

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ที่มาและความสำคัญของปัญหา

การปรับปรุงพันธุ์พืชเริ่มมาตั้งแต่เมื่อมนุษย์รู้จักปลูกพืชเป็นอาหาร ในยุคโบราณการปรับปรุงพันธุ์พืชถูกจัดว่าเป็นศิลปะอย่างหนึ่ง ที่ต้องอาศัยการสังเกตและความชำนาญของเกษตรกร ที่จะรู้สึกถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น และทราบว่ามีความแตกต่างเกิดขึ้นในประชากรพืชของเขา การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) ที่เพิ่มปริมาณขึ้นในแต่ละฤดูปลูก จนมีปริมาณมากพอที่จะสังเกตเห็นได้ ถ้าเป็นลักษณะใหม่ที่มีประโยชน์ก็就会被คัดเลือกไว้ทำพันธุ์ต่อไป แต่ถ้าเป็นลักษณะที่ทำให้พืชนั้นด้อยลงก็就会被กำจัดทิ้งไป วิธีการคัดเลือกดังกล่าวถึงแม้จะทำมาช้านาน แต่เนื่องจากลักษณะที่เกิดขึ้นใหม่มีโอกาสที่จะเกิดขึ้นเองได้น้อยมาก และกว่าจะเกิดขึ้นแต่ละครั้งก็ห่างกันเป็นระยะเวลาอันยาวนาน จึงทำให้การปรับปรุงพันธุ์เป็นไปได้ช้ามาก จนเมื่อนักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบเพศในพืชขึ้นเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1694 จึงเริ่มมีผู้นำพันธุ์พืชมาผสมกัน เพื่อให้ลักษณะต่างๆ กระจายตัวออกมาให้เห็น เกิด crossing over และ recombination ทำให้ปรากฏฟีโนไทป์ (phenotype) ใหม่ๆ ออกมามากมาย จนในปี ค.ศ. 1866 Mendel เป็นท่านแรกที่ให้กฎเกณฑ์เกี่ยวกับการถ่ายทอดลักษณะจากพ่อแม่ไปยังลูก ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ในสมัยต่อมาอย่างแพร่หลาย ต่อมาในปี ค.ศ. 1909 Shull ค้นพบลักษณะเด่นที่เกิดขึ้นในลูกผสม (heterosis) ซึ่งนำมาอธิบายถึงความดีเด่นของลูกผสมที่ Fairchild ผลิตขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1719 ได้ และนำหลักการดังกล่าว มาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชสืบต่อมา หลังจากนั้นเมื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีธรรมดา (conventional method) ไม่อาจคาดหวังได้ถึงการยกระดับผลผลิตให้สูงขึ้นทันกับความต้องการอาหารที่สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อีกทั้งปัญหาเกี่ยวกับการระบาดของโรคพืชที่มีสาเหตุมาจากเชื้อโรคต่างๆ เช่น ไวรัส ไม่อาจแก้ได้ด้วยการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีการเดิม นักวิทยาศาสตร์จึงนำเอา

เทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnology) เข้ามาช่วยในการปรับปรุงพันธุ์พืชตามความต้องการให้ได้ผลดีและรวดเร็วยิ่งขึ้น

ความสามารถในการเพิ่มปริมาณผลผลิตอาหารต่อพื้นที่ต่อจำนวนประชากรที่สูงขึ้น ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร (Tazawa and Kawai, 1986) ซึ่งส่งผลให้อารยธรรมของมนุษย์มีการพัฒนามาจนถึงปัจจุบัน กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การปรับปรุงพันธุ์พืชเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญอย่างหนึ่งที่มีส่วนช่วยในการพัฒนาสังคมมนุษย์อย่างต่อเนื่องมาทุกยุคสมัย ปัจจุบันประชากรมนุษย์ได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยคาดว่าจะเพิ่มสูงเกิน 10 ล้านล้านคนภายในปี 2050 ดังนั้นความต้องการอาหารและแหล่งของอาหารจึงเพิ่มขึ้นตามจำนวนประชากร ความต้องการด้านอาหารและแหล่งของอาหารที่เพิ่มขึ้นนั้น เป็นสาเหตุทำให้ต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาผลผลิตที่ได้จากพืชให้เพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย กล่าวคือ หากสามารถทำการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้ต้านทานต่อสภาพการปลูกที่ไม่เหมาะสมซึ่งแต่เดิมไม่สามารถใช้เป็นพื้นที่การผลิต เช่น ในดินที่มีสภาพเป็นกรดหรือด่างสูงเกินไป สภาพน้ำท่วมพื้นที่เพาะปลูก สภาพการขาดน้ำ รวมถึงการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานต่อโรคและแมลง จะเป็นการขยายพื้นที่ในการเพาะปลูกภายในโลก ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มความสามารถในการรองรับจำนวนประชากรที่สูงขึ้น

การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นทางเลือกที่ดีวิธีหนึ่ง ที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ได้รวดเร็วในระยะเวลาที่สั้น เทคนิคนี้เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชโดยการนำเอาเซลล์หรือเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะบางส่วน of พืช เช่น ยอด ลำต้น ใบ ส่วนต่างๆ ของดอก หรือผลที่ยังมีชีวิตมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ซึ่งทำให้สามารถขยายพันธุ์พืชได้ในปริมาณมาก ต้นพืชที่ผลิตได้มีความสม่ำเสมอ และสามารถขยายพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี ขึ้นส่วนพืชที่ได้สามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีลักษณะตรงตามพันธุ์ที่ต้องการ สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีมาตรฐานและเก็บเกี่ยวได้คราวละมากๆ ในเวลาเดียวกัน (รังสฤษฏ์, 2545) นอกจากนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังส่งผลให้การผสมข้ามของพืชต่างสายพันธุ์หรือพืชที่มีต้นกำเนิดของสายพันธุ์ที่ไกลกันสามารถผสมพันธุ์กันได้ เป็นผลทำให้มีการขยายแหล่งของพันธุกรรมให้กว้างขวางออกไป และช่วยในการปรับปรุงพันธุ์ตามความต้องการให้ได้ผลดีและรวดเร็วยิ่งขึ้น เพราะว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำให้วงจรชีวิตของพืชสั้นลงเนื่องจากส่วนที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงไม่จำเป็นต้องเป็นขึ้นส่วนของพืชที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ โดย

ขึ้นส่วนที่มีความยาววิชัยก็สามารถนำมาทำการเพาะเลี้ยงได้ และวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นก็สามารถทำได้ต่อเนื่องตลอดทั้งปี เนื่องจากเราสามารถควบคุมสภาวะทั้งภายใน และภายนอกขวดตามที่เรากำลังต้องการได้ การปรับปรุงพันธุ์ของพืชดังกล่าวเป็นไปอย่างรวดเร็ว เกิดพืชสายพันธุ์ใหม่ที่รวบรวมเอาลักษณะที่ดีของพ่อและแม่มารวมกันไว้ ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณภาพของผลผลิต ส่งผลให้ผลผลิตทางการเกษตรมีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ในปัจจุบัน เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาและนำมาใช้แก้ปัญหาเพื่อประโยชน์ในภาคเกษตร และภาคอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง

ในการศึกษาความเป็นไปได้ของการชักนำดอกและติดผลของพืชภายใต้สภาพปลอดเชื้อนั้น ประสบความสำเร็จกับพืชหลายชนิด เช่น ถั่วลิสง (Kachonpadungkitti, 1992) ส่วนการศึกษาถึงความเป็นไปได้ของการผสมเกสรเพื่อให้ติดผลในสภาพปลอดเชื้อ ประสบผลสำเร็จในบัวตอง (Kachonpadungkitti, 2003) ซึ่งเป็นพืชที่จะต้องมีการผสมข้ามต้น เนื่องจากแม้ว่าบัวตองจะให้ดอกสมบูรณ์เพศ แต่ในกลุ่มประชากรทั้งหมดของบัวตองให้ดอก 2 ลักษณะ แต่ละต้นจะให้ดอกลักษณะใดลักษณะหนึ่งเท่านั้น และเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียของดอกของต้นเดียวกันที่มีลักษณะเหมือนกันจะไม่สามารถผสมกันได้ (self incompatible) และพืชอีกชนิดหนึ่งซึ่งประสบความสำเร็จในการผสมเกสรแล้วก็คือ ถั่วลิสง (Asawaphan, 2004) เนื่องจากถั่วลิสงนี้เป็นพืชที่มีดอกสมบูรณ์เพศและผสมเกสรในตัวเอง วิธีการผสมข้ามจะต้องกำจัดเกสรตัวผู้ออก เพื่อป้องกันการผสมตัวเอง ในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้แดงกวาเป็นพืชทดลอง เพื่อยืนยันถึงความเป็นไปได้ของการผสมเกสรและติดผลภายในสภาพปลอดเชื้อของพืชที่มีดอกไม่สมบูรณ์เพศ (มีดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกกันแต่อาศัยอยู่ในต้นเดียวกัน) ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยการผสมเกสรจากผู้ทดลอง (Artificial pollination)

แดงกวาเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง มีคุณสมบัติและคุณค่าทางอาหารในด้านที่สะสมน้ำ เป็นแหล่งวิตามินซี สารแคโรทีนและเบต้าแคโรทีน ปลูกง่ายและให้ผลผลิตเร็วผลิตได้ตลอดทั้งปี และมีอายุการเก็บรักษานานกว่าพืชชนิดอื่น นอกจากนี้แดงกวายังมีสรรพคุณทางยา คือใช้เป็นยาขับปัสสาวะ แก้ไข้ แก้กระหายน้ำ ไฟลวกและให้ความชุ่มชื้นแก่ร่างกาย (สถาบันวิจัยโภชนาการและมูลนิธิโตโยต้าประเทศไทย, 2540) การปรับปรุงพันธุ์แดงกวาให้ได้สายพันธุ์ใหม่ ๆ ด้วยวิธีการผสมพันธุ์นั้นต้องใช้เวลานาน ปัจจุบันการศึกษากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแดงกวมีน้อยมาก อีกทั้งยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้

ร่วมกับวิธีการปรับปรุงพันธุ์ การทำวิจัยในครั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์แตงกวาและพืชในตระกูลเดียวกันซึ่งเป็นพืชที่มีลักษณะของดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย แยกกันอยู่แต่อาศัยอยู่ในต้นเดียวกัน ซึ่งรวมถึงพืชชนิดอื่นที่มีการผสมข้ามในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ที่มีคุณสมบัติที่ดีตามความต้องการและสามารถนำไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป

งานวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงวิธีการชักนำดอกและวิธีการชักนำให้ดอกบานในสภาพปลอดเชื้อ รวมถึงศึกษาความเป็นไปได้ที่แตงกวาจะสามารถผสมเกสรข้ามสายพันธุ์และติดผลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยในการศึกษาปัจจัยของการชักนำดอกและชักนำให้ดอกบาน ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของความชื้น อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช อิทธิพลของน้ำตาลซูโครส และอิทธิพลของอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง สำหรับการศึกษาวิธีลดความชื้นภายในขวดทดลองนั้น ได้ศึกษาอิทธิพลของเมมเบรนฟิวเตอร์ พาราฟฟินเหลว ส่วนการศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนที่ส่งผลต่อการชักนำดอกและชักนำให้ดอกบาน ได้ศึกษาในฮอร์โมน 3 ชนิดคือ ไคเนติน เอทิลฟอน และจิบเบอเรลลิน นอกจากนี้ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำตาลและอิทธิพลของอุณหภูมิที่ระดับต่างกัน ที่มีผลต่อการชักนำดอกรวมถึงการชักนำให้ดอกบาน

### วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์หลักของการทำวิจัยในครั้งนี้ ก็เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผสมเกสรเพื่อให้ติดผลภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ของพืชที่มีดอกแยกเพศในต้นเดียวกัน ซึ่งจำเป็นต้องมีการผสมข้ามดอก โดยผู้ทดลองได้แบ่งวัตถุประสงค์ย่อยออกได้เป็น ดังนี้

- ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดดอกและชักนำให้ดอกบานของแตงกวาภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้
  - อิทธิพลของความชื้น ได้แก่ การใช้แผ่นเมมเบรนฟิวเตอร์ การใช้พาราฟฟินเหลว เพื่อลดความชื้น ต่อการชักนำดอกและชักนำให้ดอกบาน
  - อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ไคเนติน เอทิลฟอน และจิบเบอเรลลิน ต่อการชักนำดอกและชักนำให้ดอกบาน

- อิทธิพลความเข้มข้นของน้ำตาลที่ระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการชักนำดอก
  - อิทธิพลของอุณหภูมิที่ระดับต่างๆ ที่มีผลต่อการชักนำดอกและชักนำให้ดอกบาน
- ทดสอบการผสมเกสรและติดผลของแตงกวาภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

### สมมุติฐาน

เนื่องจากในสภาพธรรมชาติ แตงกวาเป็นพืชที่ให้ดอกตัวผู้ในช่วงต้นของการให้ดอก แล้วจึงให้ดอกตัวเมีย ซึ่งจะติดเป็นผลในช่วงต่อไป และจากผลการทดลองเบื้องต้น (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ปรากฏว่า แตงกวาที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมักจะให้แต่เพียงดอกเพศผู้ และถึงแม้จะให้ดอกเพศเมียบ้างในบางครั้ง แต่ดอกที่ได้มักจะไม่สมบูรณ์และไม่บาน ดังนั้นการชักนำให้เกิดดอกตัวเมียและชักนำให้ดอกตัวเมียบานในอัตราที่สูง จึงเป็นเงื่อนไขที่จำเป็นต่อการศึกษาในครั้งนี้

- สภาวะที่เหมาะสมต่อการชักนำดอกตัวเมียและการชักนำดอกตัวเมียให้บานภายใต้สภาพปลอดเชื้อ น่าจะได้รับอิทธิพลจากปัจจัย ดังนี้คือ
  1. ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ไคเนติน เอทิลฟอน และ จิบเบอเรลลิน
  2. อุปกรณ์และวัสดุที่จะช่วยในการลดความชื้น ได้แก่ การใช้แผ่นเมมเบรนพีวีดีออร์ การใช้ฟาราฟิินเหลว
  3. ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของน้ำตาล
  4. อุณหภูมิที่ระดับต่างๆ
- มีความเป็นไปได้ของการผสมเกสรและติดผลของแตงกวาในสภาพปลอดเชื้อ

### ขอบเขตของงานวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้ เริ่มจากการคัดเลือกพันธุ์แตงกวาที่จะนำมาทำการศึกษา ทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดแตงกวาภายใต้สภาพปลอดเชื้อ จากนั้นนำต้นอ่อนของแตงกวาที่ทำการเพาะเลี้ยงไว้มาศึกษาหาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำดอกและการชักนำให้ดอกบานภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

เมื่อสามารถชักนำให้เกิดดอกและสามารถชักนำให้ดอกบานได้แล้ว ก็จะนำมาทดสอบถึงความ  
เป็นไปได้ในการผสมเกสรข้ามสายพันธุ์ของแตงกวาภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เพื่อที่จะทำให้เกิดการ  
ติดผลและให้เมล็ดของแตงกวาลูกผสมภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดดอกและการชักนำให้ดอกบานภายใต้สภาพ  
ปลอดเชื้อ
2. สามารถทดลองผสมข้ามสายพันธุ์แตงกวาได้ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ
3. สามารถนำผลและวิธีการทดลองมาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป