4. วิจารณ์

1. การขยายพันธุ์ *Anubias barteri* var. *nana* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.1 การเตรียมยอดที่ปลอดเชื้อ

จากผลการทดลองพบว่า ยอด *Anubias barteri* var. *nana* มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อค่อนข้างต่ำคือประมาณ 11 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าจะใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ ซึ่งถือว่าเป็นสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง ร่วมกับการใช้เอธิลแอลกอฮอล์และคลอรอกซ์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า พืชดังกล่าวเป็นพืชน้ำ จึงทำให้การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราต่าง ๆ เข้าไปในระบบของท่อลำเลียง อีกทั้งลักษณะที่มีลำต้นใต้ดินแบบเลื้อยไปตามพื้น ทำให้ส่วนของปลายยอดซึ่งเป็นชิ้นส่วนที่นำมาใช้ในการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในครั้งนี้มีโอกาสติดเชื้อต่าง ๆ ได้มากและง่าย ทำให้ยากต่อการกำจัดเชื้อดังกล่าวที่ติดมากับยอดพืช นอกจากนั้นยังเป็นพืชที่มีกาบหุ้มลำต้นจึงอาจฟอกฆ่าเชื้อได้ไม่หมด เมื่อเปรียบเทียบกับการฟอกฆ่าเชื้อต้นอ่อนอเมซอน (*Echinodorus argentinensis*) โดยอุไร (2544) พบว่า หลังจากเพาะเลี้ยง 30 วัน มีการปลอดเชื้อ 52.79 เปอร์เซ็นต์ และการศึกษาของ Kane และคณะ (1999) ที่ได้ใช้ส่วนของปลายยอด *Cryptocoryne wendtii* มาฟอกฆ่าเชื้อ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อถึง 62 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการที่พืชทั้งสองชนิดนี้มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงกว่าอาจเป็นเพราะว่าส่วนปลายยอดของพืชที่นำมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเป็นส่วนที่เจริญเหนือน้ำ การปนเปื้อนของเชื้อจึงไม่สูงมากนัก ดังนั้นปัจจัยหนึ่งซึ่งมีความสำคัญต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อคือชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ในการศึกษา ซึ่งยังมีการศึกษาที่เกี่ยวกับพรรณไม้น้ำที่ใช้ชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่มีโอกาสที่เชื้อจะปนเปื้อนติดมากับชิ้นส่วนพืชค่อนข้างต่ำ เช่น การศึกษาของ Kane และคณะ (1988a) ที่ได้ใช้ส่วนของยอดที่โผล่พ้นน้ำของ parrot – feather (*Myriophyllum aquaticum* (Velloso) Verdcourt), Kane และคณะ (1988b) ที่ได้เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ American Lotus โดยใช้ส่วนของผล และ Kane และคณะ (1990) ที่ได้ใช้ส่วนของยอดที่โผล่พ้นน้ำของ *Cryptocoryne lucens* ซึ่งแม้จะไม่ได้รายงานเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ แต่จะเห็นได้ว่าทุกการทดลองดังกล่าวเลือกใช้ชิ้นส่วนพืชที่มีโอกาสปนเปื้อนของเชื้อค่อนข้างต่ำ แต่เนื่องจาก *Anubias barteri* var. *nana* ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้เป็นพืชที่จมอยู่ใต้น้ำ (submerge) จึงทำให้ทุกชิ้นส่วนมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อค่อนข้างสูง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Jenks และ คณะ (2000) ที่ได้ใช้ส่วนของไหลที่มีข้อของ *Nymphoides indica* ซึ่งเป็นชิ้นส่วนพืชที่จมอยู่ใต้น้ำเช่นกัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเพียง 3 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้การปลอดการปนเปื้อนยังขึ้นกับวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ ซึ่งการที่จะเลือกใช้สารฟอกฆ่าเชื้อชนิด ความเข้มข้น และเวลาเท่าใดนั้นขึ้นกับชนิดของพืชเป็นสำคัญ ในการฟอกฆ่าเชื้อพืชบางชนิด อาจจำเป็นต้องใช้พวกยาปฏิชีวนะ (antibiotic) และสารกำจัดเชื้อรา (fungicide) ร่วมด้วย

มีรายงานการใช้สารพวกแอนตี้ออกซิแดนท์ เพื่อป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาล อันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่มีการปล่อยสารประกอบพวกฟีโนล (phenolic compound) ซึ่งจะมีผลต่อชิ้นส่วนพืช เช่น การทดลองของ Huang และคณะ (1994) ได้นำชิ้นส่วนพืช *Anubias barteri* var. *undulata* เก็บไว้ในสารละลายแอนตี้ออกซิแดนท์ ซึ่งประกอบด้วย SDDC 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ BA แล้วจึงนำมาฟอกฆ่าเชื้อ แล้วจุ่มในสารละลาย แอนตี้ออกซิแดนท์ อีกครั้งก่อนนำไปเพาะเลี้ยง เพื่อป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาลเมื่อชิ้นส่วนพืชเกิดบาดแผลและสัมผัสกับอากาศ แต่ในการทดลองของ *Anubias barteri* var. *nana* ไม่เกิดลักษณะที่เนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาล ดังกล่าวจึงไม่ได้ใช้สารแอนตี้ออกซิแดนท์

1.2 การศึกษาชนิดและระดับความเข้มข้นของไซโทไคนินที่เหมาะสมในการชักนำยอด

ในการหาชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโทไคนินที่เหมาะสมในการชักนำยอด *Anubias barteri* var. *nana* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ในการทดลองนี้เลือกใช้ไซโทไคนิน 4 ชนิด คือ BA, 2iP และ KN ที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจาก BA, 2iP , KN มีช่วงของความมีประสิทธิภาพ ใกล้เคียงกันจึงกำหนดระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 ระดับดังกล่าวให้เหมือนกัน ในขณะที่ TDZ มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง จึงใช้ TDZ ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า จากผลการทดลองจะเห็นว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่มีไซโทไคนินชนิดที่เหมาะสมในการชักนำยอดคือ 2iP โดยมีจำนวนยอดใกล้เคียงกับ BA แม้ว่า 2iP จะมีราคาแพงกว่า แต่เนื่องจากยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี 2iP จะมีลักษณะแข็งแรงกว่า แผ่นใบแผ่แบน และยอดที่ได้มีรากเกิดขึ้นด้วย ทำให้ลดขั้นตอนในการชักนำราก ประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย อย่างไรก็ตามอาจทดลองใช้ไซโทไคนินทั้งสองชนิดร่วมกัน เพื่อให้ได้ยอดที่มีลักษณะที่สมบูรณ์โดยใช้ 2iP ในปริมาณที่น้อย เพื่อลดต้นทุนการผลิต ส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ นั้น แม้จะมียอดรวมเกิดขึ้นจำนวนมาก แต่ยอดที่ได้จะมีลักษณะแผ่นใบแคบมาก ไม่สมบูรณ์ จึงไม่เหมาะในการชักนำยอด แต่อาจใช้ TDZ ร่วมกับไซโทไคนินชนิดอื่น เช่นการทดลองของ Huang และคณะ (1994) ซึ่งได้ขยายพันธุ์ *Anubias barteri* var. *undulata* ในหลอดแก้ว โดยวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร, TDZ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ปลายยอดจะเกิดแคลลัสสี

น้ำตาลแดง หลังจากนั้น 1 เดือน มีกลุ่มยอดเล็ก ๆ เกิดขึ้น เมื่อย้ายลงบนอาหารใหม่ กลุ่มของยอดก็จะเพิ่มขึ้น สามารถย้ายเลี้ยงได้ทุก 4 สัปดาห์ โดยตัดแยกกลุ่มยอดให้แต่ละกลุ่มมีประมาณ 10 ยอด หลังจากย้ายเลี้ยงได้ 7 เดือน อัตราการเกิดยอดจะเริ่มคงที่ คือยอดจะเพิ่มขึ้น 5เท่าทุกเดือน แต่โดยทั่วไปแล้วนิยมใช้ TDZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพวกไม้เนื้อแข็งมากกว่า ซึ่งการใช้ TDZ ร่วมกับไซโทไคนินชนิดอื่นมีประสิทธิภาพกว่าการใช้ TDZ ตามลำพัง (วันทนา, 2539)

2. ผลของรังสีแกมมาต่อปลายยอดของ *Anubias barteri* var. *nana*

จากผลการทดลองพบว่า ค่า GR_{50} ซึ่งเป็นค่าปริมาณรังสีที่ทำให้การเจริญเติบโตลดลงครึ่งหนึ่งเทียบกับชุดควบคุม มีค่าประมาณ 18 เกรย์ สิรนุช (2540) ได้แนะนำว่าปริมาณรังสีที่แนะนำให้ใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ คือปริมาณรังสีที่ทำให้ เกิดการตายกับต้นพืช 30 – 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{30} – LD_{50}) แต่เนื่องจากหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทุกระดับรังสีที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ไม่มีผลทำให้ยอดพืชตาย ดังนั้นจึงใช้ค่า GR_{30} - GR_{50} แทน ซึ่งจากผลการทดลอง มีค่าประมาณ 13.5 – 18 เกรย์

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Fereol และคณะ (1996) หลังจากฉายรังสีและเพาะเลี้ยงส่วนของต้น *Alpinia purpurata* เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เช่นกัน พบว่าสามารถหาค่า LD_{50} ซึ่งเป็นค่าที่พืชมีการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมได้ คือมีค่าที่ 30 เกรย์ อย่างไรก็ตามหากจะบันทึกจำนวนต้นที่ตายของ *Anubias barteri* var. *nana* เพื่อนำมาหาค่า LD_{50} อาจทำได้โดยกำหนดระยะเวลาในการเก็บข้อมูลให้นานขึ้น เพราะจากการสังเกตผลการทดลองจะเห็นได้ว่ายอดที่ได้รับรังสีที่ระดับ 36 และ 45 เกรย์ จะตายทั้งหมด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 18 สัปดาห์ และยอดที่ได้รับรังสีที่ระดับ 27 เกรย์ จะตายเป็นบางส่วน อย่างไรก็ตามสามารถใช้ค่า GR_{50} แทนได้ดังที่กล่าวมาแล้ว

เมื่อพิจารณาค่าน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นของยอดที่ได้รับรังสีที่ระดับต่าง ๆ พบว่า ยอดที่ได้รับรังสีที่ระดับ 9 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มของน้ำหนักสดมากกว่าชุดควบคุม ซึ่งมีรายงานการวิจัยในพืชบางชนิดที่แสดงว่า ปริมาณรังสีที่ระดับต่ำ ๆ มีผลส่งเสริมการเติบโตของพืช เช่น การศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการสร้างยอดรวมจากเมล็ดข้าวหอม (*Oryza sativa* L.) ของประภา (2534) พบว่า จำนวนเมล็ดที่สร้างยอดรวมและจำนวนยอดรวมต่อเมล็ดเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น จนถึงปริมาณรังสีที่ระดับ 28 กิโลแรด (280 เกรย์) จึงทำให้จำนวนเมล็ดที่สร้างยอดรวมและจำนวนยอดรวมต่อเมล็ดลดลง

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานบางประการของยอดที่ได้รับรังสีแกมมา พบว่าทุกระดับรังสีมีผลต่อสัณฐานของยอดที่ได้รับรังสี คือยอดที่ได้รับรังสีที่ระดับ 4.5, 9 และ 18 เกรย์ ทุกหน่วยการ

ทดลองในรุ่นที่ 1 มีลักษณะใบด่างแบบต่าง ๆ เกิดขึ้น ซึ่งลักษณะดังกล่าวไม่คงที่คือ เมื่อตัดแยกและย้ายเลี้ยงพบว่า ใบที่เกิดขึ้นใหม่ไม่มีลักษณะใบด่างอีก นอกจากนี้บางหน่วยการทดลองในรุ่นที่ 2 (หลังจากตัดแยก และย้ายเลี้ยงครั้งที่ 1) มีลักษณะใบสองแฉก, ลักษณะที่เส้นกลางใบนูนขึ้นมาและใบสองใบมีก้านใบร่วมกัน เกิดขึ้น ซึ่งในการทดลองของ วิทยา และ สมปอง (2541) พบว่ามีลักษณะใบแฉกเกิดขึ้นเช่นกันจากยอดที่ได้จากแคลลัสจากส่วนของใบมังคุดที่ได้รับรังสีแกมมาในรุ่นที่ 1

ส่วนยอดที่ได้รับรังสีแกมมาที่ระดับ 27, 36 และ 45 เกรย์ มีลักษณะแคระแกร็นในทุกหน่วยการทดลอง และส่งผลในทางลบต่อการเจริญเติบโตของยอด เมื่อเลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 18 สัปดาห์ที่ระดับรังสี 36 และ 45 เกรย์ ส่งผลให้ยอดตายได้ ทั้งนี้เป็นเพราะว่าระดับรังสีดังกล่าวสูงเกินไป