

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การศึกษาการใช้ประโยชน์จากพันธุ์พืชในด้านอาหาร และสมุนไพร พบว่ามีการใช้ประโยชน์จากพันธุ์พืชจำนวนมากทั้งในด้านการบริโภคเป็นอาหาร ใช้เป็นยารักษาโรค รวมถึงการแปรรูปสมุนไพรเป็นชาชนิดต่างๆ เพื่อจำหน่ายเป็นสินค้าที่ขึ้นชื่อของพื้นที่ต่าง ๆ โดยผลิตภัณฑ์ที่น่าสนใจหนึ่งในนั้นคือชาสมุนไพรจาก หญ้าหวาน ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stevia rebaudiana* Bertoni จัดอยู่ในวงศ์ *Asteraceae* มีสาร *Stevioside* เป็นสารให้ความหวานและมีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครสประมาณ 300 เท่านอกจากนี้ยังเป็นสารที่มีแคลอรีต่ำมากเมื่อเทียบกับน้ำตาลทราย เนื่องจากไม่ถูกย่อยให้เกิดพลังงานในร่างกาย จากคุณสมบัติของสารหวานดังกล่าว ในปัจจุบันมีการนำมาใช้เป็นสารที่ให้ความหวานสำหรับอาหาร และเครื่องดื่มบางประเภทโดยใช้แทนน้ำตาลทรายบางส่วนหรือทั้งหมด เพื่อลดปริมาณแคลอรีในอาหาร และเครื่องดื่มสำหรับผู้ที่ต้องการลดความอ้วน หรือผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานซึ่งไม่สามารถบริโภคน้ำตาลในปริมาณมาก ๆ ได้ ทั้งนี้ปัจจุบันสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) อนุญาตให้นำสารสกัด *stevioside* มาขึ้นทะเบียนเป็นสารหวานแทนน้ำตาลได้

ประเทศไทยนำหญ้าหวานเข้ามาปลูกกันมากในเขตภาคเหนือได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา เนื่องจากหญ้าหวานชอบอากาศค่อนข้างเย็น อุณหภูมิประมาณ 20-26 องศาเซลเซียส และขึ้นได้ดีเมื่อปลูกในพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 600-700 เมตร โดยเกษตรกรจะทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด และการปักชำ แต่เนื่องจากพืชชนิดนี้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ (Miyazaki and Wantenabe, 1974) และการปักชำเองก็ถูกจำกัดโดยจำนวนของต้นพันธุ์ อีกทั้งยังต้องใช้เวลานาน และยังมีโอกาสที่พืชจะติดเชื้อในเนื้อเยื่ออีกด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในการขยายพันธุ์หญ้าหวานให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น และได้ต้นพันธุ์ที่แข็งแรงปราศจากโรค โขดกเดาณรงค์ และลีราหนูพัฒนา (Chotikadachanarong and Dheeranupattana, 2013) ได้รายงานการขยายพันธุ์หญ้าหวานด้วยเทคนิค

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของหน่อของหญ้าหวานบนอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด 9.31 ± 4.17 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ จากนั้นจึงนำชิ้นส่วนข้อที่ได้จากชุดการทดลองดังกล่าวมาชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากจำนวนมากที่สุด คือ 11.18 ± 1.34 รากต่อยอด จากนั้นจึงนำต้นอ่อนที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมาทำการย้ายออกปลูกในโรงเรือนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่ได้จากการชักนำรากโดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และชุดที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดชีวิต 80% แต่เนื่องจากการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นมีต้นทุนในการเตรียมสูงทั้งในด้านของสารเคมี และเครื่องมือต่างๆ อีกทั้งยังมีขั้นตอนการเตรียมที่ซับซ้อนเนื่องจากอาหารสูตร MS นั้นประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดในปริมาณที่แตกต่างกันซึ่งต้องชั่งด้วยเครื่องชั่งสารเคมี อีกทั้งต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงโดยการนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) เป็นเหตุให้เกษตรกรรายย่อย หรือผู้ที่สนใจการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีงบประมาณจำกัดไม่สามารถดำเนินการได้สำเร็จ

ปัจจุบันมีการผลิตสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินจำหน่ายในรูปแบบของสารละลายเข้มข้นซึ่งหาซื้อได้ทั่วไปในท้องตลาด และมีราคาถูก อีกทั้งยังประกอบด้วยธาตุอาหารจำเป็นสำหรับการปลูกพืช ได้แก่ ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุเหล็ก เช่นเดียวอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินทดแทนธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุเหล็ก ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) รวมถึงการใช้เครื่องต้มสุกก้าง หรือเครื่องต้มผสมวิตามินเป็นแหล่งของวิตามินในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวานร่วมกับเทคนิคการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร โดยการเติมน้ำยาฟอกผ้าขาวแทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) (กิตติศักดิ์ โชติเดชานรงค์, 2556) เพื่อพัฒนาขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้ง่ายขึ้นด้วยต้นทุนที่ต่ำลง เพื่อให้เหมาะสมในการนำไปใช้กับโรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนเบญจมา 1 ซึ่งได้ดำเนินกิจกรรมการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อเป็นการปลูกจิตสำนึกแก่เยาวชนให้เห็นคุณค่าของทรัพยากรธรรมชาติในท้องถิ่นของตนเองในโครงการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม อยู่แล้ว จึงเป็นโอกาสดีที่จะศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวาน เพื่อที่จะนำไปให้ความรู้ และทดลองส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกหญ้าหวานเนื่องจากโรงเรียนแห่งนี้มีสภาพภูมิอากาศที่หนาวเย็นตลอดทั้งปี อุณหภูมิเฉลี่ย 23 องศาเซลเซียสและความสูงจาก

ระดับน้ำทะเล 1,400 เมตร สภาพภูมิประเทศเป็นคอยสูงชัน ป่าสนสลับกับป่าดิบชื้น จึงเหมาะสมแก่การเพาะปลูกหญ้าหวาน อีกทั้งโรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดน ซึ่งงานวิจัยนี้จะสามารถพัฒนาเป็นต้นแบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายให้กับโรงเรียนในสังกัดกองบัญชาการตำรวจตระเวนชายแดนและพัฒนาให้เป็นหน่วยงานที่เข้าไปถ่ายทอดความรู้ พัฒนาการศึกษาและฝึกอบรมวิชาชีพให้กับเยาวชน และเกษตรกรในชุมชนและผู้สนใจ ให้สามารถนำความรู้เรื่องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปประยุกต์ใช้ และประกอบอาชีพหลัก และอาชีพเสริมต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลของสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ร่วมกับเครื่องคั้นชูกำลังหรือเครื่องคั้นผสมวิตามิน 3 ชนิด ได้แก่ M 150 Redbull(กระทิงแดง)Vita Mix v 500 (กลี้น้ำผึ้งมะนาว) ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวาน

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ประโยชน์ด้านความรู้

1. ได้ความรู้ในการพัฒนาสูตรอาหารแบบง่าย ๆ ต้นทุนต่ำ ในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวาน
2. ได้ความรู้ในการใช้เครื่องมือแบบง่าย ๆ ที่มีประสิทธิภาพสามารถใช้ทดแทนเครื่องมือที่มีราคาแพง

ประโยชน์ด้านการพัฒนา

1. ได้เทคนิค และสูตรอาหารอย่างง่ายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวานที่มีประสิทธิภาพ และต้นทุนการผลิตต่ำ
2. เทคนิค และสูตรอาหารอย่างง่ายที่ได้จากการทำวิจัย จะได้นำไปถ่ายทอดความรู้ให้กับคณะครู นักเรียน โรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนและเกษตรกร หรือผู้สนใจเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกหญ้าหวานเพื่อสร้างรายได้ต่อไป
3. ตอบสนองโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี

ประโยชน์ด้านผลผลิต

ได้เทคนิค และวิธีการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงอย่างง่ายสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดหู
หวนเพื่อการขยายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพและต้นทุนการผลิตต่ำ

ขอบเขตของการวิจัย

ขอบเขตด้านเนื้อหา

ศึกษาผลของสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ร่วมกับเครื่องคั้นชูกำลัง
เอ็มร็อยห้าสิบ (M 150) กระติงแดง (Redbull) และเครื่องคั้นผสมวิตามินไวต้ามิก (Vitamix V500)
ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จำนวน 10 ชุดการทดลองๆ ละ 30 ชั่วโมง

ขอบเขตด้านตัวแปร

ตัวแปรต้น สูตรอาหารที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่
ผสมเครื่องคั้นชูกำลัง หรือเครื่องผสมวิตามิน ความเข้มข้นต่างๆ กันจำนวน 10 ชุดการทดลอง

ตัวแปรตาม การเจริญเติบโตของต้นเห็ดหูหวนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ตัวแปรควบคุม ใช้สภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกันทุกชุดการทดลอง ค่า PH

ของอาหาร

ขอบเขตด้านเวลา

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย 12 เดือน(มกราคม – ธันวาคม 2557)

ขอบเขตด้านพื้นที่

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ณ โรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนเฉลิมพระเกียรติฯ
บ้านแกน้อย ตำบลเมืองนะ อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพที่ 1.1)



ภาพที่ 1.1 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ณ โรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนเฉลิมพระเกียรติ บ้านแกน้อย ตำบลเมืองนะ อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

ขอบเขตด้านตัวแปร

ตัวแปรต้น สูตรอาหาร 10 สูตร เครื่องดื่มชูกำลัง 2 ยี่ห้อ และเครื่องผสมวิตามิน 1 ยี่ห้อ ที่ความเข้มข้นต่างกัน

ตัวแปรตาม การเจริญเติบโตของต้นหญ้าหวานที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเช่น จำนวนยอด ใบ ราก และความสูง

ตัวแปรควบคุม สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ปริมาณแสง ค่า PH ของอาหาร

ขอบเขตด้านเวลา

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย 12 เดือน(มกราคม 2557 – ธันวาคม 2557)

ขอบเขตด้านพื้นที่

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช(ดัดแปลงตามสภาพจริง)โรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนเฉลิมพระเกียรติฯ บ้านแกน้อย ตำบลเมืองนะ อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. ต้นพันธุ์หญ้าหวานที่ใช้ในการวิจัย นำมาจากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
2. ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ใช้ในการวิจัยคือ ชิ้นส่วนข้อจากต้นหญ้าหวานในสภาพปลอดเชื้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 3 mg/L เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ดัดแปลงตามสภาพจริง) โรงเรียนตำรวจตระเวน

ชายแดนเฉลิมพระเกียรติฯ บ้านแกน้อย ต.เมืองนะ อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่

4. ตู้ตัดเนื้อเยื่ออย่างง่ายลักษณะคล้ายตู้ปลา ขนาดกว้าง 50 ซม. ยาว 70 ซม. สูง 40 ซม.

5. ชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขนาด กว้าง 50 ซม. ยาว 1.50 ม. สูง 1.20 ม. ระหว่างชั้น 30 ซม. จำนวน 4 ชั้น ติดหลอดไฟ 36 watt ชั้นละ 2 หลอด

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. สูตรอาหาร หมายถึง อาหารวุ้นสูตรสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชไม่ใช้ดิน เครื่องหมายการค้า Hydro Work
2. จำนวนใบ หมายถึง จำนวนใบทั้งหมด ที่แตกออกมา
3. จำนวนยอด หมายถึง จำนวนของยอดทั้งหมดที่แตกออกมา
4. จำนวนราก หมายถึง จำนวนของรากที่แตกออกมาทั้งหมด
5. ความยาวของยอด หมายถึง ความยาวที่วัดได้ตั้งแต่โคนต้นจนถึงปลายยอด
6. ร้อยละการงอก หมายถึง ร้อยละของจำนวนต้นอ่อนหญ้าหวานที่สามารถแตกยอดใหม่ออกมาได้