บทที่ 5
สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

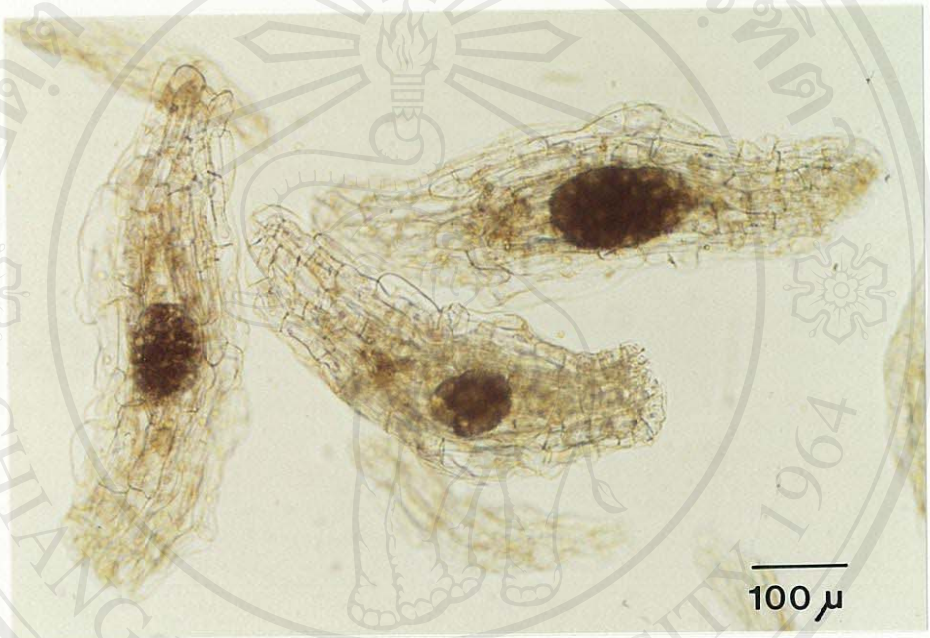
I. การศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ด และการพัฒนาจนถึงระยะโปรโตคอร์ม

ปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ สามารถแบ่งออกได้ 3 กลุ่มคือ

1. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นพืช

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นพืชที่ทำการศึกษาคือ การหาอายุฝักที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดในอาหารเหลว โดยพบว่า เมล็ดจากฝักอายุ 10 และ 12 สัปดาห์ ไม่สามารถงอกได้ ทั้งนี้เนื่องจาก จากการศึกษาเมล็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เมล็ดจากฝักอายุ 10 สัปดาห์ ซึ่งภายในไม่มีคัพภะ(ภาพที่ 4 หน้า 35) และเมล็ดจากฝักอายุ 12 สัปดาห์ ซึ่งคัพภะยังเจริญ-เติบโตไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 12 หน้า 108) อีกทั้งส่วนประกอบของอาหารเหลวที่ใช้ไม่เหมาะสมเพียงพอที่จะช่วยให้คัพภะที่ยังเจริญเติบโตไม่สมบูรณ์ มีการเจริญต่อไปจนกระทั่งสามารถงอกได้ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของสมศักดิ์(2523) และวิวัฒน์(2529) ที่พบว่าเมล็ดสามารถงอกได้เมื่อฝักมีอายุตั้งแต่ 8 และ 10 สัปดาห์ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น ความยาววัน ความเข้มแสง อุณหภูมิ และความชื้นของฤดูกาลที่ต้นแม่ถือฝัก สภาพการดูแลรักษา และความสมบูรณ์ของต้นแม่แตกต่างกัน โดยที่สมศักดิ์ใช้ฝักที่เจริญเติบโตในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงกันยายน ซึ่งเป็นช่วงที่รองเท้านารีมีการเจริญเติบโตได้ดี ส่วนในการทดลองนี้ ฝักอายุ 10 และ 12 สัปดาห์ที่ใช้ ได้จากฝักที่เจริญเติบโตในช่วงเดือนธันวาคม ถึงมีนาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตน้อย ส่วนการเพาะเมล็ดจากฝักอายุตั้งแต่ 14 ถึง 28 สัปดาห์พบว่า เมล็ดสามารถงอกได้โดยการเพาะในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง แม้ว่าระยะเวลาที่เมล็ดเริ่มงอก เปอร์เซนต์งอก ขนาดและความสม่ำเสมอของโปรโตคอร์มจะมีความแตกต่างกัน โดยที่มีแนวโน้มว่า เมล็ดจากฝักอายุน้อยจะงอกได้เร็ว มีเปอร์เซนต์งอกและ ความสม่ำเสมอสูงกว่าเมล็ดจากฝักอายุมากกว่า แต่ก็เป็นแนวโน้มที่ไม่แน่นอนนัก ทั้งนี้เนื่องจากระยะเวลาที่เริ่มงอก เปอร์เซนต์งอก และความสม่ำเสมอ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ กล่าวคือ จากการศึกษาเมล็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่ามีความแตกต่างกันของระยะของการพัฒนาของแต่ละเมล็ดในฝักเดียวกัน และ/หรือในแต่ละฝักของฝักอายุเดียวกัน และฝักอายุต่างกัน ซึ่งจะพบได้ชัดเจนในฝักอายุ 10 12 และ 14 สัปดาห์ โดยที่จะพบเมล็ดในระยะตั้งแต่ไม่ปรากฏคัพภะภายใน และเปลือกหุ้มเมล็ดประกอบด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

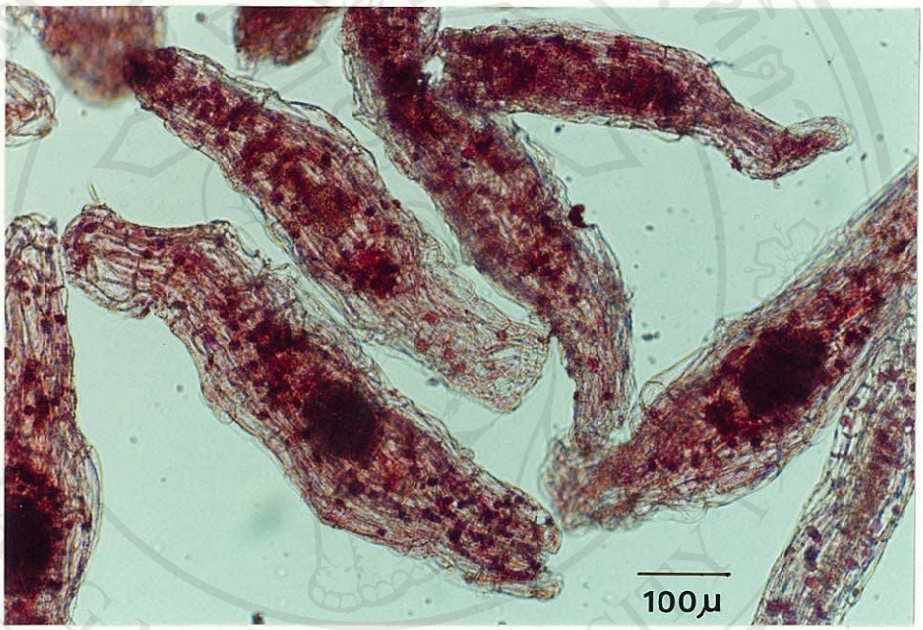


ภาพที่ 12 ลักษณะของเมล็ดจากฝักอายุ 12 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เซลล์ที่มีนิวเคลียส จนกระทั่งพบคัพภะภายในซึ่งมีขนาดแตกต่างกัน (ภาพที่ 13 หน้า 110) และปัจจัยทางสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น และ/หรืออาจรวมทั้งเมล็ดแต่ละเมล็ดได้รับการผสมไม่พร้อมกัน จึงน่าจะเป็นสาเหตุให้คัพภะของแต่ละเมล็ดมีการพัฒนา และความสมบูรณ์ที่จะสามารถงอกได้แตกต่างกัน และอีกปัจจัยหนึ่งที่น่าจะมีอิทธิพลต่อการงอกของเมล็ดคือ เปลือกหุ้มเมล็ด โดยพบว่าเมล็ดอายุน้อยจะมีสีของเปลือกหุ้มเมล็ดจางกว่าเมล็ดอายุมากกว่า ซึ่งอาจเกิดขึ้นจากมีความหนา และมีการสะสมของสารต่าง ๆ น้อยกว่า ซึ่งก็มีความแตกต่างกันในแต่ละเมล็ดในฝักเดียวกันด้วยเช่นกัน จึงมีผลให้ความสามารถในการยอมให้น้ำ และสารอาหารผ่านเข้าสู่คัพภะภายในแตกต่างกัน และมีผลให้คัพภะมีการเจริญเติบโต และงอกได้เร็วแตกต่างกัน ประกอบกับเซลล์ที่ประกอบขึ้นเป็นเปลือกหุ้มเมล็ดในระยะนี้จะไม่มีการเจริญเติบโต เนื่องจากนิวเคลียสภายในเซลล์ส่วนใหญ่สลายตัวแล้ว แม้จะพบว่าเมล็ดมีความกว้างเพิ่มขึ้นในช่วง 4 สัปดาห์แรก ซึ่งเกิดขึ้นจากการที่คัพภะภายในมีการเจริญเติบโต จึงส่งผลให้เปลือกหุ้มเมล็ดมีการขยายตัวทางด้านกว้าง และมีผลให้ความยาวของเซลล์ของเปลือกหุ้มเมล็ดลดลง ส่งผลรวมให้ความยาวของเมล็ดโดยรวมลดลงด้วย ฉะนั้นเมล็ดที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดบาง คัพภะจึงเจริญเติบโตดันเปลือกหุ้มเมล็ดให้ฉีกขาดและงอกได้เร็วกว่า จึงส่งผลให้คัพภะที่งอกก่อนได้รับสารอาหารโดยตรงเร็วกว่า มีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่กว่าตามลำดับ ดังจะเห็นได้ว่าหลังจากที่คัพภะเริ่มงอก จะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้นกว่าในระยะที่คัพภะยังอยู่ในเปลือกหุ้มเมล็ด นอกจากนี้ยังส่งผลถึงความสม่ำเสมอของขนาดโปรโตคอร์มในระยะต่อมา กล่าวคือ เมล็ดในขวดเพาะเดียวกันหากมีความพร้อมในการงอกสูง ย่อมส่งผลต่อความสม่ำเสมอของขนาดโปรโตคอร์มที่พัฒนาในระยะต่อมาด้วยเช่นกัน แต่ในขณะเดียวกันพบว่าขนาดของโปรโตคอร์มมีแนวโน้มใหญ่ขึ้นเมื่ออายุฝักเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากคัพภะของเมล็ดจากฝักอายุมากมีความสมบูรณ์มากกว่าฝักอายุน้อย จึงมีศักยภาพในการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ดีกว่า ดังจะเห็นได้จากเมล็ดจากฝักอายุ 14 สัปดาห์ คัพภะที่งอกจะมีการเจริญเติบโตได้น้อยกว่า เมื่อเทียบกับฝักอายุ 18 และ 20 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตามก็พบว่า โปรโตคอร์มจากฝักอายุ 22 ถึง 28 สัปดาห์ มีขนาดเล็กกว่าฝักอายุ 18 และ 20 สัปดาห์ ทั้งนี้เนื่องจากคัพภะส่วนใหญ่งอกช้ากว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 13 ลักษณะของเมล็ดซึ่งมีขนาดของคัพภะภายในแตกต่างกัน และเปลือกหุ้มเมล็ดยังประกอบด้วยเซลล์ที่มีนิวเคลียส จากการย้อมเมล็ดด้วยสี Aceto-Orcein

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการสังเกตเมื่อสิ้นสุดการทดลองซึ่งไม่ได้นำเสนอข้อมูลในวิทยานิพนธ์นี้ พบว่าโปรโตคอร์มจากฝักอายุมาก มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่ปกติได้เร็ว และมีอัตราการรอดตายสูงกว่าโปรโตคอร์มจากฝักอายุน้อย เช่นเดียวกับสมศักดิ์(2523) และวิวัฒน์(2529) โดยวิวัฒน์พบว่าเปอร์เซนต์ความอยู่รอด และการพัฒนาเป็นต้นกล้าของโปรโตคอร์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะจากฝักที่มีอายุมากกว่า 135 วัน และผลจากการทดลองนี้พบว่าโปรโตคอร์มจากฝักอายุตั้งแต่ 18 สัปดาห์ขึ้นไปสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ในระดับที่น่าพอใจ

2. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของอาหาร

ปัจจัยแรกที่ทำการศึกษาได้แก่ สูตรอาหาร โดยทำการเปรียบเทียบอาหารเหลว 3 สูตร ซึ่งมีความแตกต่างกันในส่วนประกอบของธาตุอาหารหลัก พบว่า เมล็ดสามารถงอกในอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went(1949)ดัดแปลง ได้ดีกว่าในอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารหลักสูตร MS(1962) และ Thomale GD(1954) ตามลำดับ โดยที่คัพภะสามารถเจริญเติบโตได้ดี และเร็วกว่า รวมทั้งมีเปอร์เซนต์งอกสูง และคัพภะที่งอกสามารถพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่กว่า ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went (1949)ดัดแปลง มีส่วนประกอบของสารอาหารหลัก และมีระดับความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมมากกว่าในธาตุอาหารหลักสูตร MS(1962) และ Thomale GD(1954) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 31 หน้า 112 ซึ่งจากการศึกษาของ Arditti และ Ernst (1982) พบว่า ระดับความเข้มข้นของอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการงอก และการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้ จึงส่งผลให้คัพภะมีการเจริญเติบโตดี และขยายตัวดันเปลือกหุ้มเมล็ดให้ฉีกขาด และงอกได้ในจำนวนที่มาก และรวดเร็วกว่า ปริมาณของ Calcium ในสูตรอาหารน่าจะเป็นอีกส่วนหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมให้คัพภะมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น เนื่องจากธรรมชาติของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนนี้มีถิ่นกำเนิดและกระจายพันธุ์ตามเขตภูเขาหินปูนผุ ๆ ปนกับทรากผุพังของอินทรีย์วัตถุอื่น ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 31 ปริมาณอิออน(มิลลิโมล)ชนิดต่าง ๆ ในธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went (1949)ดัดแปลง Thomale GD(1954) และ Murashige and Skoog(1962)

อิออน	Vacin and Went(1949) ดัดแปลง	Thomale GD(1954)	MS(1962)
Nitrate	6.47	10.06	39.40
Ammonium	7.56	5.50	20.61
NO_3^-:NH_4^+	0.86	1.82	1.90
Total Nitrogen	14.03	15.56	60.01
Phosphate	1.84	2.20	1.24
Magnesium	1.01	0.74	1.50
Calcium	0.64	0	2.99
Potassium	7.03	6.16	20.03

Peptone เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำการศึกษา จากการเปรียบเทียบการเติม peptone ที่ระดับต่าง ๆ กันในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงพบว่า การเติม peptone ช่วยให้คัพภะมีการเจริญเติบโตดีขึ้น ยกเว้นการเติม peptone ที่ระดับ 3.0 ก/ล ซึ่งคัพภะมีการเจริญเติบโตและมีเปอร์เซนต์งอกน้อยกว่า รวมทั้งคัพภะที่งอกมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดเล็กกว่าในสูตรอาหารที่ไม่เติม peptone ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าการเติม peptone 3.0 ก/ล เป็นปริมาณที่มากเกินไป ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของคัพภะ และ/หรือ peptone เป็น complex additive ซึ่งมีส่วนประกอบของสารอาหารต่าง ๆ มากชนิดเช่น แหล่งไนโตรเจนประเภทต่าง ๆ กรดอะมิโน วิตามิน และอิออนของธาตุต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 32 หน้า 113 (Arditti,1977) ซึ่งอาจมีปริมาณของสารใดสารหนึ่งหรือมากกว่า ในปริมาณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 32 ชนิด และปริมาณของสารต่าง ๆ ใน Peptone

สาร		สาร	
	ร้อยละ		ร้อยละ
Ash	3.53	Organic sulphur	0.33
Ether soluble extract	0.37	Inorganic sulphur	0.29
Total nitrogen	16.16	Phosphorus	0.079
Primary proteose nitrogen	0.60	Iron	0.0023
Secondary proteose nitrogen	0.68	SiO_2	0.042
Peptone nitrogen	15.38	Potassium	0.22
Ammonia nitrogen	0.04	Sodium	1.08
Free amino nitrogen	3.20	Magnesium	0.056
Amide nitrogen	0.49	Calcium	0.058
Mono-amino nitrogen	9.42	Chlorine	0.27
Di-amino nitrogen	4.07	Chloride	0.27
Arginine	8.0		
Aspartic acid	5.9		ส่วนต่อล้าน
Cystine	0.22	Manganese	8.6
Glutamic acid	11.0	Lead	15.00
Glycine	23.0	Arsenic	0.09
Histidine	0.96	Copper	17.00
Isoleucine	2.0	Zinc	18.00
Leucine	3.5		
Lysine	4.3		ไมโครกรัมต่อกรัม
Methionine	0.83	Pyridoxine	2.50
Phenylalanine	2.3	Biotin	0.32
Threonine	1.6	Thiamine	0.50
Tryptophane	0.42	Niacin	35.00
Tyrosine	2.3	Riboflavin	4.00
Valine	3.2		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่มากเกินกว่าความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของคัพภะ แต่อย่างไรก็ตามพบว่า การเติม peptone ที่ระดับ 1.0 ก/ล ช่วยให้คัพภะมีการเจริญเติบโต มีเปอร์เซนต์งอก และพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่ได้ดีที่สุด ดีกว่าที่ระดับ 0.5 2.0 และดีกว่าในสูตรอาหารที่ไม่เติม แม้ Northen(1970) จะพบว่าเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสูตรอาหาร Knudson(1949) ที่เติม peptone 0.05 ก/ล และ Flamee (1978) พบว่า เมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสม งอกและเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารสูตร Thomale GD ที่เติม peptone 2.0 ก/ล โดยจะเห็นว่า ระดับของ peptone ที่ใช้ได้ดีของทั้ง Northen และ Flamee จะแตกต่างไปจากระดับที่ใช้ได้ผลดีในการทดลองครั้งนี้ก็ตาม แต่ก็อยู่ในแนวโน้มเดียวกับในการทดลองนี้เช่นกัน จึงอาจกล่าวได้ว่า ระดับของ peptone ที่เหมาะสมต่อกล้วยไม้รองเท้านารีจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับสูตรและส่วนประกอบของอาหาร และชนิดของกล้วยไม้ และอาจรวมทั้งปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจเกี่ยวข้องเช่น อายุฝัก สภาพทางกายภาพของอาหาร และวิธีการเพาะเลี้ยง ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ใช้ฝักอายุ 28 สัปดาห์ และเพาะเมล็ดในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่า ซึ่งแตกต่างจากการเพาะเมล็ดของ Northen และ Flamee ที่เพาะบนอาหารวุ้น กล่าวคือ เมล็ดที่เพาะโดยวิธีการศึกษาในครั้งนี้ จะเปียก และจมในอาหารหลังจากเพาะประมาณ 1 สัปดาห์ น้ำ และสารอาหารต่าง ๆ จึงแพร่เข้าสู่เมล็ดได้โดยรอบ และรวดเร็วกว่า ซึ่งแตกต่างจากการเพาะบนอาหารวุ้น ซึ่งเมล็ดจะได้รับน้ำ และสารอาหารจากบริเวณผิวสัมผัสของเมล็ดกับอาหาร รวมทั้งการแพร่ และการปลดปล่อยสารอาหารของอาหารวุ้นมีอัตราที่น้อย และช้ากว่าในอาหารเหลวด้วย

อย่างไรก็ตาม อาจมีปัจจัยอื่น ๆ นอกเหนือจากระดับของ peptone รวมอยู่ด้วย อีกเช่น biotin และ NAA ซึ่งมีอยู่ในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงที่ใช้ทดลอง ทั้งนี้จากการศึกษาในเบื้องต้นซึ่งไม่ได้นำผลเสนอในวิทยานิพนธ์นี้พบว่า เมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน งอกและเจริญเติบโตในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงที่มี peptone biotin และ NAA ได้ดีกว่าในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงที่ไม่เติมสารดังกล่าวเป็นอย่างมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ peptone biotin และ NAA มีผลร่วมต่อกันที่ช่วยส่งเสริมให้คัพภะมีการเจริญเติบโต และงอกได้ดีขึ้น เนื่องจาก biotin ทำหน้าที่เป็น Co-enzyme ของปฏิกิริยาต่าง ๆ ได้แก่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

CO_2 fixation carboxylation decarboxylation deamination และช่วยในขบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน และ purine ซึ่งเป็นส่วนประกอบของสารพันธุ์กรรม (นิธิยา และ วิบูลย์ 2529) เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Lucke(1971) ซึ่งพบว่า biotin ช่วยในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม และ Flamee(1978) พบว่า NAA ช่วยให้เมล็ดงอกได้ดียิ่งขึ้น

3. ปัจจัยทางกายภาพของอาหาร และสภาพการเพาะเลี้ยง

ปัจจัยทางกายภาพของอาหารที่ทำการศึกษาได้แก่ ความเป็นกรด-ด่างของอาหาร โดยการเปรียบเทียบระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวสูตรดัดแปลง 5 ระดับคือ 5.0 5.5 5.7 6.0 และ 6.5 พบว่า อาหารเหลวสูตรดัดแปลงที่มีระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.7 มีความเหมาะสมต่อการงอก และการเจริญเติบโตของคัพภะมากที่สุด รวมทั้งโปรโตคอร์มที่พัฒนาขึ้นมีขนาดใหญ่กว่าในอาหารเหลวที่มีระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 6.5 6.0 และ 5.0 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่า เมล็ดสามารถงอกได้ดีในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงทุกระดับความเป็นกรด-ด่าง แต่ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0 เมล็ดงอกได้น้อยกว่าที่ระดับค่วามเป็นกรด-ด่างที่สูงกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาพถิ่นกำเนิดของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนซึ่งพบในเขตภูเขาหินปูนมีสภาพที่เป็นด่างเล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวที่ระดับ 5.0 จึงมีสภาพที่เป็นกรดมากเกินไป ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของคัพภะ เช่นเดียวกับข้อเสนอแนะของ Northen(1970) ว่าควรที่จะปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารให้มีค่าใกล้เคียงกับสภาพธรรมชาติของแหล่งกำเนิด แต่แนวโน้มที่พบในการทดลองนี้แตกต่างออกไปเล็กน้อย กล่าวคือคัพภะไม่ได้เจริญเติบโตได้ดีขึ้นตามความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่สูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหารมีอิทธิพลต่อการปลดปล่อยธาตุอาหารต่าง ๆ ให้อยู่ในรูปที่เนื้อเยื่อพืชสามารถนำไปใช้ได้ดี ซึ่งส่งผลถึงอัตราการเจริญเติบโตของคัพภะที่แตกต่างกันในอาหารเหลวที่มีระดับความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังอาจมีผลจากสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วรวมอยู่ด้วย จึงอาจกล่าวได้ว่า ช่วงความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวที่เหมาะสมต่อการงอก และการเจริญเติบโตของคัพภะของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนมีช่วงกว้างคือ ตั้งแต่ 5.5 ถึง 6.5 และสภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหารไม่มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลต่อเปอร์เซนต์งอกของเมล็ด แต่มีผล และ/หรือส่งเสริมให้คัพภะมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้นแตกต่างกัน

แสงเป็นปัจจัยทางกายภาพของสภาพการเพาะเลี้ยงปัจจัยหนึ่ง จากการศึกษามีแนวโน้มว่า เมล็ดสามารถงอก และเจริญเติบโตสร้างโปรโตคอร์มในความมืดได้ดีกว่าในสภาพที่มีแสงสว่างเช่นเดียวกับที่พบในกล้วยไม้ดินชนิดอื่น ๆ เช่น Cypripedium calceolus Cypripedium reginae และ Serapias orientalis เป็นต้น (Arditti และ Ernst, 1982) แม้จะพบว่า เมล็ดที่เพาะในสภาพที่มีแสงสว่างตลอด จะมีเปอร์เซนต์งอกสูง และคัพภะที่งอกพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่ยาวกว่าในสภาพที่ได้รับความมืดนาน 1 และ 2 สัปดาห์ก็ตาม ทั้งนี้จากการศึกษาการงอก และการพัฒนาของคัพภะเป็นโปรโตคอร์มภายใต้สภาพที่ได้รับความมืดตลอดของเมล็ดในหลาย ๆ ฝักจากต้นแม่ที่แตกต่างกันพบว่า เปอร์เซนต์การงอกของเมล็ดขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ หลายปัจจัยตามที่ได้กล่าวไว้แล้ว และยังพบว่าลักษณะรูปร่างของโปรโตคอร์มที่พัฒนาขึ้นจากเมล็ดในแต่ละฝักมีความแตกต่างกันอย่างมาก โดยที่จะพบโปรโตคอร์มที่มีรูปร่างค่อนข้างกลม จนกระทั่งมีรูปร่างยาวรี การศึกษาในครั้งนี้ได้เพาะเมล็ดในแต่ละฝักแยกกัน จึงมีโอกาสที่จะได้คัพภะที่จะพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีรูปร่างรียาว จึงทำให้ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานของความยาวโปรโตคอร์มในสภาพที่ได้รับแสงสว่างตลอดยาวกว่าในสภาพที่ได้รับความมืดนาน 1 และ 2 สัปดาห์ เนื่องจากมีความแตกต่างของรูปร่างโปรโตคอร์มมากกว่า อย่างไรก็ตามพอที่จะสรุปได้ว่า เมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสามารถงอกได้ดีทั้งในสภาพที่มีแสงสว่างตลอด และภายใต้ความมืด แต่คัพภะสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่ในสภาพที่ได้รับความมืดได้ดีกว่า

II. การศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นต้นกล้าของโปรโตคอร์ม

ปัจจัยที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มี 2 กลุ่มคือ

1. การเติมกล้วยหอมบด และถ่าน

โปรโตคอร์มจากการเพาะเมล็ดในอาหารเหลว จะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่สามารถสังเกตเห็นได้หลังจากย้ายลงเลี้ยงบนอาหารวุ้นดัดแปลงสูตรต่าง ๆ ทั้งในสูตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อาหารพื้นฐาน และสูตรอาหารที่เติมกล้วยหอมบด และ/หรือถ่านผง โดยจะมียอดแหลมเกิดขึ้นเพื่อพัฒนาเป็นยอด และใบจริงของต้นกล้าในระยะต่อมา ทั้งนี้จากการตัดตามยาวของโปรโตคอร์มพบว่า ยอดแหลมที่สังเกตเห็นได้ประกอบขึ้นด้วยใบที่อ่อนมาก(leaf primordia) 1 คู่ ซึ่งโอบปิดหน่วยเติบโตของยอด(meristematic dome)ไว้ (ภาพที่ 14 หน้า 118) นอกจากนี้โปรโตคอร์มบางเม็ดจะมี rhizoid-like เกิดขึ้นที่ส่วนฐาน การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพในลักษณะดังกล่าว น่าจะเป็นผลมาจากการปรับตัวตามธรรมชาติของโปรโตคอร์มเพื่อให้สามารถดำรงชีวิตได้ และเพื่อการพัฒนาเป็นต้นกล้าในระยะต่อมา rhizoid-like ที่เกิดเพิ่มขึ้นน่าจะเป็นผลจากการปรับตัวเพื่อให้โปรโตคอร์มได้รับอากาศเพิ่มมากขึ้นสาเหตุหนึ่ง เนื่องจากในระยะแรกจะมีอาหารเหลวปริ่มผิวหน้าอาหารวุ้นอยู่ เม็ดโปรโตคอร์มบางส่วนจึงจมอยู่ในอาหารเหลว จากการสังเกตโปรโตคอร์มในระยะที่งอกจากเมล็ดในอาหารเหลวก็พบว่า โปรโตคอร์มบางเม็ดจะมี rhizoid-like เกิดขึ้นที่ผิวโปรโตคอร์มเช่นกัน(ภาพที่ 15 หน้า 119) และจะเกาะติดกันลอยเป็นแพบนผิวหน้าอาหารเหลว

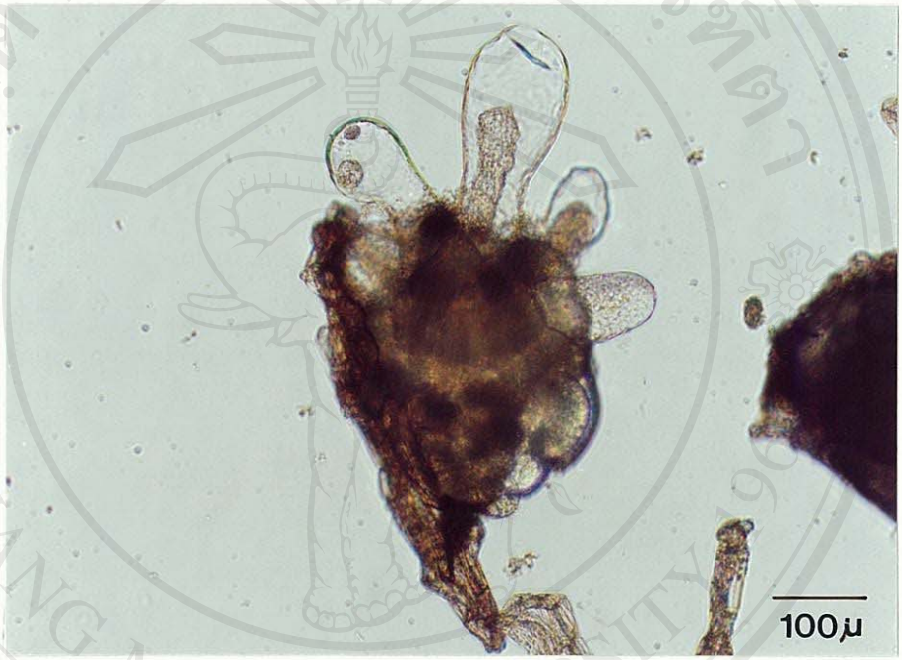
การพัฒนาคลอโรฟิลล์ของโปรโตคอร์มในสูตรอาหารพื้นฐาน จะเร็วกว่าในสูตรที่เติมกล้วยหอมบด และ/หรือถ่านร่วมอยู่ด้วย ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากกล้วยหอมบดเป็นอินทรีย์สารที่เพิ่มปริมาณธาตุเหล็กให้แก่อาหาร(อรสา 2525) ซึ่งเมื่อรวมกับปริมาณที่มีอยู่เดิมในสูตรอาหารพื้นฐานจึงมากเกินไป โปรโตคอร์มในสูตรอาหารที่มีกล้วยหอมบดจึงพัฒนาคลอโรฟิลล์ในระยะแรกได้ช้ากว่า แต่หลังจากที่โปรโตคอร์มใช้ธาตุเหล็กไปบางส่วน จึงทำให้ปริมาณธาตุเหล็กในระยะต่อมาอยู่ใกล้ระดับที่เหมาะสมมากขึ้น และถ่านสามารถดูดซับสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ในอาหารได้ดี จึงอาจดูดซับสารบางอย่างที่ช่วย หรือมีผลต่อการพัฒนาคลอโรฟิลล์ของโปรโตคอร์ม

ความมีชีวิตรอดของโปรโตคอร์มในสูตรอาหารที่เติมทั้งกล้วยหอมบด และถ่าน สูงกว่าในสูตรอาหารที่เติมกล้วยหอมบด หรือถ่านเพียงอย่างเดียว และมากกว่าในสูตรอาหารพื้นฐานตามลำดับ เนื่องจากถ่านช่วยดูดซับสารบางอย่างที่ไม่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโต และในขณะเดียวกันกล้วยหอมก็ปลดปล่อยสารอินทรีย์บางอย่างเช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 เป็นต้น จึงช่วยให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดมากกว่าในสูตรอาหารพื้นฐาน การเติมถ่านเพียงอย่างเดียวอาจจะดูดซับสารบางอย่างที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตไว้ หรือการเติมกล้วยหอมบดเพียงอย่างเดียวอาจ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 14 ภาพตัดตามยาวของโปรโตคอร์ม แสดงใบที่อ่อนมาก (leaf primordia) 1 คู่ โอบปิดหน่วยเติบโตของยอด(meristematic dome) ไว้ (ตัดโดยใช้เครื่องฝานเนื้อเยื่อแช่แข็ง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 15 โปรโตคอร์มที่งอกในอาหารเหลวบางเม็ดมี rhizoid-like เกิดขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปลดปล่อยสารบางอย่างออกมาในปริมาณที่มากเกินไปเช่นทำให้ปริมาณเหล็ก และน้ำตาลในสูตรอาหารเพิ่มขึ้นจึงมีผลทำให้โปรโตคอร์มตายในเวลาต่อมา ดังนั้นการเติมทั้งกล้วยหอมบด และถ่าน จึงมีผลต่อกันช่วยให้มีสารต่าง ๆ ในอาหาร อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม และมีผลให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดมากที่สุด

ผลของกล้วยหอมบด และถ่านที่มีต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์ม และการเจริญเติบโตของต้นกล้าจะเห็นได้ว่า ในสูตรอาหารที่เติมกล้วยหอมบดเพียงอย่างเดียวโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้มากที่สุด โดยที่ในสูตรอาหารที่เติมถ่านเพียงอย่างเดียวโปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าได้น้อยที่สุด แม้ว่าในสูตรอาหารที่เติมทั้งกล้วยหอมบดและถ่าน โปรโตคอร์มจะพัฒนาเป็นต้นกล้าได้น้อยกว่าในสูตรอาหารที่เติมกล้วยหอมบดเพียงอย่างเดียวก็ตาม แต่จะเห็นได้ว่า ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่มีใบ 3 ใบได้มากกว่าสูตรอาหารอื่น ขณะที่ต้นกล้าในสูตรอาหารที่เติมกล้วยหอมบดเพียงอย่างเดียวเจริญเติบโตช้ากว่า และต้นกล้าในสูตรอาหารที่เติมถ่านเพียงอย่างเดียวเจริญเติบโตได้ช้าที่สุด ช้ากว่าในสูตรอาหารพื้นฐาน ทั้งหมดนี้น่าจะเป็นผลเนื่องจาก กล้วยหอมบดซึ่งมีสารประกอบอินทรีย์มากมายเช่นวิตามินต่าง ๆ และ biotin ซึ่งมีอยู่ประมาณ 4.4 ไมโครกรัมต่อเนื้อกล้วย 100 กรัม(Arditti and Harrison, 1974) รวมทั้งแร่ธาตุต่าง ๆ จำนวนมากเช่น โปตัสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม และเหล็ก จึงช่วยให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ดีขึ้น แต่เนื้อกล้วยอาจมีอินทรีย์สารบางชนิด หรือมีสารบางตัวในปริมาณที่มากเกินความเหมาะสม จึงทำให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตช้าลง การเติมถ่านลงในสูตรอาหาร อาจดูดซับสารบางอย่างที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตซึ่งมีอยู่ในสูตรอาหารพื้นฐาน จึงทำให้โปรโตคอร์มมีการพัฒนาเป็นต้นกล้าน้อยลง และต้นกล้ามีการเจริญเติบโตช้าลง โดยที่จะเห็นว่าส่วนปลาย และขอบใบของต้นกล้ามีสีเขียวอมเหลืองในเวลาต่อมา ดังนั้นในสูตรอาหารที่เติมทั้งกล้วยหอมบด และถ่านร่วมกันจึงมีผลต่อกันให้สารอาหารต่าง ๆ ในอาหารที่ใช้เลี้ยงอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มเป็นต้นกล้า และต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีเป็นต้นกล้าที่มีขนาดทรงพุ่ม และมีความกว้างของใบมากกว่าในสูตรอาหารอื่น และต้นกล้าในสูตรอาหารที่เติมถ่านอย่างเดียว มีขนาดทรงพุ่ม และความกว้างของใบน้อยที่สุด นอกจากนี้เนื้อกล้วยยังค่อย ๆ ปลดปล่อยสารที่ช่วยการเจริญออกมาในระยะหลัง ประกอบกับถ่านช่วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดูดซับสารยับยั้งการเจริญเติบโตที่เกิดขึ้นจากขบวนการเมตาบอลิสมของต้นกล้า จึงช่วยส่งเสริมให้ต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้อย่างสม่ำเสมอมากกว่าในสูตรอาหารพื้นฐานซึ่งสารอาหารบางชนิดถูกใช้ไปเพื่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าในระยะแรก จึงมีปริมาณลดน้อยลง และอาจมีการสะสมสารยับยั้งการเจริญเติบโตดังกล่าว จึงทำให้วุ้นอาหารมีสภาพไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า และราก โดยจะเห็นได้จากเนื้ออาหารวุ้นบริเวณที่มีต้นกล้าจะมีสารสีน้ำตาลปรากฏอยู่ด้วย

ถ่านนอกจากจะดูดซับสารช่วยการเจริญเติบโตของต้นกล้าแล้ว ยังอาจดูดซับสารอินทรีย์บางชนิดที่มีมากเกินไป และดูดซับ indolebutyric acid (IBA) ซึ่งเป็นสารกระตุ้นการเกิดรากที่มีอยู่ในสูตรอาหารพื้นฐาน ซึ่งอาจมีอยู่ในระดับที่มากเกินไป ให้มีอยู่ในระดับที่มีความเหมาะสมมากขึ้น ช่วยให้ต้นกล้าในสูตรอาหารที่เติมถ่านมีจำนวนรากมากกว่าต้นกล้าในสูตรพื้นฐาน นอกจากนี้ กล้วยหอมบดยังปลดปล่อยธาตุเหล็ก และอินทรีย์สารต่าง ๆ ซึ่งช่วยให้ต้นกล้าออกรากเพิ่มขึ้น และช่วยให้มีการเจริญเติบโตของรากดีขึ้น แต่ก็อาจมีในปริมาณที่มาก จึงทำให้ต้นกล้าในสูตรอาหารที่เติมทั้งกล้วยหอมบด และถ่าน สามารถออกรากได้ดีกว่าในสูตรอาหารที่เติมกล้วยหอมบดเพียงอย่างเดียว เนื่องจากถ่านดูดซับสารช่วยการเจริญเติบโตของรากที่มีอยู่ในกล้วยด้วย จึงมีผลให้ต้นกล้าในสูตรอาหารที่เติมทั้งกล้วย และถ่าน มีรากสั้นกว่าต้นกล้าในสูตรที่เติมกล้วยเพียงอย่างเดียว

2. การเติมน้ำตาล และน้ำมะพร้าว

จากการทดลองพบว่า น้ำตาลช่วยให้โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโต และมีขนาดโตขึ้น และการเจริญเติบโตจะเพิ่มมากยิ่งขึ้นเมื่อมีน้ำมะพร้าวร่วมอยู่ด้วย ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่จำเป็น และช่วยให้โปรโตคอร์มมีเมตาบอลิสมต่าง ๆ เกิดขึ้นได้ตามปกติ นอกจากนี้ในน้ำมะพร้าวยังมีสารต่าง ๆ ที่ช่วยการเจริญเติบโตเช่น วิตามิน กรดอะมิโน และน้ำตาล จึงช่วยให้โปรโตคอร์มที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียวสามารถเจริญเติบโต และมีการพัฒนาในระยะต่อมาได้ การเติมทั้งน้ำตาล และน้ำมะพร้าวในสูตรอาหารจึงส่งผลให้โปรโตคอร์มที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมน้ำตาล และ/หรือน้ำมะพร้าวมีการเจริญเติบโตดีกว่าในสูตรอาหารที่ไม่มีน้ำตาล และน้ำมะพร้าว แต่อย่างไรก็ตามพบว่า โปรโตคอร์มในสูตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อาหารที่ไม่เติมน้ำตาล และน้ำมะพร้าวบางส่วนสามารถพัฒนาคลอโรฟิลล์ขึ้นได้เล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากน้ำตาลซึ่งมีอยู่ในสูตรอาหารเดิมที่ใช้ในการเพาะเมล็ด ยังส่งผลให้โปรโตคอร์มสามารถมีการพัฒนาต่อมาได้อีกระยะหนึ่ง รวมทั้งระยะการพัฒนาของแต่ละโปรโตคอร์มที่เริ่มทดลองมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ดังจะพบว่าโปรโตคอร์มที่มีขนาดโตเท่านั้นที่มีการพัฒนาคลอโรฟิลล์ขึ้น และหลังจากที่ผลของน้ำตาลในสูตรอาหารเดิมหมดลง โปรโตคอร์มจึงไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ เช่นเดียวกับที่ Harrison และ Arditti ทดลองในกล้วยไม้ Cattleya aurantiaca โดยพบว่า โปรโตคอร์มที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Knudson C ที่ปราศจากน้ำตาลจะไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ และพบว่าจำนวนโปรโตคอร์มที่สามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้เมื่อย้ายจากอาหารที่มีน้ำตาล มาเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีน้ำตาล เป็นปฏิภาคโดยตรงต่อระยะเวลาที่โปรโตคอร์มอยู่ในอาหารที่มีน้ำตาล(Arditti and Ernst ,1982) ซึ่งผลจากการทดลองนี้พบว่า น้ำตาลช่วยให้โปรโตคอร์มมีการพัฒนาคลอโรฟิลล์ และน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวสามารถทดแทนน้ำตาลซูโครสได้บางส่วน ดังจะเห็นได้ว่าโปรโตคอร์มในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียวร้อยละ 10 และ 20 สามารถพัฒนาคลอโรฟิลล์ได้เป็นอย่างดี

ผลการทดลองบ่งชี้อย่างชัดเจนว่า ระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นส่งผลให้ความมีชีวิตรอดของโปรโตคอร์มลดลง โดยที่โปรโตคอร์มจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายในเวลาต่อมา ทั้งนี้เนื่องจากระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นมีผลให้ค่าแรงดันออสโมติค(osmotic pressure)ในอาหารสูงขึ้น โปรโตคอร์มบางส่วนจึงไม่สามารถทนต่อความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงขึ้นได้ เช่นเดียวกับการทดลองของอิทธิพล(2522) ซึ่งพบว่า โปรโตคอร์มที่งอกจากเมล็ดของกล้วยไม้ลูกผสม Vanda Rothschildiana X Vanda sanderana บนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went ที่มีน้ำตาล 25 ก/ล จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายมากกว่าในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลน้อยลง แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้พบว่า การเติมน้ำมะพร้าวในสูตรอาหารช่วยให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดเพิ่มมากขึ้นที่ระดับน้ำตาลเท่ากัน ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสารช่วยการเจริญเติบโตที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าว ช่วยให้โปรโตคอร์มสามารถทนต่อระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นได้ดีขึ้น และ/หรือทำให้โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น จึงมีความต้องการน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความผิดปกติของโปรโตคอร์มที่มีลักษณะฉ่ำน้ำ และใส จะพบได้ในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 2 และพบมากขึ้นเมื่อมีน้ำตาลร้อยละ 1 และในสูตรที่มีน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียว ลักษณะฉ่ำน้ำและใสดังกล่าวนี้ สาเหตุหนึ่งน่าจะเป็นผลมาจากชนิด และปริมาณของวุ้นในสูตรอาหาร ซึ่งในการทดลองนี้ใช้วุ้นเพียงร้อยละ 0.8 และ/หรือ benzyladenine(BAP) ซึ่งเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตที่มีอยู่ในสูตรอาหาร ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดลักษณะฉ่ำน้ำได้ในสภาวะที่มีความเครียดต่าง ๆ เช่น มีการแลกเปลี่ยนของก๊าซต่าง ๆ ระหว่างภายในขวดเพาะกับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ไม่ดีเท่าที่ควร ซึ่งก่อให้มีก๊าซเอทธิลีน คาร์บอนไดออกไซด์ และปริมาณไอน้ำภายในขวดเพาะมากเกินไป (Aitken-Christie et al ,in press) และ/หรืออีกสาเหตุหนึ่งน่าจะเป็นผลมาจาก โปรโตคอร์มมีแหล่งคาร์บอนในปริมาณที่ไม่เพียงพอที่จะช่วยให้สามารถมีขบวนการเมตาบอลิสมต่าง ๆ ได้ตามปกติ และยังพบว่าในน้ำมะพร้าวมีน้ำตาลกลูโคสซึ่งสามารถถูกเปลี่ยนให้เป็นแมนนิทอล(manitol) ได้โดยขบวนการหมัก ซึ่งแมนนิทอลที่มีความเข้มข้นเพียง 0.2 โมล่าร์ ก็สามารถกีดกั้นการสร้างผนังเซลล์ได้ (มานพ 2509 อ้างถึง van Slyke และ Barley and Setterfield) โปรโตคอร์มที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลและน้ำมะพร้าวจึงอาจแสดงอาการฉ่ำน้ำได้ไม่ชัดเจน เมื่อเทียบกับในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียว หรือในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลร้อยละ 1 และ 2 และเติมร่วมกับน้ำมะพร้าว เนื่องจากแหล่งคาร์บอนที่เพิ่มขึ้นจากน้ำตาล และน้ำมะพร้าว ช่วยให้โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโต และตอบสนองต่อปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจก่อให้เกิดลักษณะฉ่ำน้ำ และใส ดังกล่าวมาแล้วได้ชัดเจนยิ่งขึ้น แต่พบว่าโปรโตคอร์มในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลร้อยละ 3 เพียงอย่างเดียวไม่มีอาการฉ่ำน้ำ และใส ซึ่งอาจเป็นผลมาจากระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นช่วยให้โปรโตคอร์มมีเมตาบอลิสมต่าง ๆ เกิดขึ้นได้อย่างปกติ แม้ว่าจะพบโปรโตคอร์มที่มีสีขาวอมเขียว และมีลักษณะทึบในสูตรอาหารที่น้ำมะพร้าวร่วมอยู่ด้วย และพบปะปนกับโปรโตคอร์มที่มีลักษณะฉ่ำน้ำและใส ในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 1 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 20 และในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลร้อยละ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าว โดยน่าจะเป็นผลมาจากระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นส่งผลให้โปรโตคอร์มแสดงอาการฉ่ำน้ำและใสลดลง และในน้ำมะพร้าวอาจมีปัจจัยบางชนิดที่ส่งผลให้โปรโตคอร์มมีการพัฒนาช้าลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และแต่ละโปรโตคอร์มมีระยะของการพัฒนาต่างกัน จึงส่งผลร่วมต่อกันให้บางโปรโตคอร์มมีการตอบสนองในลักษณะที่ต่างไปดังกล่าว

ความผิดปกติของต้นกล้าที่เกิดขึ้นในสูตรอาหารต่าง ๆ น่าจะเป็นผลมาจาก BAP ซึ่งมีอยู่ในสูตรอาหารพื้นฐาน และในน้ำมะพร้าว โดยพบว่าเมื่อระดับน้ำตาลสูงขึ้นถึงร้อยละ 3 จะพบต้นกล้าที่ผิดปกติน้อยลง แต่เมื่อมีน้ำมะพร้าวอยู่ด้วยจะพบมากขึ้น ลักษณะดังกล่าวน่าจะเป็นผลจากการที่โปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ดีขึ้นเมื่อระดับน้ำตาลสูงขึ้น การตอบสนองต่อ BAP ที่มีอยู่ในสูตรอาหารพื้นฐานจึงลดน้อยลง แต่การเติมน้ำมะพร้าวจะมีผลให้ระดับของ BAP ในอาหารเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้ต้นกล้าแสดงอาการผิดปกติเพิ่มขึ้นมากกว่าในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลร้อยละ 3 เพียงอย่างเดียว แต่ก็พบได้น้อยกว่าในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลน้อยลงที่มีน้ำมะพร้าวเท่ากัน เนื่องจากน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวช่วยให้มีน้ำตาลในอาหารสูงขึ้น ผลของการตอบสนองต่อ BAP ที่เพิ่มขึ้นจึงไม่มากเท่ากับที่พบในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลน้อยกว่า เช่นเดียวกับ Schenk และ Hildebrandt(1972) ซึ่งพบว่าระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นมีผลยับยั้งการทำงานของสารกลุ่มไซโตคินิน นอกจากนี้อาการผิดปกติต่าง ๆ น่าที่จะเป็นผลมาจาก BAP ด้วยเช่นกัน โดยในปี ค.ศ.1977 Hussey ได้รายงานผลของ BAP ที่มีต่อการเลี้ยงต้นแกลดิโอลัสในสภาพปลอดเชื้อว่า BAP ที่มีความเข้มข้นสูงก่อให้ใบมีลักษณะบิดเบี้ยว และมีการสูญเสียคลอโรฟิลล์

น้ำตาล เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีความจำเป็นมากต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มเป็นต้นกล้า โดยจะพบว่าโปรโตคอร์มที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีน้ำตาล และน้ำมะพร้าว และอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 10 เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้เลย แต่ในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 20 เพียงอย่างเดียว โปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้เล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากในน้ำมะพร้าวมีน้ำตาลกลูโคส และซูโครสอยู่จึงช่วยให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ แต่มีปริมาณน้อยจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของโปรโตคอร์มที่มีอยู่ทั้งหมด รวมทั้งโปรโตคอร์มยังใช้น้ำตาลที่มีอยู่ไปในการเจริญเติบโตช่วงแรก ๆ จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลมีไม่เพียงพอในระยะต่อมา แต่ก็พบว่าต้นกล้าที่พัฒนาขึ้นสามารถเจริญเติบโตได้เองในภายหลัง ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าต้นกล้าเหล่านี้สามารถสังเคราะห์สารคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนขึ้นได้เพียงพอที่จะมีการเจริญเติบโตได้ต่อไป เช่นเดียวกับที่พบใน Cattleya aurantiaca ซึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่าหลังจากที่โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าที่ปรากฏใบแรกแล้ว การเจริญเติบโตและการพัฒนาในระยะต่อมา สามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่จำเป็นต้องมีน้ำตาลซูโครสในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง (Arditti and Ernst, 1982) นอกจากนี้น้ำมะพร้าวยังมีส่วนช่วยให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ดีขึ้น โดยน้ำมะพร้าวช่วยเพิ่มระดับน้ำตาลในอาหาร และน้ำมะพร้าวยังมีสารช่วยการเจริญเติบโตต่างๆ อีกมากมาย การเติมทั้งน้ำตาล และน้ำมะพร้าวจึงช่วยส่งเสริมให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้ามากขึ้นกว่าการเติมน้ำตาล และน้ำมะพร้าวอย่างใดอย่างหนึ่ง อีกทั้งน้ำมะพร้าวช่วยให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้มีจำนวนโปรโตคอร์มที่จะพัฒนาเป็นต้นกล้าเพิ่มมากขึ้น แต่การเติมน้ำมะพร้าวมากถึงร้อยละ 20 ในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลร่วมอยู่ด้วยกลับส่งผลให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าด้อยลงกว่าการเติมน้ำมะพร้าวเพียงร้อยละ 10 ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากสารช่วยการเจริญเติบโตต่าง ๆ ซึ่งอาจมีมากเกินไป

นอกจากนี้ทั้งน้ำตาลและน้ำมะพร้าวยังส่งเสริมให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น โดยที่ในสูตรอาหารที่เติมทั้งน้ำตาลและน้ำมะพร้าว มีแนวโน้มว่า ต้นกล้าจะมีขนาดทรงพุ่มโตกว่าในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลเพียงอย่างเดียว เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับน้ำตาลเท่ากัน โดยที่จากการทดลองนี้พบว่าในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลร้อยละ 1 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 10 หรือ 20 และในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลร้อยละ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 10 ต้นกล้ามีทรงพุ่มเฉลี่ยโตกว่าในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลเพียงอย่างเดียว และมีแนวโน้มโตกว่าในสูตรอาหารที่มีระดับน้ำตาล และน้ำมะพร้าวมากกว่า ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากสารช่วยการเจริญเติบโตต่าง ๆ และ/หรือปริมาณของน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าว อาจมีในปริมาณที่มากเกินไป จึงส่งผลให้มีการเจริญเติบโตด้อยลง

น้ำตาลนอกจากช่วยให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดีขึ้นแล้ว ยังส่งผลให้ต้นกล้าออกรากได้ดีขึ้น โดยพบว่าในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 3 ต้นกล้าออกรากได้ดีกว่าในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลน้อยกว่า แต่เมื่อเติมร่วมกับน้ำมะพร้าวกลับมีแนวโน้มให้ต้นกล้าออกรากน้อยลง ซึ่งอาจจะเป็นผลของระดับน้ำตาลที่เพิ่มมากเกินไป เช่นเดียวกับที่พบในการขยายพันธุ์กระเจียวแดง (Curcuma roscoeana Wall.) ซึ่งพบว่าชิ้นส่วนต้นที่ผ่าแบ่งตามยาวจะเกิดต้น และรากช้าลงเมื่อระดับน้ำตาล และน้ำมะพร้าวเพิ่มขึ้น(จามจุรี 2533) น้ำตาลยังมีผลต่อการสร้าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อวัยวะของพืชโดยมีผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของ osmotic potential ของเนื้อเยื่อ โดยพบว่าในสภาพที่มีอัตราส่วนของอ๊อกซินต่อไซโตคินินเท่ากัน การเกิดอวัยวะของพืชจะขึ้นอยู่กับปริมาณและคุณภาพของคาร์โบไฮเดรตที่มีต่อขบวนการเมตาบอลิสมตามธรรมชาติ(Takayama and Misawa, 1979) แต่มีแนวโน้มต่างจากการเติมน้ำมะพร้าวในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 1 และ 2 ซึ่งพบว่าการเติมน้ำมะพร้าวมีแนวโน้มให้ต้นกล้าออกรากเพิ่มขึ้น ซึ่งน่าจะเป็นผลจากระดับน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นแต่ไม่มากจนเกินไป

นอกจากนี้การเจริญเติบโตของรากยังมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อระดับน้ำตาลสูงขึ้น และเมื่อเติมร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 10 จะยิ่งส่งผลให้รากเจริญเติบโตได้ดีขึ้น แต่การเติมน้ำมะพร้าวเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 20 จะมีแนวโน้มให้รากมีการเจริญเติบโตลดลง ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากสารช่วยการเจริญเติบโตต่าง ๆ ที่มีในน้ำมะพร้าวเช่น วิตามิน และกรดอะมิโนบางชนิดที่เพิ่มขึ้น อาจมีในปริมาณที่มากเกินไป

ลักษณะของต้นกล้าที่มียอดเกิดขึ้นหลายยอดจากโปรโตคอร์มเดียวอาจเป็นผลที่เกิดขึ้นจาก BAP ซึ่งมีอยู่ในอาหารที่ใช้เลี้ยง และในน้ำมะพร้าว ซึ่งช่วยกระตุ้นการเจริญของตาและส่งเสริมการพัฒนาของตาข้าง และก็อาจเกิดขึ้นได้จากผลตกค้างจากสารกระตุ้นการเจริญเติบโตที่มีอยู่ในสูตรอาหารเดิมที่ใช้ในการเพาะเมล็ด โดยจะสามารถพบโปรโตคอร์มที่มี 2 ยอดได้ตั้งแต่ในระยะที่โปรโตคอร์มอยู่ในอาหารเหลว (ภาพที่ 16 หน้า 127)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 16 ภาพตัดตามยาวของโปรโตคอร์มที่มีสองยอด (ตัดโดยใช้เครื่องฝานเนื้อเยื่อแช่แข็ง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สรุป

การศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการงอก และการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. เมล็ดสามารถงอกในอาหารเหลวได้เมื่อฝักมีอายุตั้งแต่ 14 ถึง 28 สัปดาห์ โดยที่เมล็ดจากฝักอายุ 18 สัปดาห์ขึ้นไป มีเปอร์เซนต์งอกสูงและให้โปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่ที่สุด

2. เมล็ดสามารถงอกในอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went (1949)ดัดแปลง ได้ดีกว่าอาหารเหลวที่มีธาตุอาหารหลักสูตร Murashige and Skoog(1962) และ Thomale GD(1954)

3. การเติม peptone 0.5 ถึง 2.0 ก/ล ช่วยให้เมล็ดมีเปอร์เซนต์งอกสูงกว่าในอาหารที่ไม่เติม และอาหารที่เติม peptone 3.0 ก/ล โดยอาหารเหลวที่เติม peptone 1.0 ก/ล ช่วยให้เมล็ดงอก และพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่ที่สุด

4. ความมืดไม่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ดในอาหารเหลว แต่ช่วยให้เมล็ดงอกและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่กว่าการเพาะเมล็ดในที่ ๆ มีแสงสว่าง

5. เมล็ดสามารถงอกได้ดีในอาหารเหลวที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งแต่ 5.5 ถึง 6.5 แต่ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.7 เมล็ดงอก และมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่ได้ดีกว่าที่ระดับความเป็นกรด-ด่างอื่น

6. โปรโตคอร์มมีชีวิตรอด และพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์บนอาหารวุ้นที่เติมถ่านร้อยละ 0.2 ร่วมกับกล้วยหอมบดร้อยละ 5.0 ได้ดีกว่าอาหารสูตรพื้นฐาน และสูตรอาหารที่เติมถ่าน หรือกล้วยหอมบดเพียงอย่างเดียว

7. การเติมน้ำมะพร้าวมีแนวโน้มให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดเพิ่มขึ้น และช่วยให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดีขึ้น แต่มีแนวโน้มให้เกิดความผิดปกติของโปรโตคอร์ม และต้นกล้ามากขึ้น การเติมน้ำตาลมีผลให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดลดลง แต่ช่วยให้ความผิดปกติต่าง ๆ ลดลง และโปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้ดีขึ้น และมีแนวโน้มว่าการเติมทั้งน้ำตาล และน้ำมะพร้าวช่วยส่งเสริมให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดีขึ้น และมีทรงพุ่มโตกว่าในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาล หรือน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียว โดยพบว่าอาหารวุ้นสูตรพื้นฐานที่เติมน้ำตาลร้อยละ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 10 ช่วยให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้ในระดับที่น่าพอใจ

อย่างไรก็ตาม น่าที่จะได้คำนึงถึงผลแตกต่างที่อาจเกิดขึ้น จากการใช้สารเคมีและสารช่วยการเจริญเติบโตต่าง ๆ เช่น peptone ถ่านผง กล้วยหอมบด และน้ำมะพร้าว ซึ่งอาจจะแตกต่างกันในแต่ละรุ่นของสารที่นำมาใช้ จึงอาจส่งผลให้เกิดความแตกต่างไปจากผลงานวิจัยนี้ไม่มากก็น้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved