ความผันแปรของสายต้นไม้ประดู่ในการผลิตกล้าไม้ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Clonal Variation in Micropropagation of *Pterocarpus macrocarpus* Kurz

ณัฏฐากร เสมสันทัด[1] Nutthakorn Semsuntud

บัณฑิต โพธิ์น้อย[2] Bundit Ponoy

อาทิตยา บัวเผื่อน[3] Atitaya Buaphuan

บทคัดย่อ

การศึกษาความผันของสายต้นไม้ประดู่ในการผลิตกล้าไม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาแนวทางในการขยายพันธุ์ไม้ประดู่สายพันธุ์ดี โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สำหรับใช้ในงานการปรับปรุงพันธุ์และการปลูกสร้างสวนป่า โดยทำการศึกษากับแม่ไม้ และตาของกล้าไม้จากแม่ไม้ จำนวน 10 ต้น ผลการศึกษาพบว่า การทำความสะอาดผิวตาจากแม่ไม้ประดู่มีความผันแปรไปตามอายุของตา และฤดูกาล ตาที่แตกมาจากยอดใหม่มีอัตราการปลอดเชื้อสูงกว่ายอดแก่ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตตาปลอดเชื้ออยู่ระหว่างเดือนมีนาคม–กรกฎาคม โดยวิธีการทำความสะอาดผิวด้วยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วทำความสะอาดด้วยน้ำยาฟอกผ้าขาว “ไฮเตอร์” เข้มข้น 15–20 % เป็นเวลา 15–45 นาที ขึ้นอยู่กับฤดูกาล

อิทธิพลของสูตรอาหาร ฤดูกาล และแม่ไม้ มีผลต่อการชักนำให้ตาของกล้าไม้ประดู่เกิดยอด สูตรอาหารที่มีแนวโน้มในการชักนำยอดได้ดีคือ อาหารสูตร MS ร่วมกับ BAP 10 µM โดยตาจากแม่ไม้แต่ละต้นมีการตอบสนองต่ออาหารแตกต่างกันไปตามฤดูกาลที่เพาะเลี้ยง โดยในเดือนมกราคมและพฤษภาคม พบว่า ผลผลิตจำนวนยอดเฉลี่ยต่อ 100 ตา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำหลัก: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประดู่ การผลิตกล้าไม้ การขยายพันธุ์ สายต้น

---

[1] นักวิชาการป่าไม้ชำนาญการพิเศษ สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ e-mail: n.semsuntud@gmail.com

[2] นักวิชาการป่าไม้ชำนาญการพิเศษ สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้

[3] ผู้ช่วยนักวิจัย สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้

ABSTRACT

Clonal variation in micropropagation of *Pterocarpus macrocarpus* Kurz was carried out the proper micropropagation method for tree improvement and reforestation. The studies used specimens from 10 selected trees and buds from their seedling. The results showed that the success of explant surface sterilization varied by ages of buds and seasons of specimen collection. New emerging buds were successfully sterilized better than old shoots. The proper period for sterilization of specimens was March–July by cleaning bud surface with 70% alcohol and followed by soaking in 15–20% bleach (Sodium hypochlorite 6.25% w/w.) for 15–45 minutes.

Culture media, seasons of culture and tree genotypes effected to shoot induction from buds of *P. macrocarpus* seedlings. Ms media complied with BAP 10 µM tended to be a proper medium formula. Buds from selected trees differently responded to seasons of cultures and cultures in January and May showed significant differences in an average number of shoots production from 100 buds.

Keywords: Micropropagation, *Pterocarpus macrocarpus*, seedling production, Propagation, clone

คำนำ

ประดู่เป็นพันธุ์ไม้เศรษฐกิจที่สำคัญในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งมีความสำคัญรองจากไม้สัก เป็นพันธุ์ไม้ที่มีการส่งเสริมให้มีการปลูกสร้างสวนป่าทั้งในรูปแบบของสวนป่าเศรษฐกิจและในระบบวนเกษตร โดยกรมป่าไม้ได้มีการศึกษาวิจัยด้านการพัฒนาพันธุ์ไม้ประดู่อย่างจริงจัง โดยมีการคัดเลือกสายพันธุ์ และปรับปรุงพันธุ์ไม้ประดู่เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ดี สำหรับเป็นวัสดุพันธุกรรมที่นำไปใช้ในการปลูกสร้างสวนป่าไม้ประดู่ต่อไป

การปลูกป่าเศรษฐกิจในปัจจุบันนิยมใช้วัสดุพันธุกรรมที่มาจากสายต้น (Clone) ที่ผ่านขบวนการพัฒนาพันธุ์แล้วมากกว่าการใช้กล้าจากการเพาะเมล็ด เนื่องจากให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นและง่ายต่อการจัดการ ดังตัวอย่างที่เห็นกันอยู่ทั่วไป เช่น ไม้ยูคาลิปตัส ไม้สัก เป็นต้น การผลิตกล้าไม้จากสายต้นต้องใช้วิธีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เพื่อการดำรงลักษณะทางพันธุกรรมของต้นแม่ไว้ ซึ่งการขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ปริมาณมากมักนิยมใช้วิธีการปักชำและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่การขยายพันธุ์ทั้ง 2 วิธี มีข้อดีแตกต่างกันไป การปักชำ เป็นวิธีการที่ง่าย และไม่จำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูง ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีข้อดีกว่าในแง่ของการผลิตกล้าไม้ได้ปริมาณมาก ใช้พื้นที่น้อย ดูแลง่าย และไม่เปลืองแรงงาน วิธีนี้จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสำหรับใช้ในการผลิตกล้าไม้เพื่อการปลูกป่า อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์โดยวิธีนี้มักประสบปัญหาความผันแปรของแม่ไม้ในการผลิตยอดและราก เช่น การศึกษาในไม้สะเดา (ประวิทย์ และคณะ, 2542) อันจะส่งผลกระทบต่อเป้าหมายการผลิตกล้าไม้ได้ ดังนั้น เพื่อการตอบสนองความต้องการกล้าไม้ประดู่สายพันธุ์ดีให้พอเพียง จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาความผันแปรของสายต้นแม่ไม้ประดู่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตกล้าไม้เพื่อการอนุรักษ์สายพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์และปลูกป่าเศรษฐกิจต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1 เพื่อศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ไม้ประดู่โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2 เพื่อศึกษาความผันแปรของแม่ไม้ในการตอบสนองต่อสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3 เพื่อนำผลการศึกษาไปประโยชน์ในการจัดสร้างสวนรวมพันธุ์ สวนผลิตเมล็ดพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ (Tree Improvement) และการปลูกสร้างสวนป่าไม้ประดู่

4 ถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ภาครัฐ เอกชน และประชาชนทั่วไป

วิธีการศึกษา

การรวมพันธุ์ไม้ประดู่เพื่อผลิตท่อนพันธุ์

คัดเลือกแม่ไม้ประดู่สายพันธุ์ดี จำนวน 22 ต้น จากป่าธรรมชาติ ในท้องที่จังหวัดกำแพงเพชร และจังหวัดขอนแก่น นำมาขยายพันธุ์โดยการติดตา และตอนกิ่ง จากนั้นนำมาปลูกในกระถางเพื่อใช้ในการผลิตยอดสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อต้นประดู่ให้กิ่งยาวประมาณ 15–30 เซนติเมตร ทำการตัดกิ่งเพื่อไปใช้ในการศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ประดู่ต่อไป

Potting stock

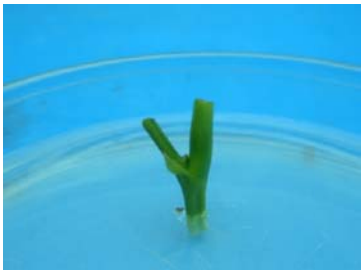
Shoot for culturing

1 ศึกษาวิธีการทำความสะอาด (Sterilization)

1.1 ศึกษาวิธีการทำความสะอาดผิวตาจากแม่ไม้ประดู่

ตัดกิ่งจากแม่ไม้จำนวน 6 ต้น แล้วนำมาตัดบริเวณข้อเป็นท่อนๆ โดยให้แต่ละท่อนมีตาติดอยู่ แล้วทำความสะอาดผิวตาโดยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ซึ่งประกอบด้วยน้ำยาซักผ้าขาว “ไฮเตอร์” 15% (สารออกฤทธิ์ Sodium hypochlorite 6.25% w/w.) ผสมน้ำยาล้างจาน 2–3 หยด ยา Ampicilin 500 mg 1 เม็ด ใช้เวลา 15 นาที ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ฆ่าเชื้อแล้ว การทดลองมี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น นำตาที่ทำความสะอาดแล้วไปตัดแต่งรอยแผลแล้วเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรพื้นฐานสูตร Murashige & Skoog (1963: MS) ในห้องเพาะเลี้ยงที่ควบคุมแสงสว่าง/มืด 12/12 ชั่วโมง อุณหภูมิที่ 25±2˚C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย การแห้งตาย และตาปลอดเชื้อของแม่ไม้แต่ละต้น

Nodal segments



culturing in media

1.2 อิทธิพลของฤดูกาลต่อการทำความสะอาดผิวตาแม่ไม้ประดู่

นำกิ่งประดู่จากแม่ไม้จำนวน 3 ต้น มาตัดบริเวณข้อออกเป็นท่อนๆ โดยให้แต่ละท่อนมีตาอยู่ 1 ตา นำตาจากแม่ไม้แต่ละต้นมาทำความสะอาดผิว โดยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ซึ่งประกอบด้วยน้ำยาซักผ้าขาว “ไฮเตอร์” ที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อแตกต่างกันไปในแต่ละช่วงฤดูกาลของการทดลอง ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Sterilized condition of *Pterocarpus macrocarpus* buds during June 2012–April 2015

Time	Sterile Condition
Jun 2012	10%15 min
Sep 2012	10%15 min
Nov 2012	20%15 min
Jun 2013	15% 15% 15 min/conc
Oct 2013	20%15%15% 15 min/conc
Mar 2014	15%15 min
May 2014	15%10% 15 min/conc
Jul 2014	20%20% 15 min/conc
Nov 2014	20%20% 15 min/conc
Apr 2015	20%15% 15 min/conc

หลังจากทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเสร็จแล้ว ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2–3 ครั้ง หรือจนฟองหมด จากนั้นซับด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารพื้นฐานสูตร MS ในห้องเพาะเลี้ยงที่ควบคุมแสงสว่าง/มืด 12/12 ชั่วโมง อุณหภูมิที่ 25±2˚C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงตรวจสอบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรีย การแห้งตาย และตาปลอดเชื้อของแม่ไม้แต่ละต้น

2 การศึกษาอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการการชักนำยอด

2.1 อิทธิพลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำยอด

คัดเมล็ดไม้ประดู่จากแม่ไม้จำนวน 3 ต้น นำมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อด้วยอาหารพื้นฐานสูตร MS เมื่อกล้ามีอายุประมาณ 1 เดือน จึงนำต้นกล้ามาตัดออกเป็นท่อนๆ โดยแบ่งออกเป็น ส่วนของยอดและข้อที่อยู่ระหว่างใบเลี้ยง แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำยอด 4 สูตร

A1 อาหารพื้นฐานสูตร MS (control)

A2 อาหารพื้นฐานสูตร MS+BAP 1 µM

A3 อาหารพื้นฐานสูตร MS+BAP 10 µM

A4 อาหารพื้นฐานสูตร MS+BAP 1 µM+IBA 1 µM

อาหารแต่ละสูตรมีจำนวน 4 ซ้ำ/แม่ไม้ ซ้ำละ 10 ชิ้น ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกเดือน และเพาะเลี้ยงไว้ในห้องเพาะเลี้ยงที่ควบคุมแสงสว่าง/มืด 12/12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2˚C ทำการตรวจสอบการปนเปื้อน จำนวนข้อที่เกิดยอด จำนวนของยอดที่เกิดใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และผลผลิตยอดต่อจำนวน 100 ข้อ โดยนำจำนวนยอดที่เกิดใหม่เฉลี่ยคูณกับเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Lsd ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.2 ความผันแปรของแม่ไม้ในการตอบสนองต่ออาหารชักนำยอด

เพาะเมล็ดไม้ประดู่จากแม่ไม้จำนวน 7 ต้น ในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อกล้าอายุประมาณ 1 เดือน นำมาตัดส่วนของข้อที่อยู่ระหว่างใบเลี้ยงออกเป็นท่อนยาว 0.5–1 เซ็นติเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำยอด 2 สูตร คือ A1 อาหารพื้นฐานสูตร MS (control) และ A3 อาหารพื้นฐานสูตร MS+BAP 10 µM สูตรละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด เพาะเลี้ยงไว้ในห้องปลอดเชื้อที่ควบคุมแสงสว่าง/มืด 12/12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2˚C เมื่อครบ 1 เดือนทำการตัดขยายยอด โดยแยกเป็นยอดเดี่ยวแล้วเพาะเลี้ยงในอาหารขวดใหม่ ทำการตรวจสอบการปนเปื้อน จำนวนข้อที่เกิดยอด จำนวนยอดที่เกิดใหม่ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และผลผลิตยอดเฉลี่ยต่อจำนวน 100 ข้อ โดยคำนวณจากจำนวนยอดที่เกิดใหม่เฉลี่ยคูณกับเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Lsd ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา

1 ศึกษาวิธีการทำความสะอาด (Sterilization)

1.1 ศึกษาวิธีการทำความสะอาดผิวตาจากแม่ไม้ประดู่

ตาจากแม่ไม้ประดู่จำนวน 6 ต้น ที่ทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเข้มข้น 15% เป็นเวลา 15 นาที 2 ครั้ง หลังจากเพาะเลี้ยงไว้ 2 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นและระยะเวลาในการทำความสะอาดผิวของแม่ไม้ประดู่ยังมีประสิทธิภาพไม่ดีพอ (Table 2) การติดเชื้อของแม่ไม้แต่ละต้นแตกต่างกันไป มีตาปลอดเชื้อ 27.5–47.5% ค่าเฉลี่ย 35% ตาส่วนใหญ่ถูกทำลายโดยเชื้อราเฉลี่ย 62.5% และถูกทำลายจากเชื้อแบคทีเรียเฉลี่ย 2.5% อย่างไรก็ดีจะพบว่า น้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 15 % เป็นเวลา 30 นาที ไม่ได้ทำลายตาให้แห้ง จึงสามารถเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลาในการฆ่าเชื้อได้อีก เพื่อให้ได้ตาปลอดเชื้อมากขึ้น

Table 2 Percentages of bud contamination, dry, and sterilized buds after sterilization by Heiter reagent 15% for 30 min.

Tree No.	Contamination (%)			Dry (%)	Sterilized bud (%)
	Mold	Bacteria	Total		
T1	70	2.5	72.5	0	27.5
T2	45	7.5	52.5	0	47.5
T3	67.5	0	67.5	0	32.5
T4	72.5	0	72.5	0	27.5
T5	65	5	70	0	30
T6	55	0	55	0	45
Average	**62.5**	**2.5**	**65**	**0**	**35**

1.2 อิทธิพลของฤดูกาลต่อการทำความสะอาดผิวตาแม่ไม้ประดู่

1.2.1 อายุของกิ่ง

การศึกษาการทำความสะอาดผิวตาจากแม่ไม้ประดู่ในเดือนพฤษภาคม–มิถุนายน พบว่า อายุของตาหรือความอ่อนแก่ของยอดที่นำมาศึกษามีผลต่อความสำเร็จของการทำความสะอาดผิว (Table 3) ตามาจากยอดที่แตกใหม่มีอัตราการปลอดเชื้อสูงกว่า (85 และ 7.5%) ตาจากยอดแก่ที่แตกมานานแล้วทั้ง 2 เดือน (55 และ 0%) และยังสังเกตพบว่า ฤดูกาลมีผลต่อความสำเร็จในการทำความสะอาดผิวเช่นกัน คือ ความสำเร็จของการผลิตตาปลอดเชื้อของตาทั้งจากยอดอ่อนและยอดแก่ในเดือนพฤษภาคมได้ถึง 85 และ 55% สูงกว่าในเดือนมิถุนายนซึ่งได้เพียง 7.5 และ 0% ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากช่วงเดือนพฤษภาคมแม่ไม้ได้รับฝนจึงแตกยอดใหม่ มีการปนเปื้อนไม่มากนัก

Table 3 Percentages of contamination, dry and sterilized buds from young and old shoots during May–June 2012 after sterilization with different sterilized reagent concentrations and times

Month	Shoot	Sterilization condition	Contamination (%)			Dry (%)	Sterilized bud (%)
			Mold	Bacteria	Total		
May	Young shoot	10%10 min. 2 times	12.5	2.5	15	0	85
	Old shoot	10%15 min. 2 times	15	30	45	0	55
Jun	Young shoot	15%15 min. 2 times	80	12.5	92.5	0	7.5
	Old shoot	15%20 min. 2 times	92.5	7.5	100	0	0

1.2.2 ฤดูกาล

การศึกษาการทำความสะอาดผิวของแม่ไม้ประดู่จำนวน 3 ต้น ระหว่างเดือนมิถุนายน 2555 ถึง เมษายน 2558 พบว่า การผลิตตาปลอดเชื้อของแม่ไม้ทั้ง 3 ต้น ในแต่ละเดือนให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก และมีความผันแปรไปในแต่ละเดือน (Figure 1) แนวโน้มที่ผลิตตาปลอดเชื้อได้ดี คือ ช่วงระหว่างเดือนมีนาคม–กรกฎาคม ของทุกปี ความสำเร็จของการผลิตตาปลอดเชื้อเฉลี่ย 35–88% โดยเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555 ผลิตตาปลอดเชื้อได้ 75–95% เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2556 ผลิตตาปลอดเชื้อได้ 30–45% เดือนเมษายน–กรกฎาคม พ.ศ. 2557 ผลิตตาปลอดเชื้อได้ 67–87% และเดือนเมษายน 2558 ผลิตตาปลอดเชื้อได้ 75–100% ทั้งนี้เนื่องจากตาสกปรกไม่มากนัก เพราะอยู่ในช่วงฤดูฝน แม่ไม้แตกยอดอ่อนมาใหม่ ยังไม่ได้สัมผัสกับสิ่งเจือปนในอากาศมากนัก จึงเหมาะต่อการนำมาผลิตตาปลอดเชื้อเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในทางตรงกันข้ามช่วงกันยายน–กุมภาพันธ์ ของทุกปีซึ่งเข้าสู่ฤดูหนาวและฤดูแล้ง แม่ไม้ประดู่เริ่มทิ้งใบเพื่อผลิดอกออกผล หลังจากนั้นมีการพักตัว การเจริญเติบโตน้อยลง ไม่มีกิ่งแตกใหม่ กิ่งที่นำมาเพาะเลี้ยงจึงมีความสกปรกค่อนข้างมาก ทำให้ไม่ประสบผลสำเร็จในการผลิตตาปลอดเชื้อ โดยพบว่า ช่วงเดือน กันยายน–พฤศจิกายน ผลิตตาปลอดเชื้อเฉลี่ยได้เพียง 0–12.5% ซึ่งในเดือนกันยายน–พฤศจิกายน 2555 ผลิตตาปลอดเชื้อได้ 2.5–25% เดือนตุลาคม 2556 และเดือนพฤศจิกายน 2557 ไม่สามารถผลิตตาปลอดเชื้อได้ (0%)

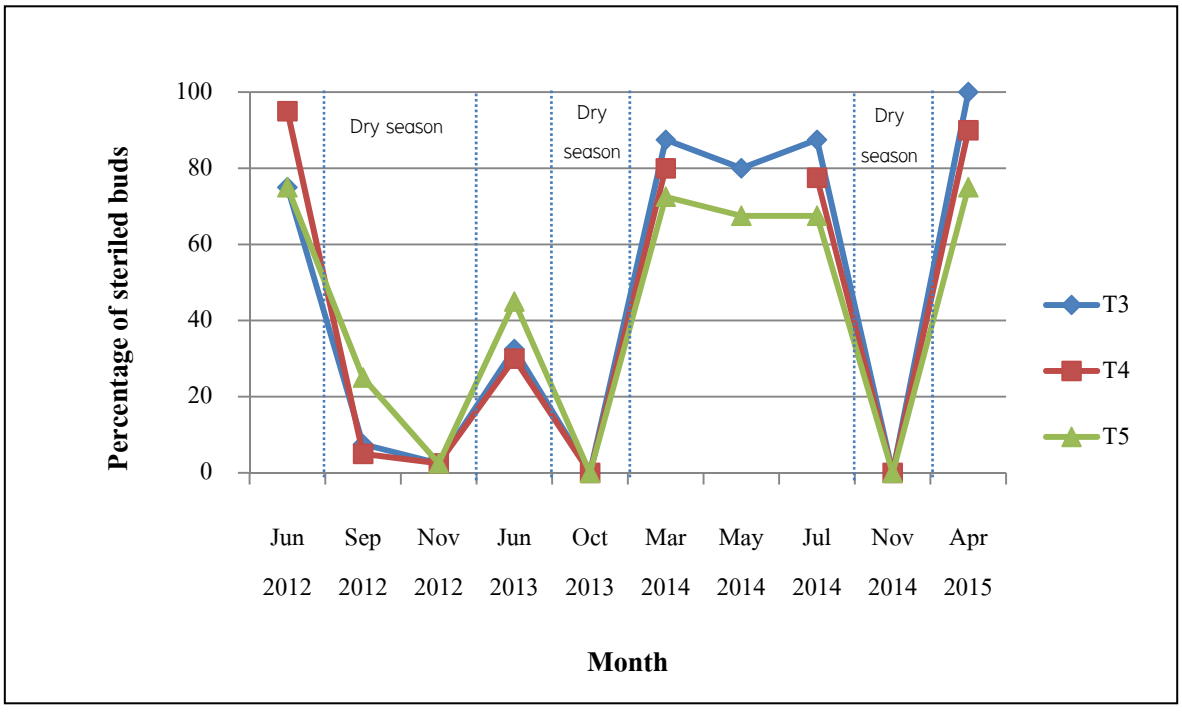


Figure 1 Percentages of *P. macrocarpus* sterilized buds form 3 selected trees during June 2012 to April 2015

2 ศึกษาความผันแปรในการตอบสนองของแม่ไม้ในการชักนำให้เกิดยอด

2.1 อิทธิพลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำยอด

ยอดและข้อของกล้าจากแม่ไม้ประดู่จำนวน 3 ต้น เพาะเลี้ยงในอาหาร 4 สูตร ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์–เมษายน 2556 พบว่า ในเดือนกุมภาพันธ์ ยอด/ข้อจากแม่ไม้ทั้ง 3 ต้น มีการตอบสนองต่ออาหารได้ค่อนข้างดีกว่าในเดือนมีนาคมและเมษายน (Figure 3–5) โดยเดือนกุมภาพันธ์ตาจากแม่ไม้ทั้ง 3 ต้น ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 0.9–1.6 ยอด/ตา การเกิดยอด 89–100% และผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา จำนวน 84–147 ยอด ซึ่งมากกว่าเดือนมีนาคมและเมษายน คือ เดือนมีนาคมตาจากแม่ไม้ทั้ง 3 ต้นให้ยอดเฉลี่ย 0.6–0.8 ยอด/ตา การเกิดยอด 58–82% ผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา จำนวน 33–64 ยอด ในขณะที่เดือนเมษายน ตาจากแม่ไม้ทั้ง 3 ต้น ให้ยอดเฉลี่ย 0.3–0.6 ยอด/ตา การเกิดยอด 33–64% ผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา จำนวน 11–44 ยอด ตามลำดับ

การตอบสนองของตาต่ออาหารเพาะเลี้ยง 4 สูตร พบว่า เดือนกุมภาพันธ์ ตาที่เพาะเลี้ยงในอาหาร A2 (BAP 1 µM) A3 (BAP 10 µM) และ A4 (BAP 1 µM+ IBA 1 µM) ให้ผลผลิตยอดเฉลี่ย/ 100 ตา ดีกว่าและมีความแตกต่างจากอาหาร A1 (MS) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4–5) ตาที่เพาะเลี้ยงในอาหาร A3 ให้ผลผลิตยอดเฉลี่ยสูงสุด 138.9 ยอด/ 100 ตา ลำดับรองลงไปคือ A2 A4 และ A1 .ให้ผลผลิตยอดเฉลี่ย 126.9 123.7 และ 103.4 ยอด/ 100 ตา ตามลำดับ และเมื่อตัดขยายยอดหลังจากเพาะเลี้ยงได้ 1 เดือน พบว่า ในเดือนมีนาคมและเมษายน ตาที่เพาะเลี้ยงทุกสูตรให้จำนวนยอดเฉลี่ย และการเกิดยอดเฉลี่ยลดลง จึงมีผลให้ผลผลิตยอดเฉลี่ย/ 100 ตา ลดลงตามไปด้วย และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถติ โดยในเดือนมีนาคม ยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหาร A1–A4 .ให้ผลผลิตยอด/ 100 ตา เฉลี่ย 38.1 40.6 61.7 และ 52 ยอด ตามลำดับ ในขณะที่เดือนเมษายนให้ผลผลิตยอด/ 100 ตา เฉลี่ย 28 33.7 37.1 และ 24.6 ยอด ตามลำดับ

Figure 2 Shoots multiplication of *P macrocarpus* nodal segments after culturing in A2 = MS + BAP 1 µM (1st row) and A3 = MS + BAP 10 µM (2nd row)

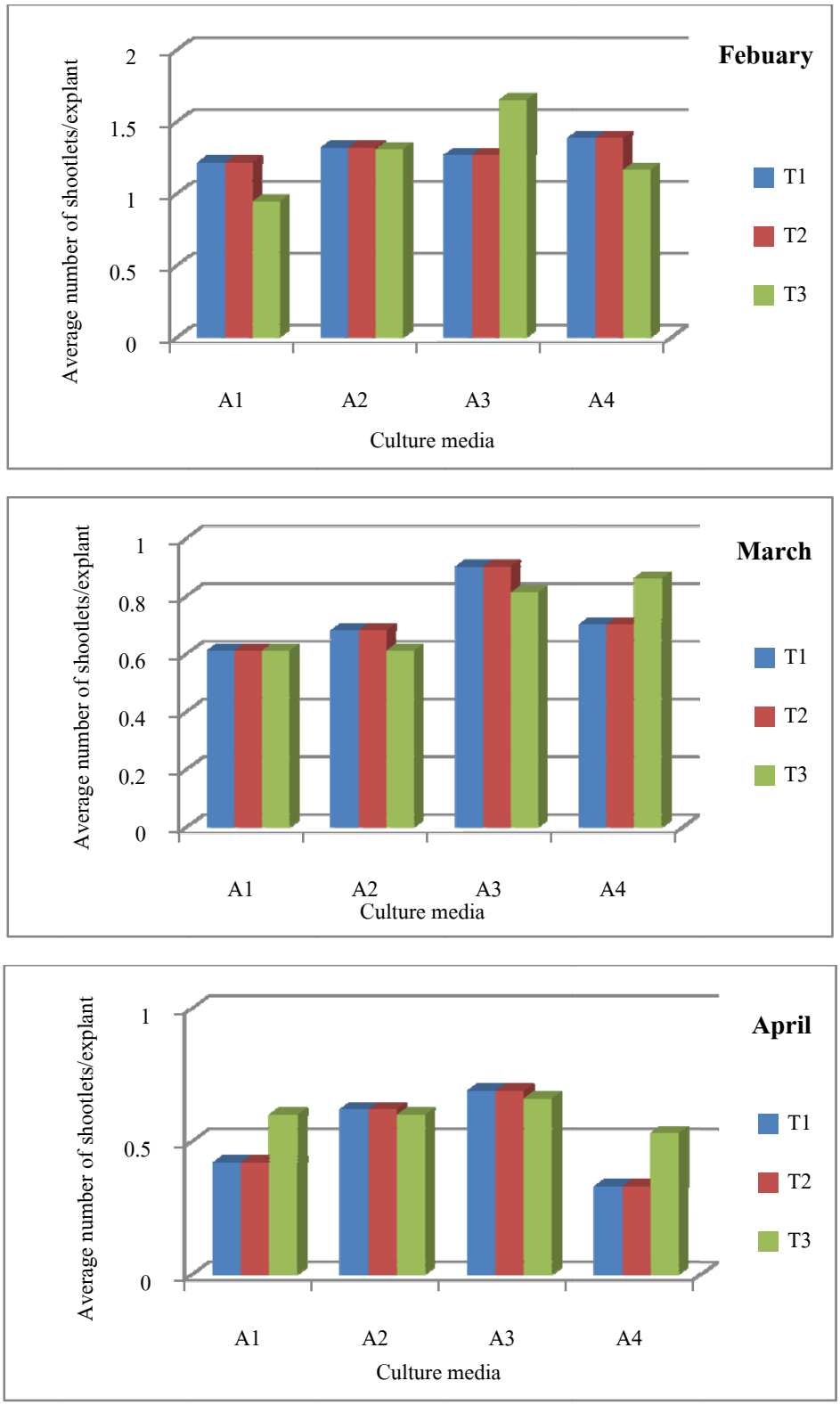


Figure 3 Average number of shootlets per explant of buds cultured form 3 selected trees in 4 kinds of media: A1 = MS, A2 = MS + BAP 1 µM, A3 = MS + BAP 10 µM and A4 = MS + BAP 1 µM+ IBA 1 µM during February–April

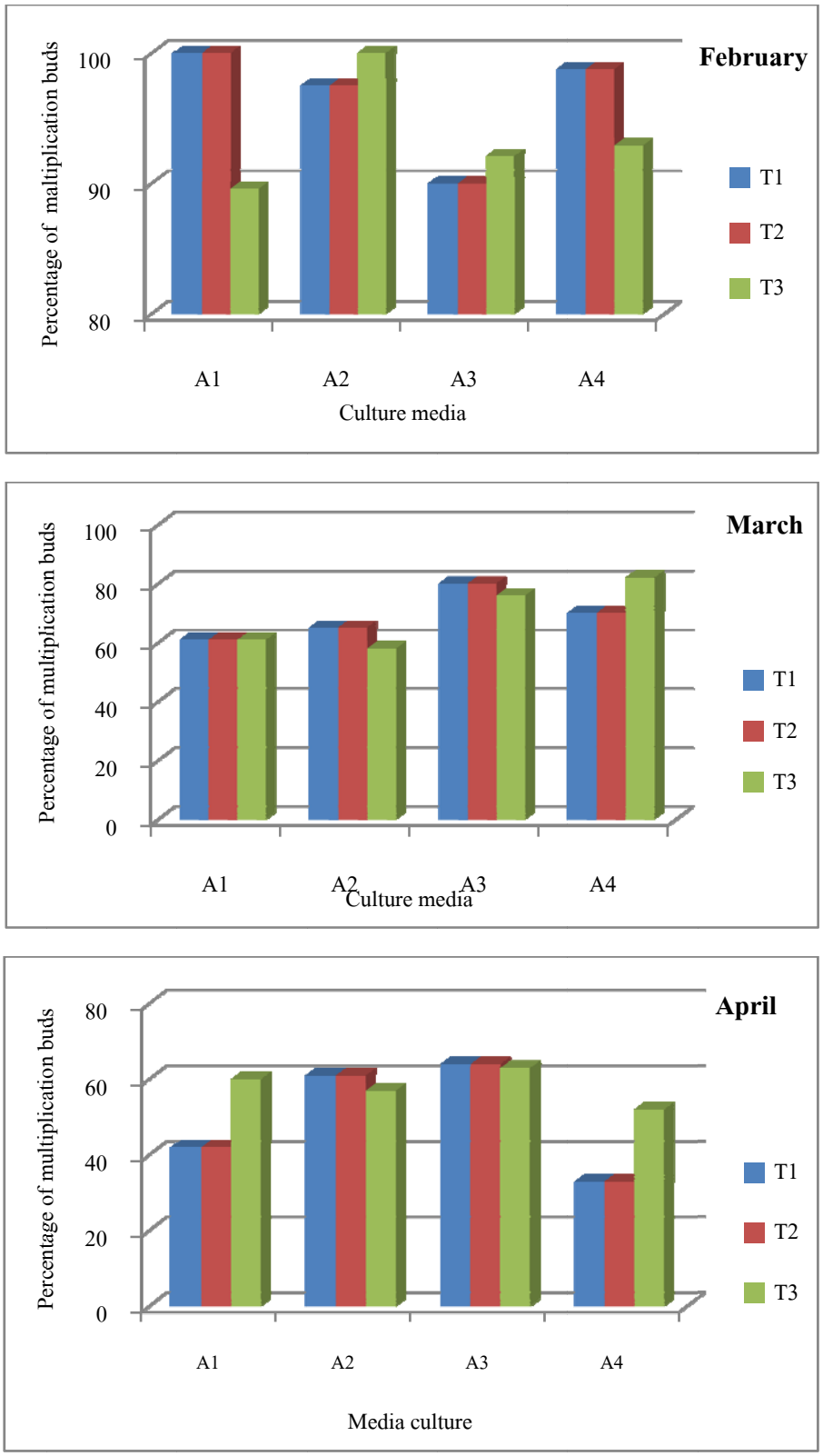


Figure 4 Percentage of multiplication buds of buds cultured form 3 selected tree in 4 kinds of media: A1 = MS, A2 = MS + BAP 1 µM, A3 = MS + BAP 10 µM and A4 = MS + BAP 1 µM+ IBA 1 µM during February–April

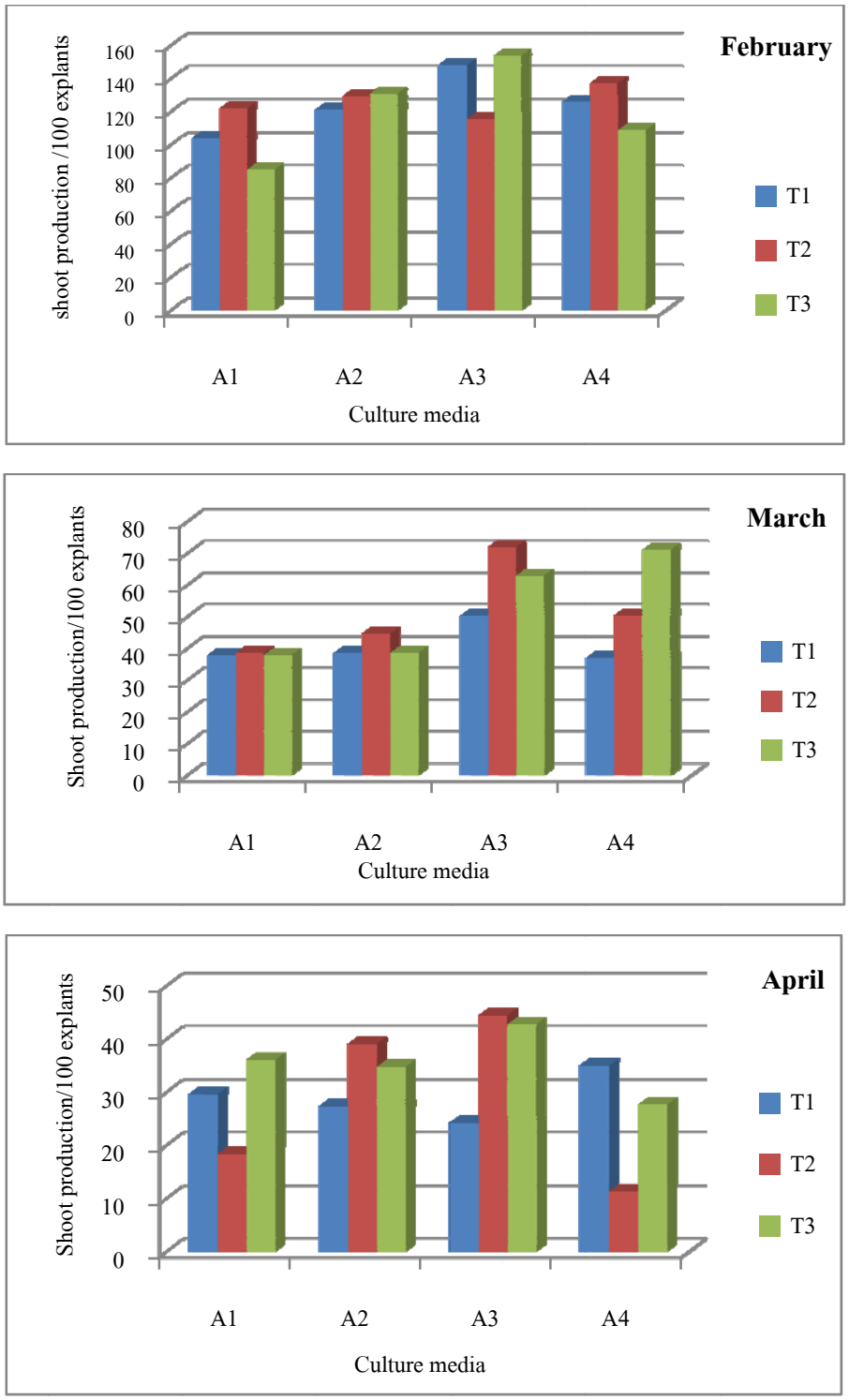


Figure 5 Average shoot production per 100 explants of buds cultured form 3 selected trees in 4 kinds of media: A1 = MS, A2 = MS + BAP 1 µM, A3 = MS + BAP 10 µM and A4 = MS + BAP 1 µM+ IBA 1 µM during February–April

Table 4 Analysis of variance of shoot production/100 explants from 3 selected trees cultured in 4 kinds of media in February–April

Source of Variation	df	MS		
		Feb.	Mar	Apr.
Sample (Clone)	2	181.00	663.07	236.33
Columns (media)	3	2615.75	1455.20	375.97
Interaction	6	1268.51	347.80	439.11
Within	36	337.58	219.27	84.62
Sig. level		*	ns	ns

Table 5 Variation of average shoot production per 100 explants form 3 selected trees cultured in 4 kinds of media in February

Tree	Media culture			
Number.	A1	A2	A3	A4
T1	103.85	121.96	147.82	125.75
T2	121.60	129.08	115.33	136.89
T3	84.71	130.70	153.64	108.61
Average	**103.4 c**	**126.9 ab**	**138.9 a**	**123.7 ab**

Letters (a, b, c, d) in the same column indicate significant differences at p =0.05

2.2 ความผันแปรของแม่ไม้ในการตอบสนองต่ออาหารชักนำยอด

การเพาะเลี้ยงตาจากกล้าไม้ที่อยู่บริเวณข้อเหนือใบเลี้ยงของแม่ไม้ทั้ง 7 ต้น ในอาหาร 2 ชนิด คือ A1 อาหารพื้นฐานสูตร MS (control) และ A3 อาหารพื้นฐานสูตร MS+BAP 10 µM ระหว่างเดือนมกราคม–ธันวาคม 2557 พบว่า การตอบสนองของตาต่ออาหารที่เพาะเลี้ยงแปรผันไปตามฤดูกาล (Figure 6–8) โดยแนวโน้มในการเกิดยอดใหม่ จำนวนยอด และผลผลิตของยอดเฉลี่ย/100 ตา ค่อนข้างดีในช่วงเดือนกุมภาพันธ์–มีนาคม และเดือนพฤษภาคม–สิงหาคม โดยเดือนกุมภาพันธ์ตาจากแม่ไม้ทั้ง 7 ต้น มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.05–1.45 ยอด/ตา การเกิดยอด 5–40% และผลผลิตของยอดเฉลี่ย/100 ตา 5.25–58 ยอด เดือนมีนาคม มีจำนวนยอดเฉลี่ย 11.2–1.5 ยอด/ตา การเกิดยอด 15–45% และผลผลิตของยอดเฉลี่ย/100 ตา 18–67 ยอด เดือนพฤษภาคมมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.05–1.35 ยอด/ตา การเกิดยอด 0.35% และผลผลิตของยอดเฉลี่ย/100 ตา 11–47 ยอด เดือนมิถุนายนมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.1–1.35 ยอด/ตา การเกิดยอด 15–35% และผลผลิตของยอดเฉลี่ย/100 ตา 5.25–24 ยอด เดือนกรกฎาคม มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1–1.25 ยอด/ตา การเกิดยอด 0–20% และผลผลิตของยอดเฉลี่ย/100 ตา 2.25–24 ยอด และ

เดือนสิงหาคมมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1–1.2 ยอด/ตา การเกิดยอด 0–20% และผลผลิตของยอดเฉลี่ย/100 ตา 0–24 ยอด หลังจากนั้นในเดือนกันยายน–ธันวาคม ตาของแม่ไม้ทั้ง 7 ต้น ไม่มีการตอบสนองต่ออาหาร โดยไม่มีการแตกยอดใหม่เพิ่ม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเข้าสู่ฤดูหนาวและฤดูแล้ง ซึ่งพืชส่วนใหญ่พักการเจริญเติบโต

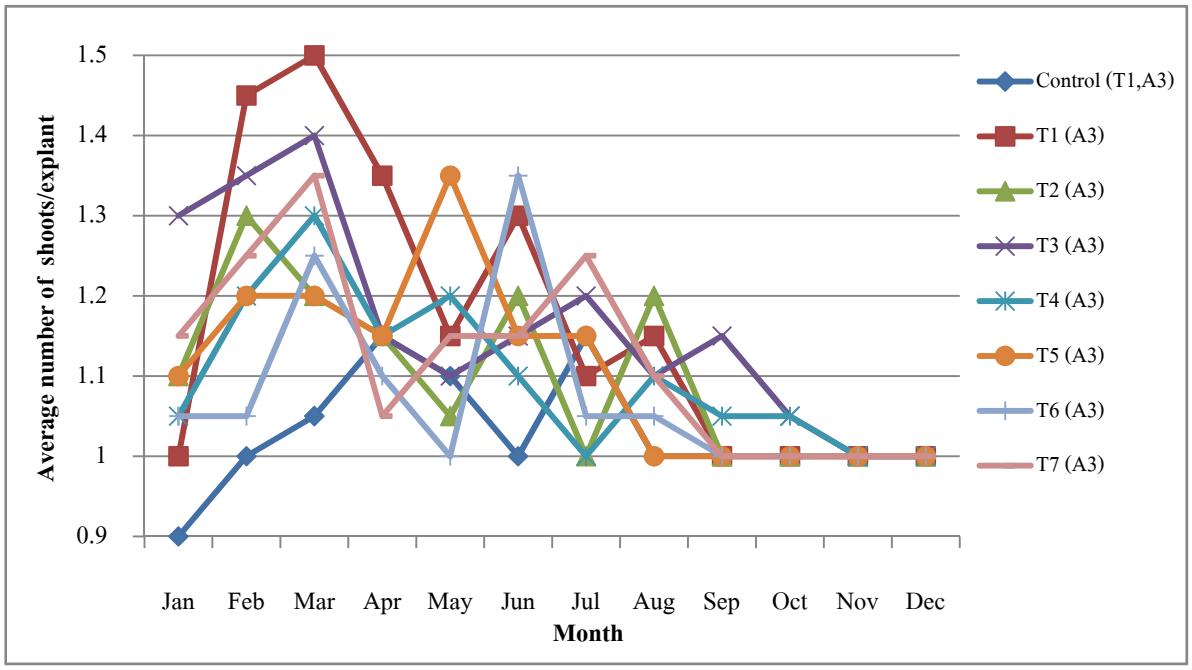


Figure 6 Variation of average shootlet numbers per explant of buds cultured form 7 selected trees in A1 = MS (control) and A3 = MS + BAP 10 µM during January –December 2014

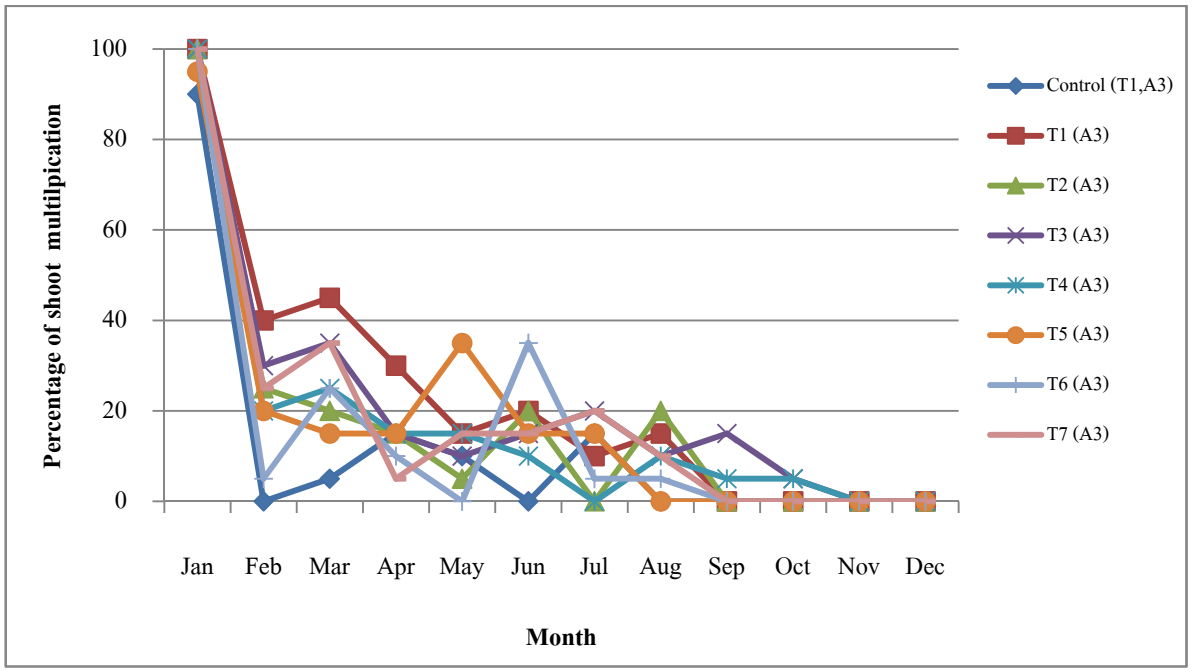


Figure 7 Variation of bud multiplication percentages of buds cultured form 7 selected trees in A1 = MS (control) and A3 = MS + BAP 10 µM during January –December 2014

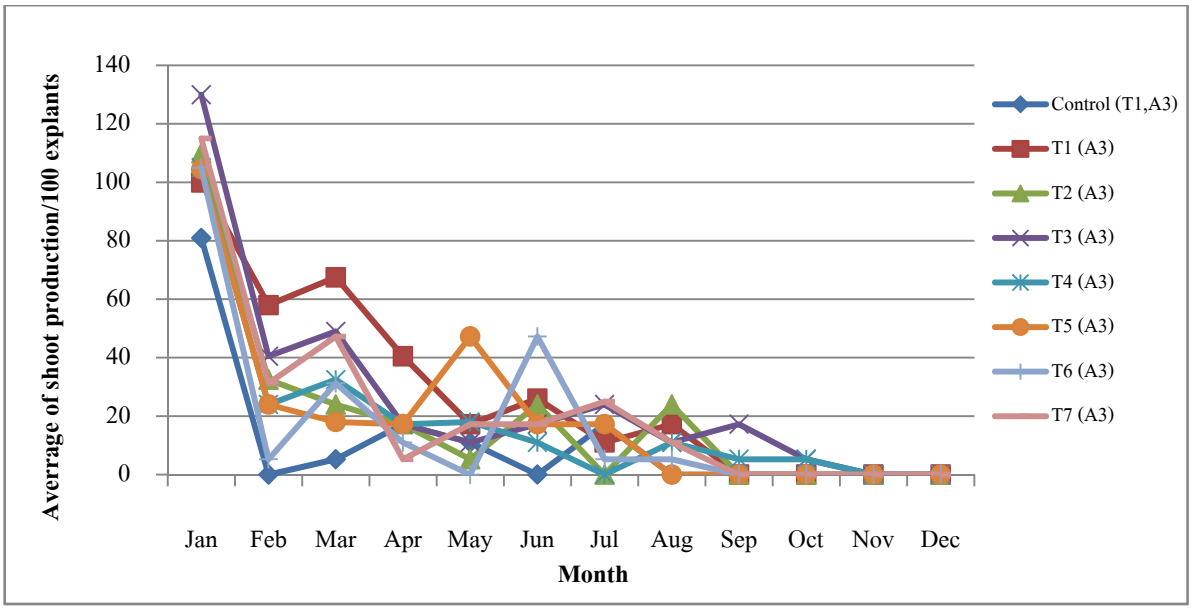


Figure 8 Average number of shoot production per 100 explants of buds cultured form 7 selected trees in A1 = MS (control) and A3 = MS + BAP 10 µM during January –December 2014

อิทธิพลของอาหารต่อการชักนำให้ตาเกิดยอดพบว่า อาหาร A1 ซึ่งมีเฉพาะอาหารพื้นฐานชักนำการเกิดยอดได้น้อยกว่าอาหาร A3 ที่มี BAP ร่วมอยู่ด้วย ตาจากแม่ไม้ทุกต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหาร A3 ตั้งแต่เดือนมกราคมจนถึงเดือนสิงหาคม มีการเกิดยอด จำนวนยอด และผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา มากกว่าตาที่เพาะเลี้ยงในอาหาร A1 โดยอาหาร A3 ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1–1.45 ยอด การเกิดยอด 0–100% และผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา 0–130 ยอด ในขณะที่ A1 ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 0.9–1.15 ยอด การเกิดยอด 0–90% และผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา 0–81 ยอด และตั้งแต่เดือนกันยายน–ตุลาคม ตาที่เพาะเลี้ยงในอาหาร A1 ไม่มีการเกิดยอดใหม่เพิ่ม คงมีแต่ยอดที่เพาะเลี้ยงไว้เมื่อเริ่มต้น

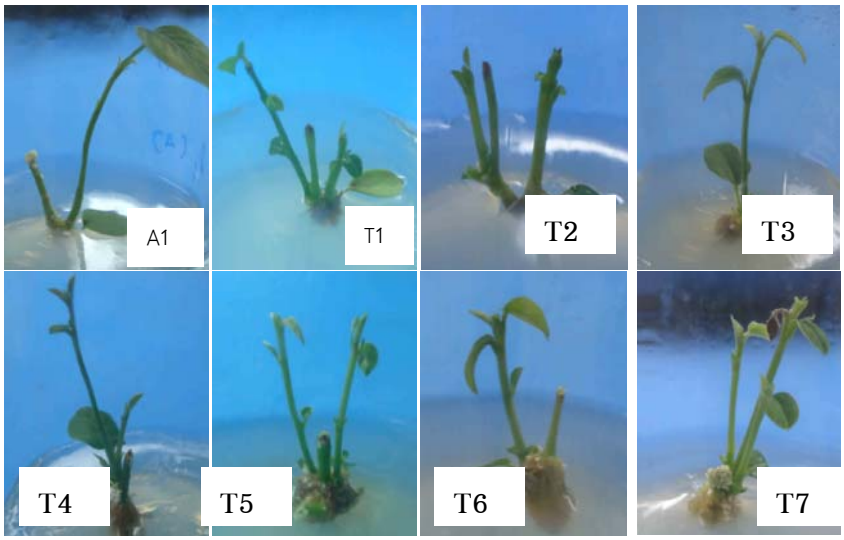


Figure 9 Multiple shoots of *P. macrocarpus* of bud cultured from 7 selected trees in 2 kinds of media : A1 = MS (control) and A3 = MS + BAP 10 µM (T1–T7)

อิทธิพลของแม่ไม้ต่อการเกิดยอดพบว่า แม่ไม้แต่ละต้นให้ผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา แตกต่างกันไป แม่ไม้ต้นที่ 1 และต้นที่ 3 มีแนวโน้มในการเกิดยอดค่อนข้างดีกว่าแม่ไม้ต้นที่ 2 4 และ 6 (Figure 6–8) ซึ่งการเกิดยอดมีความผันแปรไปในแต่ละแม่ไม้และช่วงเวลา โดยเฉพาะในเดือนมกราคมและพฤษภาคม แม่ไม้มีผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5) ในเดือนมกราคม แม่ไม้ต้นที่ 3 และ 7 ให้ผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ตา สูงกว่าแม่ไม้ต้นอื่น คือ 130 และ 115 ยอด/100 ตา ตามลำดับ ในขณะที่เดือนพฤษภาคม แม่ไม้ต้นที่ 5 ให้ผลผลิตยอดเฉลี่ย/100 ยอด มากที่สุด คือ 55.8 ยอด/100 ตา (Table 6)

Table 6 Analysis of variance of shoot production/100 explants from 7 selected trees cultured in control (MS) and A3 (MS + BAP 10 µM) in January and May.

Source of Variation	df	MS	
		Jan	May
Between Groups	7	680.86	1145.36
Within Groups	24	244.67	215.66
Total	31	*	ns

Table 7 Variation of numbers of shoot production/100 explants from 7 selected trees cultured in control (MS) and A3 (MS + BAP 10 µM) in January and May

Tree No.	January	May
control	84 c	14.8 b
T1	100 b	10.3 b
T2	110 b	7.3 b
T3	130 a	8.8 b
T4	105 b	17.5 b
T5	105 b	55.8 a
T6	105 b	0.0 b
T7	115 ab	16.3 b

Letters (a, b, c, d) in the same column indicate significant differences at p =0.05

การศึกษาความผันแปรของสายต้นไม้ประดู่ ในการผลิตกล้าไม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ยังไม่บรรลุวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ เนื่องจากปัจจัยหลายประการ ดังนี้

1 ตัวอย่างพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงมีไม่เพียงพอ โดยทั่วไปแล้วในการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ได้ปริมาณมากต้องมีการจัดสร้างสวนรวมพันธุ์และการจัดการสวนรวมพันธุ์เพื่อ

ผลิตยอดที่มีอายุและลักษณะเหมาะสมในการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และมีปริมาณพอเพียง (ณัฏฐากร และคณะ, 2556) แต่ในการศึกษาครั้งนี้ มีต้นแม่พันธุ์เพียงไม่กี่ต้น และมีขนาดเล็ก ผลิตยอดได้ไม่มาก เพราะปลูกไว้ในกระถาง นอกจากนี้ยังมีผลจากฤดูกาลที่เมื่อเข้าสู่ฤดูแล้งต้นประดู่จะออกดอกและหยุดชะงักการเจริญเติบโต ไม่มีการแตกยอดใหม่จนกว่าเข้าสู่ฤดูฝน ดังนั้นแนวทางในการทำการศึกษาในโอกาสต่อไป ควรมีการสร้างสวนรวมพันธุ์ โดยให้มีจำนวนแม่ไม้ที่มากพอ พร้อมทั้งจัดการแปลงรวมพันธุ์เพื่อให้แม่ไม้สมบูรณ์สามารถผลิตกิ่งพันธุ์ที่แข็งแรงในปริมาณมาก

2 การทำความสะอาดผิวตาไม้ประดู่ ต้องแปรผันไปตามฤดูกาล จากการศึกษาพบว่า มีบางเดือนไม่สามารถผลิตตาปลอดเชื้อได้ ทั้งนี้เนื่องจากแม่ไม้มีการออกดอก และหลังจากนั้นไปเป็นฤดูแล้งต้นไม้พักตัว ไม่มีกิ่งหรือยอดแตกใหม่ ดังนั้น ในการทำความสะอาดผิวจึงต้องหาวิธีการที่เหมาะสมกับสภาพของตาที่นำมาใช้ โดยการปรับเปลี่ยนชนิด ความเข้มข้นของน้ำยาทำความสะอาด และระยะเวลาในการทำความสะอาดให้เหมาะกับความอ่อน–แก่ และความสกปรกของกิ่งพันธุ์

3 การชักนำยอด สูตรอาหารมีผลต่อการชักนำการเกิดยอดของพันธุ์ไม้ ซึ่งพันธุ์ไม้แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่ออาหารที่แตกต่างกันไป จากการศึกษาการชักนำยอดแม่ไม้ประดู่ โดยใช้อาหารพื้นฐานสูตร MS ร่วมกับ BAP และ IBA ยังให้ปริมาณผลผลิตยอดค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้อาจมาเนื่องจากการแยกต้นเพื่อขยายปริมาณ ใช้ยอดขนาดเล็กและผอมบาง จึงไม่มีความสมบูรณ์พอที่จะแตกยอดใหม่ ซึ่งแตกต่างจากไม้สกุล Pterocarpus ชนิดอื่นที่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี เช่น ในการชักนำการเกิดยอดของข้อจากกล้า *Pterocarpus santalinus* ได้ผลดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamberg medium (B5) ร่วมกับ BAP 8.0 µM และ NAA 2.0 µM (Warakagoda and Subasinghe,2013) ในขณะที่การชักนำการเกิดยอดของข้อจากกล้า *Pterocarpus marsupium* ให้ผลดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ร่วมกับ BA และ kinetin 2.22–13.32 µM หรือร่วมกับ NAA 0.26 µM (Chand and Singh, 2004) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลร่วมของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของ Cytokinin และ Auxin เป็นต้นว่า การศึกษาการชักนำยอดของข้อจากกล้าไม้ *Pterocarpus marsupium* ในอาหาร MS ร่วมกับ BA หรือ Kinetin เข้มข้น 1 2.5 5 และ 10 µM และในอาหาร MS ร่วมกับBAP 5 µM และ IAA หรือ NAA 0.25 0.5 และ 1 µM (Anis *et. al.*,2004) การศึกษาการชักนำยอดของข้อจากกล้าไม้ *Pterocarpus marsupium* ในอาหาร MS ร่วมกับ BAP 0.5 1 1.5 และ 2 mg/l และในอาหาร MS ร่วมกับ BAP 1 mg/l และ IAA หรือ NAA 0.1 0.5 mg/l และในอาหาร MS ร่วมกับ BAP 5 mg/l และ IAA/NAA 1 mg/l (Ahmad *et. al.*,2004)

4 การชักนำรากไม้ประดู่ยังไม่ได้ดำเนินการ เนื่องจากปริมาณยอดที่จะนำมาทดลองมีปริมาณไม่เพียงพอ อย่างไรก็ดี มีการศึกษาการชักนำรากของพืชในสกุล Pterocarpus ที่ประสบผลสำเร็จ เช่น การชักนำราก *Pterocarpus santalinus* โดยแช่ยอดใน IBA 250 µM เป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วเพาะเลี้ยงในอาหาร ½ MS ร่วมกับ IBA 0.5 µM (Warakagoda and Subasinghe,2013) การชักนำราก *Pterocarpus marsupium* .ในอาหาร ½ MS ร่วมกับ IBA 9.84 µM สามารถเกิดรากในเวลา 25 วัน (Chand and Kumar Singh, 2004)

สรุปผลการศึกษา

ความผันแปรของสายต้นไม้ประดู่ในการผลิตกล้าไม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการศึกษากับแม่ไม้ และตาของกล้าไม้จากแม่ไม้ สรุปได้ดังนี้

1 การทำความสะอาดผิวตาจากแม่ไม้ประดู่มีความผันแปรไปตามอายุของตา และฤดูกาล ตาที่แตกมาจากยอดใหม่มีอัตราการปลอดเชื้อสูงกว่ายอดแก่ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตตาปลอดเชื้ออยู่ระหว่างเดือนมีนาคม–กรกฎาคม โดยวิธีการทำความสะอาดผิวด้วยการเช็ดกิ่งด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วทำความสะอาดตาด้วยน้ำยาฟอกผ้าขาว “ไฮเตอร์” เข้มข้น 15–20 % เป็นเวลา 15–45 นาที ขึ้นอยู่กับฤดูกาล

2 อิทธิพลของสูตรอาหาร ฤดูกาล และแม่ไม้ มีผลต่อการชักนำให้ตาของกล้าไม้ประดู่เกิดยอด สูตรอาหารที่มีแนวโน้มในการชักนำยอดได้ดี คือ อาหารสูตร MS ร่วมกับ BAP 10 μM โดยตาจากแม่ไม้แต่ละต้นมีการตอบสนองต่ออาหารแตกต่างกันไปตามฤดูกาลที่เพาะเลี้ยง โดยในเดือนมกราคมและพฤษภาคมพบว่า ผลผลิตจำนวนยอดเฉลี่ยต่อ 100 ตา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาความผันแปรในการผลิตกล้าไม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแต่ละสายต้นของไม้ประดู่ สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือและสนับสนุนจากคุณประพาย แก่นนาค หัวหน้าสถานีวนวัฒนวิจัยกำแพงเพชร คุณวิโรจน์ ครองกิจศิริ หัวหน้าสถานีวนวัฒนวิจัยดงลาน ในการเตรียมกิ่งพันธุ์ไม้ประดู่ คุณบุญมี ผดุงเขตต์ และคุณจีรวรรณ แก้วกล้า เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ ช่วยดำเนินการทดลองในห้องปฏิบัติการ ส่งผลให้งานวิจัยประสบผลสำเร็จ ขอขอบคุณทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐากร เสมสันทัด บัณฑิต โพธิ์น้อย ธิติ วิสารัตน์ สมบูรณ์ บุญยืน จำนรรจ์ เพียรอนุรักษ์ ดุริยะสถาพร และ สาโรจน์ วัฒนสุขสกุล. 2556. เทคนิคการขยายพันธุ์ไม้ป่าแบบไม่อาศัยเพศ. อักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพมหานคร. 40 หน้า.

ประวิทย์ จิตต์จำนงค์, ณัฏฐากร เสมสันทัด และ บัณฑิต โพธิ์น้อย. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและความผันแปรของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแม่ไม้สะเดา. เอกสารเผยแพร่ ส่วนวนวัฒนวิจัย สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. 55 หน้า.

Ahmad N, A. Alia, F. Khan, A. Kour, S. Khan. 2011. *In vitro* Seed Germination and Shoot Multiplication of Pterocarpus marsupium Roxb–an Endangered Medicinal Tree. (ออนไลน์) http://www.sciencepub.net/researcher/research0402/006_7530research0402_20_24.pdf (วันที่ค้นข้อมูล 1 กันยายน 2558)

ANIS M., M. K. HUSAIN, A. SHAHZAD. 2005. *In vitro* Plantlet Regeneration of *Pterocarpus marsupium* Roxb., an Endangered Leguminous Tree. Current science, vol. 88, no. 6, 25 march 2005 (ออนไลน์) http://www.sciencepub.net/researcher (วันที่ค้นข้อมูล 1 กันยายน 2558)

Chand S. and A. K. Singh. 2004 *In vitro* Shoot Regeneration from Cotyledonary Node Explants of a Multipurpose Leguminous Tree, *Pterocarpus marsupium* Roxb. In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant Vol. 40, No. 2 (Mar.–Apr., 2004), pp. 167–170 (ออนไลน์) http://www.jstor.org/stable/4293713?seq=1#page_scan_tab_contents (วันที่ค้นข้อมูล 1 กันยายน 2558)

Warakagoda P.S, S. Subasinghe. 2013. *In vitro* Propagation of *Pterocarpus santalinus* L. (Red Sandalwood) Through Tissue Culture. J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka 41 (1): 53– 63. (ออนไลน์) http://jnsfsl.sljol.info/articles/abstract/10.4038/jnsfsr.v41i1.5325/ (วันที่ค้นข้อมูล 1 กันยายน 2558)