ผลของเทคนิคการนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องพร้าว

Effects of Medium Sterilize Technique on Tissue Culture of *Phaius tankivilleae*

จักรกริช อนันตศรัณย์ [1*] รียะ ปังเตะ[2] อัศรา อิหม๊ำหมาด[2]

Jackrit Anantasaran[1*] Reya Pangtae[2] Alsara Imommad[2]

[1*]อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

[2]นักศึกษาปริญญาตรี โปรแกรมเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 9C000

[1*]A Lecturer, Faculty of Agriculture Technology, Songkhla Rajabhat University, Mueang, Songkhla 90000

[2]A Student, Faculty of Agriculture Technology, Songkhla Rajabhat University, Mueang, Songkhla 90000

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน : หมายเลขโทรศัพท์ 0-7433-6964 และ E-mail : ajackrit@hotmail.com

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ในอาหารสังเคราะห์เป็นการขยายพันธุ์กล้วยไม้ที่เมล็ดไม่มีอาหารสะสมให้เจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์ในอาหารสังเคราะห์ โดยทั่วไปการทำให้อาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์จะต้องใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (autoclave) คุณภาพดี แต่มีราคาสูง จึงได้ทดลองใช้อุปกรณ์อื่นที่มีราคาถูกทดแทน ได้แก่ การใช้หม้อนึ่งไอน้ำที่พบในครัวเรือนทั่วไป โดยเปรียบเทียบการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร ½MS ให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำกับหม้อนึ่งไอน้ำที่ระยะเวลาตั้งแต่ 20 นาที ถึง 3 ชั่วโมง พบว่าการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ ระยะเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง อาหารจะปลอดเชื้อจุลินทรีย์ได้เหมือนกับการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำเป็นเวลา 20 นาที จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 สัปดาห์ เมื่อนำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำและหม้อนึ่งไอน้ำนาน 1 ชั่วโมง และ 1 ชั่วโมง 30 นาที มาเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องพร้าว พบว่าอัตราการติดเชื้อจุลินทรีย์ไม่มีความแตกต่างกัน เอื้องพร้าวที่เลี้ยงในอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำนาน 1 ชั่วโมง มีการเจริญเติบโตดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากคุณค่าอาหารที่เสื่อมไปด้วยความร้อนน้อยกว่า ดังนั้นการนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำสามารถใช้ทดแทนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำได้ ซึ่งสามารถนำวิธีการนี้เผยแพร่ให้ประชาชนทั่วไปนำไปขยายพันธุ์กล้วยไม้ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างง่ายได้

คำสำคัญ : การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เอื้องพร้าว สารอาหารจากธรรมชาติ หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ เทคนิคปลอดเชื้อจุลินทรีย์

Abstract

In vitro orchid seed cuture for propagation purpose is culture non endosperm seeds on synthetic sterilized medium. The sterility uses a high quility but expersive scientific equipment, an autoclave steamer. We alternatively used cooking utensil, kitchen steamer to sterilize culture media (½ MS) for 20 minutes - 3 hours. The effecitively of media sterility by both sterility equipments was investigated. Media sterilized by a kitchen steamer for at least 1 hour was as good as those sterilized by autoclave steamer. The contaminant rates were not different and sterilized media could store at room temperature for 2 weeks.

At least, *Phaius tankivilleae* cultured on 1 hour steamer for sterilized ½ MS media was growed healthy statistically significant at 95% confidence level. Because the less sterilize temperature, the more nutrient less depreciation. Therefore, sterilize with steamer sterilization can replace autoclave. And orchid tissue culture possible simplify by this technique.

Keywords : *In vitro* orchid, *Phaius tankivilleae*, natural nutrient, autoclave, sterilize technique

บทนำ

เอื้องพร้าว (*Phaius tankivilleae*) เป็นกล้วยไม้ดินที่มีลักษณะเด่นตรงใบมีลักษณะปลายแหลมเรียว พบได้ตามป่าดิบเขา ป่าดิบแห้ง บริเวณที่มีแสงแดดรำไร เป็นที่นิยมปลูกของผู้ที่ชื่นชอบกล้วยไม้ดิน เป็นที่ต้องการของตลาดกล้วยไม้ ดังเช่น ประกาศขายเอื้องพร้าวไม่ต่ำกว่า 1,600 หน้าเว็บไซต์ (google 2010b) และรูปดอกเอื้องพร้าวที่แสดงตามเว็บไซต์ไม่ต่ำกว่า 18,000 หน้า (google 2010a) จึงเป็นกล้วยไม้ชนิดหนึ่งที่ประชาชนทั่วไปสนใจในการขยายพันธุ์ ซึ่งวิธีที่ดีที่สุดในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ คือ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะทำให้ได้ต้นจำนวนมากและรวดเร็ว แต่ข้อจำกัดทางความรู้ทางเทคนิคและเครื่องมือที่มีราคาแพง จึงไม่แพร่หลายในกลุ่มเกษตรกรและประชาชนทั่วไป (Kodym & Zapata-Arias, 2001, p.67) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนพืชในอาหารสังเคราะห์ที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นการทำให้อาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์เป็นหลักสำคัญ จึงต้องอาศัยเครื่องมือที่จำเพาะและราคาสูง ได้แก่ หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (autoclave) ซึ่งมีราคาขั้นต่ำตั้งแต่ 13,000 บาท (Plantmedia, 2010) และเกิดอันตรายได้ถ้าใช้เครื่องมือผิดวิธี ดังนั้นจึงได้วิจัยใช้อุปกรณ์ที่สามารถหาได้ตามครัวเรือนมาใช้ทดแทนเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่มีข้อจำกัดสูง

การเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะต้องอาศัยอาหารสังเคราะห์ที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์นำมาเลี้ยงกล้วยไม้ วิธีการทำให้อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ปลอดเชื้อทำได้หลายวิธีตามหลักการฆ่าเชื้อทางสาขาจุลชีววิทยา เช่น การใช้ความร้อนแห้งอุณหภูมิสูง การใช้คลื่นไมโครเวฟ การใช้ไอน้ำร้อนอุณหภูมิสูงร่วมกับแรงดันอากาศ และการใช้ความร้อนจากไอน้ำ (Theil, 1999) ส่วนเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนิยมเตรียมอาหารด้วยวิธีใช้ไอน้ำร้อนอุณหภูมิสูงร่วมกับแรงดันอากาศ

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วยสารเคมีที่มีธาตุอาหารต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตทั้งธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง วิตามิน และเกลือแร่ต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถเติมส่วนผสมอื่นที่ได้จากธรรมชาติ เช่น มันฝรั่ง น้ำมะพร้าว และกล้วยบด เป็นต้น ซึ่งส่วนผสมที่ได้จากธรรมชาติเหล่านี้มีคุณค่าของสารที่เป็นองค์ประกอบที่ไม่สามารถเตรียมได้เองหรือมีความยุ่งยาก เช่น น้ำมะพร้าวประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 60 ชนิด ทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ กรดอะมิโน (มากถึง 20 ชนิด) เป็นต้น (Thorpe et al., 2008, p.117) กล้วยประกอบด้วยสารต่างๆ มากกว่า 70 ชนิด (The World's Healthiest Foods, 2010, URL) ดังนั้นน้ำมะพร้าวและกล้วยบดจึงเป็นสารอาหารตามธรรมชาติที่หาง่ายและลดการใช้สารอาหารสังเคราะห์ได้ และเป็นที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้พันธุ์ต่างๆ เช่น *Anoectochilus formosanus* Hayata (Shiau, 2002, pp.123-130) *Dendrobium Herba* (Shu et al., 2004, pp.528-535) และ Oncidium (Chen & Chen, 1998, pp.403-412) เป็นต้น ส่วนข้อเสีย คือ สารอาหารหลายชนิดไม่ทนความร้อนสูง และการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แบบใช้ไอน้ำสูงสามารถลดการเสื่อมสภาพของสารอาหารแต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ความปลอดเชื้อเพียงพอในการเตรียมอุปกรณ์หลายชนิด แต่ไม่สามารถกำจัดสปอร์ของเชื้อได้ จึงสามารถใช้ได้ดีกับอุปกรณ์ที่ใช้ทันทีหลังจากทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ (Theil, 1999) จึงเป็นที่มาของงานวิจัยเปรียบเทียบประสิทธิภาพเครื่องมือที่ทำหน้าที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารทดแทนการใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ และผลที่มีต่อการเจริญเติบโตของเอื้องพร้าว ในสูตรอาหารที่มีการเติมสารอาหารตามธรรมชาติ เช่น กล้วยบดและน้ำมะพร้าว เป็นต้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้หม้อนึ่งไอน้ำเทียบกับหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำต่อการปลอดเชื้อจุลินทรีย์ของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของเทคนิคการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารด้วยอุปกรณ์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้พันธุ์เอื้องพร้าว
3. เพื่อประยุกต์การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องพร้าวให้ง่ายเพื่อเกษตรกรนำไปใช้ในท้องถิ่นได้

วิธีการวิจัย

1. กระตุ้นให้เกิดต้นอ่อนจากเมล็ด

นำฝักแก่ของเอื้องพร้าวที่ยังปิดสนิทมาฟอกฆ่าปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการจุ่มเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วเผาไฟในตู้ปลอดเชื้อ แล้วนำเมล็ดกล้วยไม้พันธุ์เอื้องพร้าวออกจากฝักเลี้ยงในอาหารที่กระตุ้นให้เกิดการพัฒนากลายเป็นต้นอ่อนขนาดเล็ก (Protocorm) ด้วยอาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 3 เดือน

2. ศึกษาวิธีการทำให้อาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการต่างๆ

เตรียมอาหารแข็งสูตร ½MS ให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (รูปที่ 1 A) อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที ซึ่งเป็นวิธีการมาตรฐานเป็นชุดควบคุม และเตรียมอาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์สูตรเดียวกันด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ (รูปที่ 1 B) อุณหภูมิ 100°C เป็น

ระยะเวลาแตกต่างกัน คือ 1 ชั่วโมง, 1 ชั่วโมง 30 นาที, 2 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง 30 นาที และ 3 ชั่วโมง ชุดละ 20 ขวด แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 สัปดาห์ จำนวน 3 ชุดการทดลอง บันทึกเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยขวดจำนวนอาหารที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ทุกสัปดาห์

รูปที่ 1 แสดงเครื่องมือทำให้อาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์
A. หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ B. หม้อนึ่งไอน้ำ

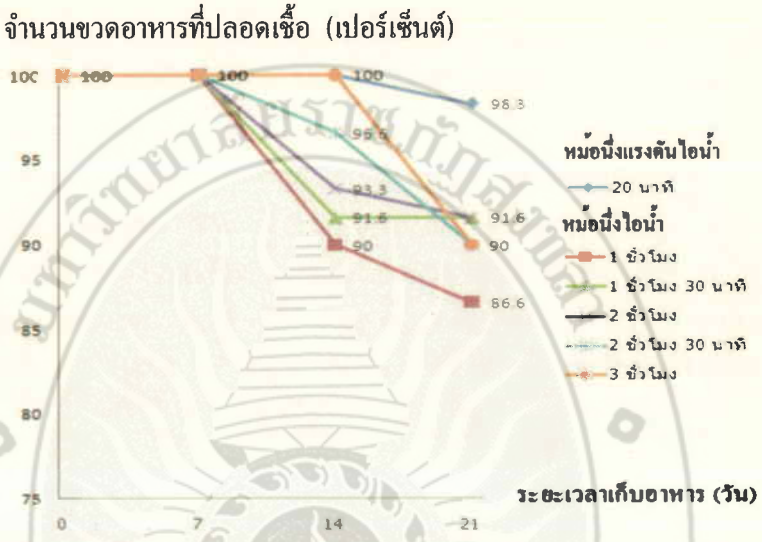
3. ศึกษาอัตราการปลอดเชื้อจุลินทรีย์และการเจริญเติบโตของเอื้องพร้าวที่เลี้ยง

นำต้นอ่อนของเอื้องพร้าวย้ายเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกล้วยบด 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 20 นาที และหม้อนึ่งไอน้ำ ระยะเวลา 1 ชั่วโมง และ 1 ชั่วโมง 30 นาที ชุดละ 20 ขวด แล้วนำไปเลี้ยงในห้องที่มีแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ 12 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 ℃ นาน 2 สัปดาห์ จำนวน 3 ชุดการทดลอง บันทึกเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นเอื้องพร้าวที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และบันทึกความสูงของต้น จำนวนใบ และจำนวนราก ทุกเดือน เป็นเวลา 2 เดือน แล้วย้ายต้นที่สมบูรณ์ลงกระถาง สังเกตลักษณะทั่วไปของต้นที่ได้

ผลการวิจัยและวิจารณ์

เมื่อเตรียมอาหารแข็งสูตร ½MS ลงในขวดแก้วแล้วทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ และหม้อนึ่งไอน้ำเป็นระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่าระยะเวลา 7 วันแรก ผลการทดลองทุกชุดไม่แตกต่างกัน คือ อาหารปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ทุกขวด แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานกว่า 7 วัน เริ่มเกิดการติดเชื้อจุลินทรีย์ของอาหารที่เตรียมด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ มีค่าการติดเชื้อจุลินทรีย์ประมาณ 3.4-10 เปอร์เซ็นต์ และ 8.4-13.4 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ตามลำดับ แต่ไม่ปรากฏในชุดที่เตรียมด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำใน 2 สัปดาห์ และพบเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 3 การติดเชื้อจุลินทรีย์จะมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเก็บอาหาร (รูปที่ 2) เนื่องจากความร้อนจากไอน้ำอุณหภูมิ 100℃ ไม่สามารถกำจัดสปอร์ของจุลินทรีย์ได้ เมื่อเก็บไว้นานจึงไม่เหมาะสมทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตขึ้นมาใหม่ได้

(Theil, 1999) ในกรณีของหม้อนึ่งไอน้ำ ระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อจุลินทรีย์ของอาหาร จากข้อมูลจึงกล่าวได้ว่า การเตรียมอาหารและย้ายเลี้ยงพืชภายใน 7 วัน ก็สามารถใช้เครื่องมือทั้งสองชนิดได้ และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ควรนานเกินไปได้ เพื่อลดการเสื่อมคุณภาพของอาหาร จึงเลือกระยะเวลาเพียง 1 ชั่วโมง และ 1 ชั่วโมง 30 นาที ในการทดลองย้ายเลี้ยงเอื้องพร้าว



รูปที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อจุลินทรีย์ของอาหารที่เก็บไว้เป็นเวลา 3 สัปดาห์

เมื่อย้ายเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องพร้าวลงในอาหารแข็งสูตร ½MS ร่วมกับน้ำมะพร้าวและกล้วยบดด้วยวิธีการต่างๆ ดังตารางที่ 1 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าการติดเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากการย้ายเลี้ยงลงในอาหารทั้งสามชุดไม่มีความแตกต่างกัน การติดเชื้อจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ต่ำ (น้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์) แสดงว่า อาหารที่เตรียมเสร็จใหม่ๆ (น้อยกว่า 7 วัน) ทั้งสามแบบสามารถใช้เลี้ยงเอื้องพร้าวได้

ตารางที่ 1 ผลของเทคนิคและระยะเวลาในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อจุลินทรีย์ของอาหารหลังย้ายเลี้ยงเอื้องพร้าวระยะเวลา 2 สัปดาห์

เครื่องมือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์/ ระยะเวลา	การปลอดเชื้อจุลินทรีย์ของเอื้องพร้าว (เปอร์เซ็นต์)
หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (Autoclave)	
20 นาที	93.3
หม้อนึ่งไอน้ำ	
1 ชั่วโมง	90.0
1 ชั่วโมง 30 นาที	88.6

การทำเตรียมอาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121°C ส่งผลให้อาหารที่มีกล้วยบด เกิดสีน้ำตาลเข้มมากกว่าอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ อุณหภูมิ 100°C (รูปที่ 3) เนื่องจากกล้วยได้รับความร้อนทั้งแบบมีไอน้ำและแห้งจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เพราะเกิดปฏิกิริยา Maillard หรือปฏิกิริยา Caramelization อย่างใดอย่างหนึ่งหรืออาจเกิดขึ้นพร้อมกันร่วมกัน ปฏิกิริยา Caramelization เป็นการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในผัก ผลไม้ จะพบในกรณีน้ำตาลได้รับอุณหภูมิที่สูงมากๆ เกินจุดหลอมเหลว และจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลในอาหาร (นฤดี พงศ์กิจวิทูร และคนอื่นๆ, 2544, น.77) แสดงว่าอาหารที่เตรียมด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ จะเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยา Caramelization ร่วมกับปฏิกิริยา Maillard แต่อาหารที่เตรียมด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ จะเกิดเพียงปฏิกิริยา Maillard เพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดียวและคู่ร่วมกับกรดอะมิโน ตั้งแต่อุณหภูมิ 60-100°C (พรพิมล ม่วงไทย และคนอื่นๆ, 2547, น.1-3) ทำให้คุณค่าทางอาหารสูญเสียไปบางส่วน (อมรรัตน์ จงสวัสดิ์วรกูล และคณะ, 2545, น.3) จากข้อมูลจะเห็นว่า อาหารที่เตรียมด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ จะมีการสูญเสียคุณค่าทางอาหารมากกว่าชุดที่เตรียมด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ ทำให้เอื้องพร้าวที่เลี้ยงมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันตั้งแต่เดือนที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องพร้าวที่เลี้ยงอาหาร ½MS ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคต่างๆ เป็น 1 และ 2 เดือน

เครื่องมือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์/ระยะเวลา	เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อจุลินทรีย์ของอาหาร (ค่าสะสม)					
	ความสูง(ซม.)		จำนวนใบ		จำนวนราก	
	1 เดือน	2 เดือน	1 เดือน	2 เดือน	1 เดือน	2 เดือน
หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (Autoclave) 20 นาที	4.69±2.09	4.71±1.44[a]	4.14±0.69	5.14±1.07[a]	0.71±1.25	1.43±1.51[a]
หม้อนึ่งไอน้ำ 1 ชั่วโมง	4.49±1.94	6.70±0.89[b]	5.11±1.54	6.70±1.49[b]	3.30±2.50	4.44±2.40[b]
1 ชั่วโมง 30 นาที	3.96±1.60	5.75±1.26[a]	5.52±2.06	6.73±1.27[b]	2.73±2.05	3.86±1.85[b]

ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในแต่ละคอลัมน์ ทดสอบแบบ LSD

ต้นที่เลี้ยงในอาหารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำจะมีอัตราการจริญเติบโตต่ำกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ ตั้งแต่เดือนที่ 1 และเห็นผลชัดเจนในเดือนที่ 2 ส่วนเอื้องพร้าวที่เลี้ยงในอาหารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำนาน 1 ชั่วโมง ความสูงของต้นโดยเฉลี่ยมากกว่าชุดอื่น จำนวนใบและรากมีความแตกต่างกันระหว่างเอื้องพร้าวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เตรียมแตกต่างกัน จากการเลี้ยงเอื้องพร้าวระยะเวลา 2 เดือน (รูปที่ 3) แสดงให้เห็นว่าอาหารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำระยะเวลาสั้น (1 ชั่วโมง) ทำให้ต้นเอื้องพร้าวเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เพราะคุณค่าของสารอาหาร

ในสูตรอาหารมีปริมาณมากที่สุด ซึ่งเกิดจากสารอาหารสูญเสียไปกับการทำอาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์ไปบ้าง ส่วนอาหารที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการนึ่งในสภาพไอน้ำปราศจากแรงดัน และความร้อนที่ต่ำกว่าทำให้คุณค่ามีเหลืออยู่มากกว่า และเวลาที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์นานขึ้นจะทำให้สารอาหารเสื่อมมากขึ้น โดยเฉพาะสารอาหารที่ได้จากธรรมชาติในการทดลอง คือ กล้วยบดและน้ำมะพร้าว เพราะน้ำตาลกลูโคสและกรดอะมิโนธรรมชาติจะทำปฏิกิริยากันเกิดเป็นสารประกอบ glucose-amine (อมรรัตน์ จงสวัสดิ์วรกูล และคนอื่นๆ, 2545, น.4) สารอาหารที่สำคัญบางส่วนสูญเสียหรือเปลี่ยนสภาพไป ดังผลทดลองอาหารที่เติมกล้วยและนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ อาหารมีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลมากกว่าขณะที่หม้อนึ่งไอน้ำไม่ได้ทำให้อาหารเปลี่ยนสี เช่นเดียวกับการทดลองของการอบแห้งกล้วยที่อุณหภูมิสูงขึ้น ความเข้มของสีน้ำตาลจึงมีมากขึ้น (นฤดี พงศ์กิจวิทูร และคนอื่นๆ, 2544, น.79-80)

เมื่อย้ายเอื้องพร้าวที่เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือนในสูตรอาหารแล้วเลี้ยงต่อในโรงเพาะชำ ต้นเอื้องพร้าวที่ได้มีการเจริญเติบโตปกติสมบูรณ์ แสดงว่าสูตรอาหารและวิธีการดังกล่าวสามารถช่วยในการขยายพันธุ์เอื้องพร้าวจากเมล็ดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ (รูปที่ 4)

รูปที่ 3 แสดงการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องพร้าวที่เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ในอาหาร ½ MS ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 20 นาที และหม้อนึ่งไอน้ำนาน 1 ชั่วโมง และ 1 ชั่วโมง 30 นาที ตามลำดับ เส้นบาร์แสดงขนาด 1 ซม.

รูปที่ 4 แสดงกล้วยไม้เอื้องพร้าวที่เลี้ยงอนุบาลในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เส้นบาร์แสดงขนาด 1 ซม.

สรุป

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถทดแทนการใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำได้ และสามารถเก็บอาหารหลังฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ประมาณ 1 สัปดาห์ และนำไปเลี้ยงเอื้องพร้าวจะมีอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน เมื่อใช้หม้อนึ่งไอน้ำกับสูตรอาหารที่มีสารอาหารจากธรรมชาติ คุณค่าของสารอาหารจะเสื่อมไปน้อยกว่าหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ ทำให้เอื้องพร้าวเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอาหารที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

พรพิมล ม่วงไทย, พิชิต สุดตา, พีรพงษ์ นิชำนาญ, และธนวรรณ บุญยศักดิ์เสรี. (2547). **การศึกษาปฏิกิริยามลลาร์ดในระบบต้นแบบระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโนมาตรฐาน**. กรุงเทพฯ : ม.ป.พ.

นฤดี พงศ์กิจวิทูร, สุวิช ศิรวัฒนโยธิน, สายลม มันพันธ์เวชโสภา, และทิพาพร อยู่วิทยา. (2544). ปัจจัยการผลิตกล้วยหอมผงโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้งหมุน. **วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ.**, 24(1), 69-84.

อมรรัตน์ จงสวัสดิ์วรกุล, และลัดดา เหมาะสุวรรณ. (2545). Evidence-based Maillard reaction: focusing on parental nutrion. **วารสารโภชนบำบัด**, 13(1), 3-11.

Kodym, A. & Zapata-Arias, F.J., (2001). Low-cost alternatives for the micro propagation of banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture,** 66, 67-71.

Chen, F. C., & Chen, T. C. 1998. **Effect of salt strength and organic additives on the in vitro growth of protocorm-like bodies and plantlets of Oncidium grower Ramsey**. J. Chinese Soc. Hort. Sci, 44, 403-412.

Shiau, Y. J., Sagare, A. P., Chen, U. C., Yang, S. R., & Tsay, H. S. 2002. Conservation of Anoectochilus formosanus Hayata by artificial crosspollination and in vitro culture of seeds. Bot. Bull. **Acad. Sin**, 43, 123-130.

Shu, F. L., Satish M. N., CHao-Lin K., Chung-Li C., & Hsin-Seng, T. (2004). Asymbiotic Germination of Immature Seeds, Plantlet development and Ex- Vitro Establishment of Plants of Dendrobium Tosaense Makino - A medicinally important orchid. Vitro Cell. **Dev. Biol**.- Plant, 40, 528-535

T. Thorpe, C. Stasolla, E.C. Yeung, G-J. de Klerk, A. Roberts and E.F. George. 2008. The Components of Plant Tissue Culture Media II : Organic Additions, Osmotic and pH Effects, and Support Systems. **Plant Propagation by Tissue ulture 3rd Edition Volume 1. The Background**. Springer, Netherlands. page: 117.

Plantmedia. 2010. **http://www.weloveshopping.com/shop/plantmedia/**. สืบค้นวันที่ 30 มิถุนายน 2553.

Google. 2010a. **http://www.google.co.th/images?um=1&hl=th&client=firefox-a&hs=ES3&rls= org. mozillaเปอร์เซ็นต์3Athเปอร์เซ็นต์3Aofficial&tbs=ischเปอร์เซ็นต์3A1&sa=1&qเอื้องพร้าว&aq=f&aqi=&aql=&oq=& gs_rfai=.** สืบค้นวันที่ 30 มิถุนายน 2553.

Google. 2010b. **http://www.google.co.th/search?q="ขายเอื้องพร้าว"&hl=th&client=firefox-a&hs=h4N&rls =org.mozilla:th:official&ei=5FEkTJ3QKIyErAep842JBQ&start=10&sa=N.** สืบค้นวันที่ 30 มิถุนายน 2553.

The World's Healthiest Foods. 2010. **Bananas. http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=food spice &dbid=7** สืบค้นวันที่ 30 มิถุนายน 2553.

Theil, T. 1999. Sterilezing Laboratory Materials for the Classroom. **http://www.science-buddies.org/science-fair-projects/project_ideas/ microbio_ steriletechnique.pdf** สืบค้นวันที่ 30 มิถุนายน 2553.