ว. วิชาการ กษ. 2 : 31–37 (2527)

ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ กับการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา และ เรณู ชูวิสิฐกุล[1]

บทคัดย่อ

การเลี้ยงเนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้ 10 สกุล ในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงของ Vacin and Went โดยเติมน้ำมะพร้าว 20% พบว่า ค่า pH ในอาหารที่ใช้เลี้ยงจะมีการเปลี่ยนแปลงที่สูงขึ้นหรือต่ำลงขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้และระยะเวลาที่ใช้เลี้ยง และการเจริญเป็น protocorm-like bodies (plbs) ของเนื้อเยื่อมีความสัมพันธ์กับค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไป

การเลี้ยงเนื้อเยื่อตาของ *Vanda* T.M.A. ในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงของ Vacin and Went โดยเติมน้ำมะพร้าว 20% และ citric acid 1.5 กรัม/ลิตร พบว่า เนื้อเยื่อตาจะเจริญเป็น plbs ได้ดีในอาหารที่มีระดับค่า pH ค่อนข้างต่ำ คือ 4.4 (ค่า pH หลังจากที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) และการเติม citric acid ลงไปในอาหารเพื่อทำให้ค่า pH คงที่จะมีผลทำให้เนื้อเยื่อตาเจริญเป็น plbs ได้น้อยลง

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีสีสวยและมีอายุปักแจกันนาน ทำให้กล้วยไม้เป็นไม้ดอกประดับที่คนส่วนมากนิยมนำมาใช้เป็นไม้ดอกประดับภายในอาคารบ้านเรือน ดังนั้น จึงควรมีการขยายพันธุ์กล้วยไม้เพื่อให้พอกับความต้องการของตลาด การขยายพันธุ์กล้วยไม้ในสมัยก่อนมี 3 วิธี คือ การแยกตะเกียง การแยกหน่อ ซึ่งใช้เวลานานกว่าจะได้ปริมาณมาก และการเพาะเมล็ด ซึ่งจะทำให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมไม่สม่ำเสมอ (Edward, 1948) ปัจจุบันวิวัฒนาการด้านการขยายพันธุ์พืชเจริญขึ้นมาก สามารถนำเอาวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ โดยนำส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้ เช่น ตา มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถขยายพันธุ์พืชได้รวดเร็ว ได้ปริมาณมากภายในระยะเวลาอันสั้น และต้นที่ได้จะให้ดอกลักษณะเหมือนต้นเดิมทุกประการ (Hartmann and Kester, 1975)

กล้วยไม้หลายชนิดสามารถขยายพันธุ์ได้โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Morel, 1960; Sagawa and Shoji, 1967) อย่างไรก็ดี การเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ได้ผลสำเร็จนั้นขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของเนื้อเยื่อ (Hussey, 1975) ชนิดและปริมาณของสารเคมีที่ใช้ (ปรานอม พฤฒพงษ์ และคณะ, 2518) ระดับความเป็นกรดและด่างของอาหารที่ใช้เลี้ยง (Piriyakanjanakul and Vajrabhaya, 1980) ปัจจุบันยังมีกล้วยไม้อีกหลายชนิดที่ยังไม่ประสบความสำเร็จในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งอาจเป็นเพราะปัจจัยดังกล่าวไม่เหมาะสม จึงได้ทำการศึกษาปัจจัยบางอย่างที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร อันจะปรับปรุงให้เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ประสบความสำเร็จมากขึ้น สภาพความเป็นกรดและด่างของอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ถ้าค่า pH ของอาหารสูงหรือต่ำเกินไปจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อตายได้ ค่า pH ของอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ประมาณ 5.0–5.5 (Arditti, 1967) แต่เนื่องจากการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันจะทำให้ค่า pH ลดลงประมาณ 0.4 (Arditti, 1967) การเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้จึงควรเตรียมอาหารที่ค่า pH ที่พอเหมาะ ซึ่งกล้วยไม้แต่ละชนิดอาจต้องการอาหารที่มีค่า pH เริ่มต้นต่างกันได้ (Ernat, 1967; Knudson, 1951; Piriyakanjanakul and Vajrabhaya, 1980) นอกจากสาเหตุดังกล่าวแล้ว ระหว่างที่เลี้ยงเนื้อเยื่อค่า pH ของอาหารอาจเปลี่ยนแปลงได้ (Piriyakanjankul and Vajrabhaya, 1980) สาเหตุที่ทำให้ pH เปลี่ยนแปลงระหว่างที่เลี้ยงเนื้อเยื่ออาจเนื่องจาก (ก) ความสามารถในการดูดไอออน (ions) แต่ละตัวของเนื้อเยื่อต่างกัน (ข) การรวมตัวของคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศกับอาหารที่ใช้เลี้ยง

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองได้แบ่งออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

[1]ผู้ช่วยศาสตราจารย์ และนักวิจัย ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

การทดลองที่ 1 นำเนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้ 10 ชนิด ได้แก่ *Den.* Darcie Mikami 'Tokyo', *Den.* Kasem Pink # 1, *Den.* Kasem pink # 2, *Den.* Darcie Mikami x *Den.* Toshigo, *Den.* Mary Mak # 1, *Den.* Mary Mak # 2, *Den.* Kasem Gold, *Den.* Sherifar Fartima, *Arachnis* Maggie Oci x *Ascocenda* Royal Flush, and *Aranda* Norah Alsagoff 'Yin' มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Vacin and Went (1949) โดยเติมน้ำมะพร้าว 20% และปรับความเป็นกรด–ด่างของอาหาร (pH) เท่ากับ 5.6 ก่อนนึ่งฆ่าเชื้อตามวิธีการโดยทั่วไป (Morel, 1960; Knudson, 1951)

การทดลองที่ 2 นำเนื้อเยื่อตายอดและตาข้างของ *Vanda* T.M.A. มาเลี้ยงในอาหารสูตร Vacine and Went โดยเติมน้ำมะพร้าว 20% ตามวิธีการโดยทั่วไป อาหารที่ต้องการควบคุม pH จะปรับโดยใช้ citric acid (เป็น buffer) ส่วนที่ไม่ควบคุมจะปรับ pH โดยใช้ HNO_3 หรือ KOH

pH ของอาหารปรับก่อนนึ่งฆ่าเชื้อดังนี้

1. pH 4.8 (control, ปรับโดย HNO_3 หรือ KOH)
2. pH 5.6 (control, ปรับโดย HNO_3 หรือ KOH)
3. pH 4.8 (ปรับโดย citric acid)
4. pH 5.6 (ปรับโดย citric acid)

เนื้อเยื่อส่วนหนึ่งจะถูกนำมาเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมตลอด อีกส่วนหนึ่งจะย้ายจากอาหารสูตรเดิมไปสูตรใหม่เมื่อเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์

ผลการทดลอง

เนื่องจากการทดลองปรับปรุงวิธีการเรื่องเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในครั้งนี้ ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ผลการทดลองในแต่ละการทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 : ความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรดด่างกับการเจริญของตากล้วยไม้

อาหารเหลวสูตรดัดแปลงของ pH โดยเติมน้ำมะพร้าว 20% ปรับค่า pH ให้ได้ 5.6 เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อแล้วค่า pH จะลดลงเหลือ 5.2 ดังนั้น ค่า pH เริ่มต้นจึงเป็น 5.2

ก. การเจริญเติบโต การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้ทั้ง 10 ชนิดจะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ

สัปดาห์ที่ 2 เนื้อเยื่อตาจะมีสีเขียวสด แต่เนื้อเยื่อยังไม่มีการเจริญเปลี่ยนแปลงใด ๆ

สัปดาห์ที่ 4 เนื้อเยื่อตาจะขยายใหญ่ขึ้น กาบที่หุ้มตาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในบางชั้นของเนื้อเยื่อ ต้องลอกกาบนี้ออกทิ้งไป ถ้าไม่ลอกกาบนี้ออก เนื้อเยื่อตาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและตาย

สัปดาห์ที่ 6 เนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้ทุกชนิดมีการเจริญขยายใหญ่ขึ้นมาก แต่เนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้พวก Dendrobium ในช่วงนี้จะเจริญกลายเป็นต้นอ่อนที่ไม่มีราก

สัปดาห์ที่ 8 จะมีกลุ่มเนื้อเยื่อสีเขียวอ่อนเกิดขึ้นที่บริเวณฐานของตาหรือฐานตรงโคนต้นอ่อน กลุ่มเนื้อเยื่อเกิดขึ้นใหม่นี้เป็นกลุ่มเนื้อพวก parenchyme ซึ่งเรียกว่า protocormlike bodies (plbs) เนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้ทั้ง 10 ชนิดจะเจริญเป็น plbs ได้ดี เช่น *D.* Mary Mak # 2 และ *Aranda* Norah Alsagoff 'Yin' เกิดเป็น plbs ได้ถึง 100% แต่ *D.* Sherifar Fartima, *D.* Mary Mak # 1 และ *D.* Kasem Pink # 1 จะเกิดเป็น plbs ได้ 60–80% และ *D.* Kasem Gold ที่เกิดเป็น plbs ได้เพียง 40% (ตารางที่ 1) เนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้ทั้ง 10 ชนิดจะมีการเจริญที่คล้ายคลึงกัน แต่ความสามารถที่จะเจริญเป็น plbs ขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้

ข. ค่า pH ในอาหารที่เลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว ค่า pH จะมีการเปลี่ยนแปลงได้ดังนี้

สัปดาห์ที่ 2 ค่า pH ในอาหารที่เลี้ยงกล้วยไม้จะเปลี่ยนแปลงไม่เหมือนกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ ในอาหารที่เลี้ยงกล้วยไม้บางชนิดค่า pH สูงขึ้น 0.1 ถึง 0.3 คือ จาก 5.2 เป็น 5.3 ถึง 5.5 เช่น *Aranda* Norah Alsagoff 'Yin', *D.* Mary Mak # 1. กล้วยไม้บางชนิดค่า pH จะลดลง 0.1 และ 0.4 คือ จาก 5.2 เป็น 5.1 และ 4.8 ตามลำดับ เช่น *D.* Kasem Gold และ *D.* Mary Mak # 2 มีกล้วยไม้เพียงชนิดเดียวที่ค่า pH ไม่เปลี่ยนแปลง คือ *D.* Kasem Pink # 2 (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 4 ช่วงนี้ส่วนใหญ่ค่า pH ของอาหารจะมีการเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 2 อาหารที่มีการเปลี่ยนแปลงต่างไป คือ อาหารที่ใช้เลี้ยง *D.* Kasem Pink # 1 ที่ค่า pH จะลดลงจาก 5.2 เป็น 5.1 ส่วน *D.* Kasem Gold ค่า pH จะไม่เปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 6 ค่า pH จะเปลี่ยนแปลงเหมือนในสัปดาห์ที่ 4 เช่น *Mokara* Nohra Alsagoff 'Yin', *D.* Kasem Pink # 1 แต่มีอาหารที่ใช้เลี้ยงกล้วยไม้บางชนิดที่ค่าจะสูงขึ้นจาก 5.2 เป็น 5.3 ถึง 5.55 เช่น *D.* Kasem Gold, *D.* Sherifar Fartima (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 8 เนื้อเยื่อตามีการเจริญเป็น plbs ซึ่งในช่วงนี้ค่า pH จะสูงขึ้นมาก ส่วนใหญ่ค่า pH จะสูงขึ้นจาก 5.2 เป็น

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตาของกล้วยไม้ 10 ชนิดในการทดลองที่ 1 (ตัวเลขเป็นค่าเฉลี่ยของ 5 ซ้ำ)

ชนิดของกล้วยไม้		ระยะเวลาในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (สัปดาห์)				%การเกิด plbs	ค่าสัมประสิทธิ์สหพันธ์ (r)
		2	4	6	8		
1. *Arachnis* Maggie Oei × *Ascocenda*	pH[1]	5.1	5.1	5.2	5.8	80	0.86
Royal Saphire	growth[2]	4.0	3.8	3.6	4.2		
2. *Aranda* Norah	pH	5.3	5.3	5.3	5.6	100	0.80
Alsagoff 'Yin'	growth	4.0	4.0	4.0	5.0		
3. *Dendrobium* Kasem Pink #2	pH	5.2	5.2	5.3	5.65	100	0.86
	growth	4.0	3.8	3.4	5.0		
4. *D.* Sherifar Fartima	pH	5.3	5.3	5.5	5.8	60	0.60
	growth	3.4	3.2	3.0	3.4		
5. *D.* Darcie Mikami 'Tokyo'	pH	5.5	5.5	5.55	5.8	60	0.72
	growth	3.8	3.4	3.2	3.4		
6. *D.* Mary Mak #1	pH	5.4	5.4	5.45	5.85	60	0.70
	growth	3.6	3.4	3.0	3.4		
7. *D.* Kasem Gold	pH	5.1	5.2	5.4	5.5	40	0.62
	growth	3.6	3.0	2.6	2.6		
8. *D.* Kasem Pink #1	pH	4.8	5.1	5.1	5.5	60	0.63
	growth	4.0	3.2	3.0	3.4		
9. *D.* Mary Mak #2	pH	4.8	4.8	4.8	5.3	100	0.90
	growth	4.0	3.6	3.6	5.0		
10. *D.* Darcie Mikami × *D.* Toshiko	pH	5.5	5.5	5.5	5.8	100	0.80
	growth	4.0	3.4	3.8	5.0		

[1]pH = ค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.2

[2]Growth = การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตา โดยการให้คะแนนดังนี้ (ดังภาพ)

คะแนน 1 เนื้อเยื่อตาย

คะแนน 2 เนื้อเยื่อเริ่มกลายเป็นสีเหลือง

คะแนน 3 กาบหุ้มตากลายเป็นสีน้ำตาล ส่วนตายังคงเขียวสดต้องลอกกาบใบที่มีสีน้ำตาลออกทิ้งไป

คะแนน 4 เนื้อเยื่อมีการเจริญโดยขยายใหญ่ขึ้น และมีสีเขียวสด

คะแนน 5 เนื้อเยื่อมีการเจริญจนเกิดเป็น plbs ขึ้น

5.5 ถึง 5.85 เช่น *D.* Kasem Pink # 1 *D.* Mary Mak # 1 เท่านั้นมีค่า pH จะสูงขึ้นเพียง 0.1 คือ จาก 5.2 เป็น 5.3 (ตารางที่ 1)

ค. ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตกับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างคู่ของการเจริญเติบโตกับค่า pH พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จะมีค่าระหว่าง 0.6 ถึง 0.9 โดยที่ *D.* Mary Mak # 2 จะมีค่า r เท่ากับ 0.9 ซึ่งจะเป็นค่าที่สูงที่สุด *Arachnis* Maggie Oei x *Ascocenda* Royal Saphire และ *D.* Kasem Pink # 2 จะมีค่าเท่ากับ 0.86 *Aranda* Norah Alsagoff 'Yin' และ *D.* Darcie Mikami x *D.* Toshiko จะมีค่า r เท่ากับ 0.8, *D.* Darcie Mikami 'Tokyo' และ *D.* Mary Mak # 1 จะมีค่าเท่ากับ 0.7, *D.* Sherifar Fartima, *D.* Kasem Gold และ *D.* Kasem Pink # 1 จะมีค่าเท่ากับ r เท่ากับ 0.6 (ตารางที่ 1) และพบว่ากล้วยไม้ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิด plbs เพียง 40 ถึง 60% จะทำให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าน้อยกว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกล้วยไม้ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การเกิด plbs 80 ถึง 100% คือ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.6 ถึง 0.7

การทดลองที่ 2 : ผลของการเป็นกรดเป็นด่างต่อการเจริญของตากล้วยไม้

อาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ค่า pH จะลดลง 0.4 คือ ค่า pH จะเปลี่ยนจาก 4.8 เป็น 4.4 และ 5.6 เป็น 5.2 แต่อาหารที่เติม citric acid ค่า pH จะไม่เปลี่ยน

เนื้อเยื่อตาที่เลี้ยงในอาหารค่า pH 4.8 จะมีการเจริญเป็น plbs ได้ถึง 100% ภายในเวลา 6 สัปดาห์ ส่วนค่า pH จะลดลงจาก 4.4 เป็น 4.25 ในสัปดาห์ที่ 2 ช่วงสัปดาห์ที่ 4 ค่า pH จะสูงขึ้นมากจาก 4.4 เป็น 5.1 สัปดาห์ที่ 6 ค่า pH จะสูงขึ้นจาก 4.4 เป็น 5.3 ค่า pH จะสูงขึ้นมากในช่วงก่อนจะเกิด pH จนถึงเกิดเป็น plbs แล้ว (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตาของ *Vanda* T.M.A. (ตัวเลขเป็นค่าเฉลี่ยของ 5 ซ้ำ)

Treatment		ระยะเวลาในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (สัปดาห์) 2	4	6	% การเกิด plbs
1. pH 4.4 (control)	pH	4.25	5.1	5.3	100
	growth[1]	3.8	4.0	5.0	
2. pH 5.2 (control)	pH	5.0	5.2	5.5	20
	growth	3.8	2.4	1.8	
3. Cia, pH 4.8	pH	4.8	4.8	4.8	60
	growth	3.6	3.2	3.4	
4. Cia, pH 5.6	pH	5.6	5.6	5.6	0
	growth	3.6	2.0	1.0	
5. pH 5.2 $\xrightarrow{4W}$ Ciâ, pH 4.8	pH	5.1	5.3	4.8	20
	growth	3.2	2.4	1.8	
6. pH 5.2 $\xrightarrow{4W}$ Ciâ, pH 5.6	pH	5.1	5.4	5.6	20
	growth	3.2	2.4	1.8	
7. Cia, pH 4.8 $\xrightarrow{4W}$ pH 5.2	pH	4.8	4.8	5.3	0
	growth	3.6	2.0	1.0	
8. Cia, pH 5.6 $\xrightarrow{4W}$ pH 5.2	pH	5.6	5.6	5.6	0
	growth	3.2	2.2	1.0	
9. Cia, pH 4.8 $\xrightarrow{4W}$ Ciâ, pH 5.6	pH	4.8	4.8	5.6	0
	growth	3.0	2.0	1.0	
10. Cia, pH 5.6 $\xrightarrow{4W}$ Ciâ, pH 4.8	pH	5.6	5.6	4.8	0
	growth	3.2	2.4	1.0	

[1]Growth = การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตา โดยการให้คะแนนดังนี้ (ดังภาพ)

คะแนน 1 เนื้อเยื่อตาย

คะแนน 2 เนื้อเยื่อเริ่มกลายเป็นสีเหลือง

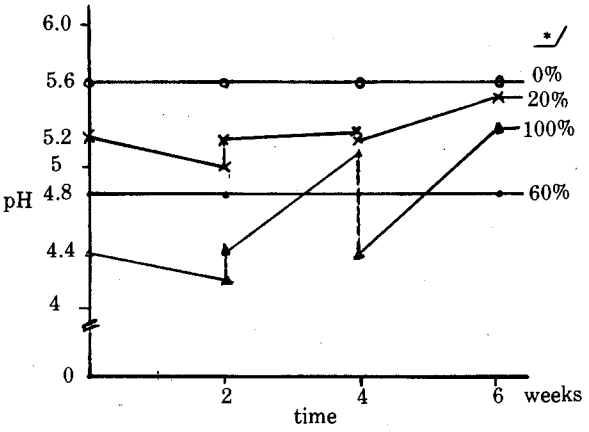
คะแนน 3 กาบหุ้มตากลายเป็นสีน้ำตาล ส่วนตายังเขียวสดต้องลอกกาบใบที่มีสีน้ำตาลออกทิ้งไป

คะแนน 4 เนื้อเยื่อมีการเจริญโดยขยายใหญ่ขึ้น และมีสีเขียวสด

คะแนน 5 เนื้อเยื่อมีการเจริญจนเกิดเป็น plbs ขึ้น

Ciâ = citric acid 1.5 กรัม/ ลิตร

4W = เลี้ยงไว้ 4 สัปดาห์แล้วเปลี่ยนเป็นอาหารสูตรใหม่



ภาพแสดงการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ในอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อตาของ *Vanda* T.M.V. ที่มีระดับ pH เริ่มต้นดังนี้ 4.4, 4.8 (บัฟเฟอร์), 5.2, 5.6 (บัฟเฟอร์)

*เปอร์เซ็นต์การเกิด plbs

เนื้อเยื่อตาที่เลี้ยงในอาหารที่เติม citric acid 1.5 กรัม/ ลิตร และปรับค่า pH 4.8 จะมีการเจริญเป็น plbs ได้ 60% (ตารางที่ 2 และภาพ) ส่วนค่า pH ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เนื้อเยื่อตาที่เลี้ยงอาหารค่า pH 5.6 หรือที่เลี้ยงในอาหารค่า pH 5.6 นาน 4 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนเป็นอาหารที่เติม citric acid ทั้งค่า pH 4.8 หรือ 5.6 จะมีการเจริญเป็น plbs ได้เพียง 20% ส่วนค่า pH จะมีการเปลี่ยนแปลงโดยลดลงในสัปดาห์ที่ 2 จาก 5.2 เป็น 5.0 และหลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 6 ค่า pH จะสูงขึ้นจาก 5.2 เป็น 5.5 แต่ค่า pH ในอาหารที่เติม citric acid จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 2)

เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่เติม citric acid ค่า pH 4.8 หรือ 5.6 และที่เลี้ยงในอาหารดังกล่าวนาน 4 สัปดาห์แล้วเปลี่ยนอาหารเป็นค่า pH 5.6 หรือที่เติม citric acid ค่า pH 4.8 และ 5.6 เนื้อเยื่อตาจะตายหมด (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

อาหารที่นำมาใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ค่า pH ลดลง 0.4 ดังนั้น การเตรียมอาหารจึงต้องปรับค่า pH ให้

สูงกว่าค่า pH ที่ต้องการ 0.4 (Arditti, 1967) ในการทดลองอาหารที่มีค่า pH 5.6 เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อแล้วค่าเหลือ 5.2 ซึ่งจะเป็นค่า pH ที่เหมาะสมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ทั่วไป ปกติจะอยู่ในช่วง 5.0 ถึง 5.5 (Arditti, 1967; Sagawa and Shoje, 1967)

ตลอดการเลี้ยงเนื้อเยื่อในการทดลองที่ 1 พบว่า pH ของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งบางครั้งค่า pH อาจสูงขึ้นหรือต่ำลง ซึ่งขึ้นกับชนิดของกล้วยไม้ และระยะเวลาซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ Piriyakanjanakul and Vajrabhaya (1980) สาเหตุที่ทำให้ pH เปลี่ยนแปลงระหว่างที่เลี้ยงเนื้อเยื่ออาจเนื่องมาจาก (ก) ความสามารถในการดูดไอออนแต่ละตัวของเนื้อเยื่อต่างกัน (ข) การรวมตัวของคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศกับอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ (ค) การปลดปล่อย H^+ ของเนื้อเยื่อลงสู่ในอาหาร (ง) ความสามารถแสดงคุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์ (buffer) ของอาหาร (Hiatt, 1967; Street, 1973) จากผลของการเจริญเติบโต และค่า pH ที่ได้น่าจะมีความสัมพันธ์กันระหว่างการเจริญเติบโตกับค่า pH และจากการหาค่าสัมประสิทธิ์พบว่าจะมีค่าระหว่าง 0.6–0.9 จากค่าที่หาได้นี้อธิบายได้ว่าการเจริญเติบโตกับค่า pH มีความสัมพันธ์กันอย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ดี ยังไม่ทราบแน่ชัดว่า การเจริญเป็น plbs มีผลทำให้ค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงหรือว่าการเปลี่ยนแปลงค่า pH ทำให้เนื้อเยื่อตาเจริญเป็น plbs ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ Piriyakanjanakul and Vajrabhaya (1980) ซึ่งทดลองเลี้ยงไม้อ่อนของกล้วยไม้หลายสกุล ซึ่งพบว่าค่า pH ของวุ้นอาหารจะมีค่าเปลี่ยนแปลงไปในขณะที่ต้นอ่อนจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น แต่ยังไม่ทราบสาเหตุแน่ชัด

ในระหว่างการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม citric acid ในการทดลองที่ 2 พบว่าค่า pH ไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องจาก citric acid จะทำปฏิกิริยากับโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ได้เป็นเกลือของกรดอ่อน (โปแตสเซียมซีเตรด) ทำให้อาหารที่เลี้ยงมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ ซึ่งจะต่อต้านการเปลี่ยนแปลงค่า pH

เนื้อเยื่อตาที่เลี้ยงในอาหารที่มีค่า pH 4.4 จะมีการเจริญเป็น plbs ได้ดีที่สุด (100%) แต่เนื้อเยื่อตาที่เลี้ยงในอาหารที่มีค่า pH 5.2 จะมีการเจริญเป็น plbs ได้เพียง 20 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ในทำนองเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเป็น plbs ในอาหารที่มีค่า pH 4.8 (บัฟเฟอร์) กับที่มีค่า pH 5.6 (บัฟเฟอร์) พบว่าในอาหารที่มีค่า pH 4.8 (บัฟเฟอร์) ไม่มีการเจริญเป็น plbs ได้ 60% ในขณะที่ในอาหารที่มี 5.6 (บัฟเฟอร์) ไม่มีการเจริญเป็น plbs จะเห็นได้ว่าเนื้อเยื่อตาของ *Vanda* T.M.A. จะเจริญเป็น plbs ได้ดีในอาหารที่มีค่า pH ที่ค่อนข้างต่ำ คือ 4.4 (เนื่องจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว pH ลดลง 0.4) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Kunisaki et al., (1972) ที่เลี้ยงเนื้อเยื่อตาของ *Vanda* Miss Joaquim และพบว่าเนื้อเยื่อตาจะเจริญเป็น plbs ได้ดีในอาหารที่มีค่า pH 4.8–5.0 การที่เนื้อเยื่อตาที่เลี้ยงในอาหารค่า pH ต่ำ คือ 4.4 จะเจริญเป็น plbs ได้ดีกว่าที่ค่า pH สูง อาจเนื่องจากว่าเมื่อค่า pH ที่ต่ำกว่า แต่ค่าความเข้มข้นของ H^+ จะมากกว่า เมื่อสารละลายมี H^+ มาก H^+ อาจเข้าไปในเซลล์พืช ทำให้เซลล์พืชมีการยืดตัวอย่างถาวร (plasticity) ตามผลการทดลองของ Evans (1974) พบว่า การทำให้ค่า pH ของเซลล์ในพืชต่ำ จะทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว

เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม citric acid จะมีการเจริญเป็น plbs ได้ดีกว่าในอาหารที่เติม citric acid ทั้งค่า pH 4.8 และ 5.6 อาจเนื่องจากว่าเนื้อเยื่อตาที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม citric acid จะถูกเลี้ยงในอาหารที่มีสภาพค่า pH ไม่คงที่ หรืออาจเนื่องจาก pH แรกเริ่มที่ไม่เหมาะสม เพราะอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วค่า pH จะลดลง 0.4 (Arditti, 1967) ถ้าเติม citric acid ค่า pH จะไม่เปลี่ยน ทำให้ค่า pH แรกเริ่มในการทดลองไม่เท่ากัน กล่าวคือ อาหารค่า pH 4.8 ค่า pH จะลดลงเป็น 4.4 แต่อาหารที่เติม citric acid ค่า pH เริ่มแรกยังเป็นค่า pH 4.8 จึงทำให้ค่า pH แรกเริ่มในการทดลองไม่เท่ากัน อย่างไรก็ดี ยังไม่สามารถทราบแน่ชัดว่าการที่ค่า pH ไม่คงที่ดีกว่าค่า pH คงที่นั้นเป็นเพราะสาเหตุใด

เอกสารอ้างอิง

ปรานอม พฤติพงษ์, มนทกานติ วัชรภัย, และ ถาวร วัชรภัย. 2518. องค์ประกอบของวุ้นอาหารสำหรับเนื้อเยื่อกล้วยไม้. รายงานการประชุมวิชาการเกษตรและชีววิทยาแห่งชาติ ครั้งที่ 14 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หน้า 269–283.

Arditti, J. 1967. Factors affecting the geruination of orchid seeds. Bot. Rev. 33 : 1–97.

Edward, A.W. 1948. America Orchid Culture. New York : A.T. Delamare Company. Inc. p 39–208.

Ernat, R. 1967. Effect of carbohydrate selection on the growth rate of freshly germinated phalaenopsis and Dendrobium seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 36 : 1068–1073.

Evans, M.L. 1974. Development : Rapid responses in plant hormones. Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 195–223.

Hartmann, H.T. and D.E. Kester. 1975. Plant Propagation Principles and Practices. Ed. III. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliff, New Jersey. pp. 702.

Hiatt, A. J. 1967. Relationship of cell-sap pH to organic acid change during ion uptake. Plant Physiol. 42 : 294–298.

Hussey, G. 1975. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceal. J. Exp. Bot, 26 : 253–262.

Knudson, L. 1951. Nutrient solution for orchids. Bot. Gaz. 122 : 528 – 532.

Kunisaki, J.T., K.K. Kim and Y. Sazawa. 1972. Shoot-tip culture of *Vanda*. Amer. Orchid Soc. Bull. 41 : 435 – 439.

Morel, G. 1960. Producing virus-free Cymbidium. Amer. Orchid Soc. Bull. 29 : 495 – 497.

Piriyakanjanakul, J. and T. Vajarabhaya. 1980. Nutrition of orchid plantlets : Effect of Initial pH. Proc. 9th World Orchid Conf. Bangkok. p. 67 – 74.

Sagawa, Y. and T. Shoje. 1967. Claonal propagation of *Dendrobiums* through shoot meristem culture. Amer. Orchid. Soc. Bull. 36 : 856 – 859.

Street, H.E. 1973. Plant Tissue Culture and Cell Culture. University of California Press. Los Angeles.

Vacin, E.F. and F.W. Went. 1949. Som pH changes in nutrieut solution. Bot. Caz. 110 : 605 – 613.

Relationship of the Growth of Orchid Tissue to Changes in pH of the Growth Medium

By

Paiboolya Gavinlertvatana and Renu Shuvisitkul

Department of Horticulture, Kasetsart University Bangkhen, Bangkok 10900.

ABSTRACT

Meristems and lateral buds of 10 orchid species were aseptically cultured in modified liquid Vacin and Went (VW) media supplemented with 20% coconut water (CW). Changes in the pH of the medium during incubation depended on the species of orchid and incubation time.

The formation of protocormlike bodies was also highly correlated with pH changes.

Meristems and lateral buds of *Vanda* T.M.A. were aseptically cultured in modified liquid VW media supplemented with 20% CW. To stabilise the medium pH at 4.8 or 5.6 (buffer) citric acid was added at a rate of 1.5 g/l. On hundred percent formation of protocormlike bodies occurred when tissue was cultured in a medium of low pH without buffering; a lower level of formation resulted in a medium containing citric acid as a buffer.