



การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงิน (*Dendrobium draconis* Rchb.f.) และเอื้องแซะ (*D. scabrilingue* Lindl.) ในหลอดทดลอง

IN VITRO PROPAGATION OF *DENDROBIUM DRACONIS* RCHB.F. AND *D. SCABRILINGUE* LINDL.

KOULABTHONG BOUASAVANH

การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงิน (*Dendrobium draconis* Rchb.f.) และเอื้องแซะ (*D. scabrilingue* Lindl.) ในหลอดทดลอง



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

IN VITRO PROPAGATION OF *DENDROBIUM DRACONIS* RCHB.F.AND *D.*
SCABRILINGUE LINDL.



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF EDUCATION
(Biology)

Faculty of Science, Srinakharinwirot University

2019

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงิน (*Dendrobium draconis* Rchb.f.) และเอื้องแซะ (*D.*

scabrilingue Lindl.) ในหลอดทดลอง

ของ

KOULABTHONG BOUASAVANH

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร.รักษนก โคโต)

ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ พรพิสุทธิ
มาศ)

ชื่อเรื่อง	การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงิน (<i>Dendrobium draconis</i> Rchb.f.) และ เอื้องแซะ (<i>D. scabrilingue</i> Lindl.) ในหลอดทดลอง
ผู้วิจัย	KOULABTHONG BOUASAVANH
ปริญญา	การศึกษามหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. รักชนก โคโต

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะในหลอดทดลอง โดยการเพาะเมล็ดของกล้วยไม้ 2 ชนิดบนอาหาร Vacin และ Went (1949) พบว่าเมล็ดพัฒนาเติบโตเป็นโปรโตคอร์มได้ และการชักนำให้เกิด Potocorm-like bodies (PLBs) โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzyladenine (BA) ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าในอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดดีที่สุด 4.01 กรัมต่อชิ้นส่วนพืช และยังพบว่าในอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำ PLBs เอื้องแซะดีที่สุด 12.40 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนพืช จากนั้นนำ PLBs มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างกัน พบว่าในอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ ชักนำเกิดต้นอ่อนเอื้องแซะอย่างรวดเร็วและช่วยเพิ่มจำนวน PLBs เอื้องเงินจำนวนมากขึ้น อย่างไรก็ตามเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ จึงนำต้นอ่อนกล้วยไม้ 2 ชนิด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำมะพร้าว น้ำมะเขือเทศ มันฝรั่งบด กล้วยหอมบด และผสมรวมกัน พบว่าอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่ง ชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด ส่วนเอื้องเงินพบว่า อาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าวชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด การนำต้นอ่อนออกปลูกในวัสดุปลูก พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินย้ายออกปลูกในกาหมะพร้าวสับหรือไฮโดรทรอน มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนเอื้องแซะที่ปลูกในสแฟกนัมมอสมีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดคิดเป็น 87 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : การขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง กล้วยไม้เอื้องเงิน กล้วยไม้เอื้องแซะ สารประกอบอินทรีย์

Title	<i>IN VITRO</i> PROPAGATION OF <i>DENDROBIUM</i> <i>DRACONIS</i> RCHB.F.AND <i>D. SCABRILINGUE</i> LINDL.
Author	KOULABTHONG BOUASAVANH
Degree	MASTER OF EDUCATION
Academic Year	2019
Thesis Advisor	Dr. Rakchanok Koto

The purpose of this study was to focus on *in vitro* propagation of *Dendrobium draconis* Rchb.f. and *D. scabrilingue* Lindl. Seeds were applied to Vacin and Went medium (VW) to produce protocorms. Protocorm-like bodies (PBLs) were then induced by culturing the protocorms on VW liquid medium and containing various concentrations of 6-benzyladenine (BA). It was found that *D. draconis* Rchb.f. grown in medium with a concentration of 1 mg / L BA produced the best fresh weight 4.01 gram per gram of protocorm, whereas *D. scabrilingue* Lindl. had the highest number of PLBs 12.43 PLBs per protocorm in VW medium, containing 2 mg / L BA. Subsequently, PLBs were cultured in liquid medium with different concentrations of sucrose. The VW medium with 1% sugar induced seedlings of *D. scabrilingue* Lindl. and also produced a large number of PLBs of with *D. draconis* Rchb.f. Thereafter, both types of orchid seedlings were cultured on VW media containing various organic additives: coconut water, tomato juice, mashed potato and mashed banana respectively, plus a mixture of all of them. It was found that VW supplemented with potato induced the most growth in the case of *D. scabrilingue* Lindl. However, *D. draconis* Rchb.f., was observed that VW containing coconut water induced the best growth. The mature plants of *D. draconis* Rchb.f. planted in a greenhouse in medium of coconut coir and hydroton had the same results had the highest survival rate at 90% , while *D. scabrilingue* Lindl. grown in sphagnum moss achieved a survival rate of 87%.

Keyword : In vitro propagation *Dendrobium draconis* Rchb.f. *D. scabrilingue* Lindl.
organic additives



กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. รักชนก โคโต ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ซึ่งได้ให้ความรู้ คำแนะนำ รวมถึงการดูแลจนสามารถทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จอย่างสมบูรณ์ด้วยความเมตตากรุณาช่วยเหลือและความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ตลอดจนการให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง สำหรับการปรับแก้ไขข้อบกพร่อง จากกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ ประธานกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ที่ให้ความเมตตากรุณาเป็นที่ปรึกษาในการศึกษาค้นคว้าและให้ความช่วยเหลือชี้แนะแนวทางในการปฏิบัติในสิ่งที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและการทำปริญญานิพนธ์นี้ด้วยความเอาใจใส่ตลอดมา รวมทั้ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ กรรมการสอบปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมแก่ผู้วิจัย ทำให้เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงแก้ไขปริญญานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ผู้วิจัยขอกราบ ขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ ขอกราบขอบพระคุณกรมความร่วมมือระหว่างประเทศ (Thailand International Cooperation Agency TICA) เป็น ผู้ให้ทุนการศึกษาในครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์และกรรมการบริหารหลักสูตรการศึกษามหาบัณฑิต สาขา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่าง ๆ ให้แก่ผู้วิจัย ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และครอบครัว รวมถึงบุคคลอีกหลายท่านที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ ณ ที่นี้ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอรำลึกถึงคุณบิดามารดาและครูอาจารย์ที่อบรมสอนให้ความรู้เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา

KOULABTHONG BOUASAVANH

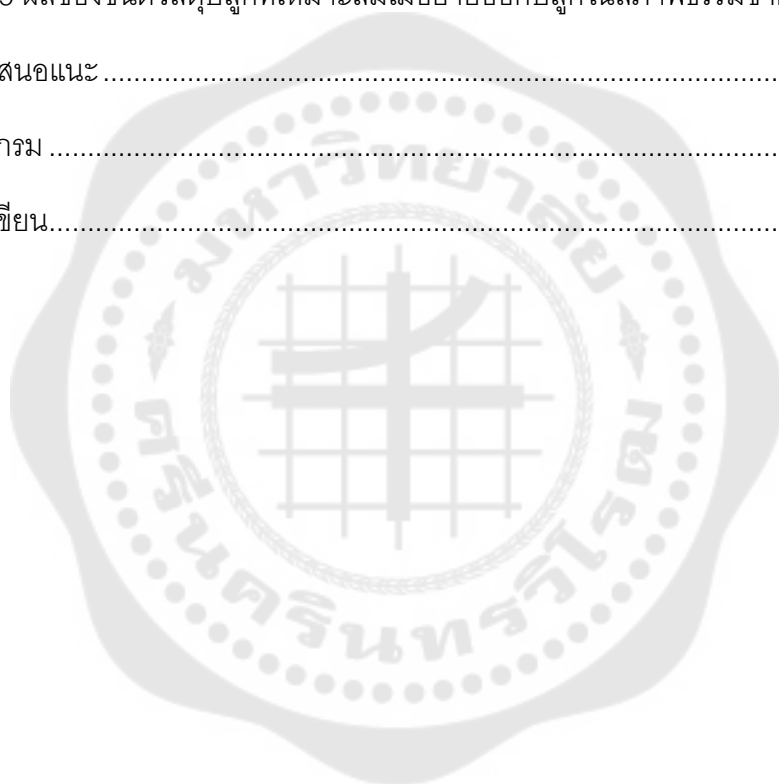
สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ข
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1. ภูมิหลัง	1
2. ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	3
3. ความสำคัญของการวิจัย	3
4. ขอบเขตของการวิจัย	3
5. สถานที่ทำการวิจัย	4
6. ระยะเวลาที่ศึกษา	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
1. ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้	6
2. ลักษณะพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย	6
3. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเอื้องเงิน (<i>D. draconis</i> Rchb.f.)	8
4. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเอื้องแซะ (<i>D. scabrilingue</i> Lindl.)	10
5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้	12
6. ปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้	18
7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้	27

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	30
1. พืชที่ใช้ในการวิจัย.....	30
2. วัสดุและอุปกรณ์.....	30
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร	30
2.2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	31
2.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	31
2.4 สภาพในห้องเพาะเลี้ยง.....	31
2.5 สารเคมี (Reagent)	31
3. วิธีดำเนินการวิจัย	33
4. วิธีการทดลอง	34
4.1 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อชิ้นส่วนกล้วยไม้	34
4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ	34
4.3 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ.....	35
4.4 ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์	35
4.5 การปรับสภาพและชนิดของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ	36
5. การวิเคราะห์ผลการทดลอง	36
บทที่ 4 ผลการดำเนินการวิจัย	38
1. การฟอกฆ่าเชื้อผักของกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ.....	38
1.1. การฟอกฆ่าเชื้อผักของกล้วยไม้เอื้องเงิน.....	38
1.2. การฟอกฆ่าเชื้อผักของกล้วยไม้เอื้องแซะ.....	38

2. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ.....	39
2.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงิน	39
2.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องแซะ	41
3. ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ	43
3.1 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงิน	43
3.2 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะ	47
4. ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ	49
4.1. ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องเงิน	49
4.2. ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องแซะ	53
5. ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ	57
5.1. ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมของกล้วยไม้เอื้องเงิน	57
5.2. ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมของกล้วยไม้เอื้องแซะ	60
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	63
1. สรุปผลและอภิปรายผล	63
1.1 การเพาะเมล็ดเอื้องเงินและเอื้องแซะ	63

1.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้อง เงินและเอื้องแซะ.....	64
1.3 ผลของปริมาณน้ำตาตลฐุโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้อง เงินและเอื้องแซะ.....	65
1.4 ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนา เป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ.....	67
1.5 ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ	70
2. ข้อเสนอแนะ.....	72
บรรณานุกรม	2
ประวัติผู้เขียน.....	11



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ	12
ตาราง 2 สูตรอาหาร	32
ตาราง 3 ชนิดของวัสดุที่ใช้ปลูกต้นกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะในสภาพธรรมชาติ	36
ตาราง 4 ผลของ BA ต่อการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มของเอื้องเงินเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 6 สัปดาห์	40
ตาราง 5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวน PLBs กล้วยไม้เอื้องแซะ ...	42
ตาราง 6 ผลของน้ำตาลซูโครสเพาะเลี้ยง PLBs เอื้องเงินเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	45
ตาราง 7 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะ.....	48
ตาราง 8 ผลของอาหารและอาหารอินทรีย์ต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงิน...	51
ตาราง 9 ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะ	55
ตาราง 10 ผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเงินเมื่อปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	58
ตาราง 11 ผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องแซะเมื่อปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	61

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 สัณฐานวิทยาของเอื้องเงิน (<i>D. draconis</i> Rchb.f.) ก. ลักษณะวิสัย ข. ขน ค. ดอก ด้านหน้า ง. ดอกด้านข้าง และจ. ผล.....	9
ภาพประกอบ 2 สัณฐานวิทยาของเอื้องแซะ (<i>D. scabrilingue</i> Lindl.) ก. ลักษณะวิสัย ข. ขน ค. ดอกด้านหน้า ง. ดอกด้านล่าง จ. ดอกด้านข้าง ฉ. ดอกตูม และช. ผล.....	11
ภาพประกอบ 3 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของพืชเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.....	17
ภาพประกอบ 4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้เอื้องเงิน.....	33
ภาพประกอบ 5 ลักษณะผักกล้วยไม้เอื้องเงิน.....	34
ภาพประกอบ 6 ลักษณะโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องเงิน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ก. เอื้องเงิน 1 สัปดาห์ ข. เอื้องเงิน 9 สัปดาห์.....	38
ภาพประกอบ 7 ลักษณะของเมล็ดและโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ก. เอื้องแซะ 1 สัปดาห์ ข. เอื้องแซะ 9 สัปดาห์.....	39
ภาพประกอบ 8 โปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องเงินเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความ เข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	41
ภาพประกอบ 9 โปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความ เข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	43
ภาพประกอบ 10 PLBs เอื้องเงิน เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลทุกความเข้มข้นย้ายมา เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบดไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ และเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบดและผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 23 สัปดาห์.....	46
ภาพประกอบ 11 PLBs เอื้องแซะ เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลทุกความเข้มข้นย้ายมา เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด เป็นเวลา 15 สัปดาห์.....	49
ภาพประกอบ 12 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นเวลา 24 สัปดาห์ ก. น้ำมะพร้าว ข. มันฝรั่งบด ค. น้ำมะเขือเทศ ง. กล้วยหอมบด จ. สูตรผสม	52

ภาพประกอบ 13 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารอินทรีย์ทุกสูตร ย้ายมาเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อนสมบูรณ์. 53

ภาพประกอบ 14 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ก. น้ำมะพร้าว ข. มันฝรั่งบด ค. น้ำมะเขือเทศ ง. กล้วยหอมบด จ. สูตรผสม 56

ภาพประกอบ 15 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ 57

ภาพประกอบ 16 ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่โรงเรือน เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 59

ภาพประกอบ 17 ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องแซะย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 62

บทที่ 1

บทนำ

1. ภูมิหลัง

กล้วยไม้ (orchid) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) ซึ่งเป็นไม้ดอกที่มีความหลากหลายมากที่สุดกลุ่มหนึ่ง เป็นพืชอิงอาศัย (epiphytic plant) มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลกประมาณ 899 สกุล และมีประมาณ 27,000 ชนิด และกล้วยไม้ในสกุลหวาย (*Dendrobium* Sw.) มี 1,500 ชนิด (ณัฐพล จับสงวน, 2559) เป็นสกุลที่มีจำนวนมากที่สุดในวงศ์กล้วยไม้ มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนและเขตอบอุ่น กระจายพันธุ์ในแถบมหาสมุทรแปซิฟิกและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย พม่า ลาว และกัมพูชา กล้วยไม้เอื้องเงิน และเอื้องแซะเป็นกล้วยไม้ป่าชอบอากาศเย็น มักขึ้นตามดอยหรือในเทือกเขาสูง จัดเป็นพืชอนุรักษ์บัญชีที่ 2 ตามอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ เป็นพืชอนุรักษ์ในอนุสัญญาไซเตส (CITES; Convention on International Trade In Endangered Species of Wild Fauna and Flora) เป็นกล้วยไม้ถูกรุกรานและมีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ในธรรมชาติ (อาภรณ์ อุดมศิลป์, 2556) เนื่องจากเป็นกล้วยไม้ป่าที่มีดอกสวยงาม มีดอกหอม นิยมนำมาปลูกประดับ หายากและมีราคาแพง ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากมีคุณค่าทางยา เช่น ชาวจีนนิยมใช้ลำต้นของกล้วยไม้เอื้องเงินมาทำเป็นสมุนไพร และนำมาต้มน้ำเป็นน้ำชาช่วยบำรุงกำลัง หรือ ฝนน้ำกินแก้ไข้ได้ ส่วนดอกเอื้องแซะนั้นมีกลิ่นหอมคล้ายดอกพิกุล ส่งกลิ่นหอมได้ตลอดทั้งวันและดอกจะบานทนประมาณ 5-7 วัน (จิตราพรรณ พิสิฏ์, 2539) จากการทดลองสกัดกลิ่นหอมจากดอกเอื้องแซะเพื่อหาส่วนประกอบทางเคมีพบว่า สารหอมในดอกมี n-butanol สูงถึง 96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถนำสารหอมที่ได้ไปปรับปรุงสูตรผลิตน้ำหอมได้ (ประเทืองศรี สินชัยศรี และคณะ, 2538) แต่เนื่องจากปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ เกิดคลื่นความร้อน เกิดภัยแล้ง ฝนตกไม่ตรงฤดูกาล ผลภาวะในสภาพแวดล้อมทั้งในดิน แหล่งน้ำ และบรรยากาศ สภาพการณ์เหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม และแหล่งที่อยู่อาศัยของกล้วยไม้ นอกจากนั้นมนุษย์คือปัจจัยสำคัญที่ทำลายแหล่งอาศัยของกล้วยไม้เพื่อนำพื้นที่ใช้ประโยชน์ และมนุษย์ยังเก็บต้นกล้วยไม้ออกจากป่าเพื่อการค้า ประชากรกล้วยไม้ที่มีดอกสวยสะดุดตาจึงลดจำนวนลงอย่างมาก (อาภรณ์ อุดมศิลป์, 2556) โดยในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา มีการลักลอบจำหน่ายต้นกล้วยไม้ป่าทุกชนิดเป็นจำนวนมากรวมทั้งเอื้องเงินและเอื้องแซะด้วย โดยนำกล้วยไม้ทั้งสองชนิดออกมาจำหน่ายในท้องถิ่นและส่งให้พ่อค้าจากต่างประเทศมารับซื้อ เพื่อนำลำต้นไปเป็นสมุนไพรบำรุงกำลัง นำดอกมาปรุงสูตรผลิตน้ำหอม ทำยาแก้ไข้ และยัง

ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง (ณัชชา วิสุทธิเทพกุล, 2548) ซึ่งเป็นปัจจัยส่งผลให้อื้องเงินและเอื้องแซะมีปริมาณลดจำนวนลงไปเรื่อย ๆ อีกทั้งกล้วยไม้ทั้งสองชนิดนี้มีอัตราการงอกในธรรมชาติต่ำกว่าร้อยละ 0.1 เนื่องจากเมล็ดมีเพียงเอ็มบริโออยู่ในเปลือกเมล็ดบาง ๆ ไม่มีอาหารสะสม การงอกในธรรมชาติต้องอาศัยอาหารจากเชื้อรา mycorrhiza เพราะการขยายพันธุ์ในธรรมชาติแต่เพียงอย่างเดียวอาจทดแทนกับจำนวนการใช้ประโยชน์ที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วได้ และอาจจะสูญพันธุ์ได้ในระยะเวลาอันใกล้นี้ ดังนั้นจึงควรอนุรักษ์ให้มีปริมาณและความหลากหลายเพิ่มขึ้น ซึ่งหนึ่งในวิธีการอนุรักษ์คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถเพิ่มจำนวนพืชได้อย่างรวดเร็ว และจำนวนมากมีลักษณะเหมือนพันธุ์เดิมในสภาพที่ปลอดเชื้อ (วราภรณ์ ภูตะลุน, 2557) เมื่อพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะขยายพันธุ์และการปลูกเลี้ยงเอื้องเงินและเอื้องแซะในสภาพธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ แล้วนำไปส่งเสริมให้ประชาชนในพื้นที่ป่าที่มีฐานะยากจนได้ปลูกเลี้ยง จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถอนุรักษ์และพัฒนาเอื้องเงินและเอื้องแซะอย่างยั่งยืนได้ อีกทั้งยังสามารถลดปัญหาการลักลอบเก็บต้นออกมาจากป่าได้อีกทางหนึ่ง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องเงินได้มีรายงานมาก่อนหน้านี้โดย Rangsayatorn (2009) ศึกษาการขยายพันธุ์โดยใช้หน่ออ่อนที่ตัดตามขวางของเอื้องเงิน (*D. draconis* Rchb.f.) ในสภาพที่ปลอดเชื้อ โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลง MS เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และเพิ่มฮอร์โมน BA (6-benzyladenine) NAA (naphthalene acetic acid) และ kinetin ในความเข้มข้นที่ต่างกันเพื่อชักนำให้เกิด protocorm like bodies (PLBs) และมีรายงานว่า ภูมิรินทร์ คงมณี (2544) ศึกษาการงอกของเมล็ดเอื้องแซะและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องแซะหลวง (*D. scabrilingue* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าเมล็ดงอกได้ดีในอาหารดัดแปลงสูตร VW เมื่อย้ายต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เพิ่มวิตามินรวม 1 แคปซูลพบว่าต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีที่สุด จากนั้นศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีในสูตรอาหาร VW กับสภาพความเหลวและแข็งของอาหารสูตร VW พบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะหลวงเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร VW และเมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนในห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง 30-32 องศาเซลเซียสพบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันเมื่อย้ายต้นอ่อนออกปลูกพบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะหลวงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุดเมื่อใช้ยิมมะพร้าวเป็นวัสดุปลูก และ ณัชชา วิสุทธิเทพกุล (2548) ได้นำเมล็ดกล้วยไม้เอื้องแซะมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW เป็นเวลา 9 เดือน แล้วจึงนำโปรโตคอร์มมาชักนำให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร Knudson (1946) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมบด จำนวน 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง

บด 50 กรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้จำนวน 263 ต้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องสะยังอยู่ในวงจำกัด ใช้ระยะเวลานานในการเพาะเลี้ยงให้เป็นต้นอ่อน มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณมาก ซึ่งอาจมีความเสี่ยงให้เกิดลักษณะทางพันธุกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปจากต้นแม่ (Behar, 1995) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องสะจากเมล็ดในหลอดทดลองให้ได้ปริมาณมากและรวดเร็วโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตน้อยที่สุด เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์หายากในธรรมชาติสำหรับการอนุรักษ์และการใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

2. ความมุ่งหมายของงานวิจัย

เพื่อขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องสะจากเมล็ดในหลอดทดลองให้ได้ปริมาณมากและรวดเร็ว

3. ความสำคัญของการวิจัย

การพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องสะให้เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วเพื่อการขยายพันธุ์และอนุรักษ์คืนสู่ธรรมชาติต่อไป

4. ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้กำหนดขอบเขตของการวิจัยคือ

การเพาะเมล็ดเอื้องเงินและเอื้องสะเพื่อให้พัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม (protocorm) ในสภาพที่ปลอดเชื้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 18 และ 25 สัปดาห์ตามลำดับ จากนั้นศึกษาผลของ BA ที่ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเหลวสูตร VW เพื่อชักนำให้เกิด PLBs เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์โดยศึกษาผลของน้ำตาลในความเข้มข้นที่ต่างกัน 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลวสูตร VW เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และศึกษาผลของอาหารที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ ทั้ง 5 สูตรคือ VW ที่เติมน้ำมะพร้าว กล้วยหอมบด มันฝรั่งบด หรือน้ำมะเขือเทศ และเติมสารอินทรีย์ทั้ง 4 ชนิดรวมกันเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แล้วจึงศึกษาประเภทของวัสดุปลูก ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ (coconut coir) ไฮโดรตรอน (hydroton) สแฟกนัมมอส (sphagnum moss) ทำให้กล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุดในสภาพธรรมชาติ โดยจะศึกษาชนิดของวัสดุปลูกและอัตราการให้น้ำที่เหมาะสมเป็นเวลา 4 สัปดาห์

5. สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ตึก 10 ชั้น 5 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย
ศรีนครินทรวิโรฒ

6. ระยะเวลาที่ศึกษา

เริ่มทำการวิจัยและศึกษาตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ.2562 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2563
เป็นระยะเวลา 15 เดือน



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอหัวข้อต่อไปนี

1. ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้
2. ลักษณะพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย
 - 2.1 ระบบราก (roots)
 - 2.2 ลำต้น (stem)
 - 2.3 ใบ (leaf)
 - 2.4 ช่อดอกและดอก (inflorescence and flower)
 - 2.5 ฝักและเมล็ด (pod and seed)
3. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเอื้องเงิน (*D. draconis* Rchb.f.)
4. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเอื้องแซะ (*D. scabrilingue* Lindl.)
5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้
 - 5.1 ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้
 - 5.2 ประวัติของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้
 - 5.3 การขยายพันธุ์กล้วยไม้
 - 5.4 การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพที่ปลอดเชื้อ
 - 5.5 การพัฒนาทางสัณฐานของเนื้อเยื่อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
6. ปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้
7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

1. ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledonous plant) เป็นไม้ดอกที่อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) เป็นไม้ล้มลุกหรือเป็นพืชอิงอาศัย (epiphytic) ใบเดี่ยวเรียงสลับ ขอบเรียบ โคนใบแผ่ออกเป็นกาบ มีหัวเทียมแตกกอ (sympodial) และเป็นไม้หลายปีที่มีต้นเป็นกอแน่น จำพวกไม่มีเนื้อไม้ (perennial herb) มีรากแบบกึ่งอากาศ (semi-terrestrial) อาศัยบนต้นไม้ มีรากที่ช่วยในการยึดเกาะให้ติดแน่นกับต้นไม้ และยังสามารถลำเลียงอาหารมาเลี้ยงลำต้นได้ (ธนุชา บุญจรัส, 2547) ดอกเป็นดอกช่อ ดอกสมบูรณ์เพศ กลีบรวมมี 6 กลีบ พัฒนาไปเป็นกลีบเลี้ยง (sepal) 3 กลีบ อาจแยกหรือเชื่อมติดกัน มักคล้ายกับกลีบดอก กลีบดอก (petal) 3 กลีบ กลีบกลางเป็นปากที่เรียกว่า ปาก หรือ ลิบ (lip or labellum) มีรูปร่างและสีต่าง ๆ กัน แตกต่างจากกลีบข้าง (lateral sepal) 2 กลีบ มีเกสรเพศผู้ (stamen) และเกสรเพศเมีย (pistil) เชื่อมติดกันเป็นเส้าเกสร (column) อับเรณู (anther) เป็นกลุ่ม มี 2 หรือ 4 กลุ่ม รังไข่ (ovary) ใต้วงกลีบ ผัก (pod) แห้งแตกแบบแคปซูล มี 3 หรือ 6 แนวตะเข็บ เมล็ดคล้ายฝุ่นผงขนาดเล็ก จำนวนมาก กล้วยไม้มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลกประมาณ 899 สกุล ประมาณ 27,000 ชนิด (ณัฐพล จัปสงวน, 2559) ประเทศไทยนับเป็นแหล่งกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก พบว่ากล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* Sw.) เป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่เป็นที่รู้จักและนิยมปลูกกันเป็นจำนวนมากกล้วยไม้สกุลนี้พบตามธรรมชาติมากกว่า 160 ชนิดมีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันไป (สุมาลี ทองดอนอ, มานิตย์ ใจฉกรรจ์ และ ดวงเดือน ศรีโพทา, 2560; ออบฉันท ไทยทอง, 2543) แล้วยังมีความสำคัญในการใช้เป็นยาสมุนไพร นำมาต้มดื่มเป็นน้ำชาแก้ไข้ร้อนและช่วยบำรุงกำลัง เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางและน้ำหอมได้ด้วย (ประเทืองศรี สินชัยศรี และคณะ, 2538)

2. ลักษณะพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลหวาย

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* Sw.) เป็นสกุลใหญ่ที่สุดของวงศ์กล้วยไม้ มีลำลูกกล้วย (pseudobulb) เป็นปล้อง ๆ รากมีขนาดเล็กเป็นแบบรากกึ่งอากาศออกเป็นกระจุกที่โคนต้น ลำลูกกล้วย มีหลายรูปแบบหลายลักษณะและมีขนาดแตกต่างกัน ใบมีทั้งใบหนา ใบบาง ใบยาว ใบเล็กเรียงกลม ใบจะเกิดที่ข้อของปล้องสลับข้อไปทางซ้ายและขวาด้านข้างของลำต้น ลักษณะดอกมีกลีบเลี้ยง 3 กลีบยาวเท่า ๆ กัน แต่กลีบนอกคู่ล่างทั้ง 2 กลีบ โค้งเข้าหากันจนติดกับส่วนฐานเส้าเกสรทั้งสองข้าง เกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่า “เดือย” ยื่นออกไปทางด้านหลังของดอกคล้ายกับคาง เรียกส่วนเดือยหรือคางดอกนี้ว่า mentum ส่วนกลีบดอกและส่วนปากจะมีขนาด รูปร่าง สี สัน ต่างกันไปในแต่ละชนิด เกสรเพศผู้ (pollinium) มี 2 คู่ สีเหลืองเป็นกลุ่มเรณูที่ไม่มีก้านเชื่อม

ระหว่างคู่เล่าเกสรสั้น เช่น เอื้องสายน้ำผึ้งลาว เอื้องชะหลวง เป็นต้น ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนประกอบต่าง ๆ มีดังต่อไปนี้

2.1 ระบบราก (roots)

กล้วยไม้มีระบบรากฝอย (fibrous root) จำนวนมาก มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับเชื้อรา mycorrhiza ซึ่งอยู่ร่วมกันแบบภาวะพึ่งพาอาศัย (symbiosis) รากของกล้วยไม้มีการดูดซับธาตุอาหารได้ดี และที่ปลายรากของกล้วยไม้บางชนิดมีสีเขียวห่อหุ้มสามารถทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงได้ โดยเฉพาะกล้วยไม้ระบบรากกึ่งอากาศ เป็นระบบรากที่มีชั้นเซลล์ผิวของรากที่หนาผิวนอกเกลี้ยงไม่มีขนมีลักษณะคล้ายฟองน้ำ ทำให้เก็บและดูดน้ำได้มาก และสามารถนำน้ำไปใช้ตามเซลล์ผิวได้ตลอดความยาวของราก และมักมีรากแขนงใหญ่หยายอยู่กันอย่างหนาแน่นไม่มีขน รากมีขนาดเล็กกว่ารากอากาศ กล้วยไม้ระบบรากกึ่งอากาศ ได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* Sw.) เป็นต้น (นุชรรัฐ บาลลา, 2553; สลิล สิทธิสังกรณ์, 2549)

2.2 ลำต้น (stem)

กล้วยไม้มีลำต้นแท้จริง มีข้อ ปล้อง เหมือนพืชทั่วไป ที่ข้อมีตา ลำต้นแท้จะเจริญไปตามวัสดุปลูกและมีลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย เจริญขึ้นตรงรากกับลำต้น ทำหน้าที่สะสมอาหาร ลำลูกกล้วยติดกับเหง้าจะมีตาที่สมบูรณ์ 2 ตา เมื่อลำลูกกล้วยเจริญจนสุดลำ ตาที่โคนตาหนึ่งจะแตกออกมาเป็น ลำใหม่ ส่วนตาท่ออีกข้างหนึ่งพักตัว ลำที่เกิดขึ้นซึ่งเป็นลำที่มีอายุมากเรียกว่า ลำหลัง ส่วนลำที่แตกใหม่มีอายุน้อยกว่าเรียกว่าลำหน้า สำหรับตาที่อยู่ขอบบน ของลำที่เจริญเต็มที่ก็จะเปลี่ยนเป็นตาดอก (นันทิยา วรรณะภูติ, 2555)

2.3 ใบ (leaf)

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบของกล้วยไม้มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามชนิดของกล้วยไม้ นับตั้งแต่รูปร่าง สี ขนาด และความหนา (นันทิยา วรรณะภูติ, 2555) สามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามลักษณะของใบ เช่น ใบกลม (terete) ใบแบบนี้มีลักษณะเป็นทรงกระบอก มองดูคล้ายแท่งดินสอ ใบร่อง (semi-terete) และใบแบน (strap-leaf) ใบมีร่องตั้งอยู่ตรงกลางใบ และส่วนของขอบใบแผ่ออกกว้าง บางชนิดโค้งห้อยลงเล็กน้อย (สลิล สิทธิสังกรณ์, 2549)

2.4 ช่อดอกและดอก (inflorescence and flower)

ช่อดอกเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยชูดอกขึ้นให้เด่นเพื่อล่อแมลงให้มาผสมเกสร บางชนิดมีก้านช่อดอกสั้นมาก บางชนิดมีก้านช่อดอกยาว บางชนิดมีช่อดอกตั้งแข็ง (erect) บางช่อดอกมีดอกเดี่ยว ตำแหน่งที่ช่อดอกแทงออกที่ด้านข้างของหัวหรือลำต้น และจากช่อใบ กล้วยไม้มีดอกที่สมมาตรทางด้านข้าง (lateral symmetry) คือลักษณะเหมือนกันทั้งด้านขวาและด้านซ้าย ดอกเกิดตามข้อ

ใกล้ยอด เป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อสั้นแบบกระจุก ดอกกล้วยไม้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือ เกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน กลีบดอกกล้วยไม้มี 6 กลีบ แบ่งออกเป็น 2 ชั้น ชั้นนอกคือกลีบเลี้ยง (sepal) มี 3 กลีบ จะเห็นได้ชัดเมื่อคว่ำดอก แยกเป็นกลีบเลี้ยงบน (dorsal sepal) 1 กลีบ และกลีบเลี้ยงด้านล่าง (lateral sepal) 2 กลีบ สำหรับชั้นในคือกลีบดอก (petal) มี 3 กลีบ ประกอบด้วยกลีบดอกด้านข้าง (lateral petal) 2 กลีบอยู่ข้างบน กลีบคู่นี้จะมีขนาด รูปทรง สี สันเหมือนกัน และอีก 1 กลีบอยู่ข้างล่างและมีลักษณะแตกต่างไปอย่างชัดเจน กลีบล่างนี้มีชื่อเรียกเฉพาะว่า ปาก (นันทิยา วรรณะภูติ, 2555; อบจันทร์ ไทยทอง, 2543)

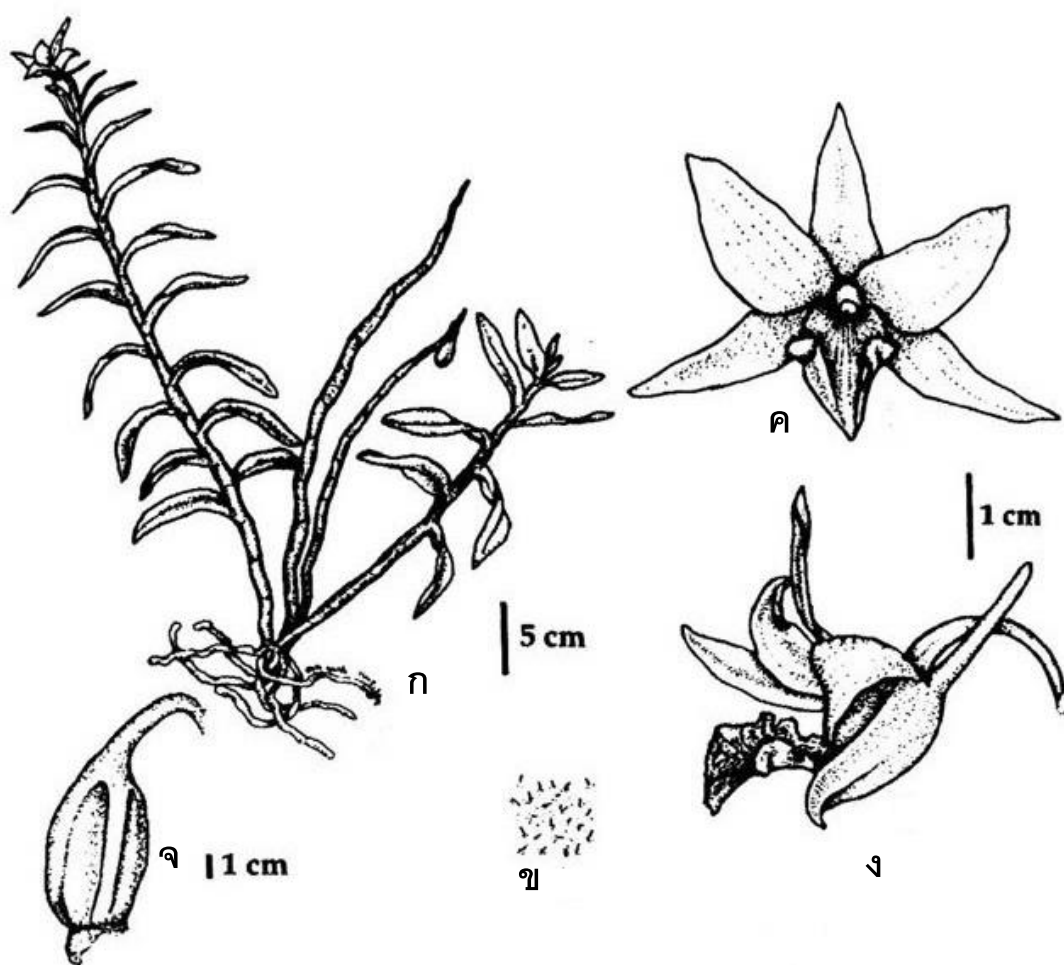
2.5 ฝักและเมล็ด (pod and seed)

ฝักหรือผล (pod) ของกล้วยไม้สกุลหวายมีหลายลักษณะ เช่น รูปรี รูปกลม เมื่ออ่อนอยู่จะเป็นสีเขียวแล้วค่อยเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล เมื่อแก่เต็มที่แล้วจะแตกตามแนวยาว 3 แนว ภายในมีเมล็ดที่มีขนาดเล็กมาก ลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองจำนวนมาก มีน้ำหนักประมาณ 0.3-14.0 ไมโครกรัม ซึ่งในหนึ่งฝักอาจมีเมล็ดตั้งแต่ 1,300- 4,000,000 เมล็ด เป็นเมล็ดที่ภายในไม่มีอาหารสะสม ในธรรมชาติเมล็ดจำนวนมากมีโอกาสงอกเจริญเป็นต้นใหม่ได้ไม่มากนัก เมล็ดที่งอกและเจริญเติบโตได้นั้นต้องปลิวไปตกในที่ที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม และมีราพวก mycorrhiza อยู่ด้วย ราพวกนี้จะมีเส้นใยเจริญเข้าไปในเมล็ด ทั้งราและเมล็ดหรือต้นอ่อนของกล้วยไม้จะอยู่ด้วยกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (อบจันทร์ ไทยทอง, 2551) ดังนั้นจึงอาศัยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการเพาะเมล็ด

3. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเอื้องเงิน (*D. draconis* Rchb.f.)

ลักษณะของลำต้นขึ้นเป็นกอ รูปทรงกระบอก ลำตรง ค่อนข้างแข็ง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2-1.7 เซนติเมตร สูง 60-80 เซนติเมตร ผิวลำอ่อนมีขนสั้นละเอียดสีดำนอกคลุม ลำต้นแก่มีกาบใบสีน้ำตาลเทาหุ้ม ใบเป็นรูปหอกแถบเรียวเว้ามนสลับตลอดต้น และลักษณะของใบเป็นรูปไข่แกม รูปรี ขนาด 5-8 × 2-3 เซนติเมตร ปลายหยักมนไม่เท่ากัน แผ่นใบหนาและเหนียว ใบจะสั้นกว่าช่อดอก ดอก ออกเป็นช่อตามข้อใกล้ปลายยอด จำนวน 3-5 ดอก ขนาด 3.5-4.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีขาว กลีบเลี้ยงบนมีรูปขอบขนานแกมรูปไข่ กลีบเลี้ยงคู่ข้างรูปสามเหลี่ยม โคนกลีบมีแต้มสีแดงอมแดงดอกบานเต็มที่กว้าง 6 เซนติเมตร มีกลิ่นหอม ผล หรือ ฝัก และ เมล็ด ลักษณะรูปรี เมื่ออ่อนอยู่จะเป็นสีเขียวแล้วค่อยเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและน้ำตาล เมื่อแก่เต็มที่แล้วจะแตกตามแนวยาว 3 แนว ภายในมีเมล็ดที่มีขนาดเล็กมาก ลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลือง จำนวนมาก อาจมีถึงล้านเมล็ด เป็นเมล็ดที่ภายในไม่มีอาหารสะสม (ภาพประกอบ 1) โดยทั่วไปแล้วกล้วยไม้เอื้องเงิน เป็นกล้วยไม้ป่าที่สวยงาม พบได้เกือบทุกภูมิภาค พบมากที่ภาคเหนือ ภาค

ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก นอกจากนี้กล้วยไม้เอื้องเงินเป็นกล้วยไม้ป่าชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกเพื่องานอดิเรก เป็นการพักผ่อน รู้สึกผ่อนคลายความตึงเครียดทางจิตใจ มีเสน่ห์เวลาพบเห็นดอกที่สวยงาม ส่งกลิ่นหอม นอกนั้นก็ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางยาสมุนไพรช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันร่างกาย บำรุงกำลัง แก้ไข้ได้ และกล้วยไม้นี้ยังมีความสามารถในการดูดสารพิษอีกด้วย (สลิล สิทธิสัจธรรม, 2549)

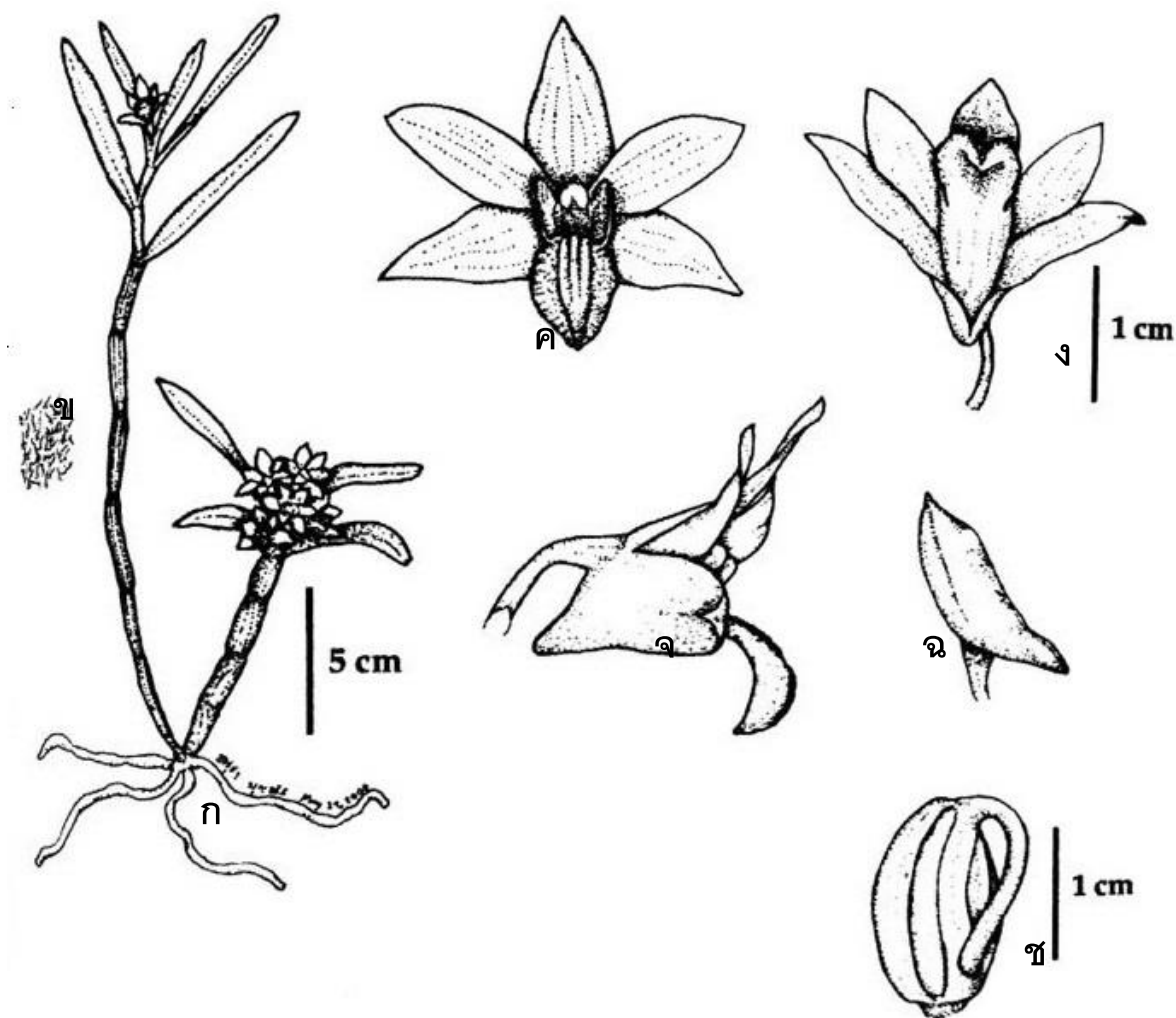


ภาพประกอบ 1 สันฐานวิทยาของเอื้องเงิน (*D. draconis* Rchb.f.) ก.ลักษณะวิสัย ข. ขน ค. ดอก ด้านหน้า ง. ดอกด้านข้าง และจ. ผล

ที่มา: อภิรดา สถาปัตยานนท์ (2551)

4. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเอื้องแซะ (*D. scabrilingue* Lindl.)

เอื้องแซะหรือเอื้องแซะหอม พบครั้งแรกในประเทศไทยมา ต่อมาในปี ค.ศ. 1859 Sir John Lindley ได้ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ว่า “*D. scabrilingue*” โดยชื่อระบุชนิดมีรากศัพท์มาจากภาษาละติน 2 คำคือ คำว่า scaber แปลว่า ขรุขระหรือสาก และ lingua แปลว่า ลิ้น หมายถึง ด้านบนของกลีบปากที่มีผิวขรุขระ หรือผิวสาก ลักษณะลำลูกกล้วยรูปทรงกระบอก มีทั้งสั้นจนถึงยาว และมีขนสากสีดำปกคลุม ขึ้นชิดกันเป็นกอ ใบรูปขอบขนาน ขนาด 2 x 6 เซนติเมตร ปลายเว้าลึก โคนใบเป็นกาบ ใบมีขนสีดำ ช่อดอกสั้นมักมีมากกว่า 1 ช่อดอก ขนาดประมาณ 1.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงเป็นรูปไข่ กลีบเลี้ยงคู่ข้างรูปสามเหลี่ยมเบี้ยว กลีบดอกรูปรีแกมรูปไข่ ทั้งห้ากลีบสีขาวปลายกลีบแหลมกลีบปากรูปรีกว้าง มีหูปากรูปสามเหลี่ยมตั้งชัน ปลายแหลม ผิวด้านบนขรุขระ กลางกลีบมีสันเดี่ยว ๆ กลีบสีเหลืองจนถึงสีเขียวแกมเหลือง เข้าเกสรสั้น สีขาว (ภาพประกอบ 2) เขตการกระจายพันธุ์อยู่แถบพม่า ไทย และ ลาว ประเทศไทยพบที่ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ตาก พิชณุโลก นครราชสีมา ตรวด และกาญจนบุรี ถิ่นอาศัยพบในป่าดิบเขา ทั้งในที่ร่มแสงแดดรำไรถึงแสงแดดจัด ที่ความสูง 600-1,200 เมตรจากระดับน้ำทะเล ฤดูออกดอก เดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ ช่วงออกดอกมีทั้งที่ทั้งใบ และไม่ทั้งใบ มีกลิ่นหอมแรงเพื่อล่อแมลงมาผสมเกสร (ประเทืองศรี ดินชัยศรี และ คณะ, 2538) ดังนั้น สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ พระบรมราชชนนีพันปีหลวง ทรงโปรดกลิ่นหอมของดอกเอื้องแซะมาก และเมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2540 ณ ลานจอดรถเฮลิคอปเตอร์ พระตำหนักภูพิงคราชนิเวศน์ ทรงมีพระราชดำรัสว่า “เอื้องแซะหอมเป็นกล้วยไม้ที่นับวันจะหายากและมีกลิ่นหอมมาก น่าจะสามารถนำมาสกัดเป็นน้ำหอมได้” จึงทรงมีพระราชเสาวนีย์ให้ดำเนินการดูแลรักษาพันธุ์เอื้องแซะ กล้วยไม้เอื้องแซะมีดอกที่สวยงาม มีกลิ่นหอมคล้ายดอกพิกุล ส่งกลิ่นหอมได้ตลอดทั้งวัน (จิตรพรพรณ พิลิก, 2539) จากการทดลองสกัดกลิ่นหอมจากดอกเอื้องแซะเพื่อหาส่วนผสมทางเคมีพบว่าสารหอมในดอกมี n-butanol สูงถึง 96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถนำสารหอมดังกล่าวไปปรับปรุงสูตรผลิตน้ำหอมได้ (ประเทืองศรี ดินชัยศรี และคณะ, 2538) นอกจากนี้ในอดีตมีการใช้ดอกเอื้องแซะเป็นเครื่องบรรณาการสำหรับแคว้นล้านนาไทย และในภาคเหนือนิยมนำดอกเอื้องแซะมาจัดเป็นสิ่งบรรณาการที่ล้ำค่าสำหรับบูชาและเคารพบูชาผู้ใหญ่ของชาวเชียงใหม่และแม่ฮ่องสอนในช่วงปีใหม่ ยังใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง (ณัชชา วิสุทธิเทพกุล, 2548)



ภาพประกอบ 2 สัณฐานวิทยาของเอื้องแซะ (*D. scabrilingue* Lindl.) ก. ลักษณะวิสัย ข. ขน ค. ดอกด้านหน้า ง. ดอกด้านล่าง จ. ดอกด้านข้าง ฉ. ดอกตูม และช. ผล

ที่มา: อภิรดา สถาปัตยานนท์ (2551)

จากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะนำมาสรุปได้ ดังตาราง 1

ตาราง 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

กล้วยไม้	ลำลูกกล้วย	ใบ	สีของดอก	ฤดูออกดอก	ลักษณะพิเศษ
เอื้องเงิน	ลำลูกกล้วย ลำต้นขึ้นเป็นกอรูปทรงกระบอก ลำตรง ค่อนข้างแข็ง	ใบเป็นรูปไข่แกมรูปรี ปลายหยักมนไม่เท่ากัน แผ่นใบหนาและเหนียว	กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีขาว กลีบเลี้ยงบนขนานแกมรูปไข่ กลีบเลี้ยงคู่ข้างรูปสามเหลี่ยมโคน กลีบมีแต้มสีแดงอมแดง	กุมภาพันธ์ถึง มีนาคม	มีกลิ่นหอม
เอื้องแซะ	ลำลูกกล้วยรูปทรงกระบอก มีทั้งสั้นจนถึงยาว และมีขนสากสีดำปกคลุม	ใบรูปขอบขนาน ปลายเว้า ลึกโคนใบเป็นกาบใบ มีขนสีดำ	ดอกสีขาวทั้งห้า กลีบสีขาวกลีบปากสีเหลือง จนถึงสีเขียวแกมเหลือง	พฤศจิกายนถึง กุมภาพันธ์	มีกลิ่นหอมแรง

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

5.1 ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ คือ การนำเอาชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้ เช่น เมล็ด หน่ออ่อน ช่อดอกอ่อน ใบและราก เป็นต้น โดยนำเอาชิ้นส่วนดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อ และนำไปชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ สิ่งสำคัญต้องทำในสภาพปลอดเชื้อ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นิยมใช้เพื่อการศึกษาวิจัยในด้านอุตสาหกรรม การผลิตเชิงพาณิชย์ ส่วนมากจะเป็นกล้วยไม้ตัดดอก (cut flower) และกล้วยไม้กระถาง (pot plant) การเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อช่วยเพิ่มจำนวนต้นในปริมาณมากได้รวดเร็ว และได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนต้นพ่อแม่เดิม แต่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ อาจมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นได้ โดยเปอร์เซ็นต์ของการกลายพันธุ์จะมากหรือน้อยขึ้นกับวิธีการในการชักนำให้เกิด PLBs ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้และลักษณะเด่นของพันธุ์กล้วยไม้ชนิดนั้น ๆ (จิตรภาพรณ พิลิก, 2550)

5.2 ประวัติของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีประวัติความเป็นมายาวนานคู่กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเดียวของการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้อย่างรวดเร็วในปี ค.ศ. 1849 David Moore เป็นนักวิทยาศาสตร์ท่านแรกศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้โดยใช้เชื้อรา mycorrhiza มาเลี้ยงร่วมกับกล้วยไม้แบบ symbiosis พบว่ารากของกล้วยไม้เจริญเติบโตดี ต่อมาในปี ค.ศ. 1899 Barnard ประสบความสำเร็จในการทดลองนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับ mycorrhiza ผลพบว่าเมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ในสภาพปลอดเชื้อ และ ในปี ค.ศ. 1946 Knudson ได้ศึกษาการงอกเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพที่ปลอดเชื้อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารวิทยาศาสตร์ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้เจริญเติบโตดี และพัฒนาเป็นต้นอ่อน ในปี ค.ศ. 1949 Vacin and Went ค้นพบสูตรอาหารเหมาะสมในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้พัฒนาไปเป็นต้นได้ และในปีเดียวกันนั้น Govino Rotor สามารถเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกของกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปปซิส (*Phalanopsis*) ให้เกิดเป็นต้นได้ และจุดเปลี่ยนที่สำคัญของการขยายพันธุ์กล้วยไม้คือ ในปี ค.ศ. 1960 Georges Morel ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium*) เพื่อการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณให้ได้จำนวนมาก โดยปลอดจากเชื้อไวรัส เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ชักนำให้เกิด PLBs (จิตรภาพรณ พิลิก, 2550) หลังจากนั้นเป็นต้นมา การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้รับการพัฒนาและมีความก้าวหน้าขึ้นไปมาก มีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้เมล็ด และเนื้อเยื่อเจริญจากส่วนยอดและตาข้างเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ การผลิตกล้วยไม้ปลอดไวรัส ตลอดจนการดัดแปลงพันธุ์กล้วยไม้ให้มีความหลากหลาย ยังช่วยเพิ่มปริมาณและเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้ด้วย (Laishram et al., 2019)

5.3 การขยายพันธุ์กล้วยไม้

การขยายพันธุ์กล้วยไม้ สามารถแบ่งได้ 2 แบบคือ แบบที่มีการผสมเกสรและเพาะเมล็ด (seed propagation) คือ การนำเมล็ดที่เกิดจากการผสมเกสรมาเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ต้นใหม่สามารถเพิ่มกล้วยไม้ได้เป็นจำนวนมาก แต่ต้นกล้วยไม้ที่ได้จะมีพันธุกรรมแตกต่างกันไปจากต้นพ่อแม่ อาจได้ต้นที่มีลักษณะเด่น หรือ ด้อยกว่าเดิม มีผลดีต่อการปรับปรุงพันธุ์ กับแบบที่ไม่มีการผสมเกสร (vegetative propagation) คือ การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้จาก

การผสมเกสรไปขยายพันธุ์ ซึ่งกล้วยไม้สกุลหวายนิยมใช้วิธีตัดตะเกียง แยกลำหน้า ลำหลัง หรือตัดลำแก่ไปปักชำ มีข้อดีคือพันธุ์กรรมของต้นใหม่เหมือนต้นพ่อแม่ไม่เปลี่ยนแปลง ถ้าใช้กรณีแบบนี้ต้องมีพันธุ์ที่ดี (ระพี สาคริก, 2546) แต่ใช้ระยะเวลานาน ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้ ลดระยะเวลาและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วและได้ต้นใหม่เหมือนเดิมทุกประการ

5.4 การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพที่ปลอดเชื้อ (*in vitro* seed propagation)

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ คือ การนำเอาฝักกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมเกสรของกล้วยไม้จนติดฝัก ซึ่งภายในฝักกล้วยไม้มีเมล็ดกล้วยไม้อยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อฝักกล้วยไม้อยู่บนต้นได้ช่วงระยะเวลาหนึ่งที่โตเต็มที่เมล็ดกล้วยไม้ที่อยู่ในฝักจะพัฒนาเจริญเติบโตเป็นคัพภะ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ที่เหมาะสมจะสามารถออกเป็นโปรโตคอร์ม (protocorm) ต่อมาจะพัฒนาเป็นต้นอ่อน (seedling) สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยไม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมจากต้นพ่อแม่และต้นแม่พันธุ์ของกล้วยไม้ฝัก การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื่อนิยมใช้สำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมที่ผสมพันธุ์ขึ้นมาใหม่ เพื่อการคงความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้พันธุ์พื้นเมือง หรือ พันธุ์ป่า เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากไม่มีเอนโดสเปิร์ม (endosperm) ไม่มีอาหารสะสมไว้ใช้สำหรับเอมบริโอ เมล็ดจึงไม่สามารถงอกขึ้นได้แม้แต่อยู่ในสภาพธรรมชาติ แต่มักกล้วยไม้บางชนิดที่สามารถงอกได้เพราะได้รับอาหารจากเชื้อรากลุ่ม Mycorrhiza ในสกุล Rhizoctinia ดังนั้นการเพาะเลี้ยง เอมบริโอของกล้วยไม้จึงมีความสำคัญ ช่วยให้ผลิตต้นกล้าได้รวดเร็วและทำได้ง่ายกว่าการขยายพันธุ์จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เรียกว่า การปักชำ (จิตราพรพรณ พิลิก, 2550; สุนทรี ทารพันธ์, 2558)

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพที่ปลอดเชื้อเริ่มจากการฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดหรือ ฝักกล้วยไม้ นำเอาเมล็ดที่แก่จากฝักที่ยังไม่แตก (อายุประมาณ 2 ใน 3 ของอายุฝักแก่) มาทำความสะอาด สะอาดตัดส่วนดอกแห้งที่ติดอยู่ออก ด้วยความระมัดระวังอย่าให้เกิดแผลเป็นช่องเปิดถึงภายในฝักกล้วยไม้ หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน นำมาเช็ดให้แห้ง ฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทำความสะอาดก่อนนำเข้าตู้ปลอดเชื้อ เพื่อฟอกฆ่าเชื้อผิวฝัก การฆ่าเชื้อที่ผิวฝักทำได้ 2 วิธี คือ 1) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยความร้อน โดยการนำฝักกล้วยไม้จุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ ทำซ้ำ 3 ครั้ง 2) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ โดยนำฝักกล้วยไม้ มาแช่ในน้ำยาคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 15-20 นาที แล้วล้าง

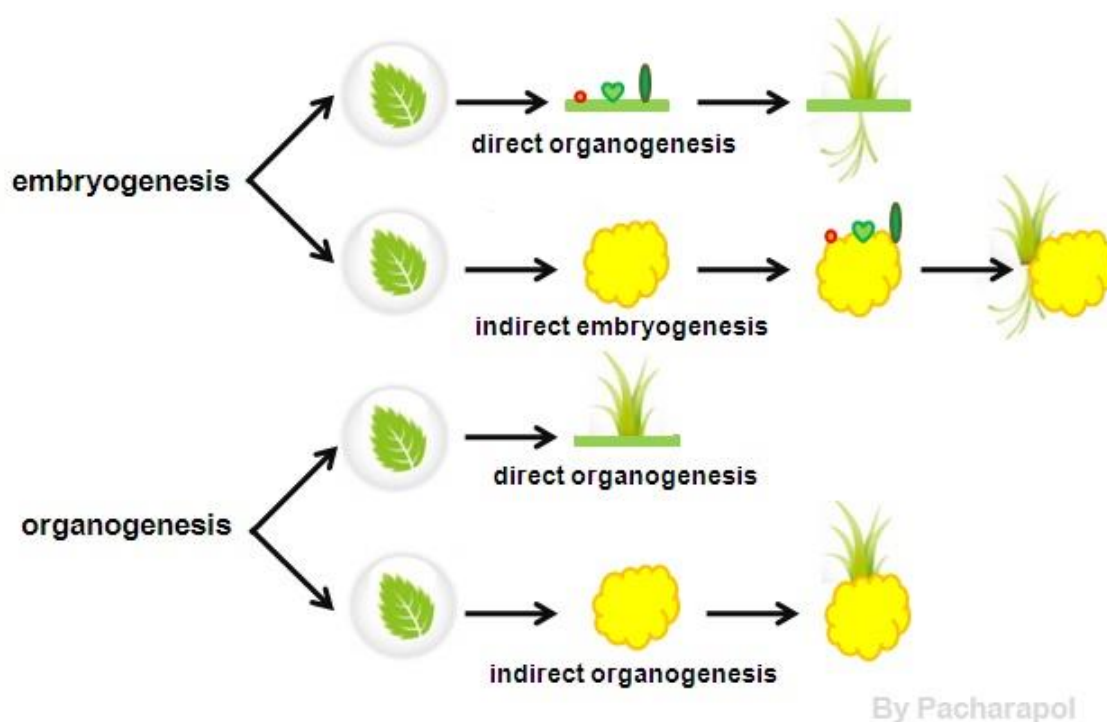
ด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง เมื่อพอกฆ่าเชื้อผักกล้วยไม้เรียบร้อยแล้ว นำเอาผักกล้วยไม้มาผ่า ผักตามแนวยาวของผัก เพื่อแยกเมล็ดออกใส่อาหาร อาจใช้ปากคีบเมล็ดใส่ในอาหารโดยตรง

ส่วนเมล็ดแก่ที่ผนังผักแตกให้นำเมล็ดกล้วยไม้มาพอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีอัตราส่วนของน้ำกลั่นที่ผ่านการหนึ่งฆ่าเชื้อต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 1:1 เมื่อนำเมล็ด มาใส่ในสารละลายดังกล่าวแล้วให้เขย่าขวดเป็นเวลา 15-20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อก่อน จึงนำเมล็ดกล้วยไม้ใส่ลงบนอาหารเพาะเลี้ยงต่อไป ใช้เวลา 4-9 สัปดาห์ เมล็ดจะพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มเขียวขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก จากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเหลวที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อให้ได้จำนวนโปรโตคอร์มจำนวนมาก แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน เลี้ยงไว้เป็นเวลา 8-16 สัปดาห์ โปรโตคอร์มเจริญยืดยาวขึ้นมาเป็นต้นกล้วยไม้เล็ก ๆ จะย้ายไปลงในอาหารเหลวอีกครั้งที่เติมน้ำตาลซูโครสปริมาณที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อพัฒนาไปเป็นต้น เมื่อได้ต้นกล้วยไม้ขนาดเล็กจำนวนมาก จึงนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ ชักนำให้ต้นเจริญเติบโตไปเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์และจำนวนมากเพียงพอต่อความต้องการแล้ว ให้ถ่ายขวดกล้วยไม้โดยแยกต้นตามขนาดของต้น ต้นที่มีขนาดเดียวกันให้ปักดำลงในอาหารขวดเดียวกัน 4-5 ต้นต่อขวด โดยเว้นระยะห่างระหว่างต้นให้เหมาะสม เพื่อต้นเจริญเติบโตได้ดี แล้วนำขวดดังกล่าวไปวางไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในระยะนี้จะใช้เวลานานพอสมควรอาจถึง 20-30 สัปดาห์ เพื่อให้ต้นเติบโตมีใบและรากสมบูรณ์ จนต้นช่นขวดด้านบน จึงนำต้นกล้าออกปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกที่โรงเรือน ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายในสภาพปลอดเชื้อ ตั้งแต่เมล็ดจนได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมออกจากขวดจะใช้เวลาประมาณ 1 ปี หรือ 12 เดือน (จิตรพรพรณ พิลิก, 2550; สุรินทร์ ทารพันธ์, 2558)

Subarna, Suman, and Pramod (2010) การศึกษาวิธีการพอกฆ่าเชื้อเมล็ดของกล้วยไม้เอื้องสายมรกต (*D. chrysanthum* Wall.ex Lindl.) โดยนำเอาผักของกล้วยไม้มาฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนนาน 10 นาที จากนั้นเอาน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้วมาผสมกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อัตราส่วน 10:10 แช่ทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นก็นำผักของกล้วยไม้มาตัดส่วนหัวและท้ายออก ผ่าผักแบ่งเป็นสองส่วนแล้วเอาปลายมีดเขี่ยเมล็ดกล้วยไม้ลงในสูตรอาหาร VW ที่เติมด้วยน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าวอ่อน 10 เปอร์เซ็นต์ ในอุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียสให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

5.5 การขยายพันธุ์กล้วยไม้จากส่วนอื่นที่ไม่ใช่เมล็ดในสภาพที่ปลอดเชื้อ (in vitro vegetative propagation)

เมื่อนำชิ้นส่วนของพืชเช่น ตายอด ตาข้าง ใบ หรือ ก้านช่อดอกมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ ทำให้กระบวนการเกิดรูปร่างของพืช (morphogenesis in plant tissue culture) สามารถเกิดได้ 2 รูปแบบด้วยกัน คือ embryogenesis ซึ่งเป็นกระบวนการที่เซลล์ร่างกายมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นโครงสร้างที่มีทั้งยอดและราก ซึ่งมีระยะการเจริญเติบโตเหมือนกับการเกิดเอ็มบริโอที่เกิดจากการรวมตัวของเซลล์สืบพันธุ์ จึงเรียกว่า somatic embryo หรือ embryonid หรือ adventive embryo ซึ่งกระบวนการเกิด somatic embryo สามารถเกิดได้ 2 ลักษณะ คือ direct embryogenesis เป็นการเกิด somatic embryo โดยตรงจากเซลล์ หรือ กลุ่มเซลล์โดยไม่ผ่านแคลลัส (callus) และ indirect embryogenesis เป็นการเกิด somatic embryo จากแคลลัส หรือที่เรียกว่า embryogenic callus โดยการนำชิ้นส่วนพืชไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัส เมื่อเกิดแคลลัสจึงย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมออกซินความเข้มข้นต่ำ ๆ หรืออาหารที่ไม่เติมออกซินเลย ซึ่งการเจริญในรูปแบบนี้จะพบได้มากกว่าในรูปแบบแรก อีกรูปแบบหนึ่ง คือ organogenesis ซึ่งเป็นกระบวนการเกิดอวัยวะจากกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเหมือนเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ คือ เซลล์มีขนาดเล็ก มีแวคิวโอลน้อย ไซโตพลาสซึมหนาแน่น มีเม็ดแป้งขนาดใหญ่ มีความสามารถในการแบ่งเซลล์ได้ดี เรียกว่า meristemoid หรือ nodule จากจุดนี้จะสามารถเจริญเป็นอวัยวะเพียงชนิดเดียว ซึ่งการเกิดอวัยวะในกระบวนการนี้สามารถเกิดขึ้นได้ 2 รูปแบบ คือ direct organogenesis เป็นการเกิดอวัยวะที่เกิดขึ้นโดยตรงจากเนื้อเยื่อ ตายอด หรือ ตาข้าง โดยไม่มีการเกิดแคลลัสก่อน ส่วน indirect organogenesis เป็นอวัยวะที่เกิดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช โดย embryogenic cell เป็นเซลล์ที่จะเจริญต่อไปเป็น somatic embryo ทั้งโดยตรงหรือผ่านแคลลัส มีลักษณะเช่นเดียวกับเซลล์เนื้อเยื่อเจริญพิเศษ (meristemoid) ที่เป็นจุดกำเนิดของอวัยวะของพืช (Hongthongkham and Bunnag, 2014; ฤตมนวนพานิช, 2549)



ภาพประกอบ 3 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของพืชเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ที่มา: Flores et al., (2000)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวาย โดยใช้หน่ออ่อนของกล้วยไม้มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว แล้วตัดชิ้นส่วนของกล้วยไม้มาเลี้ยงในอาหารเหลวเรียกว่า การปั่นตา เพื่อชักนำให้เกิด PLBs เมื่อได้ PLBs จำนวนมากตามต้องการแล้ว นำ PLBs เหล่านั้นไปชักนำให้เกิดเป็นต้นต่อไป เริ่มจากการฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนโดยนำหน่ออ่อนกล้วยไม้นามาตัดชิ้นส่วนใบ และรากที่อยู่โคนหน่อออกให้สะอาด ล้าง หน่ออ่อนด้วยน้ำยาล้างจาน เช็ดหน่อกล้วยไม้ให้แห้งแล้วฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วฟอกฆ่าเชื้อ ครั้งที่ 1 ด้วยน้ำยาคลอโรกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยเขย่าขวดสารละลายที่มีหน่อกล้วยไม้อยู่เป็นเวลา 15 นาที (ควรทำในตู้สภาพปลอดเชื้อ) ฟอกฆ่าเชื้อ ครั้งที่ 2 ด้วยน้ำยาคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยเขย่าขวดสารละลายที่มีหน่อกล้วยไม้อยู่เป็นเวลา 10 นาที ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 3 ด้วยน้ำยาคลอโรกซ์ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยเขย่าขวดสารละลายที่มีหน่อกล้วยไม้อยู่เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นตัดเฉพาะชิ้นส่วนของตาแล้วนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งหรือ อาหารเหลวมาเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิด PLBs มีลักษณะคล้ายหัวเล็ก ๆ ระยะเวลาทำการย้ายอาหารทุก ๆ 2-4 สัปดาห์ เป็นเวลา 8-24 สัปดาห์ เป็นการเพิ่มจำนวน PLBs หรือ

ยอด โดยทั่วไปสำหรับกล้วยไม้สกุลหวายนิยมผลิตต้นประมาณ 10,000 ต้นต่อ 1 ตา จากนั้นนำ PLBs มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเพื่อพัฒนาไปเป็นต้น ใช้เวลา 8-16 สัปดาห์ PLBs ยึดตัวขึ้นมาเป็น ต้นกล้วยไม้เล็ก ๆ อาจเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 8 สัปดาห์ เมื่อได้ต้นกล้าที่เพียงพอแล้ว ถ่ายขวด กล้วยไม้โดยแยกต้นตามขนาดของต้น ต้นที่มีขนาดเดียวกันให้ปักดำลงในอาหารขวดเดียวกัน 4-5 ต้นต่อขวด โดยเว้นระยะห่างระหว่างต้นให้เหมาะสม เพื่อต้นเจริญเติบโตได้ดี แล้วนำขวดดังกล่าว ไปวางไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในระยะนี้จะใช้เวลานานพอสมควรอาจถึง 20-30 สัปดาห์ ถ้า อาหารแห้งเราต้องได้ย้ายขวดเปลี่ยนอาหารใหม่ เพื่อให้ต้นเติบโตมีใบและรากสมบูรณ์ จนต้นช่น ขวดด้านบน จึงนำต้นกล้าออกปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกที่โรงเรือน ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเมล็ด กล้วยไม้สกุลหวายในสภาพปลอดเชื้อ ตั้งแต่เมล็ดจนได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมออกจากขวดจะ ใช้เวลาประมาณ 1.5 ปี (จิตรพรพรณ พิลิก, 2550; สุนทรี ทารพันธ์, 2558)

6. ปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

ชนิดของเมล็ดกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพันธุ์ไม้ที่ฝักมีขนาด ลักษณะและรูปร่างต่างกัน อายุฝักแก่ก็ไม่เท่ากัน และเมล็ดกล้วยไม้มีน้ำหนักรน้อยเนื่องจากไม่มีอาหารสะสม (endosperm) ส่วนเอ็มบริโอ (embryo) ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma cells) ขนาดเล็ก จำนวนน้อย ไม่มีราก แรกเกิด (radicle) และใบเลี้ยง (cotyledon) และอาหารสะสมส่วนใหญ่เป็นไขมัน (lipid) (Hadley, 1982) เมล็ดที่มีความแข็งแรงมีพันธุกรรมที่สามารถทำให้เจริญเติบโตได้ในสภาพ แวดล้อมนั้น ดังนั้นการที่มีเมล็ดจำนวนมากจะช่วยเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม เพิ่มโอกาสในการอยู่ รอดและ การปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม (adaptation) นำไปสู่วิวัฒนาการในที่สุด แสดงถึง ความสำเร็จของกล้วยไม้ในการปรับตัวและวิวัฒนาการ จากการใช้ประโยชน์จากเรณูสูงสุดและ ผลิตเมล็ดมากที่สุด (Behar, 1995; ครรชิต ธรรมศิริ, 2547)

สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง แต่สูตรที่ใช้กัน อย่างแพร่หลายได้แก่ อาหารสูตร MS และ สูตร VW ใช้เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ได้ทุกชั้นส่วน นอกจากนี้อาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ได้มีการพัฒนาดัดแปลงเพื่อความสะดวกรวดเร็วในการเตรียม โดยใช้สารอินทรีย์ต่าง ๆ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณน้อย ส่วนอาหาร วิทยาศาสตร์สูตรอาหาร VW ได้ผลดีทั้งในการเพาะเมล็ดและเพิ่มจำนวนยอด (กุลนาถ อบสุวรรณ และ สุนทรี ทารพันธ์, 2559) มีรายงานการใช้สารอินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพที่ ปลอดเชื้อ เช่น อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 30 เปอร์เซ็นต์ ช่วยส่งเสริมการงอกเมล็ด

กล้วยไม้รองเท้านารีคางกบ (*Paphiopedilum calloum*) ได้ดี (ฐกฤต อิ่มสมบุญ, สุริยา ตันติวิวัฒน์ และ ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2550) อย่างไรก็ตามการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้หน่อกล้วยไม้ข้างผสมไขลง มีความสูงของยอดและจำนวนรากที่เกิดใหม่มากที่สุด (นาตยา มนตรี และนิเวศ แซ่ซัง, 2557)

กุลนาถ อบสุวรรณ และสุนทรี ทารพันธ์ (2559) ศึกษาผลของสูตรอาหารและอาหารเสริมอินทรีย์ต่าง ๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. fleischeri* J.J.Sm. และ *D. judy* Rutz ในหลอดทดลองสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 16 สูตร โดยมีการเติมเปปโตเน ชูโครสในปริมาณที่แตกต่างกัน และน้ำตาลมันฝรั่ง 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ หรือกล้วยหอม 10 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารสูตร MS KC และ VW เป็นเวลา 3 เดือน ผลการทดลองพบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ทำให้ต้นกล้วยไม้ *D. fleischeri* J.J.Sm. มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเท่ากับ 349.3 และ 36.7 มิลลิกรัมต่อต้น 1.3 และ 3.6 เซนติเมตร ตามลำดับ และทำให้ต้นกล้วยไม้ *Judy Rutz* น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเท่ากับ 298.0 และ 33.4 มิลลิกรัมต่อต้น 1.4 และ 2.7 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังนั้นอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม เพราะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง

การดัดแปลงสูตรอาหารให้เหมาะสมต่อระยะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้และการเติมสารต่าง ๆ ที่กล้วยไม้ต้องการในอาหารสามารถทำให้กล้วยไม้พัฒนาเติบโตดีขึ้น อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของธาตุอาหารก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ ถ้าธาตุอาหารความเข้มข้นต่ำจะทำให้เมล็ดของกล้วยไม้บางชนิดงอกได้ดี แต่บางชนิดไม่งอกเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของธาตุอาหารจะยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ (Pierik, 1988) สำหรับสูตรอาหารการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบด้วยสารเคมีและสารอินทรีย์หลัก ๆ ดังนี้

สารอนินทรีย์ (inorganic substances)

องค์ประกอบของเกลือแร่ในอาหารสังเคราะห์เป็นส่วนที่สำคัญในการเลือกใช้อาหารสูตรใดหนึ่งเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งพืชมีความต้องการเสมอในสภาพปลอดเชื้อเช่นเดียวกับในสภาพธรรมชาติ ดังนั้น ในอาหารสังเคราะห์แบ่งสารอนินทรีย์ได้ 2 กลุ่มคือ 1) ธาตุอาหารหลัก เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการปริมาณมากในรูปของเกลือแร่อนินทรีย์ เช่น คาร์บอน (carbon, C) ไฮโดรเจน (hydrogen, H) ออกซิเจน (oxygen, O) ไนโตรเจน (nitrogen, N) จะใช้ในรูปแบบของ NH_4^+ หรือ NO_3^- ฟอสฟอรัส (phosphorus, P) ใช้ในรูปแบบ PO_4^{3-} โพแทสเซียม (potassium, K)

ใช้ในรูปแบบเกลือที่มี K^+ แคลเซียม (calcium, Ca) ใช้ในรูปแบบของ $Ca_3(PO_4)_2$ แมกนีเซียม (magnesium, Mg) ใช้ในรูปแบบ $MgCl_2$ หรือ $MgSO_4$ และ ซัลเฟอร์ (sulfur, S) ใช้ในรูปแบบของเกลือซัลเฟตทั้งไป 2) ธาตุอาหารรอง เป็นธาตุอาหารที่จำต่อพืชต้องการในปริมาณน้อยมากในรูปแบบของเกลืออนินทรีย์ เช่น เหล็ก (iron, Fe) ใช้ในรูปแบบของ EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) คือ $NaFeEDTA$ หรือ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, ทองแดง (copper, Cu) ใช้ในรูปแบบ $CuSO_4$, สังกะสี (zinc, Zn) ใช้ในรูปแบบ $ZnCl_2$ หรือ $ZnSO_4 \cdot H_2O$, แมงกานีส (manganese, Mn) ใช้ในรูปแบบ $MnSO_4$, $Mn(NO_3)_2$ หรือ $MnCl_2$, โมลิบดีนัม (molybdenum, Mo) ใช้ในรูปแบบ Na_2MoO_4 หรือ MoO_3 โบรอน (boron, B) และคลอรีน (chlorine, Cl) ในรูปของเกลือคลอไรด์ (Arditti, 2008)

สารอินทรีย์ (organic substances)

สารอินทรีย์ได้แก่สารที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นหลัก และยักรวมถึง ไนโตรเจนอินทรีย์ เช่น วิตามิน กรดอะมิโน น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม มันฝรั่งน้ำมะเขือเทศ ผงถั่วกันมันต์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลิน (Arditti, 2008; Arditti and Pridgeon, 2013)

1) สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) เป็นสารที่ให้พลังงานแก่พืชเช่น ซูโครส (sucrose) กลูโคส (glucose) และ ฟรุคโตส (fructose) การเตรียมอาหารเลี้ยงกล้วยไม้ นิยมใช้น้ำตาลทรายหาได้ง่ายและราคาถูก ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้น้ำตาลทรายขาวซึ่งก็คือ น้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์ โดยปกติใช้ประมาณ 10-60 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร (จิตราพรพรณ พิลิก, 2550) น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด และการเจริญเติบโตต้นอ่อนกล้วยไม้จำเป็นต้องใช้น้ำตาล เพราะในระยะแรกซึ่งพืชไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้เต็มที่ ยังต้องใช้แหล่งพลังงานจากภายนอก และน้ำตาลยังช่วยรักษาระดับออสโมติกอีกด้วย (Widiastoety and Bahar, 1995) นอกจากนี้ความเป็นกรด-เบส และเอนไซม์จากพืชยังช่วยให้น้ำตาลซูโครสในอาหารแตกตัวอีกด้วย มีรายงานว่าใช้น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ ให้การเจริญเติบโตดีในกล้วยไม้สกุลหวายต่าง ๆ เช่น ต้นอ่อนของ *D. discolor* (สุนทรี ทารพันธ์, 2558) และ ต้นอ่อนของ *D. antennatum* (Wida Utami and Hariyanto, 2016)

ศิริพร ทวีโรจนการ, ไซนียะ สะมำล่ำ และกิตติมา คงทน (2561) ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลวเพื่อชักนำให้เกิดยอดจาก PLBs ของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนด้ามข้าว (*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดยอด ใบและรากมาก

ที่สุด และยังพบว่าอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลซูโครส สามารถชักนำยอด ใบและรากที่มีความยาวเฉลี่ย สูงที่สุด จากการศึกษาอิทธิพลของวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ต่ออัตราการรอดชีวิตของต้นกล้าของ กล้วยไม้กะเหรี่ยงร่อนด้ามข้าวอนุบาลปลูกในกระถาง เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า การใช้กาบ มะพร้าวสับร่วมกับพีทมอส (1:1) ถ่านร่วมกับพีทมอส (1:1) กาบมะพร้าวร่วมกับพีทมอสและถ่าน (1:1:1) เป็นวัสดุปลูก ส่งผลให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร่อนด้ามข้าวมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์

2) วิตามิน (vitamin) ได้แก่ อินโนซิทอล (inositol) วิตามินบี 1 (vitamin B1) วิตามิน บี 2 (Vitamin B2) ไนอะซิน (niacin) ไพริดอกซิน (pyridoxine) วิตามินซี (vitamin C) พืชสามารถ สังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ แต่เซลล์พืชที่เลี้ยงในการทดลองต้องการวิตามิน เพิ่ม การตอบสนองของกล้วยไม้แต่ละชนิดต่อวิตามินและสารใกล้เคียงกับวิตามินต่างกัน เพราะ การงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น วิตามินบี 1 ช่วยการ เจริญเติบโตรากและส่งเสริมให้แคลลัสเติบโตได้ดี วิตามินซี ช่วยลดการผลิตสารประเภทฟีนอลิก (phenolic compound) ซึ่งทำให้เนื้อเยื่อพืชมีสีน้ำตาลแล้วก็ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นและตายในที่สุด (Arditti and Pridgeon, 2013)

3) กรดอะมิโน (amino acid) จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโต และสร้างอวัยวะต่าง ๆ ของกล้วยไม้ ที่นิยมใช้กัน คือ กลูตามีน (glutamine) เป็นกรดที่ใช้กันแพร่หลายช่วยส่งเสริมการ เจริญเติบโตของเซลล์และกระตุ้นให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงพร้อมที่จะเกิดเป็นต้น ไกลซีน (glycine) อาดีนีน (adenine) และเคซีนไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate) การใช้กรดอะมิโน ชนิดใดหนึ่งเดียว ๆ ต้องมีความระมัดระวังอย่างมากเพราะอาจเกิดผลทางลบได้ ดังนั้นจึงนิยมใช้ กรดอะมิโนหลาย ๆ ชนิดร่วมกัน โดยใช้สารที่ได้จากการย่อยของโปรตีน เช่น เปปโตน (peptone) เป็นต้น (Arditti, 2008)

4) ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) คือ คาร์บอนที่ได้มาจากการเผาที่อุณหภูมิ สูง มีธาตุคาร์บอนมากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม มีลักษณะ เป็นผงรูปร่างกลม มีรูพรุนขนาดเล็กที่เชื่อมต่อกันอย่างมากทำให้พื้นที่ภายในเพิ่มขึ้น จึง สามารถดูดซับสารที่ไม่พึงประสงค์หรือสารยับยั้งต่าง ๆ รวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือ สารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Pan and Van Staden, 1998) และเมื่อผสมลงในอาหาร เพื่อดูดซับสารพิษที่มีสีน้ำตาลหรือสีดำ และยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพจากที่สว่างเป็นที่ มืดช่วยชักนำให้พืชเกิดรากและการเจริญเติบโตของรากดีขึ้น ยังช่วยให้ pH ของอาหารคงที่มากขึ้น (Arditti and Ernst, 1993) นอกจากนี้ผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการ

เจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนของกล้วยไม้ *Pecteilis radiata* (Thunb.) Raf. (Kima et al., 2019) และส่งเสริมความยาวใบ จำนวนใบ และความยาวรากของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋ापิด (ธนวดิ พรหมจันทร์, สุภาวดี รามสูตร, และปรีดา บุญเวชณ์, 2559)

5) น้ำมะพร้าวอ่อน ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิยมกันใช้น้ำมะพร้าวอ่อนกันอย่างแพร่หลาย เพราะน้ำมะพร้าวอ่อน มีส่วนผสมของสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งมีสารต่าง ๆ เช่น IAA purine คาร์โบไฮเดรตหลายชนิด เช่น erythritol melezitose turanose myo-inositol และ sorbitol รวมทั้งมีไซโตไคนิน เช่น zeatin zeatin riboside ในปริมาณมาก และยังมีน้ำตาลหลายชนิด สารเหล่านี้ส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้หลายชนิด ช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เร่งการเกิดและเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม และกล้วยไม้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้นอกจากนี้ยังพบว่า การนำใช้น้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เมล็ด ของกล้วยไม้ลูกผสม *Phalaenopsis* มีผลการงอกดีที่สุด (Shekrriz et al., 2014) ทำให้ต้นกล้วยไม้เอื้องชะหลวง มีความยาวยอดมากที่สุด (รัตนวลี เสนาวงค์, 2557) ทำให้เพิ่มจำนวนยอดมากที่สุดในกล้วยไม้เอื้องเขาแกะ (บัวสอน โบราสี และอารยา อาจเจริญ เทียนหอม, 2557) นอกจากนี้ การใช้น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ PLBs ของกล้วยไม้ *Cymbidium pendum* (Roxb.) Sw. พัฒนายอดอ่อนได้ดี (Kaur and Bhutani, 2012)

6) มัันฝรั่งมีโพลีเอมีน (polyamine) ได้แก่ putrescine spermidine biosynthetic enzyme garginine decarboxylase และ ornithine decarboxylase ซึ่งมีผลต่อการเจริญและพัฒนาเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีผลต่อการเพิ่มกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ช่วยลดการสูญเสีย น้ำจากเซลล์ และช่วงรักษาเยื่อหุ้มเซลล์ให้คงสภาพ นอกนั้นในมัันฝรั่งยังประกอบด้วยแป้งที่มีส่วนประกอบของ amylose amylopectic และน้ำตาล เช่น ซูโครส กลูโครส และฟรุคโตส ดังนั้น การใส่มัันฝรั่งในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะช่วยเพิ่มการงอกของเมล็ดกล้วยไม้และต้นอ่อนแข็งแรงมากขึ้น (Arditti, 2008; Kaur-Sawhney, Flores and Galston, 1980)

Kunakhonnuruk et al., (2018) การเพาะเลี้ยงโดยการใช้น้ำเมล็ดของกล้วยไม้ *Epipactis flava* Seidenf.) นำฝักหลังผสมเกสรแล้วอายุ 6 สัปดาห์ มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยการนำเอาฝักมาจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และนำมาผ่านเปลวไฟ 3 ครั้ง เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรดัดแปลงของ VW เติมด้วยมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสูตร VW เสริมด้วยน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร และสารสกัดมัันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร พบว่า อัตราการงอกสูงสุดคิดเป็น 79.2 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจสอบทางกายวิภาคพบว่า มีเมล็ดเล็ก ๆ เกิดขึ้นจากแคปซูลอายุ 6 สัปดาห์

นำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงในอาหาร 2 สูตร คือ อาหารกึ่งแข็ง และอาหารเหลว โดยใช้อาหาร 5 สูตร คือ VW MS BM (BM, Van Waes and Debergh 1986) MM (MM, Malmgren 1996) และ KC (KC, Knudson 1946) เป็นเวลา 3 เดือน ในการเพาะเลี้ยงผลแสดงให้เห็นว่าในอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวของสูตร VW มีเปอร์เซ็นต์ การงอกของเมล็ดสูงที่สุด 70.2 และ 70.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

7) กล้วยหอมอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ ไทอามีน (thiamine) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไนอซิน (niacin) วิตามินซี และแร่ธาตุจำนวนมาก เช่น แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียม โดยเฉพาะธาตุเหล็กอยู่ในรูปที่กล้วยไม่สามารถนำไปใช้ในการเกิดรากเพื่อการเจริญเติบโตได้ และอาหารที่ใส่กล้วยภายใต้ความร้อนสูงในสภาพเป็นกรด จะทำให้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกล้วยละลายน้ำได้ดีขึ้น เพราะวากกล้วยมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ที่ทำให้ pH ไม่เปลี่ยนแปลงมาก นอกจากนี้ในเนื้อกล้วยหอมยังประกอบไปด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด เช่น ไลซีน (lysine) ซิสเตอีน (cysteine) เมไทโอนีน (methionine) และอาร์จินีน (arginine) และสารเร่งการเจริญเติบโตของพืชเช่น GA_3 GA_7 (Arditti, 2008) ดังนั้นในกล้วยหอมทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดีกว่ากล้วยชนิดอื่น ๆ (จิตรพรพรณ พิลิก, 2550)

สุนทรี ทารพันธ์ (2558) พบว่าสูตรอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายมากกว่าสูตรอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 0 3 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ การเพิ่มอาหารเสริมอินทรีย์ยังช่วยให้กล้วยไม้สกุลหวายเจริญเติบโตได้ดีขึ้นอีกด้วย โดยอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 2.0 เปอร์เซ็นต์ เติมนูน (phytagel) 0.20 เปอร์เซ็นต์ และ ผงถ่านกัมมันต์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง โดยกล้วยไม้สายพันธุ์แท้ (*D. discolor*) มีความสูงเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้น และความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 740.5 และ 70.7 มิลลิกรัมต่อต้น 1.6 และ 4.4 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน นอกนั้นการเพาะเลี้ยงตาข้างของกล้วยไม้สกุลหวาย 3 ชนิด คือ *D. antennatum*, *D. fleischeri* J.J.Sm และ *D. judy* Rutz โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว การเลี้ยงตาข้าง 5 ตาในอาหารเหลวปริมาณ 10 มิลลิลิตร ในขวด 4 ออนซ์ ทำให้ตาข้าง *D. fleischeri* J.J.Sm มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และพบว่าตาข้าง *D. discolor* ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ร่วมกับกล้วยหอม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ให้ต้นการเจริญเติบโตดีที่สุด ส่วนตาข้าง *D. fleischeri* J.J.Sm และ *D. judy* Rutz พบว่าเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ร่วมกับกล้วยหอมให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตดีที่สุด เป็นเวลา 12-24 สัปดาห์ จึงสามารถได้ต้นออกปลูก

8) สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator) ปกติเนื้อเยื่อพืชจะสร้างฮอร์โมนขึ้นมาเองตามธรรมชาติ แม้ว่าจะมีในปริมาณเล็กน้อยแต่ก็สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตจนพัฒนาเป็นส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ ต่อมาได้มีการสังเคราะห์สารที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืชขึ้นมา เรียกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulator) ซึ่งในปัจจุบันก็เรียกทั้งฮอร์โมนพืช (plant hormone) และสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้กันมากได้แก่ สารในกลุ่ม ออกซิน และไซโตไคนิน (แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ, 2547)

ออกซิน (auxin)

ในธรรมชาติฮอร์โมนกลุ่มนี้พืชสร้างได้มากที่ปลายยอดที่กำลังเติบโตและบริเวณเนื้อเยื่อเจริญอื่น ๆ มีบทบาทการยืดของลำต้นและปล้อง การโค้งเข้าหาสิ่งเร้า (tropism) การยับยั้งการเจริญของตาข้าง (apical dominance) การหลุดร่วงของใบ ดอก ผล และการเกิดราก เป็นต้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชออกซินส่งเสริมเนื้อเยื่อให้เกิดแคลลัส กระตุ้นการแบ่งเซลล์ และส่งเสริมการเกิดรากแต่ยับยั้งการเกิดยอด ออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีดังต่อไปนี้ IAA (Indole-3 acetic acid) IBA (Indole-3 butyric acid) NAA (Naphthalene acetic acid) NOA (Naphthoxy acetic acid) p-CPA (Para-chlorophenoxy acetic acid) และ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid)

อย่างไรก็ตามออกซินที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ IAA IBA และ NAA เพื่อกระตุ้นให้เกิดรากและใช้ร่วมกับไซโตไคนินเพื่อการเจริญของต้น ส่วน 2,4-D และ 2,4,5-T (Trichlorophenoxy acetic acid) มีผลกระตุ้นต่อการเจริญของแคลลัสได้ดี โดยทั่วไปละลายออกซินด้วยเอทานอล (ethanol) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่เจือจาง ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการใช้ IAA และ NAA ในความเข้มข้นที่ต่ำ การใช้ออกซินความเข้มข้นสูงมักจะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช เช่น ใบร่วง และต้นพืชหยุดชะงักการเจริญเติบโตจนอาจตายได้ ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ส่วนการใช้ 2,4-D ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ (embryogenesis) สามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง และช่วยให้เซลล์ที่กลายพันธุ์ (mutated cells) เพิ่มปริมาณได้รวดเร็ว การใช้ 2,4-D จะต้องระมัดระวังกว่าการใช้ออกซินชนิดอื่น เพราะมีฤทธิ์รุนแรงและสลายตัวยากกว่าออกซินชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544)

ไซโตไคนิน (cytokinin)

ไซโตไคนินเป็นสารประเภทที่ถูกสร้างขึ้นจากบริเวณปลายรากและใบอ่อน มีผลกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโต ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดขณะที่ยับยั้งการเกิดราก เร่งให้ขึ้นส่วนของพืชเกิดหน่อเป็นจำนวนมากและยังช่วยการเจริญเติบโตของใบ กระตุ้นให้เกิดแคลลัสเมื่อใช้ร่วมกันกับออกซินในอัตราส่วนที่เหมาะสม การใช้ออกซินกับไซโตไคนินร่วมกันมีบทบาทส่งผลให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อดีกว่าการใช้ออกซินหรือไซโตไคนินอย่างใดอย่างหนึ่ง ส่วนใหญ่นิยมใช้ไซโตไคนินดังต่อไปนี้ BA (6-Benzyladenine) BAP (6-Benzylaminopurine) และ kinetin (6-Furfuryl aminopurine)

อะดีนีนซัลเฟต (adenine sulfate)

เป็นสารที่ใส่เพื่อช่วยกระตุ้นการเกิดยอดในพืชบางชนิดที่เกิดยอดได้ค่อนข้างยาก ปริมาณที่ใช้ประมาณ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารที่ช่วยให้ความคงตัว

โดยทั่วไปมักใช้วุ้น (agar) ซึ่งเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่มีมวลโมเลกุลสูง ใช้สำหรับการเตรียมอาหารกึ่งแข็ง ความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไป คือ 0.6-1.0 เปอร์เซ็นต์ หรือ 6-10 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร การใช้วุ้นในปริมาณที่ต่ำ (0.5 เปอร์เซ็นต์) จะทำให้อาหารไม่แข็งตัวและไหลไปมาได้ โดยเฉพาะเมื่อมี pH ต่ำ จึงไม่สามารถพองเนื้อเยื่อพืชไว้ได้ แต่ถ้าใช้วุ้นในปริมาณที่สูง (1.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป) จะทำให้อาหารแข็งมากจนไม่สามารถให้น้ำเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของพืช และยังทำให้พืชดูดอาหารไปใช้ได้ยาก ด้วยลักษณะเป็นวุ้นที่คล้ายกับเจลจึงมีข้อดี คือ ทำให้นเนื้อเยื่อพืชดูดซึมสารอาหารได้ดีกว่าและใช้ในปริมาณที่น้อยกว่า

แสง

กล้วยไม้อิงอาศัยและกล้วยไม้อากาศสามารถงอกได้ในสภาพที่มีแสง Stimart และ Ascher (1981) มีรายงานว่า ในสภาพที่ไม่มีแสงพืชก็สามารถอยู่รอดได้มากกว่าในสภาพที่มีแสง สูตรอาหารมีความสัมพันธ์กับแสง โดยพบว่าในสภาพที่มีแสงเมล็ดจะงอกและเจริญได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร Burgeff EG-1 แต่ในสภาพที่ไม่มีแสงเมล็ดงอกและเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Thomale GD ดังนั้นแสงมีอิทธิพลต่อพืชที่เพาะเลี้ยงทั้งในด้านความเข้มแสงและช่วงเวลาที่ได้รับแสงนั้นด้วย Burgeff (1936) เพราะหน้าที่สำคัญของแสง คือการให้พลังงานในกระบวนการสร้างอาหารของพืช และกล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตได้ดี ในระยะเวลา 1-2 ปี โดยขึ้นกับความเข้มของแสงและคุณภาพของแสง (อนุพันธ์ กงบังเกิด และคณะ, 2560) และยังพบว่าองค์ประกอบของอาหารร่วมกับสภาพแสงส่งผลให้การงอกของเมล็ด โดยเมล็ดที่เพาะในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อนร่วมกับผงมันฝรั่ง อาหารที่เติมกล้วยหอมร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน และอาหารที่เติมกล้วยหอม

ร่วมกับผงมันฝรั่ง ในสภาพมืดและแสง ส่งเสริมให้เมล็ดกล้วยไม้เพชรหึงมีเปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุด 90-94 เปอร์เซ็นต์ (เยาวลักษณ์ ฉัตรสุวรรณ และกาญจนา รุ่งรักษานนท์, 2561) กล้วยไม้ส่วนใหญ่ไม่ต้องการแสงแดดเต็มที่ โดยเฉพาะกล้วยไม้สกุลหวายต้องการแสงแดดประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์

อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อการงอกของเมล็ดของกล้วยไม้ การเกิดยอด และการเกิดรากของกล้วยไม้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกของกล้วยไม้ส่วนใหญ่ประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของกล้วยไม้ควรได้รับขณะปลูกต้องสม่ำเสมอ ไม่ควรเปลี่ยนแปลงเกิน 2 องศาเซลเซียส (Arditti and Ernst, 1993)

สภาพความดันบรรยากาศ

สภาพความดันบรรยากาศ กล้วยไม้ทั่วไปต้องการสภาพความดันบรรยากาศปกติ แต่มีบางชนิดก็สามารถทนต่อความดันบรรยากาศต่ำได้ (Arditti and Ernst, 1993)

การปรับสภาพต้นกล้าก่อนนำออกปลูก

การปรับสภาพก่อนนำออกปลูก โดยนำขวดกล้วยไม้ที่เป็นต้นกล้าสมบูรณ์ มีใบ 3-4 ใบ ราก 3 ราก เป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ นำออกมาจากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คลายฝาขวดและการย้ายไปอาหารใหม่ที่มีวุ้นมากขึ้นเพื่อลดความชื้น และนำออกมาไว้ในนอกห้องอุณหภูมิปกติเพื่อเพิ่มอุณหภูมิและแสง เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำต้นกล้าไปล้างวุ้นออกให้หมด แล้ววางใส่ตะแกรงก่อนจุ่มลงในน้ำยากันราเพื่อนำไปปลูกในวัสดุปลูกต่อไป

วัสดุปลูกที่ใช้ในการปลูกกล้วยไม้มีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน

กาบมะพร้าวเป็นวัสดุปลูกพื้นบ้านหาง่าย เหมาะสำหรับกล้วยไม้ทุกประเภท ที่มีราคาถูกและหาได้ง่ายเป็นที่นิยมกันใช้หลายในด้านการค้า ข้อเสียของกาบมะพร้าว คือ ฝุ่น ใว้ ถ้าวร น้ำมากเกินไปกาบมะพร้าวจะอุ้มน้ำไว้มาก และอาจทำให้รากเน่าได้ง่าย ก่อนจะนำมาใช้ควรแช่น้ำ และเปลี่ยนถ่ายน้ำหลาย ๆ ครั้ง จนน้ำใส เพื่อเจือจางยางสีน้ำตาลในกาบมะพร้าว (สารแทนนิน) ก่อนใช้งาน เพราะยางมะพร้าวจะชะงักการเติบโตของกล้วยไม้ นอกจากนี้ กาบมะพร้าวย่อยสลายเร็วจึงต้องเปลี่ยนวัสดุปลูกบ่อย ๆ (Rangsayatorn, 2009)

สแฟกนัมมอสเป็นวัสดุปลูกที่ราคาตามเกรดใช้ปลูกกล้วยไม้ส่วนใหญ่และใช้เป็นส่วนผสมเครื่องปลูกรองเท้านารี มีคุณสมบัติ คือ น้ำหนักเบา รากกล้วยไม้ สามารถยึดเกาะได้ดี มีช่องว่างระบายน้ำ อากาศ ออกซิเจนหมุนเวียนได้ดี ไม่ดูดซับเกลือจากปุ๋ย มีความสามารถดูดน้ำได้ถึง 20 เท่าตัว การระบายน้ำสม่ำเสมอ อุ้มน้ำได้ดี รากพืชเจริญเติบโตแผ่กระจายได้

ดี มีการระเหยนํ้าออกได้ ไม่อ้วนน้ำจนเกินไป ดูชุ่มน้ำพอเหมาะ รักษาความชื้นไว้รอบราก ข้อเสีย ข้อเสีย คือ ฝุ่นและอ้วนน้ำมากเกินไปหากรดน้ำมาก (ธนวิ พรมจันทร์, 2559)

ไฮโดรตรอนหรือเมล็ดดินเผาเป็นวัสดุปลูกหาได้ยากใช้งานง่าย น้ำหนักเบา ถ่ายเทอากาศได้ดี สะอาด ปลูก ระบายน้ำได้ดี ย่อยสลายยาก แต่สามารถดูดซับน้ำและแร่ธาตุได้น้อยกว่าวัสดุชนิดอื่น นอกจากนั้นสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ข้อเสีย คือ ราคาแพงและเมื่อใช้งานไปนานๆ มักเกิดราขาวและอาจเป็นที่อยู่ของแมลงเช่น มด ได้เนื่องจากเม็ดไฮโดรตรอนโปร่งและเย็น (Kunakhonnuruk et al., 2018)

7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องเงิน

Rangsayatorn (2009) ศึกษาการขยายพันธุ์โดยใช้หน่ออ่อนที่ตัดตามขวางของกล้วยไม้เอื้องเงิน (*D. draconis* Rchb.f.) ในสภาพที่ปลอดเชื้อ โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA NAA และ kinetin ความเข้มข้นที่ต่างกัน เพื่อชักนำให้เกิด PLBs จากการเพาะเลี้ยง 6-7 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอด ผลพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ PLBs มีการเจริญเติบโต 68 เปอร์เซ็นต์ และ PLBs เจริญเติบโตมากที่สุดประมาณ 11 PLBs ต่อชิ้นส่วนพืช ส่วนยอดอ่อนเติบโตดี บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน ทำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตดีมีความสูงเฉลี่ย 6-8 เซนติเมตร จากนั้นย้ายต้นอ่อนออกปลูกในวัสดุปลูกด้วยใบมะพร้าว พบว่าต้นอ่อนเอื้องเงินมีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด 92 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องแซะ

ภูมิรินทร์ คงมณี (2544) ศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องแซะหลวง (*D. scabrilingue* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดมีการงอกได้ดีในอาหารดัดแปลงสูตร VW เมื่อย้ายต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เพิ่มวิตามินรวม 1 แคปซูลพบว่า ต้นอ่อนเอื้องแซะเจริญเติบโตได้ดีที่สุด จากนั้นศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีในสูตรอาหาร VW กับสภาพอาหารเหลวและอาหารแข็งสูตร VW พบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร VW เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนในห้องปรับอากาศและอุณหภูมิห้อง พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงในห้องปรับอากาศ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสต่อ 4,400 ลักซ์ และอุณหภูมิห้อง 30-32 องศาเซลเซียสต่อ 820 ลักซ์

จากนั้นย้ายต้นอ่อนออกปลูก พบว่า ต้นอ่อนเอื้องชะหลวงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุดเมื่อใช้น้ำมะพร้าวเป็นวัสดุปลูก

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวายชนิดอื่น ๆ

นุชรัฐ บาลลา (2553) ได้ทำการทดลองการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*D. Formosum* Roxb.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการนำโปรโตคอร์มมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าโปรโตคอร์มที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญของโปรโตคอร์มมากที่สุด สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 8.89 ยอดต่อโปรโตคอร์ม มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.50 มิลลิเมตร และมีจำนวนใบเฉลี่ย 0.80 ใบต่อโปรโตคอร์ม ส่วนการศึกษาผลของสารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ มันฝรั่งบด 15 เปอร์เซ็นต์ และกล้วยหอมบด 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับมันฝรั่งบด 15 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเจริญของโปรโตคอร์มมากที่สุด จำนวนยอดเฉลี่ย 3.57 ยอดต่อโปรโตคอร์ม มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.69 มิลลิเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 0.92 ใบต่อโปรโตคอร์ม และการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ มันฝรั่งบด 15 เปอร์เซ็นต์ และกล้วยหอมบด 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับอาหารสูตร MS พบว่าสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การเจริญของโปรโตคอร์มมากที่สุด สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 3.8 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความสูงต้นเฉลี่ย 0.37 มิลลิเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 0.50 ใบต่อโปรโตคอร์ม

นิภาวรรณ จิตโสภาคกุล, สุภาวดี ตั้งธีระวัฒน์, และพัชรภรณ์ แสงโยจารย์ (2557) จากการศึกษาการเก็บรวบรวมผักกล้วยไม้ป่าไทยในเขตอีสานใต้ เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์สภาพปลอดเชื้อ พบว่าสามารถรวบรวมผักกล้วยไม้ป่าไทยทั้งหมด 12 สกุล 26 ชนิด จากจังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี เมื่อศึกษาผลของอาหารแข็งสูตร MS (1962) และสูตร VW (1949) ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส (0-30 กรัมต่อลิตร) และความเข้มข้น BA (0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ป่าไทย พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ป่าไทยจำนวน 8 สกุล 16 ชนิด ได้แก่ กล้วยแดง กุหลาบแดง เข็มแสด ข้างกระ ไอยเรศ เขาแกะ เอื้องสามปอย สิงโต กล้ามปูใหญ่ เขากวางอ่อน เอื้องดอกมะขาม เอื้องสายผึ้ง เอื้องเงิน เอื้องคำ เอื้องเงินหลวง พวงหยก และตากาหอ สามารถงอกและเจริญเติบโตเป็นต้นได้ ย้ายเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS VW ที่เติม และไม่เติมน้ำตาลซูโครส และ BA พบว่าจำนวนวันที่งอกเฉลี่ย 4-90 วัน

อัตราการงอกเฉลี่ยร้อยละ 2-100 เมื่อนำต้นกล้วยไม้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ ช้างกระ เขาแกะ เขากวาง อ่อน เอื้องคำ เอื้องเงิน เอื้องดอกมะขาม เอื้องเงินหลวง และ พวงหยก ย้ายออกปลูกในโรงเรือน พบว่า ต้นกล้วยไม้ทั้ง 8 ชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ โดยมีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 100 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

Kima et al., (2019) พบว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดของกล้วยไม้ในกระยงขาวในอาหารสูตร MS ทำให้เกิดการงอกเป็นโปรโตคอร์มมีสีเขียวภายในเวลา 5 สัปดาห์ และเพียงเวลา 12 สัปดาห์ สามารถพัฒนาโปรโตคอร์มที่มี rhizoids และ ยอดอ่อน นอกนั้นในอาหารสูตร MS ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนเฉลี่ยสูงที่สุด เมื่อเทียบกับการเติมผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 กรัมต่อลิตร

Potshangbam and Leimapokpam (2014) การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อผักของเอื้องคำ (*D. chrysotoxum* Lindl.) ที่มีอายุ 4 เดือน มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยการนำมาล้างน้ำสะอาด ผสมกับน้ำยาล้างจาน ประมาณ 10-15 นาที ล้างให้สะอาดให้น้ำไหลผ่านแล้วนำไปฟอกในเมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric chloride, $HgCl_2$) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 7-8 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำสะอาด 4-5 ครั้ง ตามด้วยการนำเอาผักมาจุ่มลงแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 8-10 นาที เอามีดมาตัดผักส่วนปลายและหัวผักออกก่อน แล้วผ่าผักเฉียงเมล็ดลงเลี้ยงบนอาหารนำเอาขวดไว้ในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียสให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

ธนวดี พรหมจันทร์, สุภาวดี รามสูตร, และปรีดา บุญเวชณ์ (2559) ศึกษาผลของการเติมผงถ่านกัมมันต์ เพื่อสร้างความมืด ดูดซับสารที่ไม่พึงประสงค์ หรือ สารยับยั้งต่าง ๆ และสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือสารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ผงถ่านกัมมันต์อาจจะส่งเสริมประสิทธิภาพการงอกของเมล็ดและการพัฒนาโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ได้ขึ้นอยู่กับชนิดและเนื้อเยื่อของพืช และยังพบว่าการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป่าปิด (*Aerides odoratum*) บนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อปราศจากผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ก่อนย้ายไปปลูกในสแฟกนัมมอส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป่าปิดมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. พืชที่ใช้ในการวิจัย
2. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
3. วิธีดำเนินการวิจัย
4. วิธีการทดลอง
5. การวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลอง

1. พืชที่ใช้ในการวิจัย

กล้วยไม้สกุลหวาย 2 ชนิด คือ เอื้องเงินและเอื้องแซะ โดยการทดลองนำใช้ฝักกล้วยไม้ทั้งสองชนิด

2. วัสดุและอุปกรณ์

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

- ขวดแก้ว (bottle) ขนาด 4 และ 8 ออนซ์ พร้อมฝาปิด
- ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 25 30 50 100 500 1000 และ 2000 มิลลิลิตร
- ขวดแก้วบรรจุสารเคมี (duran bottle) ขนาด 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร
- ปิเปตต์ (pipete)
- ช้อนตักสาร (spatula)
- ถุงพลาสติกทนความร้อน (plastic bag)
- อะลูมิเนียมฟอยล์ (aluminium foil)
- แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
- เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง (balance)
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
- ตู้อบไมโครเวฟ (microwave)

2.2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ตู้เย็น (refrigerator)
- ตู้ย่ายเนื้อเยื่อ (laminar air-flow cabinet)
- มีดผ่าตัด (surgical knife)
- ปากคีบ (forceps)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)
- ตะแกรงโลหะ (metal rack)
- ผ้าสะอาดที่นึ่งฆ่าเชื้อ (sterilized cloth)
- ไฟแช็ค (lighter)
- จานแก้ว (petri dish)

2.3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ชั้นวางเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture shelf)
- เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (air condition)
- เครื่องควบคุมเวลา (timer)
- หลอดฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent lamp)

2.4 สภาพในห้องเพาะเลี้ยง

ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นห้องควบคุมให้มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงที่มีความเข้มแสง 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ปฏิบัติงานในด้านการขยายพันธุ์พืช

2.5 สารเคมี (Reagent)

Stock solution อาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went, 1949) ทั้ง 3 Stock ซึ่งประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง กรดอะมิโนและวิตามิน น้ำตาลซูโครส (sucrose) ผงวุ้น (agar) น้ำกลั่นปลอดเชื้อ (sterilize distilled water) ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) แอลกอฮอล์ (alcohol) 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ สารละลาย Clorox (sodium hypochlorite, NaOCl_2 6 เปอร์เซ็นต์) Tween 20 เมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric chloride, HgCl_2) และสารปฏิชีวนะซีฟทาซิม (cefotaxime)

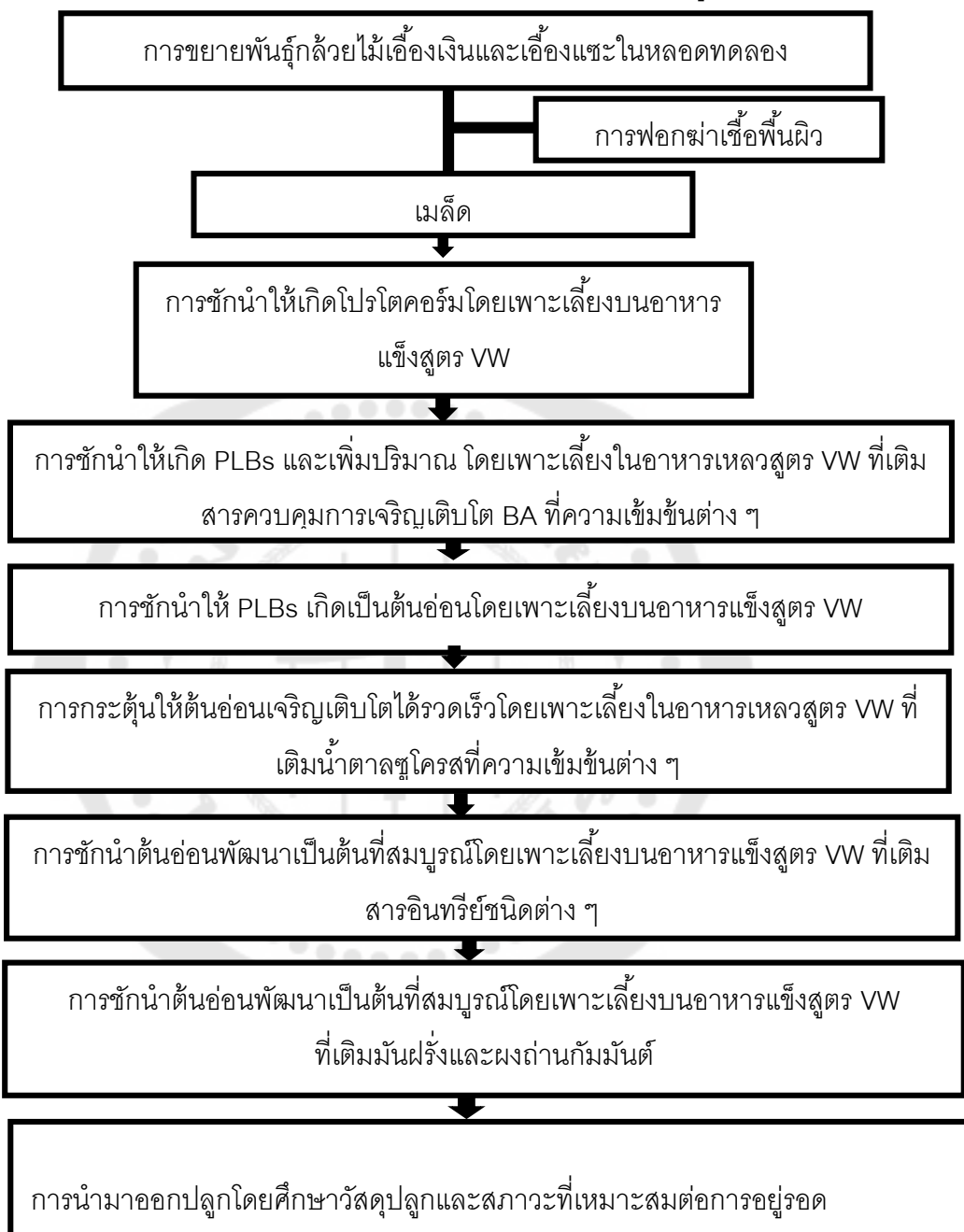
ตาราง 2 สูตรอาหาร

สารเคมีใช้ในการปรับความเป็นกรด-เบส (pH) ได้แก่ 1N NaOH และ 1N HCl

Stock	ชื่อสาร	ปริมาณใช้ต่อ 1 ลิตร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Stock solution A	KNO_3	525
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500
	KH_2PO_4	250
	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5.7
Stock solution B	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250
Stock solution C	Disodium EDTA	37.25
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85

3. วิธีดำเนินการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะบนอาหารสูตร VW



หมายเหตุ เมล็ดจากการงอกเจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์มและชักนำให้เกิด PLBs

ภาพประกอบ 4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้เอื้องเงิน

4. วิธีการทดลอง

4.1 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อชิ้นส่วนกล้วยไม้

โดยนำเอาผักกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะที่มีอายุประมาณ 10-12 เดือน มาทำการฆ่าเชื้อด้วยการนำเอาผักไปล้าง แล้วฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ให้ทั่วนำเข้าสู่ตู้ย่ำยเนื้อเยื่อ จากนั้นนำไปจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วผ่านเปลวไฟ ทำ 2-3 ครั้ง จากนั้น นำมาวางบนจานเพาะเชื้อ ใช้มีดผ่าตัดส่วนหัวและท้ายผักออก ผ่าผักตามยาวแล้วนำเอาปากคีมคีบเมล็ดกล้วยไม้ลงบนอาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และเติมผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร นำขวดเพาะเลี้ยงวางบนชั้นวางขวดที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม



ภาพประกอบ 5 ลักษณะผักกล้วยไม้เอื้องเงิน

4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

1) กล้วยไม้เอื้องเงิน

นำโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องเงินขนาด 0.2-0.3 มิลลิเมตร อายุ 25 สัปดาห์ ย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตรเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร pH 4.8-5 เขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที การทดลองได้ทำ 2 รอบ รอบที่ 1 โดยการนับจำนวนก้อนโปรโตคอร์ม 10 ก้อนต่อขวด ทำ 5 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลโดยการ

นับจำนวน และวัดขนาดของโปรโตคอร์ม ส่วนครั้งที่ 2 ทำการชั่งน้ำหนักโปรโตคอร์ม 1 กรัมต่อขวด ทำ 5 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลโดยชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของโปรโตคอร์มที่ได้ นำไปคำนวณหาน้ำหนักของโปรโตคอร์มที่เพิ่มขึ้นต่อน้ำหนักโปรโตคอร์มเริ่มต้น 1 กรัม และบันทึกภาพ

2) กล้วยไม้เอื้องแซะ

นำเอาโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องแซะ ขนาด 0.2-0.3 มิลลิเมตร อายุ 18 สัปดาห์ ย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตรเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร pH 4.8-5 เชยาดด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที การทดลองได้ทำ 2 รอบ ๆ ละ 5 ซ้ำ โดยการนับจำนวนก้อนโปรโตคอร์ม 10 ก้อนต่อขวด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลโดยการนับจำนวน และวัดขนาดของโปรโตคอร์ม และต้นอ่อนกล้วยไม้ ได้แก่ จำนวนยอด จำนวนใบ และบันทึกภาพ

4.3 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

ศึกษาผลของน้ำตาลที่เติมในอาหารสูตร VW นำเอา PLBs ระยะที่มี 2 ใบ ของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารสังเคราะห์ VW จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร VW ที่เติมน้ำตาล ระดับความเข้มข้น 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เชยาดด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ทำการทดลอง 1 รอบ 10 ซ้ำ โดยการนับจำนวนต้นอ่อน 10 ต้นต่อขวดต่อหนึ่งหน่วยการทดลองเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลการเจริญเติบโต โดยนับจำนวน และวัดขนาดต้นอ่อนกล้วยไม้ ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก จำนวนใบ และบันทึกภาพ

4.4 ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์

ศึกษาผลอาหารทั้ง 5 สูตร ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอื้องเงินและเอื้องแซะ นำเอาต้นอ่อนกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW มีใบ 2 ใบ เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 5 สูตร ได้แก่ VW ที่เติมด้วยน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมบด 150 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร น้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และสูตรผสม (ที่ผสมน้ำมะพร้าวอ่อน 50 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร มะเขือเทศ 50 มิลลิลิตรต่อลิตร) ทำการทดลอง 10 ซ้ำต่อหนึ่งหน่วยการทดลองเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกผลการเจริญเติบโต โดยนับจำนวน และวัดขนาดของต้นอ่อนกล้วยไม้ ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และบันทึกภาพ

4.5 การปรับสภาพและชนิดของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

การปรับสภาพก่อนนำออกปลูก โดยนำขุดกล้วยไม้ที่เป็นต้นกล้าสมบูรณ์ มีใบ 3-4 ใบ ราก 3 ราก ขึ้นไปเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ นำออกมาจากห้องเพาะเลี้ยง คลายฝาขุดออกมาไว้ห้องอนุภูมิปติ เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ นอกจากนั้นนำต้นอ่อนออกจากขวดนำมาล้างรากออกด้วยน้ำสะอาดให้หมดแล้ว นำต้นกล้าแช่ในน้ำยากันรา ประมาณ 10 นาที เอาขึ้นมาวางบนตะแกรงให้หมาด แล้วค่อยนำไปใส่ในวัสดุปลูก ในกระถางที่มีวัสดุปลูก ได้แก่ ขุยมะพร้าวสับ ไฮโดรตรอน สแฟกนัมมอส (ตาราง 3) ทำการทดลอง 10 ข้าง ต่อหน่วยการทดลอง จากนั้นนำไปไว้ในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ รดน้ำเวลาเช้าและเย็นทุกวัน บันทึกอัตราการรอดชีวิต โดยนับจำนวน และวัดขนาดของต้นอ่อนกล้วยไม้ ได้แก่ ความสูงยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และบันทึกภาพ

ตาราง 3 ชนิดของวัสดุที่ใช้ปลูกต้นกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะในสภาพธรรมชาติ

วัสดุปลูก	อัตราส่วน
ขุยมะพร้าวสับ	1
ไฮโดรตรอน	1
สแฟกนัมมอส	1
ขุยมะพร้าวสับผสมไฮโดรตรอน	1:1
สแฟกนัมมอสผสมไฮโดรตรอน	1:1
ขุยมะพร้าวสับผสมสแฟกนัมมอสและไฮโดรตรอน	1:1:1

5. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลองการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพื่อพัฒนาโปรโตคอร์ม วัดผลโดยนับจำนวนและวัดขนาด และชั่งน้ำหนักของโปรโตคอร์มที่เพิ่มขึ้น การทดลองปริมาณน้ำตาลความเข้มข้นต่างกันเพื่อชักนำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว บันทึกการเจริญเติบโตโดยนับจำนวน และวัดขนาดต้นอ่อนกล้วยไม้ ได้แก่ ความยาวยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และ

จำนวนราก การทดลองดัดแปลงสูตรอาหาร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ การนับจำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงของลำต้น จำนวนราก และความยาวราก ศึกษาชนิดของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในธรรมชาติ วัดอัตราการรอดชีวิต วัดความสูงต้น นับจำนวนยอด จำนวนใบ และบันทึกภาพ แล้วนำข้อมูลที่ได้จากแต่ละการทดลองแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD (Completely randomized design) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยใช้วิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป



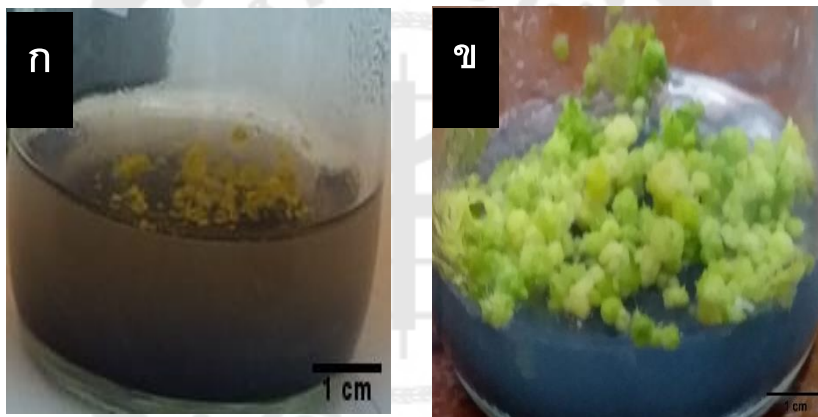
บทที่ 4

ผลการดำเนินการวิจัย

1. การฟอกฆ่าเชื้อผักของกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

1.1. การฟอกฆ่าเชื้อผักของกล้วยไม้เอื้องเงิน

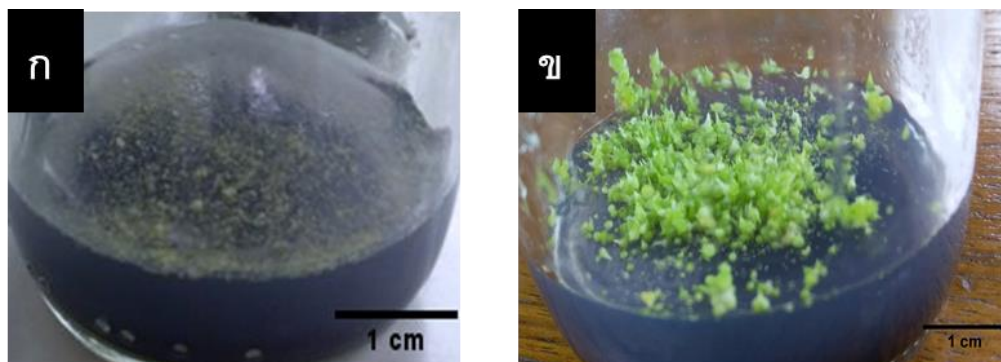
การเพาะเมล็ดเอื้องเงินเพื่อพัฒนาของโปรโตคอร์มบนอาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร VW (1949) เป็นเวลา 9 สัปดาห์ โดยเมล็ดมีสีจากสีเหลืองขนาดเล็กเหมือนฝุ่นสีเหลือง ค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนเป็น โปรโตคอร์มสีเขียว ช้วน แล้วค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวปนเหลือง (ภาพประกอบ 6) โปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องเงินสามารถงอกและเจริญเติบโตดี การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาเป็นวิธีที่ได้ผลดีสามารถทำให้ขึ้นส่วนพืชปลอดเชื้อ เมล็ดงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพประกอบ 6 ลักษณะโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องเงิน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ก. เอื้องเงิน 1 สัปดาห์ ข. เอื้องเงิน 9 สัปดาห์

1.2. การฟอกฆ่าเชื้อผักของกล้วยไม้เอื้องแซะ

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องแซะเพื่อพัฒนาของโปรโตคอร์ม บนอาหารสังเคราะห์ดัดแปลงสูตร VW (1949) เป็นเวลา 9 สัปดาห์ โดยเมล็ดที่มีสีเหลืองขนาดเล็กเหมือนฝุ่นค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นโปรโตคอร์มสีเขียวอ่อน (ภาพประกอบ 7) โปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องแซะสามารถงอกและเจริญเติบโตดี การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเผาเป็นวิธีที่ได้ผลดีสามารถทำให้ขึ้นส่วนพืชปลอดเชื้อเมล็ดงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพประกอบ 7 ลักษณะของเมล็ดและโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ก. เอื้องแซะ 1 สัปดาห์ ข. เอื้องแซะ 9 สัปดาห์

2. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

2.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงิน

เมื่อนำเอาโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องเงินขนาด 0.2-0.3 เซนติเมตร โดยการนับจำนวนก้อนโปรโตคอร์ม 10 ก้อนต่อขวด มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นต่างกัน 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อขวด เชย้าเพื่อให้เซลล์ได้รับอากาศด้วยความเร็วรอบประมาณ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกการวัดขนาดและนับจำนวนก้อนโปรโตคอร์มที่เพิ่มขึ้น พบว่า จำนวนก้อนโปรโตคอร์มเมื่อลงในอาหารเหลว ทำก้อนโปรโตคอร์มแตกกระจายเป็นก้อนเล็ก ๆ จากการทดลองพบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนและขนาดของก้อน PLBs เพิ่มขึ้นมากที่สุด นอกนั้นยังพบว่าโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่เติม BA มีจำนวน PLBs ไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$)

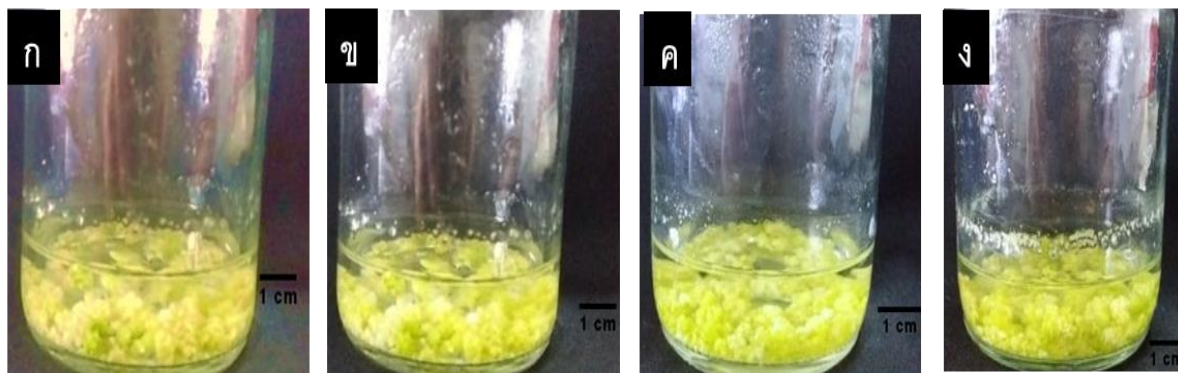
เมื่อนำโปรโตคอร์มเอื้องเงิน ขนาด 0.2-0.3 เซนติเมตร นำมาชั่งน้ำหนักสด 1 กรัมต่ออาหาร 20 มิลลิลิตรต่อขวด เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ดัดแปลงร่วมกับน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นแตกต่างกัน 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เชย้าเพื่อให้เซลล์ได้รับอากาศด้วยความเร็วรอบประมาณ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง PLBs กล้วยไม้เอื้องเงิน พบว่า อาหารที่เติม BA ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแตกต่างกัน โดยพบว่าโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความ

เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงที่สุด 4.01 ± 0.51 กรัม ทำให้เกิด PLBs ดีที่สุด และเพิ่มจำนวนมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่เติม BA ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดเท่ากัน 3.09 ± 0.31 และโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดเฉลี่ย 2.77 ± 0.31 กรัม ส่วนน้ำหนักแห้งของโปรโตคอร์มจากอาหารสูตร VW ที่เติม BA ทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) (ตาราง 4 ภาพประกอบ 8)

ตาราง 4 ผลของ BA ต่อการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มของเอื้องเงินเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สารควบคุม	ความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อลิตร			
	0	1	2	3
การเจริญเติบโต (BA)				
น้ำหนักสด	$3.09^{ab} \pm 0.31$	$4.01^a \pm 0.51$	$3.09^{ab} \pm 0.31$	$2.77^b \pm 0.31$
น้ำหนักแห้ง	$0.26^a \pm 0.04$	$0.34^a \pm 0.02$	$0.30^a \pm 0.03$	$0.25^a \pm 0.04$

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)



ภาพประกอบ 8 โปรโตคอร์มกล้วยไม้เลี้ยงเฉพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

- ก. ไม่เติมฮอร์โมน
- ข. BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เลี้ยงเพาะ

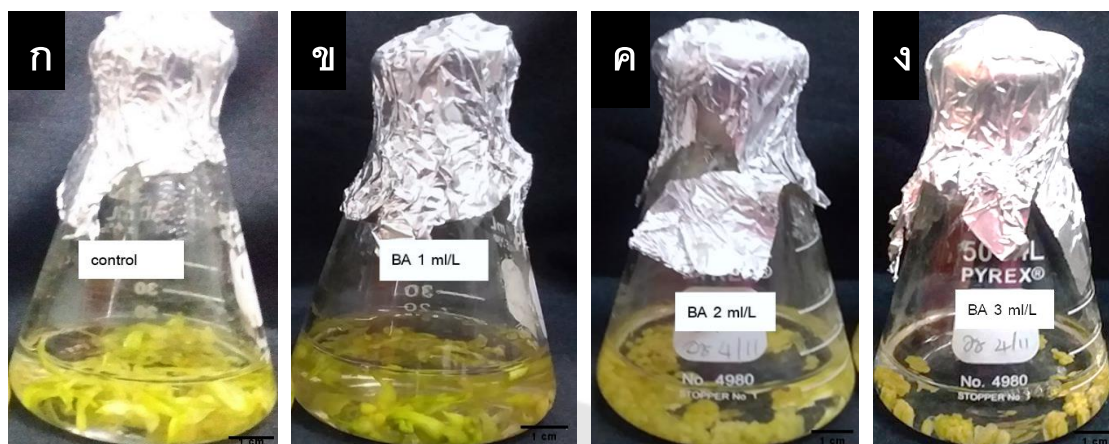
เมื่อนำเอาโปรโตคอร์มกล้วยไม้เลี้ยงเพาะขนาด 0.2-0.3 เซนติเมตร โดยการนับจำนวนก้อนโปรโตคอร์ม 10 ก้อนต่อขวด มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นต่างกันได้คือ 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อขวด เขย่าเพื่อให้เซลล์ได้รับอากาศด้วยความเร็วรอบประมาณ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิด PLBs ได้มากที่สุด 12.40 ± 1.03 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนพืช ขนาดของก้อนเฉลี่ย 0.34 ± 0.12 เซนติเมตร มีสีเขียวแตกเป็นก้อนจำนวนมาก ส่วนอาหารที่ไม่เติม BA สามารถชักนำให้เกิด PLBs เฉลี่ย 11.20 ± 2.68 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนพืช จำนวนยอดเฉลี่ย 1.28 ± 0.51 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 0.62 ± 0.23 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 0.92 ± 0.40 ใบต่อชิ้นส่วนพืช ลักษณะของ PLBs อ้วนมีใบยาวและแหลม อาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.67 ± 0.57 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช จำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 1.61 ± 0.75

ใบต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 0.69 ± 0.09 เซนติเมตร และจำนวน PLBs เฉลี่ย 10.00 ± 0.00 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนพืช ลำต้นอ่อน ใบหนามีสีเขียวแผ่ใบกว้าง และอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิด โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนพืช จำนวนยอดเฉลี่ย 0.60 ± 0.89 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 0.66 ± 0.62 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 1.00 ± 0.63 ใบต่อชิ้นส่วนพืช และ PLBs เฉลี่ย 7.20 ± 3.83 เพราะ PLBs บางจำนวนมีการเปลี่ยนสีจากสีเขียวอ่อน ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และก็ตายในที่สุด เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT พบว่าโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องแซะที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่ไม่เติม BA และ ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 2 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ส่วนจำนวน PLBs เฉลี่ย จำนวนยอดเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยมีความแตกต่างทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตาราง 5 ภาพประกอบ 9)

ตาราง 5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวน PLBs กล้วยไม้เอื้องแซะ

สูตรอาหาร	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช)	จำนวน PLBs
VW (control)	$0.62^a \pm 0.23$	$1.28^{ab} \pm 0.51$	$0.92^{ab} \pm 0.40$	$11.20^a \pm 2.68$
VW + BA1 mg/L	$0.69^a \pm 0.20$	$1.67^a \pm 0.57$	$1.61^a \pm 0.75$	$10.00^{ab} \pm 0.00$
VW + BA 2 mg/L	$0.34^a \pm 0.12$	-	-	$12.40^a \pm 2.30$
VW + BA 3 mg/L	$0.66^a \pm 0.62$	$0.60^b \pm 0.89$	$1.00^{ab} \pm 1.41$	$7.20^b \pm 3.83$

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)



ภาพประกอบ 9 โปรโตฟอร์มของกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

- ก. ไม่เติมฮอร์โมน
- ข. BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

3.1 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงิน

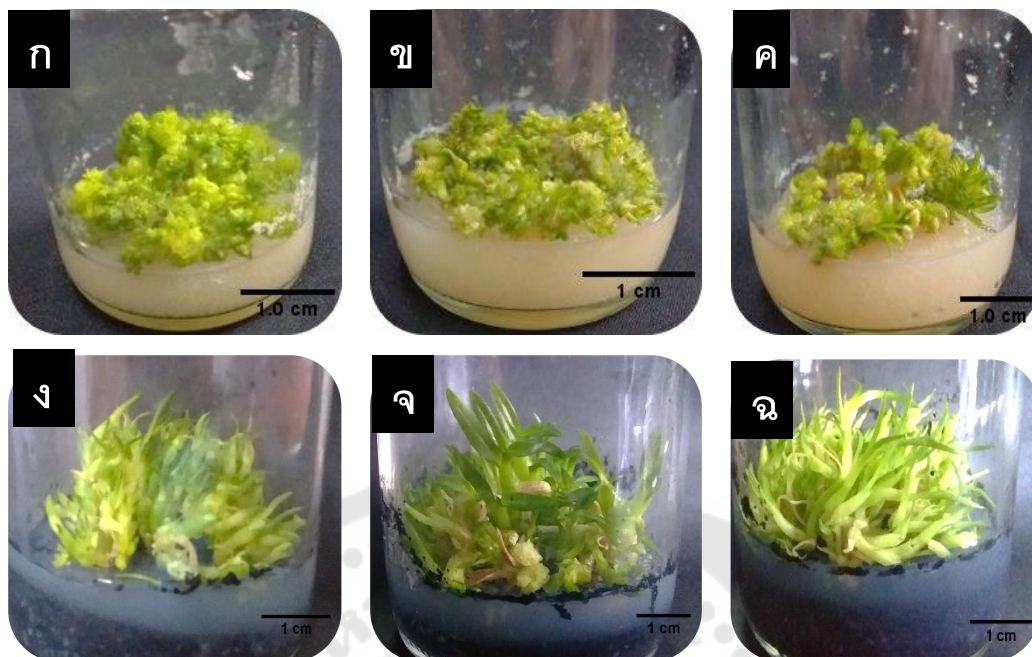
ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW เติมน้ำตาลซูโครส ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนของกล้วยไม้ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ได้ แต่กลับเกิดเป็น PLBs มากมายโดยอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิด PLBs มากที่สุด จากนั้นจึงได้ย้ายลงไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ดัดแปลงที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่ายังเกิดเป็น PLBs จำนวนมาก แต่ PLBs นั้นมีการพัฒนามากขึ้น จึงย้าย PLBs ขนาด 0.3-0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตรและผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ขวดละ 5 ก้อน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า PLBs จากอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ มี PLBs

เพิ่มขึ้น และมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อน โดยมีความยาวยอดเฉลี่ย 1.31 ± 0.09 เซนติเมตร จำนวน ยอดเฉลี่ย 21.51 ± 2.84 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ย 21.58 ± 1.98 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ย 5.32 ± 0.75 รากต่อต้น ความรากเฉลี่ย 0.26 ± 0.07 เซนติเมตร ได้ต้นอ่อนมีใบสีเขียว มีรากสีเขียว ยาวและปลายรากสีขาว ส่วน PLBs ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาล ซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นต้นอ่อนเจริญเติบโตดี โดยมีความยาวยอด เฉลี่ยมากที่สุด 1.51 ± 0.06 เซนติเมตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย 19.84 ± 2.87 ยอดต่อต้น มีจำนวนใบ เฉลี่ย 25.76 ± 2.73 ใบต่อต้น จำนวนรากมากที่สุดเฉลี่ย 7.14 ± 1.29 รากต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย ยาวที่สุด 0.53 ± 0.09 เซนติเมตร มีลำต้นอ้วน ยอดสูงมีใบ 2-3 ใบ รากสีเขียว ยาว มีขนเล็ก ๆ ติดตามบริเวณปลายราก และ PLBs อาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ มีความยาว ยอดเฉลี่ย 1.23 ± 0.06 เซนติเมตร มีจำนวนยอดและจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 25.62 ± 2.48 27.00 ± 3.63 ใบต่อต้น ตามลำดับ จำนวนรากเฉลี่ย 2.36 ± 0.77 รากต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.13 ± 0.04 เซนติเมตร มียอดเล็ก ๆ ลำต้นเรียว ใบเล็ก เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนและ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT พบว่า PLBs เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาล ซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ มีจำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ส่วน ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติที่ช่วง ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 6 ภาพประกอบ 10)

ตาราง 6 ผลของน้ำตาลซูโครสเพาะเลี้ยง PLBs เอื้องเงินเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ขวด)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ขวด)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ขวด)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม.)
VW+sucrose 1%	1.31 ^{ab} ± 0.09	21.51 ^a ± 2.84	21.58 ^a ± 1.98	5.32 ^a ± 0.75	0.26 ^b ± 0.07
VW+sucrose 2%	1.51 ^a ± 0.06	19.84 ^a ± 2.87	25.76 ^a ± 2.73	7.14 ^a ± 1.29	0.53 ^a ± 0.09
VW+sucrose 3%	1.23 ^b ± 0.06	25.62 ^a ± 2.48	27.00 ^a ± 3.63	2.36 ^b ± 0.77	0.13 ^b ± 0.04

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ซึ่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)



ภาพประกอบ 10 PLBs เอื้องเงิน เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลทุกความเข้มข้นย้ายมา เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบดไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ และเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบดและผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 23 สัปดาห์

- ก. PLBs น้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในอาหารที่เติมมันฝรั่งบด 15 สัปดาห์
- ข. PLBs น้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในอาหารที่เติมมันฝรั่งบด 15 สัปดาห์
- ค. PLBs น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในอาหารที่เติมมันฝรั่งบด 15 สัปดาห์
- ง. PLBs น้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในอาหารมันฝรั่งบดและผงถ่านกัมมันต์ 23 สัปดาห์
- จ. PLBs น้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในอาหารมันฝรั่งบดและผงถ่านกัมมันต์ 23 สัปดาห์
- ฉ. PLBs น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในอาหารมันฝรั่งบดและผงถ่านกัมมันต์ 23 สัปดาห์

3.2 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะ

จากการศึกษาปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าโปรโตคอร์มที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีการพัฒนาเติบโตเป็นต้นอ่อน มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 68 ± 0.38 ยอดต่อต้น ความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.18 ± 0.35 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 85 ± 0.43 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ย 0.14 ± 0.20 รากต่อต้น และมีจำนวน PLBs เฉลี่ยมากที่สุด 0.21 ± 0.19 ลำต้นอ่อนมีสีเขียวปนเหลือง ใบกว้างมีสีเขียว รากสีขาว ขนาดเล็ก ส่วนผลของอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ต้นอ่อน มีจำนวนยอดเฉลี่ย คิดเป็น 1.30 ± 0.26 ยอดต่อต้น ความยาวยอดเฉลี่ย 0.93 ± 0.16 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 1.91 ± 0.53 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ย 0.24 ± 0.27 รากต่อต้น และมีจำนวน PLBs เฉลี่ย 0.03 ± 0.06 ลำต้นเรียวยาว ใบยาวแหลม รากสีขาว สั้น และส่วนผลของอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ต้นอ่อนจะมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 2.28 ± 0.29 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 0.30 ± 0.30 รากต่อต้น จำนวนยอดเฉลี่ย 1.43 ± 0.50 ยอดต่อต้น ความยาวยอดเฉลี่ย 0.79 ± 0.27 เซนติเมตร และมีจำนวน PLBs เฉลี่ย 0.05 ± 0.07 ลำต้นอ่อน และสั้น ใบสีเขียวเข้ม แผ่นใบกว้าง เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะที่เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส ทุกความเข้มข้น มีจำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) แต่พบว่าความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนยอดเฉลี่ย และ PLBs เฉลี่ย มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

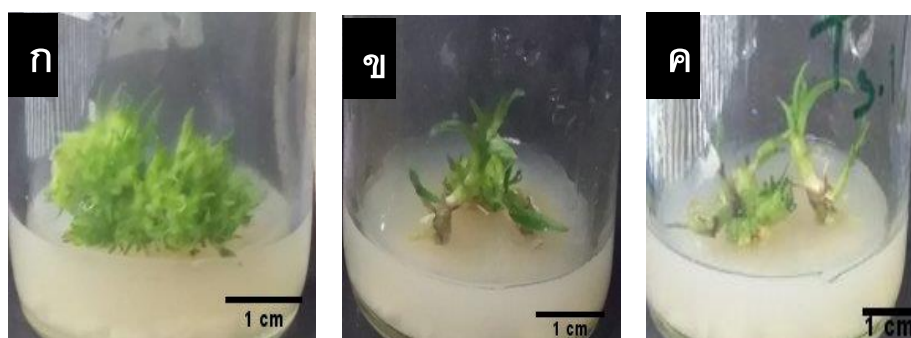
เมื่อย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะที่เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส ทุกความเข้มข้นมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัม ต่อลิตร เป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 12.90 ± 2.88 ต้นต่อ PLBs มีการแตกยอดเป็นต้นใหม่มากที่สุด ส่วนผลของอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นเฉลี่ย คิดเป็น 9.78 ± 0.89 ต้นต่อ PLBs ลำต้นมีสีเขียวเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ มีรากสีขาวสั้น มีก้าน PLBs สีเขียวปนเหลือง ส่วนผลของอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นเฉลี่ยคิดเป็น 10.30 ± 1.25 ต้นต่อ PLBs ลำต้นกลม อ้วน ใบหนา และแผ่นใบกว้าง มีรากสีขาว สั้น ขนาดเล็ก เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

รายคู่ด้วยวิธี DMRT พบว่า มีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 7 ภาพประกอบ 11)

ตาราง 7 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้อง
แฉะ

สูตรอาหาร	จำนวนต้นเฉลี่ย (ต้น/PLBs)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอด เฉลี่ย (ยอด/ต้น)	จำนวนใบ เฉลี่ย (ใบ/ต้น)	จำนวนราก เฉลี่ย (ราก/ต้น)	จำนวน PLBs
VW + sucrose 1%	12.90 ^a ± 2.88	1.18 ^a ± 0.35	1.68 ^a ± 0.38	1.85 ^a ± 0.43	0.14 ^a ± 0.20	0.21 ^a ± 0.19
VW + sucrose 2 %	9.78 ^b ± 0.89	0.93 ^b ± 0.16	1.30 ^b ± 0.26	1.91 ^a ± 0.53	0.24 ^a ± 0.27	0.03 ^b ± 0.06
VW + sucrose 3 %	10.30 ^b ± 1.25	0.79 ^b ± 0.27	1.43 ^{ab} ± 0.50	2.28 ^a ± 0.91	0.31 ^a ± 0.30	0.05 ^b ± 0.07

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วง
ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธี DMRT (Duncan's
Multiple Range Test)



ภาพประกอบ 11 PLBs เอื้องแซะ เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลทุกความเข้มข้นย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด เป็นเวลา 15 สัปดาห์

- ก. PLBs น้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ ย้ายมาเลี้ยงในอาหารที่เติมมันฝรั่งบด 15 สัปดาห์
- ข. PLBs น้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ ย้ายมาเลี้ยงในอาหารที่เติมมันฝรั่งบด 15 สัปดาห์
- ค. PLBs น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ ย้ายมาเลี้ยงในอาหารที่เติมมันฝรั่งบด 15 สัปดาห์

4. ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

4.1. ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องเงิน

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนเอื้องเงิน ในอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ทั้ง 5 สูตร โดยการนำต้นอ่อนเอื้องเงินอายุ 25 สัปดาห์ ที่มีขนาด 0.5 เซนติเมตร มีใบอย่างน้อย 2 ใบ พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ เป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.07 ± 0.85 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.87 ± 0.28 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 5.45 ± 0.51 ใบต่อต้น ลำต้นมีสีเขียว กลม อ้วน ใบมีสีเขียว ยาว โค้งงอ ส่วนต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด ความยาวยอดเฉลี่ย 0.78 ± 0.05 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 2.60 ± 0.25 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ย 3.23 ± 0.37 ใบต่อต้น ลำต้นสั้น ใบมีสีเขียว มีการแตกยอดด้านข้าง ส่วนต้นอ่อนเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศ ความยาวยอดเฉลี่ย 0.76 ± 0.05 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 2.80 ± 0.31 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ย 3.93 ± 0.48 ใบต่อต้น และมีจำนวนรากมากที่สุดเฉลี่ย 2.73 ± 0.38 รากต่อต้น มีความยาว

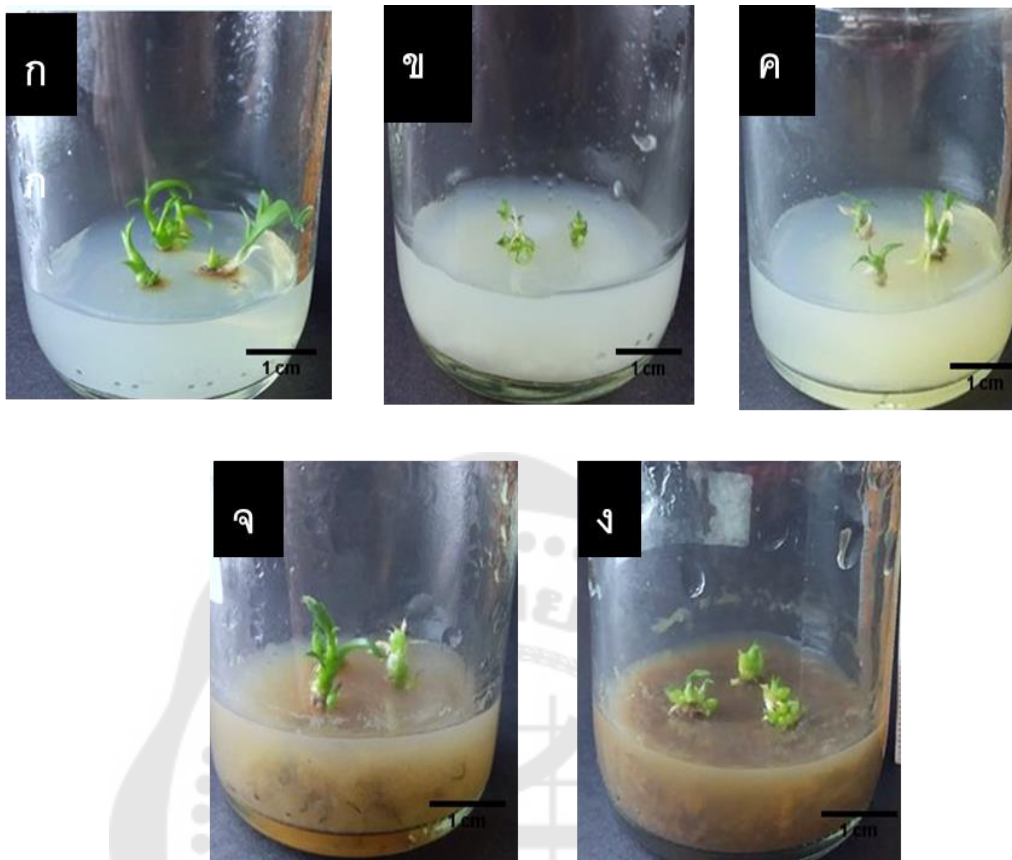
รากเฉลี่ยมากที่สุด 0.48 ± 0.08 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียวปนเหลือง ใบมีสีเขียว แต่มีรากสีขาวปนเหลือง ยาว เรียว ส่วนต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมบด ความยาวยอดเฉลี่ย 0.75 ± 0.05 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 2.30 ± 0.41 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ย 1.43 ± 0.23 ใบต่อต้น ลำต้นพัฒนาเป็นลำลูกกล้วยขึ้นเป็นกอ ใบมีสีเขียว หนา และส่วนต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์รวมกัน มีความยาวยอดเฉลี่ย 0.89 ± 0.08 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 2.40 ± 0.27 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ย 4.23 ± 0.45 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ย 1.80 ± 0.46 รากต่อต้น มีความยาวรากเฉลี่ย 0.27 ± 0.08 เซนติเมตร ลำต้นสูง อ้วน มีสีเขียว ใบสีเขียว กว้าง ยาว และใบแตกออกด้านข้างลำจำนวนมาก รากมีสีขาว ขนาดเล็ก กลมและสั้น เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT พบว่า ต้นอ่อนเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ทุกสูตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ส่วนความยาวยอดเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตาราง 8 ภาพประกอบ 12)

ดังนั้นเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์โดยนำมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 32 สัปดาห์ ได้จำนวนต้นที่แข็งแรงเพื่อการพัฒนาในระบบรากที่ดีขึ้น จึงย้ายต้นอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 40 สัปดาห์ ผงถ่านกัมมันต์ ทำให้อาหารมีสีดำ ให้ความมืด ช่วยดูดซับสารที่ไม่พึงประสงค์หรือสารยับยั้งต่าง ๆ สามารถชักนำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินเกิดรากและรากมีการเจริญเติบโตดีขึ้น ย้ายเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 48 สัปดาห์ จึงสามารถนำออกปลูกได้ (ภาพประกอบ 13)

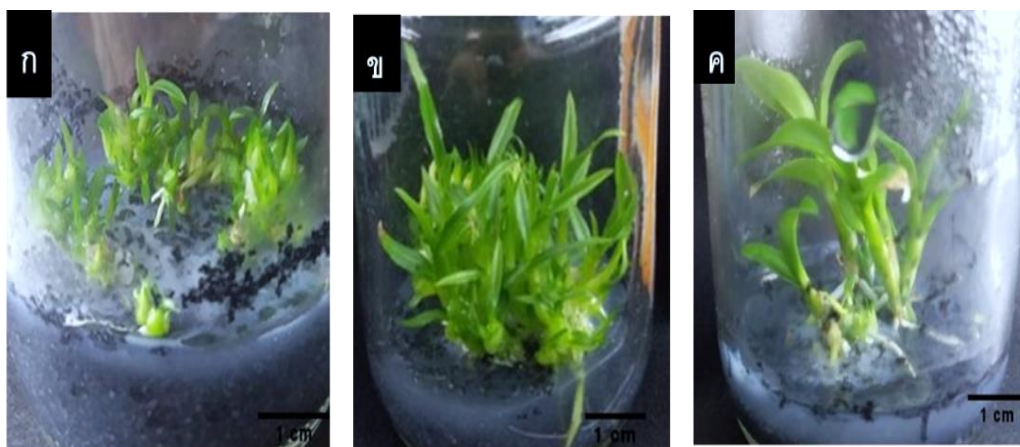
ตาราง 8 ผลของอาหารและอาหารอินทรีย์ต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงิน

สูตรอาหาร	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอด เฉลี่ย (ยอด/ต้น)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ต้น)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ต้น)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม.)
น้ำมะพร้าว	$1.07^a \pm 0.85$	$2.87^a \pm 0.28$	$5.45^a \pm 0.51$	$0.17^c \pm 0.11$	$0.01^c \pm 0.00$
มันฝรั่งบด	$0.78^b \pm 0.05$	$2.60^a \pm 0.25$	$3.23^b \pm 0.37$	$0.80^c \pm 0.25$	$0.09^c \pm 0.04$
น้ำมะเขือเทศ	$0.76^b \pm 0.05$	$2.80^a \pm 0.31$	$3.93^b \pm 0.48$	$2.73^a \pm 0.38$	$0.48^a \pm 0.08$
กล้วยหอมบด	$0.75^b \pm 0.05$	$2.30^a \pm 0.41$	$1.43^c \pm 0.23$	$0.70^c \pm 0.23$	$0.09^c \pm 0.03$
สูตรผสม	$0.89^{ab} \pm 0.08$	$2.40^a \pm 0.27$	$4.23^b \pm 0.45$	$1.80^b \pm 0.46$	$0.27^b \pm 0.08$

หมายเหตุ: อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์นี้มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)



ภาพประกอบ 12 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นเวลา 24 สัปดาห์ ก. น้ำมะพร้าว ข. มันฝรั่งบด ค. น้ำมะเขือเทศ ง. กล้วยหอมบด จ. สูตรผสม



ภาพประกอบ 13 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารอินทรีย์ทุกสูตร ย้ายมาเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อนสมบูรณ์

ก. อาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 32 สัปดาห์

ข. อาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 40 สัปดาห์

ค. อาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 48 สัปดาห์

4.2. ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องแซะ

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนเอื้องแซะในอาหารดัดแปลงอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ทั้ง 5 สูตร โดยการนำต้นอ่อนเอื้องแซะที่มีขนาด 0.5 เซนติเมตร มีใบอย่างน้อย 2 ใบพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าสูตรอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร ชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอดมากที่สุดใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้นแข็งแรงกว่าอาหารสูตรอื่น ๆ จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 11.36 ± 3.14 ยอดต่อต้น ความยาวยอดเฉลี่ย 0.81 ± 0.07 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 7.87 ± 2.09 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ย 5.76 ± 0.42 รากต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.36 ± 0.05 เซนติเมตร ส่วนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมบด 150 กรัมต่อลิตร พบว่าชักนำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.19 ± 0.07 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 2.82 ± 0.34 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ย 3.20 ± 0.49 ใบต่อต้น จำนวนราก 6.13 ± 0.65 รากต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.49 ± 0.05 เซนติเมตร ลำต้นมีข้อเป็นลำลูกกล้วยเป็นข้อ อ้วน ขนาดใหญ่ มีสีเขียว ใบยาว มีสีเขียว ส่วนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าต้นอ่อนสามารถชักนำเกิดความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 0.53 ± 0.05

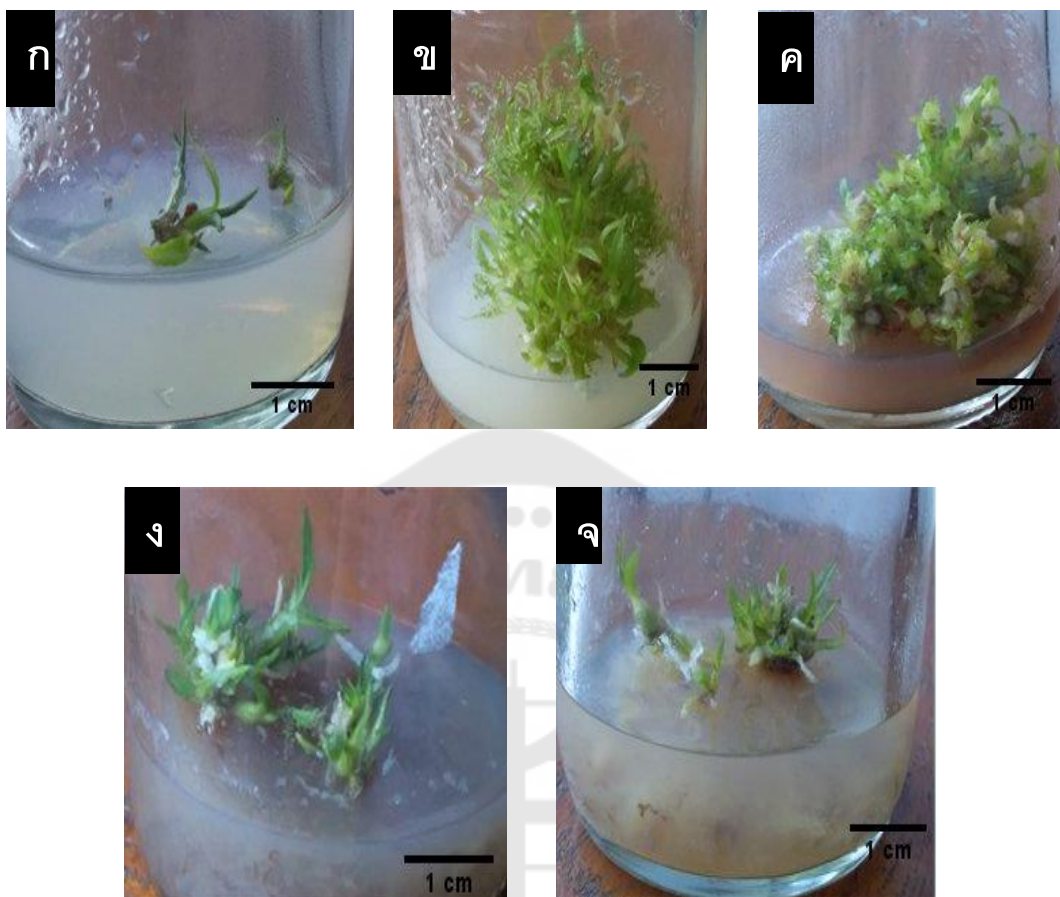
เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 10.25 ± 4.04 ยอดต่อต้น ความยาวยอดเฉลี่ย 0.85 ± 0.09 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 6.18 ± 1.34 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ย 6.55 ± 1.09 รากต่อต้น ลำต้นมีสีเขียว รากมีสีเขียว ปลายอ่อนสีขาว อาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ผสม พบว่า ชักนำให้ต้นอ่อนเกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 8.93 ± 1.31 รากต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.51 ± 0.05 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 6.86 ± 1.32 ยอดต่อต้น ความยาวยอดเฉลี่ย 0.89 ± 0.07 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 4.56 ± 0.86 ใบต่อต้น รากสีขาวขนาดเล็ก กลม อ้วนและสั้น มีขนสีดำติดตามข้อของลำต้นจนถึงโคนใบ และส่วนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าต้นอ่อนมีความยาวยอดเฉลี่ย 0.73 ± 0.07 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 3.03 ± 0.54 ยอดต่อต้น จำนวนใบเฉลี่ย 2.61 ± 0.31 ใบต่อต้น จำนวนรากเฉลี่ย 1.44 ± 0.42 รากต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย 0.13 ± 0.04 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียวปนเหลือง กลม อ้วน ใบมีสีเขียวแผ่นใบกว้าง รากมีสีขาวขนาดเล็ก เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 9 ภาพประกอบ 14)

ดังนั้นเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ ย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่เติมสารอินทรีย์ทุกสูตร มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร และ ภู่น 8 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 สัปดาห์ สามารถได้ต้นที่แข็งแรงและมีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่ระบบรากยังมีน้อย จึงถ่ายขวดกล้วยไม้โดยแยกต้นอ่อนมาเลี้ยง ตามขนาดของต้น ต้นที่มีขนาดเดียวกันให้ปักดำลงในอาหารขวดเดียวกัน 3-5 ต้นต่อขวด โดยเว้นระยะห่างระหว่างต้นให้เหมาะสม เพื่อต้นเจริญเติบโตได้ดี แล้วนำขวดดังกล่าวไปวางไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในระยะนี้จะใช้เวลาถึง 12-16 สัปดาห์ เพื่อให้ต้นเติบโตมีใบและรากสมบูรณ์ จนต้นชนขวดด้านบน จึงนำต้นกล้วยไม้ปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกที่โรงเรือน (ภาพประกอบ 15)

ตาราง 9 ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อน
กล้วยไม้เอื้องแซะ

สูตรอาหาร	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอด เฉลี่ย (ยอด/ต้น)	จำนวนใบ เฉลี่ย (ใบ/ต้น)	จำนวนราก เฉลี่ย (ราก/ต้น)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม.)
น้ำมะพร้าว	$0.73^b \pm 0.07$	$3.03^b \pm 0.54$	$2.61^b \pm 0.31$	$1.44^c \pm 0.42$	$0.13^c \pm 0.04$
มันฝรั่งบด	$0.81^b \pm 0.07$	$11.36^a \pm 3.14$	$7.87^a \pm 2.09$	$5.76^b \pm 0.42$	$0.36^b \pm 0.05$
น้ำมะเขือเทศ	$0.85^b \pm 0.09$	$10.25^a \pm 4.04$	$6.18^{ab} \pm 1.34$	$6.55^b \pm 1.09$	$0.53^a \pm 0.05$
กล้วยหอมบด	$1.10^a \pm 0.07$	$2.82^b \pm 0.34$	$3.02^b \pm 0.49$	$6.13^b \pm 0.65$	$0.49^a \pm 0.05$
สูตรผสม	$0.89^{ab} \pm 0.07$	$6.86^{ab} \pm 1.32$	$4.56^{ab} \pm 0.86$	$8.93^a \pm 1.31$	$0.51^a \pm 0.05$

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ช่วง
ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple
Range Test)



ภาพประกอบ 14 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ก. น้ำมะพร้าว ข. มันฝรั่งบด ค. น้ำมะเขือเทศ ง. กล้วยหอมบด จ. สูตรผสม



ภาพประกอบ 15 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องชะพะเลียงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์

- ก. อาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 20 สัปดาห์
- ข. อาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 28 สัปดาห์
- ค. อาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 36 สัปดาห์

5. ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

5.1. ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมของกล้วยไม้เอื้องเงิน

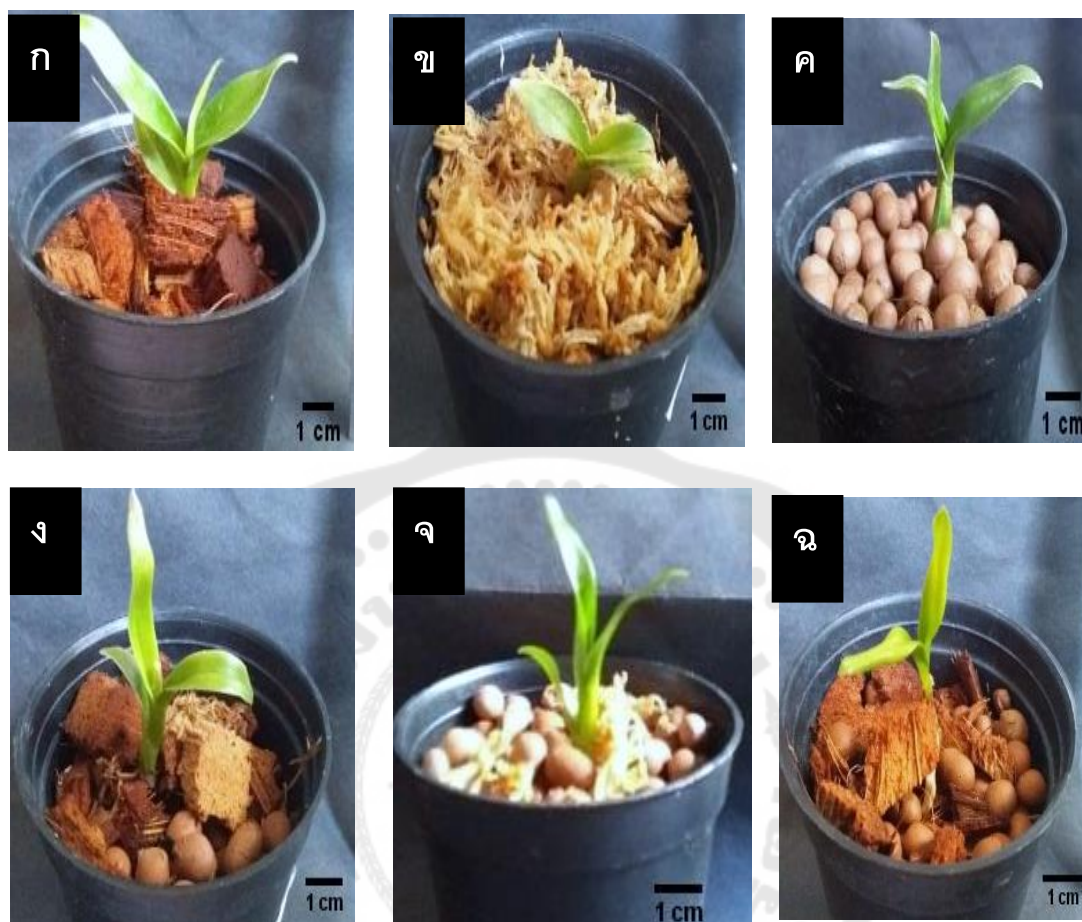
เมื่อย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงิน มีใบ 3 ใบ ที่มีราก 3 ราก ลำต้นแข็งแรงและรากสมบูรณ์ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสภาพปลอดเชื้อในขวดทดลอง นำต้นอ่อนมาปรับสภาพก่อนนำออกปลูก เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นอ่อนออกปลูกในวัสดุปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่ย้ายออกปลูกในกาบมะพร้าวสับ และไฮโดรตรอน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด 90 เปอร์เซ็นต์ สำหรับต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่ย้ายออกปลูกในกาบมะพร้าวสับร่วมกับไฮโดรตรอนและสแฟกนัมมอส (1:1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตเท่ากันคือ 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่ย้ายออกปลูกในสแฟกนัมมอส สแฟกนัมมอสร่วมกับไฮโดรตรอน (1:1) และกาบมะพร้าวสับร่วมกับไฮโดรตรอน (1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกทุกชนิดมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากันคือ 1.00 ยอดต่อต้น นอกนั้นต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่ปลูกในกาบมะพร้าวสับ มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.52 ลำต้นสีเขียว อ้วน ลำต้นแข็งแรง แผ่นใบกว้างและหนา และต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่ปลูกในกาบมะพร้าวสับร่วมกับไฮโดรตรอน (1:1) มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 2.57 ใบต่อต้น ใบมีสีเขียวส่วนปลายใบมีสีเหลือง แผ่นใบกว้าง ใบแรกเกิดมาเหี่ยวและแห้งตาย เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนและ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT พบว่าวัสดุปลูกทุกชนิด มีความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย ไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตาราง 10 ภาพประกอบ 16)

ตาราง 10 ผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เชิงเงินเมื่อปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

วัสดุปลูก	อัตราการรอด ชีวิต (%)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอด เฉลี่ย (ยอด/ต้น)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ต้น)
กาบมะพร้าวสับ	90	$3.52^a \pm 1.16$	$1.00^a \pm 0.00$	$2.22^a \pm 1.20$
กาบมะพร้าวสับและไฮโดรตรอน	70	$2.85^a \pm 1.02$	$1.00^a \pm 0.00$	$2.57^a \pm 0.78$
ไฮโดรตรอน	90	$2.78^a \pm 0.87$	$1.05^a \pm 0.05$	$2.11^a \pm 1.16$
ไฮโดรตรอนและสแฟกนัมมอส	70	$2.71^a \pm 0.63$	$1.00^a \pm 0.00$	$2.14^a \pm 0.89$
สแฟกนัมมอส	70	$2.57^a \pm 0.44$	$1.00^a \pm 0.00$	$2.42^a \pm 1.27$
กาบมะพร้าวกับไฮโดรตรอน และสแฟกนัมมอส	80	$3.37^a \pm 1.21$	$1.00^a \pm 0.00$	$2.00^a \pm 1.19$

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)



ภาพประกอบ 16 ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่โรงเรียน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ก. กาบมะพร้าวสับ

ข. สแฟกนัมมอส

ค. ไฮโดรตรอน

ง. กาบมะพร้าวและไฮโดรตรอน (1:1)

จ. สแฟกนัมมอสและไฮโดรตรอน (1:1)

ฉ. กาบมะพร้าวกับไฮโดรตรอนและสแฟกนัมมอส (1:1:1)

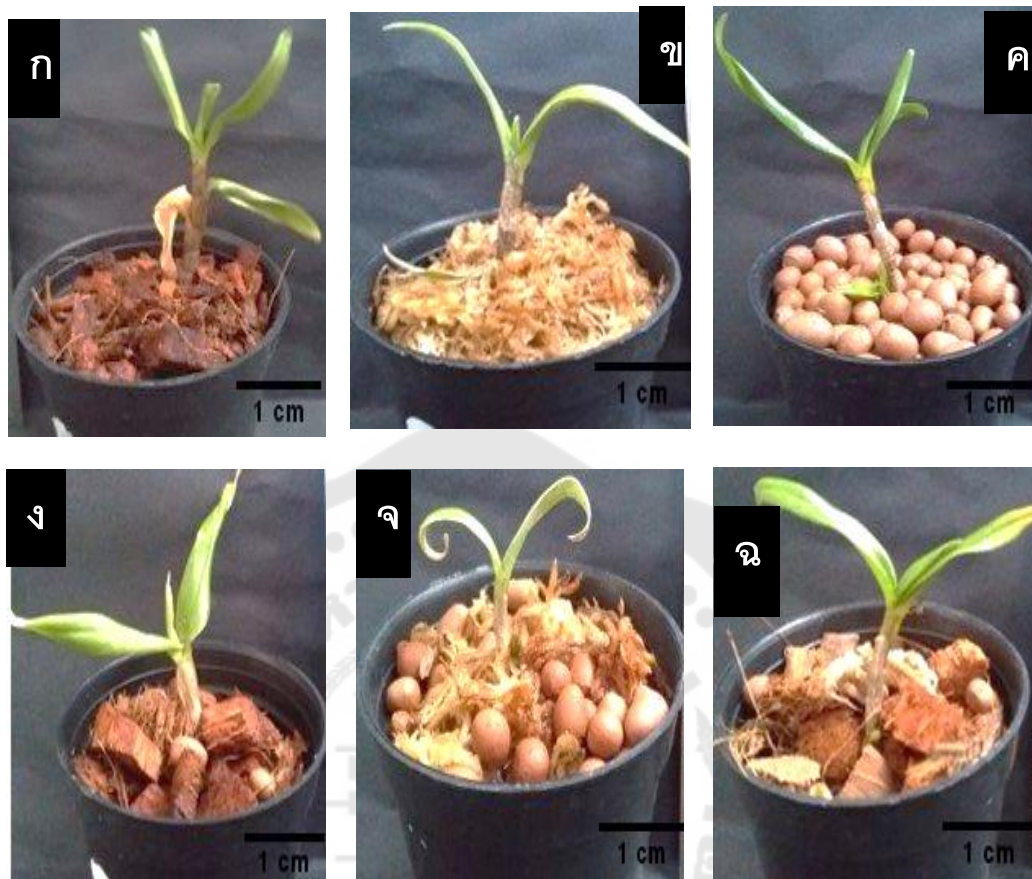
5.2. ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมของกล้วยไม้เอื้องแซะ

จากการศึกษาย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะ ขนาด 3 เซนติเมตร มีใบ 3 ใบ มีลำต้น และรากที่สมบูรณ์ มาออกปลูกในวัสดุปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะที่ ย้ายออกปลูกในสแฟกนัมมอส (Sphagnum moss) มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด 87 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนปลูกในสแฟกนัมมอสร่วมกับไฮโดรตรอน (1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 83 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนปลูกในกาบมะพร้าวสับพบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนปลูกในวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับร่วมกับไฮโดรตรอน (1:1) และกาบมะพร้าวสับกับไฮโดรตรอน และ สแฟกนัมมอส (1:1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตเท่ากัน 73 เปอร์เซ็นต์ และต้นอ่อนปลูก ในวัสดุปลูกไฮโดรตรอน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 63 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ต้นอ่อนกล้วยไม้ เอื้องแซะที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกทุกชนิดมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากันคือ 1.00 ยอดต่อต้น ต้นอ่อน กล้วยไม้เอื้องแซะที่ปลูกในไฮโดรตรอน มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.88 เซนติเมตร และมี จำนวนใบเฉลี่ย 2.94 ใบต่อต้น ลำต้นมีสีเหลืองปนเขียว ใบมีสีเขียว ปลายใบงอ เมื่อวิเคราะห์ ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT พบว่า วัสดุปลูกทุกชนิด มีความยาว ยอดเฉลี่ย จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย ไม่มีความแตกต่างกัน ($p \geq 0.05$) ที่ช่วงความ เชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 11 และ ภาพประกอบ 17)

ตาราง 11 ผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องแซะเมื่อปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

วัสดุปลูก	อัตราการรอด ชีวิต (%)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ต้น)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ต้น)
กาบมะพร้าวสับ	80	3.44 ^a ± 0.22	1.00 ^a ± 0.00	2.91 ^a ± 0.29
กาบมะพร้าวสับและไฮโดรตรอน	73	3.45 ^a ± 0.29	1.00 ^a ± 0.00	2.68 ^a ± 0.23
ไฮโดรตรอน	63	3.88 ^a ± 0.31	1.05 ^a ± 0.05	2.94 ^a ± 0.34
ไฮโดรตรอนและสแฟกนัมมอส	83	3.36 ^a ± 0.18	1.00 ^a ± 0.00	2.44 ^a ± 0.23
สแฟกนัมมอส	87	3.80 ^a ± 0.26	1.00 ^a ± 0.00	2.50 ^a ± 0.21
กาบมะพร้าวกับไฮโดรตรอน และสแฟกนัมมอส	73	3.58 ^a ± 0.29	1.00 ^a ± 0.00	2.54 ^a ± 0.26

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติในช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)



ภาพประกอบ 17 ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องแซะย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ก. กาบมะพร้าวสับ

ข. สแฟกนัมมอส

ค. ไฮโดรตรอน

ง. กาบมะพร้าวและไฮโดรตรอน (1:1)

จ. สแฟกนัมมอสและไฮโดรตรอน (1:1)

ฉ. กาบมะพร้าวกับไฮโดรตรอนและสแฟกนัมมอส (1:1:1)

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลและอภิปรายผล

1.1 การเพาะเมล็ดเอื้องเงินและเอื้องแซะ

เมื่อเพาะเมล็ดเอื้องเงินและเอื้องแซะบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ครบ 9 สัปดาห์ เมล็ดเปลี่ยนจากลักษณะคล้ายฝุ่นสีเหลืองขนาดเล็ก ๆ ไปเป็นโปรโตคอร์มสีเขียวจำนวนมาก เมล็ดมีการขยายขนาดและเปลี่ยนเป็นสีเขียว เนื่องจากเอ็มบริโอดูดเอาน้ำโดยผ่านชั้น testa ทำให้เซลล์ของเมล็ดเอ็มบริโอมีการขยายในสภาพที่ได้รับแสงจึงมีการสร้างคลอโรฟิลล์เกิดขึ้น (Pierik, 1997) ทำให้เอ็มบริโอมีสีเขียว มีลักษณะกลม ต้นเมล็ดหลุดออกจากเปลือกและเอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์ม (Arditti, 1992) มีรายงานว่าน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ และน้ำมะพร้าวอ่อนมีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของเซลล์ผิว (ศิริลักษณ์ เจริญดี, 2544) อย่างไรก็ตามยังมีอาหารสูตรอื่น ๆ ที่เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ เช่น การใช้อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอมบด 10 เปอร์เซ็นต์ ผงถ่านกัมมันต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และวิตามินรวม เพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องแซะหลวง (*D.scabrilingue* Lindl) ได้ทั้งบนอาหารแข็งและในอาหารเหลว (ภูมิรินทร์ คงมณี, 2544) อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ น้ำต้มมันฝรั่ง 5 เปอร์เซ็นต์ และกล้วยหอมบด 10 เปอร์เซ็นต์ เพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*D. formosum* Roxb.) (ศิริลักษณ์ เจริญดี, 2544) อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ น้ำต้มมันฝรั่ง 10 เปอร์เซ็นต์ เพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor*) (วิวัฏญ์ พนธิไชย, 2529) อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 30 เปอร์เซ็นต์ เพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีคางกบ (*Paphiopedilum calloum*) (สุกฤต อิมสมบุญ, สุริยา ตันติวิวัฒน์, และ ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2550) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมดิบที่ไม่มีน้ำตาลซูโครส เพาะเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสม *Vanda Rothschildiana* x *V. sanderiana* (อิทธิพล พรหมรส, 2523) นอกจากนี้ ผงถ่านกัมมันต์เป็นสารที่ช่วยการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อน (Kima et al., 2019) ยังสามารถดูดซับสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตในขบวนการเมแทบอลิซึม เช่น สารประกอบฟีนอลิก ช่วยรักษาระดับความเป็นกรด-เบสของอาหารได้ด้วย นอกนั้นยังช่วยเพิ่มออกซิเจนในอาหาร เนื่องจากอนุภาคของถ่านมีรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (Allison, Arditti, and Botanical, 1984)

1.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

ศึกษาปริมาณของ BA ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด PLBs ของเอื้องเงินและเอื้องแซะ เมื่อย้ายโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดที่มีขนาด 0.2-0.3 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นต่างกันที่ 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าโปรโตคอร์มของเอื้องเงินเมื่อนำลงเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ทำให้ก้อนโปรโตคอร์มแตกกระจาย เป็นก้อนเล็กจำนวนมากทำให้จำนวนโปรโตคอร์มเพิ่มในแต่ละขวดไม่เท่ากัน เนื่องจากระยะและรูปแบบของการเจริญของโปรโตคอร์มกล้วยไม้แต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังนั้นจึงเปลี่ยนวิธีการชั่งน้ำหนักสด เพื่อให้มีโปรโตคอร์มเริ่มต้นเท่ากันโดยได้ชักนำ PLBs เอื้องเงินในอาหารเหลว VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่า การเพิ่มจำนวน PLBs มีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ ทำให้เซลล์มีการขยายตัว ช่วยการเจริญเติบโตของตาข้าง และลำต้น (Huetteman and Preece, 1993) ส่วนผลของน้ำหนักแห้งพบว่าโปรโตคอร์มเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติม BA และไม่เติม มีน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกัน ($p \geq 0.05$)

อย่างไรก็ตามการชักนำให้เกิด PLBs กล้วยไม้เอื้องแซะพบว่า อาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนของ PLBs ดีที่สุด เพราะสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ให้ผลดีต่อการกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ และมีการเกิดยอดมากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chourykaew and Suwannawong (2017) ที่รายงานว่าอาหารสูตร VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นอ่อนเอื้องกาบดอกมีจำนวนยอดดีสุด แต่อย่างไรก็ตามปริมาณความเข้มข้นและสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เมื่อเพาะเลี้ยงขึ้นส่วนพืชบนอาหารที่เติม BA รวมถึงกระตุ้นการทำงานของโปรตีนและเอนไซม์ในเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตจึงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการชักนำให้การเจริญเติบโตเป็นอย่างมาก ถ้าใช้ BA ในปริมาณมากจะส่งผลทางลบต่อการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงขึ้นส่วนของพืช นอกจากนั้นยังทำให้จำนวน PLBs กล้วยไม้ลดลง (Sagaya Mary and Divakar, 2015)

1.3 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของต้นอ่อนกล้วยไม้ เอื้องเงินและเอื้องแซะ

เมื่อนำ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะระยะที่มีใบ 2 ใบ มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นแตกต่างกันที่ 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครสทุกความเข้มข้นไม่ทำให้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ แต่ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินพัฒนาเป็น PLBs ดีที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ เกศรินทร์ เกตุพยัคฆ์ (2551) ที่รายงานว่า สภาพของอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องมรกตโดยโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ได้เคลื่อนไหวดลอดเวลาบนเครื่องเขย่า ทำให้เนื้อเยื่อปลายยอดสามารถสร้างโปรโตคอร์มได้ตลอดเวลา เมื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 3-4 สัปดาห์ ในขณะที่กล้วยไม้เอื้องแซะ พบว่าการเพาะเลี้ยง PLBs ในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดต้นอ่อนเติบโตดีที่สุด โดยมีจำนวนยอดและความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 1.18 เซนติเมตร และ 1.68 ยอดต่อต้น ตามลำดับ ลำต้นอ้วน แข็งแรง สามารถชักนำเกิดต้นอ่อนอย่างรวดเร็วที่สุด ทั้งนี้ อาจเนื่องจากผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการพัฒนา PLBs สอดคล้องกับงานวิจัยของ ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย และ พิมพิไล อาภาวัชรุตม์ (2550) ที่ได้รายงานว่า น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญให้แก่พืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โดยทั่วไปน้ำตาลที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลซูโครส และปริมาณน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสร้างขนาดของใบต้นอ่อน โดยความเข้มข้นของน้ำตาลมากจะทำให้ใบมีขนาดเล็กและใบมีความกว้างน้อยที่สุด เนื่องจากน้ำตาลเป็นส่วนประกอบที่สำคัญเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่ปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด (Arditti and Pridgeon, 2013) คาร์โบไฮเดรต มีบทบาทในการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ และโปรตีนในระหว่างการคายน้ำ โดยในกระบวนการจำลองของละอองเกสรดอกไม้ และเมล็ด (Allison, Arditti and Botanical, 1984)

อย่างไรก็ตาม ผลของอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กล้วยไม้เอื้องแซะมีจำนวนใบและจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 2.28 ใบต่อต้น และ 0.31 รากต่อต้นตามลำดับ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสในอาหารส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ ทำให้มีจำนวนรากเพิ่มขึ้น แต่การเจริญเติบโตของต้นลดลงเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูง (Yates and Curtis, 1949) เนื่องจากการแพร่กระจายคาร์โบไฮเดรตภายในพืชซูโครสมีผลทำให้พืชนำไปใช้กับใบได้ดีกว่านำไปใช้ในราก (Went and Carter, 1948) อย่างไรก็ตาม เมื่อปริมาณน้ำตาลความเข้มข้นสูงเกินจุดจำเพาะก็จะทำให้การเจริญเติบโตลดลง และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ ทั้งยังส่งผลให้เกิดสะสมแป้งในคลอโรพลาสต์มาก หรือเกิด

การสร้างเอนไซม์ ribulose biphosphate carboxylase ขึ้นใหม่ได้ช้า (Arditti, 2008; Pierik, 1997) เป็นผลให้ดูดซึมคาร์บอนได้อัตราต่ำลงทำให้อัตราสังเคราะห์แสงต่ำลงไปด้วย (Hdider and Dejardins, 1994) สอดคล้องกับการทดลองของ ศิริพร ทวีโรจนการ, ไขนียะ สะมาลา และ กิตติมา คงทน (2561) ที่ได้รายงานว่าอาหารสูตรดัดแปลง VW ที่มีน้ำตาลซูโครส 2.0 เปอร์เซ็นต์ และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกล้วยหอมสุก ทำให้ต้นอ่อน *D. taurianum* มีการเจริญเติบโตส่วนยอดและรากดีกว่าน้ำตาลซูโครส 0 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกล้วยดิบ กล้วยห่ามหรือไม่ใส่กล้วย อาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กล้วยไม้กะระวอน (*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) มีการพัฒนาการเกิดยอดและใบได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

เมื่อเปรียบเทียบต้นที่เคยเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นแตกต่างกันที่ 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ของกล้วยไม้ 2 ชนิด ในการพัฒนาให้เป็นต้นอ่อนได้ โดยนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดีแต่สร้างรากได้น้อย และจากการทดลองพบว่าในสัปดาห์ 5-6 ต้นอ่อนเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เนื่องจากไม่ได้เปลี่ยนอาหารจึงทำให้บนอาหารมีความเข้มข้นของธาตุอาหารลดต่ำลง แต่ก่อนโปรโตคอร์มยังคงขยายขนาดขึ้นจึงทำให้พื้นที่สัมผัสอาหารมีน้อยลง ได้รับแสงไม่ทั่วถึง ปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอ ทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำลง เกิดการแก่งแย่งปัจจัยการเจริญเติบโต ต่อมา PLBs และต้นอ่อน มีสีน้ำตาลเกิดขึ้นบริเวณโคนที่ติดกับอาหารเนื่องจากเกิดจากการปล่อยสารฟีนอลิก (phenolic substance) เพราะความต้องการโปรตีน ทั้งยังมีการผลิตเอธิลีนส่งผลให้เซลล์เกิดเป็นสีน้ำตาล ทำให้บริเวณเนื้อเยื่อเกิดการเสื่อมสภาพ (Sagaya Mary and Divakar, 2015) โดยที่มีโปรโตคอร์ม และต้นอ่อนบางส่วนมีความสามารถแก่งแย่งแข่งขัน สามารถพัฒนาเกิดยอดและเป็นต้นอ่อนได้ (อนุพันธ์ กงบังเกิด และคณะ, 2560) มีรายงานว่า การนำไข่ผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้กระชายขาวเจริญเติบโตเป็นต้นดีที่สุด (Laishram et al., 2019) สอดคล้องกับรายงานเปรียบเทียบการเพิ่มผงถ่านกัมมันต์ในอาหารเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของฟาแลนนอพซิสพบว่า ในอาหารที่เติมผงถ่านกัมมันต์มีพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าในอาหารที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ (จุฑามาศ ศรีสำราญ, 2549)

เมื่อเปรียบเทียบย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องสะมาเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW ร่วมกับมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงิน มีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนดีที่สุด ความยาวยอดและจำนวนรากมากที่สุด ส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้อง

แะะมีการแตกยอดเป็นต้นใหม่จำนวนมากที่สุด เมื่อพิจารณาถึงส่วนประกอบพบว่า ในมันฝรั่งมีโพลิเอมีน วิตามินเอ วิตามินบี และ วิตามินซี ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และทำลายการพักตัว ยังส่งผลต่อการเจริญและพัฒนาของเซลล์ โดยการเพิ่มกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในเนื้อเยื่อ ลดการสูญเสียจากเซลล์ และยังคงรักษาภาพเซลล์เมมเบรน นอกจากนี้ในมันฝรั่งยังมีแป้งที่ประกอบด้วย amylose และ amylopectin น้ำตาล เช่น กลูโคส ซูโครส และ ฟรุคโตส โปรตีน เช่น globulin glutelins tuberinin และ casein โพลิเอมีนโดยเฉพาะพบว่ามีส่วนที่ตายอด ซึ่งทำให้มันฝรั่งสามารถเกิดหัวใหม่ได้ดี (Pierik, 1997) มีรายงานการใช้น้ำตาลซูโครสที่ปริมาณน้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตได้ดี เช่น อาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ดัชนีการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายดีกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Widiastoety and Bahar, 1995) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้โปรโตคอร์มของกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis*) พัฒนาเป็นต้นอ่อนและเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (จุฑามาส ศรีสำราญ, 2549) อาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่มีน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) มีการเจริญเติบโตดีกว่าที่เติมน้ำตาลซูโครส 0 2.0 3.0 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน (แสงเดือน วรณชาติ, 2549) และอาหารดัดแปลงสูตร VW ที่มีน้ำตาลซูโครส 1.0-1.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้โปรโตคอร์มของเอื้องผาเวียงเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุด (เหมวรรณ ยกฉวี, 2556) มีรายงานว่าอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครสมากกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำมะพร้าว 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส จาก PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Richaard shaffer 'Santa Curz' ได้ดีที่สุด (Ishii et al., 1998)

1.4 ผลของสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ

เมื่อนำต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่างกัน 5 สูตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 15 มิลลิตรต่อลิตร สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุด ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ยดีที่สุด การใช้น้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กล้วยไม้เอื้องเขาแกะเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุด (บัวสอน โบราสี และอารยา อาจเจริญ เทียนหอม, 2557) เนื่องจากปัจจุบันนิยมใช้น้ำมะพร้าวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เพราะว่ามันะพร้าวอ่อนประกอบด้วยสารต่าง ๆ เช่น IAA purine และ คาร์โบไฮเดรตหลายชนิด วิตามิน กรดอะมิโน

อินทรียสารและเอนไซม์ สารเหล่านี้กระตุ้นช่วยพัฒนาในการแบ่งเซลล์ ส่งเสริมการเพิ่มปริมาณ ยอดของพืช และกล้วยไม้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ดี ทั้งยังพบว่าในน้ำมะพร้าวมีสาร 1,3-diphenylurea zeatin riboside และ zeatin ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนไซโตไคนิน (Teixeira da Silva, 2003) สอดคล้องกับการรายงานของ บัวสอน โบราสี และอารยา อาจเจริญ เทียนหอม (2557) ที่พบว่าสูตร VW ร่วมกับมันฝรั่งบด 100 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทำให้กล้วยไม้เอื้องเขาแกะมีความยาวใบและความกว้างของใบเฉลี่ยสูงที่สุด จาก การศึกษาของ Kunakhonnuruk et al., (2018) รายงานว่า อาหารสูตร VW ร่วมกับมันฝรั่ง ทำให้ กล้วยไม้ (Epipactis flava) มีความสูงมากที่สุด และมันฝรั่งยังช่วยส่งเสริมการงอก การ เจริญเติบโตของกล้วยไม้ และช่วยสร้างความแข็งแรงให้ต้นอ่อนมากขึ้น (Arditti, 2008) นอกจากนี้ยัง พบว่าอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเอื้องเงิน เกิดรากและความยาวรากดีที่สุด สอดคล้องกับการรายงานของ อาทิตยา ชายศิริ และวราภรณ์ ดุษฎาย (2560) พบว่าในอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ทำให้ความยาว รากและจำนวนใบของต้นอ่อนกะแระร้อนปากเปิดดีกว่าเมื่อเทียบกับอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำ มะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และกล้วยหอมบด 150 กรัมต่อลิตร เพราะในน้ำมะเขือเทศมี ส่วนผสมของวิตามิน เช่น วิตามินบี วิตามินเอ วิตามินซี ในปริมาณสูง และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่งเสริมการเกิดยอด รวมทั้งความยาวรากเพิ่ม จำนวนใบและความสูงของต้นกล้วยไม้เหลืองจันทร์นุ้ยน้อยที่สุด (นายิกา สันทรนัย, 2559) ทั้งนี้ เนื่องจากสารสกัดที่ได้จากน้ำมะเขือเทศนั้นส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้น้อย อีกทั้งทำให้การ ชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งเกิดจากค่า pH ที่ไม่เหมาะสมในอาหาร เพราะส่วนประกอบในน้ำมะเขือ เทศที่มีความเป็นกรดสูง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า pH ที่จะเป็นกรดสูงขึ้น (Cheng-Fan and William, 1997)

สำหรับการนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเขาแกะเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่ง บด 150 กรัมต่อลิตร ทำให้ต้นอ่อนสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนใบ เฉลี่ยมากที่สุด เพราะในมันฝรั่งมีโพลีเอมีน (polyamine) ได้แก่ putrescine spermidine biosynthetic enzyme และ arginine decarboxylase ornithine decarboxylase ซึ่งมีผลต่อการ เจริญและพัฒนาเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีผลต่อการเพิ่มกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ทำให้เกิด การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ในเนื้อเยื่อมากขึ้น และสารพวก polyamine มีคุณสมบัติช่วย ชะลอการร่วงของพืชใบเลี้ยงคู่และใบเลี้ยงเดี่ยว ป้องกันการสลายของคลอโรฟิลล์ (Kaur-

Sawhney, Flores and Galston, 1980; วิวัฒน์ วิมลพันธุ์ชัย, 2529) นอกจากนี้ยังพบว่าเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมบด 150 กรัมต่อลิตร ทำให้ต้นอ่อนมีความยาวยอดดีที่สุดในกล้วยอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ ไทอะมิน ไรโบฟลาวิน ไนอะซิน วิตามินซี และแร่ธาตุจำนวนมาก เช่น แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียม โดยเฉพาะธาตุเหล็กซึ่งอยู่ในรูปที่กล้วยไม่สามารถนำไปใช้ในการเกิดรากเพื่อการเจริญเติบโตได้ และอาหารที่ใส่กล้วยภายใต้ความร้อนสูงในสภาพเป็นกรด จะทำให้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกล้วยละลายน้ำได้ดีขึ้น เพราะกล้วยมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ที่ทำให้ pH ไม่เปลี่ยนแปลงมาก นอกจากนี้ในเนื้อกล้วยหอมยังประกอบไปด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด เช่น lysine cysteine methionine และ arginine (Arditti, 2008) สอดคล้องกับรายงานการใช้อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ *D. nobile* ทำให้จำนวนเพิ่มมากขึ้นและช่วยในการเพิ่มความสูงของลำลูกกล้วย (Sudeep et al., 1997) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร พบว่าชักนำเกิดต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเขาแกะ มีความสูงมากที่สุดและรากยาวที่สุด (บัวสอน โบราสี และอารยา อาจเจริญ เทียนหอม, 2557) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม เมื่อนำเอาเอากล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์แท้ *D. discolor*, *Fleischeri* และ *Judy Rutz* มาเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน สามารถชักนำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดีที่สุด ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากดีที่สุด (สุนทรี ทารพันธ์, 2558) ทั้งยังพบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะที่เพาะบนอาหารสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ผสมสามารถชักนำให้เกิดรากดีที่สุด มีลำต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง อย่างไรก็ตามมีรายงานการใช้อาหารเสริมอินทรีย์สารมากกว่าหนึ่งอย่างช่วยให้ต้นอ่อนกล้วยไม้พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ สอดคล้องกับรายงานว่าผลของอาหารสูตร VW ร่วมกับสารอินทรีย์ น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร และกล้วยหอม 150 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดและรากของกล้วยไม้ *D. lasianthera* J.J.Sm ได้ โดยช่วยเพิ่มการพัฒนาต้นอ่อน (Utami, Hariyanto, and Manuhara, 2017) อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอม 10 เปอร์เซ็นต์ ถ่านกัมมันต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์และวิตามินรวมทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะหลวงเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (ภุมรินทร์ คงมณี, 2544) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 5 เปอร์เซ็นต์ มันฝรั่ง 5 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*D. formosum* Roxb. ex Lindl.) เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (เหมวรรณ ยกฉวี, 2556) อาหารกึ่งแข็งสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 10 เปอร์เซ็นต์ มันฝรั่งบด 5 เปอร์เซ็นต์ หรือน้ำต้มมันฝรั่ง 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์ และถ่านกัมมันต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ PLBs ของกล้วยไม้เอื้องบุษราคัม (*Eulophia flava*) มีจำนวนยอดมาก และน้ำต้มมันฝรั่งทำให้ PLBs มีการพัฒนาเกิดจำนวนยอดมากกว่าการ

ไม่เติมมันฝรั่ง (สุจรรยา เรื่องวีรยุทธ, 2539) สอดคล้องกับการใช้น้ำต้มมันฝรั่ง 5 เปอร์เซ็นต์ และกล้วยหอมบด 10 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดของกล้วยไม้เอื้องคำก๊ว (*D. nobile* Lindl.) (Sudeep et al., 1997)

อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ได้ศึกษาอิทธิพลของสารอินทรีย์ต่อการชักนำให้เป็นต้นที่สมบูรณ์กล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะในเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งกล้วยไม้เอื้องแซะสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ ในขณะที่กล้วยไม้เอื้องเงินเจริญเติบโตช้ากว่าเอื้องแซะจึงจำเป็นต้องเพาะเลี้ยงต่อไปในอาหารสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ต่าง ๆ ทั้ง 5 สูตรต่อไปจนถึง 24 สัปดาห์ โดยได้เปลี่ยนอาหารในสัปดาห์ที่ 12 หลังจากต้นอ่อนของกล้วยไม้พัฒนามาเป็นต้นแล้วจึงย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงต่ออีกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เพื่อต้องการพัฒนาให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ พบว่ากล้วยไม้ 2 ชนิด เจริญเติบโตไปเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์จำนวนมาก ดังนั้นจึงถ่ายขวดกล้วยไม้ โดยแยกต้น ตามขนาดของต้น ต้นที่มีขนาดเดียวกันให้นำลงอาหารขวดเดียวกัน 3-5 ต้นต่อขวด โดยเว้นระยะห่างระหว่างต้นให้เหมาะสม เพื่อต้นเจริญเติบโตได้ดี แล้วนำขวดดังกล่าวไปวางไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในระยะนี้จะใช้เวลานาน 8-12 สัปดาห์ เพื่อให้ต้นเติบโตมีใบและรากสมบูรณ์พร้อมนำออกปลูก

นอกจากนี้ในการเติมผงถ่านลงไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้อาหารเป็นสีดำทำให้อาหารมีความทึบแสง ช่วยดูดซับสารที่ไม่พึงประสงค์หรือสารยับยั้งต่าง ๆ เช่น สารประกอบพวกฟีนอลิก โดยไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนอาหารใหม่อีกด้วย รวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือสารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Pan and Van Staden, 1998) เนื่องจากสีดำของผงถ่านส่งผลให้การงอกของเมล็ดและการพัฒนาโปรโตคอร์ม (Weatherhead, Bardon, and Henshaw, 1978) สามารถชักนำให้พืชเกิดรากและรากมีการเจริญเติบโตดีขึ้น (Kima et al., 2019) ทั้งยังช่วยรักษาความเป็นกรด-เบสของอาหารไม่ให้เปลี่ยนแปลงไปมากนักและผงถ่านกัมมันต์ที่เติมในอาหารช่วยเพิ่มการระบายอากาศในอาหารได้ดีขึ้นด้วย (นาตยา มนตรี และนิเวศ แซ่ซัง, 2557) และ ผงถ่านยังส่งเสริมความสมดุลของออกซินและไซโตไคนินที่ช่วยในการสร้างรากอีกด้วย (Pan and Van Staden, 1998)

1.5 ผลของชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

เมื่อนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะที่เพาะในหลอดทดลองโดยมีต้นและรากที่สมบูรณ์มาย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกต่าง ๆ และอนุบาลไว้ในโรงเรือน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินที่ย้ายออกปลูกในกาบมะพร้าวสับ และไฮโคตรอน มีอัตราการรอด

ชีวิตมากที่สุด 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ รัตนาวลี เสนาวงศ์, ปิยะพร แสนสุข และสุรพล แสนสุข (2557) ที่ย้ายกล้วยไม้เถื่อนางชี (*D. kontumense* Gagnep) ปลูกใน กาบมะพร้าวสับ พบว่าต้นกล้วยไม้ อัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากกาบมะพร้าวสับ เป็นวัสดุปลูกที่เป็นแหล่งธาตุอาหาร ซึ่งมีความพรุนและโปร่งมาก เก็บความชื้นได้ดี ทำให้ราก กล้วยไม้ยึดเกาะได้ง่าย (Rangsayatom, 2009) จากการรายงานของ Kunakhonnuruk et al., (2018) ศึกษาการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้ *Epipactis flava* Seidenf ออกปลูกในวัสดุปลูกไฮโดร ตรอน พบว่า มีอัตราการรอดชีวิต 97.5 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ไฮโดรตรอนร่วมกับหินภูเขาไฟ (pumice) (1:1) มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ เพราะการใช้ไฮโดรตรอนเป็นวัสดุปลูกที่มี ดินกำเนิดมาจากประเทศเยอรมัน ทำมาจากดินเหนียวปั้นเป็นก้อนกลมขนาดแตกต่างกัน ตั้งแต่ 4-10 มิลลิเมตร และนำไปเผาที่อุณหภูมิ 1,200 องศาเซลเซียส ทำให้มีความคงตัวสูง ย่อยสลาย ยากและทนต่อปฏิกิริยาทางเคมี มีค่ากรด-เบสประมาณ 7 และมีคุณสมบัติ น้ำหนักเบา ระบายน้ำ ได้ดี แต่สามารถดูดซับน้ำและแร่ธาตุได้น้อยกว่าวัสดุชนิดอื่น ซึ่งในประเทศเยอรมันนิยมนำวัสดุ เมล็ดดินเผาไปใช้ในการปลูกพืชแบบน้ำหยดเนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ ถ่ายเทอากาศได้ ดี สะอาด โปร่ง เหมาะเป็นวัสดุปลูกกล้วยไม้ วัสดุหรือเครื่องปลูกทำหน้าที่ให้รากพืชเกาะยึดเพื่อให้ ลำต้นไม่ล้มและลำตรง ไม่โอนเอนหรือล้ม วัสดุปลูกยังทำหน้าที่เก็บความชื้นและธาตุอาหารให้ราก พืชสามารถดูดไปใช้ สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงคือการระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศรอบ ๆ ราก ด้วย จิตราพรรณ พิสิฐ (2550) รายงานว่าการเลือกวัสดุปลูกต้องมีคุณสมบัติคือ หาง่าย ราคาไม่ แพง ทนทาน ไม่ย่อยสลายง่ายเกินไป เพราะกล้วยไม้เป็นพืชอายุยืน มีการสร้างลำลูกกล้วยใหม่ได้ นาน ช่วยให้กล้วยไม้มีลำต้นและระบบรากเจริญเติบโตได้ดี ดังนั้นเครื่องปลูกควรมีอายุนานกว่า 2-3 ปี ขึ้นไป เช่น กาบมะพร้าว ไยมะพร้าว ไฮโดรตรอน สแฟกนัมมอส นอกจากนี้ยังต้องสะอาด ปราศจากสารพิษและเชื้อโรค ที่จะเป็นอันตรายต่อระบบราก มีการระบายน้ำออกได้ ไม่อุ้มน้ำ จนเกินไป ดูซับน้ำพอเหมาะ รักษาความชื้นไว้รอบราก สำหรับกาบมะพร้าวต้องแช่น้ำก่อน 1 คืน ก่อนนำมาใช้และเปลี่ยนน้ำออก 2-3 ครั้ง เพื่อล้างสารที่เป็นสีน้ำตาลออกให้หมด และไม่ควรใช้ กาบมะพร้าวที่มาจากผลอ่อน เพราะจะทำให้อายุในการใช้งานสั้นกว่ากาบมะพร้าวที่มาจากผลแก่ กาบมะพร้าวเป็นวัสดุปลูก ที่มีราคาถูกและหาง่าย จึงนิยมนำมาปลูกกล้วยไม้เป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะในทางอุตสาหกรรม แต่ข้อเสียของกาบมะพร้าวคือ กาบมะพร้าวย่อยสลายเร็วจึงต้อง เปลี่ยนวัสดุปลูกบ่อย ๆ

ตามธรรมชาติกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในที่โล่งแจ้ง แสงแดดจัดกล้วยไม้แต่ส่วนมากต้องการแสงรำไร การปลูกเลี้ยงหวายพันธุ์แท้จะต้องคำนึงถึง

สภาพที่ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติ โดยเฉพาะกล้วยไม้เอื้องแซะมักขึ้นตามเพือกเขาสูง ชอบอากาศเย็น รวมทั้งในธรรมชาติเอื้องแซะมักขึ้นเกาะตามกิ่งไม้ต่อกันไปเป็นทางยาว มีมอส หรือ ไลเคนขึ้นเกาะตามกิ่งไม้เหล่านั้น แสดงถึงความชื้น (ระพี สาคริก, 2546) นอกจากนี้ Baker and Baker (1996) รายงานว่าเอื้องแซะมีสภาพการขึ้นอยู่อาศัยตามธรรมชาติโดยอิงอาศัยอยู่บนต้นไม้ในป่าดิบเขา ในฤดูร้อนมีอุณหภูมิสูงสุด 32-33 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิต่ำสุด 14-21 องศาเซลเซียส ในฤดูหนาวมีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 26-30 องศาเซลเซียส และต่ำสุด 11 องศาเซลเซียส ดังนั้นการปลูกเลี้ยงต้องได้ควบคุมอุณหภูมิ ปรับสภาพโรงเรือนให้เหมือนธรรมชาติมากที่สุด จากผลการทดลอง ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก พบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะที่ย้ายปลูกใน สแฟกมัมมอส มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด 87 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของ ธนวิฑูรย์ (2559) ที่ได้ปลูกกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดในสแฟกมัมมอส พบว่าต้นกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ช่วงระยะเวลาการออกปลูกของกล้วยไม้ก็มีความสำคัญ สอดคล้องกับการทดลองของ มณเฑียร แสนะหมื่น, สุริยนต์ ดิเดช, และสุทัต ปินตาเสน (2555) การย้ายต้นอ่อนเอื้องแซะออกปลูกในสแฟกมัมมอส เป็นเวลา 30 วัน มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดที่ 100 เปอร์เซ็นต์ และใช้ภาชนะปลูกในกระโถมพลาสติกเป็นเวลา 60 วัน มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คือ ร้อยละ 87.5 ซึ่งได้ปลูกเลี้ยงในช่วงฤดูร้อน เดือน มีนาคมถึงเดือนมิถุนายน เป็นเวลา 30 วัน มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด ร้อยละ 94 เนื่องจากสแฟกมัมมอสมีคุณสมบัติที่ดีคือ น้ำหนักเบา รากกล้วยไม้ยึดเกาะได้ดี มีช่องว่าง น้ำ อากาศ ออกซิเจนหมุนเวียนได้สะดวก ไม่ดูดซับเกลือจากปุ๋ย สามารถดูดน้ำได้ถึง 20 เท่าตัว การระบายน้ำสม่ำเสมอ รากพืชเจริญเติบโตและแผ่กระจายได้ดี สแฟกมัมมอสช่วยให้เครื่องปลูกอุ้มน้ำได้ดีขึ้น ทำให้มีความชื้นเหมาะสมกับการเจริญเติบโต

2. ข้อเสนอแนะ

1. หาจำนวนต้นกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะให้ได้จำนวนมาก เพื่อที่จะได้หน่ออ่อนมาทำการทดลองฟอกตาข้างเพื่อชักนำให้เกิด PLBs ให้ได้ต้นจำนวนมากขึ้น
2. ศึกษาโดยคัดเลือกเอาขนาดของโปรโตคอร์มระยะต่าง ๆ มาทดลองการนำใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นต่างกัน
3. คัดเลือกเอาขนาดของ ต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องเงินและเอื้องแซะ มาทดลองการนำใช้น้ำตาลความเข้มข้นต่างกันเพื่อชักนำให้ต้นโตอย่างรวดเร็ว



บรรณานุกรม

- Allison, P. O., Arditti, J., & Botanical, G. (1984). Seed Germination of North American Orchids. II. Native California and Related Species of Aplectrum, Cypripedium, and Spiranthes. *International Journal of Plant Sciences*, 145(4), 495-501.
- Arditti, J. (1992). *Fundamentals of Orchid Biology*: New York John Wiley & Sons.
- Arditti, J. (2008). *Micropropagation of Orchids*. Australia: Blackwell Publishing.
- Arditti, J., & Ernst, R. (1993). *Micropropagation of orchids*: John Wiley & Sons, Inc, New York.
- Arditti, J., & Pridgeon, A. (2013). *Orchid Biology*. In *Reviews and Perspectives, VII: Springer Science & Business Media* (pp. 394).
- Baker, M. L., & Baker, C. O. (1996). *Orchid Species Culture: Dendrobium (suppl.)*: Timber Press, Inc., Singapore.
- Behar, H. (1995). Evolution and orchids. *American Orchid Society Bulletin*, 64, 1326-1332.
- Burgett, H. (1936). *Samenkeimung der Orchideen und Entwicklung ihrer Keimpflanzen mit einem Anhang über praktische Orchideenzucht*: Gustav Fischer, Jena.
- Cheng –Fan, M., & Williams, R. R. (1997). Factor affecting pH changes of in vitro media. *Acta Botanica Sinica*, 39, 347-352.
- Chouryaew, B., & Suwannawong, C. (2017). Effects of Culture Media and Plant Growth Regulators on In Vitro Seedling Growth of *Pholidota imbricata* Lindl. *Burapha Science Journal*, 22, 55-63.
- Flores, B. E., Gentzbittel, L., Kayyal, H., Alibert, G., & Sarrafi, A. (2000). AFLP mapping of QTLs for in vitro organogenesis traits using recombinant inbred lines in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 101(8), 1299-1306.
- Hadley, G. (1982). Germination of British orchids. *Orchid Review*. 90, 84-86.
- Hdider, C., & Desjardins, Y. (1994). Effects of sucrose on photosynthesis and phosphoenolpyruvate carboxylase activity of *in vitro* cultured strawberry plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 36(1), 27-33.
- Hongthongkham, J., & Bunnag, S. (2014). In vitro Propagation and Cryopreservation of

- Aerides odorata Lour. (Orchidaceae) *Journal of Biology Sciences.*, 17, 608-618.
- Huetteman, C. A., & Preece, J. E. (1993). Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33, 105 – 119.
- Ishii, Y., Takamura, T., Goi, M., & Tanaka, M. (1998). Callus induction and somatic embryogenesis of Phalaenopsis. *Plant Cell Reports*, 17, 446–450.
- Kaur, S., & Bhutani, K. (2012). Organic growth supplement stimulants for in vitro multiplication of Cymbidium pendulum (Roxb.) Sw. *Horticultural Science*, 39(1), 47-52.
- Kaur-Sawhney, R., Flores, H. E., & Galston, A. W. (1980). Polyamine-induced DNA synthesis and mitosis in oat leaf protoplasts. *Journal Plant physiology*, 65(2), 368-371.
- Kima, D. H., Kangb, K. W., Enkhtaivan, G., Jana, U., & Sivanesan, I. (2019). Impact of activated charcoal, culture medium strength and thidiazuron on non-symbiotic in vitro seed germination of Pecteilis radiata (Thunb.) Raf. *South African Journal of Botany*, 124, 144–150.
- Kunakhonnuruk, B., Inthima, P., & Kongbangkerd, A. (2018). In vitro propagation of Epipactis flava Seidenf., an endangered rheophytic orchid: a first study on factors affecting asymbiotic seed germination, seedling development and greenhouse acclimatization. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 135(3), 419-432.
- Laishram, H., Rocky, T., Sachin, S., Lakshmi, H., & Preema, D. M. (2019). In vitro conservation and asymbiotic propagation of Dendrobium nobile Lindl.: A rare threatened orchid of Northeast India. *Research Journal of Biotechnology Vol*, 14, 2.
- Pan, M. J., & Van Staden, J. (1998). The use of charcoal in in vitro culture-a review. *Plant Growth Regulation*, 26, 155-163.
- Pierik, R. (1988). *Handicaps for the large scale commercial application of micropropagation*. Paper presented at the Symposium on High Technology in Protected Cultivation 230.
- Pierik, R. (1997). *In Vitro Culture of Higher Plants*. Wageningen Agricultural University: The

Netherlands.

- Potshangbam, N., & Leimapokpam, T. (2014). Establishment of an Efficient In Vitro Regeneration Protocol for Rapid and Mass Propagation of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. Using Seed Culture. *The Scientific World Journal*, 17, 608-618
- Rangsayatorn, N. (2009). Micropropagation of *Dendrobium draconis* Rchb. f. from thin cross-section culture. *Scientia Horticulturae*, 122(4), 662-665.
- Sagaya Mary, B., & Divakar, K. M. (2015a). In vitro micropropagation of *Dendrobium crepidatum* Lindl using fruit capsule. *International Journal of Engineering Development and Research*, 3(4), 212-216.
- Sagaya Mary, S., & Divakar, K. M. (2015b). In Vitro Propagation of Epiphytic Orchid *Pholidota Imbricata* Hook. of Western Ghats. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 4(10), 107-112.
- Shekarriz, P., Kafi, M., Deilamy, S. D., & Mirmasoumi, M. (2014). Coconut water and peptone improve seed germination and protocorm like body formation of hybrid *Phalaenopsis*. *Agriculture Science Developments*, 3(10), 317-322.
- Stimart, D. P., & Ascher, P. D. (1981). In vitro germination of *Paphiopedilum* seed on a completely defined medium. *Scientia Horticulturae*, 14(2), 165-170.
- Subarna, H., Suman, K., & Pramod, T. (2010). In vitro Propagation of the Medicinal Orchid *Dendrobium chrysanthum*. *Proceedings of Indian National Science Academy*, 76(2).
- Sudeep, R., Rajeevan, P., Valasalakumari, P., & Geetha, C. (1997). Influence of organic supplements on shoot proliferation in *Dendrobium*. *Journal of Horticulture*, 3, 38-44.
- Teixeira da Silva, J. A. (2003). Thin cell layer technology for induced response and control of rhizogenesis in *Chrysanthemum*. *Plant Growth Regulation*, 39, 67-76.
- Utami, E. S. W., Hariyanto, S., & Manuhara, Y. S. W. (2017). In vitro propagation of the endangered medicinal orchid, *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm through mature seed culture. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 406-410.
- Weatherhead, M. A., Bardou, J., & Henshaw, G. C. (1978). Some effects of charcoal as an

- additive to plant tissue culture media. *Z Pflanzenphysiol*, 89, 141-147.
- Went, F., & Carter, M. (1948). Growth Response of Tomato Plants to Applied Sucrose. *American Journal of Botany*, 35(2), 95-106.
- Wida Utami, E. S., & Hariyanto, S. (2016). The Effect of Organic Nutrient and Growth Regulators on Seed Germination, Embryo and Shoots Development of *Dendrobium antennatum* by *In Vitro*. *Biosaintifika*, 8(2), 165-171.
- Widiastoety, D., & Bahar, F. (1995). Effect of different sources and dosages of carbohydrate on the growth of plantlet of *Dendrobium* orchid. *Journal of Horticulture*, 5(3), 76-80.
- Yates, R., & Curtis, J. (1949). The Effect of Sucrose and Other Factors on the Shoot-Root Ratio of Orchid Seedlings. *American Journal of Botany*, 36(5), 390-396.
- กุลนาถ อบสุวรรณ, และ สุนทรี ทารพันธ์. (2559, พฤศจิกายน-ธันวาคม). ผลของสูตรอาหารต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. fleischeri* J.J.Sm และ *D. Judy Rutz. Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University*, 3(6).
- เกศรินทร์ เกตุพยัคฆ์. (2551). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมรกตในสภาพปลอดเชื้อ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. (ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่).
- ครองจิต ธรรมศิริ. (2547). เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพมหานคร.
- จิตราพรรณ พิลัง. (2539). เอื้องแซะหลวง. *Flower Magazine*, 1(6), 74 - 77.
- จิตราพรรณ พิลัง. (2550). การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เอกสารประกอบการฝึกอบรม ประชาชนหลักสูตรการเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ณ สวนกล้วยไม้ระพี สาคริก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จุฑามาศ ศรีสำราญ. (2549). การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิสในสภาพปลอดเชื้อ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์).
- ฐกฤต อิมสมบุญ, สุริยา ตันติวิวัฒน์, และ ประศาสตร์ เกื้อมณี. (2550). สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารี कांगกบ (*Paphiopedilum callosum* (Rchb.f.) Stein) ในสภาพปลอดเชื้อ. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร, 38(6), 287-290.
- ณัชชา วิสุทธิเทพกุล. (2548). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่หายากและใกล้จะสูญพันธุ์ Tissue culture

- of Rare and Endemic Plant Species. รายงานการประชุม ความหลากหลายทางชีวภาพ ด้านป่าไม้และสัตว์ป่า กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช, 368-374.
- ณัฐพล จับสงวน. (2559). โครงการสวนพฤกษศาสตร์กล้วยไม้ ORCHID GARDEN. (ปริญญานิพนธ์ มหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศรีปทุม, กรุงเทพฯ. (สาขาวิชาสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์).
- ธนวิดี พรหมจันทร์, สุภาวดี รามสูตร, และ ปรีดา บุญเวชสัน. (2559, กรกฎาคม-ธันวาคม). ผลของผง ถ่านและวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป่า ปิด. วารสารวิชามหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช, 35(2), 53-61.
- ธัญชา บุญจรัส. (2547). ไม้ยาที่ผาแต้ม. สำนักพิมพ์อยู่เย็นเป็นสุข:กรุงเทพฯ สำนักงาน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย, และ พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์. (2550). ผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตและการสร้างหัวในสภาพปลอดแก้วของกล้วยไม้ดินนางอ้วสาคริก. วารสารเกษตร, 23(3), 197-205.
- นันทิยา วรรณะภูติ. (2555). ดอกเอื้อง: กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- นายกา สันทาร์นัย. (2559). การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เหลือง จันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) ในหลอดทดลอง. (หลักสูตร วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยบูรพา.
- นัตยา มนต์รี, และ นิเวศ แซ่ซ่ง. (2557). การขยายพันธุ์กล้วยไม้ช้างผสมไขลงในสภาพปลอดเชื้อ Propagation of Lindl. under conditions. แก่นเกษตร, 42 (ฉบับพิเศษ 1), 159-601.
- นิภาวรรณ จิตโสภาคกุล, สุภาวดี ตั้งธีระวัฒน์, และ พัชราภรณ์ แสงโยจารย์. (2557). การขยายพันธุ์ กล้วยไม้ป่าในเขตอีสานใต้ของไทยบางชนิดในสภาพปลอดเชื้อ. วารสาร วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี อีสาน, 5(2).
- นุชรัฐ บาลลา. (2553). การเพิ่มปริมาณอินโปรโตคอร์และ ผลของโคลชิซินที่มีต่อกล้วยไม้เอื้องเงิน หลวงในสภาพที่ปลอดเชื้อ. (วิทยานิพนธ์). มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. (สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ).
- บัวสอน โบราสี, และ อารยา อาจเจริญ เทียนหอม. (2557). การงอกของเมล็ดและการพัฒนาต้นอ่อน เอื้องเขาแกะในสภาพปลอดเชื้อ. แก่นเกษตร, 42 (ฉบับพิเศษ 3).
- บุญยืน กิจวิจารณ์. (2544). เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขอนแก่น: ภาควิชาชีววิทยา คณะ

วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี, ธวัชชัย ศศิณลิน, ชูเกียรติ เทพสาร, และ นงเยาว์ ทองตัน. (2538). “การวิจัยและพัฒนาสกัดกลิ่นหอมจากดอกกล้วยไม้ป่าเอื้องแซะ”. วารสารวิชาการเกษตร, 13 (2), 136 – 141.

ภาวิณี ศิริสม. (2557). การปรับปรุงวิธีการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มและการพัฒนาเป็นต้นใหม่ของกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย. ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาความหลากหลายทางชีวภาพ. (มหาวิทยาลัยมหาสารคาม).

ภูมิรินทร์ คงมณี. (2544). การศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้เอื้องแซะหลวงในสภาพปลอดเชื้อ. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มณเฑียร แสนคะหมื่น, สุริยนต์ ดีดเหล็ก, และ สุทัต ปินตาเสน. (2555). การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องแซะ รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา 2551-2560, 1-11.

เยาวลักษณ์ ฉัตรสุวรรณ, และ กาญจนา รุ่งรักษานนท์. (2561). ผลขององค์ประกอบอาหารและสภาพแสงต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้เพชรหึงในสภาพปลอดเชื้อ. งานประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 19 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 487- 494.

ระพี สาคริก. (2546). การปลูกกล้วยไม้เป็นการค้าและการพัฒนาบนพื้นฐานความมั่นคง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัตนาวลี เสนาวงศ์, ปิยะพร แสนสุข, และ สุรพล แสนสุข. (2557). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องนางชีในหลอดทดลอง. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 19(3), 399-413.

วรารณ์ ภูตะสุน. (2557). เทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรจากพื้นฐานสู่การประยุกต์ใช้ทางเภสัชศาสตร์. ขอนแก่น: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น: สำนักพิมพ์ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา.

วิวัฒน์ วิฑูพันธุ์ไชย. (2529). ผลของอายุผัก การเติมมันฝรั่ง น้ำมะพร้าว และถ่านในอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor*). (วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิริพร ทวีโรจนการ, ไขนียะ สะมาลา, และ กิตติมา คงทน. (2561). ผลของน้ำตาลซูโครสและวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้กะเรกะรอนด้ามขาว (*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) ในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 5, ฉบับที่ 4 (ตุลาคม-

ธันวาคม), 9-17.

ศิริลักษณ์ เจริญดี. (2544). การอนุรักษ์และขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินหลวงโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

สลิล สิริสัจธรรม. (2549). กล้วยไม้ป่าเมืองไทย *Wild orchid of Thailand*. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

สุจรรยา เรืองวีรยุทธ. (2539). การขยายโคลนเอื้องบุษราคัม (*Eulophia flava* (Lindl.) Hk.f.) ในสภาพปลอดเชื้อ. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโท). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุนทร ทารพันธ์. (2558). การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง. (ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สุมาลี ทองดอนแอ, มานิตย์ ใจกรรจ, และ ดวงเดือน ศรีโพทา. (2560). ศึกษาการจำแนกชนิดกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* Sw.) เพื่อตรวจสอบติดตามและควบคุมไม่ให้เกิดการส่งออก มีผลกระทบเสียหายต่อประชากรของชนิดพันธุ์ในธรรมชาติตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518. วารสารวิชาการเกษตร, 32(1), 35-44.

แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ. (2547). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช *Plant tissue culture*. เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

แสงเดือน วรรณชาติ. (2549). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.). (วิทยานิพนธ์ปริญญาโท). มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

เหมวรรณ ยกฉวี. (2556). การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ. (วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

อาทิตย์ยา ชายศิริ, และ วราภรณ์ ชูฉาย. (2560). ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกะเระร่อนปากเบ็ดในสภาพปลอดเชื้อและผลของปุ๋ยในการอนุบาลหลังออกปลูก. *แก่นเกษตร* 45, ฉบับพิเศษ 1, 1197-1202.

อนุพันธ์ กงบังเกิด, สกฤตน์ ทองดอนงาว, สมจิตต์ หอมจันทร์, และ พัทธ์ อินธิมา. (2560). ผลของการเจริญเติบโตและพัฒนาของโปรโตคอร์มและต้นอ่อน กล้วยไม้สาแงามามในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 22(9), 8-13.

อบฉันท ไททอง. (2543). กล้วยไม้เมืองไทย. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

อบฉันท ไททอง. (2551). กล้วยไม้เมืองไทย. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

- อภिरดา สถาปัตยานนท์. (2551). การทบทวนอนุกรมวิธานของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* Sw. หมู่ *Formosae* (Benth.& Hook.f.) Hook.f.(Orchidaceae) ในประเทศไทยและพื้นที่ใกล้เคียง. (วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- อาภรณ์ อุดมศิลป์. (2556). พืชอนุรักษ์ในบัญชีไซเตส (CITES) กล้วยไม้ป่าในผืนป่าดงพญาเย็น ตอน ที่ 1. กรุงเทพมหานคร สำนักพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- อิทธิพล พรหมรส. (2523). การงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในวัฏอาหารที่ใส่กล้วย ซึ่งมี ความสูงและปริมาณน้ำตาลต่าง ๆ กัน. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโท). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อุดม นวพานิช. (2549). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช *Plant tissue culture* กรุงเทพฯ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.



ภาคผนวก



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	Mrs. koulabthong BOUASAVANH
วัน เดือน ปี เกิด	7 october 1985
สถานที่เกิด	SAVANNAKHET LAO.PDR
วุฒิการศึกษา	Bachelor of Education Biology Ministry of Education and Sports National University of Laos
ที่อยู่ปัจจุบัน	Oudomvilay village, kaison Phomvihan district , SAVANNAKHET Province

