

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลองที่ 1 การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงและการพัฒนาโปรโตคอร์ม

การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง

การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) เมื่อครบ 3 เดือน เมล็ดงอกดีมาก โดยเปลี่ยนจากสีเหลืองขนาดเล็กคล้ายผงฝุ่น เป็นโปรโตคอร์มสีเขียวจำนวนมาก

การพัฒนาโปรโตคอร์ม

การพัฒนาโปรโตคอร์มเอื้องเงินหลวงบนอาหารแข็งสูตร SM โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดี การพัฒนาโปรโตคอร์มในอาหารเหลวสูตร LM2 โปรโตคอร์มเพิ่มขึ้นแต่เกิดต้นอ่อนน้อยกว่าสูตร SM ส่วนการพัฒนาโปรโตคอร์มในอาหารเหลวสูตร LM1 โปรโตคอร์มบางส่วนจะบวมน้ำและตาย

สรุปผลการทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง

การพัฒนาโปรโตคอร์มเอื้องเงินหลวงบนอาหารแข็งสูตร SM แล้วพัฒนาต้นอ่อนบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่ประกอบด้วย น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร รูน 7 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1.5 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร และสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) คือสูตรที่ 11 มีการเจริญเติบโตของต้นอ่อนดีที่สุด

ข้อค้นพบจากการวิจัย

1. อาหารสูตร LM2 ช่วยเพิ่มโปรโตคอร์มเอื้องเงินหลวง
2. อาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่ประกอบด้วย น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร รูน 7 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1.5

กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร และสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) เหมาะสมที่สุดสำหรับการพัฒนาต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง

การอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงและการพัฒนาโพโทคอร์ม

การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง

การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) เมื่อครบ 3 เดือน เมล็ดงอกดีมาก เมล็ดเปลี่ยนจากสีเหลืองขนาดเล็ก เป็นโพโทคอร์มสีเขียวจำนวนมาก มีรายงานว่า น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ และน้ำมะพร้าวมีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช กระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ของเซลล์ผิว (ศิริลักษณ์ เจริญดี, 2544) นอกจากนี้ผงถ่านกัมมันต์เป็นสารที่ช่วยการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อน ด้วยการดูดซับสารยับยั้งการเจริญเติบโตที่เกิดจากขบวนการเมแทบอลิซึม และช่วยรักษาระดับความเป็นกรดและค่าของอาหารไม่ให้เกิดเปลี่ยนแปลง และช่วยเพิ่มออกซิเจนในอาหาร เนื่องจากอนุภาคของถ่านมีรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (Arditti และ Ernst 1984 อ้างถึงใน ดวงพร โรจนวงศ์, 2549)

การพัฒนาโพโทคอร์ม

การพัฒนาโพโทคอร์มบนอาหารแข็งสูตร SM และในอาหารเหลวสูตร LM1 และ LM2 เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าโพโทคอร์มบนอาหารแข็งสูตร SM เมื่อเพาะเลี้ยง 1 เดือน เกิดต้นอ่อนที่ส่วนใหญ่มีพัฒนาการดี คือเกิดยอดและรากชัดเจน เมื่อเพาะเลี้ยง 2 เดือน ลำต้นสมบูรณ์แข็งแรง สูงประมาณ 2 เซนติเมตร จำนวนใบ ความยาวใบ และความกว้างใบเพิ่มขึ้น ใบมีสีเขียวเข้ม จำนวนราก และความยาวรากเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาปริมาณน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องผาเวียง พบว่าน้ำตาลซูโครส 10-15 กรัมต่อลิตร ทำให้โพโทคอร์มเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ดี (สรัญญา อัมโร, 2547) และสอดคล้องกับรายงานการเพาะเลี้ยงโพโทคอร์มในอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์ ที่พบว่าต้นอ่อนฟาแลนนอโฟซิส พัฒนาได้ดีกว่าอาหารที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ (จุฑามาส ศรีสำราญ, 2549) นอกจากนี้การศึกษาอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมกล้วยหอมบดและมันฝรั่งบดอย่างละ 50 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ชักนำโพโทคอร์มจะระกระร่อนปากเปิดให้เกิดขึ้นสูงสุด (สุภาวดี ถาวโร, 2548) เนื่องจากอาหารเพาะเลี้ยงนี้มีน้ำ

มะพร้าวอ่อน ซึ่งมีสารต่าง ๆ เช่น IAA purerine และคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด สารเหล่านี้กระตุ้นให้เซลล์แบ่งตัวและพัฒนา กล้วยหอมบดมีสารที่สำคัญ คือ โปรตีน ไขมันคาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ (retinol) วิตามินบี 1 (thiamine) วิตามินบี 2 (riboflavin) วิตามินบี 3 (niacin) วิตามินซี (ascorbic acid) และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียม และแมกนีเซียม โดยเฉพาะธาตุเหล็กซึ่งอยู่ในรูปที่กล้วยไม้นำไปใช้ในการเจริญเติบโตและการเกิดรากได้ ส่วนถ่านกัมมันต์ช่วยดูดซับสารต่างๆ ทั้งแก๊ส ของเหลว หรือสารที่ละลายน้ำไว้ที่ผิวของรูพรุน และช่วยดูดกรดคาร์บอนิกที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างของอาหาร ซึ่งเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มบนอาหารแข็งสูตร SM ช่วยพัฒนาให้เกิดขึ้นอ่อนได้ดีกว่าอาหารสูตรอื่นเนื่องจากได้รับสารอาหาร และวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ครบถ้วนจากน้ำมะพร้าวอ่อนและกล้วยหอม มีแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลซูโครส ซึ่งช่วยในการเกิดรากของต้นกล้า ถ่านกัมมันต์ช่วยดูดซับพิษ และวุ้นช่วยให้รากกล้วยไม้ยึดเกาะ และดูดซึมอาหารได้ดี

เมื่อเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มในอาหารเหลวสูตร LM1 ได้โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ เกาะกันหลวมๆ มีสีเขียวในช่วงแรก สอดคล้องกับรายงานผลของสภาพอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องมรกต ที่เพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มในอาหารเหลว ซึ่งเคลื่อนไหวดตลอดเวลาบนเครื่องเขย่า ทำให้เนื้อเยื่อปลายยอดสร้างโพรโทคอร์มตลอดเวลา เมื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 3-4 สัปดาห์ (เกศรินทร์ เกตุพยัคฆ์, 2551)

ในการศึกษานี้ ในสัปดาห์ที่ 3-4 ต้นอ่อนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวปนสีเหลือง เนื่องจากไม่ได้เปลี่ยนอาหาร ทำให้อาหารมีความเข้มข้นของธาตุอาหารต่ำ แต่โพรโทคอร์มเป็นก้อนขนาดใหญ่ขึ้น พื้นที่สัมผัสอาหารน้อยลง ขาดออกซิเจน และได้รับแสงไม่ทั่ว ทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำลง เกิดการแก่งแย่งปัจจัยการเจริญเติบโต และมี water potential ไม่เหมาะสม ทำให้เนื้อเยื่อบวม น้ำ แต่โพรโทคอร์มบางส่วนที่มีความสามารถในการแก่งแย่งแข่งขันสูง สามารถพัฒนาเกิดยอดและต้นอ่อนได้ เมื่อนำมาเพาะต่อบนอาหารเลี้ยงต้นอ่อนสูตร VW (1949) พบการเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนน้อยลง เนื่องจากโพรโทคอร์มที่บวม น้ำส่วนที่มีสีเหลืองเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตาย เกิดจากการปล่อยสารฟีนอลิก (phenolic substance) ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณโปรตีน เพื่อนำไปสังเคราะห์แป้ง และลดการผลิตเอธิลีน ทำให้เซลล์เกิดสีน้ำตาลหรือดำมากขึ้น ส่งผลให้เนื้อเยื่อเกิดการเสื่อมสภาพ สอดคล้องกับรายงานที่พบว่าสารฟีนอลิกพบใน

เนื้อเยื่อที่ไม่แก่มาากมากกว่าเนื้อเยื่อที่แก่หรือเป็นต้นกล้า นอกจากนี้การปล่อยสาร นี้อยู่กับขนาดของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (Lindfors *et al*, 1990 อ้างถึงใน สุภาวดี ถาวโร, 2548)

เมื่อเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มในอาหารเหลวสูตร LM2 ได้โปรโตคอร์มเป็นก้อนขนาดใหญ่สีเขียวเข้มสดเกาะกันแน่น มีปริมาณโปรโตคอร์มเพิ่มขึ้นจากเดิม และเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน ทั้งนี้เนื่องจากสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) ประกอบด้วย myo-inositol nicotinic acid pyridoxine วิตามินบี 1 (thiamine) และ glycine มีรายงานว่าช่วยส่งเสริมการงอก และการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (Arditti and Ernst, 1993 อ้างถึงใน สุภาวดี ถาวโร, 2548) และ มีรายงานว่า Nicotinic acid จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากเกี่ยวข้องกับการรักษาปริมาณ NAD และ NADP⁺ การเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม ส่งเสริมกิจกรรมของเนื้อเยื่อเจริญ และการขยายขนาดของเนื้อเยื่อเจริญ pyridoxine เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน thiamine ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ใน pyruvate metabolism (สุภาวดี ถาวโร, 2548) การนำโปรโตคอร์มเอื้องเงินหลวงมาเพาะในอาหารเหลวสูตร LM2 พบการเจริญเติบโตสอดคล้องกับการศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์มกะเหรี่ยงปากเป็ด คือ การเพิ่มสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) ช่วยเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์ม (สุภาวดี ถาวโร, 2548) ส่วนการเปลี่ยนสีจากสีเขียวเข้มสดเป็นสีเขียวอ่อนอาจเป็นเพราะปริมาณโปรโตคอร์มที่เพิ่มขึ้น ทำให้ได้รับอาหาร ออกซิเจน และแสงไม่ทั่วถึง เกิดการแก่งแย่งปัจจัยการเจริญเติบโต เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารเลี้ยงต้นอ่อนสูตร VW (1949) ได้ต้นที่เจริญเติบโตสมบูรณ์แข็งแรง จำนวนใบ ความยาวใบ และจำนวนราก ดีกว่าสูตร LM1 แต่น้อยกว่าสูตร SM เนื่องจากการบวมน้ำดังกล่าวแล้ว แต่พบลักษณะเด่นกว่าสูตร SM คือ ความกว้างใบ และความยาวรากดีกว่าสูตรอื่น สอดคล้องกับการศึกษาผลของสภาพอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องมรกต ที่พบข้อดีของการเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารเหลวที่เติมสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) คือมีความกว้างลำต้นดีกว่าสูตรที่ไม่เติมสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) มีรายงานการเพาะเลี้ยงปลายยอดกล้วยไม้ในอาหารเหลว ที่มีการเคลื่อนไหวน้ำตลอดเวลาระหว่างเครื่องเขย่า เนื้อเยื่อปลายยอดเจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์มได้เรื่อยๆ และต้องเปลี่ยนอาหารทุก 3-4 สัปดาห์ เมื่อต้องการให้โปรโตคอร์มเจริญเติบโตเป็นต้นและราก ต้องย้ายไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง (เกศรินทร์ เกตุพยัคฆ์, 2551)

การพัฒนาโปรโตคอร์มเอื้องเงินหลวง วิธีที่เหมาะสมที่สุดพิจารณาจากหลักเกณฑ์ว่า หากต้องการต้นอ่อนที่พัฒนาการของต้นดี ควรพัฒนาโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร SM เนื่องจากได้รับสารอาหาร และวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตอย่างครบถ้วนจากน้ำมะพร้าวอ่อนและกล้วยหอม มีแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลซูโครส ช่วยการเกิดรากของต้นกล้า ถ่านกัมมันต์ ช่วยดูดสารพิษ และวุ้นช่วยให้รากยึดเกาะและดูดซึมอาหารได้ดี แต่ถ้าต้องการเพิ่มปริมาณต้น ควรพัฒนาโปรโตคอร์มในอาหารเหลวสูตร LM2 เนื่องจากโปรโตคอร์มเคลื่อนไหวดลอดเวลาบนเครื่องเขย่า ทำให้เนื้อเยื่อปลายยอดเจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์มไปเรื่อยๆ และอาหารเหลวสูตร LM2 เติมสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) ซึ่งมีสารอาหาร และวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต ทำให้ต้นอ่อนสมบูรณ์แข็งแรงดี

การทดลองที่ 2 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง ในอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) 36 สูตร ใช้ต้นอ่อนอายุ 5 เดือน จากการพัฒนาโปรโตคอร์มจากอาหาร 3 สูตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร 6 เดือน พบว่าอาหารสูตรที่ 11 ที่ประกอบด้วย น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร วุ้น 7 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1.5 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร และสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) ซึ่งใช้ต้นอ่อนจากการพัฒนาบนอาหารแข็งสูตร SM เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงมากที่สุด ให้ความยาวใบสูงสุด จำนวนใบ และความกว้างใบสูง แม้พบว่าอาหารสูตรที่ 3 ซึ่งใช้ต้นอ่อนจากการพัฒนาบนอาหารแข็งสูตร SM ให้จำนวนใบสูงสุด แต่พบว่าค่า SE สูง แสดงว่าค่าความยาวใบไม่สม่ำเสมอ และอาหารสูตรที่ 5 ซึ่งใช้ต้นอ่อนจากการพัฒนาบนอาหารแข็งสูตร SM อาหารสูตรที่ 26 31 และ 33 ซึ่งใช้ต้นอ่อนจากการพัฒนาในอาหารเหลวสูตร LM2 ให้ความกว้างใบเฉลี่ยสูงสุด แต่พบว่าค่า SE สูง แสดงว่าค่าความกว้างใบไม่สม่ำเสมอเช่นกัน

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยจำนวนราก และความยาวราก ของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง พบว่าอาหารสูตรที่ 11 ซึ่งใช้ต้นอ่อนจากการพัฒนาบนอาหารแข็งสูตร SM เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงมากที่สุด ให้จำนวนรากสูงสุด แม้อาหารสูตรที่ 31 ซึ่งใช้ต้นอ่อนจากการพัฒนาบนอาหารแข็งสูตร LM2 ให้ความยาวรากสูงสุด แต่การนำต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงออก

ปลูกในโรงเรือน รากที่ยาวเกินไปต้องตัดออก เพื่อช่วยต่อการปลูก และลดการคายน้ำ แต่จำนวนรากที่สูงมีผลดีต่อการดูดน้ำและแร่ธาตุ และอาหารสูตรที่ 11 ใช้ต้นอ่อนจากการพัฒนานานอาหารแข็ง สูตร SM ซึ่งพัฒนาโปรโตคอร์มเป็นต้นอ่อนได้ดี ต้นสมบูรณ์แข็งแรง จำนวนใบ ความยาวใบ และความกว้างใบมาก และจำนวนราก และความยาวรากก็เหมาะสม ตั้งแต่ขั้นการพัฒนาโปรโตคอร์ม

นอกจากนี้อาหารสูตรที่ 11 มีสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) และการเติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญเติบโตของเอ็มเบryoของเอ็มเบryoเงินหลวง สอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่า น้ำตาลซูโครสเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และอาหารเพาะเมล็ดกล้วยไม้หลายชนิดต้องเติมน้ำตาลซูโครสเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน น้ำตาลซูโครสในอาหารสังเคราะห์เมื่อนำมาเชื้อด้วยความดันไอน้ำ จะไฮโดรไลซิสได้น้ำตาลที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย (สรัญญา อัมโร, 2547) จากการศึกษาปริมาณน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอ็มเบryoฝ้าย พบว่าน้ำตาลซูโครส 10-15 กรัมต่อลิตร ทำให้โปรโตคอร์มเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ดี เมื่อพิจารณาถึงส่วนประกอบอื่น พบว่าการเติมกล้วยหอมบดและมันฝรั่งบดในอาหารสูตรที่ 11 กล้วยมีโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามินบี1 (thiamine) วิตามินบี 2 (riboflavin) วิตามินซี (ascorbic acid) และแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียม และแมกนีเซียม โดยเฉพาะธาตุเหล็กซึ่งอยู่ในรูปที่กล้วยไม้นำไปใช้ในการเจริญเติบโต และการเกิดรากได้ ส่วนมันฝรั่ง มีโพลีเอมีน กระจายอยู่ทั่วไป แต่เมื่อผ่านระยะพักตัว สารนี้จะมีที่ตายอด ทำให้มันฝรั่งเกิดหัวใหม่ได้ดี โพลีเอมีนมีผลต่อการเจริญและพัฒนาของเซลล์ โดยการเพิ่มกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในเนื้อเยื่อ ลดการสูญเสียจากเซลล์ และคงสภาพเซลล์แมมเบรน นอกจากนี้มันฝรั่งมี แป้งที่ประกอบด้วย amylose และ amylosepectin น้ำตาล เช่น ซูโครส กลูโคส และ ฟรุคโตส โปรตีน มี globulin glutelins tuberinin และ casein นอกจากนี้มันฝรั่งมี วิตามินเอ วิตามินบี และ วิตามินซี และ โพลีเอมีน ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และทำลายการพักตัว (สุภาศิริ พะนูชนม์ และ สุชาดา พัฒนกก, 2545) มีรายงานว่าอาหารสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกล้วยหอม 20 กรัมต่อลิตร ทำให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นอ่อน และเจริญเติบโตได้ดีในกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* (จุฑามาส ศรีสำราญ, 2549)

ข้อเสนอแนะ

1. อาหารสูตร LM2 น่าจะเหมาะสมต่อการเพิ่มต้นอ่อนจากโพรโทคอร์มกล้วยไม้ชนิดอื่น
2. สูตรอาหารที่เหมาะสมกับเอื้องเงินหลวงนี้ ควรนำไปทดลองกับกล้วยไม้ชนิดอื่น เพื่อเป็นแนวทางในการเพาะเมล็ด พัฒนาต้นกล้า เพื่อการขยายพันธุ์ และการอนุรักษ์พันธุ์กรรมกล้วยไม้