บทที่ 1

บทนำ

แรกเริ่มได้มีนักวิทยาศาสตร์คิดค้นสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้ที่อยู่ตามธรรมชาติขยายพันธุ์ได้น้อยมากแตกต่างจากเมล็ดพืชอื่น คือ เอมบริโอหยุดเจริญในชั้นที่ยังไม่มีใบเลี้ยง และเอ็นโดสเปอร์มหยุดเจริญหลังจากแบ่งได้ไม่กี่ครั้ง จึงไม่มีอาหารสะสมเพียงพอที่จะเลี้ยงให้เมล็ดงอกเองได้ในสภาพธรรมชาติ(Withner, 1959) ในสมัยแรกๆ มีผู้ทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้บนใบไม้ผุที่อยู่บนต้นพืชอื่นทำให้เมล็ดงอกได้บ้างแต่น้อยมาก ในปี 1909 นักวิทยาศาสตร์เริ่มสนใจปัญหาเกี่ยวกับการงอกของเมล็ดอย่างจริงจัง Bernard ค้นพบว่าเชื้อรามีความสำคัญต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ขณะที่งอกต้นอ่อนต้องอาศัยเชื้อราโดยมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) ซึ่งต่อมาจำแนกได้ว่าเชื้อราชนิดนั้นเป็นพวก Myco - rhiza ที่เป็นประโยชน์ต่อการงอกของเมล็ดที่สุดคือ Rhizoctonia ในสมัยนั้นมีสมมติฐานที่เชื่อถือกันว่าเชื้อราเป็นตัวให้หรือส่งอาหารให้แก่เมล็ดทำให้เมล็ดงอกได้ จึงคิดว่าเมล็ดกล้วยไม้จะงอกได้ก็ต่อเมื่อมีเชื้อราที่ช่วยให้เมล็ดงอกเท่านั้น(อ้างถึงโดย Pierik, 1987) จากการทดลองในระยะหลังนี้ก็ยังไม่มีข้อสรุปอย่างแน่ชัดว่ากล้วยไม้ได้รับอะไรจากเชื้อรา สันนิษฐานว่าอาจเป็นคาร์โบไฮเดรต (Hadley, 1982) หรืออาจเป็นกรดอะมิโนพวก glutamine glutamic acid aspartic acid และ nicotinic acid หรือพวก thiamine (Arditti and Harrison, 1977; Arditti et al., 1982) ในปี 1909 Noel Bernard และ Hans Burgeff เป็นผู้เริ่มต้นหาวิธีการเพาะเมล็ดกล้วยไม้โดยมีสมมติฐานว่าเชื้อราจำเป็นสำหรับการงอกตามธรรมชาติของเมล็ดกล้วยไม้ โดยที่เชื้อราสามารถเปลี่ยนแป้งในเอมบริโอให้เป็นน้ำตาลซึ่งไปกระตุ้นการเจริญในระยะแรกของเมล็ดกล้วยไม้ Bernard ได้พยายามหาวิธีการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในอาหารโดยทดลองแยกเชื้อรา แล้วศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เปรียบเทียบระหว่างเมล็ดที่มีเชื้อราและไม่มีเชื้อรา พบว่าเมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ในอาหารที่ไม่มีเชื้อราร่วมด้วย ในระยะแรก ๆ สูตรอาหารที่ใช้ทดลองเพาะเมล็ดของ Bletilla hyacinthina และ Laelia ประสบความสำเร็จครั้งแรกโดยใช้ salep (tubers ของ Ophys) ผสมกับวุ้นและน้ำตาล(Burgeff, 1959) Knudson (1922) เชื่อว่าเชื้อราไม่มีความจำเป็นสำหรับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้โดยตรง แต่เมล็ดกล้วยไม้ต้องการอาหารสำหรับการงอกและการเจริญ ดังนั้นจึงทดลองให้น้ำตาลและธาตุอาหารแก่เมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ จากการศึกษาในเวลาต่อมาพบว่าปัจจัยที่ช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้งอก

คือน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน(Arditti and Ernst, 1984) สูตรอาหารที่ใช้กันมากในสมัยนั้นคือ สูตร Knudson B ประกอบด้วยสารประกอบอนินทรีย์ที่ให้ธาตุอาหารหลัก 4 ชนิด กับ ferric phosphate วุ้น และน้ำตาลโดยไม่ใส่ธาตุอาหารรองอื่น ๆ และสารอินทรีย์ใด ๆ (Knudson, 1922) ซึ่งจากการทดลองพบว่าการเพิ่มวิตามินในอาหารเลี้ยงกล้วยไม้หลาย ๆ สกุลจะไม่จำเป็น(อ้างถึงโดย Burgeff, 1959) ต่อมา Knudson ได้ปรับปรุงสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกลุ่ม epiphyte สกุล Cattleya Laelia Epidendrum และกล้วยไม้อีกหลาย ๆ ชนิดได้สำเร็จคือ สูตร Knudson C ประกอบด้วยสารประกอบอนินทรีย์ วุ้นและน้ำตาลเหมือนสูตร B เพียงแต่ใช้ธาตุอาหารรองเพียง 2 ชนิด คือ ferrous sulphate และ manganese sulphate(Kundson, 1946) ซึ่งในเวลาต่อมา Pierik และคณะ ได้ทดลองธาตุอาหารหลักและโซเดียมในรูป NaFeEDTA เติมในอาหารสำหรับเพาะเมล็ดของ Paphio - pedilum ciliolare พบว่าอาหารที่ใส่เหล็กทำให้เมล็ดงอกและเจริญดีกว่าไม่ใส่มากและคาดว่าแมงกานีสก็เป็นที่ต้องการด้วยเช่นกัน(Pierik, 1987) วุ้นอาหารที่นิยมใช้เพาะเมล็ดกล้วยไม้กันมากในสมัยหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 คือสูตร Knudson C ต่อมาได้มีผู้พัฒนาสูตรต่าง ๆ ขึ้นเพื่อให้เหมาะกับกล้วยไม้บางสกุลที่มีปัญหาเรื่องการงอกของเมล็ด หรือเพื่อให้ต้นอ่อนโตเร็วขึ้น รวมทั้งการพัฒนาให้เหมาะกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งกล้วยไม้แต่ละชนิดใช้สูตรอาหารในการเพาะเมล็ด การเจริญของต้นอ่อน หรือเลี้ยงเนื้อเยื่อแตกต่างกันด้วย(Arditti et al., 1982) Murashige และ Skoog (1962) ได้ปรับปรุงสูตรอาหารและทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสของยาสูบให้เจริญได้เร็วที่สุด โดยการปรับสัดส่วนและปริมาณของเกลืออนินทรีย์ให้มีความเข้มข้นรวมสูงกว่าสูตรสมัยก่อน ประมาณ 3 เท่า สูตรนี้เมื่อนำไปใช้กับเนื้อเยื่อของพืชอื่น ๆ ด้วยก็ได้ผลดีเป็นส่วนมาก Schenk และ Hildebrandt (1972)ได้พิมพ์ผลงานวิจัยสูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสที่ทดลองกับพืชหลายชนิด ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ให้เจริญเร็ว แต่ไม่ได้ศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ถาวร วัชราภัย และมนทกานติ วัชราภัย(2519) ได้ทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุล Dendrobium Vanda Cattleya และ Aranda ในวุ้นอาหารและอาหารเหลวสูตรดัดแปลงของ Vajrabhaya และ Vajrabhaya ที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ และสูตรดัดแปลงจาก Murashige และ Skoog มีความเข้มข้นของเกลืออนินทรีย์สูงพบว่าความเข้มข้นของเกลือในอาหารมีความสำคัญต่อการสร้างเนื้อเยื่อของกล้วยไม้มาก และพบว่าการเจริญของต้นอ่อนของสกุล Dendrobium กลับดีขึ้นอีก เมื่อลดความเข้มข้นเกลืออนินทรีย์อาหารหลักแต่ละชนิดลงครึ่งหนึ่ง ซึ่งในปัจจุบันนี้พบว่าโดยทั่ว ๆ ไป กล้วยไม้ต้องการธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นไม่สูง ดังนั้นอาหารสำหรับเลี้ยงกล้วยไม้ควรจะใช้สูตรที่มีความเข้มข้นของเกลืออนินทรีย์ต่ำ(Pierik, 1987)

นอกจากมีการศึกษาสัดส่วน และปริมาณของเกลืออนินทรีย์ เพื่อให้เหมาะสมกับการเลี้ยงกล้วยไม้แล้ว การศึกษาเกี่ยวกับสารอินทรีย์และวิตามินที่ใส่ในอาหารเลี้ยงกล้วยไม้ก็เป็นที่สนใจกันมาก Schaffstein เรียกวิตามินที่กล้วยไม้ต้องการว่า "Vandophytin" กล่าวว่าเป็นที่ต้องการสำหรับการงอกของเมล็ดหลาย ๆ สกุล เช่น Dendrobium Phalaenopsis และ Vanda เป็นต้น(อ้างถึงโดย Burgeff, 1959) การทดลองใช้สารอินทรีย์ที่มีธาตุอาหารและวิตามินมาเป็นส่วนประกอบของอาหารได้เป็นที่นิยมกันมาก ในสมัยก่อนนิยมส่วนที่เป็นลำต้นของพืชเติมลงในอาหารสำหรับเลี้ยงกล้วยไม้ เช่น Salep (น้ำคั้นที่ได้จากลูกกล้วยของกล้วยไม้)(Burgeff, 1959) ลำต้นใต้ดินมันฝรั่ง(Intuwong and Sagawa, 1973) นอกจากนี้ก็มีเมล็ดของ Vicia faba เมล็ดฝ้ายปน แป้งข้าวโพด ข้าวสาลี(อ้างถึงโดย Burgeff, 1959) เนื้อผลกล้วยหอมบดละเอียด(Ernst, 1967; Arditti, 1968; Valmayor, 1972; Intuwong and Sagawa, 1973; 1975; Cheah and Sagawa, 1978; Kerbauy and Handro, 1981; Kusumoto, 1981; Yoneda and Momose, 1988) กล้วยผง(อ้างถึงโดย Pierik, 1987) น้ำมะพร้าวอ่อน(ถาวร วัชราภัย และมนทกานติ วัชราภัย, 2519 ; Valmayor, 1972; Intuwong and Sagawa, 1973; Saedjono, 1988) แตงโม(อ้างถึงโดย pierik, 1987) น้ำมะเขือเทศสด(Valmayor, 1972) น้ำมะเขือเทศกระป๋อง ปุ๋ยปลา(อ้างถึงโดย Withner, 1959) น้ำผึ้ง(Burgeff, 1959) และสารอินทรีย์ที่นิยมใช้ทั่ว ๆ ไป เช่น peptone(Valmayor, 1972; Oyamada and Takano, 1985) Tryptone yeast extract casein hydrolysate (อ้างถึงโดย Arditti, 1982) จากการทดลองเติมสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดังกล่าวในอาหารเลี้ยงกล้วยไม้ พบว่าทำให้กล้วยไม้เจริญดีขึ้นมาก เนื่องจากสารอินทรีย์ดังกล่าวมีธาตุอาหารหลายชนิดที่มีผลส่งเสริมการเจริญของพืช

การทดลองดังกล่าวเป็นการเติมสารอินทรีย์ลงไปในอาหารสูตรที่มีองค์ประกอบเป็นสารอนินทรีย์เป็นหลักครบอยู่แล้ว เดิมใช้สำหรับเลี้ยงกล้วยไม้ทำให้การเจริญของกล้วยไม้ดีขึ้นมากจริง แต่เป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายและความยุ่งยากในการเตรียมอาหารมากขึ้น ซึ่งมีรายงานเพียงจำนวนน้อยเท่านั้นที่สร้างสูตรอาหารใหม่ขึ้น เพื่อลดความยุ่งยาก ลดเวลาในการเตรียม และลดต้นทุนการผลิตลง อย่างเช่น Meyer สร้างสูตรอาหารที่เตรียมได้ง่ายโดยใช้น้ำมะเขือเทศสดผสมน้ำ อัตราส่วน 1:1 เป็นวุ้นอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล Laelia Cattleya Oncidium Epidendrum และ Rodriguezia (อ้างถึงโดย Withner, 1959) ในปี 1950 Graeflinger ได้ทดลองใช้กล้วยผง(banana powder) ซึ่งทำจากผลกล้วยสุก เติมด้วย Ammomium sulphate เลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ และได้มีการทดลองใช้ปุ๋ยสำเร็จรูป ซึ่งมีส่วนประกอบของธาตุอาหารที่พืชต้องการหลายชนิดรวมกัน เช่นใช้ปุ๋ย

กาวิโอตา(Gaviota fertilizer) ปุ๋ยปลาสำเร็จรูป(fish emulsion fertilizer) โดยการตวงเป็นช้อนชา และใช้วุ้นเป็นแท่ง(Kanten Japanese agar) สำหรับเตรียมอาหาร (อ้างถึงโดย Withner, 1959)

จากการทดลองดังกล่าวเป็นที่น่าสนใจว่าสารอินทรีย์บางชนิด เช่น กล้วยหอม มันฝรั่ง และปุ๋ยปลา มีธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของต้นกล้วยไม้เป็นส่วนประกอบในปริมาณค่อนข้างมาก ได้แก่ธาตุ nitrogen phosphorus potassium magnesium calcium และธาตุอื่น ๆ รวมทั้งวิตามินด้วย(ดูภาคผนวกหน้า 101 102 และ 103) แต่อาจจะมีปริมาณที่ไม่สมดุลเพื่อการเจริญที่ดีของพืช ฉะนั้นการศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยใช้ประโยชน์จากสารอินทรีย์สามารถแทนเกลืออนินทรีย์ได้หลายชนิด(Arditti, 1965) และหากเลือกใช้สารอินทรีย์บางชนิดก็จะเป็นประโยชน์มากเนื่องจากคุณสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ของสารอินทรีย์ เช่น กล้วยที่เติมลงในวุ้นอาหารจะช่วยไม่ให้ pH ลดลงต่ำกว่า 3.8(Ernst, 1967) ถาวร วัชราภัย และ มนทกานติ วัชราภัย (2519) ได้ทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสกล้วยไม้สกุล Cattleya Dendrobium Vanda และ Aranda บนวุ้นอาหารต่างๆ เพื่อศึกษาองค์ประกอบ ความเข้มข้น และสัดส่วนของเกลือธาตุหลักที่เหมาะสำหรับการเจริญของเนื้อเยื่อ พบว่า Cattleya เจริญได้ดีที่สุดในวุ้นอาหารของ Knudson Dendrobium เจริญได้ดีในวุ้นอาหารหลายชนิดแต่ดีที่สุดในครึ่งส่วนของ Murashige and Skoog หรือครึ่งส่วนของ Schenk and Hildebrandt Vanda และ Aranda ระยะแคลลัสเจริญดีที่สุดในครึ่งส่วนของ Schenk and Hildebrandt และถ้าหากเลือกใช้สูตรอาหารที่มีสารอนินทรีย์เป็นส่วนประกอบที่เหมาะสม เช่น สูตรของ Schenk และ Hildebrant ซึ่งสามารถปรับ pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมได้เองจึงไม่มีความจำเป็นต้องปรับ pH ในขั้นตอนการเตรียมอาหาร ฉะนั้นค่า pH เริ่มแรกก็จะไม่มีผลต่อการเจริญของต้นอ่อนโดยวัดจากน้ำหนักสดขั้นสุดท้าย ดังนั้นการไม่ต้องปรับ pH ของวุ้นอาหารเริ่มแรก ทำให้ประหยัดเวลาและเงิน(Piriyakanjanakul and Vajrabhaya, 1980) นอกจากนี้ Thurston, Spencer และ Arditti (1980) ได้ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อรา แบคทีเรีย และจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่เหมาะสม เติมลงในวุ้นอาหารสำหรับเพาะเมล็ด และเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ ทำให้ไม่ต้องใช้หม้อนึ่งอัดความดันฆ่าเชื้อได้ด้วย

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะสร้างสูตรอาหาร ด้วยการนำสารอินทรีย์บางชนิด คือ กล้วยหอม มันฝรั่ง และปุ๋ยปลา ที่ผู้อื่นใช้เป็นสารอินทรีย์เสริมมาศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้สารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดนี้เป็นหลัก แล้วเติมสารอนินทรีย์บางชนิดที่ยังมีไม่เพียงพอสำหรับการเจริญของต้นอ่อนเท่านั้น ทั้งนี้เพื่อลดการใช้สารเคมีที่เตรียมยากโดยเฉพาะสารประกอบอาหารรองโดยหันมาใช้สารอินทรีย์ที่หาได้ง่ายตลอดปี และเตรียมง่ายแทนให้มากที่สุด รวมทั้งไม่ใช้เครื่องมือราคาแพง เช่น เครื่องวัด pH เครื่องชั่งละเอียด เพื่อใช้ในการเลี้ยงต้นอ่อน เลี้ยงเนื้อเยื่อ และ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เพาะเมล็ดกล้วยไม้ ซึ่งน่าจะเป็นประโยชน์ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เป็นการค้า เนื่องจากเป็นวิธีที่ลดต้นทุนการผลิตด้วยการประหยัดเวลา และไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีราคาแพง แล้วยังสามารถใช้สอนหรือสาธิตนักเรียนได้เนื่องจากใช้อุปกรณ์น้อย และเตรียมอย่างง่ายเหมาะสำหรับที่มีทุนทรัพย์ไม่มากนัก

ในการวิจัยครั้งนี้ศึกษาการใช้สารอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เนื้อผลกล้วยหอม ลำต้นใต้ดินมันฝรั่ง และปุ๋ยปลาสำเร็จรูป แทนสารเคมีหลายชนิดในอาหารที่กล้วยไม้ต้องการ ทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง(ตามสูตร Modified SH หน้า 14) รวมทั้งสารอินทรีย์อื่นที่เร่งการเจริญที่ปนมากับสารที่ใส่ เพื่อสร้างสูตรอาหารใหม่ด้วยการใช้สารอินทรีย์ดังกล่าวเป็นหลักแล้วเติมสารเคมีบางชนิดเท่าที่จำเป็น เปรียบเทียบผลการเจริญจากสูตรที่ได้ทดลองแล้วว่าเหมาะกับต้นอ่อนของกล้วยไม้สกุล Dendrobium ดีที่สุด ของ ถาวร วัชราภัย และ มนทกานติ วัชราภัย (2519) และ จริยา พิริยะกาญจนกุล (2520) และทดสอบใช้กับการเพาะเมล็ด เลี้ยงต้นอ่อน และเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบสูตรอาหารดัดแปลงอย่างง่าย ราคาถูก และเตรียมได้รวดเร็ว โดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์ราคาแพง เพื่อเลี้ยงต้นอ่อน เลี้ยงเนื้อเยื่อ และเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อได้อย่างเหมาะสม เพื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นการค้าหรือใช้สอนในระดับโรงเรียนที่มีเครื่องมือน้อยได้ และยังเป็นพื้นฐานของการวิจัยเกี่ยวกับการใช้สารอินทรีย์เพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอื่น ๆ ต่อไปด้วย

วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

1. เพื่อสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงต้นอ่อน และทดสอบกับการเพาะเมล็ดและเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อที่เตรียมง่าย รวดเร็วและราคาถูก
2. ศึกษาการเจริญของต้นอ่อน เนื้อเยื่อ และเมล็ดกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ