การทดสอบการขยายพันธุ์หน้าวัวพันธุ์ลูกผสมใหม่ในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB

ประภาพร ฉันทานุมัติ[1]

ยุพิน กสินเกษมพงษ์[2] และสุเมธ อ่องเภา[3]

บทคัดย่อ

หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกเขตร้อนซึ่งต้องมีการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ตลอดเวลาเพื่อให้ทันต่อความต้องการของตลาด การขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนมากเมื่อได้พันธุ์ใหม่เป็นสิ่งจำเป็น จึงมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวด้วยระบบ Temporary Immersion Bioreactor (TIB) กับหน้าวัวสายพันธุ์ใหม่ โดยศึกษาหน้าวัวสายพันธุ์ HC028 HC034 HC049 HC084 และ HC132 ซึ่งเป็นหน้าวัวที่จะทำการเสนอเป็นพันธุ์แนะนำของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB แบบใช้ปั๊มอากาศขวดแก้วเป็นภาชนะใส่ชิ้นส่วนพืช พบว่าหน้าวัวทุกสายพันธุ์สามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ได้ สายพันธุ์ HC084 สามารถเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารเหลวเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ 18.3 เท่า ในเวลา 12 สัปดาห์ ในการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มหน้าวัวลูกผสมพันธุ์ใหม่ทุกสายพันธุ์สามารถเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มให้เป็นต้นอ่อนได้ สายพันธุ์ HC084 มีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักรวมในการทดลองที่เริ่มต้นด้วยต้นขนาดเล็ก 28 เท่าและ 8.9 เท่า ในต้นขนาดใหญ่ ส่วนสายพันธุ์ HC132 มีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักรวม 2.8 เท่าในต้นขนาดใหญ่ และ 4.7 เท่า ในต้นขนาดเล็ก สายพันธุ์ HC028 และ HC049 มีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักรวมที่เริ่มต้นด้วยต้นขนาดเล็ก 2.8 และ 2.6 เท่าตามลำดับ และส่วนในต้นขนาดใหญ่มีอัตราการเพิ่มขึ้น 1.8 และ 1 เท่า ตามลำดับ สรุปว่าหน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ทั้ง 5 สายพันธุ์สามารถเพาะเลี้ยงจากโปรโตคอร์มเป็นต้นอ่อนในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB โดยมีการเพิ่มขึ้นทั้ง น้ำหนักเก็บเกี่ยวรวม จำนวนต้น และน้ำหนักต่อต้น

---

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร สถาบันวิจัยพืชสวน

[2]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

[3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

คำนำ

หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกเมืองร้อนที่ได้รับความนิยมและมีบทบาททางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้น ประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมในการผลิตหน้าวัวตัดดอกและหน้าวัวกระถาง ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกตามภาคต่างๆ ประมาณ 150 ไร่ ได้แก่ กรุงเทพฯ นนทบุรี ปทุมธานี นครปฐม สมุทรสาคร สมุทรสงคราม นครราชสีมา เลย ฉะเชิงเทรา ลำปาง เชียงใหม่ เชียงราย กำแพงเพชร ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา ตรัง กระบี่ และ พังงา ผลผลิตทั่วประเทศประมาณ 4,800,000 ดอกต่อปีส่วนใหญ่ใช้ในประเทศ และเริ่มส่งออกมากขึ้นในช่วง10 ปีที่ผ่านมามีการส่งออกทั้งต้นพันธุ์และไม้ตัดดอกโดยในปี 2554 และ 2555 มีมูลค่า 2.2 ล้านบาท และ 3.7 ล้านบาทตามลำดับ ทั้งนี้ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์และบูรไนมีการนำเข้าต้นพันธุ์จากไทย ส่วน ออสเตรเลีย รัสเซียและอเมริกา นำเข้าในรูปตัดดอก

เนื่องจากมีศักยภาพในการส่งออกมีแนวโน้มว่าเพิ่มสูงขึ้น ปัจจุบันจึงมีการขยายพื้นที่ปลูกมากขึ้น แต่เทคโนโลยีในการผลิต ผสมพันธุ์ ขยายพันธุ์ยังมีน้อย ต้นพันธุ์และความหลากหลายของสายพันธุ์มีไม่เพียงพอ จึงมีการนำเข้าต้นพันธุ์หน้าวัวลูกผสมจากประเทศเนเธอร์แลนด์ จีนและเวียดนาม ปี 2555 มูลค่ากว่า 3.1 ล้านบาท ในการนำเข้าพันธุ์หน้าวัว นอกจากราคาแพงแล้ว พบว่าปนเปื้อนและอ่อนแอต่อโรคใบแห้ง โรคใบไหม้ และ โรคไวรัส จากปัญหาดังกล่าวการจะส่งเสริมให้มีการปลูกเลี้ยงหน้าวัว โดยการนำเข้าพันธุ์จากต่างประเทศแม้เป็นทางเลือกหนึ่งแต่สามารถทำได้เฉพาะผู้ปลูกเลี้ยงมีเงินลงทุนสูง การจะพัฒนาการปลูกเลี้ยงหน้าวัวสำหรับเกษตรกรโดยทั่วไปนั้นจำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้หน้าวัวพันธุ์ใหม่ ซึ่ง เมื่อปรับปรุงพันธุ์ใหม่ได้แล้ว การผลิตต้นพันธุ์ให้ได้เพียงพอ ไม่กลายพันธุ์และมีความแข็งแรง จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัย ในการทดลองนี้ จะได้นำเอาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบ Temporary Immersion Bioreactor (TIB) มาใช้ในการผลิตต้นพันธุ์หน้าวัวสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งข้อดีของวิธีการนี้คือ ลดเวลา ขั้นตอน แรงงาน และต้นทุนต่อหน่วยลง

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง รับผิดชอบในการปรับปรุงพันธุ์หน้าวัวสายพันธุ์ใหม่ๆเพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดและผลิตต้นอ่อนหน้าวัวลูกผสมพันธุ์ต่างๆให้แก่เกษตรกร โดยในขณะนี้ ศวพ. ลำปางได้ปรับปรุงพันธุ์หน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อนำเสนอเป็นพันธุ์แนะนำ และกระจายสู่เกษตรกรต่อไป หน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ จำนวน 4 สายพันธุ์ที่กำลังดำเนินการนำเสนอเป็นพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตรคือ สายพันธุ์ HC028 HC034 HC049 และHC084 ส่วนสายพันธุ์ HC084 เป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาและนำเสนอเป็นสายพันธุ์แนะนำต่อไป โดยการทดลองนี้ดำเนินการทดลองในหน้าวัวลูกผสม จำนวน 5 สายพันธุ์ดังกล่าวมาทดสอบเพาะเลี้ยงในระบบ Temporary Immersion Bioreactor (TIB) เพื่อศึกษาถึงการตอบสนองของต้นอ่อน ขนาดต่างกัน ต่อลักษณะและอัตราการเจริญเติบโต ของหน้าวัวแต่ละสายพันธุ์ที่มีต่อระบบเพาะเลี้ยงแบบจมชั่วคราว เพื่อสนับสนุน

การผลิตหน้าวัวลูกผสมพันธุ์แนะนำใหม่ๆ ให้มีต้นพันธุ์หน้าวัวพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตรกระจายสู่เกษตรกรอย่างเพียงพอและทั่วถึง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. โปรโตคอร์มหน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง สายพันธุ์ต่างๆดังนี้ HC028 HC034 HC049 HC084 และ HC132 ที่ทางศวพ.ลำปาง เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง สำหรับสายพันธุ์ HC084 ได้รับระยะแคลลัสในอาหารกึ่งแข็งด้วย
2. ระบบ Temporary Immersion Bioreactor (TIB) แบบใช้ปั๊มอากาศขวดแก้วบรรจุต้นพืช ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขวดบรรจุต้นพืช 15 เซนติเมตร และขวดบรรจุอาหารบรรจุสูงสุด 2 ลิตร
3. ระบบปั๊มอากาศอัตโนมัติ
4. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำแรงดันสูง (Autoclave)
5. ตู้เปลี่ยนถ่ายเนื้อเยื่อ (Laminar Flow)
6. วัสดุและอุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น แอลกอฮอล์ 75 % ปากคีบ ตู้ฆ่าเชื้ออุปกรณ์ สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเหลว เป็นต้น

วิธีการ

1. รับโปรโตคอร์มหน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ จากศวพ. ลำปาง สายพันธุ์ต่างๆดังนี้ HC028 HC034 HC049 HC084 และ HC132 เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง สำหรับสายพันธุ์ HC084 ได้รับระยะแคลลัสด้วย นำขวดต้นหน้าวัวทั้งหมด มาเพาะเลี้ยงในห้องเลี้ยงที่ ศวส. ชุมพร อย่างน้อย 4 สัปดาห์เพื่อตรวจเช็คการปนเปื้อนเชื้อ
2. เตรียมระบบ TIB และอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงหน้าวัวโดยใช้อาหารสูตร kio.5 (ภาคผนวก) สำหรับหน้าวัว จำนวน 1 ลิตรต่อ 1 ระบบ TIB ต่อขวดบรรจุอาหารและขวดบรรจุชิ้นส่วนพืช เข้าด้วยกัน นำระบบ TIB ไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำแรงดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 25 นาที จากนั้นทดสอบการปนเปื้อนเชื้อของระบบ TIB ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ 2 สัปดาห์
3. ตัดแต่งชิ้นส่วนหน้าวัวโดยการตัดแต่งให้แต่ละต้นกล้ามีจำนวนหนึ่งข้อและหนึ่งใบ ขนาดไม่เกิน หนึ่งเซนติเมตร
4. ทำการทดลองโดยการนำชิ้นส่วนหน้าวัว สายพันธุ์ต่างๆ ที่ต้องการทดสอบ บรรจุลงในขวดบรรจุชิ้นส่วนพืช โดยปฏิบัติในตู้เปลี่ยนถ่ายเนื้อเยื่อ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อ

5. เพาะเลี้ยงหน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารเหลว ให้อาหารครั้งละ 1 นาที ทุก 12 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเหลวทุก 4 สัปดาห์ สำหรับปริมาณอาหารเหลวที่ให้ ให้สังเกตจากปริมาณชิ้นส่วนพืช โดยเตรียมอาหารเหลวให้เพียงพอต่อชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยง

ระยะเวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองช่วงเดือน ตุลาคม 2553 ถึง ธันวาคม 2555 ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร สถาบันวิจัยพืชสวน

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

สายพันธุ์ HC084

จากการทดลองเพาะเลี้ยงแคลลัสและโปรโตคอร์ม 3 ระยะ คือ (1) ระยะที่ยังเป็นแคลลัสแต่เริ่มมีใบเล็กเกิดขึ้น (ภาพที่ 1ก) (2) ระยะที่เป็นโปรโตคอร์มและมีใบเกิดขึ้น (ภาพที่ 1ข) และ (3) ระยะที่เป็นต้นแล้ว (ภาพที่ 1ค) ในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ระยะ (1)แคลลัสที่เริ่มมีใบเล็กๆเกิดขึ้น มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่มีใบเล็กๆ และบางส่วนกลายเป็นโปรโตคอร์มเล็กๆ มีอัตราการเจริญเติบโต 18.5 เท่า จากน้ำหนักเริ่มต้น อย่างไรก็ตามถึงแม้แคลลัสบางส่วนสามารถพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มขนาดเล็กๆได้ แต่ก็ยังไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นใหญ่ได้ แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ทำให้ไม่สามารถนำแคลลัสและโปรโตคอร์มเล็กๆทั้งหมดไปอนุบาลในเรือนเพาะชำได้ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1ก) สำหรับระยะ (2) ระยะที่เป็นโปรโตคอร์มและมีใบเกิดขึ้นนั้น อัตราการเจริญเติบโตน้อยกว่าระยะ (1) โดยอัตราการเจริญอยู่ที่ 4.9 เท่า และโปรโตคอร์มเล็กๆ สามารถเจริญขึ้นเป็นต้นกล้าและนำไปอนุบาลในเรือนเพาะชำได้ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1ข) ส่วนการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มระยะ (3) นั้น ต้นกล้ามีอัตราการเจริญเติบโตน้อยกว่าสองระยะโดยมีอัตราการเจริญเติบโตเพียง 2.2 เท่า ต้นกล้ามีจำนวนใบมากขึ้น ใบมีขนาดใหญ่ขึ้น และต้นกล้าทั้งหมดสามารถนำไปอนุบาลในเรือนเพาะชำได้ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1ค)

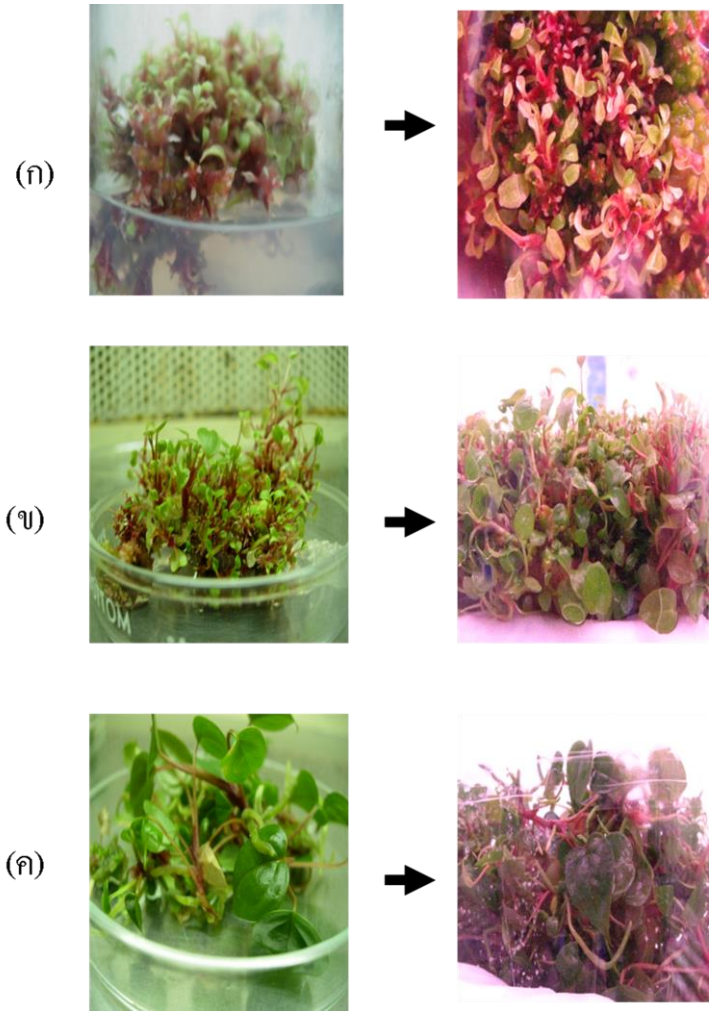
ตารางที่ 1 น้ำหนักของต้นกล้าหน้าวัวพันธุ์ HC084 ขนาดต่างๆที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 12 สัปดาห์

ระยะการเจริญ	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักเก็บเกี่ยว (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโต (เท่า)
ระยะที่ยังเป็นแคลลัสแต่เริ่มมีใบเล็กเกิดขึ้น	28	519.6	18.3
ระยะที่เป็นโปรโตคอร์มและมีใบเกิดขึ้น	25.6	125.6	4.9
ระยะที่เป็นต้นแล้ว	14.4	31.73	2.2

จากการเก็บเกี่ยวแคลลัสระยะ (1) ซึ่งบางส่วนพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มขนาดเล็ก แต่ยังไม่สามารถนำไปอนุบาลในเรือนเพาะชำได้ นำโปรโตคอร์มเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เพื่อให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นอ่อน จากนั้นทำการคัดเลือกต้นอ่อนขนาดต่างๆ ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 16 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักต้นรวม จำนวนต้น และน้ำหนักต่อต้น เพิ่มขึ้นในทุกขนาดต้น (ตารางที่ 2) ในส่วนของจำนวนต้นที่เพิ่มขึ้นนั้น ต้นขนาดกลาง ให้จำนวนต้นเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนต้นเริ่มต้นเพิ่มมากที่สุดคือ 7.8 เท่า รองลงมาคือต้นขนาดเล็ก 6.7 เท่า และต้นขนาดใหญ่ 2.3 เท่ามีจำนวนต้นเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด สอดคล้องกับ Viegas *et. al*. (2007) ที่พบว่าอัตราการเพิ่มขึ้นของต้นอ่อนหน้าวัวที่เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง ในเวลา 70 วันมีการเพิ่มขึ้นของต้นอ่อนสูงสุด 8 .6 เท่า ในอาหารที่เติม BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับขนาดของต้น (ใช้การชั่งน้ำหนักต่อต้น) ต้นขนาดเล็กมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักต่อต้นมากที่สุดคือ 2.6 เท่าของน้ำหนักต่อต้นเริ่มต้น ซึ่งอาจจะมีสาเหตุจากต้นขนาดเล็กเซลยังสามารถพัฒนาได้มากแล้วรวดเร็วทำให้มีเจริญของเนื้อเยื่อต่างๆอย่างรวดเร็ว

ตารางที่ 2 ต้นกล้าขนาดต่างๆของหน้าวัวสายพันธุ์ HC 084 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 16 สัปดาห์

ขนาดต้น	น้ำหนัก (กรัม)			จำนวน (ต้น)			น้ำหนักต่อต้น (กรัม)		
	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)
ขนาดเล็ก	10	290	28	1,120	8,700	6.7	0.009	0.033	2.6
ขนาดกลาง	15	265	16	510	4,505	7.8	0.029	0.058	1
ขนาดใหญ่	12	119	8.9	180	595	2.3	0.083	0.2	1.4



ภาพที่ 1 แคลลัสและโปรโตคอร์มหน้าววัพันธุ์ HC084 ระยะต่างๆ เมื่อเริ่มเพาะเลี้ยง (แถวซ้าย) และเก็บเกี่ยวจากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 12 สัปดาห์ (แถวขวา)

ภาพที่ 2 ต้นกล้าของหน้าววัสายพันธุ์ HC 084 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB

นาน 16 สัปดาห์โดยเริ่มต้นเพาะเลี้ยงด้วยขนาดต้นต่างกัน

สายพันธุ์ HC028

สำหรับต้นกล้าสายพันธุ์นี้เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB พบว่า ต้นกล้านาน 10 สัปดาห์มีการเพิ่มน้ำหนักมากกว่า ต้นกล้าเพาะเลี้ยงนาน 16 สัปดาห์ เนื่องมาจากในช่วงแรกต้นกล้าสายพันธ์นี้ บริเวณข้อ มีการสร้างแคลลัสเป็นจำนวนมาก เมื่อเพาะเลี้ยงนานขึ้น แคลลัสเหล่านั้น สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนใหม่ได้ ซึ่งสอดคล้องกับน้ำหนักต่อต้นเมื่อเก็บเกี่ยว คือเมื่อเลี้ยงต้นกล้านานขึ้นน้ำหนักต่อต้นสูงขึ้น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC028 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลาเพาะเลี้ยง (สัปดาห์)	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	
	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักต่อต้น (กรัม)
10	10.6	84.1	0.45
16	9.4	42	0.6

ขนาดต้นกล้าต่อการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นั้น พบว่าต้นขนาดเล็กมีอัตราการเพิ่มน้ำหนักรวมและน้ำหนักต่อต้นมากกว่าต้นขนาดใหญ่ โดยมีการเพิ่มขึ้น 2.8 และ3.1 เท่า สำหรับน้ำหนักรวมและน้ำหนักต่อต้นตามลำดับ ส่วนการเพิ่มจำนวนต้นนั้นต้นขนาดใหญ่มีการเพิ่มของจำนวนต้นมากกว่า เนื่องจากต้นขนาดใหญ่เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวนั้นตรงข้อมีการแตกหน่อเพิ่มจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของน้ำหนักต่อต้นของต้นขนาดใหญ่ที่น้ำหนักต่อต้นลดลง (ตารางที่ 4, ภาพที่ 3) จากการสังเกตต้นกล้าที่เก็บเกี่ยวได้ พบว่า ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์นี้มีการสร้างไหลและมีต้นกล้าขนาดเล็กมากติดอยู่ตามไหลเหล่านั้นจำนวนมาก (ภาพที่ 3) ดังนั้นถ้าต้องการเพิ่มการขยายพันธุ์หน้าวัวสายพันธุ์นี้จำนวนมาก การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวรอบต่อไปควรเริ่มจากการตัดข้อของไหลเหล่านี้เพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้มากขึ้นได้

ตารางที่ 4 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC028 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วย ระบบ TIB ด้วยขนาดต้นต่างกัน นาน 12 สัปดาห์

ขนาดต้นเริ่มต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)			จำนวน (ต้น)			น้ำหนักต่อต้น (กรัม)		
	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)
ขนาดเล็ก	14.2	54.8	2.8	222	274	0.3	0.06	0.2	3.1
ขนาดใหญ่	19.2	54.1	1.8	30	108	2.7	0.6	0.5	0

ภาพที่ 3 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC028 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 12 สัปดาห์ เริ่มต้นเพะเลี้ยงที่ขนาดต้นต่างกัน

สายพันธุ์ HC049

สำหรับสายพันธุ์ HC049 นั้น เมื่อเลี้ยงต้นกล้าแบบคละขนาดต้นในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 10 สัปดาห์ พบว่าอัตราเพิ่มของน้ำหนักรวม 3.1 เท่าจากช่วงเริ่มต้นและเมื่อเก็บเกี่ยวน้ำหนักต่อต้นอยู่ที่ 1.4 กรัม โดยได้จำนวนต้นเพียง 24 ต้น (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธ์ HC049 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 10 สัปดาห์แบบคละขนาดต้นเริ่มต้น

น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักเก็บเกี่ยว (กรัม)	อัตราเพิ่ม (เท่า)	น้ำหนักเก็บเกี่ยวต่อต้น (กรัม)
8.3	34.6	3.1	1.4

เมื่อเพาะเลี้ยงแบบแยกขนาดต้นเริ่มต้นและเพาะเลี้ยงนานขึ้นเป็น 12 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเพิ่มขึ้นของหน้าวัวสายพันธุ์นี้ค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะจำนวนต้นที่เพิ่มขึ้น มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนต้นน้อยมากโดยเฉพาะต้นขนาดเล็ก จำนวนต้นลดลง ในขณะที่ต้นขนาดใหญ่ อาจจะมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น แต่อัตราการเพิ่มของจำนวนต้นก็ถือว่าน้อย สอดคล้องกับการขยายพันธุ์หน้าวัวสายพันธุ์นี้ด้วยอาหารกึ่งแข็ง ที่ ศวพ. ลำปาง พบว่า การขยายพันธุ์ของหน้าวัวสายพันธุ์นี้นั้นทำได้น้อย เนื่องจากหน้าวัวสายพันธ์นี้ ไม่แตกหน่อ (จากการติดต่อส่วนบุคคล) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนต้นที่เพิ่มกับน้ำหนักต่อต้นเมื่อเก็บเกี่ยวนั้น พบว่าต้นขนาดเล็กแม้ว่าจะมีการลดลงของจำนวนต้น แต่น้ำหนักต่อต้นเพิ่มขึ้น แสดงว่าต้นขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้ดีแต่ต้นขนาดนี้ไม่แตกหน่อ ในขณะที่ต้นขนาดใหญ่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนต้น แต่น้ำหนักต่อต้นลดลง แสดงว่าถ้าเพาะเลี้ยงต้นขนาดใหญ่ ต้นจะมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นขนาดเล็ก (ตารางที่ 6, ภาพที่ 4)

ตารางที่ 6 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC049 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วย ระบบ TIB ด้วยขนาดต้นต่างกัน นาน 12 สัปดาห์

ขนาดต้นเริ่มต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)			จำนวน (ต้น)			น้ำหนักต่อต้น (กรัม)		
	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)
ขนาดเล็ก	16.3	59.7	2.6	243	239	0	0.067	0.25	2.7
ขนาดใหญ่	20.6	41.5	1	94	125	0.3	0.23	0.33	0.4

ภาพที่ 4 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC049 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 12 สัปดาห์ เริ่มต้นเพาะเลี้ยงที่ขนาดต้นต่างกัน

สายพันธุ์ HC132

สำหรับหน้าวัวสายพันธ์ HC132 นั้น การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ด้วยขนาดต้นเริ่มต้นที่แตกตกต่างกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าต้นขนาดเล็กมีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักทั้งน้ำหนักรวมและน้ำหนักต่อต้นมากกว่าต้นขนาดใหญ่ โดยต้นขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้ทันต้นขนาดใหญ่ เนื่องจากน้ำหนักต่อต้นเมื่อเก็บเกี่ยวของต้นทั้งสองขนาดมีความใกล้เคียงกันมาก (ตารางที่ 7, ภาพที่ 5) ดังนั้นสำหรับหน้าวัวสายพันธุ์นี้นั้น ขนาดต้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB คือ ต้นขนาดเล็ก

ตารางที่ 7 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC132 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วย ระบบ TIB ด้วยขนาดต้นต่างกัน นาน 12 สัปดาห์

ขนาดต้นเริ่มต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)			จำนวนเก็บเกี่ยว (ต้น)	น้ำหนักเก็บเกี่ยวต่อต้น (กรัม)
	เริ่มต้น	เก็บเกี่ยว	อัตราเพิ่ม (เท่า)		
ขนาดเล็ก	8.3	47.5	4.7	169	0.28
ขนาดใหญ่	7	26.8	2.8	92	0.29

ภาพที่ 5 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC0132 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวด้วย ระบบ TIB นาน 12 สัปดาห์

สายพันธุ์ HC034

สำหรับต้นอ่อนหน้าวัวสายพันธุ์นี้ ต้นกล้าที่ได้รับ มีการปนเปื้อนเชื้อจำนวนมากทำให้มีต้นเริ่มต้นน้อย สามารถเพาะเลี้ยงได้แบบคละขนาด พบว่าต้นกล้ามีอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักรวมถึง 2.6 เท่า และขนาดต้นเมื่อเก็บเกี่ยวสามารถนำไปอนุบาลในเรือนเพาะชำได้ เนื่องจากต้นมีน้ำหนักถึง 0.5 กรัม (ตารางที่ 8, ภาพที่ 6) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์นี้ สามารถผลิตต้นกล้าได้ 79 ต้นในเวลา 10 สัปดาห์

ตารางที่ 8 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธ์ HC034 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 10 สัปดาห์แบบคละขนาดต้นเริ่มต้น

น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักเก็บเกี่ยว (กรัม)	อัตราเพิ่ม (เท่า)	น้ำหนักเก็บเกี่ยวต่อต้น (กรัม)
10.8	39.8	2.6	0.5

ภาพที่ 6 ต้นกล้าหน้าวัวสายพันธุ์ HC034 จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB นาน 10 สัปดาห์

สรุปผลการทดลอง

ในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB สามารถลดเวลาการเพาะเลี้ยงลงได้ ซึ่งโดยปกติการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มในอาหารแข็งใช้เวลา 19 – 21 สัปดาห์ (Islam, 2010) แต่การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB สามารถลดเวลาการเพาะเลี้ยงลง เหลือ 10 – 12 สัปดาห์

สายพันธุ์ HC084 สามารถเพาะเลี้ยงได้ตั้งแต่ระยะแคลลัสจนถึงโปรโตคอร์ม โดยถ้าเพาะเลี้ยงระยะแคลลัสจะเป็นการเพิ่มปริมาณแคลลัสอย่างรวดเร็ว ซึ่งขั้นตอนนี้สามารถการนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสให้ได้ในปริมาณมากๆ เพราะการเพาะเลี้ยงแคลลัสด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ถึง 18 เท่า แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเพื่อให้แคลลัสพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม ส่วนในระยะโปรโตคอร์ม เพาะเลี้ยงนาน 16 สัปดาห์โดยโปรโตคอร์มมีอัตราการเจริญเป็นต้นอ่อน จากต้นขนาดเล็ก อัตราการเจริญ 28 เท่า ขนาดกลาง 16 เท่าและขนาดเล็ก 8.9 เท่า

สายพันธุ์ HC028 สามารถเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB โดยเพาะเลี้ยงจากระยะโปรโตคอร์มเป็นต้นอ่อน นาน 12 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม จากต้นขนาดเล็ก 2.8 เท่า และต้นขนาดใหญ่ 1.8 เท่า

สายพันธุ์ HC049 สามารถเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB โดยเพาะเลี้ยงจากระยะโปรโตคอร์มเป็นต้นอ่อน นาน 12 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม จากต้นขนาดเล็ก 2.6 เท่า และต้นขนาดใหญ่ 1 เท่า

สายพันธุ์ HC132 สามารถเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB โดยเพาะเลี้ยงจากระยะโปรโตคอร์มเป็นต้นอ่อน นาน 12 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม จากต้นขนาดเล็ก 4.7 เท่า และต้นขนาดใหญ่ 2.8 เท่า

สายพันธุ์ HC034 สามารถเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB โดยเพาะเลี้ยงจากระยะโปรโตคอร์มเป็นต้นอ่อน นาน 10 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม 2.6 เท่า

สำหรับการนำต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ออกอนุบาลในเรือนเพาะชำนั้น จากการติดต่อส่วนตัวกับ ศวพ.ลำปาง พบว่าการอนุบาลมีอัตราการรอดตายสูงไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็ง โดยการอนุบาลในเรือนเพาะชำสำหรับต้นกล้าจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็ง สูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการกลายพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ขณะนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ เนื่องจากต้นกล้ายังไม่ออกดอก

คำแนะนำและการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากการทดลองนี้สามารถนำเอาการเพาะเลี้ยงหน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ไปใช้ในการผลิตพันธุ์หน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ที่นำเสนอเป็นพันธุ์แนะนำกรมวิชาการเกษตร โดยสรุปคำแนะนำอย่างคร่าวๆ ดังนี้

สายพันธุ์ HC084 น้ำหนักรวมเริ่มต้นที่ประมาณ 15 กรัม ต่ออาหารเหลวสูตร kio.5 1 ลิตร โดยขนาดต้นอ่อนที่ใช้เริ่มต้นที่ประมาณ 0.03 กรัม ให้อาหารครั้งละ 1 นาที วันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงนาน 16 สัปดาห์

สายพันธุ์ HC028 และสายพันธุ์ HC049 น้ำหนักรวมเริ่มต้นที่ประมาณ 15 กรัม ต่ออาหารเหลวสูตร kio.5 1 ลิตร โดยขนาดต้นอ่อนที่ใช้เริ่มต้นที่ประมาณ 0.06 กรัม ให้อาหารครั้งละ 1 นาที วันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

สายพันธุ์ HC132 น้ำหนักรวมเริ่มต้นที่ประมาณ 10 กรัม ต่ออาหารเหลวสูตร kio.5 1 ลิตร โดยขนาดต้นอ่อนที่ใช้เริ่มต้นที่ประมาณ 0.06 กรัม ให้อาหารครั้งละ 1 นาที วันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

สายพันธุ์ HC034 น้ำหนักรวมเริ่มต้นที่ประมาณ 10 กรัม ต่ออาหารเหลวสูตร kio.5 1 ลิตร ให้อาหารครั้งละ 1 นาที วันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

เอกสารอ้างอิง

ประภาพร ฉันทานุมัติและยุพิน กสินเกษมพงษ์. 2551. การผลิตกล้ากาแฟโรบัสต้าจากวิธี Somatic Embryogenesis ในระบบ Temporary Immersion Bioreactor. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 7 พฤษภาคม 2551.

พิสมัย ชวลิตวงษ์พร. 2543. หน้าวัว ในเอกสารวิชาการที่ 24 ไม้ตัดดอกเศรษฐกิจและการปรับปรุงพันธุ์ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. หน้า 43 – 46.

วิวัฒน์ ภาณุอำไพ, นาตยา ดำอำไพ, ชัชชัย สุนทรสวัสดิ์, และสมาน ภักดี. 2540. การผสมพันธุ์

และคัดเลือกพันธุ์หน้าวัว ในรายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติครั้งที่ 3 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ หน้า 109 – 117

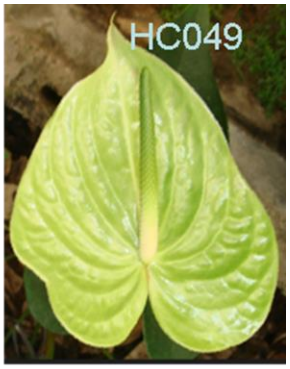
Ducos, JP., C. Lambot, and V. Petiard. 2007. Bioreactor for Coffee Mass Propagation by Somatic Embryogenesis. International Journal of Plant Developmental Biology. 1(1). pp.1 -12.

Islam, S.A., Dewan, M.M.R., Mukul, M.H.R., Hossen, M.A. and, F. Khatun. 2010. In Vitro Regeneration of *Anthurium andraeanum* (Linden ex Andre) cv. NITTA. Bangladesh J. Agril. Res. 35(2) : 217 - 226

Viegas, J., M. T. R. Rocha, I. Ferreira-Moura, D. L Rosa, J. A. Souza, M. G. S. Correa and J. A. T. Silva., 2007. *Anthurium andraeanum* (Linden ex Andre) Culture: *In Vitro* and *Ex vitro*. Floriculture and Ornamental Biotechnology 1(1), 61 – 65.

ภาคผนวก

1. ลักษณะและสีดอกหน้าวัวลูกผสมสายพันธุ์ใหม่จำนวน 5 สายพันธุ์ที่จะเสนอเป็นพันธุ์แนะนำ ของกรมวิชาการเกษตร ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์โดย ศวพ.ลำปาง



2. อาหารเหลวสูตร kio.5 ปริมาณต่อลิตร

สารเคมี	ปริมาณ	หน่วย
NH_4NO_3	1.65	กรัม
KNO_32H_2O	1.9	กรัม
$CaCl_22H_2O$	0.44	กรัม
$MgSO_47H_2O$	0.37	กรัม
KH_2PO_4	0.17	กรัม
H_3BO_3	6.2	มิลลิกรัม
$CoCl_26H_2O$	0.025	มิลลิกรัม
$Na_2MoO_42H_2O$	0.025	มิลลิกรัม
KI	0.83	มิลลิกรัม
$ZnSO_47H_2O$	0.86	มิลลิกรัม
$MnSO_47H_2O$	0.69	มิลลิกรัม
$CuSO_45H_2O$	0.025	มิลลิกรัม
Na_2EDTA	37.3	มิลลิกรัม
$FeSO_47H_2O$	27.8	มิลลิกรัม
Glycine	2	มิลลิกรัม
Nicotinic acid	0.5	มิลลิกรัม
Pyridoxine	0.5	มิลลิกรัม
Thiamine	0.1	มิลลิกรัม
Myo-inositol	100	มิลลิกรัม
BAP	0.5	มิลลิกรัม
น้ำตาล	30	กรัม
pH	5.7	