รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2563

---

1. **แผนงานวิจัย** : การคุ้มครองและบริหารจัดการทรัพยากรพันธุกรรมพืช ตามกรอบกฎหมายภายในและระหว่างประเทศ
2. **ชุดโครงการวิจัย :**
3. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการควบคุมการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดพืชอนุรักษ์และพืชที่ใกล้สูญพันธุ์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

   กิจกรรม : วิจัยเพื่อหาแนวทางการอยู่รอดและดำรงชีพในนิเวศวิทยาของพืชอนุรักษ์ และพืชที่ใกล้สูญพันธุ์
4. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : วิจัยและพัฒนาการขยายพันธุ์พลับพลึงธารโดยใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIBs) เพื่อการคุ้มครองและใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Research and Development on Water onion's micropropagation by Temporary Immersion Bioreactor (TIBs) for Protection and Sustainable use
5. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : นางสุภาภรณ์ สาชาติ สังกัด สถาบันวิจัยพืชสวน

   ผู้ร่วมงาน : นางสาวอุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว สังกัด สถาบันวิจัยพืชสวน

   นางสาวยุพิน กสินเกษมพงษ์ สังกัด สถาบันวิจัยพืชสวน

   นางสาวดวงเดือน ศรีโพทา สังกัด สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช
6. **บทคัดย่อ**

พลับพลึงธาร เป็นพืชน้ำที่ใกล้สูญพันธุ์ และเจริญเติบโตในเฉพาะถิ่นที่อยู่ จึงได้มีการทดลองเพื่อพัฒนาการขยายพันธุ์โดยใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIBs) ในปี 2560-2563 ผลจากการศึกษาพบว่า ปริมาณน้ำตาล ความเข้มข้นของ 6-benzyla minopurine (BA) และNaphthalene Acetic Acid (NAA) มีผลต่ออัตราการงอกของหน่อใหม่ โดยหลังจากเลี้ยงนาน 6 เดือน มีอัตราการงอกของหน่อใหม่มากที่สุด คือ 19 ชิ้นต่อหัว ที่เลี้ยงในสูตรอาหารเหลว Murashige and Skoog (MS) ร่วมกับ BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 60 กรัมต่อ

กรมวิชาการเกษตร

ลิตร ที่เลี้ยงในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIBs) โดยให้อาหารนาน 2 นาที จำนวน 48 ครั้งต่อวัน นอกจากนี้ยังศึกษาการออกรากของพลับพลึงธารในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในระบบ อาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIBs) พบว่า อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดคือ 5.8 รากต่อหัว และ 9.3 เซนติเมตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: พลับพลึงธาร, การขยายพันธุ์โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIBs)

7. คำนำ

พลับพลึงธาร เป็นพืชน้ำที่อยู่ในวงศ์ *Amaryllidaceae* ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Crinum thaianum* มีชื่อไทยว่าหอมน้ำ ภาคใต้เรียกว่าหัวหญ้าช้อง ชื่อสามัญภาษาอังกฤษเรียก Water onion, Onion plant, Thai onion plant เนื่องจากมีหัวคล้ายหอมหัวใหญ่ ที่เรียกว่า พลับพลึงธาร เพราะมีดอกคล้ายดอกพลับพลึงแต่ขึ้นในน้ำที่มีความลึกเฉลี่ยประมาณ 2 เมตร เป็นพืชล้มลุกมีอายุหลายปีเจริญเติบโตในน้ำ (Schulze, 1972) ปัจจุบันในประเทศไทยพลับพลึงธารพบได้ในแม่น้ำลำธารเพียงไม่กี่แห่งทางภาคใต้ในจังหวัดระนองและพังงา ซึ่งได้รับการจัดสถานะเป็นพืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ของประเทศไทย (สันติสุขและคณะ, 2549) นอกจากนี้สหภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติ (IUCN) ได้กำหนดให้พลับพลึงธาร เป็นรายการพืชใกล้สูญพันธุ์ในปี 2554 การคุกคามที่สำคัญต่อแหล่งที่อยู่อาศัย คือ การขุดลอกแม่น้ำและลำธาร เพื่อกำจัดตะกอนและหินสำหรับการก่อสร้าง รวมถึงการใช้น้ำเพื่อการเกษตรหรือการใช้ที่ดิน (สุนทรนาวาพัฒน์และคณะ, 2554).

การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีช่วยเพิ่มจำนวนพืชให้ได้ปริมาณจำนวนมากในเวลาอันสั้นด้วยพื้นที่เพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังช่วยในการเก็บรักษาพันธุ์พืชป่าสำหรับเป็นวัตถุในการขยายพันธุ์ (พงษ์ฉวีและคณะ, 2553) รวมถึงการผลิตเพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนพืชน้ำ สำหรับพลับพลึงธาร มีรายงานว่า การแบ่งครึ่งของหัว ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ร่วมกับ 6-benzyla minopurine (BA) เท่านั้น สามารถกระตุ้นให้เกิดหัวได้ (พิพัฒน์เจริญชัยและประดิษฐ์. 2551) ในอีกด้านหนึ่ง ชมชื่นและคณะ (2555) ได้ทำการตัดหัวพลับพลึงธารตามแนวยาวออกเป็น 8 ส่วน และเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีหรือไม่มี MS ไม่พบความแตกต่างของจำนวนหัว

ในปัจจุบันระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIBs) ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์หลายประเภท เช่น กล้วย มะเขือเทศ แครอท ยางพารา ส้ม และสับปะรด นอกจากนี้ ระบบดังกล่าวยังใช้ในการขยายพันธุ์กาแฟโรบัสต้า (Kasinkaseampong et al., 2008) และปทุมมา (*curcuma alismatifolia*) (Topoonyanont et al., 2005) ข้อดี คือ ได้ปริมาณพืชมากขึ้น ลดต้นทุนและแรงงาน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์พันธุ์พลับพลึงธาร

กรมวิชาการเกษตร

ในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIBs) เพื่อป้องกันการสูญพันธุ์ในสภาพธรรมชาติ

8. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หัวพันธุ์พลับพลึงธาร
2. ชุดระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIBs)
3. วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการทำเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วิธีการ

แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่

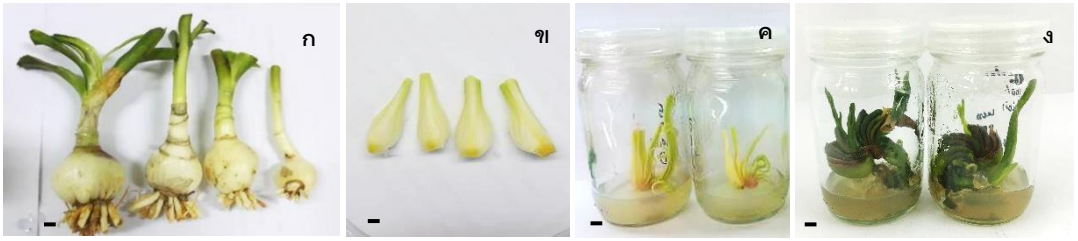
1. การฟอกฆ่าเชื้อ

1.1 การเตรียมชิ้นส่วนก่อนฟอก

นำหัวพลับพลึงธารที่ได้จากสภาพธรรมชาติ จังหวัดระนอง ล้างน้ำไหล ทำความสะอาด ตัดยอด และรากออก แช่น้ำยากันรา นำหัวพันธุ์ปลูกเลี้ยงในตะกร้าพลาสติกที่ใช้วัสดุปลูก คือ ทรายและกรวด อัตรา 1:1 โดยปริมาตร รดน้ำยากันเชื้อรา เลี้ยงนาน 1 สัปดาห์ จึงนำหัวพันธุ์ดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อ

1.2 การฟอกฆ่าเชื้อ

นำหัวพันธุ์มาฟอกฆ่าเชื้อ โดยนำหัวพลับพลึงธาร ล้างน้ำไหล ทำความสะอาด ตัดยอดและรากทิ้ง ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70% นาน 15 นาที ตามด้วยคลอรอกซ์ 15% ที่เติมน้ำยาล้างจานประมาณ 1-2 ช้อนชา นาน 20 นาที และคลอรอกซ์ 10% นาน 15 นาที ตามลำดับ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดแต่งชิ้นส่วนพืช และผ่าเป็น 4 ส่วน ปักลงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Plant Preservative Mixture (PPM) 0.1% ปรับ pH 5.8 และเพิ่มปริมาณโดยการผ่าครึ่งหน่อพลับพลึงธารเป็น 2 ส่วน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร นำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อไปวางบนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้หลอดฟลูออเรสเซนต์ (cool-white) ระยะเวลาที่ให้แสงประมาณ 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม ปรับอุณหภูมิภายในห้องประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 1 ก.หน่อที่ใช้ในการฟอก ข.การผ่าหน่อพลับพลึงธารเป็น 4 ส่วน ค.เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Plant Preservative Mixture (PPM) 0.1% ง.ต้นอ่อนพลับพลึงธาร

ศรีวิชาการเกษตร

2. เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลซูโครส และความเข้มข้นของ NAA ในอาหารเพาะเลี้ยง ร่วมกับการศึกษาระยะเวลาและจำนวนครั้งในการได้อาหารของพืชในระบบ (TIBs) ต่อการเพิ่มปริมาณหัวย่อย/ต้นอ่อน

วางแผนการทดลองทางสถิติแบบ CRD กรรมวิธี (treatment combination) 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครส และความเข้มข้นของ NAA ในอาหารเพาะเลี้ยง คือ

กรรมวิธีที่ 1 เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 เติมน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เติมน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เติมน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ร่วมกับระบบการให้อาหาร 3 แบบ คือ

1. ระบบ TIB ที่ให้อาหารนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน
2. ระบบ TIB ที่ให้อาหารนาน 2 นาที 48 ครั้งต่อวัน
3. ระบบอาหารเหลวที่ให้อากาศนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน

ผ่าครึ่งหน่อพลับพลึงธารออกเป็น 2 ส่วน และเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครส และความเข้มข้นของ NAA ในอาหารเพาะเลี้ยงตามกรรมวิธีที่กำหนด ร่วมกับระบบการให้อาหาร 3 แบบ คือ ระบบ TIB ที่ให้อาหารนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน ระบบ TIB ที่ให้อาหารนาน 2 นาที 48 ครั้งต่อวัน และระบบอาหารเหลวที่ให้อากาศนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน วางบนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้หลอดฟลูออเรสเซนต์ (cool-white) ระยะเวลาที่ให้แสงประมาณ 16 ชั่วโมงต่อวัน ปรับอุณหภูมิภายในห้องประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน สังเกตและบันทึกการเกิดหน่อใหม่

3. ศึกษาการออกรากของพลับพลึงธารในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในระบบ (TIBs)

วางแผนการทดลองทางสถิติแบบ CRD กรรมวิธี (treatment combination) 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น4 ระดับ คือ

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเหลวสูตร MS ที่ร่วมกับ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อาหารเหลวสูตร MS ที่ร่วมกับ NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อาหารเหลวสูตร MS ที่ร่วมกับ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารเหลวสูตร MS ที่ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

นำหน่อพลับพลึงธารจากการทดลองข้างต้น มาชักนำให้เกิดราก โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ร่วมกับ NAA 4 ระดับความเข้มข้นตามกรรมวิธีที่กำหนด วางบนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้หลอดฟลูออเรสเซนต์ (cool-white) ระยะเวลาที่ให้แสงประมาณ 16 ชั่วโมงต่อวัน ปรับอุณหภูมิภายในห้องประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน สังเกตและบันทึกการเกิดราก

กรมวิชาการเกษตร

ระยะเวลาและสถานที่

ระยะเวลา 5 ปี (พ.ศ. 2559-2563) ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยพืชสวน

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณน้ำตาล ความเข้มข้นของ BA และ NAA มีผลต่ออัตราการงอกของหน่อใหม่ โดยหลังจากเลี้ยงนาน 6 เดือน มีอัตราการงอกของหน่อใหม่มากที่สุด คือ 19 ชิ้นต่อหัว ที่เลี้ยงในสูตรอาหารเหลว MS ร่วมกับ BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ที่เลี้ยงในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIBs) โดยให้อาหารนาน 2 นาที จำนวน 48 ครั้งต่อวัน อย่างไรก็ตาม หน่อใหม่ที่งอกนั้นจะมีขนาดเล็กมาก และใช้เวลานานถึง 6 เดือนในการงอก เนื่องจากพลับพลึงธารเป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตช้า ซึ่ง Shou et al. (2008) รายงานว่า จำนวนยอดมากที่สุดถูกชักนำจากหน่อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมวุ้น น้ำตาล และ BA ที่ร่วมกับ NAA คล้ายกับ Noraini et al (2557). นอกจากนี้ Jala (2012) รายงานว่า ปลายยอดของ Curcuma longa L. ให้จำนวนยอดใหม่เฉลี่ยสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BA

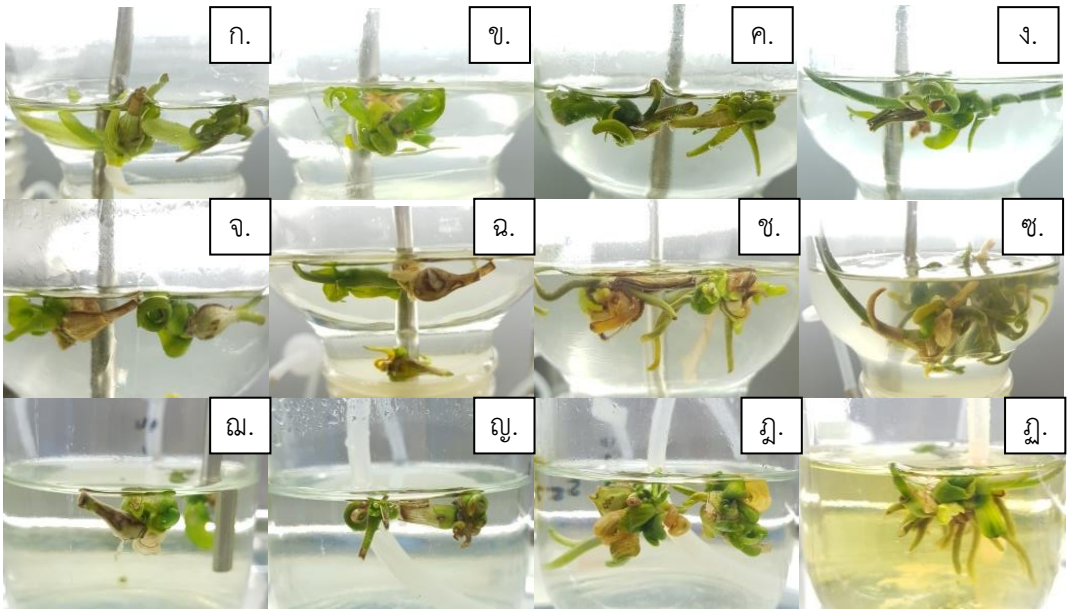
ในระบบอาหารเหลวที่ให้อากาศนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวันสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดเฉลี่ยได้สูงที่สุด 22.8 หน่อ รองลงมาคือ การให้อาหารด้วยระบบ TIBs ที่ให้อาหารเหลวนาน 2 นาที 48 ครั้งต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดหน่อใหม่ 19.0 หน่อ ตามลำดับ

ตารางที่ 1 จำนวนหน่อใหม่เฉลี่ยต่อหัวที่เพิ่มขึ้นหลังจากเลี้ยงในระบบต่างๆ นาน 6 เดือน

อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ	**ระบบ TIB ให้อาหารเหลวนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน (ชิ้น)**	**ระบบ TIB ให้อาหารเหลวนาน 2 นาที 48 ครั้งต่อวัน (ชิ้น)**	**ระบบอาหารเหลวให้อากาศนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน (ชิ้น)**
น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร	6.0	4.0 c	4.3 c
น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร	6.8	5.0 c	7.0 c
น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตรและเติม NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร	7.8	8.0 b	17.0 b
น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตรและเติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	7.0	19.0 a	22.8 a
C.V. (%)	30.7	18.1	18.0

[1/] ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan,s multiple range test (DMRT)

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 2 ลักษณะชิ้นส่วนของพลับพลึงธารที่เลี้ยงในระบบ TIB ที่ได้รับการให้อาหารสูตร MS ที่เติม BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน ที่เติม ก.น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ข.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ค.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร และ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ง.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรม, ที่เลี้ยงในระบบ TIB ที่ได้รับการให้อาหาร นาน 2 นาที 48 ครั้งต่อวัน ที่เติม จ.น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ฉ.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ช.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร และ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ซ.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่เลี้ยงในระบบอาหารเหลวที่ให้อากาศนาน 2 นาที 6 ครั้งต่อวัน ที่เติม ฌ.น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ญ.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ฎ.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร และ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ฏ.น้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

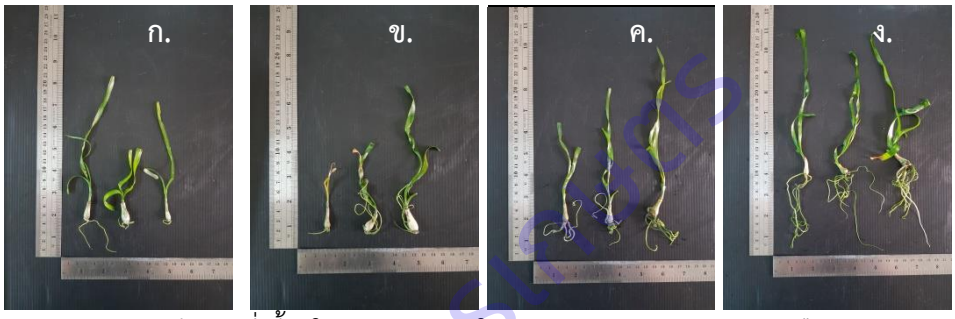
ส่วนการศึกษาการออกรากของพลับพลึงธารในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIBs) พบว่า หลังจากเลี้ยงพลับพลึงธารนาน 3 เดือน ในอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดยอาหารสูตรที่เติม NAA จะมีลักษณะอวบอ้วน ในขณะที่สูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน จะมีลักษณะผอมบาง (ภาพที่ 3) ซึ่งในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดคือ 5.8 รากต่อหัว และ 9.3 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2 จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ยของพลับพลึงธารที่เลี้ยงในระบบ TIBs นาน 3 เดือน

อาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ NAA	จำนวนรากต่อหัว	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
ไม่เติม NAA (control)	2.5 b	2.3 b
NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร	2.8 b	2.9 b
NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร	3.5 b	4.4 b
NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	5.8 a	9.3 a
C.V. (%)	35.9	55.8

[1/] ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)



ภาพที่ 3 ลักษณะรากของพลับพลึงธารที่เลี้ยงในระบบ TIBs ในอาหารสูตรต่างๆ นาน 3 เดือนบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA ก.ไม่เติม NAA (control) ข.NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ค.NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ง. NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณน้ำตาล ความเข้มข้นของ BA และ NAA มีผลต่ออัตราการงอกของหน่อใหม่ รวมถึงการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว(TIBs) ทำให้พลับพลึงธารมีการงอกของหน่อใหม่มากกว่าการเลี้ยงในอาหารแข็งหรืออาหารกึ่งเหลว โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่มีปริมาณน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร พบการงอกของหน่อใหม่มากกว่าสูตรที่ไม่เติม NAA ที่มีปริมาณน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูตรอาหารที่มีอัตราการงอกของหน่อใหม่มากที่สุด คือ อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ที่เลี้ยงในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIBs) โดยให้อาหารนาน 2 นาที จำนวน 48 ครั้งต่อวัน มีอัตราการงอกของหน่อใหม่มากที่สุด คือ 19 ชิ้นต่อหัว หลังจากเลี้ยงนาน 6 เดือน ส่วนการศึกษาการออกรากของพลับพลึงธารในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงในระบบ อาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIBs) พบว่า อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดคือ 5.8 รากต่อหัว และ 9.3 เซนติเมตร ตามลำดับ

กรมวิชาการเกษตร

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เกษตรกร ผู้ประกอบการ นักวิชาการ สามารถทราบถึงข้อมูลเทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของการขยายพันธุ์พลับพลึงธารในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIB) เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์เทียมพลับพลึงธาร

2. เป็นข้อมูลต่อยอดสำหรับงานวิจัยในการขยายพันธุ์ของพลับพลึงธารในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้ระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIB) ที่จะนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์จริงในการผลิตเชิงการค้าในอนาคต

12. เอกสารอ้างอิง

กาญจนรี พงษ์ฉวี, รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์, วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย และกาญจนา จิรพันธ์พิพัฒน์. มปป. การเพาะขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำ. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำและพันธุ์ไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 62 หน้า.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย, กาญจนรี พงษ์ฉวี และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ. 2557 การเก็บรักษาพันธุ์หอมน้ำ *Crinum thaianum Schulze* ในสภาพปลอดเชื้อ. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำและพันธุ์ไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง.

นพมณี โทปุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ และพรศักดิ์ บุญมณี. 2548. รายงานการวิจัยการพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 88 หน้า.

ปกขวัญ หุตางกูร และสมศักดิ์ สุนทรนาวภัทร. 2558. พลับพลึงธาร (*Crinum thaianum*) พืชน้ำหนึ่งเดียวในโลกของไทยใกล้สูญพันธุ์. กรุงเทพฯ: บริษัทรวมสาสน์ (1977) จำกัด.

ยุพิน กสินเกษมพงษ์ และประภาพร ฉันทานุมัติ, 2551. การผลิตกลากาแฟโรบัสตาจากวิธี Somatic Embryogenesis ในระบบ Temporary Immersion Bioreactor. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 39(3) (พิเศษ) หน้า 353-356.

รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์, กาญจนรี พงษ์ฉวี และวรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. ม.ป.ป. การขยายพันธุ์พลับพลึงธาร. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำและพันธุ์ไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง.

รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์, วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2551.การศึกษาชีววิทยาของหอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำและพันธุ์ไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง.

สุภาภรณ์ สาชาติ, อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว, พรเทพ ท้วมสมบูรณ์ และ รัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2557. เปรียบเทียบการปักชำพลับพลึงธารในสภาพธรรมชาติกับสภาพปลูกเลี้ยงที่มีผลต่อต้นพลับพลึงธารก่อนการจำหน่าย. แบบติดตามและประเมินผลรายงานความก้าวหน้างานวิจัย ปี 2557 รอบ 6 เดือน. (เอกสารสำเนา)

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำและพันธุ์ไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง.

กรมวิชาการเกษตร

เอฏฐวรรณ ชื่นชม, ปกขวัญ หุตางกูร และอุทร ชิขุนทด. 2555. ปัจจัยที่มีผลต่อการขยายพันธุ์พลับพลึงธาร (*Crinum thaianum*) โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหัวในวุ้นอาหารสังเคราะห์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 43 ฉบับที่ 2 (พิเศษ) พฤษภาคม-สิงหาคม 2555. หน้า 589-592.

อุทร ชิขุนทด และปกขวัญ หุตางกูร. 2553. พลับพลึงธาร: ไม้น้ำของไทยหนึ่งเดียวในโลกที่กำลังจะสูญพันธุ์. วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ปีที 9 เล่มที่ 1. หน้า 39-53.

Jala, A. 2012. Effects of NAA BA and sucrose on shoot induction and rapid micropropagation by trimming shoot of *Curcuma longa* L. Thammasat International Journal of Science and Technology, Vol. 17, No. 4, October-December 2012

Noraini Mahmad, Rosna Mat Taha, Rashidi Othman, Azani Saleh, Nor Azlina Hasbullah, Hashimah Elias. 2014. Effects of NAA and BAP, double-layered media, and light distance on *In Vitro* regeneration of *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Lotus), an aquatic edible plant, The Scientific World Journal, vol. 2014, Article ID 745148, 8 pages, https://doi.org/10.1155/2014/745148

Pongchawee, K., Pradissan, R. and Pipatcharoenchai, W. 2010. *In vitro* propagation for conservation and sustainable use of endangered Thai native aquatic plants. In: Global Conference on Aquaculture 2010 Farming the Waters for People and Food, 22-25 September 2010. Movenpick Resort and spa. Phuket, Thailand. (poster session)

Schulze, J, 1972. *Crinum thaianum* J. Schulze, a new aquatic species from Southeast Asia *in* Traub, H.P. and H.N. Moldenke (ed), Plant Life. The American Plant Life Society. Vol. 27: 33-42.

Shou, S.-Y., Miao, L.-X., Zai, W.-S., Huang, X.-Z., and Guo, D.-P. 2008. Factors influencing shoot multiplication of lotus (Nelumbonucifera). Biologia Plantarum, vol. 52, no. 3, pp. 529–532.

Santisuk, T., Chayamarit, K., Pooma, R., and Suddee, S. 2006. *Thailand Red Data: Plants*. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand. 256 p.

Soonthornnawaphat, S., Bambaradeniya, C. & Sukpong, P. 2011. *Crinum thaianum*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T201627A9154955. https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2. RLTS.T201627A9154955.en. Downloaded on 14 December 2020.

สำนักวิทยบริการฯ