

บทที่ 6

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ :

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนยอด, ข้อ, เอมบริโอ, ฝักและใบของโกงกางใบเล็ก โดยใช้สูตรอาหารต่าง ๆ ซึ่งมีทั้ง 2 สภาพคือ อาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็ง เพื่อศึกษาว่าอาหารชนิดใดเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโกงกางใบเล็ก พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบนอาหารทุกสูตรให้ผลใกล้เคียงกันคือ เนื้อเยื่อเกิดสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว จึงยังไม่สามารถตอบสนองต่อการพัฒนาเป็นแคลลัสและเจริญเปลี่ยนแปลงต่อไปได้ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการแก้ปัญหาการเกิดสารประกอบฟีนอลิก พบว่าวิธีที่ดีที่สุดที่ช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลให้ช้ากว่าปกติคือ การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลว MS ที่เสริม PVP 0.5% โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 75 รอบ/นาที จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อพืชไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง MS และเปลี่ยนอาหารทุกวัน ซึ่งพบว่ามีการพัฒนาของใบจากส่วนยอดแต่ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

จากการศึกษาการขยายพันธุ์โกงกางใบเล็กในสภาพปลอดเชื้อนี้ แม้จะเป็นเพียงแนวทางบางประการที่ชี้ให้เห็นเทคนิค ตลอดจนปัจจัยบางอย่างที่มีความสำคัญในการแก้ปัญหาการเกิดสีน้ำตาลบนเนื้อเยื่อพืช อย่างไรก็ตามน่าจะมีการศึกษาถึงวิธีการอื่น ๆ อีก เพื่อเป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโกงกางใบเล็กให้ประสบความสำเร็จ นอกจากนี้การขยายพันธุ์โกงกางใบเล็กในสภาพปลอดเชื้อยังมีข้อจำกัดบางประการ อาทิ ในระยะแรกเมื่อนำไฮโปทิลมาเลี้ยงในอาหารพบว่ามีการปนเปื้อนสูง แม้ว่าจะใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์และคลอโรกซ์แล้วก็ตาม ซึ่งการฆ่าเชื้อที่ผิวที่ให้ผลดีที่สุดคือการแช่เนื้อเยื่อพืชใน ethanol 70 % นาน 3 นาที จากนั้นแช่ใน $\text{Ca}(\text{OCl}_2)$ 15 % ผสม Tween-20 2-3 หยด นาน 20 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

สรุปผลการปักชำในสภาพธรรมชาติ :

→ ออกซิน IAA และ IBA มีผลต่อการพัฒนาของยอดและรากโงก่างใบเล็ก ที่ระดับความเข้มข้น 500-2,000 มก./ล. โดยพบว่า IBA ให้ผลดีกว่า IAA ในด้านของการกระตุ้นของการเกิดราก แต่ในด้านการกระตุ้นการเกิดยอด IAA จะให้ผลดีกว่า IBA ส่วน NAA ไม่มีผลต่อการกระตุ้นให้สร้างรากหรือยอดเลย พบว่ารากที่ได้จากการที่ใช้ NAA จะมีขนาดเล็ก บอบบาง และสั้นกว่ารากที่เกิดจากการใช้ IAA และ IBA จึงไม่เหมาะที่จะนำ NAA มาใช้กระตุ้นให้กล้าไม้โงก่างใบเล็กสร้างราก

→ ออกซินที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ จะมีผลระงับการสร้างรากและการเจริญเติบโต

→ ออกซินที่ระดับความเข้มข้น 2,000 มก./ล. จะเหมาะสมต่อการกระตุ้นการเกิดรากในทุกส่วนของฝัก โดย IAA จะให้ผลดีกับทุกส่วนของฝัก ในขณะที่ IBA จะให้ผลดีกับท่อนยอดและโคน

→ ในด้านการเจริญของรากจากดินอ่อนจากการปักชำ พบว่า IBA ที่ระดับ 500 มก./ล. ให้ผลดีกับท่อนยอด ส่วน IAA ที่ระดับ 500 มก./ล. และ 1,000 มก./ล. ให้ผลดีกับท่อนกลางและท่อนโคนตามลำดับ

→ สำหรับการกระตุ้นการสร้างยอดนั้น IAA จะให้ผลดีที่สุด โดยมีระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดที่ 2,000 มก./ล. สำหรับท่อนยอดและท่อนโคน และ 1,000 มก./ล. สำหรับท่อนกลางของฝัก

→ ในด้านการเจริญของยอดจากดินอ่อน พบว่า IAA ที่ระดับ 1,000 มก./ล. จะเหมาะสมกับทุกส่วนของฝัก ส่วน IBA ที่ระดับ 500 มก./ล. เหมาะสมกับท่อนยอดและโคน แต่ที่ระดับ 1,000 มก./ล. เหมาะสมเฉพาะท่อนกลางของฝัก

→ ในช่วงแรกของการปักชำจะมีการสร้างรากและยอดจำนวนมากกว่า เมื่อเทียบกับในช่วงหลัง ในทางกลับกันรากและยอดมีการเจริญเติบโตที่ดีในการปักชำช่วงหลังมากกว่าช่วงแรก

→ ในช่วงแรก คาที่เกิดบนหน้าตัดของกล้าไม้โงก่างใบเล็กท่อนกลางและท่อนโคนมีจำนวนมาก แต่พอมาระยะหลังมีเพียง 1-2 คาเท่านั้นที่เจริญเติบโตเป็นกิ่งและใบได้ ซึ่งกิ่งและใบที่เกิดจากกล้าไม้โงก่างใบเล็กท่อนกลางและท่อนโคนนี้ จะมีกิ่งขนาดเล็กและใบที่แคบกว่าเมื่อเทียบกับท่อนยอด

ข้อเสนอแนะของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ :

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโคงกางใบเล็กในระยะแรกมีอัตราการปนเปื้อนสูงมาก ซึ่งอาจเป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโคงกางใบเล็กไม่ประสบความสำเร็จ ดังนั้นก่อนที่จะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้สูตรอาหารต่าง ๆ ควรทำ clean culture เป็นขั้นแรก เพื่อเป็นการคัดเลือกเฉพาะเนื้อเยื่อที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ต่อไป การทำ clean culture ทำโดยปักชำฝักโคงกางใบเล็กในขวดที่บรรจุทรายซึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติมหอาหารเหลวให้ท่วมทรายเล็กน้อย สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงและคอยเติมหอาหารเหลว เพื่อไม่ให้ทรายแห้ง

ปัญหาของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโคงกางใบเล็กอีกประการหนึ่งคือ การเกิดสารสีน้ำตาล ซึ่งเป็นสารแทนนินที่อยู่ภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อพืช วิธีที่น่าจะลดการสังเคราะห์แทนนินได้คือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในที่มืดแสงน้อย และใช้สารเคมีที่ช่วยลดการเกิดสารสีน้ำตาลร่วมด้วย เช่น ascorbic acid, activated charcoal, PVP, PVPP เป็นต้น นอกจากนี้ขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงก็เป็นสิ่งสำคัญ ควรเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวก่อน โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่า จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อพืชไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและเปลี่ยนอาหารทุกวัน

ข้อเสนอแนะของการปักชำในสภาพธรรมชาติ :

การจะนำออกซินชนิดใดมาใช้ปฏิบัติงานในภาคสนามนั้น ควรคำนึงถึงเรื่องราคาของออกซินประกอบด้วย โดยออกซิน IAA มีราคาต่อหน่วยถูกกว่า IBA มาก ดังนั้นในการขยายพันธุ์กล้าไม้โคงกางใบเล็กด้วยวิธีปักชำ ควรเลือกใช้ IAA จึงจะเหมาะสมที่สุด โดยใช้ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 2,000 มก./ล. มีอิทธิพลต่อการเกิดรากของกล้าไม้โคงกางใบเล็กที่ตอนยอด ท่อนกลาง และท่อนโคนดีที่สุด

ปัจจุบันมีการฟื้นฟูสภาพป่าชายเลนกันมาก ไม้โคงกางใบเล็กเป็นไม้ชายเลนที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งนำมาใช้เป็นกล้าไม้ปลูกทดแทนในบริเวณป่าชายเลนที่มีสภาพเสื่อมโทรม ดังนั้นการขยายพันธุ์กล้าไม้โคงกางใบเล็กให้มีปริมาณมากจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง จากการทดลองแบ่งฝักโคงกางใบเล็กออกเป็น 3 ส่วน และใช้ออกซินช่วยกระตุ้นให้เกิดรากนั้นประสบผลสำเร็จดี กล้าไม้โคงกางแต่ละส่วนเจริญเติบโตได้ดี แม้ว่าส่วนยอดและใบจะเล็กกว่าฝักปกติก็ตาม แต่การเกิดรากจากฝักโคงกางที่แบ่งเป็นส่วน ๆ ก็มีขนาดและจำนวนไม่ต่างจากรากที่เกิดจากฝักปกติ ดังนั้นการแบ่งฝักโคงกางใบเล็กออกเป็นส่วน ๆ แล้วนำไปปักชำ น่าจะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะนำไปใช้ในการขยายพันธุ์กล้าไม้โคงกางใบเล็กให้มีปริมาณมาก ๆ ได้