หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันการขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นที่นิยมกันแพร่หลาย ทั้งนี้เพราะต้นใหม่ที่ได้มีลักษณะที่ดีเหมือนเดิมและทุกลักษณะจะเหมือนกันทุกประการ นอกจากนี้ยังได้ต้นเป็นจำนวนมากและเร็วกว่าการขยายพันธุ์แบบแยกหน่อจากต้นเดิม (ถาวร วัชราภัย, 2510) มีรายงานความสำเร็จของการเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้หลายสกุลโดยใช้ส่วนต่าง ๆ เช่น ตายอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ปลายยอดอ่อน และลำต้น

การศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยมากจะเน้นหนักไปเรื่องเกี่ยวกับระยะเวลา จำนวนต้นและคุณภาพของหน่อที่ได้ แต่การศึกษาลักษณะภายในของเนื้อเยื่อหรือแคลลัสว่าเป็นอย่างไร เปลี่ยนแปลงมาจากเนื้อเยื่อชั้นใด มีจุดกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อชั้นใดของอวัยวะและเปลี่ยนแปลงอย่างไรบ้างก่อนเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ยังมีผู้รายงานน้อยมาก มีผู้ศึกษาทางด้าน histogenesis และ organo genesis ของแคลลัสบ้าง แต่ก็เป็นของพืชชนิดอื่นเป็นส่วนมาก

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงเน้นหนักไปทางการศึกษาการเกิดของเนื้อเยื่อใหม่ของกล้วยไม้ เพื่อให้ความรู้ทางด้านกายวิภาคกว้างขวางขึ้น

<u>การสำรวจการวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องซึ่งได้กระทำมาแล้ว</u>

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้ได้เริ่มต้นตั้งแต่ ค.ศ. 1960 จากการค้นคว้าของ Morel พบว่าจุดเจริญเช่น apical meristem ของพืชโดยทั่วไปมักจะปราศจากไวรัส เขาจึงได้เลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดของกล้วยไม้สกุล <u>Cymbidium</u> เพื่อประสงค์จะแยกส่วนที่ปราศจากเชื้อไวรัสออกจากต้นเดิมซึ่งเป็นโรคออกมาและประสบผลสำเร็จ การเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้นี้ส่วนใหญ่จะเลี้ยงตาของพวกกิ่งกระจาย (sympodial) Vajrabhaya and Vajrabhaya (1970) เลี้ยงตาของพวกกิ่งโดด (monopodial) <u>Rhynchostylis gigantea</u> Ridley ได้สำเร็จ -

เป็นครั้งแรก ต่อมา Kunisaki, Kim and Sagawa(1972) ใช้ shoot-tip culture ขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุล Vanda พวกใบกลม และ Teo, Kunisaki and Sagawa (1973) ใช้ shoot-tip culture ขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลVanda พวกใบแบน

การเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของพืชเพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์มีวิธีการเกิดต้นได้สองแบบ แบบแรกจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่นำมาเลี้ยงในหลอดทดลองเกิด adventitious shoot และ adventitious root ได้เลยโดยไม่ผ่านการเกิดแคลลัส แบบที่สองได้แคลลัสจากส่วนต่าง ๆ ของพืชก่อนแล้วเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของอาหารที่เลี้ยงให้เหมาะสมก็จะเกิดหน่อและรากจากแคลลัสนี้ เรียกว่ามี organogenesis (Street,1973) เซลพืชที่เลี้ยงในหลอดทดลองมี totipotency จากหนึ่งเซลหรือกลุ่มของเซลสามารถมีการเปลี่ยนแปลงให้ต้นที่ปกติหรือเอมบริออยได้ (Vasil and Hildebrandt, 1966) มีผู้ศึกษาถึงจุดกำเนิดของต้นที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อว่าจะได้มาจากส่วนใดและบางจากเซลเพียงหนึ่งเซล หรือกลุ่มของเซล Straus (1954) เลี้ยงเอ็นโดสเปอร์มของข้าวโพดในหลอดทดลอง พบว่าเนื้อเยื่อใหม่ส่วนใหญ่มาจากชั้นนอกสุดและชั้นถัดลงไปอีกหนึ่งชั้น Torrey and Shigemura (1957) ศึกษาการเจริญและการควบคุมการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแคลลัสจากรากถั่ว พบแคลลัสเกิดจาก vascular cambium Chopra and Sabharwal (1963) เพาะเลี้ยง ovules ของ Impatiens balsamina L. พบว่าเกิดการสร้างแคลลัสจาก placenta และ funiculus Halperin (1966) อ้างถึง Abendroth ว่าเมื่อเลี้ยงก้านใบของแครอทป่าได้แคลลัสที่เกิดจาก parenchyma cell ของ vascular bundle Vasil and Hildebrandt (1965a) เลี้ยงลำต้นของยาสูบพันธุ์ผสม Nicotiana glutinosa L. X Nicotiana tabacum L. ได้แคลลัสที่เจริญมาจาก pith Kato and Takeuchi (1966) กล่าวถึงการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากราก ก้านใบและก้านช่อดอกของแครอทไม่เกิด embryogenesis โดยตรง แต่เกิดแคลลัสก่อนแล้วจึงเปลี่ยนไปเป็น

เอมบริโอ ส่วนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ hypocotyl ของ Daucus carota L. cultivar "MS-Sanzun" พบว่า epidermal cell เปลี่ยนเป็นเอมบริโอโดยตรง embryogenesis แบบนี้คล้ายแคลลัสของ Ranunculus sceleratus plantlet ซึ่งได้จากการเลี้ยงตาดอกที่ยังอ่อน Heinz and Mee (1969) พบว่าแคลลัสของพวกอ้อยเกิดจากเนื้อเยื่อ parenchyma ของใบ ปลายยอด และก้านช่อดอก Gupta(1972) รายงานว่าจากการศึกษา histogenesis ของเนื้อเยื่อhypocotyl ของ Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) สามารถเจริญให้แคลลัสโดยมีการพองฟูของกลุ่มเซลในเนื้อเยื่อชั้น pericycleแต่บางครั้งแคลลัสอาจเจริญมาจาก cortex อย่างเดียว

การศึกษาถึงเซลเริ่มต้นที่จะเกิดเนื้อเยื่อใหม่นั้นยังมีผู้รายงานน้อยมาก Vasil and Hildebrandt (1966) รวบรวมผลการเลี้ยงเนื้อเยื่อแครอทของ Steward, Mapes and Mears, 1958; Halperin, 1964; Halperin and Wetherell, 1964, 1965 และการเลี้ยง endive (Cichorium endivia L.) ของ Vasil, Hildebrandt and Riker, 1964; Vasil and Hildebrandt, 1966 ได้ให้ข้อเสนอแนะว่าเนื้อเยื่อใหม่ที่เปลี่ยนไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้มาจากการแบ่งเซลที่เริ่มต้นจากเซลเดียว Konar, Thomas and Street (1972) ศึกษาแคลลัส Ranunculus sceleratus L. และรายงานว่ากลุ่มเซลนี้มีจุดกำเนิดจาก epidermal cell ของลำต้นเพียงหนึ่งเซลที่มีไซโตปลาสมหนาแน่น เซลประเภทนี้มีนิวเคลียสใหญ่อยู่ตรงกลางล้อมรอบด้วยแวคคิวโอลเล็กๆ ภายในไซโตปลาสมมีไรโบโซมอิสระมาก เห็น amyloplast ชัดและมี spherosome มาก Liu (1975) คิดว่าเอมบริออยจากแคลลัสของพวกอ้อยมีจุดกำเนิดมาจากหนึ่งเซล

การศึกษาเนื้อเยื่อใหม่ในกล้วยไม้ว่ามีจุดกำเนิดมาจากที่ใดและเซลเริ่มต้นเป็นอย่างไรก็มีผู้ศึกษาน้อยเช่นกัน Morel (1971) ศึกษา organogenesis ของกล้วยไม้สกุล Cymbidium และ Cattleya พบว่าการเจริญของโปรโตคอร์มที่ได้มักจะเกิดในชั้น epidermis หรือ hypodermis ส่วนกลุ่มเซลของ parenchyma ค่อนข้างเฉื่อย

Intuwong and Sagawa (1973) เลี้ยงก้านช่อดอกของกล้วยไม้กลุ่ม Sarcanthine พบว่าพวกที่ยังอ่อนแสดงกลุ่มของ meristematic activity ในชั้น hypodermis ของ rachis ส่วน parenchyma cell ของ cortex และ pith ไม่แสดง meristematic activity เลย จากการศึกษาการเจริญของส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ ในหลอดทดลองของ ถาวร วัชราภัย (สอบถามส่วนตัว) พบว่าเนื้อเยื่อที่เกิดจากใบ Dendrobium เจริญมาจากเซลชั้น mesophyll เนื้อเยื่อใหม่ที่เกิดจาก stem-tip ของ Aranda และช่อดอกของ Dendrobium เริ่มต้นจาก epidermis

ในการเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจไม่มีการสร้างแคลลัสเกิดขึ้นเอง Churchill, Arditti and Ball (1971) ได้เลี้ยงปลายใบของ Laeliocattleya พบว่าเฉพาะปลายใบเท่านั้นที่สร้างแคลลัส Kunisaki, Kim and Sagawa (1972) เลี้ยงตาข้างของ Vanda x Miss Joaquim บนวุ้นอาหาร ถ้าไม่ตัดใบออกก่อนย้ายลงไปเลี้ยงในอาหารเหลวไม่สร้างแคลลัส Teo, Kunisaki and Sagawa (1973) เลี้ยงตาแวนด้าใบแบนก็ได้ผลเช่นกัน Vajrabhaya and Vajrabhaya (1974) พบว่าใบของ Dendrobium ที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อเมื่อเลี้ยงเฉพาะปลายใบไม่มีการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ หากเลี้ยงใบเพียงครึ่งใบสร้างเนื้อเยื่อใหม่ถึง 55.6% ถ้าเลี้ยงทั้งใบหรือเฉพาะครึ่งโคนก็มีเนื้อเยื่อใหม่เกิดขึ้นได้บ้าง

นอกจากนี้ Kunisaki, Kim and Sagawa (1972) พบว่าการใส่น้ำตาลซูโครสในอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสของแวนด้าใบกลม ทำให้แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตาย หากในอาหารเหลวมีน้ำมะพร้าว 10%-15% แคลลัสเจริญดีมาก Teo, Kunisaki and Sagawa (1973) ทดลองกับแวนด้าใบแบนก็ได้ผลเช่นเดียวกัน การใส่น้ำตาลและน้ำมะพร้าวพร้อมกันแล้วทำให้เนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลนั้น Puhan and Martin (1970) กล่าวว่าอาจเกิดจากสารพิษจากปฏิกริยาระหว่างน้ำตาล น้ำมะพร้าว และสารอื่นขณะที่นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง (อุณหภูมิ 120° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว)

วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย

การวิจัยเรื่องนี้เพื่อศึกษาเนื้อเยื่อใหม่ที่เกิดจากตา Vanda x Miss Joaquim เมื่อเลี้ยงบนวุ้นอาหารและในอาหารเหลวว่ามีลักษณะอย่างไร เปลี่ยนแปลงมาจากเนื้อเยื่อชั้นใด และมีจุดกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อชั้นใดของอวัยวะ

ประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย

การศึกษาวิจัยเรื่องนี้เป็นการเพิ่มพูนความรู้ทางวิชาการในด้านกายวิภาค ให้กว้างขวางขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อการศึกษาด้านสรีรวิทยาและด้านพันธุศาสตร์