แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กล้วยไม้

กล้วยไม้ กว่า 25,000 ชนิด (Species) ถูกจัดอยู่ในวงศ์พืชมีดอก และเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Dressler. 1981 : 8, อ้างถึงใน ครรชิต ธรรมศิริ. 2541 : 1) ซึ่งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ พบได้หลายรูปแบบ อีกทั้งยังพบความแตกต่างของชนิดกล้วยไม้มากในประเทศเขตร้อน (Tropic) และส่วนมากเป็นกล้วยไม้รากอากาศ (Epiphyte) ส่วนกล้วยไม้ในประเทศเขตอบอุ่น (Temperate) มักเป็นกล้วยไม้ดิน (Terrestrial) (ครรชิต ธรรมศิริ. 2541 : 1)

กล้วยไม้พบได้มากในเขตร้อนและเขตอบอุ่น จึงเป็นข้อได้เปรียบสำหรับประเทศไทย ส่งผลให้สามารถพบกล้วยไม้ได้มากถึงประมาณ 176 สกุล 1,164 ชนิด จากทั้งหมดที่พบทั่วโลกราว 800 สกุล มากกว่า 20,000 ชนิด และเมื่อปีพุทธศักราช 2557 โครงการพฤกษชาติประเทศไทย สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช รายงานว่าพบกล้วยไม้ชนิดใหม่ของโลกเพิ่ม 7 ชนิด ในหลายพื้นที่ทั่วประเทศ (กลุ่มงานประสานงานและเสริมสร้างความร่วมมือระหว่างประเทศ กองคุ้มครองพันธุ์สัตว์ป่าและพืชป่าตามอนุสัญญา กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. 2558 : 2)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ตระกูลหวาย

สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2556 : 11 - 17) ได้กล่าวถึงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวายไว้ดังนี้

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* Sw.) หรือคนไทยส่วนใหญ่เรียกว่า "เอื้อง" จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลำต้นมีลักษณะเป็นลำกลมยาวคล้ายลำหวายย่อส่วน ลำต้นหรือที่เรียกว่าลำลูกกล้วย เป็นรูปกระสวย รูปสี่เหลี่ยม บางครั้งลำต้นผอมยาวคล้ายลวด การเจริญเติบโตเป็นแบบเจริญทางด้านข้าง ใบของแต่ละชนิดมีขนาด รูปร่าง และความหนาแตกต่างกัน บางชนิดมีอายุนานหลายปี บางชนิดมีอายุปีเดียวและทิ้งใบก่อนออกดอก รากมักมีขนาดเล็กออกเป็นกระจุกที่โคนต้น หรือจากข้อของลำต้น

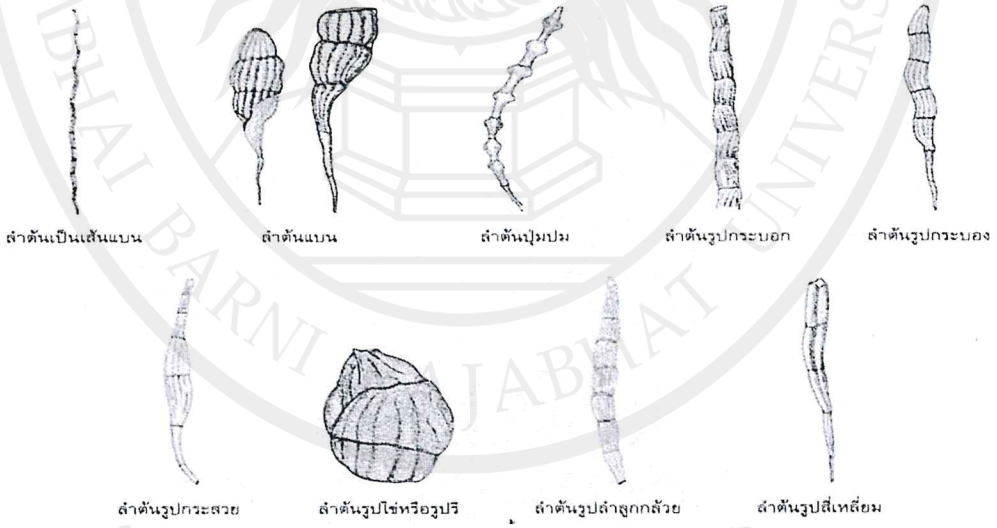
กล้วยไม้สกุลหวายแพร่กระจายพันธุ์ในเขตอบอุ่นและเขตร้อนของทวีปเอเชีย หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิกจนถึงทวีปออสเตรเลีย ทั่วโลกมีประมาณ 1,200 ชนิด สำหรับประเทศไทยสามารถพบกล้วยไม้ได้ในทุกภูมิภาคของประเทศ โดยมีจำนวนกล้วยไม้มากถึง 160 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทย จำนวน 23 ชนิด และอยู่ในสถานภาพที่ถูกคุกคาม จำนวน 29 ชนิด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์โดยทั่วไปของกล้วยไม้ตระกูลหวาย มีหลากหลายรูปแบบ มักแตกต่างกันไปตามลักษณะของสายพันธุ์ โดยมีลักษณะดังต่อไปนี้

1. ลำต้นเทียม

ลำต้นของกล้วยไม้สกุลหวายมีลักษณะอวบอ้วนแท้ที่จริงคือ ลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย ลำต้นเทียมเจริญอยู่บนลำต้นจริงเรียกว่า เหง้า ลักษณะของลำต้นเทียมของกล้วยไม้สกุลหวาย มีหลากหลายแบบ (ภาพประกอบ 1) ได้แก่

1. ลำต้นเทียมลักษณะเป็นเส้นแบนยาวเรียว
2. ลำต้นแบน ลำต้นเทียมส่วนที่โป่งพองแบน
3. ลำต้นปุ่มปม
4. ลำต้นรูปกระบอก
5. ลำต้นรูปกระบอง
6. ลำต้นรูปกระสวย
7. ลำต้นรูปไข่หรือรูปรี
8. ลำต้นรูปลำลูกกล้วย
9. ลำต้นสี่เหลี่ยม



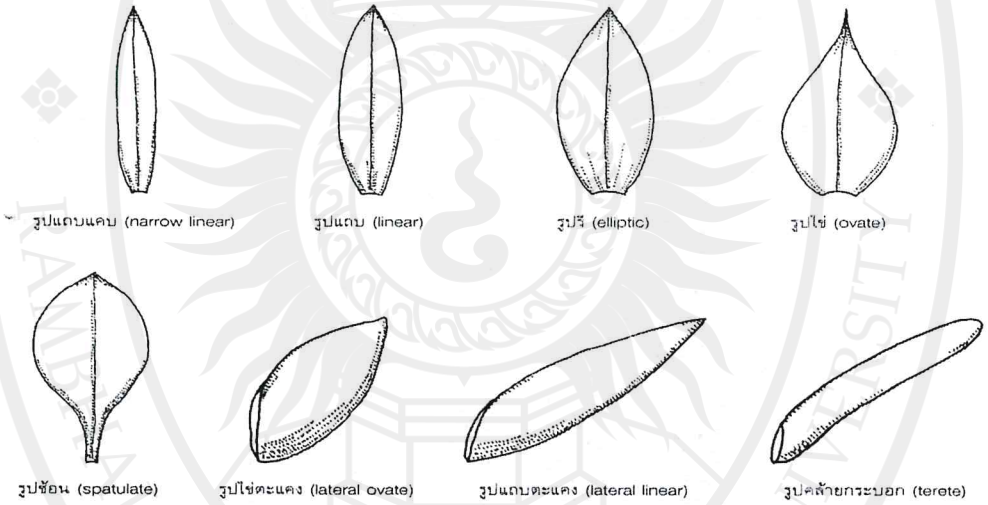
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ภาพประกอบ 1 ลักษณะลำต้นแบบต่าง ๆ ของกล้วยไม้สกุลหวาย

ที่มา : สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556 : 12

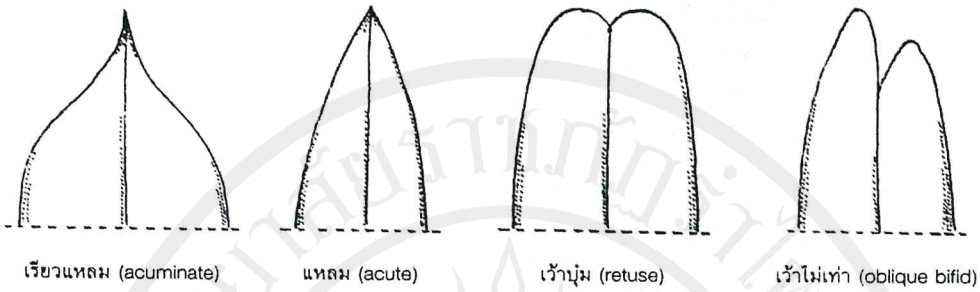
2. ใบ

ใบกล้วยไม้สกุลหวายมีรูปร่าง ขนาด ความหนา และจำนวนที่แตกต่างกัน การเรียงตัวของใบส่วนใหญ่จะเรียงสลับกันตลอดทั้งต้น หรือเรียงสลับในระนาบเดียว บางชนิดมี 2 ใบ เช่น เอื้องน้อย (*D. pachyphyllum*) ใบ ประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ แผ่นใบ และกาบใบ แผ่นใบของกล้วยไม้สกุลหวายมีหลากหลายรูปแบบ ส่วนใหญ่เป็นรูปรี รูปไข่ รูปขอบขนาน รูปหอก รูปหอกคล้ายเส้น ลักษณะของแผ่นใบมีทั้งหนาแข็งเห็นร่องกลางใบชัด บางชนิดมีแผ่นใบหนาเหนียวคล้ายหนัง ผิวใบมัน เห็นเส้นชัดเจน หรือบางชนิดแผ่นใบบางรูปทรงกระบอกกลม (ภาพประกอบ 2) นอกจากนี้กล้วยไม้สกุลหวายยังมีลักษณะของปลายใบที่หลากหลาย สำหรับตำแหน่งที่ติดของใบมีทั้งที่ติดตลอดทั้งต้น และติดเฉพาะส่วนใกล้ยอด (ภาพประกอบ 3)



ภาพประกอบ 2 ลักษณะแผ่นใบแบบต่าง ๆ ของกล้วยไม้สกุลหวาย
ที่มา : สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556 : 14

กาบใบ คือส่วนหนึ่งของใบที่ต่อกับแผ่นใบทำหน้าที่หุ้มลำต้น ลักษณะการหุ้มของกาบใบแต่ละชนิดแตกต่างกัน ชนิดที่กาบใบหุ้มตลอดทั้งลำต้นจนมองไม่เห็นลำต้นเทียม เห็นได้ชัดในกลุ่มก้างปลา นอกจากนี้กล้วยไม้บางชนิดกาบใบมีลักษณะเด่นเป็นเอกลักษณ์ เช่น ช้างน้าว (*D. pulchellun*) กาบใบมีแถบสีแดงยาวชัดเจน



ภาพประกอบ 3 ลักษณะปลายใบแบบต่าง ๆ ของกล้วยไม้สกุลหวาย
ที่มา : สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556 : 14

3. ดอก

กล้วยไม้สกุลหวายหลายชนิดออกดอกเป็นดอกเดี่ยว เป็นช่อสั้นคล้ายเป็นกระจุกตามลำต้น บางชนิดมีช่อดอกแบบกระจะหรือเป็นช่อแบบแยกแขนง ตำแหน่งที่เกิดดอกนั้น มักเกิดที่ปลายยอดหรือใกล้ยอด บางชนิดมีดอกหรือช่อดอกออกตามข้อเกือบตลอดลำต้นขนาดดอกมีตั้งแต่ขนาดเล็กไปถึงขนาดใหญ่ การบานของดอกแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปตามแต่ละสายพันธุ์ โดยบางชนิดบานเพียงวันเดียว บางชนิดบานนานเป็นเดือน และบางชนิดก้านช่อดอกแห้งติดทนนานจนถึงฤดูถัดไป

โดยองค์ประกอบของดอกกล้วยไม้สกุลหวาย (ภาพประกอบ 4) มีดังนี้

1. กลีบเลี้ยง คือ กลีบที่อยู่ด้านนอกสุด มีจำนวน 3 กลีบ มีรูปร่างและสีสันคล้ายคลึงกัน

2. กลีบดอก คือ กลีบที่อยู่ชั้นในถัดจากกลีบเลี้ยง มี 3 กลีบ มีหนึ่งกลีบที่มีรูปร่างและสีสันแปลกแตกต่างจากกลีบอื่น ๆ เรียกว่า กลีบปาก (Lip หรือ Labellum) กลางกลีบมักมีกลุ่มเนื้อเยื่อและมีขนละเอียดที่กลีบหรือขอบกลีบ

3. เส้าเกสร เกิดจากการรวมกันของก้านเกสรเพศผู้และก้านเกสรเพศเมีย อับเรณูอยู่ด้านบนยอดเกสรเพศเมีย ลักษณะเป็นแอ่งใสและเหนียวอยู่ด้านหน้า โดยมีจงอยเล็กกั้น

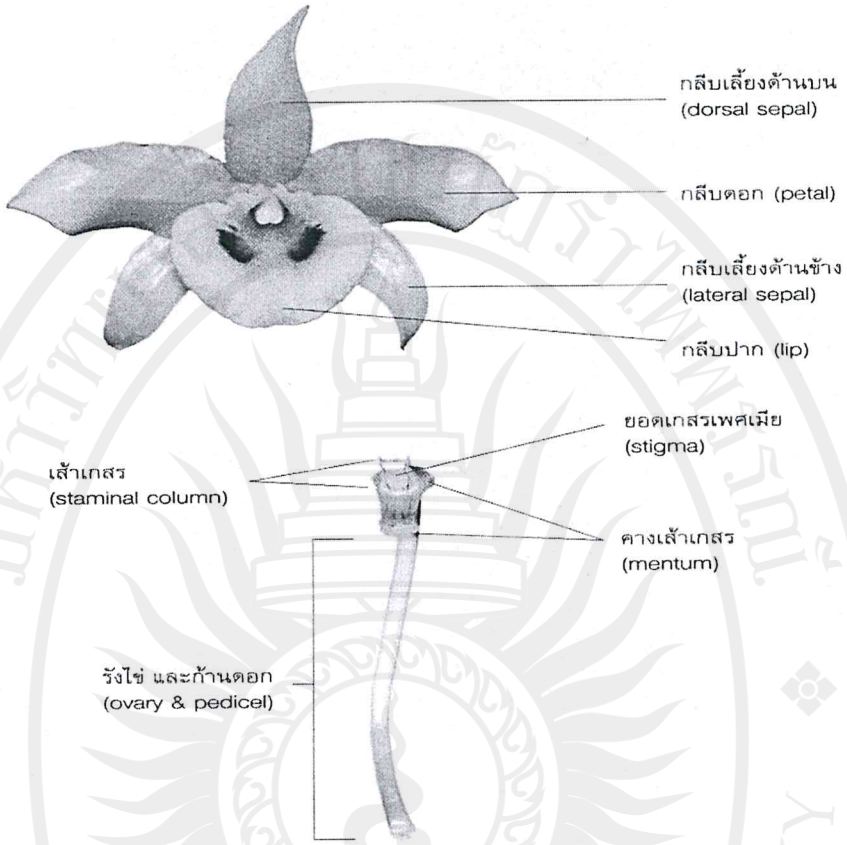
4. เกสรเพศผู้ ประกอบด้วยกลุ่มเรณู และฝาครอบเรณู

5. เกสรเพศเมีย ประกอบด้วยยอดเกสรเพศเมียและรังไข่ โดยยอดเกสรเพศเมียเป็นแอ่งขนาดเล็กฉาบด้วยน้ำหวานที่มีลักษณะเหนียวใส

6. รังไข่ อยู่ถัดจากวงกลีบดอกหรืออยู่ด้านหลังมีลักษณะแคบและยาว เป็นส่วนหนึ่งของก้านดอก

7. ก้านดอก ทำหน้าที่ชูดอกและยึดติดดอกย่อยกับก้านช่อดอก

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพประกอบ 4 องค์ประกอบต่าง ๆ ของดอกกล้วยไม้สกุลหวาย
ที่มา : สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556 : 16

4. ฝักและเมล็ด

ผลของกล้วยไม้เรียกว่า ฝัก (Pod) ซึ่งมีรูปร่างหลากหลาย ทั้งรูปทรงกระบอกยาว ทรงกลม รูปรี เมื่ออ่อนอยู่จะเป็นสีเขียวแล้วค่อยเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล เมื่อฝักแก่จะแตกออก กล้วยไม้แต่ละชนิดมีความสามารถในการติดฝักแตกต่างกัน อีกทั้งเมล็ดของกล้วยไม้จะมีลักษณะเป็นฝุ่นผงสามารถปลิวได้ง่ายโดยลม เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้ไม่มีอาหารสะสม จึงมีอัตราการงอกที่ต่ำในสภาพธรรมชาติ ต้องอาศัยจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง คือ ไมคอร์ไรซา ช่วยย่อยสลายอินทรียวัตถุ เพื่อสร้างอาหารสำหรับการงอกและการเจริญเติบโตในธรรมชาติ

สถานภาพกล้วยไม้ป่า

กลุ่มงานประสานและเสริมสร้างความร่วมมือระหว่างประเทศ กองคุ้มครองพันธุ์สัตว์ป่าและพืชป่าตามอนุสัญญา กรมอุทยาน สัตว์ป่า และพันธุ์พืช (2558 : 5 - 6) ได้กล่าวถึงสถานภาพของกล้วยไม้ป่าไว้ว่า กล้วยไม้ป่าทุกชนิดเป็น “พืชอนุรักษ์” การนำเข้า ส่งออก

หรือนำผ่านพืชอนุรักษ์ต้องได้รับอนุญาตจากอธิบดีกรมวิชาการเกษตร พระราชบัญญัตินี้ได้กำหนดสถานภาพของพืชไว้ 3 บัญชี คือ

พืชอนุรักษ์บัญชีที่ 1 หมายถึง ชนิดพันธุ์ที่ได้จากป่าหรือเป็นของป่าและใกล้จะสูญพันธุ์ ห้ามทำการค้าขายโดยเด็ดขาด (ยกเว้นที่ได้จากการขยายพันธุ์เทียมหรือเพาะพันธุ์และเพื่อการศึกษาวิจัย)

พืชอนุรักษ์บัญชีที่ 2 หมายถึง ชนิดพันธุ์ที่เหลืออยู่ค่อนข้างน้อย แต่ยังไม่ได้ใกล้จะสูญพันธุ์ สามารถทำการค้าได้ แต่ต้องไม่ละเมิดกฎหมายภายในประเทศภายในประเทศ

พืชอนุรักษ์บัญชีที่ 3 หมายถึง ชนิดพันธุ์ที่ได้รับการคุ้มครองตามกฎหมายประเทศใดประเทศหนึ่ง แล้วขอความช่วยเหลือจากประเทศภาคีสมาชิกให้ช่วยควบคุมการค้าพืชชนิดนั้น

นอกจากนี้สถานภาพของกล้วยไม้ป่า ถูกแบ่งได้ตามความแตกต่างของจำนวนประชากรในธรรมชาติ และขนาดลักษณะพื้นที่ การแพร่กระจายพันธุ์ รวมถึงการถูกคุกคามต่าง ๆ มีดังนี้

1. กล้วยไม้ที่พบได้ทั่วไป

กล้วยไม้ที่พบได้โดยทั่วไป หมายถึง กล้วยไม้ที่มีจำนวนประชากรมาก และพบการกระจายพันธุ์ที่กว้างในหลายภูมิภาค

2. กล้วยไม้หายาก

กล้วยไม้หายาก หมายถึง กล้วยไม้ที่มีจำนวนประชากรน้อยมีการกระจายพันธุ์บางพื้นที่หรือกระจายเฉพาะในถิ่นที่อยู่ ซึ่งส่วนใหญ่ยังไม่อยู่ในสถานภาพใกล้สูญพันธุ์ แต่มีความเสี่ยงที่จะเป็นพืชที่ใกล้สูญพันธุ์ได้ในอนาคต อันเกิดจากปัจจัยคุกคามต่าง ๆ ที่ทำให้จำนวนลดลง

3. กล้วยไม้ถิ่นเดียว

กล้วยไม้ถิ่นเดียว หมายถึง กล้วยไม้ที่พบการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติเฉพาะในบริเวณเขตพฤกษภูมิศาสตร์ (Bioristic Region) เขตใดเขตหนึ่งของโลก มีเขตการกระจายพันธุ์ทางภูมิศาสตร์จำกัดหรือค่อนข้างจำกัด

4. กล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์

กล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์ หมายถึง กล้วยไม้ที่มีจำนวนประชากรน้อยมาก พบการกระจายพันธุ์ในพื้นที่แคบบางพื้นที่ อยู่ในสภาวะอันตรายใกล้สูญพันธุ์ไปจากโลกหรือสูญพันธุ์ไปจากแหล่งที่มีการกระจายพันธุ์อยู่ รวมถึงกล้วยไม้ที่ลดจำนวนลงถึงขั้นวิกฤติ

5. กล้วยไม้ถูกคุกคาม

กล้วยไม้ถูกคุกคาม หมายถึง กล้วยไม้ที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในอนาคตตามหลักเกณฑ์ที่กำหนดโดย IUCN : International Union for Conservation of Nature and Natural Resources หรือองค์การระหว่างประเทศเพื่อการสงวนทรัพยากรธรรมชาติ

สถาบันวิทยบริการ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

กล้วยไม้เหลืองจันทบูร

กล้วยไม้เหลืองจันทบูร ในบางพื้นที่เรียกกล้วยไม้ชนิดนี้ว่า "เอื้องนกขมิ้น" มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Dendrobium friedericksianum* Rchb. f. ฤดูกาลออกดอก ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม พบในป่าดิบทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ กล้วยไม้เหลืองจันทบูร จัดเป็นกล้วยไม้เฉพาะถิ่นของไทย เนื่องจากมีเขตการกระจายในประเทศไทยเพียงประเทศเดียวเท่านั้น อีกทั้งยังมีสถานภาพเป็นพืชอนุรักษ์บัญชี 2 ของอนุสัญญา CITES เป็นกล้วยไม้ถูกรุกราน และมีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์จากป่าในธรรมชาติ (สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์. 2549 : 6)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร

ลำต้น : ลำต้นรูปกระบอง โคนลำคอดเป็นก้านยาวเกือบครึ่งหนึ่งของความยาวลำ แล้วค่อย ๆ โป่งพองเจริญห้อยลง ยาว 40 ถึง 70 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1 ถึง 1.5 เซนติเมตร ผิวแห้งเป็นสันและร่องตามยาว ลำต้นแก่มีสีเหลือง

ใบ : รูปขอบขนานถึงรูปรี กว้าง 2 ถึง 2.5 เซนติเมตร ยาว 8 ถึง 10 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างบางแต่เหนียว เรียงตัวสลับเกือบตลอดต้น ปลายใบเว้าไม่เท่ากัน บางครั้งทิ้งใบในช่วงมีดอก

ดอก : ช่อดอกเกิดใกล้ปลายยอด ช่อละ 3 ถึง 6 ดอก ก้านดอกยาว 5 ถึง 6 เซนติเมตร เมื่อดอกบานเต็มที่กว้าง 3.5 ถึง 4 เซนติเมตร ผิวกลีบมันเล็กน้อย มี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ที่มีดอกสีเหลืองล้วน และพันธุ์ที่มีแต้มสีม่วงแดงสองแต้มบริเวณโคนกลีบปาก โคนกลีบมีขนดอกบานทน 3 ถึง 4 สัปดาห์ (สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556 : 115)

ฝัก : ดอกที่ได้รับการผสมแล้วจะเหี่ยวภายใน 2 ถึง 3 วัน และภายใน 7 วัน จะเห็นก้านดอกพองออกและค่อย ๆ มีขนาดใหญ่ขึ้นกลายเป็นฝักซึ่งมีเมล็ดเล็ก ๆ อยู่ภายในมากมาย โดยขนาดของฝักจะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของต้น และจำนวนฝักต่อลำ ซึ่งน้ำหนักของฝักจะอยู่ที่ประมาณ 5 ถึง 10 กรัม มีตะเข็บจำนวน 3 ตะเข็บ และสันจำนวน 6 สัน

เมล็ด : มีรูปร่างคล้ายกระสวยขนาดประมาณ 300 ถึง 375 ไมครอน เมล็ดอ่อนของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรจะมีสีขาวอมเขียวอ่อน และจะมีสีเหลืองเข้มในเดือนที่ 4 แต่ยังมีลักษณะเกาะกันแน่น เมื่อฝักมีอายุประมาณ 6 เดือน เมล็ดจะเริ่มร่วนเป็นผง และอายุฝักประมาณ 14 ถึง 16 เดือน ผนังฝักจะมีสีเหลืองและปริออกตามรอยตะเข็บ ดังนั้น ในการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อจึงนิยมใช้ฝักอายุประมาณ 4 เดือน ขึ้นไป (สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์. 2549 : 6 - 8)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเริ่มมาจากการที่ Gottieb Haberlandt นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมัน ในปี ค.ศ. 1902 ประสบความสำเร็จในการแยกเซลล์พืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ ในปี ค.ศ. 1930 ได้มีการเลี้ยงเซลล์ที่แยกมาจากรากของพืชหลายชนิดในสภาพปลอดเชื้อ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1938 สามารถเลี้ยงอวัยวะของพืชได้หลายชนิด นับตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาไปอย่างกว้างขวาง ปัจจุบันสามารถเลี้ยงเซลล์เดี่ยวและโปรโตพลาสหรือเซลล์ไร้ผนังของพืชหลายชนิด รวมทั้งการใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การแยก เลี้ยง ตัดต่อ และถ่ายยีน เข้ามาร่วมด้วยเพื่อประโยชน์ในด้านการศึกษาทางชีวเคมี พันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืช ทำให้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงพืชก้าวหน้าไปอย่างมาก และมีบทบาทสำคัญต่อวิทยาการแขนงอื่น ๆ (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 1)

ในปัจจุบัน ความก้าวหน้าทางเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนานาชนิดได้กลายเป็นเครื่องมือสำคัญของการขยายพันธุ์ และการพัฒนาพันธุ์พืชชนิดใหม่ การผลิตสารทุติยภูมิ เพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรม การเพิ่มปริมาณสารอาหารเพื่อประโยชน์ในทางโภชนาการ การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีบางอย่าง ความต้านทานโรคแมลงศัตรูพืช ความทนทานต่อสภาวะแวดล้อม ตลอดจนการเพิ่มผลผลิตของพืช สามารถกระทำได้โดยใช้เทคนิคทางเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมสมัยใหม่ ที่รู้จักกันในชื่อ “พันธุวิศวกรรม” (อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541 : 7)

การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมในสภาพปลอดเชื้อ

ปัญหาที่นักปรับปรุงพันธุ์พืชประสบกันอยู่เสมอ คือ การเก็บรักษาสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันทางด้านพันธุกรรมไว้ใช้ประโยชน์ต่อไป ซึ่งการเก็บรักษาสายพันธุ์ต่าง ๆ เหล่านี้ต้องใช้เวลา แรงงาน และพื้นที่ในการบำรุงดูแล นอกจากนี้ยังมีปัญหาเรื่อง ความเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศ แมลง และอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย (คำนูณ กาญจนภูมิ. 2542 : 138)

ทุกวันนี้พืชพรรณหลายชนิดได้สูญพันธุ์ไปหรือกำลังจะสูญพันธุ์ไปอย่างน่าเป็นห่วง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมหรือเกิดจากการทำลายของมนุษย์เอง (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538 : 6) การเก็บรักษาพันธุ์พืชหรือสายพันธุ์พืช มีความสำคัญอย่างยิ่งต่องานด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช ซึ่งโดยปกติแล้วส่วนใหญ่จะต้องเก็บไว้ในรูปของเมล็ดพันธุ์ และจำเป็นต้องมีการปลูกถ่ายอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้เมล็ดใหม่ที่ยังคงมีชีวิตเพื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานาน ๆ ทำให้ประสบปัญหาในพืชบางชนิดที่ติดเมล็ดได้น้อยหรือไม่ติดเมล็ดเลย บางชนิดเมล็ดมีอายุสั้นไม่สามารถเก็บไว้ได้นานถึงแม้จะเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำแล้วก็ตาม ขณะเดียวกันอาจเกิดการสูญหายของพันธุกรรมพืช เสี่ยงต่อการกลายพันธุ์

หรือการผสมข้ามพันธุ์และภัยธรรมชาติ รวมทั้งยังเป็นการสิ้นเปลืองทั้งเนื้อที่ ค่าใช้จ่าย และแรงงานในการปลูกและเก็บรักษาอีกด้วย ดังนั้นจึงได้มีผู้คิดค้นและพัฒนาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ซึ่งสามารถรักษาสภาพความมีชีวิตไว้ได้นาน และเก็บรักษาได้จากส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชไม่ว่าจะเป็น เมล็ด ยอด ราก คัพภะ หรือโปรโตพลาส วิธีเก็บรักษาพันธุกรรมพืชโดยทั่วไปทำได้ 3 วิธี คือ

การชะลอการเจริญเติบโตให้ช้าลง (Slow Growth Technique)

เนื้อเยื่อบางชนิดและในบางกรณี มีอัตราการเจริญเติบโตอย่างช้า ๆ แม้ได้รับสภาพหรือเงื่อนไขต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงอย่างเต็มที่ อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงส่วนใหญ่ต้องการเงื่อนไขพิเศษทางด้านธาตุอาหารและปัจจัยสภาพแวดล้อม เพื่อให้มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าลง วิธีการที่นิยมใช้กันมากคือ การลดอุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยงร่วมกับการใส่สารบางชนิดที่ไปจำกัดการเจริญเติบโต หรือยังยั้งกระบวนการออสโมซิสของเนื้อเยื่อ (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 184)

โดยการเติมสารยับยั้งการออสโมซิส (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 187) หรือสารชะลอการเจริญเติบโต เช่น น้ำตาลแมนนิทอล น้ำตาลซอร์บิทอล น้ำตาลซูโครส และกรดแอบไซซิก จะช่วยให้การเปลี่ยนอาหาร (Subculture) ไม่บ่อยนักและจะเก็บรักษาไว้ได้นานประมาณ 1 ปี (ครรชิต ธรรมศิริ. 2541 : 177)

ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร ได้กล่าวถึง น้ำตาลซูโครสน้ำตาลซอร์บิทอล และน้ำตาลแมนนิทอล ไว้ดังนี้

1. น้ำตาลซูโครส

น้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่เรียกกันทั่วไปว่า "น้ำตาลทราย" ที่ใช้เป็นสารให้ความหวานอย่างกว้างขวางทั่วโลก พบอยู่ในพืชและผลไม้หลายชนิด แต่ที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบผลิต น้ำตาลทางการค้า คือ อ้อย และหัวบีท น้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ชนิด คือ น้ำตาลฟรักโทส (Fructose) และน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ น้ำตาลซูโครส เป็น Non Reduction Sugar เพราะไม่มีหมู่ฟังก์ชั่นเหลืออยู่ในโมเลกุล (ศูนย์ข้อมูลเครือข่ายอาหารครบวงจร. ออนไลน์. ม.ป.ป. ก)

2. น้ำตาลแมนนิทอล

น้ำตาลแมนนิทอลเป็นสารให้ความหวาน ที่เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ได้จากกระบวนการไฮโดรจิเนชั่นของน้ำตาลฟรักโตส มีสูตรเคมีคือ $C_6H_8(OH)_6$ น้ำตาลแมนนิทอล เป็นสารให้ความหวานที่มีแคลลอรี่ต่ำ ซึ่งสามารถพบได้ตามธรรมชาติในผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ และผลไม้อีกหลายชนิด รวมทั้งเห็ดเยื่อไผ่และสาหร่ายทะเล (ศูนย์ข้อมูลเครือข่ายอาหารครบวงจร. ออนไลน์. ม.ป.ป. ข)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3. น้ำตาลซอร์บิทอล

น้ำตาลซอร์บิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ ใช้เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลตามธรรมชาติในผลไม้ เช่น เชอรี่ แอปเปิ้ล เป็นต้น

น้ำตาลซอร์บิทอลมีกรรมวิธีการผลิตดังนี้ วัตถุดิบที่ใช้เพื่อการผลิตน้ำตาลซอร์บิทอล คือ ผลิตผลทางการเกษตรที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ เช่น พืชหัว ได้แก่ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง และเมล็ดธัญพืช ได้แก่ ข้าวโพด ข้าว ข้าวสาลี กระบวนการผลิตน้ำตาลซอร์บิทอล เริ่มต้นจากการย่อยโมเลกุลของสตาร์ชให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส เรียกว่า Starch Hydrolysis ได้สารตั้งต้น คือ น้ำเชื่อมกลูโคส แล้วจึงทำปฏิกิริยาไฮโดรเจเนชั่นด้วยการเติมไฮโดรเจนให้กับโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสมีนิเกิลเป็นแคตะลิส หรือตัวเร่งปฏิกิริยา (ศูนย์ข้อมูลเครือข่ายอาหารครบวงจร. ออนไลน์. ม.ป.ป. ค)

การเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยเทคนิคเมล็ดเทียม (Artificial Seed)

เมล็ดเทียม เป็นเมล็ดที่มนุษย์ทำขึ้นโดยนำเอาโซมาติก เอ็มบริโอ (Somatic Embryo) มาหุ้มด้วยสารตัวอื่น เพื่อให้มีโครงสร้างคล้ายเมล็ดจริง บางทีเรียกว่า เอนแคปซูเลต โซมาติก เอ็มบริโอ (Encapsulated Somatic Embryo) หรือเรียกสั้น ๆ ว่า เอ็มบริออยด์ (Embryoid) (มนทกานต์ วัชราภัย. 2540 : 15 - 20)

การหุ้มเอ็มบริออยด์มีหลายวิธีด้วยกัน แต่วิธีที่นิยมมากคือหุ้มด้วยสารไฮโดรเจล (Hydrogel) เช่น โซเดียมแอลจิเนต (Sodium Alginate) เจลาติน (Gelatin) คาราจีแนน (Carrageenan) หรือโลคัสบีนกัม (Locusbean Gum) เป็นต้น โดยมีวิธีการดังนี้

1. การเตรียมอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ เช่น อาหารสูตร MS (1962) ผสมสารไฮโดรเจลที่เหมาะสม จะได้สารละลายที่มีลักษณะเหนียวคล้ายคอลลอยด์ จากนั้นจึงนำเอ็มบริออยด์ที่เตรียมไว้ผสมลงไป คนให้กระจายทั่วกัน

2. เลือกหลอดดูดที่มีขนาดของปากหลอดเหมาะสมกับขนาดของเอ็มบริออยด์ ดูดสารละลายไฮโดรเจลที่มีเอ็มบริออยด์อยู่ หยดลงไปในสารคอมเพล็กซิงเอเจนต์ (Complexing Agent) ได้แก่ เกลือแคลเซียม โพแทสเซียม หรือแอมโมเนียมคลอไรด์หรือใช้อุณหภูมิต่ำ สารอาหารที่ผสมกับไฮโดรเจลนี้จะเป็นอาหารเลี้ยงเอ็มบริออยด์ ทำหน้าที่คล้ายเอนโดสเปิร์ม เรียกส่วนนี้ว่า อาหารสะสมเทียม (Artificial Endosperm) เมื่อหยดของไฮโดรเจลที่มีเอ็มบริออยด์อยู่ด้วย ผสมกับน้ำยาคอมเพล็กซิงเอเจนต์ ส่วนรอบ ๆ ผิวของหยดจะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับคอมเพล็กซิงเอเจนต์ ได้เป็นแคลเซียมอัลจิเนต ซึ่งเป็นสารที่ค่อนข้างแข็ง สารนี้จะหุ้มส่วนของไฮโดรเจลไว้ คือ ทำหน้าที่เป็นเปลือกเมล็ดเทียม (Artificial Seed Coat) (จิรา ณ หนองคาย. 2551 : 348 - 349)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

การเก็บรักษาพันธุ์พืชแบบแช่แข็ง (Cryopreservation)

การเก็บเนื้อเยื่อพืชโดยการใช้ความเย็นจัดจนอยู่ในสภาพแช่แข็ง จะเป็นการหยุดยั้งกระบวนการทางชีวเคมีในเซลล์พืช (อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541 : 106) หรือทำให้กิจกรรมทางเมแทบอลิซึมหยุดพักไปชั่วคราว (คำนูณ กาญจนภูมิ. 2542 : 139) ซึ่งตามทฤษฎีเนื้อเยื่อจะคงสภาพนั้นไปตลอดกาล เมื่อนำออกสู่สภาวะปกติเซลล์ต่าง ๆ ก็จะเริ่มมีกิจกรรมไปตามวัฏจักรของสิ่งมีชีวิตนั่นคือการแบ่งเซลล์และพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อต่อไป

วัตถุประสงค์หลักของการเก็บเนื้อเยื่อในสภาพแช่แข็ง (Freeze Storage) เพื่อเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมไว้นาน ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์พืชที่ง่ายต่อการสูญพันธุ์หรือเสื่อมสภาพเร็วในสภาวะปกติ นอกจากนี้ในแง่ของการเก็บรักษาเนื้อเยื่อพืชโดยการปลูกขยายพันธุ์ เพื่อการสงวนรักษาพันธุ์ ยังเป็นการเสียเวลาและสิ้นเปลือง พืชบางชนิดที่ขยายพันธุ์ด้วยชิ้นส่วนอื่น นอกเหนือจากเมล็ด การเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้นาน ๆ โดยการแช่แข็งจะเป็นวิธีที่สิ้นเปลืองน้อย (อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541 : 106) โดยการเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิต่ำมาก ๆ เช่นที่ -196 องศาเซลเซียส ในไนโตรเจนเหลว (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 184)

กระบวนการเก็บรักษาแบบแช่แข็งโดยทั่วไปสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ขั้นตอน ดังนี้

1. การทำ Pre-culture เนื้อเยื่อพืชที่นำมาเก็บรักษาจะต้องผ่านกระบวนการเลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าปกติ (น้อยกว่า 25 องศาเซลเซียส) และจัดสภาพการเพาะเลี้ยงที่จำเพาะนานประมาณ 2 ถึง 3 วัน (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 185) หรือการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนผสมของสารเคมีบางอย่าง เช่น แมนนิทอล โพรลีน ไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) เป็นต้น เพื่อกระตุ้นให้ตัวอย่างพืชมีการปรับตัวในขณะการเก็บรักษา (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538 : 131)

2. การเติมสาร Cryoprotectants ก่อนการเก็บรักษาในสภาพที่อุณหภูมิต่ำมาก ๆ จะต้องเติมสารจำพวก Cryoprotectants ลงในอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อมีการพืชปรับสภาพ Permeability และจุดเยือกแข็ง (Freezing Point) ซึ่งจะทำให้ทนทานต่อการแข็งตัว (Freezing) และการละลายตัว (Thawing) หลังการเก็บรักษาได้โดยไม่มีผลกระทบต่อการพัฒนาของเซลล์หรือเนื้อเยื่อ

สารที่นิยมใช้ที่ที่สุด คือ ไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และกลีเซอรอล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง DMSO สามารถใช้เดี่ยว ๆ ได้ผลดี ส่วนกลีเซอรอลนั้นจำเป็นต้องใช้ร่วมกับ DMSO หรือสารประกอบอื่น ๆ เช่น ซอร์บิทอล ซูโครส กลูโคส โพรลีน หรือโพลีเอทธิลีนไกลคอล (PEG) จึงจะได้ผลดี (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 185 - 186)

3. การทำให้แข็งตัวอย่างช้า ๆ (Slow Freezing) เมื่ออุณหภูมิของการเก็บรักษาลดต่ำลงกว่า 0 องศาเซลเซียส จนถึงประมาณ -100 องศาเซลเซียส จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก เกิดผลึกน้ำแข็ง

ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไซโตพลาสซึมภายในเซลล์จะแข็งตัวและเพิ่มปริมาตรมากขึ้น ดังนั้นการลดอุณหภูมิลงอย่างช้า ๆ เป็นการช่วยไม่ให้เซลล์ได้รับอันตรายจากการเกิดผลึกน้ำแข็ง ขณะเดียวกันก็ช่วยดึงน้ำออกจากเซลล์ไปในตัว ในกรณีที่มีการแข็งตัวอย่างรวดเร็วจะทำให้สูญเสียน้ำออกมาได้น้อย เมื่อเกิดผลึกน้ำแข็งและมีปริมาตรเพิ่มขึ้นจะทำให้เซลล์ได้รับความเสียหาย

อย่างไรก็ตามถ้าเซลล์สูญเสียน้ำมากเกินไปอาจเกิดความเสียหายได้เช่นกัน ดังนั้นอัตราการอยู่รอดของเซลล์จึงขึ้นอยู่กับสมดุลระหว่างอัตราการลดลงของอุณหภูมิอย่างช้า ๆ กับอัตราการสูญเสียน้ำออกไปจากเซลล์ด้วย และอัตราการอยู่รอดดังกล่าวนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเนื้อเยื่อที่เก็บรักษา (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 186)

4. การเก็บไว้ในสภาพแข็งตัว (Frozen Culture หรือ Freeze Storage) หลังจากทำให้เซลล์แข็งตัวอย่างช้า ๆ แล้ว ต้องย้ายไปเก็บไว้ในที่เย็นจัด (ต่ำกว่า -100 องศาเซลเซียส) เพื่อป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์อีกครั้งหนึ่ง ซึ่งจะทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงและได้รับอันตรายจนกระทั่งตายได้ ในทางปฏิบัติเพื่อความสะดวกจึงนิยมเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวที่ -196 องศาเซลเซียส หรือในไอของไนโตรเจนเหลวที่ -150 องศาเซลเซียส (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 186)

5. การละลายเนื้อเยื่อที่แข็งตัว (Thawing) หลังจากการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในไนโตรเจนเหลวแล้ว เมื่อต้องการนำเนื้อเยื่อที่เก็บรักษามาใช้ ต้องละลายผลึกน้ำแข็งออกอย่างรวดเร็วเพื่อไม่ให้เซลล์ได้รับอันตราย (ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538 : 132) โดยใส่ลงในน้ำอุ่นหรืออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิประมาณ 37 ถึง 40 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามในกรณีที่เกิดการตกผลึกของน้ำแข็งภายในเซลล์จะทำให้การละลายเนื้อเยื่อที่แข็งตัวนี้ทำได้ช้า และเกิดความเสียหายต่อเซลล์นั้นได้

6. การทำให้เนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโตได้อีก (Recovery) เนื้อเยื่อที่ผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ข้างต้นมาแล้ว อาจมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของเซลล์และมักจะอ่อนแออย่างยิ่งต่อความเสียหายที่เกิดขึ้นตามมา จึงต้องปรับสภาพการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องการอาหารเพาะเลี้ยงพิเศษที่แตกต่างจากสูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงก่อนการเก็บรักษาโดยทั่ว ๆ ไป และจะไม่มีการล้างเนื้อเยื่อเพราะอาจทำให้เกิดความเสียหายได้ง่าย (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541 : 186)

หากวิธีการต่าง ๆ เหมาะสม เนื้อเยื่อนั้นควรจะสามารถกลับสู่สภาวะปกติคือ มีชีวิตและแบ่งเซลล์ได้ มีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นพืชได้ ความมีชีวิตของเนื้อเยื่อหลังการแช่แข็งเป็นข้อบ่งชี้ถึงความสำเร็จของวิธีการ ดังนั้นการวัดความมีชีวิตจึงเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวก ซึ่งสามารถทำได้โดยการย้อมสีด้วย FDA (Fluorescein Diacetate) เซลล์พืชมีเอนไซม์ Esterase

จะย่อยโมเลกุลของ FDA แล้วให้สารเรืองแสงสีเขียวเมื่อดูด้วยกล้อง UV (อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541 : 107)

รูปแบบการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อด้วยการเก็บแช่แข็ง สามารถแบ่งวิธีการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชด้วยวิธีการเก็บแช่แข็งได้เป็น 4 รูปแบบ คือ

1. วิธี Dehydration

การทำให้เซลล์สูญเสียน้ำก็เป็นการป้องกันไม่ให้น้ำในเซลล์แข็งตัว เมื่อนำเนื้อเยื่อนั้นแช่ลงในไนโตรเจนเหลว การทำให้เซลล์ลดปริมาณน้ำอาจทำโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง หรือการผึ่งให้แห้ง หรือใช้สารดูดความชื้น เป็นต้น (อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541 : 107) น้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้นสูงมีผลต่อแรงดันออสโมติกของเซลล์โดยการทำให้เซลล์สูญเสียน้ำ แต่เซลล์ไม่ได้รับความเสียหาย (Engelmann. 1991 : 227 - 243)

2. วิธี Vitrification

วิธีนี้เป็นการเติมสารเคมีที่เหมาะสม หรือที่เรียกว่า Cryoprotectant ซึ่งมีทั้งชนิดที่สามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์หรือเพียงห่อหุ้มภายนอก สารเคมีที่ใช้เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำในเซลล์ตกผลึกแข็งตัวจะมีความเข้มข้นสูง จึงป้องกันไม่ให้เกิดการแข็งตัวของน้ำในเซลล์ เซลล์จึงไม่แตก (อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541 : 107) สารละลาย PVS_2 ประกอบไปด้วย กลีเซอรอล 30 เปอร์เซ็นต์ ไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ 15 เปอร์เซ็นต์ และเอทธิลีนไกลคอล 15 เปอร์เซ็นต์ สารที่เป็นองค์ประกอบของสารละลาย PVS_2 เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการปกป้องเนื้อเยื่อพืชจากอันตรายขณะแช่แข็ง โดยมีผลต่อแรงดันออสโมติกของเซลล์ โดยการดึงน้ำออกจากเซลล์ และอาจมีผลในการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ด้วย (Engelmann. 1991 : 227 - 243)

3. วิธี Encapsulation - dehydration

วิธีการนี้เป็นการห่อหุ้มเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลสูง จะทำให้เซลล์สูญเสียน้ำและถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนต จะทำให้เนื้อเยื่อทนต่อสภาพเย็นจัดได้โดยไม่มีการตกผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ (อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541 : 107) จากนั้นชิ้นส่วนที่ถูกเคลือบจะถูกทำให้แห้งโดยใช้ซิลิกาเจลหรือการตาก

4. วิธี Encapsulation - vitrification

วิธีนี้จะนำชิ้นส่วนมาหุ้มด้วยสารอัลจิเนต แล้วดึงน้ำออก โดยการแช่สารละลาย Cryoprotectant เช่นเดียวกับวิธี Vitrification (Engelmann. 1991 : 227 - 243) โดยสารอัลจิเนตจะมีส่วนช่วยลดความเป็นพิษที่ชิ้นส่วนของพืชที่ต้องสัมผัสกับสารเคมีโดยตรง (Hirai and Sakai. 1999 : 153 - 156)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โจฮารี และคณะ (Johari and et al. 2009) ศึกษาการเก็บเนื้อเยื่อส่วนปลายรากของกล้วยไม้ *Brassia rex.* โดยศึกษา 2 รูปแบบคือ ผ่านการแช่แข็ง และไม่ผ่านการแช่แข็ง ซึ่งในขั้นตอน Pre-culture (เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS (Murashige and Skoog. 1962) และเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 0.75 M (0.06 M เป็นชุดควบคุม) เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง) ได้ใช้เนื้อเยื่อส่วนปลายยอด 2 ขนาด คือ 0.5 ถึง 1.0 เซนติเมตร และ 1.0 ถึง 1.5 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS (Murashige and Skoog. 1962) และเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 0.75 M (0.06 M เป็นชุดควบคุม) เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเติมสารละลาย PVS_2 เป็นระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 0 และ 24 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนเหลว พบว่าระยะเวลาในการเติมสารละลาย PVS_2 ที่เหมาะสม คือ ที่ระยะเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนเหลว และเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดที่ผ่านเติมสารละลาย PVS_2 ที่ระยะเวลา 25 นาทีและไม่ผ่านการแช่แข็ง ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสดีที่สุด

แอนโทนี และคณะ (Antony and et al. 2013) ศึกษาการเก็บรักษา Protocorm-like Bodies (PLBs) ของกล้วยไม้ *Brassidium* Shooting Star ในไนโตรเจนเหลวด้วยเทคนิค Vitrification นำ PLBs มาผ่านขั้นตอนพรีโกรต โดยเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS (Murashige and Skoog. 1962) และเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0.8 M เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย PVS_2 20 นาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว พบว่า PLBs มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด

ฮาคิม และคณะ (Hakim and et al. 2014) ศึกษาการเก็บรักษาพันธุกรรมกล้วยไม้ *Coelogyne dayanum* แบบแช่แข็ง ด้วยวิธี Vitrification โดยนำมาปรับสภาพด้วยขั้นตอนพรีโกรตบนอาหาร ½ Mitra (Mitra and et al. 1976) เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.3, 0.5 และ 0.8 M เป็นระยะเวลา 3 วัน ก่อนนำไปแช่ในสารละลาย PVS_2 ที่ระยะเวลา 0, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนเหลว 1 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ *Coelogyne dayanum* ที่ผ่านขั้นตอนพรีโกรตด้วยน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0.3 M มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดหลังการเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนเหลว และที่การแช่สารละลาย PVS_2 3 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด

ครรชิต ธรรมศิริ และศุภกิจ ยงวิทิตสถิต (2540) ได้ทำการทดลองเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ในไนโตรเจนเหลวโดยวิธี Vitrification โดยไม่ต้องใช้ Pre-culture และ Loading Treatments ได้ทดลองกับกล้วยไม้ไทย 3 ชนิด คือ เอื้องคำ เอื้องเงิน และเขาแกะ และกล้วยไม้ลูกผสม

2 ประเภท คือ แคทลียาลูกผสมและหวายลูกผสม ผลการทดลองปรากฏว่าการแช่เมล็ดพันธุ์ในสาร PVS_2 เป็นระยะเวลา 20 ถึง 60 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถดูดน้ำออกจากเมล็ดได้อย่างเพียงพอก่อนที่จะนำเมล็ดพันธุ์ไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว หลังจากนำเมล็ดพันธุ์ออกจากไนโตรเจนเหลว แช่เมล็ดพันธุ์ลงในซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 1.2 M เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นจึงนำไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went. 1949) เมล็ดพันธุ์ที่แช่ในสาร PVS_2 ให้ความงอกสูงกว่าและใช้เวลาในการงอกต่ำกว่าที่ไม่ได้แช่ใน PVS_2

พรพรรณ สุขุมพินิจ (2549) ศึกษาการเก็บรักษาพันธุกรรมเอื้องแซะหลวง โดยใช้วิธีการชะลอการเจริญเติบโต และการแช่เยือกแข็ง ในการทดลองการชะลอการเจริญเติบโตเอื้องแซะหลวง โดยใช้น้ำตาลซูโครส น้ำตาลแมนนิทอล และสารแพคโคลบิวทราโซลด้วยระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์สามารถชะลอความสูงของลำลูกกล้วยได้ 0.56 เซนติเมตร จาก 2.51 เซนติเมตรเป็น 1.95 เซนติเมตร สำหรับการใช้น้ำตาลแมนนิทอลที่ระดับความเข้มข้น 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงไม่แตกต่างกัน แต่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับความเข้มข้น 0, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สารแพคโคลบิวทราโซล พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นมีความสูงของลำลูกกล้วยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการเก็บรักษาเมล็ดและโปรโตคอร์มของเอื้องแซะในไนโตรเจนเหลว พบว่าเมล็ดสามารถเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวได้แต่ต้องเติมสารละลาย PVS_2 โดยการเติมสารละลาย PVS_2 เป็นระยะเวลา 50 ถึง 80 นาที เมล็ดสามารถงอกภายหลังการแช่แข็งได้เร็วที่สุดคือ 120 วัน ส่วนเมล็ดที่ไม่เติมสารละลาย PVS_2 ก่อนการเก็บรักษาแบบแช่แข็งสูญเสียความงอกทั้งหมด

วรินทร์พร จิ๋วรัตนสกุล (2557) ศึกษาการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชเนระพูสีไทยด้วยวิธีการชะลอการเจริญเติบโต และการเก็บรักษาปลายยอดในสภาพแช่แข็ง โดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตใช้ต้นอ่อนอายุ 3 เดือน จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog. 1962) จำนวน 9 สูตร ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักและน้ำตาลซูโครส 3 ระดับ คือ MS, ½ MS และ ¼ MS และ 30, 60 และ 90 กรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่เติมซูโครส 90 กรัมต่อลิตร สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

ส่วนการเก็บรักษาแบบแช่แข็งใช้เทคนิค Encapsulation - vitrification พบว่าการปรับสภาพปลายยอดก่อนการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog. 1962) ที่เติมซูโครส 0.3 โมลาร์ แช่สารละลาย PVS_2 20 นาที มีอัตราความมีชีวิตสูงสุด แต่เมื่อนำปลายยอดที่ผ่านการปรับสภาพเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog. 1962) เป็นเวลา 1 เดือน ไม่พบการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดเมื่อเก็บรักษาด้วยวิธีนี้

สิริพงษ์ อารมณ์ชื่น (2558) ศึกษาอิทธิพลของสารปกป้องเนื้อเยื่อพืช PVS_2 ต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูร พบว่า ภายหลังการเติมสารปกป้องเนื้อเยื่อพืช PVS_2 เป็นระยะเวลา 90 นาที และทำการเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนเหลว เมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูร สามารถงอกได้เร็วที่สุด 13.00 วัน และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 77.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเติมสารปกป้องเนื้อเยื่อพืช PVS_2 เป็นระยะเวลา 0, 10 และ 20 นาที ส่งผลให้เมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรสูญเสียเปอร์เซ็นต์ความงอก

นุจรีย์ วรรณประภา (2559) ศึกษาผลของสารละลาย PVS_2 ต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิด ภายหลังการเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนเหลว พบว่า การเติมสารละลาย PVS_2 ที่ระยะเวลา 70 และ 90 นาที เมล็ดกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิดสามารถงอกได้เร็วที่สุดคือ 14.67 วัน และการเติมสารละลาย PVS_2 ที่ระยะเวลา 90 นาที เมล็ดเอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงสุดคือ 95.67 เปอร์เซ็นต์

เกียรติศักดิ์ อ่อนใจ (2560) ศึกษาอิทธิพลของสารละลาย PVS_2 ต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรภายหลังการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว พบว่าการเติมสารละลาย PVS_2 ที่ระยะเวลาที่แตกต่างกัน ก่อนนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวมีผลต่อจำนวนวันที่เมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรใช้ในการงอก และเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูร อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งการเติมสารละลาย PVS_2 เป็นระยะเวลา 140 นาที ส่งผลให้เมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรสามารถงอกได้เร็วที่สุดเฉลี่ยคือ 13.75 วัน และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงสุด คือ 92.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเติมสารปกป้องการเติมสารละลาย PVS_2 เป็นระยะเวลา 0 นาที ส่งผลให้เมล็ดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรสูญเสียความงอก

สุนิสา เภรินทร์ (2560) ศึกษาผลของสารปกป้องเนื้อเยื่อพืชต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องทอง ภายหลังการเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนเหลว พบว่าการเติมสารละลาย PVS_2 ที่ระยะเวลา 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 นาทีเมล็ดกล้วยไม้เอื้องทองสามารถงอกได้เร็วที่สุดคือ 23.0 วัน และการเติมสารละลาย PVS_2 ที่ระยะเวลา 50 นาที เมล็ดเอื้องทองมีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 85.0 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี