บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ผักเหลียงนับว่าเป็นราชินีผักพื้นบ้านทางภาคใต้ของประเทศไทย ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น พุ่มเตี้ย มีวิวัฒนาการมานับร้อยล้านปี อยู่ในวงศ์ Gnetaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gnetum gnemon* Linn. มีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=22 (Kubitzki, 1990) พบในประเทศไทย มาเลเซีย และเกาะบอร์เนียว ในสภาพป่าที่มีพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลประมาณ 50-200 เมตร สำหรับในประเทศไทยพบเฉพาะเขตจังหวัดระนอง พังงา ชุมพร และสุราษฎร์ธานี มีชื่อพื้นเมืองหลายชื่อ เช่น ต้นผักเหลียง (ระนอง) ผักเหมียง (พังงา) เชรียง และกระเหรี่ยง (ชุมพรและสุราษฎร์ธานี) เจริญเติบโตได้ดีในสภาพร่มเงาไม้ใหญ่ ชอบดินร่วนมีความชื้น ระบายน้ำได้ดี มีความสูงประมาณ 3 เมตร มีระบบรากที่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้ง่าย มีช่อดอกแบบสไปค์ (spike) 3-6 เซนติเมตร มีเมล็ดเปลือย (naked seed) เป็นช่อรูปไข่ ยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ออกดอกในเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ติดผลในเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม (ศรัณย์, 2545; สุธาชีพ, 2527) ประชาชนส่วนใหญ่นิยมนำส่วนของใบอ่อน ซึ่งมีรสชาติหวานมัน มารับประทานเป็นผักจิ้มน้ำพริกและประกอบอาหารได้หลายชนิด เช่น ต้มกะทิ แกงเลียง ห่อหมก ผัด คั่ว เป็นต้น ใบเป็นยาสมุนไพรช่วยลอกฝ้าและแก้กระหายน้ำได้ (กัญจนา และคณะ, 2542) ใบอ่อนมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่าผักทั่วไปในท้องตลาด (กูล, 2539) กล่าวคือ ใบอ่อนหนัก 100 กรัม ประกอบด้วยน้ำ 75.13 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน 91.4 แคลลอรี่ โปรตีน 6.56 กรัม ไขมัน 1.17 กรัม คาร์โบไฮเดรต 14.91 กรัม แคลเซียม 150 มิลลิกรัม เหล็ก 2.15 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 224.37 มิลลิกรัม ไธอะมีน 0.18 มิลลิกรัม ไรโบฟลาวิน 1.25 มิลลิกรัม ไนอะซีน 1.73 มิลลิกรัม (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2540) นอกจากนี้สามารถปลูกเป็นไม้ประดับได้ เนื่องจากมีใบเขียวเป็นมัน สวยงาม และไม่ผลัดใบ (ศรัณย์, 2545)

ในปัจจุบันเกษตรกรหลายพื้นที่ได้ปลูกเพื่อการค้าโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรในจังหวัดพังงาและชุมพร ส่วนจังหวัดอื่นๆ เริ่มปลูกกันบ้าง เพราะผักเหลียงให้ผลผลิตสูง ประชาชนนิยมบริโภค สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตลอดทั้งปี การดูแลรักษาง่าย ไม่มีโรคและแมลงรบกวน จึงเป็นผักที่ปลอดสารเคมี และสามารถปลูกแซมในสวนไม้ผลและไม้ยืนต้นอื่นๆ ในระบบเกษตรผสมผสานได้ เนื่องจากเจริญเติบโตได้ดีในสภาพร่มเงา ใบอ่อนของผักเหลียง มีราคาขายส่งกิโลกรัมละ

60 บาท ขายปลีกกิโลกรัมละ 80-90 บาท หรือขายเป็นมัด (ประมาณ 25-30 มัดต่อ 1 กิโลกรัม) มัดละ 2-3 บาท ดังนั้นในพื้นที่ 2.5 ไร่ ใช้ระยะปลูก 2x2 เมตร ปลูกได้ 1,000 ต้น เก็บวันละ 30 ต้น ได้อย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปี ผลผลิตต่อวันประมาณ 100-200 บาท หรือไม่น้อยกว่า 40,000 บาทต่อปี (คำนวณ, 2543)

การขยายพันธุ์ผักเหลียงสามารถทำได้ 4 วิธีคือ การปักชำ การปลูกด้วยเมล็ด การตอนกิ่ง และการใช้ต้นที่เกิดจากราก (sucker) การปักชำมักทำให้ต้นกล้าที่ได้เจริญเติบโตช้าและมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำ การปลูกด้วยเมล็ดให้ผลช้า เนื่องจากเมล็ดมีระยะเวลาการพักตัวยาวนานและเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ การตอนกิ่งใช้เวลาการเกิดรากประมาณ 2-3 เดือน จึงสามารถตัดลงปลูกในถุงดินได้ ส่วนการใช้ต้นที่เกิดจากรากนั้นเหมาะสำหรับต้นพันธุ์ที่มีอายุ 4-5 ปี อย่างไรก็ตามมีอัตราการรอดชีวิตเพียง 50-80 เปอร์เซ็นต์ (สุธาชีพ, 2527) วิธีการขยายพันธุ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดคือใช้ระยะเวลายาวนาน ปริมาณจำนวนต้นที่ได้ค่อนข้างต่ำ ประกอบกับต้นผักเหลียงในธรรมชาติเริ่มลดน้อยลงเนื่องจากการตัดไม้ทำลายป่า ส่งผลต่อผลผลิตที่ออกสู่ท้องตลาด ทำให้มีปริมาณไม่เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีหนึ่งที่คาดว่าจะมีประสิทธิภาพสูงใน การขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว จนถึงปัจจุบันรายงานการขยายพันธุ์ผักเหลียงด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในประเทศไทยมีเพียงรายงานเดียวของ Apavatjrut และ Phornsawatchai (1999) ในรายงานดังกล่าวเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ ลำต้น และใบผักเหลียง แต่ยังคงได้ปริมาณตายอดต่อชิ้นส่วนพืชน้อย ดังนั้นในการศึกษาวิจัยนี้จะได้ทดลองชิ้นส่วนพืชการสร้างแผลกับชิ้นส่วนพืช สารควบคุมการเจริญเติบโตและสูตรอาหารเพื่อเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์ผักเหลียงได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

การตรวจเอกสาร

ในปัจจุบันมีรายงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผักเหลียงเพียงจำนวนน้อย เนื่องจากเป็นพืชผักพื้นบ้าน ยังไม่เป็นที่รู้จักกันมากนัก Apavatjut และ Phornsawachai (1999) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อลำต้น และใบอ่อนผักเหลียง บนอาหารสูตรดัดแปลงซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและรองของสูตร Schenk และ Hildebrandt (SH) ส่วนสารอินทรีย์ใช้ของสูตร Murashige และ Skoog (MS) เติม indole-3-butyric acid (IBA) 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ benzylaminopurine (BAP) 1.53 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชักนำตายอดได้โดยตรงจากชิ้นส่วนพืชสูงสุดเพียง 3-4 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ยืนต้นทั่วไป มีขั้นตอนที่สำคัญคือการชักนำแคลลัส การชักนำยอดและการชักนำรากเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์พร้อมที่จะอนุบาลลงดินปลูกได้ต่อไป

การชักนำแคลลัส

แคลลัส เป็นกลุ่มเซลล์หรือเนื้อเยื่อพาเรงไคมา ที่ยังไม่เปลี่ยนแปลงไปเป็นรากหรือยอด โดยอาจจะเกาะกันอยู่อย่างหลวมๆ เป็นแคลลัสแบบร่วน (friable callus) หรืออยู่กันอย่างหนาแน่น เกาะตัวเป็นก้อน เป็นคอมแพกต์แคลลัส (compact callus) (มานี, 2542) การชักนำแคลลัสแบบร่วนนิยมใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินที่สำคัญคือ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) นอกจากนี้อาจใช้ IBA, α-naphthaleneacetic acid (NAA), indole-3-acetic acid (IAA) เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ 6-benzyladenine (BA) และ kinetin (KN) ความเข้มข้นเท่ากันหรือกลุ่มออกซินสูงกว่าเล็กน้อย เช่น ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนส้มโอพันธุ์ทองดี (อัจฉริยา และ สุรวิช, 2538) ใบอ่อนและกิ่งอ่อนยูคาลิปตัสซิลเวอร์คอลล่าร์ (ธนวัฒน์, 2543) ใบอ่อนของ sandalwood (Santalum album L.) (บัณฑิต, 2543) ไซโกติกเอ็มบริโอของ loblolly pine (Tang *et al.*, 2001) เป็นต้น ส่วนการชักนำคอมแพกต์แคลลัส ได้จากการเติมสารกลุ่มไซโทไคนินความเข้มข้นสูงกว่ากลุ่มออกซินเช่น ในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอทุเรียน (จารุวรรณ และคณะ, 2544ก) เอ็มบริโอส้มเขียวหวานและส้มโชกุน (จารุวรรณ และคณะ, 2544ข) ใบอ่อนมังคุดและพะวา (สมปอง, 2540) เป็นต้น

การชักนำแคลลัสเพื่อการขยายพันธุ์ไม่นิยมทำการทดลอง เนื่องจากต้องใช้ระยะเวลานานขั้นตอนมากยิ่งขึ้น เกิดสารสีน้ำตาลได้ง่าย และที่สำคัญมีโอกาสกลายพันธุ์สูง จึงนิยมเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชแล้วชักนำกลุ่มตายอดโดยตรง อย่างไรก็ตามการชักนำแคลลัสสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชได้

การชักนำยอด

การชักนำยอดไม้ยืนต้นในหลอดทดลองนิยมใช้ชิ้นส่วนปลายยอด ข้อ ลำต้น หรือก้านใบอ่อนมากกว่าแผ่นใบ เนื่องจากตายอดพัฒนาตรงบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ หรือท่อลำเลียงได้ดี (Perez-Tornero *et al.*, 2000) และระยะเวลาการพัฒนาไปเป็นตายอดได้อย่างรวดเร็ว (Herve *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตามบางครั้งชิ้นส่วนใบให้จำนวนตายอดสูงสุด (Salvi *et al.*, 2001) ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้คือ BA หรือ thidiazuron (TDZ) ซึ่ง TDZ มีประสิทธิภาพดีกว่า BA เนื่องจากมีกิจกรรมของสารไซโทไคนินสูง (Cuenca *et al.*, 2000) ตัวอย่างการใช้ TDZ เพื่อชักนำยอด เช่น ในการเพาะเลี้ยงลำต้น beech (*Fagus sylratica* L.) (Cuenca *et al.*, 2000) ก้านดอก *Cyclamen persicum* Mill. (Karam and Al-Majathoub, 2000) ใบของ apricot (Perez-Tornero *et al.*, 2000) อย่างไรก็ตามการเติม TDZ ชักนำตายอดได้น้อยในไม้ยืนต้นบางชนิด เช่น ส้มแขก (ราตรี และ สมปอง, 2539) และทับทิม (*Punica granatum* L.) (Naik *et al.*, 1999) จึงยังคงนิยมเติม BA เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับสารกลุ่มออกซินในพืชหลายชนิดเช่น ในการเพาะเลี้ยงยอด pistachio (Onay, 2000) ข้อ curry leaf tree (Babu *et al.*, 2000) และ ข้อของ *Syzygium travancoricum* Gamble (Anand *et al.*, 1999) ตาข้างยูคาลิปตัสพันธุ์ซิลเวอร์ดอลล่าร์ (ธนวัฒน์, 2543) ใบอ่อนสีแดงมังคุด (Goh *et al.*, 1994) ใบมะตูม (ศิริรัตน์ และ อนุพันธ์, 2541) ใบ ปล้อง และข้อของยูคาลิปตัส (Herve *et al.*, 2001) แกนเอ็มบริโอของ *Frarinus angustifolia* (Tonon *et al.*, 2001) เป็นต้น เมื่อชักนำตายอดได้จำนวนมาก การย้ายเลี้ยงในสูตรอาหารเดิมทำให้ยอดไม่ยืดยาว จึงมักย้ายเลี้ยงลงบนสูตรอาหารที่ลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลง (ราตรี และ สมปอง, 2539; Goh *et al.*, 1994; Naik *et al.*, 1999) หรือเติม Gibberellic acid (GA_3) ช่วยในการยืดยาวของยอด (ปิญจรัตน์ และคณะ, 2544; อัจฉริยา และ สุรวิช, 2538; Palacios *et al.*, 2002) หลังจากสามารถชักนำยอดได้ตามความต้องการแล้วจึงเข้าสู่ขั้นตอนการชักนำราก เพื่อพัฒนาเกิดเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ต่อไป

การชักนำราก

การชักนำรากจากยอดในไม้ยืนต้นหรือไม้ผลนั้นทำได้ค่อนข้างยาก มีความจำเป็นต้องปรับสภาพที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการสร้างแคลลัส แคลลัสที่เกิดขึ้นเป็นสิ่งขัดขวางการส่งผ่านน้ำและธาตุอาหารจากรากไปยังลำต้น ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตหลังย้ายปลูกลดลงหรือไม่มีเลย การชักนำรากสามารถทำได้ 2 วิธีคือ การชักนำรากนอกหลอดทดลอง และในหลอดทดลอง การชักนำรากนอกหลอดทดลองส่วนใหญ่ใช้ยอดในหลอดทดลองจุ่มแช่ในสารละลาย NAA หรือ IBA ความเข้มข้นสูง แล้วย้ายลงปลูกในดินปลูก เช่น การชักนำรากจากยอดปาล์มที่ชักนำจาก

การเพาะเลี้ยงใบในหลอดทดลองโดยจุ่มแช่ในสารละลาย NAA 4500 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15 นาที (Te-chato, 1998a) Te-chato และคณะ (1994) รายงานการชักนำรากจากยอดมังคุดที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงใบอ่อนนอกหลอดทดลองโดยการจุ่มแช่เซราดิกเบอร์ต่างๆ ก่อน พบว่าเซราดิกเบอร์ 2 ให้การสร้างรากได้ดีที่สุดทั้งเปอร์เซ็นต์ จำนวนและความยาวยอด อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ให้อัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าการชักนำรากในหลอดทดลอง ส่วนการชักนำรากในหลอดทดลองนั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ คือ สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน และสารเติมในอาหาร สูตรอาหารที่ใช้ชักนำรากคือ MS และ WPM (ธนวัฒน์, 2543; บัณฑิต, 2543; สมปอง, 2540) นอกจากนี้การลดปริมาณธาตุอาหารบางอย่าง เช่น ธาตุอาหารหลัก (แคลเซียม และแมกนีเซียม) ลงเป็นสามในสี่ของสูตรปกติ หรือธาตุอาหารรองลงหนึ่งในสองของสูตรปกติ ช่วยป้องกันการเกิดแคลลัส และส่งเสริมพัฒนาการของรากได้ดี (Mokotedi *et al.*, 2000) ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินที่ใช้คือ IBA และ IAA ซึ่ง IBA มีประสิทธิภาพชักนำรากดีกว่า IAA ความเข้มข้นของ IBA ที่ใช้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดพืช เช่น ในมะตูมเติม 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุพินญา และคณะ, 2540) ยูคาลิปตัสซิลเวอร์ดอลลาร์เติม 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ธนวัฒน์, 2543) *Lonicera tatarica* เติม 2 ไมโครโมลาร์ (Palacios *et al.*, 2002) สะเดาเทียมเติม 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Salvi *et al.*, 2001) ยูคาลิปตัสลูกผสม (*Eucalyptus grandis* × *E. nitens*) เติม 0.5 ไมโครโมลาร์ (Mokotedi *et al.*, 2000) หรือใช้วิธีการจุ่มสารละลาย IBA แล้วนำไปปักเลี้ยงในอาหารชักนำรากไม่เติม IBA (พจมาลย์ และ สมปอง, 2541; พรชัย และคณะ, 2537)

สำหรับสารเติมในอาหารที่ใช้เช่น polyvinylpyrrolidone (PVP) หรือ malt extract (ME) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อยับยั้งการสร้างสารประกอบฟีนอล ส่งเสริมการสร้างรากได้ดี (จารุวรรณ และคณะ, 2544ก; จารุวรรณ และคณะ, 2544ข; สมปอง, 2540; อัจฉริยา และ สุรวิช, 2538) โดยเฉพาะผงถ่าน 0.05-0.1 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการสร้างรากเพิ่มขึ้นได้ดี (Sharma and Thorpe, 1990 อ้างโดย สมปอง และ ราตรี, 2540) นอกจากปัจจัยด้านสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตแล้ว สภาพแวดล้อมหรือความเข้มแสงมีผลต่อการชักนำรากด้วย การชักนำรากในช่วงแรกหลังจากจุ่มแช่ในสารละลาย IBA แล้ว ปักชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารที่เติม IBA ควรเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อน เพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสงปกติ (Te-chato and Lim, 1999) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสาร IBA หรือเพาะเลี้ยงในสภาพความเข้มแสงและอุณหภูมิต่ำก่อน เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงย้ายไปเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสงและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ส่งเสริมให้รากเกิดได้ดีและไม่เกิดแคลลัส เนื่องจากการเพิ่มความเข้มแสงและอุณหภูมิ ช่วยส่งเสริมการเคลื่อนย้ายสารออกซินจากยอดไปสู่รากได้ดี (Mokotedi *et al.*, 2000)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ผักเหลียงจากชิ้นส่วนต่างๆ

2. เพื่อขยายพันธุ์ผักเหลียงเป็นการค้า และอนุรักษ์ผักพื้นบ้านในสภาพนิเวศน์ทางภาคใต้ของประเทศไทย

3. นำความรู้ที่ได้เป็นข้อมูลพื้นฐาน สำหรับพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์กับพืชอื่นๆ ที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ และสิ่งแวดล้อมต่อไป