บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการขยายพันธุ์ว่านสี่ทิศ 3 พันธุ์ เนื่องจากไม้ดอกชนิดนี้เป็นไม้ดอกที่มีศักยภาพในทางการค้าดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น ไม้ดอกชนิดนี้แม้ว่าจะเจริญเติบโตและให้ดอกได้ดีในสภาพธรรมชาติของประเทศไทยและเป็นที่นิยมของตลาดภายในประเทศ แต่มีข้อจำกัดตรงที่ความนิยมดังกล่าวมุ่งไปยังพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ดอกขนาดใหญ่และมีสีสันสวยงาม ในขณะที่ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นบ้านที่ปลูกเลี้ยงในประเทศไทยเป็นกลุ่มที่มีดอกขนาดเล็กและมีสีให้เลือกไม่มากนัก ทั้งๆ ที่เป็นพันธุ์ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมและไม่ค่อยมีโรคและแมลงรบกวนมากเท่าพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

จากการที่ได้เริ่มมีการสร้างลูกผสมระหว่างว่านสี่ทิศทั้ง 2 กลุ่ม คือ กลุ่มดอกใหญ่และดอกเล็ก ได้ลูกผสมที่มีดอกขนาดปานกลางและมีการผันแปรของสีของดอกแตกต่างออกไปจากพ่อแม่พันธุ์ จึงทำให้เกิดความเคลื่อนไหวในการผลิตลูกผสมใหม่ๆ ออกมาจากว่านสี่ทิศทั้ง 2 กลุ่มดังกล่าวเพื่อเป็นการสร้างพันธุ์ใหม่ ซึ่งมีช่อดอกขนาดพอเหมาะเอื้ออำนวยต่อการจัดการบรรจุและขนส่งในลักษณะของไม้ตัดดอกและทนทานต่อสภาพการปลูกเลี้ยงได้ดียิ่งขึ้นขึ้นมาเพื่อการคัดเลือกเพื่อผลิตเป็นการค้า ในการที่จะช่วยให้การสร้างพันธุ์ใหม่ประสบผลสำเร็จในระดับการค้านั้นควรที่จะต้องมีการศึกษาข้อมูลพื้นฐานในด้านต่างๆเพื่อสนับสนุนงานดังกล่าวโดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาในด้านการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณพันธุ์ใหม่ให้มีมากพอให้ออกสู่ตลาดได้เร็วขึ้น

การศึกษาที่ได้เสนอไว้ในบทที่ 4 เป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการขยายพันธุ์ 2 วิธี คือ การขยายพันธุ์จากเมล็ด ซึ่งมุ่งประโยชน์ในการได้ความรู้เกี่ยวกับเมล็ดของว่านสี่ทิศ การได้มาซึ่งเมล็ด และการเพาะเมล็ด เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อนำมาใช้กับโปรแกรมการผสมพันธุ์ และการขยายพันธุ์จากหัว ซึ่งเป็นวิธีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและได้ต้นที่ตรงตามพันธุ์ เพื่อการเพิ่มปริมาณหัวพันธุ์ และเพื่อได้เทคนิคปลีกย่อยที่สามารถนำไปแนะนำใช้ในทางปฏิบัติได้ ผลการทดลองสามารถสรุปและวิจารณ์ได้ดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 การขยายพันธุ์ว่านสี่ทิศจากเมล็ด

ในการศึกษาการขยายพันธุ์ว่านสี่ทิศจากเมล็ดนั้น จะต้องผลิตเมล็ดของพืชทดลองขึ้นมาโดยการผสมด้วยมือ เนื่องจากพืชทดลองไม่ติดเมล็ดเองในธรรมชาติ ดังนั้นจึงได้ศึกษาการผสมเกสรและข้อมูลพื้นฐานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผสมเกสรร่วมไปด้วย เพื่อจะได้เป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาการผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศต่อไป การศึกษาข้อมูลพื้นฐานดังกล่าวเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย ความพร้อมผสมของดอกที่ใช้เป็นดอกที่ให้เกสรตัวผู้และดอกที่ให้เกสรตัวเมีย การผสมเกสรไปจนถึงการเพาะเมล็ด

1.1 การเจริญเติบโตของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย

จากผลการวิจัยของฉันทนา และ คณะ (2540) และ Okubo (1993) ที่ได้รายงานไว้ว่า ว่านสี่ทิศเป็นไม้ดอกประเภทหัวที่มีการกำเนิดและการสร้างดอกเร็ว โดยมีการเริ่มสร้างตั้งแต่หัวยังอยู่ในระยะพักตัวหรือก่อนหน้าที่หัวจะเข้าระยะพักตัว และมีการเจริญเติบโตของส่วนประกอบของดอกในช่วงที่หัวกำลังพักตัวจนกลายเป็นช่อดอกขนาดเล็กที่ดอกย่อยเจริญเติบโตเป็นดอกอ่อนแล้วทั้ง 4 ดอก ซึ่งหมายถึงว่าเมื่อหัวพร้อมที่จะมีการเจริญเติบโตในวงจรการเจริญเติบโตใหม่ ช่อดอกอ่อนที่อยู่ภายในหัวก็จะเริ่มขยายขนาดและยืดตัวออกมาจากหัวเจริญโผล่ขึ้นมาเหนือดิน และมีการบานดอกในเวลาต่อมา จากข้อมูลดังกล่าวการศึกษาทดลองในข้อ 1.1 จึงเป็นการติดตามการเจริญเติบโตของส่วนประกอบของดอก 2 ส่วน คือ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย ตั้งแต่ระยะเริ่มมีการกำเนิดช่อดอกและดอกย่อย จากการติดตามการสร้างช่อดอกและดอกย่อยของว่านสี่ทิศทั้ง 3 พันธุ์ดังกล่าว โดยศึกษาในขณะที่หัวอยู่ในระยะพักตัว พบว่า ได้ผลสอดคล้องกับที่ฉันทนา และ คณะ (2540) และ Okubo (1993) รายงานไว้ คือ ช่อดอกเจริญเติบโตมาจากตาข้างที่อยู่บริเวณซอกของกาบใบทุก ๆ วงที่ 4 ของกาบใบนับจากตายอดออกมา ต่อมาตาดอกดังกล่าวมีการเจริญเติบโตไปเป็นช่อดอกขนาดเล็กอยู่ภายในหัว

เมื่อนำดอกย่อยมาศึกษาเนื้อเยื่อ พบว่า ว่านสี่ทิศทั้ง 3 พันธุ์มีขั้นตอนและลักษณะของการสร้างดอกเหมือนกัน กล่าวคือ ดอกย่อยแต่ละดอกเกิดขึ้นในเวลาไล่เรี่ยกันดังจะเห็นได้จากภาพตัดตามยาวของช่อดอกในภาพที่ 4 ซึ่งเป็นช่อดอกที่มีการกำเนิดดอกย่อยทั้ง 4 ดอกเรียบร้อยแล้ว แต่ว่าแต่ละดอกอยู่ในระยะการพัฒนาของวงดอกแตกต่างกัน

การสร้างส่วนประกอบของดอกว่านสี่ทิศนั้น พบว่า มีลำดับการเกิดก่อนหลังเป็นไปตามที่พบในพืชหลายตระกูล กล่าวคือ มีการสร้างวงของกลีบดอกก่อน ตามมาด้วยวงของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย ตามลำดับ ตามที่บรรยายไว้โดย Esau (1977) และ Fahn (1977) และมีระยะการเจริญเติบโตของวงต่างๆ ของดอกเป็นไปดังที่ Vijverberg (1981) ได้รายงานไว้ว่า ระยะการเจริญเติบโตของดอกว่านสี่ทิศมีการกำเนิดและการเจริญเติบโตของวงดอกวงต่างๆ เป็นลำดับดังนี้

P1 คือ ระยะที่มีการกำเนิดวงของกลีบดอกวงนอก

P2 คือ ระยะที่มีการกำเนิดวงของกลีบดอกวงใน

A1 คือ ระยะที่มีการกำเนิดวงของเกสรตัวผู้วงนอก

A2 คือ ระยะที่มีการกำเนิดวงของเกสรตัวผู้วงใน

G คือ ระยะที่มีการกำเนิดก้านชูเกสรตัวเมีย

G+ คือ ระยะที่ก้านชูเกสรตัวเมียปรากฏชัดเจน และสามารถสังเกตเห็นลอนของปลายยอดเกสรตัวเมีย

การติดตามการเจริญเติบโตของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียนั้น พบว่า ดอกที่มีความยาว 0.5-0.8 ซม มี PMC เกิดขึ้นภายในอับละอองเกสรและก้านชูเกสรตัวเมียเริ่มยืดยาวออก ภายในรังไข่มีการขยายขนาดออกและเริ่มมีจุดกำเนิดของไข่อ่อนเกิดขึ้น ต่อเมื่อดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น คือ มีความยาวตั้งแต่ 2.0 ซม ขึ้นไปจึงจะมีการแบ่งตัวของ PMC ไปเป็นละอองเกสร ส่วนรังไข่นั้นพบว่า มีการเจริญเติบโตล่าช้ากว่าการสร้างละอองเกสรเล็กน้อย โดยรังไข่ที่สมบูรณ์พบได้ในดอกที่มีความยาว 2.1 ซม ขึ้นไป

จากการศึกษาเนื้อเยื่อของอับละอองเกสรในระยะที่มีการเริ่มสร้างละอองเกสรนั้น พบว่า มีเซล PMC มากมายอยู่เกือบเต็มอับละอองเกสรแต่ละพู เป็นเซลที่ย้อมติดสีเข้มมีนิวเคลียสเห็นชัดเจน และในเซล PMC บางเซล พบว่า มีการแบ่งเซลแบบ meiosis เกิดขึ้นแล้ว (ภาพที่ 8 และ 12) และหลังจากนั้นอีกไม่นานเมื่อดอกขยายขนาดมากขึ้นจากดอกที่มีความยาว 1.8 ซม เป็น 2.0-2.2 ซม ก็พบว่าภายในอับละอองเกสรมีละอองเกสรเกิดขึ้นสมบูรณ์แล้ว โดยที่บางส่วนของละอองเกสรเป็นละอองเกสรที่ไม่สมบูรณ์มีลักษณะลีบและฝ่อ ดังเห็นได้จากภาพที่ 13

สำหรับการเริ่มสร้างไข่อ่อนนั้น พบว่า มีการสร้างจุดกำเนิดไข่อ่อนในดอกที่มีความยาว 0.7 ซม และไข่อ่อนมีการเจริญเติบโตจนกระทั่งมี embryo sac ที่เห็นได้ชัดเจนในดอกที่มีความยาว 2.1 ซม ขึ้นไป

เมื่อช่อดอกมีการเจริญเติบโตยืดตัวขึ้นมาเหนือดินและยังไม่มีการบานดอกนั้น พบว่า อับละอองเกสรยังไม่แตกออกและปลายยอดเกสรตัวเมียไม่อยู่ในลักษณะพร้อมผสม ต่อเมื่อดอกบานได้ 2 วัน จึงเริ่มมีการแตกของอับละอองเกสร และแตกเต็มที่ในวันที่ 3 ของการบาน พร้อมกันกับการพร้อมผสมของเกสรตัวเมียซึ่งปรากฏมีเมือกใสเหนียวปกคลุมปลายยอดของเกสรตัวเมีย

การติดตามการเจริญเติบโตของช่อดอกและดอกในระยะที่หัวกำลังพักตัวดังกล่าวข้างต้น ให้ข้อมูลที่น่าจะเป็นประโยชน์สำหรับการวางแผนการผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศ โดยที่ทราบว่าในช่วงที่หัวกำลังพักตัวนั้นมีการเจริญเติบโตของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียเกิดขึ้นภายในดอกอ่อนที่อยู่ภายในหัว ดังนั้นการเก็บรักษาหัวพันธุ์ที่จะนำไปปลูกเพื่อเป็นต้นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์นั้น ควรจะเก็บรักษาไว้ในสภาพที่เหมาะสมเพื่อเป็นการเอื้ออำนวยให้มีการสร้างส่วนประกอบของดอกทั้ง 2 ส่วนให้สมบูรณ์ตั้งแต่ระยะเริ่มกำเนิดจนถึงระยะที่สมบูรณ์เต็มที่ สภาพของการเก็บรักษาหัวพันธุ์ที่ไม่เหมาะสมอาจจะนำไปสู่ความไม่สมบูรณ์ของดอกอ่อน ทำให้ช่อดอกฝ่อ แห้ง และลีบไปก่อนที่จะมีการเจริญเหนือดิน หรือ ช่อดอกเจริญเติบโตเหนือดินได้แต่เป็นช่อดอกที่ไม่สมบูรณ์ ส่งผลกระทบต่อปริมาณและความสมบูรณ์ของไข่อ่อนในรังไข่ ตลอดจนปริมาณและความสมบูรณ์ของละอองเกสรได้

1.2 ความสมบูรณ์และความมีชีวิตของละอองเกสร

จากการทดสอบความสามารถในการงอกของละอองเกสรดอกว่านสี่ทิศทั้ง 3 พันธุ์ ในระยะที่อับละอองเกสรยังไม่แตก เริ่มปริ และแตกเต็มที่นั้น พบว่า ทั้ง 3 พันธุ์ให้ผลเช่นเดียวกัน คือ ละอองเกสรในระยะที่อับละอองเกสรแตกเต็มที่แล้วเท่านั้นที่สามารถงอกในอาหารเลี้ยงละอองเกสรได้ โดยพันธุ์พื้นบ้านมีละอองเกสรงอกได้มากกว่าพันธุ์อื่น ส่วนพันธุ์ Apple Blossom และ พันธุ์ Orange Sovereign งอกได้ดีรองลงมา

การศึกษาดังกล่าวข้างต้นนับได้ว่าเป็นวิธีการตรวจสอบความมีชีวิตและความพร้อมในการผสมของละอองเกสรของว่านสี่ทิศที่ทำการทดลอง และผลการตรวจสอบพบว่าละอองเกสรของว่านสี่ทิศทั้ง 3 พันธุ์ สามารถงอกในอาหารเลี้ยงละอองเกสรได้ดีและมีเปอร์เซ็นต์การงอกค่อนข้างสูง แสดงว่าละอองเกสรมีความมีชีวิตและมีความสมบูรณ์สูง และน่าจะเอื้อประโยชน์และก่อให้เกิดความสำเร็จในการผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศได้ค่อนข้างสูง

นอกจากนี้ยังพบว่าช่วงเวลาที่ละอองเกสรงอกในอาหารเลี้ยงได้ดีนั้นคือ เวลา 06.00-10.00 น ซึ่งน่าจะเป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสร

1.3 การเก็บรักษาละอองเกสร

จุดประสงค์ของการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสร คือ เพื่อเตรียมแก้ปัญหาในการผสมเกสรของคู่ผสมต่างพันธุ์กัน ซึ่งอาจจะมีช่วงเวลาของการบานดอกแตกต่างกัน โดยการเก็บละอองเกสรแล้วรักษาไว้ในสภาพที่เหมาะสมโดยให้มีผลต่อความมีชีวิตและความสมบูรณ์ของละอองเกสรให้น้อยที่สุด แล้วนำละอองเกสรไปผสมตามช่วงเวลาที่ต้องการได้

การศึกษาพบว่า ในสภาพอุณหภูมิห้องละอองเกสรของทั้ง 3 พันธุ์สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 1-3 วัน โดยมีการงอกของละอองเกสร 50 % ขึ้นไป แต่ถ้าเก็บนานถึง 6 วันความสามารถในการงอกจะลดลงเป็น 20-50 % และความสามารถในการงอกจะหมดไปในวันที่ 10 ของการเก็บรักษา ส่วนการเก็บรักษาในสภาพที่เย็น (5 ^{o} ซ) พบว่า สามารถรักษาความมีชีวิตของละอองเกสรได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยที่ละอองเกสรของทั้ง 3 พันธุ์สามารถที่จะงอกได้ 50 % ขึ้นไป ถ้าเก็บไว้นานไม่เกิน 21 วัน และการเก็บรักษาแม้จะเก็บไว้นานถึง 45 วัน ละอองเกสรก็จะยังสามารถงอกได้ 20-50 % แต่หลังจากนั้นความงอกของละอองเกสรจะลดลงมากจนกระทั่งหมดไปหลังจากเก็บรักษาไว้ 78 วัน

อย่างไรก็ตามจากรายงานของสมศรี (2538) ซึ่งกล่าวว่าในการผสมเกสรพืชโดยทั่วไปนั้นละอองเกสรที่นำไปผสมควรจะมีความมีชีวิตในระดับที่มากกว่า 5 % เป็นต้นไป จึงควรจะต้องนำข้อมูลนี้ไปพิจารณาร่วมด้วยในการปฏิบัติถ้าจะต้องมีการนำละอองเกสรที่เก็บรักษาไว้ไปใช้ในการผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศ และก่อนที่จะมีการปฏิบัติงานจริงควรทำการศึกษาและทดสอบความสามารถในการงอกของละอองเกสรที่จะนำออกไปผสมควบคู่ไปด้วย

1.4 การผสมเกสร

จากการผสมเกสรว่านสี่ทิศ 3 พันธุ์ จำนวน 10 คู่ผสม พบว่า มีคู่ผสมที่ผสมติดและสามารถนำเมล็ดไปเพาะได้ 5 คู่ผสม คือ R x P, R x O, O⊗, O x O และ O x R ซึ่งทั้ง 5 คู่ผสมนี้มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดค่อนข้างสูง แต่ก็มีเปอร์เซ็นต์การฝ่อของฝักสูงเช่นกัน ฝักของว่านสี่ทิศจะแก่ภายใน 24-28 วัน เมล็ดแก่มีสีดำ เมล็ดของคู่ผสมที่มีพันธุ์ Orange Sovereign เป็นต้นแม่ (O⊗, O x O และ O x R) มีความสมบูรณ์ของเมล็ดดีกว่าเมล็ดในคู่ผสมที่มีพันธุ์พื้นบ้านเป็นต้นแม่ (R x P และ R x O) เมื่อนำไปเพาะจะงอกภายใน 14-20 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดเป็น 69.04 % ในคู่ผสม O x R และต่ำสุดในคู่ผสม R x P คือ มีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 31.42 % ต้นกล้าลูกผสมจากทุกคู่ผสมมีอัตราการรอดตายสูงหลังจากย้ายปลูก

ในสภาพธรรมชาติพบว่า ว่านสี่ทิศสามารถจะติดเมล็ดได้แต่มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดที่ต่ำมาก การผสมเกสรว่านสี่ทิศด้วยมือจากการทดลองนี้ พบว่า ประสบผลสำเร็จในบางคู่ผสมและมีเปอร์เซ็นต์การผสมติดค่อนข้างสูง และยืนยันได้ว่าสามารถสร้างลูกผสมระหว่างว่านสี่ทิศพันธุ์ต่างประเทศกับว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นบ้านดอกสีแดงได้จากเทคนิคและวิธีการปฏิบัติดังเสนอไว้ในข้อ 1.2.4.3 ในบทที่ 3 นอกจากนี้ยังพบว่าการผสมระหว่างพันธุ์จากต่างประเทศด้วยกันก็ได้ผลอีกด้วย ทั้งนี้ถ้าสรุปจากผลการทดลองจะเห็นว่า ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นบ้านที่นำมาทดลองนั้นผสมตัวเองไม่ติดไม่ว่าจะเป็นการผสมภายในดอกเดียวกันหรือข้ามดอกก็ตาม แต่สามารถจะผสมติดกับพันธุ์ต่างประเทศทั้ง 2 พันธุ์ถ้าใช้เป็นแม่พันธุ์ สำหรับการใช้เป็นพ่อพันธุ์นั้นจะผสมติดเฉพาะกับพันธุ์ Orange Sovereign เท่านั้น สำหรับพันธุ์ Apple Blossom พบว่า ได้ผลคล้ายคลึงกับพันธุ์พื้นบ้าน คือผสมตัวเองไม่ติดแต่เมื่อผสมกับพันธุ์พื้นบ้านจะผสมติดถ้าใช้เป็นพ่อพันธุ์ ส่วนพันธุ์ Orange Sovereign นั้นพบว่าผสมติดในทุกกรณี ด้วยเหตุที่ต้นพันธุ์ของพันธุ์ Orange Sovereign มีในจำนวนจำกัดจึงไม่เพียงพอที่จะใช้ผสมกับพันธุ์ Apple Blossom ดังนั้นจึงไม่มีคู่ผสม O x P และ P x O

โดยสรุปจากการทดลองนี้จะเห็นว่า พันธุ์พื้นบ้านดอกสีแดงนั้นน่าจะเป็นต้นแม่พันธุ์ที่ดี ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดสูง พันธุ์ Orange Sovereign นั้นเป็นได้ทั้งแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ที่ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดค่อนข้างสูงเช่นกัน แต่พันธุ์ Apple Blossom นั้นผสมยาก

การที่พบว่าพันธุ์พื้นบ้านดอกสีแดงผสมตัวเองไม่ติดนั้น น่าจะพิจารณาถึงปัญหาของการเกิด self – incompatibility เนื่องจากผสมตัวเองทั้งผสมภายในดอกเดียวกันและผสมข้ามต้นไม่ติด แต่ก่อนที่จะยืนยันว่าว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นบ้านที่ทดลองนี้เป็นพวกที่ผสมตัวเองไม่ติดนั้นควรจะต้องมีการศึกษาซ้ำอีกเพื่อทราบข้อมูลเพิ่มเติม ส่วนในพันธุ์ Apple Blossom ซึ่งพบว่าไม่ประสบความสำเร็จในการผสมเมื่อใช้เป็นต้นแม่พันธุ์นั้น จากการนำรังไข่หลังจากการผสมเกสรแล้วไปศึกษาเนื้อเยื่อรวมทั้งการวัดขนาดของรังไข่ดังกล่าวเป็นระยะๆ พบว่า ในระยะแรกหลังจากการผสมเกสร มีการขยายขนาดของรังไข่เพียงเล็กน้อย จากนั้นจะเกิดการฝ่อของรังไข่ ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Khaleel and Siemsen (1989) ที่ได้รายงานว่า ว่านสี่ทิศลูกผสมพันธุ์ Apple Blossom, Basuto, Lucky Strike และ Red Strike จะเกิดการสลายตัวของ embryo sac ที่ระยะต่าง ๆ ของการเจริญและพัฒนา ซึ่งเป็นสาเหตุที่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดต่ำมาก หรือ ไม่ติดเมล็ดเลย ซึ่งในกรณีของพันธุ์ Apple Blossom ถ้าหากจะต้องการใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์แล้วควรจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐานในขั้นตอนของการผสมพันธุ์และการติดเมล็ด เพื่อจะได้หาวิธีแก้ปัญหาเกี่ยวกับการสลายตัวของ embryo sac ต่อไป

นอกจากปัจจัยทางด้านลักษณะโครงสร้างและสรีรวิทยาที่แตกต่างกันของแต่ละพันธุ์ดังที่กล่าวมาแล้ว ผลทางด้านปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น ช่วงเวลาการผสม ผลของอุณหภูมิและความชื้นของบรรยากาศในขณะผสมก็อาจจะเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผสมติดได้เช่นกัน นอกจากนี้ผลทางด้านกายภาพ เช่น การกระทบกระเทือนของดอกในขั้นตอนต่างๆ ของการผสม นับตั้งแต่การทำหมันดอก การผสมดอก ตลอดจนการคลุมดอกก็อาจจะเป็นปัจจัยที่มีผลให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดลดลงได้

ส่วนช่วงเวลาในการผสมนั้น พบว่า สามารถจะผสมเกสรได้ผลในช่วงเวลา 08.00-10.00 น ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ค่อนข้างยาวทำให้ไม่เป็นข้อจำกัดให้ต้องมีการรีบเร่งในการผสม แต่อย่างไรก็ตามควรจะเลือกผสมเกสรในช่วงเช้าที่อากาศไม่ร้อนหรือชื้นจนเกินไป

การที่มีอัตราการฝ่อของฝักค่อนข้างสูงในช่วงแรกของดอกที่ผสมติดแล้วนั้น อาจเป็นผลทางด้านสรีรวิทยาของพืช คือ ผสมติดเมล็ดได้แต่พัฒนาต่อไม่ได้มีผลให้ฝักฝ่อและเมล็ดลีบ และเมื่อความสมบูรณ์ของเมล็ดต่ำก็ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดต่ำลงไปด้วย ซึ่งจะเห็นได้จากคู่ผสมที่มีพันธุ์พื้นบ้านเป็นต้นแม่พันธุ์ (R x P และ R x O) ซึ่งถ้าหากเกิดปัญหาดังกล่าวในคู่ผสมที่มีคุณค่าควรแก่การได้ลูกผสมก็น่าจะต้องมีความจำเป็นในการศึกษาต่อเนื่องในด้านการช่วยให้ฝักอ่อนมีการเจริญเติบโตต่อ โดยศึกษาการใช้เทคนิคการเพาะ embryo culture ดังเช่นที่ปฏิบัติกันในกล้วยไม้ต่อไป

ในการศึกษาการผสมเกสรว่านสี่ทิศครั้งนี้มีปัญหาทางกายภาพอีกอย่างหนึ่ง คือ ก้านช่อดอกของดอกที่ผสมติดแล้วนั้นหักพับก่อนที่ฝักจะแก่เต็มที่ ถึงแม้การหักพับของก้านช่อดอกนั้นจะไม่รุนแรงมากนัก และสามารถที่จะค้ำยันก้านช่อดอกส่วนใหญ่เอาไว้ได้จนได้ฝักแก่ก็ตาม แต่ถ้าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมในทางปฏิบัติดูแลเพื่อเป็นการปรับปรุงก้านช่อดอกให้แข็งแรงก็จะช่วยให้การผสมพันธุ์ได้ผลสำเร็จดีมากยิ่งขึ้น

1.5 การศึกษาเซลวิทยาของลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์

ผลการศึกษาเซลวิทยาในการทดลองนี้ยืนยันเทคนิคของการเตรียมตัวอย่างปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมของว่านสี่ทิศโดยดวงทิพย์ (2539) ว่าเป็นเทคนิคที่เหมาะสม ทำให้การศึกษาโครโมโซมของว่านสี่ทิศที่ทำการทดลองได้ผลสำเร็จโดยไม่มีอุปสรรคใดๆ และนอกจากนี้ยังได้ข้อมูลเกี่ยวกับเทคนิคปลีกย่อยเพิ่มเติมไปจากดวงทิพย์ (2539) อีกว่า ช่วงเวลาที่ปลายรากมีเซลจำนวนมากที่อยู่ในระยะของการแบ่งตัวนั้นกว้างขึ้น จากเดิม 09.30 น เป็น 09.30-10.00 น ส่วนการหยุดวงชีพของเซลโดยการนำปลายรากที่เก็บมานั้นไปแช่ไว้ในสารละลาย PDB พบว่า การเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ

ประมาณ 10 °ซ เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง จะได้เซลที่มีโครโมโซมหดสั้นง่ายต่อการศึกษาโครโมโซมมากกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 10 °ซ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ส่วนการรักษาเนื้อเยื่อปลายรากในน้ำยา fixative การทำให้เซลแยกออกจากกัน สีที่ใช้ย้อมโครโมโซมตลอดจนระยะเวลาที่ใช้ในการย้อมสีนั้น พบว่า ได้ผลเช่นเดียวกันกับที่ดวงทิพย์ (2359) ได้ศึกษาไว้

จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของว่านสี่ทิศที่ทำการทดลอง พบว่า พันธุ์ที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ คือ พันธุ์พื้นบ้านดอกเล็กสีแดง (R) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 พันธุ์ Apple Blossom (P) และพันธุ์ Orange Sovereign (O) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 44 สอดคล้องกับรายงานของดวงทิพย์ (2539) และ วนิดา (2523) ที่รายงานไว้ว่า ว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองที่พบในประเทศไทย เช่น แดงปากช่อง มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 ส่วนพันธุ์ต่างประเทศ เช่น Adonis Rilona, Apple Blossom, Orange Sovereign และ Telstar มีจำนวนโครโมโซม 2n = 44 และพันธุ์ Red Lion มี 2n = 43 ส่วนลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์นั้น พบว่า คู่ผสม R x P, R x O, O x R, O⊗ และ O x O มีจำนวนโครโมโซม 2n = 33, 2n = 34, 2n = 36, 2n = 44 และ 2n = 44 ตามลำดับ

จากการศึกษาครั้งนี้และการศึกษาของดวงทิพย์ (2539) ซึ่งได้เปรียบเทียบขนาดและรูปร่างของโครโมโซมจาก idiogram ของพืชทดลองทั้ง 3 พันธุ์ น่าจะยืนยันได้ว่าว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นบ้านดอกสีแดงเป็น diploid มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n = 2x = 22 และมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน คือ x = 11 และอีก 2 พันธุ์เป็น 2n = 4x = 44 และลูกผสมที่เกิดจากการผสมโดยใช้พันธุ์ 3 พันธุ์ดังกล่าวเป็นพ่อแม่พันธุ์นั้นน่าจะมีจำนวนโครโมโซมที่สอดคล้องกัน คือ ลูกผสมที่ได้จาก 2x x 4x น่าจะเป็น 2n = 3x และมีโครโมโซมเท่ากับ 33 และลูกผสมที่ได้จาก 4x x 4x น่าจะเป็น 2n = 4x และมีโครโมโซมเท่ากับ 44 แต่จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซมลูกผสมพบว่าเป็นไปตามหลักการเพียง 3 คู่ผสมคือ R x P, O⊗ และ O x O ส่วนคู่ผสม R x O และ O x R เกิดการผันแปรของจำนวนโครโมโซมมีผลทำให้จำนวนโครโมโซมผิดไปจาก 2n = 3x ในลักษณะเพิ่มจำนวนโครโมโซม โดยคู่ผสม R x O เป็น triploid ที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมา 1 แท่งในลักษณะ trisomy (2n=3x+1=34) ส่วนคู่ผสม O x R นั้นเป็น triploid ที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมา 3 แท่ง แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็น 2n = 3x + 1 + 1 +1 หรือ 2n = 3x + 2 +1 หรือ 2n = 3x + 3 จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมให้ละเอียดกว่านี้

การผันแปรในลักษณะของ aneuploidy ดังที่พบจากการทดลองนี้เมื่อใช้ต้นที่เป็น tetraploid เป็นพ่อแม่พันธุ์นั้น เป็นสิ่งที่น่าจะได้รับความสนใจในการผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศ เนื่องจากน่าจะได้ความผันแปรในลักษณะทางสัณฐานที่มีคุณค่าดังเช่นในพันธุ์ Red Lion ซึ่งเป็นพันธุ์ลูกผสมต่างประเทศมี 2n = 4x = 43 ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น และการผันแปรในลักษณะของ aneuploidy นี้น่าจะเกิดได้ง่ายในว่านสี่ทิศเมื่อใช้ต้นพ่อแม่พันธุ์ที่เป็น tetraploid ดังจะเห็นได้จากการทดลองนี้ว่าเกิด aneuploidy ได้ถึง 2 ลักษณะ อนึ่ง จากการศึกษาโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าโครโมโซมมีขนาดค่อนข้างใหญ่และติดสีย้อมชัดเจน น่าจะสามารถศึกษา karyotype ของโครโมโซมของลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ได้ไม่ยาก จึงน่าจะสนับสนุนการศึกษาความผันแปรดังกล่าวได้

การทดลองที่ 2 การขยายพันธุ์ว่านสี่ทิศจากหัว

การทดลองนี้สืบเนื่องมาจากการศึกษาของวัฒนาวดี (2542) ซึ่งรายงานไว้ว่าในสภาพธรรมชาติว่านสี่ทิศพันธุ์ดอกใหญ่จากต่างประเทศมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณหัวพันธุ์ค่อนข้างต่ำ กล่าวคือ เป็นพันธุ์ที่มีการสร้างหัวย่อยได้น้อยมากในแต่ละฤดูปลูกจึงศึกษาการเพิ่มปริมาณหัวพันธุ์โดยใช้เทคนิคการขยายพันธุ์โดยวิธีการพิเศษ คือ การผ่าหัว และพบว่าการผ่าหัวแบบ bulb cutting ให้ผลค่อนข้างดีเป็นที่น่าพอใจ ดังนั้นจึงได้นำเทคนิคของการขยายพันธุ์วิธีนี้มาศึกษาเพิ่มเติมในลักษณะของการผ่าหัวในช่วงเวลาต่างๆ ของวงจรการเจริญเติบโต โดยใช้พันธุ์ Apple Blossom ในการทดลอง

จากการศึกษาการขยายพันธุ์โดยการผ่าหัวแบบ bulb cutting ทุกๆ 1 เดือนเป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า ชิ้นแบ่งเกิดหัวย่อยขึ้นมาได้ในทุกกรรมวิธี โดยหัวย่อยเกิดออกมาจากเนื้อเยื่อของฐานหัวของชิ้นแบ่งบริเวณซอกกาบใบ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของพิกุล (2539) ซึ่งทำกับว่านมหาลาภ และ วัฒนาวดี (2542) ซึ่งทำกับว่านสี่ทิศ โดยที่การเกิดหัวย่อยบนฐานหัวของชิ้นแบ่งนั้นเกิดจากเนื้อเยื่อ meristematic tissue ที่บริเวณฐานของกาบใบและบริเวณฐานหัวถูกกระตุ้นให้สร้างตาพิเศษขึ้นมาและพัฒนาเป็นหัวย่อยได้ในเวลาต่อมา ซึ่งการเกิดหัวย่อยนั้นสามารถจะเกิดในตำแหน่งใดของชิ้นแบ่งก็ได้และลักษณะการเกิดและการพัฒนาของหัวย่อยเป็นแบบเดียวกับที่เกิดหัวย่อยในหัวของต้นที่กำลังมีการเจริญเติบโตในลักษณะปกติ

ในการทดลองนี้กรรมวิธีการผ่าหัวซึ่งมี 7 กรรมวิธีด้วยกันนั้นได้วางแผนการทดลองโดยพิจารณาจากความสำเร็จของการทดลองของวัฒนาวดี (2542) จากขนาดและสภาพของหัวพืชทดลองและจากสภาพความเป็นจริงของปัญหาในการปฏิบัติในทางการค้า จึงเลือกขนาดของหัวของพืชทดลองออกเป็น 4 ขนาด (A, B, C และ D) และเลือกกรรมวิธีการผ่าหัวให้ได้ชิ้นแบ่งที่ไม่เล็กจนเกินไปซึ่งจะให้ผลด้อยจนเกินกว่าจะนำมาใช้เป็นวิธีปฏิบัติที่เหมาะสม ดังที่วัฒนาวดี (2542) ได้รายงานไว้ และเป็นเหตุผลที่ว่าหัวที่มีขนาดเล็กจะใช้กรรมวิธีการผ่าให้เป็นน้อยชิ้นไม่ผ่าให้ได้หลายชิ้นดังเช่นการผ่าหัวที่มีขนาดใหญ่ ส่วนหัวขนาด D ซึ่งเป็นหัวขนาดเล็กที่สุดนั้นมีกรรมวิธีการผ่าวิธีเดียว คือ ผ่าเป็น 4 ชิ้นต่อหัว เนื่องจากปริมาณของหัวขนาดนี้มีจำกัดไม่สามารถจะแบ่งเป็นการผ่าอีก 1 กรรมวิธีได้

ผลการทดลองพบว่า ในแง่ของจำนวนหัวใหม่ที่ได้ต่อจำนวนหัวเดิมที่ผ่าแบ่งนั้น การผ่าหัวไม่ว่าจะทำในช่วงใดของปีจะได้ผลในลักษณะเดียวกันคือ การผ่ามากชิ้นได้จำนวนหัวใหม่ต่อหัวเดิมมากกว่า ส่วนขนาดของหัวที่ได้นั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่น้ำหนักของหัวรวมนั้นมีแนวโน้มที่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ยกเว้นการทดลองที่ทำในเดือนมิถุนายน กรกฎาคม และตุลาคม โดยที่ผลการทดลองในเดือนมิถุนายนและกรกฎาคมนั้นเป็นไปในลักษณะเดียวกันคือ น้ำหนักของหัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อพิจารณาถึงผลที่ได้ในภาพรวมแล้ว จะเห็นได้ว่าผลการทดลองที่ได้ในแต่ละเดือนที่ทำการทดลองนั้น กรรมวิธีไม่ได้มีอิทธิพลต่อขนาดของหัวที่ได้และน้ำหนักหัวที่ได้มากนัก แต่จะมีผลต่อจำนวนหัวที่ได้มากกว่าและเห็นได้ชัดเจน ดังนั้นจึงทำให้ง่ายต่อการพิจารณาเลือกใช้กรรมวิธีการผ่ามากขึ้น โดยที่ถ้าจะขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนหัวพันธุ์เพิ่มมากในเวลาอันสั้นก็น่าจะต้องเลือกใช้หัวขนาด A และผ่าออกเป็น 16 ชิ้น โดยเลือกทำในช่วงเดือนกุมภาพันธุ์ – เมษายน ซึ่งจะให้ปริมาณหัวที่ได้สูงกว่าช่วงเวลาอื่น ๆ และเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการปฏิบัติ คือ เป็นช่วงที่อยู่ในระยะพักตัวของหัวและหลีกเลี่ยงการปฏิบัติในช่วงเดือนสิงหาคม – ธันวาคม เนื่องจากให้ปริมาณหัวที่ได้ต่ำกว่ามาก แต่ถ้าจะต้องเก็บหัวขนาด A ไว้เพื่อปลูกผลิตดอกก็ควรจะใช้หัวขนาด B และ C ในการขยายพันธุ์แทน แต่ผลผลิตที่ได้จะน้อยกว่าหัวขนาด A เกือบ 1 เท่า หัวขนาด B และ C ให้ผลผลิตที่ได้จากการผ่าหัวดูจะไม่แตกต่างกันมากนักแม้จะไม่ได้เปรียบเทียบโดยใช้สถิติก็ตาม และผลผลิตที่ได้จากการผ่าในแต่ละเดือนก็เป็นแนวโน้มเดียวกันกับหัวขนาด A ส่วนหัวขนาด D ผ่า 4 ชิ้น ให้ผลทัดเทียมกับหัวขนาด C ผ่า 4 ชิ้น แต่ถ้าผ่าหัวขนาด D ออกเป็น 8 ชิ้น คาดว่าคงจะให้ผลน้อยกว่าหัวขนาด

C ผ่าเป็น 8 ชิ้น เนื่องจากชิ้นแบ่งจะมีขนาดเล็กมากและคงจะสอดคล้องกับผลการทดลองของวัฒนาวดี (2542)

จากผลการทดลองที่ได้ทั้ง 2 การทดลองดังกล่าวแล้วข้างต้น จะเห็นว่าบรรลุถึงจุดประสงค์ของการศึกษาทดลองที่มุ่งหวังไว้คือได้ทราบข้อมูลที่ต้องการศึกษา คือ

1. การขยายพันธุ์จากเมล็ด ทำได้ไม่ยากเนื่องจากเมล็ดของว่านสี่ทิศมีขนาดใหญ่ และไม่มีระยะพักตัว การเพาะเมล็ดโดยวิธีการเพาะเมล็ดทั่วไปได้ผลสำเร็จ และเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูง ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดี

2. การขยายพันธุ์โดยการผ่าหัวแบบ bulb cutting เป็นวิธีการที่ได้ผล หัวทุกขนาดที่ทำการทดลองเมื่อนำไปผ่า ทุกชิ้นแบ่งสามารถสร้างหัวใหม่ขึ้นได้ในปริมาณ 1-2 หัวต่อชิ้นแบ่ง หัวที่ทำการทดลองที่มีขนาดเส้นรอบวงของหัว 12.1 –18.0 ซม การผ่ามากชิ้นให้ผลผลิตของหัวใหม่มากกว่าการผ่าน้อยชิ้น จึงขึ้นอยู่กับจุดประสงค์และวัตถุดิบที่มีว่าจะเลือกใช้หัวขนาดใดในการขยายพันธุ์

นอกจากผลการทดลองหลักดังกล่าวแล้วนี้ ยังได้ข้อมูลพื้นฐานหลายด้านที่สามารถนำไปวางแผนในการศึกษาทดลองต่อเนื่องเกี่ยวกับการผสมพันธุ์ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ว่านสี่ทิศ เพื่อให้ได้ลูกผสมพันธุ์ใหม่ที่เหมาะสมสำหรับเป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางต่อไปในอนาคต