

Proceedings



รายงานสืบเนื่องการประชุม

การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13

THE 13th BOTANICAL CONFERENCE OF THAILAND

“ความเจริญงอกงามทางพฤกษศาสตร์ พัฒนาคคน พัฒนาชาติ เพื่อความยั่งยืน”

14 - 15 มิถุนายน 2562 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

งานวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13

หลักการและเหตุผล

จากการที่ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่มีความหลากหลายของชนิดพืชและพันธุกรรมพืชกว่า 10,000 ชนิด อีกทั้งยังมีระบบนิเวศที่มีความหลากหลายและเหมาะสมต่อการศึกษาศาสตร์พฤกษศาสตร์พืชนานาชนิด เป็นแหล่งผลิตอาหารสำคัญ หรือเรียกได้ว่าเป็นครัวของโลก ทำให้การอนุรักษ์ทรัพยากรพรรณพืช และการพัฒนาเพื่อเพิ่มผลผลิตจำเป็นต้องเป็นไปอย่างสมดุล และยั่งยืน จากความสำคัญที่กล่าวในขั้นต้น ทำให้ความเข้าใจในองค์ความรู้และงานวิจัยทางด้านพฤกษศาสตร์ จากในอดีตที่ผ่านมาได้เพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ

ด้วยคำขวัญของงานประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 ที่กล่าวว่า “ความเจริญงอกงามทางพฤกษศาสตร์ พัฒนาคน พัฒนาชาติ เพื่อความยั่งยืน” แสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตของงานวิจัยและการนำไปต่อยอด ที่มีมากขึ้นตามลำดับ นอกจากนี้การพัฒนาคนก็เป็นอีกสิ่งหนึ่งที่สำคัญ ซึ่งหมายถึงการสร้างนักวิจัยในสาขานี้ให้เพียงพอต่อการเจริญเติบโตในงานดังกล่าวมากขึ้น ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศที่พร้อมทั้งกำลังคนและทรัพยากรทางธรรมชาติแล้ว การผลิตดอกออกผลที่เกิดขึ้นจะสามารถส่งผลให้เกิดการพัฒนาชาติไปในด้านต่าง ๆ ได้อย่างยั่งยืนต่อไป ดังในความหมายที่พบอยู่ในตราสัญลักษณ์งานประชุมครั้งนี้ โดยมีดอกราชพฤกษ์เป็นตัวแทน เนื่องจากราชพฤกษ์ถือเป็นต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ โดยในตราดังกล่าวจะพบว่ามีกลีบดอก 5 กลีบที่เปรียบเสมือน กลุ่มงานวิจัยที่ถูกแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ในงานประชุมครั้งนี้ คือ 1. อนุกรมวิธาน สันฐานวิทยา และกายวิภาคศาสตร์ 2. ความหลากหลายทางชีวภาพและพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน 3. สรีรวิทยาและนิเวศวิทยา 4. พันธุศาสตร์ อนุชีววิทยา และเทคโนโลยีชีวภาพ และ 5. สาขาอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยเกสรทั้งเพศผู้และเพศเมียมีความหมายสื่อถึงความสามัคคี และการเจริญงอกงามของบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการทำงานทางด้านพฤกษศาสตร์ให้เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังที่แสดงไว้ในตราสัญลักษณ์

เนื่องในโอกาสครบรอบ 70 ปี ของการก่อตั้งภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในปี พ.ศ. 2562 ภาควิชาชีววิทยา จึงร่วมกับหน่วยงานต่าง ๆ เป็นเจ้าภาพจัดการประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 ขึ้นในวันที่ 14-15 มิถุนายน พ.ศ. 2562 ซึ่งคณะผู้จัดหวังว่าการประชุมวิชาการในครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ในการแลกเปลี่ยนความรู้ ประสบการณ์ และความคิดเห็น ระหว่างอาจารย์ นักวิจัย นักวิชาการ นักศึกษา นักเรียน และผู้สนใจในสาขาที่เกี่ยวข้องกับพฤกษศาสตร์ ตลอดจนก่อให้เกิดความร่วมมือทางวิชาการระหว่างสถาบันและบุคลากร เพื่อเสริมสร้างความเข้มแข็งของงานวิจัยด้านพฤกษศาสตร์ และเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืนของสังคมไทยบนฐานความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย

กองบรรณาธิการรายงานสืบเนื่องจากงานประชุมวิชาการระดับชาติ

งานประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13

- | | |
|---|---------------|
| 1. คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ | ที่ปรึกษา |
| 2. อาจารย์ ดร.วิทยา ผาคำ | บรรณาธิการ |
| 3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนิษฐาน ศรีนวล | รองบรรณาธิการ |

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

- | | |
|---|---------------|
| 4. รองศาสตราจารย์ ดร.อภิญา ชัยวิสุทธิทางกูร | กองบรรณาธิการ |
| 5. รองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉริยา รังษิรุจิ | กองบรรณาธิการ |
| 6. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ | กองบรรณาธิการ |
| 7. อาจารย์ ดร.รักษนก โคโต | กองบรรณาธิการ |
| 8. อาจารย์ ดร.นพนธิ ทองหิน | กองบรรณาธิการ |
| 9. นางสาวนพวรรณ หงส์ทอง | กองบรรณาธิการ |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

- | | |
|--|---------------|
| 10. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันติ วัฒนฐานะ | กองบรรณาธิการ |
|--|---------------|

มหาวิทยาลัยนเรศวร

- | | |
|--|---------------|
| 11. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุพันธ์ กงบังเกิด | กองบรรณาธิการ |
| 12. อาจารย์ ดร.กิตติศักดิ์ พุทธชาติ | กองบรรณาธิการ |

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

- | | |
|--|---------------|
| 13. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กมลหทัย แวงวาสิต | กองบรรณาธิการ |
|--|---------------|

มหาวิทยาลัยรามคำแหง

- | | |
|---------------------------------|---------------|
| 14. อาจารย์ ดร.ชัยวัฒน์ บุญเพ็ง | กองบรรณาธิการ |
|---------------------------------|---------------|

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

- | | |
|---|---------------|
| 15. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิโรจน์ เกษรบัว | กองบรรณาธิการ |
|---|---------------|

สารบัญ

ชื่อบทความ	หน้า
Selecting Temperature for Screening Heat Tolerance in 'Tavee 60' Chili Seedlings.....	1
ผลของ IBA ต่อการออกราก และการแตกยอดของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย (<i>Gymnanthemum extensum</i> (Wall. ex DC.) Steetz).....	11
Manganese Toxicity in Yeast (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) and an Aquatic Angiosperm (<i>Lemna minor</i>).....	18
ความหลากหลายของพรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ.....	36
การใช้สารละลายป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งของพืชบางชนิดสำหรับเก็บรักษาเมล็ดบัวสายสีขาว (<i>Nymphaea pubescens</i> Willd.) ในสภาพโรงเรือน.....	53
A preliminary study of selected <i>Leptolejeunea</i> (Spruce) Steph. (Lejeuneaceae, Marchantiophyta) in Northern Thailand.....	63
อิทธิพลของแสงต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของขุ่น 5 พันธุ์ปลูก.....	72
การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นและการตรวจสอบสารพิษเคมีของสารสกัดจากกันเกรา (<i>Fagraea fragrans</i> Roxb.).....	81
อิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของไรโซมกล้วยไม้จุฬาลัน (<i>Cymbidium ensifolium</i> (L.) Sw.) ในสภาพปลอดเชื้อ.....	89
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ.....	97
ความสัมพันธ์ของความมากชนิดและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ในชนิดของถิ่นที่อยู่ แตกต่างกัน.....	107
การระบุไลเคนชนิดทนทานบนต้นปาล์มฟอกซ์เทลและวิเคราะห์ค่าดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศ บริเวณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.....	124
การศึกษาการสะสมโลหะหนักในแทลลัสไลเคนชนิด <i>Dirinaria picta</i> บริเวณสถานศึกษา และสวนสาธารณะในจังหวัดมหาสารคาม.....	135

Selecting Temperature for Screening Heat Tolerance in 'Tavee 60' Chili

Seedlings

Nutkamol Masepan¹, Weerasin Sonjaroon^{2,4}, Katarut Chusreeaeom³, Srisom Suwanwong¹ and Ornusa Khamsuk^{1*}

Abstract

Crop yield has been affected by unfavorable growth conditions. This study aimed to find temperature for screening heat-tolerant chili pepper (*Capsicum annuum*) mutated by gamma radiation. Two-month-old seedlings were grown in the growth chamber at four temperature treatments as 27 (control), 34, 36 and 40°C for 7 days. Leaf temperature (LT), non-photochemical quenching (qN), photochemical efficiency of PSII (Fv/Fm) and electron transport rate (ETR) were determined. The results showed that leaf temperature of control plants was lower than other treatments. The qN tended to increase according to the higher temperature treatments. Fv/Fm ratio and ETR of seedlings under 40°C treatment were lower than the others. In addition, under 40°C, seedlings displayed the injury symptom after 4 days and died after 7 days. These levels of injury symptoms lead to the new qualitative parameter for future work called 'injury index'. In conclusion, the seedlings at 40°C treatment were different from the control based on Fv/Fm. In order to get the new improved cultivar, the temperature at 40 °C and Fv/Fm were selected for the future heat-tolerant screening of chili pepper seedlings mutated by gamma irradiation.

Keywords: *Capsicum annuum* L., heat tolerance, leaf temperature, chlorophyll fluorescence

¹ Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

² Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

³ Department of Applied Radiation and Isotope, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

⁴ Center of Thai-French Cooperation on Higher Education and Research, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

* Corresponding author, e-mail: fsciosk@ku.ac.th

Introduction

Based on a global warming study, the temperature has continuously increased by 0.8°C since 1880. Previous study also reported that the average temperature has been predicted to increase twice in the next 50 years [1]. High temperature affected both indirectly and directly to the plants. The former, indirect effect which associated water status, plants might deficit water because of the higher evaporation. High transpiration rates and low plant water potentials are results of the evaporative demand that increases with increases in day-time [2]. The latter is directly effects to the plant cells. When the external temperature increases, it leads to an increase of tissue temperature inside the plant body. Plants might display withered leaves, burning and falling along with the inhibited growth of shoot and root [3]. Moreover, this high temperature affected protein denaturation and membrane plasticity causing an electrolyte leakage and some damaged mechanisms such as photosynthesis and electron transport chain which the component of PSII located in the thylakoid membranes of chloroplast and membrane properties [4-6]. So, high temperature relates to every stages of plant development. For example, the germination of lettuce seeds were inhibited when recieved 1°C higher [7]. During the vegetative stage, high temperature reduced photosynthesis and carbon dioxide assimilation rates compared to the optimal temperature [4]. In addition, chlorophyll content and relative water content of wheat seedlings were induced under 38°C [8]. Many plants such as cowpea, tomato, cotton and rice were reported the injury from heat stress on the reproductive stage. Reproductive development of these plant was damaged by high temperature including the absence of flower and seed production [9, 10].

Chili pepper is one of the important economic plants in Thailand. The value of chili product export is more than 400 million baht in 2016. However, most of yields are consumed only in the country in which some seasons the chili yield was lack due to the unfavourable growth condition. High temperature is a crucial factor that reduces yield of chili pepper because of heat stress. Furthermore, it is difficult to control the temperature under the field condition. Therefore, heat-tolerant plants may be key for future agriculture. This study aims to select the optimum temperature and parameters for screening heat tolerance in chili pepper.

Materials and Methods

Plant materials and growth conditions

The 'Tavee 60' chili pepper seeds were grown in soil mixed with coconut shell's hair in seedling tray under open greenhouse condition (average temperatures of 33/27 °C for 12 h day/12 h night, a photosynthetic photon flux density (PPFD) of 657 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and an average relative humidity of 70–80% for 5 days with plant data collected by a Watchdog 1450 datalogger). Seedlings were transplanted to the pot at 4 weeks after sowing. Then, 8-week-old seedlings were transferred to the growth chamber (5400R, Contherm, USA) under 4 temperature treatments as 27, 34, 38 and 40°C (70% humidity and light 180 μE for 16 hours). The experiment had 5 replications per treatments and designed with a complete randomized design (CRD).

Measurement of leaf temperature (LT)

LT is a parameter that used to indicate the ability of plant coping with high temperature [11]. The third fully expanded leaf from shoot was measured. LT was measured accompanied chlorophyll fluorescence using PAM-2500 portable fluorometer (Walz, Effeltrich, Germany).

Measurement chlorophyll fluorescence

Chlorophyll fluorescence was measured by PAM-2500 portable fluorometer (Walz, Effeltrich, Germany). The third mature leaves from shoot tip were dark adapted with a leaf clip for 30 minutes. A red light emitting diode with PAR $0.1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($\lambda=650 \text{ nm}$) was used as first irradiated the initial fluorescence (F_o) in non-photosynthesis. A 0.8 s saturation pulse of PAR $9000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ was imposed onto the leaf to determine the maximum fluorescence (F_m). Then, the variable fluorescence (F_v) was calculated as $F_v = F_m - F_o$ and the maximal photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m) was calculated from the formula $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ [12, 13]. Next, the steady-state fluorescence (F_s) was recorded, the saturated pulse light was emitted to measure the maximum fluorescence of the light-adapted leaves (F_m'). The minimum fluorescence of the light-adapted leaves (F_o') was recorded when the actinic light was turned off [14]. The actual photochemical efficiency of PSII (Φ_{PSII}) was calculated from the formula $(F_m' - F_s)/F_m'$ and electron transport rate (ETR) was calculated as $\Phi_{\text{PSII}} \times \text{PPF} \times 0.5 \times 0.84$ [15, 16]. The coefficient of non-photochemical quenching (qN) of variable fluorescence was calculated from the formula $qN = (F_m - F_m')/(F_m - F_o')$ [17].

Results

Leaf temperature

LT was examined from the mature leaves. The result showed that plants under heat stress displayed high LT of seedlings grown at 27°C, was $31.96 \pm 0.22^\circ\text{C}$. While the seedlings under 34, 38 and 40°C showed significantly higher LT as compared to the control (32.64 ± 0.16 , 32.98 ± 0.38 and $32.78 \pm 0.35^\circ\text{C}$, respectively). These 3 heat treatments were not significantly different from each other (Fig. 1).

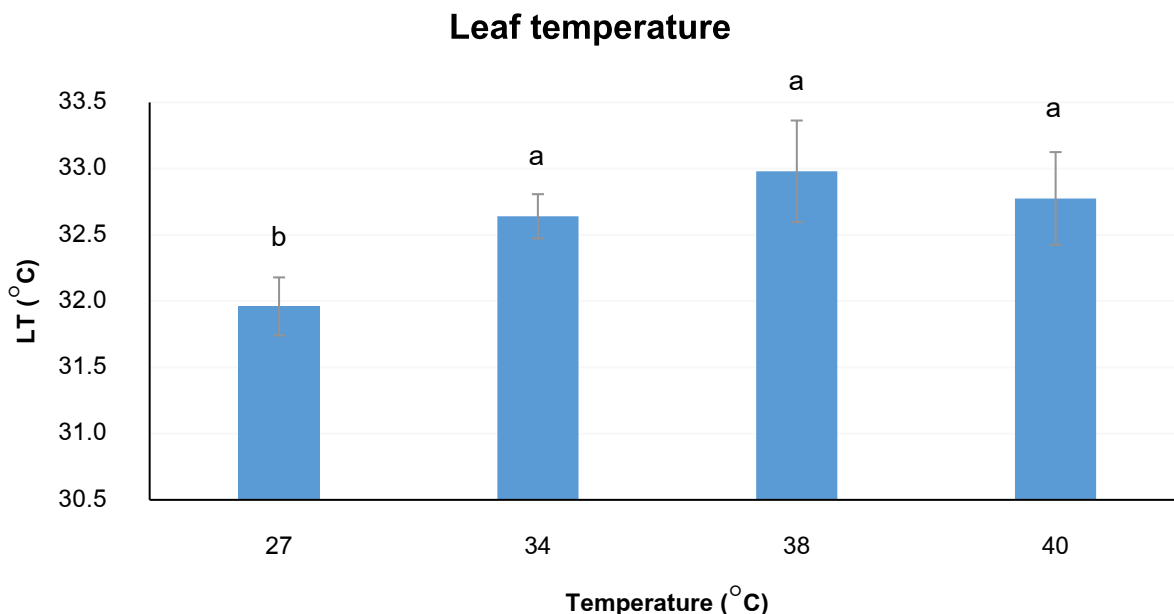


Fig. 1 Effects of different temperatures on leaf temperature of 'Tavee 60' chili pepper seedlings. Data are means±SD of five replications. The same letters indicate no significant difference at $p < 0.05$

Non-photochemical quenching

The qN of seedlings grown under high temperature treatment at 34, 38 and 40°C were 0.65 ± 0.03 , 0.67 ± 0.11 and 0.81 ± 0.07 , respectively. While qN of the control seedlings was 0.74 ± 0.07 . The data revealed that qN of 34, 38 and 40°C treatments were not significantly different from the control. However, qN of heated seedlings in 40°C treatment was significantly higher than that of seedlings in 34°C treatment (Fig. 2).

Photochemical efficiency

Our data showed that Fv/Fm ratio was obviously decreased in severe high temperature. Fv/Fm ratio in seedlings grown at 34 and 38°C were 0.74 ± 0.01 and 0.70 ± 0.02 , respectively. Fv/Fm ratio in 27, 34 and 38°C treatments were not significantly different among the treatments. On the other hand, plants grown at 40°C showed a lower Fv/Fm ratio (0.61 ± 0.04), which was lower than other heat treatments (Fig. 3).

Electron transport rate

The result showed that high temperature affected the ETR. The ETR values of the heat-induced plants were 8.4 ± 2.5 and 11 ± 2.9 in 34 and 38°C treatments, respectively. In addition, the ETR of the control plants grown under normal treatment was 10 ± 2.6 . The data also showed that the ETR value in 40°C treatment (1.25 ± 1.5) was greatly lower than the others (Fig. 4).

Non-Photochemical quenching

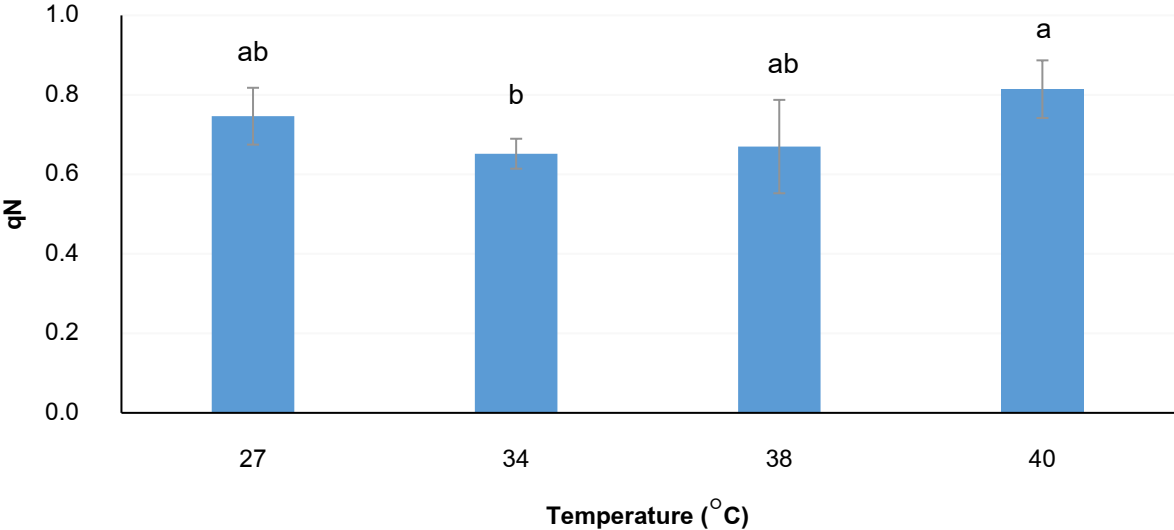


Fig. 2 Effects of different temperatures on non-Photochemical quenching of 'Tavee 60' chili pepper seedlings. Data are means±SD of five replications. The same letters indicate no significant difference at p<0.05

Photochemical efficiency

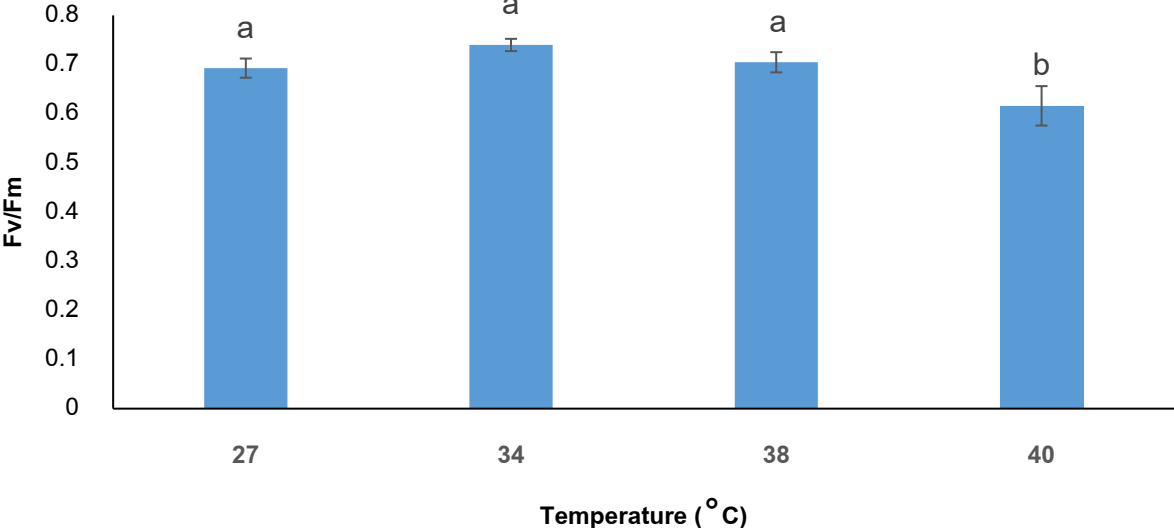


Fig. 3 Effects of different temperatures on photochemical efficiency of 'Tavee 60' chili pepper seedlings. Data are means±SD of five replications. The same letters indicate no significant difference at p<0.05

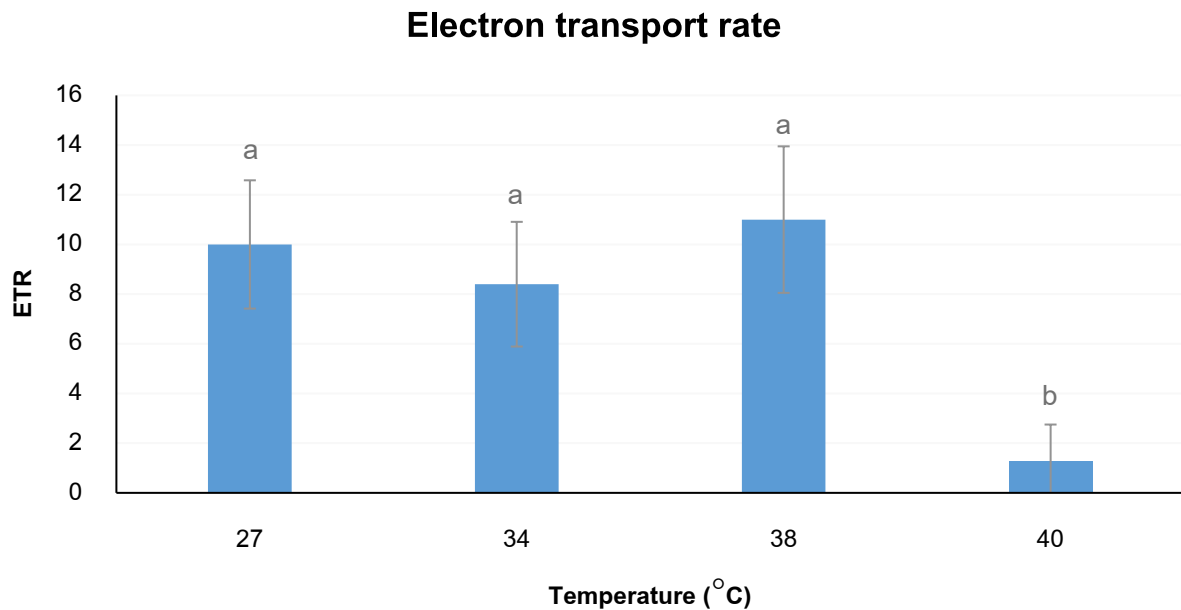


Fig. 4 Effects of different temperatures on electron transport rate of 'Tavee 60' chili pepper seedlings. Data are means±SD of five replications. The same letters indicate no significant difference at $p < 0.05$

Conclusion and Discussion

According to the results, LT of high temperature treatments were higher than the control. It suggested that high temperature might reduce ability of heat disposal inside the leaves. For example, when plants undergo heat stress, plants normally cool their leaves by transpiration through the stomata. Evaporative cooling may help the plants survive in high temperature, but this mechanism requires sufficient water supply. High temperature condition may reduce water in soil, so plants will difficulty use this mechanism to cope with heat stress [18]. In addition, the dehydration was induced led to stomatal closure to prevent water loss, resulting in higher leaf temperature [19]. However, these LT values under high temperature conditions were not significantly different among the treatments. Because of the restriction of growth chamber size, so the seedlings were determined outside of the growth chamber. This might cause rapid cool down of leaf temperature during measurement.

The qN is non-photochemical quenching of variable fluorescence. It indicates the process of non-photochemical during the period of light which dissipated the excited energy as thermal dissipation. Furthermore, qN related to pH-gradient build-up, ATP-synthesis regulation, inactivation of reaction centers and conformational changes within thylakoid membranes [17]. According to our study, the trend of qN was increased when temperature was increased. It might be possible that heat stress damaged the photosynthetic system, such as the permeability of thylakoid membranes and proteins. Therefore, the photochemical quenching was decreased leading to the increased non-photochemical quenching. In agreement with some studies such as wheat, qN was increased when the temperature increased [20]. However, the previous studies suggested that qN is a sensitive parameter adjusting rapidly during stress [21]. The lowest qN value

of this study at 34°C can be described as a decreased qN because plants dissipated energy by non-photochemical at the same time as the proportion of open reaction centers was increased [11].

Photosynthesis is a sensitive process under the high temperature. It can be inhibited by heat before other symptoms are detected. The high temperature effects on PSII have been estimated by the parameters as Fo, Fm and Fv/Fm. In our study, the reduction of Fv/Fm due to the increased temperature suggested that efficiency of PSII photochemistry was reduced in the heated seedlings. The result was in agreement with some plants such as wheat [20], barley [22] and tomato [23], which the Fv/Fm values were decreased under heat stress. It might be possible that heat stress damaged membrane and proteins, including enzymes, which affected photosynthetic apparatus and photosynthetic pathway [5, 6].

According to this study, the ETR values of the heat-induced plants showed the similar trend as Fv/Fm, which the values in 40°C treatment was lower than the others. ETR was decreased because the photosynthetic system was damaged by heat, especially PSII which is indicated as the primary site of heat damage to electron transport of photosynthetic process. Therefore, under high temperature, the ETR value which one of the most thermosensitive was decreased [24]. The result from this study was in agreement with *Brassica* plants, which ETR value was reduced under heat stress [25]. This data supported that the photosynthesis in seedlings was affected under high temperature.

Based on the data, the increase of LT and qN, as well as the decrease of Fv/Fm and ETR were due to high temperature. It suggested that high temperature affected photosynthesis of the seedlings. Our data was in agreement with many plants, such as wheat [20], rice [26] and tomatoes [22] under heat stress condition. The increasing of temperature caused increased LT and cell components, leading to thermal stability of membrane and proteins, including thylakoid membrane and photosynthetic enzymes. Therefore, photosynthesis was interrupted and affected to qN, Fv/Fm and ETR values. In addition, high temperature affected to morphology of seedlings as well. From the results, under 27, 34, 38 and 40°C the seedlings could survive more than 7 days. But only at 40°C, the seedlings displayed the injury symptoms after 4 days as wilted young leaves, leaf necrosis, fall leaf and died in later within 7 days (Fig. 5).

In our study, the chlorophyll fluorescence parameters of the seedlings at 40°C treatment is quite different from the controls. Therefore, the temperature at 40 °C was selected for the future screening of heat tolerance in chili pepper seedlings because this temperature level was the lowest temperature causing the heat stress symptoms. Moreover, these injury symptoms were used to generate an injury index. The injury levels were scored as 0 = not showed injury, 1 = young leaves wilted and/or some leaf necrosis, 2 = many leaves wilted and 3 = all leaves wilted (Fig. 6).

The results of Fv/Fm and ETR were the most obvious parameters showing the difference between the control and the heated seedlings. Previous study suggested that ETR must be used carefully, especially under the stress conditions because this value is sensitive. It might be changed if the chlorophyll content was decreased [27]. While Fv/Fm ratio was reported that it could be used as an early indicator of heat tolerance in tomato [22]. Therefore, Fv/Fm was selected to determine heat tolerance in chili pepper seedlings.

In conclusions, high temperature can affected the chili seedlings indicated by the increased LT and qN and the decreased Fv/Fm and ETR. For our future work, the chili pepper seedlings mutated by gamma ray irradiation will be screened for heat tolerance at 40 °C and Fv/Fm and injury index will be used as primary indicators.



Fig. 5 Effects of different temperatures on injury symptoms of 'Tavee 60' chili pepper seedlings in 7 days



Fig. 6 Injury index levels (relates to revealed injury symptoms)

References

1. Field, C.B., Barros, V., Stocker, T.F., Qin, D., Dokken, D.J., Ebi, K.L., Mastrandrea, M.D., Mach, K.J., Plattner, G.K., Allen, S.K., Tignor, M., and Midgley, P.M. (2007). Managing the risks of extreme events and disasters to advance climate change adaptation. Cambridge. Cambridge University Press. p. 1-19.
2. Hall, A.E. (2001). Crop responses to environment. Florida. CRC Press LLC.
3. Omae, H., Kumar, A. and Shono, M. (2012). Adaptation to high temperature and water deficit in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the reproduction period. *Journal of Botany*, 2012, 1-6.
4. Al-Khatib, K. and Paulsen, G.M. (1999). High-temperature effects on photosynthetic processes in temperate and tropical cereals. *Crop Science*, 39, 119-125.
5. Taiz, L. and Zeiger, E. (2006). Plant Physiology. 4th edition. Massachusetts. Sinauer Associates Inc.
6. Feng, B., Liu, P., Li, G., Dong, S.T., Wang, F.H., Kong, L.A. and Zhang, J.W. (2014). Effect of heat stress on the photosynthetic characteristics in flag leaves at the grain-filling stage of different heat-resistant winter wheat varieties. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 200, 143-155.

7. Argyris, J., Truco, M.J., Ochoa, O., Knapp, S.J., Still, D.W., Lenssen, G.M., Schut, J.W., Michelmore, R.W. and Bradford, K.J. (2005). Quantitative trait loci associated with seed and seedling trait in *Latuca*. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 1365-1376.
8. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M.M. and Fujita, M. (2012). Exogenous nitric oxide alleviates high temperature induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings by modulation the antioxidant defense and glyoxalase system. *Australian Journal of Crop Science*, 6(8), 1314-1323.
9. Hall, A.E. (1992). Breeding for heat tolerance. *Plant Breeding Reviews*, 10, 129-168.
10. Kuo, C.G. (1993). Adaptation of food crops to temperature and water stress, taiwan. asian vegetable research and development center. p. 271-284.
11. Pastenes, C. and Horton, P. (1996). Effect of high temperature on photosynthesis in beans. *Plant Physiology*, 112, 1245-1251.
12. van Kooten O., Snel J.F.H. (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, 25, 147-150.
13. Demmig-Adams, B. and Adams, W.W. III. (1996). Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta*, 198, 460-470.
14. Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., and Knapp, M. (2005). How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RFd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica*, 43, 379-393.
15. Bilger, W. and Björkman, O.B. (1990). Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research*, 25, 173-185.
16. Krall, J.P. and Edwards, G.E. (1992). Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Physiologia Plantarum*, 86, 180-187.
17. Brestic, M. and Zivcak, M. (2013). PSII fluorescence technique for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: Protocols and applications. *Molecular Stress Physiology of Plants*, 87-131.
18. Urban, J., Ingwers, M.W., McGuire, M.A. and Teskey, R.O. (2017). Increase in leaf temperature opens stomata and decouples net photosynthesis from stomatal conductance in *Pinus taeda* and *Populus deltoides x nigra*. *Journal of Experimental Botany*, 68, 1757-1767.
19. Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Plant Science*, 11(1), 15-19.
20. Lu, C.M. and Zhang, J.H. (2000). Heat-induce multiple effects on PSII in wheat plants. *Journal of Plant Physiology*, 156, 259-265.
21. Lichtenthaler, H.K. (1988). Applications of chlorophyll fluorescence. Dordrecht. Kluwer Academic. p. 143-149.
22. Kalaji, H.M. and Guo, P. (2008). Chlorophyll fluorescence: A useful tool in Barley plant breeding programs. *Photochemistry Research Progress*, 448-471.
23. Zhou, R., Yu, X., Kjaer, K.H., Rosenqvist, E., Ottosen, C. and Wu, Z. (2015). Screening and validation of tomato genotypes under heat stress using Fv/Fm to reveal the physiological mechanism of heat tolerance. *Environment and Experiment Botany*, 118, 1-11.
24. Heckathorn, S.A., Downs, C.A., Sharkey, T.D. and Coleman, J.S. (1998). The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem ii electron transport during heat stress. *Plant Physiology*, 116, 439-444.
25. Diaz, M., De Haro, V., Munoz, R. and Quiles, M.J. (2007). Chlororespiration is involved in the adaptation of *Brassica* plants to heat and high light intensity. *Plant, Cell and Environment*, 30, 1578-1585.
26. Han, F., Chen, H., Li, X.J., Yang, M.F., Liu, G.S. and Shen, S.H. (2009). A comparative proteomic analysis of rice seedlings under various high-temperature stresses. *Biochem Biophys Acta Proteins Proteomics*, 1794, 1625-1634.
27. Tozzi, E.S., Easlon, H.M. and Richards, J.H. (2013). Interactive effect of water, light and heat stress on photosynthesis in Fremont cottonwood. *Plant, Cell and Environment*, 36, 1423-1434.

ผลของ IBA ต่อการออกราก และการแตกยอดของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย (*Gymnanthemum extensum* (Wall. ex DC.) Steetz)

ทองเพชร จิตตะบุปผา¹ และ อติศักดิ์ จูมวงษ์^{1*, 2}

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของ IBA ต่อการออกรากและแตกยอดของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย ใช้กิ่งหนานเฉาเหว่ยจากสวนเกษตรกร ในจังหวัดเชียงใหม่ นำมาตัดกิ่งชำให้มีขนาดยาว 25 เซนติเมตร จุ่มส่วนโคนของกิ่งปักชำในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 500, 1,000, 2,000 และ 3,000 ppm นำไปเพาะในถุงเพาะชำ ณ เรือนเพาะชำสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ดินผสมขี้เถ้า แกลบอัตราส่วน 3 ต่อ 1 เป็นวัสดุเพาะชำในช่วงเดือนตุลาคม ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2561 การวางแผนเป็นการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ (CRD) บันทึกผลใน 30 วัน ของการทดลอง ผลการทดลอง พบว่า ชุดทดสอบกิ่งปักชำที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 1,000, 2,000 และ 3,000 ppm มีร้อยละการออกรากสูงสุด คือ ร้อยละ 100.00 ส่วนชุดควบคุมกิ่งปักชำที่ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (IBA 0 ppm) และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 500 ppm มีการออกรากร้อยละ 93.33 การใช้ IBA ทุกความเข้มข้นมีจำนวนรากต่อกิ่งเฉลี่ยมากกว่ากิ่งปักชำที่ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต การใช้ IBA ที่ความเข้มข้น 3,000 ppm มีจำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และความกว้างรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 50 รากต่อกิ่ง 8.60 เซนติเมตร และ 1.67 มิลลิเมตรตามลำดับ การใช้ IBA ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm มีร้อยละการแตกยอดเฉลี่ย จำนวนยอดต่อกิ่ง จำนวนใบ ความกว้างของใบ และความยาวของใบสูงที่สุด คือ ร้อยละ 100.00 2.77 ยอดต่อกิ่ง 6.52 ใบ 3.63 เซนติเมตร และ 5.93 เซนติเมตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : หนานเฉาเหว่ย, กรดอินโดล-3-ปิวิทรिक, ปักชำ, การออกราก

¹ สาขาสหวิทยาการเกษตร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: adisakjoowong@gmail.com

Effect of IBA on Rooting and Shooting of Bitter leaf Tree Cutting Stem (*Gymnanthemum extensum* (Wall. ex DC.) Steetz)

Thongphet Chittabuppha¹ and Adisak Joomwong^{1,2*}

Abstract

The effects of IBA on rooting and shooting of the bitter leaf tree (*Gymnanthemum extensum*) cutting stem were investigated. The stems were obtained from a private garden in Chiang Mai Province. The 25-cm long cutting stems were dipped into distilled water (control) and IBA with 500, 1000, 2000, and 3000 ppm concentrations for about 30 minutes and planted in plastic bags in the plant nursery (Division of Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai) from October to November of 2018. The growth medium contained soil and rice hull ash in the 3:1 (v/v) ratio. The experiment was performed in a completely randomized design (CRD), and the data were collected over the course of 30 days. The result showed that the cutting stem treated with IBA at 1000, 2000, and 3000 ppm achieved the highest percentage of rooting at 100.00%, while the control and the 500-ppm IBA treatment yielded 93.33% of rooting. Interestingly, compared to the control, all of the IBA treatments led to higher numbers of the average number of roots per cutting. Specifically, the 3000-ppm IBA treatment yielded the highest average number of roots per cutting (50 roots per cutting), the average root length (8.60 cm), and the average root width (1.67 mm). The 2000-ppm IBA treatment, on the other hand, yielded the highest percentage of axillary shoot outgrowth (100.00%), the average number of axillary shoot outgrowth per cutting (2.77 shoots per cutting), the average number of leaves (6.52 leaves), and the average leaf width and length (3.63 cm and 5.93 cm, respectively).

Keywords: *Gymnanthemum extensum*, indole-3-butyric acid, cutting, rooting

¹ Division of Interdisciplinary Agriculture, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai 50290

² Division of Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290

* Corresponding author, e-mai: adisakjoomwong@mail.com

บทนำ

หนานเฉาเหว่ย (Bitter leaf tree) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gymnanthemum extensum* อยู่ในวงศ์ Asteraceae [13] มีชื่อสามัญไทยว่า "ป่าช้าเหงา" "ป่าช้าหอมอง" หรือชื่ออื่นๆ เช่น ป่าเหว้หอมอง หนานเฉาเหว่ย หนานเพยเฉา หนานเพยชู่ [8] มีการกระจายพันธุ์ตั้งแต่ทางตอนใต้ของประเทศจีน (ก๊วยโจว ยูนนาน) ประเทศอินเดีย (สิกขิม ดาร์จีริง มานิเปออร์) ประเทศเนปาล ประเทศภูฏาน ประเทศเมียนมาร์ (รัฐฉาน) และประเทศไทย [11] หนานเฉาเหว่ยเป็นไม้ยืนต้นสูงประมาณ 6 – 8 เมตร ใบออกสลับ มีรูปรี ปลายแหลม โคนบ้านเกือบมน ใบอ่อนและใบแก่ มีรสขมจัด ดอกมีสีขาว ออกตามซอกใบ และปลายยอด มีตาสีขาวตรงข้อของลำต้น ผลมีรูปทรงกลม และมีเมล็ด การขยายพันธุ์สามารถทำได้โดยการเพาะเมล็ดและการปักชำกิ่ง การเพาะเมล็ดไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็กมาก ทำให้ไม่สะดวกในการเพาะ รวมถึงใช้เวลานานในการงอกของเมล็ดประมาณ 2 – 3 สัปดาห์ หนานเฉาเหว่ยจัดเป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคและเกษตรกร จึงมีความต้องการของตลาด การปักชำกิ่งเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่นิยม สะดวกและรวดเร็วในการขยายพันธุ์จำนวนมากเพื่อการค้า [9] การปักชำมีวิธีการไม่ยุ่งยาก แต่มักพบปัญหาการออกรากได้ช้าและรากจำนวนน้อย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชประเภทออกซิน เช่น IBA (Indole-3-butyric acid) และ NAA (1-naphthylacetic acid) ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นการเกิดรากของกิ่งปักชำเพื่อการผลิตกิ่งปักชำที่มีคุณภาพดี [2, 7, 10] ปัจจุบันยังมีข้อมูลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกับการปักชำกิ่งหนานเฉาเหว่ยในวงจำกัด จึงทำการวิจัยเพื่อศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกรดอินโดล-3-บิวทีริก (Indole-3-butyric acid, IBA) ต่อการออกรากและแตกยอดของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการเบื้องต้นในการทำการขยายพันธุ์กิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ยต่อไป

วิธีการทดลอง

การวางแผนการทดลอง

ศึกษาผลของ IBA ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ต่อการเกิดรากและยอดของหนานเฉาเหว่ย ด้วยวิธีการปักชำกิ่งพันธุ์ มีแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) แบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ๗ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 กิ่ง ประกอบด้วย ชุดการทดสอบที่ 1 คือน้ำกลั่น (ควบคุม) ชุดการทดสอบที่ 2 คือ IBA ความเข้มข้น 500 ppm ชุดการทดสอบที่ 3 คือ IBA ความเข้มข้น 1,000 ppm ชุดการทดสอบที่ 4 คือ IBA ความเข้มข้น 2,000 ppm และชุดการทดสอบที่ 5 คือ IBA ความเข้มข้น 3,000 ppm

การเตรียมกิ่งปักชำ

นำกิ่งหนานเฉาเหว่ยจากสวนเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ โดยเลือกกิ่งพันธุ์ที่เป็นยอดกิ่งกิ่งแก่กิ่งอ่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 – 1.2 เซนติเมตร มีความสมบูรณ์ของกิ่งใกล้เคียงกัน ความยาวของกิ่งประมาณ 25 เซนติเมตร ทำการตัดยอด ใบอ่อน และปลิดส่วนใบออก ตัดโคนกิ่งได้ข้อเล็กน้อยให้เฉียงประมาณ 45 องศา กรีดบริเวณโคนกิ่งในแนวตั้ง 3 – 4 รอย นำไปแช่ในสารละลายความเข้มข้นต่างๆ

การแช่กิ่งปักชำ

นำกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ยมาแช่ลงในน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม (Control) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นระดับต่างๆ ด้วยวิธีการจุ่มปลายกิ่งด้านโคนลงในสารละลายที่เตรียมไว้ เป็นเวลาประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นนำกิ่งที่แช่สารละลายแล้วไปผึ่งให้แห้งประมาณ 10 นาที แล้วจึงนำไปปักชำในถุงเพาะชำที่เตรียมไว้

การเตรียมวัสดุปักชำ

เตรียมวัสดุปักชำโดยใช้ดินผสมซีเมนต์กับแกลบอัตราส่วน 3 : 1 โดยปริมาตร ทำการผสมวัสดุเพาะชำให้คลุกเคล้ากัน จากนั้นเตรียมวัสดุเพาะชำลงในถุงเพาะชำขนาด 4 นิ้ว × 7 นิ้ว ให้เต็มถุง

การดูแลรักษา

นำกิ่งปักชำในถุงเพาะชำทุกชุดการทดลองไปไว้ในโรงเรือนที่ได้รับแสงแดดในช่วงกลางวัน ทำการรดน้ำทุกวัน เพื่อรักษาระดับความชื้นให้สม่ำเสมอ จนครบระยะเวลาการทดลอง 30 วัน ทำการเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลองดังต่อไปนี้ คือ ร้อยละการออกรากของกิ่งปักชำ จำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่ง ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) ความกว้างรากเฉลี่ย (มิลลิเมตร) จำนวนยอดต่อกิ่ง ความกว้างและยาวของใบ (เซนติเมตร) และร้อยละการรอดตายในระยะ 30 วันของการทดลอง

โดยที่หลังจากทำการบันทึกผลครบแล้วให้ทำการย้ายกิ่งปักชำลงปลูกในวัสดุปลูกซึ่งมีส่วนผสมของดิน: ปุ๋ยคอก: ซีเมนต์แกลบ: อินทรีย์วัตถุ อัตราส่วน 1: ½: ½: ½ โดยปริมาตร นำไปไว้ในโรงเรือน และรดน้ำทุกวัน บันทึกผลร้อยละการรอดตายหลังย้ายปลูก 3 สัปดาห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) โดยวิธีการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 21

ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของ IBA ต่อการเกิดรากและยอดในกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย มีผลการทดลองดังนี้ ร้อยละการออกรากของกิ่งปักชำหลังปักชำ 30 วันพบว่า ชุดควบคุมและทุกชุดทดสอบมีการออกรากทั้งหมด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดทดสอบ IBA ความเข้มข้น 1,000, 2,000 และ 3,000 ppm มีร้อยละการออกรากสูงที่สุด คือ ร้อยละ 100.00 ส่วนชุดควบคุมและชุดทดสอบ IBA ความเข้มข้น 500 ppm มีร้อยละการออกราก 86.67 และ 93.33 ตามลำดับ จำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย IBA ทุกความเข้มข้นมีจำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่งมากกว่าชุดควบคุม ชุดทดสอบ IBA ความเข้มข้น 3,000 ppm มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่งสูงที่สุดคือ 50.00 รากต่อกิ่ง รองลงมา คือ IBA ความเข้มข้น 2,000 ppm, 1,000 ppm และ 500 ppm มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่ง คือ 49.18 42.18 33.64 รากตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีจำนวนรากเฉลี่ยต่ำสุด คือ 18.33 ราก ความยาวรากเฉลี่ยในชุดควบคุมและทุกชุดการทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดทดสอบ IBA ความเข้มข้น 3,000 ppm มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดคือ 8.60 เซนติเมตร ความกว้างของรากเฉลี่ยในชุดควบคุมและทุกชุดการทดสอบมีค่าใกล้เคียงกัน และไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าความกว้างของรากเฉลี่ยของชุดควบคุมและชุดทดลอง IBA ความเข้มข้นต่างๆ มีค่าระหว่าง 1.30 - 1.67 มิลลิเมตร (ตาราง 1)

ตาราง 1 ร้อยละการออกราก จำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่ง ความยาวราก ความกว้างรากของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย หลังจากปักชำ 30 วัน

IBA (ppm)	ร้อยละของกิ่งที่		ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	ความกว้างราก เฉลี่ย (มม.)
	ออกราก	จำนวนรากต่อกิ่ง เฉลี่ย		
0 ppm	86.67 ^c	18.33 ^d	5.26 ^d	1.30
500 ppm	93.33 ^b	33.64 ^c	6.36 ^c	1.36
1,000 ppm	100.00 ^a	42.18 ^b	7.99 ^b	1.40
2,000 ppm	100.00 ^a	49.18 ^a	8.54 ^a	1.56
3,000 ppm	100.00 ^a	50.00 ^a	8.60 ^a	1.67

ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (DMRT)

ผลของ IBA ต่อการแตกยอดของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย พบว่า ร้อยละของกิ่งที่ออกยอดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีอัตราการแตกยอดร้อยละ 93.33 – 100 จำนวนยอดต่อกิ่งเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ยต่อกิ่ง ความกว้างของใบเฉลี่ย และความยาวของใบเฉลี่ยของชุดทดสอบ IBA ทุกความเข้มข้นมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย IBA ความเข้มข้น 2,000 ppm มีจำนวนยอดต่อกิ่งเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ยต่อกิ่ง ความกว้างของใบเฉลี่ย และความยาวของใบเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 2.77 ยอด 6.52 ใบ 3.63 เซนติเมตร และ 5.93 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตาราง 2)

ตาราง 2 ร้อยละของกิ่งที่ออกยอด จำนวนยอดต่อกิ่ง จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย หลังจากปักชำ 30 วัน

IBA (ppm)	ร้อยละของ กิ่งที่ออก ยอด	จำนวนยอด/ กิ่งเฉลี่ย	จำนวนใบ/กิ่ง เฉลี่ย	ความกว้าง ใบเฉลี่ย (ซม.)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม.)
0 ppm	93.33 ^b	1.53 ^c	5.27 ^b	2.81 ^b	2.98 ^d
500 ppm	93.33 ^b	2.00 ^b	5.60 ^{ab}	3.17 ^a	3.44 ^c
1,000 ppm	100.00 ^a	2.33 ^b	6.00 ^a	2.79 ^b	3.71 ^c
2,000 ppm	100.00 ^a	2.77 ^a	6.52 ^a	3.63 ^a	5.93 ^a
3,000 ppm	93.33 ^b	2.43 ^a	5.74 ^{ab}	2.96 ^b	4.81 ^b

ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (DMRT)

ร้อยละการรอดชีวิตของกิ่งปักชำที่ระยะเวลา 30 วัน พบว่า ชุดทดสอบ IBA ความเข้มข้น 1,000 ppm, 2,000 ppm และ 3,000 ppm มีค่าร้อยละการรอดชีวิตของกิ่งปักชำ คือ ร้อยละ 100 ส่วนชุดควบคุม และ IBA ความเข้มข้น 500 ppm มีร้อยละการรอดชีวิตต่ำกว่าคือ ร้อยละ 93.33 ส่วนร้อยละการรอดชีวิตของกิ่งปักชำหลังจากการย้ายปลูก 3 สัปดาห์ พบว่าในชุดควบคุมและทุกชุดทดสอบมีร้อยละการรอดชีวิต 100

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อร้อยละการออกรากของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย พบว่าชุดควบคุมและทุกชุดทดสอบสามารถชักนำการออกรากของกิ่งปักชำได้ โดยที่ชุดทดสอบ IBA ทุกระดับความเข้มข้น มีการออกรากร้อยละ ส่วนชุดควบคุมมีร้อยละการออกราก ร้อยละ 86.67 ซึ่งการออกรากมากกว่าร้อยละ 80 จัดอยู่ในเกณฑ์ดี ทั้งนี้เนื่องจากกิ่งปักชำมีออกซินปริมาณที่เพียงพอในการกระตุ้นการออกราก และช่วงทำการทดลองมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน มีอุณหภูมิไม่ร้อนและไม่หนาวเกินไป และมีผลต่อการเกิดและพัฒนาของรากกิ่งปักชำ [5] ชุดทดสอบ IBA ที่ความเข้มข้น 3,000 ppm มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อกิ่ง ความรากเฉลี่ยและความกว้างรากเฉลี่ยมากที่สุด คาดว่าเป็นผลจากการได้รับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่เหมาะสม สอดคล้องกับการทดลองของ [3] พบว่า การกระตุ้นการออกรากของกิ่งหมอนพันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยการให้สารละลาย IBA และ NAA ทำให้กิ่งปักชำมีจำนวนรากมากกว่าชุดควบคุม ซึ่งพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1,000 ppm, 2,000 ppm และ 3,000 ppm มีร้อยละการออกรากไม่แตกต่างกัน ซึ่งแตกต่างพืชชนิดอื่นๆ ในกรณีที่ได้รับออกซินในปริมาณมากเกินไปทำให้ทำให้รากชะงักการเจริญเติบโตได้และมีผลต่อการกระตุ้นการออกรากลดลง [6] ดังเช่นการทดลองของ [1] พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสาร IBA และ NAA มีแนวโน้มทำให้กิ่งปักชำมีร้อยละการออกรากลดลง และ [4] รายงานว่าร้อยละการออกรากของกิ่งปักชำชมพูพันธุ์ทับทิมจันทร์ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA 1,000 ppm และ 2,000 ppm มีร้อยละการออกราก 100 ส่วน IBA 3,000 ppm มีร้อยละ การออกราก 95.83

ร้อยละของกิ่งที่ออกยอด พบว่ามีการออกยอดทั้งในชุดควบคุมและชุดทดสอบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น IBA 1,000 ppm และ 2,000 ppm มีจำนวนยอดต่อกิ่งเฉลี่ยสูงที่สุด คือ ร้อยละ 100.00 จำนวนยอดต่อกิ่งเฉลี่ย พบว่าทั้งในชุดควบคุมและชุดทดสอบ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย IBA 2,000 ppm มีจำนวนยอดต่อกิ่งเฉลี่ย จำนวนใบต่อกิ่งเฉลี่ย ความกว้างและความยาวของใบสูงที่สุด และมีแนวโน้มว่าเมื่อความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นมีผลให้จำนวนยอดต่อกิ่งเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ยต่อกิ่ง ความกว้างและความยาวของใบลดลงด้วย

ร้อยละของการรอดชีวิตของกิ่งปักชำที่ระยะเวลา 30 วัน พบว่ามีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเข้มข้นมากขึ้นจะมีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น ส่วนร้อยละของกิ่งปักชำหลังจากการย้ายปลูก 3 สัปดาห์ในชุดควบคุมและทุกชุดทดสอบมีร้อยละการรอดชีวิต 100 เนื่องจากกิ่งปักชำมีจำนวนรากและยอดเพียงพอในการหาอาหารและการสังเคราะห์ด้วยแสงทำให้มีการเจริญเติบโตได้

จากการทดลอง พบว่า ชุดควบคุมที่ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (IBA 0 ppm) สามารถมีการพัฒนาการของรากของกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ยได้ คาดว่ากิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ยมีปริมาณออกซินสะสมเพียงพอที่จะทำให้เกิดรากได้ แต่จำนวนราก ความยาวราก และความกว้างของรากมีค่าน้อยกว่ากิ่งปักชำชุดทดสอบที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA เนื่องจากออกซินในพืชมีเสถียรภาพต่ำสลายตัวเร็ว และถูกทำลายโดยแสงได้ง่าย [14] ดังนั้น การให้สารกลุ่มออกซินจากภายนอกจึงช่วยกระตุ้นให้มีการออกรากได้ดียิ่งขึ้น [12]

สรุปผลการทดลอง

สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 2,000 ppm มีผลต่อกิ่งปักชำหนานเฉาเหว่ย คือ มีร้อยละการออกราก จำนวนรากต่อกิ่ง ความยาวราก ความกว้างราก ร้อยละของกิ่งที่ออกยอด จำนวนใบต่อกิ่ง ความกว้างใบ ความยาวใบ และอัตราการรอดชีวิตที่ 30 วันสูงที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการให้ทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วน และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในความอนุเคราะห์ให้ใช้เรือนทดลอง จนเสร็จสิ้นการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. กฤษณา วงศ์สมุทร. (2528). ผลของ NAA และ IBA ที่มีผลต่อการออกรากของกิ่งปักชำแบบควั่น. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
2. จรัส เห็นพิทักษ์. (2535). ผลของ NAA, IBA และชนิดของกิ่งต่อการเกิดรากของกิ่งปักชำมังคุด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
3. เจนจิรา ชุมภูคำ พรรณนิภา อรุณจิตต์และ อารยา อาจเจริญ เทียนหอม. (2557). ผลของ IBA และ NAA ต่อการเกิดรากและการแตกยอดในกิ่งปักชำหอมพันธุ์เชียงใหม่ 60. *วารสารแก่นเกษตร* 42(ฉบับพิเศษ 3), 162-167.
4. ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก และ ศุภวรรณ สิงห์กุล. (2545). ผลของ IBA และ NAA ต่อการออกรากของกิ่งปักชำชมพูพันธุ์ทับทิมจันทร์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 10(2), 54 – 60.
5. นันทิยา วรณะภูติ. (2538). การขยายพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. 447 หน้า.
6. พีรเดช ทองอำไพ. (2529). ฮอริโมนพืชและสารสังเคราะห์. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
7. ศิริรัตน์ ใจงาม. (2541). ผลของวัสดุปักชำและอิทธิพล IBA, NAA ต่อการออกรากของกิ่งปักชำมะกอกน้ำ. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี.
8. ศรีสมพร ปรีเปรม. (2561). การศึกษาด้านเภสัชเวทของหนานเฉาเหว่ย. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 1-10.
9. สนั่น ขำเลิศ. (2527). หลักและวิธีปฏิบัติการขยายพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 209 หน้า.
10. สุภัทร เจริญรัตน์. (2535). ผลของ IBA และ NAA ต่อการออกรากของกิ่งตัดชำเสลดพังพอนตัวเมีย. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
11. Bunwong S., Chantaranothai P., Keeley S.C. (2014). Revisions and key to the veronieaceae (compositae) of Thailand . *Phytokeys* 37, 25-101.
12. Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T. (1990). Plants propagation, principles and practices. 5th rd., Prentice Hall Inc., New Jersey.
13. Swamy J. Prabhakar G., Rasingam L. and Kamalakar P. (2015). *Gymnanthemum amygdalinum* (Asteraceae) – new addition to flora of peninsular India. *International Journal of Advanced Research in Science and Technology* 4(7), 449-451.
14. Sincar S.M. 1971. Plant hormone research in India, Indian council of agricultural research. New Delhi.

Manganese Toxicity in Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and an Aquatic Angiosperm (*Lemna minor*)

Wannapisit Thammakul^{1*} and Raymond J. Ritchie¹

Abstract

Manganese (Mn) is normally present in soils as the insoluble, harmless MnO₂. The toxic Mn²⁺ cation is formed in acid soils but there is little consensus on the physiological basis of Mn toxicity in plants. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and vascular plants share similar membrane transport mechanisms and so yeast provides a convenient model system for studies of Mn-toxicity. Early effects upon Mn toxicity in yeast in the exponential growth phase over of 24 h was examined in culture tubes and for 6 days in the freshwater aquatic angiosperm *Lemna minor*. In petri dishes at various Mn concentrations (10, 30, 100, 300, 1000, 3000 mmol m⁻³). Yeast grew exponentially and growth was followed by measuring optic density. Growth of *L. minor* was followed using leaf count, chlorophyll *a* content and absorptance of the plants. Mn has toxic effects on the yeast cells ($K_i = 1.325 \pm 0.254 \text{ mol m}^{-3}$) and *L. minor* ($K_i = 1.154 \pm 0.282 \text{ mol m}^{-3}$). Mn²⁺ toxicity was reversible in yeast by a chelation agent (EDTA), but not in the case of *L. minor*. Therefore, our results showed that Mn is toxic to Yeast and *L. minor* (greater than or equal to 1 and 0.100 mol m⁻³, respectively) and inhibited growth at even higher concentrations (more than 3 and 1 mol m⁻³, respectively). Chelation of Mn consistently did not reduce the toxicity of Mn in *L. minor*.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, *Lemna minor*, Manganese, Mn-toxicity

¹ Faculty of Technology and Environment, Prince of Songkla University: Phuket campus

* Corresponding author, e-mail: greenreadpean@gmail.com

Introduction

Manganese (Mn) is one of the most abundant metals in soils (7–9,000 ppm of Mn with an average of 440 ppm [1]) where it occurs as oxides and hydroxides, and it cycles through its various oxidation states as a consequence of the redox state of the soils and microbial activity. Mn is a common element but is usually present in soils as the virtually insoluble MnO_2 and so concentrations of Mn^{2+} in free solution are usually very low (1 mmol m^{-3} or less) [2–4]. Mn is essential to iron and aluminium alloys, steel and stainless steel production [5–7] and so is ubiquitous in the waste flows of industrialized countries. Mn dioxide has some industrial uses for example it can be converted to permanganate, a useful laboratory reagent [8], and is used to produce chlorine and hydrochloric acid [9] and also used as a catalyst.

Mn is an essential trace nutrient for photosynthetic oxygen evolution in chloroplasts in terrestrial plants and algae. It is also an essential trace element in higher animals, in which it participates in the action of many enzymes [10]. It is an essential component of two key enzymes: the oxygen-evolving complex of photosystem II and superoxide dismutase and much more extensively Mn acts as a redox cofactor for many enzymes [2–4, 11, 12]. Plants normally obtain the trace amounts of Mn they require by secreting chelating compounds or by dissolving MnO_2 by H^+ -extrusion. Plants use these two processes to mobilize carefully regulated amounts of Mn. Increased acidity in soils causes mobilization of Mn and Mn so can reach toxic levels particularly in waterlogged soils [2–4, 10]. The conditions that mobilize Mn are also responsible for the mobilization of toxic Al^{3+} and so the toxic effects of acid soils are often a combination of Al and Mn-toxicity [3]. Acid soils limit crop production, particularly of cereals, in much of the tropics and subtropics of Australia and Asia. The combination of acid soils and waterlogging exacerbates Mn toxicity in plants [10].

The “manganese-oxidizing group” of microbes is a phylogenetically diverse assemblage characterized by the ability to catalyze the oxidation of divalent, soluble Mn^{2+} to insoluble manganese oxides of the general formula MnO_x (where x is some number between 1 and 2) the organisms include a diverse array of bacteria, fungi, cyanobacteria, eukaryotic algae, and other eukaryotic microbes [13]. Accumulations of Mn-oxides are noticeable as a dark brown–black precipitate. The relative abundance of different forms of Mn are a function of the redox potential and oxygen levels.

Mn is an important element for human health, essential for development, metabolism, and antioxidant biochemistry. However, excessive exposure or intake may lead to a condition known as Manganism. Effects of excessive Mn effects occur mainly in the respiratory tract and in the brain, manganism is a neurodegenerative disorder that causes dopaminergic neuronal death and symptoms similar to Parkinson's disease [1, 14]. Manganism is typically an industry-related disease. In plants, Mn-toxicity symptoms include burning of the leaf margins and tips or as reddish–brown spot across older leaves. Chronic toxicity increases the severity of the symptoms [3, 15, 16].

The aim of the present study was to compare Mn-toxicity in yeast (which shares many ion transport mechanisms with higher plants, [17, 18]) with Mn-toxicity in a higher plant [2–4, 10, 15, 16, 19, 20]. Much more is known about Mn as an essential element than Mn-toxicity. The freshwater aquatic *L. minor* is an angiosperm but has a very simple anatomy. Toxicity of polyvalent cations is often a function of chelation state [15, 16, 21–25] and so a study was made of the effects of the chelation agent ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on Mn-toxicity in both yeast and *L. minor*.

Materials and Methods

Chemical toxicity experiments

This study used Mn in the form of manganese (II) sulfate monohydrate ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in the form of disodium ethylenediaminetetraacetic dihydrate ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) for studies of the effect of toxicity on yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and *L. minor*. The MnSO_4 and EDTA solutions were prepared as stock solutions of 2, 100, and 500 mol m^{-3} .

Yeast culture condition and growth measurement

Culture–yeast: The yeast strain used was a Baker’s yeast strain from Assoc. Prof. Raymond J. Ritchie, Prince of Songkla University, Phuket Campus, Thailand. Yeast was grown as stock cultures in Wickerham’s chemically defined medium (Table 1) [26]. Experimental cultures were incubated for a day at a range of different concentrations of Mn (10, 30, 100, 300, 1000 and 3000 mmol m^{-3}) and 1 mol m^{-3} EDTA. The trace element and vitamin contents of the medium were as described by Zonneveld (1986) [26]. Chelators such as ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), citric acid, glutamic and malic were not included in the culture medium and the experimental media because they would be likely to interfere with Mn toxicity. Chelation agents tend to bind strongly to cells, so can be difficult to remove from cells, and so can seriously interfere with experimental results.

Growth measurement: Yeast was grown in 200 μL aliquots of Wickerham’s medium (pH adjusted to 7.5) and incubated at 30 °C in 96-well plates on an orbital shaker set to medium mode. The cultures were therefore grown under aerobic conditions in the present study. The 96-well titer plates were read with a standard Microplate Reader (A&E UK AMR–100, UK) at 630 nm (A_{630}). Growth curves were fitted to a logistic growth model. The exponential growth constant (k)(h^{-1}) was determined by least squares fitting (EXCEL Solver) and its asymptotic error determined by matrix inversion [17].

Table 1 Modified Wickerham’s chemically defined medium.

Compound	Concentration
Glucose	55.5 mol m^{-3}
KH_2PO_4	57.792 mol m^{-3}
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	16.224 mol m^{-3}
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	60.544 mol m^{-3}
H_3BO_3	8.09 mmol m^{-3}
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	68 mmol m^{-3}
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.39 mmol m^{-3}
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.16 mmol m^{-3}
Nal	0.56 mmol m^{-3}
$\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.739 mmol m^{-3}
NaMoO_4	0.826 mmol m^{-3}

***Lemna minor* material culture condition and growth measurement**

Culture-*L. minor*: *L. minor* plants were cultured by using 10% BG-11 medium [27] in plastic cups. Experiments were started with a single plant or a few plants and the growth was measured for 3-7 days under a temperature of 30 ± 2 °C under 24 h light using cool-white fluorescence light as described for growing *C. vulgaris* above. After setting up a starter culture, *L. minor* plants were separated in 30 mL 10% BG-11 variant media in petri dishes for an experiment under the same growth conditions, pH 7.50 ± 0.05 for 7 days under different concentrations of Mn (10, 30, 100, 300 and 1000 mmol m^{-3}) and ± 10 mmol m^{-3} EDTA where the effect of a chelator was to be measured. In the case of *L. minor*, EDTA by itself was found to be relatively non-toxic but was found to very toxic in the presence of elevated levels of Mn. This was a very different result to that found in the case of yeast and *C. vulgaris* in the present study

Growth measurements: *L. minor* growth was easily measured by counting leaf number. Numbers of leaf were counted as a simple measure of the plant growth. Growth analysis is a widely used analytical tool for characterizing plant growth. Of the parameters typically calculated, the most important is the relative growth rate (RGR), defined as the parameter r in equation 1.

$$RGR = \frac{\ln(\bar{W}_2) - \ln(\bar{W}_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

where W_1 and W_2 are plants leaves number at time t_1 and t_2 .

In each of the *L. minor* growth experiment the leaves were counted, the leaf number on the first count date and the leaf count on the second date were recorded. RGR was then calculated for each experimental treatment, and the values were averaged for the overall experiment. Alternatively, where growth was being followed over several days, a curve was fitted to the ln-transformed plant leaf number through time and RGR at a particular time is calculated as the slope of the curve. When applied to counts made at only two points in time, the results are algebraically identical to the RGR estimator (Equation 1) [28].

Photosynthesis measurement: *L. minor* plants were filtered by using vacuum filtration onto glass fiber membrane filters. The photosynthesis of the flattened sample was measured using a PAM machine and Walz software (Waltz, Germany) as relative photosynthetic Electron Transport Rate (rETR) as described above for algal disks. Absorbance of the leaves was measured using the blue-ray RAT meter [18, 29, 30] to calculate ETR from the rETR measurements calculated by the Walz software.

PAM machines measure photosynthesis on a surface area basis ($\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Photosynthesis measurements expressed on a leaf surface area basis have some uses in plant science, particularly in plant ecology, but as in the case of algae, it is conventional to standardize photosynthetic rates on a Chlorophyll *a* basis. Chlorophyll *a* was estimated on a leaf surface area basis using optical density (OD) measurements on solvent extracts using a 7:2 mixture of acetone and ethanol because pure ethanol was not found to be a satisfactory extractant for *L. minor* (Ritchie, 2018). The leaf samples were put in 10 mL centrifuge tubes and 3 mL 7:2 acetone/ethanol was added. The samples were incubated in the refrigerator at -10 °C for about 12 h in the dark. After removal from the refrigerator, the samples were kept at room temperature in a dark box and

then vortexed before being centrifuged to clear the Chlorophyll extract solution. One mL of cleared supernatant was used for chlorophyll a determination using the Shimadzu spectrophotometer at 850, 665 and 648 nm using the equations of Ritchie (2018) for estimating the quantity of chlorophyll a (Equation 2) in 7:2 acetone:ethanol solvent. Using the Chl a/leaf surface area relationship it was possible to recalculate ETR as $\text{mol e}^- \text{g}^{-1} \text{Chl a s}^{-1}$.

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/mL}) = 2.34435 \times (A_{648 \text{ nm}} - A_{850 \text{ nm}}) + 12.4552 \times (A_{665 \text{ nm}} - A_{850 \text{ nm}}) \quad (2)$$

Oxidation state of Mn at different pH.

Solutions were made up by adding different concentrations of Mn (0.5, 1, 5, 10 mol m^{-3}). The pH of the solutions was adjusted with 1% HCl (acid) and 10% NaOH (alkaline). pH was measured using a Lutron PH-230SD pH meter (Lutron Electronics, Coopersburg, PA, USA).

Statistics

All results presented in this paper are means \pm 95% confidence limits. Significantly different results were identified using simple *t*-tests and ANOVA using the Tukey test interval (TTI) to detect differences between mean parameters at the $p < 0.05$ level. Snedecor and Cochran [31] was used as the standard statistical reference text.

Results

Manganese is normally present in soils as the insoluble, harmless MnO_2 . The toxic form of manganese (Mn^{2+}) is formed in acid soils but there is little consensus on the physiological basis of Mn toxicity in plants. It has been reported that Mn toxicity in vascular plants could be reversed by chelation agents such as EDTA [2–4].

Determination of the effects of Mn upon growth in yeast

Growth of the yeast was measured by following the optical density (OD) at 630 nm in a time course of 24 h. If the A_{630} was greater than 1.0, the cell sample was diluted and the density of the culture calculated from the diluent. Optical density is usually only directly proportional to cell numbers up to an OD of about 1 or 1.5. Growth of a control culture was included in each experiment. Growth was then followed for at least 24 h. In the example shown, the effect of Mn upon exponential growth of yeast was determined at pH 7.5. Chelation agents such as EDTA are often reported to control metal toxicity [21–23, 32–34]. The growth curves of yeast in the conditions containing Mn and Mn plus EDTA are shown in Fig. 1a and 2, respectively. The results show that the conditions of 1 mol m^{-3} Mn (Fig. 1a) and 3 mol m^{-3} Mn + 1 mol m^{-3} EDTA (Fig. 1b), had almost identical inhibitory effects upon growth. The condition of 3 mol m^{-3} Mn almost halted growth. Inhibitory effects were noticeable within 8 h of exposure.

Logistic exponential growth constant could be calculated using non-linear least squares fitting methods using the Mn data shown in Fig. 1. A logistic modelling curve was fitted which took the lag-phase

into account. In the experimental conditions containing added Mn, the growth constants (h^{-1}) of control (blank), 10, 30, 100, 300, 1,000 and 3,000 mmol m^{-3} Mn were 0.1017 ± 0.0155 , 0.1036 ± 0.0177 , 0.0131 ± 0.0156 , 0.1044 ± 0.01650 , 0.0955 ± 0.0135 , 0.0682 ± 0.0057 and 0.0179 ± 0.0060 , respectively. In the condition containing Mn and EDTA, the growth constants (h^{-1}) of control, 10, 30, 100, 300, 1,000 and 3,000 mmol m^{-3} Mn were 0.1233 ± 0.0315 , 0.1201 ± 0.0276 , 0.1200 ± 0.0294 , 0.1170 ± 0.0255 , 0.1052 ± 0.0196 , 0.0919 ± 0.0132 and 0.0311 ± 0.0068 , respectively.

Fig. 2 shows the exponential constants determined in an experiment similar to that shown in Fig. 1 plotted against the concentration of Mn ions in the absence and presence of EDTA. The inhibition constant (K_i) for Mn and Mn + 1 mol m^{-3} EDTA were determined using non-linear least squares fitting. A student's t -test showed that the results were significantly different. The K_i of the Mn growth inhibition was 1.325 ± 0.254 mmol m^{-3} ($r = 0.9714$, $n = 42$) and that of the Mn plus EDTA condition K_i was 1.718 ± 0.288 mol m^{-3} ($r = 0.9715$, $n = 42$).

Determination of the effects of Mn upon growth in *Lemna minor*

Fig. 3 shows growth of the *L. minor* was measured by following the count leaf number over time. Growth of a control culture was included in each experiment. Growth was followed for at least 6 days. In the examples shown, the effect of Mn in the absence and presence of EDTA upon exponential growth of leaf number of *L. minor* was determined at pH 7.5 as seen in Fig. 3a and 3b, respectively. Fig. 3a shows that since 100 mmol m^{-3} in Mn had some inhibitory effects upon growth but not statistically significant. Growth of the *L. minor* in 300 mmol m^{-3} Mn was almost halved and 1 mol m^{-3} Mn inhibited nearly all growth. Inhibitory effects were visually noticeable within 2 and 1 days of exposure, respectively.

Exponential growth constant could be calculated using non-linear least squares fitting methods using the Mn data shown in Fig. 3. The growth constants (h^{-1}) of the control (blank), 10, 30, 100, 300 and 1,000 mmol m^{-3} Mn were 0.219 ± 0.0320 , 0.2263 ± 0.0342 , 0.1948 ± 0.0386 , 0.1756 ± 0.0273 , 0.1984 ± 0.0328 and 0.1040 ± 0.0353 , respectively. In the condition containing Mn and EDTA, the growth constants (h^{-1}) of the control, 10, 30, 100, 300 and 1,000 mmol m^{-3} Mn were 0.1632 ± 0.0395 , 0.1459 ± 0.0424 , 0.1731 ± 0.0282 , 0.1696 ± 0.0508 , 0.1505 ± 0.0620 and 0.0089 ± 0.0122 , respectively. EDTA did not protect *L. minor* from Mn-toxicity, unlike the observations on yeast above.

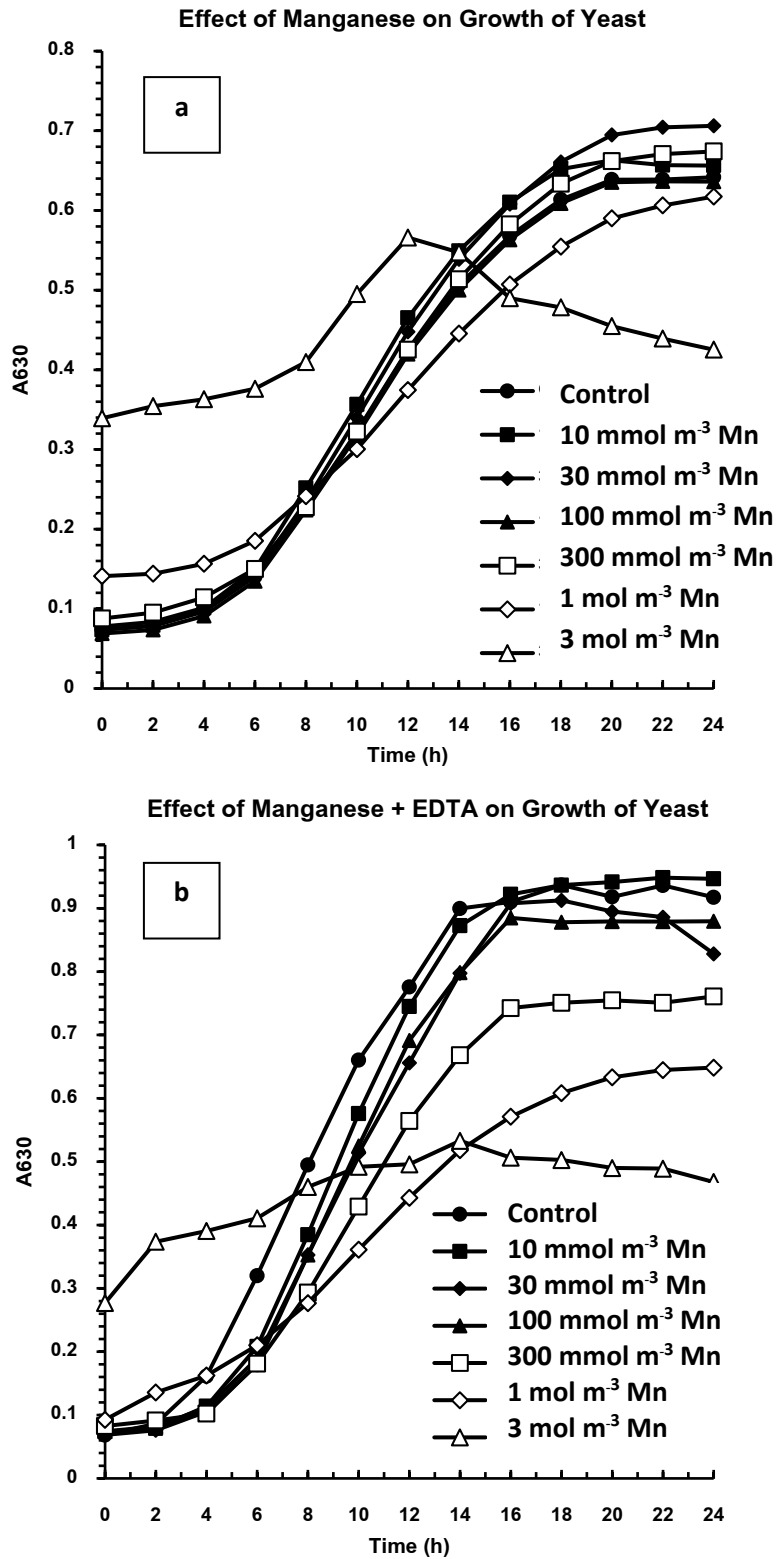


Fig. 1 The effects of Mn (a) and Mn + 1 mol m⁻³ EDTA (b) on the exponential growth of yeast over a time course of 24 h. Cells were grown in modified Wickerham's medium at pH 7.5.

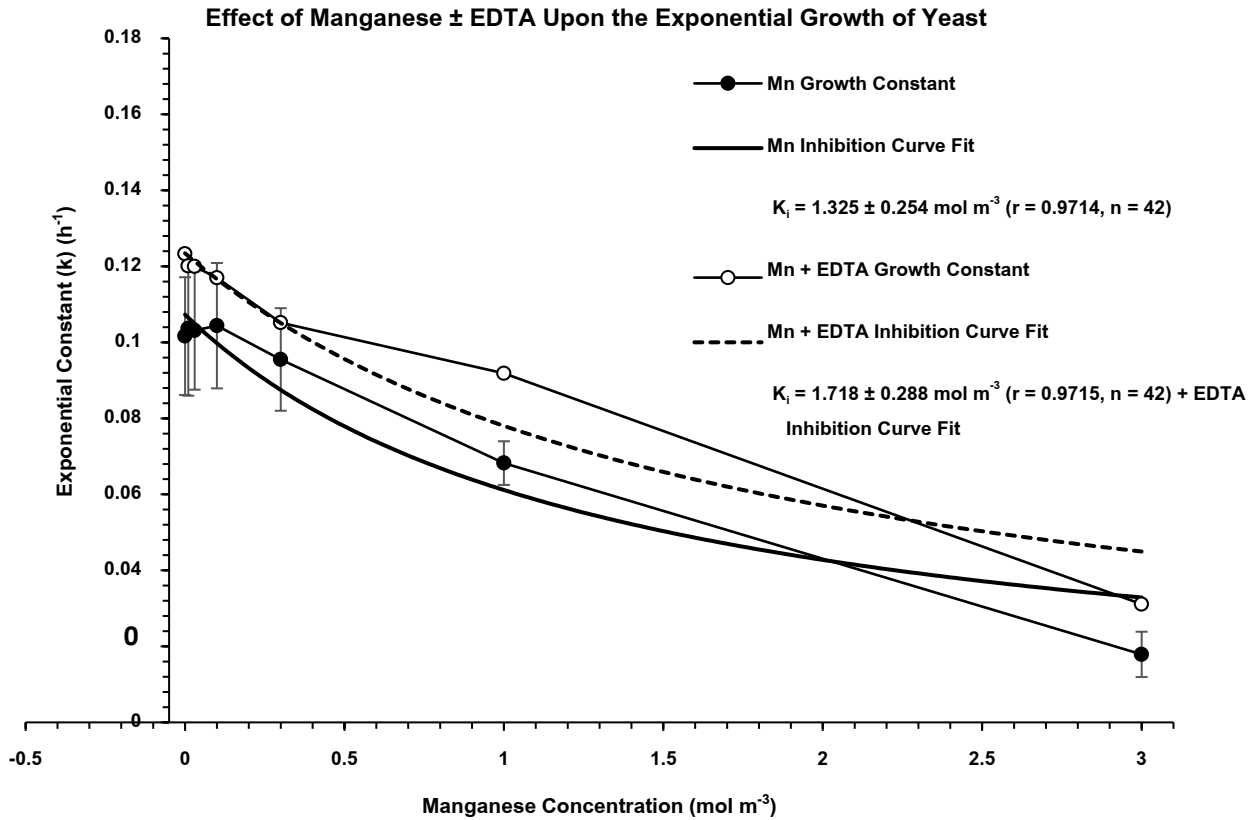


Fig. 2 Effect of Mn upon exponential growth of yeast in the absence and presence of EDTA at pH 7.5. Growth constants are based on growth at 7 time points over 24 hours including hour (0). The inhibition constants (K_i) for Mn in the absence and presence of EDTA were significantly different and so there was a significant difference in Mn-toxicity in the absence and presence of EDTA. The K_i of the Mn growth inhibition was $1.325 \pm 0.254 \text{ mmol m}^{-3}$ ($r = 0.9714$, $n = 42$) and that of the Mn plus EDTA condition K_i was $1.718 \pm 0.288 \text{ mol m}^{-3}$ ($r = 0.9715$, $n = 42$).

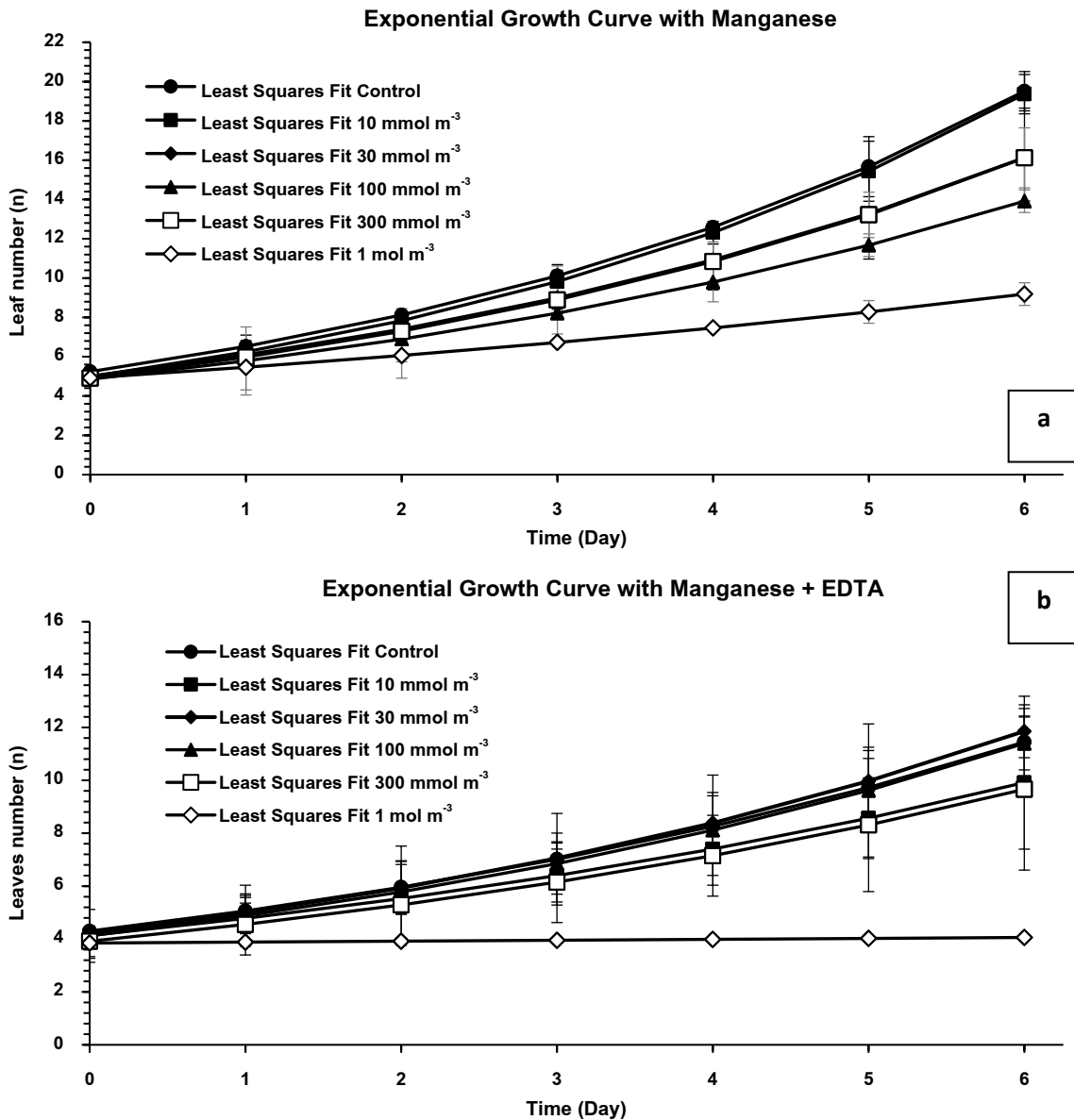


Fig. 3 *L. minor* was grown in 10% BG-11 at pH 7.5. Exponential curves for the (a) control had $r = 0.9670$, $n = 21$ and the (b) control had $r = 0.9070$, $n = 21$. The highest Mn concentration (1 mol m^{-3}) coupled with the presence of EDTA was toxic.

Fig. 4 shows chlorophyll *a* content of *L. minor* measured as chlorophyll *a* content (μg) per unit surface area (10^{-6} m^2). Fig. 4a shows that the 1 mol m^{-3} Mn treatment had a chlorophyll *a* content half less than the control condition. In Fig. 4b, the condition of 1 mol m^{-3} Mn + 10 mmol m^{-3} EDTA was found to be toxic to the plant (*L. minor* died).

In the comparison of the toxicity of Mn experiments, growth constants were also determined, which were based on growth after 6 days including day (0) (total 7 time points). Growth of a control culture was also measured in each experiment.

Fig. 5 shows relative growth rate for *L. minor*. Fig. 5a shows that the plant grows in the conditions containing 10 to 300 mmol m^{-3} Mn were not significantly different (ANOVA, ratio; chl *a*/Leaf SA). In the example shown, the effect of Mn (Fig. 5a) and (Fig. 5b) Mn + 10 mmol m^{-3} EDTA upon relative growth rate of

L. minor was followed. Plants were grown in 10% BG-11 medium at pH 7.5. For Figs 5 a and b, relative growth rates were calculated using RGR-equation 2 plotting over time using data shown in Fig. 3.

The relative growth rate (RGR) are shown in Fig. 5. In the condition containing Mn, the RGR ($n\ d^{-1}\ n^{-1}$) of the control (blank), 10, 30, 100, 300 and 1,000 $mmol\ m^{-3}$ Mn were 0.3006 ± 0.0230 , 0.3006 ± 0.0230 , 0.2670 ± 0.0675 , 0.2407 ± 0.0177 , 0.2681 ± 0.0407 , 0.1465 ± 0.0282 , respectively. In the condition containing Mn and EDTA, the RGR of the control, 10, 30, 100, 300 and 1,000 $mmol\ m^{-3}$ Mn were 0.2005 ± 0.0688 , 0.1716 ± 0.1135 , 0.2193 ± 0.0346 , 0.2061 ± 0.1125 , 0.1891 ± 0.14610 and 0.0192 ± 0.0688 , respectively.

Fig. 6 shows the exponential constants determined in an experiment similar to that shown in Fig. 3 plotted against the concentration of Mn ions in the absence and presence of EDTA. The inhibition constant (K_i) for Mn and Mn + 10 $mmol\ m^{-3}$ EDTA were determined using non-linear least squares fitting. A student's *t*-test showed that the results were significantly different. The Mn, $K_i = 1.154 \pm 0.282\ mol\ m^{-3}$ ($r = 0.9039$, $n = 36$) and Mn + 10 $mmol\ m^{-3}$ EDTA, $K_i = 544 \pm 279\ mmol\ m^{-3}$ ($r = 0.8650$, $n = 36$).

Fig. 7 shows a rapid light curve for control *L. minor* plants. This light saturation curve is typical of plants grown under low light conditions [18]. Photosynthetic ETR measured on a leaf surface area basis were converted to a chlorophyll *a* basis ($mol\ e^{-}\ g^{-1}\ Chl\ a\ s^{-1}$) using measurements of Chl *a* per unit leaf surface area. The optimum irradiance (E_{Opt}) was about 300 $\mu mol\ photon\ m^{-2}\ s^{-1}$ which is rather similar to the conditions under which the plants were grown. The maximum photosynthetic electron transport rate is also typical of plants grown under low-light conditions. Fig. 8 shows the maximum photosynthetic yield (Y_{max}) and ETR_{max} for *L. minor* grown in a range of Mn concentration for 36 h with and without 10 $mmol\ m^{-3}$ EDTA. The very low EDTA concentration had to be used because of the toxicity of EDTA shown in Fig. 4, 5 & 6. The range of Mn concentrations did not show a high degree of toxicity to photosynthesis for the incubation time (36 h) used. EDTA did not protect *L. minor* from Mn and seemed to exacerbate Mn toxicity at higher Mn concentration. This confirms the observations made in the growth experiments.

The maximum photosynthetic yield (Y_{max}) are shown in Fig. 8. In the condition containing Mn, the Y_{max} of control (blank), 10, 30, 100, 300 and 1,000 $mmol\ m^{-3}$ Mn were 0.5992 ± 0.0334 , 0.5889 ± 0.0412 , 0.5957 ± 0.0542 , 0.5482 ± 0.0528 , 0.5751 ± 0.0406 and 0.5688 ± 0.0430 , respectively. In the condition containing Mn and EDTA, the Y_{max} of the control (blank), 10, 30, 100, 300 and 1,000 $mmol\ m^{-3}$ Mn were 0.5992 ± 0.0334 , 0.5650 ± 0.0419 , 0.5865 ± 0.0375 , 0.5403 ± 0.0358 , 0.5362 ± 0.0437 and 0.6795 ± 0.0478 , respectively.

The maximum photosynthetic ETR (ETR_{max}) are shown in Fig. 8. In the condition containing Mn, the ETR_{max} (in $\mu mol\ e^{-}\ g^{-1}\ Chl\ a\ s^{-1}$) of the control (blank), 10, 30, 100, 300 and 1,000 $mmol\ m^{-3}$ Mn were 211.7581 ± 10.6329 , 273 ± 20.8 , 290 ± 34.9 , 324 ± 17.2 , 332 ± 10.6 and 281 ± 18.2 , respectively. In the condition containing Mn and EDTA, the ETR_{max} of the control (blank), 10, 30, 100, 300 and 1,000 $mmol\ m^{-3}$ Mn were 212 ± 10.6 , 372 ± 23.1 , 332 ± 15.1 , 381 ± 25.8 , 234 ± 25.5 and 135 ± 9.35 , respectively.

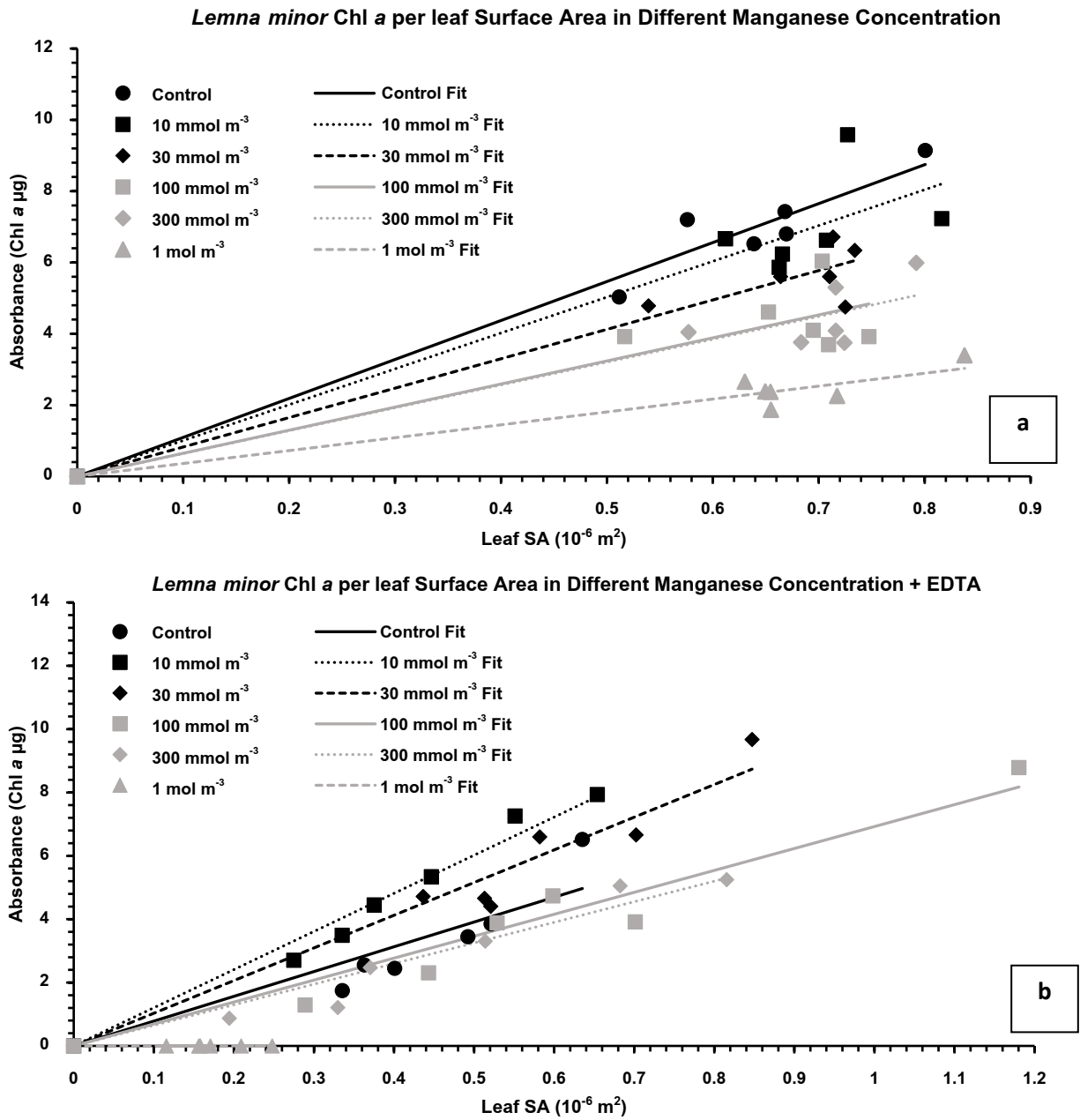


Fig. 4 Comparison of the toxicity of Mn in experiments under the conditions containing Mn (a) and Mn plus EDTA (b). The growth constants are based on growth at 6 days. The condition containing 1 mol m⁻³ Mn had chlorophyll a content half less than the control plants. The condition containing 10 mmol m⁻³ EDTA and 1 mol m⁻³ Mn had no chlorophyll a content in the leaves because the plants were killed. Chlorophyll a in each experiment was measured by using chlorophyll a content (µg) on a leaf surface area (10⁻⁶ m²) basis.

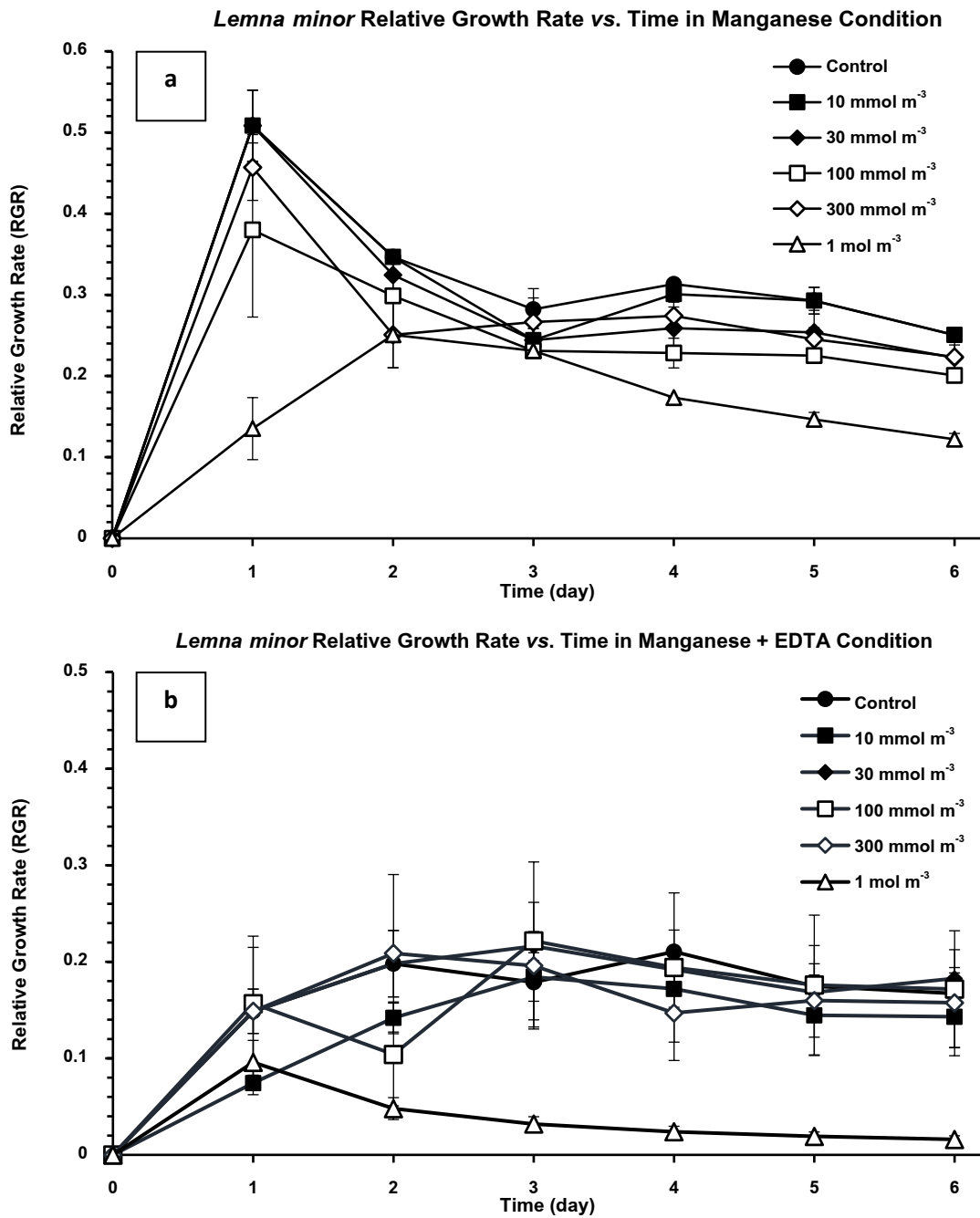


Fig. 5 Relative growth rate for *L. minor* in the conditions containing Mn (a) and Mn plus EDTA (b). Growth constants are based on growth at 7 time points. Growth of a control culture was cultured in each experiment. Growth was then followed for 6 days. Plants were grown in 10% BG-11 medium at pH 7.5.

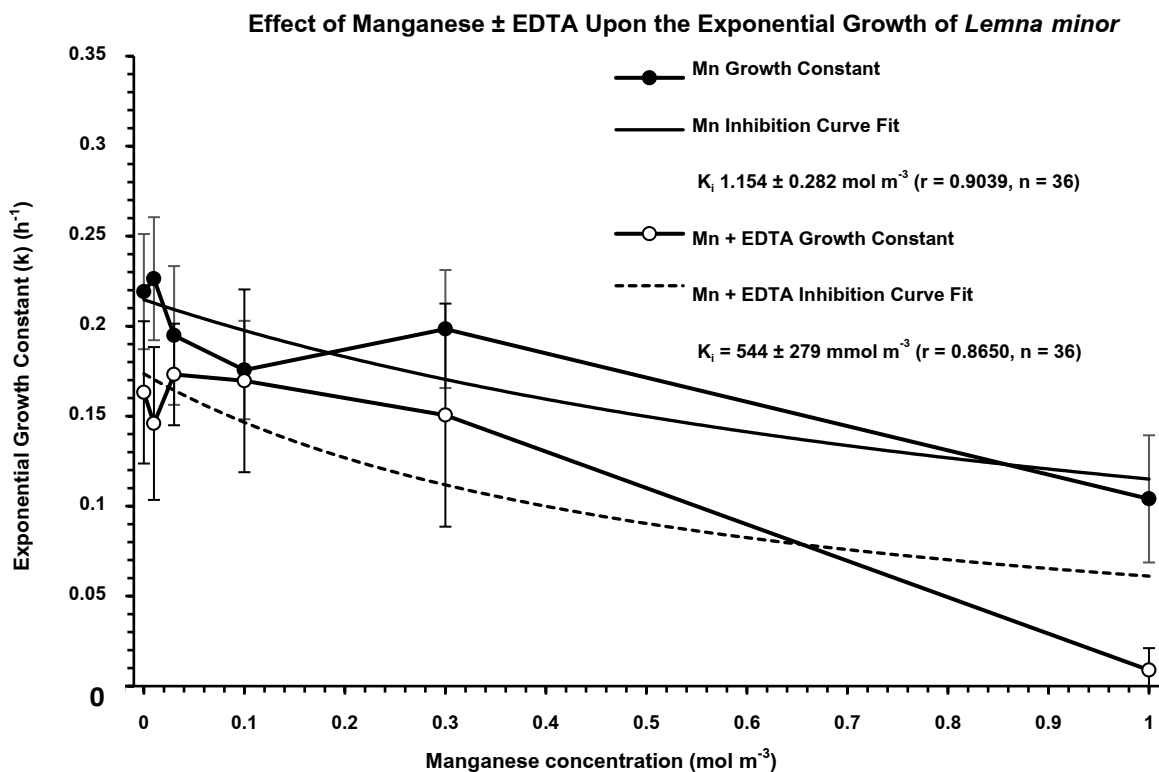


Fig. 6 Effect of Mn on the exponential growth of *L. minor* in the absence and presence of EDTA at pH 7.5. Growth constants were based on growth at 6 days. The inhibition constants (K_i) for Mn in the absence and presence of EDTA were significantly different so K_i could be calculated for Mn toxicity ±EDTA.

Fig. 9 shows the Mn oxidation state at different pH (7.5 and 4.5). Fig. 9 (a-d) shows the various states (concentrations of 100, 2000, 5000, 10000 mmol m⁻³) of MnSO₄ in pH 7.5. The solution had more sediment when the Mn²⁺ was oxidized: the Mn²⁺ was transformed to Mn⁴⁺, forming insoluble MnO₂ which is non-toxic to *L. minor*. In contrast, Fig. 9 (e-h) shows the same concentration of MnSO₄ in low pH. Sediment was present in high Mn concentrations only. These results suggested that Mn²⁺ was non-oxidized and the solutions were toxic to *L. minor* plants. However, this experiment is a preliminary test and needs to be followed up. It might explain why chelation did not reduce Mn toxicity in *L. minor*.

Conclusion and Discussion

Manganese toxicity in yeast appears to be the same syndrome as Al-toxicity [32]. In yeast, Mn toxicity can be conveniently measured by the effects of these metals on growth. The K_i of Mn was found to be about 100 mmol m⁻³; toxicities of the metal could be reversed by EDTA. It is thought in vascular plants that only the Mn²⁺ form is toxic [3]. However, toxicity in plants is claimed to be reversible by chelation by organic acids such as malic, glutamic, oxalic and citric acids. Whether the observations that Mn toxicity is reversed by the presence of different types of chelation agents such as citric acid in agreement with previous findings by MacDiarmid and Gardner [33] or not has not been firmly established in this study in yeast. Citric acid is a naturally occurring chelation agent that is secreted by roots. Citrate as a chelation agent in yeast needs further study because it might have a much lower toxicity.

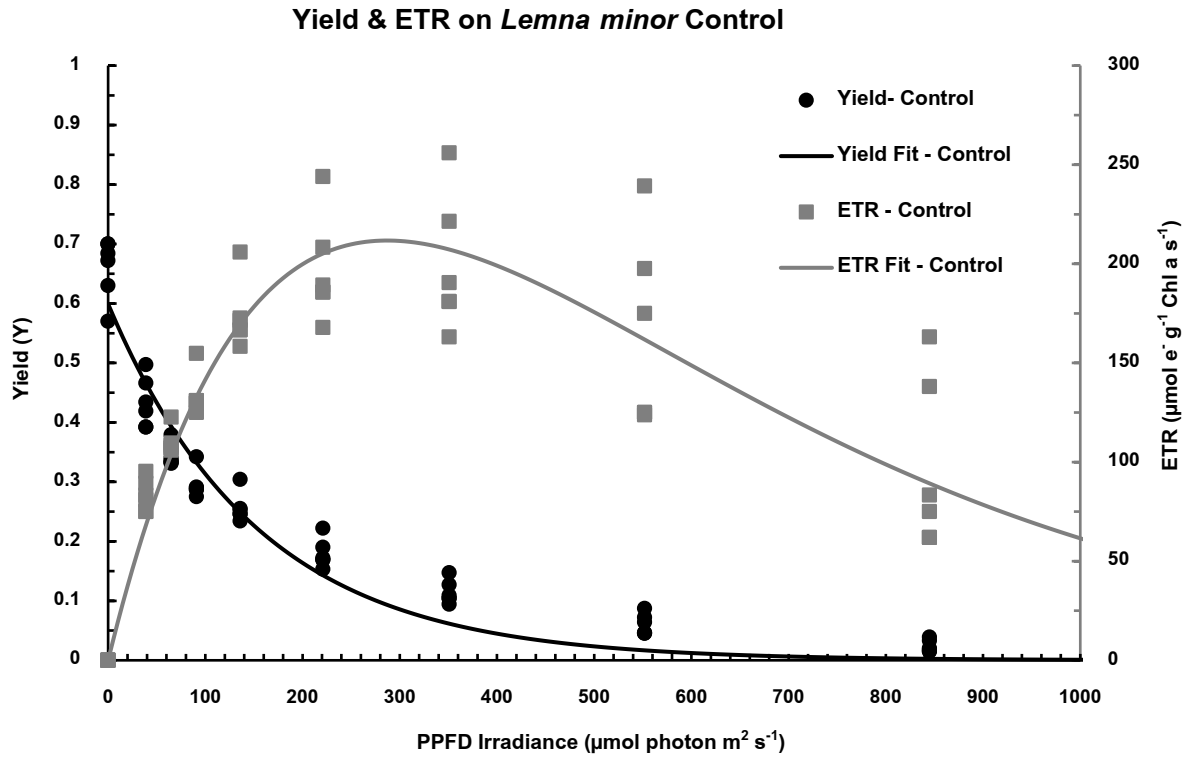


Fig. 7 Photosynthesis of *L. minor* measured using PAM methods (n = 6). The Yield decays exponentially with increased irradiance ($Y_{max} = 0.5992 \pm 0.0334$, $\frac{1}{2} Y_{max}$ at $107 \pm 13.1 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Optimum irradiance = $287 \pm 21.3 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and $ETR_{max} = 212 \pm 10.6 \mu\text{mol e}^{-} \text{g}^{-1} \text{Chl a s}^{-1}$).

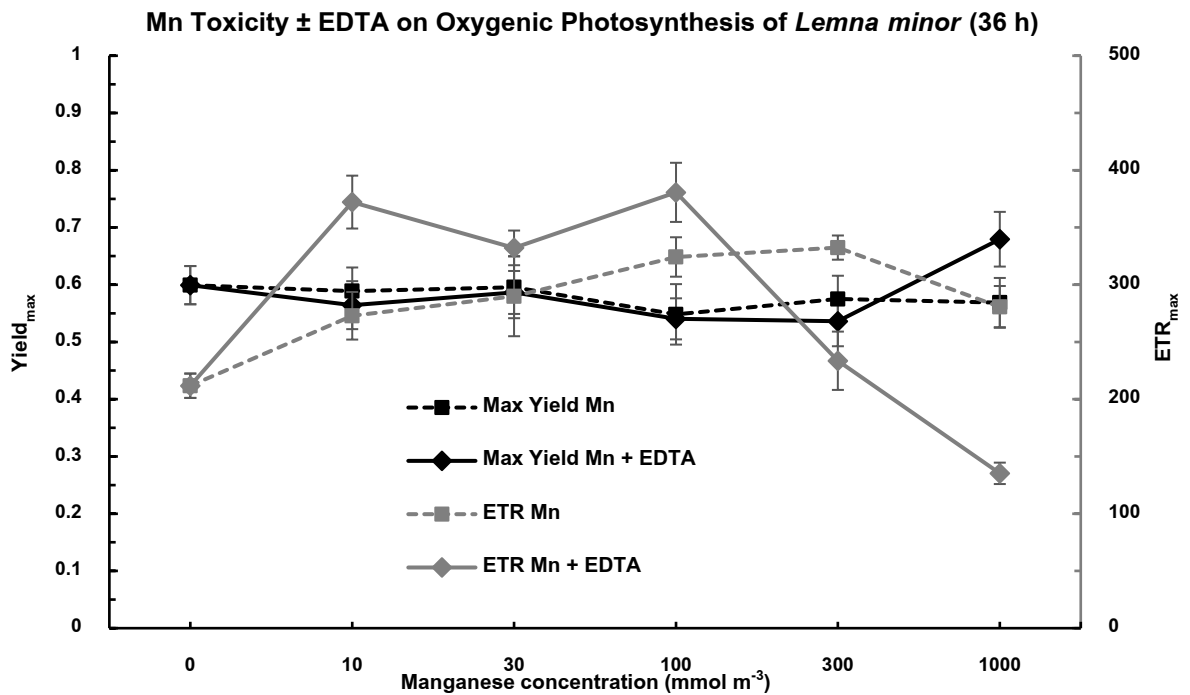


Fig. 8 Photosynthesis of *L. minor* measured using PAM methods under a range of Mn concentrations \pm EDTA (10 mmol m^{-3}). Plants were incubated for 36h. The Y_{max} without EDTA was almost independent of Mn concentrations. EDTA increased Y_{max} at the highest Mn concentration. ETR_{max} tended to increase as Mn concentrations increased without EDTA and was inhibitory only at the highest concentration of Mn. Mn + EDTA inhibited ETR_{max} at 300 and 1000 mmol m^{-3} Mn.

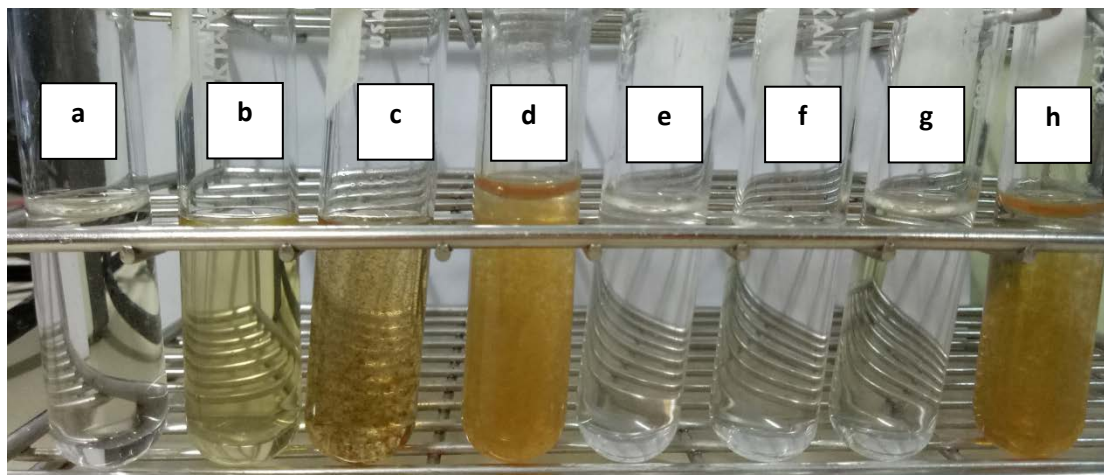


Fig. 9 Mn oxidation states (concentrations of 100, 2000, 5000, 10000 mmol m⁻³) of MnSO₄ solution at different pH (7.5 and 4.5). a-d are pH 7.5 and e-h are low pH.

Mn-resistant varieties of ryegrass (*Populus cathayana*) are known to secrete carboxylates [19, 21, 22, 34]. In the present study, attempts were also made to demonstrate reversal of Mn-toxicity in yeast and plant using EDTA [10, 23, 35]. Preliminary experiments showed that EDTA was highly toxic (1 mol m⁻³) to yeast. We found that yeast grew equally well on EDTA acid as with asparagine (Table 1). We found that EDTA-grown yeast was found to be insensitive to Mn when tested in a modified Wickerham's medium without any extra added vitamin (Table 1). Hence, EDTA will reverse the Mn-toxicity syndrome in yeast provided it is not used at toxic concentrations (no more than 1 mol m⁻³ EDTA). Fig. 1a and 2 show that the effect of chelation alleviated Mn toxicity uptake in yeast. Mn toxicity in yeast is not a simple function of the abundance of the divalent forms of metal ions in the bulk medium. However, Fig. 1 shows that the initial OD of yeast in 3 mol m⁻³ Mn were much higher than the other conditions because when 3 mol m⁻³ Mn was used and the pH adjusted to 7.5, it had more sediment when the Mn²⁺ was oxidized to Mn⁴⁺ (insoluble MnO₂) [10, 36]. Addition of non-toxic levels of EDTA (1 mol m⁻³ EDTA) did not prevent the precipitation of MnO₂.

It is extremely improbable that Mn²⁺ enters cells simply through the lipid bilayer. However, interference with membrane function is thought to be a major factor in the toxicity of Mn²⁺ in addition to its biochemical effects on enzyme function if it is in excess in the cytoplasm. Mn²⁺, like many other polyvalent cations, is a potent channel-blocking agent due to the effects of Mn on calcium metabolism. Calcium is practically universally involved in cell signaling and motility in plants and animals [2]. Any interference with this function is likely to be toxic to cells. Mn is known to interfere with calcium function in vascular plants [4].

The low rates of uptake of Mn into the cytoplasm of cells is not a water-tight argument against the idea that much of the toxicity of Mn is due to Mn that actually enters the cytoplasm of cells. Transport of Mn ions within the xylem of land plants is essentially driven by mass upward flow of water created by the transpiration stream and transport in the phloem is thought to occur via the positive hydrostatic pressure gradient developed from the loading of sucrose into the phloem from mature actively photosynthesizing leaves and unloading of sucrose into the sink tissues such as rapidly growing tissues, apical root zones and reproductive organs [10, 20, 37–39]. *L. minor* is a small freshwater aquatic, but it still has roots and so there is a transportation stream from the roots to the leaves and then out through the stomata by transpiration. The

transpiration rate of water has a large effect on macronutrient translocation rate, however at low supply, processes such as xylem loading and unloading and transfer between xylem and phloem have been shown to be more important for the rate of nutrient supply [10, 39]. Mn in the xylem fluid exists in the uncompleted, free-ion form. Thus, in computer speciation studies, 37% of the Mn in *Glycine max* (Soybean) xylem sap and 72% of Mn in *L. esculentum* (tomato) xylem sap was found as Mn^{2+} . Manganese was also found complexed to organic acids (such as citrate) rather than by amino acids [24]. In another study, Mn in the xylem exudate of *Helianthus annuus* (sunflower) was mainly present as Mn^{2+} at ranges of Mn supply from deficient to toxic [10, 25]. Hence, the opportunity exists for high concentrations of harmful Mn^{2+} in the xylem fluid at excess Mn supply. Mn is predominately transported throughout the plant within the xylem rather than the phloem [10, 40]. In another study, The metal toxicity may have an effect on the rate of xylem transport, possibly by reducing transpiration [10, 41, 42]. This could have effects on the concentrations of other nutrients reaching the shoots. As in the xylem, the pH, redox potential, ionic strength and organic constituents of the phloem sap will determine the loading, transport and unloading of metals in the phloem. However, unlike xylem cells, phloem cells are alive and metabolically active. Hence, metabolic reactions within the phloem have the potential to make the phloem sap more responsive to changes in the internal plant environment than the xylem sap [10, 39]. Manganese mobility within the phloem is generally considered to variable and is dependent on the Mn status of the plant species as well as the source and sink organs. Excess Mn supply reduced phloem transport of Mn and the authors suggested loading from the xylem into the phloem may have been the rate limiting process [10, 40]. *L. minor* has a limited growth of roots and probably much nutrient uptake occurs on the underside of the floating leaves however, the leaves do have stomata and so there is significant transpiration effects in *L. minor* just as in non-aquatic vascular plants.

We have shown that the presence of EDTA will protect yeast from Mn^{2+} toxicity. This is consistent with another study which was on Al-toxicity in yeast [32], and studies on higher plants where chelation agents are reported to have had the effect of reducing Mn toxicity in plants [19, 21, 22, 34]. In the present study, we found that EDTA was ineffective in reducing toxicity in the aquatic *L. minor* and was highly toxic to *L. minor* and had to be used at very low concentrations (Fig.s 4 to 8). In soil, Mn is present as manganese (II) bicarbonate ($Mn(HCO_3)_2$), and soluble Mn^{2+} and Mn^{3+} . When it occurs as oxides and hydroxides, it is transformed to Mn^{4+} if oxygen is present into insoluble MnO_2 . Mn^{4+} is present as a dark brown-sediment (MnO_2) which is insoluble [2, 4, 10, 36]. EDTA has the effect of stabilizing solutions to prevent catalytic oxidative decoloration, which is catalyzed by metal ions. The solubilization of Mn^{2+} ions can be accomplished using EDTA [10, 43, 44]. That might explain why EDTA reduced Mn-toxicity in yeast condition (anaerobic) and but could not reduce Mn-toxicity in *L. minor* (under aerobic conditions, grown under aquatic conditions) because *L. minor* tolerates only very low concentrations of EDTA that were too low for effective chelation but not EDTA toxicity.

References

1. Emsley, J. (2003). Nature's building blocks: an A-Z guide to the elements. 2nd Edition. New York. Oxford University Press. p. 538.
2. Atwell, J. B., Kreidemann, E. P., Turnbull, G. N. C., Eamus, D., Bielecki, L. R., & Farquhar, G. (1999). Plants in action. 1st Edition. South Yarra. Macmillan Education Australia. p. 664.

3. Kennedy, I. R. (1992). Acid soil and acid rain. 2nd Edition. Somerset. Research Studies Press. p. 254.
4. Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd Edition. London. Academic Press. p. 889.
5. Fernandes, L. A. de O., & Woodhouse, P. J. (2008). Family farm sustainability in southern Brazil: An application of agri-environmental indicators. *Ecological Economics*, 66(2–3), 243–257.
6. Dastur, Y. N., & Leslie, W. C. (1981). Mechanism of work hardening in hadfield manganese steel. *Metallurgical Transactions A*, 12(5), 749–759.
7. Kaufman, J. G. (2000). Introduction to aluminum alloys and tempers. 1st Edition. Geauga. ASM International. p. 258.
8. Rancke-Madsen, E. (1975). The discovery of an element. *Centaurus*, 19(4), 299–313.
9. Myers, R. (2003). The basics of chemistry. 1st Edition. Westport, CT. Greenwood Press. p. 392.
10. Reichman, S. M. (2002). The responses of plants to metal toxicity : a review focusing on copper , manganese and zinc. 1st Edition. Melbourne. Australian Minerals & Energy Environment Foundation. p. 54.
11. Charles, D. G., & van Willigen, R. T. (2006). Encyclopedia of inorganic chemistry: manganese: the oxygen-evolving complex & Models. 1st Edition. Chichester. John Wiley & Sons, Ltd. p. 28.
12. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J. R., & Kamiya, N. (2011). Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature*, 473(7345), 55–60.
13. Neelson, K. H. (2006). The manganese-oxidizing bacteria. *The Prokaryotes*, 4, 222–231.
14. Avila, D. S., Puntel, R. L., & Aschner, M. (2013). Manganese in health and disease. *Metal Ions in Life Sciences*, 13, 199–227.
15. Wu, S. H. (1994). Effect of manganese excess on the soybean plant cultivated under various growth conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 17(6), 991–1003.
16. Horst, W. J., & Marschner, H. (1978). Effect of excessive manganese supply on uptake and translocation of calcium in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Zeitschrift fr Pflanzenphysiologie*, 87(2), 137–148.
17. Johnson, M. L., & Faunt, L. M. (1992). Parameter estimation by least-squares methods. *Methods in Enzymology*, 210, 1–37.
18. Quinnell, R., Howell, D., & Ritchie, R. J. (2017). Photosynthesis of an epiphytic resurrection fern *Davallia angustata* (Wall .ex Hook. & Grev.). *Australian Journal of Botany*, 65, 348–356.
19. Lei, Y., Korpelainen, H., & Li, C. (2007). Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting *Populus cathayana* populations. *Chemosphere*, 68(4), 686–694.
20. Reid, R. J. (2001). Mechanisms of micronutrient uptake in plants. *Functional Plant Biology*. 28(7), 659–666.
21. Ryan, P. R., Delhaize, E., & Randall, P. J. (1995). Characterisation of Al-stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots. *Planta: An International Journal of Plant Biology*, 196(1), 103–110.
22. Ryan, P. R., Delhaize, E., & Ranadall, P. J. (1995). Malate efflux from root apices and tolerance to aluminium are highly correlated in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*, 22(4), 531–536.
23. Najeeb, U., Xu, L., Ali, S., Jilani, G., Gong, H. J., Shen, W. Q., & Zhou, W. J. (2009). Citric acid enhances the phytoextraction of manganese and plant growth by alleviating the ultrastructural damages in *Juncus effusus* L.. *Journal of Hazardous Materials*, 170(2–3), 1156–1163.
24. White, M., Baker, F., Chaney, R., & Decker, A. (1981). Metal complexation in xylem fluid II. Theoretical equilibrium model and computational computer program. *Plant Physiology*, 67, 301–310.
25. Graham, R. D. (1979). Transport of copper and manganese to the xylem exudate of sunflower. *Plant, Cell & Environment*, 2(2), 139–143.
26. Zonneveld, B. J. M. (1986). Cheap and simple yeast media. *Journal of Microbiological Methods*, 4(5-6), 287–291.
27. Andersen, R. A. (2005). Algal Culturing Techniques. 1st Edition. United States. Academic Press. p. 596.
28. Hoffmann, W. A., & Poorter, H. (2002). Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany*, 90(1), 37–42.
29. Ritchie, R. J., & Runcie, J. W. (2014). A portable reflectance-absorptance-transmittance meter for photosynthetic work on vascular plant leaves. *Photosynthetica*, 52(4), 614–626.

30. Chandaravithoon, P., Nakphet, S., & Ritchie, R. J. (2018). Oxygenic and anoxygenic photosynthesis in a sewage pond. *Journal of Applied Phycology*, 30(6), 3089–3102.
31. Snedecor, G. W., & Cochran, W. G. (1989). *Statistical methods*. 8th Edition. Ames. Iowa State University Press. p. 503.
32. Ritchie, R. J., & Raghupathi, S. S. (2008). Al-toxicity studies in yeast using gallium as an aluminum analogue. *BioMetals*, 21, 379–393.
33. MacDiarmid, C. W., & Gardner, R. C. (1996). Al toxicity in yeast. A role for Mg?. *Plant Physiology*, 112(3), 1101–1109.
34. Rengel, Z., & Zhang, W.-H. (2003). Role of dynamics of intracellular calcium in aluminium-toxicity syndrome. *New Phytologist*, 159(2), 295–314.
35. Lindsay, W. L., & Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42(3), 421–428.
36. Scholz, M. (2016). *Wetlands for water pollution control*. 2nd Edition. Amsterdam. Elsevier. p. 556.
37. MacRobbie, E. A. C. (1971). Phloem translocation. facts and mechanisms: a comparative survey. *Biological Review*, 46, 429–481.
38. Hocking, P. (1980). The composition of phloem exudate and xylem sap from tree tobacco (*Nicotiana glauca* Grah.). *Annals of Botany*, 45, 633–643.
39. Welch, R. M. (1995). Micronutrient nutrition of plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 14(1), 49–82.
40. Pearson, J. N., Rengel, Z., Jenner, C. F., & Graham, R. D. (2008). Manipulation of xylem transport affects Zn and Mn transport into developing wheat grains of cultured ears. *Physiologia Plantarum*, 98(2), 229–234.
41. Brune, A., Urbach, W., & Dietz, K. J. (1994). Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. *Plant, Cell & Environment*, 17(2), 153–162.
42. Rousos, P. A., Harrison, H. C., & Steffen, K. L. (1989). Physiological responses of cabbage to incipient copper toxicity. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114, 149–152.
43. Norvell, W. A., & Lindsay, W. L. (1969). Reactions of EDTA complexes of Fe, Zn, Mn, and Cu with soils. *Soil Science Society of America Journal*, 33(1), 86–91.
44. Taylor, H. (1990). Cement chemistry. *Cement and Concrete Composites*, 20(4), 335–335.

ความหลากหลายของพรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ

เทียมหทัย ชูพันธ์* สุภาวดี ศรีจิตติการ และ อภิญา ระเบียบ

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายของพรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ ด้วยการวางแผนตัวอย่างแบบสี่เหลี่ยมขนาด 20×20 เมตร จำนวน 69 แปลง ร่วมกับการสำรวจเพิ่มเติมตามเส้นทางศึกษาธรรมชาติ พบพรรณไม้ใหญ่จำนวน 57 วงศ์ 158 สกุล 216 ชนิด วงศ์ที่พบมากที่สุด คือ วงศ์ Fabaceae จำนวน 38 ชนิด รองลงมา คือ วงศ์ Rubiaceae จำนวน 16 ชนิด และวงศ์ Phyllanthaceae จำนวน 10 ชนิด พรรณไม้ที่มีค่าดัชนีความสำคัญทางนิเวศวิทยาสูงสุด คือ รัง (*Shorea siamensis* Miq.) รองลงมา คือ ประดู่ (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz) และ สาธร (*Millettia leucantha* Kurz var. *buteoides* (Gagnep.) P.K. Lóc) ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ มีค่าเท่ากับ 4.2476 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว มีค่าเท่ากับ 0.8888 และค่าความหลากหลาย มีค่าเท่ากับ 69.9407 สภาพป่าที่ทำการสำรวจ ประกอบด้วย ป่าเบญจพรรณบริเวณไหล่เขาและหน้าผา ป่าดิบแล้งตามแนวลำธารเป็นส่วนใหญ่ และป่าเต็งรังบริเวณพื้นที่ราบและสันเขาซึ่งมีเพ็กปกคลุมพื้นล่าง

คำสำคัญ: ความหลากหลาย, ชนิดพืช, ชนิดป่า

Diversity of Large Plants in Phu Laen Kha National Park, Chaiyaphum Province

Thiamhathai Choopan*, Supawadee Sorntitikarn and Apinya Rabieb

Abstract

Large plant diversity in Phu Laen Kha National Park, Chaiyaphum Province was studied in 69 plots of 20×20 meters and additional survey along natural trails. The study showed that 57 families 158 genera 216 species were found in the area. The most diverse families were Fabaceae with 38 species, Rubiaceae with 16 species, and Phyllanthaceae with 10 species. The highest important value indices were *Shorea siamensis* Miq., *Pterocarpus macrocarpus* Kurz and *Millettia leucantha* Kurz var. *buteoides* (Gagnep.) P.K. Lóc. The species diversity index, evenness value, and species diversity value were 4.2476, 0.8888, and 69.9407, respectively. The forest type of are mixed deciduous forest in brae and cliff areas, dry evergreen forest mostly along stream, and dry dipterocarp forest in plain area and mountain ridge with *Vietnamosasa pusilla* (A. Chev. & A. Camus) T.Q. Nguyen as common understory species.

Keywords: Diversity, Plant species, Forest type

บทนำ

อุทยานแห่งชาติภูแลนคา มีเนื้อที่ประมาณ 200 ตารางกิโลเมตร หรือ 125,312 ไร่ ครอบคลุมอำเภอเมืองชัยภูมิ อำเภอบ้านเขว้า อำเภอหนองบัวแดง และอำเภอเกษตรสมบูรณ์ จังหวัดชัยภูมิ พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นภูเขา สลับซับซ้อนและที่ราบสูง มีสภาพป่าไม้ 4 ประเภท คือ ป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง ป่าเต็งรัง และทุ่งหญ้า มีระดับความสูงระหว่าง 200-1,038 เมตร โดยยอดเขาที่สูงที่สุดของพื้นที่ คือ ยอดภูคี มีจุดเด่นทางธรรมชาติ เช่น หินปราสาท ประตูล่อง ผากกล้วยไม้ น้ำตก เป็นต้น ลักษณะโดยทั่วไปของพื้นที่ป่าเป็นเทือกเขาภูแลนคา ภูเขี้ยว ภูค่าน้อย [1] ป่าไม้มีความอุดมสมบูรณ์ มีความหลากหลายทั้งด้านพรรณพืช เห็ดรา และสัตว์ป่า อันเกิดจากลักษณะของพื้นที่ที่เป็นแนวเขาทอดตัวยาว มีสภาพป่าและสังคมพืชที่หลากหลาย อย่างไรก็ตาม ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา จากสภาพอากาศที่ร้อนและแห้งแล้งมาก มีการเกิดไฟป่าที่รุนแรง ส่งผลกระทบต่อสัตว์ป่านานาชนิด เช่น กระต่ายป่า ลิง หมูป่า กระรอก พังพอน อีเห็น นก งู และแมลงต่าง ๆ ซึ่งสัตว์เหล่านี้ต้องพึ่งพิงผืนป่าเพื่อการอยู่อาศัยและหาอาหาร พรรณไม้หลายบริเวณได้รับผลกระทบจากการเกิดไฟป่า นอกจากนี้พื้นที่ยังประสบปัญหาจากการเข้าไปใช้ประโยชน์ของชุมชนโดยรอบอย่างต่อเนื่อง เช่น การเก็บเห็ด การเก็บพืชผัก การเผาป่าเพื่อเก็บผักหวาน และลักลอบล่าสัตว์ ในขณะที่อุทยานแห่งชาติภูแลนคาเริ่มได้รับความสนใจจากนักท่องเที่ยว นักเรียน นักศึกษา มากยิ่งขึ้นในการเข้าศึกษาเรียนรู้และจัดค่ายกิจกรรม ดังนั้นฐานข้อมูลความหลากหลายของทรัพยากรธรรมชาติจึงนับเป็นสิ่งจำเป็นในการช่วยสร้างความตระหนักรู้ต่อทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะข้อมูลด้านความหลากหลายทางของพรรณไม้ขนาดใหญ่ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติภูแลนคา รวมถึงสถานภาพของพรรณพืชเพื่อเป็นแนวทางในการอนุรักษ์ทรัพยากรในอุทยานแห่งชาติภูแลนคาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ศึกษาความหลากหลายของพรรณไม้ใหญ่ ด้วยวิธีสุ่มวางแปลงตัวอย่างแบบสี่เหลี่ยมขนาด 20×20 เมตร จำนวน 69 แปลง ในสภาพพื้นที่ที่แตกต่างกัน เช่น ริมลำธาร บริเวณที่ลาดเอียงของแนวเขา ใกล้เส้นทางศึกษาธรรมชาติ ใกล้แนวหน้าผา เขตรอยต่อป่า เป็นต้น (ภาพ 1) ทำการสำรวจไม้ใหญ่ ได้แก่ ไม้ต้น ไม้พุ่ม และไม้เลื้อยที่มีเนื้อไม้ ที่มีเส้นรอบวงของลำต้นที่ความสูงระดับอก (1.30 เมตร) ตั้งแต่ 10 เซนติเมตรขึ้นไป บันทึกชนิดและจำนวนต้นที่พบในแปลงตัวอย่าง ทำการถ่ายภาพ และเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการระบุชนิด โดยใช้รูปพรรณและเอกสารที่เกี่ยวข้อง เช่น คู่มือจำแนกพรรณไม้ [2] ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย [3] ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ เล่ม 1-3 [4,5,6] และไม้ป่ายืนต้นของไทย [7] เป็นต้น ตัวอย่างพรรณไม้เก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืช มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ทำการวิเคราะห์ค่าความหนาแน่น ความถี่ ความเด่น ค่าดัชนีความสำคัญทางนิเวศวิทยาของพันธุ์ไม้ ดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ ตามวิธี Shannon-Weiner [8] ค่าความหลากหลาย ตามวิธีของ Hill [9] และค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว ตามวิธีของ Pielou [10,11] ซึ่งมีสูตรในการคำนวณ ดังนี้

ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ (species diversity index; H')

$$H' = - \sum_{i=1}^S (p_i \ln p_i)$$

โดย H' = ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้

p_i = สัดส่วนระหว่างจำนวนต้นไม้ชนิด i ต่อจำนวนต้นไม้อันทั้งหมด

S = จำนวนชนิดพรรณไม้ทั้งหมด

ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว (evenness; E)

$$E = \frac{H'}{\ln S}$$

โดย S = จำนวนชนิดพรรณไม้ทั้งหมด

ค่าความหลากหลาย (diversity; D)

$$D = e^H$$

ผลการทดลอง

จากการสำรวจความหลากหลายของพรรณไม้ใหญ่ด้วยวิธีสุ่มวางแปลงตัวอย่าง พบพรรณไม้ จำนวน 57 วงศ์ 158 สกุล 216 ชนิด (ภาพ 2-3 และ ตาราง 1) พรรณไม้ที่มีความหนาแน่นสูงที่สุด คือ สาธร (*Millettia leucantha* Kurz var. *buteoides* (Gagnep.) P.K. Lóc) มีค่าเท่ากับ 5.5803 รองลงมา คือ เหียง (*Dipterocarpus obtusifolius* Teijsm. ex Miq.) มีค่าเท่ากับ 4.0346 และเสี้ยวป่า (*Bauhinia saccocalyx* Pierre) มีค่าเท่ากับ 3.9298 พรรณไม้ที่มีความถี่สูงที่สุด คือ ประดู่ (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz) มีค่าเท่ากับ 3.7429 รองลงมา คือ สาธร มีค่าเท่ากับ 2.6037 และแดง (*Xylia xylocarpa* (Roxb.) W. Theob. var. *kerrii* (Craib & Hutch.) I.C. Nielsen) มีค่าเท่ากับ 2.4410 พรรณไม้ที่มีความเด่นสูงที่สุด คือ รัง (*Shorea siamensis* Miq.) มีค่าเท่ากับ 9.2965 รองลงมา คือ ประดู่ มีค่าเท่ากับ 6.1775 และกระบก มีค่าเท่ากับ 5.6021 ส่งผลให้พรรณไม้ที่มีค่าดัชนีความสำคัญทางนิเวศวิทยาสูงสุด คือ รัง มีค่าเท่ากับ 13.8939 รองลงมา คือ ประดู่ มีค่าเท่ากับ 13.5096 และสาธร มีค่าเท่ากับ 11.4530 เมื่อนำข้อมูลจากการวางแปลงตัวอย่างมาวิเคราะห์ พบว่า ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ มีค่าเท่ากับ 4.2476 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว มีค่าเท่ากับ 0.8888 และค่าความหลากหลาย มีค่าเท่ากับ 69.9407 (ตาราง 1) พรรณไม้ที่พบจำนวนต้นมากที่สุด คือ สาธร จำนวน 213 ต้น รองลงมา คือ เหียง จำนวน 154 ต้น และเสี้ยวป่า จำนวน 150 ต้น ส่วนพรรณไม้ที่พบได้น้อยจากการวางแปลงตัวอย่าง คือ พบเพียงชนิดละ 1 ต้น มีจำนวน 42 ชนิด (ตาราง 1)



ภาพ 1 สภาพพื้นที่ป่าในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจความหลากหลายของพรรณไม้ใหญ่ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ พบพรรณไม้จำนวน 57 วงศ์ 158 สกุล 216 ชนิด สามารถจำแนกได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ พืชเมล็ดเปลือย จำนวน 1 วงศ์ 1 สกุล 1 ชนิด พืชมีดอกกลุ่ม Magnoliids จำนวน 2 วงศ์ 8 สกุล 10 ชนิด พืชมีดอกกลุ่ม Eudicots จำนวน 54 วงศ์ 149 สกุล 205 ชนิด วงศ์ที่พบมากที่สุด คือ วงศ์ Fabaceae จำนวน 38 ชนิด รองลงมา คือ วงศ์ Rubiaceae จำนวน 16 ชนิด และ วงศ์ Phyllanthaceae จำนวน 10 ชนิด จัดเป็นพืชหายากในประเทศไทย [12] จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ สะตือ (*Crudia chrysantha* (Pierre) K. Schum.) และคำมอกหลวง (*Gardenia sootepensis* Hutch.) พืชที่อยู่ในสถานะถูกคุกคามในประเทศไทย จำนวน 10 ชนิด [13] โดยจัดเป็นพืชหายากของโลก (Rare; R) จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ ปรงเท้าช้าง (*Cycas elephantipes* A. Lindstr. & K.D. Hill) ส้านใบเล็ก (*Dillenia ovata* Wall. ex Hook.f. & Thomson) เปล้าน้อย (*Croton stellatopilosus* H. Ohba) กระจี้จัน (*Millettia brandisiana* Kurz) สาธร (*Millettia leucantha* Kurz var. *buteoides* (Gagnep.) P.K. Lóc) เสริมัดชุน (*Syzygium antisepticum* (Blume) Merr. & L.M. Perry) เหมือนอดคนแดง (*Helicia vestita* W.W. Sm.) และมะไฟแรด (*Scleropyrum pentandrum* (Dennst.) Mabb.) พืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ (Vulnerable; VU) จำนวน 1 ชนิด คือ กวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Wall. ex Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw & Suvat.) Niyomdham) และพืชที่ใกล้สูญพันธุ์ (Endangered; EN) จำนวน 1 ชนิด คือ บัดหิน (*Gardenia saxatilis* Geddes) จากการสังเกตเพิ่มเติม พบว่า มีพรรณไม้บางชนิดที่เป็นไม้ปลูก แต่สามารถพบได้ในพื้นที่ที่มีสภาพของสวนปลูกเดิม เช่น มะม่วง มะขาม เนื่องจากพื้นที่บางส่วนมีการเรียกคืนพื้นที่จากการบุกรุกเพื่อการเกษตรกรรม ซึ่งยังคงมีความจำเป็นที่ต้องมีการดำเนินการทดแทนสังคมพืชปลูกเหล่านี้ด้วยพรรณไม้ป่าในพื้นที่อย่างเหมาะสม เพื่อป้องกันการกระจายพันธุ์มากขึ้นไปในพื้นที่ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศและสังคมพืช

จากการวิเคราะห์ค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ พบว่า ค่าดัชนีความหลากหลายมีค่าสูง คือ 4.2476 เนื่องจากชนิดป่าในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา มีหลากหลายรูปแบบ ทั้งป่าเบญจพรรณตามแนวไหล่เขา ป่าเต็งรังตามพื้นที่ราบเชิงเขาและสันเขา ป่าดิบแล้งตามแนวลำธารหรือเส้นทางน้ำไหล ทำให้มีพรรณไม้ที่หลากหลายตามลักษณะทางนิเวศวิทยาที่แตกต่างกัน ซึ่งมีค่ามากกว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบกับการศึกษาความหลากหลายของไม้ต้นในวนอุทยานไม้กลายเป็นหิน อำเภอบ้านดง จังหวัดดง [14] วนอุทยานภูผาล้อม อำเภอนาดวง จังหวัดเลย [15] ที่มีค่าเท่ากับ 3.1301 และ 2.8841 ตามลำดับ แสดงว่าพืชมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า มีการกระจายพันธุ์ได้ดี ส่งผลให้มีพรรณไม้ที่หลากหลายในระดับสูงมากกว่าจากการมีป่าหลายประเภท ในขณะที่วนอุทยานไม้กลายเป็นหินเป็นป่าเต็งรังและวนอุทยานภูผาล้อมมีเพียงป่าดิบแล้งและป่าเต็งรังซึ่งแยกพื้นที่ป่ากันอย่างชัดเจนด้วยแนวเขาหินปูน อย่างไรก็ตาม ค่าดัชนีความหลากหลายมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาสังคมพืชบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา [16] ที่มีค่าเท่ากับ 4.321 ในป่าดิบแล้ง และ 5.322 ในป่าเต็งรัง เมื่อเปรียบเทียบด้านจำนวนชนิดพืช พบว่า อุทยานแห่งชาติภูแลนคา มีจำนวนชนิดมากกว่า การศึกษาไม้ต้นในพื้นที่อนุรักษ์หลายพื้นที่ ได้แก่ วนอุทยานไม้กลายเป็นหิน 87 ชนิด [14] วนอุทยานภูผาล้อม 66 ชนิด [15] สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช 124 ชนิด [16] อุทยานแห่งชาติภูจอง-นายอย 99 ชนิด [17] อุทยานแห่งชาติภูเวียง 65 ชนิด [18] แม้อุทยานแห่งชาติภูจอง-นายอยและอุทยานแห่งชาติภูเวียง มีสภาพเป็นป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง และป่าเบญจพรรณเช่นเดียวกับอุทยานแห่งชาติภูแลนคา ขณะที่การสำรวจชนิดพรรณไม้ยืนต้นบริเวณอุทยานแห่งชาติป่าหินงาม ที่มีพื้นที่เชื่อมต่อกันพบชนิดพรรณไม้เหมือนกัน ได้แก่ รักใหญ่ (*Gluta usitata* (Wall.) Ding Hou) เหียง เหมือนอด (Aporosa villosa (Wall. ex Lindl.) Baill.) พะยอม (*Shorea roxburghii* G. Don) ประดู่ เต็ง (*Shorea obtusa* Wall. ex Blume) ฟลองเหมือนอด (*Memecylon edule* Roxb.) กระบก (*Irvingia malayana* Oliv. ex A.W. Benn.) ก่อขี้หมู (*Lithocarpus dealbatus* (Hook.f. & Thomson ex Miq.) Rehder) รัง ส้าน (*Dillenia obovata* (Blume) Hoogland) ดีว (*Cratogeomys formosum* (Jacq.) Benth. & Hook.f. ex Dyer) เสริมัด (*Syzygium antisepticum* (Blume) Merr. & L.M. Perry) กระแจะ และมะพอก (*Parinari anamensis* Hance) [19] นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัวที่มีค่าเท่ากับ 0.8888 มากกว่าการศึกษาไม้ต้นในวนอุทยาน

ไม้กลายเป็นหินและวนอุทยานภูผาล้อม ที่มีค่าเท่ากับ 0.7001 และ 0.7372 แสดงว่าพรรณไม้ในพื้นที่ที่มีการกระจายตัวได้ครอบคลุมพื้นที่ดีมาก (ดัชนีความสม่ำเสมอจะมีค่ามากที่สุดเมื่อทุกชนิดในสังคมมีจำนวนต้นของประชากรเท่ากันทั้งหมดในทางปฏิบัติจะมีค่าได้ไม่เกิน 1) และบ่งบอกได้ว่า ชนิดพรรณไม้มีการซ้อนเหลื่อมกันระหว่างพื้นที่ป่าทั้ง 3 แบบ อาจเนื่องจาก ส่วนที่เป็นป่าดิบแล้งในอุทยานแห่งชาติภูแลนคาส่วนใหญ่เป็นเพียงแนวแคบ ๆ ตามเส้นทางน้ำไหล ทำให้การสุมพื้นที่ว่างแปลงมีการครอบคลุมส่วนที่เป็นแนวเชื่อมต่อของป่า 2 แบบ รวมทั้งป่าที่อยู่ถัดออกมาจากแนวเส้นทางน้ำเข้าไว้ด้วย จึงมีโอกาสพบพรรณไม้ได้หลากหลาย ส่วนที่เป็นป่าเบญจพรรณจะพบตามแนวไหล่เขาหรือหน้าผา มีโอกาสที่พรรณไม้บนเนินเขาจะมีการกระจายพันธุ์ไปได้ตามกระแสลมและการไหลบ่าของน้ำ ทำให้เกิดการผสมผสานของชนิดพืชได้ง่าย จึงส่งผลให้พรรณไม้ขนาดใหญ่ในพื้นที่ที่มีการกระจายตัวที่สูง

จากการเปรียบเทียบชนิดพรรณไม้ใหญ่กับไม้พื้นล่างในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา ที่สำรวจพบไม้พื้นล่างจำนวน 142 ชนิด [20] พบชนิดพันธุ์ที่เหมือนกันกับไม้ใหญ่ จำนวน 56 ชนิด แสดงให้เห็นว่า พรรณไม้ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคามีความสามารถในการทดแทนได้ดี เนื่องจาก ปราชญ์ชนิดพันธุ์ของกลุ่มไม้พื้นล่างที่เป็นกล้าไม้ ลูกไม้ หรือไม้หนุ่มของพรรณไม้ใหญ่จำนวนหลายชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องจากหลายปัจจัย เช่น ในช่วงฤดูแล้งมักเกิดไฟป่าขึ้นช่วยเผาเศษซากใบไม้แห้งที่สะสมบนพื้นป่า ช่วยให้เมล็ดพืชหลายชนิดตกสู่พื้นป่าและสามารถงอกได้โดยไม่เน่าเปื่อย เช่น เหียง เต็ง รัง พลวง (*Dipterocarpus tuberculatus* Roxb.) อีกทั้งไฟยังช่วยกระตุ้นให้เมล็ดไม้หลายชนิดงอกงามดี โดยเฉพาะเมล็ดมะค่าแต้ (*Sindora siamensis* Teijsm. ex Miq. var. *siamensis*) มะค่าโมง (*Azelia xylocarpa* (Kurz) Craib) และแดง และเมื่อพิจารณาถึงชนิดพรรณไม้ใหญ่ที่สำรวจพบ พบว่ามีความครอบคลุมชนิดพันธุ์ไม้เด่นของป่าแต่ละชนิดตามที่ ธวัชชัย สันติสุข [21] ได้รายงานไว้ คือ พรรณไม้เด่นป่าเต็งรัง พบ เต็ง รัง เหียง และพลวง พรรณไม้เด่นป่าเบญจพรรณ พบ แดง ชิงชัน (*Dalbergia oliveri* Gamble ex Prain) มะค่าโมง ตะแบก (*Lagerstroemia floribunda* Jack. var. *floribunda*) ประดู่ และไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis* Gamble) ที่สามารถพบได้ในแปลงตัวอย่าง 19 แปลง จำนวน 268 กอ ซึ่งมีอิทธิพลในการปกคลุมพื้นที่ค่อนข้างมากในแปลงตัวอย่างบางแปลง ทำให้พบเห็นไม้พื้นล่าง กล้าไม้ และไม้ใหญ่ได้น้อย พรรณไม้เด่นป่าดิบแล้ง พบ ตะเคียนหิน (*Hopea ferrea* Laness.) พันจำ (*Vatica odorata* (Griff.) Symington) ข่อยหนาม (*Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner) พลองกินลูก (*Memecylon ovatum* Sm.) ยมหิน (*Chukrasia tabularis* A. Juss.) และพะยอม

ตาราง 1 พรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ

No.	Family	Scientific name	Local name	Tree number	Status
1	Anacardiaceae	<i>Buchanania lanzan</i> Spreng.	มะม่วงหาวแมงวัน	11	
2		<i>Gluta usitata</i> (Wall.) Ding Hou	รักใหญ่	47	
3		<i>Lannea coromandelica</i> (Houtt.) Merr.	อ้อยช้าง	83	
4		<i>Mangifera quadrifida</i> Jack	มะม่วงป่า	3	
5		<i>Spondias pinnata</i> (L.f.) Kurz	มะกอก	13	
6	Ancistrocladaceae	<i>Ancistrocladus tectorius</i> (Lour.) Merr.	ลั่นทรวง ค้อนหมาขาว	1	
7	Annonaceae	<i>Annona squamosa</i> L.	น้อยหน่า	1	
8		<i>Goniothalamus laoticus</i> (Finet & Gagnep.) Bân	ข้าวหลามดง	50	
9		<i>Hubera cerasoides</i> (Roxb.) Chaowasku	กะเจียน	10	
10		<i>Melodorum fruticosum</i> Lour.	ลำตวน	17	
11		<i>Monoon viride</i> (Craib) B. Xue & R.M.K. Saunders	ยางโอบ	1	
12		<i>Uvaria dulcis</i> Dunal	นมแมวซ้อน	60	
13		<i>Uvaria rufa</i> Blume	นมควาย	2	
14		<i>Uvaria</i> sp.	-	1	
15	Apocynaceae	<i>Amphineurion marginatum</i> (Roxb.) D.J. Middleton	โมกเครือ ไล่ต้น	3	
16		<i>Holarthema pubescens</i> Wall. ex G. Don	โมกหลวง	8	
17		<i>Willughbeia edulis</i> Roxb.	คูด หมาคายาง	1	
18		<i>Wrightia arborea</i> (Dennst.) Mabb.	โมกมัน โมก	62	
19	Araliaceae	<i>Eleutherococcus trifoliatus</i> (L.) S.Y. Hu	ผักแปม	9	
20	Bignoniaceae	<i>Dolichandrone serrulata</i> (Wall. ex DC.) Seem.	แคป่า แคนา	1	
21		<i>Fernandoa adenophylla</i> (Wall. ex G. Don) Steenis	แคหัวหมู แคหางค่าง	15	
22		<i>Heterophragma sulfureum</i> Kurz	แครกฟ้า	1	
23		<i>Millingtonia hortensis</i> L.f.	บีบ	1	
24		<i>Oroxylum indicum</i> (L.) Benth. ex Kurz	เพกา	1	
25		<i>Stereospermum tetragonum</i> DC.	แคทราย	8	
26	Boraginaceae	<i>Cordia dichotoma</i> G. Forst.	หมั่นดง หมั่น	1	
27	Burseraceae	<i>Canarium subulatum</i> Guillaumin	มะกอกเกลื่อน	33	
28		<i>Garuga pinnata</i> Roxb.	ตะคร้ำ	6	
29	Calophyllaceae	<i>Mammea siamensis</i> (Miq.) T. Anderson	สารภี	1	
30	Capparaceae	<i>Capparis micracantha</i> DC.	ชิงชี่	1	
31		<i>Capparis sepiaria</i> L.	หนามวัวช้าง	2	
32		<i>Maerua siamensis</i> (Kurz) Pax	แจจ	2	

ตาราง 1 พรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ (ต่อ)

No.	Family	Scientific name	Local name	Tree number	Status
33	Celastraceae	<i>Celastrus paniculatus</i> Willd.	กระทงลาย	1	
34		<i>Lophopetalum wallichii</i> Kurz	เสม็ดทุ่ง	5	
35		<i>Salacia chinensis</i> L.	กำแพงเจ็ดชั้น ตาไก่	12	
36		<i>Siphonodon celastrineus</i> Griff.	มะดุก	5	
37	Chrysobalanaceae	<i>Parinari anamensis</i> Hance	มะพอก	4	
38	Clusiaceae	<i>Garcinia cowa</i> Roxb. ex Choisy	ชะมวง	17	
39	Combretaceae	<i>Terminalia alata</i> B. Heyne ex Roth	รูกฟ้า	9	
40		<i>Terminalia chebula</i> Retz.	สมอไทย	2	
41		<i>Terminalia glaucifolia</i> Craib	แหหน่า	14	
42		<i>Terminalia mucronata</i> Craib & Hutch.	ตะแบกเลือด ตะแบกกราย	9	
43		<i>Terminalia nigrovenulosa</i> Pierre	ขี้ฮ้าย สังก้า แสงคำ	16	
44	Connaraceae	<i>Ellipanthus tomentosus</i> Kurz	คำรอก	10	
45	Cornaceae	<i>Alangium salviifolium</i> (L.f.) Wangerin subsp. <i>hexapetalum</i> (Lam.) Wanggerin	ปรู ปรู	5	
46	Cycadaceae	<i>Cycas elephantipes</i> A. Lindstr. & K.D. Hill	ปรงชัยภูมิ ปรงเท้าช้าง	7	E, R
47	Dilleniaceae	<i>Dillenia obovata</i> (Blume) Hoogland	ล้านใหญ่	12	
48		<i>Dillenia ovata</i> Wall. ex Hook.f. & Thomson	ล้านใบเล็ก	1	R
49		<i>Tetracera loureireii</i> (Finet & Gagnep.) Pierre ex Craib	รสสุคนธ์	1	
50	Dipterocarpaceae	<i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teijsm. ex Miq.	เหียง ยางเหียง	154	
51		<i>Dipterocarpus tuberculatus</i> Roxb.	พลวง	13	
52		<i>Hopea ferrea</i> Laness.	ตะเคียนหิน ตะเคียนหนู	12	
53		<i>Hopea odorata</i> Roxb.	ตะเคียนทอง	15	
54		<i>Shorea obtusa</i> Wall. ex Blume	เต็ง	114	
55		<i>Shorea roxburghii</i> G. Don	พะยอม	47	
56		<i>Shorea siamensis</i> Miq.	รัง	132	
57		<i>Vatica odorata</i> (Griff.) Symington	พันจำ	76	
58	Ebenaceae	<i>Diospyros castanea</i> (Craib) H. R. Fletcher	ตะโกพนม	4	
59		<i>Diospyros ehretioides</i> Wall. ex G. Don	ตับเต่าตัน มะมั่ง	2	
60		<i>Diospyros montana</i> Roxb.	มะเกลือป่า ตานดำ	1	
61		<i>Diospyros oblonga</i> Wall. ex G. Don	ทะยิง หลักดำ โมรี	6	
62		<i>Diospyros rhodocalyx</i> Kurz	ตะโกนา ตะโก	10	
63	Euphorbiaceae	<i>Croton persimilis</i> Müll. Arg.	เปกล้าใหญ่ เปกล้าหลวง	48	

ตาราง 1 พรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ (ต่อ 2)

No.	Family	Scientific name	Local name	Tree number	Status
64	Euphorbiaceae (ต่อ)	<i>Croton stellatopilosus</i> H. Ohba	เปล้าน้อย	8	E, R
65		<i>Homonoia riparia</i> Lour.	ไคร้หน้า ไคร้หิน	1	
66		<i>Mallotus barbatus</i> Müll. Arg.	ปอหู ปอเต้า หูช้าง	4	
67		<i>Mallotus</i> sp.	สกุลคำแสด	2	
68		<i>Suregada multiflora</i> (A. Juss.) Baill.	ขันทองพยามาท	5	
69	Fabaceae	<i>Acacia catechu</i> (L.f.) Willd.	สีเสียด	45	
70		<i>Acacia pennata</i> (L.) Willd. subsp. <i>pennata</i>	ซีแฮด หนามซีแฮด	7	
71		<i>Adenanthera pavonina</i> L.	มะกล่ำ มะกล่ำต้น	4	
72		<i>Azelia xylocarpa</i> (Kurz) Craib	มะค่าโมง	15	
73		<i>Albizia lebbek</i> (L.) Benth.	พฤกษ์ ชิก มะรุมป่า	3	
74		<i>Albizia lebbekoides</i> (DC.) Benth.	คาง มะขามเฒ่า	39	
75		<i>Albizia saman</i> (Jacq.) Merr.	จามจุรี กำมปู ฉำฉา	1	
76		<i>Bauhinia racemosa</i> Lam.	ชงโคนา ส้มเสี้ยว	2	
77		<i>Bauhinia malabarica</i> Roxb.	เสี้ยวใหญ่ ส้มเสี้ยว	2	
78		<i>Bauhinia saccocalyx</i> Pierre	เสี้ยวป่า คิงโค	150	
79		<i>Cassia fistula</i> L.	คูน ราชพฤกษ์	1	
80		<i>Caesalpinia mimosoides</i> Lam.	ช้าเรียด ผักชะยา	2	
81		<i>Crudia chrysantha</i> (Pierre) K. Schum.	สะตือ คูขาว	1	RT
82		<i>Dalbergia cochinchinensis</i> Pierre	พะยุง	5	
83		<i>Dalbergia cultrata</i> Graham ex Benth.	กระพี้เขาควาย	18	
84		<i>Dalbergia nigrescens</i> Kurz	ฉนวน	21	
85		<i>Dalbergia oliveri</i> Gamble ex Prain	ชิงชัน	4	
86		<i>Derris scandens</i> (Roxb.) Benth.	เถาว์ลัยเปรี๊ยะ เกาตา ปลา เกรือเขาหนัง	1	
87		<i>Dialium cochinchinense</i> Pierre	นางคำ เอลง หยี	1	
88		<i>Droogmansia godefroyana</i> (Kuntze) Schindl.	ไซหิน ทองหมอง	2	
89		<i>Erythrina stricta</i> Roxb.	ทองหลาง ทองเดือนห้า	7	
90		<i>Erythrophleum succirubrum</i> Gagnep.	พันชาติ	1	
91		<i>Lasiobema scandens</i> (L.) de Wit	กระไดลิง	4	
92		<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit	กระถิน	7	
93		<i>Millettia brandisiana</i> Kurz	กระพี้จัน กระพี้	18	R
94		<i>Millettia leucantha</i> Kurz var. <i>buteoides</i> (Gagnep.) P.K. LÔc	สาร	213	R
95		<i>Peltophorum dasyrrhachis</i> (Miq.) Kurz	คางสูง อะราง	29	
96		<i>Phanera bracteata</i> Benth.	แสดลงพื้น	34	

ตาราง 1 พรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ (ต่อ 3)

No.	Family	Scientific name	Local name	Tree number	Status
97	Fabaceae (ต่อ)	<i>Phyllodium longipes</i> (Craib) Schindl.	เกล็ดปลาช่อนใหญ่ เกล็ดลิ้นใหญ่	4	
98		<i>Pterocarpus macrocarpus</i> Kurz	ประดู่ป่า	137	
99		<i>Pterolobium integrum</i> Craib	แก้วมือไว เคนแหว	15	
100		<i>Pueraria candollei</i> Wall. ex Benth. var. <i>mirifica</i> (Airy Shaw & Suvat.) Niyomdham	กวาวเครือขาว	16	E, VU
101		<i>Senegalia comosa</i> (Gagnep.) Maslin, Seigler & Ebinger	หนามหัน หนามตะหนิน	20	
102		<i>Senegalia rugata</i> (Lam.) Britton & Rose	ส้มป่อย	8	
103		<i>Senna garrettiana</i> (Craib) H.S. Irwin & Barneby	ขี้เหล็กป่า แสมสาร	7	
104		<i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby	ขี้เหล็ก	11	
105		<i>Sindora siamensis</i> Teijsm. ex Miq. var. <i>siamensis</i>	มะค่าแต้	16	
106		<i>Xylia xylocarpa</i> (Roxb.) W. Theob. var. <i>kerrii</i> (Craib & Hutch.) I.C. Nielsen	แดง	146	
107		Fagaceae	<i>Castanopsis</i> sp.	ก่อ ก่อหนาม	20
108	<i>Lithocarpus dealbatus</i> (Hook.f. & Thomson ex Miq.) Rehder		ก่อขี้หมู ก่อผัวะ ก่อสร้อย	108	
109	<i>Lithocarpus</i> sp.		ก่อ	2	
110	<i>Quercus kerrii</i> Craib		ก่อดลับ ก่อแพะ	45	
111	<i>Quercus</i> sp.		ก่อเวียน	2	
112	Hypericaceae	<i>Cratoxylum cochinchinense</i> (Lour.) Blume	ตี้วเกลี้ยง ตี้วหนาม	63	
113		<i>Cratoxylum formosum</i> (Jacq.) Benth. & Hook.f. ex Dyer subsp. <i>formosum</i>	ตี้วขาว	46	
114		<i>Cratoxylum formosum</i> (Jacq.) Benth. & Hook.f. ex Dyer subsp. <i>pruniflorum</i> (Kurz) Gogelein	ตี้วขน ตี้วแดง ตี้วเลือด	17	
115	Irvingiaceae	<i>Irvingia malayana</i> Oliv. ex A.W. Benn.	กระบก	32	
116	Lamiaceae	<i>Congea tomentosa</i> Roxb.	เครือออน พวงประดิษฐ์	6	
117		<i>Hymenopyramis brachiata</i> Wall. ex Griff.	กระดุกกบ	44	
118		<i>Sphenodesme mollis</i> Craib	แฟงเครือ สะแกใบดำ	9	
119		<i>Vitex canescens</i> Kurz	ผ้าเสียน	2	
120		<i>Vitex gamosepala</i> Griff.	หมากเล็กหมากน้อย หมากสะคั้ง	14	
121		<i>Vitex limonifolia</i> Wall. ex Walp.	สวอง ตีนนก	37	
122		<i>Vitex peduncularis</i> Wall. ex Schauer	กาสามปีก	7	

ตาราง 1 พรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ (ต่อ 4)

No.	Family	Scientific name	Local name	Tree number	Status
123	Lamiaceae (ต่อ)	<i>Vitex pinnata</i> L.	ตีนนก	4	
124	Lauraceae	<i>Cinnamomum iners</i> Reinw. ex Blume	อบเชย เขียด	4	
125		<i>Litsea glutinosa</i> (Lour.) C.B. Rob.	หมีเหม็น	5	
126	Lecythidaceae	<i>Careya arborea</i> Roxb.	กระโดน	10	
127	Loganiaceae	<i>Strychnos nux-blanda</i> A.W. Hill.	ตุมกาขาว ชี๊กา แสงใจ	5	
128	Lythraceae	<i>Lagerstroemia floribunda</i> Jack. var. <i>floribunda</i>	ตะแบก ตะแบกนา	85	
129		<i>Lagerstroemia loudonii</i> Teijsm. & Binn.	เสลา	2	
130		<i>Lagerstroemia subangulata</i> (Craib) Furtado & Srisuko	ตะแบกหนู สมอร่อง	4	
131		<i>Lagerstroemia</i> sp.	อินทนิล	2	
132	Malpighiaceae	<i>Hiptage benghalensis</i> (L.) Kurz subsp. <i>candicans</i> (Hook.f.) Siriruga	โนรา กำลังช้างเผือก	2	
133	Malvaceae	<i>Bombax anceps</i> Pierre	จิวป่า	18	
134		<i>Colona auriculata</i> (Desf.) Craib	ปอพราน ปอปาน	3	
135		<i>Colona flagrocarpa</i> (C.B. Clarke) Craib	ปอยาบ ยาบใบยาว ยาบ	3	
136		<i>Firmiana colorata</i> (Roxb.) R.Br.	ปอฝ้าย	4	
137		<i>Grewia eriocarpa</i> Juss.	ปอแก่นเทา	55	
138		<i>Microcos tomentosa</i> Sm.	พลับพลา	21	
139		<i>Schoutenia ovata</i> Korth.	แดงสะแง	1	
140		<i>Sterculia urena</i> Roxb. var. <i>thorelii</i> (Pierre) Phengkhai	ปอด็อก ปอดาน	2	
141		Melastomataceae	<i>Memecylon edule</i> Roxb.	พลองเหมือด	107
142	<i>Memecylon ovatum</i> Sm.		พลองกินลูก พลองใหญ่	19	
143	<i>Memecylon pauciflorum</i> Blume		พลองขี้เต้ เหมือดแอ	17	
144	<i>Memecylon scutellatum</i> (Lour.) Hook. & Arn. var. <i>scutellatum</i>		พลองใบยาว พลองขี้นก พะงาด เหมือดจี้	1	
145	Meliaceae	<i>Chukrasia tabularis</i> A. Juss.	ยมหิน สะเตาข้าง	34	
146		<i>Walsura trichostemon</i> Miq.	กัตลิ้น	13	
147	Menispermaceae	<i>Pachygone dasycarpa</i> Kurz	หนามพรม	1	
148	Moraceae	<i>Artocarpus lacucha</i> Roxb. ex Buch.-Ham.	มะหาด	4	
149		<i>Ficus benjamina</i> L.	ไทร	3	
150		<i>Ficus hispida</i> L.f.	มะเดื่อปล้อง	2	
151		<i>Ficus virens</i> Aiton	เลียบ ไฮ	2	
152		<i>Streblus ilicifolius</i> (S. Vidal) Corner	ข่อยหนาม	38	

ตาราง 1 พรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ (ต่อ 5)

No.	Family	Scientific name	Local name	Tree number	Status
153	Myrtaceae	<i>Syzygium antisepticum</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry	เสม็ดชุน เสม็ด เม็ก	6	E, R
154		<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	หว่า	28	
155		<i>Syzygium ripicola</i> (Craib) Merr. & L.M. Perry	หว่าข้าวสาร หว่าชันก	31	
156		<i>Syzygium</i> sp.	ชมพู่ป่า	25	
157		<i>Tristaniaopsis burmanica</i> (Griff.) Peter G. Wilson & J. T. Waterh. var. <i>rufescens</i> (Hance) J. Pam. & NicLugh.	ก๊าว เคะะ ต้าเส	1	
158	Ochnaceae	<i>Ochna integerrima</i> (Lour.) Merr.	ตาลเหลือง ช้างน้ำ	5	
159	Olacaceae	<i>Olax imbricata</i> Roxb.	หลุมนก	1	
160		<i>Olax psittacorum</i> (Lam.) Vahl	น้ำใจใคร่	1	
161	Oleaceae	<i>Jasminum lanceolaria</i> Roxb.	มะลิเถา มะลิวัลย์	1	
162	Opiliaceae	<i>Cansjera rheedei</i> J.F. Gmel.	นางจุ่ม ผักหวานเมา	2	
163		<i>Melientha suavis</i> Pierre	ผักหวาน	2	
164	Pentaphylacaceae	<i>Anneslea fragrans</i> Wall.	สารภีตอย สารภีป่า	1	
165	Phyllanthaceae	<i>Antidesma acidum</i> Retz.	เม่าสร้อย	8	
166		<i>Antidesma ghaesembilla</i> Gaertn.	เม่าไขปลา มะเม่า	14	
167		<i>Aporosa ficifolia</i> Baill.	เหมือดขน	7	
168		<i>Aporosa villosa</i> (Wall. ex Lindl.) Baill.	เหมือดโลด โลด	49	
169		<i>Bischofia javanica</i> Blume	คูส้ม เต็ม	6	
170		<i>Breynia glauca</i> Craib	ระงับพิษ ดับพิษ	2	
171		<i>Bridelia ovata</i> Decne.	มะกา	3	
172		<i>Bridelia retusa</i> (L.) A. Juss.	เต็งหนาม	1	
173		<i>Glochidion sphaerogynum</i> (Müll. Arg.) Kurz	มันปลา	3	
174		<i>Phyllanthus emblica</i> L.	มะขามป้อม	7	
175	Primulaceae	<i>Embelia sucoriacea</i> (C.B. Clarke) Mez	ส้มอ้อบแอ็บ	1	
176	Proteaceae	<i>Helicia vestita</i> W.W. Sm.	เหมือดคนแดง	50	R
177	Rhamnaceae	<i>Ventilago denticulata</i> Willd.	รางแดง	1	
178		<i>Ziziphus cambodiana</i> Pierre	ตะครอง	1	
179		<i>Ziziphus oenoplia</i> (L.) Mill. var. <i>oenoplia</i>	เล็บเหยี่ยว	14	
180	Rubiaceae	<i>Catunaregam spathulifolia</i> Tirveng.	เคด	10	
181		<i>Catunaregam tomentosa</i> (Blume ex DC.) Tirveng.	มะเค็ด หนามแห้ง	4	
182		<i>Dioecrescis erythroclada</i> (Kurz) Tirveng.	มะคังแดง มุยแดง	5	
183		<i>Gardenia obtusifolia</i> Roxb. ex Hook.f.	คำมอกน้อย สีดาแดง	3	
184		<i>Gardenia saxatilis</i> Geddes	พุดผา ข่อยหิน บัดหิน	3	E, EN

ตาราง 1 พรรณไม้ใหญ่ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ (ต่อ 6)

No.	Family	Scientific name	Local name	Tree number	Status
185	Rubiaceae (ต่อ)	<i>Gardenia sootepensis</i> Hutch.	คำมอกหลวง ผ่าด้าม	7	RT
186		<i>Haldina cordifolia</i> (Roxb.) Ridsdale	ขว้าว กระทุ่มขว้าว	18	
187		<i>Hymenodictyon orixense</i> (Roxb.) Mabb.	ส้มกบ	28	
188		<i>Ixora cibdela</i> Craib	เข็มป่า	9	
189		<i>Mitragyna rotundifolia</i> (Roxb.) Kuntze	กระทุ่มเนิน กระทุ่มหมู	56	
190		<i>Morinda coreia</i> Buch.-Ham.	ยอป่า	38	
191		<i>Pavetta indica</i> L. var. <i>tomentosa</i> (Roxb. ex Sm.) Hook.f.	ข้าวสารป่า	14	
192		<i>Prismatomeris sessiliflora</i> Pierre ex Pit.	เสี้ยวเงินเสี้ยว อีล้า	1	
193		<i>Psydrax dicoccos</i> Gaertn. var. <i>dicoccos</i>	แกงเลียงใหญ่ เงียงปลา	22	
194		<i>Rothmannia wittii</i> (Craib) Bremek.	หมักม่อ	15	
195		<i>Tamilnadia uliginosa</i> (Retz.) Tirveng. & Sastre	ตะลุมฟูก	3	
196		Rutaceae	<i>Acronychia pedunculata</i> (L.) Miq.	พุมารี่ กะอวม	1
197	<i>Aegle marmelos</i> (L.) Corrêa ex Roxb.		มะตูมดง	3	
198	<i>Atalantia monophylla</i> (L.) DC.		มะนาวผี	2	
199	<i>Naringi crenulata</i> (Roxb.) Nicolson		กระแจะ ตุ่มตั้ง พญาया	1	
200	Salicaceae	<i>Casearia grewiifolia</i> Vent.	กรวยป่า คอแลน	2	
201		<i>Flacourtia indica</i> (Burm.f.) Merr.	ตะขบป่า	14	
202		<i>Flacourtia jangomas</i> (Lour.) Raeusch.	ตะขบควาย	1	
203		<i>Salix tetrasperma</i> Roxb.	ไคร้บก สุ่น	2	
204	Santalaceae	<i>Scleropyrum pentandrum</i> (Dennst.) Mabb.	มะไฟแรด นมวัว	9	R
205	Sapindaceae	<i>Lepisanthes rubiginosa</i> (Roxb.) Leenh.	มะหวด	10	
206		<i>Nephelium hypoleucum</i> Kurz	คอแลน หมักแกว	5	
207		<i>Schleichera oleosa</i> (Lour.) Merr.	ตะคร้อ	5	
208		<i>Sisyrolepis muricata</i> (Pierre) Leenh.	ตะคร้อหนาม	2	
209		<i>Zollingeria dongnaiensis</i> Pierre	ขี้หนอน	1	
210	Sapotaceae	<i>Manilkara hexandra</i> (Roxb.) Dubard	เกต	3	
211		<i>Xantolis cambodiana</i> (Pierre ex Dubard) P. Royen	นางหวาน นมนาง นมสาว	1	
212	Simaroubaceae	<i>Harrisonia perforata</i> (Blanco) Merr.	สีพันคนทา คนทา	10	
213	Styracaceae	<i>Styrax benzoides</i> Craib	กำยาน ชาตสมิง	44	
214	Symplocaceae	<i>Symplocos racemosa</i> Roxb.	เหมือดหอม	9	
215	Ulmaceae	<i>Holoptelea integrifolia</i> Planch.	กระเซา อังคาว อ้าง	1	
216	Vitaceae	<i>Cissus repanda</i> Vahl	เถาวัลย์ปูน	2	

หมายเหตุ: E = พืชเฉพาะถิ่น (endemic); EN = พืชที่ใกล้สูญพันธุ์ (endangered); R = พืชหายากของโลก (rare; global)

RT = พืชหายากในประเทศไทย (rare; Thailand); VU = พืชที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ (vulnerable)



ภาพ 2 ตัวอย่างพรรณไม้ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา: ก. มะไฟแรด (*Scleropyrum pentandrum* (Dennst.) Mabb.) ข. พุดผา (*Gardenia saxatilis* Geddes) ค. ก้ายาน (*Styrax benzoides* Craib) ง. แผลงพัน (*Phanera bracteata* Benth.) จ. ตะแบกเลือด (*Terminalia mucronata* Craib & Hutch.) ฉ. พะยอม (*Shorea roxburghii* G. Don) ช. มะตูด (*Siphonodon celastrineus* Griff.) ซ. แผงเครือ (*Sphenodesme mollis* Craib) ฅ. หนมขี้แฮด (*Acacia pennata* (L.) Willd. subsp. *pennata*) ญ. ชิงชี (*Capparis micracantha* DC.) ฎ. ข้าวสารป่า (*Pavetta indica* L. var. *tomentosa* (Roxb. ex Sm.) Hook.f.) ฏ. แก้วมือไว (*Pterolobium integrum* Craib)



ภาพ 3 ตัวอย่างพรรณไม้ในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา: ก. รักใหญ่ (*Gluta usitata* (Wall.) Ding Hou) ข. เข็มป่า (*Ixora cibdela* Craib) ค. ตาลเหลือง (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) ง. เม่าไขปลา (*Antidesma ghaesembilla* Gaertn.) จ. มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) ฉ. มะเค็ด (*Catunaregam tomentosa* (Blume ex DC.) Tirveng.) ช. แดง (*Xylia xylocarpa* (Roxb.) W. Theob. var. *kerrii* (Craib & Hutch.) I.C. Nielsen) ฅ. มะคังแดง (*Dioecrescis erythroclada* (Kurz) Tirveng.) ฆ. กระทงลาย (*Celastrus paniculatus* Willd.) ญ. ส้มกบ (*Hymenodictyon orixense* (Roxb.) Mabb.) ฎ. ปรงเท้าช้าง (*Cycas elephantipes* A. Lindstr. & K.D. Hill) ฏ. เกล็ดปลาช่อนใหญ่ (*Phyllodium longipes* (Craib) Schindl.) ฐ. รกฟ้า (*Terminalia alata* B. Heyne ex Roth) ฑ. ก้าว (*Tristaniopsis burmanica* (Griff.) Peter G. Wilson & J.T. Waterh. var. *rufescens* (Hance) J. Parn. & NicLugh.) ฒ. เหมือนดหอม (*Symplocos racemosa* Roxb.)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช เจ้าหน้าที่อุทยานแห่งชาติภูแลนคา ผู้ช่วยวิจัยและนักศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ที่ช่วยเหลือและสนับสนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. (n.d.). Phu Laen Kha National Park. [Retrieved June 20, 2016]. from http://park.dnp.go.th/visitor/nationparkshow.php?PTA_CODE=9135
2. Chayamarit, K. (2002). Manual of plant classification. Bangkok. Prachachon. p. 232.
3. Forest Herbarium. (2014). Thai plant names: Tem Smitinand (Revised Edition 2014). Bangkok. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. p. 828. (in Thai)
4. Chayamarit, K. (2005). Key characters of plant families. Bangkok. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. p. 113. (in Thai)
5. Chayamarit, K. (2007). Key characters of plant families 2. Bangkok. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. p. 88. (in Thai)
6. Chayamarit, K. (2008). Key characters of plant families 3. Bangkok. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. p. 90. (in Thai)
7. Veksommai, A. & Kaewduangthian, P. (2009). Wild trees in Thailand. Bangkok. H.N. Group. p. 652. (in Thai)
8. Krebs, C.J. 1985. Ecology : The experimental analysis of distribution and abundance. 3rd Edition. New York. Harper and Row. p. 816.
9. Hill, M.O. (1973). Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. *Ecology* 54, 427-432.
10. Marod, D. (2011). Sampling technique and plant community analysis. Bangkok. Forestry Department, Kasetsart University. p. 26.
11. Pielou, E.C. (1975). Ecological diversity. New York. John Wiley & Sons. p. 165.
12. Forest Herbarium. (2008). Rare plants in Thailand. Bangkok. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. p. 230. (in Thai)
13. Forest Herbarium. (2017). Threatened plants in Thailand. Bangkok. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. p. 224.
14. Choopan, T. (2019). Vascular plants in Petrified Forest Park, Ban Tak District, Tak Provinc. *Burapha Science Journal* 24(1), 170-189. (in Thai)
15. Choopan, T. & Zumstein, W. (2015). Plant diversity in Phu Pha Lom Forest Park, Na Duang District, Loei Province. *Journal of Science and Technology Maha Sarakham University* 34(4), 226-341. (in Thai)
16. Sampanpanish, P. (2000). Assessment on biodiversity surveys of plant community at Sakaerat Environmental Station, Nakhon Ratchaisima. Research report. Chulalongkorn University. (in Thai)
17. Subnugarn, P. (2013). A study on diversity of tree species at Phujong-nayoi National Park and their potential for landscape uses. Ph.D. Thesis. Department of Horticulture, Kasetsart University. (in Thai)
18. Thitimetharoj, T. (2001). Study on forest and flora in Phu Wiang National Park, Khon Kaen Province. *KKU Research Journal* 6(2), 16-24. (in Thai)
19. Theppiyawong, P. (2006). The plant survey of tourist areas in Pa Hin Ngam National Park, Thep Sathit District, Chaiyaphum Province for ecotourism. An independent study report for the master of development administration. Faculty of Science, Khon Kaen University. (in Thai)
20. Choopan, T., Jamroentham, S., & Lumpung, U. (2017). Diversity and ecology of understory plants in Phu Laen Kha National Park, Chaiyaphum Province. Proceedings of 11th Botanical Conference, 14-16 June 2017 Faculty of Science, Mahidol University. 30-36. (in Thai)
21. Santisuk, T. (2012). Forest of Thailand. Bangkok. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. p. 124. (in Thai)

การใช้สารละลายป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งของพืชบางชนิดสำหรับเก็บรักษาเมล็ดบัวสายสีขาว (*Nymphaea pubescens* Willd.) ในสภาพโรงเรือน

อิศราพงษ์ แคนทอง^{1*}

บทคัดย่อ

บัวสายสีขาว (*Nymphaea pubescens* Willd.) เป็นพืชที่มีความสวยงามและมีความเป็นเอกลักษณ์ชนิดหนึ่งสามารถนำมาใช้ประกอบอาหารและบำรุงสุขภาพได้ ปัจจุบันข้อมูลเกี่ยวกับการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์บัวเพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ยังคงขาดแคลน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการเก็บรักษาเมล็ดบัวสายสีขาวโดยใช้สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง 3 ชนิด ได้แก่ Loading solution (LS), Plant vitrification solution 2 (PVS2) และ Plant vitrification solution 3 (PVS3) ที่ระยะเวลาการแช่ในสารละลายที่แตกต่างกัน (ตั้งแต่ 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48, 96 ชั่วโมง) ในสภาพโรงเรือน พบว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย PVS2 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีความเหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาตัวอย่างเมล็ดบัวสายได้สภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอัตราการงอกในชุดการทดลองนี้คือ ร้อยละ 94 โดยสรุปสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งที่ดีที่สุดสำหรับใช้เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บัวชนิดนี้คือ PVS2 และระยะเวลาการแช่ในสารละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ 12 ชั่วโมง ก่อนการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง

คำสำคัญ: สารละลายป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งของพืช, กระบวนการเก็บรักษา, การงอก, วงศ์อุบลชาติ, บัวสายสีขาว

¹ กองอาคารสถานที่ สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: itsaraphong_k@rmutt.ac.th

Utilization of some plant vitrification solutions for *in vivo* preservation of *Nymphaea pubescens* Willd. seeds

Itsaraphong Khaenthong^{1,*}

Abstract

Nymphaea pubescens Willd. is a beautiful aquatic plant and unique characteristics which could use to cooking and healthcare. At present, the data associated with germplasm preservation in waterlilies for conservation and utilization are lack. This research was aimed to develop a procedure used for *in vivo* preservation of *Nymphaea pubescens* Willd. seeds by using three plant vitrification solutions (i.e., loading solution; LS, plant vitrification solution 2; PVS2 and plant vitrification solution 3; PVS3) at different exposure times (0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48, 96 hours). The results showed that the exposure time in PVS2 solution for 12 hours were suitable to treat the sample seeds before frozen storage at 0 °C overnight. After 4 weeks of culture, the germination in this treatment was 94%. In summary, the best plant vitrification solution used for seed storage in this waterlily was PVS2 and more effective exposure time for soaking in this solution was 12 hours before frozen storage.

Keywords: Plant vitrification solution, Preservation, Germination, Nymphaeaceae, *Nymphaea pubescens* Willd.

¹ Division of Building and Site Administration, Office of the President, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani, 12110

* Corresponding author, e-mail: itsaraphong_k@rmutt.ac.th

บทนำ

บัวสายสีขาวหรือบัวขม (*Nymphaea pubescens* Willd.) เป็นบัวสายพื้นเมืองที่มีลักษณะโดดเด่นอีกชนิดหนึ่งของไทย ตัวรูปรูปร่างดอกคล้ายจานรองถ้วย ดอกมีสีขาวและเกสรสีเหลือง กลิ่นหอมฉุน ดอกบานในช่วงเวลากลางวัน (ตั้งแต่เวลา 19.00 น. ถึง 10.00 น.) [1-3] บัวสายสีขาวได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลาย ๆ ด้าน เช่น การใช้เป็นเป็นไม้ประดับสำหรับการปรับแต่งภูมิทัศน์สวนไม้น้ำหรือคูคลอง (ภาพ 1A) สำหรับการใช้ประโยชน์จากสรรพคุณทางยาและการแพทย์ทางเลือกจากรายงานการศึกษาของ Selvakumari *et al.*, [4] พบว่าฤทธิ์ของสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จากดอกบัวสายสีขาว พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอกมดลูกและมะเร็งเต้านมบางชนิดได้ ปัจจุบันการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์พืชภายใต้สภาพอุณหภูมิที่ต่ำที่ 4 – 10 องศาเซลเซียส หรือการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งที่ – 196 องศาเซลเซียส ซึ่งถือว่าเป็นวิธีการหนึ่งของกระบวนการอนุรักษ์แหล่งพันธุกรรมของพืชนอกแหล่งธรรมชาติ (ex situ conservation) จึงเป็นที่มาของการศึกษาการใช้สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์พืชเพื่อให้ชิ้นพืชทนทานต่อการเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง (frozen storage) ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ซึ่งได้เคยมีรายงานการศึกษาในพืชหลายชนิด ได้แก่ การเก็บรักษาเมล็ดหญ้า switch grass (*Panicum virgatum* L.) พบว่าการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในดินที่อุณหภูมิ 10 – 15.5 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดหญ้าและต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 26.6 องศาเซลเซียส [5-8].

นอกจากนี้การงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าบัวสายสีขาวยังเป็นผลสืบเนื่องมาจากการใช้สารป้องกันการความเย็น (loading solution or osmotic loading treatment) และสารป้องกันการเกิดสภาพแก้วภายในเซลล์พืช (plant vitrification solution; PVS2, PVS3) ซึ่งสารละลายเหล่านี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง (cryoprotectants) กล่าวคือสารละลายกลุ่มดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการช่วยป้องกันการเกิดอันตรายต่อเซลล์พืชจากความเครียดของน้ำ โดยจะส่งผลให้กิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์พืช เช่น การเผาผลาญและการหายใจระดับเซลล์ถูกชะลอหรือหยุดชะงักลง และทำให้ของเหลวภายในเซลล์ (cytoplasm) อยู่ในสภาพแก้ว (vitrification) ในที่สุด [9, 10] และเป็น การเตรียมความพร้อมเซลล์พืชก่อนการย้ายสู่ไนโตรเจนเหลวในกระบวนการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืช [11] การใช้สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งในเซลล์ร่วมกับสารละลายเปลี่ยนถ่าย (unloading solution; a mixture of 2 M glycerol and 0.4 M sucrose at 25 °C for 10 min.) เพื่อช่วยปรับสภาพให้เซลล์ nucellar cells ของ navel orange และเซลล์คัพภะของหน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.) ทำให้ชิ้นพืชสามารถทนทานต่อสภาพแช่แข็งได้เช่นกัน [12] ในการเก็บรักษาชิ้นส่วนตายอด (shoot tip) ของลิลลี่ (*Lilium* spp.) ด้วยเทคนิค Droplet-vitrification พบว่าหลังจากการใช้สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์พืช 5 ชนิด ได้แก่ plant vitrification solution 2 (PVS2), modified plant vitrification solution 2 (modified PVS2), plant vitrification solution 3 (PVS3), loading solution 1 (LD1) และ loading solution 2 (LD2) สามารถช่วยป้องกันชิ้นพืชของต้นลิลลี่ทั้ง 5 สายพันธุ์จากความเครียดของน้ำทำให้ชิ้นพืชสามารถรอดชีวิตและกลับมาเจริญเติบโตได้ถึงร้อยละ 52.7 ถึง 87.5 [9] อย่างไรก็ตามกระบวนการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งที่ – 196 องศาเซลเซียส ไม่ได้เป็นการเก็บรักษาแหล่งพันธุกรรมพืชในระยะเวลานานเท่านี้ แต่ยังมีเป้าหมายเพื่อรักษาเสถียรภาพของฐานพันธุกรรมพืชชนิดนั้น [13] นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชหายากหรือพืชเฉพาะถิ่น เพื่อรักษาความหลากหลายทางชีวภาพของระบบนิเวศ (ecosystem) ตามธรรมชาติ การใช้ประโยชน์สำหรับการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ในพืชหลายชนิด ในการศึกษาที่มีจุดประสงค์เพื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บัวสายสีขาวด้วยสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งบางชนิด ภายใต้สภาพแช่แข็งที่

อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในอุณหภูมิห้องที่ 25 องศาเซลเซียส ที่ส่งผลต่อการงอกและการรอดชีวิตของต้นกล้าภายหลังกระบวนการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมเมล็ดบัวตัวอย่าง

เมล็ดบัวสายสีขาวตัวอย่างขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร ได้ถูกเก็บและคัดเลือกมาจากฝักบัวสุกของต้นแม่ที่แข็งแรงสมบูรณ์ภายในพิพิธภัณฑ์บัว กองอาคารสถานที่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ในตู้เย็นเป็นระยะเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ก่อนการทดลอง เมล็ดบัวตัวอย่างที่ผ่านการล้างเยื่อเจลาตินที่หุ้มผิวเมล็ด และทำความสะอาดด้วยน้ำสบู่และล้างด้วยน้ำกลั่นทันทีอย่างน้อย 3 ครั้ง ก่อนนำเมล็ดบัวตัวอย่างไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเปลือกหุ้มเมล็ดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite, NaOCl) ความเข้มข้น 20% (w/v) เป็นเวลา 5 นาที และตามด้วยการฟอกในสารละลาย NaOCl ความเข้มข้น 5% (w/v) เป็นเวลา 10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วอย่างน้อย 3 ครั้ง ก่อนนำเมล็ดบัวตัวอย่างไปทดลองแช่ในสารละลายป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งของพืชแต่ละชนิดและทดลองเก็บรักษาทั้งแบบภายใต้สภาพแช่แข็ง (ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส) และสภาวะอุณหภูมิห้อง (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง

การเตรียมสารละลายและส่วนประกอบของสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งของพืชแต่ละชนิด

การวิจัยนี้มีการทดลองใช้สารป้องกันการเกิดผลึกแข็ง (cryoprotectants) 3 ชนิด และสารละลายเปลี่ยนถ่าย (unloading solution) 1 ชนิด โดยมีส่วนผสมของสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งแต่ละชนิด ดังนี้ Loading solution (LS); 2 M Glycerol, 0.4 M Sucrose [12], Plant vitrification solution 2 (PVS2); 30% Glycerol, 15% Dimethyl sulfoxide (DMSO), 15% Ethylene glycol, 13.7% Sucrose in Murashige and Skoog [14] medium with 3% (w/v) Sucrose [11], Plant vitrification solution 3 (PVS3); 50% Glycerol, 50% Sucrose in Murashige and Skoog (MS) medium with 3% (w/v) Sucrose [12] และ Unloading solution (US); 1.2 M Sucrose [12].

การเก็บรักษาสภาพเมล็ดบัวตัวอย่างในสภาพแช่แข็ง

เมล็ดบัวตัวอย่างถูกบรรจุใส่หลอดทนความเย็น (cryotube) ขนาด 1.8 มิลลิลิตร สำหรับบรรจุสารละลายป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งแต่ละชนิดเพื่อปรับสภาพขึ้นพืชทดลองให้อยู่ในสภาพแก้วก่อนการเก็บรักษาโดยหลอดทนความเย็นแต่ละหลอด บรรจุเมล็ดบัวตัวอย่างประมาณ 10 เมล็ด แต่ละชุดการทดลองดำเนินการภายใต้อุณหภูมิห้องที่ 25 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการแช่เมล็ด ตั้งแต่ 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48, 96 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บรักษาที่สภาพแช่แข็ง (frozen storage) ที่ 0 องศาเซลเซียส (°C) เปรียบเทียบกับที่สภาพอุณหภูมิห้อง (room temperature) ที่ 25 องศาเซลเซียส (°C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากขั้นตอนการเก็บรักษาสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งแต่ละชนิดจะถูกเปลี่ยนถ่ายและแทนที่ด้วยสารละลาย unloading solution (US) เพื่อปรับสภาพขึ้นพืชหลังกระบวนการเก็บรักษา ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพโรงเรือน

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการทางสถิติ

โดยแต่ละชุดการทดลองจะใช้เมล็ดบัวตัวอย่างจำนวน 10 เมล็ด (replications) และทดลองซ้ำ (repeat) ทั้งสิ้นจำนวน 5 ครั้ง (times) และวางแผนดำเนินการวิจัยด้วยวิธีการแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของข้อมูลและความแปรปรวนของข้อมูลแบบ One-way ANOVA, F-test) และ Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS

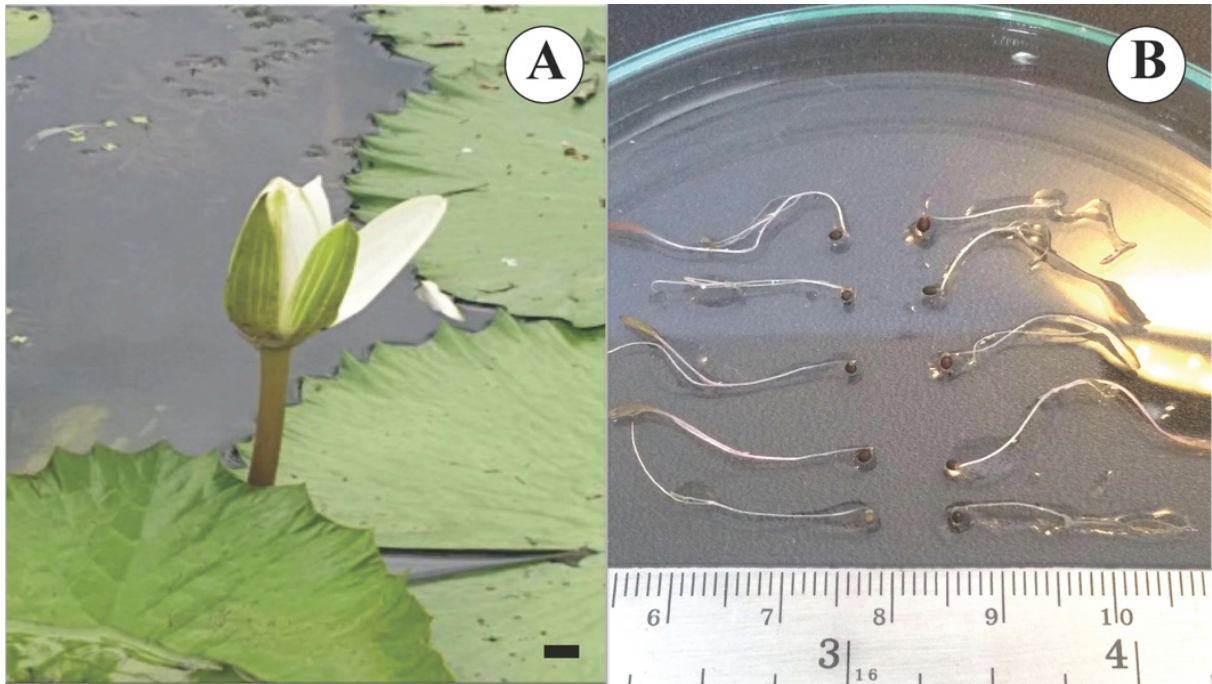
การหาความสัมพันธ์ของข้อมูลการงอกของเมล็ด

ภายหลังกระบวนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์บัวสายสีขาวภายใต้สภาวะแช่แข็ง เมล็ดบัวสายสีขาวจะถูกนำมาเพาะเลี้ยงที่สภาพโรงเรือนเพื่อศึกษาการงอก (germination) ของเมล็ดบัวสายสีขาวตัวอย่างที่ศึกษาดังสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด (\%)} = \left(\frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \right) \times 100$$

ผลการทดลอง

หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในแต่ละชุดการทดลองพบว่า การแช่เมล็ดบัวสายสีขาวในสารละลาย LS เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนการเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้องที่ 25 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดบัวสายสีขาวตัวอย่างได้ดีกว่า (ร้อยละ 94) การเก็บรักษาภายใต้สภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส (ร้อยละ 92) สำหรับการแช่เมล็ดบัวสายสีขาวในสารละลาย PVS2 ก่อนเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิห้องสามารถกระตุ้นการงอกได้ดีกว่าการเก็บรักษาภายใต้สภาพแช่แข็ง โดยที่เมล็ดบัวตัวอย่างที่แช่ในสารละลาย PVS2 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนเก็บรักษาทั้งแบบภายใต้อุณหภูมิห้องและสภาพแช่แข็งมีอัตราการงอกและการรอดชีวิตถึงร้อยละ 94 (ภาพ 1B) และในการแช่เมล็ดบัวสายสีขาวในสารละลาย PVS3 ก่อนการเก็บรักษาภายใต้สภาพแช่แข็งสามารถกระตุ้นการงอกได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยเมล็ดบัวตัวอย่างที่ผ่านการแช่ในสารละลาย PVS3 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งมีอัตราการงอกที่ร้อยละ 56 (ตาราง 1)



ภาพ 1 ลักษณะดอกของบัวสายสีขาว (A) และเมล็ดบัวตัวอย่างที่แช่ในสารละลาย PVS2 และเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (B)

ตาราง 1 ผลของการใช้สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง 3 ชนิด และการเก็บรักษา (Frozen storage, +FS) ที่อุณหภูมิ 0 °C และไม่เก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง (Non-frozen storage, -FS) ที่อุณหภูมิ 25 °C ต่อการงอก (germination) ของเมล็ดบัวสายสีขาว หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในสภาพโรงเรือน

Exposure time (h)	LS		PVS2		PVS3	
	-FS	+FS	-FS	+FS	-FS	+FS
0	66.00 ± 6.77 ^{cd}	84.00 ± 5.24 ^{ab}	84.00 ± 5.24 ^{abc}	76.00 ± 6.10 ^{bc}	40.00 ± 7.00 ^{ab}	20.00 ± 5.71 ^{cdef}
1.5	88.00 ± 4.64 ^{ab}	86.00 ± 4.96 ^{ab}	76.00 ± 6.10 ^{bc}	94.00 ± 3.39 ^a	32.00 ± 6.66 ^{bcd}	32.00 ± 6.66 ^{bcd}
3	90.00 ± 4.29 ^{ab}	80.00 ± 5.71 ^{abc}	90.00 ± 4.29 ^{ab}	76.00 ± 6.10 ^{bc}	4.00 ± 2.80 ^{fg}	38.00 ± 6.93 ^{bc}
6	90.00 ± 4.29 ^{ab}	88.00 ± 4.64 ^{ab}	90.00 ± 4.29 ^{ab}	88.00 ± 4.64 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^g	12.00 ± 4.64 ^{efg}
12	94.00 ± 3.39 ^a	88.00 ± 4.64 ^{ab}	94.00 ± 3.39 ^a	94.00 ± 3.39 ^a	14.00 ± 4.96 ^{defg}	38.00 ± 6.93 ^{bc}
24	88.00 ± 4.64 ^{ab}	82.00 ± 5.49 ^{ab}	82.00 ± 5.49 ^{abc}	68.00 ± 6.66 ^c	24.00 ± 6.10 ^{bcde}	12.00 ± 4.64 ^{efg}
48	86.00 ± 4.96 ^{ab}	84.00 ± 5.24 ^{ab}	88.00 ± 4.64 ^{ab}	50.00 ± 7.14 ^d	6.00 ± 3.39 ^{efg}	56.00 ± 7.09 ^a
96	76.00 ± 6.10 ^{bc}	56.00 ± 7.09 ^d	94.00 ± 3.39 ^a	70.00 ± 6.55 ^c	42.00 ± 7.05 ^{ab}	24.00 ± 6.10 ^{bcde}

Value presented as mean ± SE; different letters within a column indicate significant differences at $p = 0.05$ according to analysis of variance (ANOVA)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากรายงานการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้า สายพันธุ์ *Vanda tricolor* พบว่าการใช้สารละลาย LS ช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดได้ดีกว่าชุดการทดลองควบคุม [15] และการทดลองใช้สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง 5 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำผึ้ง meso-inositol แมนนิทอล และนมชาดมันเนย สำหรับใช้เก็บรักษาเมล็ดกล้วยไม้ 12 ชนิด พบว่าสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งที่ใช้ได้ผลดีที่สุดคือ 5% (w/v) meso-inositol, 7.5% (w/v) mannitol และ 7.5% (w/v) glucose ตามลำดับ และพบว่าเมล็ดของกล้วยไม้ 3 ชนิด ได้แก่ *Dendrobium crystallinum* Rchb.f., *Dendrobium virgineum* Rchb.f., และ *Vanda 'Miss Joaquim'* ที่ถูกแช่และเคลือบด้วยสาร meso-inositol และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ปี มีอัตราการงอกถึงร้อยละ 50.7, 31.5 และ 8.6 ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการใช้สาร meso-inositol สำหรับเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 และ 2 ปี กลับส่งผลให้ความมีชีวิตของเมล็ดลดลง ซึ่งถือว่าสาร meso-inositol เป็นสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งที่ไม่เป็นพิษและสามารถพัฒนาไปใช้ในการเก็บรักษาในธนาคารเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ [16] เช่นเดียวกับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ฟ้ามูย (*Vanda coerulea* Griff. ex Lindl.) พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ฟ้ามูยที่ผ่านการทำให้เกิดสภาพแก้ว (vitrification) ด้วยสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง PVS2 เป็นเวลา 70 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปเก็บรักษาในถังไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน สามารถงอกได้ถึงร้อยละ 67 และต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้ปกติในหลอดทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้ใช้สาร PVS2 ก่อนการเก็บรักษาในถังไนโตรเจนเหลว ซึ่งพบว่าเมล็ดกล้วยไม้ไม่สามารถรอดชีวิตได้ภายหลังนำออกมาเพาะเลี้ยง [17]

สารละลายป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งของพืชแต่ละชนิดมีความเหมาะสมกับพืชต่างชนิดกัน จึงต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อใช้ความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม เพื่อดึงน้ำออกจากเซลล์อย่างเพียงพอ ทั้งนี้สารเคมีบางชนิดจะแทรกซึมเข้าไปสู่ภายในเซลล์ และไม่มีความเป็นพิษ แต่ทำให้เกิดสภาพแก้ว (vitrification) เมื่ออุณหภูมิอยู่ในภาวะเย็นยวดยิ่ง [18] Sakai et al. [11] ได้รายงานว่าสารละลาย PVS2 จะเปลี่ยนสภาพจากของเหลวเป็นผลึกน้ำแข็งที่อุณหภูมิ -100 องศาเซลเซียส (°C) และจากผลึกน้ำแข็งเปลี่ยนเป็นสภาพแก้วที่อุณหภูมิประมาณ -115 °C ทำให้ช่วงอุณหภูมิที่เกิดเป็นผลึกน้ำแข็งสั้นกว่าน้ำบริสุทธิ์ (0 ถึง -134 °C) แต่ในขณะเดียวกันสารละลาย PVS2 มีความเข้มข้นโมลาริตีทั้งหมด (total molarity) ที่สูงถึง 7.8 โมลาร์ ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์ค่อนข้างสูง จึงต้องมีการระวังเรื่องระยะเวลาในการทดลองที่เหมาะสมและแม่นยำ [19] ดังนั้นการใช้อุณหภูมิที่ต่ำในการทดลอง อาทิเช่น ที่ 0 °C ในการดึงน้ำออกจากเซลล์หรือชั้นพืชที่ศึกษาจะเกิดการดึงน้ำออกที่ช้าลงเช่นเดียวกัน อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นช้าลงเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิห้อง (25 °C) ทำให้ช่วงเวลากการทดลองยาวนานขึ้นส่งผลให้เกิดความผิดพลาดเรื่องระยะเวลาการใช้สารละลายลดลงตามไปด้วย จากผลการทดลองในการใช้สารละลาย PVS2 เพื่อเก็บรักษาเมล็ดบัวสายสีขาวมีความสอดคล้องกับการศึกษาในต้นวาซาบิ [20] พบว่าการแช่ชั้นพืชในสารละลาย PVS2 ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 10 นาที ส่งผลให้ชั้นพืชมีการรอดชีวิตสูงที่สุด ในขณะที่การแช่ชั้นพืชในสารละลาย PVS2 ที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลานาน 30 – 60 นาที จะส่งผลให้มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด ดังนั้นการทดลองส่วนใหญ่จึงมักใช้อุณหภูมิที่ 0 °C เพื่อให้มีระยะเวลาการทดลองแช่สารละลายที่ยาวนานขึ้น สะดวก คล่องตัว ทำให้ไม่ต้องเร่งรีบกระบวนการ และยังทำให้การรอดชีวิตของชั้นพืชที่ศึกษายังคงสูง ในพืชบางชนิดอาจจะไม่ทนทานต่อสารละลาย PVS2 อันเนื่องมาจากความเครียดออสโมติก (osmotic stress) และความเป็นพิษของสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาขั้นตอนเป็น 2 ขั้นตอน โดยเริ่มจากการปรับสภาพชูโครสเป็น 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 1 วัน และตามด้วยการใช้สารป้องกันแรงดันออสโมติก (osmoprotectant) สารละลายกลีเซอรอลที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์กับชูโครสที่ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้ชั้นพืชที่ศึกษาปรับสภาพให้ทนทานต่อแรงดันออสโมติกตลอดจนช่วยรักษาสมดุลดังกล่าวเพื่อช่วยให้ชั้นพืชที่ศึกษามีการรอดชีวิตที่สูงหลังเก็บรักษาในภาวะเย็นยวดยิ่ง (cryopreservation)

สรุป

สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งของพืชที่เหมาะสมที่สุดในการใช้เก็บรักษาเมล็ดบัวสายสีขาว คือ plant vitrification solution 2 (PVS2) โดยระยะเวลาการแช่ในสารละลาย (exposure time) ที่เหมาะสมที่สุดคือ 12 ชั่วโมง ก่อนการเก็บรักษาภายใต้สภาพแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยพบว่าเมล็ดบัวสายสีขาวตัวอย่างในชุดการทดลองดังกล่าวมีอัตราการงอกและการรอดชีวิตสูงที่สุดถึงร้อยละ 94 หลังการเพาะเลี้ยงในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 4 สัปดาห์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่บริการงานเกษตร ฝ่ายภูมิทัศน์ (งานพิพิธภัณฑบัว) กองอาคารสถานที่ สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยและการสนับสนุนด้านงบประมาณจากหมวดเงินอุดหนุนสำหรับโครงการวิจัยประยุกต์ กองทุนส่งเสริมงานวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 จาก สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ตำบลคลองหก อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

- 1 Songpanich, P. and Hongtrakul, V. (2010). Intersubgeneric cross in *Nymphaea* spp. L. to develop a blue hardy waterlily. *Scientia Horticulturae* 124, 475 – 481.
- 2 Jacobs, S. W. L. and Porter, C. I. (2007). *Nymphaeaceae*. *Flora of Australia* 2, 259 – 275.
- 3 Slocum, P. D. (2005). *Waterlilies and lotuses: Species cultivars and new hybrids*. Timber Press, Inc, Portland, OR, USA, 260 p.
- 4 Selvakumari, E., Shantha, S., Purushoth, P. T. and Sreenathkumar, C. (2012). Antiproliferation activity of ethanolic flower extract from *Nymphaea pubescens* Willd. Against human cervical and breast carcinoma *in vitro*. *International Research Journal of Pharmacy* 3(1), 124 – 125.
- 5 Kimura, E., Fransen, S. C., Collins, H. P., Guy, S. O. and Johnston, W. J. (2015). Breaking seed dormancy of switchgrass (*Panicum virgatum* L.): A review. *Biomass and Bioenergy* 80, 94 – 101.
- 6 Seepaul, R., Macoon, B., Reddy, K. R. and Baldwin, B. (2011). Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) intraspecific variation and thermotolerance classification using *in vitro* seed germination assay. *American Journal of Plant Science* 2(2), 134 – 147.
- 7 Parrish, D. J. and Fike, J. H. (2005). The biology and agronomy of switchgrass for biofuels. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24(5), 423 – 459.
- 8 Hsu, F. H., Nelson, C. J. and Matches, A. G. (1985). Temperature effects on germination of perennial warm-season forage grasses. *Crop Science* 25(2), 215 – 220.
- 9 Yi, J. Y., Lee, G. A., Chung, J. W., Lee, S. Y. and Lim, K. B. (2013). Efficient cryopreservation of *Lilium* spp. Shoot tips using droplet-vitrification. *Plant Breeding Biotechnology* 1(2), 131 – 136.
- 10 Volk, G. M., Maness, N. and Rotindo, K. (2004). Cryopreservation of garlic (*Allium sativum* L.) using plant vitrification solution 2. *CryoLetters* 15, 219 – 226.
- 11 Sakai, A., Kobayashi, S. and Oiyama, I. (1990). Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. Var. *Brasiliensis* Tanaka) by vitrification. *Plant Cell Report* 9, 30 – 33.
- 12 Nishizawa, S., Sakai, A., Amano, Y. and Matsuzawa, T. (1993). Cryopreservation of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) embryogenic suspension cells and subsequent plant regeneration by vitrification. *Plant Science* 91, 67 – 73.
- 13 Kulus, D. and Zalewska, M. (2014). Cryopreservation as a tool used in long-term storage of ornamental species – A review. *Scientia Horticulturae* 168, 88 – 107.
- 14 Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology* 15, 473 – 497.

- 15 Jitsopakul, N., Thammasiri, K., Yukawa, T. and Ishikawa, K. (2012). Effect of cryopreservation on seed germination and protocorm development of *Vanda tricolor*. *ScienceAsia* 38, 244 – 249.
- 16 Huehne, P. S. and Bhinija, K. (2012). Application of cryoprotectants to improve low temperature storage survival of orchid seeds. *Scientia Horticulturae* 135, 186 – 193.
- 17 Thammasiri, K. and Soankul, L. (2007). Cryopreservation of *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl. Seeds by Vitrification. *ScienceAsia* 33, 223 – 227.
- 18 Thammasiri, K. (2019). Plant cryopreservation. P. S. Press, Inc, Bangkok, Thailand, 201 p.
- 19 Kim, H. H., Kim, J. B., Baek, H. J., Cho, E. G., Chae, Y. A. and Engelmann F. (2004). Evolution of DMSO concentration in garlic shoot tips during a vitrification procedure. *CryoLetters* 25, 91 – 100.
- 20 Matsumoto, T., Sakai, A. and Yamada, K. (1994). Cryopreservation of *in vitro* – grown apical meristems of wasabi (*Wasabia japonica*) by vitrification and subsequent high plant regeneration. *Plant Cell Reports* 13, 442 – 446.

A preliminary study of selected *Leptolejeunea* (Spruce) Steph. (Lejeuneaceae, Marchantiophyta) in Northern Thailand

Purachet Phankien¹ and Ekaphan Kraichak^{1*}

Abstract

A morphological study of liverworts genus *Leptolejeunea* (Spruce) Steph. in northern of Thailand was conducted to clarify the current level of diversity and taxonomic characters. Four species were found, including *L. apiculata* (Horik.) S. Hatt., *L. balansae* Steph., *L. elliptica* (Lehm.et Lindenb.) Besch. and *L. udarii* M.Dey et D.K.Singh. Two distinct groups of taxa were recognized based on the type of ocelli arrangement. The first group comprised *L. apiculata*, *L. elliptica* and *L. udarii*, while the other group consisted of *L. balansae*. Detailed description of useful characters for identification are provided.

Keyword: *Leptolejeunea*, liverworts, morphology, epiphyll

¹ Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

* Corresponding author, e-mail: ekaphan.k@ku.th

Introduction

A genus *Leptolejeunea* was first described in 1891 by Franz Stephani [1]. It is a genus in the family Lejeuneaceae, with 45 species in the world [2], widely distributed in high humidity areas of the tropical zone [3]. In Thailand, seven species are listed in the checklist in 2008 [4], but at present twelve species were reported, including *L. apiculata* (Horik.) S. Hatt., *L. arunchalensis* Sudipa Das et D.K. Singh., *L. balansae* Steph., *L. elliptica* (Lehm. et Lindenb.) Besch., *L. epiphylla* (Mitt.) Steph., *L. follicola* Steph., *L. latifolia* Herzog, *L. maculata* (Mitt.) Schiffn., *L. renneri* Herzog, *L. serrulata* Herzog, *L. subrotundifolia* Herzog and *L. vitrea* (Nees) Schiffn. [3, 5-14]. The continued discovery of new records indicates the high level of diversity of this genus. Thus, if we continue to collect more of this genus in different ecology and habitat, we may find additional members of the genus or other characters that can support taxonomic studies of this genus in Thailand.

The key morphological characters of the genus *Leptolejeunea* include branching of the *Lejeunea*-type, deeply bilobed underleaves, stem transverse section consisting of seven cortical cells, large thin wall cell with distinct trigone and presence of ocelli [15]. Some morphological characters are similar to the genus *Dreapanolejeunea* in having as ocelli pattern, but they differ in the shape of and patterns of cell in underleaves [16]. However, a few species in genus *Leptolejeunea* are still difficult to distinguish, and no detailed study on morphology of this genus in Thailand has been conducted yet. Therefore, the objective of this study was to examine the taxonomic characters of some *Leptolejeunea* species in Thailand, specifically those from Northern Thailand, because it is the area that has the suitable condition for *Leptolejeunea*, but the currently only three species were reported from this area [4]. We focused on the epiphyllous species in this study, as the majority of this genus have epiphyllous habit.

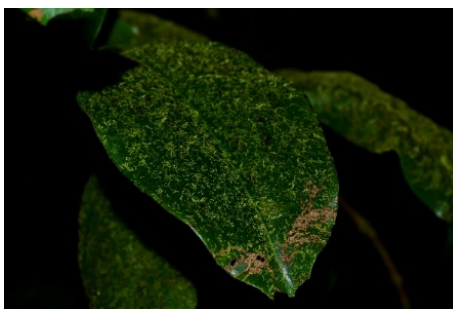


Fig 1. Habitats and habits epiphyll of genus *Leptolejeunea* species

Materials and Methods

The study of the morphological study of *Leptolejeunea* (Spruce) Steph. (Lejeuneaceae) Northern Thailand was conducted from October 2017 to February 2019. A total of 9 localities were chosen for the collection, based on the previous reports and additional potential localities, including 1. Doi Inthanon National Park, 2. Doi Suthep-Pui National Park, 3. Doi Pha Hom Pok National Park, 4. Phu Hin Rong Kla National Park, 5. Thung Salaeng Luang National Park, 6. Doi Phu Kha National Park, 7. Omkoi Wildlife Sanctuary, 8. Chiang Dao Wildlife Sanctuary and 9. Mae Kampong Village.

Both morphological and anatomical features of the collected gametophyte specimens were studied under stereo and compound microscopes. Epiphyllous bryophytes gametophyte specimens were identified,

using both keys and descriptions from various taxonomic literatures. The classification and nomenclature of the families and genera followed the relevant literature [15,17-18]. The terminology of morphological characters follows the usage in the Epiphyllous Liverworts of China [15].

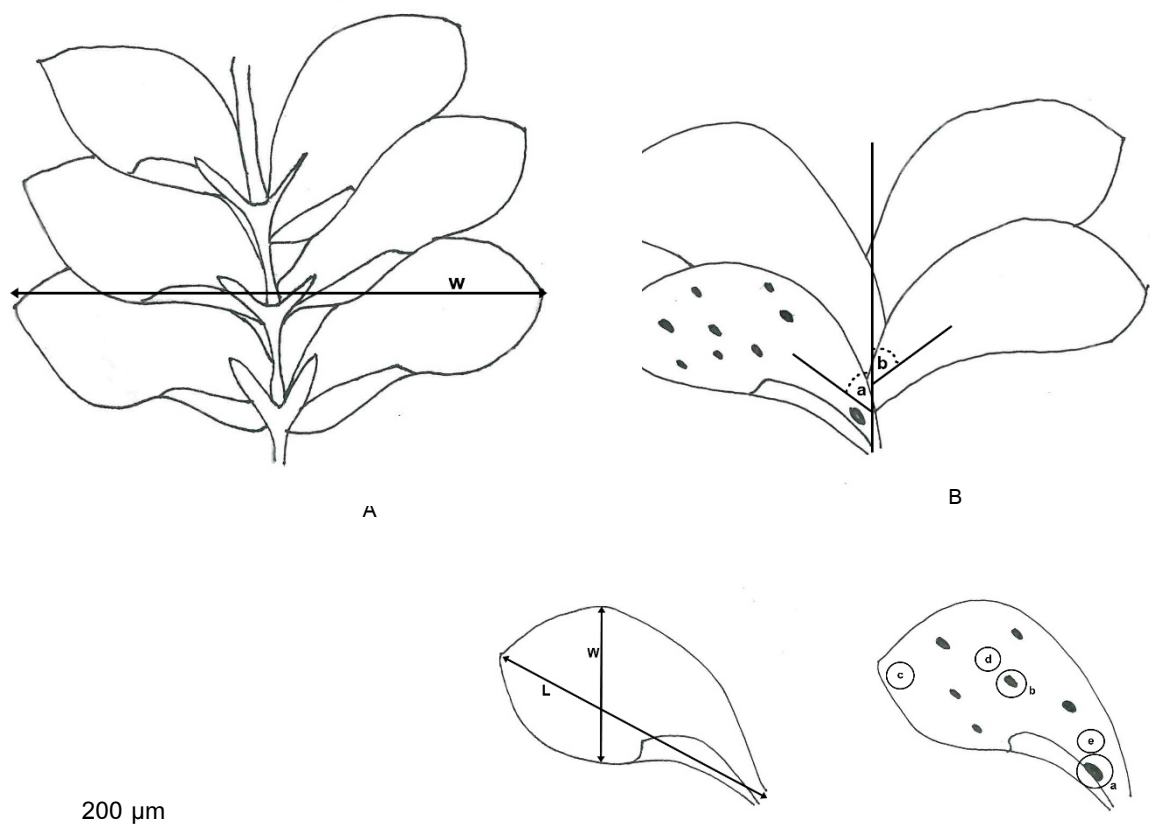


Fig 2. Methods of measurement in genus *Leptolejeunea*. A. plant ventral view; w = plant width. B. plant dorsal view; a, b = leaf angles. C. leaf, ventral view; w = leaf width, l = leaf length. D. leaf, dorsal view; a = suprabasal ocelli, b = ocelli, c = apical cells, d = medial cells, e = basal cells.

Result and Discussion

The field collections yielded a total of 212 herbarium specimens. Among these, we found four out of twelve previously reported *Leptolejeunea* species, including *L. apiculata* (Horik.) S.Hatt., *L. balansae* Steph., *L. elliptica* (Lehm. et Lindenb.) Besch. and *L. udarii* M. Dey et D. K. Singh. These species occurred in the shade and high humidity area in dry evergreen forest, lower montane rainforest and upper montane rain forest 700 m. above sea level. The most commonly found species in the Northern Thailand is *L. balansae*, while the rarest species was *L. udarii* which was found only one locality (Table 1).

Plants

Plants are pale green to dark green and, and brown to dark brown when dry. *Leptolejeunea* in northern Thailand are normally small plants. The largest species is *L. apiculata* (shoot is only 0.2–0.4 mm wide including leaf lobes) and the smallest species is *L. udarii*, shoot is 1.0–1.5 mm wide. In comparisons to the closely related genus *Drepanolejeunea* lobe of *Leptolejeunea* species have a wider base compared to the mid part of the lobe, while the base of *Drepanolejeunea* lobes are usually narrow [19]. *Leptolejeunea* specimens slowly turn to brown and dark brown when dry [16]. In the field *Leptolejeunea* have a strong fragrance [3].

Stems

Stem of this genus are small, yellowish-brown to brown when dry, and for all of the species from Northern Thailand, the stem is composed of 7 rows of cortical cells surrounding 3 rows of medullary cells. Merophytes are two cell wide.

Leaf lobes (Fig. 3)

Lobes shape and size of the leaf lobes in *Leptolejeunea* are variable. Leaf lobes of the genus are distant to contiguous. Lobe shape is obovate (*L. apiculata* and *L. udarii*), ovate (*L. balansae*) and elliptic (*L. elliptica*). Apex is usually acute, rarely obtuse. All of the species from the northern Thailand have entire lobe margin entire, in contrast to the species from the peninsula of Thailand that have lobe margin subentire to dentate-denticulate as in *L. maculata* and *L. tripuncta*. [8]

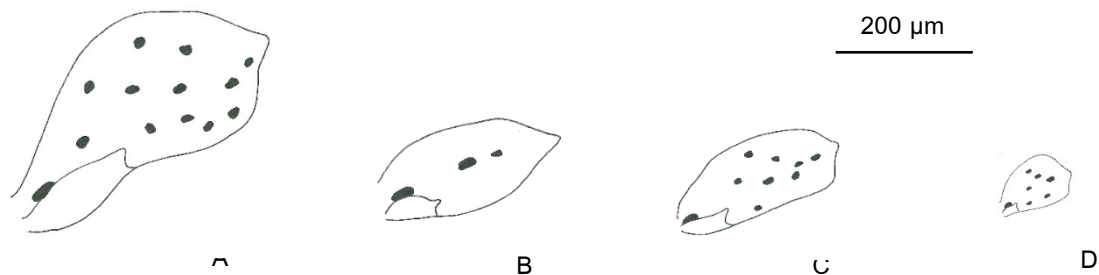


Fig. 3 The variations of the leaf lobes genus *Leptolejeunea* species. A. *L. apiculata*, B. *L. balansae*, C. *L. elliptica*, D. *L. udarii*

Table 1. List and voucher numbers of *Leptolejeunea* species found in Northern, Thailand

No.	Localities	Collectors No.				Total
		<i>L. apiculata</i>	<i>L. balansae</i>	<i>L. elliptica</i>	<i>L. udarii</i>	
1.	Doi Inthanon National Park		101, 102, 103, 104, 105, 106, 115, 116, 117, 118, 120, 123, 130, 131, 132, 133, 142, 144, 165, 166, 167, 175, 176, 177, 181, 182, 1092, 1200, 1201, 1202, 1203, 1204, 1302, 1303, 1307	81, 82, 119, 121, 122, 178, 179, 180, 1091, 1093, 1094, 1095, 1096		48
2.	Doi Suthep-Pui National Park	64A	60, 61, 772, 773, 778, 779, 782, 783, 784, 786, 790, 792, 793	62, 63, 64B, 771, 774, 775, 776, 777, 780, 781, 785, 788, 789, 791, 794	787	30
3.	Doi Pha Hom Pok National Park	1503, 1504, 1509, 1510	1500, 1501, 1502, 1506, 1507, 1511, 1512, 1551, 1552, 1555, 1557, 1558, 1559, 1561,	1505, 1508, 1550, 1553, 1554, 1556, 1560		25
4.	Phu Hin Rong Kla National Park		1, 2, 3, 891, 892, 893, 894, 895, 910, 911, 912, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, ,998, 1000, 1001, 1002, 1003, 1004, 1005, 1006, 1400, 1401, 1402, 1403, 1404, 1405, 1406, 1407, 1408, 1409, 1410			61
5.	Thung Salaeng Luang National Park		1050, 1051, 1052, 1053, 1054			5
6.	Doi Phu Kha National Park	261, 262	260	270, 271, 272, 273, 274		8
7.	Omkoi Wildlife Sanctuary			1701, 1702, 1703, 1704, 1706, 1707, 1710, 1711, 1712, 1713, 1714, 1715, 1718, 1719, 1720		15
8.	Chiang Dao Wildlife Sanctuary		1801, 1802, 1803, 1804, 1805			5
9.	Mae Kampong Village		811, 812, 813, 814, 815			5
Total		7	139	65	1	212

Leaf lobules (Fig. 4)

Leaf lobules are variable in sizes and shapes from ovate and ovate-oblong, cell subquadrate to rectangular, or sometimes reduced. First tooth is 1 cell long, or sometime reduced, obtuse. Hyaline papilla present at the proximal side. Second tooth is reduced. Similar to most other *Leptolejeunea* species found in the relatively conspicuous lobule. [8,15]

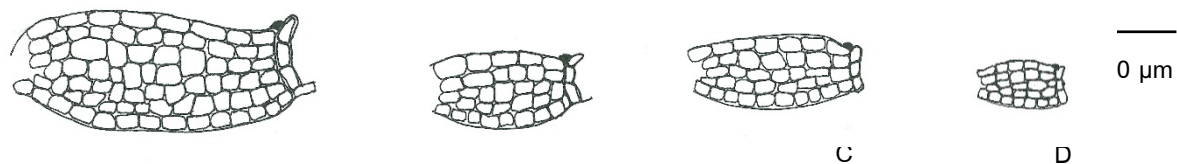


Fig. 4 The variations of the leaf lobules in the genus *Leptolejeunea* species. A. *L. apiculata*, B. *L. balansae*, C. *L. elliptica*, D. *L. udarii*.

Leaf cell (Fig. 5)

The cells of leaf lobe are variable in size and shape with the median cells being, thin walled, trigones small, intermediate thickenings distinct with 1 thickening per wall, or sometimes more than 1 per wall in the case of *L. apiculata*. The leaf cells are subquadrate at the margin, subquadrate to hexagonal in the middle, and basal cells are similar to median cells towards the base, but usually if a larger size.

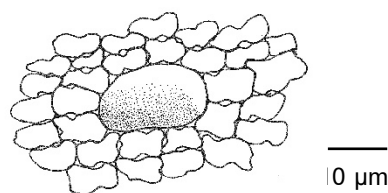


Fig. 5 Show thin walled, trigones small and intermediate thickenings distinct of *L. apiculata*

Ocelli (Fig. 6)

The ocellus is a specialized cell which is full of oil bodies and usually lacks chloroplasts. It is easy to recognize by their large size and greyish to brown in color under the compound microscope. The ocelli present in the leaf lobe of *Leptolejeunea* species. The ocellus type of the genus *Leptolejeunea* single type. Using the similar terminology from the previous studies [15] two main types of ocelli patterns in the leaf lobes among the studied species are recognized:

1. scattered type

This type consists of 1 suprabasal, the bottommost one separated by one ordinary leaf cell from stem cells, and 1-3 median ocelli that are somewhat aligned in a straight line. The species with this type is *L. balansae*.

2. irregular scattered type

This type consists of 1 suprabasal, the bottommost one separated by one ordinary leaf cell from stem cells, and up to 10 median ocelli cell scattered irregularly throughout the lobe. The species with this type include, *L. apiculata*, *L. elliptica* and *L. udarii*.

Other genera of leafy liverworts also employed the pattern of ocelli to separate the species. For example, in the genus *Drepanolejeunea*, four types of ocelli arrangement are recognized, including of 1). basal type with generally 1–2 up to 4 cells, only at the base of leaf lobe, and the bottommost one next to the stem cells, 2). suprabasal type ocelli with 1–2 cells, only at the base of leaf lobe, and the bottommost one separated by one ordinary leaf cell from stem cells, 3). seriate type with ocelli arranged in a row extending from the base towards the leaf apex and 4). dispersed type with the ocelli irregularly dispersed in the leaf lobe [16]. In comparison to our study, our scattered type is similar to the suprabasal type mixed with seriate type in *Drepanolejeunea*, and our irregularly scattered type is similar to the suprabasal mixed dispersed type in *Drepanolejeunea*.

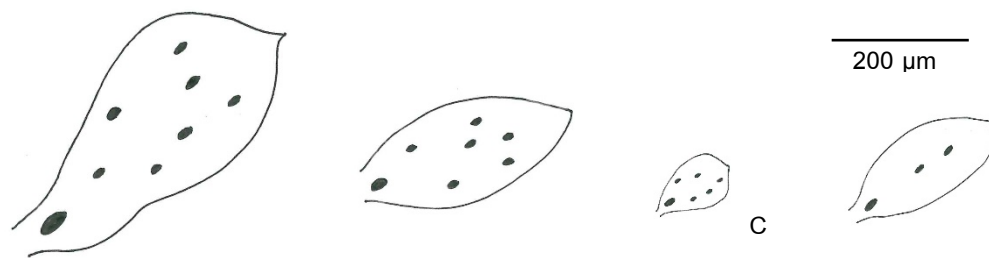


Fig. 6 The pattern of ocelli in the leaf lobes. A-C. Irregularly scattered type, *L. apiculata*, *L. elliptica* and *L. udarii*. D. Scattered type type, *L. balansae*

Underleaves (Fig. 7)

The underleaves of genus *Leptolejeunea* species vary in shape, size, and an angle from the stem. They are smaller than the leaf lobes, distant, deeply bilobed, entire margins, spread from the stem at an angle of 45°–75°, and lobe linear, 1–2 cells wide at base, For the majority of Northern species, the lobe of underleaf is, 1-3 cell long and 1 cell wide at the base in *L. balansae*, *L. elliptica* and *L. udarii*. The underleaf lobe of *L. apiculata* is distinguished from the others by being lanceolate with 2 cell wide at base 4-7 cell long.

From the investigation, underleaves in the most species of *Leptolejeunea* are similar to *Drepanolejeunea*. The *Leptolejeunea* can be distinguished by having large marginal cells surrounding numerous small inner cells at the basal portion of underleaf, while the marginal cells are of similar size to the disc cells in *Drepanolejeunea* [16], Moreover, the studied species of *Leptolejeunea* differed from *Drepanolejeunea* in having 1 or 2 cell wide underleaf lobe, whereas the underleaf lobe can be uniseriate to multiple cell wide in *Drepanolejeunea* [16]. The variation in underleaf lobe was used for subgeneric classification in *Drepanolejeunea*, but in *Leptolejeunea* the difference is not large enough to support subgeneric classification.

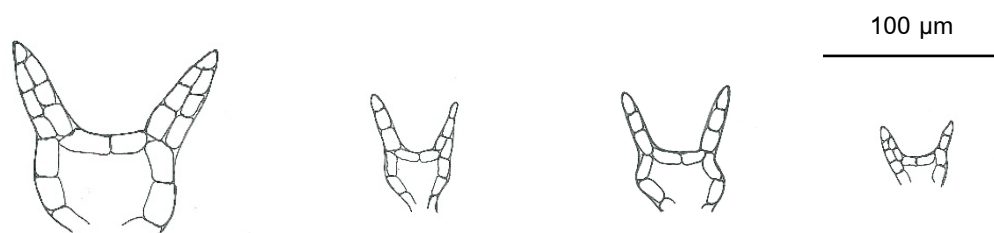


Fig. 7 The variations of underleaves in the genus *Leptolejeunea* species A. *L. apiculata*, B. *L. balansae*, C. *L. elliptica*, D. *L. udarii*

Conclusion

The morphological some characters used for identification of northern Thai *Leptolejeunea* species include lobe shape, lobule size, number and pattern of ocelli, and underleaf. Under a compound microscope, the pattern of ocelli and cells in underleaf lobe in particular can be used main characters for distinguishing species from Northern Thailand.

Acknowledgement

The authors thank the Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation, Thailand for their permission to collect specimens in Thailand, Kasetsart University Research and Development Institute for funding. This research was partially supported, under the Strengthening and Developing New Researcher Plan, in conformance with the Research and Innovation of Graduate Study Strategy of the National Research Council of Thailand (NRCT) as of the fiscal year 2019.

References

1. Stephani, F. (1891). Hepaticae africanae. *Hedwigia* 30 (6), 265–272.
2. Söderström, L., Hagborg, A., von Konrat, M., Began, S. B., Bell, D., Briscoe, L., Brown, E., Cargill, D. C., Costa, D. P., Stotler, B. J. C., Cooper, E. D., Dauphin, G., Engel, J. J., Feldberg, K., Glenny, D., Gradstein, S. R., He, X., Heinrichs, J., Hentschel, J., Borges, A. L. I., Katagiri, T., Konstantinova, N. A., Larrain, J., Long, D. J., Nebel, M., Pócs, T., Puche, F., Drehwald, E. R., Renner, M. A. M., Gyarmati, A. S., Verwimp, A. S., Moragues, J. G. S., Stotler, R. E., Sukkharak, P., Tiers, B. M., Uribe, J., Váña, J., Villarreal, J. C., Wigginton, M., Zhang, J. L., & Zhu, R. L. (2016). World Checklist of Hornworts and Liverworts. *PhytoKeys* 59, 1-828.
3. Bechteler, J., Verwimp, A. S., Lee, G. E., Feldberg, K., Escobar, O. A. P., Pócs, T., Peralta, D. F., Renner, M. A. M., & Heinrichs, J. (2016). Geographical structure, narrow species ranges, and Cenozoic diversification in a pantropical clade of epiphyllous leafy liverworts. *Ecology and Evolution*. 1-16.
4. Lai, M.J., Zhu, R.L. & Chantanaorrapint, S. (2008). Liverworts and Hornworts of Thailand: An Updated Checklist and Bryofloristic Accounts. *Annales Botanici Fennici* 45, 321-341.
5. Boonkerd, T., Pollawatn, R., Chantanaorrapint, S. & Lai, M. J. (2007). Bryophyte Diversity at Thong Pha Phum National Park, Kanchanaburi Province. *BRT Research Reports 2007 : Western Thong Pha Phum*. 119-127.
6. Chantanaorrapint, S., Boonkerd, T., & Thaitong, O. (2004). Checklist of Bryophytes at the Summit of 3 Khao Lunag, Hui Yang Waterfall National Park, Prachuap Khiri Khan Province, Thailand. *Natural History Bulletin of the Siam Society* 52(2), 163-179.
7. Kraichak, E. & Yuangthong, K. (2012). Ecology and diversity of epiphyllous bryophytes in the Naka Wildlife Sanctuary, Ranong Province: A preliminary study. report to Department of National Parks, Wildlife, and Plants.
8. Pócs, T. & Podani, J. (2015). Southern Thailand Bryophytes II: Epiphylls from the Phang-Nga Area. *Acta Botanica Hungarica* 57(1-2), 183-198.
9. Pócs, T. & Chantanaorrapint, S. (2016). Southern Thailand Bryophytes III: A Preliminary study on non epiphyllous taxa in Lowland Areas. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 38(3), 311-318.
10. Printarakul, N. (2016). Bryophyte flora of Doi Suthep-Pui National Park, Chiang Mai, Thailand. (Ph.D. Thesis). Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.
11. Sornsamran, R. & Thaitong, O. (1995). Bryophytes in Thailand. Bangkok. Intergrated Promotion Technology Co., Ltd. p. 234.
12. Sukkharak, P. (2007). Liverwort diversity at Khao Nan National Park, Nakhon Si Thammarat Province. (Master's Thesis). Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

13. Suwanmala, O. & Chantanaorrapint, S. (2016). Bryophytes of terrestrial plant community on coastal sandbar, Thai Mueng District, Phangnga Province. *Thai Journal of Botany* 8(2), 279-294.
14. Tixier, P. (1970). Bryophytae Indosinicae: bryophytes from Thai Tenasserim. *Natural History Bulletin of the Siam Society* 23(4 & 5): 541-560.
15. Zhu, R. L. & So, M. L. (2001). Epiphyllous liverworts of China. Stuttgart. Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung. p. 403.
16. Inuthai, J. (2016). A Taxonomic study of the genus *Drepanolejeunea* (Spruce) Steph. (Lejeuneaceae, Marchantiophyta) in Thailand and Malay Peninsula. (Ph. D. Thesis). Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand.
17. Dey, M. & Singh, D. K. (2010). Two new epiphyllous *Leptolejeunea* (Hepaticae: Lejeuneaceae) from Eastern Himalaya, India. *Taiwania* 55(4). 355-362.
18. Herzog, T. (1942). Revision der Lebermoosgattung *Leptolejeunea* Spr. in der Indomalaya. *Flora* 135, 377-434.
19. Evans, A. W. (1902). Hepaticae of Puerto Rico I. The species of *Leptolejeunea*, including an account of their vegetative reproduction. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 29, 496–510.

อิทธิพลของแสงต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของขนุน 5 พันธุ์ปลูก

วีรศิลป์ สอนจรรยา^{1,2*} จุติภรณ์ ทัสสกุลพิช³ สุภานันท์ เงินน้อย⁴ คณพล จุฑามณี⁴ และ อรุษา คำสุข⁴

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีความต้องการบริโภคขนุนมากขึ้นในตลาดต่างประเทศ ซึ่งการให้ผลผลิตในแต่ละสายพันธุ์ปลูก และประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง มีผลต่อบัจจัยการผลิตขนุน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาข้อมูลทางสรีรวิทยาสำหรับคัดเลือกพันธุ์เพื่อปลูกเป็นการค้า จึงได้มีการศึกษาอิทธิพลของแสงต่อใบขนุน และทำวัดประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบขนุน 5 พันธุ์ปลูก ประกอบด้วย ทองประเสริฐ ปิยะมาตา แดงสุริยา มาเลย์ และเพชรราชา โดยทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ผลการศึกษาพบว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ มีการตอบสนองต่อแสงในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยมีค่าประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของระบบแสงสอง (Φ PSII), photochemical quenching (qP) และอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) สูงกว่าพันธุ์เพชรราชา และแดงสุริยา ในขณะที่ขนุนพันธุ์แดงสุริยามีค่า Φ PSII, qP และ ETR น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่า พันธุ์แดงสุริยา มีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำกว่าพันธุ์อื่น ๆ การศึกษาประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก สรุปได้ว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ ปิยะมาตา และมาเลย์ มีค่า Φ PSII, qP, ETR และอัตราการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด (ETRmax) ใกล้เคียงกัน แต่ต้นขนุนพันธุ์แดงสุริยาและเพชรราชา มีค่า Φ PSII, qP, ETR และ ETRmax ต่ำกว่า การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก เพื่อเป็นข้อมูลประกอบให้เกษตรกรตัดสินใจในการคัดเลือกพันธุ์และการจัดการขนุนให้มีคุณภาพดีต่อไป

คำสำคัญ: การสังเคราะห์ด้วยแสง, ความเข้มแสง, ระบบแสงสอง, ขนุน

¹ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

² ศูนย์ความร่วมมือทางวิชาการไทย-ฝรั่งเศส มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

³ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

⁴ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: weerasin-kim@hotmail.com

Influence of Light on Photosynthetic Efficiency of five Jackfruit cultivars

Weerasin Sonjaroon^{1,2*}, Jutiporn Thussagunpanit³, Supanun Ngennoy⁴ Kanapol Jutamane⁴
and Ornusa Khamsuk⁴

ABSTRACT

Nowadays, there are demands for more consumptive jackfruit in foreign markets. Production of each jackfruit cultivars and the photosynthetic efficiency affect the Jackfruit production. This research aims to investigate the physiological characters for the cultivar selection in commercial production of jackfruit. Therefore, there was study influence of light on jackfruit leaf and measured leaf photosynthetic parameters in 5 selected jackfruit cultivars, consisting of Thongprasert, Piyamada, Dang-Suriya, Malay and Petchracha, by completely randomized design. The results showed that Thongprasert exhibited level of photosynthesis which have actual photochemical efficiency of PSII (Φ_{PSII}), photochemical quenching (qP) and electron transport rate (ETR) higher than Dang-Suriya and Petchracha. For DangSuriya cultivar; however, DangSuriya showed was lower efficiency of photosynthesis, based on Φ_{PSII} , qP and ETR values, than other jackfruit cultivars. The study of photosynthetic efficiency of 5 jackfruit cultivars suggested that Thongprasert, Piyamada and Malay had similar Φ_{PSII} , qP, ETR and maximum electron transport rate (ETRmax) values, whereas Dang-Suriya and Petchracha cultivars had lower Φ_{PSII} , qP, ETR and ETRmax than those. This study provides the efficiency of photosynthetic information of all 5 jackfruit cultivars, which can be used to select cultivar of jackfruit, in order to manage the jackfruit production for good quality.

Keywords: Photosynthesis, Light intensity, Photosystem II, Jackfruit

¹ Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University, Bangkok 10900

² Center of Thai-French Cooperation on Higher Education and Research, Kasetsart University, Bangkok 10900

³ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

⁴ Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

* Corresponding author, e-mail: weerasin-kim@hotmail.com

บทนำ

ขนุนเป็นพืชเมืองร้อนที่ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี ในปัจจุบันการจำหน่ายขนุนส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบการแกะเนื้อบรรจุใส่กล่องพร้อมรับประทาน ในหลายปีที่ผ่านมาชาวต่างชาติเริ่มนิยมรับประทานขนุนมากขึ้น โดยเฉพาะประเทศจีนซึ่งเป็นประเทศที่นำเข้าขนุนจากประเทศไทยมากที่สุดในรูปแบบการรับประทานผลสด ในขณะที่ประเทศแถบทวีปยุโรปจะนิยมขนุนที่ถูกแปรรูปเพื่อใช้ในการประกอบอาหารมากกว่าการรับประทานผลสด [1] จากข้อมูลสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร [2] พบว่า ในปี 2560 มีการส่งออกผลขนุนสด จำนวน 23,421 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2558 ที่มีการส่งออกจำนวน 20,642 ตัน แสดงให้เห็นว่ามีความต้องการขนุนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การผลิต การคัดเลือกพันธุ์ขนุนที่ตลาดต้องการ และคุณภาพผลผลิตขนุนให้ได้มาตรฐานเป็นสิ่งที่มีความสำคัญในการส่งออก การผลิตผลขนุนให้มีคุณภาพดีนั้น ลักษณะของพันธุ์ปลูก และความพร้อมของต้นเป็นปัจจัยสำคัญ ลักษณะของพันธุ์ปลูกเป็นข้อกำหนดในการสร้างอาหารให้กับต้นพืช ร่วมกับความพร้อมของต้นไม้ อาหารที่พืชสร้างขึ้นได้ตามธรรมชาติมีเพียงแหล่งเดียว คือ จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง น้ำตาลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจะถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสร้างผลผลิต [3] การทราบข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของต้นขนุน สามารถเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขภาพต้นขนุน และประสิทธิภาพในการสร้างอาหารของขนุนในแต่ละพันธุ์ปลูกได้ เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์ขนุน และการจัดการปลูกต้นขนุนแต่ละพันธุ์ปลูกได้อย่างเหมาะสม และในปัจจุบันประเทศไทยยังขาดข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของขนุนพันธุ์ไทย โดยเฉพาะปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับแสงต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของขนุนพันธุ์ต่าง ๆ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะมุ่งเน้นที่จะศึกษาการตอบสนองต่อแสงและประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของขนุน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของขนุนแต่ละพันธุ์ปลูก

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. เตรียมต้นขนุน

คัดเลือกต้นพันธุ์ขนุน จำนวน 5 พันธุ์ปลูก ที่ต้นมีความสมบูรณ์ ประกอบด้วยพันธุ์ทองประเสริฐ ปิยะมาตาแดงสุริยา มาเลย์ และเพชรราชา พันธุ์ปลูกละ 5 ต้น นำมาปลูกในกระถางขนาด 17 นิ้ว เป็นเวลา 6 เดือน ณ แปลงทดลองมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ (13°50'55.7"N, 100°34'10.9"E) ทำการเก็บข้อมูลสภาพอากาศตลอดทั้งปี โดยที่ความเข้มแสงที่ต้นขนุนได้รับมีค่าเฉลี่ยประมาณ 520.35 $\mu\text{mol PPF m}^{-2} \text{s}^{-1}$ อุณหภูมิเฉลี่ย เท่ากับ 33.17 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ยเท่ากับ 60.30 เปอร์เซ็นต์ ตัวอย่างใบที่ใช้ในการศึกษาเป็นใบที่อยู่นอกทรงพุ่ม อายุประมาณ 30-35 วัน (ลำดับใบที่ $\frac{1}{4}$ นับจากปลายยอด) โดยสุ่มใบที่จะศึกษาการตอบสนองต่อแสงและประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง จำนวน 3 ใบ ต่อ 1 ต้น ต่อ 1 พันธุ์ปลูก โดยทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ

2. วัดประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง

การศึกษาดูประสิทธิภาพการใช้แสงของใบขนุน ด้วยเครื่อง Pulse Amplitude Modulation Fluorometer รุ่น PAM-2500 (Heinz Walz GmbH, 2005) ดำเนินการเก็บข้อมูลในช่วงเวลา 9.00-12.00 น. โดยทำการหนีบใบด้วย dark leaf clip (dark-adapted) เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้มีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนผ่านระบบแสงที่สอง (PSII) เสร็จสิ้นแล้ว reaction centers จะอยู่ในสภาพเปิด หลังจากนั้นจะทำการให้แสงสีแดง ที่ 0.1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (650 nm) เพื่อให้ได้ค่าฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดที่วัดได้ขณะที่ใบพืชอยู่ในสภาพมืด (F_0) และทำการให้แสงที่ความเข้ม 9,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เพื่อให้ได้ค่าฟลูออเรสเซนส์สูงสุดที่วัดได้ขณะที่ใบพืชอยู่ในสภาพมืด (F_m) ในการใช้คำนวณค่าประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงสุด (maximum quantum efficiency of PSII photochemistry, F_v/F_m) ดังสมการที่ 1 [4, 5] หลังจากนั้น ให้ใบได้รับแสงที่ความเข้มแสงธรรมชาติ เป็นเวลา 2 นาที แล้วจึงวัดค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของระบบแสงสองในสภาพมีแสง (light quantum yield of PSII, Φ_{PSII}) โดยกำหนดความเข้มแสง 986 PPF ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) เป็น

เวลา 5 วินาที เมื่อทำการให้แสงจะได้ค่าฟลูออเรสเซนส์ที่วัดได้ขณะที่ใบพืชได้รับแสง (steady-state fluorescence, F_s), ค่าฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดของใบที่ได้รับแสง (F_m') และ ค่าฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดของใบที่ได้รับแสง (F_o') เพื่อนำมาคำนวณค่า actual photochemical efficiency of PSII (Φ_{PSII}), photochemical quenching (qP) and non-photochemical quenching (qN) ดังสมการที่ 2-4 ตามลำดับ โดย WINCONTROL software [6,7] การเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (ETR) จะคำนวณได้จากสมการที่ 5 [7,8]

$$F_v/F_m = \frac{(F_m - F_o)}{F_m} \dots\dots\dots 1$$

$$\Phi_{PSII} = \frac{(F_m' - F_s)}{F_m'} \dots\dots\dots 2$$

$$qP = \frac{(F_m' - F_s)}{(F_m - F_o)} \dots\dots\dots 3$$

$$qN = \frac{(F_m' - F_s)}{(F_m - F_o)} - 1 \dots\dots\dots 4$$

$$ETR = \Phi_{PSII} \times PPF \times 0.5 \times \alpha_{leaf} \dots\dots\dots 5$$

เมื่อ

F_m = ค่าฟลูออเรสเซนส์สูงสุดที่วัดได้ขณะที่ใบพืชอยู่ในสภาพมืด เมื่อให้ความเข้มแสงสูงเต็มที่ (maximum fluorescence)

F_o = ค่าฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดที่วัดได้ขณะที่ใบพืชอยู่ในสภาพมืด (minimum fluorescence)

F_m' = ค่าฟลูออเรสเซนส์สูงสุดของใบพืชที่ได้รับแสง (maximum fluorescence of the light-adapted leaves)

F_o' = ค่าฟลูออเรสเซนส์ต่ำสุดของใบพืชที่ได้รับแสง (minimum fluorescence of the light-adapted leaves)

F_s = ค่าฟลูออเรสเซนส์ที่วัดได้ขณะที่ใบพืชได้รับแสง (steady-state fluorescence)

PPF = ความเข้มแสง, PPF $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

α_{leaf} = สัดส่วนของแสงที่ตกกระทบ และถูกดูดกลืนโดยใบ (fraction of incident light absorbed by leaf มีค่าเท่ากับ 0.84)

3. วัดการตอบสนองต่อแสงของใบขนุน

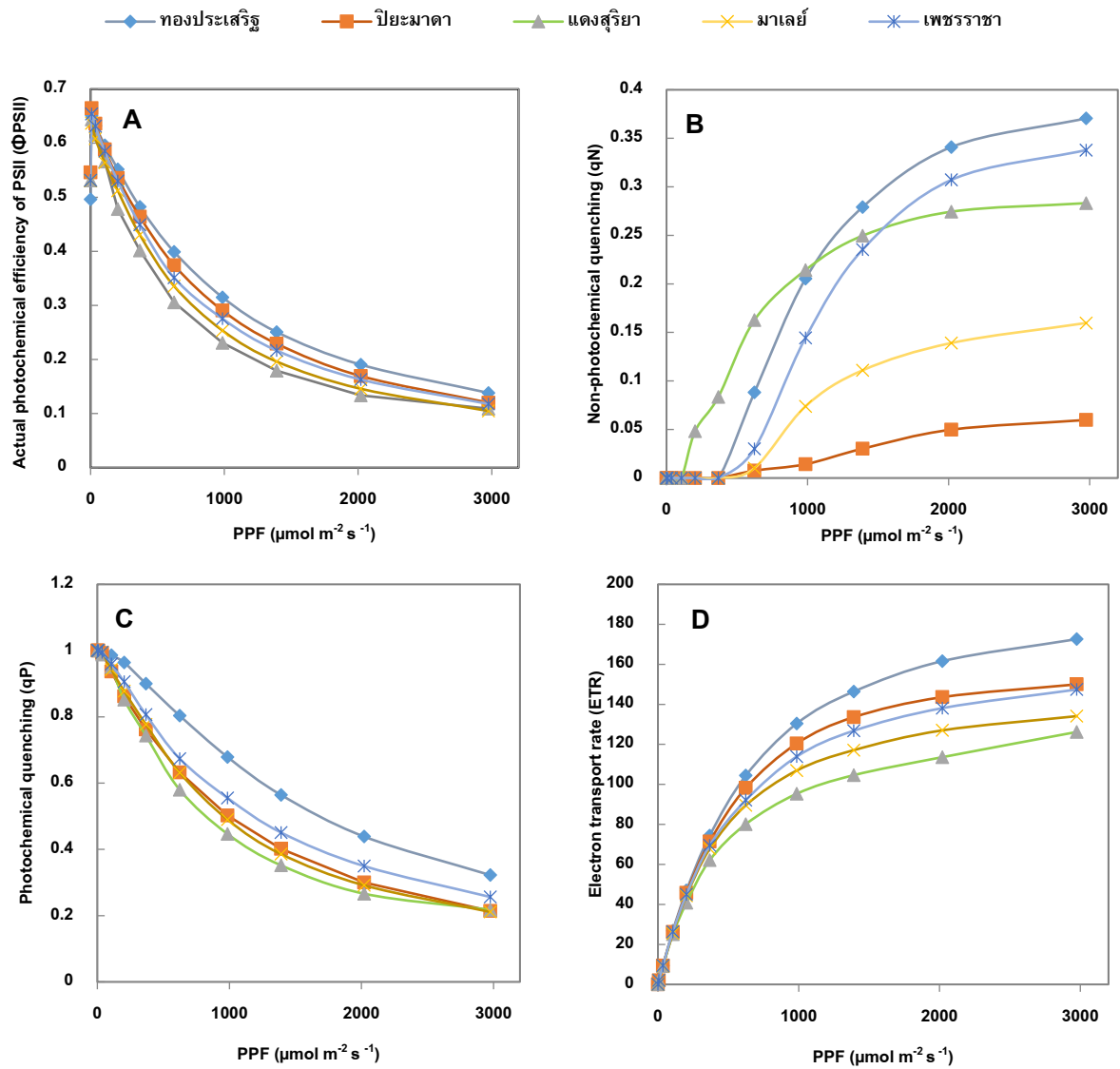
การศึกษาอิทธิพลของแสง จะทำการวัดประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ด้วยแสง กำหนดความเข้มแสงให้กับใบขนุนเป็น 14 ระดับ 0, 7, 36, 106, 203, 368, 624, 986, 1391, 2020 และ 2975 PPF $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ปริมาณความเข้มแสงที่ได้คำนวณจากความลาดชันของตำแหน่งแหล่งกำเนิดให้แสง ระหว่างการวัดประสิทธิภาพเคราะห์ด้วยแสงนั้น อุณหภูมิใบในขณะวัด 33 ± 2 องศาเซลเซียส ดำเนินการเก็บข้อมูลในช่วงเวลา 9.00-12.00 น. ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์หาค่าตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อแสง ได้แก่ actual photochemical efficiency of PSII (Φ_{PSII}) photochemical quenching (qP), non-photochemical quenching (qN) และ electron transport rate (ETR) ตามสมการที่ 2-5 นำข้อมูลที่ได้มาเข้าแบบจำลอง Rapid light curves (RLC) โดยใช้ Marquardt–Levenberg regression

algorithm [9] เพื่อคำนวณค่าการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยด้วยโปรแกรม SPSS [10] และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

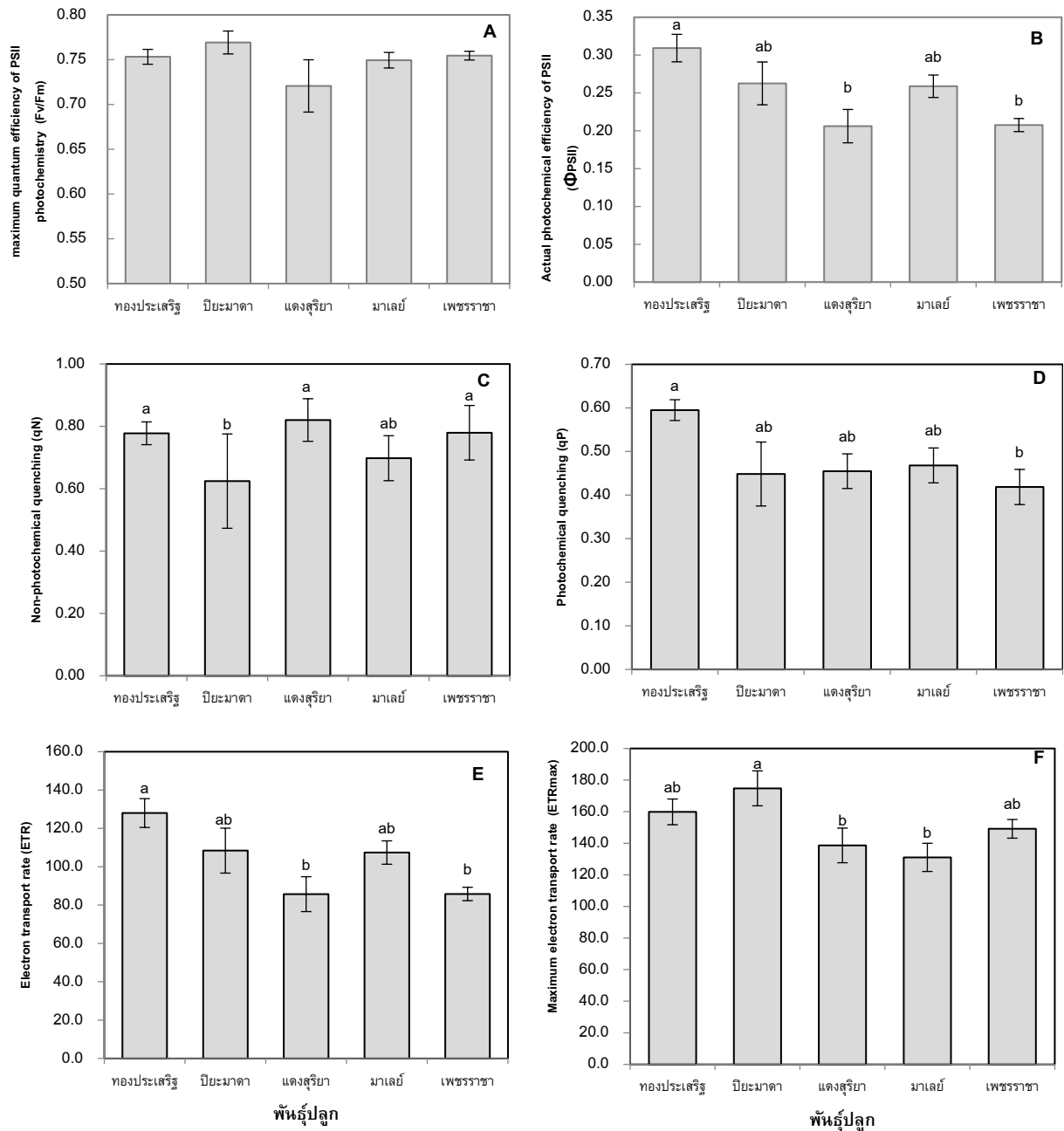
ผลการทดลอง

การตอบสนองต่อแสงของใบขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก พบว่า ค่าประสิทธิภาพการใช้แสงของ PSII ในสภาพมีแสงและ photochemical quenching (qP) มีแนวโน้มลดลงเมื่อได้รับความเข้มแสงที่สูงขึ้น โดยขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ มีค่า Φ PSII และ qP สูงที่สุดเมื่อเทียบกับขนุนพันธุ์อื่น (ภาพ 1A และ C) พลังงานความร้อน (non-photochemical quenching, qN) เมื่อใบขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก ได้รับความเข้มแสงในระดับที่แตกต่างกัน พบว่า พลังงานความร้อนภายในใบจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับความเข้มแสงที่สูงขึ้น จากการศึกษาขนุนพันธุ์ปิยะมาดา พบว่า สามารถจัดการความร้อนภายในใบได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ขนุนพันธุ์มาเลย์ แดงสุรียา เพชรราชา และทองประเสริฐ ตามลำดับ (ภาพ 1B) การเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนในระบบแสงสองพบว่า เมื่อใบขนุนได้รับความเข้มแสงที่สูงขึ้นการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึง โดยขนุนพันธุ์ทองประเสริฐจะมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด รองลงมา คือ ขนุนพันธุ์ปิยะมาดา เพชรราชา มาเลย์ และแดงสุรียา ตามลำดับ (ภาพ 1D)

การศึกษาประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงสุดของใบขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก พบว่า ค่า F_v/F_m ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.76 (ภาพ 2A) เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงเมื่อพืชได้รับแสง พบว่า ใบขนุนแต่ละพันธุ์ปลูกมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากค่า Φ PSII พบว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ, ปิยะมาดา และมาเลย์ มีค่า Φ PSII สูงกว่า ขนุนพันธุ์แดงสุรียา และเพชรราชา (ภาพ 2B) ค่าพลังงานความร้อนภายในใบ พบว่า ขนุนพันธุ์ปิยะมาดา และมาเลย์ สามารถลดความร้อนภายในใบได้ดีกว่าพันธุ์ทองประเสริฐ แดงสุรียา และเพชรราชา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพ 2C) ค่า photochemical quenching พบว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐมีค่า qP สูงกว่าขนุนพันธุ์เพชรราชา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ขนุนพันธุ์ทองประเสริฐมีค่า qP ไม่แตกต่างกันกับขนุนพันธุ์ปิยะมาดา, แดงสุรียา และมาเลย์ (ภาพ 2D) ในขณะที่การเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน พบว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ, ปิยะมาดา และ มาเลย์ มีค่า ETR สูงกว่าขนุนพันธุ์แดงสุรียา และเพชรราชา (ภาพ 2E) เมื่อศึกษาการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนสูงสุด (ETRmax) ที่ใบขนุนจะทำได้ ทั้ง 5 พันธุ์ พบว่า ขนุนพันธุ์ปิยะมาดา ทองประเสริฐ และเพชรราชา มีค่า ETRmax สูงกว่าขนุนพันธุ์แดงสุรียา และมาเลย์ (ภาพ 2F)



ภาพ 1 การตอบสนองต่อแสงในประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของขนุน 5 พันธุ์ปลูก (A: actual photochemical efficiency of PSII (Φ_{PSII}); B: Non-photochemical quenching (qN); C: Photochemical quenching (qP); D: Electron transport rate (ETR))



ภาพ 2 ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบขนุน 5 พันธุ์ปลูก (A: maximum quantum efficiency of PSII photochemistry (Fv/Fm); B: actual photochemical efficiency of PSII (Φ_{PSII}); C: Non-photochemical quenching (qN); D: Photochemical quenching (qP); E: Electron transport rate (ETR) F: Maximum electron transport rate (ETRmax))

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ต้นขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูกมีการตอบสนองต่อแสงและประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงแตกต่างกัน (ภาพ 1 และ 2) โดยเฉพาะขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ มีการตอบสนองต่อช่วงแสงที่ความเข้มแสงที่สูงได้ดีกว่าพันธุ์เพชรราชา และแดงสุริยา แสดงให้เห็นว่าพันธุ์ทองประเสริฐมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ดี จะเห็นได้จากค่า Φ_{PSII} เป็นค่าที่สะท้อนถึงสัดส่วนพลังงานที่ใช้ในการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงต่อพลังงานโฟตอนที่คลอโรฟิลล์ดูดซับไว้ [11] แสดงให้เห็นว่าค่า Φ_{PSII} สูงจะส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยค่า Φ_{PSII} ยังมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่า qP ซึ่งเป็นค่าที่สะท้อนถึงสัดส่วนของศูนย์กลางปฏิกิริยาของระบบแสงสอง ที่ยังสามารถเปิดรับอิเล็กตรอนได้หลังจากมีเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนต่อไปยังตัวรับอิเล็กตรอนตัวอื่น ซึ่งสังเกตได้จากเพิ่มขึ้นของ quinone A (QA) ที่ถูกออกซิไดส์ในระบบแสงสอง [12] ซึ่งส่งผลให้มีประสิทธิภาพการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนได้มากขึ้น ทำให้พืชสามารถสร้าง ATP และ NADPH สำหรับใช้เป็นพลังงานในการสร้างน้ำตาลต่อไปได้ ในขณะที่ขนุนพันธุ์แดงสุริยา การตอบสนองต่อช่วงแสงที่ความเข้มแสงที่สูงได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่น ๆ เมื่อพืชได้รับความเข้มแสงที่สูงมาก จะทำให้พืชไม่สามารถจัดการความร้อนภายในใบได้ ซึ่งสามารถสะท้อนได้จากค่า nonphotochemical quenching (qN) เป็นค่าที่สามารถใช้ในการตรวจวัดการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินออกมาและไม่เป็นประโยชน์ต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง การที่ค่า qN เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าใบพืชไม่สามารถนำพลังงานไปใช้ประโยชน์ต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ จะส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงถูกยับยั้ง และยังคงผลเสียต่อไปในระดับโปรตีน เพราะพลังงานที่เกิดขึ้นเป็นพลังงานความร้อน จะทำให้พืชมีการสร้างอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงรวมลดลง [7, 12] ในขณะที่ขนุนพันธุ์ปิยะมาดา มีค่า qN ไม่สูงขึ้นเมื่อได้รับความเข้มแสงที่สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าขนุนพันธุ์ปิยะมาดา มีประสิทธิภาพในการจัดการพลังงานในรูปที่พืชไม่ได้ใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าขนุนพันธุ์ปลูกอื่น

การศึกษาประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด เป็นค่าที่สะท้อนถึงศักยภาพของระบบแสงสอง (PSII) และสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืชปกติที่ไม่ได้ ได้รับความเครียดจะมีค่า Fv/Fm ประมาณ 0.80-0.83 [13] หากพืชมีค่า Fv/Fm น้อยกว่า 0.8 แสดงว่าพืชอยู่ในสภาวะความเครียด [14] จากการศึกษาพบว่า ขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก มีค่า Fv/Fm ต่ำกว่า 0.80 (ภาพ 2A) แต่อย่างไรก็ตามค่า Fv/Fm เฉลี่ยที่ 0.76 ยังอยู่ในระดับที่ไม่ส่งผลกระทบต่อระบบแสงสอง ซึ่งสอดคล้องกับผลของ [15] รายงานว่า ค่า Fv/Fm ของใบขนุนมีค่า 0.75-0.85 ในช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาวของประเทศจีน การศึกษาประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงในสภาพที่มีแสงพบว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ ปิยะมาดา และมาเลย์ มีค่า Φ_{PSII} และ ETR ที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่า ทั้ง 3 พันธุ์ที่มีความพร้อมของต้นที่ดี เนื่องจากมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงดีเมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 พันธุ์ คือแดงสุริยา และเพชรราชา ซึ่งมีค่า Φ_{PSII} และ ETR ที่ต่ำกว่า แสดงให้เห็นว่าต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ ปิยะมาดา และมาเลย์ มีแนวโน้มการสร้างอาหารสำหรับการเจริญเติบโตดีกว่าขนุนพันธุ์แดงสุริยา และเพชรราชา

การศึกษากการตอบสนองต่อแสงของขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก พบว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ เป็นพันธุ์ที่มีการตอบสนองต่อแสงของประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ดี แต่อย่างไรก็ตามขนุนพันธุ์ปิยะมาดา มาเลย์ และเพชรราชา การตอบสนองต่อแสงของประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงมีค่าใกล้เคียงกับพันธุ์ทองประเสริฐ ในส่วนขนุนพันธุ์แดงสุริยาจะมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำเมื่อได้แสงความเข้มสูง เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงพบว่า ต้นขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ ปิยะมาดา และมาเลย์ มีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงใกล้เคียงกัน แต่ต้นขนุนสายแดงสุริยา และเพชรราชา มีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำ การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานด้านการสังเคราะห์ด้วยแสงของขนุนทั้ง 5 พันธุ์ปลูก และสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการตัดสินใจคัดเลือกพันธุ์ขนุนในการปลูก โดยข้อมูลนี้จะสร้างความสะดวกในการคัดเลือกพันธุ์ขนุนที่เหมาะสมกับการจัดการการผลิตขนุน ให้มีคุณภาพได้มาตรฐานและผลผลิตสูงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์ความร่วมมือทางวิชาการไทย-ฝรั่งเศส, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ขอขอบคุณสวนคนจันทน์น้อย อำเภอเขาชะเมา จังหวัดระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์ต้นขุ่น และขอขอบคุณสวนขุ่นปิยะมาดา อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ต้นขุ่นพันธุ์ปิยะมาดา

เอกสารอ้างอิง

1. เดทการเกษตร. 2560. นาที่ทองของขุ่นมาอีกแล้ว จริงหรือ? แหล่งที่มา: https://www.kehakaset.com/articles_details.php?view_item=594
2. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. การส่งออกขุ่น. แหล่งที่มา: <http://www.oae.go.th>.
3. Taiz, L. & Zeiger, E. (2010). Plant physiology. 5th ed. Sinauer Associates. Inc., Publishers, Sunderland, P.70.
4. Demming-Adams, B., Adams, W.W.I., Barker, D.H., Logan, B.A., Bowling, D.R., & Verhoeven, A.S.. (1996). Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum* 98, 253–264.
5. van Kooten, & Snel, O.F.H. (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research* 25, 147-150.
6. Bilger, W. & Björkman, O.B. (1990). Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in hederia canariensis. *Photosynthesis Research* 25, 173-185.
7. Guo, D.P., Guo, Y.P., Zhao, J.P., Liu, H., Peng, Y., Wang, Q.M., Chen, J.S., & Rao, G.Z. (2005). Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*brassica juncea* var. Tsatsai) after turnip mosaic virus infection. *Plant Science* 168, 57-63.
8. Krall, J.P. & Edwards, G.E. (1992). Relationship between photosystem ii activity and co₂ fixation in leaves. *Physiologia Plantarum* 86, 180-187.
9. Ralph, P.J. & Gademann, R. (2005). Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic Botany* 82, 222-237.
10. IBM Corp. Released. (2017). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
11. Genty, B., Briantais, J.M. & Baker, N.R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990, 87–92.
12. Dai, Y.J., Shen, Z.G., Liu, Y., Wang, L.L., Hannaway, D. & Lu, H.F. (2009). Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *tetrastigma hemsleyanum* diels et gilg. *Environmental and Experimental Botany* 65, 77-182.
13. Björkman, O. & Demmig, B. (1987). Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77k among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489-504.
14. Calatayud, A. & Barreno, E. (2004). Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry* 42(6), 549-555
15. Cao, K.F., Guo, Y.H. & Cai, Z.Q. (2006). Photosynthesis and antioxidant enzyme activity in breadfruit, jackfruit and mangosteen in Southern Yunnan, China. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 81(1), 168–172.

การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นและการตรวจสอบสารพิษเคมีของสารสกัดจากกันเกรา (*Fagraea fragrans* Roxb.)

รัตนภรณ์ ส่งเสริม¹ อรัญญา พิมพ์มงคล¹ และ สุรสิทธิ์ สุทธิคำภา^{2*}

บทคัดย่อ

การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น ของสารสกัดจากเปลือกของลำต้น ผล และใบของกันเกรา (*Fagraea fragrans* Roxb.) ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด (เอทานอล และน้ำ) ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ จำนวน 9 ชนิด ด้วยวิธี disc diffusion assay และการตรวจสอบสารพิษเคมี 6 ชนิด (แทนนิน ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน อัลคาลอยด์ โพลีโรนอยด์ และน้ำตาลรีดิคัล) จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากทุกส่วนของกันเกราด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิด มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* โดยขนาดวัดวงใสได้ ระหว่าง 5.67 ± 0.58 ถึง 25.00 ± 1.00 มิลลิเมตร ซึ่งสารสกัดจากเปลือกของลำต้นด้วยเอทานอลแสดงขนาดวงใสกว้างที่สุด อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามสารสกัดบางส่วนมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียได้แตกต่างกัน โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลที่สกัดจากเปลือกของลำต้น ผล และใบ ไม่พบสารซาโปนิน และไม่สามารถต้านการเจริญของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* *Salmonella typhi* และ *Escherichia coli* ได้ ซึ่งการมีหรือไม่มีสารซาโปนินอาจมีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเหล่านี้ ดังนั้น การค้นพบในครั้งนี้จะนำไปสู่การศึกษาขั้นต่อไปในการสกัดสารพิษเคมีที่จำเพาะ และการออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อแบคทีเรีย

คำสำคัญ: การยับยั้งแบคทีเรีย สารสกัด กันเกรา แบคทีเรียก่อโรค พิษเคมี

¹ สาขาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี

² สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: surasit.s@ubu.ac.th

Preliminary evaluation of antibacterial activity and phytochemical screening of *Fagraea fragrans* Roxb. extracts

Rattanaporn Songserm¹, Aranya Pimmongkol¹ and Surasit Sutthikhampa^{2*}

Abstract

Preliminary evaluation of antibacterial activity of extracts from bark of stem, fruits and leaves of Kankrao (*Fagraea fragrans* Roxb.) extracted by two solvents (ethanol and water) was conducted on inhibition assay of nine species gram-positive and gram-negative bacteria using disc diffusion assay. In addition, 6 phytochemicals (tannin, flavonoid, saponin, alkaloid, polonoloid, and reducing sugar) also were screened. Extracts from all parts of Kankrao by both types of solvents were able to inhibit *Bacillus subtilis*, the clear zones were between 5.67 ± 0.58 and 25.00 ± 1.00 millimeters. Bark extracted by ethanol produced the great clear zone to inhibit this bacteria. However, some extracts have different inhibitory activities. There was no saponins in ethanol extracts from barks, fruits and leaves and lacked of effect inhibiting to *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli*. The presence or absence of saponin might be associated with inhibition effect to these bacteria. Therefore, this finding will lead to further studies of specific phytochemicals and specific actions against bacteria.

Keywords: Antibacteria, Extracts, *Fagraea fragrans* Roxb., Pathogenic bacteria, Phytochemicals

¹ Major in Biology, Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

² Major in Microbiology, Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

* Corresponding author, e-mail: surasit.s@ubu.ac.th

บทนำ

พืชสมุนไพรเป็นสิ่งที่มีมนุษย์รู้จักกันเป็นอย่างดีตั้งแต่โบราณมีการนำมาใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวันอย่างหลากหลาย ซึ่งความต้องการเกี่ยวกับสมุนไพรก็ได้ถูกพัฒนาควบคู่กับวัฒนธรรม เศรษฐกิจ และสังคมมาโดยตลอด [1] พืชสมุนไพรยังเป็นแหล่งสะสมสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญต่างๆ มากมาย เช่น อัลคาลอยด์ เทอพีนอยด์ ฟีนอล และแทนนิน จึงมีการนำเอาพืชมาผลิตและนำมาใช้ประโยชน์มากมายในปัจจุบันเพื่อใช้ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ทดแทนยาปฏิชีวนะ [2] ซึ่งยาปฏิชีวนะก่อให้เกิดปัญหาใหญ่ที่สำคัญคือทำให้เกิดเชื้อดื้อยา หากรับประทานไม่เหมาะสม ไม่มีมาตรการดูแลที่ดีในช่วงเวลา 10 ปี ที่ผ่านมา (พ.ศ. 2543 - 2554) ประเทศไทยใช้ยาปฏิชีวนะที่มีมูลค่ามากกว่าปีละ 10,000 ล้านบาท พบเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะมากขึ้น และดื้อยาหลายขนาน คนไทยติดเชื้อมากกว่าปีละ 100,000 คน [3] พืชสมุนไพรแต่ละชนิดก็มีคุณสมบัติและให้สารประกอบทางเคมีสำคัญที่แตกต่างกันออกไป กันเกรรา (*Fagraea fragrans* Roxb.) เป็นต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี กันเกรราเป็นพืชยืนต้นที่ขึ้นอยู่ทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับประเทศไทยพบในภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ [4] สรรพคุณตามตำรายาแพทย์แผนไทย เปลือกมีสรรพคุณบำรุงร่างกาย บำรุง โลหิต รักษาบาดแผลผิวหนังพุพอง ใบและก้านแก้โรคบิดและไข้มาลาเรีย แก่นมีรสฝาด ขม แก้ไข้จับสั่น แก้หืด ไอ ริดสีดวง พิษฝีดาษ บำรุงม้าม แก่นลำต้นเป็นยาอายุวัฒนะ [5]

จากการค้นคว้า พบว่า มีรายงานการศึกษาสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของกันเกรรา ได้แก่ ดอก [6, 7] ใบ [8, 9] เปลือกของลำต้น [10] และเปลือกของราก [5] การศึกษาการสกัดดอกกันเกรรากับเอทานอลในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion assay เปรียบเทียบกับสารสกัดจากดอกไม้ชนิดอื่นๆ ของ Samee et al. (2014) [7] พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ได้ ในขณะที่ Pripdeevech and Saansoomchai (2013) [6] ศึกษาสารสกัดดอกกันเกรรากับไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) พบสาร β -bisabolol, occidol และ eugenol สำหรับการสกัดด้วยเฮกเซน (hexane) พบสาร 3-octadecyne, catalponone และ semperviol ส่วนการสกัดด้วยเมทานอล (methanol) พบสาร grandiflorene, himachalol และ occidol สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยของดอกกันเกรราก็มีสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย สำหรับใบของกันเกรรา Khumkhomkhet and Pholdaeng (2017) [9] ได้ทำการสำรวจสกัดสารจากใบของกันเกรรากับเฮกเซนและเอซิทิลอะซิเตต (acetyl acetate) เปรียบเทียบกับสารสกัดสมุนไพรชนิดอื่นๆ พบว่าสารสกัดจากใบกันเกรราสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus cereus* ATCC 11778 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และสามารถฆ่าแบคทีเรีย *E. coli* ATCC 25922 ได้ นอกจากนี้ ใบกันเกรราก็พบว่ามีสารสำคัญ swertiamarin ในกลุ่มของ secoiridoid glycoside ที่สามารถนำมารักษา มาลาเรีย โรคหืด ไช้ และผื่นผิวหนัง ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารได้ด้วยเครื่องมือ densitometer [8] ส่วนเปลือกของลำต้นยังพบว่ามีการศึกษาสารสกัดเพื่อทำเป็นยารักษาโรค โดยที่คณะนักวิจัย Kaikaew and Mahabusarakam (2010) [10] ค้นพบ furofuran lignan เป็นครั้งแรก จำนวน 5 ชนิดในสารสกัดเปลือกของต้นกันเกรรากับไดคลอโรมีเทน นอกจากนั้น Apisantiyakom (2013) [5] ยังพบว่า เปลือกของรากต้นกันเกรรามีสารไพโนเรซินอล (pinosinol) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* (K1 strain) และเชื้อวัณโรค *Mycobacterium tuberculosis* (H37Ra) และสารนิวคลีดอล (naucledal) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอดได้อีกด้วย

ดังนั้น จะเห็นได้ว่ามีการศึกษาสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของกันเกรราอย่างหลากหลายและใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน ซึ่งยังไม่สามารถระบุฤทธิ์ของสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดเดียวกันจากทุกส่วนของกันเกรราในการต้านแบคทีเรีย จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ที่สนใจศึกษา การประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย จำนวน 9 ชนิด ด้วยวิธี disc diffusion assay ด้วยสารสกัดจากเปลือกของลำต้น ผล และใบของกันเกรรา ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และน้ำ จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกแล้วละลายสารสกัดต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 กรัม : 4 มิลลิลิตร รวมถึงการตรวจสอบสารพิษเคมีในสารสกัด ทั้งหมด 6 ชนิด เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรในการรักษาโรคและเป็นประโยชน์ในด้านการแพทย์ต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเตรียมพืชและสกัดสารกันเกรา

การศึกษาในครั้งนี้เลือกเก็บ เปลือกของลำต้น ผล และใบของกันเกรา (*F. fragrans*) จากพื้นที่มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี ระหว่างเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม พ.ศ. 2561 ตัวอย่างพืชนำมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปผึ่งลม จากนั้นนำมาอบให้แห้งด้วยเตาอบไอร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส นาน 3 - 5 วัน จากนั้นบดให้ละเอียดแล้วนำมาแช่หมักกับตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95% และน้ำ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ในอัตราส่วนของกันเกราต่อตัวทำละลาย (10 กรัม : 100 มิลลิลิตร) ตัดแปลงจาก [11] จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง (whatman) เบอร์ 1 แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยความร้อนเก็บสารใส่ถุงซิปล็อค ตัดฉลาก เก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) เพื่อใช้ในการทดสอบสารสกัดโดยจะทำการเตรียมสารละลายจากสารสกัดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ในอัตราส่วนสารสกัดต่อน้ำกลั่น (1 กรัม : 4 มิลลิลิตร) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วย Micro's syringe filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร เก็บไว้ในหลอดทดลองปลอดเชื้อหุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและแบคทีเรีย

อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Nutrient agar (NA) (Beef extract 3 กรัม Peptone 5 กรัม Agar 15 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) เตรียมใส่ขวดแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงก่อนนำไปเทแบ่งใส่จานเพาะเชื้อ เชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จาก สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* และ *Serratia marcescens* นำมาเลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบขั้นต่อไป

3. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี disk diffusion assay [12]

เตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียด้วยสารละลายเกลือ (Saline solution) 0.90% และนำไปวัดค่าความเข้มแสง Optical Density (OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer เท่ากับ 0.5 ตูตสารละลายเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงบนหน้าอาหาร NA ใช้ spreader เกลี่ยสารละลายเชื้อให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ทิ้งระยะให้หน้าอาหารแห้ง จากนั้นวางแผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อ (disc) ขนาด 5 มิลลิเมตร บนอาหาร 3 จุดต่อจาน สำหรับหยดสารทดสอบ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร (น้ำกลั่น สารสกัดด้วยน้ำ และสารสกัดด้วยเอทานอล) ทำ 3 ซ้ำ ก่อนนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดขนาดวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (น้ำกลั่น)

4. การตรวจสอบสารพิษเคมี

การตรวจสอบสารพิษเคมีในสารสกัดกันเกรา 6 ชนิด (แทนนิน อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ โพลีฟีนอล ซาโปนิน และน้ำตาลรีดิซ) สารแทนนิน (Tannins) ทดสอบด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ 3 หยดในสารสกัด 2 มิลลิลิตร สังเกตสีน้ำเงินเข้มเกิดขึ้น สารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) ทดสอบด้วย 1.5% กรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัด 0.2 กรัม แช่ในอ่างน้ำร้อนประมาณ 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรองและปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยดสารละลายเวกเนอร์ 5 หยด (Wagner's reagent; ไอโอดีน 2 กรัม โพแทสเซียมไอโอไดด์ 6 กรัม น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากันสังเกตสีเหลืองเกิดขึ้น สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ทดสอบด้วย 50% เมทานอล 3 มิลลิลิตร ลวดแมกนีเซียม 1-2 ชิ้น ผสมกับ สารสกัด 0.2 กรัม สังเกตสีเหลือง ส้มหรือแดงเกิดขึ้น สารโพลีฟีนอล (Poluronoids) ทดสอบด้วยอะ

ซีโตน 2-3 หยดลงใสสารสกัด 2 มิลลิลิตร สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น [12] สารซาโปนิน (Saponins) ทดสอบโดยการผสมสารสกัด 2 มิลลิลิตรกับน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง 10 นาที สังเกตฟองที่เกิดขึ้น [12] น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) ทดสอบด้วยสารสกัด 2 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเบนดิคส์ (Benedict solution) 10 หยด อุณหภูมิร้อน 5-10 นาที สังเกตสีน้ำตาลแดงอิฐและตะกอนที่เกิดขึ้น [12]

ผลการทดลอง

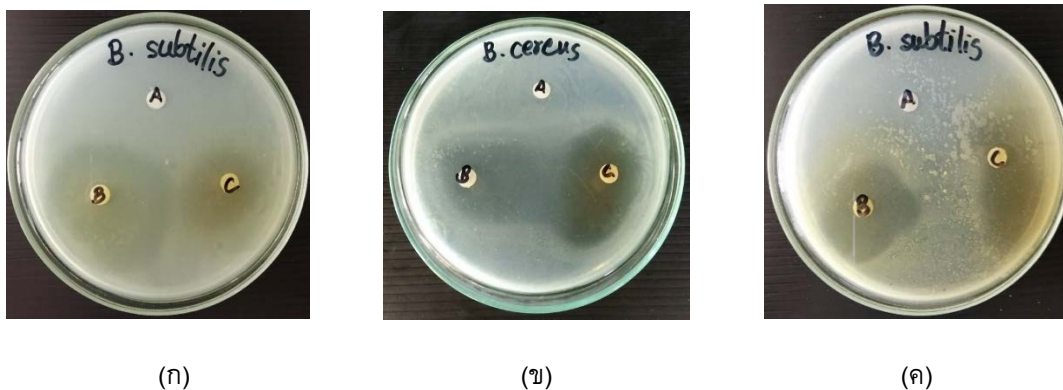
1. สารสกัดจากเปลือกของลำต้น ผล และใบ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย

จากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดจาก เปลือกของลำต้น ผล และใบ ของกันเกรา ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และน้ำ แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียจำนวน 9 ชนิด บนหน้าอาหาร NA ด้วยวิธี disc diffusion assay จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากกันเกราทั้งเปลือกของลำต้น ผล และใบ ด้วยเอทานอล และน้ำ มีฤทธิ์การต้านการเจริญของ *B. subtilis* โดยมีขนาดวงใสกว้างกว่าแบคทีเรียอีก 8 ชนิด (ตาราง 1) ซึ่งเกิดเป็นวงใสบนหน้าอาหารดังภาพ 1 โดยพบว่า เปลือกของลำต้นกันเกราที่สกัดด้วยเอทานอล และน้ำ สามารถสร้างขนาดวงใสต้านแบคทีเรียได้กว้างที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นที่ใช้เป็นตัวควบคุม คือ 25.00 ± 1.00 และ 17.00 ± 2.65 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากผลของกันเกรา มีขนาดวงใสกว้างกว่า สารสกัดจากใบ ทั้งนี้ ตัวทำละลายยังแสดงผลการต้านแบคทีเรียแตกต่างกัน โดยที่สารสกัดจากผลด้วยน้ำ ให้ผลการต้านและสร้างวงใสขนาดใหญ่กว่าเอทานอล ซึ่งตรงกันข้ามกับสารสกัดจากใบด้วยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ให้ผลได้มากกว่าน้ำ

แบคทีเรีย *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *S. dysenteriae* และ *S. marcescens* ตอบสนองต่อฤทธิ์ของสารสกัดจากทุกส่วนของกันเกราที่ทำการศึกษาใกล้เคียงกัน โดยที่ *Ps. aeruginosa* กับ *S. dysenteriae* มีขนาดวงใสของการต้านการเจริญด้วยสารสกัดจากกันเกราทุกส่วนและทุกตัวทำละลาย โดยเฉพาะสารสกัดจากใบของกันเกรา ซึ่งมีขนาดวงใสใหญ่กว่าสารสกัดจากเปลือกของลำต้นและผล ฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย *S. marcescens* ด้วยสารสกัดผล พบว่าขนาดของวงใสเล็กเพียง 1 มิลลิเมตร ซึ่งเล็กกว่าสารสกัดจากเปลือกของลำต้น และใบ ประมาณ 3 เท่า

2. การตรวจสอบสารพิษเคมี

จากการตรวจสอบสารพิษเคมี ที่อาจจะมึบพบาพในการต้านแบคทีเรียทั้ง 9 ชนิด ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการศึกษาตรวจสอบสารพิษเคมี ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน อัลคาลอยด์ โพลีโรนอยด์ และน้ำตาลรีดิวซ์ จากตาราง 2 พบว่าสารแทนนิน ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ พบในสารสกัดทุกส่วนของกันเกรา และจากทุกตัวทำละลาย ในขณะที่ไม่พบโพลีโรนอยด์ ส่วนน้ำตาลรีดิวซ์พบในสารสกัดทั้งหมด ยกเว้นในสารสกัดจากใบด้วยเอทานอล และเป็นที่น่าสนใจว่า ซาโปนินพบได้เฉพาะสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเท่านั้น



ภาพ 1 ลักษณะวงใสของการต้านแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากเปลือกของลำต้น (ก) ผล (ข) และใบ (ค) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล (B) และน้ำ (C) เปรียบเทียบกับตัวควบคุมคือน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (A)

ตาราง 1 ค่าเฉลี่ยขนาดวงใสสุทธิ แสดงการต้านการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี disk diffusion assay ขนาดวงใสสารสกัด (มิลลิเมตร) เปรียบเทียบกับขนาดวงใสน้ำกลั่นที่ใช้เป็นตัวควบคุม (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สารสกัด/ ตัวทำละลาย แบคทีเรีย	เปลือกของลำต้น		ผล		ใบ	
	เอทานอล	น้ำ	เอทานอล	น้ำ	เอทานอล	น้ำ
<i>S. aureus</i>	4.16 ±1.04	6.16 ±1.04	4.17 ±1.61	3.83 ±1.04	2.00 ± 0	2.00 ± 0
<i>B. subtilis</i>	25.00 ±1.00	17.00 ±2.65	13.33 ±2.89	16.17 ±1.26	14.83 ±1.26	5.67 ± 0.58
<i>B. cereus</i>	0	0	6.33 ±1.44	19.83 ±1.53	3.83 ±1.26	4.17 ± 1.44
<i>Ps. aeruginosa</i>	4.33 ±1.15	4.17 ±2.31	5.00 ±1.50	4.16 ±0.76	5.33 ± 0.29	5.50 ± 1.80
<i>S. dysenteriae</i>	4.00 ±0.87	4.33 ±1.26	4.00 ±0.87	6.5 ±1.00	6.33 ± 1.53	5.17 ± 0.58
<i>K. pneumoniae</i>	0	5.00 ±0.29	3.83 ±1.04	4.83 ± 0.29	0	0
<i>E. coli</i>	3.00 ± 0	3.00 ± 0	1.16 ±0.76	2.67 ± 0.58	0	3.67 ± 0.58
<i>S. marcescens</i>	3.67 ±0.29	3.38 ±0.29	1.00 ± 0	1.00 ±0	1.67 ±0.29	3.33 ±1.61
<i>S. typhi</i>	0	5.17 ±0.29	0	0	5.33 ±1.04	3.00 ±0.50

*หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยขนาดวงใส (clear zone) คือ ขนาดวงใสของสารสกัด - ขนาดวงใสของ disc (5 มิลลิเมตร)

ตาราง 2 การตรวจสอบสารพิษเคมีจากสารสกัดจากเปลือกของลำต้น ผล และใบ ด้วยเอทานอล และน้ำ

สารพิษเคมี/ ตัวทำละลาย	แทนนิน	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	อัลคาลอยด์	โพลีโรนอยด์	น้ำตาลรีดิวิซ์
เปลือกของลำต้น						
เอทานอล	+	+	-	+	-	+
น้ำ	+	+	+	+	-	+
ผล						
เอทานอล	+	+	-	+	-	+
น้ำ	+	+	+	+	-	+
ใบ						
เอทานอล	+	+	-	+	-	-
น้ำ	+	+	+	+	-	+

*หมายเหตุ (+) พบสารพิษเคมี (-) ไม่พบสารพิษเคมี

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกของลำต้น ผล และใบ ของกันเกรา ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% และน้ำ จากนั้นระเหยตัวทำละลายและละลายด้วยน้ำกลั่น (1 กรัม : 4 มิลลิลิตร) ก่อนการนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย จำนวน 9 ชนิด ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการก่อโรคได้ตั้งแต่อาการเบื้องต้น เช่น อาการท้องเสีย จนถึงอาการรุนแรงตามเอกลักษณ์ของเชื้อ เป็นต้น จากการศึกษาสารสกัดจากส่วนของกันเกราทั้ง 3 ส่วน ด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิด พบฤทธิ์การต้านการเจริญของแบคทีเรียได้เกือบทุกชนิด บนจานอาหารโดยการวัดขนาดวงใสจากวิธี disc diffusion assay ทั้งแบคทีเรียที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบ แต่ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียบางชนิดแตกต่างกัน โดยที่สารสกัดทุกส่วนของกันเกราด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด แสดงฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยมีขนาดวงใสกว้างที่สุดซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่นที่ทำการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งสารสกัดจากดอกของกันเกราด้วยเอทานอลก็สามารถยับยั้ง *B. subtilis* ได้เช่นกัน [7] นอกเหนือจากนี้ สารพิษเคมีที่ทำการศึกษารังนี้ อาจจะมีบทบาทในการมีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และน้ำตาลรีดิวิซ์ จากรายงานของ Barbieria et al. (2017) [13] พบว่า แทนนินเป็นหนึ่งในสารที่พบได้ในเปลือกของต้น ใบ ของพืช และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ส่วนอัลคาลอยด์เป็นสารที่พบได้ในพืช และมีองค์ประกอบของสารพิษเคมีหลายชนิด ที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ในขณะที่สารโพลีโรนอยด์ ที่ไม่สามารถตรวจสอบพบจากการศึกษาในครั้งนี้ สอดคล้องกับผลการทดสอบพบว่าสารโพลีโรนอยด์อาจจะไม่มีผลต่อการต้านแบคทีเรียกลุ่มที่ทำการศึกษา เนื่องจากไม่พบความสัมพันธ์จากการสร้างวงใสบนจานอาหาร กับการตรวจสอบสารพิษเคมีในครั้งนี้

สารซาโปนิน เป็นสารเพียงชนิดเดียวที่ตรวจไม่พบในสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลซึ่งใช้เป็นตัวทำละลาย เนื่องจากโครงสร้างมีส่วนที่สามารถละลายน้ำได้ [14] ซึ่งพบได้ทุกส่วนของกันเกราที่นำมาศึกษา และอาจจะเป็นอีกสารพิษเคมีอีกชนิดหนึ่งที่มีบทบาทในการมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะสารสกัดจากเปลือกของลำต้นที่อาจจะมีส่วนในการต้านแบคทีเรีย *K. pneumoniae* และ *S. typhi* ในขณะที่สารสกัดจากใบ อาจจะมีผลต่อการต้านแบคทีเรีย *E. coli* รวมถึงน้ำตาลรีดิวิซ์ ซึ่งมีรายงานการศึกษาว่าในน้ำผึ้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ [15]

อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากกันเกราที่ศึกษาทั้ง 3 ส่วน (เปลือกของลำต้น ผล และใบ) นั้นแสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์การต้านการเจริญของแบคทีเรีย *B. subtilis* อย่างชัดเจนโดยมีขนาดของวงใสกว้างที่สุดกับสารสกัดที่ละลายด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 กรัม : 4 มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการประเมินฤทธิ์การ

ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นในครั้งนี้จะนำไปสู่การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย การสกัดสารพฤกษเคมีที่จำเพาะ และการออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อแบคทีเรีย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้การสนับสนุนเชื้อแบคทีเรีย สถานที่ สารเคมี และอุปกรณ์ในงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Tungrakanpoung, R., & Tungrakanpoung, J. (2016). Antibacterial activity from leaf extracts of *Mentha cordifolia* Opiz. by ethanol extraction. *Khon Kaen Science Journal* 44(1), 79-87. (in Thai)
2. Cowan, M M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Review* 12(4), 564-582.
3. Rangsiphanurat, W., Kumarnjassadakul, P., & Janwithayanuchit, I. (2016). Antibacterial activities of ten thai herbal extracts against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* ATCC 25922. *Huachiew Chalermprakiet Journal* 19(38), 35-48. (in Thai)
4. Wulandini, R., Susanti, D., Syaputra, I., Harum, F. (Ed.), Schmidt, L. H., & Joker, D. (Ed.) (2004). *Fagraea fragrans* Roxb. *Seed Leaflet*, 106.
5. Apisantiyakom, S. (2013). Isolation and identification of bioactive chemical constituents of the root bark of *Fagraea fragrans* Roxb. *Ladkrabang Science Journal* 22(2), 69-83. (in Thai)
6. Pripdeevech, P., & Saansoomchai, J. (2013). Antibacterial activity and chemical composition of essential oil and various extracts of *Fagraea fragrans* Roxb. flowers. *Chiang Mai Journal of Science* 40(2), 214-223.
7. Samee, W., Kitiasserani, C., Skulmanit, S., & Wattanachaiyingcharoen, R. (2014). Antimicrobial activity of flower extracts in Thailand. *Dialogue on Pharmacy and Health Care Practice* 1(4) 99-104. (in Thai)
8. Bangprapai, A., Thongphasuk, P., & Songsak, T. (2016). Determination of swertiamarin content by tlc-densitometer in *Fagraea fragrans* roxb. leaves. *Bulletin of Health, Science and Technology (BHST)*, 14(2). 13-18.
9. Khumkhomkhet, P., & Pholdaeng, K. (2017). Survey and bioactivity studies on medicinal plants in the Ko Kaeo subdistrict Selaphum district, Roi Et province. *Rajabhat Maha Sarakham University, National Graduate Research Conference (RMU-GRC017): Proceeding 20 January 2017, Rajabhat Maha Sarakham University, Thailand, 1795-1800.* (in Thai)
10. Kaikaew, K., & Mahabusarakam, W. (2010). Furofuran lignans from the stem bark of *Fagraea fragrans* Roxb. *BioScience for the Future 2010: The 7th IMT-GT Uninet and the 3rd Joint International PSU-UNS Conference: Proceeding: 7-8 October 2010, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla, Thailand, 122-126.*
11. Khantabut, N., Tisadondilok, S., & Pasuk, S. (2011) A study of white crane flower (*Rhinacanthus nasutus* Linn.) leaves and stemona roots (*Samanea tuberosa* Lour.) extract efficacy in killing brown dog ticks. *Valaya Alongkorn Review* 1(2), 59-76. (in Thai)
12. Donkor A.M., Mosobil R., & Suurbaar, J. (2016). In vitro bacteriostatic and bactericidal activities of *Senna alata*, *Ricinus communis* and *Lannea barteri* extracts against wound and skin disease causing bacteria. *Journal of Analytical Pharmaceutical Research* 3(1). 1-6.
13. Barbieri, R., Coppo, E., Marchese, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S.F., & Nabavi, S.M. (2017) . Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity, *Microbiological Research* 196, 44-68.
14. Savage, G.P., (2003). Saponin. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition), p.5095-5098.
15. Taghizadeh, M. Saffari, M., Pourbabaie, M., & Mahboubi, M. (2011). Antimicrobial activity of different honey samples against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Biharean Biologist* 5(2), 113-115.

อิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของไรโซมกล้วยไม้จุฬาลัน (*Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.) ในสภาพปลอดเชื้อ

จินดา โพนะทา*, วาริณี พละสาร, สุทธนา ปลอดสมบุรณ์ และอรรัญญา พิมพ์มงคล*

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (α -naphthaleneacetic acid) ร่วมกับ BA (N_6 benzyladenine) ต่อการเจริญเติบโตของไรโซมกล้วยไม้จุฬาลัน (*Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.) ในสภาพปลอดเชื้อ การศึกษานี้ได้นำไรโซมของกล้วยไม้จุฬาลันที่ตัดให้มีขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ Murashige and Skoog (MS) ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาเลี้ยงบนอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติม NAA (0 0.5 1 mg/l) และ BA (0 1 2 4 mg/l) เป็นเวลา 7 เดือน พบว่าอาหารที่เติม BA 4 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ไรโซมของกล้วยไม้จุฬาลันเกิดยอดได้มากที่สุด (2.09 ยอดต่อไรโซม) อาหารที่เติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ BA 4 mg/l สามารถส่งเสริมความยาวของยอดได้ดีที่สุด (2.34 cm) อาหารที่เติม NAA 4 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ไรโซมของกล้วยไม้จุฬาลันเกิดรากได้มากที่สุด (2.11 รากต่อไรโซม) อาหารที่เติม NAA 0.5 ร่วมกับ BA 2 mg/l สามารถส่งเสริมความยาวของรากได้ดีที่สุด (2.78 cm) อาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้ไรโซมมีการแตกแขนงมากที่สุด (4.21 แขนง) และอาหารที่เติม BA 2 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถส่งเสริมความยาวไรโซมได้มากที่สุด (2.69 cm) การศึกษานี้ครั้งนี้อาจใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนกล้วยไม้จุฬาลันหรือกล้วยไม้อื่นๆในอนาคตต่อไปได้

คำสำคัญ: กล้วยไม้จุฬาลัน, ไรโซม, NAA, BA, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Effects of NAA and BA on growth of *Cymbidium ensifolium* (L.) Sw. rhizome segments in vitro

Jinda Ponata*, Warinee Palasarn, Sutthana Plodsomboon and Aranya Pimmongkol^{1*}

Abstract

This research was studied on effects of NAA and BA concentrations on growth of *Cymbidium ensifolium* (L.) Sw. rhizome segments in vitro. Explants were one centimeter rhizome segments from seed germination of *C. ensifolium* were cultured on ½ Murashige and Skoog (MS) medium. The rhizome segments were transferred to ½ MS medium supplemented with NAA (0.0, 0.5, 1.0 mg/l) and BA (0.0, 1.0, 2.0, 4.0 mg/l) for 7 months. The results showed that the highest number of shoots (2.09 shoot /rhizome) was stimulated when cultured on medium supplemented with 4 mg/l BA only. The longest shoots (2.34 cm) could be stimulated by medium containing 0.5 mg/l NAA and 4 mg/l BA. The highest number of roots (2.11 roots/rhizome) were stimulated when cultured on 0.5 mg/l NAA alone. Medium added with 0.5 mg/l NAA and 2 mg/l BA could induce the highest root height (2 cm). Medium with hormone free could stimulate the highest rhizome branching (4.21 branches) and the longest rhizome (2.69 cm) could be stimulated by medium supplemented with 2 mg/l BA alone. This research might be useful for future propagation of this species.

Keywords: *Cymbidium ensifolium* (L.) Sw., Rhizome, NAA, BA, Plant Tissue Culture

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งออกกล้วยไม้เมืองร้อนเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยในปี 2550 ประเทศไทยส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกและกล้วยไม้กระถางได้ถึง 2,544 ล้านบาท และ 766 ล้านบาทตามลำดับ [7] ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) รองลงมาเป็น สกุลมอคคารา (*Mokara*) สกุลอะแรนดา (*Aranda*) สกุลอะแรนเธอร่า (*Aranthera*) สกุลอะแรคนิส (*Arachnis*) สกุลออนซิเดียม (*Oncidium*) สกุลแวนดา (*Vanda*) และ สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium*) ตามลำดับ [6] แม้ว่าประเทศไทยมีการส่งออกกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมในปริมาณที่น้อย แต่ดอกกล้วยไม้ซิมบิเดียมมีอายุการบานที่ยาวนาน ก้านช่อแข็งแรง และสีสันของดอกที่หลากหลายทำให้กล้วยไม้ซิมบิเดียมเป็นกล้วยไม้ที่มีมูลค่าสูงที่สุดในกลุ่มกล้วยไม้ตัดดอกด้วยกันในตลาดประมูลของเนเธอร์แลนด์ [9]

กล้วยไม้จุฬาลัน (*Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.) เป็นกล้วยไม้ดิน มีกลิ่นหอม พบตามป่าดิบเขา ทางภาคเหนือ ภาคใต้ และ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ออกดอกช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนมกราคม การกระจายพันธุ์ พบที่อินเดีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ [4]

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาสั้น นอกจากนี้ยังสามารถผลิตต้นที่มีความสมบูรณ์ปราศจากไวรัสได้ และยังสามารถลดข้อจำกัดในการขยายพันธุ์ของพืชตามธรรมชาติ เพราะกล้วยไม้ซึ่งขยายพันธุ์ได้ยากตามธรรมชาติ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็ก และไม่มีอาหารสะสม (endosperm) หรือมีอยู่น้อยมาก จึงต้องอาศัยเชื้อราไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza) เพื่อช่วยในการงอก และหากเมล็ดกล้วยไม้ตกอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอาจไม่เกิดการงอก นอกจากนี้การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ตามธรรมชาติมีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถนำมาใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ เป็นการช่วยลดข้อจำกัดที่มีอยู่ตามธรรมชาติได้ อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้แต่ละชนิดมีวิธีการขยายพันธุ์ การเจริญเติบโต และความต้องการปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกัน [1] การขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยวิธีการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นได้มีการนำชิ้นส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ เช่น หน่ออ่อน ช่อดอกอ่อน ใบ และราก มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อ และนำไปชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากในอาหารสังเคราะห์ [2] และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะสารในกลุ่มของไซโตไคนิน (cytokinins) เช่น 6-benzyl adenine (BA) เนื่องจาก BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินมีบทบาทสำคัญในการแบ่งเซลล์พืช การเกิดยอด รวมถึงการกระตุ้นการแตกตาข้าง [5] และสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน เช่น naphthaleneacetic acid (NAA) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีบทบาทในการชักนำการแบ่งเซลล์ และการเกิดรากของพืช กระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด [3] และในปัจจุบันได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้หลายชนิด รวมถึงกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม Chang และ Chang [11] ได้ศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์ *C. ensifolium* var. *misericors* โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนของไรโซม โดยนำส่วนของไรโซม มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง และอาหารเหลว พบว่าในอาหารทั้งสองชนิดที่มีสารกลุ่มไซโตไคนินที่ความเข้มข้นแตกต่างกันจะมีจำนวนตายยอดต่อไรโซมไม่แตกต่างกันระหว่างอาหาร 2 ชนิด และพบว่าอาหารที่เติม NAA 1.5 μ M ร่วมกับ TDZ 0.05–0.5 μ M และ Ade (6-aminopurine adenine) 3.3 μ M สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 5–7 ยอด ต่อไรโซม 1 ชิ้น Tao et al. [18] ศึกษาเกี่ยวกับผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการขยายพันธุ์ *C. fabery* Rolf. พบว่าอาหารสูตร 1/2MS ที่เติมด้วย TDZ 1.0 mg/l ร่วมกับ NAA 0.5 mg/l เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดสำหรับการชักนำให้เกิดยอด โดยมีอัตราการชักนำให้เกิดยอดเท่ากับ 56.8% และพบว่าอาหารสูตร 1/2MS ที่เติมด้วย IBA 0.5 mg/l เป็นอาหารสูตรที่ดีที่สุดสำหรับการชักนำให้เกิดราก โดยมีอัตราการเกิดรากเท่ากับ 96.4 \pm 1.3% จตุพร หงส์ทองคา & รชยา พรอมวงศ์ [1] ศึกษาการขยายพันธุ์ของกล้วยไม้กะเหรี่ยง (*C. aloifolium* (L.) Sw.) ในหลอดทดลองพบว่า โปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 1 mg/l เกิดยอดได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 7.27 ยอดต่อโปรโตคอร์ม ขณะที่อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 mg/l ร่วมกับ Kn (Kinetin) ความเข้มข้น 5 mg/l สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดรากได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 3.40 รากต่อต้น

การนำเมล็ดของกล้วยไม้จุฬาลันมาเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า ส่วนใหญ่โปรโตคอร์ม (protocorm) ของกล้วยไม้จุฬาลันจะเจริญเป็นไรโซม และมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนน้อยมาก ดังนั้น การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับการเติม NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของไรโซมกล้วยไม้จุฬาลัน เพื่อต้องการให้ได้จำนวนต้นที่มากที่สุด

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

นำไรโซมของกล้วยไม้จุฬาลัน (*Cymbidium ensifolium*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนสูตรอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ที่เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อายุประมาณ 1 ปี ตัดให้มีขนาดประมาณ 1 cm แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่มีการเติมผงวุ้น 7.5 g/l ผงถ่าน 500 mg/l และมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช NAA 0.0 0.5 1.0 mg/l และ BA 0.0 1.0 2.0 4.0 mg/l ปรับ pH 5.6-5.8 เทใส่ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 60 ml โดยแต่ละขวดใส่อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 10 ml ปิดฝา แล้วนำไปฆ่าเชื้อ โดยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที โดยในแต่ละการทดลองทำ 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำใส่ไรโซมจำนวน 2 ชิ้น นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน บันทึกผลการเจริญของยอด การเจริญของราก และการเจริญของไรโซม โดยการนับจำนวนยอด ความยาวยอด นับจำนวนราก ความยาวราก นับจำนวนไรโซม และความยาวไรโซม เปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหาร วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลอง

จากการนำไรโซมของกล้วยไม้จุฬาลัน (*Cymbidium ensifolium*) มาเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช NAA 0.0 0.5 1.0 mg/l และ BA 0.0 1.0 2.0 4.0 mg/l แล้วเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน พบว่าการเพาะเลี้ยงไรโซมกล้วยไม้จุฬาลันในอาหารที่เติม BA 4 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ไรโซมของกล้วยไม้จุฬาลันเกิดยอดได้มากที่สุดเฉลี่ย 2.09 ยอดต่อไรโซม และอาหารที่เติม BA 4 mg/l ร่วมกับ NAA 0.5 mg/l สามารถส่งเสริมความยาวของยอดได้ดีที่สุดเฉลี่ย 2.34 เซนติเมตร และพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงไรโซมที่บนอาหารที่มีการเติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับการเติม BA ในระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ความยาวยอดเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงไรโซมในอาหารที่เติม NAA 0.5 mg/l เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ไรโซมของกล้วยไม้จุฬาลันเกิดรากได้มากที่สุดเฉลี่ย 2.11 รากต่อไรโซม ในขณะที่จำนวนของรากจะลดลงเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับการเติม BA ที่ระดับความเข้มข้นที่เพิ่มมากขึ้น โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ อาหารที่เติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ BA 2 mg/l สามารถส่งเสริมความยาวของรากได้ดีที่สุดเฉลี่ย 2.78 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่าสามารถชักนำให้เกิดการแตกแขนงของไรโซมมากที่สุดเฉลี่ย 4.21 แขนง และอาหารที่มีการเติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับการเติม BA 2 mg/l สามารถส่งเสริมความยาวของไรโซมได้มากที่สุดเฉลี่ย 2.69 เซนติเมตร ทั้งนี้จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนยอด ความยาวยอด และความยาวของไรโซม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนราก ความยาวราก และจำนวนไรโซม มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) (ตาราง 1 และภาพ 1)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชมีบทบาทสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และอัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชยังช่วยเพิ่มจำนวนของเซลล์ และช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้แต่ละชนิดด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้องใช้ความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินที่แตกต่างกัน จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและชิ้นส่วนของพืชที่นำมาทดลอง [1] จากผลการวิจัยในครั้งนี้ พบว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ จตุพร หงส์ทองคำ & รัชยา พรอมวงศ์ [1] ที่พบว่า การเติม BA เพียงอย่างเดียวที่มีความเข้มข้น 1-5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดของกล้วยไม้กระรอกระร่อน (*C. aloifolium* (L.) Sw.) ได้ดี และงานวิจัยของ Hasegawa *et al.* [12] ที่ได้อธิบายถึงการชักนำให้กล้วยไม้ *C. faberi* Rolfe เกิดยอดได้นั้นจำเป็นต้องมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน โดยเฉพาะ BA การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน สามารถชักนำให้เกิดยอด และสามารถช่วยในการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียมอื่นๆ ได้ เช่น *C. dayanum* [14] *C. forestii* [17] *C. ensifolium* [10] *C. kanran* [13] *C. goeringii* [15]


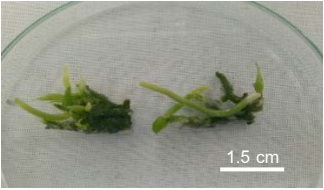

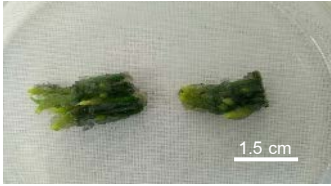





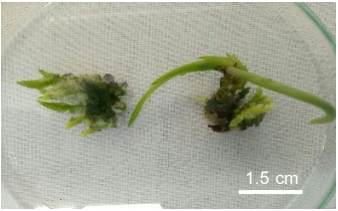


จากผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าการแตกแขนงของไรโซมได้ดีในสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 4.21 แขนง ในขณะที่การทดลองของ อนุพันธ์ กงยังเกิด และคณะ [8] พบว่าการเลี้ยงไรโซมของกล้วยไม้ดิน *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 mg/l สามารถชักนำให้มีการแตกแขนงของไรโซมได้มากที่สุด 2.68 แขนง โดยผลการทดลองในครั้งนี้สามารถเป็นแนวทางในการเพิ่มจำนวนไรโซมได้ แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนต้นที่เกิดจากไรโซมสำหรับการขยายพันธุ์กล้วยไม้จุฬาลงกูญยังมีจำนวนน้อย ดังนั้นควรมีการศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนชนิดอื่น และปัจจัยอื่นๆ เช่น ปริมาณธาตุอาหาร ความเข้มข้นของน้ำตาล และความเข้มข้นต่อการพัฒนาเป็นต้นอ่อนเพิ่มเติมเพื่อให้ได้จำนวนต้นที่มากขึ้น นอกจากนั้นการนำกล้วยไม้ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก จึงมีความน่าสนใจที่จะศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนงบประมาณการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

ตาราง 1 การเจริญของไรโซมของไรโซมกล้วยไม้จุลินทรีย์ในอาหาร ½ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช BA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน

Treatment	สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช		การเจริญของยอด		การเจริญของราก		การเจริญของไรโซม	
	BA (mg/l)	NAA (mg/l)	จำนวนยอดต่อไรโซม	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนรากต่อไรโซม	ความยาวราก (เซนติเมตร)	การแตกแขนงของไรโซม (แขนง)	ความยาวไรโซม (เซนติเมตร)
BN1	0 mg/l	0 mg/l	1.78±1.20	1.30±0.74 ^d	1.00±0.76 ^{cde}	1.64±0.98 ^{cd}	4.21±1.99^a	2.40±0.5
BN2	1 mg/l	0 mg/l	1.00±0.52	1.37±0.56 ^d	0.00±0.00 ^f	NA	2.43±1.81 ^{bc}	1.98±0.81
BN3	2 mg/l	0 mg/l	1.00±0.65	0.93±0.49 ^f	0.00±0.00 ^f	NA	3.00±2.28 ^{bc}	2.69±0.38
BN4	4 mg/l	0 mg/l	2.09±1.38	1.58±1.19 ^{bc}	1.60±1.21 ^{abcd}	2.53±1.55 ^{ab}	3.50±2.05 ^{ab}	2.27±0.59
BN5	0 mg/l	0.5 mg/l	1.80±1.31	1.18±0.89 ^{de}	2.11±1.45^a	1.64±0.83 ^{cd}	3.06±1.87 ^{abc}	2.30±0.58
BN6	1 mg/l	0.5 mg/l	1.50±1.12	1.30±0.75 ^d	1.88±1.28 ^{ab}	1.91±0.91 ^c	2.85±1.58 ^{abc}	2.05±0.53
BN7	2 mg/l	0.5 mg/l	1.90±1.33	2.22±1.62 ^{ab}	1.09±0.86 ^{bcde}	2.78±1.36^a	2.47±1.94 ^{bc}	2.56±0.66
BN8	4 mg/l	0.5 mg/l	1.08±0.39	2.34±1.80^a	0.94±0.83 ^{de}	1.64±0.35 ^{cd}	1.92±1.19 ^c	2.34±0.93
BN9	0 mg/l	1 mg/l	1.78±1.37	1.90±1.29 ^{ab}	0.55±0.50 ^{ef}	1.78±0.71 ^c	3.07±2.00 ^{abc}	2.10±0.94
BN10	1 mg/l	1 mg/l	1.14±0.63	1.80±1.17 ^{ab}	1.20±1.04 ^{ef}	2.64±0.48 ^{ab}	2.38±1.29 ^{bc}	2.47±0.82
BN11	2 mg/l	1 mg/l	1.55±0.95	1.24±0.82 ^d	1.83±1.30 ^{bcdef}	2.70±0.16 ^a	3.19±2.48 ^{abc}	2.02±0.95
BN12	4 mg/l	1 ,mg/l	1.50±0.76	2.00±1.31 ^{ab}	0.00±0.00 ^f	NA	3.06±1.84 ^{abc}	2.14±1.03
F-test			ns	*	*	*	*	ns

NAA (mg/l) BA (mg/l)	0 (mg/l)			0.5 (mg/l)			1 (mg/l)		
	0 (mg/l)	BN1 	BN5 	BN9 					
1 (mg/l)	BN2 	BN6 	BN10 						
2 (mg/l)	BN3 	BN7 	BN11 						
4 (mg/l)	BN4 	BN8 	BN12 						

ภาพ 1 การเจริญของไรโซมกล้วยไม้จุฬาลันที่เลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน

เอกสารอ้างอิง

1. จตุพร หงษ์ทองคำ & รชยา พรมงศ์. (2560). การขยายพันธุ์ในหลอดแก้วของกล้วยไม้กะระร่อน (*Cymbidium alofolium* (L.) SW.) กล้วยไม้ป่าใกล้สูญพันธุ์ในกลุ่มป่าชุมชน. *เกษตรพระวรุณ* 14(2), 146-154.
2. จิตราพรรณ พิสิก, (2558). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. *Kasetsart extension journal* 60(2), 24-35.
3. บุญเทือง โพธิ์เจริญ & ศรีปาน เขยกลิ่นเทศ. 2552. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.
4. วีระชัย ณ นคร. (2543). สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 6. กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์.
5. สถาพร ตี๋ยัง. 2542. ฮอริโมนพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยราชภัฏราชชนครินทร์.
6. ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. (2551). กล้วยไม้ไทยก้าวไกลในเวทีโลก และตลาดการค้ากล้วยไม้. 5 มีนาคม 2562. สืบค้นจาก: <http://www.positioningmag.com/prnews/prnews.asp?id=68935>
7. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2550). ปริมาณและมูลค่าสินค้าเกษตรกรรมส่งออก พ.ศ.2549-2550. 5 มีนาคม 2562. สืบค้นจาก: <http://www.oae.go.th/statistic/export/QVExp.xls>
8. อนุพันธ์ กงบังเกิด ธนากร วงษศา วัชรศักดิ์ มาเกิด และ คงศักดิ์ พร้อมเทพ. (2553). รูปแบบการพัฒนาของต้นอ่อนของฮอริโมนต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดิน *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. ในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารมหาวิทยาลัยนครสวรรค์* 7(1), 124-139.
9. Federation of Dutch Flower Auctions. (2007). Top tropical flowers sold at the Dutch auctions 2004-2006. Retrieved March 5, 2019. <http://www.cbi.eu/marketinfo>
10. Chang, C., & Chang, W. C. (1998). Plant regeneration from callus culture of *cymbidium ensifolium* Var. *misericors*. *Plant cell reports* 17(1), 251-255.
11. Chang, C., & Chang, W. (2000). Micropropagation of *Cymbidium ensifolium* var. *misericors* through callus derived rhizome. *Society for in vitro biology* 36, 517-520.
12. Hasegawa, A., Ohashi, H., & Goi, M. (1985). Effects of BA, rhizome length, mechanical treatment and liquid sharking culture on the shoot formation from rhizome in *Cymbidium faberi* Rolfe. *Scientia Horticulturae* 166(1), 25-40.
13. Lee, L. S., Kwaek, B. H., Lee, B. K. & Chung, J. D. (1984). Studies on *Cymbidium kanran* native to Korea on rhizome culture in vitro. *The Koreans Society for Horticultural science* 25(1), 129-135.
14. Lu, I.L., (1988). In vitro germination and organogenesis to *Cymbidium ensifolium* Var. *misericors* and *Cymbidium dayanum*. M.SC. thesis. National Tiwan University, Taipei.
15. Shinasaki, K., & Uemoto, S. (1990). Rhizome induction and plantlet regeneration of *Cymbidium goringii* from flower bud cultures in vitro. *Plant Cell tissue and Organ culture* 22(1), 237-244.
16. Skoog, F. & Miller, CO. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 11(1), 118-131.
17. Peak, K. Y., & Yeung, F. C. (1991). The effect of naphthaleneacetic acid and N⁶ benzyladenine on the growth of *cymbidium forrestii* rhizomes in vitro. *Plant Cell tissue and Organ culture* 24(1), 65-71.
18. Tao, J., Yu, L., Kong, F., & Zhao, D. (2011). Effects of plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Cymbidium faberi* Rolfe. *African journal of Biotechnology* 10(69), 15639-15646.

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ

จิฎิพันธ์ เจริญทอง¹, ศุภณัฐ กัญจนวัฒน์นางศ์^{2*}

บทคัดย่อ

ต้นรัก (*Calotropis gigantea* (L.) W.T.Aiton) มีสรรพคุณทางสมุนไพร เช่น รักษาโรคหอบหืด กลากเกลื้อน แก้ไข้ และริดสีดวง เป็นต้น แต่ไม่นิยมปลูก เนื่องจากการใช้ประโยชน์ยังไม่กว้างขวางและไม่เป็นที่นิยม ทั้งที่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสำคัญต่างๆ ในต้นรัก กอปรกับจำนวนต้นรักในธรรมชาติบริเวณพื้นที่ที่สำรวจ 1.2 ตารางกิโลเมตร นั้น พบว่ามีต้นรักเพียง 66 ต้น และสังเกตได้ว่า มีการกระจายพันธุ์เป็นกลุ่มๆ ในบริเวณแคบเท่านั้น ดังนั้นการศึกษาวงจรการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อรักษาพันธุ์ต้นรัก สำหรับใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ในอนาคต จึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจ จึงทำการทดลองโดยนำเมล็ดรักมาเพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 6-benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 2 หรือ 4 มิลลิกรัม/ลิตร หลังจากเพาะเมล็ด 2 สัปดาห์ พบว่า มีเพียงเมล็ดที่เพาะบนอาหารที่เติม BA 4 มิลลิกรัม/ลิตร เท่านั้นที่งอก จากนั้นศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหาร น้ำตาลทราย และ mannitol สำหรับชะลอการเจริญเติบโตต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ โดยพบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม mannitol 60 กรัม/ลิตร มีผลให้ต้นรักชะลอการเจริญเติบโตด้านความสูงได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยวิธีการที่เหมาะสมนี้ สามารถประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษาพันธุ์รักและลดความถี่ในการเปลี่ยนอาหารได้ไม่น้อยกว่า 8 สัปดาห์

คำสำคัญ: การรักษาพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ, การอนุรักษ, ต้นรัก, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

¹ นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) โครงการจัดตั้งวิทยาเขตอำนาจเจริญ มหาวิทยาลัยมหิดล อำนาจเจริญ 37000

² สาขาเกษตรศาสตร์ โครงการจัดตั้งวิทยาเขตอำนาจเจริญ มหาวิทยาลัยมหิดล อำนาจเจริญ 37000

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: supanath.kan@mahidol.edu

Tissue culture of *Calotropis gigantea* (L.)

Thitinun Rianthong¹ and Supanath Kanjanawattanawong^{2*}

Abstract

Crown flower (*Calotropis gigantea* (L.) W.T.Aiton) has many medicinal properties such as use for treatment of asthma, ringworm, fever, and hemorrhoids. However, this plant is still not widely cultivated to use in any purposes although important bioactive compounds have been reported in this plant. However, only 66 plants were found in surveying area. Therefore, tissue culture methods for propagation for this plant were studied. The Crown flower seeds were cultured on semi-solid Murashige and Skoog (MS) medium added with 6-benzyladenine (BA) at 0, 2 or 4 mg/l. After cultured for 2 weeks, the seed germination was only observed on semi-solid medium added 4 mg/l BA. In addition, the different nutrient strength, sucrose and mannitol concentrations were also studied for *in vitro* culture of Crown flower. The result showed that the lowest growth of Crown flower seedling explants was observed on ½ MS medium added with 60 g/l mannitol with statistical significance ($p \leq 0.05$). This finding could be used to reduce subculture frequency and preserve the Crown flower at least 8 weeks.

Key words: *Calotropis gigantea*, Crown flower, *in vitro* preservation, micropropagation

¹ Undergraduate student in Bachelor of Science (Agriculture), Mahidol University, Amnatcharoen Campus, Amnatcharoen 37000

² Program of Agricultural Science, Mahidol University, Amnatcharoen Campus, Amnatcharoen 37000

* Corresponding author, e-mail: supanath.kan@mahidol.edu

บทนำ

ต้นรัก *Calotropis gigantea* (L.) W.T.Aiton ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Apocynaceae เช่นเดียวกับ ลีลาวดี และอยู่ในวงศ์ย่อยนมตำเลีย ช่อดอกเป็นแบบซี่ร่ม เป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย [1] จัดเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สามารถทนแล้งและทนเค็มได้ ในเกาะฮาวายหากมีการห้อยพวงมาลัยที่ทำจากดอกกรัก (lei) จะหมายถึงสัญลักษณ์ของกษัตริย์ [2] ส่วนของดอกนั้นมีลักษณะพิเศษคือ รูปร่างกับคล้ายมงกุฎ มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ มีการนำส่วนของดอกมาใช้ประโยชน์ทั้งในการเป็นส่วนประกอบของมาลัยในงานพิธีต่าง ๆ และส่วนต่าง ๆ ของรักยังมีประโยชน์ในตำราแพทย์สมุนไพร เพื่อใช้รักษาโรค เช่น โรคเรื้อน กลากเกลื้อน แกริดสีดวง ขับเลือด ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบ และต้านเนื้องอกได้ [3-5] โดยมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายเช่น calotropin, uscharin, calotoxin, calactin, uscharidin, gigantol และสารประกอบอื่น ๆ อีก 14 ชนิด [6] ปัจจุบันมีการใช้ดอกกรักพลาสติกมาทดแทนการใช้ดอกสด เพื่อลดต้นทุนและสะดวกต่อการเก็บรักษา เนื่องจากดอกกรักสดเกิดการเหี่ยวและขอบกลีบของดอกดำได้ง่ายระหว่างการเก็บรักษา และมีอายุค่อนข้างสั้น [7] เกษตรกรจึงไม่นิยมปลูก ทำให้ปริมาณต้นรักลดน้อยลงอย่างมาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคที่สามารถใช้ในการรักษาพันธุ์พืชและผลิตสารสำคัญทางการแพทย์ที่มีประสิทธิภาพกว่าพืชที่ปลูกในธรรมชาติ ทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ ผ่านการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย แคลลัส และเนื้อเยื่อพืช ซึ่งประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น หนุ่ยหวาน Shampoo Ginger (*Zingiber zerumbet* L. Roscoe ex Sm) และ *Scutellaria alpina* [8-11] โดยใช้อาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) [12] ที่เติมสารควบคุมเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เพื่อส่งเสริมการพัฒนา [13] แต่ยังไม่มียารายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นรักในสภาพปลอดเชื้อเพื่อรักษาพันธุ์และการผลิตสารสำคัญ ซึ่งการใช้สูตรอาหาร น้ำตาลทราย และ mannitol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้ในการชะลอการเจริญเติบโตเพื่อรักษาพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อได้ ดังเช่นที่มีรายงานในหนุ่ยหวาน อินทผาลัม และมันฝรั่ง [14-16] งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะการกระจายพันธุ์ของต้นรักในพื้นที่ศูนย์ราชการจังหวัดอำนาจเจริญ และขยายพันธุ์ต้นรักในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการศึกษาการผลิตสารสำคัญ และการรักษาพันธุ์ต้นรักในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาลักษณะการกระจายพันธุ์ของต้นรัก

ทำการสำรวจจำนวน และลักษณะการกระจายพันธุ์ของต้นรัก ดอกสีขาว และสีม่วง ในบริเวณศูนย์ราชการจังหวัดอำนาจเจริญ ขนาดพื้นที่ประมาณ 1.2 ตารางกิโลเมตร จำนวน 2 ครั้ง คือ เดือน พฤษภาคม 2561 และ มกราคม 2562 ซึ่งเป็นช่วงที่ต้นรักออกดอก โดยการเดินสำรวจตามเส้นทางเดินเท้าและถนน ในรัศมี 30 เมตร ตลอดเส้นทางทั้งด้านซ้ายและขวา ทำการระบุพิกัด และจำนวนต้นที่พบลงแผนที่จากภาพถ่ายดาวเทียม จากนั้นคำนวณหาค่าความหนาแน่น (Density: D) ของต้นรักต่อหน่วยพื้นที่ [17] จากสูตร

$$D = \frac{\text{จำนวนต้นของชนิดไม้ในพื้นที่พบในแปลงตัวอย่าง}}{\text{พื้นที่แปลงตัวอย่างทั้งหมดที่ทำการศึกษา}}$$

การเพาะเมล็ดต้นรักเพื่อรักษาพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

นำผลสดของรักที่ยังไม่แตก จากบริเวณมหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตอำนาจเจริญ ในศูนย์ราชการจังหวัดอำนาจเจริญ มาล้างด้วยน้ำสะอาดผสม tween-20 จำนวน 1-2 หยด ลูบที่ผิวเบาๆ จนสะอาด จากนั้นฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% จนทั่ว แล้วนำเข้าตู้ย่ำยเนื้อเยื่อปลอดเชื้อ จุ่มแอลกอฮอล์ 95% แล้วผ่านเปลวไฟจนไฟลุกท่วม จากนั้นจึงผ่าเปลือกเพื่อเอาเมล็ดภายในผลออกมาเพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 6-benzyladenine (BA) ที่ความเข้มข้น 0, 2 หรือ 4

มิลลิกรัม/ลิตร วัน 7 กรัม/ลิตร และมีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.4 รวม 3 ทรีทเมนต์ ทดลองทรีทเมนต์ละ 10 ซ้ำ (ขวด) ซ้ำละ 15 เมล็ด จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยง ภายใต้สภาพที่มีแสงสว่าง 3,000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกจำนวนเมล็ดที่งอก หลังการเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์

ผลของน้ำตาลทราย และ mannitol ต่อการชะลอการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาอาหารที่เหมาะสมต่อการชะลอการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS โดยเปรียบเทียบการเติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร การเติมน้ำตาลทราย 60 กรัม/ลิตร และการเติม mannitol 30 กรัม/ลิตร รวม 3 ทรีทเมนต์ ทดลองทรีทเมนต์ละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้นส่วน วางขวดเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพที่มีแสงสว่าง 3,000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส แล้วบันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอด และความสูงของยอดหลังเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหาร น้ำตาลทราย และ mannitol ต่อการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่าน้ำตาลทราย และ mannitol สามารถชะลอการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อได้ จึงศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหารร่วมกับ น้ำตาลทราย และ mannitol ที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตเพิ่มเติม โดยนำตาข้างของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ ขนาด 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร (ชุดควบคุม) เปรียบเทียบกับสูตร ½ MS ร่วมกับการเติมน้ำตาล 4 ทรีทเมนต์ คือ เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร เติมน้ำตาลทราย 60 กรัม/ลิตร เติมน้ำ mannitol 30 กรัม/ลิตร และเติมน้ำ mannitol 60 กรัม/ลิตร ทำการทดลอง 8 ซ้ำ (ขวด) ซ้ำละ 3 ชิ้น วางขวดเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพที่มีแสงสว่าง 3,000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส แล้วบันทึกลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด และความสูงของยอดหลังจากเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

ผลการทดลอง

การศึกษาลักษณะการกระจายพันธุ์ของต้นรัก

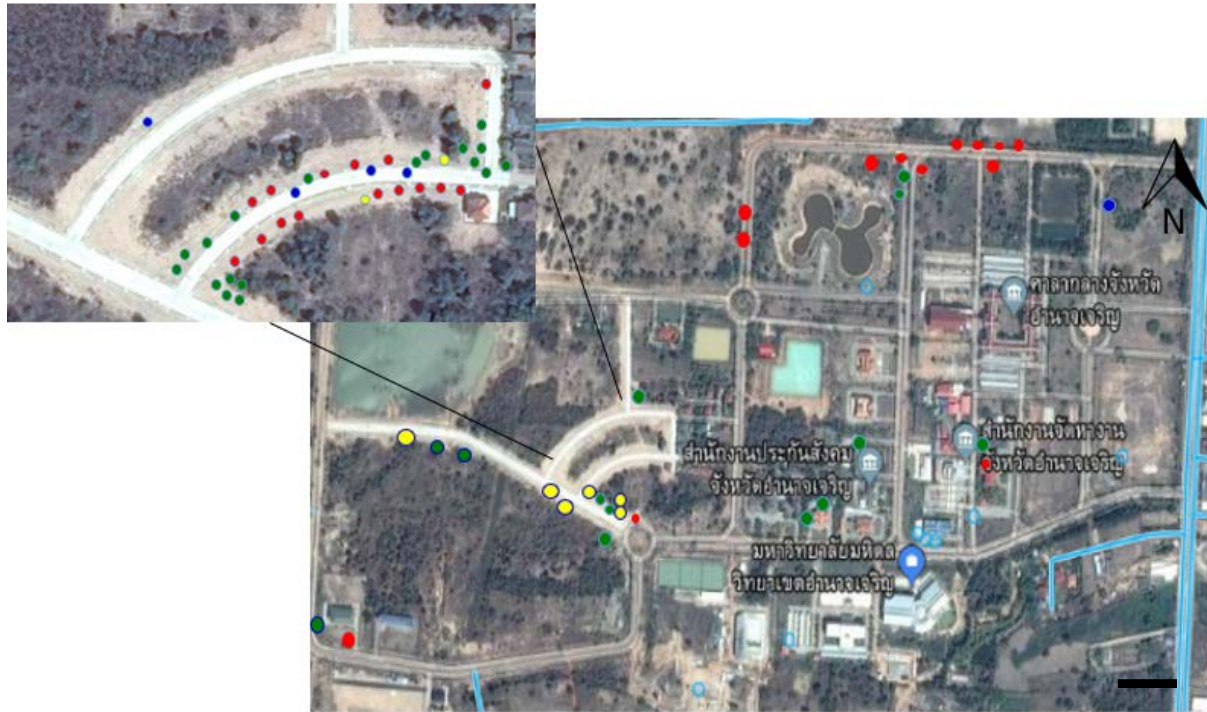
จากการสำรวจจำนวน และลักษณะการกระจายพันธุ์ของต้นรักในพื้นที่ 1.2 ตารางกิโลเมตรของศูนย์ราชการจังหวัดอำนาจเจริญ ครั้งที่ 1 ในเดือน พฤษภาคม 2561 พบว่ามีต้นรักทั้งสิ้น 66 ต้น แบ่งเป็น ดอกสีขาว 52 ต้น และดอกสีม่วง 14 ต้น คิดเป็น 78.7% และ 21.2% ตามลำดับ (ตาราง 1) ต่อมาได้สำรวจครั้งที่ 2 ในเดือน มกราคม 2562 พบต้นรักทั้งหมดเพียง 40 ต้น ประกอบด้วย ต้นรักสีขาว 28 ต้น ต้นรักสีม่วง 7 ต้น ต้นรักเกิดใหม่ 5 ต้น คิดเป็น 70% 17.5% และ 12.5% ตามลำดับ และพบว่า มีต้นรักที่ถูกตัดทิ้ง 31 ต้น จากการสำรวจครั้งที่ 1 (66 ต้น) ซึ่งจำนวนต้นรักที่ถูกตัดไป คิดเป็น 47% แต่ทั้งนี้ มีต้นรักที่เกิดใหม่ เพียง 5 ต้น คิดเป็น 16.13% ของจำนวนต้นรักที่ถูกทำลาย (ตาราง 1) (ภาพ 2) เห็นได้ว่า จำนวนต้นรักลดลงไปเกือบครึ่งหนึ่งของการสำรวจครั้งที่ 1 และเมล็ดที่งอกเป็นต้นใหม่ได้ก็มีจำนวนเพียง 5 ต้น (16.13%) นอกจากนี้จากการระบุพิกัดของต้นรักที่พบในพื้นที่ดังกล่าวพบว่า ต้นรักมีลักษณะการกระจายพันธุ์ค่อนข้างแคบ เป็นแบบกลุ่มๆ และมักพบในบริเวณริมถนนหรือทางเท้า (ภาพ 1) ต้นรักในบริเวณนี้มีความหนาแน่นต่อพื้นที่ต่ำ โดยมีค่าระหว่าง 0.0000116-0.0000333 ต้น/ตรม. (ตาราง 1)

ตาราง 1 แสดงจำนวนของการเพิ่มจำนวน การลดจำนวนลงของต้นรักและค่าความหนาแน่นของต้นรักในพื้นที่ 1.2 ตาราง กิโลเมตร ของศูนย์ราชการจังหวัดอำนาจเจริญ

สำรวจครั้งที่ 1	ดอกสีขาว	ดอกสีม่วง	ต้นที่เกิดใหม่ (ยังไม่มีดอก)	รวม
จำนวนที่พบ (ต้น)	52(78.8%)	14(21.2%)	-	66
ค่าความหนาแน่น (ต้น/ตรม.)	0.0000433	0.0000116	-	0.0000550
สำรวจครั้งที่ 2				
จำนวนที่พบ (ต้น)	28(70%)	7(17.5%)	5(12.5%)	40
ค่าความหนาแน่น(ต้น/ตรม.)	0.0000233	0.0000058	0.0000042	0.0000333
จำนวนที่ลดลง (ต้น)	24(46.2%)	6(46.2%)	-	31



ภาพ 1 ลักษณะการกระจายพันธุ์ของต้นรักในพื้นที่ 1.2 ตารางกิโลเมตร ของศูนย์ราชการจังหวัดอำนาจเจริญ ครั้งที่ 1 (จุดสีแดง: ต้นรักดอกสีขาวจำนวน 52 ต้น, จุดสีเหลือง: ต้นรักดอกสีม่วงจำนวน 13 ต้น) (สเกล = 100 เมตร)



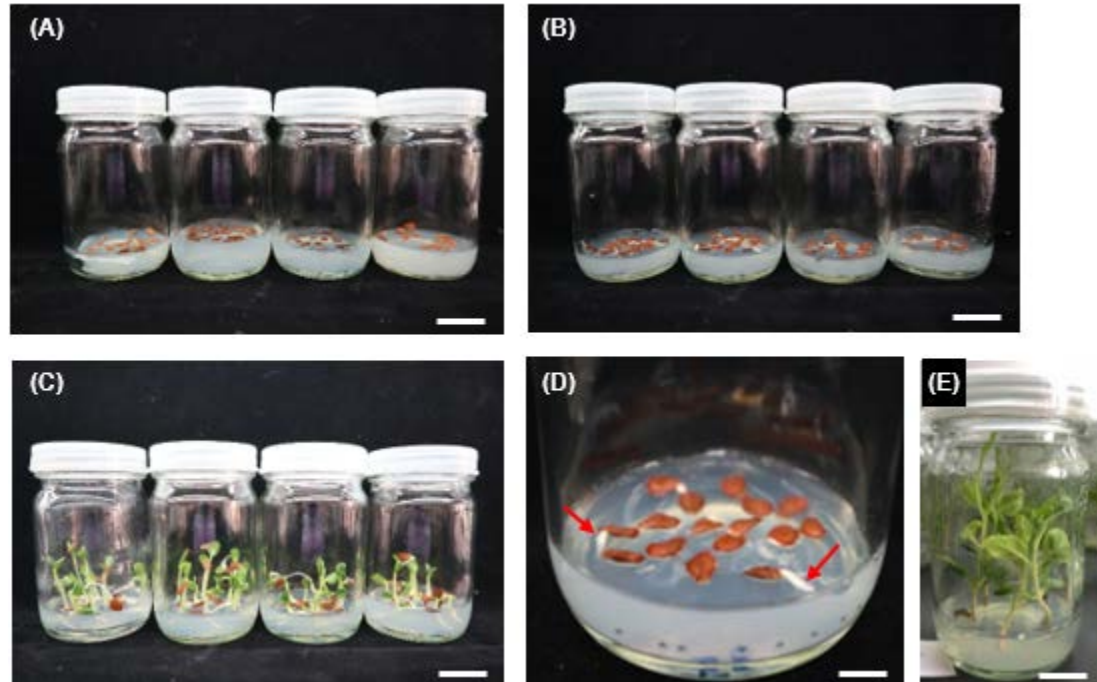
ภาพ 2 ลักษณะการกระจายพันธุ์ และการเปลี่ยนแปลงจำนวนของต้นรักในพื้นที่ 1.2 ตารางกิโลเมตร ของศูนย์ราชการจังหวัดอำนาจเจริญ ครั้งที่ 2 (จุดสีแดง: ต้นรักดอกสีขาวจำนวน 28 ต้น, จุดสีเหลือง: ต้นรักดอกสีม่วงจำนวน 7 ต้น จุดสีเขียว: ต้นรักที่ถูกตัดทำลาย จุดสีน้ำเงิน: ต้นรักที่มีการเกิดใหม่) (สเกล = 100 เมตร)

การเพาะเมล็ดต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากเพาะเมล็ดต้นรักบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น ที่ 0, 2 หรือ 4 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 2 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดต้นรักสามารถงอกและพัฒนาเป็นต้นกล้าบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ดีที่สุด 100% (ภาพ 3C, ตาราง 2) ทั้งนี้อาหารที่ไม่เติม BA และที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร ยังไม่มีการพัฒนาจนเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ มีเพียงการงอกของปลายรากเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ภาพ 3D) อย่างไรก็ตามเมล็ดที่เพาะบนอาหารทุกสูตรสามารถงอกได้หลังจากการเพาะ 4 สัปดาห์ จากนั้น ย้ายต้นกล้าที่มีใบเลี้ยงแล้ว ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ต้นกล้าสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้ทั้งหมด (ภาพ 3E)

ตาราง 2 จำนวนเมล็ดต้นรักที่งอกเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 2 หรือ 4 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 2 และ 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	อัตราการงอกของเมล็ด (%)	
	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์
MS + BA 0 มิลลิกรัม/ลิตร	0	100
MS + BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร	20	100
MS + BA 4 มิลลิกรัม/ลิตร	100	100



ภาพ 3 การงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดต้นรักในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ในแต่ละความเข้มข้น (A) ไม่เติม BA (B) เติม BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร และ (C) เติม BA 4 มิลลิกรัม/ลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ (D) ลักษณะการงอกของรากเมล็ดต้นรัก (E) ต้นรักอายุ 4 สัปดาห์หลังตัดย้ายต้นกล้าที่งอกมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (สเกล = 1 เซนติเมตร)

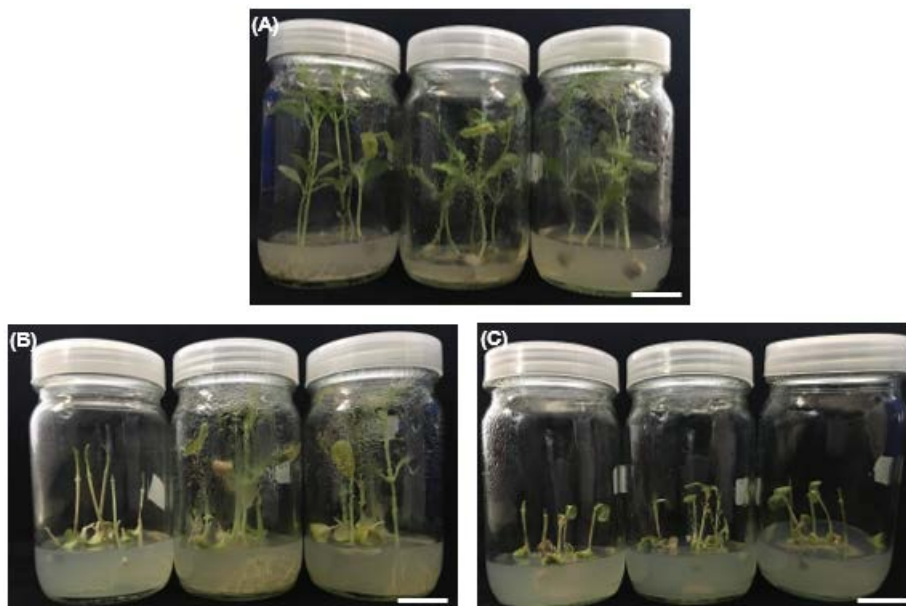
ผลของน้ำตาลทราย และ mannitol ต่อการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาผลของน้ำตาลทราย และ mannitol ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชะลอการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อหลังการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม mannitol 30 กรัม/ลิตร สามารถทำให้ต้นรักมีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด โดยมีความสูงเฉลี่ย 2.50 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 2 ใบ/ต้น รองลงมาคือ สูตรที่เติมน้ำตาล 60 กรัม/ลิตร และสูตรควบคุมที่เติมน้ำตาล 30 กรัม/ลิตร ตามลำดับ (ตาราง 3) ทำให้ทราบเบื้องต้นว่าการเติม mannitol ในอาหาร MS สามารถชะลอการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อได้ แต่อาหารที่เติมน้ำตาลทราย 60 กรัม/ลิตร และ mannitol 30 กรัม/ลิตร ต้นรักเริ่มมีการหลุดร่วงของใบเมื่อเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ และใบร่วงจนหมดหลังจากการเลี้ยง 5 สัปดาห์ (ภาพ 4)

ตาราง 3 ผลของน้ำตาลทราย และ mannitol ต่อการเจริญเติบโตของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตร	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโต	
	จำนวนใบเฉลี่ย	ความสูงเฉลี่ย (ซม.)
MS + น้ำตาลทราย 30 กรัมต่อลิตร	6.4 ± 0.88c	6.6 ± 0.91bc
MS + น้ำตาลทราย 60 กรัมต่อลิตร	3.1 ± 1.76b	5.6 ± 1.38bc
MS + mannitol 30 กรัมต่อลิตร	2.0 ± 1.5a	2.5 ± 0.23a

* ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ วิเคราะห์โดย DMRT



ภาพ 4 การเจริญเติบโตของต้นรักบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำตาลทราย และ mannitol หลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (A) เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร (B) เติมน้ำตาลทราย 60 กรัม/ลิตร (C) และ mannitol 30 กรัม/ลิตร (สเกล = 1 เซนติเมตร)

ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหาร น้ำตาลทราย และ mannitol ต่อการเจริญเติบโตต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองให้ทรีทเมนต์ต้นรักในสภาพปลอดเชื้อเพิ่มเติม พบว่า สูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพในการชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถทำให้ต้นรักมีความสูงในระยะ 1 เดือน ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ สูตร ½ MS ที่เติม mannitol 60 กรัม/ลิตร มีความสูงเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร (ความสูงไม่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น) และมีจำนวนใบต่ำสุด (1 ใบ) แต่มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 12.5 % ส่วนสูตรที่เติม mannitol 30 กรัม/ลิตร มีอัตราการตาย 100% ทั้งนี้การใช้ความเข้มข้นของสูตรอาหาร ½ MS ที่เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร กลับทำให้ความสูงต้นรักสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีความสูง 7.4 และ 5.4 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตาราง 4) อย่างไรก็ตาม หลังจากเลี้ยงชิ้นส่วนนาน 2 เดือน เมื่อนำชิ้นส่วนที่รอดชีวิตจากสูตร ½ MS ที่เติม mannitol 60 กรัม/ลิตร ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร พบว่า ชิ้นส่วนสามารถเกิดการพัฒนายอดได้ปกติ (ภาพ 5F)

ตาราง 4 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหาร น้ำตาลทราย และ mannitol ต่อรอดชีวิต ความสูงเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย ของต้นรักในสภาพปลอดเชื้อ หลังการเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

อาหาร	ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโต		
	การรอดชีวิต (%)	ความสูงเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ซม.)
½ MS + น้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร	87.5	7.4 ± 0.54c	11.2 ± 3.70c
½ MS + น้ำตาลทราย 60 กรัม/ลิตร	37.5	5.5 ± 4.02b	2.80 ± 3.89ab
½ MS + mannitol 30 กรัม/ลิตร	0.0	NA	NA
½ MS + mannitol 60 กรัม/ลิตร	12.5	0.50 ± 0.22a	1.0 ± 0.44ab
MS + น้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร (ชุดควบคุม)	62.5	5.4 ± 2.53b	7.0 ± 4.35c

* ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ในคอลัมเดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ วิเคราะห์โดย DMRT



ภาพ 5 การเจริญเติบโตของต้นรักบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (A) ½ MS + น้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร (B) ½ MS + น้ำตาลทราย 60 กรัม/ลิตร (C) ½ MS + mannitol 30 กรัม/ลิตร (D) ½ MS + mannitol 60 กรัม/ลิตร (E) ½ MS + น้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร (ชุดควบคุม) และ (F) ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนสูตร ½ MS ที่เติม mannitol 60 กรัม/ลิตร 8 สัปดาห์ ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร อายุได้ 3 สัปดาห์ (สเกล = 1 เซนติเมตร)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจ 2 ครั้ง พบว่า จำนวนต้นรากลดลงอย่างมากในระยะเวลา 8 เดือน และจำนวนต้นเกิดใหม่ยังมีจำนวนต่ำเช่นกัน ถึงแม้ว่าต้นรากจะสามารถเจริญเติบโตในดินที่ไม่สมบูรณ์และแห้งแล้งได้ และสามารถพบตามพื้นที่แห้งแล้งซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพืชชนิดที่มักพบตามไหล่ทางทั่วไป [18] แต่หากมีการตัดทำลายมากขึ้น สามารถส่งผลให้ต้นรากมีจำนวนลดลง และมีโอกาสสูญพันธุ์ได้ในอนาคต เมื่อทำการเพาะเมล็ดต้นรากในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การเติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร เมล็ดมีการงอกและพัฒนาสูงสุด ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโคลิน ในการชักนำเมล็ดให้เกิดการงอกและพัฒนาของเมล็ดได้ [19, 20] โดย BA ยังสามารถชักนำให้มีการเจริญเติบโตได้อีกด้วย เช่นเดียวกับการชักนำเมล็ดบัว และเมล็ดมะตูม [19] [21] อีกทั้งยังส่งเสริมการพัฒนาของยอดให้สูงขึ้นอีกด้วย [22] ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดนั้นจะแตกต่างกัน เช่น เมล็ดมะตูมสามารถงอกในสภาพปลอดเชื้อจนเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับเติม NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร [21] การศึกษาผลของความเข้มข้นของสูตรอาหาร น้ำตาลทราย และ mannitol ต่อการเจริญเติบโตต้นรากในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การเลี้ยงชิ้นส่วนต้นรากบนสูตร ½ MS ที่เติม mannitol 60 กรัม/ลิตร สามารถใช้ในการชะลอการเจริญเติบโตต้นรากในสภาพปลอดเชื้อได้ดีที่สุด โดยไม่มีการพัฒนาด้านความสูง เช่นเดียวกับที่รายงานในการเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้ mannitol ปริมาณ 20 กรัม/ลิตร [23] ส่วนการใช้ความเข้มข้นของสูตรอาหาร ½ MS ร่วมกับการเติมน้ำตาลทรายความเข้มข้นสูง (60 กรัม/ลิตร) สามารถชะลอความสูงของต้นรากได้ ไม่น้อยกว่า 8 สัปดาห์ เช่นเดียวกับที่รายงานในกระพู่สีไทย ซึ่งใช้น้ำตาลทราย 90 กรัม/ลิตร [24] และเมื่อย้ายชิ้นส่วนที่รอดชีวิตไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร ชิ้นส่วนสามารถพัฒนายอดใหม่ได้อีกครั้ง ดังนั้น สามารถใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นรากในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม mannitol 60 กรัม/ลิตร หรือเติมน้ำตาลทราย 60 กรัม/ลิตร ในการรักษาพันธุกรรมของต้นรากในสภาพปลอดเชื้อโดยการลดความถี่ในการเปลี่ยนย้ายเนื้อเยื่อได้ 8 สัปดาห์ อีกทั้งสามารถใช้เนื้อเยื่อต้นรากที่ได้นี้ไปศึกษาการสร้างสารสำคัญต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

1. Amuthapriya, T., Ravichandran, P. (2014). Rapid in vitro shoot multiplication through hypocotyl segment culture in *calotropis gigantea*. *International Journal of Bioassays* 3(11), 3523-3525.
2. Raja, R. R., Kishore, N., Sreenivasulu, M., RasoolBee, S., Nandini, S., Ooha, L., Chaitanya, N. (2016). *Calotropis gigantea*-botanical, pharmacological view. *Journal of Medicinal Plants* 4(2), 87-89.
3. Sarkar, S., Chakraverty, R., Ghosh, A. (2014). *Calotropis Gigantea* Linn.-a complete basket of Indian traditional medicine. *International Journal of Pharmacy Research and Science* 2(1), 7-17.
4. Chan, E. W. C., Sweidan, N. I., Wong, S. K., Chan, H. T. (2017). Cytotoxic Cardenolides from *Calotropis* Species: A Short Review. *Records of Natural Products* 11(4), 334-344.
5. Mishra, P., Yadav, K. S., Gautam, G. (2017). An updated Review on Phytochemistry, Pharmacological activity and Medicinal uses of *Calotropis gigantea* R. Br. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 9(2), 135-138.
6. Dhivya, R., Manimegalai, K. (2013). Preliminary phytochemical screening and GC-MS profiling of ethanolic flower extract of *Calotropis gigantea* Linn.(Apocynaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2(3), 28-32.
7. Luangsuwalai, K., Ariyanonpinyo, S., Subthip, N. (2010). Prolong storage life of crown flower (*Calotropis gigantea*). *Agricultural Science Journal* 41(3/1), 717-720.

8. Chavan, J. J., Kshirsagar, P. R., Pai, S. R., Pawar, N. V. (2018). Micropropagation, metabolite profiling, antioxidant activities and chromatographic determination of bioactive molecules across in vitro conditions and subsequent field cultivation stages of 'Shampoo Ginger' (*Zingiber zerumbet* L. Roscoe ex Sm). *Biocatalysis and agricultural biotechnology* 16, 79-89.
9. Ahmad, N., Rab, A., Ahmad, N. (2016). Light-induced biochemical variations in secondary metabolite production and antioxidant activity in callus cultures of *Stevia rebaudiana* (Bert). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 154, 51-56.
10. Ramirez-Estrada, K., Vidal-Limon, H., Hidalgo, D., Moyano, E., Golenioswki, M., Cusidó, R., Palazon, J. (2016). Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories. *Molecules* 21(2), 182.
11. Grzegorzczuk-Karolak, I., Kuźma, Ł., & Wysokińska, H. (2015). The effect of cytokinins on shoot proliferation, secondary metabolite production and antioxidant potential in shoot cultures of *Scutellaria alpina*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 122(3), 699-708.
12. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15(3), 473-497.
13. Roy, A. T., Koutoulis, A., De, D. N. (2000). Cell suspension culture and plant regeneration in the latex-producing plant, *Calotropis gigantea* (Linn.) R. Br. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63(1), 15-22.
14. El-Bahr, M., El-Hamid, A. A., Matter, M., Shaltout, A., Bekheet, S., El-Ashry, A. (2016). In vitro conservation of embryogenic cultures of date palm using osmotic mediated growth agents. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 14(2), 363-370.
15. Nasiruddin, M., Islam, A. R. (2018). In vitro slow-growth conservation for two genotypes of *Solanum tuberosum* L. *Bangladesh Journal of Botany* 47(3), 369-380.
16. Ghaheri, M., Kahrizi, D., Bahrami, G. (2015). Effect of mannitol on some morphological characteristics of in vitro *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Biharian Biol* 11(2), 94-97.
17. Department of Marine and Coastal Resources. (2006). Solution in coastal erosion by bamboo revetment. Department of Marine and Coastal Resources. Bangkok. p. 44.
18. Boche, M., Thorat, M., Hajare, S., Mehesare, S., Ingole, R. (2017). Clinical Evaluation of *Calotropis Gigantea* and *Balanites Aegyptiaca* on Wound Healing in Bovine. *Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology* 12(4), 27-29.
19. Nikolić, R., Mitić, N., Miletić, R., Nešković, M. (2006). Effects of Cytokinins on In Vitro Seed Germination and Early Seedling Morphogenesis in *Lotus corniculatus* L. *Journal of Plant Growth Regulation* 25(3), 187-194.
20. Villedieu-Percheron, E., Lachia, M., Jung, P. M., Screpanti, C., Fonné-Pfister, R., Wendeborn, S., Zurwerra, D., De Mesmaeker, A. (2014). Chemicals inducing seed germination and early seedling development. *CHIMIA International Journal for Chemistry* 68(9), 654-663.
21. Hanchana, K., Saensouk, P., & Saensouk, S. (2014). Tissue culture of bael fruit tree (*Aegle marmelos* Correa.). *KKU Research Journal*, 19(4), 585-595.
22. Singh, C., Raj, S. R., Jaiswal, P., Patil, V., Punwar, B., Chavda, J., Subhash, N. (2016). Effect of plant growth regulators on in vitro plant regeneration of sandalwood (*Santalum album* L.) via organogenesis. *Agroforestry systems* 90(2), 281-288.
23. Charoensub, R., Phansiri, S. J. K. J. (2004). In vitro conservation of Rose coloured leadwort: Effect of mannitol on growth of plantlets. *Kasetsart Journal (Natural Science)* 38(5), 97-102.
24. Jewruttanasakul, V., Charoenwattana, P. (2014). In vitro conservation of bat flower (*Tacca chantrieri* Andre) through minimal growth. *Khon Kaen Agricultural Research* 42, 562-566.

ความสัมพันธ์ของความมากชนิดและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ในชนิดของถิ่นที่อยู่ที่แตกต่างกัน

วรรณพร เอี่ยมศรี¹, ณรงค์ วงศ์กันทรากร¹, เอกพันธ์ ไกรจักร^{1*}

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ของความมากชนิดและองค์ประกอบชนิดไบรโอไฟต์ในแต่ละชนิดของถิ่นที่อยู่ของแปลงถาวรเขาช่องเพื่อการศึกษานิเวศระยะยาว จังหวัดตรัง โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแบ่งชนิดของถิ่นที่อยู่ โดยใช้การวิเคราะห์จัดกลุ่มจากข้อมูลของระดับความสูง ความลาดชัน ความโค้ง และพื้นที่หน้าตัดไม้ต้นสามารถแบ่งชนิดของถิ่นที่อยู่ได้ 4 พื้นที่ ได้แก่ หุบเขา ลาดชัน ใต้สันเขา และ สันเขา โดยทั้ง 4 พื้นที่ได้ทำการสุ่มวางแปลงขนาด 10×10 ตารางเมตร โดยแต่ละแปลงทำการเก็บตัวอย่างของไบรโอไฟต์จากทุกพื้นผิว ได้แก่ เปลือกไม้ หิน ดิน ซากไม้ ใบไม้ และ เถาวัลย์ ตัวอย่างที่ได้จากการเก็บภาคสนามนำมาระบุชนิด พบไบรโอไฟต์ทั้งหมด 77 ชนิดจัดอยู่ใน 42 สกุล 24 วงศ์ จัดเป็นมอสส์ 49 ชนิด ลิเวอร์เวิร์ต 27 ชนิด และฮอร์นเวิร์ต 1 ชนิด จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าทั้ง 4 พื้นที่พบจำนวนชนิดของมอสส์มากที่สุด ทัลลอยด์ลิเวอร์เวิร์ตและฮอร์นเวิร์ตพบเฉพาะในพื้นที่หุบเขาเท่านั้น อย่างไรก็ตามความมากชนิดและองค์ประกอบชนิดระหว่างชนิดของถิ่นที่อยู่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ: ไบรโอไฟต์, ภูมิภาค, ชนิดถิ่นที่อยู่, ความหลากหลาย

¹ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: ekaphan.k@ku.th

Associations of Species Richness and Composition of Bryophytes to Different Habitat Types

Wannaporn Eiamsri¹, Narong Wongkantrakorn¹, Ekaphan Kraichak^{1*}

Abstract

The goal of this study was to find associations of species richness and composition of bryophytes with different habitat types in Khao Chong Forest Dynamic Plot, Trang Province. The plot was divided into 4 habitat types, based on the cluster analysis of elevation, slope, convexity and basal area. The four habitats included valley, slope, below-ridge and ridge. In each habitat type, ten random plots of 10×10 square meters were chosen. In each sampling plot, the samples of bryophytes were collected from various substrates, including trees, rock, soil, logs, leaves, and lianas. The samples were identified to the species level. A total of 77 species, belonging to 42 genera, and 24 families of bryophytes were found. This included 49 species of mosses, 27 species of liverworts, and 1 species of hornworts. In all four habitat types, the number of moss species was higher than liverworts, and thalloid liverworts and hornworts only occurred in the valley. However, there was no significant difference in species richness and composition among the four habitat types.

Keywords: Bryophyte, Diversity, Habitat Type, Topography

¹Department of Botany, Kasetsart University, 50 Ngamwongwan Road, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900 Thailand

*Corresponding author, e-mail: ekaphan.k@ku.th

บทนำ

ไบรโอไฟต์เป็นพืชไม่มีท่อลำเลียง แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ มอสส์ ลิเวอร์เวิร์ต และฮอร์นเวิร์ต ทั่วโลกมีรายงานไว้มากกว่า 15,000 ชนิด [1] แม้ว่าไบรโอไฟต์เป็นพืชขนาดเล็ก แต่ก็เป็นส่วนหนึ่งของความหลากหลายทางชีวภาพของโลก และมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศในหลายๆ ด้าน [2] ความหลากหลายและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์มักจะสอดคล้องกับความหลากหลายของที่อยู่อาศัย โดยที่ความหลากหลายของชนิดของถิ่นที่อยู่ (habitat type) ที่มากขึ้นจะส่งผลให้จำนวนชนิดของไบรโอไฟต์มากขึ้นไปด้วย [3, 4] ซึ่งผลของชนิดของถิ่นอาศัยนี้ได้รับการศึกษามากมายต่อเนื่องในไบรโอไฟต์ในเขตอบอุ่นเพราะเป็นเขตที่มีปริมาณชีวมวลของไบรโอไฟต์สูงและพืชที่มีความโดดเด่นในหลายระบบนิเวศในเขตอบอุ่น [5–8]

ป่าฝนเขตร้อน (tropical rainforest) เป็นบริเวณที่มีความหลากหลายของไบรโอไฟต์สูงแห่งหนึ่ง โดยมีจำนวนชนิดประมาณ 25-30% ของไบรโอไฟต์ที่พบทั่วโลก และไบรโอไฟต์ที่พบในป่าฝนเขตร้อนของเอเชียมีความหลากหลายของสกุลและวงศ์มากกว่าในป่าฝนเขตร้อนของอเมริกาและแอฟริกา [9] โดยรายงานว่าไบรโอไฟต์ในป่าฝนเขตร้อนมักมีความสัมพันธ์กับความชื้นในอากาศและปริมาณน้ำฝน [10] ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับลักษณะภูมิประเทศ (topography) เช่น ระดับความสูง ความลาดชัน และทิศด้านลาด [11, 12] สำหรับประเทศไทย มีการศึกษาเกี่ยวกับผลของความสูงจากระดับทะเลและสภาพพื้นที่ต่อจำนวนชนิดและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ในบางพื้นที่ของประเทศไทย [13, 14] แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาความสัมพันธ์ของชนิดของถิ่นที่อยู่ตามลักษณะภูมิประเทศกับความมากมายชนิดและองค์ประกอบของไบรโอไฟต์ในแต่ละพื้นที่

ดังนั้นในการศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางภูมิประเทศกับจำนวนชนิดและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ในบริเวณพื้นที่แปลงถาวรเพื่อการศึกษาพลวัตของป่า เขาช่อง (Khao Chong Forest Dynamics Plot) จังหวัดตรัง เนื่องจากมีข้อมูลพื้นฐานทั้งด้านไม้ยืนต้นและลักษณะทางภูมิประเทศโดยละเอียด [15] โดยได้นำลักษณะภูมิประเทศต่างๆ รวมถึงพื้นที่หน้าตัดของไม้ต้น (basal area) มาใช้ในการจัดจำแนกพื้นที่ตามชนิดของถิ่นที่อยู่ และสำรวจจำนวนและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ในแต่ละพื้นที่ โดยมีสมมติฐานว่าชนิดของถิ่นที่อยู่ที่แตกต่างกันจะส่งผลให้มีความมากมายชนิดและองค์ประกอบชนิดแตกต่างกันออกไป

วิธีการศึกษา

พื้นที่ศึกษา

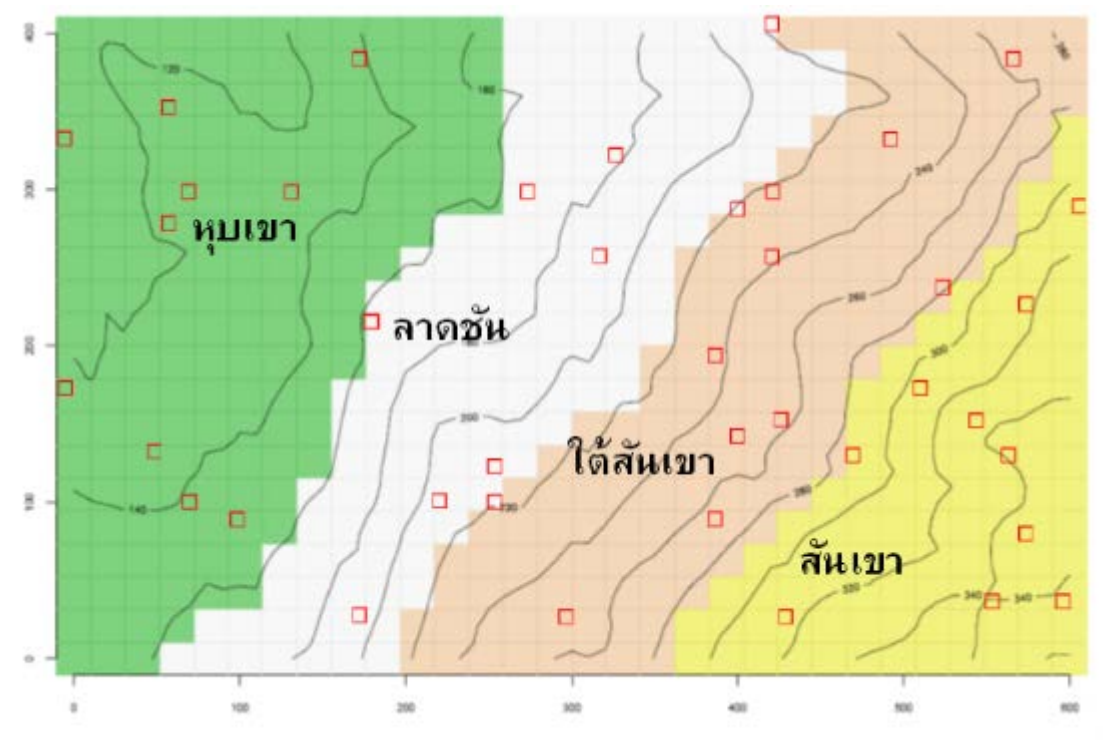
พื้นที่แปลงถาวรเพื่อการศึกษาพลวัตป่าไม้ เขาช่อง ตำบลช่อง อำเภอเมือง จังหวัดตรัง มีพื้นที่ทั้งหมด 24 เฮกแตร์ มีไม้ยืนต้นที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 1 เซนติเมตร จำนวน 151,910 ต้น จากประมาณ 665 ชนิด ที่มีการติดตามการเติบโตรายต้นมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 จนถึงปัจจุบัน [15]

การศึกษานี้แบ่งพื้นที่ศึกษาออกเป็น 4 ชนิดที่อยู่ (habitat types) ได้แก่ หุบเขา ลาดชัน ใต้สันเขา และ สันเขา ด้วยเทคนิค k-means clustering [16] ด้วยฟังก์ชัน “kmeans” ในโปรแกรม R เวอร์ชัน 3.5.1 [17] โดยใช้ข้อมูลของระดับความสูง (elevation) ความลาดชัน (slope) ความโค้ง (convexity) และพื้นที่หน้าตัดของไม้ต้นในแต่ละแปลงย่อย 10×10 ตารางเมตร เป็นข้อมูลในการแบ่ง ซึ่งสอดคล้องกับวิธีการแบ่งชนิดของถิ่นที่อยู่ในการศึกษาก่อนหน้านี้ [18] ที่ใช้ข้อมูลในลักษณะเดียวกันในการแบ่งชนิดของถิ่นที่อยู่ เนื่องจากการแบ่งที่ใช้สภาพภูมิประเทศหลายตัวแปรประกอบกัน สะท้อนถึงความแตกต่างในพื้นที่ทั้งในด้านธาตุอาหารในดินและองค์ประกอบของไม้ต้นในแต่ละพื้นที่ (ภาพ 1, ตาราง 1) โดยแต่ละชนิดของถิ่นที่อยู่มีลักษณะสำคัญที่แตกต่างกันดังนี้

พื้นที่หุบเขา (valley) มีความสูงจากระดับทะเลและความความลาดชันน้อยที่สุด เป็นบริเวณที่ต้นไม้ใหญ่จำนวนมากและลำธารลัดเลาะไหลผ่านสลัการโขดหิน จึงมีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำกว่าและมีความชื้นสูงกว่าเมื่อเทียบกับชนิดอื่น ๆ อีกทั้งมีลักษณะพื้นผิว (substrate) ที่หลากหลายกว่าด้วย

พื้นที่ลาดชัน (slope) และ พื้นที่ใต้สันเขา (below-ridge) มีลักษณะใกล้เคียงกัน กล่าวคือ เป็นพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับทะเลปานกลางในพื้นที่ศึกษา แต่มีความลาดชันมาก ต้นไม้ที่ปกคลุมเป็นต้นไม้ขนาดเล็กกว่าบริเวณอื่น ๆ อุณหภูมิสูงและความชื้นต่ำ ความแตกต่างคือบริเวณพื้นที่ลาดชันมีปริมาณซากใบไม้ (litter fall) ปกคลุมหนากว่าบริเวณพื้นที่ใต้สันเขาที่มักพบพื้นที่ที่ถูกรบกวนด้วยการไหลของดิน (landslide) สลับกับบริเวณที่ปกคลุมด้วยซากใบไม้ มีปริมาณแสงมากกว่าบริเวณหุบเขาและสันเขาเนื่องจากความสูงและการปกคลุมของเรือนยอดที่น้อยกว่า

พื้นที่สันเขา (ridge) เป็นพื้นที่ที่มีความสูงที่สุด มีความลาดชันมากในบางบริเวณ อุณหภูมิไม่สูงเท่าบริเวณที่ลาดชันและสันเขาเนื่องจากมีลมพัดผ่านและการปกคลุมเรือนยอดที่สูงกว่า ความชื้นต่ำเนื่องจากไม่มีแหล่งน้ำธรรมชาติไหลผ่านในบริเวณนี้ ปริมาณแสงส่องถึงสูงกว่าบริเวณหุบเขา เนื่องจากต้นไม้ในถิ่นอาศัยนี้มีขนาดใหญ่ ขึ้นอยู่ห่างกันทำให้มีช่องว่างระหว่างต้นไม้ให้แสงส่องลงมาได้ถึงมากกว่า



ภาพ 1 พื้นที่ทั้ง 4 ตามลักษณะถิ่นที่อยู่อาศัยในแปลงศึกษานิเวศวิทยาระยะยาว

ตาราง 1 ค่าเฉลี่ยของระดับความสูง (elevation) ความโค้ง (convexity) ความลาดชัน (slope) และพื้นที่หน้าตัด (basal area) ของไม้ต้นในแต่ละแปลง 10x10 ตารางเมตร ที่ถูกจำแนกไปอยู่ในแต่ละพื้นที่ตามวิธี k-means clustering

ชนิดของถิ่นที่อยู่ (habitat type)	ระดับความสูง (elevation)	ความโค้ง (convexity)	ความลาดชัน (slope)	พื้นที่หน้าตัด (basal area)
หุบเขา	136.24	-0.35	16.87	1.49
ลาดชัน	187.38	-0.27	24.98	1.26
ได้สันเขา	245.70	-0.39	28.60	1.25
สันเขา	316.90	0.57	29.79	1.53

การเก็บตัวอย่างและการระบุชนิด

ในแต่ละพื้นที่วางแปลงย่อยขนาด 10×10 ตารางเมตร จำนวน 10 แปลง เพื่อเป็นตัวแทนของพื้นที่นั้น ๆ โดยใช้การสุ่มจากแปลงย่อยขนาด 10 x 10 ตารางเมตร ที่มีอยู่แล้วจำนวน 600 แปลงจากการกำหนดพื้นที่ของแปลงถาวรเพื่อการศึกษาพลวัตของป่าไม้ เพื่อที่จะใช้สามารถเชื่อมโยงกับข้อมูลความสูง ความชัน ของพื้นที่และข้อมูลประชากรไม้ต้นที่มีการเก็บข้อมูลมาอย่างต่อเนื่องกว่า 20 ปี [18] ในแต่ละแปลงย่อย 10×10 ตารางเมตร มีการเก็บตัวอย่างของไบรโอไฟต์จากพื้นผิว (substrate) ต่างๆ ได้แก่ เปลือกไม้ หิน ดิน ซากไม้ ใบไม้ และเถาวัลย์ เพื่อให้ครอบคลุมถิ่นอาศัยย่อยทั้งหมดของไบรโอไฟต์ตามหลักการเก็บตัวอย่างแบบพรรณพฤกษชาติ (floristic sampling) [19] โดยตัวอย่างไบรโอไฟต์ในกลุ่มมอสส์ที่ถูกเก็บมาจากภาคสนามจะนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อรักษาสภาพและจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้ง ส่วนที่เหลือที่เป็น ทัลลอยด์ลิเวอร์เวิร์ตและฮอร์นเวิร์ตนำไประบุชนิดก่อนนำไปอบ เพื่อไม่ให้สูญเสียลักษณะทั่วไปบางอย่างที่จำเป็นต่อการระบุชนิด เช่น ลักษณะของหยดน้ำมัน (oil body) และจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์

หลังจากนั้นนำตัวอย่างแห้งไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบเพื่อทำการระบุชนิด โดยใช้คู่มือ Guide to the Liverworts and Hornworts of Java [20] และ Mosses of the Philippines [21] เป็นเอกสารหลักในการระบุสกุลประกอบกับเอกสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องเพื่อระบุชนิดในแต่ละสกุล ชื่อวิทยาศาสตร์และการจัดจำแนกตามสกุลและวงศ์ยึดตามการจำแนกของ Goffinet & Buck [22] สำหรับมอสส์ และ Söderström et al. [23] สำหรับลิเวอร์เวิร์ตและฮอร์นเวิร์ต

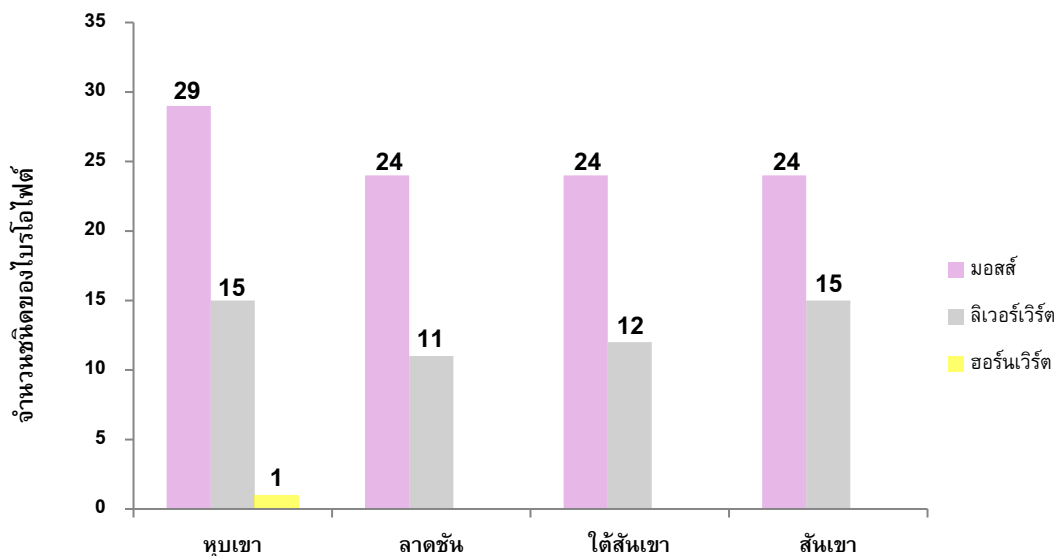
การวิเคราะห์ทางสถิติ

เพื่อเปรียบเทียบจำนวนชนิดของไบรโอไฟต์ที่พบในแต่ละแปลงย่อยในแต่ละพื้นที่ การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ของจำนวนชนิด กำหนดให้ $P \leq 0.05$ เป็นระดับที่บ่งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และวิเคราะห์ความแตกต่างขององค์ประกอบชนิดด้วย hierarchical clustering analysis ด้วยวิธี complete linkage และระยะห่าง (distance) แบบ Jaccard ซึ่งมีความเหมาะสมกับข้อมูลแบบพบหรือไม่พบ (presence/absence) [24] การวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม R เวอร์ชัน 3.5.1 [17]

ผลการศึกษา

ความหลากหลายชนิด (Species Richness)

จากการศึกษาไบรโอไฟต์ในแปลงศึกษานิเวศระยะยาวเขาช่อง จังหวัดตรัง พบไบรโอไฟต์ทั้งหมด 77 ชนิด จัดอยู่ใน 42 สกุล 24 วงศ์ โดยในพื้นที่หุบเขาพบ 45 ชนิด (มอสส์ 29 ชนิด ลิเวอร์เวิร์ต 15 ชนิด ฮอว์นเวิร์ต 1 ชนิด) พื้นที่ลาดชันพบ 35 ชนิด (มอสส์ 24 ชนิด ลิเวอร์เวิร์ต 11 ชนิด) พื้นที่ไต่สันเขาพบ 36 ชนิด (มอสส์ 24 ชนิด ลิเวอร์เวิร์ต 12 ชนิด) และพื้นที่สันเขาพบ 39 ชนิด (มอสส์ 24 ชนิด ลิเวอร์เวิร์ต 15 ชนิด) ซึ่งในทุกพื้นที่มีจำนวนชนิดของมอสส์มากกว่าลิเวอร์เวิร์ต และพบฮอว์นเวิร์ตเฉพาะพื้นที่หุบเขาเท่านั้น (ภาพ 2, ตาราง 2)



ภาพ 2 จำนวนชนิดของมอสส์ ลิเวอร์เวิร์ต และฮอว์นเวิร์ต ใน 4 พื้นที่ตามชนิดของดินที่อยู่

จากการเปรียบเทียบจำนวนชนิดของไบรโอไฟต์ต่อแปลงในแต่ละพื้นที่ พบว่า พื้นที่หุบเขาพบ 7-18 ชนิด มีค่ากลางเท่ากับ 12.5 ชนิด เฉลี่ย 12 ชนิดต่อแปลง พื้นที่ลาดชันพบ 3-17 ชนิด มีค่ากลางเท่ากับ 6.5 ชนิด เฉลี่ย 8 ชนิดต่อแปลง พื้นที่ไต่สันเขาพบ 5-17 ชนิด มีค่ากลางเท่ากับ 10 ชนิด เฉลี่ย 10 ชนิดต่อแปลง และพื้นที่สันเขาพบ 3-17 ชนิด มีค่ากลางเท่ากับ 9 ชนิด เฉลี่ย 9 ชนิดต่อแปลง จำนวนชนิดของไบรโอไฟต์ที่พบระหว่างพื้นที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ANOVA, $P=0.2773$, ภาพ 3)

เมื่อจำแนกตามลำดับทางอนุกรมวิธาน พบว่า พื้นที่หุบเขามี 45 ชนิด 31 สกุล 20 วงศ์ พื้นที่ลาดชันมี 35 ชนิด 21 สกุล 11 วงศ์ พื้นที่ไต่สันเขามี 36 ชนิด 21 สกุล 13 วงศ์ และพื้นที่สันเขามี 39 ชนิด 23 สกุล 13 วงศ์ (ภาพ 4)

ตาราง 2 บัญชีรายชื่อของไบรโอไฟต์ที่พบบนพื้นที่และพื้นผิวที่ขึ้นในแปลงศึกษาพลัดป่าไม่เขาช่อง จังหวัดตรัง

กลุ่ม	วงศ์	ชนิด	พื้นที่ (habitat type)				พื้นผิวที่ขึ้น (substrate)					
			หุบเขา	ลาดชัน	ใต้ส่น เขา	สันเขา	เปลือกไม้	หิน	เถาว์วัลย์	ขอนไม้	ดิน	ใบไม้
มอสส์	Bartramiaceae	<i>Philonotis roylei</i> (Hook.f) Mitt.			X		X	X				
	Calymperaceae	<i>Arthrocnemum schimperii</i> (Dozy & Molk.) Dozy & Molk.	X				X					
		<i>Calymperes afzelii</i> Sw.		X	X		X			X		
		<i>Calymperes dozyanum</i> Mitt.	X				X	X				
		<i>Calymperes graeffeanum</i> Müll.		X	X		X	X				
		<i>Calymperes lonchophyllum</i> Schwägr.	X				X					
		<i>Calymperes moluccense</i> Schwägr.	X	X	X		X			X		
		<i>Calymperes tahitense</i> (Sull.) Mitt.	X				X		X	X		
		<i>Calymperes tenerum</i> Müll	X			X	X			X		
		<i>Exostratum blumei</i> (Nee ex Hampe) L.T. Ellis	X				X					
		<i>Leucophanes octoblepharioides</i> Brid.	X	X		X	X	X		X		
		<i>Mitthyridium cf. flavum</i> (C. Müll.) H.Rob.		X			X					
		<i>Mitthyridium repens</i> (Harv.) H.Rob.	X	X		X	X					
		<i>Octoblepharum albidum</i> Hedw.	X				X					
		<i>Syrrhopodon albovaginatus</i> Schwägr.	X	X		X	X			X		
		<i>Syrrhopodon croceus</i> Mitt.	X				X					
	Diphysciaceae	<i>Diphyscium mucronifolium</i> Mitt.				X		X				
	Erpodiaceae	<i>Erpodium mangiferae</i> Müll. Hal.				X				X		
	Fissidentaceae	<i>Fissidens anomalus</i> Mont.		X		X	X				X	
		<i>Fissidens flabellulus</i> Thwait. & Mitt.	X	X	X	X		X		X		

ตาราง 2 บัญชีรายชื่อของไบรโอไฟต์ที่พบบนพื้นที่และพื้นผิวที่ขึ้นในแปลงศึกษาพลวัตป่าไม้เขาช่อง จังหวัดตรัง (ต่อ)

กลุ่ม	วงศ์	ชนิด	พื้นที่ (habitat type)				พื้นผิวที่ขึ้น (substrate)						
			หุบเขา	ลาดชัน	ใต้ส่น เขา	ส่นเขา	เปลือกไม้	หิน	เถาวัลย์	ขอนไม้	ดิน	ใบไม้	
มอสส์	Fissidentaceae	<i>Fissidens flaccidus</i> Mitt.	X	X								X	
		<i>Fissidens gardneri</i> Mitt.				X		X		X			
		<i>Fissidens hollianus</i> Dozy & Molk.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
		<i>Fissidens javanicus</i> Dozy & Molk.	X	X	X	X		X					
		<i>Fissidens serratus</i> Müller Hal.		X	X	X	X				X		
		<i>Fissidens zollingeri</i> Mont.		X	X						X	X	
	Funariaceae	<i>Entosthodon physcomitrioides</i> (Mont.) Mitt.				X						X	
	Hypnaceae	<i>Bryocrumia</i> sp.		X	X			X					
		<i>Ectropothecium cf. falciforme</i> (Dozy & Molk.) Jaeger	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
		<i>Taxiphyllum taxirameum</i> (Mitt.) Fleisch			X			X					
		<i>Vesicularia montagnei</i> (Schimp.) Broth.			X			X			X		
		<i>Vesicularia reticulata</i> (Dozy & Molk) Broth.				X		X					
	Meteoriaceae	<i>Papillaria</i> sp.	X	X	X	X	X	X					
	Mniaceae	<i>Plagiomnium succulentum</i> (Mitt.) T.J. Kop.	X		X			X					
	Neckeraceae	<i>Homaliodendron exiguum</i> (Bosch & Sande Lac.) M. Fleisch.	X	X	X	X	X	X					
		<i>Pinnatella microptera</i> (C.M.) Fleisch.		X	X		X						
	Orthotrichaceae	<i>Macromitrium tylostomum</i> Mitt.	X	X							X		
	Pilotrichaceae	<i>Callicostella papilata</i> (Mont.)	X		X	X					X		
	Pylaisiadelphaceae	<i>Taxithelium alare</i> Broth.			X	X		X			X		
		<i>Taxithelium bakeri</i> Broth.			X	X		X			X		

ตาราง 2 บัญชีรายชื่อของไบรโอไฟต์ที่พบบนพื้นไม้และพื้นผิวที่ขึ้นในแปลงศึกษาพลวัตป่าไม้เขาช่อง จังหวัดตรัง (ต่อ2)

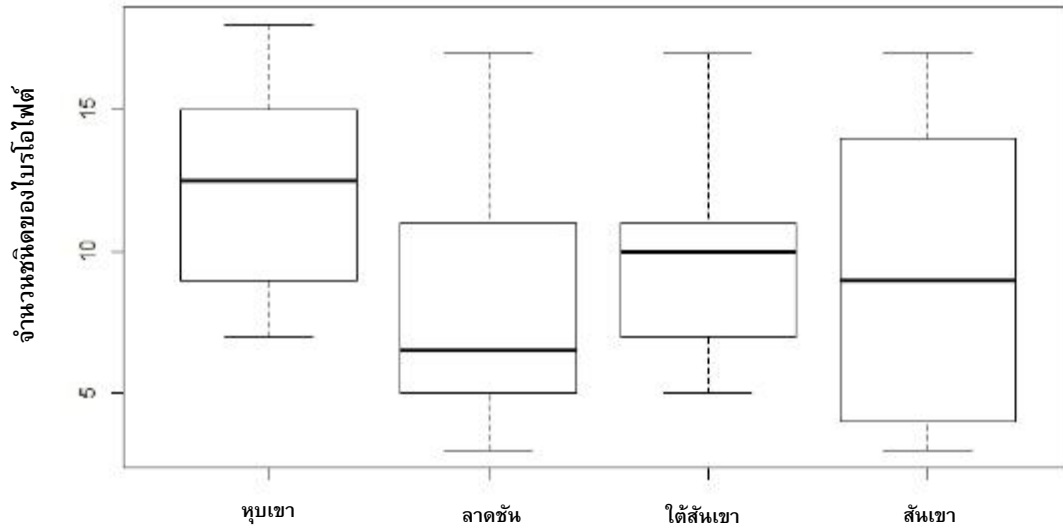
กลุ่ม	วงศ์	ชนิด	พื้นที่ (habitat type)				พื้นผิวที่ขึ้น (substrate)					
			หุบเขา	ลาดชัน	ใต้สน เขา	สันเขา	เปลือกไม้	หิน	เถาวัลย์	ขอนไม้	ดิน	ใบไม้
มอสส์	Pylaisiadelphaceae	<i>Taxithelium gottscheanum</i> (Hampe ex Müll. Hal.) Broth.	X	X	X	X	X	X		X	X	
	Sematophyllaceae	<i>Acanthorrhynchium papilalum</i> (Harv.) M. Fleisch.	X	X			X			X		
		<i>Trichosteleum boschii</i> (Dozy&Molk.)				X				X		
		<i>Trichosteleum saproxylophilum</i> (Müll. Hal.) Tan, Schofield & Ramsay				X		X				
	Symphiodontaceae	<i>Symphiodon pygmaeus</i> (Broth.) S.He & Snider	X						X			
	Thuidiaceae	<i>Pelekium investe</i> (Mitt.) A. Touw	X	X	X				X			
		<i>Thuidium cf.contortulum</i> (Mitt.)	X		X				X			
		<i>Thuidium cymbifolium</i> (Dozy & Molk.)	X						X		X	
		<i>Thuidium plumulosum</i> (Dozy & Molk.)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	ลิเวอร์เวิร์ด	Aneuraceae	<i>Riccardia graeffei</i> (Steph.) Hewson.	X						X		X
Dumortieraceae		<i>Dumortiera hirsuta</i> (Sw.) Nees	X						X			
Frullaniaceae		<i>Frullania sinuata</i> Sande Lac.	X				X					
Lejeuneaceae		<i>Acrolejeunea fertilis</i> (Reinw. et.al.) Schiffn.	X				X					
		<i>Cololejeunea cf.ficilis</i> (Herzog) Piippo				X					X	
		<i>Cololejeunea floccosa</i> (Lehm. & Lindenb.)	X	X		X	X					
		<i>Cololejeunea goebelii</i> (Gottsche ex K.I. Goebel) Schiffn.			X							X
		<i>Cololejeunea grossepapilosa</i> (Horik.) N. Kitag.		X			X					

ตาราง 2 บัญชีรายชื่อของไมรโอไฟต์ที่พบบนพื้นที่และพื้นผิวที่ขึ้นในแปลงศึกษาพลัดป่าไม้เขาช่อง จังหวัดตรัง (ต่อ3)

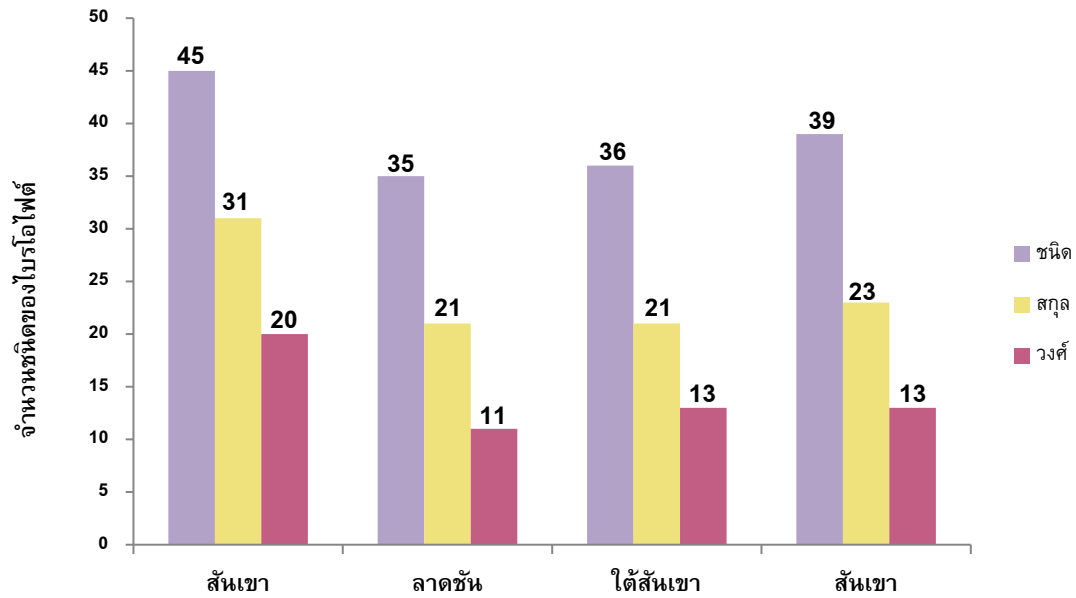
กลุ่ม	วงศ์	ชนิด	พื้นที่ (habitat type)				พื้นผิวที่ขึ้น (substrate)						
			หุบเขา	ลาดชัน	ใต้ส่น เขา	สันเขา	เปลือกไม้	หิน	เถาว์วัลย์	ขอนไม้	ดิน	ใบไม้	
ลิเวอร์เวิร์ต	Lejeuneaceae	<i>Cololejeunea lanciloba</i> Steph.	X	X	X	X			X			X	
		<i>Cololejeunea lignicola</i> Tixier		X	X	X				X		X	
		<i>Cololejeunea planissima</i> (Mitt.) Abeyw.		X	X	X	X					X	
		<i>Cololejeunea spinosa</i> (Horik.) Pandé & R.N. Misra			X	X				X			
		<i>Cololejeunea tenella</i> Benedix.			X							X	
		<i>Drepanolejeunea angustifolia</i> (Mitt) Grolle.		X		X	X						
		<i>Lejeunea anisophylla</i> Mont.	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
		<i>Lejeunea cocoes</i> Mitt.	X			X	X						
		<i>Lejeunea papilionacea</i> Steph.				X	X						
		<i>Lopholejeunea eulopha</i> (Taylor) Steph.	X	X			X				X		
		<i>Lopholejeunea subfusca</i> (Nees) Schiffn.			X	X	X						
		<i>Mastigolejeunea humilis</i> (Gottsche) Schiffn.			X						X		
		<i>Mastigolejeunea repleta</i> (Taylor) A.Evans				X					X		
		<i>Microlejeunea punctiformis</i> (Taylor) Steph.	X	X		X	X						

ตาราง 2 บัญชีรายชื่อของไบรโอไฟต์ที่พบบนพื้นที่และพื้นผิวที่ขึ้นในแปลงศึกษาพลวัตป่าไม้เขาช่อง จังหวัดตรัง (ต่อ4)

กลุ่ม	วงศ์	ชนิด	พื้นที่ (habitat type)				พื้นผิวที่ขึ้น (substrate)					
			หุบเขา	ลาดชัน	ใต้ส่น เขา	ส่นเขา	เปลือกไม้	หิน	เถาววัลย์	ขอนไม้	ดิน	ใบไม้
ลิเวอร์เวิร์ด	Lophocoleaceae	<i>Heteroscyphus argutus</i> (Nees) Schiffn.	X	X	X	X		X		X		
		<i>Heteroscyphus coalitus</i> (Hook.) Schiffn.	X	X	X	X	X	X		X		
	Pallaviciniaceae	<i>Pallavicinia lyellii</i> (Hook.)	X					X				
	Radulaceae	<i>Radula anceps</i> Sande-Lac.	X		X		X	X				
		<i>Radula javanica</i> Gottsche.	X				X					
ฮอร์นเวิร์ด	Anthocerotaceae	<i>Megaceros flagellaris</i> (Mitt.) Steph.	X					X				



ภาพ 3 การกระจายของจำนวนชนิดของไบรโอไฟต์ต่อแปลงย่อยในแต่ละชนิดของถิ่นที่อยู่



ภาพ 4 จำนวนชนิด สกุล และวงศ์ ของไบรโอไฟต์ที่พบใน 4 พื้นที่

องค์ประกอบชนิด (Species composition)

จากการศึกษาจำนวนชนิดของไบรโอไฟต์ในแต่ละพื้นที่ พบว่ามีทั้งหมด 12 ชนิด ที่พบทั้ง 4 พื้นที่ พบเฉพาะพื้นที่ หุบเขา 16 ชนิด พื้นที่หุบเขาและพื้นที่ลาดชัน 4 ชนิด พื้นที่หุบเขาและใต้ส้นเขา 3 ชนิด พื้นที่หุบเขา พื้นที่ลาดชัน และ พื้นที่ใต้ส้นเขา 2 ชนิด พื้นที่หุบเขา พื้นที่ลาดชันและพื้นที่ส้นเขา 5 ชนิด พื้นที่ลาดชัน 2 ชนิด พื้นที่ลาดชันและส้นเขา 2 ชนิด พื้นที่ใต้ส้นเขา 6 ชนิด พื้นที่ใต้ส้นเขาและพื้นที่ส้นเขา 4 ชนิด พื้นที่ส้นเขา 10 ชนิด (ภาพ 5) โดยมีชนิดเด่นและชนิดที่ พบเฉพาะในแต่ละพื้นที่ดังนี้

ชนิดเด่นที่พบในพื้นที่หุบเขา ได้แก่ *Calymperes tahitense*, *Ectropothecium cf. falciforme*, *Fissidens hollianus*, *Homaliodendron exiguum*, *Lopholejeunea eulopha*, *Papillaria* sp. และ *Taxithelium gottscheanum*

ชนิดเด่นที่พบในพื้นที่ลาดชัน ได้แก่ *Fissidens flabellulus*, *Heteroscyphus coalitus*, *Papillaria* sp., *Taxithelium gottscheanum* และ *Thuidium plumulosum*

ชนิดเด่นที่พบในพื้นที่ใต้ส้นเขา ได้แก่ *Ectropothecium cf. falciforme*, *Fissidens hollianus*, *Fissidens javanicus*, *Heteroscyphus argutus*, *Heteroscyphus coalitus*, *Papillaria* sp., *Taxithelium gottscheanum* และ *Thuidium plumulosum*

ชนิดเด่นที่พบในพื้นที่ส้นเขา ได้แก่ *Ectropothecium cf. falciforme*, *Fissidens hollianus*, *Papillaria* sp., *Taxithelium alare*, *Taxithelium bakeri* และ *Taxithelium gottscheanum*

ชนิดที่พบเฉพาะพื้นที่หุบเขา ได้แก่ *Acrolejeunea fertilis*, *Arthrocomus shimperi*, *Calymperes dozyanum*, *Calymperes lonchophyllum*, *Calymperes tahitense*, *Dumortiera hirsuta*, *Frullania sinuata*, *Megaceros flagellaris*, *Octoblepharum albidum*, *Pallavicinia lyellii*, *Radula javanica*, *Riccardia graeffei*, *Symphiodon pygmaeus*, *Thuidium cymbifolium*, *Syrrophodon croceus* และ *Exostratum blumei*

ชนิดที่พบเฉพาะพื้นที่ลาดชัน ได้แก่ *Cololejeunea grossepapilosa* และ *Mitthyridium cf. flavum*

ชนิดที่พบเฉพาะพื้นที่ใต้ส้นเขา ได้แก่ *Cololejeunea tenella*, *Mastigolejeunea humilis*, *Philonotis roylei*, *Taxiphyllum taxirameum*, *Vesicularia montagnei* และ *Cololejeunea goebelii*

ชนิดที่พบเฉพาะพื้นที่ส้นเขา ได้แก่ *Diphyscium mucronifolium*, *Entosthodon physcomitriodes*, *Erpodium mangiferae*, *Fissidens gardneri*, *Lejeunea papilionacea*, *Mastigolejeunea repleta*, *Trichosteleum boschii*, *Trichosteleum sapraxylophilum*, *Vesicularia reticulata* และ *Cololejeunea cf. ficilis*

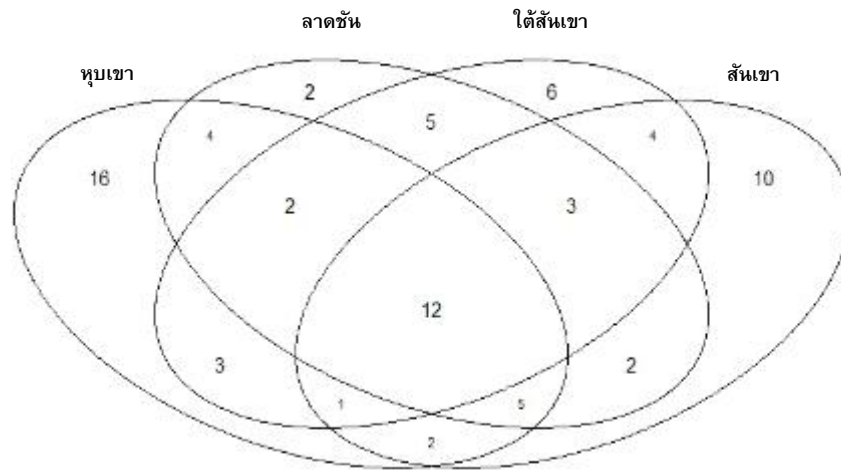
การวิเคราะห์องค์ประกอบชนิดด้วย hierarchical clustering analysis แสดงให้เห็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้เป็น 4 กลุ่ม ที่ ระดับความแตกต่างสัมพัทธ์ (relative dissimilarity index) เท่ากับ 0.9 ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มีทั้งหมด 8 แปลง ประกอบด้วย แปลงที่ 1 3 4 5 10 จากพื้นที่ลาดชัน แปลงที่ 1 6 จากพื้นที่ใต้ส้นเขา และ แปลงที่ 10 จากพื้นที่ส้นเขา

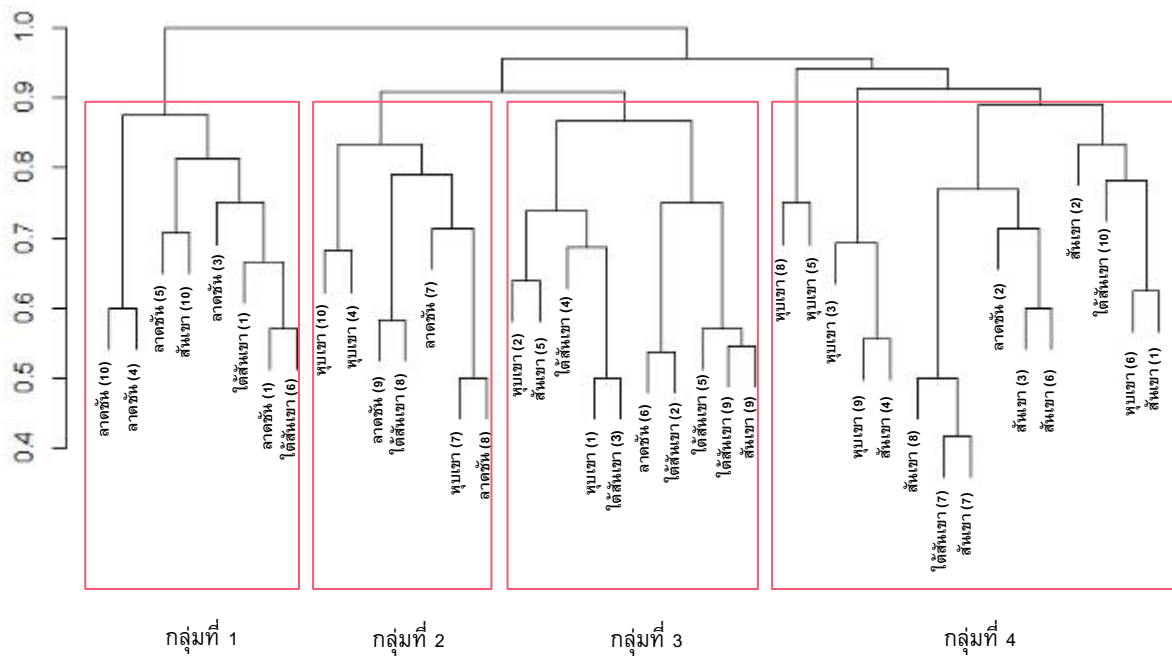
กลุ่มที่ 2 มีทั้งหมด 7 แปลง ประกอบด้วย แปลงที่ 4 7 10 จากพื้นที่หุบเขา แปลงที่ 7 8 9 จากพื้นที่ลาดชัน และ แปลงที่ 8 จากพื้นที่ใต้ส้นเขา

กลุ่มที่ 3 มีทั้งหมด 10 แปลง ประกอบด้วย แปลงที่ 1 2 จากพื้นที่หุบเขา แปลงที่ 6 จากพื้นที่ลาดชัน แปลงที่ 2 3 4 5 9 จากพื้นที่ใต้ส้นเขา และ แปลงที่ 5 9 จากพื้นที่ส้นเขา

กลุ่มที่ 4 มีทั้งหมด 15 แปลง ประกอบด้วย แปลงที่ 3 5 6 8 9 จากพื้นที่หุบเขา แปลงที่ 2 จากพื้นที่ลาดชัน แปลง ที่ 7 10 จากพื้นที่ใต้ส้นเขา แปลงที่ 1 2 3 4 6 7 8 จากพื้นที่ส้นเขา (ภาพ 6)



ภาพ 5 Venn's Diagram แสดงจำนวนชนิดของไบรโอไฟต์ที่พบเฉพาะหรือร่วมกันในแต่ละพื้นที่



ภาพ 6 cluster diagram แสดงความสัมพันธ์ของแต่ละแปลงย่อยตามองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ในแต่ละพื้นที่

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาพบว่าลักษณะพื้นที่ตามถิ่นอยู่อาศัย ทั้ง 4 แบบในพื้นที่ศึกษานี้ไม่ส่งผลต่อความมากชนิดและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์อย่างชัดเจนเห็นได้จากจำนวนชนิดที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และ การจัดกลุ่มตามองค์ประกอบชนิดที่ไม่สามารถแยกแยะออกจากลักษณะพื้นที่อยู่อาศัยได้อย่างชัดเจน แต่ในพื้นที่บางบริเวณก็มีความแตกต่างทางกายภาพอย่างชัดเจนและส่งผลต่อการปรากฏของไบรโอไฟต์บางกลุ่ม

ในพื้นที่หุบเขาพบจำนวนชนิดของไบรโอไฟต์รวมมากที่สุด รองลงมาเป็นพื้นที่สันเขาซึ่งในทั้งสองพื้นที่นี้ พื้นที่ผิวที่พบไบรโอไฟต์มากที่สุดคือเปลือกไม้ และในพื้นที่หุบเขาและพื้นที่สันเขานี้ยังมีพื้นที่หน้าตัดของไม้ต้นสูงใกล้เคียงกัน ซึ่งทำให้พื้นที่บนเปลือกไม้มากกว่าอีกสองพื้นที่ จึงทำให้มีโอกาสพบจำนวนชนิดของไบรโอไฟต์มากกว่าพื้นที่ลาดชันและพื้นที่ไต่สันเขาซึ่งมีพื้นที่หน้าตัดของไม้ต้นน้อยกว่า นอกจากนี้ลักษณะพื้นที่ทั่วไปในแต่ละพื้นที่นั้นพบว่าพื้นที่หุบเขาเป็นบริเวณนี้เป็นที่ราบมีความลาดชันน้อยกว่าพื้นที่อื่นจึงมีน้ำขังอยู่ตลอด ต้นไม้ที่พบส่วนใหญ่เป็นต้นไม้ใหญ่ มีชั้นของเรือนยอดหนาแน่นมาก ทำให้มีความเย็น และความชื้นมากกว่าพื้นที่อื่นๆ ซึ่งเหมาะกับการเจริญเติบโตของไบรโอไฟต์หลายชนิด [25] พื้นที่สันเขาเป็นพื้นที่ลาดชันมากที่สุด มีต้นไม้หนาแน่นมาก มีชั้นเรือนยอดหนาแน่น อีกทั้งมีลมพัดผ่านจากหุบเขาทั้งสองข้าง ทำให้อุณหภูมิไม่สูงและความชื้นไม่ต่ำจนเกินไป จึงอาจจะจะเป็นปัจจัยที่ทำให้พบความหลากหลายชนิดของไบรโอไฟต์มากกว่าพื้นที่ลาดชันใกล้เคียงกันอีกสองบริเวณ ในพื้นที่ลาดชันนั้นเป็นพื้นที่ที่พบจำนวนไบรโอไฟต์น้อย เนื่องจากในพื้นที่นี้ต้นไม้ส่วนใหญ่ที่พบเป็นส่วนมากเป็นต้นไม้ขนาดเล็ก ความหนาแน่นค่อนข้างน้อย ชั้นเรือนยอดค่อนข้างโปร่ง ส่วนพื้นที่ไต่สันเขามีความลาดชันมาก ต้นไม้ที่พบมีหลายขนาดปะปนกัน บางแปลงมีต้นไม้ขนาดเล็กจำนวนมากมีต้นไม้ใหญ่เพียงเล็กน้อย ชั้นเรือนยอดหนาแน่นปานกลาง ซึ่งส่งผลให้มีปริมาณแสงมาก อุณหภูมิสูง และความชื้นต่ำ ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมกับไบรโอไฟต์เพียงบางชนิดเท่านั้น [2,26]

การศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับจำนวนชนิดของมอสส์ และลิเวอร์เวิร์ตในระดับความสูงที่แตกต่างกันในอุทยานแห่งชาติเขานัน จังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่า แต่ละระดับความสูงมีจำนวนและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ที่ต่างกันซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างกันของสภาพอากาศ เช่น อุณหภูมิและความชื้น ที่ส่งผลโดยตรงต่อการเติบโตของไบรโอไฟต์ [14]

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบชนิดด้วย hierarchical cluster analysis และการตรวจสอบด้วย Venn's Diagram พบว่า ในแต่ละพื้นที่มีชนิดของไบรโอไฟต์ซ้ำกันมาก จึงทำให้ไม่สามารถแยกไบรโอไฟต์ออกเป็นกลุ่มตามพื้นที่ได้ อาจเป็นเพราะว่าพื้นที่ทั้ง 4 พื้นที่นี้ มีระยะห่างใกล้เคียงกันไม่ไกลกันมากซึ่งอาจมีสภาพแวดล้อมที่ไม่แตกต่างกันมากนัก จึงทำให้พบชนิดของไบรโอไฟต์ที่ซ้ำกันมากในทุกพื้นที่ นอกจากนี้ในพื้นที่ศึกษานี้ ช่วงระดับความสูงจากน้ำทะเลของพื้นที่อยู่ที่ 136 ถึง 316 เมตรจากระดับน้ำทะเลเท่านั้น ซึ่งอาจจะไม่แตกต่างมากเพียงพอที่จะเห็นรูปแบบของความหลากหลายที่แตกต่างกันตามความสูงของพื้นที่ ตามที่เคยมีรายงานมาในพื้นที่อื่นๆของป่าฝนเขตร้อน [11, 14, 26]

ในเชิงองค์ประกอบทางอนุกรมวิธาน พบไบรโอไฟต์ในกลุ่มของมอสส์มากที่สุด อาจเป็นเพราะว่ามอสส์สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในแปลงได้ดีกว่ากลุ่มอื่น สามารถอยู่ได้ทั้งในที่ที่มีความชื้นมากจนถึงสภาพแห้งแล้งได้ดีกว่ากลุ่มของ ลิเวอร์เวิร์ต และฮอร์นเวิร์ต [27] โดยเฉพาะที่ล้อยดัลลิเวอร์เวิร์ตและฮอร์นเวิร์ตที่พบเฉพาะบริเวณที่มีน้ำขังมีความชื้นสูงในพื้นที่หุบเขาเท่านั้น เพราะเป็นพืชที่ไม่มีความสามารถในการทนการขาดน้ำได้เป็นเวลานาน [28]

การศึกษานี้เป็นการนำลักษณะทางภูมิประเทศมาใช้ในการแบ่งพื้นที่เป็นชนิดของถิ่นที่อยู่ เพื่อใช้ศึกษาจำนวนและองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์เป็นครั้งแรกในประเทศไทย ทำให้สามารถพบไบรโอไฟต์ถึง 77 ชนิดในพื้นที่ศึกษาขนาดเพียง 24 เฮกแตร์ แสดงให้เห็นถึงระดับความหลากหลายที่สูงของพื้นที่ป่าฝนเขตร้อนในบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย และแสดงให้เห็นว่าชนิดของถิ่นที่อยู่ที่แตกต่างกันในพื้นที่ขนาดเล็กสามารถส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบชนิดของไบรโอไฟต์ได้เช่นกัน จึง

ควรรศึกษาเกี่ยวกับผลของภูมิอากาศระดับเล็ก (microclimate) ในแต่ละชนิดของถิ่นที่อยู่ต่อการเจริญของไบรโอฟิตในเขตร้อนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร.สรายุทธ บุญยะเวชชีวิน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าพื้นที่ศึกษา และบสนับสนุนการวิจัยจาก The Forest Global Earth Observatory (ForestGEO) Project, Smithsonian Tropical Research Institute

เอกสารอ้างอิง

1. Gradstein, S. R., Churchill, S. P., & Salazar-Allen, N. (2001). *Guide to the Bryophytes of Tropical America*. New York, NY: New York Botanical Garden.
2. Frahm, J. P., Pócs, T., O'Shea, B., Koponen, T., Piipo, S., Enroth, J., ... Fang, Y. (2003). Manual of tropical bryology. *Tropical Bryology*, 23, 1–196.
3. Kraichak, E. (2014). Microclimate fluctuation correlated with beta diversity of epiphyllous bryophyte communities. *Biotropica*, 46(5). doi:10.1111/btp.12140
4. Sagar, T., & Wilson, P. (2009). Niches of common bryophytes in a semi-arid landscape. *The Bryologist*, 112(1), 30–41.
5. Snäll, T., Ehrlén, J., & Rydin, H. (2005). Colonization-extinction dynamics of an epiphyte metapopulation in a dynamic landscape. *Ecology*, 86(1), 106–115.
6. Frey, W., & Kurschner, H. (2011). Asexual reproduction, habitat colonization and habitat maintenance in bryophytes. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206(3), 173–184. doi:10.1016/j.flora.2010.04.020
7. Jiang, Y., Liu, X., Song, S., Yu, Z., & Shao, X. (2015). Diversity and distribution of ground bryophytes in broadleaved forests in Mabian Dafengding National Nature Reserve, Sichuan, China. *Acta Ecologica Sinica*, 35(2), 13–19. doi:10.1016/j.chnaes.2015.03.002
8. Horsák, M. M., Hájek, M. M., Spitale, D. D., Hájková, P. P., Díte, D. D., & Nekola, J. C. J. C. (2012). The age of island-like habitats impacts habitat specialist species richness. *Ecology*, 93(5), 1106–1114.
9. Gradstein, S. R., & Pócs, T. (1989). Bryophytes. In *Ecosystems of the World* (pp. 311–325). Elsevier.
10. Sonnleitner, M., Dullinger, S., Wanek, W., & Zechmeister, H. (2009). Microclimatic patterns correlate with the distribution of epiphyllous bryophytes in a tropical lowland rain forest in Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology*, 25(03), 321–330.
11. Enroth, J. (1990). Altitudinal zonation of bryophytes on the Huon Peninsula, Papua New Guinea. A floristic approach, with phytogeographic considerations. *Tropical Bryology*, 2, 61–90.
12. Wolf, J. H. D. (1993). Diversity Patterns and Biomass of Epiphytic Bryophytes and Lichens Along an Altitudinal Gradient in the Northern Andes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80(4), 928–960.
13. Printarakul, N. (2016). *Bryophyte Flora of DoiSuthep-Pui National Park, Chiang Mai, Thailand*. Chaing Mai University, Thailand.
14. Chantanaorrapint, S. (2010, March 3). *Ecological studies of epiphytic bryophytes along altitudinal gradients in Southern Thailand*.
15. Kurten, E. L., Bunyavejchewin, S., & Davies, S. J. (2018). Phenology of a dipterocarp forest with seasonal drought: Insights into the origin of general flowering. *Journal of Ecology*, 106(1), 126–136.
16. Forgy, E. W. (1965). Cluster analysis of multivariate data: efficiency versus interpretability of classifications. *Biometrics*, 21, 768–769. doi:10.1007/s00442-008-1028-8
17. R Core Team. (2018). R: A Language and Environment for Statistical Computing. *Vienna, Austria*.
18. Bunyavejchewin, S., Sinbumroong, A., Turner, B. L., & Davies, S. J. (2019). Natural disturbance and soils drive diversity

- and dynamics of seasonal dipterocarp forest in Southern Thailand. *Journal of Tropical Ecology*, 35(3), 95-107.
19. Newmaster, S. G., Belland, R. J., Arsenault, A., Vitt, D., & Stephens, T. R. (2005). The ones we left behind: Comparing plot sampling and floristic habitat sampling for estimating bryophyte diversity. *Diversity and Distributions*, 11(1), 57–72.
 20. Gradstein, S. R. (2011). *Guide to the Liverworts and Hornworts of Java*. Bogor, Indonesia: Southeast Asian Regional Centre of Tropical Biology.
 21. Bartram, E. B. (1939). Mosses of the Philippines. *The Philippine Journal of Science*, 68, 1–437.
 22. Goffinet B. & W.R. Buck. Classification of the Bryophyta. On-line version available at <http://bryology.uconn.edu/classification/>. Checked on 14 March 2019.
 23. Söderström, L., Hagborg, A., Konrat, M. Von, Bartholomew-began, S., Bell, D., Briscoe, L., et al.(2016). World checklist of hornworts and liverworts. *PhytoKeys*, 59, 1–821. doi:10.3897/phytokeys.59.6261
 24. Anderson, M. J., Crist, thomas O., Chase, J. M., Vellend, M., Inouye, B. D., Freestone, A. L., ... Swenson, N. G. (2011). Navigating the multiple meanings of diversity: a roadmap for the practicing ecologist. *Ecology Letters*, 14(1), 19–28.
 25. Pócs, T. (1982). Tropical Forest Bryophytes. In A. J. E. Smith (Ed.), *Bryophyte ecology* (pp. 59–104). Dordrecht: Springer Netherlands.
 26. Frahm, J.-P. (1990). The altitudinal zonation of bryophytes on Mt. Kinabalu. *Nova hedwigia*, 51(1–2), 133–149.
 27. Oliver, M. J., Velten, J., & Mishler, B. D. (2005). Desiccation tolerance in bryophytes: a reflection of the primitive strategy for plant survival in dehydrating habitats? *Integrative Comparative Biology*, 45(5), 788–799.
 28. Vanderpoorten, A., & Goffinet, B. (2009). *Introduction to Bryophytes*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

การระบุไลเคนชนิดทนทานบนต้นปาล์มฟอกซ์เทลและวิเคราะห์ค่าดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

จิติรัตน์ ศรีลาศักดิ์¹ อัมรินทร์ ธงจันทร์¹ และขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล^{2*}

บทคัดย่อ

ไลเคนมีโครงสร้างร่างกายที่ประกอบด้วยเส้นใยราและสาหร่ายเท่านั้นไม่มีสิ่งปกป้องมลพิษหรือแสงแดดเหมือนใบพืชทั่วไป การดำรงชีวิตของไลเคนโดยการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่ายและได้รับน้ำจากบรรยากาศจึงมีโอกาสได้รับสารมลพิษจากอากาศที่ปะปนอยู่กับน้ำในบรรยากาศค่อนข้างสูง โดยทั่วไปไลเคนใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของอากาศได้ดีเนื่องจากไลเคนมีความอ่อนไหวต่อมลพิษทางอากาศหรือการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อมแต่มีไลเคนบางชนิดที่ทนทานต่อมลพิษทางอากาศ ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและระบุชนิดของไลเคนที่มีความทนทานที่พบบนต้นปาล์มฟอกซ์เทลบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามและวิเคราะห์ค่าดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศ (IAP) สำรวจไลเคนบนลำต้นปาล์มฟอกซ์เทลขนาดเส้นรอบวงที่ระดับอก (DBH) 30 ซม. ขึ้นไปโดยใช้ตารางแผนผังขนาด 10x10 ซม. จำนวน 10 ตารางต่อ 1 ต้น โดยสำรวจจากโคนต้นในทิศเดียวกัน ทำการระบุชนิดของไลเคนตามหลักอนุกรมวิธานและตรวจสอบสารไลเคนด้วยวิธีทินแลย์โครมาโทกราฟีด้วยสารมาตรฐาน A C และ G พบไลเคนทั้งหมด 10 ชนิด โดยพบว่าเป็นไลเคนกลุ่มครัสโตส 7 ชนิดและกลุ่มโพลีออส 3 ชนิด จากการสำรวจแบ่งเป็น 5 พื้นที่ วิเคราะห์ค่าดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศ (IAP) โดยพบว่าพื้นที่ 1 มีค่าดัชนีเท่ากับ 0.838 (อากาศแย่มาก) พื้นที่ 2 และ 4 อากาศปานกลางมีค่าดัชนีเท่ากับ 1.416 และ 1.881 ส่วนบริเวณที่มีอากาศดีได้แก่ พื้นที่ 3 และ 5 มีค่าดัชนีเท่ากับ 4.343 และ 3.271 ตามลำดับ ไลเคน 3 ชนิดที่พบความหลากหลายชนิดมากที่สุดในบริเวณที่มีค่าดัชนีอากาศแย่มาก คือ *Pyxine cocoes* *Dirinaria picta* และ *Amandinea punctata* ดังนั้นไลเคนสามชนิดนี้เป็นชนิดที่มีความทนทานมากที่สุด

คำสำคัญ: ไลเคนชนิดทนทาน ดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศ แหล่งอาศัย

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

² ภาควิชาชีววิทยาและพิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: khwanruan.p@msu.ac.th

Identification of Tolerance Lichen Species on Foxtail Palm and Index Atmospheric Purity (IAP) at Faculty of Science, Mahasarakham University

Thitirat Srilasak¹ Ammarin Tongjan¹ and Khwanyuruan Naksuwankul^{2*}

Abstract

Thallus lichen to consist of fungal and algae without pollutant protection or sunlight as leaves of Angiosperm. Growth of lichen by algal photosynthesis with an atmospheric water from fungal hyphae and pollutants. Lichen can be used for air pollution indicator with a sensitive to air pollution or environmental change. Some species can be grow at air pollution area. The objective of these project is to investigate and identification of tolerance species were found on foxtail trunk and Index Atmospheric Purity (IAP) at Faculty of Science, Mahasarakham University. Investigated lichen on foxtail trunk with DBH 30 cm and more by a quadrant 10x10 cm for 10 quadrat per each from above the ground and same direction. Identification to species with taxonomy and chemistry test by thin layer chromatography with standard solvent A, C and G. The lichen were found 10 species with crustose lichens are 7 species and 3 species are foliose. Five sites were collected and analyzed Index Atmospheric Purity (IAP); site 1 with IAP 0.838 (poor), site 2 and 4 with IAP 1.416 and 1.881 (fair), site 3 and 5 with IAP 4.343 and 3.271 (good) respectively. Three highest species diversity in poor IAP area were found *Pyxine cocoes*, *Dirinaria picta* and *Amandinea punctata*, they are tolerance species in this area.

Keywords: Tolerance lichen species, Index Atmospheric Purity (IAP), Habitat

¹ Department of Biology Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham Province 44150

² Department of Biology and Natural Medicinal Mushroom Museum, Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham Province 44150

*Corresponding author, email: khwanruan.p@msu.ac.th

บทนำ

ไลเคน (lichen) เป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยระหว่างราและสาหร่ายที่นำมาใช้ประโยชน์ด้านสิ่งแวดล้อมโดยการใช้ประเมินคุณภาพอากาศหรือดัชนีบ่งชี้คุณภาพอากาศอย่างแพร่หลาย เนื่องจากไลเคนมีโครงสร้างร่างกายหรือแทลลัส (thallus) ที่มีความอ่อนไหวต่อมลพิษทางอากาศหรือการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม [1-5] ไลเคนได้รับน้ำจากบรรยากาศด้วยการสะสมไอน้ำที่เส้นใยของราเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่าย ดังนั้นหากบริเวณใดมีมลพิษปะปนอยู่ในชั้นบรรยากาศโอกาสที่ไลเคนจะได้รับมลพิษต่างๆ เหล่านี้ก็มีสูงเนื่องจากไลเคนไม่มีสิ่งปกคลุมแทลลัสเหมือนพืชที่มีชีวิตเคลือบไขหรือขี้ผึ้ง มลพิษที่อยู่ในอากาศจะเข้าไปขัดขวางการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่ายทำให้ส่วนต่างๆ ของไลเคนได้รับอาหารน้อยลงจนถึงทำให้ไลเคนตายได้ [1, 6] จากโครงสร้างร่างกายของไลเคนสามารถจำแนกกลุ่มที่มีความอ่อนไหวต่อมลพิษทางอากาศหรืออ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่มฟรุติโคส (fruticose) มีความอ่อนไหวมากมีโครงสร้างคล้ายพุ่มไม้หรือต้นไม้ขนาดเล็กพบบนดินหรือเกาะอาศัยบนต้นไม้บางครั้งเรียกฝอยลม 2) กลุ่มโฟลิโอส (foliose) มีความอ่อนไหวปานกลางมีโครงสร้างคล้ายใบไม้ขนาดเล็กเกาะอาศัยบนต้นไม้หรือบนหินและ 3) กลุ่มครัสโตส (crustose) มีความทนทานมีโครงสร้างแบบติดแน่นกับแหล่งอาศัยมีส่วนเส้นใยราเจริญแทรกไปในแหล่งอาศัยพบบนต้นไม้หรือบนหิน [7] แต่อย่างไรก็ตาม พบไลเคนบางชนิดที่เป็นไลเคนกลุ่มบุกเบิก (pioneer species) หรือไลเคนกลุ่มทนทาน (tolerance species) ที่อยู่ในกลุ่มโฟลิโอสซึ่งมีโครงสร้างคล้ายใบไม้ขนาดเล็กแม้ว่าจะพบว่ามีการสะสมโลหะหนักในแทลลัสก็ตามไลเคนกลุ่มนี้ยังสามารถแพร่กระจายได้ในเขตชุมชนเมืองหรือบริเวณที่มีการจราจรคับคั่งก็ตามไลเคนกลุ่มนี้ได้แก่ *Pyxine cocolos* และ *Dirinaria picta* [3, 5, 8] รายงานโลหะหนักที่พบในแทลลัสไลเคนได้แก่ ยูเรเนียม (U) สารหนู (As) นิกเกิล (Ni) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) ปรอท (Hg) ตะกั่ว (Pb) กำมะถัน (S) เหล็ก (Fe) และโครเมียม (Cr) [8-16] แม้ว่าพบไลเคนชนิดทนทานในเขตเมืองส่วนใหญ่จะพบในบริเวณที่มีสิ่งแวดล้อมที่มีต้นไม้ใหญ่และจำนวนมากหรือบริเวณที่เราใช้เป็นที่พักผ่อนหย่อนใจ เช่น สวนสาธารณะ เนื่องจากไลเคนสามารถเจริญเติบโตในแหล่งอาศัยย่อย (microhabitat) หรือแหล่งอาศัยที่มีภูมิอากาศเฉพาะแห่งที่มีบริเวณจำกัดได้ จำนวนแทลลัสของไลเคนและจำนวนชนิดของไลเคนที่พบแพร่กระจายในพื้นที่ต่างๆ สามารถใช้ประเมินความบริสุทธิ์ของอากาศหรือ Index Atmospheric Purity (IAP) ได้ [4] ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจำนวนและชนิดของไลเคนที่พบบนลำต้นปาล์มฟอกซ์เทลในบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามเพื่อประเมินความบริสุทธิ์ของอากาศและระบุชนิดของไลเคนที่ทนทานต่อมลพิษทางอากาศ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การระบุชนิดตัวอย่างไลเคน

สำรวจและเก็บตัวอย่างไลเคนบนต้นปาล์มฟอกซ์เทลเลือกตัวอย่างที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน โดยเก็บซ้ำ 5 ตัวอย่าง เพื่อทำการระบุชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน โดยศึกษาตัวอย่างไลเคนทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo zoom) โดยพิจารณาลักษณะแทลลัส รูปร่าง สี ขนาด การพบไลเคน โครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (asexual reproductive) เช่น แอโพทีเซีย เพอริทีเซีย โครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproductive) เช่น ซอริเดีย ไอซิเดีย และศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในของแอโพทีเซียหรือเพอริทีเซียเพื่อพิจารณารูปร่าง ขนาดและจำนวนแอสโคสปอร์ในแอสคัส แอสโคสปอร์พิจารณาขนาด รูปร่างและสี ศึกษาสารไลเคนด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin layer chromatography) ด้วยตัวทำละลายมาตรฐาน คือ A (Toluene:Dioxane:Acetic acid; 180:45:5) C (Toluene:Acetic acid; 170:30) และ G (Toluene:ethyl acetate:formic acid; 139:83:8) บนแผ่นซิลิกาด้วยเครื่องทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีแนวนอน (Horizontal thin layer chromatography) เป็นเทคนิคการตรวจสอบสารไลเคน

สมรรถนะสูงหรือ HPTLC (High performance thin layer chromatography) [17-18] เพื่อทำการระบุชนิดของไลเคนโดยพิจารณาจากรูปวิธานในเอกสารที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการและคู่มือการจัดจำแนกไลเคน [19-21] ชื่อวิทยาศาสตร์ของไลเคน ตรวจสอบจากฐานข้อมูลในเวปไซด์ Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) และ MycoBank (<http://www.mycobank.org>)

ข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศ (IAP)

กำหนดพื้นที่เพื่อเก็บข้อมูลไลเคนบนลำต้นปาล์มพอกซ์เทลในบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม โดยกำหนด 5 พื้นที่ ได้แก่ 1) พื้นที่ระหว่างอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพและคณะเทคโนโลยี 2) หน้าอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ 3) ระหว่างอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพและตึกคณะวิทยาศาสตร์ 4) พื้นที่วงกลมภายในอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ และ 5) พื้นที่วงกลมภายในตึกคณะวิทยาศาสตร์ (ภาพ 1 ก-จ และภาพ 2)

เก็บข้อมูลโดยใช้ตารางแผนผัง (quadrat) ขนาด 10x10 เซนติเมตร จำนวน 10 อัน ต่อ 1 ต้น นับจำนวนชนิดของไลเคนและจำนวนแทลลัสของไลเคนแต่ละชนิด บันทึกข้อมูลพร้อมถ่ายภาพ เก็บข้อมูลไลเคนบนลำต้นปาล์มพอกซ์เทล ที่มีเส้นรอบวงที่ระดับอก (DBH) ตั้งแต่ 30 เซนติเมตรขึ้นไป โดยเก็บจากลำต้นเหนือพื้นดินและในทิศทางเดียวกันทุกต้น คือ ทิศเหนือ [22] (ภาพ 1 ฉ-ช)

วิเคราะห์ข้อมูลดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศหรือ Index Atmospheric Purity (IAP) โดยวิธีการคำนวณตามสูตรของ Shannon-Weiner diversity index [23-25]

$$IAP = 1/10 \sum_{i=1}^H Q_i f_i$$

i = ชนิดของไลเคน

n = จำนวนชนิดของไลเคนในพื้นที่

Q = ค่าเฉลี่ยของจำนวนที่พบไลเคน [25] หรือจำนวนไลเคนที่พบในแต่ละพื้นที่ต่อจำนวนทั้งหมดของพื้นที่

f = จำนวนตารางแผนผัง (quadrat) ที่พบชนิดนั้นต่อจำนวนตารางแผนผังทั้งหมด

โดยเปรียบเทียบจากค่า IAP มาตรฐาน [26] ดังนี้

0 ≤ IAP < 1 Poor 1 ≤ IAP < 3 Fair 3 ≤ IAP < 5 Good 5 ≤ IAP < 7 Very good

ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดไลเคน (Species Diversity Index: H') หรือค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Wiener (Shannon-Wiener's Index, H') สามารถคำนวณจากสูตร

$$H = - \sum_{i=1}^s (p_i \ln p_i)$$

เมื่อ H' = ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดไลเคน

P_i = สัดส่วนระหว่างจำนวนไลเคนชนิดหนึ่งต่อจำนวนไลเคนทั้งหมด

s = จำนวนชนิดไลเคนทั้งหมด

ค่าความหลากหลายชนิด (Species Diversity: D)

$$D = e^H$$

เมื่อ D = ค่าความหลากหลายชนิด
e = 2.71828 (ค่า log ฐานธรรมชาติ)
H' = ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์

ผลการทดลอง

ผลการทดลองไลเคนที่พบไลเคนบนลำต้นปาล์มพอกซ์เทลทั้งหมด 5 พื้นที่จำนวน 10 ชนิด 6 สกุลและ 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Caliciaceae พบ 5 ชนิดประกอบด้วย *Amandinea extenuata* (Müll. Arg.) Marbach *A. punctata* (Hoffm.) Coppins & Scheid. *Dirinaria aegialita* (Afzel. ex Ach.) B.J. Moore *D. picta* (Sw.) Clem. & Shear และ *Pyxine cocoes* (Sw.) Nyl. วงศ์ Graphidaceae พบ 1 ชนิดคือ *Graphis scripta* (L.) Ach. วงศ์ Lecanoraceae พบ 3 ชนิด ได้แก่ *Lecanora agentata* (Ach.) Degel. *L. leprosa* Fée และ *Lecanora* sp. และวงศ์ Trypetheliaceae พบ 1 ชนิดคือ *Marcelaria benguelensis* (Müll. Arg.) Aptroot, Nelsen & Parmen โดยพบว่าเป็นไลเคนแบบครัสโตสจำนวน 7 ชนิด และไลเคนแบบโพลีโอส 3 ชนิด (ตาราง 1 และภาพ 3) จำนวนแทลลัสของไลเคนในแต่ละพื้นที่พบว่าพื้นที่ 5 มีจำนวนมากที่สุดจำนวน 15,124 แทลลัส จากจำนวนต้นปาล์มพอกซ์เทล 35 ต้นหรือจำนวนตารางแผนผัง (quadrat) 35 ตาราง รองลงมาคือ พื้นที่ 3 พบจำนวน 10,359 แทลลัส จากจำนวนต้นปาล์มพอกซ์เทล 52 ต้น (ตารางแผนผัง 52 ตาราง) ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศหรือ Index Atmospheric Purity (IAP) พบว่าพื้นที่ 1 พบจำนวนแทลลัสของไลเคนบนต้นปาล์มพอกซ์เทลจำนวน 3,259 แทลลัสและมีค่า IAP เท่ากับ 0.838 เมื่อเปรียบเทียบกับค่า IAP มาตรฐาน [26] จำแนกได้เป็นบริเวณอากาศแย่มาก (poor) พื้นที่ 2 และ 4 จำแนกได้เป็นบริเวณอากาศปานกลาง (fair) มีค่า IAP เท่ากับ 1.416 และ 1.881 ส่วนบริเวณที่จัดว่ามีอากาศดี (good) ได้แก่ พื้นที่ 3 และ 5 มีค่า IAP เท่ากับ 4.343 และ 3,271 ตามลำดับ (ตาราง 2) พื้นที่ 1 จัดว่าเป็นบริเวณที่มีอากาศแย่มากพบค่าความหลากหลายชนิด (Species Diversity: D) เท่ากับ 3.35 ไลเคนที่มีจำนวนแทลลัสมากที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ *P. cocoes*, *D. picta* และ *A. punctata* (ภาพ 3) สองอันดับแรกเป็นโพลีโอสไลเคนและครัสโตส 1 ชนิด ดังนั้นไลเคนทั้ง 3 ชนิดที่พบเจริญในบริเวณที่มีอากาศแย่มากแสดงว่าเป็นไลเคนชนิดทนทาน



ภาพ 1 พื้นที่เก็บข้อมูลและตัวอย่างไลเคน 5 พื้นที่บริเวณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ก. พื้นที่ 1 ระหว่างอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพและคณะเทคโนโลยี ข. พื้นที่ 2 หน้าอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ค. พื้นที่ 3 ระหว่างอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพและตึกคณะวิทยาศาสตร์ ง. พื้นที่ 4 พื้นที่วงกลมภายในอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ จ. พื้นที่ 5 พื้นที่วงกลมภายในตึกคณะวิทยาศาสตร์ ฉ. และ ช. ตารางแผนผัง (quadrat) สำหรับเก็บข้อมูลไลเคน

ตาราง 1 ชนิดของไลเคนและจำนวนที่พบในพื้นที่ศึกษาทั้ง 5 พื้นที่

Code	ชนิดของไลเคน	พื้นที่ 1			พื้นที่ 2			พื้นที่ 3			พื้นที่ 4			พื้นที่ 5		
		จำนวนไลเคน	จำนวน f ที่พบ	จำนวน f ทั้งหมด	จำนวนไลเคน	จำนวน f ที่พบ	จำนวน f ทั้งหมด	จำนวนไลเคน	จำนวน f ที่พบ	จำนวน f ทั้งหมด	จำนวนไลเคน	จำนวน f ที่พบ	จำนวน f ทั้งหมด	จำนวนไลเคน	จำนวน f ที่พบ	จำนวน f ทั้งหมด
Sp1	<i>Graphis scripta</i>	56	6	12	11	1	16	16	10	52	6	4	27	207	19	35
Sp2	<i>Lecanora leprosa</i>	128	7	12	180	11	16	1,098	37	52	96	8	27	5,511	34	35
Sp3	<i>Amandinea punctata</i>	244	8	12	2,096	14	16	1,647	39	52	1,515	21	27	8,065	35	35
Sp4	<i>Amandinea extenuata</i>	130	6	12	212	10	16	736	37	52	149	10	27	573	25	35
Sp5	<i>Dirinaria aegialita</i>	121	7	12	7	3	16	551	16	52	2	2	27	258	9	35
Sp6	<i>Dirinaria picta</i>	468	3	12	0	0	16	0	0	52	0	0	27	81	5	35
Sp7	<i>Pyxine cocoes</i>	2,109	10	12	1,241	16	16	6,302	49	52	67	9	27	185	12	35
Sp8	<i>Lecanora</i> sp.	1	1	12	18	5	16	7	4	52	7	3	27	152	7	35
Sp9	<i>Lecanora agentata</i>	0	0	12	4	3	16	2	2	52	0	0	27	92	9	35
Sp10	<i>Marcelaria benguelensis</i>	2	1	12	5	2	16	0	0	52	4	3	27	0	0	35
รวม		3,259			3,774			10,359			1,846			15,124		



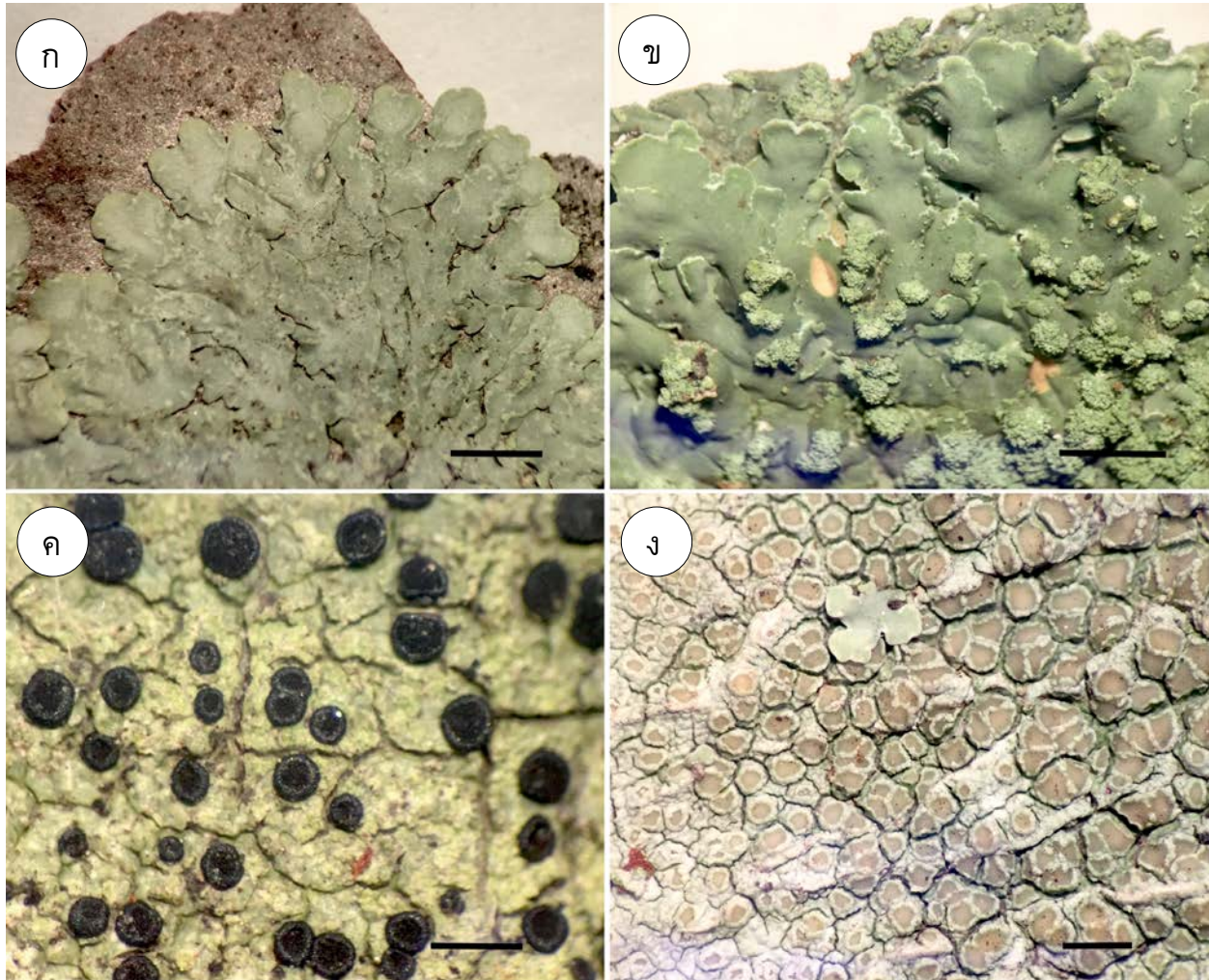
ภาพ 2 ลักษณะแทลลัสของไลเคนที่พบบนลำต้นปาล์มฟอกซ์เทลบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ ก. แทลลัสไลเคนแบบโพลีออส ข. แทลลัสไลเคนแบบโพลีออสและครัสโตสบนต้นเดียวกัน

ตาราง 2 ค่าดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศหรือ Index Atmospheric Purity (IAP) และค่าความหลากหลายชนิดในพื้นที่ศึกษา

พื้นที่	จำนวนไลเคนที่พบ	IAP	คุณภาพอากาศ	ค่าความหลากหลายชนิด
พื้นที่ 1	3,259	0.838	Poor	3.35
พื้นที่ 2	3,774	1.416	Fair	2.92
พื้นที่ 3	10,359	4.343	Good	3.29
พื้นที่ 4	1,846	1.881	Fair	2.03
พื้นที่ 5	15,124	3.271	Good	3.03

ค่า IAP มาตรฐาน [26]

0 ≤ IAP < 1 Poor 1 ≤ IAP < 3 Fair 3 ≤ IAP < 5 Good 5 ≤ IAP < 7 Very good



ภาพ 3 ไลเคนชนิดทนทานและชนิดที่พบในพื้นที่ศึกษา ก. และ ข. ไลเคนแบบโฟลิโอส ค. และ ง. ไลเคนแบบครัสโตส
 ก. *Pyxine cocoes* ข. *Dirinaria picta* ค. *Amandinea punctata* ง. *Lecanora leprosa* (สเกลบาร์ = 5 มิลลิเมตร)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ไลเคนที่สำรวจพบบนลำต้นปาล์มพอกซ์เทลบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พบไลเคน 2 กลุ่ม คือ ไลเคนกลุ่มโพลีโอสและกลุ่มครัสโตส ซึ่งจากลักษณะโครงสร้างร่างกายหรือแทลลัสของไลเคน กลุ่มครัสโตสเป็นกลุ่มที่มีความทนทานต่อมลพิษทางอากาศมากที่สุด เนื่องจากลักษณะของแทลลัสมีขนาดเล็กและพื้นผิวสัมผัสกับอากาศค่อนข้างน้อยยกเว้นเมื่อเทียบกับแทลลัสกลุ่มอื่น พบมากถึง 7 ชนิด แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาในครั้งนี้พบ ไลเคนแบบโพลีโอสที่มีแทลลัสขนาดเล็กขึ้นปกคลุมลำต้นปาล์มพอกซ์เทลซึ่งพบถึง 3 ชนิด ได้แก่ *D. picta* *D. aegialita* และ *P. cocoes* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยอื่นที่สำรวจพบไลเคนกลุ่มนี้ในสวนสาธารณะในเขตเมือง เช่น กรุงเทพมหานคร [3, 5] แหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติ [4] หรือแม้แต่ในบริเวณเขตนิคมอุตสาหกรรม เช่น มาบตาพุด จังหวัดระยอง [22] ซึ่งจำแนกได้ว่าไลเคนแบบโพลีโอสกลุ่มนี้เป็นกลุ่มทนทานสามารถพบแพร่กระจายในเขตชุมชนเมืองได้ซึ่งเป็นบริเวณที่มีมลพิษทางอากาศสูงกว่าบริเวณอื่นทั่วไป บริเวณโดยรอบคณะวิทยาศาสตร์ที่ปลูกต้นพอกซ์เทลไว้เมื่อทำการสำรวจไลเคนโดยแบ่งพื้นที่ออกเป็น 5 พื้นที่ และทำการวิเคราะห์ข้อมูลค่าดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศหรือ Index Atmospheric Purity (IAP) เมื่อเทียบกับ IAP มาตรฐาน พบบริเวณที่มีอากาศแย่อากาศปานกลางและอากาศดี และคำนวณหาความหลากหลายของไลเคนในแต่ละพื้นที่ โดยพบว่าบริเวณที่มีอากาศแย่อากาศ (poor) คือ พื้นที่ 1 ระหว่างอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพและคณะเทคโนโลยี มีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 3.35 ไลเคนที่มีจำนวนมากที่ 3 ชนิดแรก คือ *P. cocoes*, *D. picta* และ *A. punctata* บริเวณดังกล่าวจะเห็นได้ว่าเป็นบริเวณข้างตึกมีทางเดินตรงกลางระหว่างตึกเรียนของคณะวิทยาศาสตร์และคณะเทคโนโลยีและฝั่งคณะเทคโนโลยีมีรถจักรยานยนต์ของนิสิตมาจอดข้างตึกจำนวนมากตลอดความยาวของตึก ดังนั้นบริเวณนี้อาจได้รับมลพิษทางอากาศจากควันรถจักรยานยนต์ของนิสิตจึงทำให้บริเวณนี้มีค่า IAP อยู่ในระดับอากาศแย่อากาศ ส่วนพื้นที่ที่มีอากาศดีปานกลาง (fair) คือ พื้นที่ 2 และ 4 พื้นที่ 2 คือ บริเวณหน้าตึกวิทยาศาสตร์ชีวภาพมีค่าความหลากหลายเท่ากับ 2.92 ไลเคนที่มีจำนวนมากที่ 3 ชนิดแรก คือ *A. punctata*, *P. cocoes* และ *A. extenuata* และพื้นที่ 4 คือ บริเวณภายในวงกลมของตึกวิทยาศาสตร์ชีวภาพมีค่าความหลากหลายเท่ากับ 2.03 ไลเคนที่มีจำนวนมากที่ 2 ชนิดแรก คือ *A. punctata* และ *A. extenuata* จากสภาพแวดล้อมเห็นได้ว่าพื้นที่ 2 อยู่ติดถนนซึ่งมีรถยนต์ของบุคลากรและรถจักรยานยนต์ของนิสิตสัญจรทำให้มีโอกาสได้รับมลพิษจากควันท่อไอเสียรถเช่นกัน ส่วนพื้นที่ 4 เป็นพื้นที่ภายในตึกซึ่งตรงกลางเป็นสนามหญ้าส่วนใหญ่ นิสิตจะใช้พื้นที่นี้เพื่อจัดกิจกรรมต่างๆ อยู่เป็นประจำ ส่วนพื้นที่ที่มีอากาศดีบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ คือ พื้นที่ 3 และ 5 โดยพื้นที่ 3 คือ ระหว่างอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพและตึกคณะวิทยาศาสตร์ ซึ่งเป็นบริเวณที่คณะจัดให้มีซุ้มหรือเก้าอี้สนามเพื่อให้ นิสิตได้พักผ่อนและนั่งอ่านหนังสือได้ซึ่งเหมาะสมคืออยู่แล้วมีค่าความหลากหลายของไลเคนเท่ากับ 3.29 ไลเคนที่มีจำนวนมากที่ 3 ชนิดแรก คือ *P. cocoes*, *A. punctata* และ *L. leprosa* ส่วนพื้นที่ 5 พื้นที่วงกลมภายในตึกคณะวิทยาศาสตร์เป็นพื้นที่ด้านในอยู่ห่างจากที่จอดรถจักรยานยนต์นิสิตและบริเวณนี้ไม่ได้มีการจัดกิจกรรมใดๆ จึงไม่ค่อยถูกรบกวนมีค่าความหลากหลายของไลเคนเท่ากับ 3.03 ไลเคนที่มีจำนวนมากที่ 3 ชนิดแรก คือ *A. punctata*, *L. leprosa* และ *D. aegialita* บริเวณนี้หากในอนาคตคณะต้องการเพิ่มพื้นที่ให้นิสิตมีที่อ่านหนังสือหรือนั่งพักผ่อนเพื่อเรียนในคาบถัดไปก็น่าจะเป็นตัวเลือกที่ดี ดังนั้นในการศึกษานี้ไลเคนชนิดที่เป็นชนิดทนทานคือไลเคนที่พบแพร่กระจายได้มากที่สุด ในบริเวณที่มีอากาศแย่อากาศมี 3 ชนิด คือ *D. picta* *D. aegialita* และ *P. cocoes* นอกจากนี้ยังพบว่าไลเคนที่มีการแพร่กระจายได้ดีและพบจำนวนมากที่สุด 3 อันดับแรกทั้ง 5 พื้นที่ คือ *A. punctata*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนโครงการวิจัยนี้โดยให้ใช้สถานที่ในการศึกษาวิจัยและห้องปฏิบัติการวิจัย โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจากกองทุนส่งเสริมการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยมหาสารคาม (รหัสโครงการ RSA 5880059)

เอกสารอ้างอิง

1. Papong, K. (2012). Lichen: Bioindicator for Air Pollution. *KKU Science Journal*. 40(1) 13-23. (in Thai)
2. Boonpragob, K. & Buarung, K. (2007). Lichen of Samesarn from the mountain to the sea. Bangkok. *Ramkhamheang University Press*. (in Thai)
3. Polyiam, W., Tanomjit, R., Boonpeng, C., Meesim, S. & Boonpragob, K. (2009). Lichens in the Public Parks in Bangkok and Their Indication of Environmental Quality. *Proceeding Conference of RURC 2009*. 3-4 September 2009. (in Thai)
4. Sirikul, K., Ngamniyom, A., Sriyapai, T., Thummajitsakul, S. & Silprasit, K. (2018). Application of the relationship between lichen species diversity index of atmospheric purity (IAP) and carbonmonoxide for monitoring air quality in nature based tourism Nakorn Nayok Province. *Proceeding Conference of forest 2018*. 22-24 August 2018. (in Thai)
5. Kanchanavanich, S. (2010). Air detector key for investigated lichen at Bangkok, indicator for urban air quality. *Green world foundation*. Bangkok. (in Thai)
6. Beckett, R. P. & Brown, D. H. (1983). Natural and experimentally-induced zinc and copper resistance in the lichen genus *Peltigera*. *Annals of Botany* 52: 43-50.
7. Naksuwankul, K. (2015). *Lichen Taxonomy*. Siripun (2497) Co., Ltd. Khon Kaen, 230 pp. (in Thai)
8. Nayaka, S., Upreti, D. K. & Tandon, J. (2014). Heavy metal accumulation in *Pyxine cocolos* (Sw.) Nyl. Transplanted at Kolkata city, West Bengal, India. *G- Journal of Environmental Science and Technology* 2(1): 1-5.
9. Boileau, L. J. R., Beckett, P. J., Lavoie, P., Richardson, D. H. S. & Nieboer, E. (1982). Lichens and mosses as monitors of industrial activity associated with uranium interspecies comparisons. *Experimental Pollution (Series B)* 4: 69-84.
10. Hocking, D., Kuchar, P., Plambeck, J. A. & Smith, R. A. (1978). The impact of gold smelter emissions on vegetation and soils of a sub-arctic forest-tundra transition ecosystem. *Air Pollution Control Association Journal* 28: 133-137.
11. Tomassini, F. D., Puckett, K. J., Nieboer, E., Richardson, D. H. S. & Grace, B. (1976). Determination of copper, iron, nickel, and sulphur by x-ray fluorescence in lichens from the Mackenzie Valley. Northwest Territories, and the Sudbury District, Ontario. *Canadian Journal of Botany* 54: 1591-1603.
12. Alstrup, V. & Hansen, E. S. (1977). Three lichenicolous fungi from Greenland. *Meddelelser om Gronland, Bioscience* 31: 1-90.
13. Nash, T. H. I. (1975). Influence of effluents from a zinc factory on lichens. *Ecological Monographs* 45: 183-196.
14. Lodenius, M. & Laaksovirta, K. (1979). Mercury content of Hypogymnia physodes and pine needles affected by a chlor-alkali works in Kuusankoski, SE Finland. *Annales Botanica Fennici* 16: 7-10.
15. Laaksovirta, K., Olkkonen, K. & Alakijala, P. (1976). Observations on the lead content of lichen and bark adjacent to a highway in southern Finland.
16. Takala, K., Olkkonen, H., Ikonen, J., Jääskeläinen, J. & Puumalainen, P. (1985). Total sulphur contents of epiphytic and terricolous lichens in Finland. *Annles Botanici Fennici* 22: 91-100.
17. Culbertson, C. F. (1972). Improved conditions and new data for the identification of lichen products by a standardized thin-layer chromatographic method. *Journal of Chromatography* 72: 113-125.
18. Arup, U., Ekman, S., Lindblom, L. & Mattsson, J. E. (1993). High performance thin layer chromatography (HPTLC); an improved technique for screening lichen substances. *Lichenologist* 25: 61- 71.

19. Papong, K., Boonpragob, K. & Lumbsch, H. T. (2011). *Lichen Family Lecanoraceae (Lecanorales: Ascomycota) in Thailand*. Aphichart Printing, Mahasarakham. 46 pp. (in Thai)
20. Meesim, S. & Mongkolsuk, P. (2010). Study on the crustose lichens of family Physciaceae in Thailand. *Thai Journal of Botany* 2 (special issue): 65-72.
21. Wolseley, P. A. & Aquire-Hudson, B. (1997). *Lichen of tropical forest in Thailand: A field key to characteristic epiphytic species in northern Thailand*. Botany Department, The Natural History Museum, London.
22. Muangsan, N., Suwanwaree, P., Maensiri, D., Krubphachaya, P. & Pitakpong, A. (2017). Use of lichen as an air pollution indicator in Map Ta Phut industrial estate, Rayong Province. *Research report of Suranaree University of Technology*. (in Thai)
23. Ludwig, A. J. & Reynolds, J. F. (1986). *Statistical Ecology*. John Wiley and Sons Inc., New York.
24. Chao, A., & Shen, T. (2003). Nonparametric estimation of Shannon index of diversity when there are unseen species in sample. *Environmental and Ecological Statistics* 10: 429-443.
25. Das, P., Joshi, S., Rout, J. & Upreti, D. K. (2013). Lichen diversity for environmental stress study: Application of index of atmospheric purity (IAP) and mapping around a paper mill in Barak Valley, Assam, northeast India. *Tropical Ecology* 54(3): 355-364.
26. Estrabou, C., Filippini, E., Pablo, S. J., Schelotto, G. & Rodriguez, J. M. (2011). Air quality monitoring system using lichens as bioindicators in Central Argentina. *Environ Monit Assess* 182(1-4): 375-83.

การศึกษาการสะสมโลหะหนักในแทลลัสไลเคนชนิด *Dirinaria picta* บริเวณสถานศึกษา และสวนสาธารณะในจังหวัดมหาสารคาม

อัมรินทร์ ธงจันทร์¹ รุติรัตน์ ศรีลาศักดิ์¹ รุติยา มุลมาตย์¹ ปิยะเนตร จันทร์ถิระติกุล² ปิยนุช คะณเภา¹
และขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล^{3*}

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสะสมโลหะหนักในแทลลัสไลเคนชนิด *Dirinaria picta* บริเวณสถานศึกษาและสวนสาธารณะในจังหวัดมหาสารคาม โดยกำหนดพื้นที่เก็บข้อมูลไลเคนบนต้นไม้ 5 พื้นที่ในสถานศึกษา 3 แห่ง ได้แก่ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคามและสถาบันพลศึกษาวิทยาเขตมหาสารคาม สวนสาธารณะศาลหลักเมืองและวนอุทยานชีหลง ศึกษาการสะสมโลหะหนัก 5 ชนิด ได้แก่ เหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) แมกนีเซียม (Mg) และตะกั่ว (Pb) ด้วยเทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรเมตรีและเปรียบเทียบปริมาณโลหะหนักกับกราฟมาตรฐาน ผลการศึกษาสามารถจำแนกบริเวณที่พบการสะสมโลหะหนักสูง ปานกลางและน้อย โดยพบว่าบริเวณที่มีการสะสมโลหะหนักสูงคือ มหาวิทยาลัยมหาสารคามและมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม (เหล็ก=1.175±0.08 และ 1.224±0.02 สังกะสี=0.449±0.015 และ 0.395±0.917 มิลลิกรัม/กรัม และทองแดง=11.71±2.093 และ 13.136±1.17 ไมโครกรัม/กรัม) บริเวณที่มีการสะสมโลหะหนักปานกลางคือ สถาบันสถาบันพลศึกษาวิทยาเขตมหาสารคามและสวนสาธารณะศาลหลักเมือง ส่วนบริเวณที่พบการสะสมโลหะหนักน้อยที่สุดคือ วนอุทยานชีหลงแต่พบการสะสมแมกนีเซียมมากกว่าบริเวณอื่น ตะกั่ว (Pb) เป็นโลหะหนักชนิดเดียวที่ไม่ตรวจพบการสะสมในแทลลัสไลเคนเลยในทุกพื้นที่ ดังนั้นไลเคนชนิด *D. picta* สามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดการสะสมโลหะหนักในแทลลัสเพื่อประเมินคุณภาพอากาศได้

คำสำคัญ: การสะสมโลหะหนัก, ไลเคน, *Dirinaria picta*

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

³ ภาควิชาชีววิทยาและฟิสิกส์สิ่งแวดล้อมที่มีฤทธิ์ทางยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: khwanruan.p@msu.ac.th

Study on Heavy Metal Accumulate in the Thallus Lichen of *Dirinaria picta* in Academic and Public Park at Maha Sarakham Province

Ammarin Tongjan¹ Thitirat Srilasak¹ Thitiya Moonmat¹ Piyanate Chantiratikul² Piyanut Kanema¹ and Khwanyuruan Naksuwankul^{3*}

Abstract

The objective of this study is investigate of heavy metal accumulate in the thallus lichen of *Dirinaria picta* at academic and public park in Maha Sarakham Province. Five locality collecting data; 3 academic are Mahasarakham University, Rajabhat Mahasarakham University and Institute of Physical Education Mahasarakham; City Pillar Shrine public park and Che Lung forest park. Five heavy metal accumulated were studies such as Fe, Zn, Cu, Mg and Pb by Atomic absorption spectrometry technique with compare to standard graph. The results shown 3 categories area; 1) High heavy metal accumulate, 2) Moderate heavy metal accumulate and 3) Low heavy metal accumulate. The Mahasarakham University and Rajabhat Mahasarakham University were found high heavy metal accumulated (Fe=1.175±0.08 and 1.224±0.02 Zn=0.449±0.015 and 0.395±0.917 mg/g and Cu=11.71±2.093 and 13.136±1.17 µg/g). Moderate heavy metal accumulated area is Institute of Physical Education Mahasarakham and City Pillar Shrine public park. Whereas Che Lung forest park was low heavy metal accumulated in the thallus, which found as Mg highest than other area. While Pb cannot detected in the thallus at all area. Therefore lichen species *D. picta* can be use for indicator of heavy metal accumulate in the thallus to air quality assessment.

Keywords: heavy metal accumulate, lichen, *Dirinaria picta*

¹ Department of Biology Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham Province 44150

² Department of Chemistry Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham Province 44150

³ Department of Biology and Natural Medicinal Mushroom Museum, Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham Province 44150

*Corresponding autor, email: khwanruan.p@msu.ac.th

บทนำ

ไลเคน (lichen) เป็นสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพอากาศได้ เนื่องจากโครงสร้างร่างกายหรือเรียกว่าแทลลัส มีโครงสร้างลักษณะพิเศษที่มีเฉพาะส่วนของราและสาหร่ายไม่มีสิ่งปกคลุมแทลลัสเพื่อป้องกันมลพิษหรือแสงยูวีที่สามารถทำอันตรายกับโครงสร้างร่างกายได้ [1-3] จากรายงานการวิจัยโดยเฉพาะพื้นที่ที่อยู่ในเขตเมืองหรือพื้นที่สวนสาธารณะ พื้นที่ใกล้โรงงานอุตสาหกรรมหรือนิคมอุตสาหกรรม [4-7] สามารถใช้ไลเคนประเมินคุณภาพอากาศเบื้องต้นได้ด้วยวิธีการสำรวจจำนวนชนิดและจำนวนแทลลัสของไลเคนบนเปลือกไม้ในบริเวณนั้นๆ ได้และวิเคราะห์หาค่าดัชนีความบริสุทธิ์ของอากาศหรือ Index Atmospheric Purity (IAP) [5] นอกจากนี้แทลลัสของไลเคนยังมีรายงานการสะสมโลหะหนักชนิดต่างๆ ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดง แมกนีเซียมและตะกั่ว เป็นต้น [8] สามารถใช้จำแนกกลุ่มของพื้นที่ที่มีมลพิษทางอากาศสูง ปานกลางและต่ำได้โดยการวิเคราะห์ปริมาณการสะสมโลหะหนักในแทลลัสของไลเคนได้ ดังนั้นโครงการวิจัยนี้เพื่อศึกษาปริมาณโลหะหนักเหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) แมกนีเซียม (Mg) และตะกั่ว (Pb) ที่สะสมในแทลลัสของไลเคนชนิด *Dirinaria picta* ในสถานศึกษา 3 แห่งและในสวนสาธารณะ 2 แห่งในจังหวัดมหาสารคาม ด้วยเทคนิคอะตอมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectroscopy, AAS)

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เก็บตัวอย่างไลเคนในพื้นที่ศึกษา

สำรวจและเก็บตัวอย่างแทลลัสของไลเคนชนิด *D. picta* บนลำต้นของต้นไม้ที่เลือกเป็นตัวแทน โดยกำหนดพื้นที่ออกเป็น 5 แห่ง ได้แก่ พื้นที่ในสถาบันการศึกษา 3 แห่ง คือ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (บริเวณคณะวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม (บริเวณคณะวิทยาการสารสนเทศ) สถาบันการพลศึกษา วิทยาเขตมหาสารคาม (บริเวณสนามกีฬา) และ 2 พื้นที่เป็นสวนสาธารณะ ได้แก่ สวนสาธารณะศาลหลักเมือง (บริเวณในเมืองมหาสารคาม) และวนอุทยานชีหลง (ป่าเบญจพรรณธรรมชาติและป่าปลูกยูริมีฝั่งแม่น้ำชี) เก็บแทลลัสไลเคนพื้นที่ละ 5 ซ้ำ (ต้น) ตัวอย่างละ 0.2 กรัม รวบรวมใส่ในซองกระดาษ (ภาพ 1 และภาพ 2)

การเตรียมตัวอย่างไลเคนเพื่อวิเคราะห์โลหะหนักในแทลลัส

นำตัวอย่างทั้งหมดในทุกพื้นที่ (25 ตัวอย่าง) มาทำความสะอาดใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมอื่นที่ไม่ใช่แทลลัสไลเคน เช่น เปลือกไม้ นำตัวอย่างไลเคนไปฝั่งลมประมาณ 1 ชั่วโมงแล้วนำไปชั่งน้ำหนักสด จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาจากตู้อบลมร้อนทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องสักพักแล้วนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง จากนั้นทำการบดตัวอย่างไลเคนให้เป็นชิ้นเล็กกลแล้วเก็บไว้ในขวดแห้งที่ปิดสนิทป้องกันความชื้นเพื่อนำไปย่อยด้วยกรดต่อไป

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน สารละลายที่ใช้เป็นตัวควบคุม (blank) ใช้กรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ส่วนสารละลายมาตรฐานของโลหะหนักที่ศึกษา ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดง แมกนีเซียมและตะกั่ว ใช้สารละลายความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานของโลหะความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นเก็บไว้ในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

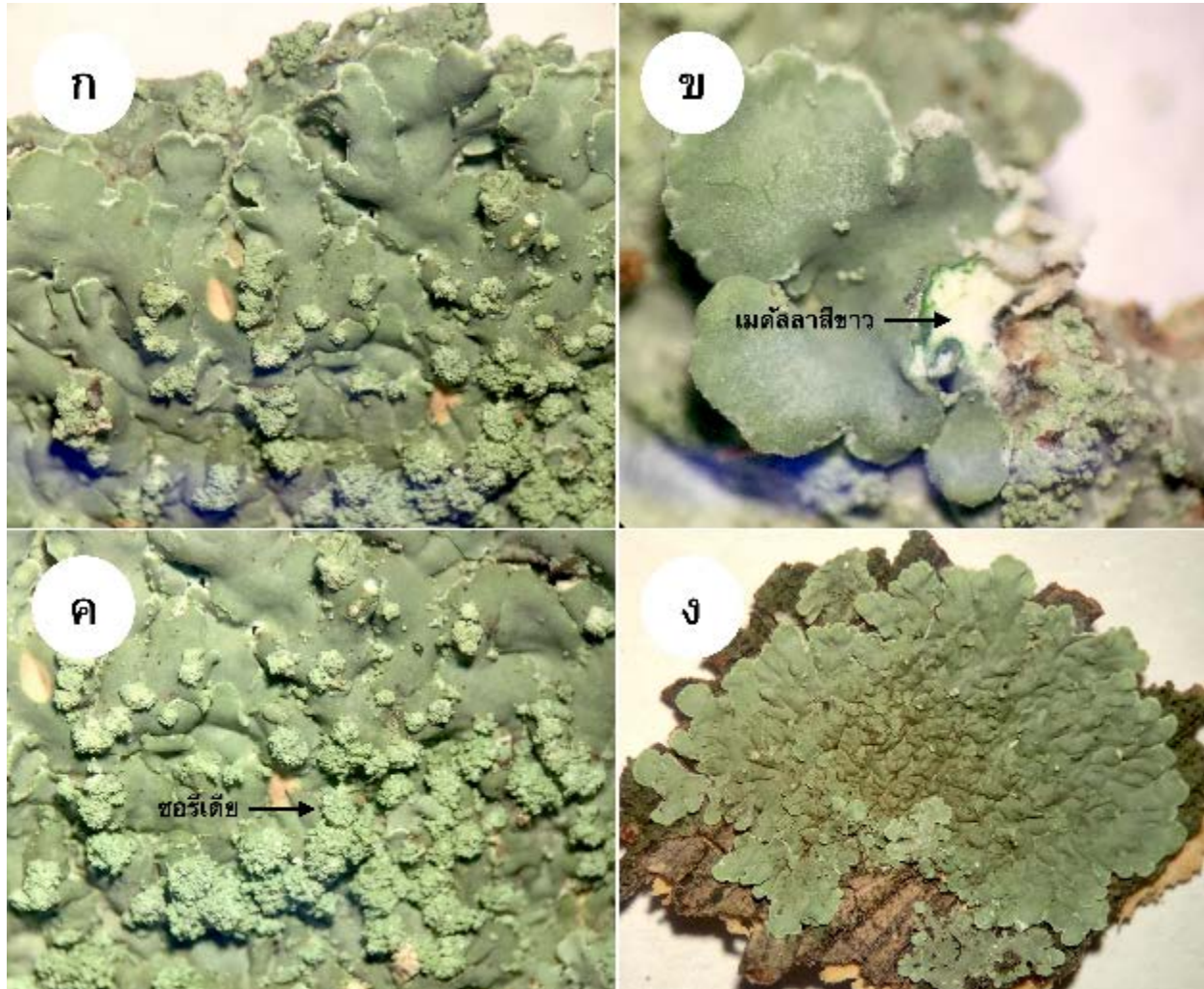


ภาพ 1 แหล่งอาศัยของไลเคนแบบโฟลิโอสชนิด *Dirinaria picta* บนลำต้นปาล์ม ก. แทลลัสไลเคนพบชอริเดี่ยวบริเวณกลาง แทลลัส ข. แทลลัสไลเคนบริเวณกลางแทลลัสชืดและตายแต่บริเวณขอบเจริญได้

การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน โดยเตรียมชุดสารละลายมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นที่ต่างกันได้แก่ เหล็ก (0.25-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) สังกะสี (0.05-0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทองแดง (0.2-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) แมกนีเซียม (0.01-0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร) และตะกั่ว (0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปรับปริมาตรสารละลายมาตรฐานด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรและเก็บในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีย่อยแทลลัสไลเคนด้วยกรดไนตริก ซึ่งนำหนักตัวอย่างไลเคนที่บดเก็บไว้เรียบร้อยแล้ว 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิดหลอดทุกตัวอย่างจากทุกพื้นที่ จากนั้นเติมกรดไนตริกเข้มข้น (65% w/v) 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที เตรียมอ่างอัลตราโซนิกเพื่อย่อยจากนั้นนำหลอดที่มีตัวอย่างไลเคนและกรดไนตริกไปย่อยในอ่างอัลตราโซนิกเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นนำออกมาตั้งพักทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำตัวอย่างไลเคนที่ย่อยเรียบร้อยแล้วมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงในขวดพลาสติกและปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยทำการทดลอง 5 ซ้ำ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโลหะ เหล็ก สังกะสี ทองแดง แมกนีเซียมและตะกั่วด้วยเครื่องอะตอมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectroscopy, AAS) โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานและสารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่างไลเคนด้วยกรดไนตริก จากนั้นเปิดเครื่องเลือก HCL ของธาตุที่ต้องการทำการวิเคราะห์ในโปรแกรมและเลือกกระแสไฟฟ้าที่ต้องใช้ บรรจุหลอดแหล่งกำเนิดแสงของธาตุเหล็ก สังกะสี ทองแดง แมกนีเซียมและตะกั่วที่ต้องการวิเคราะห์ โดยเริ่มวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานของธาตุต่างๆ ก่อนเริ่มจากค่าความเข้มข้นต่ำสุดไปหาความเข้มข้นสูงสุดซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุมหรือสารละลาย blank และสารละลายจากตัวอย่างไลเคนที่ย่อยด้วยกรดไนตริกเรียบร้อยแล้ว บันทึกผลการทดลอง



ภาพ 2 แทลลัสไลเคนชนิด *Dirinaria picta* ก. ขอบแทลลัสซ้อนทับกัน ข. เมทัลลามีสีขา ค. บริเวณกลางแทลลัสพบซอริเดียรูปร่างกลม และ ง. แทลลัสบนเปลือกไม้ไม่พบซอริเดีย

ผลการทดลอง

การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักชนิดเหล็ก สังกะสี ทองแดง แมงกานีสและตะกั่วที่สะสมในแทลลัสไลเคนชนิด *D. picta* ด้วยเทคนิคอะตอมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (AAS)

การหาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อหาสมการเส้นตรงและหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R^2) (ตาราง 1)

ตาราง 1 ช่วงความเป็นเส้นตรง สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

ชนิดของธาตุ	ช่วงความเป็นเส้นตรง	สมการเส้นตรง	R ²
เหล็ก	0.25-3.00	Y = 0.0712x + 0.0019	0.9997
สังกะสี	0.05-0.60	Y = 0.4816x + 0.0052	0.9974
ทองแดง	0.20-1.00	Y = 0.1369x + 0.0003	0.9999
แมกนีเซียม	0.01-0.15	Y = 0.2376x + 0.0003	0.9998
ตะกั่ว	0.10-2.00	Y = 0.0318x + 0.0002	0.9999

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักที่สะสมในแทลลัสไลเคนชนิด *D. picta* จากพื้นที่เก็บตัวอย่าง 5 พื้นที่ สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม โดยแบ่งตามปริมาณการพบโลหะหนักที่สะสมในแทลลัส กลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่มีการสะสมโลหะหนักในปริมาณสูงพบใน 2 พื้นที่ คือ มหาวิทยาลัยมหาสารคามและมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม โดยพบการสะสมของเหล็ก (1.175 ± 0.080 และ 1.224 ± 0.020 มิลลิกรัม/กรัม) สังกะสี (0.449 ± 0.015 และ 0.395 ± 0.071 มิลลิกรัม/กรัม) และทองแดง (11.71 ± 2.093 และ 13.136 ± 1.170 ไมโครกรัม/กรัม) (ตาราง 2) ซึ่งเป็นตัวแทนพื้นที่ที่มีมลพิษทางอากาศสูง กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่มีการสะสมโลหะปานกลางพบใน 2 พื้นที่ คือ สถาบันพลศึกษา วิทยาเขตมหาสารคามและสวนสาธารณะศาลหลักเมือง โดยพบการสะสมของเหล็ก (0.714 ± 0.031 และ 0.665 ± 0.024 มิลลิกรัม/กรัม) สังกะสี (0.226 ± 0.033 และ 0.270 ± 0.021 มิลลิกรัม/กรัม) ทองแดง (11.2 ± 2.137 และ 7.931 ± 1.120 ไมโครกรัม/กรัม) เป็นตัวแทนพื้นที่ที่มีมลพิษทางอากาศปานกลาง ส่วนกลุ่มที่จัดว่าเป็นพื้นที่ที่มีมลพิษทางอากาศต่ำ คือ วนอุทยานชีหลง ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีป่าเบญจพรรณธรรมชาติและป่าปลูกเพื่อใช้เป็นแหล่งพักผ่อนหย่อนใจพบการสะสมของเหล็ก= 0.453 ± 0.026 มิลลิกรัม/กรัม สังกะสี= 0.131 ± 0.013 มิลลิกรัม/กรัม และทองแดง= 6.358 ± 0.009 ไมโครกรัม/กรัม (ตาราง 2)

ส่วนปริมาณการสะสมแมกนีเซียมในแทลลัสไลเคนพบปริมาณกลับกันเมื่อเปรียบเทียบกับโลหะหนักชนิดอื่น คือ บริเวณที่มีมลพิษทางอากาศสูงพบปริมาณแมกนีเซียมต่ำ ส่วนบริเวณที่มีมลพิษทางอากาศต่ำกลับพบปริมาณของแมกนีเซียมสูงดังแสดงในตาราง 2 นอกจากนี้ยังพบว่าโลหะหนักตะกั่วไม่สามารถตรวจพบการสะสมในแทลลัสของไลเคนชนิด *D. picta* ในทุกพื้นที่สำรวจ ซึ่งเป็นข้อดีเนื่องจากตะกั่วเป็นโลหะหนักชนิดที่ทำให้ร่างกายเจ็บป่วยได้และส่วนใหญ่เกิดจากการเผาไหม้ของน้ำมันเชื้อเพลิง

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์โลหะหนักทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดง แมกนีเซียมและตะกั่วที่สะสมในแทลลัสของไลเคนชนิด *D. picta* พบว่าพื้นที่ที่คาดว่ามีความมลพิษทางอากาศสูงคือ พื้นที่ในสถานศึกษา 2 แห่ง ได้แก่ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (คณะวิทยาศาสตร์) และมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม (คณะวิทยาการสารสนเทศ) ซึ่งพบปริมาณเหล็ก สังกะสีและทองแดงสูงกว่าบริเวณเก็บข้อมูลอื่น อาจเนื่องมาจากปริมาณการจราจรที่คับคั่งจากจำนวนรถจักรยานยนต์ของนิสิตและปริมาณจำนวนรถยนต์ของบุคลากรในแต่ละคณะของทั้ง 2 มหาวิทยาลัย ส่วนพื้นที่ที่มีปริมาณมลพิษทางอากาศปานกลางและพบปริมาณการสะสมโลหะหนักและสังกะสีในปริมาณเท่ากับ 0.2-0.7 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งเป็นพื้นที่ในสถาบันพลศึกษาและสวนสาธารณะศาลหลักเมือง แม้ว่าจะมีการจราจรหรือมีการใช้ประโยชน์จากพื้นที่ดังกล่าวก็

ตามแต่ปริมาณต้นไม้และขนาดของต้นไม้ที่มีขนาดใหญ่และพื้นที่โล่งทำให้ปริมาณของโลหะหนักกระจายเป็นวงกว้างได้จึงสะสมในแทลลัสของไลเคนค่อนข้างน้อยกว่าในพื้นที่แรก ส่วนปริมาณการสะสมของแมกนีเซียมที่พบน้อยในพื้นที่ที่มีมลพิษทางอากาศสูงและมีปริมาณมากขึ้นในบริเวณที่มีมลพิษทางอากาศต่ำอาจเกี่ยวข้องกับปริมาณของคลอโรฟิลล์ที่อยู่ในแทลลัสของไลเคนซึ่งเป็นรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงและมีการสะสมปริมาณของแมกนีเซียมไว้มาก ส่วนโลหะหนักที่ไม่พบการสะสมในแทลลัสไลเคนชนิด *D. picta* เลยคือ ตะกั่ว ซึ่งเป็นสัญญาณที่ดีเนื่องจากไลเคนสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ตรวจสอบคุณภาพของอากาศได้ ดังนั้นหากไม่พบตะกั่วสะสมในแทลลัสของไลเคนแสดงว่าพื้นที่นั้นยังไม่ปนเปื้อนตะกั่วในชั้นบรรยากาศ ไลเคนแบบโพลีโอสหลายชนิดที่สามารถแพร่กระจายได้ในพื้นที่ที่จำแนกว่าเป็นพื้นที่ที่มีคุณภาพอากาศแย่ เช่น *D. picta* และ *Pyxine coccinea* [4, 7-8] และสามารถตรวจพบปริมาณการสะสมของโลหะหนักหลายชนิดเช่นกัน ดังนั้นการประเมินคุณภาพอากาศสามารถใช้การตรวจวัดปริมาณการสะสมโลหะหนักในแทลลัสของไลเคนได้

ตาราง 2 ปริมาณโลหะหนักหลัก สังกะสี ทองแดง แมกนีเซียมและตะกั่วที่พบสะสมในแทลลัสไลเคน

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณโลหะหนักที่พบในแทลลัสไลเคน (มิลลิกรัม/กรัม)				
	เหล็ก	สังกะสี	แมกนีเซียม	ทองแดง*	ตะกั่ว
มหาวิทยาลัย มหาสารคาม	1.175±0.080	0.449±0.015	1.126±0.077	11.71±2.093	N.D.
มหาวิทยาลัยราชภัฏ มหาสารคาม	1.224±0.020	0.395±0.071	1.800±0.101	13.136±1.170	N.D.
สถาบันพลศึกษา	0.714±0.031	0.226±0.033	1.513±0.081	11.2±2.137	N.D.
สวนสาธารณะ ศาลหลักเมือง	0.665±0.024	0.270±0.021	1.632±0.055	7.931±1.120	N.D.
วนอุทยานชีหลง	0.453±0.026	0.131±0.013	2.684±0.108	6.358±0.009	N.D.

N.D. = ไม่สามารถตรวจพบ

*ทองแดง มีหน่วยเป็นไมโครกรัม/กรัม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนโครงการวิจัยนี้โดยให้ใช้สถานที่ในการศึกษาวิจัยและห้องปฏิบัติการวิจัย โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจากกองทุนส่งเสริมการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยมหาสารคาม (รหัสโครงการ RSA 5880059)

เอกสารอ้างอิง

1. Naksuwankul, K. (2015). *Lichen Taxonomy*. Siripun (2497) Co., Ltd. Khon Kaen, 230 pp. (in Thai)
2. Papong, K. (2012). Lichen: Bioindicator for Air Pollution. *KKU Science Journal*. 40(1) 13-23. (in Thai)
3. Boonpragob, K. & Buarung, K. (2007). Lichen of Samesarn from the mountain to the sea. Bangkok. *Ramkhamheang University Press*. (in Thai)
4. Polyiam, W., Tanomjit, R., Boonpeng, C., Meesim, S. & Boonpragob, K. (2009). Lichens in the Public Parks in Bangkok and Their Indication of Environmental Quality. *Proceeding Conference of RURC 2009*. 3-4 September 2009. (in Thai)
5. Sirikul, K., Ngamniyom, A., Sriyapai, T., Thummajitsakul, S. & Silprasit, K. (2018). Application of the relationship between lichen species diversity index of atmospheric purity (IAP) and carbonmonoxide for monitoring air quality in nature based tourism Nakorn Nayok Province. *Proceeding Conference of forest 2018*. 22-24 August 2018. (in Thai)
6. Kanchanavanich, S. (2010). Air detector key for investigated lichen at Bangkok, indicator for urban air quality. *Green world foundation*. Bangkok. (in Thai)
7. Muangsan, N., Suwanwaree, P., Maensiri, D., Krubphachaya, P. & Pitakpong, A. (2017). Use of lichen as an air pollution indicator in Map Ta Phut industrial estate, Rayong Province. *Research report of Suranaree University of Technology*. (in Thai)
8. Nayaka, S., Upreti, D. K. & Tandon, J. (2014). Heavy metal accumulation in *Pyxine cocolos* (Sw.) Nyl. Transplanted at Kolkata city, West Bengal, India. *G- Journal of Environmental Science and Technology* 2(1): 1-5.



จัดทำโดย: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

<http://bio.science.swu.ac.th>

114 ซอยสุขุมวิท23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110