บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไคโตซาน

ไคโตซานได้จากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล (deacetylation) ของไคตินซึ่งคือ พอลิเมอร์ของ (1-4)-2 amino-2 deoxy- b - D-glucan หรือเรียกง่าย ๆว่าพอลิเมอร์ของกลูโคซามีน (glucosamine) การเกิดไคโตซานนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของการเกิดปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล ซึ่งวัดจากค่าระดับการกำจัดหมู่อะซีติล (degree of deacetylation) การทำปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล คิดเป็นหน่วยร้อยละ (percentage of degree of deacetylation , %DD) กล่าวคือถ้า %DD เกินกว่า 50% ขึ้นไปแล้วสามารถใช้พอลิเมอร์นั้นทำให้เกิดอนุพันธ์ที่ละลายในกรดอินทรีย์ได้ หรืออาจกล่าวได้ว่าการลดลงของหมู่อะซีติลในไคติน (chitin regenerated) ผลที่ได้คือ การเพิ่มหมู่อะมิโน ซึ่งเป็นการเพิ่มสมบัติการเป็นสารที่มีประจุเป็นบวก (polycationic activity) บนพอลิเมอร์ทำให้เกิดสภาพของการเป็นไคโตซานเพิ่มขึ้น (chitosan generation) เพราะฉะนั้นโครงสร้างของไคโตซานต่างจากไคตินตรงหน่วยที่เป็น glucosamine ในสายพอลิเมอร์เพิ่มมากเกินกว่า 50% ขึ้นไป (ภาวดี, 2544)

Prince of Songkla University Pattani Campus

2.2 หลักการในการเตรียมไคโตซาน

1. กระบวนการกำจัดโปรตีน (deproteination) โดยการทำปฏิกิริยากับด่าง ซึ่งส่วนใหญ่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ในกระบวนการนี้โปรตีนส่วนใหญ่จะถูกกำจัดออกไปจากวัตถุดิบ พร้อมกันนี้บางส่วนของไขมันและรงควัตถุบางชนิดมีโอกาสถูกกำจัดออกไปด้วย

2. กระบวนการกำจัดเกลือแร่ (demineralization) โดยการนำวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนมาแล้ว นำมาทำปฏิกิริยากับกรดซึ่งส่วนมากใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ทำให้เกลือแร่ส่วนใหญ่ ได้แก่ หินปูน (calcium carbonate, $CaCO_3$) จะถูกกำจัดออกไปโดยการเปลี่ยนเป็นแก๊ส

3. กระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ใช้ในการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล (CH_3CO-) ที่มีอยู่บนโมเลกุลของไคติน เพื่อให้เกิดเป็นไคโตซาน ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นของหมู่อะมิโนบนโมเลกุลของไคตินและหมู่อะมิโนนี้มีความสามารถในการรับโปรตอนจากสารละลายซึ่งช่วยในการละลายดีขึ้น เพราะมีสมบัติเป็นประจุบวก ส่วนใหญ่เมื่อปริมาณของหมู่อะซีติลถูกกำจัดไปมากกว่า 60% ขึ้นไป สารไคโตซานที่ได้สามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์หลายชนิด การลดหมู่อะซีติล กระทำได้โดยใช้ด่างที่เข้มข้นสูงตั้งแต่ 40% ขึ้นไป (ภาวดี, 2544)

ไคโตซานสามารถแยกมาได้จากหลายแหล่ง มีรายงานการแยกไคโตซานต่าง ๆ Odote และคณะ (2005) ศึกษาการแยกไคโตซานจากตัวอ่อนของแมลง *Calliphora erythrocephala* จากเปลือกปู

Sylla cerrata จากเปลือกกุ้งทะเล *Panulirus ornatus* และจากกุ้งนาง *Paeneaus indicus* พบว่าสภาวะที่มีผลต่อการแยกไคโตซานออกมานั้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการแยกไคโตซาน จากขั้นตอนการกำจัดเกลือแร่ การกำจัดโปรตีน และการกำจัดหมู่อะซีติล โดยเมื่อใช้อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นค่าการกำจัดหมู่อะซีติลจะสูงขึ้น และมีน้ำหนักของไคโตซานลดลงด้วย Liu และคณะ (2006) ศึกษาความแตกต่างน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานจะเหมือนกับระดับของการกำจัดหมู่อะซิติลจากวิธีของการใช้กรด อะซีติก จากการทดลองพบว่าผลในการต้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยไคโตซานและกรดอะซิติกต่อเชื้อ *Escherichia coli* จากตัวอย่างไคโตซานทั้งหมดที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5.5 $\times 10^4$ - 15.5 $\times 10^4$ Da มีผลต่อการยับยั้ง และที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm นั้นมีผลมากที่สุดในการต้านกิจกรรมของ จุลินทรีย์

2.3 การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์

1.การใช้กับพืชผักผลไม้

เนื่องจากไคตินและไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลอย่างช้าๆ รวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการนำแร่ธาตุไปใช้ ผลคือสามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพการผลิตได้ ทำให้เกษตรกรมี ต้นทุนต่ำลง เนื่องจากลดการใช้ปุ๋ยและยาฆ่าแมลง

2. การใช้ไคโตซานในวงการประมง

ในวงการประมงนั้นขณะนี้ได้มีการนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ในด้านการยืดอายุการรักษาและเก็บถนอมอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำ และในขั้นต้นนี้ได้สกัดโปรตีนจากหัวกุ้งด้วยกระบวนการย่อยด้วยแบคทีเรีย กรดแล็กติก (lectic acid bacteria) เพื่อนำโปรตีนนั้นมาใช้ในแง่เป็นสารเสริมคุณค่าอาหารและของว่างที่ทำจากสัตว์น้ำ การปรุงแต่งรส และกลิ่นในอาหารขบเคี้ยวที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำ

3. การใช้ไคโตซานในวงการแพทย์

การใช้ประโยชน์โดยนำมาประกอบเป็นอาหารเพื่อลดน้ำหนัก ทำผลิตภัณฑ์เสริมความงาม เช่น ครีมทาผิว ทำเป็นแผ่นไคโตซานเพื่อปิดปากแผลที่เกิดจากการผ่าตัดเฉพาะที่ ซึ่งพบว่าแผ่นไคโตซานจะช่วยให้คนป่วยเกิดการเจ็บปวดแผลน้อยกว่าการใช้ผ้าก๊อซชุบน้ำมันวาสลินมาปิดแผลเหมือนที่เคยปฏิบัติมาในสมัยก่อน

4. การใช้ไคโตซานในการบำบัดน้ำเสีย โดยทั่วไป น้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร มีสารแขวนลอยสูง ไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับโปรตีนและไขมันได้ดี ซึ่งโปรตีนที่ได้สามารถแยกนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ต่อไป นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถดูดซับอิออนของโลหะหนัก และจับสี (dye) ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย

Prince of Songkla University Pattani Campus

5. การใช้ไคโตซานด้านสิ่งทอ นำมาขึ้นรูปเป็นเส้นใย และใช้ในการทอร่วมหรือเคลือบกับเส้นใยอื่นๆ เพื่อให้ได้คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ ลดการเกิดกลิ่นอับชื้น (ภาวดี, 2544)

2.4 ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้

กล้วยไม้จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Subclass Monocotyledoneae) อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Family Orchidaceae) ซึ่งนับว่าเป็นวงศ์ใหญ่ที่สุดวงศ์หนึ่งในพืชมีดอก (Class Angiospermae) ประกอบด้วยกล้วยไม้ประมาณ 25,000 ชนิด มีการเจริญเติบโตหลายรูปแบบ เช่น เจริญบนกิ่งไม้ พื้นหิน ที่ชื้นแฉะ พื้นดิน เป็นต้น โดยกล้วยไม้พบได้มากในเขตร้อน (tropic) และพบว่ามักเป็นกล้วยไม้อากาศ (epiphyte) ส่วนกล้วยไม้เขตอบอุ่น (temperate) มักเป็นกล้วยไม้ดิน (terrestrial) (ครรชิต, 2541)

กล้วยไม้ที่พบในธรรมชาติ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

1. กล้วยไม้อากาศ เป็นกล้วยไม้ที่เกาะอาศัยบนต้นไม้อื่น โดยมีรากติดกับกิ่งไม้หรือลำต้น โดยได้รับอาหารจากซากอินทรียวัตถุ เช่นใบไม้ร่วง และผุพัง ซึ่งกล้วยไม้จะไม่ได้แย่งอาหารจากต้นไม้ที่มันอาศัยอยู่ รากของกล้วยไม้อากาศชอบการถ่ายเทอากาศ และการระบายที่ดี ผิวนอกของรากมีสารคล้ายฟองน้ำห่อหุ้มอยู่ เรียกว่า velamen ทำหน้าที่อุ้มน้ำจากน้ำฝน เพื่อป้องกันการขาดน้ำ ป้องกันเนื้อเยื่อไม่ให้ได้รับบาดแผล และช่วยยึดเกาะติดกับต้นไม้ นอกจากนี้รากกล้วยไม้มีคลอโรฟิลล์ จึงสามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ กล้วยไม้อากาศบางชนิดพบตามหิน หน้าผา ซอกหิน หรือท่อนไม้ซุง กล้วยไม้อากาศส่วนใหญ่ปลูกเป็นการค้าแยกได้เป็นกล้วยไม้ที่มีการเจริญเติบโตเป็นลำต้นเดี่ยว ไม่มีการแตกกอ (monopodial) ได้แก่ สกุลแวนด้า (*Vanda*) สกุลฟาแลนนอพซิส (*Phalaenopsis*) สกุลช้าง (*Rhynchostylis*) สกุลกุหลาบ (*Aerides*) เป็นต้น กล้วยไม้ที่มีการเจริญเติบโตเป็นกอ (*sympodial*) เช่น สกุลหวาย (*Dendrobium*) สกุลออนซิเดียม (*Oncidium*) สกุลแคทลียา (*Cattleya*)

2. กล้วยไม้ดิน พบขึ้นตามพื้นดินที่ปกคลุมด้วยอินทรียวัตถุ ส่วนมากเป็นพวกที่มีหัวอยู่ใต้ดิน และเป็นพวกที่มีการพักตัวตลอดฤดูแล้ง โดยเหลือเพียงหัวฝังอยู่ใต้ดิน เมื่อเริ่มเข้าสู่ฤดูฝนจะผลิใบและช่อดอก และสร้างหัวใหม่ขึ้นมาพร้อม ๆ กัน เมื่อดอกโรยใบจะเหี่ยวแห้งเหลือหัวฝังอยู่ในดินตลอดฤดูแล้ง กล้วยไม้พวกนี้ได้แก่ ลิ้นมังกร ท้าวขลู เมื่อนำมาปลูกในฤดูแล้งต้องแยกไว้ต่างหาก ไม่รดน้ำเพราะทำให้หัวเน่า (ครรชิต, 2541)

2.5 กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส

กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส เป็นสกุลใหญ่สกุลหนึ่ง ซึ่งมีแหล่งกำเนิดอยู่ในภูมิภาคเอเชียเขตร้อน นอกจากนั้น ยังมีความหลากหลายในด้านรูปลักษณะ รวมทั้งอุปนิสัย อันเป็นธรรมชาติของแต่ละชนิด ตลอดจนลักษณะทางพันธุศาสตร์อย่างกว้างขวางด้วย เนื่องจากกล้วยไม้สกุลนี้ มีธรรมชาติ

Prince of Songkla University Pattani Campus

ของแหล่งกำเนิด กระจายอยู่ในกลุ่มประเทศเขตร้อนของทวีปเอเชียตะวันออก อาทิเช่น หมู่เกาะชวา ฟิลิปปินส์ มลายู ไทย พม่า ดินแดนอินโดจีน เลยขึ้นไปถึงหมู่เกาะฟอร์โมซา เป็นต้น (ระพี, 2546)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น เป็นพวก monopodial ที่มีส่วนของลำต้นสั้น (ปล้องสั้น)

ราก ลักษณะของรากจะขึ้นอยู่กับชนิด ซึ่งอาจมีรากเป็นแบบ รากอากาศ หรือรากกึ่งอากาศได้ พวกที่มีรากเป็นแบบรากอากาศนั้น ปลายรากอาจมีสีเขียวหรือม่วงก็ได้ รากกึ่งอากาศมีลักษณะเป็นทรงกระบอก มีขนาดค่อนข้างใหญ่และที่ปลายรากไม่มีสีเคลือบอยู่ โดยทั่วไปแล้วรากของฟาแลนนอพซิส ไม่มีการแตกแขนง ยกเว้นในกรณีที่รากโดนทำลายอาจเกิดกิ่งก้านสาขาได้

ใบ ใบอวบน้ำ อาจมีลาย ขึ้นอยู่กับชนิด โดยทั่วไป ใบมีสีเขียวเข้ม

ช่อดอก มีทั้งที่เป็นช่อเดี่ยว (raceme) และช่อที่มีการแตกแขนง (panicle)

ดอก มีหลากหลายขนาด ตั้งแต่ดอกขนาดจิ๋วไปจนถึงขนาดใหญ่ กลีบดอก มักมีขนาดเท่าๆ กันและมีสีเหมือนกัน ในขณะที่ปากสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนด้วยกัน 2 ส่วนด้านข้างมักจะตั้งขึ้นหรือโค้งขึ้นมา ส่วนตรงกลาง อาจมีปลายแหลม หรือมน หรือหยักก็ได้ และบริเวณโคนปาก มีสันนูนขึ้นมา อาจมี 1-3 แถบได้

ฟาแลนนอพซิส ที่พบในประเทศไทยมีหลายชนิด เช่น *Phalaenopsis lobbii*, *P. lowii*, *P.parishii*, *P. cornucervi* ฟาแลนนอพซิสที่มีการปลูกเลี้ยงกันในปัจจุบัน เป็นพันธุ์ที่ได้มาจากการผสมพันธุ์ขึ้นมาใหม่ทั้งสิ้น พวกที่มีดอกใหญ่นั้น มีพ่อแม่พันธุ์เป็นพวก *P. amabilis*, *P. aphrodite* หรือ *P. philippinensis* ซึ่งกลุ่มนี้เป็นกล้วยไม้ที่มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศฟิลิปปินส์ และนอกจากนั้นแล้วยังเป็นลูกผสมที่ได้จากพันธุ์อื่นอีกด้วย เช่น *P. amboinensis*, *P. equestris* พันธุ์ลูกผสมเป็นที่นิยมปลูกเลี้ยงกันอยู่ในปัจจุบัน

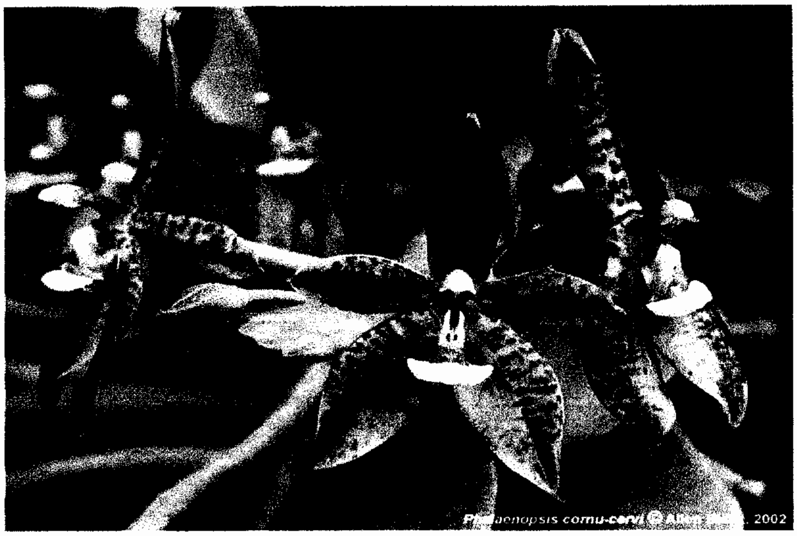
2.6 กล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อน *P. cornucervi* (Brede) Blume & Rchb.f.

ชื่อพ้อง *Polychilos cornucervi* Breda

ชื่ออื่น เอื้องจะเข็บ เอื้องม้าลายเสือ

กล้วยไม้อิงอาศัย ลำต้นเรียว สูง 5-10 ซม. ใบรูปรี แกมขอบขนาน กว้าง 4 ซม. ยาว 8-10 ซม. ดอก ออกเป็นช่อ ตามซอกใบ ก้านช่อแบนสีเขียว กว้าง 1 ซม. ยาว 10-12 ซม. ขอบหยัก กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีเหลืองแกมเขียว หรือมีขีดตามขวางสีแดงอิฐ กลีบปากรูปช้อนปลายแผ่ สีเหลืองอ่อน ดอกบานเต็มที่กว้าง 3 ซม. พบตามป่าดิบเขาทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออก ออกดอกช่วงเดือน พฤษภาคม-กรกฎาคม กระจายพันธุ์ แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (วีระชัย, 2543) ลักษณะของกล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อนดังรูปที่ 1

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปที่ 1 กล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อน

(ที่มา: Brochart, 2009)

2.7 การขยายพันธุ์กล้วยไม้ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

กล้วยไม้สามารถเจริญดำรงเผ่าพันธุ์ต่อไปโดยอาศัยเมล็ดจำนวนมาก ซึ่งอัดแน่นอยู่ในฝัก เมื่อฝักแก่ และแตกออกจะมีเพียงไม่กี่เมล็ดที่จะปลิวและตกลงในสถานที่เหมาะสมกับการงอกและการเจริญเติบโตต่อไป เมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กคล้ายแป้ง หรือ คล้ายฝุ่น อยู่ในฝักซึ่งมีลักษณะกลม หรือป่องกลาง ฝักอ่อนจะมีสีเขียว ฝักเมื่อแก่ผิวฝักจะมีสีเหลืองแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมล็ดกล้วยไม้มีลักษณะรูปร่าง ขนาด และสีแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิด มีขนาดโดยเฉลี่ยกว้างโดยประมาณ 0.09-0.27 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 0.25-1.2 มิลลิเมตร น้ำหนักโดยเฉลี่ยประมาณ 0.0003-0.0014 มิลลิกรัม จำนวนเมล็ดต่อฝัก 1,300-4,000,000 เมล็ด ต่อมาฝักจะแห้งและแตกตามยาวเป็น 3 แฉก การที่เมล็ดกล้วยไม้จะงอกตามธรรมชาติได้จะต้องอาศัยเชื้อราจำพวก mychorrhiza ในสกุล *Rhizoctonia* ซึ่งอาศัยอยู่ตามรากกล้วยไม้เป็นตัวช่วย (ระพี, 2546) ทำให้โอกาสในการเจริญเติบโตเป็นต้นต่ำ จึงได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้

2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

มีรายงานการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ โดยการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในหลายลักษณะ และสามารถสรุปปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้ดังนี้

1. สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อการเจริญและพัฒนาของพืช ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มออกซิน (auxin) ได้แก่ IAA IBA NAA 2,4-D เป็นต้น สารกลุ่มนี้มีสมบัติในการเร่งการเจริญเติบโต โดยการกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ ทำให้เซลล์มีการยืดตัว และมีผลกระตุ้นการเกิดราก ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตอีกกลุ่มหนึ่ง คือ

Prince of Songkla University Pattani Campus

กลุ่มไซโทไคนิน (cytokinin) ได้แก่ BA BAP 2iP เป็นต้น สารกลุ่มนี้มีผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของพืช ช่วยในการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเจริญของตาข้าง และกระตุ้นให้แคลลัสมีการพัฒนาไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ (รังสฤษฏ์, 2541)

2. ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) จัดเป็นสารที่ไม่ออกฤทธิ์ มีสมบัติในการช่วยซับสารพิษที่มีสีน้ำตาล ซึ่งเป็นสารประกอบพวกฟีนอลิก (phenolic) นอกจากนี้ผงถ่านยังทำให้อาหารมีสีดำ จึงส่งผลให้เกิดการพัฒนาของราก มีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น และยังรักษาสภาพความเป็นกรดเบสของอาหารไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงไปมาก (Ebert and Taylor, 1990)

3. สารอาหาร ธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงกล้วยไม้ มีแร่ธาตุที่จำเป็นอยู่ 6 ชนิด ได้แก่ N P K Ca Mg และ S นอกจากนี้ต้องการธาตุอาหารรอง กล้วยไม้แต่ละชนิดต้องการธาตุอาหารแตกต่างกันไป ดังนั้นสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงกล้วยไม้จึงแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของต้นกล้วยไม้ (Noble, 1954)

4. น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง มีรายงานการศึกษาผลของน้ำตาลที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10-30 กรัมต่อลิตร ถ้าซูโครสระดับความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้ต้นกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตในส่วนรากเพิ่มขึ้น แต่จำนวนยอดจะลดลง (Indra and Trevor, 1994)

5. ความเป็นกรดด่าง (pH) ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องมีการปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เหมาะสำหรับการเจริญเติบโต ค่า pH ที่เหมาะสมของพืชทั่ว ๆ อยู่ในช่วง 5.0-5.6 หากค่า pH สูงกว่า 7 หรือต่ำกว่า 4.5 จะมีผลไปหยุดการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ มีรายงานในกล้วยไม้สกุลหวาย พบว่า สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับ pH 5.0-5.8 (ครรชิต, 2541)

Prince of Songkla University Pattani Campus

2.9 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส มีการศึกษากันพอสมควร Ishii และคณะ (1998) รายงานการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส และน้ำมะพร้าวต่อการชักนำแคลลัสของกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส (*Phalaenopsis*) โดยเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์ม ไลค์บอดี้ (PLBs) ที่กรีดด้วยมีดผ่าตัดตามขวาง 6 แผล บนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 0 และ 40 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 0 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในที่มืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตร ชักนำให้เกิดแคลัสสูงสุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ สุพัตร (2550) ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองและการเก็บรักษาโพรโทคอร์มโดยการแช่แข็งของกล้วยไม้เขากวางอ่อน โดยการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในอาหารเหลวสูตร MS และสูตร VW ที่เติมหรือไม่เติมน้ำมะพร้าว

(นึ่งหรือกรองฆ่าเชื้อ) 15 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการงอกของเมล็ด ส่วนอาหารที่เหมาะสำหรับการชักนำการเกิด โพรโทคอร์มไลค์บอดี้สูงสุด คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเก็บรักษาโพรโทคอร์มสามารถเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวโดยวิธี vitrification

ไคโตซานได้ถูกนำมาใช้ในด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในพืชต่าง ๆ Chang *et al.* (1998) รายงานเกี่ยวกับการใช้ไคโตซานในการเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของ *Mentha piperita* พบว่า การใช้ไคโตซานความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เซลล์ของ *M. piperita* ผลิต menthol ได้ 166 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 12 วัน ซึ่งไคโตซานอาจมีผลต่อการกระตุ้นให้ pulegone เปลี่ยนไปเป็น menthol Nge และคณะ (2006) ศึกษาผลของไคโตซานจากกุ้งและเห็ดราในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเจริญกล้วยไม้ ในการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและเหลว พบว่าการเจริญของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญไปเป็นโพรโทคอร์มไลค์บอดี้ในอาหารเหลวที่มีไคโตซานโอลิโกเมอร์อยู่จะกระตุ้นให้เพิ่มขึ้นเป็น 15 เท่า และความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 15 ppm โอลิโกเมอร์จากเปลือกกุ้งขนาด 1 กิโลดาลตันมีผลดีกว่าเล็กน้อยเมื่อเทียบกับไคโตซานจากเปลือกกุ้งขนาด 10 กิโลดาลตัน และมีผลเป็นสี่เท่าเมื่อเทียบกับไคโตซานจากเปลือกกุ้งขนาด 100 กิโลดาลตัน ส่วนไคโตซานจากเห็ดรามีผลดีกว่าเมื่อเทียบกับโอลิโกเมอร์จากเปลือกกุ้งขนาด 1 กิโลดาลตัน Putalum และคณะ (2007) ศึกษาการผลิต Artemisinin จากรากฝอยของ *Artemisia annua* L. ซึ่งเป็นพืชสมุนไพร พบว่าเมื่อเลี้ยงรากฝอยในอาหารที่เติมไคโตซาน 150 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณ Artemisinin เป็น 6 เท่า

Prince of Songkla University Pattani Campus