

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หญ้าหวาน หรือ สตีเวีย (Stevia) เป็นพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Stevia rebaudiana* Bertoni. มีสรรพคุณเป็นสมุนไพรที่ให้ความหวาน สารหวานหลักในใบคือ สตีวิโอไซด์ (Stevioside) ใช้แทนน้ำตาลได้ ใบมีรสหวาน ซึ่งหวานมากกว่าน้ำตาลทราย 250-300 เท่า แต่ไม่ให้พลังงาน จึงเหมาะกับผู้ป่วยโรคเบาหวาน และผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า หญ้าหวานสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการแพร่พันธุ์ของแบคทีเรียได้ โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้ฟันผุ จึงเป็นสาเหตุที่ดี ที่จะใช้หญ้าหวานเป็นสารให้ความหวานในอาหารที่เราบริโภคกันอยู่ และทั้งนี้ ปัจจุบันสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) อนุญาตให้นำสารสกัดสตีวิโอไซด์ จากหญ้าหวานมาขึ้นทะเบียนเป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ จึงทำให้หญ้าหวานเป็นที่ต้องการสูงของอุตสาหกรรมอาหาร (ไมตรี สุทธจิตต์ อัมพวัน อภิสิทธิ์ะกุล และรวีวรรณ พัชรนาโชคชัย, 2540)

หญ้าหวาน มีถิ่นกำเนิดอยู่ใน บราซิล และปารากวัย เพิ่งมีการนำมาปลูกในไทยเมื่อปี พ.ศ.2518 เขตที่ปลูกกันมากได้แก่ จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา แต่ปลูกได้ผลดีที่สุดที่จังหวัดน่าน ภาคเหนือเป็นพื้นที่ที่เหมาะสม เนื่องจากหญ้าหวานชอบอากาศค่อนข้างเย็น อุณหภูมิประมาณ 20-26 องศาเซลเซียส และขึ้นได้ดีเมื่อปลูกในพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 600-700 เมตร (พิสมัย กุลกาญจนาธร, 2555)

สำหรับการขยายพันธุ์หญ้าหวาน สามารถทำได้โดยการเพาะเมล็ด และการปักชำ เท่านั้น แต่เนื่องจากพืชชนิดนี้ เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ (Miyazaki and Wantenabe, 1974) โดยทั่วไป การขยายพันธุ์หญ้าหวาน ทำได้โดยการปักชำกิ่ง และปัญหาสำคัญที่เกี่ยวข้องกับพืชชนิดนี้ คือ หญ้าหวานเป็น heterozygous และในสภาพธรรมชาติ ไม่มีความสมบูรณ์ภายในตนเอง ขาดการปฏิสนธิ (Miyazaki and Wantenabe, 1974) เมล็ดหญ้าหวานมักจะอ่อนแอ และการขยายพันธุ์จะทำให้ในต้นที่เป็น homozygous ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับความหวาน และองค์ประกอบภายใน (Miyagawa et al., 1986) การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดทำได้ยากมาก เนื่องจาก

ความไม่สมบูรณ์ของเมล็ด ที่เป็นปัจจัย ส่งผลให้เมล็ดเป็นหมันเป็นส่วนมาก (Jagatheeswari and Ranganathan, 2012) ร้อยละการงอกของเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ เป็นปัจจัยสำคัญ ที่จำกัดการเพาะปลูก พืชชนิดนี้ การขยายพันธุ์ยังถูกจำกัด เนื่องจากมีจำนวนต้นพันธุ์น้อย อีกทั้งยังต้องใช้เวลา และ ยังมีโอกาสที่พืชจะติดเชื้อในเนื้อเยื่ออีกด้วย เป็นเหตุให้เกษตรกรไม่สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ เพียงพอสู่ความต้องการในปริมาณมาก ๆ ได้ งานวิจัยนี้จึงได้ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมา ใช้ในการขยายพันธุ์หญ้าหวานในสภาพปลอดเชื้อ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนข้อและ เมล็ดหญ้าหวาน เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก และเกิดรากได้ในระยะเวลาอันสั้น และได้ ต้นอ่อนที่ปลอดโรคเพื่อส่งเสริมให้ประชาชนได้ปลูกเป็นพืชในครัวเรือนได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความมีชีวิตเมล็ดหญ้าหวานด้วยวิธี Tetrazolium Test (TZ Test)
2. เพื่อศึกษาวิธีการ และสารฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวที่เหมาะสมกับชิ้นส่วนข้อและเมล็ดของ หญ้าหวาน
3. เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต Thidiazuron (TDZ) ร่วมกับ Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนข้อของ หญ้าหวาน
4. เพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์ การรอดชีวิตภายหลังการย้ายต้นอ่อนหญ้าหวาน ที่ได้จากการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในโรงเรือน

ประโยชน์ที่รับจากการวิจัย

1. ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับการขยายพันธุ์หญ้าหวานในสภาพปลอดเชื้อ
2. สามารถใช้แนวทางการขยายพันธุ์หญ้าหวานในสภาพปลอดเชื้อไปประยุกต์ใช้กับพืช ในท้องถิ่นชนิดอื่น ๆ
3. สามารถนำความรู้ และประสบการณ์ที่ได้รับไปเผยแพร่แก่ผู้อื่น และประยุกต์ใช้ใน โรงเรียน ชุมชน และสังคม รวมถึงใช้เป็นความรู้พื้นฐานในการศึกษาเพิ่มเติมในระดับสูง รวมทั้ง สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับโครงการอื่น ๆ ได้

ขอบเขตของการวิจัย

ขอบเขตด้านเนื้อหา

1. การศึกษาความมีชีวิตของเมล็ดหนุ้าหวาน ด้วยวิธี Tetrazolium Test (TZ Test)
2. การศึกษาวิธีการและสารฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวที่เหมาะสมกับชิ้นส่วนข้อและเมล็ดของหนุ้าหวาน
3. การศึกษาการขยายพันธุ์หนุ้าหวาน โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของหนุ้าหวานบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ
4. การศึกษาร้อยละการรอดชีวิตภายหลังการย้ายต้นอ่อนหนุ้าหวานที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในโรงเรือน

ขอบเขตด้านตัวแปร

1. การกำหนดตัวแปร ด้านเนื้อหา ข้อ 1
 ตัวแปรต้น คือ เมล็ดหนุ้าหวานสีน้ำตาลและสีดำ
 ตัวแปรตาม คือ เมล็ดติดสีของสารเฟนิลเทตระโซเลียมคลอไรด์ (ความมีชีวิตของเมล็ด)
 ตัวแปรควบคุม คือ ความเข้มข้นและปริมาณสารละลายเทตระโซเลียมคลอไรด์ ระยะเวลา แสง และอุณหภูมิในการทดลอง
2. การกำหนดตัวแปร ด้านเนื้อหา ข้อ 2
 ตัวแปรต้น คือ วิธีการและสารฟอกฆ่าเชื้อ
 ตัวแปรตาม คือ การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนข้อของหนุ้าหวาน
 ตัวแปรควบคุม คือ สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง เช่น การให้แสง สูตรอาหาร MS อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง และระยะเวลา
3. การกำหนดตัวแปร ด้านเนื้อหา ข้อ 3
 ตัวแปรต้น คือ ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA
 ตัวแปรตาม คือ การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนข้อของหนุ้าหวาน
 ตัวแปรควบคุม คือ สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง เช่น การให้แสง สูตรอาหาร MS อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง และระยะเวลา

4. การกำหนดตัวแปร ด้านเนื้อหา ข้อ 4

ตัวแปรต้น คือ ต้นอ่อนหญ้าหวานที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยใช้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ที่ต่างกัน

ตัวแปรตาม คือ จำนวนต้นอ่อนหญ้าหวานที่มีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพธรรมชาติ

ตัวแปรควบคุม คือ สภาพแวดล้อม ได้แก่ ชนิดและปริมาณของดิน การให้แสง ปริมาณน้ำ สถานที่และอุณหภูมิในการทดลอง

ขอบเขตด้านเวลา ระยะเวลาที่ทำการวิจัย 1 ปี (เดือน มกราคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2556)

ขอบเขตด้านพื้นที่ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาคารศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่, ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่, ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืช ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ และบริเวณพื้นที่ หมู่บ้านห้วย ตำบลมะกอก อำเภอลำปาง จังหวัดลำปาง

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. ต้นพันธุ์หญ้าหวานที่ใช้ในการวิจัย นำมาจาก อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่
2. ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ใช้ในการวิจัย คือ ชิ้นส่วนข้อจากต้นหญ้าหวานในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. สูตรอาหาร หมายถึง อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ดัดแปลง โดยการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ N_6 -benzyladenine (BA), TDZ และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ
2. เมล็ดมีชีวิต หมายถึง เมล็ดหญ้าหวานที่ผ่าแยก และนำเมล็ดไปทดสอบกับสารละลายฟีนิลเทตระโซเลียมคลอไรด์ (2,3,5 Triphenyltetrazolium chloride) จะเกิดการทำปฏิกิริยาทำให้เมล็ดคดสีชมพูหรือสีแดง

3. เมล็ดไม่มีชีวิต หมายถึง เมล็ดของหญ้าหวานที่ผ่าแยก และนำเมล็ดไปทดสอบกับ สารละลายฟีนิลเทตระโซเลียมคลอไรด์ (2,3,5 Triphenyltetrazolium chloride) จะไม่เกิดปฏิกิริยา เมล็ดจะไม่คืบสี

4. การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนของหญ้าหวาน หมายถึง ชิ้นส่วนของหญ้าหวานที่ใช้ใน การเพาะเลี้ยง และสามารถเจริญเติบโตให้ความสูงของลำต้น ความยาวของรากและขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางของแคลลัส

5. ความยาวของยอด หมายถึง ความยาวที่วัดได้ตั้งแต่โคนต้นจนถึงปลายยอด

6. ความยาวของราก หมายถึง ความยาวที่วัดได้ตั้งแต่โคนรากจนถึงปลายราก

7. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแคลลัส หมายถึง ความยาวที่วัดตามแนวราบที่ยาวที่สุดจาก บริเวณขอบด้านหนึ่งของก้อนแคลลัสไปยังขอบด้านตรงกันข้าม

8. เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต หมายถึง จำนวนต้นอ่อนหญ้าหวานที่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ใน สภาพแวดล้อมธรรมชาติ คิดเป็น เปอร์เซ็นต์