บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

1.1 การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* (ตอนที่ 1) : การตอบสนองของเอมบริโอต่อวุ้นอาหารที่มีองค์ประกอบของสารอนินทรีย์และอินทรีย์

การสร้างสูตรอาหารโดยใช้มันฝรั่งยืนพื้น ผสมกับมะเขือเทศหรือปุ๋ยปลา หรือรวมกันสามอย่าง ส่วนสารอนินทรีย์ที่เติมลงไปใช้ตามสูตร Mod.SH. หรือ KNO_3 มีสารอนินทรีย์เท่านั้น (ยกเว้น น้ำตาล) เป็นสูตรเปรียบเทียบ โดยสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดเคยมีการทดลองเติมลงในอาหารที่สร้างขึ้นสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ Chang (1953) ใช้ปุ๋ยปลา 1.5 ช้อนชาต่อลิตร peptone 1 ช้อนชาและน้ำตาล 5.5 ช้อนชาต่อลิตร วุ้น 9 ช้อนชาต่อลิตร เพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* Meyer (1945) ทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Laelia* และ *Cattleya* x *Laelia* ลงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยน้ำจากผลมะเขือเทศผสมน้ำ ในอัตราส่วน 1:1 และวุ้น เท่านั้น นับว่าเป็นสูตรอาหารเพาะเมล็ดกล้วยไม้ที่มีส่วนประกอบน้อยที่สุด เป็นที่สังเกตว่าทั้ง Chang (1953) และ Meyer (1945) มิได้รายงานว่าสูตรอาหารที่สร้างขึ้นทำให้การเจริญของกล้วยไม้ดีกว่าสูตรอาหารของ Knudson (1922) หรือ Vacin and Went (1949) หรือไม่ Vajrabhaya et al. (1994) พบว่าการเติมเพียง KNO_3 หรือ $NaNO_3$ ลงในวุ้นอาหารที่ใส่มันฝรั่งกับน้ำตาลก็ให้ผลการทดลองดีเท่ากับ สูตรที่มีการเติม Mod.SH. กับมันฝรั่งลงไป ยิ่งกว่านั้นน้ำหนักสดและความสูงของต้นอ่อนมากกว่าพวกที่อยู่ในวุ้นอาหาร Mod. SH. ที่ไม่มีมันฝรั่งอย่างน้อยสามเท่า แสดงว่ามันฝรั่งขาดอนุมูล NO_3^- เท่านั้น ฉะนั้นการที่ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* เจริญได้ดีกว่าในสูตร Mod.SH. มากน่าจะเป็นสารอินทรีย์อื่นคือ thiamine, riboflavin, ascorbic acid และ amino acid อีกหลายชนิด (ภาคผนวก)

ผลการทดลองปรากฏว่าในสูตรที่ 10, 11, 12 มีน้ำหนักสดและความสูงมากที่สุด เรียงจากมากไปหาน้อยตามลำดับ ส่วนจำนวนใบ ความยาวราก จำนวนราก ระดับของการงอกของเมล็ดและระดับการพัฒนาของต้นอ่อนไม่ต่างกัน ทั้งสามสูตรมีสารอินทรีย์รวมกันสามอย่างในปริมาณที่เท่ากัน แต่แตกต่างกันที่ระดับของสารประกอบอนินทรีย์ สูตรที่ 10 มีสารประกอบอนินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของสูตรอาหาร Mod.SH. ที่ให้ธาตุทั้งในกลุ่มธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองรวม

กัน 16 ธาตุ ในขณะที่สูตร 11 มีเพียง KNO_3 ซึ่งให้เพียงธาตุกลุ่ม Macro เพียง 2 ธาตุ เท่านั้น ส่วนสูตรที่น่าสนใจที่สุดคือสูตรที่ 12 ซึ่งไม่มีการเติมสารประกอบอนินทรีย์เลย แสดงว่าสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดที่เลือกใช้ มีปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นอ่อนในระยะแรกอย่างเพียงพอในสภาพปลอดเชื้อ โดยมิต้องอาศัยการเสริมธาตุอาหารจากสารอนินทรีย์ใดเลยก็ได้ แต่เมื่อเติม KNO_3 ลงไป (สูตรที่ 11) ทำให้ทั้งน้ำหนักสดและความสูงเพิ่มขึ้น และได้ผลสูงสุดเมื่อเติม Mod.SH. ซึ่งมีธาตุอาหารจากสารอนินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก 2 ธาตุ เป็น 16 ธาตุ จากการทดลองพบว่าทุกสูตรอาหารที่มีสารอินทรีย์ทั้งสามประกอบอยู่ เมล็ดกล้วยไม้มีการเจริญและการงอกที่ดีกว่าสูตรอาหาร Mod.SH. ซึ่งมีเพียงน้ำตาลที่เป็นสารอินทรีย์เท่านั้นทุกสูตร แม้ว่าสูตรอาหารนั้นจะเป็นสูตรที่ประกอบไปด้วยสารอินทรีย์เท่านั้นก็ตาม (สูตรที่ 6, 9, 12) แสดงว่าสารอินทรีย์สองหรือสามชนิดรวมกันสามารถทดแทนธาตุอาหารอนินทรีย์ได้ และได้ผลดีกว่าสูตรอาหารอนินทรีย์ Mod.SH. เป็นที่สังเกตว่าการใช้มันฝรั่งอย่างเดียวไม่สามารถทำให้ต้นอ่อนเจริญได้ตามปรกติ (สิวลัย, 2537)

สูตรอาหารที่ 12 จากการทดลองนี้เป็นสูตรอาหารอินทรีย์ซึ่งไม่มีองค์ประกอบเป็นสารอนินทรีย์ใดๆเลย สูตรอาหารนี้มีรูปแบบคล้ายกับสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ระยะแรก ในปี 1909 Bernard ทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพไม่มีเชื้อราสำเร็จเป็นครั้งแรกในสูตรอาหารอินทรีย์ที่ประกอบด้วย salep กับวุ้นเท่านั้น (1909 อ้างถึงใน Withner,1959) ในปี 1922 Knudson นอกจากจะได้สร้างสูตรอาหารอนินทรีย์สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้ขึ้น แล้วยังได้ทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลงในอาหารที่ประกอบด้วย ซูโครส วุ้น และสารอินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติละลายน้ำ ซึ่งสกัดจากส่วนต่างๆของพืชและสัตว์ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ที่เพาะลงในสูตรอาหารอินทรีย์ทุกสูตรสามารถเจริญได้ดี (Knudson,1922) ภายหลังจากนั้นการสร้างสูตรอาหารอินทรีย์ก็ไม่ได้มีการพัฒนาอย่างจริงจัง หรือเมื่อมีการสร้างขึ้นก็ไม่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างเพียงพอ (Carman, 1994) อาจเนื่องมาจากอิทธิพลการค้นพบสูตรอาหารอนินทรีย์ของ Knudson ในปี 1922 ได้กระตุ้นให้เกิดความสนใจในสูตรอาหารอนินทรีย์ ซึ่งเป็นสิ่งแปลกใหม่ในขณะนั้นมากกว่าสูตรอาหารอินทรีย์จึงถูกละเลยไป สารอินทรีย์ในสูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะหลัง จึงมีบทบาทเป็นเพียงสารที่เติมลงไปในสูตรอาหารเพียงเพื่อส่งเสริมการเจริญของพืชเท่านั้น ซึ่งผู้ที่ใช้สารอินทรีย์ในบทบาทนี้เป็นคนแรกก็คือ Knudson นั่นเอง

ในการทดลองนี้ พบว่าเมื่อใช้มันฝรั่งซึ่งเป็นลำต้นใต้ดิน ผลมะเขือเทศ (เป็นวงศ์เดียวกันกับมันฝรั่ง) และปุ๋ยปลาซึ่งทำจากสัตว์น้ำ แยกหรือรวมกันเพื่อเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Dendrobium* พบว่าให้ผลดีที่สุดเมื่อใช้สารอินทรีย์ทั้งสามชนิดรวมกันในสัดส่วนที่พอเหมาะ ตามที่ปรากฏในสูตรอาหารที่ 12 ตารางที่ 6 รองลงมาคือสูตรอาหารสูตรที่ 6 ซึ่งมีส่วนผสมของมันฝรั่งและปุ๋ยปลา มีน้ำหนักสด ความสูง และจำนวนใบเท่ากับต้นที่อยู่ในสูตรอาหารที่ 12 แต่ความยาวราก และจำนวน

รากต่อต้นน้อยกว่า ส่วนสูตรอาหารที่ 9 ซึ่งมีส่วนผสมของมันฝรั่ง กับมะเขือเทศ ซึ่งมีจำนวนใบต่อต้นเท่ากับสูตรอาหารที่ 12 แต่น้ำหนักสด ความสูง ความยาวรากและจำนวนรากต่อต้น น้อยกว่าสูตรอาหารที่ 12

เป็นที่น่าสังเกตว่าระดับการงอกของเมล็ด และระดับของการพัฒนาของต้นอ่อน เมื่อครบ 75 วัน ในสูตรอาหารที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรอาหารเปรียบเทียบอยู่เพียงระดับที่ 2 (เอมบริโอเจริญมีขนาดใหญ่ สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า ว่ามีสันฐานเป็นโปรโตคอร์ม) ระดับการงอกของเมล็ด ระดับการพัฒนาของต้นอ่อน น้ำหนักสด ความสูง จำนวนใบต่อต้น, ความยาวรากและจำนวนรากต่อต้น ที่อยู่ในสูตรอาหารที่ 2, 3, 4, 5, 7, 8 อยู่ในระดับต่ำมาก ไม่สมควรพิจารณาปรับปรุงอีกต่อไป นอกจากนี้พบว่าเมล็ดที่เพาะในสูตรอาหารที่มีสารอินทรีย์เป็นส่วนผสม (สูตรที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) เมล็ดมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว มีระยะโปรโตคอร์มที่สั้นกว่าเมล็ดที่เพาะในสูตรอาหารอนินทรีย์ (สูตรที่ 1) มาก พบว่าสารในมันฝรั่งและมะเขือเทศสามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เจริญได้ดีขึ้น (อ้างถึงใน Zeigler et al., 1967) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ amino acid และวิตามินบางชนิดในสารอินทรีย์กระตุ้นเมล็ดกล้วยไม้ให้มีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว (Spoerl,1948 อ้างถึงใน Zeigler et al., 1967) ส่วนสูตรที่ดีที่สุดในขณะนี้คือ สูตรที่ 10 แต่ยังต้องอาศัยการเติมสารอนินทรีย์ถึง 16 ชนิด ทำให้การเตรียมอาหารยุ่งยาก ในขณะที่ธาตุอาหารส่วนมาก มีอยู่ในสารอินทรีย์อย่างพอเพียงแล้ว และยังมีสารอินทรีย์ที่เร่งการเจริญของต้นอ่อน เช่น วิตามินบี1, niacin และ amino acid ต่างๆอีกมาก

ฉะนั้นสูตรอาหารที่จะพัฒนาต่อไปได้คือ สูตรอาหารที่ 6, 11 และ 12 ซึ่งสูตรอาหารที่ 6 และ 12 เป็นสูตรที่ใช้สารอินทรีย์เพียง 2 และ 3 ชนิด ซึ่งอาจเพิ่มสารอินทรีย์อื่น หรือสารอนินทรีย์อีกเล็กน้อยก็อาจได้ผลเท่าเทียมกับสูตรที่ 10 (สูตรที่ดีที่สุด) หรือพัฒนาสูตรที่ 11 ซึ่งมีสารอินทรีย์ 3 ชนิด และสารอนินทรีย์หนึ่งชนิดเท่านั้น อาจพัฒนาเป็นสูตรที่ใช้องค์ประกอบน้อยและเตรียมง่าย ซึ่งคาดว่าจะได้ผลเท่ากับหรือดีกว่าสูตรที่ 10 ในปัจจุบัน

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1–12 จาก ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 6 แผนภูมิที่ 1-5 หน้า 21-27

1.2 <u>การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล</u> *Dendrobium* (ตอนที่ 2)

: ความเข้มข้นของปุ๋ยปลา

การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์ โดยเพิ่มความเข้มข้นของปุ๋ยปลาขึ้นจากสูตรอาหารกลุ่มที่ดีที่สุด (สูตรอาหารที่ 10, 11, 12) เป็นสูตรอาหารที่ 13 ถึง 21 ซึ่งมีปุ๋ยปลา 4, 8, 16 มิลลิลิตรต่อลิตร (ตารางที่ 2) และเทียบกับสูตรอาหารที่ 10, 11, 12 ที่มีปุ๋ยปลา 2 มิลลิลิตรต่อลิตร (ตารางที่ 1)

ผลปรากฏว่า เมื่อความเข้มข้นของปุ๋ยปลาเป็น 16 มิลลิลิตรต่อลิตร ไม่ว่าองค์ประกอบอื่นในสูตรอาหารจะเป็นอย่างไรเมล็ดไม่สามารถงอกได้ แต่ในระดับความเข้มข้นของปุ๋ยปลาที่ 4 และ 8 มิลลิลิตร เอมบริโอสามารถพัฒนาได้ถึงระดับที่ 5 (เอมบริโอเจริญมีสีเขียวมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อน, มีใบและรากปรกติ) การที่เอมบริโอไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ เมื่อความเข้มข้นของปุ๋ยปลาเพิ่มขึ้นเป็น 16 มิลลิลิตรต่อลิตร อาจเป็นเพราะสารบางชนิดที่อยู่ในปุ๋ยปลามีความเข้มข้นมากเกินไปจนเป็นอันตรายจนเป็นอุปสรรคต่อการพัฒนาของต้นอ่อน หรือทำให้สภาพของวุ้นอาหารเปลี่ยนไปเป็นสภาพที่เหลวกว่าเมื่อมีปุ๋ยปลาน้อยกว่าก็ได้

การเจริญของต้นอ่อนเมื่อเพิ่มปุ๋ยปลาเป็น 4 และ 8 มิลลิลิตรต่อลิตร ในสูตรที่ 10, 11 (สูตรที่ 13,14) ปรากฏว่าการเจริญของต้นอ่อน ไม่ว่าจะเป็นน้ำหนักสด ความสูง จำนวนใบต่อต้น, ความยาวรากและจำนวนรากต่อต้น ไม่เพิ่มขึ้น และบางกรณีลดลงกว่าพวกที่อยู่ในสูตรที่ 10, 11 เมื่อเทียบระหว่างสูตรที่ไม่มีสารอนินทรีย์ (สูตรที่ 12, 20 และ 21) ต้นอ่อนตอบสนองต่อการเพิ่มปุ๋ยปลา คล้ายกับพวกที่มีสารอนินทรีย์ข้างต้น ยกเว้น ความสูงของต้นอ่อนเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปุ๋ยปลาเป็น 4 และ 8 มิลลิลิตร (สูตรที่ 19 และ 20) และความยาวรากลดลงเมื่อมีปุ๋ยปลา 8 มิลลิลิตร

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการเพิ่มปุ๋ยปลาจาก 2 เป็น 4 และ 8 มิลลิลิตร ไม่ว่าจะมีสารอนินทรีย์หรือไม่ มีความแตกต่างกันน้อยมาก แต่ถ้าเพิ่มขึ้นมากกว่านั้นกลับทำให้เกิดการยับยั้งต่อการพัฒนาต้นอ่อนให้เป็นต้นที่สมบูรณ์

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 13-21 ตารางที่ 2 หน้า 15

-ผลการทดลอง ตารางที่ 7 แผนภูมิที่ 6-10 หน้า 28-32

2. <u>การทดสอบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุล</u> *Brassocattleya, Rhynchostylis, Spathoglottis, Vanda* <u>ในสูตรอาหารใหม่</u>

2.1 <u>การทดสอบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุล</u> *Brassocattleya* <u>ในสูตรอาหารใหม่</u>

จากผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารสูตรที่ให้ผลดีที่สุดในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ คือสูตรที่ 12, 10, 11 ตามลำดับ สูตรอาหารทั้งสามมีสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดคือ มันฝรั่ง, มะเขือเทศ และปุ๋ยปลา เป็นส่วนประกอบหลัก โดยมีระดับสารอนินทรีย์ที่แตกต่างกัน แต่ทั้งสามสูตรให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันมากนัก แสดงว่าสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดคือ มันฝรั่ง, มะเขือเทศ, ปุ๋ยปลา, มีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Brassocattleya* และมีปริมาณที่เพียงพอ โดยไม่ต้องเติมสารประกอบอนินทรีย์เพิ่ม

สูตรอาหารสูตรที่ 12 เป็นสูตรที่มีความเข้มข้นของสารอาหารต่ำกว่าสูตรอื่น ประกอบด้วยสารอินทรีย์เพียงสามชนิด Yoneda et al. (1979,1989; อ้างถึงใน Arditti and Ernst, 1993) พบว่าการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มและต้นอ่อนของกล้วยไม้สกุล *Cattleya* เกิดได้ดีในสูตรอาหารเติมน้ำของมันฝรั่ง และนอกจากนี้ Ichihashi and Kako พบว่าเนื้อเยื่อของกล้วยไม้สกุล *Cattleya* เจริญได้ดีในสูตรอาหาร RM (Ichihashi and Kako,1973 อ้างถึงใน Arditti and Ernst, 1993) ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารต่ำ Poole and Seeley (1987 อ้างถึงใน Poole and Sheehan, 1982) ทดลองเลี้ยงกล้วยไม้สามสกุล คือ *Cattleya, Cymbidium, Phalaenopsis* ด้วยสารอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ต่างกันพบว่า กล้วยไม้สกุล *Cymbidium* และ *Phalaenopsis* ต้องการไนโตรเจนสูงระดับ 100 มิลลิลิตรต่อลิตรสำหรับการเจริญที่ดี เมื่อสารละลายมีปริมาณไนโตรเจนไม่พอกับความต้องการของกล้วยไม้ กล้วยไม้มีจำนวนใบ, จำนวนราก และน้ำหนักสดลดลง เมื่อเลี้ยงในสารละลายไนโตรเจนต่ำมากพบว่าปลายใบเปลี่ยนเป็นสีดำและตาย แต่ในทางตรงกันข้ามกล้วยไม้สกุล *Cattleya* เมื่อให้สารละลายที่มีปริมาณธาตุไนโตรเจนต่ำเพียง 50 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้กล้วยไม้เจริญสูงสุด ซึ่งดีกว่าเลี้ยงด้วยสารละลายที่ปริมาณไนโตรเจนสูง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองสรุปว่าสูตรอาหารสูตรที่ 12 เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดมากที่สุด สูตรอาหารดังกล่าวนอกจากจะให้ผลการทดลองดีที่สุดแล้ว ยังเป็นสูตรที่เตรียมง่าย และประหยัดที่สุดในสามสูตรข้างต้น ยังไม่เคยมีรายงานผลการทดลองที่คล้ายกับการทดลองนี้มาก่อน

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 8 แผนภูมิที่ 11-15 หน้า 33-37

2.2 <u>การทดสอบการงอกของเมล็ด *Rhynchostylis gigantea* ในสูตรอาหารใหม่</u>

จากผลการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Rhynchostylis gigantea* พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร Mod.SH. (สูตรที่ 1) เอมบริโอส่วนใหญ่มีการเจริญเพิ่มขนาดขึ้น เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายภายใน 4 สัปดาห์ มีเอมบริโอบางส่วนที่สามารถเจริญต่อไปได้ แต่ในช่วงเวลา 90 วัน ระดับการพัฒนาระดับที่ 1 (เอมบริโอเจริญมีสีเขียวมีขนาดเล็ก ยังไม่พัฒนาถึงขั้นมีใบ) สรุปได้ว่าเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Rhynchostylis* มีอัตราการงอกในอาหารสูตร Mod.SH. ต่ำ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้แต่ละชนิดมีความสามารถในการงอกแตกต่างกันแม้ว่าจะเพาะในสูตรอาหารที่เหมือนกัน แต่ความสามารถในการงอกและการเจริญแตกต่างกันไป (Arditti et al.,1982) เช่น การทดลองเพาะเมล็ด *Anacamptis pyramidalis* และ *Barlia longibracteata* ในสูตรอาหาร FN ซึ่งเป็นสูตร

อาหารสำหรับเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ยุโรป พบว่าเมล็ด *Anacamptis pyramidalis* ไม่งอกในสูตรอาหารอนินทรีย์ FN แต่เมล็ด *Barlia longibracteata* สามารถงอกได้และให้ผลการงอกอยู่ในระดับดีมาก (Fast,1978 อ้างถึงใน Arditti et al.,1982)

จากผลการทดลองเพาะเมล็ดในสูตรที่ 2, 3 ซึ่งมีมันฝรั่งเป็นองค์ประกอบพบว่าเอมบริโอบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด ส่วนที่รอดมีการพัฒนาเป็นแคลลัส และเจริญอย่างรวดเร็ว สูตรที่ 12 ซึ่งมีสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดรวมกันแต่ไม่มีสารอนินทรีย์เอมบริโอพัฒนาเป็นแคลลัสทั้งหมด แต่ระดับของการงอกสูงกว่าสูตรที่ 2, 3 สูตรที่ 11 มีสารอินทรีย์เหมือนสูตรที่ 12 แต่เติม KNO_3 ลงไปด้วย เอมบริโอเจริญเป็นต้น แต่ไม่มีราก จากผลการทดลองพบว่าเมล็ดกล้วยไม้ได้รับสารอาหารจากสูตรที่ 2, 3, 11, 12 แล้ว ทำให้เกิดการพัฒนาที่ผิดปรกติไป สูตรที่ 10 เอมบริโอมีการเจริญและพัฒนาอย่างรวดเร็วเป็นต้นอ่อนที่มีใบและรากสมบูรณ์ ซึ่งเป็นสูตรที่ให้ผลการงอกดีที่สุด

จะเห็นได้ว่าสูตรอาหารทั้ง 4 สูตรมีองค์ประกอบแตกต่างกัน นอกจากนี้สูตรอาหารทุกสูตรไม่มี growth regulator เป็นส่วนประกอบ แต่ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันอย่างมาก เนื่องมาจากส่วนประกอบของอาหารที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของเมล็ด ในปี 1994 Carman ศึกษาผลการเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ พบว่าเนื้อเยื่อเจริญมีการพัฒนาที่ผิดปรกติเมื่อได้รับปัจจัยทางสรีระที่ไม่เหมาะสม ซึ่งการได้รับสารอาหารที่ไม่เหมาะสมก็กระตุ้นให้เกิดการพัฒนาที่ผิดปรกติได้ (Carman,1994) คาดว่าผลการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้แล้วมีการพัฒนาผิดปรกติมีมากพอควรแต่มักไม่ค่อยได้รับความสนใจค้นคว้าถึงสาเหตุ ในปี 1967 Zeigler และคณะ ทดลองเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสม *Cattleya x Laelia* แล้วพบว่าต้นอ่อนของกล้วยไม้มีการพัฒนาที่ผิดปรกติเป็นรูปแบบ amorphous tissue ในสูตรอาหารที่ไม่มีการเติม growth regulator แต่มี amino acid หลายชนิดและในปริมาณสูง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการพัฒนาที่ผิดปรกติไปได้ (Zeigler et al.,1967)

จากผลการทดลองสูตรอาหารที่ให้ผลการทดลองเป็นแคลลัส (สูตรที่ 2, 3, 12) และสูตรที่มีการเจริญส่วนของต้น แต่ไม่มีราก (สูตรที่ 11) ถือเป็นสูตรอาหารที่ให้การพัฒนาที่ผิดปรกติ คาดว่าเกิดจากความไม่สมดุลระหว่าง amino acid จากสารอินทรีย์ กับปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีในอาหาร 2 ชาตุ ก่อให้เกิดความผิดปรกติมากกว่าสาเหตุอื่น แต่สูตรอาหารที่ 10 เป็นสูตรอาหารที่มี amino acid หลายชนิดและปริมาณสูงจากสารอินทรีย์ทั้งสามชนิด และมีสารประกอบอนินทรีย์ที่ประกอบด้วย 16 ชาตุ ในปริมาณและสัดส่วนที่เหมาะสม จึงมีการพัฒนาปรกติ

สรุปว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ด *Rhynchostylis gigantea* คือสูตรอาหารสูตรที่ 10 เพราะนอกจากเป็นสูตรที่งอกเร็วแล้ว ยังเป็นสูตรที่เมล็ดมีการพัฒนาเป็นปรกติ ส่วนสูตรอาหารที่ 12 เป็นสูตรที่น่าจะพัฒนาใช้ประโยชน์ต่อไปได้ เพราะสามารถทำให้เมล็ด *Rhynchostylis gigantea* พัฒนาเป็นแคลลัสโดยไม่ต้องอาศัย growth regulator และมีอัตราการ

งอกสูง ควรใช้เป็นสูตรอาหารชักนำแคลลัสจากเมล็ด และทดลองใช้สูตรอาหารนี้ชักนำแคลลัสจากเนื้อเยื่อเจริญต่อไป เป็นที่น่าสังเกตว่าสูตรอาหารที่ 12 เหมาะสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Brassocattleya* โดยไม่เกิดแคลลัสเลย

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 9 แผนภูมิที่ 16-20 หน้า 38-41

2.3 การทดสอบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* ในสูตรอาหารใหม่

จากผลการเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* พบว่าเมล็ดกล้วยไม้สามารถเจริญ ในอาหาร Mod.SH.(สูตรที่ 1) เท่านั้น ในสูตร 2, 3, 10, 11, 12 ซึ่งทุกสูตรมีสารอินทรีย์ เมล็ดงอกได้ แต่ยังไม่มีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม เอมบริโอเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หลั่งสารสีน้ำตาลออกมารอบๆ และตายในที่สุด คล้ายกับการเกิด medium blackening ที่เกิดจากการปล่อยสารประเภท phenolic จากชิ้นส่วนของพืชที่มีรอยแผล สารกลุ่ม phenolic แพร่กระจายในอาหารทำให้เกิดพิษเป็นสาเหตุให้ชิ้นส่วนของพืชเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (Morel,1974;Flamee and Boesman,1977;Fast,1979 อ้างถึงใน Arditti and Ernst,1993) ปรากฏการณ์นี้มีรายงานว่าพบมากในกล้วยไม้บางกลุ่ม เช่น ในการชักนำใบ *Phalaenopsis* ให้เกิดโปรโตคอร์ม (Tanaka and Sakanishi, 1980; Tanaka, 1987อ้างถึงใน Arditti and Ernst, 1993), การเลี้ยงปลายยอด *Cattleya* (Kako, 1973; Ichihashi and Kako, 1977; Ishii, 1980 อ้างถึงใน Arditti and Ernst, 1993) แต่จากผลการทดลองพบว่าสารสีน้ำตาลหรือดำ คาดว่าเป็นสารจำพวกฟีนอล (phenol) ปล่อยออกมาจากเอมบริโอที่มีการเจริญในระยะแรก และเกิดขึ้นเฉพาะในส่วนเมล็ดที่เพาะในสูตรอาหารอินทรีย์เท่านั้น (สูตรที่ 2, 3, 10, 11, 12) เป็นที่น่าสังเกตว่าทุกสูตรที่มีมันฝรั่งเป็นองค์ประกอบ การตายที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากสารประกอบภายใน มันฝรั่งที่ปั่นเป็นเนื้อเดียว มีสารพิษไม่ทราบชนิด ที่มีผลทำให้เอมบริโอหลั่งสารสีน้ำตาลออกมา และทำให้เอมบริโอตายก่อนเปลี่ยนเป็นโปรโตคอร์ม นอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับสารอินทรีย์บางชนิดที่เติมในอาหาร บางชนิดมีผลยับยั้งการเจริญของพืชเช่น กล้วยหอมสุกปั่นเป็นเนื้อเดียว มีสารพิษที่ไม่มีสีที่ไม่ทราบว่าเป็นชนิดใด ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของต้นอ่อน *Phalaenopsis* (Pierik, van Nieuwkerk and Hendriks, unpublished อ้างถึงใน Pierik, 1987)

การรายงานเกี่ยวกับการหลั่งสารจำพวกฟีนอลพบในการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีแผลในอาหารอนินทรีย์ไม่ใช่เกิดจากปล่อยสารจำพวกฟีนอลจากเอมบริโอ การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การเลี้ยงเอมบริโอของกล้วยไม้บางชนิดในหลอดแก้ว มีปัญหาในการสร้างสารจำพวกฟีนอลขณะงอกเมื่อเลี้ยงในสารอาหารอนินทรีย์ เมล็ดกล้วยไม้บางสกุล ขณะเมล็ดกำลังงอกจะปล่อยสารที่เป็นพิษ

ออกมาเพื่อทำลายสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่รอบๆ เนื่องจากความสัมพันธ์แบบการแข่งขัน (Withner,1956) แต่ในสภาพการทดลองนี้ คาดว่าสารอินทรีย์อาจไปกระตุ้นให้เอมบริโอของกล้วยไม้หลั่งสารจำพวกฟีนอลออกมา อาจเกิดจากในธรรมชาตินั้น สารอินทรีย์ที่กล้วยไม้ได้รับมาจากเชื้อรา หากได้รับปริมาณสารอินทรีย์สูงๆอาจไปกระตุ้นการสร้างสารจำพวกฟีนอลออกมาเพื่อยับยั้งการเจริญของราเพื่อให้เชื้อรามีปริมาณที่สมดุล ดังนั้นการหลั่งสารจำพวกฟีนอลในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องมาจากสารอินทรีย์ในสูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อมีปริมาณสูงพอที่จะกระตุ้นให้กล้วยไม้หลั่งสารจำพวกฟีนอลออกมา สารที่หลั่งออกมาจะตกค้างอยู่ในวุ้นอาหาร ทำให้เอมบริโอตายเมื่อดูดอาหารเข้าไป ซึ่งในธรรมชาติเป็นไปได้ว่าฝนและน้ำค้างจะชะสารฟีนอลที่กล้วยไม้ปล่อยออกมา ทำให้สารไม่ตกค้างจนเกิดพิษต่อกล้วยไม้

จากการทดลองนี้สูตรอาหารที่ใช้เพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* ได้สูตรเดียวคือ สูตรอาหารอนินทรีย์ Mod.SH. ซึ่งประกอบด้วยสารอนินทรีย์ยกเว้นน้ำตาล

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 10 หน้า 42-43

2.4 <u>การทดสอบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสม</u> *Vanda* x Miss Joaquim <u>ในสูตรอาหารใหม่</u>

จากผลการทดลองสูตรอาหาร Mod.SH. งอก แต่ช้ามากเมื่อเทียบกับการเจริญในอาหารสูตรอื่น และสูตรที่ 3 เมล็ดกล้วยไม้ตาย ซึ่งอาจเกิดจากมีสารอาหารไม่เหมาะสมในการงอก สูตรที่ 3 เป็นสูตรอาหารที่ประกอบด้วย KNO_3 กับมันฝรั่ง สูตรอาหารที่ 2 เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ดี อาจเนื่องจากมันฝรั่งอาจมีสารอินทรีย์ที่กระตุ้นให้การงอกเกิดได้ดี แต่การงอกต้องอาศัยสารบางชนิด และสารนั้นเป็นส่วนประกอบส่วนหนึ่งในสูตรอาหาร Mod.SH. สูตรที่ 12 เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ อาจเป็นเพราะสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดสามารถตอบสนองความต้องการสารอาหารได้อย่างเพียงพอ โดยไม่จำเป็นต้องเติมสารอนินทรีย์เพิ่ม แสดงว่าสารอินทรีย์เพียงสามชนิดคือ มันฝรั่ง, มะเขือเทศ และปุ๋ยปลา สามารถทำให้เมล็ดงอกได้โดยไม่ต้องการสารอนินทรีย์เพิ่ม ดังนั้นเมล็ดที่เพาะในสูตรอาหารสูตรที่ 10, 11 จึงให้ผลการทดลองดีมาก อาจเนื่องจากสารอนินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นไปสนับสนุนการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นอ่อน สูตรอาหารที่ให้ผลการเจริญดีที่สุดคือสูตรที่ 10 พบว่าสูตรอาหารที่ให้ผลรองลงมาโดยให้ผลต่างจากสูตรดีที่สุดเล็กน้อย คือสูตรที่ 2, 11, 12 เป็นสูตรที่ต้นอ่อนมีความสูง จำนวนใบ, ความยาวราก, จำนวนราก เท่ากัน แต่แตกต่างกันที่น้ำหนักสดเท่านั้น Penningsfeld (1970,1973,1980 อ้างถึงใน Poole and Sheehan, 1982) พบว่ากล้วยไม้บางสกุลบางช่วงของการเจริญมีความอ่อนไหวต่อปริมาณและชนิดของสารในอาหาร

ทำให้ผลการเจริญเปลี่ยนแปลงชัดเจนเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของอาหารเช่น *Dendrobium* และ *Phalaenopsis* แต่พบว่ากล้วยไม้บางสกุลมีช่วงของปริมาณสารที่เหมาะสมกว้างกว่าทำให้ผลการตอบสนองเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารไม่ชัดเจน จากผลการทดลองกล้วยไม้สกุล *Vanda* นั้นในสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบต่างกันมาก แต่ให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกัน แสดงว่ากล้วยไม้สกุลนี้ในระยะเพาะเมล็ดมีความอ่อนไหวน้อยต่อองค์ประกอบของอาหารเมื่อได้รับอาหารเพียงพอ

ดังนั้นการเพาะเมล็ดอาจเลือกใช้สูตรอาหารที่รองลงมาได้เพื่อการประหยัด และการเตรียมอาหารสามารถทำได้ง่ายขึ้น

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 11 แผนภูมิที่ 21-25 หน้า 44-47

2.5 <u>การทดสอบการงอกของเมล็ด</u> *Vandopsis lissochiloides* <u>ในสูตรอาหารใหม่</u>

จากผลการทดลองพบว่าเมล็ดกล้วยไม้ในสูตรอาหารสูตรที่ 1, 2, 3, 11, 12 เมล็ดกล้วยไม้ไม่สามารถงอกได้ อาจเนื่องมาจากสารสีดำที่เมล็ดกล้วยไม้ปล่อยออกมาขณะเมล็ดงอก ซึ่งทำให้เอมบริโอไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้และตายในที่สุด ในสูตรอาหารที่ 10 เอมบริโอพัฒนาเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว ทำให้ระยะเอมบริโอสั้นกว่าเมล็ดที่เพาะในสูตรอาหารอื่น คาดว่าระยะที่เอมบริโอกำลังงอกเป็นระยะที่เมล็ดกล้วยไม้มีความอ่อนไหว หากมีการเจริญพ้นระยะนี้กล้วยไม้สามารถเจริญไปเป็นต้นได้ สารสีดำที่กล้วยไม้หลั่งออกมาพบในสูตรอาหารทุกสูตร ทั้งอาหารที่มีองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์สารอนินทรีย์และทั้งสองชนิดปนกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารสีดำที่ปล่อยออกมานั้นเป็นธรรมชาติของกล้วยไม้เอง นอกจากนี้ยังพบว่ากล้วยไม้บางสกุลเมล็ดขณะที่กำลังงอกจะปล่อยสารที่เป็นพิษเพื่อทำลายพืชชนิดอื่นๆที่อยู่รอบๆ เนื่องจากเมล็ดป้องกันตัวเองจากสิ่งมีชีวิตที่อยู่รอบๆ (Withner, 1956) การรายงานเกี่ยวกับการหลั่งสารจำพวกฟีนอลพบในการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีผลในอาหารอนินทรีย์ไม่ใช่เกิดจากปล่อยสารจำพวกฟีนอลจากเอมบริโอ การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การเลี้ยงเอมบริโอของกล้วยไม้บางชนิดในหลอดแก้ว มีปัญหาในการสร้างสารจำพวกฟีนอลขณะงอกเมื่อเลี้ยงในสารอาหารอนินทรีย์ ซึ่งไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับเรื่องนี้มาก่อน ในสภาพการทดลองนี้ ชี้ให้เห็นว่า การหลั่งสารจำพวกฟีนอลในสภาพปลอดเชื้อ เป็นธรรมชาติของเมล็ดกล้วยไม้บางชนิด สารที่กล้วยไม้หลั่งออกมาขณะเมล็ดกำลังงอกตกค้างอยู่ในวุ้นอาหาร ทำให้เอมบริโอตายเมื่อดูดอาหารเข้าไป ซึ่งในธรรมชาติเป็นไปได้ว่าฝนและน้ำค้างจะชะสารฟีนอลที่กล้วยไม้ปล่อยออกมาไปเสียก่อน ทำให้สารไม่ตกค้างจนเกิดพิษต่อกล้วยไม้

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 12 หน้า 48-49

3. การทดสอบเมล็ดผักบุ้งในสูตรอาหารใหม่

เมล็ดผักบุ้งงอกและเจริญเป็นปรกติได้ในสูตรอาหาร Mod.SH. เพียงสูตรเดียวเท่านั้น สูตรอาหารทุกสูตรที่มีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบ เมล็ดงอกช้าและเจริญผิดปรกติ จากผลการทดลองพบว่าปลายยอดของต้นอ่อนในสูตรอาหารที่มีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบนั้น เนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด ขณะที่ปลายยอดตายพบว่าตาข้างเจริญอย่างรวดเร็ว เมื่อตาข้างเจริญมากขึ้นพบว่าเนื้อเยื่อบริเวณปลายยอดของตาข้างเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายเช่นเดียวกัน คาดว่าสารบางอย่างที่เป็นองค์ประกอบในมันฝรั่ง มีผลทำให้เนื้อเยื่อเจริญบริเวณยอดตาย ซึ่งการตายของปลายยอดไปกระตุ้นให้เกิดการเจริญของตาข้าง เนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอดของตาข้างก็จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายเพราะสารบางอย่างที่อยู่ในมันฝรั่ง

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า

-ผลการทดลอง หน้า 50-51

4. การทดสอบการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Dendrobium, Rhynchostylis, Spathoglotis, Vanda* ในสูตรอาหารใหม่

4.1 การทดสอบการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ในสูตรอาหารใหม่

จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่ดีที่สุดคือสูตรที่ 10, 11, 12 เป็นสูตรอาหารที่ให้ผลการทดลองแตกต่างกันไม่มาก แสดงว่าสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดสามารถตอบสนองความต้องการสารอาหารของต้นอ่อนได้อย่างเพียงพอ ทั้งๆที่อาหารทั้งสามสูตรมีระดับสารประกอบอนินทรีย์แตกต่างกันมาก สูตรอาหารที่ดีที่สุดคือสูตรที่ 10 สูตรอาหารที่รองลงมาคือสูตรที่ 11 และ 12 ซึ่งผลการทดลองระหว่างสูตรที่ดีที่สุดกับสูตรที่ดีรองลงมาต่างกันคือน้ำหนักสดเท่านั้น โดยระดับสารอนินทรีย์ ในสูตรอาหารที่ 10 ตามสูตร Mod.SH. ส่วนสูตรอาหารที่ 11 ระดับสารอนินทรีย์ในสูตรอาหาร Mod.SH. ลดลงเหลือเพียง KNO_3 และในสูตรที่ 12 ซึ่งไม่มีสารอนินทรีย์เลย แสดงว่าสารประกอบอนินทรีย์ 16 ธาตุ ในสูตรอาหาร Mod.SH. ทำให้ต้นอ่อนมีน้ำหนักสดและความยาวรากดีกว่าไม่เติมสารอนินทรีย์เลยหรือเติมเพียง KNO_3 ที่น้ำหนักสดและความยาวรากเท่านั้น

จากการทดลองสรุปได้ว่าสูตรอาหารสูตรที่ 11, 12 สามารถพัฒนาต่อไป เพื่อใช้แทนสูตรที่ 10 นอกจากนี้การเตรียมสูตรอาหารสูตรที่ 11, 12 ยังเตรียมง่าย ไม่ต้องวัด pH ประหยัดสารเคมี และเวลาที่ใช้ในการเตรียม

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 13 แผนภูมิที่ 26-30 หน้า 52-56

4.2 การทดสอบการเจริญของต้นอ่อน *Rhynchostylis gigantea* ในสูตรอาหารใหม่

กลุ่มสูตรอาหารที่ให้ผลดีในการเลี้ยงต้นอ่อน *Rhynchostylis gigantea* คือสูตรที่ 2, 10, 11, 12 โดยสูตรที่ให้ผลดีที่สุดคือสูตรที่ 10, 12 ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกัน สูตรที่ 11 และสูตรที่ 2 เป็นสูตรที่รองลงมา สูตรอาหารทั้ง 4 สูตรต่างก็เป็นสูตรอาหารที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ 3 ชนิด หรือประกอบด้วย มันฝรั่ง ที่มีสารประกอบอนินทรีย์ครบตามสูตร Mod.SH. แสดงว่าสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดทดแทนปริมาณสารอาหารที่ต้นอ่อน *Rhynchostylis gigantea* ต้องการได้อย่างเพียงพอโดยไม่ต้องมีสารอนินทรีย์ก็ได้ แต่ถ้ามีสารอินทรีย์ไม่ครบสามชนิด จำเป็นต้องมีมันฝรั่งเป็นองค์ประกอบและสารประกอบอนินทรีย์ครบตามสูตรอาหาร Mod.SH.

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 14 แผนภูมิที่ 31-35 หน้า 57-60

4.3 การทดสอบการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* ในสูตรอาหารใหม่

ผลการทดลองเหมือนกับผลการทดลองในส่วนของการเพาะเมล็ด คือต้นอ่อนของกล้วยไม้สามารถงอกได้ในสูตร Mod.SH. (สูตรที่ 1) เท่านั้น ในสูตรอาหารที่มีสารอินทรีย์เป็นส่วนประกอบทั้งหมด 5 สูตร (สูตรที่ 2, 3, 10, 11, 12) ต้นอ่อนมีการเจริญเป็นปรกติในระยะแรกแต่บริเวณรากมีสารสีน้ำตาลหรือดำหลั่งออกมา คาดว่าเป็นสารจำพวกฟีนอล (phenol) ต้นอ่อนค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหมดทั้งต้นทั้งๆที่ไม่ได้สัมผัสกับอาหารโดยตรง และตายภายในเวลา 8 สัปดาห์ คล้ายกับการเกิด medium blackening ที่เกิดจากการปล่อยสารประเภทฟีโนลิก (phenolic) เช่นเดียวกับระยะเพาะเมล็ด สารกลุ่มฟีโนลิกแพร่กระจายในอาหารทำให้เกิดพิษ เป็นสาเหตุให้ชิ้นส่วนของพืชเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (Morel,1974;Flamee and Boesman,1977;Fast,1979 อ้างถึงใน Arditti and Ernst,1993) จากผลการทดลองพบว่าสารสีน้ำตาลนั้น ปล่อยออกมาจากบริเวณส่วนของพืชที่สัมผัสกับอาหารโดยตรงเป็นส่วนแรกก่อนส่วนอื่นๆเช่น ราก ก่อนที่สามไปตลอดทั้งต้น ทั้งๆที่ส่วนอื่นไม่สัมผัสอาหาร แสดงว่าสารที่อยู่ในอาหารไปกระตุ้นให้พืชสร้างสาร

จำพวกฟีนอลโดยผ่านทางท่อลำเลียง ทำให้พืชตาย พบว่าในสารอินทรีย์บางชนิด เช่น กล้วยหอมสุกปั่นเป็นเนื้อเดียว มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของต้นอ่อน *Phalaenopsis* (Pierik, van Nieuwkerk and Hendriks, unpublished อ้างถึงใน Pierik, 1987) ในสภาพการทดลองนี้ คาดว่าสารอินทรีย์อาจไปกระตุ้นให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้หลั่งสารจำพวกฟีนอลออกมา อาจเกิดจากในธรรมชาตินั้น สารอินทรีย์ที่กล้วยไม้ได้รับมาจากเชื้อรา การได้รับปริมาณสารอินทรีย์สูงๆอาจไปกระตุ้นการสร้างสารจำพวกฟีนอลออกมาเพื่อยับยั้งการเจริญของราให้มีปริมาณที่สมดุล ดังนั้นการหลั่งสารจำพวกฟีนอลในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องมาจากสารอินทรีย์ในสูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อมีปริมาณสูงพอที่จะกระตุ้นให้กล้วยไม้หลั่งสารจำพวกฟีนอลออกมา สารที่หลั่งออกมาจะตกค้างอยู่ในวุ้นอาหารและสะสมในต้น ทำให้ต้นอ่อนตายเมื่อดูดอาหารเข้าไป ซึ่งในธรรมชาติเป็นไปได้ว่าฝนและน้ำค้างจะชะสารฟีนอลที่กล้วยไม้ปล่อยออกมา ทำให้สารไม่ตกค้างจนเกิดพิษต่อกล้วยไม้

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 15 หน้า 61-62

4.4 <u>การทดสอบการเจริญของต้นอ่อน</u> *Vanda* x Miss Joaquim <u>ในสูตรอาหารใหม่</u>

ต้นอ่อนกล้วยไม้เจริญในสูตรที่ 10 ได้ดีที่สุดรองลงมาคือสูตรที่ 11, 12 ดูจากผลการทดลองเห็นได้ว่า ผลการทดลองของสูตรอาหารทั้ง 6 สูตรไม่แตกต่างกันมาก มีน้ำหนักสดและความยาวรากเท่านั้นที่สูตรอาหารทั้ง 6 สูตรมีความแตกต่างกันทางสถิติสามระดับ แสดงว่าต้นอ่อนกล้วยไม้ไม่ต้องการอาหารที่มีชนิดและปริมาณจำเพาะ ทั้งๆที่สูตรอาหารทั้ง 6 สูตรมีระดับสารอาหารอินทรีย์และอนินทรีย์ต่างกันมาก สูตรอาหารที่ให้ผลดีที่สุดคือสูตรอาหารที่ 10 สูตรที่รองลงมาคือสูตรอาหาร 5 สูตรที่เหลืออยู่ (สูตรที่ 1, 2, 3, 11, 12) จากการทดลองนี้พอสรุปได้ว่าต้นอ่อนกล้วยไม้ประเภทนี้สามารถใช้สารต่างๆที่เป็นองค์ประกอบของวุ้นอาหารได้ดี ทั้งพวกสารอินทรีย์และอนินทรีย์รวมทั้งไม่สร้างสารสีน้ำตาล เมื่ออยู่ในวุ้นอาหารที่มีสารอินทรีย์ต่างๆปนอยู่

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 1-3 และ 10-12 ตารางที่ 1 หน้า 14

-ผลการทดลอง ตารางที่ 16 แผนภูมิที่ 36-40 หน้า 63-66

5. การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์สำหรับชักนำเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ให้เกิดแคลลัส

5.1 การทดสอบการชักนำเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ให้เกิดแคลลัสในสูตรอาหารใหม่ดัดแปลง (ตอนที่ 1) : ความเข้มข้นของ NAA

จากการทดลองพบว่าเมล็ดกล้วยไม้เกิดแคลลัสเพียงสูตรเดียวคือ ในสูตรอาหาร Mod.SH. ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร (สูตรที่ 22) แสดงว่าในอาหารสูตร Mod.SH. มีปริมาณ auxin และ cytokinin สมดุลที่ทำให้เกิดแคลลัส ส่วนเมล็ดกล้วยไม้ที่เพาะลงไปในสูตรอาหารอินทรีย์ทุกสูตรมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อน ต้นอ่อนที่ได้มีรากและลำต้นเจริญดี ไม่มีการพัฒนาเป็นแคลลัส อาจเกิดจากสารอินทรีย์ที่เติมลงไปในรูปแบบที่ปั่นเป็นเนื้อเดียว ซึ่งในสภาพสามารถดูดซับ auxin ได้มาก ดังนั้นปริมาณ auxin ที่พืชได้รับนั้น จึงไม่เหมาะสำหรับเกิดแคลลัส แม้ว่าเติม auxin ในระดับความเข้มข้นสูงลงไปในอาหาร เมล็ดกล้วยไม้ก็มีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนทั้งหมด ในทางตรงกันข้ามเมล็ดที่เพาะในวุ้นอาหารที่ไม่มีสารอินทรีย์ที่มีปริมาณ NAA 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสูตรที่ 24 และ 25 ไม่งอกเลย ในขณะที่สูตรที่ 23 ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมล็ดงอกและพัฒนาเป็นต้นได้ดีมาก

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 22-45 ตารางที่ 3 หน้า 17

-ผลการทดลอง ตารางที่ 17 หน้า 67-69

5.2 การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์สำหรับชักนำเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ให้เกิดแคลลัส (ตอนที่ 2) : สารอินทรีย์ที่กรองกากออก และความเข้มข้นของ NAA

จากการทดลองพบว่าเมื่อนำสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดคือ มันฝรั่ง มะเขือเทศ ปุ๋ยปลา มากรองเอากากออกแล้วเติมลงในสูตรอาหารอนินทรีย์ Mod.SH. ทีละชนิด พบว่าในสูตรอาหารอินทรีย์ทุกสูตร เมล็ดของกล้วยไม้งอกและพัฒนาเป็นต้น และไม่ปรากฏว่าเมล็ดตาย ในความเข้มข้นของ NAA ทุกระดับ แสดงว่าสารอินทรีย์ที่กรองเอากากออกแล้วองค์ประกอบที่มีอยู่ในอาหารก็ยังดูดซับ auxin ได้เหมือนตอนที่ 1

เมล็ดกล้วยไม้ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ยาก อาจเนื่องมาจาก polarity ของเมล็ดกล้วยไม้เอง เพราะกลุ่มของเนื้อเยื่อที่ประกอบเป็นเมล็ดนั้น เอมบริโอมีการพัฒนาขั้นพื้นฐานมีสัณฐานที่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นยอดหรือเป็นฐาน จึงคาดว่าอาจสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ง่ายขึ้น ถ้าชักนำเมล็ดให้เกิดแคลลัสในอาหารเหลวที่มีการเคลื่อนที่ไปเรื่อยๆ

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 22-25 ตารางที่ 3 หน้า 17 และสูตรที่ 46-61 ตารางที่ 4 หน้า 18
-ผลการทดลอง ตารางที่ 18 หน้า 70-71

5.3 การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์สำหรับชักนำเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ให้เกิดแคลลัส (ตอนที่ 3) : สารอินทรีย์ที่กรองกากออก และความเข้มข้นของ NAA ในอาหารเหลว

จากผลการทดลองพบเมล็ดกล้วยไม้ตายในสูตรอาหารที่ 49, 53 และ 54-61 จากระดับการพัฒนาของเมล็ดที่ตายสามารถจำแนกได้ 2 สาเหตุ สูตรอาหารที่ 49 และ 53 เอมบริโอมีการเพิ่มขนาดขึ้น และตายในเวลาต่อมาแต่ในสูตรอาหารทั้งสองนี้พบว่าเอมบริโอบางส่วนยังสามารถเจริญต่อไปได้ และการตายเกิดขึ้นในอาหารที่มี NAA ความเข้มข้นสูง สาเหตุการตายอาจเนื่องมาจากปริมาณ NAA ที่ความเข้มข้นสูงเกินไป ทำให้เมล็ดกล้วยไม้บางเมล็ดที่อ่อนไหวต่อปริมาณ NAA ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ สูตรอาหารที่ 54-61 เมล็ดกล้วยไม้ในสูตรอาหารดังกล่าวไม่งอกใน NAA ทุกความเข้มข้น โดยสูตรอาหารทุกสูตรเป็นสูตรที่มีปุ๋ยปลาเป็นองค์ประกอบซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าในสภาพอาหารเหลวที่มี NAA ผสมอยู่ เมื่อเติมปุ๋ยปลาลงไปเมล็ดจะไม่งอก ซึ่งพบว่าสารอินทรีย์บางชนิดอาจมีผลยับยั้งการเจริญของพืชแตกต่างกัน บางชนิดกระตุ้นการเจริญระยะหนึ่งอาจมีผลยับยั้งอีกระยะหนึ่งก็ได้ เช่น กล้วยหอมสุกปั่นเป็นเนื้อเดียว มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของต้นอ่อน *Phalaenopsis* (Pierik, van Nieuwkerk and Hendriks, unpublished อ้างถึงใน Pierik, 1987) แต่ไปกระตุ้นการเจริญของเมล็ด (Ernst, 1967b,1975 อ้างถึงใน Arditti and Ernst, 1993) และพบว่ากล้วยไม้บางชนิด ในบางระยะ amino acidบางชนิดมีผลไปยับยั้งการเจริญของกล้วยไม้ และผลของการยับยั้งของamino acidในเมล็ดพบว่ามักยับยั้งการงอกมากกว่าที่ทำให้การพัฒนาของเมล็ดช้าลง

จากผลการทดลองสูตรที่ 46-53 พบว่าสูตรอาหารที่มีมะเขือเทศเป็นส่วนประกอบของอาหารมีการดูดซับ auxin มากกว่าสูตรอาหารที่มีมันฝรั่งเป็นส่วนประกอบ เพราะการเกิดแคลลัสซึ่งเป็นสภาพผิดปรกติของเมล็ดเกิดขึ้นในสูตรที่มีระดับ auxin สูงกว่าในอาหารที่มีมันฝรั่งเป็นส่วนประกอบ ตามธรรมชาติของเมล็ดกล้วยไม้แม้ว่ามีการพัฒนาไม่มาก แต่เอมบริโอก็สามารถจำแนกได้ว่าเป็นด้านยอดหรือด้านฐาน ปริมาณของ growth regulator ต้องอยู่ในระดับที่พอเหมาะ จึงทำให้เมล็ดเกิดการเจริญที่เบี่ยงเบนไปจากปรกติได้ จากการทดลองเห็นว่าหากสารอินทรีย์ที่เติมลงไปดูดซับ auxin ได้มากทำให้ระดับ auxin ที่มีผลต่อเมล็ดมีน้อยเกินไป ไม่สามารถกระตุ้นให้เมล็ดมีการเจริญที่บิดเบือนไปจาสภาพธรรมชาติ ทำให้เมล็ดมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม แต่ถ้าระดับ auxin มากเกินไปอาจทำให้เมล็ดตายได้ การตายของเมล็ดที่ปรากฏในสูตรอาหารสูตรที่ 49 และ

53 นั้นเกิดขึ้นภายหลังจากเมล็ดงอกแล้ว ที่ความเข้มข้นของ NAA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าสูตรอาหารที่มีสารอินทรีย์เป็นส่วนผสมนั้น ปริมาณของ NAA ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดในระยะแรก หากมีผลอย่างมากในการพัฒนาลำดับต่อไปว่าจะมีการพัฒนาที่เป็นปกติหรือบิดเบือนจากปกติไปเป็นแคลลัส หรือตาย จากการทดลองพบว่าสารอินทรีย์ที่เติมลงในอาหารอนินทรีย์ที่มี growth regulator นั้นสำคัญ บางชนิดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสง่าย บางชนิดยาก หรือบางชนิดอาจมีผลทำให้เมล็ดไม่งอกเลย

ผลการทดลองพบว่าสามารถชักนำเมล็ดกล้วยไม้ให้เกิดแคลลัสได้สำเร็จในอาหารเหลว เชื่อว่าการชักนำในอาหารเหลวที่มีการเขย่าตลอดเวลา น่าจะมีผลให้ polarity ของกล้วยไม้เปลี่ยนไป ซึ่งอาจส่งผลต่อการพัฒนาของเมล็ดเปลี่ยนไปด้วย จึงมีผลต่อการทำงานของ growth regulator ทำให้สามารถชักนำเนื้อเยื่อเอมบริโอของเมล็ดเจริญและพัฒนาไปเป็นแคลลัสได้ดีขึ้น

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 22 ตารางที่ 3 หน้า 17 และสูตรที่ 46-61 ตารางที่ 4 หน้า 18

-ผลการทดลอง ตารางที่ 19 หน้า 72-74

6. <u>การสร้างสูตรอาหารอินทรีย์สำหรับเลี้ยงแคลลัสกล้วยไม้สกุล</u> *Dendrobium*

จากการทดลองพบว่าแคลลัสของกล้วยไม้ในสูตรอาหารทุกสูตรมีการเจริญอย่างรวดเร็ว แคลลัสที่เจริญได้ดีที่สุดคือ แคลลัสที่เลี้ยงในสูตรอาหาร Mod.SH. ที่เติมมันฝรั่ง กับมะเขือเทศที่ผ่านการกรองเอากากทิ้ง น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร เติม NAA ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่าการเลี้ยงแคลลัสนั้น ความเข้มข้นของ growth regulator ที่ใช้น้อยกว่าการชักนำเมล็ดและตาของหน่ออ่อนให้เกิดแคลลัส อาจเนื่องมาจากการรักษาสภาพการเจริญแบบแคลลัสง่ายกว่าการชักนำให้เกิดแคลลัส นอกจากนี้พบว่าการผสมของสารอินทรีย์สองชนิดที่กรองกากออกสามารถกระตุ้นให้แคลลัสเจริญได้ดี อาจเนื่องมาจากแคลลัสเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อที่เกาะกันอย่างหลวมๆมีผนังเซลล์บางๆ กั้นระหว่างสภาพแวดล้อมกับ cytoplasm สารละลายรอบๆจึงจำเป็นต้องมีความเหมาะสม สารอินทรีย์ที่เติมลงไปทั้งสองชนิดต่างก็เป็นสารที่สกัดจากเนื้อเยื่อพืช สภาพของสารละลายที่ใช้เลี้ยงอาจมีสารอาหารและสภาพต่างๆเหมาะกับการเลี้ยงเซลล์ และเมื่อวัด pH แล้วพบว่าสารละลายมี pH 5.6 ซึ่งเป็น pH ที่เหมาะสมพอดีโดยไม่ต้องปรับ จากการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อ ข้าวสาลี และถั่ว พบว่าเนื้อเยื่อพืชเจริญได้ดีในสูตรอาหารที่เป็นสารอินทรีย์มีองค์ประกอบคล้ายกับสารละลายในท่อลำเลียง (Carman,1994)

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 22 ตารางที่ 3 หน้า 17 และสูตรที่ 62-65 ตารางที่ 5 หน้า 19

-ผลการทดลอง ตารางที่ 20 หน้า 75-76

7. การทดสอบการชักนำตาของหน่ออ่อนของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ให้เกิดแคลลัสในสูตรอาหารใหม่

จากผลการทดลองสูตรอาหารที่เหมาะสมกับการชักนำตาของหน่ออ่อนให้เกิดแคลลัสคือ สูตรอาหาร Mod.SH. ที่มีการผสมกันของมันฝรั่ง มะเขือเทศที่กรองเอากากทิ้ง น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตรเหมือนการเลี้ยงแคลลัส เติม NAA ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองของ Vajrabhaya et al. (1994) พบว่าการชักนำตาของหน่ออ่อนให้เกิดแคลลัสในสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของสารอินทรีย์ที่ไม่ได้กรองกากออก คือ กล้วยหอม มันฝรั่ง และปุ๋ยปลา ในช่วงสัปดาห์แรกตายังคงเจริญเป็นสีเขียวและตายในเวลาต่อมา ทดลองนำตาของกล้วยไม้มาเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนประกอบของสารอินทรีย์สามชนิดรวมกันคือ มันฝรั่ง มะเขือเทศ และปุ๋ยปลา โดยเติมลงในสูตรอาหารอนินทรีย์ พบว่าในความเข้มข้นของauxinทุกระดับ ตากล้วยไม้ตาย สาเหตุอาจเกิดจากสารบางอย่างที่เป็นส่วนประกอบของสารอินทรีย์ที่เติมลงในอาหาร เมื่อทดลองเลี้ยงในสูตรอาหารอินทรีย์คือ มันฝรั่งและมะเขือเทศ ที่กรองเอากากออกพบว่าหน่ออ่อนของกล้วยไม้ไม่ตายและมีการเจริญดี อาจเกิดจากอาหารที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์สองชนิดที่ผสมกันอยู่มีความเหมาะสม สารอินทรีย์ที่เติมลงไปทั้งสองชนิดต่างก็เป็นสารที่สกัดจากเนื้อเยื่อพืช สภาพของสารละลายที่ใช้เลี้ยงอาจมีสารอาหารและสภาพต่างๆเหมาะกับการเลี้ยงเซลล์ และเมื่อวัด pH แล้วพบว่าสารละลายมี pH 5.6 ซึ่งเป็น pH ที่เหมาะสมพอดีโดยไม่ต้องปรับ จากการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวสาลี และถั่ว ของ Carman (1994) พบว่าเนื้อเยื่อพืชเจริญได้ดีในสูตรอาหารที่เป็นสารอินทรีย์มีองค์ประกอบคล้ายกับสารละลายในท่อลำเลียง

-สูตรอาหารทดลองสูตรที่ 22 ตารางที่ 3 หน้า 17 และสูตรที่ 62-65 ตารางที่ 5 หน้า 19

-ผลการทดลอง ตารางที่ 21 หน้า 77-78

สารอินทรีย์

เพาะเมล็ดกล้วยไม้

พบว่าเมื่อเติมสารอินทรีย์ทั้งสามชนิดคือ มันฝรั่ง มะเขือเทศ และปุ๋ยปลา ลงไปในสูตรอาหาร สำหรับเพาะเมล็ดพบว่ากล้วยไม้แต่ละชนิดตอบสนองต่อสารอินทรีย์แตกต่างกันในสูตรอาหารเดียวกันกล้วยไม้บางชนิดเจริญได้ดีไม่เท่ากัน บางชนิดตายหรือเกิดแคลลัส เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของต้นอ่อนในสูตรอาหารเดียวกันกับการเพาะเมล็ด พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ต้องการอาหารที่มีความจำเพาะมากกว่าต้นอ่อน เพราะเมล็ดกล้วยไม้ตอบสนองต่ออาหารต่างชนิดกันในรูปแบบต่างๆกันมากกว่าต้นอ่อน สูตรอาหารที่มีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ผสมอยู่

ด้วยกันการเจริญของเมล็ดดีมาก อาจเกิดจากสารอินทรีย์ไปส่งเสริมขบวนการใช้สารอนินทรีย์ เช่น การเติมสารอินทรีย์ทำให้ระดับ pH คงที่ ส่งผลให้สารประกอบอนินทรีย์อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ง่ายขึ้น

ต้นอ่อน

พบว่าในกล้วยไม้บางชนิดถ้าสารอินทรีย์ที่มีในอาหารสามารถตอบสนองความต้องการสารอาหารของต้นอ่อนได้อย่างเพียงพอแล้ว ระดับของสารอนินทรีย์ในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญ อาจเนื่องมาจากสารอินทรีย์มีรูปแบบที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ง่ายกว่าสารอนินทรีย์ Carman (1994) พบว่าในอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อคืออาหารที่มีองค์ประกอบคล้ายกับสารละลายในท่อลำเลียงซึ่งเป็นสารประเภทสารอินทรีย์ การตอบสนองต่อสารอินทรีย์ของต้นอ่อนกล้วยไม้ในอาหารสูตรต่างๆกันไม่แตกต่างกันมากนักต้นอ่อนเจริญเป็นปรกติและแข็งแรงในสูตรอาหารทุกสูตร แสดงว่าระยะต้นอ่อนเจริญไม่ต้องการอาหารที่มีความจำเพาะก็สามารถมีการพัฒนาที่เป็นปรกติได้

แคลลัส

การชักนำและเลี้ยงแคลลัสพบว่าต้องการอาหารที่มีความจำเพาะสูงมาก ในระยะนี้ต้องการสารอาหารและระดับ growth regulator ที่เหมาะสม จึงสามารถชักนำแคลลัสได้สำเร็จ เพราะหากไม่เหมาะสมเนื้อเยื่ออาจตายหรือมีการพัฒนาไม่เกิดแคลลัสอย่างที่ต้องการ พบว่าสารอินทรีย์ที่เติมลงในอาหารบางชนิดไม่สามารถเติมได้ในระยะชักนำและเลี้ยงแคลลัส และสารอินทรีย์ที่สามารถเติมได้ต้องผ่านขบวนการเอากากออกก่อน นอกจากนี้การชักนำจะเกิดได้ดีในสภาพที่เป็นอาหารเหลว

pH ของอาหาร

ในการทดลองนี้การเตรียมอาหารไม่ปรับ pH เริ่มต้น สูตร Mod.SH. เป็นสูตรอาหารที่สามารถปรับ pH ได้เอง และเปลี่ยนแปลง pH น้อยมากตลอดเวลาการเลี้ยง (Piriyakanjanakul and Vajrabhaya, 1980) เนื่องจาก pH มีอิทธิพลต่อการแตกตัวเป็นไอออน เช่น ฟอสเฟต เมื่อ pH ต่ำกว่า 7 จะอยู่ในรูปของ $H_2PO_4^-$ ได้มาก ซึ่งเป็นรูปที่พืชนำไปใช้ได้ง่ายที่สุด แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 7 จะพบ ฟอสเฟตในรูป HPO_4^{2-} ซึ่งเป็นรูปที่พืชดูดได้ช้ากว่า (Salisbury and Ross,1992) และธาตุอื่นในของรูปสารประกอบต่างๆแตกตัวน้อยลง เช่น Fe Mn การเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่อาหารมี pH สูงอาจทำให้เนื้อเยื่อขาดธาตุต่างๆได้ พบว่าการใช้สารอินทรีย์ทำให้ pH ของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงมาก ทำให้การละลายของสารประกอบในธาตุอาหารหลักและอาหาร

รองดีขึ้นด้วย ฉะนั้นการใช้อาหารอินทรีย์เพื่อเติมสารอนินทรีย์บางสารจึงไม่จำเป็นต้องใช้ เครื่องชั่งละเอียด และไม่ต้องวัด pH ซึ่งทำให้ประหยัดอุปกรณ์และเวลาในการเตรียมอาหารได้มาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย