

1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

กล้วยไม้หลายชนิดเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์อันเป็นผลมาจากธรรมชาติ (การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในระบบนิเวศ) และจากมนุษย์ (การทำลายป่า) อีกทั้งมีการนำกล้วยไม้มาปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์เพื่อการค้าอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศและต่างประเทศ(อุไร,2541) โดยเฉพาะกล้วยไม้รองเท้านารีเขตร้อน (*Paphiopedilum*) ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองของไทยหลายชนิดก็ได้รับความนิยมอย่างมาก แต่ก็ยังไม่เพียงพอกับความต้องการ ทำให้มีการลักลอบนำกล้วยไม้รองเท้านารีพันธุ์พื้นเมืองออกจากป่าธรรมชาติกันมากขึ้น และในสภาพธรรมชาติกล้วยไม้กลุ่มนี้มีอยู่จำนวนน้อย เพราะมีข้อจำกัดในการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติทั้งแบบอาศัยเพศ (ใช้เมล็ด) และไม่อาศัยเพศ (การแตกหน่อ) เมื่อประกอบกับการถูกรุกรานโดยมนุษย์จึงส่งผลให้ในปัจจุบันกล้วยไม้ในสกุลรองเท้านารีถูกจัดให้อยู่ในบัญชี 1 ของ CITES ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงจำเป็นต้องหาวิธีการในการอนุรักษ์เก็บสายพันธุ์กล้วยไม้ชนิดต่างๆ ให้มากขึ้น โดยเฉพาะกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี การผลิต clone สายพันธุ์ต่างๆ ตลอดจนการเก็บรักษาสายพันธุ์ที่ได้ จะเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับการศึกษาในอนาคต โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องการปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์ที่มีลักษณะตรงตามความต้องการ

การศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีโดยการเพาะเมล็ด ในห้องปฏิบัติการก็เริ่มประสบความสำเร็จ ส่วนการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส แล้วนำแคลลัสดังกล่าวมาผ่านขั้นตอนให้เกิดเป็นต้นยังเป็นการศึกษาวิจัยเริ่มต้นเท่านั้น แม้ว่าจะได้มีรายงานไว้ในกล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสมในเขตร้อน (*Paphiopedilum* hybrid)(Lin *et al.*,2000) ก็ตาม ปัญหาสำคัญประการหนึ่งที่พบของกล้วยไม้ในกลุ่มนี้คือการเพิ่มปริมาณและดูแลรักษา (maintain) แคลลัสที่ชักนำได้ เนื่องจากแคลลัสมักจะตายในระหว่างการย้ายเลี้ยง (subculture)

การศึกษาเกี่ยวกับการเก็บรักษาอวัยวะหรือชิ้นส่วนพืช โดยวางไว้ในที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (cryopreservation) ก็ประสบความสำเร็จ เช่นเก็บในรูปของเซลล์แขวนลอย และ embryogenic callus ของส้ม (Engelmann *et al.* ,1994) หรือการเก็บรักษาเซลล์ เนื้อเยื่อ ต้นอ่อนและเมล็ด แต่ส่วนใหญ่จะเป็นพืชเขตร้อน สำหรับกล้วยไม้ก็มีรายงานว่าประสบความสำเร็จในการเก็บในรูปแบบเมล็ด โพรโทคอร์ม (Thammasiri และ Pornchuti, 2005) และเซลล์แขวนลอย (Tsukasaki *et al.*,2000)

จากการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการชักนำแคลลัสจากเมล็ด ในกล้วยไม้รองเท้านารีขาวสตูล สามารถให้แคลลัสที่สมบูรณ์และแข็งแรง (อิศราภรณ์,2549) ซึ่งมีแนวโน้มที่จะนำมาศึกษาเพื่อพัฒนาให้เป็นต้น หรือเพื่อการวิจัยในอนาคตได้ จึงจำเป็นต้องศึกษาถึงแนวโน้มการเก็บรักษาในรูปแบบ clone

โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะ PLBs ซึ่งเป็นระยะหนึ่งของการเจริญเติบโต การวิจัยในครั้งนี้นอกเหนือจะทำการศึกษาการเก็บรักษาแบบcryopreservation โดยวิธี vitrification ซึ่งจะเก็บในรูปของ embryogenic callus หรือ PLBs ของกล้วยไม้รองเท้านารีชาวดสตูลแล้ว จะใช้เทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยาเข้ามาตรวจสอบสภาวะก่อนและหลังการเก็บรักษาโดยวิธีการดังกล่าว เพื่อประเมินศักยภาพของชิ้นส่วนนั้นๆ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งประเด็นไปที่การหาวิธีการจากการชักนำแคลลัส เป็นโปรโทคอร์มไลด์บอดี (protocorm light body, PLBs) และเจริญเป็นต้นอย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงหาแนวทางในการเก็บรักษาสายพันธุ์ (clone) ในรูปแบบของระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เช่นอาจเป็นรูปแบบของแคลลัส หรือ PLBs ก็ได้ ซึ่งระยะดังกล่าวเป็นระยะที่มีประสิทธิภาพในการนำมาทำให้เกิดเป็นต้นได้ดี (ข้อมูลเบื้องต้นจากการทำวิจัย, unpublished data) ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ทางการค้าและการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อวิทยา รองเท้านารีชาวดสตูลทั้งก่อนและหลังการเก็บรักษาสายพันธุ์
2. ศึกษาระยะเวลาการเจริญ เพื่อใช้ในการเก็บรักษาสายพันธุ์รองเท้านารีชาวดสตูลเพื่อการอนุรักษ์
3. เพิ่มองค์ความรู้ในงานด้านการเจริญเติบโตของพืช ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในแต่ละระยะการเจริญเติบโต เช่น การเกิดแคลลัส การเกิดโปรโทคอร์มไลด์บอดี และการเกิดเป็นต้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเก็บรักษาสายพันธุ์รองเท้านารีเพื่อการอนุรักษ์ ด้วยวิธีการที่เหมาะสม
2. นำความรู้จากโครงการไปเพิ่มเติมในเนื้อหาทางวิชาการ เช่น งานด้านการเจริญเติบโตของพืช เพื่อใช้ในการเรียนการสอนและการวิจัย ตลอดจนประยุกต์ใช้กับกล้วยไม้รองเท้านารีชนิดอื่นๆ
3. ผลิตบัณฑิตในระดับบัณฑิตศึกษา (ปริญญาโท) 1 คน
4. ตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

ขอบเขตการวิจัย การชักนำแคลลัส การชักนำโปรโทคอร์มไลด์บอดีและต้นอ่อน การเก็บรักษาด้วยวิธี vitrification ในรูปแบบแคลลัสหรือโปรโทคอร์มไลด์บอดี