

## บทที่ 5

### สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาการเพิ่มจำนวนและน้ำหนักของโปรโตคอร์ม (protocorm - like body ; plbs) จากก้อน plbs เดิมของกล้วยไม้เอื้องกิ่งดำ โดยเลือกใช้อาหารเหลวสูตร MS และนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า (shaker) เพื่อให้เนื้อเยื่อพืชได้รับอากาศและมีการแลกเปลี่ยนก๊าซ (ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และเอธิลีน) เพิ่มการกระจายของสารอาหารและฮอร์โมน ทำให้ plbs มีผิวสัมผัสกับอาหารมากขึ้นและเพียงพอต่อการเจริญเติบโต อีกทั้งยังกำจัดผลของแรงดึงดูดของโลก (polarity) และยับยั้งการเกิดเป็นต้นและราก ทำให้ plbs เจริญได้ดีในแนวราบและเกิดการแบ่งเซลล์มากขึ้น (Wimber ; 1963) จากสาเหตุดังกล่าวการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลว ทำให้ plbs เพิ่มจำนวนและขนาดได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

การทดลองที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณของ plbs ของเอื้องกิ่งดำในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง MS 4 สูตร ( MS 1/1 , MS 1/2 , MS 1/3 และ MS 1/4 ) ซึ่งใส่น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตรเท่ากัน แต่ใส่น้ำตาลแตกต่างกันเป็น 4 ระดับ คือ 0 กรัม/ ลิตร 10 กรัม/ลิตร 20 กรัม/ลิตร และ 30 กรัม/ลิตร ตามลำดับ พบว่าปริมาณของ plbs ทั้งด้านจำนวนและขนาดจะเพิ่มขึ้นในอาหารทั้ง 4 สูตร โดยสูตรอาหารที่ปริมาณของ plbs มีจำนวนและขนาดเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือสูตร MS 1/1 และรองลงมาคือ MS 1/2 , MS 1/3 และ MS 1/4 ตามลำดับ แสดงว่าการเพิ่มน้ำตาลไม่มีผลต่อการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและขนาดของ plbs แต่เป็นเพราะว่า plbs ของเอื้องกิ่งดำมีความต้องการน้ำตาลในระดับต่ำมาก ซึ่งในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ใส่ลงไปในการเพาะแต่ละสูตรจำนวน 150 มิลลิลิตรต่อลิตรก็มีน้ำตาลอยู่จำนวนหนึ่ง ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญของ plbs อยู่แล้ว นอกจากนี้ในน้ำมะพร้าวยังมีสารประกอบอินทรีย์และสารอินทรีย์อีกหลายชนิด สารที่สำคัญคือสารกลุ่มไซโทไคนินที่สังเคราะห์ขึ้นเอง เช่น zeatin และ zeatin riboside ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์และขยายขนาดของเซลล์ (พีรเดช , 2529) ผลการทดลองที่ออกมาเช่นนี้สอดคล้องกับของ Teo และ Wong (1978) ที่รายงานว่าอาหารซึ่งมีน้ำตาลที่มีความเข้มข้นต่ำหรือไม่มีน้ำตาลเลยชักนำให้ชิ้นส่วนของพืชพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ดี ส่วนชูโครสที่มีความเข้มข้นสูงส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อ plbs ของ *Holttumara* ได้ สอดคล้องกับการทดลองของสุจรรยา (2539) ที่รายงานว่า การเพิ่มจำนวนและการพัฒนาของ plbs ของเอื้องบุษราคัม (*Eulophia flava* (Lindl.) H.K.f. เกิดขึ้นได้ดีในอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลทราย และยังสอดคล้องกับที่ Lim. Ho (1981) พบว่าในห้องปฏิบัติการของ Sagawa มีอาหารสำหรับชักนำการพัฒนาเป็นต้น

ของกล้วยไม้ซึ่งส่วนใหญ่มักมีการเติมซูโครสลงไปในขณะที่อาหารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนขึ้นส่วนต่าง ๆ ไม่นิยมใช้ซูโครส

การทดลองที่ 2 การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ plbs ของเอื้องกิ่งดำในอาหารแข็งสูตรดัดแปลง MS 2/1 และ MS 2/2 โดยอาหาร MS 2/1 เป็นอาหารที่มีปริมาณน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตรและแปรผันปริมาณน้ำตาล 4 ระดับ คือ 0 , 10 , 20 และ 30 กรัมต่อลิตร โดยให้สัญลักษณ์เป็น MS 2/1.1 , MS 2/1.2 , MS 2/1.3 และ MS 2/1.4 ตามลำดับ ส่วนอาหาร MS 2/2 มีปริมาณน้ำสกัดมันฝรั่ง 200 กรัมต่อลิตร และแปรผันปริมาณน้ำตาล 4 ระดับ คือ 0 , 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร โดยให้สัญลักษณ์เป็น MS 2/2.1 , MS 2/2.2 , MS 2/2.3 และ MS 2/2.4 ตามลำดับ

ผลการทดลองพบว่า การเจริญเติบโตของ plbs เมื่อสิ้นสุดการทดลองคือ เมื่ออายุครบ 20 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS 2/1 และ MS 2/2 โดยวัดจากการเกิดยอดและรากไม่มีความแตกต่างกัน แสดงว่าการเพิ่มน้ำสกัดมันฝรั่งเข้าไปในอาหารจาก 100 กรัมต่อลิตรเป็น 200 กรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ plbs เพราะไม่ได้ทำให้ plbs ในอาหารทั้ง 2 สูตรมีจำนวนยอดและรากแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในน้ำสกัดมันฝรั่งเพียง 100 กรัมต่อลิตรมีสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มเพียงพอแล้ว และถ้าเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ plbs ในอาหารแต่ละสูตรพบว่าใน MS 2/1 อัตราการเกิดยอดและอัตราการเกิดรากจะสูงสุดใน MS 2/1.3 และรองลงไปคือ MS 2/1.2 และ MS 2/1.1 โดยค่าเฉลี่ยจำนวนยอด คือ 36.1 , 30.2 และ 26/1 ยอดตามลำดับ และค่าเฉลี่ยจำนวนรากคือ 100.8 , 75.2 และ 30.4 รากตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตร MS 2/2 อัตราการเกิดยอดและอัตราการเกิดรากจะสูงสุดใน MS 2/2.3 และ รองลงไปคือ MS 2/2.2 และ MS 2/2.1 โดยค่าเฉลี่ยจำนวนยอดคือ 48.3 , 41.1 และ 37.0 ยอดตามลำดับ และค่าเฉลี่ยจำนวนรากคือ 115.7 , 82.6 และ 20.3 รากตามลำดับ แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลในอาหารแต่ละสูตรของ MS 2/1 และ MS 2/2 มีผลต่อการเจริญเติบโตของ plbs โดยทำให้ plbs เจริญพัฒนาเป็นยอดและรากเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ อำนวยวิทย์ (2520) ที่พบว่า น้ำตาลมีผลต่อการเจริญของต้นอ่อนของกล้วยไม้ *Dendrobium Jaqreelyn Concrct* โดยมีผลต่อการเกิดราก เมื่อไม่ใส่น้ำตาลซูโครสหรือใส่เพียง 5 กรัมต่อลิตร ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตน้อยมาก เกิดโปรโตคอร์มที่ไม่มีราก เมื่อเพิ่มน้ำตาลเป็น 20 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตมากขึ้นและมีราก

สำหรับ plbs ของเอื้องกิ่งดำที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS 2/1 (2/1.4) และ MS 2/2 (2/2.4) ไม่สามารถเจริญพัฒนาจนเกิดยอดและรากได้และตายไปทั้งหมด โดยในสัปดาห์ที่ 8 เริ่ม

เปลี่ยนเป็นสีเหลืองแกมเขียวและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ สารสีน้ำตาลดำนี้อาจเป็นผลมาจากการปลดปล่อยสาร phenolic substance ออกมาจากกลุ่ม plbs การปลดปล่อยสารดังกล่าวนี้พบมากในเนื้อเยื่อพืชที่ยังอยู่ในระยะไม่แก่มาก (Compton และ Preece, 1986) อาหารที่ใช้ชักนำ plbs ให้พัฒนาเป็นต้นซึ่งมีส่วนประกอบต่างกันจะมีอิทธิพลต่อการเกิดสารสีน้ำตาลดำมากน้อยต่างกัน เช่น น้ำตาล อาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลมากก็เกิดสารสีน้ำตาลดำมาก ถ้าอาหารมีความเข้มข้นของน้ำตาลน้อยก็เกิดสารสีน้ำตาลดำน้อย (Ever, 1981) สารสีน้ำตาลดำที่ plbs ปลดปล่อยออกมานี้ถ้ามีมากจะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อได้ (Lindfars และคณะ, 1990) จากสาเหตุดังกล่าวข้างต้นนี้เอง plbs ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS 2/1 (2/1.4) และ 2/2 (2/2.4) ซึ่งใส่น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตรจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้และตายในที่สุด โดย plbs จะเริ่มตายเมื่ออายุได้ 12 สัปดาห์ กับอีกสาเหตุหนึ่ง คือ อาหารที่มีระดับซูโครสเพิ่มขึ้นเป็นผลให้ water potential ในอาหารลดลง ค่า osmotic pressure สูงขึ้น ทำให้ไม่เหมาะสมต่อความต้องการของ plbs ที่ต้องการซูโครสความเข้มข้นต่ำ จึงทำให้พืชไม่สามารถเจริญและพัฒนาต่อไปได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Pierik (1987) ที่ว่าพืชแต่ละชนิดมีความต้องการซูโครสในระดับที่เหมาะสมต่างกัน และเมื่อได้รับซูโครสความเข้มข้นสูงเกินความต้องการมีผลทำให้พืชไม่เจริญและพัฒนาต่อไปได้

### ข้อเสนอแนะ

1. การเตรียมอาหารเหลวสำหรับการทดลองตอนที่ 1 ควรใช้ Stock สาร MS ที่เตรียมใหม่ ๆ ถ้าใช้ Stock สาร MS ที่เตรียมไว้นานแล้วอาจจะมีจุลินทรีย์ลงไป ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ ผลการทดลองจะผิดพลาดได้
2. น้ำมะพร้าวอ่อนที่ใช้ในการเตรียมอาหารเหลวสำหรับการทดลองตอนที่ 1 ควรกรองด้วยผ้าขาวบางที่ซ้อนกัน 2-3 ชั้น สัก 2 ครั้ง เพื่อไม่ให้ชิ้นส่วนของเนื้อมะพร้าวที่แขวนลอยอยู่ในน้ำมะพร้าวติดลงไปในการเตรียม เพราะจะทำให้อาหารขุ่น
3. การเตรียมอาหารแข็งสำหรับการทดลองตอนที่ 2 ควรคำนึงถึงปริมาณ Agar ที่ใส่ลงไปในการอาหารด้วยความแข็งและอ่อนของอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตของ plbs จะยัดน้ำหนักของ Agar ที่ใช้กับการทดลองนี้กับ Ager ต่างยี่ห้อที่มีความหมายการค้าต่างกันไม่ได้