ ฝาปิดหม้อจะมีสีเขียว (ภาพที่ 22) (Catalano, 2010)

ภาพที่ 22 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. kongkandana*

8. *Nepenthes rosea*

ชื่อไทย: เสือเขียวภูเขา

ถิ่นกำเนิด: บนภูเขาหงอนนาค จังหวัดกระบี่

นิเวศวิทยา: บริเวณยอดเขา บนพื้นทรายหรือซากใบไม้ผุ ตามรอยแยกของหินปูนที่ระดับความสูง 420-520 เมตร จากระดับน้ำทะเล

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นเป็นไม้เลื้อย สูงประมาณ 4 เมตร มีสีเขียวหรือสีแดง มีใบคล้ายรูปหอกยาว 10-24 เซนติเมตร กว้าง 1.5-3.5 เซนติเมตร มีก้านใบเทียมและใบมีครีบ

ลักษณะหม้อ: หม้อรูปทรงกระบอกยาว หม้อล่าง ยาว 8-15 เซนติเมตร กว้าง 3-4.5 เซนติเมตร และหม้อบน ยาว 11-18 เซนติเมตร กว้าง 1.5-3.5 เซนติเมตร หม้อล่างเป็นสีส้มและมีลวดลายสี และมีลายเส้นสีชมพูบนหม้ออย่างสม่ำเสมอ ปากหม้อจะมีลักษณะเป็นรูปไข่ ปากหม้อล่างเป็นสีเขียวแกมชมพูและมีลวดลายสีชมพูเข้มที่ผนังด้านนอก ปากหม้อบนมีสีเขียวแกมส้มหรือสีแดง ผิวด้านบนของฝาหม้อมีสีเขียวแกมแดง (ภาพที่ 23)

ภาพที่ 23 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. rosea*

9. *Nepenthes krabiensis*

ชื่อไทย: เสือภูเขากระบี่

ถิ่นกำเนิด: จังหวัดกระบี่

นิเวศวิทยา: ยอดเขาที่มีความสูง 600-700 เมตร จากระดับน้ำทะเล ตามซอกหินบริเวณหน้าผา และบนพื้นดินปนทราย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นสูง 1.5-2.5 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5-5 มิลลิเมตร ปล้องยาว 1.7-2.7 เซนติเมตร เป็นชนิดที่มีความใกล้เคียงกับ *N. rosea* แต่มีความแตกต่างที่ใบมีความยาวกว่า 1.4-2 เซนติเมตร กับ 0.2-0.5 เซนติเมตร ใบเป็นใบเดี่ยวรูปหอกปลายแหลม มีการเรียงตัวสลับกัน และมีขนสีน้ำตาลยาว 0.1-0.2 มิลลิเมตร ปกคลุมทั้งใบ สายดิ่ง และผิวด้านนอกของหม้อ ดอกเพศผู้และเพศเมียยาว 40-50 เซนติเมตร และ 25-30 เซนติเมตร ก้านดอกและช่อดอกยาว 25-30 เซนติเมตร และ 10-25 เซนติเมตร จำนวนดอกเพศผู้มากกว่าประมาณ 25-90 ดอก

ลักษณะหม้อ: หม้อบนและหม้อล่างมีสีเขียว และมีลายจุดสีแดง ส่วนฝาปิดหม้อมีสีเขียวหรือสีแดง ปากหม้อบนและหม้อล่างมีลักษณะเป็นรูปไข่ (ภาพที่ 24) (สวัสดิ์, 2556; พัชญ์สิตา และคณะ, 2554; Catalano, 2010; Nuanlaong *et al*., 2016)

ภาพที่ 24 ลักษณะหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. krabiensis*

1.2.8 สถานการณ์การอนุรักษ์หม้อข้าวหม้อแกงลิง

หม้อข้าวหม้อแกงลิง เป็นพืชกินแมลงที่ต้องอนุรักษ์ เนื่องด้วยเป็นพืชที่หายาก หลายชนิดเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ไปจากพื้นที่ป่าธรรมชาติ ประชากรหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่เจริญเติบโตในธรรมชาติกำลังถูกคุกคามจากการทำลายถิ่นอาศัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยเฉพาะการขยายตัวของพื้นที่เกษตรกรรม เขตอุตสาหกรรม และถิ่นที่อาศัย ตลอดจนการเก็บต้นจากธรรมชาติมาจำหน่าย ส่งผลให้หม้อข้าวหม้อแกงลิงถูกจัดอยู่ในกลุ่มพืชที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ จากสหภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติหรือทรัพยากรธรรมชาติ (International Union of Conservation or Nature and Natural Resource: IUCN) สำหรับประเทศไทยได้มีข้อบังคับไว้เกี่ยวกับพืชอนุรักษ์ดังนี้

1. ห้ามมิให้ผู้ใดนำเข้า ส่งออก หรือนำผ่านพืชอนุรักษ์และซากของพืชอนุรักษ์ เว้นแต่ได้รับหนังสืออนุญาติจากอธิบดีหรือผู้ซึ่งอธิบดีมอบหมาย

2. ผู้ใดประสงค์จะขยายพันธุ์เทียมพืชอนุรักษ์เพื่อการค้า ให้ยื่นคำขอขึ้นทะเบียนสถานที่เพาะเลี้ยงพืชอนุรักษ์ต่อกรมวิชาการเกษตร

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับหม้อข้าวหม้อแกงลิง เป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยอนุรักษ์หม้อข้าวหม้อแกงลิงไว้ได้ และยังนำไปสู่การค้นพบชนิดใหม่ๆ เช่น *N. suratensis* เป็นพืชเฉพาะถิ่นของไทยที่พบได้แห่งเดียวในโลก บริเวณพื้นที่อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี อยู่ภายใต้ความดูแลของกรมราชทัณฑ์ โดย IUCN จัดให้หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดนี้จัดอยู่ในบัญชีแดงของสิ่งมีชีวิตที่ใกล้สูญพันธุ์ในกลุ่มมีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ (Clarke and Sarunday, 2013) นอกจากนี้ หม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิด *N. mirabilis* var. *globosa* พบได้บริเวณจังหวัดตรังและพังงา บริเวณที่สามารถเจริญเติบโตมีขนาดเล็กและจำกัด มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ ด้วยการสูญเสียแหล่งที่อยู่เดิมจากการพัฒนาพื้นที่ และการเข้าใช้พื้นที่ หรือการผสมเกสรในธรรมชาติ เพราะต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงออกดอกเพศผู้และเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้น บางครั้งออกดอกไม่พร้อมกัน ส่งผลต่อการผสมพันธุ์ มีอัตราการงอกของต้นอ่อนในธรรมชาติต่ำ อาจเนื่องมาจากเมล็ดของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงไม่พัฒนา เมล็ดที่ได้จะเป็นหมัน มีเมล็ดเพียงส่วนน้อยที่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ ดังนั้นจึงควรมีแนวทางในการอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ เพื่อให้มีหม้อข้าวหม้อแกงลิงในธรรมชาติต่อไป

1.2.9 การเก็บรักษาละอองเกสร (Pollen storage)

การเก็บรักษาละอองเกสรมีประโยชน์อย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ รักษาสายพันธุ์ ทั้งนี้เนื่องจากละอองเกสรของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่มีระยะการบานของเกสรตัวผู้กับความพร้อมในการผสมเกสรของดอกเพศเมีย มีการบานของดอกไม่พร้อมกัน จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรไว้ให้มีความมีชีวิตยาวนานที่สุด เพื่อรอเวลาที่เกสรตัวเมียมีความพร้อมในการผสมเกสร และมีประโยชน์อย่างยิ่งในการผสมพันธุ์พืชภายใต้การควบคุมโดยมนุษย์ (control pollination) โดยการคัดเอาละอองเกสรที่ดี ยังคงความสามารถในการงอก เพื่อให้ได้ลักษณะที่ต้องการ มีการเจริญเติบโตดี รูปทรงสวยงาม หรือในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างลูกผสม (hybrid) เมื่อละอองเกสรแก่เต็มที่แล้ว หากมีการเก็บรักษาละอองเกสรอย่างดีมีการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมสามารถเก็บละอองเกสรไว้ได้หลายเดือน ทั้งยังให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตที่ดี การศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรของพืชที่กำลังใกล้สูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติถือเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถอนุรักษ์พันธุกรรมไว้ได้ และเพื่อนำมาใช้ในการผสมพันธุ์ ละอองเกสรของพืชแต่ละชนิดใช้อุณหภูมิในการเก็บรักษาแตกต่างกัน เพื่อต้องการให้ละอองเกสรมีชีวิตได้นานที่สุด และสามารถงอกหลอดเกสรในการการผสมเกสรได้ตามปกติ

ในธรรมชาติละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงจะมีชีวิตอยู่ได้ 2-3 วัน ส่วนละอองเกสรที่นำเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส หากไม่ได้รับแสงโดยตรง จะมีชีวิตอยู่ได้ 3-6 วัน อาจเพราะแสงแดดจะเปลี่ยนแปลงสารประกอบทางเคมีที่ควบคุมการเจริญเติบโตของละอองเกสร และทำให้ความสามารถในการงอกของละอองเกสรลดลง ปัจจัยที่สำคัญและมีผลต่อความมีชีวิตของละอองเกสรในระหว่างการเก็บรักษา คือ อุณหภูมิ ความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสรขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เนื่องจากละอองเกสรที่ยังคงความมีชีวิตนั้นมีกระบวนการที่ต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ และโปรตีน การหายใจ และเกิดการสังเคราะห์สารประกอบต่างๆ ดังนั้นหากอุณหภูมิที่เก็บรักษาไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ จะส่งผลต่อความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรลดลง อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไปจะมีผลทำให้การงอกของละอองเกสรลดลงหรือทำให้ละอองเกสรไม่มีชีวิต

การเก็บรักษาละอองเกสรโดยอุณหภูมิต่ำ (Low temperature) เป็นการหยุดกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ของพืช ไม่มีกระบวนการทางเมตาบอลิซึมต่างๆ มีผลต่ออัตราการหายใจ และการเจริญของจุลินทรีย์ หรือการทำงานของเอนไซม์ การใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษาละอองเกสรส้ม (*Citrus sinensis* L., *Citrus maxima* Burm, *Citrus paradise* Macf.) สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 10-11 เดือน ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (Ahmed *et al*., 2017) แต่อย่างไรก็ตามละอองเกสรของพืชแต่ละชนิดจะมีวิธีการเก็บรักษาตามอุณหภูมิที่แตกต่างกันออกไป เช่น ละอองเกสรธูปฤาษีเก็บที่อุณหภูมิ -11 และ 4 องศาเซลเซียส ไม่ได้ช่วยให้ละอองเกสรคงความมีชีวิต โดยเมื่อเปรียบเทียบกับละอองเกสรที่เก็บสดจะมีความสามารถในการงอก หลังจากการเก็บรักษาไว้ภายในสัปดาห์แรกประมาณ 83 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเรื่อยๆ จนเหลือประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บไว้ครบ 1 เดือน (ปฏิญญา, 2544) ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน ละอองเกสรดอกศรีตรัง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 70 เปอร์เซ็นต์ หากได้รับอุณหภูมิสูงเกินไปจะ

เป็นอันตรายต่อเซลล์ละอองเกสร ละอองเกสรอาจเป็นหมันได้ แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาละอองเกสรพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น ถ้าเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตหนาว สตอเบอร์รี่ แอปเปิ้ล พลับ และกีวี เก็บรักษาละอองเกสรไว้ได้ที่อุณหภูมิประมาณ 0-(-20 องศาเซลเซียส) และส่วนของพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน ลำไย ลิ้นจี่ ทุเรียน มะม่วง ส้มโอ ส้ม ลางสาด องุ่น ฝรั่ง ว่านสี่ทิศ และพริก เก็บรักษาละอองเกสรไว้ได้ที่อุณหภูมิประมาณ 0 องศาเศลเซียส จนถึงอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังมีการใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บละอองเกสรในพืชอีกหลายชนิด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 อุณหภูมิ เปอร์เซ็นต์ความงอก และระยะเวลาในการเก็บรักษาละอองเกสรของพืช

species	Temperature (°c)	Germination (%)	References
แพร์ (Pear) Pathernakh Punjab Beauty Shinseiki	4, -20	 11.50, 50 20.83, 37.83 14.50, 35.50 (12 weeks)	Bhat *et al*., 2012
องุ่น White Malaga Black Opal	4, -20	 1.10,0.7 (2, 8 weeks) 1.90, 2.80 (2, 4 weeks)	เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2551
แอปเปิล *Malus pumilla*	 4 -20 -30 -60	 9.10 15.96 23.50 65.60 (48 weeks)	Perveen and Alikha, 2008
Leonurus cardiaca L.	-80	64.59 (30 days)	Shekari and Nazeri, 2016
น้อยหน่าออสเตรเลีย *Annona cherimola* Mill.	-20 -80	10.40 14.20 (3 months)	Lora *et al*., 2006

ตารางที่ 4(ต่อ) อุณหภูมิ เปอร์เซ็นต์ความงอก และระยะเวลาในการเก็บรักษาละอองเกสรของพืช

species	Temperature (°c)	Germination (%)	Reference
อัลมอนด์ (almond) *Pruns amygdalus*	 -20 -80	 75.10 81.74 (3 months)	Piri *et al*., 2015
กีวี *Actinidia deliciosa*	 -18	 35 (120 days)	Borghezan *et al*., 2011
Aechmea bicolor	-80	66.83 (30 days)	Souza *et al*., 2015
ส้ม *Citrus sinensis* L. *C. reticulata* Blanco. *C. maxima* Burm. *C. paradise Macf.*	 -20	 60 (48 weeks) 54 (48 weeks) 55 (44 weeks) 34 (48 weeks)	Ahmed *et al*., 2017
มะม่วง *Mangifera indica* L.	 -4	 50.14 (24 weeks)	Dutta *et al*., 2013
มะพร้าว *Cocos nucifera* L.	 -4 -20 -80	 27.13 39.39 33.81 (60 days)	Machado *et al*., 2014

การตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร

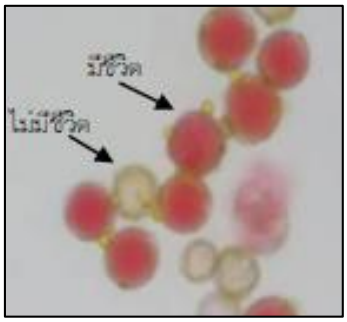
การเก็บรักษาละอองเกสร จำเป็นต้องตรวจสอบความมีชีวิตก่อน ที่จะนำละอองเกสรไปเก็บรักษา และต้องนำละอองเกสรมาตรวจคุณภาพก่อนนำไปใช้ เพื่อเป็นการตรวจสอบยืนยันความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร โดยสามารถนำผลที่ได้มาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือก และการนำละอองเกสรมาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างลูกผสม ดังนั้นหากได้ตรวจสอบความมีชีวิตหรือความสามารถในการงอกของละอองเกสรก่อนที่จะไปใช้ในการผสมพันธุ์ ก็จะช่วยลดความผิดพลาดจากการใช้ละอองเกสรที่ไม่มีชีวิต หรือใช้ละอองเกสรที่หมดความสามารถในการงอกไปใช้ ทำให้มีโอกาสประสบความสำเร็จในการผสมพันธุ์พืชมากขึ้น วิธีการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรที่เก็บรักษามี 2 วิธี คือ การตรวจสอบด้วยการย้อมสีและการงอกของละอองเกสร

1. การทดสอบด้วยการย้อมสี (chemical test)

การศึกษาความมีชีวิตของละอองเกสรด้วยการย้อมสี อาศัยหลักการที่ว่า ละอองเกสรที่มีชีวิตจะประกอบด้วย active enzymes ซึ่งจะทำให้เกิดการเปลี่ยนสีหลังการย้อม แต่หากเป็นละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะย้อมไม่ติดสีย้อม เทคนิคนี้สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการ หาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรได้ โดยนับละอองเกสรที่ติดสี ต่อจำนวนละอองเกสรทั้งหมด สีที่นิยมใช้คือ Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, 2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride และ Lactophenol cotton blue

Aceto carmine

สีย้อมอะซีโตคาร์มีน ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย กรดกรดแอซีติก 45 มิลลิลิตร สีคาร์มีน 1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร สีย้อมที่ได้มีลักษณะเป็นสีม่วงแดงกลิ่นฉุน โดยการติดสีจะกระจายทั่วไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ตามตำแหน่งของ chromosome ใน organelle ต่างๆ ได้แก่ mitochondria และ nuclei cell การจำแนกละอองเกสรที่มีชีวิตด้วยสีย้อมชนิดนี้ จึงใช้ความแตกต่างจากความเข้มของสีย้อมและการกระจายของสีในละอองเกสร ละอองเกสรที่มีชีวิตจะติดสีม่วงแดงบริเวณไซโตพลาสซึมและนิวเคลียส ส่วนละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี รวมถึงมีการกระจายของสีเพียงบางส่วนของละอองเกสรเท่านั้น (ภาพที่ 25)

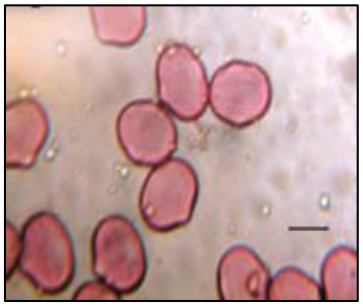


ภาพที่ 25 ลักษณะการติดสีย้อมของละอองเกสร *Citrus reticulata* Blanco ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine

ที่มา: Isma-ae and Sayan., 2012

Aceto orcein

การเตรียมสีย้อมอะซีออร์ซีน ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย กรดกรดแอซีติก 45 มิลลิลิตร สีออร์ซีน 1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน กรองใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็น สีย้อมมีลักษณะเป็นสีม่วงเข้ม กลิ่นฉุนคล้ายน้ำส้ม เป็นสีย้อมที่ใช้ย้อมสารทางชีวภาพ เซลล์ที่มีชีวิตจะย้อมติดสีแดงชมพู หรือสีม่วงแดงบริเวณไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ตามตำแหน่งของ chromosome และบริเวณนิวเคลียสของเซลล์ (ภาพที่ 26)

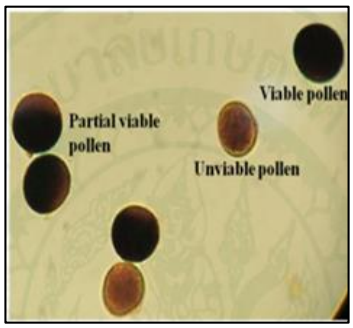


ภาพที่ 26 ลักษณะการติดสีย้อมของละอองเกสร *Crotalaria juncea* ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto orcein
ที่มา: Coelho *et al*., 2012

Iodine

การเตรียมสีย้อมไอโอดีน ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย โพแทสเซียมไปโอดีน 1 กรัม ไอโอดีน 0.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร สีย้อมจะมีลักษณะเป็นสารละลายสีน้ำตาลแดง ย้อมติดในส่วนของบริเวณไซโทพลาสซึม หากละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสีน้ำตาลแดงเต็มพื้นที่ของละอองเกสร ส่วนละอองเกสรที่ไม่ชีวิตจะย้อมไม่ติดสี และรูปร่างละอองเกสรอาจบิดเบี้ยวไปจากเดิม การยืนยันความมีชีวิตของละอองเกสรจากการย้อมสี Iodine สามารถแสดงถึงความมีชีวิตด้วยปริมาณเม็ดแป้งที่สะสม (starch grains) โดยพิจารณาจากลักษณะการย้อมติดสีที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ

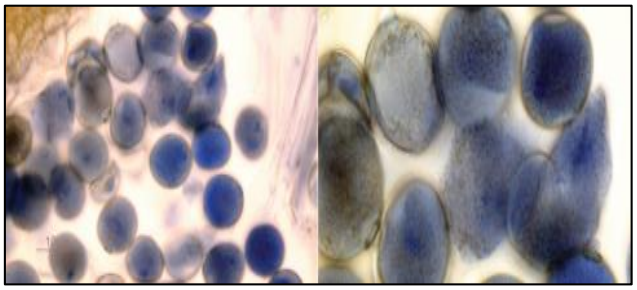
1. การย้อมติดสีน้ำตาลแดงหรือสีน้ำเงินเข้มทั้งละอองเกสร แสดงถึงความมีชีวิตที่สมบูรณ์ หรือ viable pollen
2. การย้อมติดสีน้ำตาลแดงหรือสีน้ำเงินเพียงบางส่วน แสดงถึงลักษณะความมีชีวิตเพียงแค่บางส่วนของละอองเกสรเท่านั้น หรือ partial viable pollen
3. ลักษณะละอองเกสรที่ไม่ติดสีย้อม คือ ละอองเกสรที่ไม่มีชีวิต หรือ unviable pollen ซึ่งไม่มีเม็ดแป้งอยู่ภายใน (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 ลักษณะการติดสีย้อมของละอองเกสรข้าว ทดสอบด้วยสีย้อม Iodine
ที่มา: อุษณีย์ (2557)

Lactophenol Cotton Blue

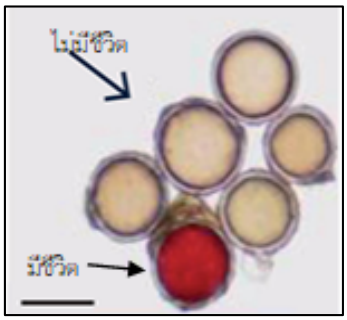
การเตรียมสีย้อม Lactophenol Cotton Blue ประกอบไปด้วย Methyl Blue (Cotton Blue) 50 มิลลิกรัม Phenol 25 กรัม Lactic Acid 25 กรัม และ Glycerol 50 กรัม สีย้อมมีลักษณะเป็นสีน้ำเงินเข้ม ละอองเกสรพืชโดยละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสีน้ำเงินเข้มบริเวณผนังเซลล์ ส่วนละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 ลักษณะการติดสีย้อมของละอองเกสร *Spartina anglica* ทดสอบด้วยสีย้อม Lactophenol Cotton Blue
ที่มา: Saarela, 2012

2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride (TTC)

เตรียมสีย้อม TTC ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยผงสีย้อม TTC ปริมาณ 0.2 กรัม น้ำตาลซูโครส 12 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 20 มิลลิลิตร ลักษณะสี TTC ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ย้อมติดในส่วนของเซลล์หรือเนื้อเยื่อของละอองเกสรที่มีชีวิตจะติดสีแดง ใช้หลักการที่ว่าเนื้อเยื่อที่มีชีวิตจะเกิดการหายใจ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจคือ เอนไซม์ dehydrogenase ซึ่งจะปล่อยไฮโดรเจนออกมาเมื่อสีย้อม TTC ซึมผ่านเนื้อเยื่อที่มีชีวิตจะเกิดปฏิกิริยารับเอาไฮโดรเจนทำให้เกิดตะกอนสีแดง (วสุ, 2547) (ภาพที่ 29)



ภาพที่ 29 ลักษณะการติดสีย้อมของละอองเกสรกล้วย ทดสอบด้วยสีย้อม TTC
ที่มา: Soares *et al*., 2013

สีย้อมแต่ละชนิดจะมีความเหมาะสมต่อพืชแตกต่างกัน เช่น การนำสีย้อมแต่ละชนิดตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร *Ficus carica* L. ด้วยสีย้อม Aceto carmine และ TTC พบว่า มีค่าความมีชีวิต 45.7 และ 47.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนละอองเกสร *Prunus laurocerasus* L. และ *Mespilus germanica* L. ย้อมด้วย TTC มีค่าความมีชีวิต 92.44 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และย้อมด้วย Iodine ค่าความมีชีวิต 94.14 และ 84.83 เปอร์เซ็นต์ (Lyra *et al*., 2011; Gaaliche *et al.*, 2013; Sousa *et al*., 2013; Cavusoglu and Sulusoglu, 2014) นอกจากนี้ มีการนำสีย้อมมาตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรพืชอีกหลายชนิด (ตารางที่ 5) จากตารางแสดงให้เห็นถึงการเลือกใช้สีย้อมแต่ละชนิดจะความเหมาะสมต่อละอองเกสรพืชให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตแตกต่างกัน

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรพืชแต่ละชนิดทดสอบด้วยสีย้อม

Staining	Scientific name	Viability (%)	Reference
Aceto carmine	*Malus* spp. *Ficus carica* L. *Aechmea bicolor* *Leonurus cardiaca* L.	25 80 94 91.35	Dantas *et al*., 2005 Gaaliche *et al*., 2013 Souza *et al*., 2014 Shekari *et al* ., 2016
Aceto orcein	*Polygala paniculata* L. *Crotalaria juncea* L.	98 98.96	Frescura *et al*., 2012 Coelho *et al*., 2012
Iodine	*Mespilus germanica* L. *Prunus laurocerasus* L.	84.83 81.25	Cavusoglu and Sulusoglu, 2014
2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC)	*Ficus carica* L. *Leonurus cardiaca* L. *Prunus laurocerasus* L. *Mespilus germanica* L.	84 86.93 91.69 91.66	Gaaliche *et al*., 2013 Shekari *et al* ., 2016 Cavusoglu and Sulusoglu, 2014
Lactophenol cotton-blue	*Spartina anglica*	50	Saarela, 2012

2. การทดสอบความงอกของละอองเกสรในอาหารสังเคราะห์

การทดสอบความงอกของหลอดละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ (*In vitro* germination) โดยใช้ความเจริญเติบโตของหลอดละอองเรณูเป็นตัวบ่งชี้ ซึ่งเป็นวิธีที่ให้ผลถูกต้องใกล้เคียงกับธรรมชาติและสรีรวิทยาของละอองเกสรมากที่สุด การศึกษาอัตราการงอกของละอองเกสรในสูตรอาหารแต่ละชนิดที่ใช้ จะมีผลโดยตรงต่ออัตราการงอกของละอองเกสร โดยอาหารที่ใช้ทดสอบการงอกของละอองเกสรมีการปรับค่าพลังงานศักย์ของน้ำ (osmotic potential; OP) และธาตุอาหาร (nutrient) ให้ใกล้เคียงกับสารเมือกเหนียว (stigma fluid) ที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ เป็นปัจจัยสำคัญที่กระตุ้นให้เกิดการงอกของหลอดละอองเกสร (สุพี, 2543) โดยสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบความงอกของละอองเกสรทั่วไปนิยมใช้องค์ประกอบของธาตุอาหารดังนี้

1. กรดบอริก (H_3BO_3) มีความสำคัญในด้านการเจริญยืดตัวของท่อละอองเกสรเนื่องด้วยกรดบอริกเป็นสารประกอบที่จำเป็นต่อการสร้างเพคติ ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์และหลอดละอองเกสร

2. แคลเซียมไนเทรต ($Ca(NO_3).4H_2O$) มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการงอกของละอองเกสรและช่วยให้หลอดละอองเกสรที่งอกแล้วยืดตัวได้ดีขึ้น หลอดละอองเกสรเจริญอย่างรวดเร็วแข็งแรง โดยธาตุแคลเซียมจะไปยึดจับกับหมู่ pectate carboxyl ของผนังของหลอดละอองเกสร จึงช่วยส่งเสริมให้โครงสร้างแข็งแรงและควบคุมการเคลื่อนย้ายของสารต่างๆ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

3. แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$) และโพแทสเซียมไนเทรต (KNO_3) มีความจำเป็นต่อเจริญเติบโตของหลอดละอองเกสร ช่วยดูดซึมและส่งเสริมอิทธิผลของธาตุแคลเซียม

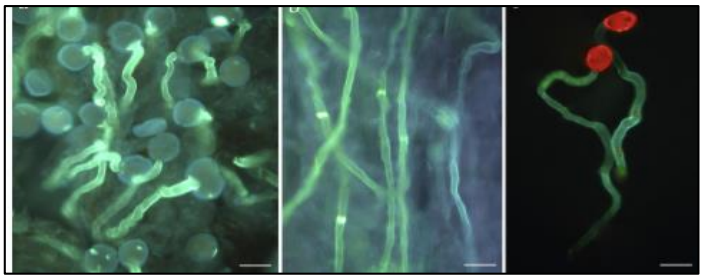
4. น้ำตาลซูโครส ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลของน้ำภายในและภายนอกเซลล์ของละอองเกสร บริเวณผนังเซลล์ของละอองเกสร มีสารเซลลูโลสและเพคตินเป็นองค์ประกอบ ทำให้เกิดการดูดน้ำตาลซูโครสที่อยู่บริเวณรอบๆ ผิวของละอองเกสรเข้าไปเพื่อใช้ในการระบวนการเมตาบอลิซึม น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและให้พลังงานแก่เซลล์ละอองเกสร (สุทิน, 2540; Brewbaker and Kwack, 1963) ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีความเหมาะสมที่แตกต่างกัน ในการนำมาทดสอบการงอกของละอองเกสรพืชแต่ละชนิด ในการทดสอบหาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการงอกของละอองเกสร เพื่อใช้ในการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรที่เก็บรักษาในสภาพต่างๆ โดยพืชแต่ละชนิดต้องการความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารสูตรสังเคราะห์แตกต่างกัน (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรต่อความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสในอาหารเพาะเลี้ยง

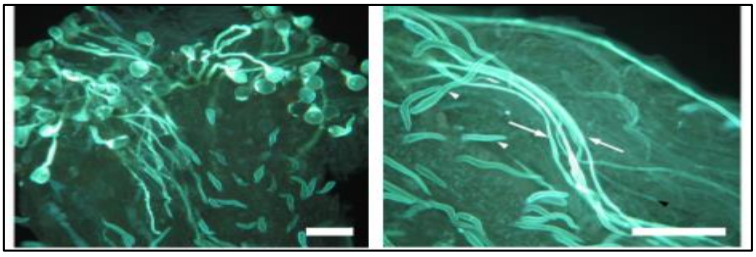
Scientific name	Sucrose (%)	Germination (%)	Reference
Capsicum annuum L.	15	46.75	ชลัยกร, 2544
Citrus maxima (Burm.) Merr	10	49.10	ดรุณี และคณะ, 2556
Prunus dulcis Mill.	10	40	Sorkheh *et al*., 2011
Malus pumila Mill.	15	89.92	Petrisor *et al*., 2012
Prunus laurocerasus L.	15	67.99	Sulusoglu and Cavusoglu, 2014
Malpighia emarginata DC. *Passiflore* spp.	10 15	49.85 32.92	Sousa *et al*., 2013
Citrus reticulata Blanco.	15	81.24	Isma-ae and Sayan, 2012
Jatropha ribifolia *Jatropha mollissima*	10	29.50 16.75	Lyra *et al*., 2011

3. การทดสอบความสามารถในการงอกของละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมีย

การศึกษาการเจริญของละอองเกสรภายในยอดเกสรเพศเมีย เพื่อศึกษาการงอกของ pollen tube การเจริญของหลอดเรณูภายในก้านเกสรเพศเมียและรังไข่ (pollen tube growth in style and ovary) ภายในเกสรเพศเมียที่ได้รับการถ่ายละอองเกสรในสภาพช่วยถ่ายละอองเกสร ยอดเกสรเพศเมียของหม้อข้าวหม้อแกงลิงจะเป็นชนิดเปียกเหนียว (wet stigma) จะมีการสังเคราะห์สารเมือกเหนียว (stigma fluid) ไว้ยึดเกาะละอองเกสรที่ตกบนยอดเกสรเพศเมีย และช่วยกระตุ้นการงอกของหลอดละอองเกสรให้เจริญไปยังออวุล กระบวนการพัฒนาของหลอดละอองเกสรผ่านก้านชูเกสรตัวเมียไปถึงรังไข่ ละอองเกสรจะเจริญแทรกเข้าไปในบริเวณชองวางขนาดเล็กของเซลล papillae เมื่อเวลาผ่านไป หลอดเกสรมีความยาวเพิ่มมากขึ้นและเจริญแทรกเข้าไปตามชองวางระหวางเซลลของเนื้อเยื่อเจริญไปตามความยาวของก้านเกสรเพศเมีย (style) โดยมีการศึกษาความสามารถในการปฏิสนธิ (fertility) ในหลายพืช เช่น ส้มซัทซูมา (*Citrus unshiu* Marc.) ส้มโชกุน (Citrus *reticulata* Blanco) ลำไย (*Dimocarpus longan* Lour.) (ภาพที่ 30) ทุเรียน ดอกลิลลี่ *Persea americana* และพืชกลุ่ม *Eucuruma* (ภาพที่ 31) (อรอุษา, 2546; ธีรนิติ, 2555; อุษณีย์; 2557; Rhee, 2005; Chelong and Sdoodee, 2012; Alcaraz *et al*., 2013; Pham *et al*., 2015,)



ภาพที่ 30 การงอกของหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมียของลำไย
ที่มา: Pham (2015)



ภาพที่ 31 การงอกของหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมียของ *Persea americana*
ที่มา: Alcaraz *et al*., 2013

1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย (Objectives)

1. เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง
2. เพื่อศึกษาสีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการงอกของละอองเกสร
3. เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง

บทที่ 2

วิธีการวิจัย (Research Methodology)

2.1 วิธีดำเนินการ (Methods)

2.1.1 การเก็บตัวอย่างละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิง 3 ชนิด

1. ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis จากพื้นที่อ่างเก็บน้ำตำบลเขาตอก อำเภอเคียนซา จังหวัดสุราษฎร์ธานี

2. ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa บริเวณพื้นที่ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตตรัง

3. *N. thorelii* (suratensis) ในพื้นที่เรือนจำชั่วคราวทุ่งเขน ตำบลพลายวาส อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ช่วงเวลาในการเก็บละอองเกสร คือ เวลา 09.00-18.00 น. เลือกอับละอองเกสรที่เปิดออกแล้ว ละอองเกสรที่สดใหม่จะมีลักษณะสีเหลืองเข้ม และมีลักษณะฟู เป็นผงเล็กๆ เกาะอยู่รวมกันเป็นจำนวนมาก โดยใช้พู่กันปัดเฉพาะละอองเกสรออกมา หรืออาจตัดดอกออกมา แล้วใช้พู่กันปัดเฉพาะละอองเกสรลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปิดฝาให้สนิท นำตัวอย่างที่เก็บไว้ในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ เปิดฝาหลอดออก ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องปกติ เป็นเวลา 10-20 นาที เมื่อละอองเกสรแห้งแล้ว ปิดฝาหลอดให้สนิท นำตัวอย่างละอองเกสรไปศึกษาในแต่ละการทดลอง

2.1.2 การศึกษาสัณฐานวิทยาของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด Scanning Electron Microscope

1. ตัวอย่างละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด ปริมาณ 1 มิลลิกรัม ในแต่ละชนิด นำละอองเกสรมาคงสภาพเนื้อเยื่อใน glutaraldehyde 2.5 เปอร์เซ็นต์ (ใน phosphate buffer 0.1M pH 7.0) เติมพอท่วมตัวอย่าง ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. ล้างด้วย sodium phosphste buffer (pH 7.2) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ล้าง 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที

3. นำตัวอย่างมาคงสภาพเนื้อเยื่อซ้ำด้วย Osmium (OsO_4) ในน้ำกลั่น (5% NaOH) ความเข้มข้น1 เปอร์เซ็นต์ เติมพอท่วมตัวอย่าง ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

4. หลังจากนั้นนำตัวอย่างละอองเกสรล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที และเอทานอล ความเข้มข้น 30, 70, 90 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เติมพอท่วมตัวอย่าง

5. ทำให้แห้ง ด้วยเครื่อง Critical Point Dryer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวางบนกระจกนาฬิกาและนำไปติดบนหมุด (stub) เก็บไว้ในโถแก้วดูดความชื้น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

6. นำตัวอย่างละอองเกสรมาฉาบด้วยอนุภาคทองคำ เป็นเวลา 90 นาที ศึกษาภายใต้กล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

บันทึกผลการศึกษา

1. รูปร่าง (shape)
2. ขนาด (size)
3. ลวดลายของผนังละอองเกสร (exine sculpturing)
4. จำนวนหนาม
5. ขนาดของหนาม
6. การกระจายของหนามต่อพื้นที่

2.1.3 ทดสอบสีย้อมและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

การทดลองที่ 1 ทดสอบการติดสีย้อมและความงอกของละอองเกสร โดยใช้ละอองเกสรที่เก็บแบบสดจากธรรมชาติ

ทดสอบการติดสีย้อม

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) มี 5 ทรีตเมนท์ ได้แก่ Aceto orcein, Aceto carmin, Iodine, Lactophenol cotton blue และ 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละทรีตเมนท์ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำ ทำการสุ่มนับการติดสีของละอองเกสร จำนวน 5 ตำแหน่งต่อสไลด์ โดยนำละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิง เขี่ยละอองเกสรลงบนแผ่นไลด์ จากหยดสีย้อม ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วปิดด้วยแผ่นปิดไลด์ ทิ้งไว้ประมาณ 40 นาที ยกเว้นสีย้อม TTC นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อดูการติดสีย้อมของละอองเกสร โดยละอองเกสรที่มีลักษณะกลมและติดสีย้อม คือละอองเกสรที่มีชีวิต ละอองเกสรที่มีลักษณะเหี่ยวย่นและไม่ติดสีถือว่าไม่มีชีวิต

ทดสอบความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ทรีตเมนท์ ได้แก่ ระดับความเข้นข้นของน้ำตาลซูโครส 2, 3, 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในแต่ละทรีตเมนท์ ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำ ทำการสุ่มนับการติดสีของละอองเกสร จำนวน 5 ตำแหน่งต่อสไลด์ โดยใช้อาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่างๆ ที่เตรียมไว้หยดลงบนแผ่นปิดสไลด์ (cover slip) 1 หยด ใช้เข็มเขี่ยละอองเกสรลงในอาหารให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน นำสไลด์หลุมมาปิดทับแผ่นปิดสไลด์ โดยให้อาหารอยู่ตรงกลางหลุมพอดี และรักษาความชื้นให้กับละอองเกสร โดยการนำไปวางไว้ในกล่องพลาสติกที่มีความชื้นสูง (ภายในมีกระดาษทิชชูเปียกน้ำ) บ่มไว้ 18-20 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบการงอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อดูการงอกของละอองเกสร

ทดสอบความงอกของหลอดละอองเกสรบนปลายยอดเกสรตัวเมีย

นำเกสรเพศเมีย (pistill) ในแต่ละคู่ผสม หม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelii* ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ช่อดอก โดยนำเกสรเพศเมียในแต่ละคู่ผสม ที่ได้รับการผสมแล้ว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อรักษาสภาพเซลล์ หลังจากนั้นนำมาผ่านกระบวนการเพื่อให้เนื้อเยื่ออ่อนนุ่มโดยการแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4 นอร์มอล ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง และย้อมด้วยสี aniline blue เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำความสะอาดเซลล์ด้วยการล้างน้ำกลั่น หลังจากนั้นนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ แล้วบันทึกภาพ

การทดลองที่ 2 ทดสอบสีย้อมและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร โดยใช้ละอองเกสรที่ผ่านการเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ

การศึกษาหาสีย้อมและความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส ที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร แบ่งละอองเกสรแต่ละชนิดออกเป็น 4 หลอด ปริมาณหลอดละ 1 มิลลิกรัม นำแต่ละหลอดไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิต่างๆ คือ อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส โดยเก็บละอองเกสรในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำให้เกิดความเสื่อมสภาพของละอองเกสร ใช้ในการคัดเลือกสีย้อมและความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส ที่มีความเหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร

บันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร

โดยคำนวณจาก $\frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่ติดสี}}{\text{จำนวนละอองเกสรที่สุ่มนับทั้งหมด}} \times 100$

2. เปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสร

โดยคำนวณจาก $\frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่งอก}}{\text{จำนวนละอองเกสรที่สุ่มนับทั้งหมด}} \times 100$

3. ตรวจสอบความสามารถในการงอกของหลอดละอองเกสร (pollen tube) บนยอดเกสรเพศเมีย (stigma surface) พร้อมบันทึกภาพจากกล้องจุลทรรศน์

2.1.4 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

ทดสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelli* นำละอองเกสรมาเก็บไว้ในหลอดไมโครเซนตริฟิกจ์ ปริมาณหลอดละ 1 มิลลิกรัม ปิดฝาให้สนิท หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ตรวจสอบความมีชีวิตด้วยสีย้อมและความงอกด้วยอาหารสูตรสังเคราะห์ ที่ได้จากการทดลองที่ 2.1.3 หลังจากทำการเก็บรักษา 3, 6, 9, 12, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน

บันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร

โดยคำนวณจาก $\frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่ติดสี}}{\text{จำนวนละอองเกสรที่สุ่มนับทั้งหมด}} \times 100$

2. เปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสร

โดยคำนวณจาก $= \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่งอก}}{\text{จำนวนละอองเกสรที่สุ่มนับทั้งหมด}} \times 100$

2.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. ศึกษาสัณฐานวิทยาของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

นำข้อมูลขนาดละอองเกสร ความสูง ความกว้างของหนามที่ยื่นออกมาจากผนังละอองเกสร จำนวนหนามต่อพื้นที่ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) โดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT)

2. ทดสอบสีย้อมและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ที่เหมาะสมต่อความชีวิตและความงอกของละอองเกสร

นำข้อมูลความมีชีวิตของละอองเกสรที่ทดสอบด้วยสีย้อม และข้อมูลความงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) โดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) และการวิเคราะห์เส้นแนวโน้มและความสัมพันธ์ (Regression and Correlation analysis)

3. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาละอองเกสร

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) โดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT

2.2 วัสดุและอุปกรณ์ (Meterial and Equipment)

2.2.1 วัสดุ และอุปกรณ์

- กล่องพลาสติก
- แผ่นสไลด์หลุม
- แผ่นสไลด์เรียบ
- พู่กัน
- แผ่นปิดสไลด์
- ไมโครปิเปต (Micropipette) และทิป (Tip)
- หลอดไมโครเซนตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- กรรไกรผ่าตัดปลายแหลม (Dissecting Scissors) ขนาด 6 นิ้ว
- เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดแก้ว แท่งแก้ว ดรอปเปอร์

2.2.2 เครื่องมือ

- ตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส)
- ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ - 20 และ -80 องศาเซลเซียส
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง
- กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอรีโอ
- ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ (Fluoresence microscope)
- กล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด Scanning Electron Microscope (SEM)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง

2.2.3 สารเคมีในการทดสอบความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสร

- 1% Aceto carmine
- 1% Aceto orcein
- 1% Iodine
- 1% Lactophenol Cotton Blue
- 1% 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC)
- 1% Aniline Blue
- กรดบอริค (H_3BO_3)
- แคลเซียมไนเตรด ($Ca(NO_3).4H_2O$)
- แมกนีเซียมซัตเฟส ($MgSO_4.7H_2O$)
- โพแทสเซียมไนเทรต (KNO_3)
- สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2, 3, 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

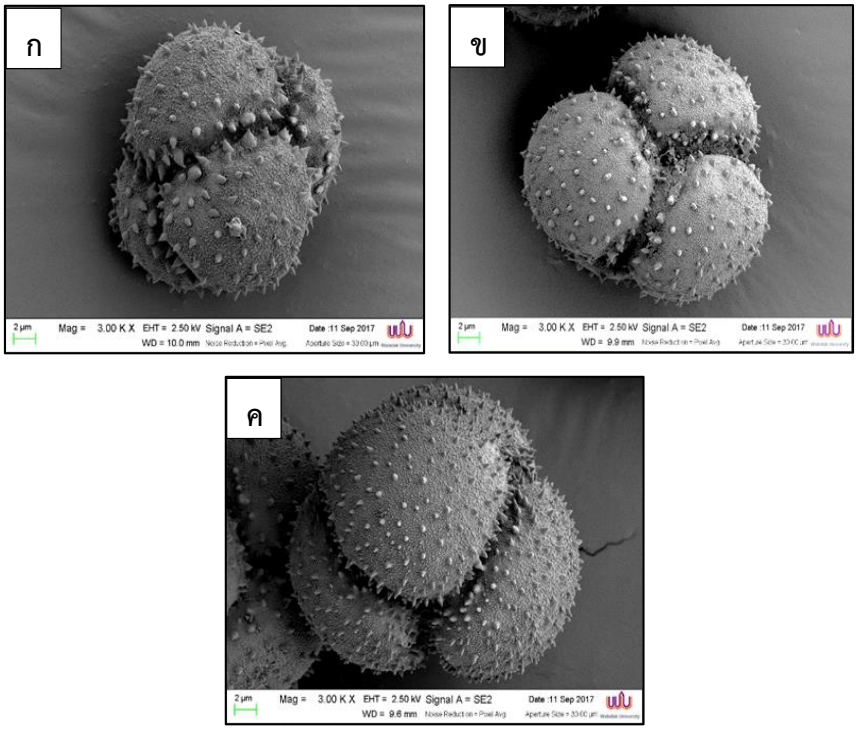
ผลการวิจัย (Results)

3.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิง

เก็บตัวอย่างละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิง 2 ชนิด 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *N. mirabilis* var. mirabilis *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelii* (*suratensis*) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของละอองเกสร ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

3.1.1 รูปทรงละอองเกสร (Shape of pollen)

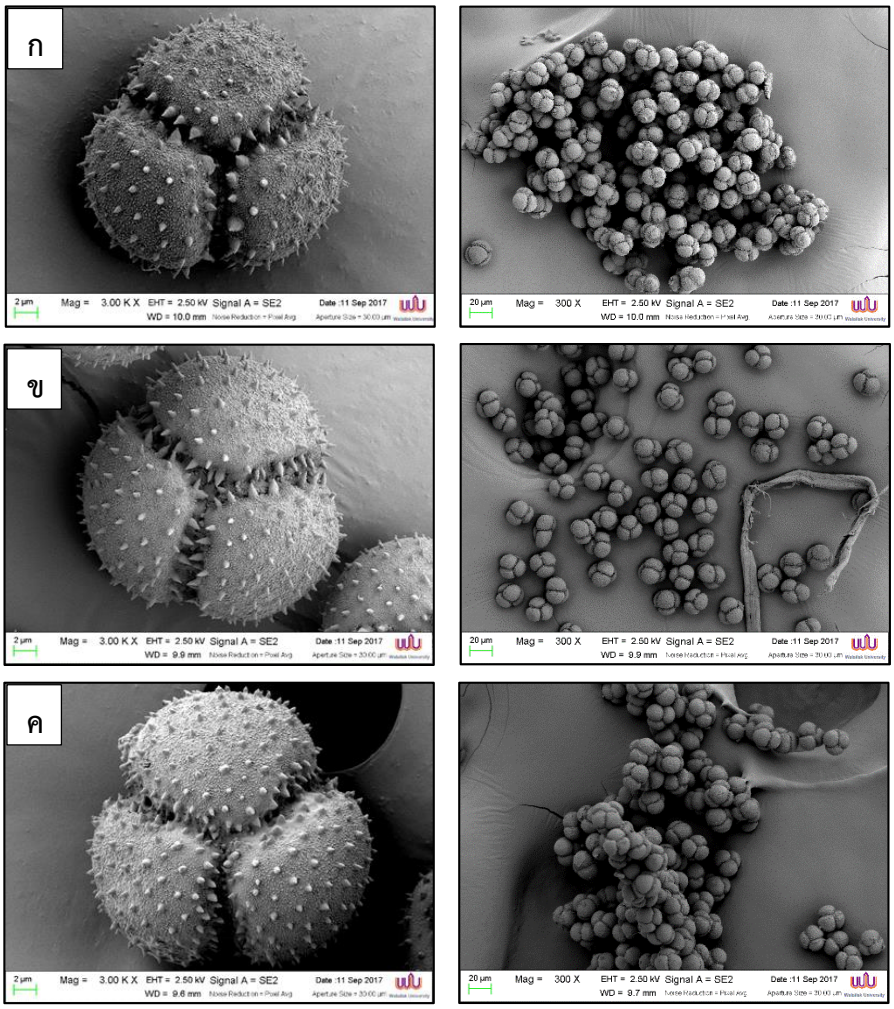
ลักษณะรูปทรงของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelli* พบว่า ละอองเกสรของหม้อข้าวหม้อแกงลิง 3 ชนิด มีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ลักษณะรูปทรงแบบทรงกลม (spheroidal pollen) ละอองเกสรมี 4 พู ติดกัน (tetrads) ผิวภายนอกเป็นหนามแหลม ยื่นออกจากผนังละอองเกสรทุกทิศทาง (Silender-echinate)(ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 ลักษณะรูปทรงละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)
ก: *N. mirabilis* var. mirabilis
ข: *N. mirabilis* var. globosa
ค: *N. thorelli*

3.1.2 ขนาดของละอองเกสร (Size of pollen)

การวัดขนาดของละอองเกสรจะไม่รวมถึงส่วนต่างๆ ที่ยื่น (sculpturing) ออกมาจากผนังละอองเกสร ขนาดความยาวของละอองเกสรในแนวแกนระหว่างขั้ว (polar axis; P) และความกว้างในแนวเส้นศูนย์สูตร (Equatorial axis; E) ของละอองเกสรทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกันทางสถิต (p<0.01) *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelli* มีขนาดละอองเกสรในแกน Polar 10.21±0.58, 9.77±0.58 และ 10.49±0.79 ไมโครเมตร ตามลำดับ ขนาดในแกน Equatorial 9.83±0.73, 9.51±0.66 และ 10.41±0.72 ไมโครเมตร ตามลำดับ ค่า P/E ratio อยู่ระหว่าง (1.01-1.04 ไมโครเมตร) ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด จัดอยู่ในกลุ่มละอองเกสรที่มีขนาดเล็กมาก (ภาพที่ 33) (ตารางที่ 7)



ภาพที่ 33 ขนาดละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ก: *N. mirabilis* var. mirabilis

ข: *N. mirabilis* var. globosa

ค: *N. thorelii*

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยขนาดความยาว (polar axis,P) ความกว้าง (equatorial axis, E) และ P/E ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelii*

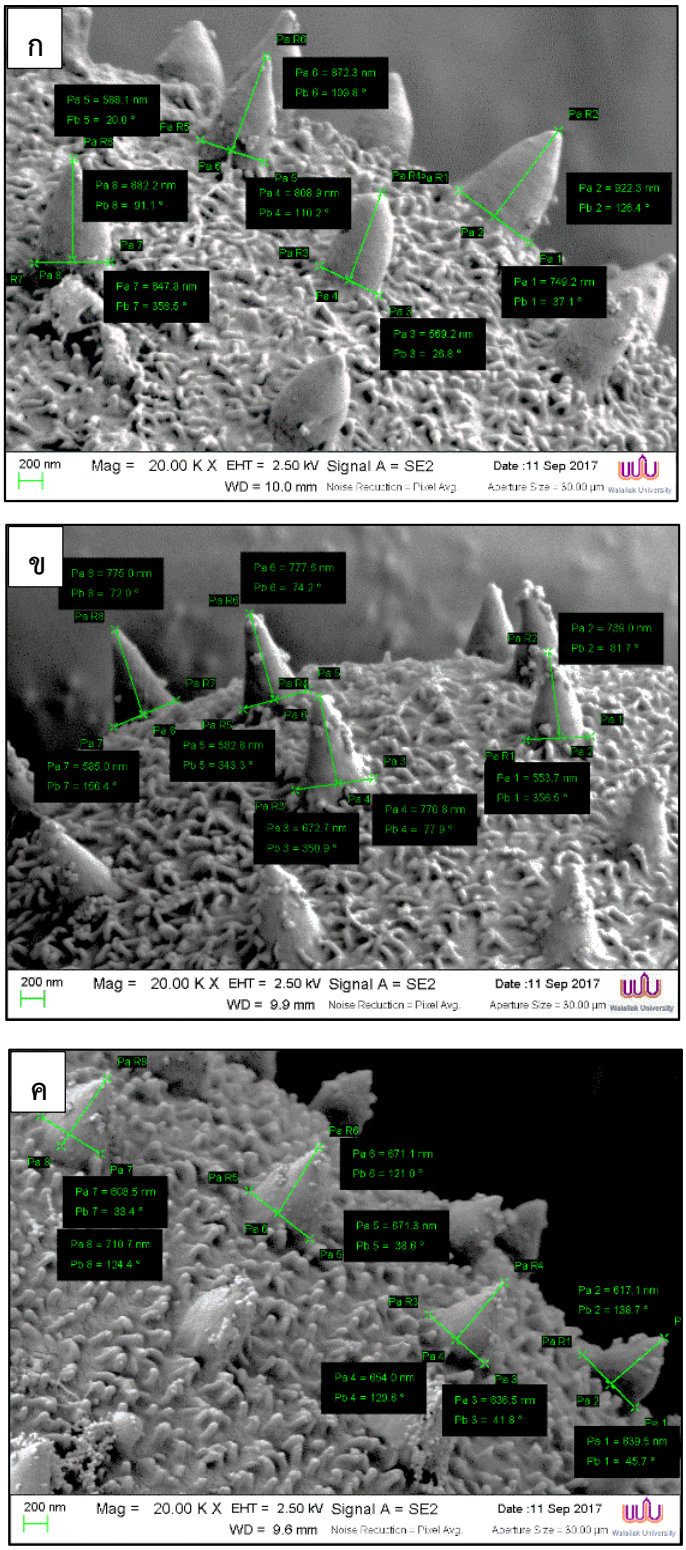
species	Length of axis				P/E
	polar (P)		equatorial (E)		
	min-mix (µm)	mean±SD (µm)	min-mix (µm)	mean±SD (µm)	
***N. mirabilis* var. mirabilis**	8.81-11.45	10.21±0.58[a]	8.48-11.42	9.83±0.73[b]	1.04
***N. mirabilis* var. globasa**	8.69-10.60	9.77±0.58[b]	8.23-10.71	9.51±0.66[b]	1.03
***N. thorelii* (suratensis)**	8.40-11.39	10.49±0.79[a]	9.18-11.53	10.41±0.72[a]	1.01
***p*-value**	-	**	-	**	ns

±: Standard Deviation

** คือ significant level ($p<0.01$), ns คือ Non-significant

3.1.3 ลวดลายบนผนังละอองเกสร

ละอองเกสรมีลักษณะลวดลายแบบ echinate เป็นหนามขนาดเล็ก ปลายแหลมสูง ยื่นออกไปจากผนังละอองเกสรในทุกทิศทาง (ภาพที่ 34) ขนาดความกว้างของฐานหนามของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.62±0.07 ไมโครเมตร ละอองเกสร*N. mirabilis* var. globosa มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.57±0.04 ไมโครเมตร และละอองเกสร *N. thorelli* มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.57±0.09 ไมโครเมตร ส่วนการวัดขนาดความสูงของหนาม และการกระจายตัวของหนามต่อพื้น 100 ไมโครเมตร พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิต (p<0.01) โดยละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis มีความสูง 0.77±0.10 ไมโครเมตร *N. mirabilis* var. globosa มีความสูง 0.55±0.18 ไมโครเมตร และละอองเกสร *N. thorelli* มีความสูง 0.60±0.07 ไมโครเมตร ส่วนการกระจายตัวของหนามต่อพื้นที่ 100 ตารางไมโครเมตร ละอองเกสร *N. thorelii* มีจำนวนหนาม 85±22.21 แท่ง มากกว่า *N. mirabilis* var. globosa และ *N. mirabilis* var. mirabilis มีจำนวนหนาม 58.16±2.59 และ 43.93±1.97 แท่ง ตามลำดับ (ตารางที่ 8)



ภาพที่ 34 ลักษณะลวดลายบนผนังละอองเกสร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ก: *N. mirabilis* var. mirabilis

ข: *N. mirabilis* var. globosa

ค: *N. thorelli*

ตารางที่ 8 ขนาดความกว้าง ความยาวของแท่งหนาม และการกระจายของแท่งหนามต่อพื้นที่ 100 ไมโครเมตร บนผนังเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

species	Exine sculpturing				number of spine per 100 μm^2
	spine width		spine height		
	min-mix (μm)	mean±SD (μm)	min-mix (μm)	mean±SD (μm)	
N. mirabilis var. mirabilis	0.50-0.74	0.62±0.07	0.65-0.92	0.77±0.10^a	43.93±1.97^b
N. mirabilis var. globasa	0.52-0.67	0.57±0.04	0.08-0.78	0.55±0.18^b	58.16±2.59^b
N. thorelii (suratensis)	0.42-0.69	0.57±0.09	0.49-0.71	0.60±0.07^b	85±22.21^a
p-value	-	ns	-	**	**

** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significant

3.2 ทดสอบสีย้อมและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

การทดลองที่ 1 ทดสอบการติดสีย้อมและความงอกของละอองเกสร โดยใช้ละอองเกสรที่เก็บแบบสดจากธรรมชาติ

ทดสอบการติดสีย้อม

สีย้อมแต่ละชนิดจะย้อมติดละอองเกสรในตำแหน่งที่แตกต่างกัน (Chang *et al*., 1999)

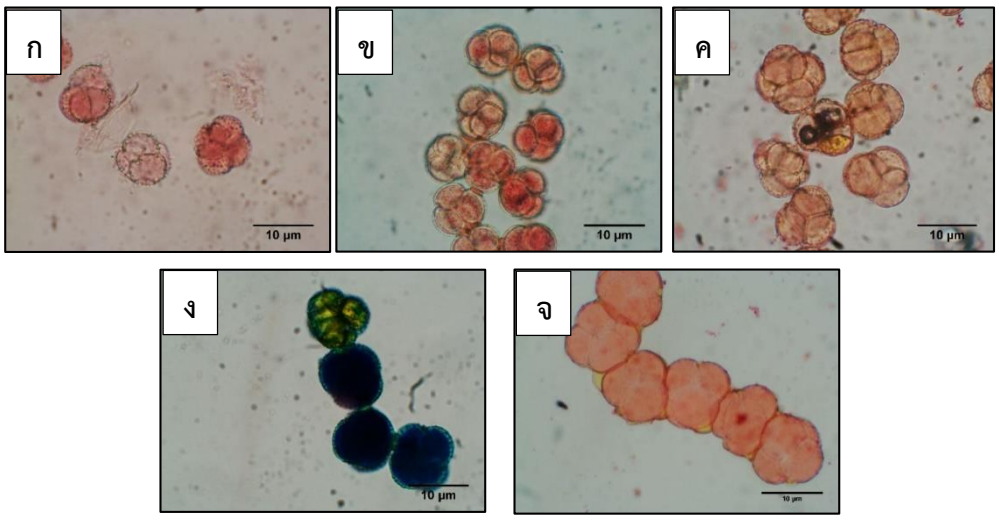
Aceto carmine กระจายทั่วไซโตพลาสซึมตามตำแหน่งของโครโมโซม ละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสีแดงชมพู ละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสีย้อม

Aceto orcein ละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสีส้ม ละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี สีย้อมจะกระจายไปทั่วตามบริเวณไซโตพลาสซึมและบริเวณนิวเคลียสของเซลล์ละอองเกสร

Iodine ติดบริเวณไซโตพลาสซึม โดยละอองเกสรที่มีชีวิตพบการติดสีน้ำตาลแดง ส่วนละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะไม่พบการติดสีหรือติดสีย้อมเพียงบางส่วนของละอองเกสร

Lactophenol Cotton Blue สีย้อมติดในส่วนของบริเวณผนังเซลล์ ละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสีน้ำเงินเข้ม ละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตไม่พบการติดสีย้อม

5. 2, 3, 5-Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) สีย้อมจะติดในส่วนของเซลล์หรือเนื้อเยื่อ ละอองเกสรที่มีชีวิตย้อมติดสีแดงละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตไม่พบการติดสีย้อม (ภาพที่ 35)



ภาพที่ 35 ลักษณะละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 40X

ก: Aceto Carmine

ข: Aceto Orcein

ค: Iodine

ง: Cotton Blue

จ: Tetrazolium Chloride

1. ละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis

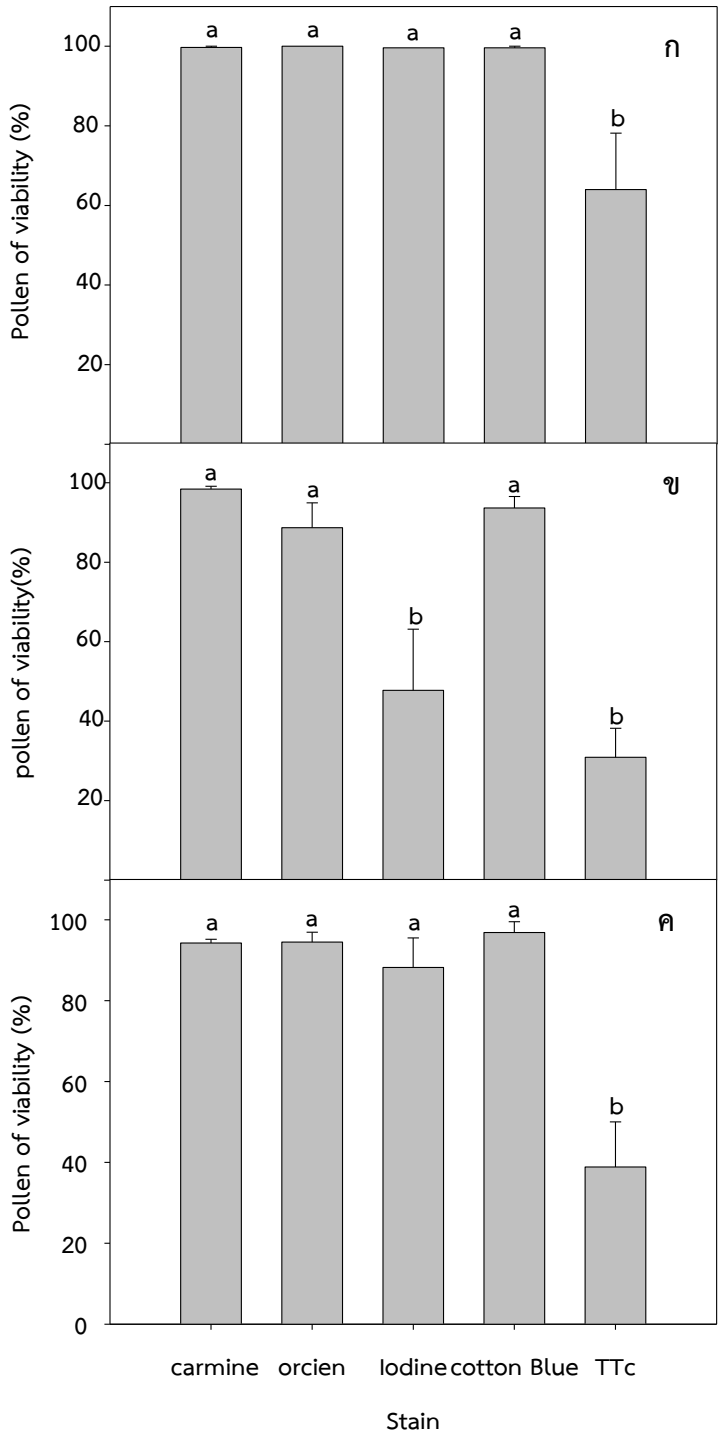
ทดสอบความมีชีวิตของละอองเกสร พบว่า ความมีชีวิตของละอองเกสรที่ทดสอบด้วยสีย้อม 5 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างยิ่งทางสถิต (p<0.01) โดยสี Aceto orcein สามารถย้อมติดละอองเกสรได้ดีที่สุด มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สี Aceto carmine, Iodine, Cotton Blue และ TTC มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 99.69, 99.59, 99.59 และ 64.00 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 36ก)

2. ละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa

ทดสอบความมีชีวิตของละอองเกสร พบว่า ความมีชีวิตของละอองเกสรที่ทดสอบด้วยสีย้อม 5 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างยิ่งทางสถิต (p<0.01) โดยสี Aceto carmine สามารถย้อมติดละอองเกสรได้ดีที่สุด มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 98.40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสี Cotton Blue และ Aceto orcein มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 93.64 และ 88.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สี Iodine และ สี TTC มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสรค่อนข้างต่ำ คือ 47.75 และ 30.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 36ข)

3. ละอองเกสร *N. thorelii*

ทดสอบความมีชีวิตของละอองเกสร พบว่า ความมีชีวิตของละอองเกสรที่ทดสอบด้วยสีย้อม 5 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างยิ่งทางสถิต (p<0.01) โดยสี Cotton Blue สามารถย้อมติดละอองเกสรได้ดีที่สุด มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 96.88 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สี Aceto orcein, Aceto carmine, Iodine และ สี TTC มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 94.49, 94.27, 88.22 และ 38.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 36ค)



ภาพที่ 36 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC

ก: *N. mirabilis* var. mirabilis

ข: *N. mirabilis* var. globosa

ค: *N. thorelii*

ทดสอบการงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์

1. ละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis

จากการทดสอบความงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 7 ระดับ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) โดยน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสรดีที่สุด คิดเป็น 65.81 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร คิดเป็น 60.20, 49.93, 41.51 และ 34.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นที่ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบความงอกของละอองเกสร

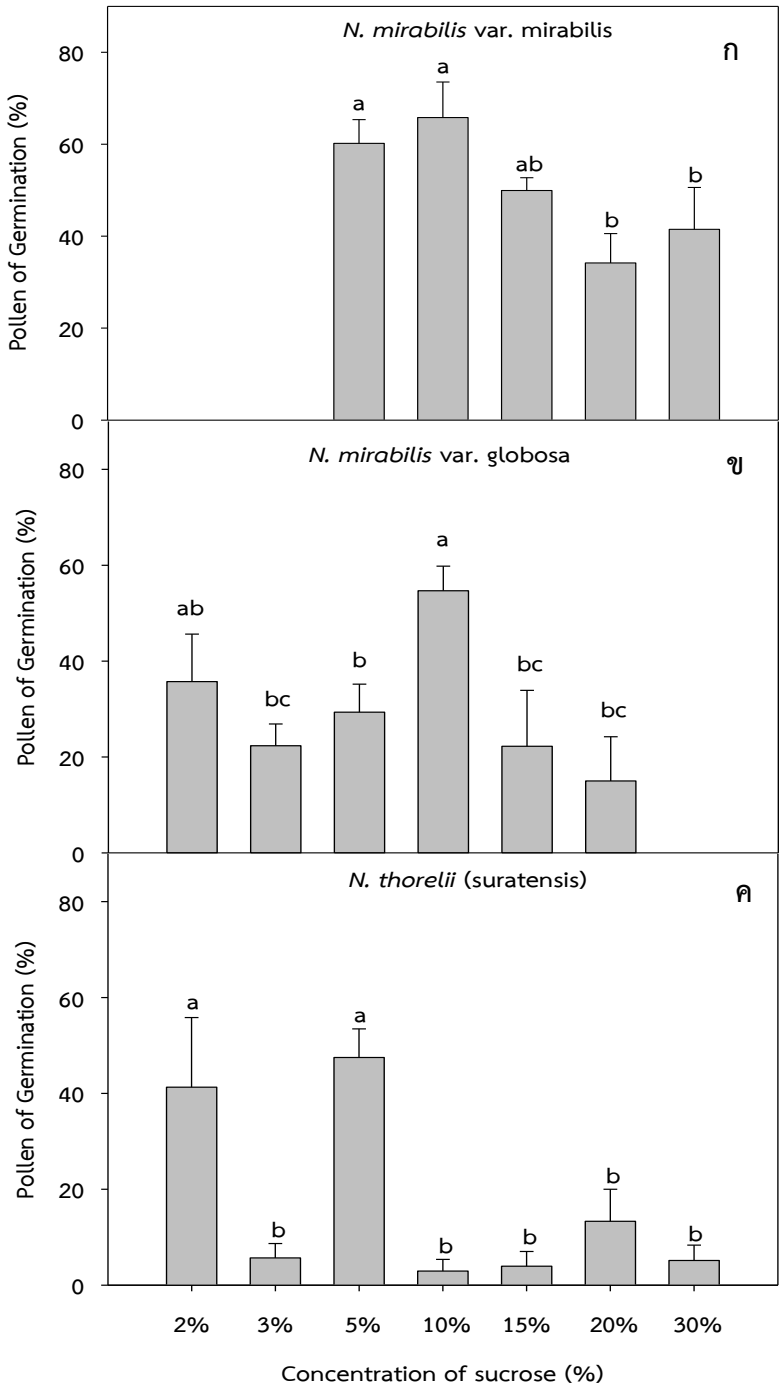
2. ละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa

จากการทดสอบความงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 7 ระดับ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) โดยน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสรดีที่สุด คิดเป็น 54.68 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นที่ 2, 3, 5, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร คิดเป็น 35.74, 29.36, 22.34 และ 22.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบความงอกของละอองเกสร

3. ละอองเกสร *N. thorelii* (suratensis)

จากการทดสอบความงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 7 ระดับ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) โดยน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสรที่ดีสุด คิดเป็น 47.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นที่ 2, 3, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร คิดเป็น 41.30, 13.34, 5.67, 5.14, 3.95 และ 2.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 37)

จากการสังเกตพบการงอกของหลอดละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelii* ในอาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 7 ระดับ ได้แก่ 2, 3, 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะการงอกของหลอดละอองเกสรมากกว่า 1 หลอด (ภาพที่ 38)

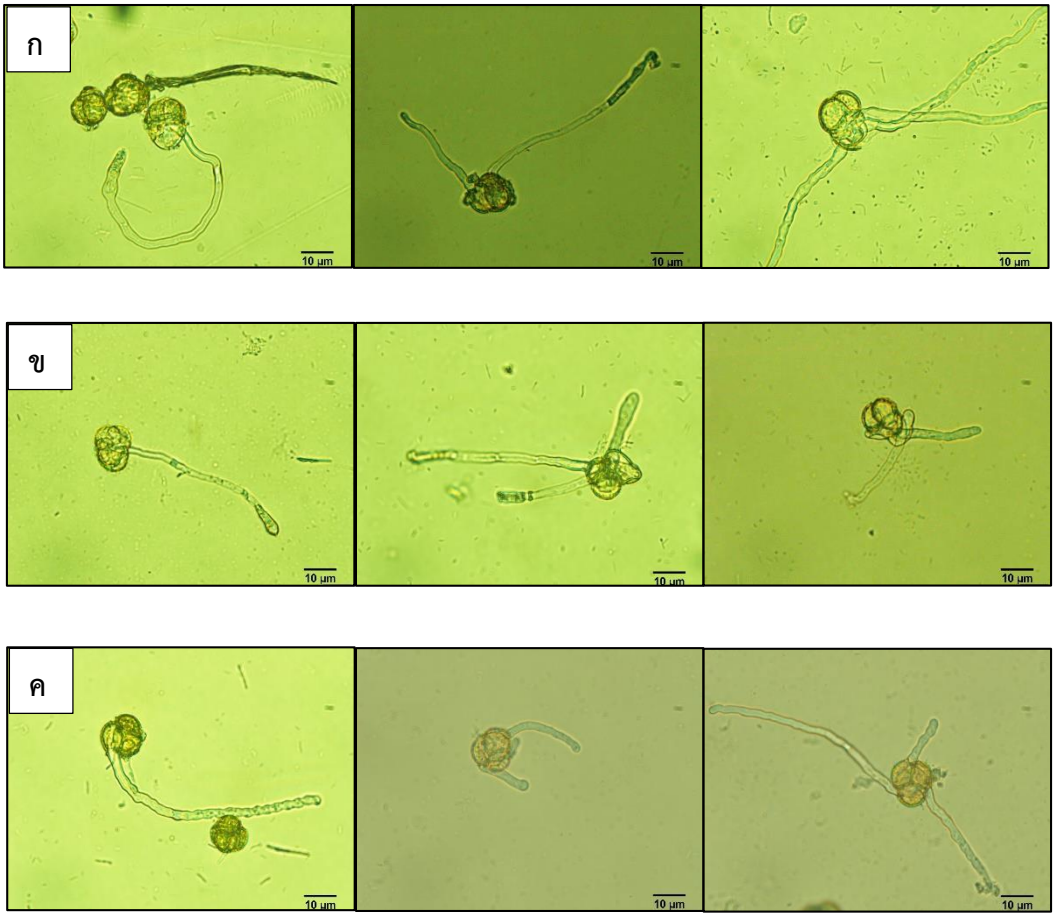


ภาพที่ 37 เปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้น 2, 3, 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์

ก: *N. mirabilis* var. mirabilis

ข: *N. mirabilis* var. globosa

ค: *N. thorelii*



ภาพที่ 38 ลักษณะการงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงในอาหารสูตรสังเคราะห์ ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 40X

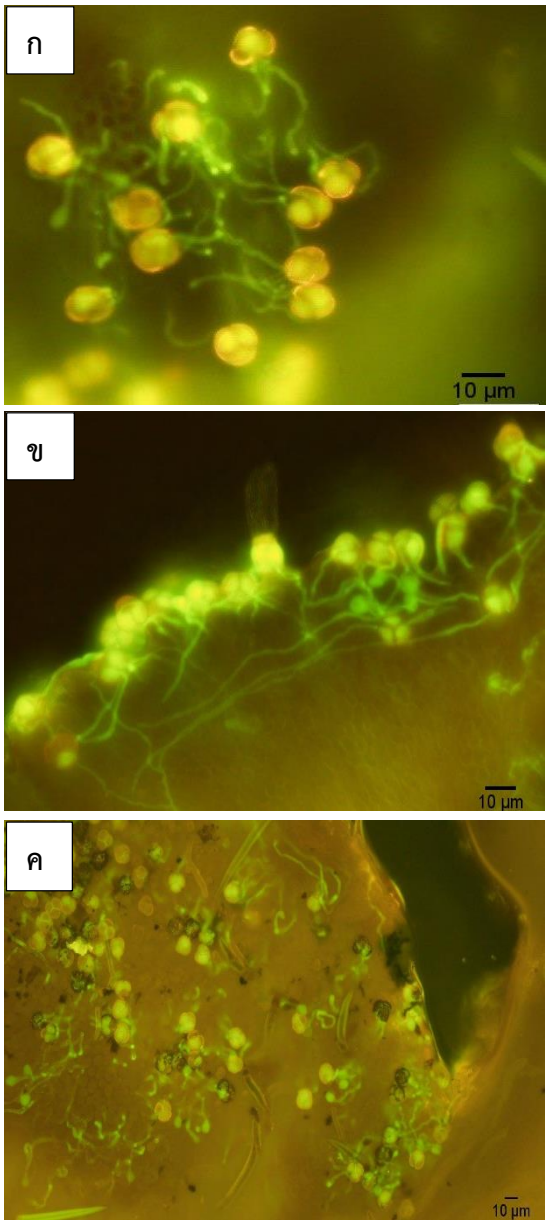
ก: *N. mirabilis* var. mirabilis

ข: *N. mirabilis* var. globosa

ค: *N. thorelii*

ทดสอบการงอกของหลอดละอองเกสร (pollen tube) บนยอดเกสรเพศเมีย

จากการศึกษาการงอกของหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมีย พบว่า ละอองเกสรสามารถงอกได้ดีบนยอดเกสรเพศเมีย ภายหลังการถ่ายละอองเกสร 24 ชั่วโมง มีการงอกหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรตัวเมีย แสดงการเรืองแสงสีเขียวของสีย้อม Aniline blue ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซ็นส์ (ภาพที่ 39)



ภาพที่ 39 ลักษณะการงอกหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมียหม้อข้าวหม้อแกงลิง ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์
ก: *N. mirabilis* var. mirabilis
ข: *N. mirabilis* var. globosa
ค: *N. thorelii*

การทดลองที่ 2 ทดสอบสีย้อมและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ที่มีความเหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร โดยใช้ละอองเกสรที่ผ่านการเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ

นำละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด แบ่งออกเป็น 4 หลอด โดยหลอดที่ 1 ของแต่ละชนิด เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส ส่วนอีก 3 หลอด ของแต่ละชนิด นำเข้าตู้อบลมร้อนภายใต้อุณหภูมิควบคุม 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำให้ละอองเกสรเสื่อมสภาพ

2.1 ทดสอบหาสีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร *Nepenthes mirabilis* var. mirabilis

ตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร ด้วยการย้อมสี Iodine และ TTC พบว่า ความมีชีวิตของละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) กับอุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) โดยละอองเกสรที่ย้อมด้วยสี Iodine มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 100, 87.30 ,85.48, 62.49 และ 58.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสีย้อม TTC มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 64 และ 66.58 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบความมีชีวิตของละอองเกสร

ตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรด้วยการย้อมสี Aceto orcein ความมีชีวิตของละอองเกสรมีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) ค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 100, 100, 94.79, 99.89 และ 72.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรด้วยการย้อมสี Aceto carmine และ Cotton Blue ความมีชีวิตของละอองเกสรไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ย้อมด้วยสี Aceto carmine มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 99.69, 99.23, 99.34, 88.49 และ 99.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสี Cotton blue มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 99.59, 96.95, 99.52, 97.98 และ 93.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) ความมีชีวิตของละอองเกสรที่ทดสอบโดยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Cotton blue, Iodine และ TTC พบว่า สีย้อม Iodine เพียงสีเดียวเท่านั้น ที่มีความสัมพันธ์เชิงลบ (p<0.01) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความมีชีวิตของละอองเกสรลดลง (ตารางที่ 10) โดยมีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ y= 0.0338x^2-4.989x+212.65 (R^2=0.9436) (ภาพที่ 40)

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Staining				
Temperature (°C)	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton Blue	TTC
control	99.69±0.30	100±0.00[a]	100±0.00[a]	99.59±0.41	64.00±14.17[a]
31°c	99.23±0.54	100±0.00[a]	87.30±7.06[ab]	96.95±1.29	66.58±6.96[a]
35 °c	99.34±0.41	99.89±0.11[a]	85.48±9.76[ab]	99.52±0.36	0[b]
40 °c	88.49±11.51	94.79±4.06[a]	62.49±6.39[bc]	97.98±0.53	0[b]
45 °c	99.84±0.16	72.27±13.27[b]	58.12±12.88[c]	93.89±6.11	0[b]
P-value	ns	*	**	ns	**

Control คือ ละอองเกสรสดที่นำมาทดสอบความมีชีวิตด้วยสีย้อมแต่ละชนิดโดยทันที

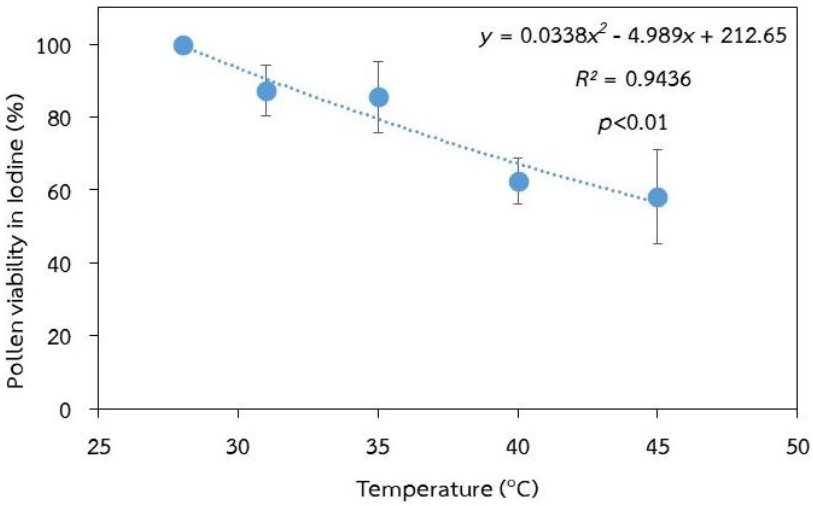
±: Standard Error

* คือ significant level (p<0.05), ** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significant

ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ที่ทดสอบด้วยสี Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Viability				
	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton Blue	TTC
Temperature	-0.335	-0.731	-0.967**	-0.700	-0.860

**Correlation is significant level (2-tailed) at 0.01



ภาพที่ 40 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ทดสอบความชีวิตด้วยสีย้อม Iodine ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

2.2 ทดสอบหาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อความงอกของละอองเกสร *Nepenthes* mirabilis var. mirabilis

นำละอองเกสร *N. mirabilis* var. *mirabilis* ทดสอบความงอกทันที (Control) และเก็บที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส), 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบความงอกในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 6 ระดับ

อาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการงอกของละอองเกสรในทุกอุณหภูมิที่ทดสอบ ในขณะที่อาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) อุณหภูมิ28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) โดยมีค่าความงอกของละอองเกสร คิดเป็น 60.20, 45.87, 41.41, 33 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) โดยละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที มีค่าความงอก คิดเป็น 65.81 และละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส มีค่าความงอก คิดเป็น 8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบความงอกของละอองเกสร

อาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) ค่าความงอกของละอองเกสร คิดเป็น 49.93, 18.63 และ 34.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบความงอกของละอองเกสร

อาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) มีค่าความงอก คิดเป็น 34.17 และ 14.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบความงอกของละอองเกสร

อาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ (p<0.01) มีค่าความงอก คิดเป็น 41.50, 4 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบความงอกของละอองเกสร (ตารางที่ 11)

ทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) ความงอกของละอองเกสรที่ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เพียงความเข้มข้นเดียวเท่านั้น ที่มีความสัมพันธ์เชิงลบ (p<0.01) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความงอกของละอองเกสรลดลง (ตารางที่ 12) โดยมีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ y= 0.0338x^2-4.989x + 212.65 (R^2=0.9436) (ภาพที่ 41)

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ในอาหารเหลวสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 6 ระดับ ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Concentration of Sucrose (%)					
Temperature	**2%**	**5%**	**10%**	**15%**	**20%**	**30%**
control	0	60.20±5.10^{a}	65.81±7.73^{a}	49.93±2.79^{a}	34.17±6.40^{a}	41.50±9.10^{a}
31°c	0	45.87±4.90^{ab}	8.00±8.00^{b}	18.63±7.19^{bc}	14.26±10.03^{b}	4.00±4.00^{b}
35°c	0	41.41±4.10^{ab}	0^{c}	34.33±11.34^{ab}	0^{c}	1.00±1.00^{b}
40°c	0	33.00±12.04^{b}	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}
45°c	0	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}
***P*-value**	-	**	**	**	**	**

Control คือ ละอองเกสรสดที่นำมาทดสอบความงอกโดยทันที

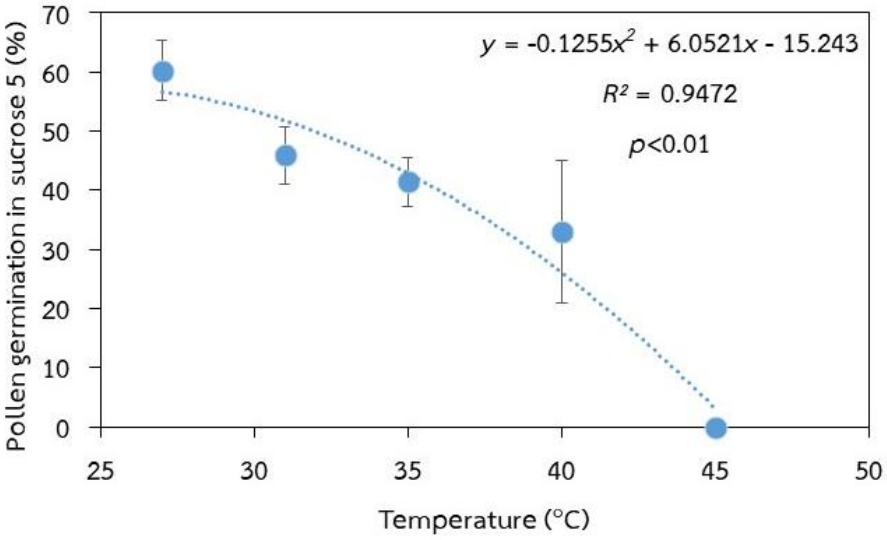
±: Standard Error

** คือ significant level (p<0.01)

ตารางที่ 12 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ทดสอบความงอกในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2, 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Germination					
	2%	5%	10%	15%	20%	30%
Temperature	**-**	-0.968**	-0.768	-0.859	-0.870	-0.761

**Correlation is significant level (2-tailed) at 0.01



ภาพที่ 41 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ทดสอบความงอกในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

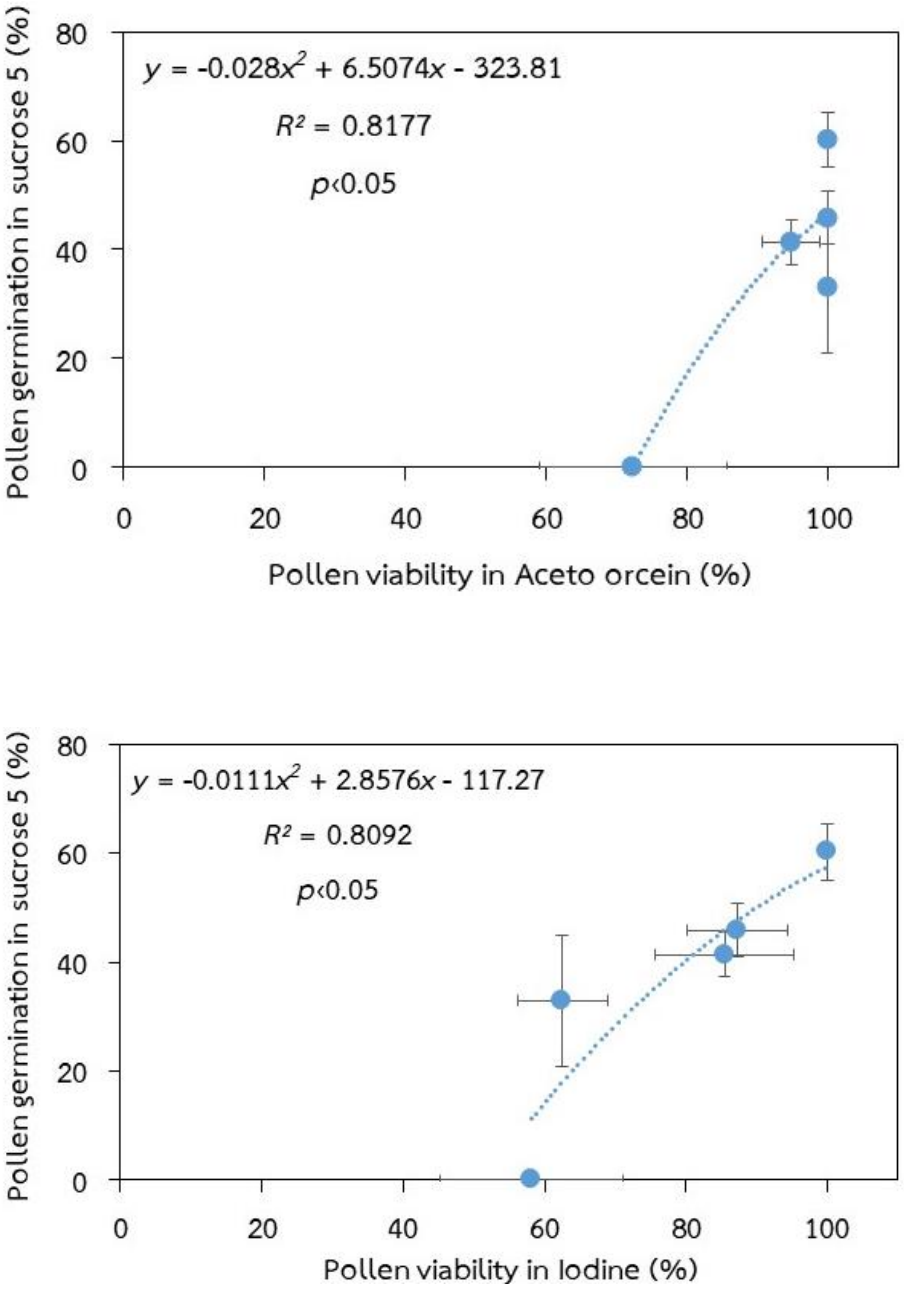
ความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาทดสอบหาความสัมพันธ์กับความมีชีวิตของละอองเกสรที่ย้อมด้วยสี Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC พบว่า สีย้อม Aceto orcein และ Iodine มีความสัมพันธ์กับความงอกของละอองเกสร ($p<0.05$) (ตารางที่ 13) โดยสีย้อม Aceto orcein มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ $y = -0.028x^2+6.5074x-323.81$ ($R^2= 0.8177$) และสีย้อม Iodine มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล $y = -0.0111x^2+2.8576x-117.27$ ($R^2= 0.8092$) (ภาพที่ 42) เมื่อพิจารณาจากสมการ สีย้อม Aceto orcein มีค่า Regression equation ที่คำนวณได้มีความแม่นยำสูงกว่าสีย้อม Iodine

ดังนั้นสีย้อม Aceto orcein จึงมีความเหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรและอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร

ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และความมีชีวิตของละอองเกสรที่ย้อมด้วยสี Aceto cermine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC

	Viability				
	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton Blue	TTC
Germination	0.052	0.902*	0.895*	0.877	0.683

*Correlation is significant level (2-tailed) at 0.05



ภาพที่ 42 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และความมีชีวิตของละอองเกสรทดสอบด้วยสีย้อม Aceto orcein และ Iodine

2.3 ทดสอบสีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร *Nepenthes mirabilis* var. globosa

ละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิตทันทีและละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ความมีชีวิตมีความแตกต่างอย่างยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ละอองเกสรที่ย้อมด้วยสี Aceto carmine มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 91.00, 63.00, 16.30, 31.91, 12.74 และ 2.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สี Aceto orcein มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 86.82, 32.89, 7.43, 3.02 และ 2.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สี Iodine มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 95.36, 71.79, 77.82, 22.02 และ 21.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สี Cotton Blue มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 89.63, 94.37, 79.75, 70.51 และ 30.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสี TTC มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 56.68 51.11 44.40 25.47 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

ทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) ความมีชีวิตที่ทดสอบโดยสีย้อมชนิดต่างๆ พบว่า สีย้อม Iodine, Cotton blue และ TTC มีความสัมพันธ์เชิงลบ ($p<0.05$) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความมีชีวิตของละอองเกสรลดลง (ตารางที่ 15) สีย้อม Iodine มีแนวโน้มทิศทางสมการสหสัมพันธ์ได้ คือ $y=-0.018x^2-4.3109x+213.41$ ($R^2=0.8637$) สีย้อม Cotton blue มีแนวโน้มทิศทางสมการสหสัมพันธ์ได้ คือ $y=-0.2627x^2+15.685x-141.71$ ($R^2=0.1702$) สีย้อม TTC มีแนวโน้มทิศทางสมการสหสัมพันธ์ได้ คือ $y=-0.1526x^2+7.8629x-44.857$ ($R^2=0.9988$) (ภาพที่ 43)

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

Stain / Temperature	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton blue	TTC
Control	91.63±3.22^{a}	86.82±4.43^{a}	95.36±1.12^{a}	89.63±3.98^{a}	56.68±6.45^{a}
31°c	16.30±6.97^{bc}	32.89±8.13^{b}	71.79±13.13^{a}	94.37±1.76^{a}	51.11±11.52^{ab}
35°c	31.91±9.33^{b}	7.43±4.50^{c}	77.82±7.51^{a}	79.75±6.21^{a}	44.4±11.64^{ab}
40°c	12.74±11.84^{bc}	3.02±2.17^{c}	22.02±12.98^{b}	70.51±17.73^{a}	25.47±7.74^{b}
45°c	2.75±1.52^{c}	2.44±2.44^{c}	21.07±17.29^{b}	30.56±16.07^{b}	0^{C}
***P*-value**	**	**	**	**	**

Control คือ ละอองเกสรสดที่นำมาทดสอบกับสีย้อมแต่ละชนิดโดยทันที

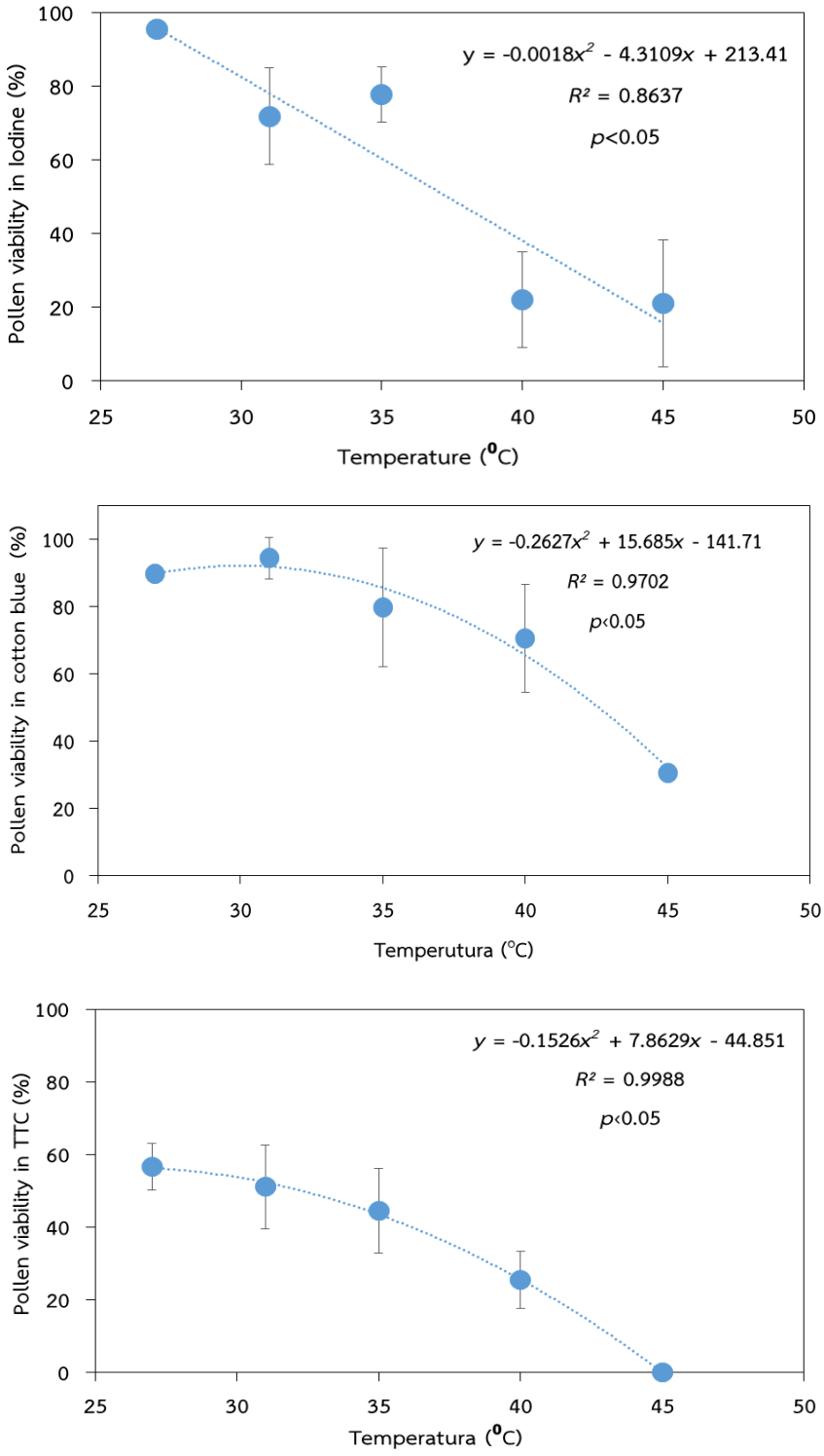
±: Standard Error

** คือ significant level (p<0.01)

ตารางที่ 15 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ทดสอบความมีชีวิตที่ย้อมด้วย Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC ต่อละอองเกสรนำมาทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Viability				
	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton Blue	TTC
Temperature	-0.809	-0.873	-0.921*	-0.883*	-0.952*

*Correlation is significant level (2-tailed) at 0.05



ภาพที่ 43 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ทดสอบด้วยสีย้อม Iodine, Cotton Blue และ TTC ต่อละอองเกสรที่ทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40, 45 องศาเซลเซียส

2.4 ทดสอบความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อความงอกของละอองเกสร *Nepenthes mirabilis* var. globosa

นำละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ทดสอบความงอกทันที (Control) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบความงอกในอาหารสูตรสังเคราะห์ จากการทดสอบความงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 39.11, 36.29, 26.24, 25.40 และ 2.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 44.79, 41.78, 31.77 24.63 และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความงอกของละอองเกสรไม่มีความแตกต่างทางสถิติ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 41.02, 23.13, 21.36, 20.91 และ 19.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 30.72, 16.57, 8.89, 7.32 และ 0 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 30.04, 20.55, 14.77, 12.44 และ 0 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 22.88, 22.10, 12.58, 9.83 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

ทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) ความงอกของละอองเกสรที่ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีความสัมพันธ์เชิงลบ (p<0.01) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความงอกของละอองเกสรลดลง และความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ มีความสัมพันธ์เชิงลบ (p<0.05) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความงอกของละอองเกสรลดลง (ตารางที่ 17) ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ y= 0.125x^2-9.9921+217.3 (R^2=0.8768) ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ y= 0.082x^2-7.4867x+171.4 (R^2=0.9594) และความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ y= 0.0028x^2-1.7153x+72.913 (R^2=0.9524) (ภาพที่ 44) เมื่อพิจารณาจากสมการความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ ค่าสมการที่คำนวณได้มีความแม่นยำสูงกว่าความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 6 ระดับ ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Concentration of sucrose (%)					
Temperature	2%	5%	10%	15%	20%	30%
Control	39.11±2.82[a]	44.79±4.45[a]	41.02±5.43	30.72±9.60	30.04±10.82	22.88±11.9
31 °C	36.29±8.22[a]	41.78±10.90[a]	23.13±7.86	16.57±9.47	20.55±6.24	22.10±2.22
35 °C	26.24±8.61[a]	31.77±8.39[a]	21.36±9.82	8.89±8.89	14.77±9.80	12.58±9.65
40 °C	25.40±6.74[a]	24.63±4.30[b]	20.91±3.44	7.32±3.20	12.44±7.86	9.83±6.97
45 °C	2.59±2.59[b]	6.67±6.67[b]	19.31±80	0	0	0
P-value	*	*	ns	ns	ns	ns

Control คือ ละอองเกสรสดที่นำมาทดสอบความงอกของละอองเกสรโดยทันที

±: Standard Error

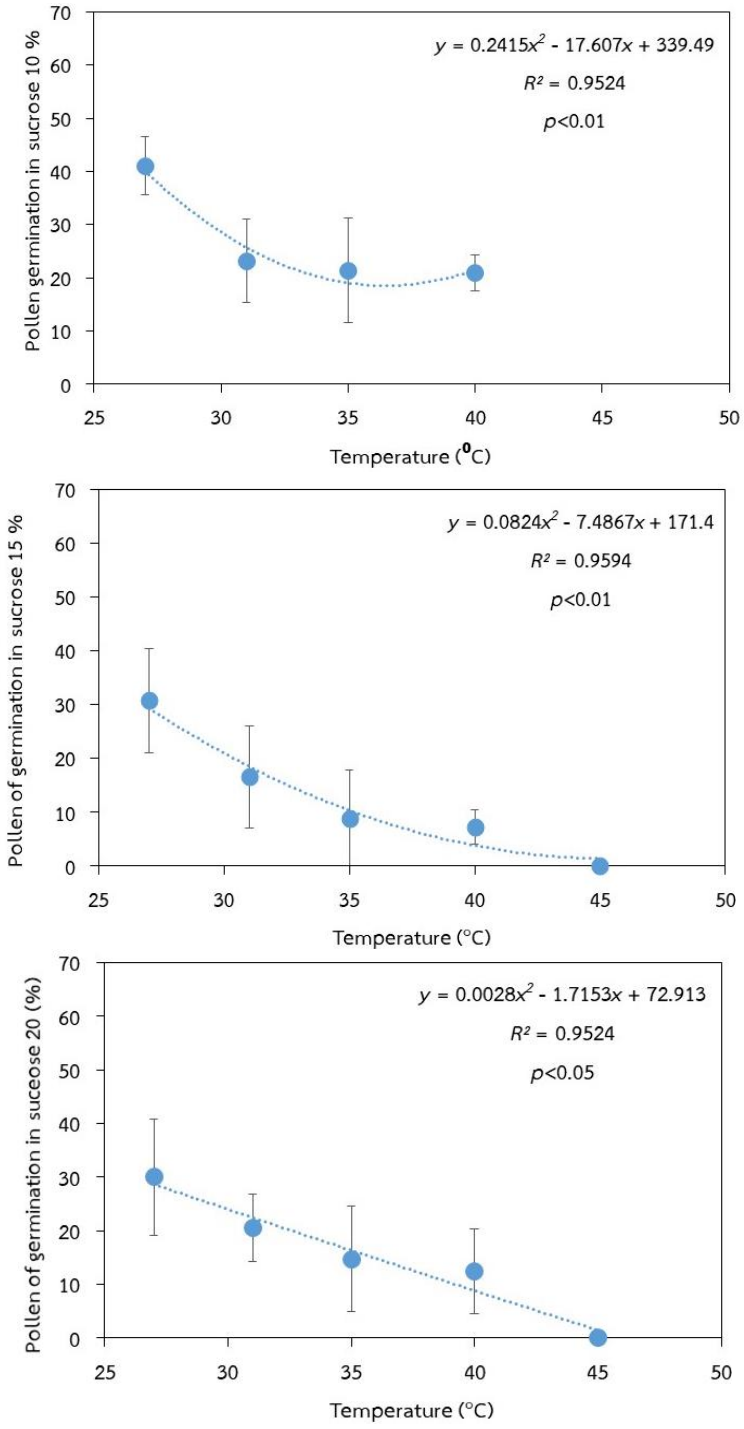
* significant level (p<0.05), ns คือ Non-significant level ns

ตารางที่ 17 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 6 ระดับ ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Germination					
	2%	5%	10%	15%	20%	30%
Temperature	-0.727	-0.765	-0.975**	-0.970**	-0.894*	-0.771

*Correlation is significant level (2-tailed) at 0.05

**Correlation is significant level (2-tailed) at 0.01



ภาพที่ 44 ความสัมพันธ์ระหว่างละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ละอองเกสรที่ทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

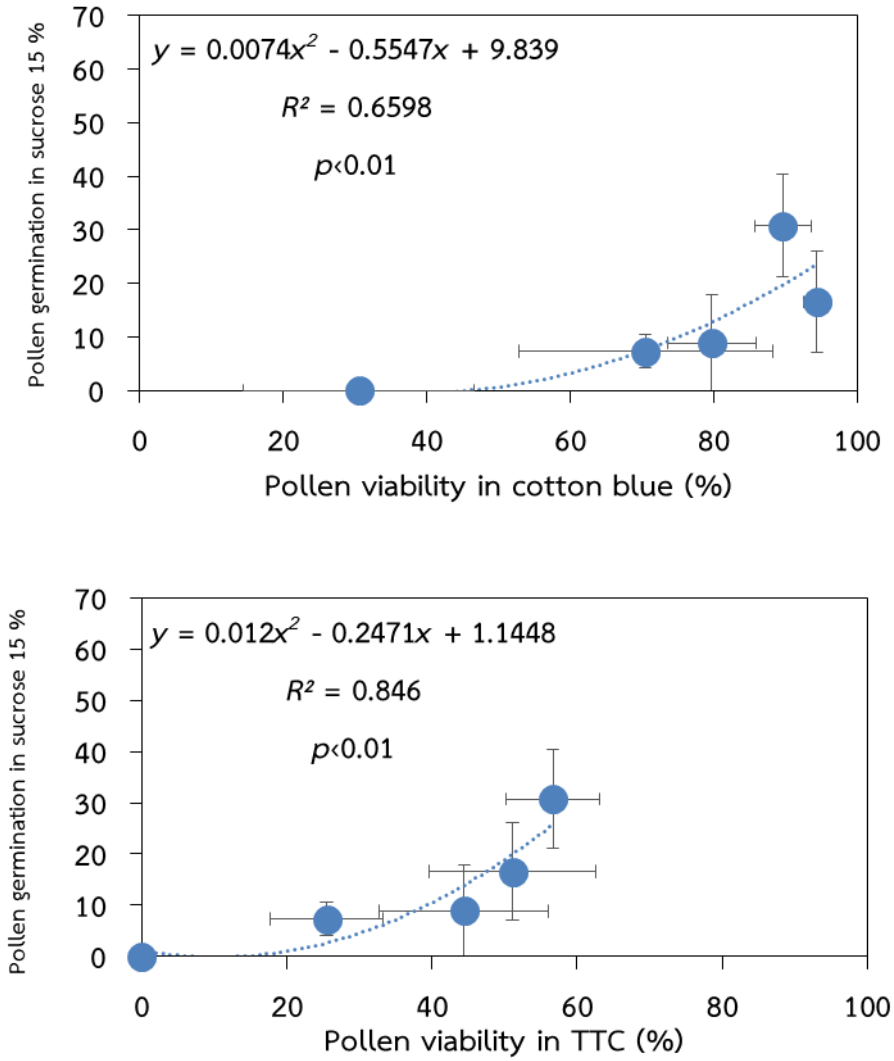
ความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ในอาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) กับความมีชีวิตของละอองเกสร ย้อมด้วยสี Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC พบว่าความมีชีวิตของละอองทดสอบด้วยสีย้อม Cotton blue และ TTC มีความสัมพันธ์กับความงอกของละอองเกสร ($p<0.01$) (ตารางที่ 18) โดยสีย้อม Cotton blue มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ $y = 0.0074x^2 - 0.5547x + 9.839$ ($R^2 = 0.6598$) และสีย้อม TTC มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ $y = 0.012x^2 - 0.2471x + 1.1448$ ($R^2 = 0.846$) พิจารณาจากค่าสมการแสดงห็เห็นว่า สีย้อม TTC ค่าสมการที่คำนวณได้มีความแม่นยำสูงกว่าสีย้อม Cotton Blue (ภาพที่ 45)

ดังนั้นสีย้อม TTC มีความเหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร และอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa

ตารางที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ กับความมีชีวิตของละอองเกสรที่ย้อมด้วย Aceto cermine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC

	Viability				
	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton Blue	TTC
Germination	0.684	0.738	0.867	0.974**	0.989**

**Correlation is significant level (2-tailed) at 0.01



ภาพที่ 45 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสร *N. mirabilis* var. *globosa* ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ กับความมีชีวิตของละอองเกสร ที่ทดสอบด้วยสีย้อม Cotton blue และ TTC

2.5 ทดสอบสีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร *Nepenthes thorelii* (suratensis)

จาการทดสอบความมีชีวิตของละอองเกสร ด้วยการย้อมสี Aceto carmine, Iodine และ Cotton blue พบว่า ละอองเกสรที่นำมาทดสอบความมีชีวิตทันที และอุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ความมีชีวิตของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ. (p<0.01) โดยละอองเกสรที่ย้อมด้วยสี Aceto carmine มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 94.50, 91.07, 85.74, 70.44 และ 24.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สีย้อม Iodine มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 94.27, 73.82, 71.07, 64.98 และ 83.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สีย้อม Cotton Blue มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 98.83, 96.88, 94.95, 84.19 และ 83.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรด้วยการย้อมสี Aceto orcein และ TTC พบว่า ความมีชีวิตของละอองเกสรมีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) โดยความมีชีวิตของละอองเกสรที่ย้อมด้วยสี Aceto orcein มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 95.02, 88.22, 73.54, 60.58 และ 44.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสีย้อม TTC มีค่าความมีชีวิตของละอองเกสร เท่ากับ 38.88, 38.81, 6.27, 1.45 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

ทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) ความมีชีวิตที่ทดสอบโดยสีย้อมชนิดต่างๆ พบว่า สีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Cotton blue, Iodine และ TTC มีความสัมพันธ์เชิงลบ (p<0.05) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความมีชีวิตของละอองเกสรลดลง (ตารางที่ 19) โดยสีย้อม Aceto carmine มีแนวโน้มทิศทางสมการโพลีโนเมียล คือ $y = -0.1291x^2 + 6.9526x - 1.4507$ (R^2= 0.7267) สีย้อม Aceto orcein มีแนวโน้มทิศทางสมการโพลีโนเมียล คือ $y = -0.4002x^2 + 25.23x - 307.93$ (R^2=0.728) สีย้อม Iodine มีแนวโน้มทิศทางสมการโพลีโนเมียล คือ $y = -0.1339x^2 + 6.3325x + 15.501$ (R^2=0.9036) สีย้อม Cotton blue มีแนวโน้มทิศทางสมการโพลีโนเมียล คือ $y = -0.0273x^2 + 1.0527x + 90.411$ (R^2=0.7698) และสีย้อม TTC มีแนวโน้มทิศทางสมการโพลีโนเมียล คือ $y = 0.1305x^2 - 11.886x + 269.7$ (R^2=0.8531) (ภาพที่ 46, 47)

ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร *N. thorelii* ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Staining				
Temperature	**Aceto carmine**	**Aceto orcein**	**Iodine**	**Cotton Blue**	**TTC**
control	94.50±2.45^{a}	95.02±4.22^{a}	94.27±0.94^{a}	98.83±1.17 ^{a}	38.88±24.91^{a}
31 °C	91.07±0.95^{a}	88.22±7.32^{a}	73.82±15.13^{a}	96.88±5.97^{a}	38.81±15.05^{a}
35 °C	85.74±2.98^{a}	73.54±9.23^{ab}	71.07±15.91^{a}	94.95±1.87^{a}	6.27±3.83^{b}
40 °C	70.44±18.33^{a}	60.58±13.5^{bc}	64.98±13.53^{a}	84.19±4.12^{b}	1.45±1.45^{b}
45 °C	24.65±3.61^{b}	44.55±6.79^{c}	9.93±5.52^{b}	83.96±2.79^{b}	0.7±0.69^{b}
***P*-value**	**	*	**	**	*

Control คือ ละอองเกสรสดที่นำมาทดสอบกับสีย้อมแต่ละชนิดโดยทันที

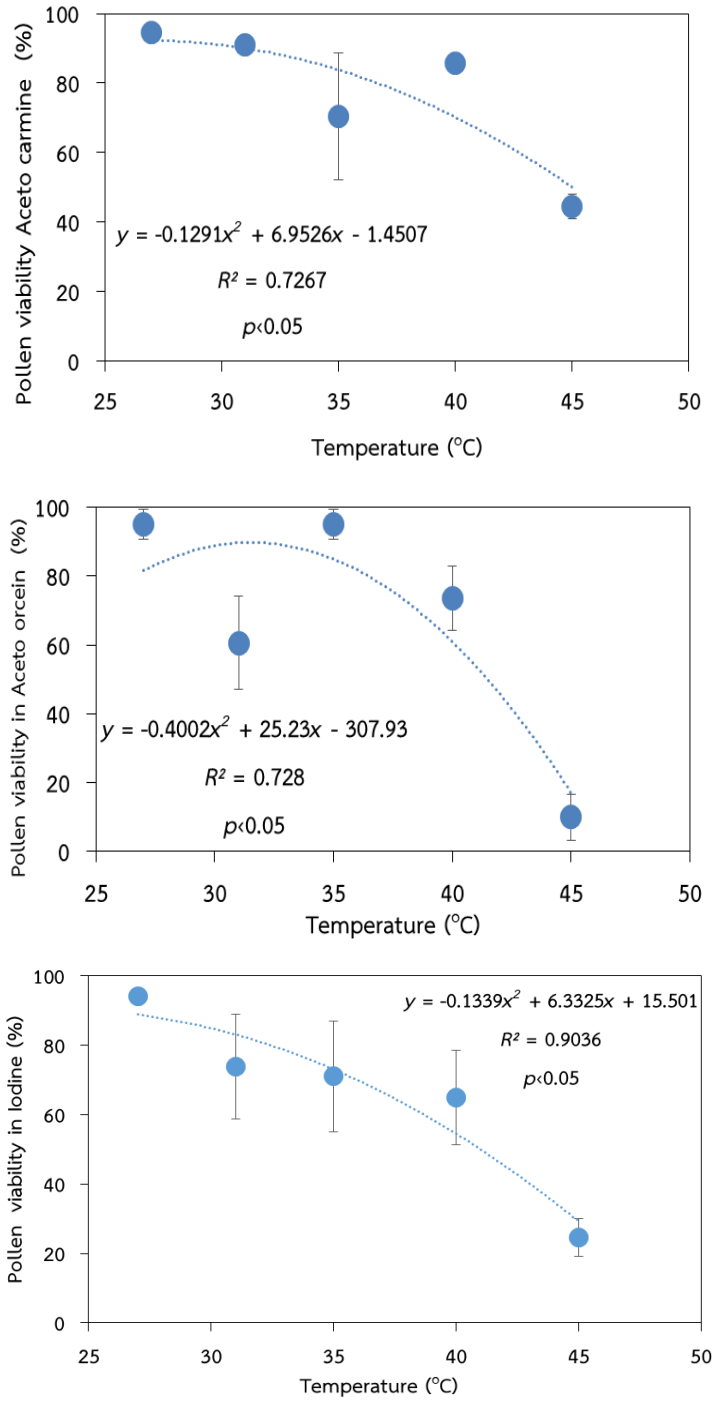
±: SE (Standard Error)

*significant level ($p<0.05$), **significant level ($p<0.01$)

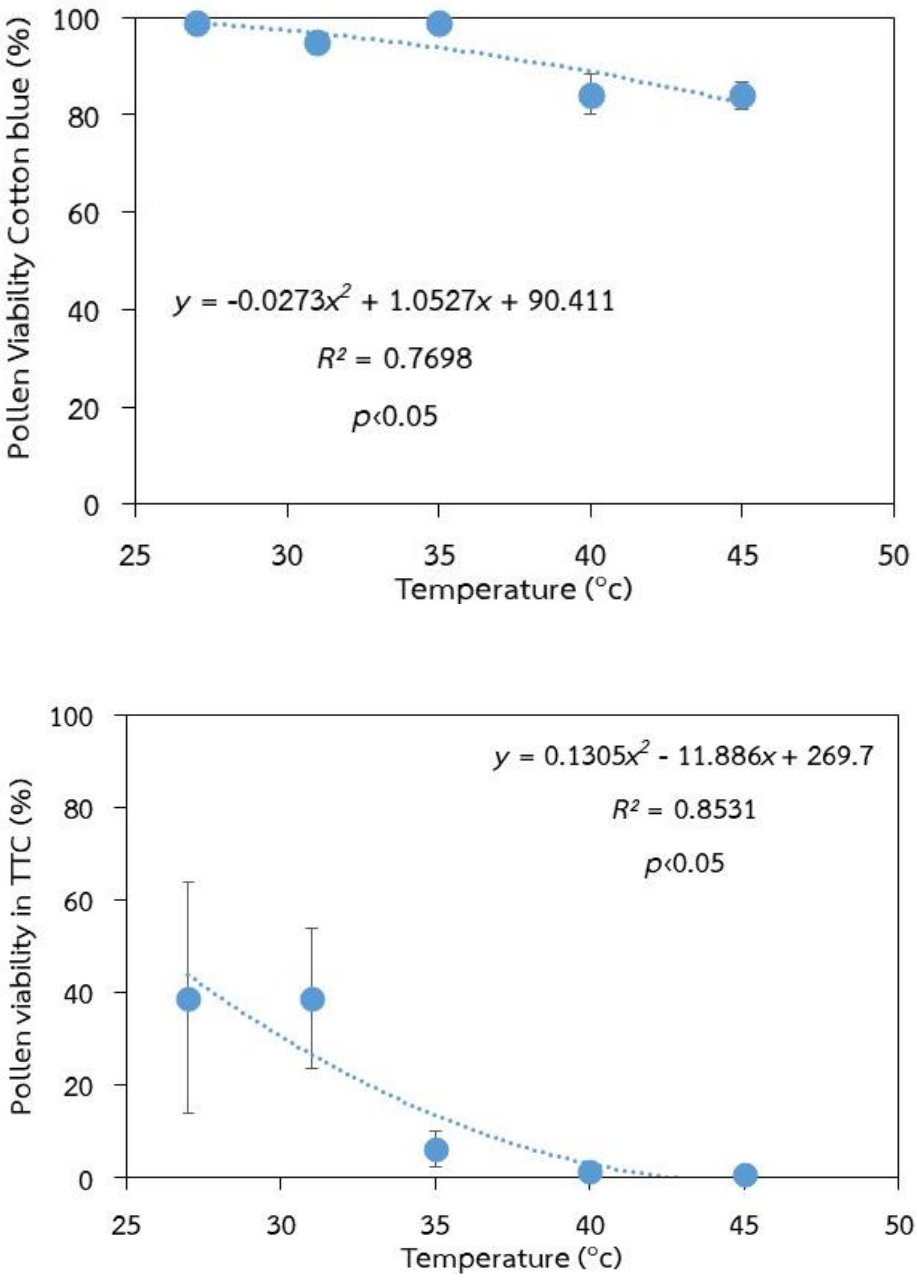
ตารางที่ 20 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. thorelii* ที่ทดสอบความมีชีวิตด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC กับละอองเกสรที่ทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Viability				
	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton Blue	TTC
Temperature	-0.931*	-0.926*	-0.919*	-0.938*	-0.906*

*Correlation is significant level (2-tailed) at 0.05



ภาพที่ 46 ความสัมพันธ์ระหว่างละอองเกสร *N. thorelii* ทดสอบความมีชีวิตทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein และ Iodine กับละอองเกสรที่ทดสอบความมีชีวิตทันที (Control) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 47 ความสัมพันธ์ระหว่างละอองเกสร *N. thorelii* นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) และอุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส กับความมีชีวิตของละอองเกสร ทดสอบด้วยสีย้อม Iodine, Cotton Blue และ TTC

2.6 ทดสอบความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อความงอกของละอองเกสร *Nepenthes thorelii*

อาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกของละอองเกสรที่ผ่านการทดสอบความงอกทันที (Control) และละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ. (p<0.01) ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอก เท่ากับ 47.50, 23.35, 2.17, 2.69 และ 1.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อาหารสูตรสังเคาระห์ ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 41.30, 15.12, 13.11, 20.69 และ 6.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 13.32 และ 24.41 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบการงอกของละอองเกสร

อาหารสูตรสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความงอกของละอองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 2.50 และ 3.27 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบความงอกของละอองเกสร ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 3.95 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิห้อง (28-31), 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่พบความงอกของละอองเกสร (ตารางที่ 21)

ทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) ความงอกของละอองเกสรที่ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลความเข้มข้นต่างๆ พบว่า น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เพียงความเข้มข้นเดียวเท่านั้น ที่มีความสัมพันธ์เชิงลบ (p<0.05) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความงอกของละอองเกสรลดลง (ตารางที่ 22) น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มทิศทางสมการโพลีโนเมียล คือ $y = 0.2647x^2 - 21.519 + 435.17$ (R^2=0.9771) (ภาพที่ 48)

ตารางที่ 21 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร *N. thorelii* ในอาหารเหลวสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 6 ระดับ ต่อละอองเกสรที่นำมาทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

Temperature	Concentration of sucrose (%)					
	2%	**5%**	**10%**	**15%**	**20%**	**30%**
control	41.3±14.53^{a}	47.50±5.95^{a}	2.50±2.5	3.95±3.08	13.32±6.68^{ab}	2.20±2.2
31 °C	15.12±5.58^{b}	23.35±10.76^{b}	3.27±3.27	0	24.41±10.34^{a}	0
35 °C	13.11±8.35^{b}	2.17±2.17^{c}	0	0	0^{b}	0
40 °C	20.68±4.92^{ab}	2.69±1.54^{c}	0	0	0^{b}	0
45 °C	6.43±2.89^{b}	1.36±1.36^{c}	0	0	0^{b}	0
***P*-value**	*	**	ns	ns	*	ns

Control คือ ละอองเกสรสดที่นำมาทดสอบความงอกของละอองเกสรโดยทันที

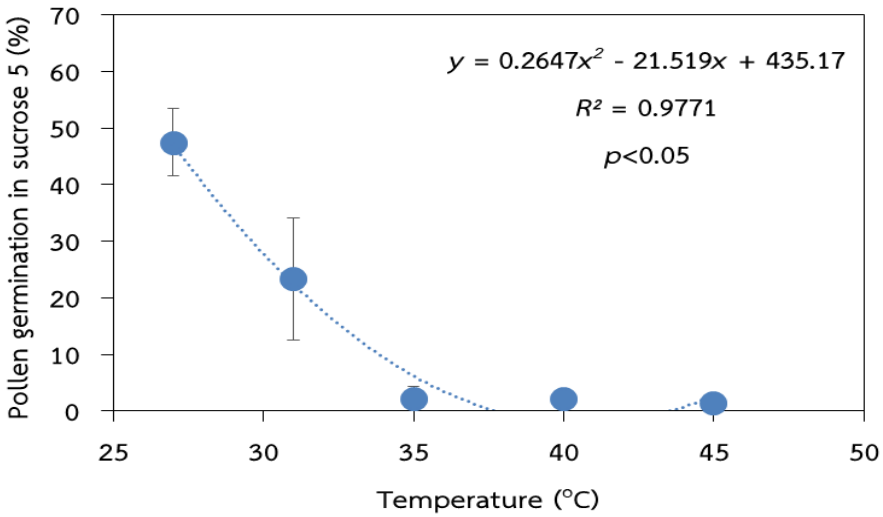
±: Standard Error

* คือ significant level (p<0.05), ** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significant

ตารางที่ 22 ความสัมพันธ์ของละอองเกสร *N. thorelii* ทดสอบในอาหารสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 2, 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ต่อละอองเกสรที่ทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

	Germination					
	2%	5%	10%	15%	20%	30%
Temperature	-0.763	-0.885*	-0.815	-0.707	-0.730	-0.707

*Correlation is significant level (2-tailed) at 0.05



ภาพที่ 48 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสร *N. thorelii* ที่น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อละอองเกสรที่ทดสอบความงอกทันที (Control) ละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-31, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส

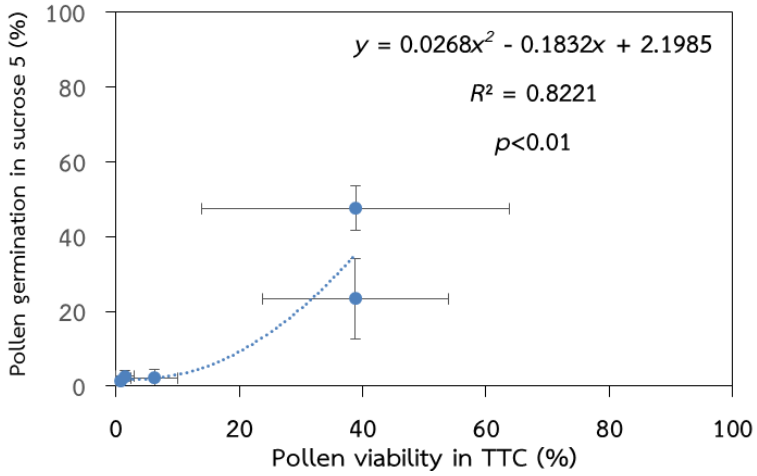
ความงอกของละอองเกสร *N. thorelii* ในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาทดสอบหาความสัมพันธ์ (Correlation) กับความมีชีวิตของละอองเกสรที่ย้อมด้วยสี Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC พบว่า ความมีชีวิตของละอองทดสอบด้วยสีย้อม TTC มีความสัมพันธ์กับความงอกของละอองเกสร (p<0.01) (ตารางที่ 23) โดยสีย้อม TTC มีแนวโน้มทิศทางสมการเชิงเส้นโค้งโพลีโนเมียล คือ $y = 0.0268x^2 - 0.1832x + 2.1985$ (R^2= 0.8221) (ภาพที่ 49) พิจารณาจากค่าสมการที่คำนวณได้ สีย้อม TTC มีความแม่นยำสูงกว่าสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine และ Cotton Blue

ดังนั้นสีย้อม TTC มีความเหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรและอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii*

ตารางที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสรที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และความมีชีวิตของละอองเกสรที่ย้อมด้วย Aceto cermine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC

	Viability				
	Aceto carmine	Aceto orcein	Iodine	Cotton Blue	TTC
Germination	0.586	0.604	0.651	0.706	0.883*

*Correlation is significant level (2-tailed) at 0.05



ภาพที่ 49 ความสัมพันธ์ระหว่างความงอกของละอองเกสรที่น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และความมีชีวิตของละอองเกสรทดสอบย้อมด้วยสี TTC

3.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

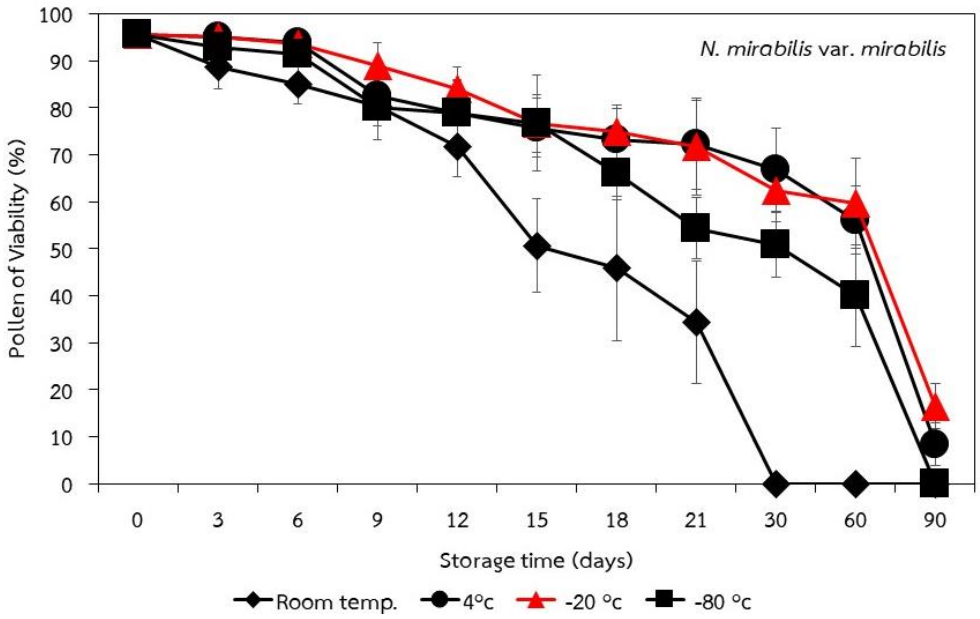
จากผลการทดลองที่ 2 ละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis สีย้อม Aceto orcein และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ *N. mirabilis* var. globosa สีย้อม TTC และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ *N. thorelii* (suratensis) สีย้อม TTC และ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำผลที่ได้ตรวจสอบความชีวิตและความงอกของละอองเกสรที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 31, 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส เก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับ

1. ละอองเกสร *Nepenthes mirabilis* var. mirabilis

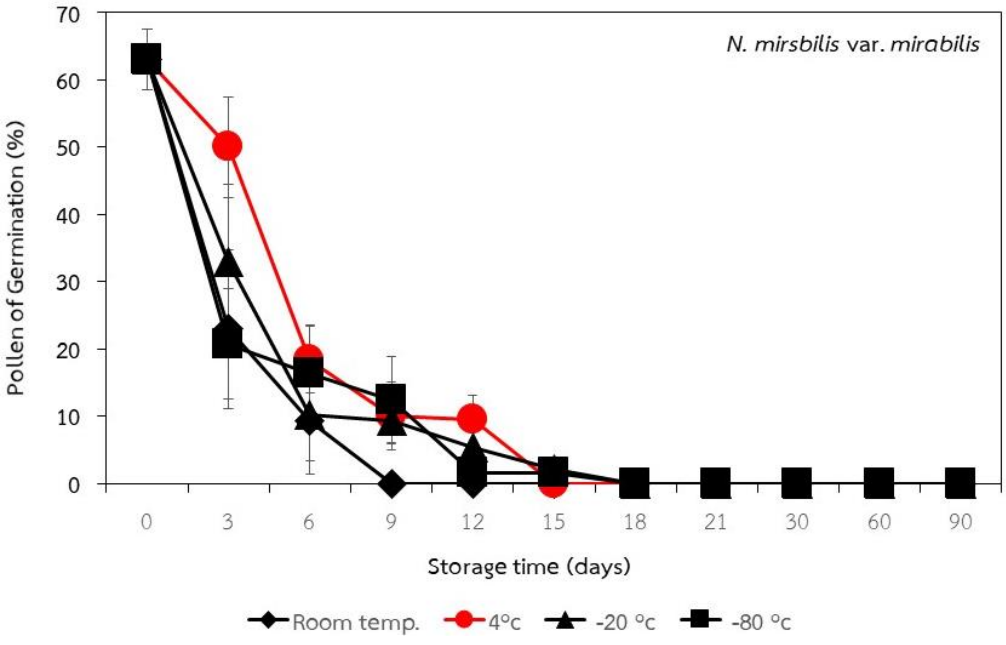
ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis ที่เก็บละอองเกสรแบบสดจากธรรมชาติ ตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรทันที พบว่า มีค่าความมีชีวิตเท่ากับ 80.40 เปอร์เซ็นต์ และค่าความงอกของละอองเกสร เท่ากับ 63.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 31, 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส ตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร เก็บรักษาที่ระยะเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับ

ความมีชีวิตของละอองเกสร มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นในทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ความมีชีวิตของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ. (p<0.01) โดยที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส ยังคงความมีชีวิตได้ถึง 90 วัน มีค่าความมีชีวิตเท่ากับ 8.38 และ 16.50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 50)

ความงอกของละอองเกสร มีแนวโน้มความงอกลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นในทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ. (p<0.05) โดยอุณหภูมิ 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความงอกของละอองเกสรได้ถึง 12 วัน มีค่าความงอก เท่ากับ 9.52, 5.34 และ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 51)



ภาพที่ 50 ความมีชีวิตของละออง *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน



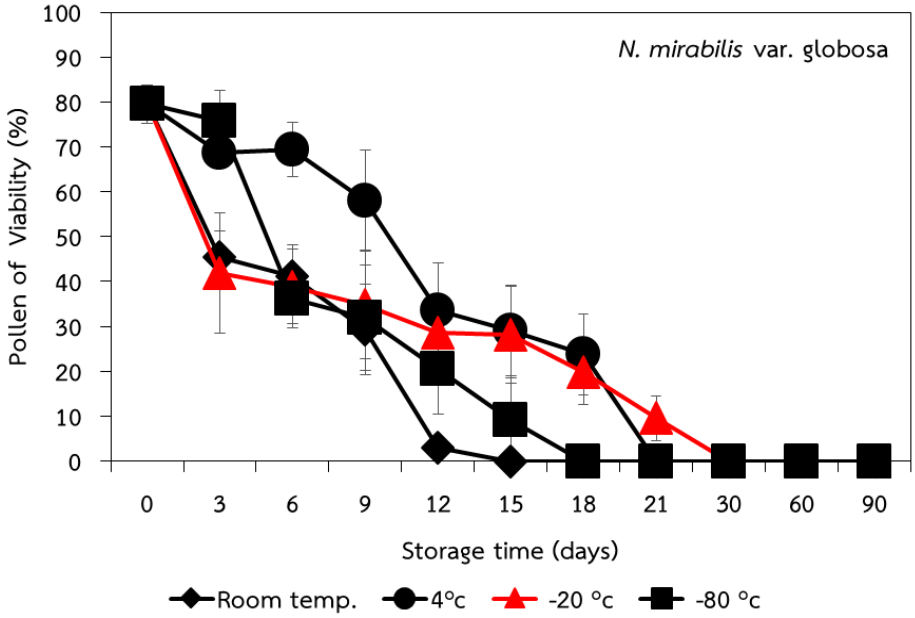
ภาพที่ 51 ความงอกของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน

2. หม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes mirabilis* var. globosa

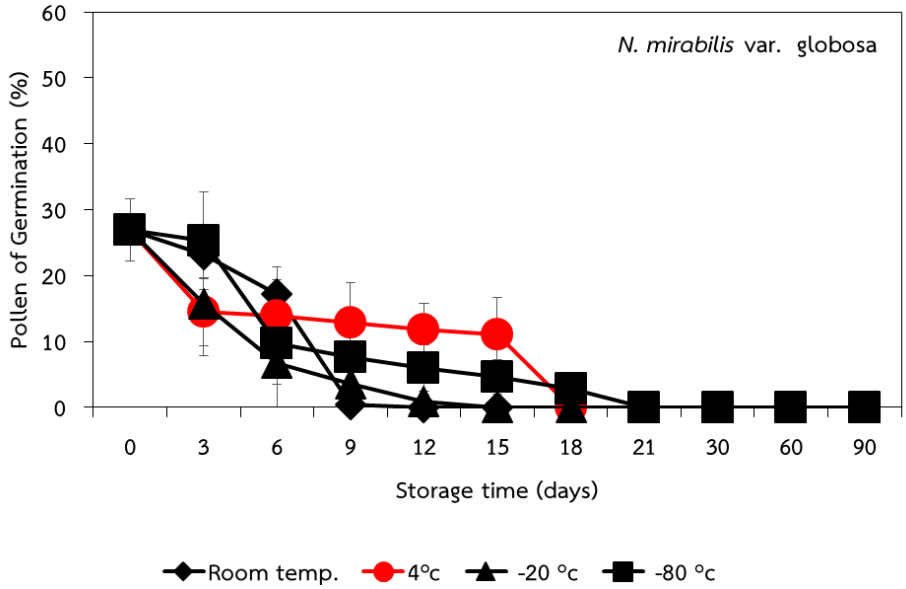
ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa ละอองเกสรแบบสดจากธรรมชาติ ตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร พบว่า ละอองเกสรมีค่าความมีชีวิตเท่ากับ 79.58 เปอร์เซ็นต์ และตรวจสอบความงอกของละอองเกสร มีค่าความงอก เท่ากับ 26.95 เปอร์เซ็นต์ นำละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 31, 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส ตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร เก็บรักษาที่ระยะเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับ

ความมีชีวิตของละอองเกสร มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นในทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ความมีชีวิตของละอองเกสรมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยที่อุณหภูมิ -20 องศาเศลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิตได้ถึง 21 วัน มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 9.53 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 52) และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิตได้ถึง 18 วัน มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 23.80 เปอร์เซ็นต์

ความงอกของละอองเกสรมีแนวโน้มความงอกลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นในทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยที่อุณหภูมิ 4 และ -80 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความงอกของละอองเกสรได้ถึง 15 วัน มีค่าความงอก เท่ากับ 11.10 และ 4.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 53)



ภาพที่ 52 ความมีชีวิตของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน



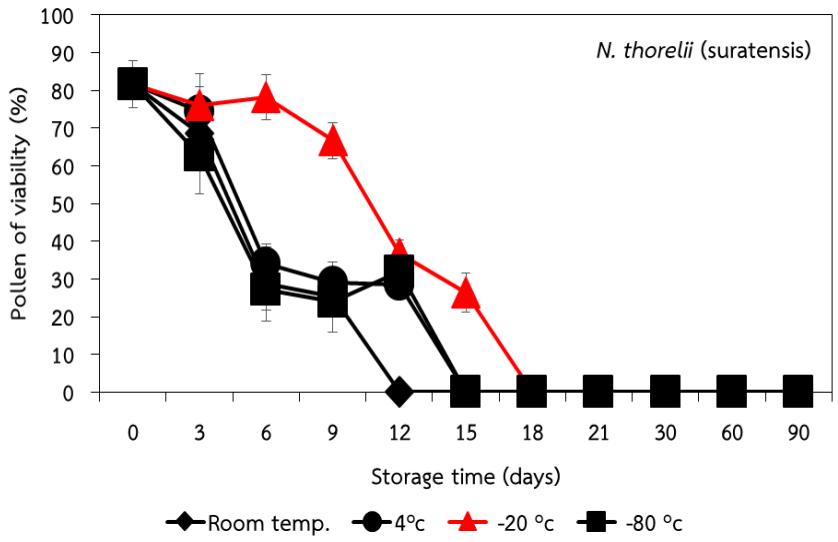
ภาพที่ 53 ความงอกของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน

3. หม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes thorelii* (suratensis)

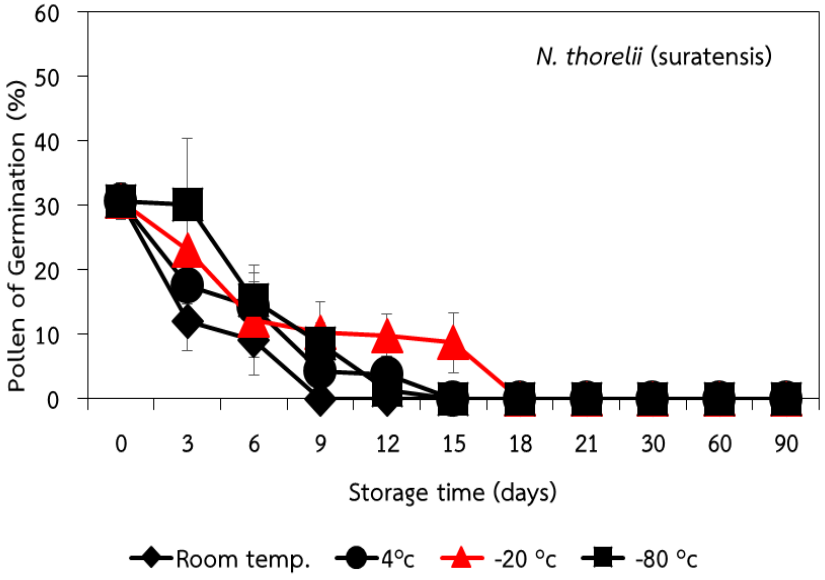
ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii* ที่เก็บละอองเกสรแบบสดจากธรรมชาติ ตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร พบว่า มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 92.16 เปอร์เซ็นต์ และตรวจสอบความงอกของละอองเกสร มีค่าความงอก เท่ากับ 33.50 เปอร์เซ็นต์ นำละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 31, 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส ตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร เก็บรักษาที่ระยะเวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับ

ความมีชีวิตของละอองเกสร มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นในทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ความมีชีวิตของละอองเกสรมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิตได้ถึง 15 วัน มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 26.39 เปอร์เซ็นต และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิตได้ถึง 12 วัน มีค่าความมีชีวิต เท่ากับ 28.60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 54)

ความงอกของละอองเกสร มีแนวโน้มความงอกลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นในทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ความงอกของละอองเกสรมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความงอกของละอองเกสรได้ถึง 15 วัน มีค่าความงอก เท่ากับ 8.66 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความงอกได้ถึง 12 วัน มีค่าความงอก เท่ากับ 3.75 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 55)



ภาพที่ 54 ความมีชีวิตของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thoralii* เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน



ภาพที่ 55 ความงอกของละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thoralii* เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30, 60 และ 90 วัน

บทที่ 4

บทวิจารณ์ (Discussion)

4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสรเพศผู้หม้อข้าวหม้อแกงลิง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า ลักษณะการเกิดของละอองเกสร (Pollen occurring) เป็นแบบติดกัน 4 พู (tetrads) คล้ายกับพืชในวงศ์ Juncaginaceae ในสกุล *Juncus* และ *Luzula* (Huang *et al*., 2013) ขนาดของละอองเกสรจัดอยู่ในกลุ่มขนาดเล็ก รูปร่างแบบทรงกลม (spheroidal) มีค่า P/E อยู่ในช่วง 1.01-1.04 ไมโครเมตร คล้ายกับพืชในวงศ์ Compositae ส่วนลวดลายบนผนังละอองเกสร มีลักษณะแบบ Scabrate คล้ายกับพืชในวงศ์ Ochnaceae ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาของส่วนที่ยื่นของมาจากผนังละอองเกสร มีส่วนช่วยให้ประสบความสำเร็จในการถ่ายละอองเกสร โดยผิวของละอองจะมีความเหมาะสมต่อการติดขาแมลง ทำให้ละอองเกสรแพร่กระจายได้ดี โดยอาศัยแมลงพาหนะ (entomophilous flower) เช่น มด ผึ้ง และผีเสื้อ เป็นต้น บทบาทของแมลงมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ โดยแมลงมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการถ่ายละอองเกสรของหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่จะนำไปสู่การติดฝัก ทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์และกระบวนการปรับตัวร่วมกันระหว่างพืชและแมลง ทั้งนี้ยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น แสง ช่วงวัน ลม และการบานของดอก เป็นต้น (Hegland *et al*., 2009; Scaven and Rafferty, 2013) จากลักษณะรูปร่าง ลวดลายที่พบบนผนังละอองเกสร สอดคล้องกับการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเกสรของหม้อข้าวหม้อแกงลิงอีก 27 สายพันธุ์ ที่พบได้บนเกาะบอร์เนียว แต่จะมีความแตกต่างกันในส่วนของขนาดละอองเกสร โดยขนาดละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis จากพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีขนาดประมาณ 10 ไมโครเมตร ในขณะที่ละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis ที่พบบริเวณเกาะบอร์เนียว มีขนาดละอองเกสรอยู่ 31 ไมโครเมตร (Adam and Wilcock, 1999) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาในส่วนของความสูงของแท่งหนาม และการกระจายตัวของแท่งหนามมีความแตกต่างกัน โดยละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis *N. mirabilis* var. globosa และ *N. thorelli* มีความสูงของแท่งหนาม เท่ากับ 0.77±0.10, 0.55±0.18 และ 0.60±0.07 ไมโครเมตร ตามลำดับ และการกระจายของหนามต่อพื้นที่ มีจำนวนหนาม 43.93±1.97, 58.16±2.59 และ 85.00±22.21 แท่ง ตามลำดับ จากข้อมูลความสูงของแท่งหนามและการกระจายตัวของแท่งหนาม เมื่อนำไปร่วมกับข้อมูลด้านอื่นๆ สามารถช่วยในการจำแนกพืชในสกุลหม้อข้าวหม้อแกงลิงในระดับชนิดได้ และข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสัณฐานสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

4.2 ทดสอบสีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

ละอองเกสรสด นำมาทดสอบการติดสีย้อมและความงอกโดยทันที

การศึกษาการเจริญของหลอดละอองเกสรเพศผู้ภายในเกสรเพศเมียที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วยวิธีย้อมด้วย Aniline Blue .สามารถใช้บ่งบอกความมีชีวิตของละอองเกสรที่นำมาใช้ทดสอบ ช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บละอองเกสร โดยใช้ละอองเกสรจากดอกระยะเริ่มปริ เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการนำมาคัดเลือกสีย้อมที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความชีวิตและคัดเลือกอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสในระดับความเข้มข้นต่างๆ การที่ได้มีการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรก่อนจะช่วยลดโอกาสในการใช้ละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตได้

จากการทดสอบการติดสีย้อมของละอองเกสร โดยใช้สีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC พบว่า ละอองเกสรมีการติดสีย้อมได้ดี มีค่าความมีชีวิตตั้งแต่ 30.89-100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสีย้อมแต่ละชนิด ย้อมติดในส่วนประกอบของเซลล์ละอองเกสร เช่น Aceto carmine, Aceto orcein และ Iodine ติดสีบริเวณไซโทพลาสซึม สี Cotton blue ติดสีในส่วนของไคตินและเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ละอองเกสร และสี TTC ย้อมติดในส่วนของเซลล์หรือเนื้อเยื่อ โดยใช้หลักการ การหายใจของเซลล์ที่มีชีวิตจะให้ก๊าซไฮโรเจน ซึ่งทำปฏิกริยากับสีย้อมซึ่งไม่มีสี เซลล์หรือเนื้อเยื่อของละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสี ส่วนเนื้อเยื่อที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี เพราะไม่มีการหายใจที่ให้ก๊าซไฮดโดรเจนออกมาทำปฏิกิริยากับสีย้อม

จากการทดสอบความงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 2, 3, 5, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความงอกตั้งแต่ 5.14-60.20 เปอร์เซ็นต์ โดยละอองเกสรแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่แตกต่างกันในการงอกของละอองเกสร เช่น ละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. ventricosa* โดยใช้น้ำตาลความเข้มข้น 13.70-30.80 เปอร์เซ็นต์ (James, 2549) ละอองเกสร *Prunus dulcis* Mill., *Malpighia emarginata* DC., *Jatropha ribifolia* และ *Jatropha mollissima* ใช้น้ำตาลความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (Lyra *et al*., 2011; Sorkheh *et al*., 2011; Sousa *et al*., 2013) นอกจากนี้ละอองเกสร *Malus pumila* Mill., *Prunus laurocerasus* L. และ *Passiflore* spp. ใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้ม 15 เปอร์เซ็นต์ (Petrisor *et al*., 2012; Sulusoglu and Cavusoglu, 2014) โดยความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส มีผลต่อการงอกของละอองเกสรและเกิดการแตกของละอองเกสร จากรายงาน Brewbaker และ Kwack (1963) กล่าวว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการงอกของละอองเกสร ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสน้อยเกินไปจะทำให้ละอองเกสรมีลักษณะเต่งบวมและแตก ถ้าความเข้มข้นมากเกินไปจะทำให้การงอกและการเจริญของละอองเกสรลดลง โดยน้ำตาลมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการงอกของหลอดละอองเกสร บริเวณผนังของละอองเกสรมีสารเซลล์ลูโลสและเพคติน ที่เป็นองค์ประกอบของผนังละอองเกสร ทำให้เกิดการดูดน้ำตาลซูโครสที่อยู่บริเวณรอบๆ ผิวของละอองเกสรเข้าไป เกิดการขยายของเซลล์และเกิดการงอกของหลอดละอองเกสรขึ้น

นอกจากนี้การงอกของละอองเกสรจะเกิดขึ้นได้ดีจะต้องมี ธาตุอาหารจำพวกกรดบอริค และแคลเซียม ทำหน้าที่สังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (Soares *et al*., 2008; Gill, 2014; Mehri and Imani, 2015;)

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาการเจริญของหลอดละอองเกสรภายในเกสรเพศเมียกับการงอกหลอดละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ พบว่า การทดสอบในอารหารสังเคราะห์มีความสะดวก และรวดเร็วกว่า ทั้งการเจริญของหลอดละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ ละอองเกสรเริ่มงอกที่ 18-24 ชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกับการเจริญของหลอดละอองเกสรภายในเกสรเพศเมียในสภาพธรรมชาติ แสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ ความเข้มข้นของน้ำตาล มีสภาพใกล้เคียงกับ stigma fluid ที่พบได้บริเวณยอดเกสรเพศเมีย จากการวิเคราะห์สารใน stigma fluid ของ Sour orange (Citrus *aurantium*) พบน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบหลัก (นิติญา และคณะ, 2543)

ละอองเกสรที่ผ่านการเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ นำมาทดสอบความมีชีวิตและความงอก

จากการนำละอองเกสรเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อทำให้ละอองเกสรเกิดการเสื่อมสภาพ เพื่อใช้ในการคัดเลือกสีย้อมที่เหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton blue และ TTC พบว่า ความมีชีวิตของละอองที่ทดสอบด้วย Aceto orcein และ TTC มีความสัมพันธ์กับความงอกของละอองเกสร โดยสีย้อม TTC อาศัยหลักการที่ว่าเนื้อเยื่อที่มีชีวิตจะเกิดการหายใจ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ คือ dehydrogenase enzyme ซึ่งจะปล่อยไฮโดรเจนออกมา เมื่อสารละลาย TTC ซึมผ่านเนื้อเยื่อที่มีชีวิตจะเกิดปฏิกริยารับเอาไฮโดรเจน ทำให้เกิดตะกอนสีแดง ละอองเกสรที่มีชีวิตจะติดสีแดงส่วนเนื้อเยื่อที่ไม่มีชีวิตไม่มีการหายใจจะไม่ติดสี (Soares *et al*., 2013) ละอองเกสรที่ได้รับอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความมีชีวิตมีแนวโน้มลดลง เนื่องด้วยละอองเกสรที่ได้รับอุณหภูมิที่สูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ละอองเกสรจะเสื่อมสภาพเร็วขึ้น และจากรายงานการวิจัยหากละอองเกสรได้รับอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ถือว่าเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการงอกของละอองเกสร โดยอุณหภูมิสูงจะไปมีอิทธิพลต่อไซโตพลาสซึม โครงสร้างและการสังเคราะห์เซลล์เมมเบรนของละอองเกสร จะทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงลักษณะไป ถึงแม้อุณหภูมิที่ละอองเกสรได้รับจะไม่เป็นอันตรายต่อละอองเกสร แต่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่ออ่อนของละอองเกสร (Ge *et al*., 2011)

4.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

จากการตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรที่เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิต่างๆ พบว่า เก็บละอองเกสรที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด โดยละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis และ *N. mirabilis* var. globosa สามารถรักษาความงอกได้ถึง 12 และ 15 วัน ตามลำดับ ส่วนละอองเกสร *N. thorelii* สามารถรักษาความงอกได้นานถึง 12 และ 15 วัน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการเก็บรักษาละอองเกสรของแพร์ (Pear) สายพันธุ์ Pathernakh, Punjab Beauty และ Shinseiki สามารถรักษาความงอกได้ดีเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส (Bhat *et al*., 2012) โดยการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส จะช่วยลดหรือหยุดการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิซึม ของละอองเกสรให้เกิดช้าลงหรือหยุดกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ของละอองเกสรในขณะเก็บรักษา เมื่อนำละอองเกสรออกสู่สภาวะปกติ เซลล์ต่างๆ ของละอองเกสรจะยังคงมีชีวิต สามารถแบ่งเซลล์ได้ตามปกติ อุณหภูมิที่เก็บรักษาจึงช่วยยืดอายุความมีชีวิตของละอองเกสรได้ (Engelmann, 2004) การเก็บรักษาละอองเกสรที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน พบว่า จะเกิดผนึกน้ำแข็งทั้งภายในภายนอกเซลล์ของละอองเกสร โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณไซโตพลาสซึมภายในเซลล์จะแข็งตัว ส่งผลให้ละอองเกสรแตกได้ ทำให้ละอองเกสรไม่สามารถงอกได้หรือมีความงอกต่ำ โดยการงอกของละอองเกสรต้องอาศัยกระบวนการทำงานของเอนไซม์ มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอและโปรตีน มีการหายใจและเกิดการสังเคราะห์สารประกอบต่างๆ อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของกระบวนเหล่านี้ส่งผลให้ละอองเกสรมีประสิทธิภาพในการงอกลดต่ำลง

ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ลดความชื้นก่อนการเก็บรักษา แต่ได้มีการวัดความชื้นของละอองเกสร โดยมีค่าความชื้น เท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยความชื้นของละอองเกสรมีบทบาทสำคัญต่ออายุการเก็บรักษาละอองเกสร จากงานวิจัยของ Hamzah และ Leene (1996) ลดความชื้นของละอองเกสรยางพารา 7-11 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำไปเก็บรักษา สามารถเก็บรักษาละอองเกสรไว้ได้นานถึง 5 เดือน และจากงานวิจัยของ Ekaratne และ Senathirajah (1993) การลดความชื้นมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเก็บรักษาละอองเกสรปาล์มน้ำมัน สามารถยืดอายุละอองเกสรเป็นเวลานานถึง 12 เดือน การลดความชื้นให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพอุณหภูมิต่ำ เพื่อรักษาความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร และเพื่อลดการเกิดผนึกน้ำแข็ง หรือการเข้าทำลายของเชื้อรา จากการนำละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง
N. mirabilis var. globosa เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเศลเซียส) และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส) มีลักษณะของการเข้าทำลายของเชื้อราเกิดขึ้น (ภาพผนวกที่ 1ก) ส่วนละอองเกสรที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อรา (ภาพผนวกที่ 1ข) นอกจากนี้ หม้อข้าวหม้อแกงลิงยังเป็นพืชเขตร้อน บริเวณที่หม้อข้าวหม้อแกงลิงเจริญเติบโตส่วนใหญ่จะเป็นทุ่งหญ้าโล่งแจ้ง จึงทนต่อการเก็บรักษาละอองเกสรที่อุณหภูมิต่ำได้น้อย ซึ่งอุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส จึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาละอองเกสร เช่นเดียวกับ ละอองเกสรของมะม่วง (*Mangifera indica* L.) และ มะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) (Dutta *et al*., 2013; Machado *et al*., 2014)

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion)

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสร

จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง 3 ชนิด คือ *N. mirabilis* var. mirabilis, *N. mirabilis* var. globosa, *N. thorelli* (suratensis) ลักษณะ รูปทรงของละอองเกสรเป็นแบบทรงกลม (spheroidal pollen) มี 4 พู (tetrads) ผนังละอองเกสรเป็นตุ่มหนามปลายแหลม (sculpturing-scabrate) ส่วนค่าการกระจายตัวของแท่งหนามต่อพื้นที่ 100 ตารางไมโครเมตร ละอองเกสร *N. thorelii* มีจำนวนหนาม 85±22.21 แท่ง ละอองเกสร*N. mirabilis* var. globosa มีจำนวนหนาม 58.16±2.59 และละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis มีจำนวนหนาม 43.93±1.97 แท่ง ตามลำดับ

5.1.2 ทดสอบหาสีย้อมและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

จากผลการทดลองเก็บละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงไว้ที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง (28-31), 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบความมีชีวิตด้วยสีย้อมชนิดต่างๆ และทดสอบความงอกในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการนำมาตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสร จากการทดลองมีผลดังนี้

1. ละอองเกสร *N. mirabilis* var. mirabilis สีย้อม Aceto orcein มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตที่สัมพันธ์กับการงอกของละอองเกสรในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

2. ละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa สีย้อม TTC มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตสัมพันธ์กับการงอกของละอองในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์

3. ละอองเกสร *N. thorelii* (suratensis) สีย้อม TTC มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตสัมพันธ์กับการงอกของละอองในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

5.1.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส) 4 -20 และ -80 องศาเซลเซียส มีผลการทดลองดังนี้

1. ที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส) สามารถรักษาความมีชีวิตและความงอกละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด ได้นานถึง 6-9 วัน

2. หม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิต ได้นานถึง 90 วัน และรักษาความงอก ได้นานถึง 12 วัน

3. หม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. globosa เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิต ได้นานถึง 18 และ 21 วัน และที่อุณหภูมิ 4 และ -80 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความงอกได้นานถึง 15 วัน และ 18 วัน

4. หม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii* เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส สามารถรักษาความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรได้นานถึง 12 และ 15 วัน ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองครั้งนี้ มีข้อเสนอแนะควรมีการศึกษางานวิจัยในเรื่องการลดความชื้นให้กับละอองเกสรก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อป้องกันการผลึกน้ำแข็งและการเข้าทำลายของเชื้อราบริเวณผิวของละอองเกสร เพื่อช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรได้ ซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเก็บรักษาละอองเกสร

บรรณานุกรม

เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์, สุนีดา แลหมัน และรวี เสริฐภักดี. 2551. อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาละอองเกสรอ่อน. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จันทรจีรา ศิริแตง. 2544. ระยะของดอกและชวงเวลาเก็บที่มีผลตอความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสรพริก *Capsicum annuum* L. และ *C. chinense* Jacquin. ปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร.

เจษฎา จงใจดี, สาวิกา กอนแสง, ศันศนีย์ จำจด, เบญวรรณ ฤกษ์เกษม และสิทธิชัย ลอดแก้ว. 2553. ผลของอุณหภูมิสูงต่อความมีชีวิตของละอองเรณูและการปฏิสนธิในพันธุ์ข้าวไทย. วารสารเกษตร. 26:29-35.

ดรุณี ถาวรเจริญ. 2556. ผลของชนิดช่อดอกต่อความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสรส้มโอพันธุ์ทองดีที่ออกดอกนอกฤดูกาล. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 44: 521-524.

ธีรนิติ พวงกฤษ. 2555. การศึกษาปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาโดยการผสมข้ามชนิดระหว่างพืชในกลุ่ม Eucurcuma และ Paracurcuma. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ภัทรา แสงดานุช และ วีระ โดแวนเว. 2551. พืชกินแมลง (Carnivorous Plant). บ้านและสวน, กรุงเทพฯ.

พัชญ์สิตา ฐิตะเลิศวงศ์, สิริภรณ์ ครวญหา, รักษา สุนินทบูรณ์ และอูฐ เชาวน์ทวี. 2554. การศึกษาชนิดพันธุ์ไม้ “หม้อข้าวหม้อแกงลิง” (*Nepenthes*). ศูนย์ศึกษาและพัฒนาวนศาสตร์ ชุมชนที่ 9 สำนักจัดการทรัพยากรป่าไม้ที่ 9 กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ภูมิ ทองเนื้อห้า, กฤษณา กฤษณพุกต์, เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ และปิยะณัฏฐ์ ผกามาศ. 2555. อิทธิพลของอุณหภูมิต่อความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรในมะพร้าวน้ำหอม. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 44 ฉบับที่ 2 (พิเศษ). 2556.

สวัสดิ์ พิมพ์สุวรรณ. 2554. การเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิงพันธุ์ Viking (*Nepenthes globosa* “Viking”) ในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ. สาขาการผลิตพืช สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

สุทิน พรหมโชติ และ รดาพร พยัคฆฑา. 2554. ความมีชีวิตการงอกของละอองเกสรส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

สุพี วนศิรากุ. 2541. การศึกษาความมีชีวิตของละอองเกสรฝรั่งพันธุ์แป้นสีทองและเย็นสองเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C และ -20°C. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรอุษา คำสูข เสาวณี สุริยาภณานนท์ วิทยา สุริยาภณานนท์ และนิรันดร์ จันทงวศ์. 2546. การเจริญของละอองเรณูภายในเกสรเพศเมียส้มซัทซูมา (*Citrus unshiu* Marc.) ในสภาพธรรมชาติและสภาพช่วยถ่ายเรณู. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 41:125-132.

อุษณีย์ วงศ์ปัตน์ษา. 2557. ผลของอุณหภูมิต่อการพัฒนาการของเรณูสายพันธุ์แม่ในระบบการผลิตข้าวลูกผสมแบบสองสายพันธุ์. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Adam, J. H. and Wilcock, C. C. 1999. Palynological study of Borneo *Nepenthes* (Nepenthaceae) Pertanika J. Trop. Agric. Sci. 22(1): 1-7.

Ahmed, S., Rattanpal, H. S., Ahmad, E. and Singh, G. 2017. Influence of storage duration and storage temperature on *In Vitro* pollen germination of Citrus species. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 6(5): 892-902.

Alcaraz, M. L., Montserrat, M. and Hormaza, J. I. 2011. In vitro pollen germination in avocado (*Persea americana* Mill.) optimization of the method and effect of temperature. Sci. Hortic. 130: 152-156.

Alikhan, S. and Perveen, A. 2015. Germination capcity of stored pollen of *Abelmoschus esculentus* L. (Malvaceae). Pak. J. Bot. 38(2): 233-236.

Berdnikov, V. A., Kosterin, O. E. and Bogdanova, V. S. 2002. Mortality of pollen grains may result from errors of meiosis: Study of pollen tetrads in *Typha latifolia* L. Heredity. 89(5): 358-62.

Bhat, Z. A., Dhillon, W. S., Shafi, R. H. S., Rather, J. A., Mir, A. H., Shafi, W. and Wani,T. A. 2012. Influence of storage temperature on viability and in vitro germination capacity of Pear (*Pyrus* spp.) pollen. J. Agri. Sci. 4: 128-135.

Borghezan, M., Clauman, A. D., Steinmacher, D. A., Guerra, M. P. and Orth, A. I. 2010. *In vitro* viability and preservation of pollen grain of kiwi (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa* A. Chev.). Crop Breeding and App. Bio. 11: 338-344.

Brewbaker, J. L. and Kwack, B. H. 1963. Essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Am. J. Bot. 50: 859-865.

Catalano, M. 2010. Nepenthes andamana. In Nepenthes Della Thailandia: diario di viaggio. P34.

Cavusoglu, A. and Sulusoglu, M. 2014. *In vitro* pollen viability and pollen germination in Medlar (*Mespilus germanica* L.). Int. Res. J. Bio. Sci. 2(5): 49-53.

Clarke, C. M. and Sarunday, C. 2013. *Nepenthes suratensis*. The IUCN Red List of Threatened Species. เข้าถึงเมื่อ 11 ธันวาคม 2560 เข้าถึงได้จาก www.iucnredlist.org.

Coellho, A. P. D, Morais K. P., Daol Laughinghouse, I. V. H., Giacomini, S. J. and Tadesco, S. B. 2012. Pollen grain viability in accessions of *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae). Agroci. Encia. 46: 481-487.

Dane, F and Ekici, N. 2011. Pollen tube growth of *Paeonia Tenuifolia* L. (Paeoniaceae) *in vitro* and *in vivo*. Bangladesh J. Bot. 40(1): 93-95.

Dutta, S. K., M. Srivatav, R. Chaudhary, K. Lal, P. Patil. S. K. Sing and A. K. Sing. 2013. Low temperature storage of mango (*Mangifera indica* L.), pollen. Sci. Hort. 161: 193-197.

Engelmann, F. 2004. Plant cryopreservation: progress and prospects. *In vitro* Cell Biol Plant. 40: 427-433.

Erdtman, G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy. I. Angiosperm. Almqvist and Wiksell. Stockholm. 539 p.

Ekaratne, S. N. R. and S. Senathirajah. 1993. Viability and storage of pollen of the oil palm, *Elaeis guineensis* Jacq. Ann. Bot. 51: 661-668.

Frescur, D. S. V. and Tedesco, S. B. 2012. Pollen viability of *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae) using different staining methods. Biocell. 143-145.

Gaaliche, B., Majdoub, A., Trad, M. and Mars, M. 2013. Assessment of Pollen Viability, Germination, and Tube Growth in Eight Tunisian Caprifig (*Ficus carica* L.) Cultivars. ISRN Agron. 1–4.

Ge, Y., Fu, C., Bhandari, H., Bouton, J., Brummer, E. C. and Wang, Z. Y. 2011. Pollen viability and longevity of switchgrass (*Panicum virgatum* L.). Crop. Science. 51: 2698-2705.

Handayani, T. and Latifah, D. 2005. Diversity and growth behavior of *Nepenthes* (pitcher plants) in Tanjung Putting National Park, Central Kailmantan Province. Biodiversitas. 6: 52-248.

Hegland, S. J., Nielsen, A., Lazaro, A., Bjerknes A. L. and Totland, O. 2009. How does climate warming affect plant-pollinator interactions? Ecology Letters, 12: 184–195.

Hemsley, W. B. 1895. *Nepenthes smilesii* (Nepenthaceae). Bulletin of Miscellaneous Information, Royal Botanic Gardens, Kew, 1895, 116.

Hamzah, S. and Leene, C. J. 1996. Pollen Storage of Hevea. Journal of Natural Rubber Research, 11(2). 115-124.

Huang. S. Q., Xiong, Y. Z. and Barrett, C. H. 2013. Experimental evidence of insect pollination in Juncaceae, A Primarily wind-pollinated family. Int. J. Plant Sci. 174(9): 1219–1228.

Jamer, C. 2006. Tropical pitcher plant (*Nepenthes*: Nepenthaceae) pollen germinability and storage: conservation implications.Technical Refereed Contribution. 23-29.

Kato, M. 1993. Floral Biology of Nepenthes gracilis (Nepenthaceae) in Sumatra. Amer. J. Bot. 80(8): 924-927.

Khan, S. A., Perveen, A. and Sarwar, G. R. 2013. Germination capacity and viability in pollen of *Prunus amygdalus* Batsch. Rosaceae. Pak. J. Bot. 45(4): 1383-1385.

Korthals, P. W. 1839. Overhet geslacht Nepenthes. In: C.J. Temminck (ed.), Verhandelingenover de natuurlijke geschiedenis: 1-44, t. 1-4, 13-15, 20-22.

Lecomte, P. H. 1909. Les *Nepenthes* d'Indo-Chine. In Notulae Systematicae (ed. P.H. Lecomte), pp. 46-65.

Lestariningsih, N. and Setyaningsih, D. 2017. Explorative study of tropical pitcher plants (*Nepenthes* sp.) types and insects that trapped inside in Sebangau National Park Palangka Raya Central Kalimantan. J. Physics: Conf. Series: 795: 1742-6596.

Lindley, J. 1849. Familiar Botany-The Pitcher Plant. *The Gardener's Chronicle* 37: 579–581

Lora, J., Perez De oteyza, M. A., Fuentetaja P. and Hormaza J. I. 2006. Low temperature storage and in vitro germination of cherimoya (*Anmona cherimola* Mill.) pollen. Sci. Hort. 108: 91-94.

Scaven, V. L. and Rafferty, N. E. 2013. Physiological effects of climate warming on flowering plants and insect pollinators and potential consequences for their interactions. Curr Zool., 59: 418–426.

Loureiro J. 1790. *Genus Phyllamphora* in *Flora Cochinchinensis.* 2: 606–607.

Lyra, D. H., Sampaio, L. S., Pereira, D. A., Silva, A. P. and Amaral, C. L. F. 2011. Pollen viability and germination in *Jatropha ribifolia* and *Jatropha mollissima* (Euphorbiaceae): species with potential for biofuel production. Afr. J. Bio. 10: 368–374.

Marina, M. T., John keen, C., Caroline, B. R. and Afsar, J. 2018. Fauna Diversity in Pitcher Plants at Setiam Hill, Bintulu, Sarawak, Malaysia. Sains Malaysiana 47(1): 19–25.

Mehri, S. h., Piri, S. and Imani, A. 2015. Optimization of Apple Pollen Culture and Its Maintenance of Pollen Germination Capacity. J. Agri. Env. 2(2): 2531-2349.

Nuanlaong, S., Onsanit, S., Chusangrach, V. and Suraninpong, P. 2016. A new species of *Nepenthes* (Nepenthaceae) from Thailand. Thai Forest Bull. BOT. 44(2): 128–133.

Petrisor, C., Mitre, V., Mitre, I., Jantschi, L. and Balan, M. C. 2012. The Rate of Pollen Germination and the Pollen Viability at Ten Apple Cultivars in the Climatic Conditions of Transylvania. Bulletin. UASVM. Hortic. 69(1): 417-418.

Perveen, A. and Alikhan, S. 2008. Maitenance of pollen germination capacity of *Malus pumila* L., (ROSACEAE). Pakistan. 40(3): 963-966.

Pham, V. T., Herrero, M. and Hormaza, J. I. 2015. Effect of temperature on pollen germination and pollen tube growth in longan (*Dimocarpus longan* Lour.). Sci Hortic. 197: 470–475.

Piri, S., Mehri, S. h. and Imani, A. 2015. Improve the Medium for Germination of Almond Pollen *in vitro* and Germination Capacity of Stored Pollen. J. Advan. Agri. Env. 10(2): 57-60.

Rhee, H. K., Lim, J. H. and Kim, Y. J. 2005. Improvement of Breeding Efficiency for Interspecific Hybridization of Lilies in Korea. Natio. Hortic. Rese. Ina. 310-440

Saarela, J. M. 2012. Taxonomic synopsis of invasive and native Spartina (Poaceae, Chloridoideae) in the Pacific Northwest (British Columbia, Washington and Oregon), including the first report of *Spartina* × *townsendii* for British Columbia, Canada. PhytoKeys. 10: 25–82.

Shekari A., Nazeri, V. and shokrpour M. 2016. Pollen viability and storage life in *Leonurus cardiac* L. J. App. Res. Medi. Cinal. Aro. Plants. 3: 101-104.

Soares, T. L., de Souza, E. H., Sampaio, L. F. S., de Carvalho Costa, M. A. P., e Silva, S. D. O., and Santos-Sejero, J. A. 2015. Effect of collection time on the viability of banana pollen grains. J. Bio. 14(14): 207-1214.

Sorkheh, K., Shiran, B., Rouhi, V., Khodambambashi, M., Wolukau, J. N. and Ercisli, S. 2011. Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of almond (*Prunus dulcis* Mill.) to temperature, polyamines and polyamine synthesis inhibitor. Bio. Syst. Ecol. 39: 749-757

Sousa, A. S., Santos F. A. R. and Rego, E. J. L. 2013. Viability and action of CPL lectin on in vitro germinability of pollen grains of *Malpighia emarginata* DC. (Malpighiaceae). Ame. J. Sci. 4: 53–58.

Souza, E. H., Souza, F. V. D., Rossi, M. L., Brancalleao, N., Ledo, C. A. S. and Martinelli, A. P. 2014. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. Euphytica. 44: 37–42.

Susanti, T., Kencanawati, I. 2017. The Composition of Plants in *Nepenthes* spp. Community in Customary Forest of Lingkat Lake Kerinci. GreenTech. 18(1): 71-78.

Wang. L., Zhou, Q., Zheng Y. and Xu, S. 2009. Composite structure and properties of the pitcher surface of the carnivorous plant *Nepenthes* and influence on the in sect attachment system. Pro. Natu. Sci. 19: 1657-1664.

Wang, L., Wu, J., Chen, J., Fu, D., Zhang, C., Cai, C. and Ou, L. 2015. A simple pollen collection, dehydration, and long-term storage method for litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). Sci. Hortic. 188: 78–83.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ความมีชีวิตของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด ทดสอบด้วยสีย้อม Aceto carmine, Aceto orcein, Iodine, Cotton Blue และ TTC

Stin	*N. mirabilis* var. mirabilis	*N. mirabilis* var. globosa	*N. thorelii*
Aceto carmine	99.69±0.3	98.40±0.70	94.27±0.94
Aceto orcein	100±0	88.69±6.24	94.49±2.45
Iodine	99.59±0	47.75±15.37	88.22±7.32
Cotton Blue	99.59±0.42	93.64±2.88	96.88±2.67
TTC	64±14.17	30.89±7.30	38.88±11.14
***P*-value**	**	**	**

±: SE (Standard Error)

** คือ significant level (p<0.01

ตารางผนวกที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิงทั้ง 3 ชนิด ทดสอบในอาหารสูตรสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2, 3, 5, 10 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์

Concentration of sucrose (%)	*N. mirabilis* var. mirabilis	*N. mirabilis* var. globosa	*N. thorelii*
2	0.0±0.0	35.74±9.89	41.30±14.53
3	0.0±0.0	22.34±4.56	5.67±3.00
5	60.20±5.16	29.36±5.84	47.50±5.95
10	65.81±7.73	54.68±5.13	2.94±2.43
15	49.93±2.79	22.23±11.66	3.95±3.08
20	34.17±6.40	14.99±9.24	13.31±6.68
30	41.50±9.10	0.0±0.0	5.14±3.20
P-value	**	**	**

±: SE (Standard Error)

** คือ significant level (p<0.01

ตารางผนวกที่ 3 ค่าเฉลี่ยของความมีชีวิตของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาอุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ -80°C

ระยะเวลาการเก็บรักษา	อุณหภูมิเก็บรักษา				*P*-value
	28-31 °C	4 °C	-20 °C	-80 °C	
0	95.56±2.31	95.56±2.31	95.56±2.31	95.56±2.31	ns
3	88.70±4.76	95.16±1.91	95.20±1.88	92.88±2.47	ns
6	85.06±4.31	93.98±1.98	93.56±2.71	91.49±2.39	ns
9	80.40±7.31	82.64±5.12	88.99±4.89	79.97±3.73	ns
12	71.74±6.49	78.80±7.20	84.12±4.58	78.86±6.98	ns
15	50.67±10.02	75.76±6.31	76.70±10.26	76.61±6.23	ns
18	45.78±15.37	73.10±6.67	74.87±5.70	66.16±5.77	ns
21	34.41±12.99^{b}	72.10±9.40^{a}	71.74±10.29^{a}	54.36±6.45^{ab}	*
30	0^{b}	66.81±8.77^{a}	62.27±6.60^{a}	50.94±6.88^{a}	**
60	0^{b}	56.07±7.23^{a}	59.72±9.62^{a}	39.99±10.81^{a}	**
90	0^{b}	8.38±4.47^{ab}	16.50±4.47^{a}	0^{b}	**

±: SE (Standard Error)

* คือ significant level (p<0.05), ** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significant

ตารางผนวกที่ 4 ค่าเฉลี่ยของความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. mirabilis* var. mirabilis เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ -80°C

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	อุณหภูมิเก็บรักษา				*P-value*
	28-31°C	4 °C	-20 °C	-80 °C	
0	63.01±4.48	63.01±4.48	63.01±4.48	63.01±4.48	ns
3	22.93±7.78	49.98±7.37	32.90±11.55	20.74±8.14	ns
6	9.35±4.94	18.37±9.28	10.27±6.92	16.34±7.18	ns
9	0	10.02±9.37	9.30±3.32	12.44±6.50	ns
12	0^{b}	9.52 ± 6.60^{a}	5.34 ± 2.55^{ab}	1.64 ± 1.64^{b}	*
15	0	0	2.06±1.37	1.50±1.50	ns
18	0	0	0	0	-
21	0	0	0	0	-
30	0	0	0	0	-
60	0	0	0	0	-
90	0	0	0	0	-

±: SE (Standard Error)

* คือ significant level (p<0.05), ** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significant

ตารางผนวกที่ 5 ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของละอองเกสรพันธุ์ *N. mirabilis* var. globosa ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส), 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	อุณหภูมิที่เก็บรักษา				*P-value*
	28-31 °C	4°C	-20°C	-80°C	
0	79.58±4.28	79.58±4.28	79.58±4.28	79.58±4.28	ns
3	45.39±5.95^{b}	68.81±0.03^{ab}	41.80±13.38^{b}	75.79±6.67^{a}	**
6	41.08±7.05^{b}	69.47±6.03^{a}	38.90±8.24^{b}	36.16±6.5^{b}	**
9	29.24±10.1	58.12±11.14	34.73±12.04	31.96±11.77	ns
12	2.91±1.95^{b}	33.60±10.66^{a}	28.63±6.89^{a}	20.53±10.05^{ab}	*
15	0^{b}	29.10±10^{a}	28.11±10.73^{a}	9.23±9.23^{ab}	*
18	0^{b}	23.80±9.05^{a}	19.73±7.15^{a}	0^{b}	**
21	0^{b}	0^{b}	9.53±5.06^{a}	0^{b}	*
30	0	0	0	0	-
60	0	0	0	0	-
90	0	0	0	0	-

±: SE (Standard Error)

* คือ significant level (p<0.05), ** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significant

ตารางผนวกที่ 6 ค่าเฉลี่ยความงอกของละอองเกสรพันธุ์ *N. mirabilis* var. globosa ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4 °C, -20 °C และ -80 °C

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	อุณหภูมิที่เก็บรักษา				*P-value*
	28-31 °C	4 °C	-20 °C	-80 °C	
0	26.95±4.72	26.95±4.72	26.95±4.72	26.95±4.72	ns
3	23.16±3.46	14.45±5.07	15.72±7.88	25.26±7.39	ns
6	17.18±4.15	13.90±3.69	6.77±3.33	9.66±4.32	ns
9	0.40±0.40^{b}	12.87±6.00^{a}	3.51±1.98^{ab}	7.66±5.31^{ab}	ns
12	0^{b}	11.77±3.93^{a}	0.93±0.93^{b}	5.94±3.51^{ab}	ns
15	0^{b}	11.10±5.51^{a}	0^{b}	4.64±2.58^{ab}	*
18	0	0	0	2.84±2.38	ns
21	0	0	0	0	-
30	0	0	0	0	-
60	0	0	0	0	-
90	0	0	0	0	-

±: SE (Standard Error)

* คือ significant level (p<0.05), ** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significant

ตารางผนวกที่ 7 ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของละอองเกสรพันธุ์ *N. thorelii* เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4 °C, -20 °C และ -80 °C

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	อุณหภูมิที่เก็บรักษา				*P-value*
	28-31 °C	4 °C	-20 °C	-80 °C	
0	81.69±6.19	81.69±6.19	81.69±6.19	81.69±6.19	ns
3	68.71±4.65	74.47±6.36	76.15±8.30	62.82±10.32	ns
6	28.72±9.84	34.03±5.24	78.22±5.92	27.12±5.32	ns
9	25.23±9.30	28.97±2.71	66.62±4.78	24.01±3.23	ns
12	0	28.60±2.81	36.85±3.46	31.94±1.35	ns
15	0^{b}	0^{b}	$26.39±5.08^{a}$	0^{b}	*
18	0	0	0	0	-
21	0	0	0	0	-
30	0	0	0	0	-
60	0	0	0	0	-
90	0	0	0	0	-

±: SE (Standard Error)

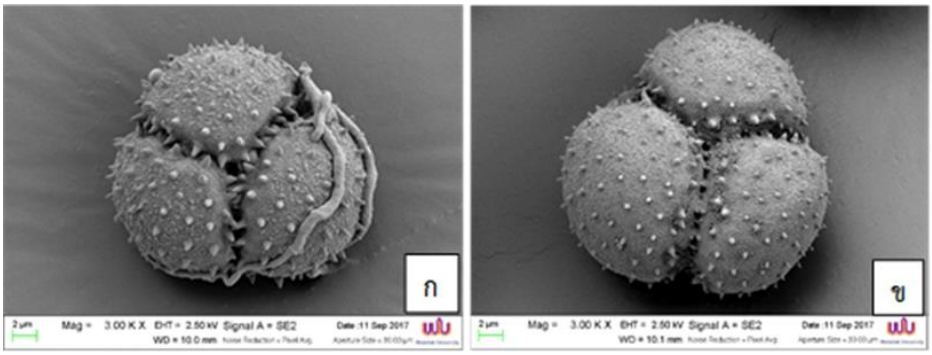
** คือ significant level ($p<0.01$), ns คือ Non-significant

ตารางผนวกที่ 8 ค่าเฉลี่ยความงอกของละอองเกสรพันธุ์ *N. thorelii* เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-31°C), 4°C, -20°C และ -80°C

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	อุณหภูมิที่เก็บรักษา				*P-value*
	28-31°C	4°C	-20°C	-80°C	
0	30.62±2.85	30.62±2.85	30.62±2.85	30.62±2.85	ns
3	11.96±4.53	17.56±5.3	22.98±6.83	30.10±5.16	ns
6	9.08±5.48	14.23±5.21	12.25±0.90	15.32±3.22	ns
9	0^{b}	$4.27±5.50^{ab}$	$10.33±7.05^{a}$	$8.53±3.27^{ab}$	ns
12	0^{b}	$3.75±8.70^{ab}$	$9.85±3.86^{a}$	$1.35±2.70^{b}$	*
15	0^{b}	0^{b}	$8.66±7.74^{a}$	0^{b}	*
18	0	0	0	0	-
21	0	0	0	0	-
30	0	0	0	0	-
60	0	0	0	0	-
90	0	0	0	0	-

±: SE (Standard Error)

* คือ significant level (p<0.05), ** คือ significant level (p<0.01), ns คือ Non-significan



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะของละอองเกสร *N. mirabilis* var. globosa ระยะเวลาเก็บรักษา 15 วัน ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)
ก: ละอองเกสรเก็บที่อุณหภูมิห้อง (28-31 องศาเซลเซียส)
ข: ละอองเกสรเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

พื้นที่เก็บตัวอย่างละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง

1. หม้อข้าวหม้อแกงลิงพันธุ์ *Nepenthes mirabilis* var. mirabilis

ภาพผนวกที่ 2 สภาพพื้นที่การเก็บตัวอย่างละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes mirabilis* var. mirabilis บริเวณพื้นที่อ่างเก็บน้ำเขาตอก อำเภอเคียนซา จังหวัดสุราษฎร์ธานี

2. หม้อข้าวหม้อแกงลิงพันธุ์ *Nepenthes mirabilis* var. globosa

ภาพผนวกที่ 3 สภาพพื้นที่การเก็บตัวอย่างละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes mirabilis* var. globosa บริเวณพื้นที่ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดตรัง

3. หม้อข้าวหม้อแกงลิงพันธุ์ *Nepenthes thorelii* (suratensis)

ภาพผนวกที่ 4 สภาพพื้นที่การเก็บตัวอย่างละอองหม้อข้าวหม้อแกงลิง *N. thorelii* บริเวณพื้นที่ของเรือนจำชั่วคราวทุ่งเขน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวอมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย
รหัสประจำตัวนักศึกษา 5840320110
วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตทางชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2557

ทุนการศึกษา

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2560 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย เยาวพรรณ สนธิกุล สรายุทธ อ่อนสนิท ธีร ศรีสวัสดิ์ และ สุรพล ฐิติธนากุล ศึกษาความมีชีวิต และความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง (Study of Pollen Viability and Germination in *Nepenthes* spp.) การประชุมวิชาการระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษา ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ม.อ. สุราษฎร์ธานี ณ ห้องประชุมเขาท่าเพชร ตึกสำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี อำเภอเมือง จังหวัด สุราษฎร์ธานี

อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย เยาวพรรณ สนธิกุล สรายุทธ อ่อนสนิท ธีร ศรีสวัสดิ์ และ สุรพล ฐิติธนากุล ศึกษาความมีชีวิต และความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง (Study of Pollen Viability and Germination in *Nepenthes* spp.) การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 16 (พืชสวนไทยก้าวหน้าด้วยพระบารมี) ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

การตีพิมพ์และเผยแพร่ผลงานวิจัย

อมรรัตน์ แก้วคุ้มภัย เยาวพรรณ สนธิกุล สรายุทธ อ่อนสนิท ธีร ศรีสวัสดิ์ และ สุรพล ฐิติธนากุล วิธีการที่เหมาะสมในการตรวจสอบความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรหม้อข้าวหม้อแกงลิง (Appropriate Methods for Pollen Viability Pollen and Germination Testing of *Nepenthes* sp.). วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 49:1: 225-229 (2018)