การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

โดย

นางสาวสุนทรี ทารพันธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

โดย

นางสาวสุนทรี ทารพันธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ENHANCING EFFICIENCY OF *DENDROBIUM* MICROPROPAGATION

By

Miss Sunthari Tharapan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Doctor of Philosophy Program in Biology

Department of Biology

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2015

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง ” เสนอโดย นางสาวสุนทรี ทารพันธ์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร.กรกช ชั้นจิรกุล)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ)

...../...../.....

55303801 : สาขาวิชาชีววิทยา
คำสำคัญ : กล้วยไม้, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สุนทรี ทารพันธ์ : การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ. 127 หน้า.

การศึกษาวิจัยนี้ทำในกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์แท้ 3 ชนิด และกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม 3 ชนิด ผลการทดลองพบว่าการเพาะเมล็ดในอาหารเหลวสูตร Hyponex ร่วมกับเปปโตนทำให้เมล็ดกล้วยไม้ *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz พัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ดีที่สุดในเวลา 2 เดือน โดยให้น้ำหนักสด (23.7, 14.0 และ 10.1 มก.ต่อโปรโตคอร์มตามลำดับ) และดัชนีการงอกดีที่สุด (296.3, 252.1 และ 280.7 ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งทำให้เมล็ดกล้วยไม้ *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach พัฒนาเป็นต้นที่มีใบและรากได้ดีที่สุดในระยะเวลา 2 เดือน โดยให้น้ำหนักสดมากที่สุดเท่ากับ 11.9 และ 27.2 มก.ตามลำดับ ดัชนีการงอกดีที่สุดเท่ากับ 346.4 และ 427.5 ตามลำดับ สำหรับการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มพบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมทำให้โปรโตคอร์มของ *D. discolor* พัฒนาเป็นต้นได้ดีที่สุดในระยะเวลา 3 เดือน โดยให้น้ำหนักสด 82.1 มก.และความสูง 5.8 มม. การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรงพบว่าน้ำตาลซูโครส 2% (w/v) เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวาย นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง เมื่อเปรียบเทียบอาหารสูตรปุ๋ยพบว่าปุ๋ย Hyponex ทำให้ *D. discolor* และ *D. phalaenopsis* เจริญเติบโตดีที่สุด ใน *D.* Fleischeri พบว่าปุ๋ยนูตราฟอสให้การเจริญเติบโตดีที่สุด สำหรับ *D.* Judy Rutz พบว่าปุ๋ยไบโอเมอร์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบอาหารเหลวกับสารที่ทำให้เกิดเจลพบว่าการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลวสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ดีกว่าอาหารกึ่งแข็ง นอกจากนี้การเลี้ยงในอาหารที่มี PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน ก่อนย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เจริญเติบโตดีกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 4 เดือน นอกจากนี้พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือนทำให้ต้นกล้วยไม้เจริญเติบโตดีที่สุด อย่างไรก็ดีอาหารกึ่งแข็งทำให้ตาข้างพัฒนาเป็นต้นได้เร็วกว่าอาหารเหลว โดย Phytagel 0.20% หรือ CleriGar 0.35% ทำให้ตาข้างพัฒนาเป็นต้นได้ดีกว่า Agar 0.55% นอกจากนี้พบว่าการเลี้ยงตาข้าง 5 ตาในอาหารเหลวปริมาตร 10 มล. ในขวด 4 ออนซ์ ทำให้ตาข้าง *D.* Fleischeri มีการเจริญเติบโตดีที่สุด อย่างไรก็ตามพบว่าตาข้าง *D. discolor* ที่เลี้ยงในอาหารเหลวหรือน้ำ 2 สัปดาห์ แล้วเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ร่วมกับกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือนให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ส่วนตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz พบว่าเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ร่วมกับกล้วยหอมให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ด้วยวิธีการนี้ภายในเวลา 3-6 เดือนก็สามารถได้ต้นออกปลูกขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้และจำนวนที่ต้องการ

ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา..... ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

55303801 : MAJOR : BIOLOGY
KEY WORD : ORCHID, TISSUE CULTURE
SUNTHARI THARAPAN : ENHANCING EFFICIENCY OF DENDROBIUM MICROPROPAGATION. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. KULLANART OBSUWAN, Ph. D. 127 pp.

This study was done in 3 *Dendrobium* species and 3 hybrids. The results showed that seeds of *D. antennatum*, *D*. Fleischeri and *D*. Judy Rutz cultured in a liquid Hyponex supplemented with peptone can develop to protocorms stage within two months and gave the maximum fresh weight (23.7, 14.0 and 10.1 mg per protocorms, respectively) and seed germination index (296.3, 252.1 and 280.7 respectively) also indicated that a semi-solid Hyponex medium supplemented with potatoes extract enhanced seeds development of *D. phalaenopsis* and *D*. Suree Peach to the small plantlets with leaves and roots within two months with maximum fresh weight approximately 11.9 and 27.2 mg, respectively. The seed germination index was 346.4 and 427.5 respectively. For protocorms culture, the results showed that *D. discolor* protocorms cultured on semi-solid VW developed to seedling within three months with highest fresh weight (82.1 mg) and maximum plant height (5.8 mm). For seedlings culture, the results showed that sucrose 2% (w/v) was appropriated for growth of *Dendrobium*. Moreover, semi-solid VW medium supplemented with banana gave the healthy plants. When compared different fertilizers, the results showed that *D. discolor* and *D. phalaenopsis* seedlings had maximum growth on semi-solid Hyponex medium. However *D.* Fleischeri seedlings cultured on semi-solid NutraPhos medium and *D.* Judy Rutz seedlings cultured on semi-solid Biomer medium gave the maximum growth. The results of different solidifying agents compared with liquid media, the results showed that *D. discolor, D.* Fleischeri and *D.* Judy Rutz seedlings cultured in liquid culture media gave better result in term of new shoots than solidifying media. Moreover, seedlings cultured in liquid medium with 1.0 ppm PBZ for two months then sub-cultured to liquid medium without PBZ for two months gave better result than seedling cultured in liquid medium without PBZ. In addition, *D. discolor, D.* Fleischeri and *D.* Judy Rutz seedlings cultured on Hyponex liquid medium with 0.5 ppm PBZ for two months then sub-cultured to liquid Hyponex medium without PBZ for two months, then sub-cultured to Hyponex liquid medium with 0.5 ppm PBZ for two months, and sub-cultured to Hyponex liquid medium without PBZ for another two months (total of eight months) gave the maximum growth. However, the axillary buds cultured on semi-solid medium developed to plantlets faster than liquid medium. Culture medium supplemented with 0.20% Phytagel or 0.35% CleriGar as solidifying agent gave better result in new shoot development than 0.55% Agar. Moreover, the results showed that 5 axillary buds of *D.* Fleischeri cultured in 10 ml liquid medium in 4 ounce bottle had the maximum growth. However, axillary buds of *D. discolor* cultured in liquid medium or water for two weeks then sub-cultured to VW semi-solid medium supplemented with banana for three months gave the maximum growth. Whereas, the axillary buds of *D.* Fleischeri and *D.* Judy Rutz cultured on VW semi-solid medium supplemented with banana gave the maximum growth. This process could be able to receive the plantlets ready for transplanting within 3-6 months, depending on the species of orchid and the amount required.

Department of Biology Graduate School, Silpakorn University
Student's signature ..... Academic Year 2015
Thesis Advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา สำหรับความช่วยเหลือในการทำวิจัย อำนวยความสะดวกในเรื่องของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและเครื่องมืออุปกรณ์การทำงานวิจัย ตลอดจนแก้ไขปรับปรุงข้อผิดพลาดในการทำวิทยานิพนธ์และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.กรกช ชั้นจิรกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ ที่กรุณาแนะนำตรวจทานแก้ไข พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะเพื่อให้งานวิจัยและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (โครงการ พสวท.) ที่ให้ทุนในการศึกษาและงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณณรงค์ สามงามนิ่ม คุณสุลักษณ์ นามโชติ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่คอยอำนวยความสะดวกและติดต่อประสานงานเรื่องต่างๆ ในการทำงานวิจัยครั้งนี้ รวมถึงน้องในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกคนที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจ

ขอขอบพระคุณทุกคนในครอบครัว โดยเฉพาะคุณแม่สำหรับการสนับสนุน ความช่วยเหลือต่างๆ แรงผลักดันและกำลังใจในการทำวิจัย ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดี

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญตาราง.....ฎ
สารบัญรูป.....ฐ
บทที่
1 บทนำ.....1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการวิจัย.....2
ขอบเขตการศึกษา.....3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
2 เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4
สถิติการตลาดของกล้วยไม้.....4
กล้วยไม้สกุลหวาย.....6
การขยายพันธุ์กล้วยไม้.....8
การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ.....8
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้.....9
ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้.....11
อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ.....11
น้ำ.....12
เกลือแร่อนินทรีย์.....13
แหล่งพลังงาน.....16
ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสะสมในกล้วยไม้.....17
สารประกอบอินทรีย์.....17
วิตามิน.....17
กรดอะมิโน.....18
น้ำมะพร้าวอ่อน.....18
มันฝรั่ง.....19
กล้วย.....19
ผงถ่านกัมมันต์.....20
สารควบคุมการเจริญเติบโต.....21
การเตรียมอาหาร.....22

หน้า

3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง 25
วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี 25
วิธีการทดลอง 27
สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ 27
อาหารเหลวและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 32
ศึกษาผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 33
การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง 34
การเตรียมอาหาร 36
สภาพการเพาะเลี้ยง 36
การออกแบบการทดลอง และการวิเคราะห์ผลทางสถิติ 36
4 ผลการทดลอง 37
สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ 37
การเพาะเมล็ด 37
ผลของสูตรอาหารเหลวต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz 37
ผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งและอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach 40
การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม 44
ผลของอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor* 44
ผลของสูตรอาหารและอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor* 45
การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง 48
ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Fleischeri 48
ผลของอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz 49
ผลของสูตรอาหารและอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz 50
ผลของปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz 56

หน้า

ผลของอาหารเหลว ขนาดต้นและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย 59
ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D. discolor* ในหลอดทดลอง 59
ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นเปรียบเทียบกับอาหารเหลวต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่เคยและไม่เคยได้รับ PBZ มาก่อนในหลอดทดลอง 61
ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นเปรียบเทียบกับอาหารเหลวต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ที่ได้รับ PBZ มาก่อน ในหลอดทดลอง 64
ผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 66
ผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดรากและไม่ตัดราก เป็นระยะเวลา 2 เดือน 66
ผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดรากและไม่ตัดราก เป็นระยะเวลา 8 เดือน 69
ผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม. 72
การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง 75
ผลของ PBZ ต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz 75
ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้ *D.* Fleischeri 78
ผลของปริมาตรของอาหารเหลวและจำนวนตาข้างต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Fleischeri 79
ผลของอาหารเหลวสูตรต่างๆ น้ำตาลซูโครสและระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz 81
ผลของระยะเวลาในการเปลี่ยนจากอาหารเหลวและน้ำเป็นอาหารกึ่งแข็งต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz 86
ผลของระยะเวลาในการเปลี่ยนจากอาหารเหลวเป็นอาหารกึ่งแข็งต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz 88

หน้า

5 วิจารณ์ผลการทดลอง 92
สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ 92
การเพาะเมล็ด 92
การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม 93
การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง 95
น้ำตาลซูโครส 95
อาหารเสริมอินทรีย์ 96
ปุ๋ยเคมี 98
ผลของอาหารเหลว ขนาดต้นและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 100
ผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 101
การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง 103
6 สรุปผลการทดลอง 109
สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ 109
การเพาะเมล็ด 109
การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม 109
การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง 110
ผลของอาหารเหลว ขนาดต้นและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 111
ผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 111
การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง 112
ข้อเสนอแนะ 113
รายการอ้างอิง 114
ภาคผนวก 123
ประวัติผู้วิจัย 126

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 พื้นที่ปลูกและผลผลิตต่อไร่กล้วยไม้ตัดดอกของไทย ปี 2554-2559 5

2 ต้นทุนการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ปี 2554-2558 5

3 ราคาที่เกษตรกรขายได้และราคาส่งออกกล้วยไม้ตัดดอก ปี 2554-2558 5

4 การเติบโตและพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว 4 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน 38

5 การเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. phalaenopsis* ในอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน 41

6 การเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Suree Peach ในอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน 42

7 การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ 6 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน 44

8 การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 46

9 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Fleischeri บนอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 0, 2, 3, 4, และ 6% (w/v) เป็นระยะเวลา 2 เดือน 48

10 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz บนอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 49

11 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 51

12 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Fleischeri บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 52

13 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 53

14 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz บนอาหารกึ่งแข็งร่วมกับปุ๋ยต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน 57

15 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D. discolor* ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. บนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 60

16 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่เคยและไม่เคยได้รับ PBZ มาก่อน ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. บนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 62

17 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. ที่ได้รับ PBZ ก่อนย้ายไปอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 65

ตารางที่ หน้า

18 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดราก ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน 67

19 การเจริญเติบโตและปริมาณ TNC ของต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน 70

20 การเจริญเติบโตและปริมาณ TNC ของต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม. ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ ต่อด้วยอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm และสุดท้ายอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ อย่างละ 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน 73

21 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ 76

22 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Fleischeri ในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 78

23 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Fleischeri จำนวน 1 และ 5 ตาต่อขวด ในอาหารเหลว Hyponex ปริมาตร 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ 80

24 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน 83

25 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex หรือน้ำเป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน 87

26 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 2 เดือน 89

27 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน 90

28 ปริมาณของไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ 99

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1 พัฒนาการของเมล็ดในระยะต่างๆ 27

2 เมล็ดของ *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว 4 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน (bar = 5 mm) 39

3 เมล็ดของ *D. phalaenopsis* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน 43

4 เมล็ดของ *D.* Suree Peach บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน 43

5 *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ 6 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน 44

6 *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 47

7 *D.* Fleischeri บนอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 0, 2, 3, 4, และ 6% (w/v) เป็นระยะเวลา 2 เดือน 48

8 *D.* Judy Rutz บนอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 49

9 *D. discolor* เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 54

10 *D.* Fleischeri เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 54

11 *D.* Judy Rutz เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน 55

12 *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz บนอาหารกึ่งแข็งร่วมกับปุ๋ยต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน 58

13 *D. discolor* ขนาดต้น 0.5 ซม. (บน) และ 1.0 ซม. (ล่าง) เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 60

14 *D.* Fleischeri ที่เคยและไม่เคยได้รับ PBZ มาก่อน ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 63

15 *D.* Judy Rutz ขนาดต้น 0.5 ซม. (บน) และ 1.0 ซม. (ล่าง) ที่ได้รับ PBZ ก่อนย้ายไปอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน 65

16 *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน 68

รูปที่ หน้า

17 *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 6 เดือน (ด้านซ้าย) และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน (ด้านขวา)..... 71

18 *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม. ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ ต่อด้วยอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm และสุดท้ายอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ อย่างละ 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน 74

19 ตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ 77

20 ตาข้าง *D.* Fleischeri ในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ 78

21 ตาข้าง *D.* Fleischeri จำนวน 1 และ 5 ตาต่อขวด ในอาหารเหลว Hyponex ปริมาตร 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ 80

22 ตาข้าง *D. discolor* และ *D. antennatum* ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน 85

23 ตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน 85

24 ตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex หรือน้ำเป็นระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน 87

25 ตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน 91

26 ตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน 91

คำอธิบายคำย่อ

คำย่อ		คำเต็ม
℃	=	Degree Celsius
2,4-D	=	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
ANOVA	=	Analysis of Variance
cm	=	Centimeter
DMRT	=	Duncan's Multiple Range Test
g	=	Gram
GA	=	Gibberellic acid
KC	=	Knudson C
mg	=	Milligram
mg glucose eq/g. dry wt.	=	Milligram glucose equivalent/gram dry weight
mg/L	=	Milligram/Liter
mg/l	=	Milligram per liter
MS	=	Murashige and Skoog
PBZ	=	Paclobutrazol
PLBs	=	Protocorm-like bodies
ppm	=	Part Per Million
T	=	Treatment
VW	=	Vacin and Went
w/v	=	weight/volume

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศที่มีมูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกมากที่สุด ในปี 2558 คือ ประเทศเนเธอร์แลนด์ รองลงมา ได้แก่ ประเทศไทย ไต้หวัน และนิวซีแลนด์ ตามลำดับ ความต้องการใช้กล้วยไม้ตัดดอกภายในประเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในอัตราเฉลี่ยร้อยละ 10.70 ต่อปี โดยเพิ่มขึ้นจาก 21,255 ตัน ในปี 2554 เป็น 28,052 ตัน ในปี 2558 ซึ่งความต้องการใช้กล้วยไม้ตัดดอกในประเทศมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 55 ของผลผลิตทั้งหมด ส่วนที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 45 ส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ ตลาดส่งออกที่สำคัญของไทย ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และจีน สำหรับประเทศกลุ่มอาเซียนมีอัตราการส่งออกเพิ่มขึ้นทั้งปริมาณและมูลค่า เนื่องจากการเปิดการค้าเสรีมากขึ้น จึงทำให้มีการส่งออกกล้วยไม้กำและกล้วยไม้ตัดดอกไปขายยังประเทศเพื่อนบ้านทั้งเมียนมาร์ ฟิลิปปินส์ และมาเลเซีย ส่วนประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป อัตราการส่งออกลดลงทั้งปริมาณและมูลค่า เนื่องจากภาวะเศรษฐกิจโลกอยู่ในช่วงชะลอตัว อย่างไรก็ดีประเทศไทยถือว่าเป็นผู้ผลิตและส่งออกดอกกล้วยไม้เขตร้อนอันดับ 1 ของโลก หากพิจารณาสัดส่วนการส่งออกกล้วยไม้ พบว่าประมาณร้อยละ 80 เป็นกล้วยไม้ตัดดอก โดยมีกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) มากที่สุด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) การผลิตกล้วยไม้ตัดดอกของประเทศไทยในปี 2554-2558 พื้นที่ปลูก ผลผลิตและผลผลิตต่อไร่ของกล้วยไม้ตัดดอกเพิ่มขึ้นอัตราเฉลี่ยร้อยละ 2.70, 5.01 และ 2.24 ต่อปีตามลำดับ โดยเพิ่มขึ้นจาก 21,426 ไร่ ปริมาณ 45,897 ตัน และปริมาณ 2,142 กิโลกรัมต่อไร่ในปี 2554 เป็น 22,167 ไร่ ปริมาณ 50,873 ตัน และปริมาณ 2,295 กิโลกรัมต่อไร่ ในปี 2558 ตามลำดับ แหล่งปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญของไทย 5 อันดับแรก ได้แก่ นครปฐม สมุทรสาคร กาญจนบุรี นนทบุรีและราชบุรี เนื่องจากสภาพภูมิอากาศและมีแหล่งน้ำที่เหมาะสมต่อกับการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ มีระยะทางใกล้กับตลาดขายส่งกรุงเทพฯ และสะดวกในการขนส่งไปจำหน่ายต่างประเทศ อย่างไรก็ตามต้นทุนการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายต่อไร่ของเกษตรกรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 2.31 ต่อปี จากไร่ละ 148,490 บาท ในปี 2554 เป็นไร่ละ 163,856 บาท ในปี 2558 เนื่องจากราคาปัจจัยการผลิตโดยเฉพาะค่าต้นพันธุ์ วัสดุอุปกรณ์การปลูกและโรงเรือนมีราคาเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ต้นทุนต่อหน่วยเพิ่มขึ้นในอัตราเฉลี่ยร้อยละ 3.39 จากกิโลกรัมละ 60.77 ในปี 2554 เป็นกิโลกรัมละ 74.08 บาท ในปี 2558 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) นอกจากนี้ปัจจัยการผลิตต่างๆ เช่น ปุ๋ยเคมี สารกำจัดวัชพืชและศัตรูพืชมีราคาแพง อีกทั้งภัยธรรมชาติจากภาวะฝนแล้ง ทำให้น้ำเค็มไหลเข้าสู่สวนกล้วยไม้ จึงไม่สามารถใช้น้ำจากลำคลองในสวนกล้วยไม้ได้ ทำให้เกษตรกรที่ปลูกกล้วยไม้จะต้องมีเงินลงทุนสูงและมีความรู้ความชำนาญในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ อีกทั้งการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์ที่ต่ำมาก เนื่องจากเมล็ดของกล้วยไม้ไม่มีอาหารสะสมภายในเมล็ด อีกทั้งการพัฒนากล้วยไม้สายพันธุ์ใหม่มักใช้วิธีผสมเกสรและเพาะเมล็ด จึงจำเป็นต้องอาศัยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ได้เป็นจำนวนมาก เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น มีรายงานการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ชนิดต่างๆ โดยใช้อาหารหลายสูตรที่แตกต่างกัน เช่น

อาหารสูตร Knudson (KC) (Knudson, 1946), Vacin and Went (VW) (Vacin and Went, 1949) และ Murashige and Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962) ซึ่งสูตรอาหารที่นิยมใช้นั้นมีองค์ประกอบที่เป็นสารอนินทรีย์อยู่หลายชนิด และยังมีการเติมสารอินทรีย์ เช่น น้ำมะพร้าว กล้วยหอม และมันฝรั่ง ทำให้เกิดความยุ่งยากในการเตรียม ปัญหาเหล่านี้จึงเป็นที่มาของการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเครื่องมือที่สำคัญช่วยลดระยะเยาว์วัยของกล้วยไม้ให้สั้นลง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ต้องคำนึงถึงสูตรอาหารให้เหมาะสมกับชนิดของกล้วยไม้ ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ เช่น สูตรอาหาร อาหารเสริมอินทรีย์ สภาพของอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต Paclobutrazol (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายตั้งแต่การเพาะเมล็ดจนได้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตที่ดีและแข็งแรง การเพิ่มจำนวนกล้วยไม้โดยใช้ตาข้าง เป็นต้น นอกจากนี้ได้ทำการเปรียบเทียบสูตรอาหารต่างๆ ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้กับการใช้ปุ๋ยเพื่อทดสอบว่าการใช้สารเคมีในรูปของปุ๋ยที่มีขายทั่วไปในท้องตลาดสามารถทดแทนสารเคมีชนิด analytical grade ได้หรือไม่ โดยการพัฒนาสูตรอาหารอย่างง่ายและมีองค์ประกอบไม่ซับซ้อนที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือดีกว่าสูตรอาหารที่ใช้กันในปัจจุบัน สามารถช่วยลดระยะเวลา ลดต้นทุนและค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหาร สามารถลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พืช ช่วยส่งเสริมให้การพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น สามารถรักษาสายพันธุ์ของกล้วยไม้เหล่านี้ไว้ในหลอดทดลอง ทำให้ประหยัดพื้นที่เก็บรักษาและสามารถเก็บรักษาพันธุ์ได้จำนวนมากและเป็นการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ สามารถแปลงเป็นทรัพย์สินทางปัญญาสร้างรายได้ทางเศรษฐกิจ ในการทดลองนี้ได้ใช้กล้วยไม้สายพันธุ์แท้ 3 สายพันธุ์ คือ *D. antennatum, D. discolor* และ *D. phalaenopsis* และกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสม 3 สายพันธุ์ คือ *D.* Fleischeri, *D.* Judy Rutz และ *D.* Suree Peach เพื่อเป็นตัวแทนของกล้วยไม้สกุลหวายในปัจจุบัน

2. ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาพอาหารต่างๆ และสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขั้นตอนในการเตรียมอาหารและประหยัดค่าใช้จ่ายต่างๆ และเพื่อความแข็งแรงให้กับต้นกล้วยไม้สกุลหวาย ดังนี้

ตอนที่ 1 เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ แบ่งเป็น 3 ระยะของการเจริญเติบโตตั้งแต่การเพาะเมล็ด การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม และการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง

ตอนที่ 2 เพื่อศึกษาผลของอาหารเหลว ขนาดต้นและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ Phytagel Agar และ CleriGar

ตอนที่ 3 เพื่อศึกษาผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง เพื่อเพิ่มจำนวนและเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นกล้วยไม้สกุลหวาย

ตอนที่ 4 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง สามารถเพิ่มจำนวนกล้วยไม้สกุลหวายและลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากตาข้างให้ได้ต้นกล้วยไม้ที่สมบูรณ์แข็งแรง

3. ขอบเขตการศึกษา

เปรียบเทียบผลของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรพื้นฐาน MS, KC, VW และอาหารสูตรปุ๋ยต่างๆ เช่น Hyponex จากประเทศญี่ปุ่น และปุ๋ยเคมีอื่นๆ ที่มีขายในประเทศไทย รวมทั้งอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ นมสด นมผง (Carnation) นมถั่วเหลืองชนิดผง เปปโตน น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำมะพร้าวและกล้วยหอม สภาพของอาหาร (อาหารเหลวและกึ่งแข็ง เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ Phytagel Agar และ CleriGar) สารควบคุมการเติบโตของพืช PBZ ต่อการเติบโตและพัฒนาของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง (*D. antennatum, D. phalaenopsis, D. discolor, D.* Fleischeri*, D.* Judy Rutz, *D.* Suree Peach) ตั้งแต่เมล็ดกล้วยไม้ โปรโตคอร์ม ต้นอ่อนกล้วยไม้และเนื้อเยื่อตาข้าง โดยบันทึกผลตามระยะต่างๆ ของกล้วยไม้ เช่น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนของโปรโตคอร์ม ต้นอ่อนหรือชิ้นเนื้อเยื่อกล้วยไม้ จำนวนต้น ความสูงของต้น จำนวนราก ความยาวของราก และปริมาณอาหารสะสม (TNC) ปริมาณรงควัตถุที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์แสง

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การพัฒนาสูตรอาหารให้มีองค์ประกอบไม่ซับซ้อนช่วยลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหาร อย่างไรก็ตามสูตรอาหารนั้นต้องมีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือดีกว่าสูตรอาหารสังเคราะห์ที่ใช้กันในปัจจุบันซึ่งต้องใช้สารเคมีหลายตัว เช่น สูตรอาหาร MS, KC และ VW การเพิ่มอาหารเสริมอินทรีย์ เช่น นมสด นมผง (Carnation) นมถั่วเหลืองชนิดผง เปปโตน น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำมะพร้าว กล้วยหอมหรือสารควบคุมการเติบโต PBZ ให้เหมาะสมต่อเจริญเติบโตของกล้วยไม้แต่ละระยะจะช่วยให้กล้วยไม้มีความแข็งแรงและเติบโตได้ดีเป็นการลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเพิ่มอัตราการรอดชีวิตให้กับกล้วยไม้ได้อีกด้วย อีกทั้งเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากการออกปลูกในแปลงต้องใช้เวลานานเริ่มจากการเพาะเมล็ด อนุบาลต้นกล้า และดูแลจนกว่าจะออกดอกได้ แต่เมื่อนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ ทำให้สามารถลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้มาก ซึ่งช่วยส่งเสริมให้การพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

บทที่ 2
เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สถิติการตลาดของกล้วยไม้

ปี 2554-2558 การส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกของโลก ปริมาณและมูลค่ามีแนวโน้มลดลงอัตราเฉลี่ยร้อยละ 0.48 ต่อปี และร้อยละ 5.05 ต่อปี ตามลำดับ ประเทศที่มีมูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกมากที่สุด ในปี 2558 คือ ประเทศเนเธอร์แลนด์ รองลงมา ได้แก่ ประเทศไทย ไต้หวันและนิวซีแลนด์ ตามลำดับ ในด้านการผลิตของประเทศไทยในปี 2554-2558 พื้นที่ปลูก ผลผลิตและผลผลิตต่อไร่ของกล้วยไม้ตัดดอกเพิ่มขึ้นอัตราเฉลี่ยร้อยละ 2.70, 5.01 และ 2.24 ต่อปีตามลำดับ โดยเพิ่มขึ้นจาก 21,426 ไร่ ปริมาณ 45,897 ตันและปริมาณ 2,142 กิโลกรัมต่อไร่ในปี 2554 เป็น 22,167 ไร่ ปริมาณ 50,873 ตัน และปริมาณ 2,295 กิโลกรัมต่อไร่ ในปี 2558 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แหล่งปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญของไทย 5 อันดับแรก ได้แก่ นครปฐม สมุทรสาคร กาญจนบุรี นนทบุรีและราชบุรี เนื่องจากสภาพภูมิอากาศและมีแหล่งน้ำที่เหมาะสมต่อกับการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ มีระยะทางใกล้กับตลาดขายส่งกรุงเทพฯ และสะดวกในการขนส่งไปจำหน่ายต่างประเทศ สำหรับต้นทุนการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายต่อไร่ของเกษตรกร มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 2.31 ต่อปี จากไร่ละ 148,490 บาท ในปี 2554 เป็นไร่ละ 163,856 บาท ในปี 2558 (ตารางที่ 2) เนื่องจากราคาปัจจัยการผลิตโดยเฉพาะค่าต้นพันธุ์ วัสดุ อุปกรณ์การปลูกและโรงเรือนมีราคาเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ต้นทุนต่อหน่วยเพิ่มขึ้นในอัตราเฉลี่ยร้อยละ 3.39 จากกิโลกรัมละ 60.77 ในปี 2554 เป็นกิโลกรัมละ 74.08 บาท ในปี 2558 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

ความต้องการของตลาดภายในประเทศไทยปี 2554-2558 ความต้องการใช้กล้วยไม้ตัดดอกภายในประเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในอัตราเฉลี่ยร้อยละ 10.70 ต่อปี โดยเพิ่มขึ้นจาก 21,255 ตัน ในปี 2554 เป็น 28,052 ตัน ในปี 2558 ซึ่งความต้องการใช้กล้วยไม้ตัดดอกในประเทศมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 55 ของผลผลิตทั้งหมด ส่วนที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 45 ส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ ซึ่งการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกในปี 2554-2558 พบว่าปริมาณและมูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกมีแนวโน้มลดลงในอัตราเฉลี่ยร้อยละ 0.39 และ 2.53 ต่อปี ตามลำดับ โดยมูลค่าการส่งออกลดลงจาก 2,220 ล้านบาท ในปี 2554 เป็น 2,031 ล้านบาท ในปี 2558 ตลาดส่งออกที่สำคัญของไทย ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และจีน สำหรับประเทศกลุ่มอาเซียนมีอัตราการส่งออกเพิ่มขึ้นทั้งปริมาณและมูลค่า เนื่องจากมีการเปิดการค้าเสรีมากขึ้น จึงทำให้มีการส่งออกกล้วยไม้กำและกล้วยไม้ตัดดอกไปขายยังประเทศเพื่อนบ้านทั้งเมียนมาร์ ฟิลิปปินส์ และมาเลเซีย ส่วนประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป อัตราการส่งออกลดลงทั้งปริมาณและมูลค่า เนื่องจากภาวะเศรษฐกิจโลกอยู่ในช่วงชะลอตัว ทำให้ความต้องการกล้วยไม้ของประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และสหภาพยุโรปมีแนวโน้มลดลง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อปริมาณการผลิต ได้แก่ ที่ดินมีราคาสูงขึ้น ทำให้การขยายพื้นที่เพาะปลูกทำได้ค่อนข้างจำกัด เนื่องจากแหล่งปลูกกล้วยไม้ส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณรอบๆ กรุงเทพฯ และปริมณฑล ซึ่งที่ดินในบริเวณดังกล่าวมีราคาแพงและมีแนวโน้มที่จะปรับตัวสูงขึ้น การใช้เงินลงทุนสูงทำให้เกษตรกรที่จะเข้ามาปลูกกล้วยไม้จะต้องมีเงินลงทุนสูงและมีความรู้ความชำนาญในการเพาะปลูก ในด้านปัจจัย

การผลิตต่างๆ เช่น ปุ๋ยเคมี สารกำจัดวัชพืชและศัตรูพืชมีราคาแพง อีกทั้งภัยธรรมชาติจากภาวะฝนแล้ง ทำให้น้ำเค็มไหลเข้าสู่สวนกล้วยไม้ จึงไม่สามารถใช้น้ำจากลำคลองในสวนกล้วยไม้ได้ นอกจากนี้กล้วยไม้มีราคาต่ำเนื่องจากสภาวะเศรษฐกิจอยู่ในช่วงชะลอตัว จากราคาดอกกล้วยไม้ (ก้านช่อยาว 55–60 ซม.) ที่เกษตรกรขายได้ปี 2554-2558 มีแนวโน้มลดลงในอัตราเฉลี่ยร้อยละ 10.74 ต่อปี โดยลดลงจากช่อละ 3.96 บาท ในปี 2554 เป็นช่อละ 2.97 บาท ในปี 2558 และราคาส่งออกดอกกล้วยไม้ปี 2554-2558 มีแนวโน้มลดลงอัตราเฉลี่ยร้อยละ 2.90 โดยลดลงจากกิโลกรัมละ 90.09 บาท ในปี 2554 เป็นกิโลกรัมละ 85.20 บาท ในปี 2558 (ตารางที่ 3) (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

ตารางที่ 1 พื้นที่ปลูกและผลผลิตต่อไร่กล้วยไม้ตัดดอกของไทย ปี 2554-2559

ปี	พื้นที่ปลูก (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)
2554	21,426	45,897	2,142
2555	17,906	37,542	2,097
2556	21,703	47,812	2,203
2557	21,846	49,805	2,280
2558	22,167	50,873	2,295
อัตราเพิ่ม (ร้อยละ)	2.70	5.01	2.24
2559*	22,250	51,840	2,330

ตารางที่ 2 ต้นทุนการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ปี 2554-2558

ปี	ต้นทุนผันแปร[1] (บาท/ไร่)	ต้นทุนคงที่[2] (บาท/ไร่)	ต้นทุนทั้งหมด (บาท/ไร่)	ต้นทุนต่อหน่วย (บาท/กก.)
2554	99,036.65	46,453.75	145,490.40	60.77
2555	109,040.92	62,537.75	171,578.67	82.06
2556	117,821.37	64,090.69	181,912.06	82.57
2557	107,933.92	64,124.65	170,058.57	77.05
2558	108,492.87	55,363.06	163,855.93	74.08
อัตราเพิ่ม (ร้อยละ)	1.74	3.83	2.31	3.39

ตารางที่ 3 ราคาที่เกษตรกรขายได้และราคาส่งออกกล้วยไม้ตัดดอก ปี 2554-2558

ปี	ราคาที่เกษตรกรขายได้ (ก้านช่อยาว 55-60 ซม.) บาท/ช่อ	ราคาส่งออกกล้วยไม้ตัดดอก (33 ช่อ เท่ากับ 1 กก.)	
		บาท/กก.	บาท/ช่อ
2554	3.96	90.09	2.73
2555	5.10	100.01	3.03
2556	3.40	88.84	2.69
2557	2.91	83.27	2.52
2558*	2.97	85.20	2.58
อัตราเพิ่ม (ร้อยละ)	-10.74	-2.90	-2.93

หมายเหตุ: * ประมาณการ

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2559. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

[1] ต้นทุนผันแปร: ต้นทุนที่มีพฤติกรรมเคลื่อนไหวตามจำนวนการผลิต ซึ่งหากมีการผลิตมากก็จะเสียต้นทุนประเภทนี้มาก และหากมีการผลิตน้อยก็จะเสียต้นทุนประเภทนี้น้อยเช่นกัน เช่น วัตถุดิบที่ใช้ ค่าแรงงานที่คิดเป็นรายชิ้น ค่าไฟฟ้าในการเดินเครื่องจักร ค่าพลังงานสิ้นเปลือง เป็นต้น

[2] ต้นทุนคงที่: ต้นทุนที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละดับการผลิต ไม่ว่าจะมีการผลิตมากหรือผลิตน้อย ก็ยังคงต้องเสียค่าใช้จ่ายเช่นเดียวกัน พฤติกรรมของต้นทุนประเภทนี้ จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก เช่น ค่าเสื่อมราคา ค่าเช่า เงินเดือนพนักงาน ค่าเบี้ยประกัน เป็นต้น

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการส่งออก ได้แก่ มาตรการกีดกันทางการค้าของประเทศคู่ค้าที่นำมาบังคับใช้ในการนำเข้ากล้วยไม้โดยเฉพาะสหภาพยุโรป เช่น อิตาลี อังกฤษ ที่มีการเข้มงวดในการตรวจเพลี้ยไฟ หากเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพบเพลี้ยไฟ จะเผาทำลายดอกกล้วยไม้ที่จะนำเข้าชุดนั้นๆ ทำให้ผู้ส่งออกไทยสูญเสียค่าใช้จ่ายอยู่เสมอ ซึ่งมีผลทำให้การขยายตลาดส่งออกในช่วงที่ผ่านมาทำได้ไม่มากนัก นอกจากนี้ภาวะเศรษฐกิจโลกที่อยู่ในช่วงซบเซา ทำให้ตลาดยังมีการขยายตัวไม่มากนัก การส่งออกกล้วยไม้ไปตลาดยุโรป สหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่นก็ไม่ขยายตัวถึงแม้ค่าเงินบาทจะมีแนวโน้มอ่อนค่าลง แต่การขยายตลาดส่งออกกล้วยไม้ไปตลาดเดิมก็ยังไม่กระเตื้องขึ้น และผู้นำเข้ากล้วยไม้รายใหม่ เช่น อินเดีย ตะวันออกกลาง รัสเซีย และยุโรปตะวันออก ยังไม่สามารถเชื่อมโยงกับผู้ส่งออกของไทยได้ ส่งผลให้การขยายตัวของการส่งออกกล้วยไม้ไปตลาดใหม่ทำได้ค่อนข้างจำกัด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและผู้ส่งออกดอกกล้วยไม้เขตร้อนอันดับ 1 ของโลก หากพิจารณาสัดส่วนการส่งออกกล้วยไม้ พบว่า ประมาณร้อยละ 80 เป็นกล้วยไม้ตัดดอก โดยมีกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) มากที่สุด รองลงมาเป็นกล้วยไม้สกุลอะแรนด้า อะแรคนิส ออนซิเดียม และแวนด้า สำหรับการส่งออกกล้วยไม้กระถางส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis*) และ ซิมบิเดียม (*Cymbidium*) แวนด้า และอะแรนด้า สำหรับกล้วยไม้ตัดดอกของไทยที่ส่งออกไปยังตลาดต่างๆ นั้น สามารถแบ่งตามความนิยมของกล้วยไม้ตัดดอกของแต่ละตลาดดังนี้ ตลาดเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น ต้องการกล้วยไม้ตัดดอกสีอ่อน สีชมพู ช่อยาว ตลาดจีนและอินเดียต้องการกล้วยไม้สีม่วงแดงเข้ม ขาว ชมพู และสีอื่นๆ ตลาดยุโรป เช่น อิตาลี เนเธอร์แลนด์ ต้องการกล้วยไม้สีม่วงแดงเข้ม สีชมพู และสีขาว ช่อยาว สหรัฐอเมริกาและออสเตรเลียต้องการกล้วยไม้สีม่วงแดงเข้ม สีชมพู และสีขาว สำหรับประเทศคู่แข่งกล้วยไม้ไทย คือ มาเลเซีย และสิงคโปร์ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

กล้วยไม้สกุลหวาย

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) อยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย สามารถเป็นได้ทั้งไม้ตัดดอกและไม้กระถาง (ครรชิต, 2547) มีการแพร่กระจายพันธุ์ในบริเวณกว้างทั้งในทวีปเอเชียและหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก จึงทำให้กล้วยไม้สกุลหวายมีรูปร่างลักษณะทั้งดอก ใบ และลำลูกกล้วยแตกต่างกันออกไปอย่างกว้างขวาง (ครรชิต, 2547) โดยทั่วไปกล้วยไม้สกุลหวายมีการเจริญเติบโตแบบแตกกอ (sympodial) คือ มีเหง้า (rhizome) ซึ่งเป็นลำต้นที่แท้จริงไปตามแนวนอน (ระพี, 2530) โดยมีการเจริญแตกยอดอ่อนให้หน่อใหม่เกิดขึ้นเรื่อยๆ และมีการส่งก้านชูใบขึ้น เพื่อช่วยในการเก็บน้ำและอาหารเรียกส่วนนี้ว่าลำลูกกล้วย (pseudo-bulb) (จิตราพรรณ , 2550) กาบใบรอบลำลูกกล้วยตรงส่วนปล้องจะอยู่เหนือจากข้อที่โคนกาบใบ เส้นกลางใบหรือเส้นย่อยๆ จะอยู่ในลักษณะขนานกันไปตามความยาวของใบ แผ่นใบจะชิดกับกาบใบเป็นแผ่นบางต่อลงไปจากโคนใบเชื่อมโยงระหว่างโคนใบกับลำต้น มีระบบรากแบบกึ่งอากาศ (semi-epiphyte) ปกติอาศัยเกาะตามต้นไม้ (ไพบูลย์, 2521) ช่อดอกแบบก้านยาวไม่แตกแขนง ออกช่อดอกจากข้อ ซึ่งอยู่ที่ปลายลำลูกกล้วย หรือตามข้อถัดจากส่วนโค้งของลำลูกกล้วย ดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่บน

ส่วนเดียวกัน (ระพี, 2530) ดอกประกอบด้วยกลีบเลี้ยง (sepal) มีลักษณะคล้ายกันทั้ง 3 กลีบ และกลีบดอก (petal) 3 กลีบมีลักษณะต่างกัน โดยเหมือนกันสองกลีบ ส่วนกลีบที่สามเปลี่ยนลักษณะไปเป็นแผ่นปาก (labellum หรือ lip) (ครรชิต, 2547) เมล็ดมีน้ำหนักน้อยเนื่องจากไม่มีอาหารสะสม (endosperm) ส่วนเอ็มบริโอ (embryo) ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma cells) ขนาดเล็กสม่ำเสมอ จำนวนน้อย ไม่มีรากแรกเกิด (radicle) และใบเลี้ยง (cotyledon) และมีอาหารสะสมส่วนใหญ่เป็นไขมัน (lipid) (Hadley, 1982) สำหรับเมล็ดที่แข็งแรงมีพันธุกรรมที่สามารถทำให้เจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมนั้น เมล็ดจะงอกไปเป็นต้นกล้า ดังนั้น การที่มีเมล็ดจำนวนมากจะช่วยเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม เพิ่มโอกาสในการอยู่รอดและการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม (adaptation) ซึ่งนำไปสู่วิวัฒนาการในที่สุด แสดงถึงความสำเร็จของกล้วยไม้ในการปรับตัวและวิวัฒนาการ จากการใช้ประโยชน์จากเรณูสูงสุดและผลิตเมล็ดมากที่สุด (Behar, 1995)

กล้วยไม้ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *D. discolor* เป็นกล้วยไม้ป่าสายพันธุ์แท้ (species) ที่มีถิ่นกำเนิดทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลียและในหมู่เกาะปาปัวนิวกินี ช่อดอกมีขนาดยาวตั้งแต่ 20-60 ซม. และมีดอกประมาณ 30-40 ดอก เส้นผ่านศูนย์กลางดอกประมาณ 3-8 ซม. ดอกมีสีเหลืองปนสีน้ำตาล กลีบเลี้ยง (sepal) และกลีบดอก (petal) ยาวประมาณ 2.5-3.5 ซม. บิดเป็นเกลียว ช่อดอกไม่สวยสะดุดตา และกลีบดอกแคบ แต่มีข้อดีคือ อายุการปักแจกันยาว ออกดอกในช่วงเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม (ครรชิต, 2547) *D. antennatum* เป็นกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แท้ (species) ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศออสเตรเลีย ปาปัวนิวกินี และหมู่เกาะโซโลมอน ลักษณะเด่นคือมีกลีบดอกตั้งบิดคล้ายหูกระต่าย (Antelope orchid) ช่อดอกยาวประมาณ 50 ซม. มีดอก 3-15 ดอก/ช่อ ขนาดดอก 2-4 ซม. กลีบนอกสีขาว กลีบในสีเขียวอ่อนและบิด เป็นเกลียว ปากมีพื้นสีขาวมีเส้นสีสีม่วงแดง ดอกบานนาน 6 สัปดาห์ *D. phalaenopsis* เป็นกล้วยไม้ที่มีถิ่นกำเนิดแถบรัฐควีนแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย ให้ช่อดอกยาวได้ถึง 50 ซม. สีดอกมีตั้งแต่ม่วงเข้มจนถึงม่วงอ่อนและขาว ฟอร์มดอกค่อนข้างกลมมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกกว้าง ช่อดอกสวยสะดุดตา แต่อายุการปักแจกันสั้น จึงไม่เหมาะสมสำหรับเป็นไม้ตัดดอก ออกดอกในช่วงเดือนกันยายนถึงตุลาคม (ครรชิต, 2547) การผสมพันธุ์หวายเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ดีได้มีการพัฒนากันมาอย่างต่อเนื่อง กล้วยไม้หวายพันธุ์ลูกผสมที่มีการพัฒนาสามารถขยายพันธุ์ได้เร็วและเลี้ยงง่าย มีฟอร์มดอกและสีดอกสวยสะดุดตาเพื่อใช้เป็นไม้ตัดดอก ยกตัวอย่างเช่น *D.* Fleischeri เป็นกล้วยไม้ลูกผสมที่มีความหลากหลาย เกิดจากการผสมระหว่าง *D. antennatum* กับ *D. bigibbum* สีดอกพบได้ทั้งสีขาว สีม่วงและสีแดงม่วง ปากมีลายสีม่วงเข้ม ขนาดของดอกยาว 5.5 ซม. กว้าง 3 ซม. กลีบเลี้ยงด้านหลังยาว 2 ซม. กว้าง 1 ซม. กลีบเลี้ยงด้านข้าง 1.5 ซม. กว้าง 0.8 ซม. และกลีบดอกยาวประมาณ 3.75-4 ซม. กว้าง 1-1.5 ซม. ปากยาว 2.75-3 ซม. กว้าง 2.25 ซม. (Cribb, 1986) ส่วนกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz เกิดจากการผสมระหว่าง *D. antennatum* กับ *D. phalaenopsis* สำหรับกล้วยไม้ *D.* Suree Peach เป็นกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์การค้าในประเทศไทย ฟอร์มดอกกึ่งฟอร์มกลมกว้างประมาณ 6.30 ซม. ยาวประมาณ 6.77 ซม. ความยาวทั้งช่อประมาณ 44.10 ซม. จำนวนดอกบนช่อดอก 10-17 ดอก กลีบดอกสีขาวปนสีชมพู (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

การขยายพันธุ์กล้วยไม้

การขยายพันธุ์กล้วยไม้ สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ แบบที่มีการผสมเกสรและเพาะเมล็ด (seed propagation) คือ การนำเมล็ดซึ่งเกิดจากการผสมเกสรมาเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ต้นใหม่ สามารถเพิ่มกล้วยไม้ได้เป็นจำนวนมาก แต่ต้นกล้วยไม้ที่ได้จะมีพันธุกรรมแตกต่างกันไปจากต้นพ่อแม่ อาจได้ต้นที่มีลักษณะดีหรือด้อยกว่าเดิม มีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ กับแบบที่ไม่มีการผสมเกสร (vegetative propagation) คือ การนำส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้จากการผสมเกสรไปขยายพันธุ์ ซึ่งกล้วยไม้สกุลหวายนิยมใช้วิธีตัดแยกลำหน้า ลำหลัง ตัดตะเกียง หรือตัดลำแก่ไปปักชำ ข้อดีคือพันธุกรรมของต้นจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ใช้ระยะเวลานาน นิยมใช้ในกรณีที่มีต้นพันธุ์ดีอยู่แล้ว (ระพี, 2530) ปัจจุบันมีการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์มาประยุกต์ใช้ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้ สามารถลดระยะเวลาและเพิ่มประมาณอย่างรวดเร็วและได้ต้นที่เหมือนเดิมทุกประการ

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ คือการนำฝักกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมเกสรของกล้วยไม้จนติดฝัก ซึ่งภายในฝักกล้วยไม้มีเมล็ดกล้วยไม้อยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อกล้วยไม้ถือฝักอยู่บนต้นได้ช่วงระยะเวลาหนึ่งที่เหมาะสม เมล็ดกล้วยไม้ที่อยู่ภายในฝักจะพัฒนาเจริญเติบโตเป็นคัพภะ ซึ่งเมื่อนำมาเพาะในอาหารวิทยาศาสตร์ที่เหมาะสมจะสามารถงอกเป็นโปรโตคอร์ม (protocorm) ต่อมาจะพัฒนาเป็นต้นอ่อนหรือต้นกล้าขนาดเล็ก (seedling) ซึ่งสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยไม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างต้นพ่อ และต้นแม่พันธุ์ของกล้วยไม้ฝักดังกล่าว การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อนี้ นิยมใช้สำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมที่ผสมพันธุ์ขึ้นมาใหม่ หรือเพื่อการคงความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้พันธุ์พื้นบ้านหรือพันธุ์ป่า เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กไม่มีเอนโดสเปอร์ม (endosperm) ไม่มีอาหารสะสมไว้สำหรับเอมบริโอ การงอกจึงไม่เกิดขึ้นจริงอยู่แม้ในสภาพธรรมชาติเราอาจพบว่า มีกล้วยไม้บางชนิดที่เมล็ดสามารถงอกได้นั้น ก็เพราะได้รับอาหารจากเชื้อราพวกไมคอร์ไรซา (Mychorrhiza) ในสกุล Rhizoctinia ฉะนั้นการเพาะเลี้ยงเอมบริโอของกล้วยไม้จึงมีความสำคัญสามารถผลิตต้นกล้าได้รวดเร็ว และทำได้ง่ายกว่าการขยายพันธุ์จากชิ้นเนื้อเยื่อพืชที่นิยมเรียกว่าปั่นตา (จิตราพรรณ, 2550)

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อเริ่มจากการฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดหรือฝักกล้วยไม้ โดยนำเมล็ดอ่อนหรือเมล็ดแก่จากฝักที่ยังไม่แตก (อายุประมาณ 2 ใน 3 ของอายุฝักแก่) มาทำความสะอาดโดยตัดส่วนของกลีบดอกแห้งที่ติดอยู่ออก ด้วยความระมัดระวังอย่าให้เกิดแผลเป็นช่องเปิดถึงภายในฝักกล้วยไม้ หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน แล้วนำมาเช็ดให้แห้ง ฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อทำความสะอาดก่อนนำเข้าตู้ปลอดเชื้อ เพื่อฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวฝัก การฆ่าเชื้อที่ผิวฝักทำได้ 2 วิธี คือ 1) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยความร้อน โดยนำฝักกล้วยไม้จุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ 2) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ โดยนำฝักกล้วยไม้มาแช่ในน้ำยาคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% เขย่าเป็นระยะเวลา 10-20 นาที แล้วล้างฝักด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง เมื่อฟอกฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้เรียบร้อยแล้ว นำฝักกล้วยไม้มาผ่าเพื่อนำเมล็ดมาเพาะในอาหาร ซึ่งการผ่าฝักสามารถทำได้ 2 วิธี คือผ่าฝักตามแนวขวาง หรือตามแนวยาวของฝัก การเขี่ยเมล็ดออกใส่ในอาหารอาจใช้ปากคีบ คีบเมล็ดใส่ในอาหารโดยตรง หรือคีบเมล็ดใส่ในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งจะช่วยให้เมล็ดสามารถกระจายตัวได้ดีขึ้น

ส่วนเมล็ดแก่ที่ผนังฝักแตก ให้นำเมล็ดกล้วยไม้มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีอัตราส่วนของน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ 1:1 หรือ 2:1 เมื่อนำเมล็ดมาใส่ในสารละลายดังกล่าวแล้วให้เขย่าขวดเป็นระยะเวลา 10-15 นาที แล้วนำเมล็ดกล้วยไม้ใส่ลงในอาหารเพาะเลี้ยงต่อไป ใช้เวลา 1-2 เดือน เมล็ดจะพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มเขียวขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง เลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 2-4 เดือน โปรโตคอร์มจะเจริญยืดตัวขึ้นมาเป็นต้นกล้วยไม้ต้นเล็กๆ อาจย้ายไปลงอาหารกึ่งแข็งใหม่ทุก 1-2 เดือน เพื่อชักนำให้พัฒนาไปเป็นต้น เมื่อได้ต้นกล้วยไม้ขนาดเล็กจำนวนมากเพียงพอต่อความต้องการแล้ว ให้ถ่ายขวดกล้วยไม้โดยแยกต้นตามขนาดของต้น ต้นที่มีขนาดเดียวกันให้ปักดำลงในอาหารขวดเดียวกัน ทำการปักดำต้นกล้วยไม้ในอาหารกึ่งแข็ง โดยเว้นระยะห่างระหว่างต้นให้เหมาะสม เพื่อให้ต้นเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ขวดที่ย้ายมาเลี้ยงใหม่นี้จะเลี้ยงในขวดเป็นครั้งสุดท้าย ขวดที่นิยมใช้ คือขวดรูปทรงสี่เหลี่ยม (ขวดเหล้าวิสกี้) ซึ่งปักดำต้นกล้าจำนวน 40-45 ต้นต่อขวด แล้วนำขวดดังกล่าวไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือเลี้ยงในโรงเรือนโดยไม่จำเป็นต้องใช้ห้องปรับอากาศแต่ต้องให้ได้รับแสงสว่างจากหลังคาที่มุงด้วยกระเบื้องโปร่งแสงสลับกับกระเบื้องธรรมดาเป็นช่วงๆ แต่ไม่ใช่รับแสงแดดโดยตรง ในระยะนี้จะใช้เวลาในการเลี้ยงนานพอสมควรอาจจะถึง 5-6 เดือน เพื่อให้ต้นเจริญเติบโตมีใบและรากสมบูรณ์จนต้นเริ่มชนขวดด้านบน จึงนำต้นกล้วยไม้ดังกล่าวออกปลูกเลี้ยงในโรงเรือนกัน หรือส่งให้กับลูกค้า (จิตราพรรณ, 2550) ขั้นตอนการเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายในสภาพปลอดเชื้อ ตั้งแต่เมล็ดจนได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมออกจากขวดหรือส่งลูกค้าจะใช้เวลาประมาณ 1 ปี หรือ 12 เดือน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ คือ การนำชิ้นส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ เช่น หน่ออ่อน ช่อดอกอ่อน ใบ และราก เป็นต้น โดยนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อ และนำไปชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากในอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อนิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้ตัดดอก และกล้วยไม้กระถาง เพื่อเพิ่มจำนวนต้นในปริมาณมากและได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนต้นเดิม ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ อาจมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นได้ โดยเปอร์เซ็นต์ของการกลายพันธุ์จะมากหรือน้อยขึ้นกับ วิธีการในการชักนำให้เกิด protocorm-like bodies (PLBs) ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ และลักษณะประจำพันธุ์ของกล้วยไม้ชนิดนั้นๆ (จิตราพรรณ, 2550) การเกิดการผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อป้องกันได้โดยการเลือกไม่ใช้ชิ้นส่วนพืชที่มีความแปรปรวนไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากในธรรมชาติพืชก็มีความปรวนแปรอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมการเลี้ยง อาจเกิดขึ้นกับทั้งต้นหรือเกิดเฉพาะส่วนใดส่วนหนึ่ง การนำชิ้นส่วนที่มีความแปรปรวนโดยการกำเนิดมาจากการเพาะเลี้ยงจะให้ต้นใหม่ที่ไม่เหมือนต้นแม่เดิม อัตราการแปรปรวนมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของเซลล์ตั้งต้น หากเซลล์ตั้งต้นแปรปรวนในหลายลักษณะ พืชที่ชักนำได้จะมีความแปรปรวนในอัตราสูง นอกจากนี้สภาพแวดล้อมการเลี้ยงก็เป็นอีกปัจจัยที่ทำให้เกิดการผันแปรทางพันธุกรรม มีหลายประการด้วยกันที่สำคัญที่สุดคือ สารควบคุมการเติบโตที่เติมลงไปในอาหาร เช่น กลุ่มออกซิน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง 2,4-D ไม่ได้มีผลโดยตรงในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ แต่สารดังกล่าวไปชักนำให้ชิ้นส่วนพืชมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว วงจรการแบ่งเซลล์ (cell cycle) ถูกเร่งให้สั้นกว่าปกติ เมื่อเป็นเช่นนี้สารที่จำเป็นต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ได้แก่ เอนไซม์และโปรตีนถูกสร้างอย่างรวดเร็วเช่นกันในบางครั้งทำให้เกิดความบกพร่องในการสร้างสารที่จำเป็นบาง

ตัว เซลล์ลูกที่ได้หลังจากกระบวนการแบ่งเซลล์จึงผิดปกติ นอกจากนี้สารที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงไปมีผลแย่งที่กับเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ ผลที่ตามมาคือ ความผิดปกติของเซลล์ลูก อย่างไรก็ดีการปรับสภาพทางเคมีของสภาพการเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อกลายพันธุ์ เช่น ปริมาณเกลือแร่ในอาหาร พบว่าการขาดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจะทำให้การแบ่งนิวเคลียสผิดปกติได้ ดังนั้นการย้ายอาหารบ่อยๆ จะช่วยควบคุมการกลายพันธุ์ได้บางส่วน แต่บางครั้งการย้ายเนื้อเยื่อบ่อยครั้งอาจให้เนื้อเยื่อลดความแข็งแรง และกลายพันธุ์ได้ง่าย และสามารถเกิดอาการฉ่ำน้ำ (vitrification หรือ hyperhydricity) ได้อีกด้วย (สุรวิช, 2547)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวาย นิยมใช้หน่ออ่อนของกล้วยไม้มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว แล้วตัดชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้มาเลี้ยงในอาหารเหลว (การปั่นตา) เพื่อชักนำให้เกิด PLBs เมื่อได้ PLBs จำนวนมากตามที่ต้องการแล้ว นำ PLBs เหล่านั้นไปชักนำให้เกิดเป็นต้นต่อไป โดยมีขั้นตอนดังนี้ เริ่มจากฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนโดยนำหน่อกล้วยไม้มามาตัดชิ้นส่วนของรากที่โคนหน่อออกให้สะอาด ล้างหน่ออ่อนด้วยน้ำยาล้างจาน เช็ดหน่อกล้วยไม้ให้แห้ง แล้วฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ 10% โดยเขย่าขวดสารละลายที่มีหน่อกล้วยไม้อยู่เป็นระยะเวลา 10-15 นาที (ควรทำในสภาพปลอดเชื้อ) ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ 5% โดยเขย่าขวดสารละลายที่มีหน่อกล้วยไม้อยู่ เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง จากนั้นตัดเฉพาะชิ้นส่วนของตา แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อชักนำให้เกิด PLBs โดยสามารถนำตาหรือชิ้นส่วนอื่นของกล้วยไม้ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 1-2 เดือน โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิด PLBs มีลักษณะคล้ายหัวเล็กๆ เมื่อเขย่าต่อไปหัวเหล่านี้จะเกิดมากขึ้นและแยกออกจากกัน เป็นการเพิ่มจำนวน PLBs หรือยอด โดยระยะนี้สามารถเปลี่ยนถ่ายอาหารเหลวใหม่ทุก 2-4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 2-6 เดือน หรือจนกว่าจะได้จำนวนที่ต้องการ PLBs นี้สามารถเพิ่มจำนวนทวีคูณได้เป็นจำนวนมาก ซึ่งโดยทั่วไปสำหรับกล้วยไม้สกุลหวายนิยมผลิตต้นประมาณ 10,000 ต้น ต่อตา 1 ตา จากนั้นนำ PLBs มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง เพื่อชักนำให้ PLBs พัฒนาไปเป็นต้น ใช้เวลาประมาณ 2-4 เดือน PLBs จะเจริญยืดตัวขึ้นมาเป็นต้นกล้วยไม้ต้นเล็กๆ อาจเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 1 หรือ 2 เดือน สุดท้ายเมื่อได้ต้นกล้วยไม้ขนาดเล็กจำนวนมากเพียงพอต่อความต้องการแล้ว ให้ถ่ายขวดกล้วยไม้โดยแยกต้นตามขนาดของต้น ต้นที่มีขนาดเดียวกันให้ปักดำลงในอาหารขวดเดียวกัน ทำการปักดำต้นกล้วยไม้ในอาหารกึ่งแข็งโดยเว้นระยะห่างระหว่างต้นให้เหมาะสม เพื่อให้ต้นเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ขวดที่ย้ายมาเลี้ยงใหม่นี้จะเลี้ยงในขวดเป็นครั้งสุดท้าย ขวดที่นิยมใช้ คือขวดรูปทรงสี่เหลี่ยม (ขวดเหล้าวิสกี้) ซึ่งปักดำต้นกล้าจำนวน 40-45 ต้นต่อขวด แล้วนำขวดดังกล่าวไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือเลี้ยงในโรงเรือนโดยไม่จำเป็นต้องใช้ห้องปรับอากาศแต่ต้องให้ได้รับแสงสว่างจากหลังคาที่มุงด้วยกระเบื้องโปร่งแสงสลับกับกระเบื้องธรรมดาเป็นช่วงๆ แต่ไม่ใช่รับแสงแดดโดยตรง ในระยะนี้จะใช้เวลาในการเลี้ยงนานพอสมควรอาจจะถึง 5-6 เดือน เพื่อให้ต้นเจริญเติบโตมีใบและรากสมบูรณ์จนต้นเริ่มชนขวดด้านบน จึงนำต้นกล้วยไม้ดังกล่าวออกปลูกเลี้ยงในโรงเรือนหรือส่งให้กับลูกค้า (จิตราพรรณ, 2550) ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวาย ตั้งแต่ตาหรือชิ้นส่วนอื่นของกล้วยไม้จนกระทั่งได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมออกจากขวดหรือส่งลูกค้าจะใช้เวลาประมาณ 1.5 ปี หรือ 18 เดือน

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีหลายปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยทางด้านเคมีซึ่งจะกล่าวโดยละเอียดต่อไป ปัจจัยทางด้านพืชหมายถึง ฮอร์โมนที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อมีบทบาทในการเกิดลักษณะรูปร่าง ฮอร์โมนบางชนิดส่งเสริมการเกิดลักษณะรูปร่างและบางชนิดออกฤทธิ์ยับยั้ง นอกจากนี้พบว่าชนิดและปริมาณของฮอร์โมนในแต่ละส่วนของเนื้อเยื่อพืชจะแตกต่างกัน เช่น ส่วนปลายยอดจะมีออกซินปริมาณสูงกว่าส่วนต้น ในรังไข่มีปริมาณออกซินค่อนข้างสูง ส่วนในเมล็ดนอกจากจะมีออกซินสูงแล้ว ปริมาณของจิบเบอเรลลินยังสูงด้วย เป็นต้น (พรพิมล, 2545) ปัจจัยทางด้านกายภาพ ได้แก่ แสง (light) แสงมีความจำเป็นสำหรับการเติบโตของพืชในหลอดทดลอง เช่น ช่วยในการสร้างราก สร้างต้นใหม่จากแคลลัส เป็นต้น อย่างไรก็ตามความเข้มแสงที่มากเกินไปก็อาจทำให้กล้วยไม้ตายได้ ลักษณะของแสงที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ความเข้มแสงโดยทั่วไปควรอยู่ระหว่าง 1,000-4,000 ลักซ์ (lux) ระยะเวลาที่ให้แสง 8-16 ชม. อุณหภูมิที่ใช้โดยทั่วไป 24-26 °C อุณหภูมิที่ต่ำหรือสูงเกินไปทำให้กล้วยไม้หยุดการเจริญเติบโตและตายได้ ปัจจัยอื่น เช่น ขนาดของชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง (size of explant) สภาพของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture condition) สภาพของอาหารเป็นอาหารกึ่งแข็งหรืออาหารเหลวซึ่งมีผลต่อการพัฒนาของชิ้นเนื้อเยื่อ การเปลี่ยนอาหาร (subculture) การย้ายเนื้อเยื่อจากอาหารเก่าไปยังอาหารใหม่หลายๆ ครั้งก็มีผลต่อการพัฒนาของชิ้นเนื้อเยื่อเช่นกัน (สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, 2556)

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ

อาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อเริ่มโดย Knudson (1922) อาหารสูตรแรกนี้มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งสามารถทำให้เมล็ดกล้วยไม้งอกได้ ต่อมา Knudson (1946) ได้พัฒนาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้โดยเพิ่มสารเคมีอื่นๆ จนได้อาหารสูตร KC หลังจากนั้นสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ถูกพัฒนาขึ้นอีกมากมาย แต่สูตรที่ใช้กันอย่างแพร่หลายได้แก่ สูตร VW (Pritchard, 1989) นอกจากนี้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อความสะดวกรวดเร็วในการเตรียมโดยใช้ปุ๋ยกล้วยไม้แทนสารเคมีในสูตรอาหาร VW สูตรอาหารอีกสูตรหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับกล้วยไม้ได้แก่ สูตร MS เนื่องจากได้ผลดีทั้งในการเพาะเมล็ดและเพิ่มจำนวนยอด (ปรัชพรรณ, 2549) มีรายงานการใช้ปุ๋ยในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ เช่น Hyponex (7-6-6) 0.3% ส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*, *Cattleya*, *Cymbidium* และ *Paphiopedilum* ดีกว่าอาหารสูตร KC (Kano, 1965) Hyponex (6.5-4.5-19 0.1%+20-20-20 0.1%) ร่วมกับเปปโตน 0.2% น้ำต้มมันฝรั่ง 3% ผงถ่านกัมมันต์ 0.05% และน้ำตาลซูโครส 3% สามารถชักนำให้ PLBs ของ *Phalaenopsis* พัฒนาเป็นต้นได้ภายใน 6 สัปดาห์ (Park *et al*., 2002) Hyponex (6.5-4.5-19 0.1%+20-20-20 0.1%) สามารถชักนำให้ PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* พัฒนาเป็นต้นได้ดีที่สุด 83% ภายในเวลา 8 สัปดาห์และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและน้ำหนักสดต้นอ่อนมากกว่าอาหารสูตร MS, VW และ KC (Young *et al.,* 2000) ปุ๋ยกล้วยไม้ทวินเฟอร์ตี้สูตร 21-21-21 และ 30-20-10 ปุ๋ยกล้วยไม้ไมโครพลัสสูตร 16-8-12+2MgO และปุ๋ยกล้วยไม้นกคาบปลาสูตร 18-18-18 ปริมาณ 0.1% สามารถใช้แทนอาหารดัดแปลงสูตร VW ได้ (กัลยา, 2549) ปุ๋ยกล้วยไม้ Grow More สูตร 20-10-20 และกรีนลีฟส์สูตร 21-21-21 0.1% ร่วมกับวิตามิน ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Happy Girl เจริญเติบโตดีกว่า MS, VW, KC และ Hyponex (จุฑามาส, 2549) Hyponex (6.5-6-19) 0.3% สามารถชักนำให้ *Phalaenopsis violacea* Witte เพิ่มจำนวน PLBs ได้ดีและชักนำให้พัฒนาเป็นต้นที่แข็งแรงได้ดีที่สุด

(ดวงพร, 2546) ปุ๋ยกล้วยไม้ Pokon และ Polean (16-21-27) 0.15% ทำให้โปรโตคอร์มของกล้วยไม้ช้างกระพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าอาหารสูตร VW และปุ๋ยกล้วยไม้ที่ความเข้มข้น 0.30 และ 0.45% เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ดาวอน, 2553) Hyponex 0.35% ร่วมกับเปปโตน 0.2% น้ำต้มมันฝรั่ง 10% และผงถ่านกัมมันต์ 0.1% ทำให้เมล็ด *Phalaenopsis* Silky Moon งอกได้ดีที่สุด (ดวงพร, 2549) Hyponex 0.3% หรือปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ตราตุ๊กตาสูตร 21-21-21 0.2% ทำให้ต้นกล้วยไม้สิงโตก้ามปูแดงเจริญเติบโตใกล้เคียงกับอาหารสูตรดัดแปลง VW แต่ในสิงโตเครายาวพบว่าสูตรดัดแปลง VW ให้ผลดีที่สุด (ธันว์, 2546) ปุ๋ยเกล็ดละลายน้ำสูตร 16-21-27 0.2% ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เพชรหึงเจริญเติบโตดีที่สุดโดยทำให้ต้นอ่อนมีน้ำหนักสดความสูงต้นความยาวใบและจำนวนรากมากที่สุด (นันทิดา, 2556) ปุ๋ยมาสเตอร์สูตร 20-20-20 0.2% ทำให้ต้นกล้วยไม้เอื้องผาเวียงเจริญเติบโตดีใกล้เคียงกับอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (สรัญญา, 2547) ปุ๋ยมาสเตอร์ (20-20-20) 0.2% ที่มีวิตามินรวม ทำให้ต้น *D. sulcatum* Lindl. เจริญเติบโตดีกว่าอาหารสูตร VW เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน และปุ๋ยมาสเตอร์ (20-20-20) 0.2% ร่วมกับ BA 5 ppm ทำให้ต้น *Calanthe rosea* (Lindl.) Benth มีความสูงทรงพุ่มและขนาดของใบใหญ่ดีกว่าอาหารสูตร VW เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน (สุลัคน์, 2546)

การดัดแปลงสูตรอาหารให้เหมาะต่อระยะของกล้วยไม้และการเติมสารอื่นที่กล้วยไม้ต้องการลงในอาหารสามารถทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดีขึ้น (จิตราพรรณ, 2550; Pritchard, 1989) อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของธาตุอาหารก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ โดยธาตุอาหารความเข้มข้นต่ำจะทำให้เมล็ดกล้วยไม้บางชนิดงอกได้ดี เช่น อาหารสูตร KC ที่มีความเข้มข้นเพียง 1 ใน 10 ส่วนทำให้เมล็ด *Vanilla* งอกดีขึ้นและไม่งอกเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 เท่า เพราะความเข้มข้นของธาตุอาหารจะยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ (Pierik *et al.*, 1988) สูตรอาหารสังเคราะห์ประกอบด้วยสารเคมีและสารอินทรีย์แตกต่างกันไป กล่าวโดยสรุปองค์ประกอบของอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีส่วนประกอบหลักๆ ดังนี้คือ

1. น้ำ

คุณภาพของน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนขนาดใหญ่อาจใช้น้ำที่มีคุณภาพไม่สูงมากนัก แต่หากต้องการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนขนาดเล็กมากๆ หรือทำงานวิจัยจำเป็นต้องใช้น้ำที่มีคุณภาพสูงมาก เนื่องจากน้ำประปาซึ่งมีคุณภาพดีก็ยังมีคุณภาพต่ำเกินไปสำหรับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะมีสิ่งเจือปนอยู่ได้แก่ อนุมูลกรด เช่น ไบคาร์บอเนต ฟลูออไรด์ คลอดไรด์ และซัลเฟต อนุมูลเบส เช่น เหล็กแคลเซียม และโซเดียม อาจมีฝุ่นตะกอนของสนิมหรือแก๊ส เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนียและคลอรีนเป็นต้น ปกติห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิยมเตรียมน้ำเพื่อการวิจัยจากการขจัดไอออนร่วมกับการกลั่นอีก 1-2 ครั้ง การขจัดไอออนจะขจัดสารที่ไอออนไนซ์ได้ส่วนใหญ่ ขณะที่การกลั่นถูกต้องจะสามารถขจัดสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ จุลินทรีย์และสารปะปนที่อาจไอออไนซ์หรือไม่ไอออไนซ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้การกลั่นน้ำจะต้องทิ้งน้ำที่กลั่นได้ใน 30 นาทีแรกปล่อยให้ไอน้ำผ่านหนีออกไปได้บ้าง และต้องล้างเครื่องกลั่นอยู่เสมอ น้ำที่เตรียมได้นั้นต้องเก็บรักษาในภาชนะพลาสติก polythene หรือแก้วบอโรซิลิเกตที่ปิดสนิทเพื่อป้องกันการเปื้อนปนของตะกั่วและอาร์ซินิคจากขวดแก้วธรรมดา และแก๊สตลอดจนจุลินทรีย์จากบรรยากาศ (สุรวิช, 2547)

2. เกลือแร่อนินทรีย์

องค์ประกอบของเกลือแร่ในอาหารสังเคราะห์เป็นส่วนที่ได้รับความสนใจมากในการตัดสินใจเลือกใช้อาหารสูตรใดสูตรหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พืชต้องการเกลือแร่อนินทรีย์อย่างสม่ำเสมอในสภาพปลอดเชื้อเช่นเดียวกับในสภาพธรรมชาติ เกลือแร่ที่มีอยู่ในอาหารสังเคราะห์นั้นจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มคือ 1) มหธาตุ คือ ธาตุที่จำเป็นต่อพืชและต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ ไนโตรเจน (N) จะใช้ในรูปของ NH_4^+ หรือ NO_3^- ฟอสฟอรัส (P) ใช้ในรูป PO_4^+ โพแทสเซียม (K) ใช้ในรูปเกลือที่มี K^+ แคลเซียม (Ca) ใช้ในรูปของ $Ca_3(PO_4)_2$ แมกนีเซียม (Mg) ใช้ในรูป $MgCl_2$ หรือ $MgSO_4$ กำมะถัน (S) ถูกใช้ในรูปของเกลือซัลเฟตทั่วไป 2) จุลธาตุ คือ ธาตุที่จำเป็นต่อพืชแต่ต้องการในปริมาณน้อยมาก ได้แก่ แมงกานีส (Mn) ใช้ในรูปของ $MnSO_4$, $Mn(NO_3)_2$ หรือ $MnCl_2$ ทองแดง (Cu) ใช้ในรูปของ $CuSo_4$ เหล็กเป็นจุลธาตุที่จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ส่วนใหญ่ใช้ในรูปของ EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) เช่น NaFeEDTA หรือ $FeSO_4.7H_2O$ สังกะสี (Zn) ใช้ในรูปของ $ZnCl_2$ และ $ZnSO_4.H_2O$ โบรอน (B) ใช้ในรูป H_3BO_3 โมลิปดินั่ม (Mo) ใช้ในรูป Na_2MoO_4 หรือ MoO_3 คลอรีน (Cl) ใช้ในรูปเกลือคลอไรด์ (Arditti, 2008)

เซลล์พืชสามารถนำเอาธาตุอาหารไปใช้ได้ 2 วิธีคือ การแพร่ (diffusion) และการใช้พลังงานเพื่อดูดอาหารด้วยวิธี active uptake การนำธาตุอาหารเข้าสู่เซลล์ด้วยขบวนการแพร่นั้นทำให้อัตราการเติบโตของพืชขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือแร่ในอาหารเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง ขณะที่การนำธาตุอาหารเข้าสู่เซลล์ด้วย active uptake นั้นทำให้อัตราการเติบโตของพืชขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือแร่ในอาหารเมื่อเริ่มการเพาะเลี้ยงเท่านั้น ปกติแล้วธาตุอาหารต่างๆ ในอาหารสังเคราะห์นั้นจะถูกนำไปใช้ด้วยวิธี active uptake เป็นส่วนใหญ่ (สุรวิช, 2547)

ธาตุอาหารที่จำเป็นซึ่งใช้ในอาหารสังเคราะห์มีหน้าที่ต่างๆ ดังนี้

2.1 ไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน กรดนิวคลีอิค เอนไซม์ โคเอนไซม์ คลอโรฟิลล์ และสารประกอบสำคัญอื่น ๆ รวมประมาณ 18% นอกจากนี้ไนโตรเจนอาจอยู่ในรูปของแอมโมเนียมหรือไนเตรทอิสระอีกราว 10-20% ปกติในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นพืชดูดธาตุไนโตรเจนในรูปไนเตรทได้ดีกว่ารูปแอมโมเนียม ทำให้พืชสะสมไนโตรเจนในรูปกลูตามีนเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งขบวนการเปลี่ยนไนเตรทเป็นกลูตามีนนั้นมีโมลิบดินั่มเกี่ยวข้องด้วย ธาตุไนโตรเจนช่วยการเติบโตของส่วนยอด ทำให้การเติบโตของรากลดลง

2.2 ฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบของนิวคลีโอโปรตีน ฟอสฟอไลปิด NADP ATP phytic acid ซึ่งเป็น hexaphosphate ester ของ myo-inosital และไพรีดอกซอล ฟอสเฟต (pyridoxal phosphate) ปกติฟอสฟอรัสอยู่ในไซโทพลาสซึมและเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมเพียง 12% อีก 88% อยู่ในแวคิวโอล พืชที่ขาดฟอสฟอรัสจะมีสีเขียวเข้ม อัตราการหายใจต่ำ และหยุดการเจริญเติบโต ฟอสฟอรัสในปริมาณมากอาจเป็นพิษต่อพืชได้ ธาตุฟอสฟอรัสช่วยการเติบโตของรากและช่วยให้พืชดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมได้ดีขึ้นด้วย

2.3 โพแทสเซียม เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการมากรองจากไนโตรเจน แต่พืชก็เติบโตได้เป็นปกติเมื่อมีโพแทสเซียมเพียง 10 M ทั้งนี้ความต้องการโพแทสเซียมนั้นแตกต่างกันมากตามชนิดของพืช โพแทสเซียมมีความจำเป็นในกิจกรรมการสร้างภายในเซลล์ที่มีชีวิต เช่น กระบวนการสร้างและเคลื่อนย้าย

แป้งและน้ำตาล และจำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์แสงและกระบวนการหายใจ โดยเป็น enzyme activator เร่งการเกิดปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น ธาตุโพแทสเซียมช่วยให้พืชใช้ธาตุเหล็กได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยให้เซลล์สะสมน้ำได้มาก ปรับสมดุลของน้ำ ช่วยให้ลำต้นแข็งแรง มีผลต่อการสร้างกลิ่นและรสชาติ ช่วยในการแบ่งเซลล์ในราก

2.4 แคลเซียม เป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อต่างๆ และคลอโรพลาสต์ ช่วยสร้างผนังเซลล์ แบ่งเซลล์ และมีส่วนช่วยในการเคลื่อนที่ของน้ำภายในเซลล์ ปกติ 60% ของแคลเซียมในใบสะสมอยู่ในคลอโรพลาสต์ พืชที่ขาดแคลเซียมจะมีความผิดปกติในการแบ่งเซลล์ เช่น ทำให้เกิดโพลีพลอยด์ (polyploid) ยอดใหม่บิดเบี้ยวไม่แข็งแรง เกิดจุดดำที่ใบ ขอบใบเหลือง นอกจากนี้แคลเซียมยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับเอนไซม์และลดความเป็นพิษของทองแดงได้

2.5 แมกนีเซียม เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของคลอโรฟิลล์ และมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ไม่น้อยกว่า 14 ชนิด เนื่องจากแมกนีเซียมมีสภาวะปฏิปักษ์กับโพแทสเซียมแคลเซียมและแอมโมเนียม จึงทำให้อาจพบแมกนีเซียมอยู่ในปริมาณน้อยโดยอาจพบในรูปเกลือของกรด phytic บ้าง แต่แมกนีเซียมมีสภาวะเสริมกับฟอสฟอรัสโดยแมกนีเซียมทำให้พืชใช้ฟอสฟอรัสได้มีประสิทธิภาพขึ้น แมกนีเซียมช่วยให้เอนไซม์ที่ผลิตคาร์โบไฮเดรตต่างๆ น้ำตาสหลายชนิดและไขมันทำงานได้อย่างปกติ อาการของการขาดแร่ธาตุชนิดนี้จะทำให้เส้นใบของใบแก่มีสีเหลือง

2.6 กำมะถัน เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ cystine, cysteine และ methionine และโปรตีนที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้ เช่น วิตามินบี 1 ไบโอติน (biotin) โคเอนไซม์เอ (coenzyme A) และ ferredoxins ซึ่งเป็นโปรตีนในขบวนการสังเคราะห์แสงและเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน ปกติแล้วโปรตีนของพืชจะมีกำมะถัน 1 อะตอม ทุก ๆ ไนโตรเจน 36 อะตอม ดังนั้นพืชที่ขาดกำมะถันจะทำให้ขบวนการสร้างโปรตีนชะงักลงเช่นเดียวกับการขาดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส นอกจากนี้พืชที่ขาดกำมะถันยังมีคาร์โบไฮเดรตต่ำอีกด้วย ในลำต้นของพืชทั่วๆ ไปอาจมีปริมาณกำมะถันมากเป็น 2 เท่าของปริมาณฟอสฟอรัส

2.7 สังกะสี เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ carbonic anhydrase ซึ่งช่วยตรึงแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ tryptophane ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน (auxin) พืชอาจมีปริมาณสังกะสีสูงถึง 300 ppm

2.8 เหล็ก เป็นส่วนประกอบของโปรตีนหลายชนิดซึ่งมีบทบาทในขบวนการสังเคราะห์แสงและหายใจ เกี่ยวข้องกับทำงานของเอนไซม์ต่างๆ จำเป็นต่อยอดอ่อน ถ้าขาดเหล็กจะมีอาการเหลืองซีด เนื่องจากเหล็กมีส่วนเกี่ยวข้องกับ RNA ในคลอโรพลาสต์ด้วย ปกติพืชมีเหล็กอยู่ราว 10-100 ppm

2.9 โบรอน เป็นที่ต้องการของพืชแต่ละชนิดในปริมาณที่ต่างกันมาก โดยพืชใบเลี้ยงคู่มีความต้องการธาตุนี้สูงกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยวหลายเท่า โบรอนมีบทบาทในการสร้างในผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญ และการเคลื่อนย้ายน้ำตาลและฮอร์โมนต่างๆ ดังนั้นเมื่อพืชขาดโบรอนจะทำให้ผนังเซลล์แตกได้ง่าย เกิดการสะสมน้ำตาลในใบ ตายอดตาย ใบหนาผิดปกติ และทำให้ยอดเปราะหักง่าย ธาตุโบรอนนี้มีสภาวะเสริมกับธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียม และช่วยให้พืชใช้ธาตุแคลเซียมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปกติพืชมีโบรอนอยู่ราว 3-100 ppm

2.10 แมงกานีส มีบทบาทโดยตรงกับขบวนการสังเคราะห์แสง และเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ 4 ชนิด ซึ่งแมงกานีสหรือแมกนีเซียมทำงานแทนกันได้ การขาดแมงกานีสทำให้เกิดผลกระทบกับขบวนการสังเคราะห์แสงอย่างมาก ซึ่งมากกว่าการขาดธาตุเหล็กเนื่องจากแมงกานีสมีผลต่อการใช้ไนโตรเจนและเหล็กในพืช พืชอาจมีแมงกานีสสูงถึง 2,000 ppm การขาดแมงกานีสยังทำให้พื้นใบเขียวอ่อนแต่เส้นใบเขียวแก่หรือใบอ่อนขาวซีด และอาจทำให้ใบร่วง หรืออาจเกิดจุดดำใกล้กับเส้นใบก็ได้ แต่ถ้ามีธาตุนี้มากไปก็จะทำให้เป็นพิษ

2.11 ทองแดง เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ในโมโตคอนเดรีย และคลอโรพลาสต์ซึ่งมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง การหายใจ และการป้องกันตัวเองเมื่อพืชเกิดบาดแผลธาตุทองแดงยังช่วยให้พืชใช้ธาตุเหล็กได้ดีขึ้นด้วย ปกติพืชมีทองแดงอยู่ราว 10 ppm เท่านั้น การขาดจะทำให้ปลายยอดตาย เกิดจุดสีน้ำตาลที่ใบ แต่ถ้ามากเกินไปก็จะเกิดความเป็นพิษต่อพืชด้วยเช่นกัน

สำหรับธาตุอื่นๆ ในอาหารสังเคราะห์ซึ่งมีบทบาทบางประการกับการเจริญเติบโตของพืชคือ คลอรีน ซึ่งมีบทบาทในการสร้างน้ำตาล ซิลิกอน ซึ่งมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการใช้ฟอสฟอรัส แมงกานีสและเหล็ก โคบอล ซึ่งมีบทบาทเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ในขบวนการตรึงไนโตรเจน ไอโอดีน อลูมิเนียมและนิเกิล ซึ่งพบในพืชเพียงเล็กน้อยและเป็นพิษต่อพืชได้ง่าย

การใช้สูตรอาหารเก่าๆ เช่น สูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดของ Knudson (1946) นั้น ควรเติมจุลธาตุในอาหารดังกล่าวด้วย เนื่องจากอาหารสูตรเดิมได้จุลธาตุจากความไม่บริสุทธิ์ของสารเคมีในยุคนั้น แต่ในปัจจุบันสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความบริสุทธิ์สูง คือ คุณภาพชั้นห้องปฏิบัติการ (laboratory grade) ซึ่งบริสุทธิ์ 95% และคุณภาพชั้นวิเคราะห์ (analytical grade หรือ reagent grade) ซึ่งบริสุทธิ์ 99% จะใช้สารเคมีคุณภาพชั้นเภสัชกรรม (pharmaceutical grade หรือ USP grade) คุณภาพชั้นอุตสาหกรรม (industrial grade) หรือ คุณภาพชั้นปุ๋ย (fertilizer grade) ไม่ได้

อย่างไรก็ตามปริมาณของธาตุอาหารที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดความผิดปกติของพืชเนื่องจากธาตุอาหาร ซึ่งความผิดปกติของพืชเนื่องจากธาตุอาหารพืชมี 2 แบบคือ 1) เป็นพิษ (toxicities) พืชได้รับธาตุอาหารเกินกว่าที่จะทนได้ 2) ขาดแคลน (deficiencies) สามารถแบ่งเป็น 2 ระดับคือ ความเข้มข้นของธาตุในเนื้อเยื่อต่ำกว่าระดับวิกฤตเพียงเล็กน้อย พืชยังไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ เรียกว่าพืชนั้นอยู่ในสภาพซ่อนเร้นอาการ (hidden hunger) และการขาดแคลนธาตุอาหารระดับรุนแรง พืชจะแสดงอาการผิดปกติต่างๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะ สำหรับอาการผิดปกติที่สำคัญของพืชเมื่อเกิดอาการขาดแคลนหรือเป็นพิษจากธาตุอาหาร หรือความเครียดจากสิ่งแวดล้อม ได้แก่

คลอโรซิส (chlorosis) หรือภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ เป็นการตอบสนองของพืชต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต พืชมีอาการซีดเผือด (blanching) ของอวัยวะพืชที่ปกติมีสีเขียว โดยสีเขียวจะค่อยๆจางลงหรือหายไป กลายเป็นสีเขียวซีด สีเหลืองหรือสีขาว

เนโครซิส (necrosis) การตายของเซลล์ เนื้อเยื่อหรืออวัยวะของพืช เมื่อพืชได้รับความเครียดอย่างรุนแรงมาก กระบวนการทางชีวเคมีในเซลล์จะหยุดและไม่ฟื้นคืนอีก เซลล์ที่ตายจะมีสีน้ำตาลหรือดำ (ยงยุทธ, 2558)

3. แหล่งพลังงาน

น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นต่อเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้จำเป็นต้องใช้น้ำตาล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะแรกซึ่งยังไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ จึงต้องพึ่งแหล่งพลังงานจากภายนอก นอกจากนี้น้ำตาลยังช่วยรักษาระดับแรงดันออสโมติกอีกด้วย (Pierik, 1997) การเตรียมอาหารเลี้ยงกล้วยไม้ในปัจจุบันนิยมใช้น้ำตาลทรายเพราะหาง่ายและราคาถูก (จิตราพรรณ, 2550) น้ำตาลทรายขาวซึ่งก็คือน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ 99% โดยปกตินิยมใช้ในปริมาณ 1-5% การนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 ℃ นาน 15 นาที ทำให้น้ำตาลซูโครสเกิดไฮโดรไลซิสได้กลูโครสและฟรุคโตรสซึ่งพืชสามารถใช้ประโยชน์จากน้ำตาลทั้งสองชนิดได้ (Bhojwani and Razdan, 1983) นอกจากนี้ความเป็นกรด-เบส เอนไซม์จากพืช ยังช่วยให้น้ำตาลซูโครสในอาหารแตกตัวอีกด้วย อย่างไรก็ตามอัตราการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเลยจุดสูงสุดที่เหมาะสมไปการเจริญเติบโตก็จะลดลง นอกจากนี้น้ำตาลยังเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ โดยพบว่าเมล็ดของ *Paphiopedilum ciliolare* และลูกผสมชนิดอื่นๆ ในสกุลนี้จะไม่งอกเลยถ้าไม่มีน้ำตาล เนื่องจากเมล็ดต้องการแหล่งคาร์โบไฮเดรตจากภายนอกเมล็ดเพื่อเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้สำหรับการงอก (Lucke, 1971)

การใช้น้ำตาลซูโครส 2% ให้การเจริญเติบโตดีในกล้วยไม้สกุลหวายต่างๆ เช่น ต้นอ่อน *D. taurianum* (ขนิษฐา, 2517) และต้นอ่อน *Calanthe rosea* (Lindl.) Benth (สุลัคน์, 2546) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการใช้น้ำตาลซูโครส 1.0-1.5% ทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตดีได้ในต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* (Widiastoety and Bahar, 1995) โปรโตคอร์มของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* (จุฑามาส, 2549) ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ (*D. ochreatum* Lindl.) (แสงเดือน, 2549) โปรโตคอร์มของต้นอ่อนเอื้องผาเวียง (เหมวรรณ, 2556) และต้นอ่อนกล้วยไม้เพชรหึง (นันทิดา, 2556) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้น้ำตาลซูโครสมากกว่า 2% สามารถทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดี เช่น น้ำตาลซูโครส 6% ทำให้ต้น *D. nobile* มีน้ำหนักสดและความสูงต้นมากกว่าการเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 3% (Faria *et al.,* 2004)

การทดลองใช้น้ำตาลในการเพาะเลี้ยง PLBs ของกล้วยไม้พบว่าการใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่ำหรือไม่มีน้ำตาลซูโครสส่งผลดีต่อการเกิด PLBs ของ *Holttumara* (Teo and Wong, 1978) ยังพบว่า fructose ความเข้มข้นต่ำ ทำให้ PLBs กล้วยไม้สกุล *Aranda* เจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้ดี (Chia *et al.*, 1988) นอกจากนี้น้ำตาลซูโครส 0.5-1% ทำให้ PLBs กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte เพิ่มปริมาณและขนาดได้ดีกว่า maltose และ sorbitol ที่ 2% (ดวงพร, 2546) และน้ำตาลซูโครส 0.5% ทำให้ PLBs กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมมีขนาดเฉลี่ยมากกว่า PLBs ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 1% (ราฮีมา, 2549) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าน้ำตาลซูโครส 2% เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบและ PLBs ของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* สามารถเจริญเติบโตได้เร็วเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบ (Tanaka and Sakanishi, 1977) และน้ำตาลซูโครส 4% สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจาก PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Richard Shaffer ‘Santa Curz’ ได้ดีที่สุด (Ishii *et al.,* 1998) และทำให้ PLBs ของ *Epidendrum radicans* เพิ่มจำนวนมากขึ้นด้วย (Chen *et al.,* 2002)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสะสมในกล้วยไม้

เนื่องจากพืชใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานสำคัญในกระบวนการหายใจ และใช้เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์สารต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งสามารถแบ่งตามจำนวนโมเลกุลของน้ำตาลเป็น 3 ชนิด คือ โมโนแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์ และโพลีแซคคาไรด์ โดยโมโนแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีคาร์บอนตั้งแต่ 3-8 อะตอม โอลิโกแซคคาไรด์ เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ตั้งแต่ 2 โมเลกุลขึ้นไป เช่น ซูโครส มอลโตส ราฟฟิโนส เมลิซิโตส โดยซูโครสเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่สำคัญที่สุด ซึ่งพบปริมาณมากในเซลล์พืช ส่วนโพลีแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก ได้แก่ เซลลูโลสซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญของผนังเซลล์พืช และแป้งซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตสำรองที่มีมากที่สุดในพืช นอกจากนี้สามารถแบ่งคาร์โบไฮเดรตตามหน้าที่ได้ 2 กลุ่ม คือ คาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้าง (structural carbohydrate) เช่น เซลลูโลส กับคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ได้เป็นโครงสร้างหรือคาร์โบไฮเดรตที่พืชสะสมไว้เป็นอาหาร (non-structural carbohydrate) เช่น แป้ง อินนูลิน ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส เป็นต้น คาร์โบไฮเดรตในกลุ่มนี้เป็นแหล่งพลังงานที่พืชสะสมไว้ใช้ในการเจริญเติบโต โดยส่วนใหญ่แล้วจะเก็บสะสมในรูปแป้งในส่วนของกิ่ง เปลือก ราก ใบ เป็นต้น (Salisbury and Ross, 1992) สำหรับการเปรียบเทียบปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ได้อยู่ในรูปโครงสร้าง (total non-structural carbohydrate, TNC) ในใบและลำหน้าของกล้วยไม้หวายพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (ศรายุธ, 2554) อาจเนื่องจากอาหารสะสมถูกสร้างที่ใบและมีการเคลื่อนย้ายมาสะสมที่ลำของกล้วยไม้ จึงทำให้ทั้งสองส่วนมีอาหารสะสมในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน (Hew and Ng, 1996; Yong and Hew, 1995) นอกจากนี้ในลำลูกกล้วยในระยะที่เริ่มมีตาดอกของกล้วยไม้หวายโซเนียพันธุ์ BOM Joe และ BOM 17 พบว่ามี TNC สูงกว่าในระยะที่หน่อใกล้เจริญเติบโตเต็มที่แต่ยังไม่มีตาดอก และในระยะที่ตัดช่อดอกแล้วแต่ยังไม่มีตาดอกใหม่ (ศรายุธ, 2554)

4. สารประกอบอินทรีย์

สารประกอบอินทรีย์ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นหลัก นอกจากนี้ยังรวมถึงไนโตรเจนอินทรีย์ เช่น วิตามิน กรดอะมิโน น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม มันฝรั่ง ถ่านกัมมันต์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ด้วยเช่น ออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลิน (Arditti, 2008; Arditti and Pridgeon, 2013; Ernst, 1967; Knudson, 1946)

4.1 วิตามิน

วิตามินมีหน้าที่เป็น coenzyme ในขบวนการต่าง ๆ คือ วิตามินบี 1 (thiamine) ซึ่งจำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นเกี่ยวข้องกับการ decarboxylation ของอัลฟาคีโตแอซิด วิตามินบี 2 (riboflavin) เกี่ยวข้องกับการสร้าง FAD วิตามินบี 3 (nicotinic acid) เกี่ยวข้องกับการสร้าง NAD^+ และ $NADP^+$ วิตามินบี 5 (pantothenic acid) วิตามินบี 6 (pyridoxine) เกี่ยวข้องกับขบวนการเมแทบอลิซึมกรดอะมิโน กรดโฟลิค (folic acid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของวิตามินบี 10 และบี 11 (บางทีจัดแยกเป็นวิตามินเอ็ม) เกี่ยวข้องกับขบวนการเมแทบอลิซึมของสารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม วิตามินซี (ascorbic acid) มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งขบวนการ oxidation ไบโอติน (biotin) ซึ่งเคยถูกจัดเป็นวิตามินชนิดหนึ่ง (vitamin H) เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา carboxylation-decarboxylation และ อิโนซิทอล (inositol) ซึ่งเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ อาจถูกจัดเป็นวิตามินชนิดหนึ่งด้วย

พืชสามารถสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้แต่เซลล์พืชที่เลี้ยงในหลอดทดลองต้องการวิตามินเพิ่ม การตอบสนองของกล้วยไม้แต่ละชนิดต่อวิตามินหรือสารที่ใกล้เคียงกับวิตามินจะต่างกัน เพราะสรีรวิทยาของการงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แต่ละชนิดไม่เหมือนกัน (Arditti and Pridgeon, 2013) เช่น วิตามินบี 1 ช่วยให้เกิดแคลลัสที่เซลล์อัดตัวแน่น (compact callus) ช่วยให้แคลลัสเติบโตได้ดี และช่วยในการเติบโตของราก วิตามินบี 5 ร่วมกับ 2,4-D ทำให้เซลล์แยกตัวจากกันได้ง่ายเหมาะสำหรับการแยกเซลล์ วิตามินบี 6 เชื่อว่าช่วยในการเกิดราก วิตามินซีช่วยลดการผลิตสารประเภทฟีโนลิค (phenolic compound) ซึ่งทำให้เนื้อเยื่อตายได้และช่วยการแบ่งเซลล์ของพืชด้วย ไวโอตินช่วยในการสร้างคลอโรฟิลล์ และอิโนซิทอลแยกตัวเป็นวิตามินซีและเพคติน (pectin) แล้วถูกพืชนำไปใช้ในการแบ่งเซลล์ การเติมไบโอตินจำเป็นต่อการสร้างคลอโรฟิลล์ของ *Paphiopedilum* (Pierik, 1997)

4.2 กรดอะมิโน

แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์เช่นกรดอะมิโนนั้นถูกพืชนำไปใช้ได้ดีกว่าแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ โดยกลูตามีน (glutamine) เป็นกรดอะมิโนที่ถูกใช้อย่างแพร่หลายและแอสพาราจีน (asparagines) กรดอะมิโนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและทำให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงพร้อมที่จะเกิดเป็นต้นได้ การใช้กรดอะมิโนชนิดใดชนิดหนึ่งเดี่ยวๆ นั้นต้องกระทำอย่างระมัดระวังเนื่องจากเกิดผลทางลบได้ ดังนั้นจึงนิยมใช้กรดอะมิโนหลายๆ ชนิดร่วมกันโดยใช้สารที่ได้จากการย่อยโปรตีน เช่น เปปโตน (peptone) เป็นต้น กรดอะมิโนที่พบว่าช่วยการเจริญเติบโตของพืชได้แก่ L-arginine, L-aspartic acid, L-glutamic acid และ L-glutamine ทั้งนี้ L-serine ช่วยในการเกิดต้นแฮพลอยด์ (paploid) จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู ขณะที่ L-tyrosine มีส่วนสำคัญต่อการเกิดยอดจากแคลลัส กรดอะมิโนที่ใช้จะต้องเป็น L-form เท่านั้น สารที่ได้รับจากการย่อยโปรตีน เช่น เคซีนไฮโดรไลเซท (casein hydrolysate) 0.1-1.0 mg/l ทริปโตน (tryptone) 0.25-2.00 mg/l และสารสกัดจากมอลท์ (malt extract) 0.5-10 mg/l สารเหล่านี้ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโน ส่วนสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ซึ่งมีวิตามินบีสูงมักใช้ในปริมาณ 0.25-2.00 mg/l เป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ในอาหารสังเคราะห์สารเหล่านี้มีส่วนให้เนื้อเยื่อเจริญเติบโตได้ดีขึ้นกว่าปกติมาก (Arditti, 2008) แต่เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีองค์ประกอบที่ไม่แน่นอนจึงต้องเลือกใช้สารที่เตรียมโดยวิธีการและบริษัทเดียวกันตลอดงานทดลอง

4.3 น้ำมะพร้าวอ่อน

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีการใช้น้ำมะพร้าวอ่อนเป็นส่วนประกอบในอาหารกันอย่างแพร่หลายเนื่องจากน้ำมะพร้าวอ่อนมีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารต่างๆได้แก่ purine indole acetic acid รวมทั้งคาร์โบไฮเดรตหลายชนิดเช่น erythritol melezitose และ turanose และยังพบ myo-inositol และ sorbitol รวมทั้งมีไซโตไคนินเช่น zeatin และ zeatin riboside ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลหลายชนิด (Letham, 1974; Radley and Dear, 1958; Staden and Drewes, 1975) ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช ช่วยให้การงอกของเมล็ดกล้วยไม้หลายชนิดดีขึ้น ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ผิว (epidermal cell) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดของกล้วยไม้หลายชนิดและ

ส่งเสริมการเกิดและเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม นอกจากนี้ต้นที่ได้ก็จะพบอาการ necrotic ลดลงด้วย (Withner, 1974) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้น้ำมะพร้าวอ่อน 15% ทำให้ต้นกล้วยไม้ *Phalaenopsis* มีการเจริญเติบโตดี (Ernst, 1967) ทำให้ตายอดและตาข้างของ Vanda Miss Jouim พัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดี (Kunisaki *et al*., 1972) และชักนำให้ช่อดอกกล้วยไม้ *Phalaenopsis* เกิด PLBs และเกิดเป็นต้นอ่อนได้ (Intuwong and Sagawa, 1973) นอกจากนี้ยังทำให้ PLBs ของเอื้องบุษราคัมมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนและขยายขนาดเพิ่มมากขึ้น (สุจรรยา, 2539) และทำให้ PLBs ของกล้วยไม้ลูกผสม *Renanstylis* Hybrid พัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดี (ศิริพร, 2552) นอกจากนี้การใช้น้ำมะพร้าว 10% ทำให้เมล็ดกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีพัฒนาได้ดีขึ้น (Hegarty, 1955) และการใช้น้ำมะพร้าว 20% ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr มีน้ำหนักสดมากที่สุด ในขณะที่น้ำมะพร้าว 5-10% ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr มีความสูงมากที่สุด (สัจจพร, 2545) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการใช้น้ำมะพร้าว 0-45% กับกล้วยไม้สกุลหวาย พบว่าน้ำมะพร้าวจะไปชะงักการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแต่ไม่มีผลต่อการงอก เมื่อนำไปใช้กับลูกกล้วยไม้อายุ 1 ปีน้ำมะพร้าวจะไปเร่งการเจริญเติบโตให้เร็วขึ้น (Kotomori and Murashige, 1965) และการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายในระยะสุดท้ายก่อนนำออกจากขวดไม่จำเป็นต้องใส่น้ำมะพร้าวเนื่องจากไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต (อารีย์ และคณะ, 2545) นอกจากนี้ปริมาณน้ำมะพร้าวที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเพิ่ม PLBs จากตาข้างของกล้วยไม้เอื้องเงินแดง (*D. cariniferum* Rchb.f.) (อรรถพล, 2552) และน้ำมะพร้าวที่ 15-20% ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวน PLBs ของกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสม (ราฮีมา, 2549)

4.4 มันฝรั่ง

ในมันฝรั่งมีสารพวกโพลีเอมีนได้แก่ putrescine spermidine spermine และ biosynthetic enzymes เช่น arginine decarboxylase ornithine decarboxylase กระจายอยู่ในส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อมันฝรั่ง แต่ในช่วงที่หัวมันฝรั่งงอกจะพบสารนี้มากบริเวณยอด ซึ่งสารพวกนี้ทำให้เกิดการเพิ่มของกรดนิวคลีอิกและทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบ mitosis มากขึ้น รวมทั้งป้องกันการสลายของโปรตีนและคลอโรพลาสต์ (Kaur–Sawhney *et al*., 1980) การใส่มันฝรั่งในอาหารยังช่วยเพิ่มการงอกของเมล็ดกล้วยไม้และต้นอ่อนแข็งแรงมากขึ้น (Ernst, 1967) การใช้น้ำสกัดมันฝรั่ง 5% และ 10% ทำให้จำนวนยอดของ *Dendrobium nobile* เพิ่มขึ้น (Sudeep *et al.,* 1997) นอกจากนี้มันฝรั่งยังช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้งอกได้ดีขึ้นและต้นอ่อนจะมีความแข็งแรงมากขึ้น (Arditti, 2008)

4.5 กล้วย

เนื่องจากกล้วยหอมอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ thiamine riboflavin niacin วิตามินซีและแร่ธาตุจำนวนมาก เช่น แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียม แมกนีเซียม เป็นต้น อีกทั้งมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ที่ทำให้ pH ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก (Knudson, 1946) โดยเฉพาะธาตุเหล็กอยู่ในรูปที่กล้วยไม้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้และการเกิดรากได้ (Arditti, 2008) นอกจากนี้ในเนื้อกล้วยหอมยังประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งได้แก่ lysine, cysteine, methionine และ arginine (Arditti, 2008) ทั้งสารเร่งการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด เช่น GA_3, GA_7 (Khalifah , 1966)

เมื่อผลกล้วยสุกเต็มที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของแป้งเป็นน้ำตาลโดยแป้งลดลงจาก 20-30% เหลือเพียง 1-2% (Stover and Simmonds, 1987) การนึ่งอาหารที่ใส่กล้วยภายใต้ความดันและความร้อนสูงในสภาพเป็นกรดจะทำให้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกล้วยละลายน้ำได้ดีขึ้นทำให้ต้นกล้วยไม้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น (Arditti, 2008) นอกจากนี้พบว่ากล้วยหอมทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดีกว่ากล้วยชนิดอื่น (จิตราพรรณ, 2550) นอกจากนี้พบว่าการใช้เนื้อกล้วยหอมบด 2-15% ในอาหารสูตรต่างๆ ส่งเสริมการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้ *Cymbidium aurantiaca* (Arditti, 2008) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวาย (Kerbauy, 1993) ต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. nobile* (Sudeep *et al.,* 1997) ต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Cattleya* (Arditti, 1967) ต้นอ่อนของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* (Ernst, 1974) ต้นอ่อน *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr (สัจจพร, 2545) และโปรโตคอร์มของ *Phalaenopsis* Minho Valentine ‘Taisuco’ (จุฑามาส, 2549) อย่างไรก็ตามพบว่าไม่ควรใส่กล้วยหอมในอาหารที่ใช้เพาะต้นอ่อนของกล้วยไม้ *Paphiopedilum* เพราะทำให้ต้นอ่อนที่งอกไม่เจริญเติบโต (Ernst, 1974)

4.6 ผงถ่านกัมมันต์

ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) คือคาร์บอนที่ได้จากการเผาไหม้ภายใต้สภาพอุณหภูมิและความดันสูงมีธาตุคาร์บอนมากกว่า 98% ที่เหลือเป็นธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม มีลักษณะเป็นผงมีรูปร่างกลมหรือแบน ภายในอนุภาคของถ่านกัมมันต์มีช่องว่างและพื้นที่ผิวจำนวนมาก สามารถดูดซับสารต่างๆ ทั้งแก๊สของเหลวหรือสารที่ละลายน้ำได้โดยดูดยึดไว้ที่พื้นผิวหน้าของรูพรุนนั้น (Arditti, 2008) สามารถช่วยดูดซับสารพิษสีน้ำตาลซึ่งเป็นสารประกอบพวก phenol และ melanin รวมทั้งเอทิลีนซึ่งเป็นพิษกับเซลล์ รวมถึง growth hormone ต่างๆ อาจถูกผงถ่านกัมมันต์ดูดเข้าไปอยู่ในอนุภาคได้ มีรายงานว่าการใส่ผงถ่านกัมมันต์ในอาหารจะทำให้เกิดขบวนการ somatic embryogenesis ได้ดีขึ้น (Pierik, 1997) นอกจากนี้ยังช่วยรักษาระดับความเป็นกรด-เบสของอาหารไม่ให้เปลี่ยนแปลงไปมากนัก และยังช่วยให้อาหารทึบแสงจึงส่งเสริมการเติบโตแบบมีขั้ว (polar growth) ทำให้รากมีการเจริญเติบโตดีขึ้น ช่วยเพิ่มการระบายอากาศในอาหารได้ดีขึ้นด้วย (Arditti, 2008) นอกจากนี้ผงถ่านกัมมันต์ 0.2% ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเกิดรากของต้นกล้วยไม้ *Paphiopedilum* และ *Phalaenopsis* (Ernst, 1974) *Cymbidium lancifolium* (Kim and Lee, 1992) *Dendrobium* hybrids Sonia17 และ 28 (Martin and Madassery, 2006) นอกจากนี้โปรโตคอร์มของ *Phalaenopsis* Minho Valentine ‘Taisuco’ ที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 1% กล้วยหอม 2% และผงถ่าน 0.1% ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตมากที่สุดเท่ากับ 478.33 โดยโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นต้นได้ดีกว่าอาหารที่ไม่มีผงถ่าน (จุฑามาส, 2549)

5. สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น มีประสิทธิภาพสูงต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา โดยสารกลุ่มนี้เพียงเล็กน้อยอาจชะลอการเจริญเติบโต หรือกระตุ้นการพัฒนาของอวัยวะต่างๆ ของพืช (พีรเดช, 2537) สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นปัจจัยที่สำคัญมากสำหรับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แบ่งได้หลายกลุ่ม แต่ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ ได้แก่ ออกซิน และไซโตไคนิน (Arditti, 2008) สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เติมจากภายนอกจะต้องเกิดการสมดุลกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชจึงจะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชเกิดการเจริญไปในทิศทางที่ต้องการ จำเป็นต้องมีการทดลองเพื่อหาจุดสมดุล บทบาทของออกซินที่มีต่อเนื้อเยื่อที่เลี้ยง ได้แก่ ส่งเสริมให้เนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยงเกิดแคลลัส ยับยั้งการเกิดยอดแต่ส่งเสริมการเกิดราก และชักนำให้เนื้อเยื่อเกิด embryogenesis ในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปกติพืชสร้างออกซินได้มากที่ปลายยอดที่กำลังเติบโตและเนื้อเยื่อเจริญอื่นๆ ส่วนไซโตไคนินส่งเสริมการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดขณะที่ยับยั้งการเกิดราก เร่งให้ชิ้นส่วนของพืชเกิดหน่อเป็นจำนวนมากและช่วยส่งเสริมการเติบโตของใบ กระตุ้นให้เกิดแคลลัสเมื่อถูกใช้ร่วมกับออกซิน บทบาทของออกซินและไซโตไคนินรวมกัน มีผลทำให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อดีกว่าการใช้ออกซินหรือไซโตไคนินอย่างใดอย่างหนึ่ง (พรพิมล, 2545)

อย่างไรก็ตามมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มอื่นด้วยเช่น สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (plant growth retardants) สารกลุ่มนี้ไม่จัดเป็นฮอร์โมนพืช แต่เป็นสารสังเคราะห์ทั้งหมด มีคุณสมบัติสำคัญ คือยับยั้งการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของจิบเบอเรลลิน จึงมีผลลดการยืดตัวของเซลล์ทำให้ปล้องสั้น ทำให้มีการสร้างคลอโรฟิลล์ ใบหนาสีเขียวเข้ม มีการสะสมอาหารบริเวณโคนต้นและราก ช่วยให้มีการแตกกอได้ดี นอกจากนี้สามารถทำให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ร้อนจัด เย็นจัด ดินแห้ง เพิ่มผลผลิตพืชบางชนิด เพิ่มการติดผลของพืชบางชนิด (สมบุญ, 2548) สารชะลอการเจริญเติบโตที่สำคัญ ได้แก่ แอนซิมิดอล (ancymidol) คลอมีควอท (chlormequat) แดมิโนไซด์ (daminozide) พาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) ในงานวิจัยนี้ได้ใช้พาโคลบิวทราโซลในการทดลอง

พาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol; PBZ) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงช่วยเพิ่มความแข็งแรงของพืช จัดอยู่ในกลุ่ม triazole เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูง มีสูตรทางเคมีคือ $C_{15}H_{20}ClN_3O$ มีชื่อการค้าคือ PP 333 cultar และ clipper เป็นต้น สารนี้สามารถละลายได้ใน isopropanol 5%, methanol 15%, acetone 11%, dichloroethane 10% และ hexane 10% มีผลไปยับยั้งการสร้างหรือการทำงานของจิบเบอเรลลิน (พีรเดช, 2537; สมบุญ, 2548) โดยไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation จาก kaurene ไปเป็น kaurenoic acid ซึ่งมีผลในการลดการเจริญเติบโตของลำต้นโดยตรง ลดความสูงของต้นแต่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงและทำให้พืชมีใบหนา มีผลในการเพิ่มจำนวนคลอโรฟิลล์ต่อพื้นที่ใบ ทำให้ใบมีสีเขียวเข้ม (Sterrett, 1985) ช่วยเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ให้สูงขึ้นและมีสัดส่วนของคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีลดลงโดยส่งผลให้การสังเคราะห์ด้วยแสงเกิดได้ดีขึ้น (Huang *et al.*, 1995; Jingyang *et al*., 1992) ยังมีผลต่อการเพิ่มคาร์โบไฮเดรตในต้นอ่อน สารนี้เคลื่อนที่ได้ดีในท่อลำเลียงน้ำ (xylem)

เคลื่อนไปสู่ใบและตา แต่ไม่เคลื่อนที่ในท่ออาหาร (phloem) จึงมีการดูดซึมเข้าทางรากได้ดี สามารถทำให้ต้นอ่อนอยู่ในสภาพที่มีแสงน้อยได้ดีกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารนี้ เพิ่มความทนทานต่อสภาพการขาดน้ำ (Stang and Weis, 1984) สารนี้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนข้อขนาดใบ จำนวนดอก ขนาดดอก เป็นต้น โดยที่ลักษณะใดไม่ได้ถูกควบคุมโดยจิบเบอเรลลิน การใช้สารพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลกระทบกระเทือนต่อลักษณะนั้นด้วย (พีรเดช, 2537) พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางลำต้นขององุ่น โดยไม่เกิดผลเสียต่อผลผลิต คุณภาพผล และให้ได้ผลผลิตเร็วในพืชตระกูลส้ม (สมบุญ, 2548) นอกจากนี้พาโคลบิวทราโซล 1 ppm ทำให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้มีความแข็งแรงและเจริญเติบโตดีขึ้น มีการสะสมอาหารในลำลูกกล้วย ทำให้ลำลูกกล้วยมีขนาดใหญ่ (จิตราพรรณ, 2550) อย่างไรก็ตามมีการใช้ระดับความเข้มข้นของ PBZ แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สายพันธุ์ต่างๆ เช่น การทดลองใช้ PBZ 0.0001 ppm ทำให้กล้วยไม้เอื้องปากนกแก้วมีการเจริญเติบโตดีและแข็งแรง โดยให้ความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด (โกวิท, 2542) PBZ 0.1 ppm ทำให้ต้นกล้วยไม้สิงโตก้ามปูแดงมีน้ำหนักสด ความยาวรากและจำนวนรากดีที่สุด (ธันว์, 2546) PBZ 0.5 ppm ทำให้ต้นกล้าของกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์มีน้ำหนักสด ความกว้างใบ ความยาวรากและจำนวนรากต่อต้นสูงสุด (วัลยา, 2537) PBZ 1 ppm ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องพวงหยกมีน้ำหนักสดและจำนวนรากมากที่สุด แต่การไม่เติม PBZ ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ช้างกระมีน้ำหนักสด จำนวนราก ความยาวราก ความสูง จำนวนใบและขนาดของใบมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการเติม PBZ 0.1 และ 1 ppm (ศิริพร, 2552) PBZ 1 ppm ทำให้กล้วยไม้เอื้องผาเวียงเจริญเติบโตดีที่สุด และเมื่อออกปลูกในโรงเรือน อาหารที่มี PBZ 0.001-0.01 ppm ให้อัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดเท่ากับ 90-100% (สรัญญา, 2547) PBZ 0.01 ppm ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Calanthe rosea* (Lindl.) Benth มีค่าเฉลี่ยความสูงทรงพุ่มความยาวใบและความกว้างใบสูงสุด และ PBZ 1 ppm ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. sulcatum* Lindl. มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดต่อกอ ความยาวใบและจำนวนรากสูงสุด (สุลัคน์, 2546) นอกจากนี้ PBZ สามารถทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังย้ายปลูกในสภาพโรงเรือนของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องมัจฉาเหลือง *(D. griffithianum* Lindl.) เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นโดยที่ความเข้มข้น 0.1 ppm มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 64.44% (อัญชัน, 2544) อย่างไรก็ตาม PBZ 0.1 และ 1.0 ppm ทำให้กล้วยไม้เอื้องปากนกแก้วมีความสูงน้อยกว่า PBZ 0, 0.0001, 0.001 และ 0.01 ppm (โกวิท, 2542)

การเตรียมอาหาร

นอกเหนือจากองค์ประกอบที่กล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีปัจจัยที่ต้องคำนึงในการเตรียมอาหารอีก เช่น สภาพความเป็นกรด-เบส หรือค่า pH ของอาหารซึ่งมีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากส่งผลโดยตรงต่อสภาพทางฟิสิกส์ของอาหารและความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารของพืช ปกติควรอยู่ในช่วง pH 5.0-6.5 หากค่า pH ของอาหารต่ำหรือสูงกว่านี้ พืชจะหยุดการเจริญเติบโต ทั้งนี้อาจเนื่องจากธาตุอาหารบางชนิดตกตะกอนหรืออยู่ในรูปซึ่งไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช pH ที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ส่วนใหญ่อยู่ที่ 4.8-5.2 ส่วนช่วง pH 5.2-5.6 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ (Arditti, 2008; Pierik, 1997) เมื่อ pH ต่ำกว่า 4.5 หรืออาหารมีสภาพ

ความเป็นกรด จะยับยั้งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้โดยทำให้ดูดซับธาตุอาหารได้น้อยลง วุ้นอ่อนตัวไม่เหมาะในการพยุงเนื้อเยื่อพืชและเกลือโลหะตกตะกอน ทำให้ IAA GA วิตามินบี 1 และวิตามินบี 5 ไม่เสถียร เกลือของเหล็กและฟอสเฟตตกตะกอน และการดูดใช้แอมโมเนียลดลง แต่ถ้า pH สูงกว่า 6 จะทำให้อาหารกึ่งแข็งมากเกินไป พืชดูดซับธาตุอาหารได้ไม่ดี โดยปกติค่า pH ของอาหารก่อนและหลังการนึ่งฆ่าเชื้อจะต่างกันโดยอาหารวุ้นจะมีค่า pH ลดลงราว 0.2-0.5 หน่วย ขณะที่อาหารเหลวจะมีค่า pH เพิ่มขึ้นราว 0.2 หน่วย นอกจากนี้ค่า pH ของอาหารยังเปลี่ยนไปเมื่อตั้งอาหารทิ้งไว้ด้วย การเพาะเลี้ยงพืชในอาหารก็สามารถทำให้ค่า pH ของอาหารลดลงจนอาหารเหลวได้ (สุรวิช, 2547) นอกจากนี้ในการเลือกใช้ผงวุ้นหรือสารที่ทำให้เกิดเจลแต่ละชนิดก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชด้วย เนื่องจากสารที่ทำให้เกิดเจลแต่ละชนิดมีองค์ประกอบและคุณสมบัติบางประการแตกต่างกันซึ่งส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย เช่น Phytagel เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จาก *Pseudomonas elodea* จึงมีความบริสุทธิ์มากกว่า Agar ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีแดงหลายชนิด ซึ่งมักจะพบว่ามีแร่ธาตุต่างๆ ปนอยู่ด้วยหลายชนิด เช่น ash, calcium, magnesium, silica (ศิวพงศ์, 2546; Teixeira da Silva *et al*., 2006; Arditti, 2008) สำหรับ agarose ซึ่งมีความบริสุทธิ์สูงมากนิยมใช้กับเนื้อเยื่อที่ต้องการความบริสุทธิ์ของอาหารอย่างมาก เช่น การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ นอกจากนี้ยังมีสารทำให้เกิดเจลชนิดอื่นอีก ได้แก่ alginate polymer สังเคราะห์ เช่น biogel P200 สารจาก cellulose crystallite aggregate (CCA) แป้ง และ Gelrite ซึ่งเป็น polysaccharide ที่ประกอบด้วย glucuronic acid, rhamnose, glucose และ moieties เนื่องจาก Gelrite ต้องการเกลือซึ่งมีอนุมูลเบสชนิด bivalent เพื่อให้เกิดการแข็งตัว ดังนั้นความเข้มข้นของ Gelrite ที่ใช้จึงขึ้นกับสูตรอาหารที่เตรียมด้วย ทั้งนี้การใช้ Gelrite มักเจือจางกว่าการใช้วุ้นไม่น้อยกว่า 50% ซึ่งปกติใช้ Gelrite เพียง 0.2% แม้ Gelrite มีความบริสุทธิ์สูงมาก เนื้อเยื่อพืชหลายชนิดเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอาหารที่ใช้วุ้น ถ้าต้องการใช้อาหารเหลวเพื่อให้เนื้อเยื่อพืชดูดใช้สารต่างๆ ซึ่งเป็นองค์ประกอบอาหารมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถใส่ใยแก้ว สำลี กระดาษกรองพับตลอดจนลูกแก้วลงในอาหารเพื่อใช้พยุงเนื้อเยื่อให้ได้รับอากาศอยู่เหนืออาหาร อย่างไรก็ตามอาหารเหลวอาจถูกใช้ควบคู่กับการใช้เครื่องเขย่าหรือไม่ก็ได้ เนื่องจากอากาศละลายในน้ำได้ถึงระดับลึก 1.5 ซม. (สุรวิช, 2547) ในการใช้อาหารเหลวหรืออาหารวุ้นซึ่งมีความแข็งน้อยจะต้องกระทำอย่างระมัดระวัง และการเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องใส่วุ้นในปริมาณที่เหมาะสม ถ้าปริมาณวุ้นมากเกินไปก็จะทำให้อาหารมีสภาพแข็งเกินไป ทำให้พืชดูดสารอาหารได้น้อย ส่งผลให้พืชไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร (Pierik, 1997)

นอกจากนี้ปริมาณของอาหารก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงเช่นกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง หากใส่อาหารน้อยเกินไปจะทำให้อาหารเป็นปัจจัยที่จำกัดการเจริญเติบโตของพืช ต้องเปลี่ยนอาหารบ่อย แต่หากใส่อาหารมาก ช่องว่างสำหรับให้พืชเติบโตและปริมาตรอากาศภายในภาชนะจะเป็นปัจจัยที่จำกัดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเช่นกัน (สุรวิช, 2547) ดังนั้นจึงควรทดลองดูก่อนว่าควรใช้อาหารปริมาณเท่าไหร่จึงเหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชนั้น

กล้วยไม้แต่ละชนิดต้องการองค์ประกอบของอาหารที่แตกต่างกัน อายุ ชิ้นเนื้อเยื่อ ระยะการเติบโตของกล้วยไม้ และลักษณะการเติบโตที่ต้องการก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงในการเลือกสูตรอาหารด้วย สูตรอาหารสังเคราะห์แต่ละสูตรประกอบด้วยสารประกอบต่างๆ เป็นจำนวนมากและปริมาณสารประกอบบางชนิดก็น้อยมากจนการชั่งอาจผิดพลาดได้ง่าย จึงมีบริษัทสารเคมีบางแห่งเช่น Sigma, Flow Lab และ Gibco ผลิตอาหารสำเร็จรูปบรรจุซองจำหน่ายเพื่อให้สะดวกในการเตรียมอาหาร แต่อาหารพวกนี้มีราคาแพง จึงเหมาะกับการทำงานอดิเรกเท่านั้น ห้องปฏิบัติการทั่วไปจะเตรียมอาหารจากสารบริสุทธิ์โดยการชั่งสารทุกชนิดแต่ปริมาณของสารซึ่งเป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารส่วนใหญ่น้อยจนไม่สะดวกในการชั่งและมีโอกาสชั่งผิดพลาดได้ง่าย ประกอบกับการชั่งแต่ละครั้งสิ้นเปลืองเวลามาก ปกติจึงมักชั่งสารเคมีคราวละมากๆ เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) ไว้ แล้วจึงตวงมาใช้เตรียมอาหารเป็นครั้งๆ ไป ทำให้ไม่สิ้นเปลืองเวลาและเตรียมอาหารได้ไม่ผิดพลาด การเตรียมสารละลายเข้มข้นนั้นต้องแบ่งสารเคมีออกเป็นกลุ่มๆ เพื่อละลายรวมไว้ด้วยกัน การแบ่งสารเคมีนั้นต้องทำอย่างถูกต้องเพื่อป้องกันการตกตะกอน เนื่องจากปฏิกิริยาเคมีระหว่างองค์ประกอบของอาหารที่อยู่ในสภาพเข้มข้น 10-200 เท่าของอาหารเพาะเลี้ยง นอกจากนี้สารประกอบหลายชนิดต้องละลายในตัวทำลายอื่นที่ไม่ใช่น้ำ เช่น Ca_3 (PO_4) อาจต้องละลายในกรด HCL หรือ KNO_3 เจือจาง (สุรวิช, 2547) สารละลายเข้มข้นที่เตรียมนี้ต้องเก็บไว้ในขวดสีชาเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี และต้องคำนึงถึงการป้องกันการเปื้อนปนของจุลินทรีย์ เนื่องจากองค์ประกอบของสารละลายเข้มข้นแต่ละขวดเป็นอาหารที่ดีของจุลินทรีย์ ขวดสารละลายเข้มข้นจึงต้องถูกเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-4 ^{0}ซ. เพื่อลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งอาจปลดปล่อยสารพิษ (pyrogen) ที่ไม่อาจถูกทำลายได้ด้วยการนึ่งอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารละลายเข้มข้นของสารอินทรีย์เหล่านั้นจำเป็นต้องเก็บแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 ^{0}ซ. ไว้ตลอดเวลา หากพบว่ามีจุลินทรีย์เติบโตอยู่ในสารละลายเข้มข้นขวดใดก็จะต้องเตรียมสารละลายนั้นใหม่ เพราะสารละลายที่มีจุลินทรีย์เติบโตอยู่จะมีปริมาณเกลือแร่หรือสารอินทรีย์ผิดไปจากเดิม นอกเหนือจากการมีสารพิษปนเปื้อน ซึ่งเป็นการเสียเวลาและค่าใช้จ่ายอีกด้วย บางกรณีอาจนึ่งฆ่าเชื้อหรือต้มสารละลายเข้มข้นก่อนเก็บรักษา เหล่านี้จึงเป็นที่มาของการพัฒนาสูตรอาหารอย่างง่ายและมีองค์ประกอบไม่ซับซ้อนที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือดีกว่าสูตรอาหารที่ใช้กันในปัจจุบัน เปรียบเทียบสูตรอาหารต่างๆ ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้กับการใช้ปุ๋ยเพื่อทดสอบว่าการใช้สารเคมีในรูปของปุ๋ยที่มีขายทั่วไปในตลาดสามารถทดแทนสารเคมีชนิด analytical grade ได้หรือไม่ ซึ่งเป็นการช่วยลดระยะเวลา ลดต้นทุนและค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหาร

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1.1 พืชทดลอง ฝักกล้วยไม้อายุฝัก 3 เดือน ได้แก่

กล้วยไม้สกุลสายพันธุ์แท้

- *D. antennatum*
- *D. discolor*
- *D. phalaenopsis*

กล้วยไม้สกุลสายพันธุ์ลูกผสม

- *D.* Fleischeri (*D. antennatum x D. bigibbum*)
- *D.* Judy Rutz (*D. antennatum x D. phalaenopsis*)
- *D.* Suree Peach

1.2 สารที่ใช้เตรียมอาหาร

สารเคมีที่ใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ (ภาคผนวก ก) ได้แก่

- Knudson C, 1946 (KC)
- Vacin and Went, 1949 (VW)
- Murashige and Skoog, 1962 (MS)

สูตรอาหารปุ๋ยต่างๆ ได้แก่

- ปุ๋ย Hyponex® (6.5-6-19) HYPONEX JAPAN CORP., LTD. ประเทศญี่ปุ่น
- ปุ๋ยเคมีติวเตอร์® (6-32-32) บริษัท ไบเมท จำกัด ประเทศไทย
- ปุ๋ยเคมีไบโอเมอร์® (7-24-34) บริษัท แอพพลายเค็ม จำกัด ประเทศไทย
- ปุ๋ยเคมีนูตราฟอส® (7-13-34) บริษัท โซตัสอินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ประเทศไทย
- ปุ๋ยเคมีเมก้าเฟอร์® (10-20-30) บริษัท เมก้าคร็อพ จำกัด ประเทศไทย
- ปุ๋ยเคมีโพลีน® (10-52-17) บริษัท บลอสซั่มส์ จำกัด ประเทศไทย

สารอินทรีย์ที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่

- น้ำต้มมันฝรั่ง
- กล้วยหอม
- น้ำมะพร้าว
- นมสด จากโคนม
- นมผง (Carnation®) บริษัท เนสท์เล่ จำกัด ประเทศไทย
- นมถั่วเหลืองชนิดผง (Ovaltine Nature Select Soy®) บริษัท เอบี ฟู้ด แอนด์ เบฟเวอร์เรจส์ จำกัด ประเทศไทย
- Peptone (Criterion®) Hardy Diagnostics, USA

1.3 สารเคมีที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่

- โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Clorox) The Clorox Company ประเทศไทย
- แอลกอฮอล์ 70%
- แอลกอฮอล์ 95%
- Tween-20

1.4 สารควบคุมการเจริญเติบโต Paclobutrazol (PBZ), Sigma-Aldrich (Thailand)

1.5 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ TNC (ภาคผนวก ข)

1.6 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในกระบวนการสังเคราะห์แสง (ภาคผนวก ข)

1.7 วัสดุอุปกรณ์ห้องเตรียมอาหาร

- เครื่องชั่ง (Balance) บริษัท เมทเล่อร์-โทเลโด (ประเทศไทย) จำกัด
- ช้อนตักสารเคมี (Spatula)
- เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) Suntex Instruments Co., Ltd.
- เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (Hot plate and Magnetic stirrer) ยี่ห้อ Jenway
- เตาไมโครเวฟ (Microwave oven) ยี่ห้อ SAMSUNG
- ตู้เย็น (Refrigerator) ยี่ห้อ HITACHI
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ยี่ห้อ WiseClave
- เครื่องแก้วต่างๆ เช่น ขวด (Bottle) ขนาดต่างๆ, ขวดรูปชมพู่ (Flask), ปิเปต (Pipette), กรวยแก้ว (Funnel) และแท่งแก้วคน เป็นต้น

1.8 วัสดุอุปกรณ์ห้องย้ายเนื้อเยื่อ

- ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar air-flow cabinet)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- จานแก้ว (Petri dish)
- มีดผ่าตัด (Knives and scalpel)
- ปากคีบ (Forcep)

1.9 วัสดุอุปกรณ์ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- เครื่องปรับอากาศ
- ชั้นสำหรับวางขวดเนื้อเยื่อ
- หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Philips ®) 36 วัตต์
- ตัวตั้งเวลา (Timer)

1.10 วัสดุอุปกรณ์ในการวิเคราะห์ผล

- กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) OLYMPUS (THAILAND) CO.,LTD
- กล้องถ่ายรูปและขาตั้งกล้อง
- กระดาษและเครื่องเขียน
- เครื่องพิมพ์
- เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ (SPSS Statistics 17.0) โปรแกรมวิเคราะห์ภาพ (Photoshop) โปรแกรม Microsoft Office

2. วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์

แบ่งการทดลองตามระยะการเติบโตของกล้วยไม้เป็น 3 ระยะดังนี้

การทดลองที่ 1.1 การเพาะเมล็ด นำฝักของกล้วยไม้อายุฝัก 3 เดือน มาทำความสะอาดตามวิธีของกุลนาถและสุนทรี (2556) แบ่งเป็น 2 การทดลองคือ

การทดลองที่ 1.1.1 ศึกษาผลของสูตรอาหารเหลวต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

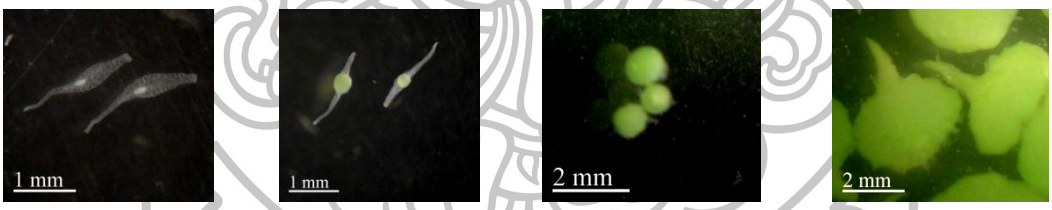
นำเมล็ด *D. antennatum*, *D.* Fleischeri, *D.* Judy Rutz ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ใส่เมล็ดลงในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ ดูดน้ำกลั่นที่มีเมล็ดแขวนลอยอยู่ 1 มิลลิลิตรไปเพาะในอาหารเหลว 4 สูตรคือ T1 Hyponex 0.35% (w/v) + peptone 0.20% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v)

T2 KC + sucrose 2.0% (w/v)

T3 VW + sucrose 2.0% (w/v)

T4 MS + sucrose 3.0% (w/v)

ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 100 เมล็ด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสดและเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่มีการพัฒนาที่ระยะต่างๆ โดยนำเมล็ดมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ



ระยะ 0 (a) No germination | ระยะ 1 (b) Enlarged embryo | ระยะ 2 (c) Globular embryo | ระยะ 3 (d) Appearance of protomeristem

รูปที่ 1 พัฒนาการของเมล็ดในระยะต่างๆ

การประเมินพัฒนาการของเมล็ดในระยะต่างๆ เปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอก (Pierik *et al*., 1988) ดังสมการ

เปอร์เซ็นต์เมล็ดที่พัฒนาในระยะใดๆ $= \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่พัฒนาในระยะนั้น x 100}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}}$

เปอร์เซ็นต์การงอก (Germination percentage) $= \frac{(b+c+d)\ x\ 100}{a+b+c+d}$

ดัชนีการงอก (Germination index) $= \frac{(1b+2c+3d)x\ 100}{a+b+c+d}$

การทดลองที่ 1.1.2 ศึกษาผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งและอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach

นำฝักของกล้วยไม้ *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach อายุฝัก 3 เดือนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว หลังจากนั้นนำเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร ได้แก่ อาหารสังเคราะห์ Hyponex 0.35% (w/v) ที่มี sucrose 2.0% (w/v), MS ที่มี sucrose 3.0% (w/v), KC ที่มี sucrose 2.0% (w/v) และ VW ที่มี sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์เปปโตน น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำมะพร้าว และกล้วยหอม โดยอาหารทุกสูตรเติม Phytagel 0.20% (w/v) และ activated charcoal 0.05% (w/v)

T1 ไม่เติมอาหารเสริมอินทรีย์
T2 เปปโตน 0.20% (w/v)
T3 น้ำต้มมันฝรั่ง 10% (w/v)
T4 น้ำมะพร้าว 15% (v/v)
T5 กล้วยหอม 10% (w/v)

ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 100 เมล็ด เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด เปอร์เซ็นต์เมล็ดที่มีการพัฒนาที่ระยะต่างๆ และดัชนีการงอก

บันทึกลักษณะของการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม ดังนี้

ลักษณะของการเจริญเติบโต	คะแนน	จำนวนที่พบ
เมล็ดไม่มีการงอก	0	a
โปรโตคอร์มมีสีน้ำตาล (ตาย)	1	b
โปรโตคอร์มมีสีขาว (ตาย)	1	c
โปรโตคอร์มเป็นก้อนกลมขนาดเล็ก 1 มม. สีเขียว	2	d
โปรโตคอร์มเป็นก้อนกลมขนาดใหญ่ 2 มม. สีเขียว	3	e
ต้นกล้ามีใบอย่างน้อย 1 ใบ แต่ไม่มีราก	4	f
ต้นกล้ามีใบ 2 ใบ มีรากอย่างน้อย 1 ราก	5	g

การประเมินพัฒนาการของเมล็ดในระยะต่างๆ และดัชนีการงอก (Pierik *et al*., 1988) ดังสมการ

เปอร์เซ็นต์เมล็ดที่พัฒนาในระยะใดๆ $= \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่พัฒนาในระยะนั้น x 100}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}}$

ดัชนีการงอก (Germination index) $= \frac{(b+c+2d+3e+4f+5g)\ x\ 100}{a+b+c+d+e+f+g}$

การทดลองที่ 1.2 การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม

การทดลองที่ 1.2.1 ศึกษาผลของอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*

นำโปรโตคอร์มของ *D. discolor* ในสภาพปลอดเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง 6 สูตร คือ Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ ได้แก่ นมผง (Carnation®) นมถั่วเหลืองชนิดผง (Ovaltine Nature Select Soy®) น้ำต้มมันฝรั่ง และเปปโตน ที่เติม activated charcoal 0.05% (w/v), Phytagel 0.20% (w/v) และ sucrose 2.0% (w/v)

T1 Hyponex 0.35% (w/v)

T2 Hyponex 0.35% (w/v) + milk powder 0.20% (w/v)

T3 Hyponex 0.35% (w/v) + organic soy powder 0.20% (w/v)

T4 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v)

T5 Hyponex 0.35% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)

T6 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)

ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 5 โปรโตคอร์ม เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก ความสูงของต้นและความยาวของราก

การทดลองที่ 1.2.2 ศึกษาผลของสูตรอาหารและอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*

นำโปรโตคอร์มของ *D. discolor* ในสภาพปลอดเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.2

ทำการทดลอง 5 ซ้ำๆละ 30 โปรโตคอร์ม เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน บันทึกผลโดยวัดเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต น้ำหนักสดของต้น น้ำหนักสดของโปรโตคอร์ม จำนวนต้นต่อกอ ความสูงของต้นและความยาวของราก

การทดลองที่ 1.3 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง

การทดลองที่ 1.3.1 ศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Fleischeri

นำต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับ activated charcoal 0.05% (w/v) และ Phytagel 0.20% (w/v) ที่เติม sucrose 0, 2, 3, 4, และ 6% (w/v)

T1 Hyponex 0.35% (w/v)

T2 Hyponex 0.35% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v)

T3 Hyponex 0.35% (w/v) + sucrose 3.0% (w/v)

T4 Hyponex 0.35% (w/v) + sucrose 4.0% (w/v)

T5 Hyponex 0.35% (w/v) + sucrose 6.0% (w/v)

ทำการทดลอง 20 ซ้ำๆละ 1 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก ความสูงของต้นและความยาวของราก

การทดลองที่ 1.3.2 ศึกษาผลของอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz

นำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง 7 สูตร คือ Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ ได้แก่ นมสด นมผง (Carnation®) นมถั่วเหลืองชนิดผง (Ovaltine Nature Select Soy®) น้ำต้มมันฝรั่ง และเปปโตน ที่เติม activated charcoal 0.05% (w/v), Phytagel 0.20% (w/v) และ sucrose 2.0% (w/v)

T1 Hyponex 0.35% (w/v)

T2 Hyponex 0.35% (w/v) + milk 150 ml/l

T3 Hyponex 0.35% (w/v) + milk powder 0.20% (w/v)

T4 Hyponex 0.35% (w/v) + organic soy powder 0.20% (w/v)

T5 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v)

T6 Hyponex 0.35% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)

T7 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)

ทำการทดลอง 20 ซ้ำๆละ 1 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก ความสูงของต้นและความยาวของราก

การทดลองที่ 1.3.3 ศึกษาผลของสูตรอาหารและอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

นำต้นกล้วยไม้ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1.2

ทำการทดลอง 5 ซ้ำๆละ 6 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น ความสูงของต้นและความยาวของราก

การทดลองที่ 1.3.4 ศึกษาผลของปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

นำกล้วยไม้ *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งร่วมกับปุ๋ยต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ย Hyponex ® ปุ๋ยเมก้าเฟอร์ ® ปุ๋ยนูตราฟอส ® ปุ๋ยติวเตอร์ ® ปุ๋ยไบโอเมอร์ ® และปุ๋ยโพลีน ® ที่เติม activated charcoal 0.05% (w/v), Phytagel 0.20% (w/v) และ sucrose 2.0% (w/v)

T1 ปุ๋ย Hyponex ® (6.5-6-19) 0.35% (w/v)
T2 ปุ๋ยเมก้าเฟอร์ ® (10-20-30) 0.35% (w/v)
T3 ปุ๋ยนูตราฟอส ® (7-13-34) 0.35% (w/v)
T4 ปุ๋ยติวเตอร์ ® (6-32-32) 0.35% (w/v)
T5 ปุ๋ยไบโอเมอร์ ® (7-24-34) 0.35% (w/v)
T6 ปุ๋ยโพลีน ® (10-52-17) 0.35% (w/v)

ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 2 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน บันทึกผลโดยวัดเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น ความสูงของต้นและความยาวของราก

ตอนที่ 2 อาหารเหลวและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

แบ่งเป็น 3 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นเปรียบเทียบกับอาหารเหลวต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D. discolor* ในหลอดทดลอง

นำต้นกล้วยไม้ *D. discolor* ความสูงเฉลี่ย 0.5 และ 1.0 ซม. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมมาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด Phytagel 0.20% (w/v), Agar 0.55% (w/v) และ HiMedia-CleriGar 0.35% (w/v)

T1 VW + Phytagel 0.20% (w/v)

T2 VW + Agar 0.55% (w/v)

T3 VW + HiMedia-CleriGar 0.35% (w/v)

T4 VW liquid

ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 4 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นเปรียบเทียบกับอาหารเหลวต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่เคยและไม่เคยได้รับ PBZ มาก่อนในหลอดทดลอง

นำต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex และต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน ความสูงเฉลี่ย 0.5 และ 1.0 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด Phytagel 0.20% (w/v), Agar 0.55% (w/v) และ HiMedia-CleriGar 0.35% (w/v) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 4 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก

การทดลองที่ 2.3 ศึกษาผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นเปรียบเทียบกับอาหารเหลวต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ที่ได้รับ PBZ มาก่อน ในหลอดทดลอง

นำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน ความสูงเฉลี่ย 0.5 และ 1.0 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด Phytagel 0.20% (w/v), Agar 0.55% (w/v) และ HiMedia-CleriGar 0.35% (w/v) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 4 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก

ตอนที่ 3 ศึกษาผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

การทดลองที่ 3.1 ศึกษาผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดรากและไม่ตัดราก เป็นระยะเวลา 2 เดือน

นำต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่ตัดรากและไม่ตัดราก (ความยาวรากเฉลี่ย 1.5 ซม.) ความสูงเฉลี่ย 2.0 ซม. มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm

ทำการทดลอง 20 ซ้ำๆละ 5 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนราก

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดรากและไม่ตัดราก เป็นระยะเวลา 8 เดือน

นำต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่ตัดรากและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ที่เติมหรือไม่เติม PBZ 0.5 ppm และ sucrose 2.0% (w/v) เป็นระยะเวลา 2 เดือน (จากการทดลองที่ 3.1) มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน โดยมีชุดควบคุม คือ ต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ ตลอด 8 เดือน

ทำการทดลอง 20 ซ้ำๆละ 5 ต้น บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก ความสูงของต้น และวิเคราะห์ปริมาณอาหารสะสม (TNC)

การทดลองที่ 3.3 ศึกษาผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม.

นำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่ไม่ตัดราก ความสูงเฉลี่ย 2.0 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม.มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน

ทำการทดลอง 20 ซ้ำๆละ 5 ต้น บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนราก ความสูงของต้น และวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในกระบวนการสังเคราะห์แสงกับปริมาณอาหารสะสม (TNC)

ตอนที่ 4 การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง

การทดลองที่ 4.1 ศึกษาผลของ PBZ ต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

นำตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 5 ตา เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้น

การทดลองที่ 4.2 ศึกษาผลของสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้ *D.* Fleischeri

นำตาข้างของกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหาร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด phytagel 0.20% (w/v), Agar 0.55% (w/v) และ HiMedia-CleriGar 0.35% (w/v) เปรียบเทียบอาหารเหลวที่เขย่า 120 รอบต่อนาทีและไม่เขย่า ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 3 ตา เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก ความสูงต้น และความยาวราก

T1 VW + phytagel 0.20% (w/v)
T2 VW + Agar 0.55% (w/v)
T3 VW + HiMedia-CleriGar 0.35% (w/v)
T4 VW (liquid) ไม่เขย่า
T5 VW (liquid) เขย่า

การทดลองที่ 4.3 ศึกษาผลของปริมาตรของอาหารเหลวและจำนวนตาข้างต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Fleischeri

นำตาข้าง *D.* Fleischeri ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน จำนวน 1 และ 5 ตาข้างต่อขวด มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ปริมาตรของอาหารเหลวต่อขวดเท่ากับ 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ทำการทดลอง 10 ซ้ำ บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด จำนวนต้น จำนวนรากและความสูงต้น

T1 อาหารเหลวปริมาตร 5 มิลลิลิตร
T2 อาหารเหลวปริมาตร 10 มิลลิลิตร
T3 อาหารเหลวปริมาตร 15 มิลลิลิตร
T4 อาหารเหลวปริมาตร 20 มิลลิลิตร

การทดลองที่ 4.4 ศึกษาผลของอาหารเหลวสูตรต่างๆ น้ำตาลซูโครสและระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

นำตาข้าง *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรต่างๆ (ปุ๋ยนูตราฟอส 0.35% (w/v), Hyponex 0.35% (w/v), VW และน้ำ) ที่มีและไม่มี sucrose 2.0% (w/v) โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 5 ตา บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนราก

T1 ปุ๋ยนูตราฟอส 0.35% (w/v)
T2 Hyponex 0.35% (w/v)
T3 VW
T4 Water

การทดลองที่ 4.5 ผลของระยะเวลาในการเปลี่ยนจากอาหารเหลวและน้ำเป็นอาหารกึ่งแข็งต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz

นำตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่ได้จากอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับ PBZ 1 ppm ขนาด 0.5 ซม. มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เปรียบเทียบกับน้ำ เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอม 10% (w/v) sucrose 2.0% (w/v) และ activated charcoal 0.05% (w/v) เป็นระยะเวลารวม 3 เดือน ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 5 ตา บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก และความสูงต้น

T1 เลี้ยงใน Hyponex เหลวหรือน้ำ 2 สัปดาห์แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม 10 สัปดาห์
T2 เลี้ยงใน Hyponex เหลวหรือน้ำ 4 สัปดาห์แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม 8 สัปดาห์
T3 เลี้ยงใน Hyponex เหลวหรือน้ำ 6 สัปดาห์แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม 6 สัปดาห์
T4 เลี้ยงใน Hyponex เหลวหรือน้ำ 8 สัปดาห์แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 4.6 ศึกษาผลของระยะเวลาในการเปลี่ยนจากอาหารเหลวเป็นอาหารกึ่งแข็งต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

นำตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ sucrose 2.0% (w/v) เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอม 10% (w/v) sucrose 2.0% (w/v) และ activated charcoal 0.05% (w/v) เป็นระยะเวลารวม 2 และ 3 เดือน ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 5 ตา บันทึกผลโดยวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น ความสูงต้นและจำนวนราก

T0 เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอม
T1 เลี้ยงใน Hyponex เหลว 2 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม
T2 เลี้ยงใน Hyponex เหลว 4 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม
T3 เลี้ยงใน Hyponex เหลว 6 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม
T4 เลี้ยงใน Hyponex เหลว 8 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติมกล้วยหอม

3. การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้ในการทดลองปรับ pH เป็น 5.4 (ปรับด้วย 1 N KOH หรือ 1 N HCl) และฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 นาที ปริมาตรของอาหารเท่ากับ 20 มิลลิลิตรในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ยกเว้นการทดลองที่ 1.1.2 1.2.2 และ 1.3.3 ปริมาตรของอาหารเท่ากับ 20 มิลลิลิตรในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 8 ออนซ์ และการทดลองที่ 3.1, 3.2 และ 3.3 ปริมาตรของอาหารเท่ากับ 30 มิลลิลิตรในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 8 ออนซ์

4. สภาพการเพาะเลี้ยง

การย้ายต้นกล้วยไม้ลงอาหารกึ่งแข็งจะทำการตัดราก ยกเว้นต้นกล้วยไม้ที่ไม่มีรากหรือมีรากสั้นกว่า 0.2 ซม. ไม่ได้ตัดรากก่อนย้ายลงอาหารกึ่งแข็ง และห้องเพาะเลี้ยงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35 $\mu mol.m^{-2}\ s^{-1}$ 16 ชั่วโมงต่อวัน

5. การออกแบบการทดลอง และการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) และวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และ Univariate เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 4
ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์

การทดลองที่ 1.1 การเพาะเมล็ด

การทดลองที่ 1.1.1 ผลของสูตรอาหารเหลวต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

เมื่อนำเมล็ดของกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์แท้ *D. antennatum* และกล้วยไม้สกุลสายพันธุ์ลูกผสม *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz มาเพาะในอาหารเหลวที่แตกต่างกัน 4 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน เมื่อเปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย พบว่า *D. antennatum* ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 10.1 มก.ต่อโปรโตคอร์มแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม *D.* Judy Rutz ให้เปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการงอกเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 81.6% และ 222.8 แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารสูตร Hyponex (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด เปอร์เซ็นต์การงอก และดัชนีการงอกเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 15.9 มก.ต่อโปรโตคอร์ม 92.8% และ 276.4 ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสูตรอาหาร พบว่าอาหารสูตร Hyponex ทำให้กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz เจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด (23.7, 14.0 และ 10.1 มก.ต่อโปรโตคอร์มตามลำดับ) เปอร์เซ็นต์การงอก (98.8, 84.5 และ 95.0% ตามลำดับ) และดัชนีการงอกมากที่สุด (296.3, 252.1 และ 280.7 ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามกล้วยไม้ *D. antennatum* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (T4) มีสีน้ำตาลและตายทั้งหมด (ตารางที่ 4 และรูปที่ 2)

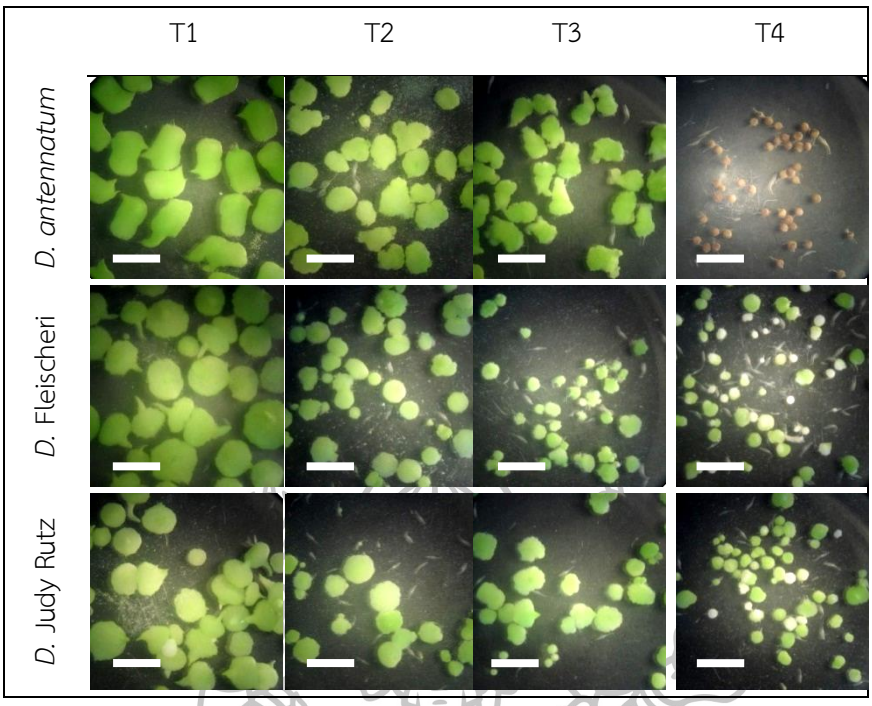
ตารางที่ 4 การเติบโตและพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว 4 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน

พันธุ์	อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อโปรโตคอร์ม)	% เมล็ดที่มีการพัฒนาในระยะต่างๆ				% การงอก	ดัชนีการงอก
			ระยะ 0	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3		
D. antennatum		10.1 a	3.7 c	0.0 c	2.9 b	68.3 a	71.3 b	210.9 b
D. Fleischeri		5.2 b	32.6 a	3.4 b	7.6 a	56.4 b	67.4 c	187.8 c
D. Judy Rutz		5.0 b	18.4 b	7.5 a	6.9 a	67.2 a	81.6 a	222.8 a
F-test		*	*	*	*	*	*	*
	T1 (Hyponex)	15.9 a	7.2 d	1.0 c	0.0 c	91.8 a	92.8 a	276.4 a
	T2 (KC)	6.2 b	18.2 c	7.7 a	5.2 b	68.8 b	81.8 b	224.7 b
	T3 (VW)	4.1 c	25.9 a	4.6 b	8.9 a	60.6 c	74.1 c	204.3 c
	T4 (MS)	0.9 d	21.7 b	1.3 c	9.1 a	34.6 d	45.0 d	123.2 d
	F-test	*	*	*	*	*	*	*
D. antennatum	T1	23.7 a	1.2 b	0.0 a	0.0 b	98.8 a	98.8 a	296.3 a
	T2	9.0 b	3.1 b	0.0 a	3.1 b	93.8 b	96.9 a	287.5 b
	T3	7.6 c	10.6 a	0.0 a	8.6 a	80.8 c	89.4 b	259.6 c
	T4	0.0 d	0.0 b	0.0 a	0.0 b	0.0 d	0.0 c	0.0 d
D. Fleischeri	T1	14.0 a	15.5 b	0.7 c	0.0 b	83.8 a	84.5 a	252.1 a
	T2	4.0 b	34.7 a	7.6 a	3.1 b	54.7 b	65.3 b	177.8 b
	T3	1.4 c	39.7 a	3.8 b	13.1 a	43.4 c	60.3 b	160.2 c
	T4	1.4 c	40.5 a	1.6 c	14.3 a	43.6 c	59.5 b	160.9 c
D. Judy Rutz	T1	10.1 a	5.0 c	2.1 c	0.0 d	92.9 a	95.0 a	280.7 a
	T2	5.5 b	16.8 b	15.7 a	9.6 b	58.0 b	83.2 b	208.7 b
	T3	3.2 c	27.4 a	9.9 b	5.0 c	57.8 b	72.6 c	193.1 c
	T4	1.2 d	24.6 a	2.3 c	13.1 a	60.1 b	75.4 c	208.7 b
	F-test	*	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT

n=3 ขวดละ 100 เมล็ด ยกเว้นน้ำหนักสด n=5 โปรโตคอร์ม

ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 2 เมล็ดของ *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว 4 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน (bar = 5 mm)

T1 Hyponex 0.35% (w/v) + peptone 0.20% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v)
T2 KC + sucrose 2.0% (w/v)
T3 VW + sucrose 2.0% (w/v)
T4 MS + sucrose 3.0% (w/v)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

การทดลองที่ 1.1.2 ผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งและอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach

เมื่อนำเมล็ดของกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์แท้ *D. phalaenopsis* และกล้วยไม้สกุลสายพันธุ์ลูกผสม *D.* Suree Peach มาเพาะในอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน เมื่อเปรียบเทียบอาหารที่เลี้ยง *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach พบว่าอาหารสูตร Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด (7.7 และ 18.0 มก. ตามลำดับ) และดัชนีการงอกเฉลี่ยรวม (251.6 และ 306.5 ตามลำดับ) มากที่สุดแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5 และ 6) เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอินทรีย์พบว่ากล้วยหอม (T5) ทำให้ *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach เจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้ดัชนีการงอกเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 252.0 และ 408.3 ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5 และ 6) นอกจากนี้พบว่ากล้วยหอมทำให้ *D. phalaenopsis* มีน้ำหนักสดเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 7.1 มก. แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับเปปโตน (T2) และน้ำต้มมันฝรั่ง (T3) (ตารางที่ 5) อย่างไรก็ตามน้ำต้มมันฝรั่งทำให้ *D.* Suree Peach มีน้ำหนักสดเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 21.0 มก. แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับเปปโตน (ตารางที่ 6)

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและสารอินทรีย์ พบว่าอาหารสูตร Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งทำให้ *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach เจริญเติบโตดีที่สุด โดยทำให้ *D. phalaenopsis* มีน้ำหนักสดมากที่สุดเท่ากับ 11.9 มก. แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามอาหารสูตร KC ร่วมกับกล้วยหอมให้ดัชนีการงอกมากที่สุดเท่ากับ 353.8 รองลงมาคือ Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งเท่ากับ 346.4 แต่ KC ร่วมกับกล้วยหอมให้น้ำหนักสดน้อยกว่าอาหารอีกหลายสูตร (6.7 มก.) ดังนั้นอาหาร Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งจึงเหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ด *D. phalaenopsis* (ตารางที่ 5 และรูปที่ 3) สำหรับ *D.* Suree Peach พบว่า Hyponex ที่ไม่เติมสารอินทรีย์ให้น้ำหนักสดมากที่สุดเท่ากับ 27.5 มก. แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง (27.2 มก.) อย่างไรก็ดี Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งให้ดัชนีการงอกมากที่สุดเท่ากับ 427.5 ดังนั้นอาหาร Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งจึงเหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ด *D.* Suree Peach ด้วยเช่นกัน (ตารางที่ 6 และรูปที่ 4)

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D. phalaenopsis* ในอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน

อาหาร	สารอินทรีย์	น้ำหนักสด (มก.)	% เมล็ดที่มีการพัฒนาในระยะต่างๆ							ดัชนีการงอก
			a	b	c	d	e	f	g	
Hyponex		7.7 a	23.6 c	0.6 b	18.9 b	0.4 c	16.6 b	18.2 b	21.7 a	251.6 a
MS		3.0 c	28.6 b	0.4 b	53.4 a	3.3 b	4.4 c	6.8 c	3.0 c	115.8 d
KC		4.4 b	17.5 d	0.9 b	22.5 b	6.1 a	22.2 a	23.0 a	7.7 b	233.0 b
VW		4.6 b	44.4 a	2.4 a	23.0 b	0.3 c	17.7 b	10.2 c	2.0 c	129.9 c
F-test		*	*	*	*	*	*	*	*	*
	T1 (ไม่เติม)	3.1 b	26.3 bc	0.7 bc	37.9 b	8.0 a	18.6 b	4.5 c	3.9 c	148.3 d
	T2 (เปปโตน)	6.7 a	31.4 ab	2.6 a	19.8 c	0.7 d	9.7 c	26.4 a	9.3 b	205.1 c
	T3 (น้ำต้มมันฝรั่ง)	6.9 a	21.0 c	1.4 b	18.4 c	2.5 b	28.9 a	16.7 b	11.1 b	233.8 b
	T4 (น้ำมะพร้าว)	0.8 c	31.0 ab	0.0 c	66.1 a	1.5 c	1.0 d	0.4 d	0.0 d	73.6 e
	T5 (กล้วยหอม)	7.1 a	33.0 a	0.5 bc	5.1 d	0.0 e	17.9 b	24.8 a	18.8 a	252.0 a
	F-test	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Hyponex	T1	10.3 b	17.1 cd	2.9 bc	11.4 def	0.0 e	35.7 b	17.1 de	15.7 c	268.6 bc
	T2	9.5 b	24.3 bc	0.0 d	4.3 ef	0.0 e	0.0 h	35.7 b	35.7 b	325.7 a
	T3	11.9 a	16.4 cd	0.0 d	5.0 ef	0.0 e	17.1 de	17.1 de	44.3 a	346.4 a
	T4	0.7 g	23.7 bc	0.0 d	71.4 a	2.1 cd	1.6 h	1.1 f	0.0 e	85.0 g
	T5	6.0 de	36.4 b	0.0 d	2.1 f	0.0 e	28.6 c	20.0 de	12.9 cd	232.1 de
MS	T1	0.8 g	17.4 cd	0.0 d	78.6 a	2.1 cd	1.9 h	0.0 f	0.0 e	88.4 g
	T2	2.5 f	35.7 b	0.0 d	57.1 b	2.9 c	4.3 gh	0.0 f	0.0 e	75.7 gh
	T3	1.0 g	33.1 b	0.0 d	50.0 bc	10.0 b	5.7 gh	1.1 f	0.0 e	91.7 g
	T4	0.8 g	27.0 bc	0.0 d	71.4 a	1.6 d	0.0 h	0.0 f	0.0 e	74.7 gh
	T5	9.8 b	30.0 b	2.1 bcd	10.0 ef	0.0 e	10.0 fg	32.9 b	15.0 c	248.6 cd
KC	T1	0.3 g	14.3 cd	0.0 d	21.4 d	28.6 a	35.7 b	0.0 f	0.0 e	185.7 f
	T2	7.1 cd	31.4 b	2.9 bc	3.6 ef	0.0 e	13.6 ef	47.1 a	1.4 e	242.9 cd
	T3	6.9 cde	10.0 d	1.4 cd	5.7 ef	0.0 e	45.7 a	37.1 b	0.0 e	292.9 b
	T4	0.8 g	17.1 cd	0.0 d	78.6 a	2.1 cd	1.9 h	0.3 f	0.0 e	89.6 g
	T5	6.7 cde	14.8 cd	0.0 d	3.3 ef	0.0 e	14.3 ef	30.5 bc	37.1 b	353.8 a
VW	T1	1.0 g	56.4 a	0.0 d	40.0 c	1.4 d	1.1 h	1.0 f	0.0 e	50.3 h
	T2	7.7 c	34.3 b	7.6 a	14.3 de	0.0 e	21.0 d	22.9 cd	0.0 e	176.2 f
	T3	7.7 c	24.3 bc	4.3 b	12.9 def	0.0 e	47.1 a	11.4 e	0.0 e	204.3 ef
	T4	0.8 g	56.3 a	0.0 d	42.9 c	0.3 e	0.6 h	0.0 f	0.0 e	45.1 h
	T5	5.9 e	50.7 a	0.0 d	5.0 ef	0.0 e	18.6 de	15.7 de	10.0 d	173.6 f
	F-test	*	*	*	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดย DMRT (n=3 ขวดละ 100 เมล็ด)

ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

a เมล็ดไม่มีการงอก
b โปรโตคอร์มมีสีน้ำตาล
c โปรโตคอร์มมีสีขาว
d โปรโตคอร์มเป็นก้อนกลมขนาดเล็ก 1 มม. สีเขียว
e โปรโตคอร์มเป็นก้อนกลมขนาดใหญ่ 2 มม. สีเขียว
f ต้นกล้ามีใบอย่างน้อย 1 ใบ แต่ไม่มีราก
g ต้นกล้ามีใบ 2 ใบ มีรากอย่างน้อย 1 ราก

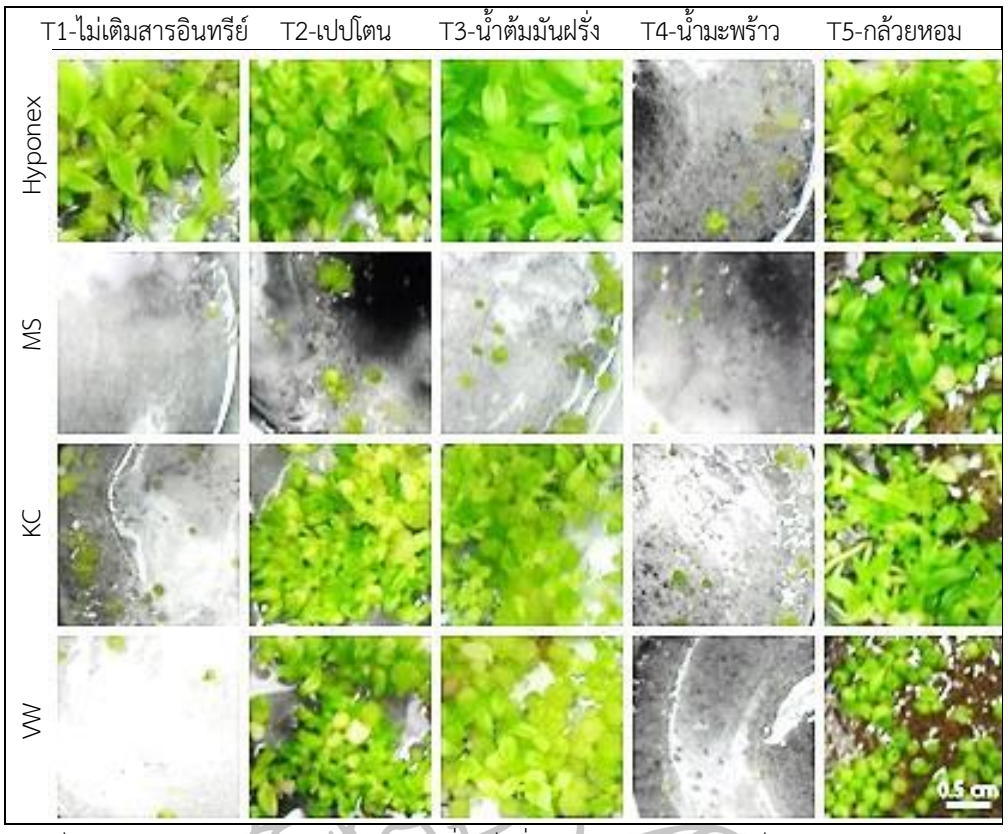
ตารางที่ 6 การเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Suree Peach ในอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน

อาหาร	สารอินทรีย์	น้ำหนักสด (มก.)	% เมล็ดที่มีการพัฒนาในระยะต่างๆ							ดัชนีการงอก
			a	b	c	d	e	f	g	
Hyponex		18.0 a	0.0 a	9.9 b	23.1 c	0.0 c	3.4 c	54.7 a	8.9 b	306.5 a
MS		9.8 c	0.0 a	12.8 a	39.3 a	1.5 bc	13.7 b	24.4 c	8.3 bc	235.2 c
KC		9.0 c	0.0 a	0.0 c	27.8 c	7.6 a	21.8 a	38.5 b	4.3 c	284.0 b
VW		13.2 b	0.0 a	1.3 c	33.3 b	3.7 b	14.1 b	34.0 b	13.6 a	288.2 b
F-test		*	ns	*	*	*	*	*	*	*
	T1 (ไม่เติม)	8.6 c	0.0 a	11.5 a	65.8 b	6.9 a	10.9 b	4.7 b	0.2 c	143.9 c
	T2 (เปปโตน)	19.3 a	0.0 a	11.4 a	0.0 d	0.0 b	22.0 a	63.0 a	3.7 c	347.6 b
	T3 (น้ำต้มมันฝรั่ง)	21.0 a	0.0 a	2.5 b	4.2 cd	0.0 b	26.2 a	58.0 a	9.1 b	362.9 b
	T4 (น้ำมะพร้าว)	2.4 d	0.0 a	4.7 b	77.0 a	9.1 a	7.3 b	2.0 b	0.0 c	129.7 c
	T5 (กล้วยหอม)	11.2 b	0.0 a	0.0 c	7.5 c	0.0 b	0.0 c	61.7 a	30.8 a	408.3 a
	F-test	*	ns	*	*	*	*	*	*	*
Hyponex	T1	27.5 a	0.0 a	37.5 b	30.0 e	0.0 d	12.5 cdef	19.0 de	1.0 e	186.0 g
	T2	19.4 c	0.0 a	0.0 e	0.0 g	0.0 d	0.0 f	87.5 a	12.5 d	412.5 abc
	T3	27.2 ab	0.0 a	0.0 e	0.0 g	0.0 d	0.0 f	72.5 b	27.5 c	427.5 a
	T4	7.7 f	0.0 a	12.0 c	75.5 c	0.0 d	4.5 ef	8.0 ef	0.0 e	133.0 hi
	T5	8.3 f	0.0 a	0.0 e	10.0 fg	0.0 d	0.0 f	86.5 a	3.5 de	373.5 de
MS	T1	3.0 g	0.0 a	8.5 cd	75.0 c	7.5 cd	9.0 def	0.0 f	0.0 e	125.5 hi
	T2	16.2 cde	0.0 a	45.5 a	0.0 g	0.0 d	9.5 def	45.0 c	0.0 e	254.0 f
	T3	14.1 de	0.0 a	10.0 cd	16.7 f	0.0 d	50.0 a	23.3 d	0.0 e	270.0 f
	T4	0.0 g	0.0 a	0.0 e	100.0 a	0.0 d	0.0 f	0.0 f	0.0 e	100.0 i
	T5	15.7 cde	0.0 a	0.0 e	5.0 fg	0.0 d	0.0 f	53.5 c	41.5 b	426.5 a
KC	T1	0.7 g	0.0 a	0.0 e	69.5 cd	15.0 b	15.5 cde	0.0 f	0.0 e	146.0 h
	T2	18.5 c	0.0 a	0.0 e	0.0 g	0.0 d	53.7 a	46.3 c	0.0 e	346.3 e
	T3	17.7 cd	0.0 a	0.0 e	0.0 g	0.0 d	32.2 b	67.8 b	0.0 e	367.8 de
	T4	0.7 g	0.0 a	0.0 e	69.3 cd	23.0 a	7.7 ef	0.0 f	0.0 e	138.3 h
	T5	7.4 f	0.0 a	0.0 e	0.0 g	0.0 d	0.0 f	78.3 ab	21.7 c	421.7 ab
VW	T1	3.1 g	0.0 a	0.0 e	88.5 b	5.0 d	6.5 ef	0.0 f	0.0 e	118.0 hi
	T2	23.3 b	0.0 a	0.0 e	0.0 g	0.0 d	24.7 bc	73.0 b	2.3 e	377.7 cde
	T3	24.9 ab	0.0 a	0.0 e	0.0 g	0.0 d	22.5 bcd	68.5 b	9.0 de	386.5 bcd
	T4	1.4 g	0.0 a	6.7 d	63.0 d	13.3 bc	17.0 cde	0.0 f	0.0 e	147.3 h
	T5	13.2 e	0.0 a	0.0 e	15.0 f	0.0 d	0.0 f	28.5 d	56.5 a	411.5 abc
	F-test	*	ns	*	*	*	*	*	*	*

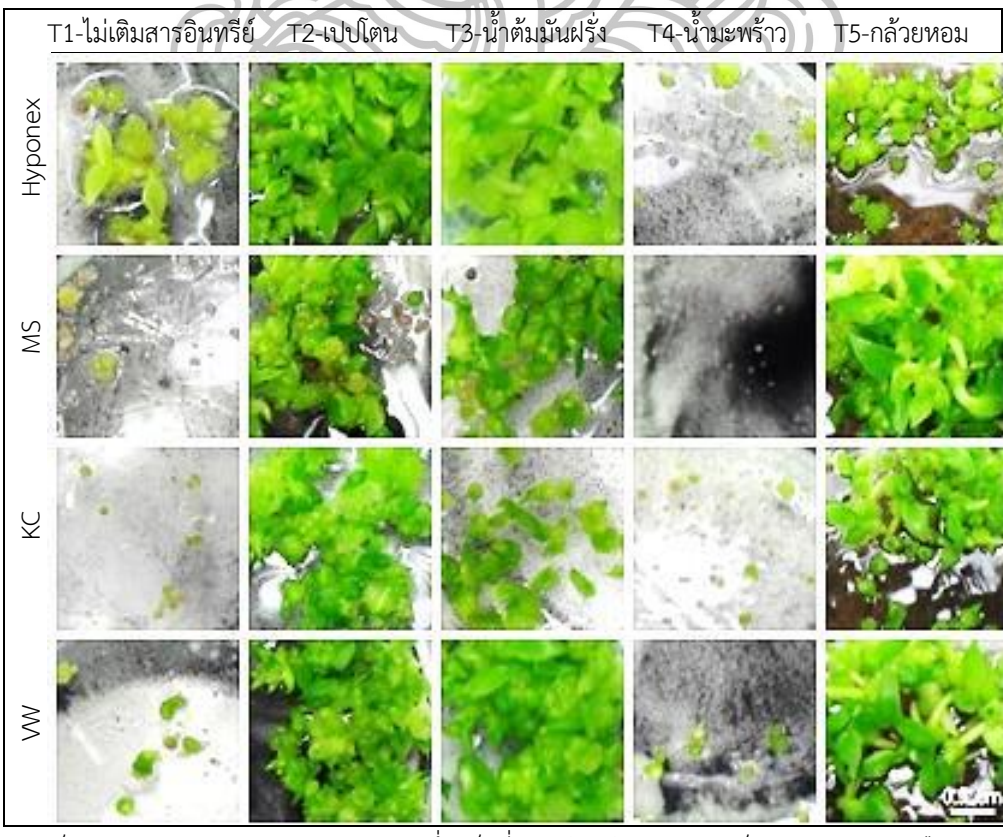
ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดย DMRT (n=3 ขวดละ 100 เมล็ด)

ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

a เมล็ดไม่มีการงอก
b โปรโตคอร์มมีสีน้ำตาล
c โปรโตคอร์มมีสีขาว
d โปรโตคอร์มเป็นก้อนกลมขนาดเล็ก 1 มม. สีเขียว
e โปรโตคอร์มเป็นก้อนกลมขนาดใหญ่ 2 มม. สีเขียว
f ต้นกล้ามีใบอย่างน้อย 1 ใบ แต่ไม่มีราก
g ต้นกล้ามีใบ 2 ใบ มีรากอย่างน้อย 1 ราก



รูปที่ 3 เมล็ดของ *D. phalaenopsis* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน



รูปที่ 4 เมล็ดของ *D.* Suree Peach บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน

การทดลองที่ 1.2 การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม

การทดลองที่ 1.2.1 ผลของอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*

เมื่อนำโปรโตคอร์มของ *D. discolor* เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ที่แตกต่างกัน 6 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ในอาหารทุกสูตร อย่างไรก็ดีพบว่า T6 ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนรากต่อกอ ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 182.0 และ 13.0 มก.ต่อกอ 5.5 รากต่อกอ 9.6 และ 9.0 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่า T5 ให้จำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 5.7 ต้นต่อกอแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7 และรูปที่ 5)

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ 6 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน

อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อกอ)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อกอ)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อกอ	ความสูงต้นเฉลี่ย (มม.)	ความยาวรากเฉลี่ย (มม.)
T1	21.9 f	1.1 e	1.0 c	1.0 d	4.3 e	6.2 b
T2	30.0 e	2.6 d	1.3 c	1.9 c	4.1 e	1.2 d
T3	62.0 d	4.6 c	1.3 c	3.1 b	6.1 d	5.9 b
T4	87.0 c	6.9 b	1.5 c	3.5 b	7.0 c	4.7 c
T5	160.5 b	12.6 a	5.7 a	3.5 b	8.0 b	4.8 c
T6	182.0 a	13.0 a	3.6 b	5.5 a	9.6 a	9.0 a
F-test	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=15)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

รูปที่ 5 *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ 6 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน

T1 Hyponex 0.35% (w/v)
T2 Hyponex 0.35% (w/v) + milk powder 0.20% (w/v)
T3 Hyponex 0.35% (w/v) + organic soy powder 0.20% (w/v)
T4 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v)
T5 Hyponex 0.35% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)
T6 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)

การทดลองที่ 1.2.2 ผลของสูตรอาหารและอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*

เมื่อนำโปรโตคอร์มของ *D. discolor* เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารสูตร Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสดของต้น น้ำหนักสดของโปรโตคอร์มและความสูงต้นเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 41.2 มก.ต่อต้น 38.6 มก.ต่อโปรโตคอร์มและ 5.2 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร MS ให้อัตราการรอดเฉลี่ยรวมต่ำที่สุดเท่ากับ 5.6% (ตารางที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอินทรีย์พบว่ากล้วยหอม (T5) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้อัตราการรอด น้ำหนักสดของต้น จำนวนต้น ความสูงต้นและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 79.4% 65.2 มก. ต่อต้น 1.8 ต้นต่อกอ 5.3 และ 13.0 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำต้มมันฝรั่ง (T3) ให้น้ำหนักสดของโปรโตคอร์มเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 89.2 มก.ต่อโปรโตคอร์ม นอกจากนี้ยังพบว่าการไม่เติมสารอินทรีย์ (T1) ให้อัตราการรอดเฉลี่ยรวมต่ำที่สุดเท่ากับ 13.9% (ตารางที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและสารอินทรีย์ พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมทำให้โปรโตคอร์ม ของ *D. discolor* เจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้อัตราการรอด น้ำหนักสดของต้น ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 100% 82.1 มก. 5.8 และ 22.7 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งให้จำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 2.2 ต้นต่อกอ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งให้น้ำหนักสดของโปรโตคอร์มมากที่สุดเท่ากับ 193.0 มก.ต่อโปรโตคอร์มแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8 และรูปที่ 6)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

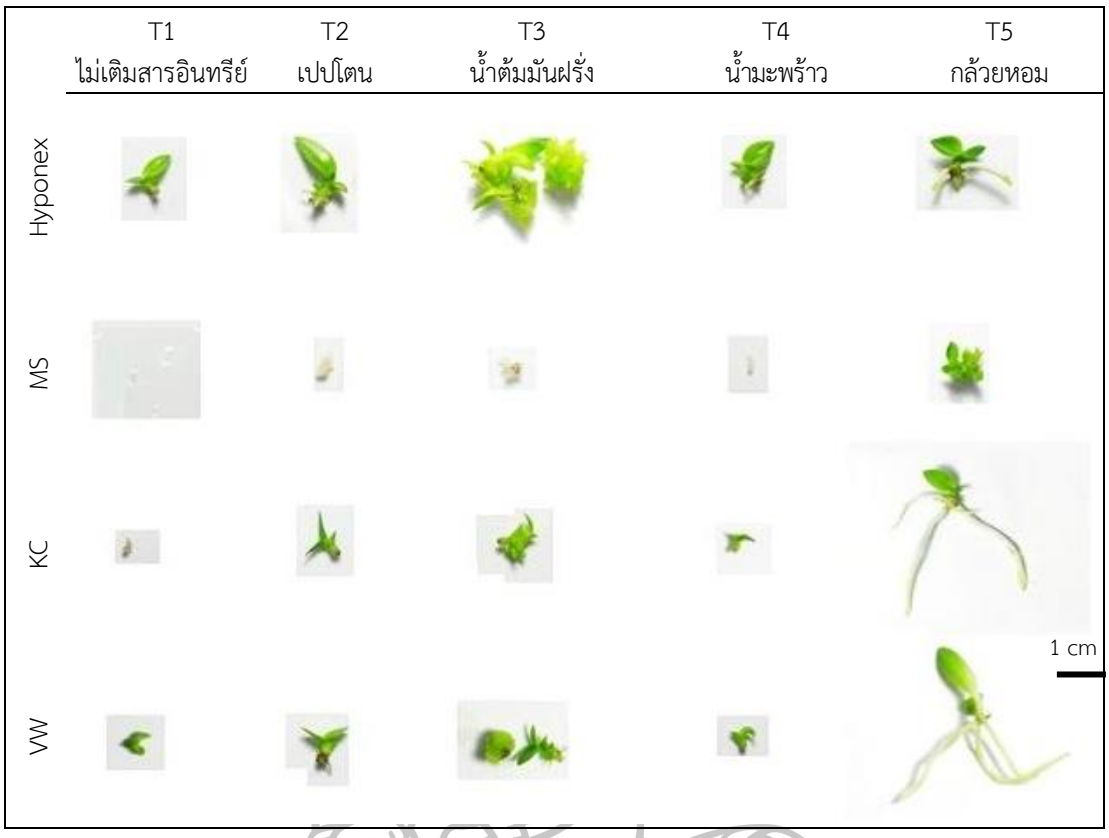
ตารางที่ 8 การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

อาหาร	สารอินทรีย์	การรอดชีวิต %	น้ำหนักสด (มก./ต้น)	น้ำหนักสด (มก./โปรโตคอร์ม)	จำนวนต้นต่อกอ	ความสูงต้นเฉลี่ย (มม.)	ความยาวรากเฉลี่ย (มม.)
Hyponex		75.3 a	41.2 a	38.6 a	1.6 a	5.2 a	3.8 c
MS		5.6 c	11.2 d	0.0 d	0.4 c	1.1 d	0.3 d
KC		45.1 b	24.0 c	12.8 c	1.3 b	3.8 c	4.6 b
VW		72.4 a	33.8 b	20.0 b	1.6 a	4.9 b	5.6 a
F-test		*	*	*	*	*	*
	T1 (ไม่เติม)	13.9 e	8.2 e	0.0 b	0.5 d	2.2 e	0.3 d
	T2 (เปปโตน)	48.6 c	20.6 c	0.0 b	1.3 bc	3.8 c	1.5 c
	T3 (น้ำต้มมันฝรั่ง)	64.2 b	28.5 b	89.2 a	1.5 b	4.1 b	2.6 b
	T4 (น้ำมะพร้าว)	41.9 d	15.2 d	0.0 b	1.1 c	3.2 d	0.5 d
	T5 (กล้วยหอม)	79.4 a	65.2 a	0.0 b	1.8 a	5.3 a	13.0 a
	F-test	*	*	*	*	*	*
Hyponex	T1	33.3 d	21.8 f	0.0 d	1.0 c	4.6 f	1.2 g
	T2	86.7 ab	41.3 e	0.0 d	1.8 ab	5.5 bc	3.9 e
	T3	86.7 ab	49.1 d	193.0 a	1.7 ab	5.7 ab	4.6 d
	T4	80.0 b	40.4 e	0.0 d	1.5 bc	5.1 de	2.0 f
	T5	90.0 ab	53.4 d	0.0 d	1.9 ab	5.0 e	7.2 c
MS	T1	0.0 e	0.0 i	0.0 d	0.0 d	0.0 i	0.0 h
	T2	0.0 e	0.0 i	0.0 d	0.0 d	0.0 i	0.0 h
	T3	0.0 e	0.0 i	0.0 d	0.0 d	0.0 i	0.0 h
	T4	0.0 e	0.0 i	0.0 d	0.0 d	0.0 i	0.0 h
	T5	27.8 d	56.2 b	0.0 d	1.8 ab	5.5 bc	1.7 fg
KC	T1	0.0 e	0.0 i	0.0 d	0.0 d	0.0 i	0.0 h
	T2	21.1 d	16.0 g	0.0 d	1.7 ab	4.4 f	0.0 h
	T3	83.3 b	26.9 f	63.9 c	1.9 ab	5.5 bc	2.3 f
	T4	21.1 d	7.9 h	0.0 d	1.4 bc	3.9 h	0.0 h
	T5	100.0 a	69.2 c	0.0 d	1.5 bc	5.0 de	20.5 b
VW	T1	22.2 d	11.1 gh	0.0 d	1.0 c	4.3 fg	0.0 h
	T2	86.7 ab	25.2 f	0.0 d	1.7 ab	5.3 cd	2.0 f
	T3	86.7 ab	38.0 e	100.0 b	2.2 a	5.3 cd	3.5 e
	T4	66.7 c	12.6 gh	0.0 d	1.5 bc	4.0 gh	0.0 h
	T5	100.0 a	82.1 a	0.0 d	1.8 ab	5.8 a	22.7 a
	F-test	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT

n=10 ยกเว้นการรอดชีวิต n=3 ขวดๆละ 30 โปรโตคอร์ม

ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 6 *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

การทดลองที่ 1.3 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง

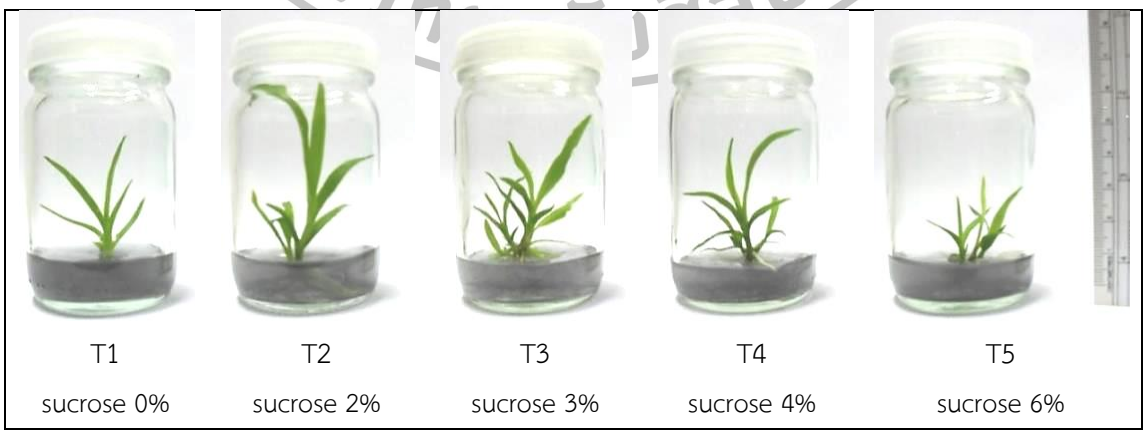
การทดลองที่ 1.3.1 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Fleischeri

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ร่วมกับ sucrose 0, 2, 3, 4, และ 6% (w/v) เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าอาหาร T2 (2%) ให้น้ำหนักสดมากที่สุดเท่ากับ 399.3 มก.ต่อต้นแตกต่างกันทางสถิติ และให้ความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 16.2 มม.แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ T1 (0%) และ T3 (3%) อย่างไรก็ตาม พบว่า T4 (4%) ให้น้ำหนักแห้งมากที่สุดเท่ากับ 28.9 มก.ต่อต้นแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ T2, T3 และ T5 นอกจากนี้พบว่า T5 ให้จำนวนต้นต่อกอมากที่สุดเท่ากับ 3.5 ต้นต่อกอแตกต่างกันทางสถิติ และให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 9.5 รากต่อกอแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ T3 และ T4 อย่างไรก็ดี พบว่า T1 ให้ความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 27.0 มม. แต่ให้น้ำหนักแห้งน้อยที่สุดแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9 และรูปที่ 7)

ตารางที่ 9 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Fleischeri บนอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 0, 2, 3, 4, และ 6% (w/v) เป็นระยะเวลา 2 เดือน

อาหาร (sucrose)	น้ำหนักสด (มก.ต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อต้น)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อกอ	ความสูงต้น (มม.)	ความยาวราก (มม.)
T1 (0%)	313.4 b	14.3 b	1.1 c	2.7 c	15.3 ab	27.0 a
T2 (2%)	399.3 a	27.3 a	2.5 b	7.3 b	16.2 a	13.8 b
T3 (3%)	327.5 b	27.6 a	2.6 b	7.9 ab	14.5 abc	11.3 b
T4 (4%)	307.0 b	28.9 a	2.5 b	8.8 ab	13.8 bc	8.1 c
T5 (6%)	228.8 c	26.6 a	3.5 a	9.5 a	12.7 c	6.3 d
F-test	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดย DMRT (n=20)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 7 *D.* Fleischeri บนอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 0, 2, 3, 4, และ 6% (w/v) เป็นระยะเวลา 2 เดือน

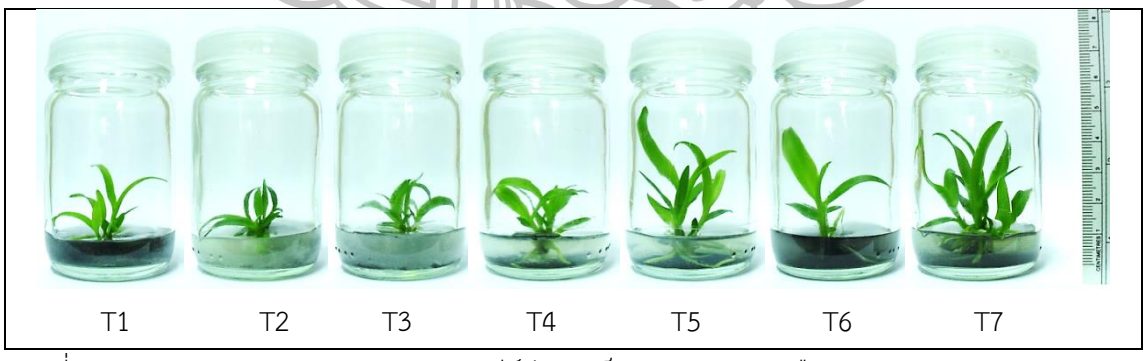
การทดลองที่ 1.3.2 ผลของอาหารเสริมอินทรีย์ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม.มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ที่แตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าอาหาร T7 ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 578.1 กรัม 35.1 มก.ต่อต้น และ 16.0 มม. นอกจากนี้ T7 ยังให้จำนวนต้นต่อกอมากที่สุดเท่ากับ 3.3 ต้นต่อกอแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอื่นยกเว้น T4 ที่ให้จำนวนต้นต่อกอน้อยที่สุดเท่ากับ 2.6 ต้นต่อกอ และ T7 ยังให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 6.4 รากต่อกอแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ T1, T3 และ T5 อย่างไรก็ตามพบว่า T4 ให้ความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 16.7 มม. (ตารางที่ 10 และรูปที่ 8)

ตารางที่ 10 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz บนอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อต้น)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อกอ	ความสูงต้น (มม.)	ความยาวราก (มม.)
T1	298.6 c	19.2 c	3.0 ab	5.9 ab	13.6 bc	10.4 de
T2	178.8 d	12.6 d	3.1 ab	4.5 b	8.9 d	8.4 e
T3	258.4 cd	17.6 cd	2.8 ab	5.5 ab	12.0 c	11.2 cd
T4	326.4 c	22.7 bc	2.6 b	4.8 b	12.9 bc	16.7 a
T5	416.1 b	26.1 b	3.0 ab	5.4 ab	14.4 b	14.6 b
T6	339.7 bc	20.8 bc	2.8 ab	4.9 b	12.6 c	11.5 cd
T7	578.1 a	35.1 a	3.3 a	6.4 a	16.0 a	13.2 bc
F-test	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=20)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 8 *D.* Judy Rutz บนอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

T1 Hyponex 0.35% (w/v)
T2 Hyponex 0.35% (w/v) + milk 150 ml/l
T3 Hyponex 0.35% (w/v) + milk powder 0.20% (w/v)
T4 Hyponex 0.35% (w/v) + organic soy powder 0.20% (w/v)
T5 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v)
T6 Hyponex 0.35% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)
T7 Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v) + peptone 0.20% (w/v)

การทดลองที่ 1.3.3 ผลของสูตรอาหารและอาหารเสริมอินทรีย์ต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารสูตร VW ทำให้ *D. discolor* เจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 212.9 และ 20.2 มก.ต่อต้น 9.9 และ 12.4 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11) เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอินทรีย์พบว่ากล้วยหอม (T5) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น ความสูงต้นและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 387.1 และ 38.6 มก.ต่อต้น 1.1 ต้นต่อกอ 11.8 และ 27.3 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและชนิดของสารอินทรีย์ พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมทำให้ *D. discolor* เจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 740.5 และ 70.7 มก.ต่อต้น 15.9 และ 44.0 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าอาหาร MS ยกเว้น MS ร่วมกับกล้วยหอมทำให้ *D. discolor* ตาย (ตารางที่ 11 และรูปที่ 9)

สำหรับกล้วยไม้ *D.* Fleischeri เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารสูตร Hyponex และ MS ให้การเจริญเติบโตดีกว่าอาหารสูตร KC และ VW โดยอาหารสูตร Hyponex และ MS ให้น้ำหนักสด (249.7 และ 243.1 มก.ต่อต้นตามลำดับ) น้ำหนักแห้ง (22.7 และ 23.2 มก.ต่อต้นตามลำดับ) และความสูงต้นมากที่สุด (12 มม.) อย่างไรก็ตามพบว่าอาหารสูตร VW ให้ความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 17.5 มม.แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 12) เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอินทรีย์พบว่ากล้วยหอมให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 258.0 และ 28.9 มก.ต่อต้น 12.2 และ 24.9 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นความสูงต้นที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับเปปโตน (T2) และน้ำต้มมันฝรั่ง (T3) (ตารางที่ 12) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและชนิดของสารอินทรีย์ พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมทำให้ *D.* Fleischeri เจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 349.3 และ 36.7 มก.ต่อต้น และ 35.5 มม.ตามลำดับ (ตารางที่ 12 และรูปที่ 10)

สำหรับกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารสูตร VW ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักแห้งและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 21.0 มก.ต่อต้นและ 14.5 มม.ตามลำดับแต่น้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับ MS อย่างไรก็ดีพบว่าอาหารสูตร Hyponex ให้น้ำหนักสดและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 227.4 มก.ต่อต้นและ 13.4 มม.ตามลำดับแต่น้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับ MS และ VW ส่วนความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ VW (ตารางที่ 13) เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอินทรีย์พบว่ากล้วยหอมให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักแห้งและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 20.5 มก.ต่อต้นและ 17.3 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติแต่น้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับเปปโตน อย่างไรก็ตามพบว่าเปปโตนให้น้ำหนักสดและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 243.1 มก.ต่อต้นและ 13.6 มม.ตามลำดับแต่น้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับน้ำต้มมันฝรั่ง (ตารางที่ 13) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและชนิดของสารอินทรีย์ พบว่าอาหารสูตร MS ร่วมกับเปปโตนทำให้ *D.* Judy Rutz เจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและความสูงต้นเท่ากับ 375.1 และ 29.4 มก.ต่อต้น และ 15.9 มม.ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมให้น้ำหนักแห้งและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 33.4 มก.ต่อต้น และ 27.2 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ร่วมกับเปปโตน (ตารางที่ 13 และรูปที่ 11)

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D. discolor* บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

อาหาร	สารอินทรีย์	น้ำหนักสด (มก.ต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อต้น)	จำนวนต้นต่อกอ	ความสูงต้น (มม.)	ความยาวราก (มม.)
Hyponex		114.3 c	10.9 c	1.1 a	9.0 b	6.9 c
MS		43.6 d	4.5 d	0.2 b	1.9 c	2.0 d
KC		147.4 b	14.3 b	1.1 a	8.8 b	10.4 b
VW		212.9 a	20.2 a	1.1 a	9.9 a	12.4 a
F-test		*	*	*	*	*
	T1 (ไม่เติม)	54.5 c	4.9 c	0.7 c	6.0 cd	1.9 d
	T2 (เปปโตน)	67.6 bc	5.9 bc	0.8 bc	6.2 c	4.0 b
	T3 (น้ำต้มมันฝรั่ง)	85.3 b	7.3 b	0.9 b	7.1 b	4.1 b
	T4 (น้ำมะพร้าว)	53.3 c	5.8 bc	0.8 bc	5.8 d	2.4 c
	T5 (กล้วยหอม)	387.1 a	38.6 a	1.1 a	11.8 a	27.3 a
	F-test	*	*	*	*	*
Hyponex	T1	94.5 efgh	8.3 ef	1.1 b	9.5 cd	2.6 gh
	T2	91.6 efgh	7.1 ef	1.0 b	7.6 ef	5.7 e
	T3	130.5 de	11.1 e	1.5 a	10.2 c	5.9 e
	T4	97.0 efgh	10.6 e	1.0 b	8.2 e	3.9 f
	T5	157.9 d	17.5 d	1.0 b	9.6 cd	16.5 c
MS	T1	0.0 i	0.0 g	0.0 c	0.0 g	0.0 i
	T2	0.0 i	0.0 g	0.0 c	0.0 g	0.0 i
	T3	0.0 i	0.0 g	0.0 c	0.0 g	0.0 i
	T4	0.0 i	0.0 g	0.0 c	0.0 g	0.0 i
	T5	218.2 c	22.7 c	1.1 b	9.5 cd	10.0 d
KC	T1	63.2 gh	5.4 f	1.0 b	7.0 f	2.0 h
	T2	76.6 fgh	6.9 ef	1.0 b	8.3 e	4.2 f
	T3	104.6 ef	8.8 ef	1.1 b	9.2 d	4.4 f
	T4	60.8 gh	6.9 ef	1.2 b	7.5 ef	2.7 gh
	T5	431.6 b	43.6 b	1.0 b	12.2 b	38.5 b
VW	T1	60.4 gh	5.8 f	1.0 b	7.7 ef	3.0 g
	T2	102.0 efg	9.5 ef	1.3 ab	9.1 d	6.2 e
	T3	106.2 ef	9.4 ef	1.1 b	9.0 d	6.0 e
	T4	55.5 h	5.9 f	1.1 b	7.6 ef	3.1 g
	T5	740.5 a	70.7 a	1.2 b	15.9 a	44.0 a
	F-test	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)

ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

ตารางที่ 12 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Fleischeri บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

อาหาร	สารอินทรีย์	น้ำหนักสด (มก.ต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อต้น)	จำนวนต้นต่อกอ	ความสูงต้น (มม.)	ความยาวราก (มม.)
Hyponex		249.7 a	22.7 a	2.2 b	12.0 a	15.4 b
MS		243.1 a	23.2 a	2.7 a	12.1 a	10.0 c
KC		196.9 b	19.6 b	2.5 ab	11.9 a	15.5 b
VW		201.3 b	19.6 b	2.5 ab	10.5 b	17.5 a
F-test		*	*	*	*	*
	T1 (ไม่เติม)	218.1 b	19.0 b	2.9 a	10.9 b	11.5 c
	T2 (เปปโตน)	205.7 b	18.3 b	2.4 bc	11.9 a	11.8 c
	T3 (น้ำต้มมันฝรั่ง)	218.1 b	19.3 b	2.5 bc	12.1 a	13.2 b
	T4 (น้ำมะพร้าว)	213.7 b	20.8 b	2.6 ab	10.8 b	11.7 c
	T5 (กล้วยหอม)	258.0 a	28.9 a	2.2 c	12.2 a	24.9 a
	F-test	*	*	*	*	*
Hyponex	T1	309.8 ab	26.8 bc	1.9 c	12.5 abcd	13.7 efghi
	T2	203.9 cdef	15.6 fgh	2.8 ab	11.1 efg	12.6 hijk
	T3	240.6 bcd	21.0 cdef	2.4 bc	12.7 abcd	19.3 c
	T4	289.3 ab	25.7 bcd	2.1 bc	11.9 bcde	15.5 defg
	T5	204.7 cdef	24.4 cde	1.9 c	11.5 cdef	16.0 def
MS	T1	301.7 ab	24.2 cde	3.3 a	12.8 abc	9.1 l
	T2	302.7 ab	26.9 bc	2.1 bc	13.5 a	10.5 jkl
	T3	238.8 bcde	22.5 cde	2.8 ab	11.5 bcdef	9.8 l
	T4	165.1 efg	18.9 efg	3.3 a	10.8 efg	4.5 m
	T5	207.0 cdef	23.7 cde	2.3 bc	11.5 bcdef	16.2 de
KC	T1	148.7 fg	14.0 gh	3.5 a	9.9 gh	14.1 defgh
	T2	166.9 defg	15.9 fgh	2.3 bc	12.7 abcd	11.2 ijkl
	T3	205.3 cdef	17.9 efg	1.8 c	12.9 ab	10.2 kl
	T4	192.6 def	19.0 efg	2.7 ab	11.0 efg	10.2 kl
	T5	271.0 bc	31.0 b	2.2 bc	12.9 abc	31.9 b
VW	T1	112.2 g	10.9 h	2.8 ab	8.4 i	9.0 l
	T2	149.3 fg	14.9 fgh	2.3 bc	10.3 fgh	12.9 ghij
	T3	187.7 def	15.6 fgh	2.8 ab	11.4 def	13.4 fghi
	T4	207.9 cdef	19.7 defg	2.3 bc	9.4 hi	16.5 d
	T5	349.3 a	36.7 a	2.5 bc	12.9 ab	35.5 a
	F-test	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=15)

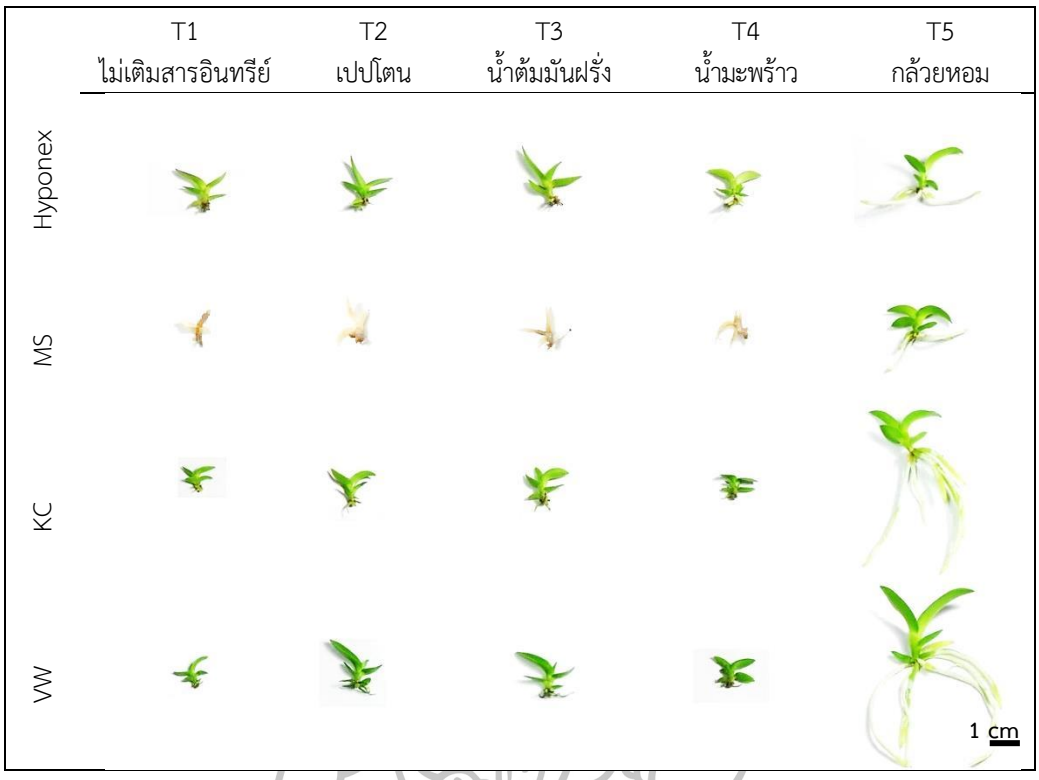
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

ตารางที่ 13 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz บนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

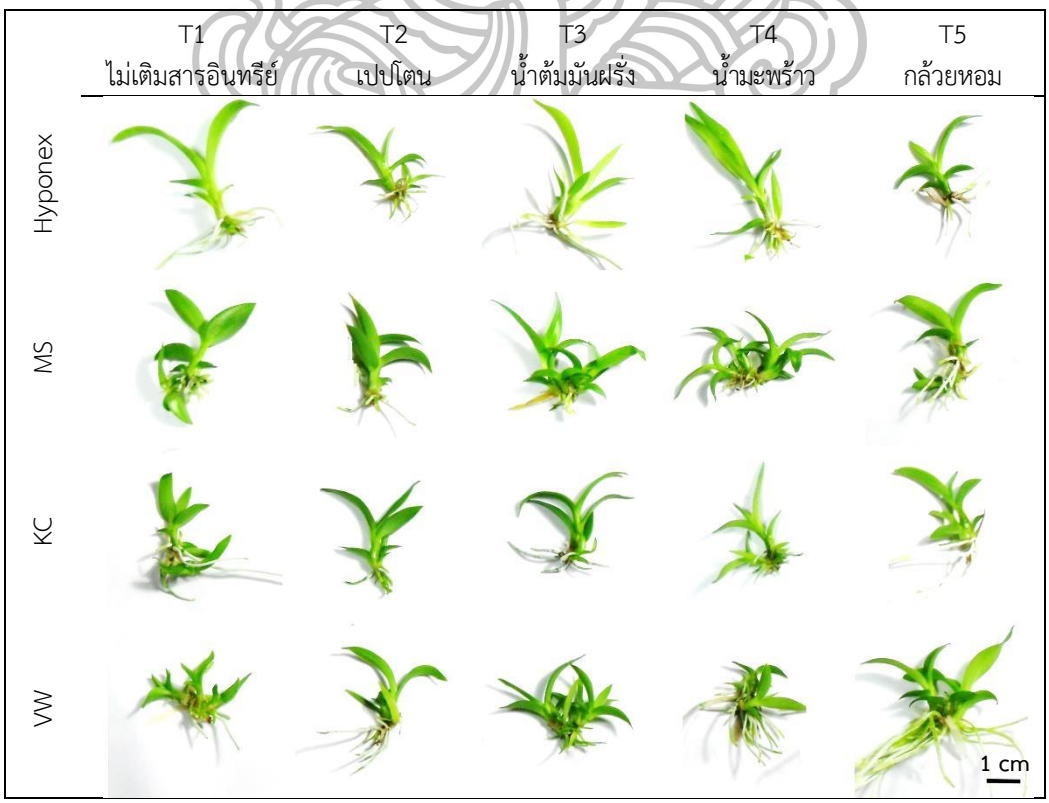
อาหาร	สารอินทรีย์	น้ำหนักสด (มก.ต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อต้น)	จำนวนต้นต่อกอ	ความสูงต้น (มม.)	ความยาวราก (มม.)
Hyponex		227.4 a	17.6 b	2.5 a	13.4 a	12.8 b
MS		219.9 a	19.2 ab	2.6 a	12.5 b	7.7 d
KC		155.1 b	13.7 c	2.2 b	11.6 c	11.5 c
VW		217.7 a	21.0 a	2.3 b	13.2 a	14.5 a
F-test		*	*	*	*	*
	T1 (ไม่เติม)	198.7 bc	16.0 c	2.5 b	12.5 bc	9.2 d
	T2 (เปปโตน)	243.1 a	18.5 ab	2.1 c	13.6 a	10.7 c
	T3 (น้ำต้มมันฝรั่ง)	222.2 ab	17.9 bc	2.2 c	12.9 b	12.0 b
	T4 (น้ำมะพร้าว)	172.3 c	16.3 bc	2.9 a	12.2 c	8.8 d
	T5 (กล้วยหอม)	188.7 c	20.5 a	2.3 bc	12.2 c	17.3 a
	F-test	*	*	*	*	*
Hyponex	T1	266.3 bc	18.8 bcde	2.6 bcde	14.9 ab	13.8 d
	T2	245.2 bcd	16.8 bcdef	2.4 cdefgh	13.5 cde	13.0 de
	T3	302.1 b	21.6 b	2.3 defgh	15.1 ab	15.8 c
	T4	156.3 fgh	13.9 defg	3.1 ab	12.2 efghi	9.4 ghi
	T5	167.1 efgh	16.7 bcdef	2.1 efgh	11.1 hi	11.8 ef
MS	T1	249.6 bcd	20.1 bc	2.9 abc	12.8 defg	6.9 klm
	T2	375.1 a	29.4 a	1.9 h	15.9 a	10.7 fg
	T3	175.9 efgh	17.2 bcdef	2.3 defgh	11.7 ghi	6.1 lm
	T4	164.6 efgh	16.2 cdefg	3.2 a	10.9 hi	5.2 m
	T5	134.1 h	13.4 fg	2.6 cdef	11.4 ghi	9.5 ghi
KC	T1	130.9 h	11.2 g	2.0 fgh	11.2 hi	8.5 hijk
	T2	138.4 h	11.1 g	1.9 gh	12.4 efgh	9.0 ghij
	T3	205.3 defg	13.7 efg	2.3 defgh	11.6 ghi	12.0 ef
	T4	145.1 gh	13.8 efg	2.8 abcd	10.9 i	7.3 jkl
	T5	155.8 fgh	18.5 bcdef	2.1 efgh	12.1 fghi	20.7 b
VW	T1	147.9 gh	14.0 defg	2.5 cdefg	11.0 hi	7.7 ijkl
	T2	213.8 cdef	16.9 bcdef	2.1 efgh	12.7 defg	10.2 fgh
	T3	205.6 defg	19.1 bcd	2.1 efgh	13.3 def	13.9 d
	T4	223.2 cde	21.5 b	2.4 cdefgh	14.7 abc	13.5 de
	T5	298.0 b	33.4 a	2.4 cdefgh	14.0 bcd	27.2 a
	F-test	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=16)

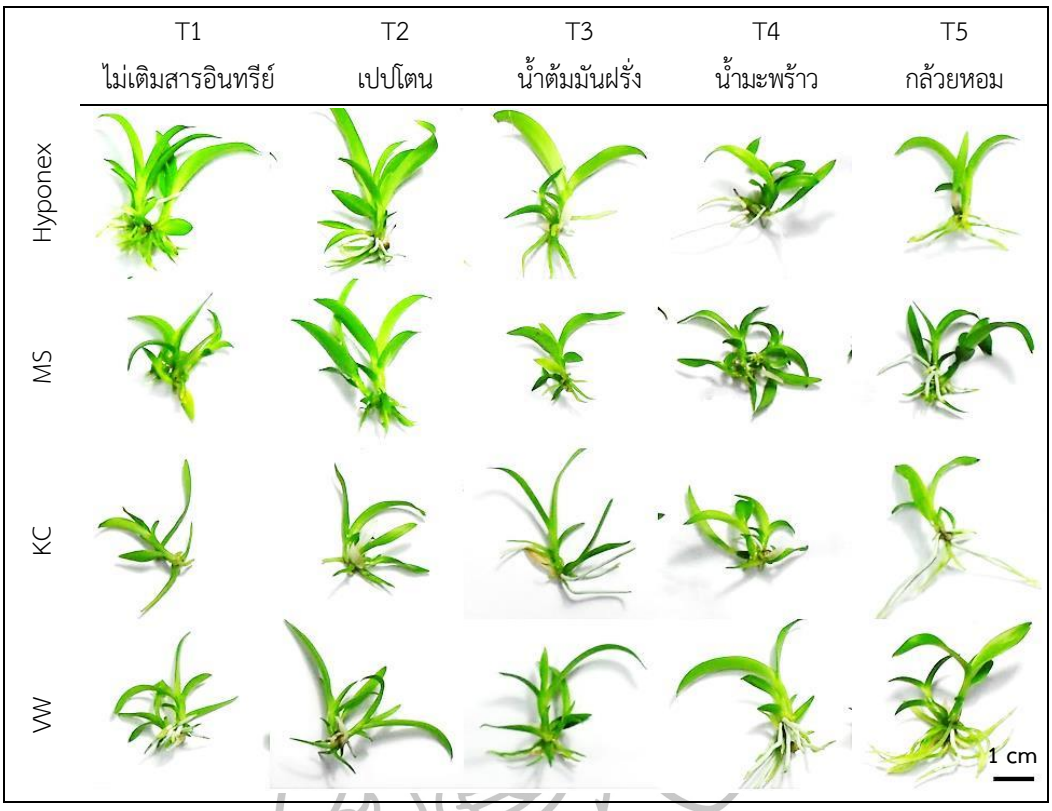
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 9 *D. discolor* เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน



รูปที่ 10 *D.* Fleischeri เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน



รูปที่ 11 *D.* Judy Rutz เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

การทดลองที่ 1.3.4 ผลของปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

เมื่อนำกล้วยไม้ *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกัน 6 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย พบว่า *D.* Fleischeri สามารถเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 148.7 และ 10.0 มก.ต่อกอ 7.9 และ 7.6 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 14) เมื่อเปรียบเทียบชนิดปุ๋ยพบว่าปุ๋ยไบโอเมอร์ (T5) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้อัตราการรอดชีวิต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และความสูงต้นเฉลี่ยรวมดีเท่ากับ 92.5% 116.5 และ 8.6 มก.ต่อกอและ 8.1 มม.แต่อัตราการรอดชีวิตและความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ Hyponex (T1) น้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับนูตราฟอส (T3) และติวเตอร์ (T4) ส่วนน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับติวเตอร์ อย่างไรก็ตามพบว่าปุ๋ยติวเตอร์ให้ความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 6.2 มม.แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับนูตราฟอส (ตารางที่ 14)

สำหรับ *D. discolor* เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายและชนิดปุ๋ยพบว่าปุ๋ย Hyponex (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้อัตราการรอดชีวิต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเท่ากับ 90% 91.4 และ 8.9 มก.ต่อกอ 7.1 และ 1.2 มม.ตามลำดับแต่อัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างทางสถิติกับปุ๋ยไบโอเมอร์ น้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับนูตราฟอสและปุ๋ยไบโอเมอร์ น้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับนูตราฟอส ส่วนความสูงต้นและความยาวรากไม่แตกต่างทางสถิติกับนูตราฟอส ติวเตอร์และไบโอเมอร์ นอกจากนี้พบว่าปุ๋ยเมก้าเฟอร์ (T2) และโพลีน (T6) ทำให้ *D. discolor* ตายหมด (ตารางที่ 14 และรูปที่ 12)

สำหรับ *D. phalaenopsis* เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายและชนิดปุ๋ยพบว่า Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้อัตราการรอดชีวิต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 95% 64.3 และ 5.9 มก.ต่อกอ 7.0 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นอัตราการรอดชีวิตและความสูงไม่แตกต่างทางสถิติกับไบโอเมอร์ อย่างไรก็ตามพบว่าปุ๋ยไบโอเมอร์ให้ความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 2.8 มม.แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับติวเตอร์ นอกจากนี้พบว่าปุ๋ยเมก้าเฟอร์ นูตราฟอสและโพลีนทำให้ *D. phalaenopsis* ส่วนใหญ่ตาย (ตารางที่ 14 และรูปที่ 12)

สำหรับ *D.* Fleischeri เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายและชนิดปุ๋ยพบว่าปุ๋ยนูตราฟอสให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้อัตราการรอดชีวิต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเท่ากับ 95% 236.4 และ 14.4 มก.ต่อกอ 10.6 และ 15.3 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างทางสถิติกับ Hyponex เมก้าเฟอร์ ติวเตอร์และไบโอเมอร์ ส่วนน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับติวเตอร์ ความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ Hyponex เมก้าเฟอร์และติวเตอร์ นอกจากนี้พบว่าปุ๋ยโพลีนทำให้ *D.* Fleischeri ตายหมด (ตารางที่ 14 และรูปที่ 12)

สำหรับ *D.* Judy Rutz เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายและชนิดปุ๋ยพบว่าปุ๋ยไบโอเมอร์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้อัตราการรอดชีวิต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเท่ากับ 95% 203.4 และ 13.4 มก.ต่อกอ 10.6 และ 10.2 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างทางสถิติกับ Hyponex เมก้าเฟอร์ นูตราฟอสและติวเตอร์ ส่วนความยาวรากไม่แตกต่างทางสถิติกับติวเตอร์ นอกจากนี้พบว่าปุ๋ยโพลีนทำให้ *D.* Judy Rutz ตายหมด (ตารางที่ 14 และรูปที่ 12)

ตารางที่ 14 การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz บนอาหารกึ่งแข็งร่วมกับปุ๋ยต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

พันธุ์	ปุ๋ย	การรอดชีวิต (%)	น้ำหนักสด (มก.ต่อกอ)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อกอ)	จำนวนต้น ต่อกอ	ความสูงต้น (มม.)	ความยาวราก (มม.)
D. discolor		47.5 b	62.1 c	5.3 c	0.9 c	4.7 c	0.7 d
D. phalaenopsis		44.2 b	25.9 d	2.5 d	0.8 c	3.2 d	1.3 c
D. Fleischeri		78.3 a	148.7 a	10.0 a	1.4 b	7.9 a	7.6 a
D. Judy Rutz		78.3 a	107.7 b	7.9 b	1.8 a	7.1 b	5.8 b
F-test		*	*	*	*	*	*
	T1 (Hyponex)	95.0 a	92.3 b	7.7 b	1.8 a	8.0 a	4.5 b
	T2 (เมก้าเฟอร์)	46.3 c	77.5 c	5.0 c	1.1 c	4.5 d	1.6 c
	T3 (นูตราฟอส)	66.3 b	116.7 a	8.0 b	1.1 c	6.4 c	6.0 a
	T4 (ติวเตอร์)	72.5 b	113.6 a	9.3 a	1.7 ab	7.3 b	6.2 a
	T5 (ไบโอเมอร์)	92.5 a	116.5 a	8.6 ab	1.5 b	8.1 a	4.8 b
	T6 (โพลีน)	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 e	0.0 d
	F-test	*	*	*	*	*	*
D. discolor	T1	90.0 a	91.4 ab	8.9 a	1.3 ab	6.9 a	0.9 a
	T2	0.0 d	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 b	0.0 b
	T3	65.0 bc	101.9 a	7.9 ab	1.1 b	7.1 a	1.2 a
	T4	50.0 c	83.8 b	7.5 b	1.5 a	6.9 a	0.9 a
	T5	80.0 ab	95.4 ab	7.3 b	1.3 ab	7.1 a	1.0 a
	T6	0.0 d	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 b	0.0 b
D. phalaenopsis	T1	95.0 a	64.3 a	5.9 a	1.8 a	7.0 a	2.3 b
	T2	5.0 c	0.0 d	0.0 c	0.0 b	0.0 c	0.0 c
	T3	10.0 c	0.0 d	0.0 c	0.0 b	0.0 c	0.0 c
	T4	60.0 b	37.5 c	4.5 b	1.5 a	5.7 b	2.6 ab
	T5	95.0 a	53.4 b	4.6 b	1.4 a	6.7 a	2.8 a
	T6	0.0 c	0.0 d	0.0 c	0.0 b	0.0 c	0.0 c
D. Fleischeri	T1	95.0 a	127.5 c	9.1 c	1.7 a	9.8 a	9.5 c
	T2	90.0 a	189.9 b	11.5 b	1.8 a	9.6 a	3.9 d
	T3	95.0 a	236.4 a	14.4 a	1.6 a	10.6 a	15.3 a
	T4	90.0 a	224.9 ab	15.9 a	1.9 a	9.6 a	12.2 b
	T5	100.0 a	113.7 c	9.0 c	1.6 a	8.0 b	5.1 d
	T6	0.0 b	0.0 d	0.0 d	0.0 b	0.0 c	0.0 e
D. Judy Rutz	T1	100.0 a	86.2 b	7.0 b	2.3 ab	8.5 b	5.5 c
	T2	90.0 a	120.1 b	8.6 b	2.7 a	8.6 b	2.6 d
	T3	95.0 a	128.4 b	9.5 b	1.8 c	7.8 bc	7.7 b
	T4	90.0 a	108.2 b	9.1 b	2.1 bc	7.0 c	9.1 ab
	T5	95.0 a	203.4 a	13.4 a	1.8 c	10.6 a	10.2 a
	T6	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 d	0.0 d	0.0 e
	F-test	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)

ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

รูปที่ 12 *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz บนอาหารกึ่งแข็งร่วมกับปุ๋ยต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ตอนที่ 2 ผลของอาหารเหลว ขนาดต้นและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย

การทดลองที่ 2.1 ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D. discolor* ในหลอดทดลอง

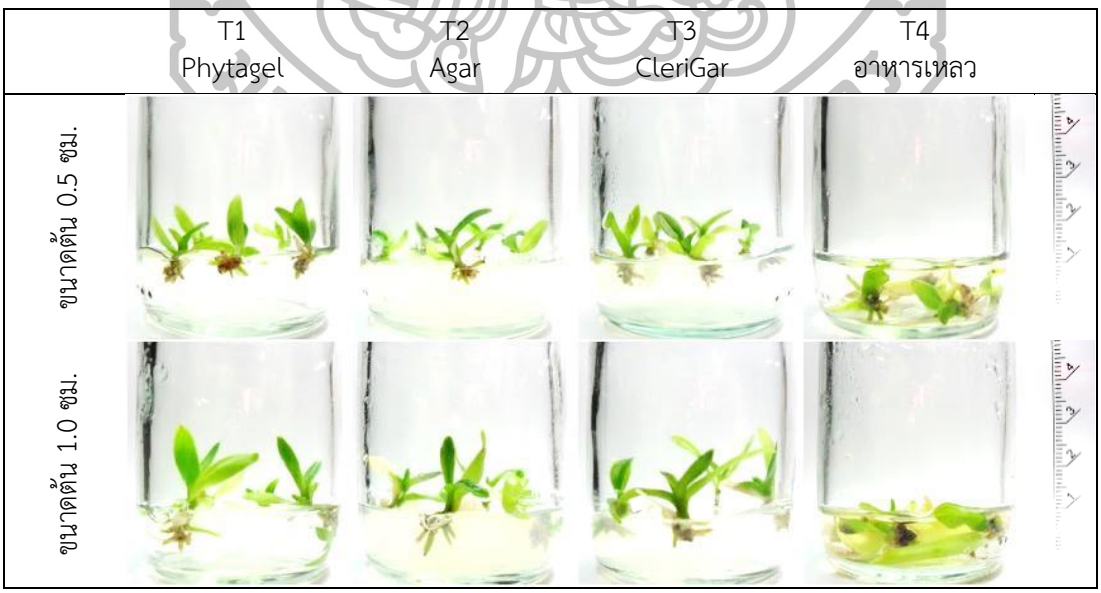
เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D. discolor* ความสูงเฉลี่ย 0.5 และ 1.0 ซม. ที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติมกล้วยหอม มาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด เปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นระยะเวลา 2 เดือน เมื่อเปรียบเทียบขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. พบว่าต้นขนาด 1.0 ซม. เจริญเติบโตดีกว่าต้นขนาด 0.5 ซม. โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 198.9 และ 19.5 มก.ต่อกอ 2.0 ต้นและ 2.6 รากตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 15) เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารเหลว (T4) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุดโดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 171.6 และ 18.6 มก.ต่อกอและ 2.3 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามไม่พบว่ามีรากเกิดขึ้นในอาหารเหลว (ตารางที่ 15) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดต้นและสูตรอาหารพบว่าต้นขนาด 1.0 ซม. เจริญเติบโตดีที่สุดในอาหารเหลว โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 227.4 และ 24.8 มก.ต่อกอและ 3.2 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามไม่พบว่ามีรากเกิดขึ้นในอาหารเหลว แต่พบว่า Agar (T2) ทำให้ต้นขนาด 0.5 ซม. เกิดรากมากที่สุดเท่ากับ 3.5 ราก และจำนวนรากของต้นขนาด 1.0 ซม. ไม่แตกต่างทางสถิติระหว่าง Phytagel, Agar และ CleriGar (T3) (ตารางที่ 15 และรูปที่ 13)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 15 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D. discolor* ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. บนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

ขนาดต้น (ซม.)	อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อกอ)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อกอ)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อกอ
0.5		100.8 b	9.4 b	1.4 b	2.1 b
1.0		198.9 a	19.5 a	2.0 a	2.6 a
F-test		*	*	*	*
	T1 (Phytagel)	146.6 b	13.4 b	1.8 b	2.8 b
	T2 (Agar)	133.9 b	12.3 b	1.4 c	3.5 a
	T3 (CleriGar)	147.4 b	13.6 b	1.3 c	3.2 a
	T4 (liquid)	171.6 a	18.6 a	2.3 a	0.0 c
	F-test	*	*	*	*
0.5	T1	102.7 cd	9.3 d	1.7 bc	2.2 c
	T2	88.2 d	7.4 d	1.3 d	3.5 a
	T3	96.6 cd	8.4 d	1.2 d	2.9 b
	T4	115.7 c	12.5 c	1.5 cd	0.0 d
1.0	T1	190.4 b	17.5 b	1.8 b	3.4 ab
	T2	179.6 b	17.1 b	1.5 bcd	3.4 ab
	T3	198.3 b	18.8 b	1.5 cd	3.5 a
	T4	227.4 a	24.8 a	3.2 a	0.0 d
	F-test	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=30)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 13 *D. discolor* ขนาดต้น 0.5 ซม. (บน) และ 1.0 ซม. (ล่าง) เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

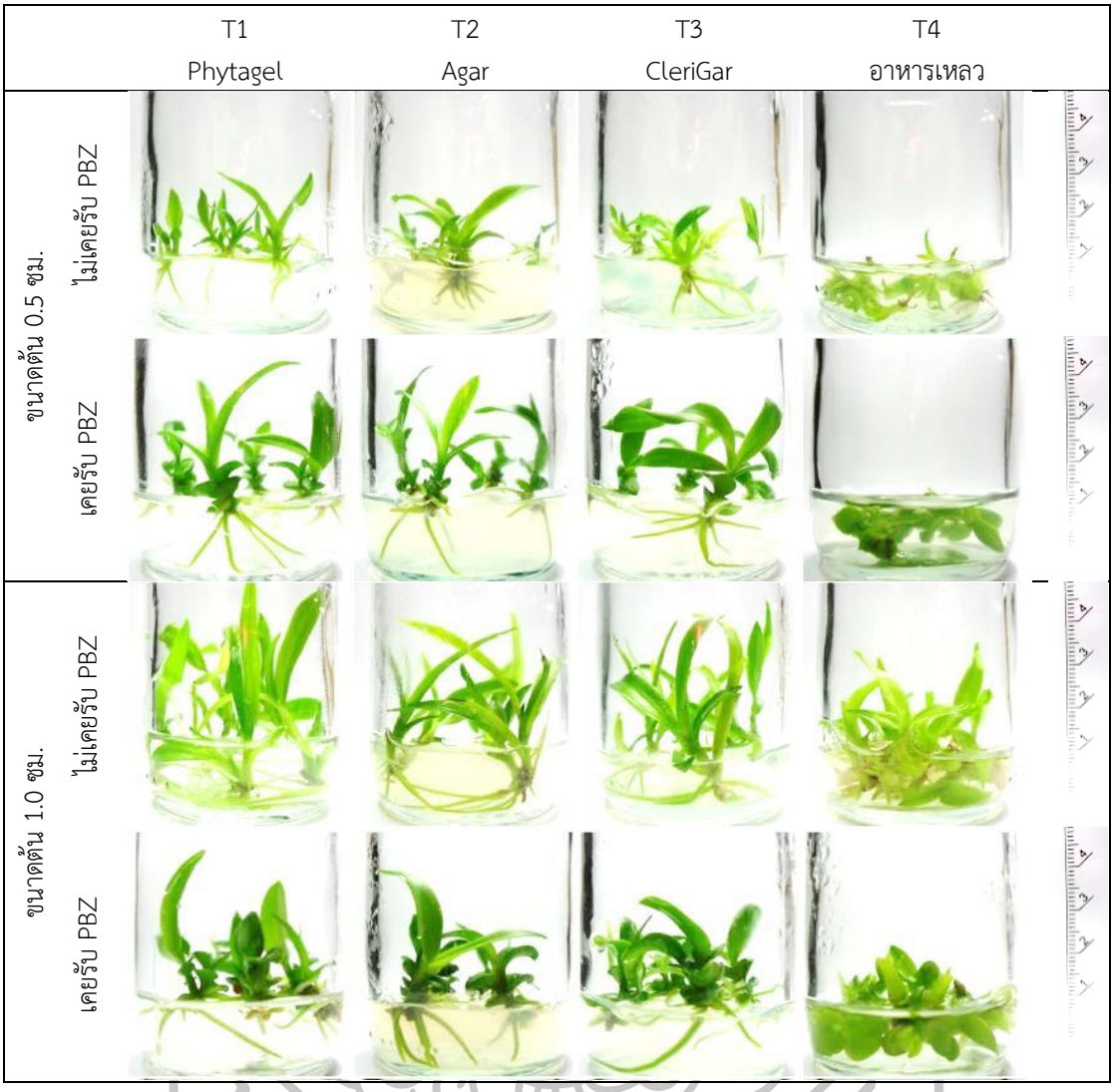
การทดลองที่ 2.2 ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นเปรียบเทียบกับอาหารเหลวต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่เคยและไม่เคยได้รับ PBZ มาก่อนในหลอดทดลอง

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex และต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน ความสูงเฉลี่ย 0.5 และ 1.0 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด เปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นระยะเวลา 2 เดือน เมื่อเปรียบเทียบขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. พบว่าต้นขนาด 1.0 ซม. เจริญเติบโตดีกว่าต้นขนาด 0.5 ซม. โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 554.7 และ 34.5 มก.ต่อกอ 2.5 ต้นและ 5.5 รากตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 16) เมื่อเปรียบเทียบต้นที่เคยหรือไม่เคยได้รับ PBZ พบว่าต้นที่เคยได้รับ PBZ ให้การเจริญเติบโตดีกว่าต้นที่ไม่เคยได้รับ โดยให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง เฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 417.0 และ 31.0 มก.ต่อกอตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าต้นที่ไม่เคยได้รับ PBZ ให้จำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 2.6 ต้นและ 5.2 ราก (ตารางที่ 16) เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารเหลว (T4) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 534.5 และ 41.6 มก.ต่อกอและ 3.7 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่า Phytagel (T1) และ CleriGar (T3) ให้จำนวนรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 6.0 รากแตกต่างกันทางสถิติกับอาหารสูตรอื่นๆ (ตารางที่ 16) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. ที่เคยได้รับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน กับต้นที่ไม่เคยได้รับ PBZ ผลการทดลองพบว่าต้นขนาด 1.0 ซม. ที่เคยได้รับ PBZ ในอาหารเหลวให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 943.1 และ 71.3 มก.ต่อกอและ 4.6 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าต้นขนาด 1.0 ซม. ที่ไม่เคยได้รับ PBZ ในอาหารเหลวให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 7.2 รากแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับต้นขนาด 0.5 ซม. ที่เคยได้รับ PBZ ในอาหารที่มี Phytagel และ CleriGar (ตารางที่ 16 และรูปที่ 14)

ตารางที่ 16 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ที่เคยและไม่เคยได้รับ PBZ มาก่อน ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. บนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

ขนาดต้น (ซม.)	เคยรับ PBZ	อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อกอ)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อกอ)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อกอ
0.5			237.8 b	16.6 b	2.2 b	4.9 b
1.0			554.7 a	34.5 a	2.5 a	5.5 a
F-test			*	*	*	*
	ไม่เคย		321.6 b	20.2 b	2.6 a	5.2 a
	เคย		471.0 a	31.0 a	2.1 b	5.1 b
	F-test		*	*	*	ns
		T1 (Phytagel)	410.3 b	21.9 b	2.1 b	6.0 a
		T2 (Agar)	299.5 d	18.1 c	1.7 c	5.5 b
		T3 (CleriGar)	340.9 c	20.7 b	2.0 b	6.0 a
		T4 (liquid)	534.5 a	41.6 a	3.7 a	3.3 c
		F-test	*	*	*	*
0.5	ไม่เคย	T1	150.3 hi	8.5 h	2.5 d	5.7 def
		T2	106.3 i	6.5 h	2.0 ef	5.0 ef
		T3	152.3 hi	8.5 h	2.5 d	5.9 bcde
		T4	189.2 h	18.2 g	3.9 b	0.7 h
	เคย	T1	340.7 efg	19.0 fg	1.4 gh	6.7 abc
		T2	281.2 g	17.8 g	1.1 h	6.2 bcd
		T3	315.2 fg	19.0 fg	1.2 h	6.7 ab
		T4	367.6 def	35.3 c	3.3 c	2.4 g
1.0	ไม่เคย	T1	484.6 c	26.8 de	2.4 d	6.0 bcd
		T2	420.3 cd	24.8 de	2.3 de	5.8 cdef
		T3	431.5 cd	26.2 de	2.5 d	5.9 bcde
		T4	638.0 b	41.7 b	3.0 c	7.2 a
	เคย	T1	665.8 b	33.3 c	2.0 ef	5.8 bcdef
		T2	390.2 de	23.1 ef	1.4 gh	4.9 f
		T3	464.5 c	29.1 d	1.7 fg	5.7 def
		T4	943.1 a	71.3 a	4.6 a	3.0 g
		F-test	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=20)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 14 *D.* Fleischeri ที่เคยและไม่เคยได้รับ PBZ มาก่อน ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

การทดลองที่ 2.3 ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลและขนาดต้นเปรียบเทียบกับอาหารเหลวต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ที่ได้รับ PBZ มาก่อน ในหลอดทดลอง

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน ความสูงเฉลี่ย 0.5 และ 1.0 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด เปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นระยะเวลา 2 เดือน เมื่อเปรียบเทียบขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. พบว่าต้นขนาด 1.0 ซม. เจริญเติบโตดีกว่าต้นขนาด 0.5 ซม. โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 591.0 และ 36.9 มก.ต่อกอและ 2.5 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ แต่ต้นขนาด 0.5 ซม. ให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 7.4 ราก (ตารางที่ 17) เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่าอาหารเหลว (T4) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุดโดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 584.9 และ 46.3 มก.ต่อกอและ 4.0 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ดีพบว่าอาหารเหลวให้จำนวนรากเฉลี่ยรวมน้อยที่สุดเท่ากับ 4.0 รากแต่ Phytagel (T1) ให้จำนวนรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 8.9 รากแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 17) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดต้นและสูตรอาหารพบว่าต้นขนาด 1.0 ซม. เจริญเติบโตดีที่สุดในอาหารเหลว โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 842.6 และ 62.2 มก.ต่อกอและ 4.3 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ดีพบว่าต้นขนาด 0.5 และ 1.0 ซม. ในอาหารที่มี Phytagel ให้จำนวนรากมากที่สุดแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 17 และรูปที่ 15)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 17 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ขนาดต้น 0.5 และ 1.0 ซม. ที่ได้รับ PBZ ก่อนย้ายไปอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

ขนาดต้น (ซม.)	อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อกอ)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อกอ)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อกอ
0.5		279.2 b	19.0 b	2.0 b	7.4 a
1.0		591.0 a	36.9 a	2.5 a	6.7 b
F-test		*	*	*	*
	T1 (Phytagel)	457.9 b	24.7 b	1.8 b	8.9 a
	T2 (Agar)	353.6 c	20.6 c	1.6 b	7.8 b
	T3 (CleriGar)	344.1 c	20.3 c	1.7 b	7.4 b
	T4 (liquid)	584.9 a	46.3 a	4.0 a	4.0 c
	F-test	*	*	*	*
0.5	T1	301.8 de	16.7 d	1.5 d	9.3 a
	T2	254.9 de	14.7 d	1.5 d	8.1 bc
	T3	233.1 e	14.3 d	1.5 d	7.9 bc
	T4	327.1 d	30.5 bc	3.7 b	4.2 e
1.0	T1	614.0 b	32.7 b	2.1 c	8.6 ab
	T2	452.2 c	26.5 c	1.7 d	7.5 cd
	T3	455.0 c	26.4 c	1.8 cd	6.9 d
	T4	842.6 a	62.2 a	4.3 a	3.7 e
	F-test	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=30)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

รูปที่ 15 *D.* Judy Rutz ขนาดต้น 0.5 ซม. (บน) และ 1.0 ซม. (ล่าง) ที่ได้รับ PBZ ก่อนย้ายไปอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

ตอนที่ 3 ผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

การทดลองที่ 3.1 ผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดรากและไม่ตัดราก เป็นระยะเวลา 2 เดือน

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่ตัดรากและไม่ตัดราก ความสูงเฉลี่ย 2.0 ซม. มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า *D. discolor* ที่ตัดรากและได้รับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm มีอัตราการรอดเท่ากับ 93.8, 87.5, 90.0 และ 50.0% ตามลำดับ ที่ไม่ตัดรากมีอัตราการรอดเท่ากับ 100, 100, 97.5 และ 90.0% ตามลำดับ ส่วน *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz มีอัตราการรอดเท่ากับ 100%

เมื่อเปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้พบว่า *D.* Fleischeri มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 1.17 และ 0.06 กรัมต่อกอและ 3.18 ต้นต่อกอตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติ รองลงมาคือ *D.* Judy Rutz สำหรับ *D. discolor* พบว่ามีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (ตารางที่ 18) เมื่อเปรียบเทียบการตัดหรือไม่ตัดรากพบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น และจำนวนราก (ตารางที่ 18) เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของ PBZ พบว่า PBZ 0.5 ppm (T2) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยรวมเท่ากับ 1.08 และ 0.06 กรัมต่อกอ 3.37 ต้นต่อกอและ 10.27 รากต่อกอตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 1.0 ppm (T3) และ PBZ 2.0 ppm (T4) (ตารางที่ 18)

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการตัดหรือไม่ตัดรากและความเข้มข้นของ PBZ สำหรับ *D. discolor* ที่ตัดรากหรือไม่ตัดรากพบว่า PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยต้นที่ตัดรากให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนรากเท่ากับ 0.84 และ 0.05 กรัมต่อกอและ 16.70 รากต่อกอตามลำดับ ส่วนต้นที่ไม่ตัดรากให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นเท่ากับ 0.79 และ 0.05 กรัมต่อกอและ 4.10 ต้นต่อกอตามลำดับ (ตารางที่ 18 และรูปที่ 16)

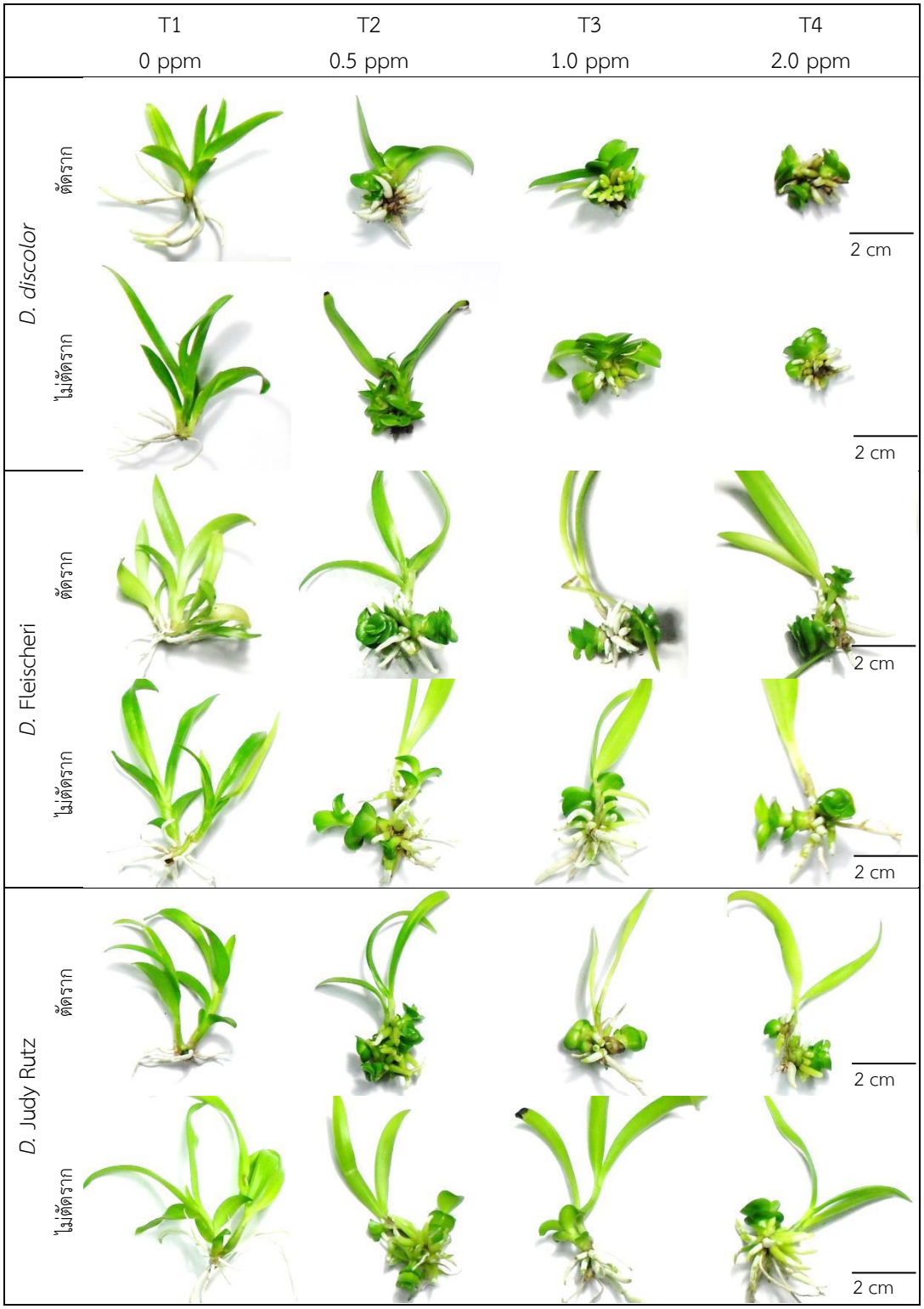
สำหรับ *D.* Fleischeri ที่ตัดรากหรือไม่ตัดรากพบว่า PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยต้นที่ตัดรากให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเท่ากับ 1.46 และ 0.07 กรัมต่อกอ 3.50 ต้นต่อกอและ 10.00 รากต่อกอตามลำดับ ส่วนต้นที่ไม่ตัดรากให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเท่ากับ 1.41 และ 0.07 กรัมต่อกอ 3.40 ต้นต่อกอและ 11.10 รากต่อกอตามลำดับ (ตารางที่ 18 และรูปที่ 16)

สำหรับ *D.* Judy Rutz ที่ตัดรากหรือไม่ตัดรากพบว่า PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยต้นที่ตัดรากให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเท่ากับ 0.97 และ 0.05 กรัมต่อกอและ 3.50 ต้นต่อกอและ 8.00 รากต่อกอตามลำดับ ส่วนต้นที่ไม่ตัดรากให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเท่ากับ 1.00 และ 0.05 กรัมต่อกอและ 2.90 ต้นต่อกอและ 10.50 รากต่อกอตามลำดับ (ตารางที่ 18 และรูปที่ 16)

ตารางที่ 18 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดราก ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน

พันธุ์	ตัดราก	PBZ (ppm)	น้ำหนักสด (กรัมต่อกอ)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อกอ)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อกอ
D. discolor			0.72 c	0.04 c	2.71 b	10.79 a
D. Fleischeri			1.17 a	0.06 a	3.18 a	9.39 b
D. Judy Rutz			0.96 b	0.05 b	3.03 a	9.23 b
F-test			*	*	*	*
	ตัด		0.95 a	0.05 a	3.06 a	9.71 a
	ไม่ตัด		0.95 a	0.05 a	2.88 a	9.89 a
	F-test		ns	ns	ns	ns
		T1 (0 ppm)	0.75 b	0.04 c	2.45 c	8.08 c
		T2 (0.5 ppm)	1.08 a	0.06 a	3.37 a	10.27 ab
		T3 (1.0 ppm)	0.97 a	0.05 b	3.07 b	11.12 a
		T4 (2.0 ppm)	1.00 a	0.05 b	3.00 b	9.73 b
		F-test	*	*	*	*
D. discolor	ตัด	T1	0.73 ab	0.05 ab	2.40 bcd	8.60 de
		T2	0.84 a	0.05 a	2.80 bc	16.70 a
		T3	0.77 ab	0.04 ab	2.70 bc	13.30 b
		T4	0.72 ab	0.04 ab	3.00 b	9.90 cd
	ไม่ตัด	T1	0.61 b	0.04 ab	2.00 d	7.10 ef
		T2	0.79 a	0.05 a	4.10 a	5.30 f
		T3	0.70 ab	0.04 ab	2.40 bcd	13.90 b
		T4	0.61 b	0.03 b	2.30 cd	11.50 bc
D. Fleischeri	ตัด	T1	0.89 bc	0.05 cd	2.50 b	7.60 b
		T2	1.46 a	0.07 ab	3.50 a	10.00 ab
		T3	1.11 abc	0.05 bcd	3.20 ab	9.70 ab
		T4	1.33 a	0.06 abc	3.50 a	8.40 ab
	ไม่ตัด	T1	0.80 c	0.04 b	2.60 b	7.90 ab
		T2	1.41 a	0.07 a	3.40 a	11.10 a
		T3	1.20 ab	0.06 abcd	3.50 a	10.90 ab
		T4	1.12 abc	0.06 abcd	3.20 ab	9.50 ab
D. Judy Rutz	ตัด	T1	0.70 d	0.04 b	2.80 bc	7.40 b
		T2	0.97 bcd	0.05 a	3.50 ab	8.00 ab
		T3	0.88 cd	0.05 ab	3.60 a	8.40 ab
		T4	0.96 bcd	0.05 a	3.20 ab	8.50 ab
	ไม่ตัด	T1	0.75 cd	0.05 ab	2.40 c	9.90 ab
		T2	1.00 abc	0.05 a	2.90 abc	10.50 a
		T3	1.17 ab	0.06 a	3.00 abc	10.50 a
		T4	1.26 a	0.06 a	2.80 bc	10.60 a
		F-test	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 16 *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน

การทดลองที่ 3.2 ผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดรากและไม่ตัดราก เป็นระยะเวลา 8 เดือน

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่ตัดรากและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ที่เติมหรือไม่เติม PBZ 0.5 ppm และ sucrose 2.0% (w/v) เป็นระยะเวลา 2 เดือน (จากการทดลองที่ 3.1) มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน เมื่อเปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้พบว่า *D.* Judy Rutz มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนราก ความสูงต้นและ TNC เฉลี่ยรวมเท่ากับ 2.21 และ 0.12 กรัมต่อต้น 7.22 รากต่อต้น 5.67 ซม. และ 80.70 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 19) เมื่อเปรียบเทียบการตัดหรือไม่ตัดรากพบว่าการตัดรากให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนรากและความสูงต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 1.91 และ 0.11 กรัมต่อต้น 6.50 รากต่อต้น และ 4.45 ซม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 19) เมื่อเปรียบเทียบอาหารที่มีหรือไม่มี PBZ พบว่า PBZ 0.5 ppm (T2) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก และ TNC เฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 1.97 และ 0.11 กรัมต่อต้น 3.8 ต้นต่อกอ 6.59 รากต่อต้นและ 78.00 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่า PBZ 0 ppm (T1) ให้ความสูงต้นเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 4.55 ซม.แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 19)

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการตัดหรือไม่ตัดรากและอาหารที่มีหรือไม่มี PBZ สำหรับ *D. discolor* พบว่าต้นที่ตัดรากในอาหารที่มี PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก ความสูงต้นและ TNC มากที่สุดเท่ากับ 1.59 และ 0.09 กรัมต่อต้น 4.33 ต้นต่อกอ 7.33 รากต่อต้น 3.09 ซม. และ 77.21 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับ (ตารางที่ 19 และรูปที่ 17)

สำหรับ *D.* Fleischeri พบว่าต้นที่ตัดรากในอาหารที่มี PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนรากและ TNC มากที่สุดเท่ากับ 2.17 และ 0.11 กรัมต่อต้น 3.67 ต้นต่อกอ 5.93 รากต่อต้นและ 83.09 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับ อย่างไรก็ดี ต้นที่ตัดรากในอาหารที่ไม่มี PBZ ให้ความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 4.91 ซม.แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ไม่ตัดราก (ตารางที่ 19 และรูปที่ 17)

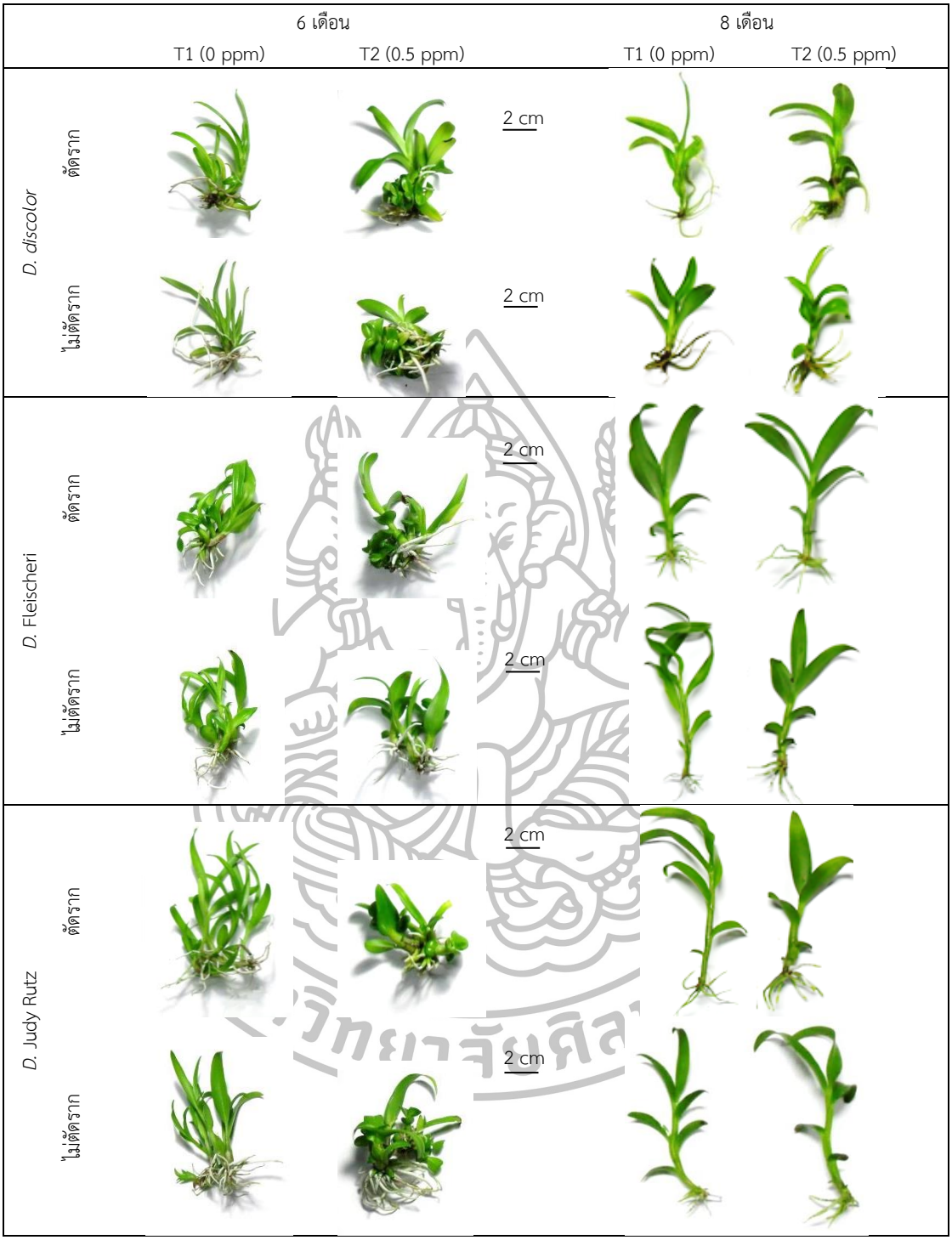
สำหรับ *D.* Judy Rutz พบว่าต้นที่ไม่ตัดรากในอาหารที่มี PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนรากและ TNC เท่ากับ 2.43 และ 0.13 กรัมต่อต้น 4.07 ต้นต่อกอ 7.80 รากต่อต้นและ 105.15 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับ อย่างไรก็ดี ต้นที่ตัดรากในอาหารที่ไม่มี PBZ ให้ความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 6.45 ซม.แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ไม่ตัดราก (ตารางที่ 19 และรูปที่ 17)

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ด้วยวิธีการนี้ครบ 8 เดือน ในต้นกล้วยไม้ที่เคยได้รับ PBZ 0.5 ppm นอกเหนือจากการเพิ่มน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งแล้ว ยังสามารถเพิ่มจำนวนต้นของ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz จาก 1 ต้นเป็น 31, 18 และ 25 ต้นตามลำดับ โดยมีการเปลี่ยนอาหารทุกๆ 2 เดือน

ตารางที่ 19 การเจริญเติบโตและปริมาณ TNC ของต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน

พันธุ์	ตัดราก	PBZ (ppm)	น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น)	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรากต่อต้น	ความสูงต้น (ซม.)	TNC (mg glucose eq/ g.dry wt.)
D. discolor			1.12 c	0.07 c	3.68 a	5.52 b	2.86 c	65.53 c
D. Fleischeri			1.86 b	0.10 b	3.63 a	5.65 b	4.40 b	70.04 b
D. Judy Rutz			2.21 a	0.12 a	3.58 a	7.22 a	5.67 a	80.70 a
F-test			*	*	ns	*	*	*
	ตัด		1.91 a	0.11 a	3.63 a	6.50 a	4.45 a	68.93 b
	ไม่ตัด		1.55 b	0.09 b	3.63 a	5.76 b	4.18 b	75.25 a
	F-test		*	*	ns	*	*	*
		T1 (0 ppm)	1.50 b	0.08 b	3.43 b	5.67 b	4.55 a	66.18 b
		T2 (0.5 ppm)	1.97 a	0.11 a	3.83 a	6.59 a	4.08 b	78.00 a
		F-test	*	*	*	*	*	*
D. discolor	ตัด	T1	1.03 b	0.06 b	3.60 b	4.87 bc	2.87 ab	33.46 b
		T2	1.59 a	0.09 a	4.33 a	7.33 a	3.09 a	77.21 a
	ไม่ตัด	T1	0.77 c	0.05 c	3.27 b	4.27 c	2.68 b	77.94 a
		T2	1.08 b	0.07 b	3.53 b	5.60 b	2.82 ab	73.53 a
D. Fleischeri	ตัด	T1	1.97 a	0.10 ab	3.27 b	5.93 a	4.91 a	78.68 a
		T2	2.17 a	0.11 a	3.67 ab	5.93 a	4.01 b	83.09 a
	ไม่ตัด	T1	1.42 b	0.08 b	3.73 ab	5.47 a	4.64 ab	63.60 b
		T2	1.88 a	0.11 a	3.87 a	5.27 a	4.05 b	54.78 c
D. Judy Rutz	ตัด	T1	2.04 b	0.12 b	3.40 b	7.33 a	6.45 a	66.91 c
		T2	2.65 a	0.14 a	3.53 b	7.60 a	5.35 b	74.26 b
	ไม่ตัด	T1	1.74 b	0.09 c	3.33 b	6.13 a	5.73 ab	76.47 b
		T2	2.43 a	0.13 ab	4.07 a	7.80 a	5.14 b	105.15 a
		F-test	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=15 ยกเว้น TNC n=5)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 17 *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ตัดและไม่ตัดรากในอาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 6 เดือน (ด้านซ้าย) และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน (ด้านขวา)

การทดลองที่ 3.3 ผลของ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม.

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่ไม่ตัดราก ความสูงเฉลี่ย 2.0 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม.มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน

เมื่อเปรียบเทียบเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม.พบว่าต้นกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนราก ความสูงต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ดีพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 ซม. ให้ TNC เฉลี่ยรวมเท่ากับ 100.46 mg glucose eq/g.dry wt. แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 20 และรูปที่ 18) เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของ PBZ พบว่า PBZ 1.0 ppm (T3) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนรากและ TNC เฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 2.48 และ 0.14 กรัมต่อต้น 8.17 รากต่อต้นและ 109.19 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5 ppm (T2) น้ำหนักแห้งและจำนวนรากไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5 และ 2.0 ppm (T4) นอกจากนี้ยังพบว่าความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0 ppm (T1), 0.5 และ 2.0 ppm (ตารางที่ 20 และรูปที่ 18)

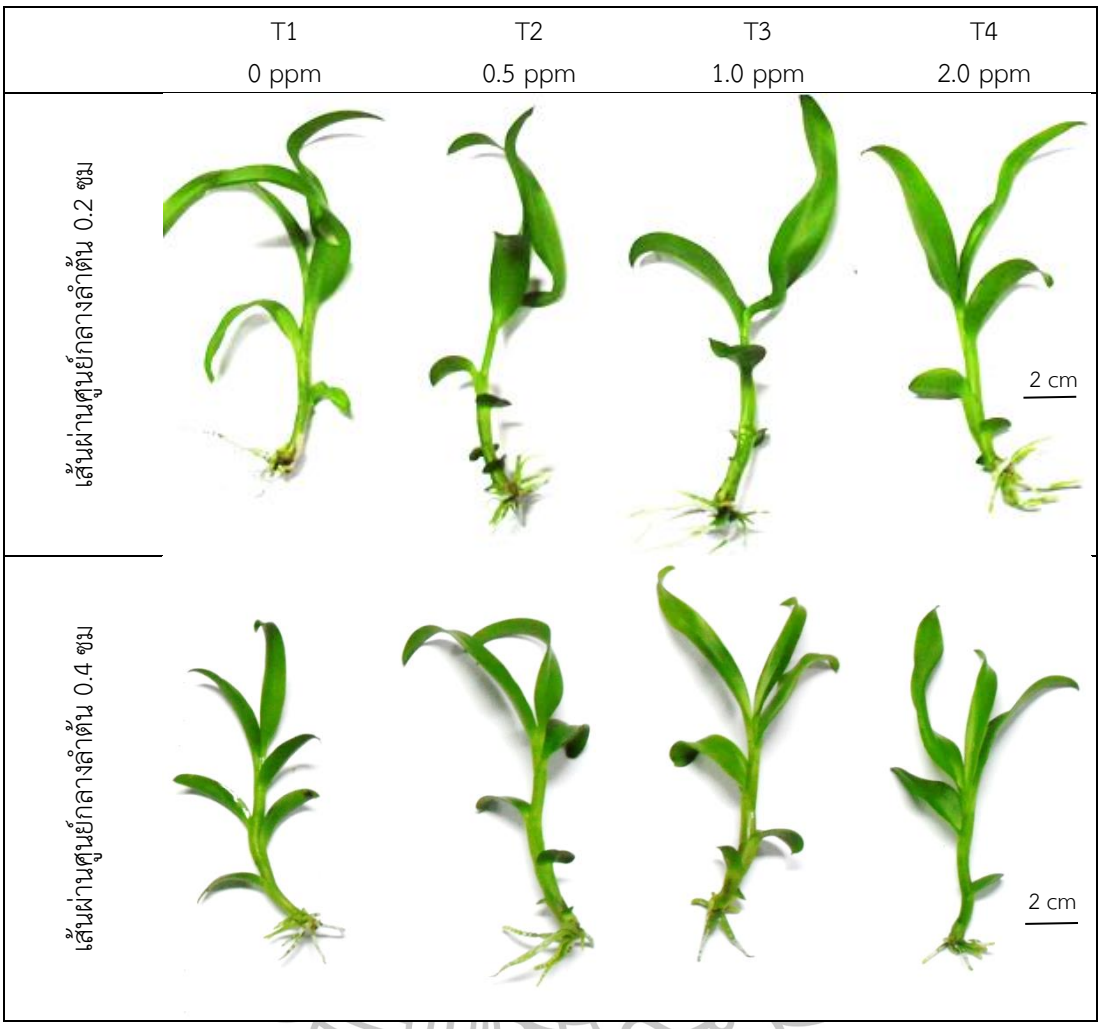
เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นและความเข้มข้นของ PBZ พบว่าสำหรับเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 ซม. ในอาหารที่มี PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนราก ความสูงต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บีและแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.52 และ 0.13 กรัมต่อต้น 7.80 รากต่อต้น 5.26 ซม. 25.86, 9.07 และ 6.17 µg/mL of extract ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 ซม. ในอาหารที่มี PBZ 1.0 ppm ให้ TNC มากที่สุดเท่ากับ 126.84 mg glucose eq/g.dry wt. แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 20 และรูปที่ 18) อย่างไรก็ตามพบว่า PBZ 0.5 ppm ยังทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.4 ซม. ให้การเจริญเติบโตดีกว่า PBZ 0, 1.0 และ 2.0 ppm โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนราก ความสูงต้น และ TNC เท่ากับ 2.43 และ 0.13 กรัมต่อต้น 7.80 รากต่อต้น 5.14 ซม. และ 105.15 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับ (ตารางที่ 20 และรูปที่ 18)

ตารางที่ 20 การเจริญเติบโตและปริมาณ TNC ของต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม. ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ ต่อด้วยอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm และสุดท้ายอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ อย่างละ 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน

ลำต้น (ซม.)	PBZ (ppm)	น้ำหนักสด (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อต้น)	จำนวนราก ต่อต้น	ความสูงต้น (ซม.)	คลอโรฟิลล์ เอ (µg/mL of extract)	คลอโรฟิลล์ บี (µg/mL of extract)	แคโรทีนอยด์ (µg/mL of extract)	TNC (mg glucose eq/ g.dry wt.)
0.2		2.29 a	0.13 a	7.68 a	5.20 a	19.77 a	6.35 a	5.29 a	100.46 a
0.4		2.12 a	0.12 a	7.08 a	5.12 a	19.45 a	5.90 a	5.29 a	90.44 b
F-test		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
	T1 (0 ppm)	1.70 c	0.10 b	6.23 b	5.40 a	21.16 a	6.45 a	5.86 a	70.59 c
	T2 (0.5 ppm)	2.47 a	0.13 a	7.80 a	5.20 a	21.06 a	6.65 a	5.43 b	99.63 b
	T3 (1.0 ppm)	2.48 a	0.14 a	8.17 a	5.07 a	18.11 b	5.85 a	4.89 c	109.19 a
	T4 (2.0 ppm)	2.15 b	0.12 a	7.33 a	4.97 a	18.11 b	5.55 a	4.99 c	102.39 b
	F-test	*	*	*	ns	*	ns	*	*
0.2	T1	1.66 c	0.10 cd	6.33 b	5.08 ab	20.42 bc	6.25 bc	5.81 a	64.71 f
	T2	2.52 ab	0.13 ab	7.80 ab	5.26 ab	25.86 a	9.07 a	6.17 a	94.12 d
	T3	2.75 a	0.16 a	8.87 a	5.26 ab	15.73 d	4.85 bc	4.44 c	126.84 a
	T4	2.21 b	0.12 bc	7.73 ab	5.22 ab	17.07 d	5.23 bc	4.74 c	116.18 b
0.4	T1	1.74 c	0.09 d	6.13 b	5.73 a	21.90 b	6.66 bc	5.91 a	76.47 e
	T2	2.43 ab	0.13 abc	7.80 ab	5.14 ab	16.27 d	4.23 c	4.68 c	105.15 c
	T3	2.21 b	0.13 bc	7.47 ab	4.89 b	20.49 bc	6.85 ab	5.33 b	91.54 d
	T4	2.09 bc	0.12 bc	6.93 b	4.73 b	19.14 c	5.87 bc	5.23 b	88.60 d
	F-test	*	*	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=15 ยกเว้น TNC n=5)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 18 *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม. ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ ต่อด้วยอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm และสุดท้ายอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ อย่างละ 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน

ตอนที่ 4 การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง

การทดลองที่ 4.1 ผลของ PBZ ต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

เมื่อนำตาข้างของ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้พบว่า *D.* Judy Rutz มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 216.6 และ 37.0 มก.ต่อตา 2.6 ต้นและ 4.9 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ *D.* Fleischeri (ตารางที่ 21) เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของ PBZ พบว่าอาหารที่ไม่มี PBZ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 192.5 และ 31.6 มก.ต่อตา 2.3 ต้นและ 4.7 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5 ppm (T2) (ตารางที่ 21)

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กล้วยไม้และความเข้มข้นของ PBZ สำหรับ *D. discolor* พบว่าอาหารที่ไม่มี PBZ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 106.1 และ 10.7 มก.ต่อตา 1.7 ต้นและ 2.6 มม.ตามลำดับ แต่น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5 ppm จำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm นอกจากนี้อาหารที่ไม่มี PBZ ยังให้อัตราการรอดเท่ากับ 43.75% (ตายหรือมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ 35 ตาจาก 80 ตา) PBZ 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm ให้อัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 37.50, 18.75 และ 18.75% ตามลำดับ (ตาข้างที่รอดชีวิตบางส่วนมีสีน้ำตาล) (ตารางที่ 21 และรูปที่ 19)

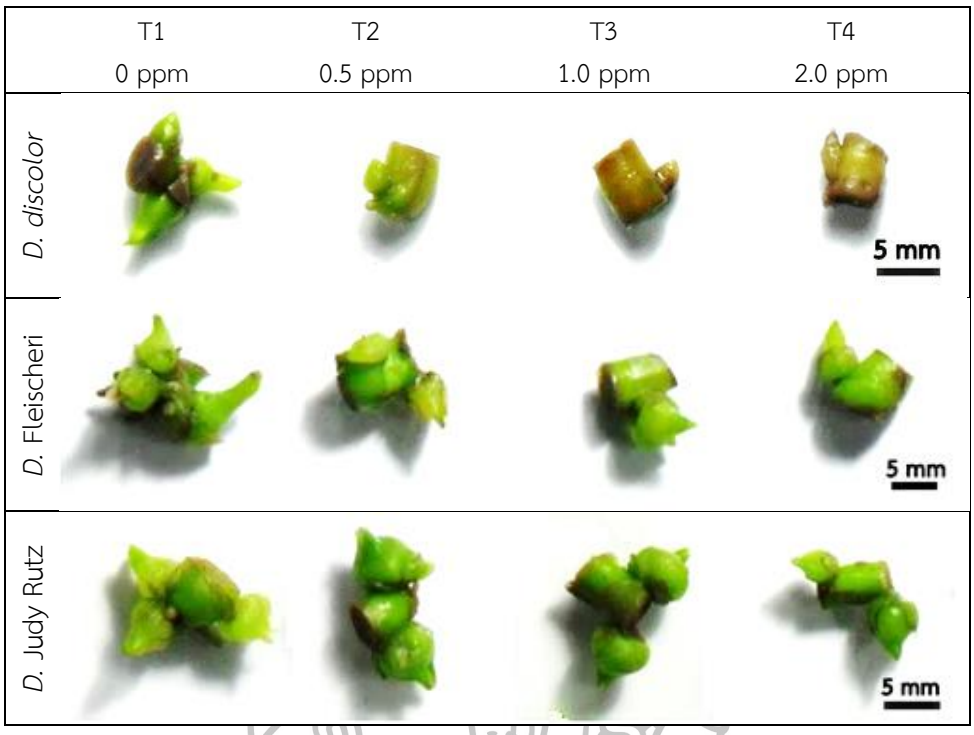
สำหรับ *D.* Fleischeri พบว่าอาหารที่ไม่มี PBZ ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 209.7 และ 39.9 มก.ต่อตา 2.2 ต้นและ 6.3 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักสดและจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5 ppm นอกจากนี้แต่ละสูตรอาหารยังให้อัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน (70-80% จากทั้งหมด 40 ตา) (ตารางที่ 21 และรูปที่ 19)

สำหรับ *D.* Judy Rutz พบว่าอาหารที่ไม่มี PBZ ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้นเท่ากับ 261.9 และ 44.3 มก.ต่อตา 2.9 ต้นและ 5.2 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5 ppm จำนวนต้นและความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ PBZ 0.5 และ 1.0 ppm อย่างไรก็ดีอาหารทุกสูตรให้อัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 100% (ตารางที่ 21 และรูปที่ 19)

ตารางที่ 21 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

พันธุ์	PBZ	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อตา)	จำนวนต้นต่อตา	ความสูงต้นเฉลี่ย (มม.)
D. discolor		86.8 c	8.7 c	1.4 c	2.0 b
D. Fleischeri		176.9 b	31.9 b	1.7 b	5.1 a
D. Judy Rutz		216.6 a	37.0 a	2.6 a	4.9 a
F-test		*	*	*	*
	T1 (0 ppm)	192.5 a	31.6 a	2.3 a	4.7 a
	T2 (0.5 ppm)	164.2 b	25.9 b	2.0 ab	4.1 b
	T3 (1.0 ppm)	145.1 bc	23.7 bc	1.8 b	4.0 b
	T4 (2.0 ppm)	138.5 c	22.2 c	1.6 b	3.4 c
	F-test	*	*	*	*
D. discolor	T1	106.1 a	10.7 a	1.7 a	2.6 a
	T2	92.9 ab	9.1 ab	1.5 a	2.2 ab
	T3	78.0 bc	7.9 b	1.3 a	1.8 bc
	T4	70.2 c	7.0 b	1.1 a	1.5 c
D. Fleischeri	T1	209.7 a	39.9 a	2.2 a	6.3 a
	T2	184.8 ab	33.5 b	1.7 ab	5.3 b
	T3	158.1 b	26.7 c	1.5 b	4.9 b
	T4	155.1 b	27.5 c	1.6 b	4.0 c
D. Judy Rutz	T1	261.9 a	44.3 a	2.9 a	5.2 ab
	T2	214.9 ab	35.1 b	2.7 ab	4.7 ab
	T3	199.2 b	36.6 b	2.7 ab	5.3 a
	T4	190.3 b	32.1 b	2.1 b	4.6 b
	F-test	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 19 ตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

การทดลองที่ 4.2 ผลของสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้ *D.* Fleischeri

เมื่อนำตาข้าง *D.* Fleischeri ที่ได้จากอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm ขนาด 0.5 ซม. มาเลี้ยงในอาหาร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด เปรียบเทียบอาหารเหลวที่เขย่า 120 รอบต่อนาทีและไม่เขย่า เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารเหลวที่ไม่เขย่า (T4) สามารถเพิ่มปริมาณกล้วยไม้ได้ดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นเท่ากับ 225.2 และ 23.9 มก.ต่อตา และ 3.0 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับ Phytagel (T1) จำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ Phytagel, CleriGar (T3) และอาหารเหลวที่เขย่า (T5) อย่างไรก็ตามไม่พบว่ามีรากเกิดขึ้นในอาหารเหลวที่ไม่เขย่าและไม่เขย่า แต่พบว่าอาหารกึ่งแข็งทั้ง Phytagel, Agar (T2) และ CleriGar มีรากเกิดขึ้นแต่ไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างอาหาร Phytagel, Agar และ CleriGar อย่างไรก็ดีพบว่า Phytagel ให้ความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 7.8 มม.แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ CleriGar (ตารางที่ 22 และรูปที่ 20)

ตารางที่ 22 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Fleischeri ในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อตา)	จำนวนต้น ต่อตา	จำนวนราก ต่อตา	ความสูงต้น เฉลี่ย (มม.)	ความยาวราก เฉลี่ย (มม.)
T1 (Phytagel)	250.6 a	20.1 b	2.9 ab	2.5 a	7.8 a	4.4 a
T2 (Agar)	157.3 c	12.3 d	2.5 b	2.4 a	6.5 b	4.5 a
T3 (CleriGar)	190.2 bc	15.4 c	2.6 ab	2.5 a	7.3 a	4.5 a
T4 (liquid, ไม่เขย่า)	225.2 ab	23.9 a	3.0 a	0.0 b	6.0 b	0.0 b
T5 (liquid, เขย่า)	169.6 c	18.2 bc	2.9 ab	0.0 b	4.1 c	0.0 b
F-test	*	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=30)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

T1 Phytagel | T2 Agar | T3 CleriGar | T4 เหลว, ไม่เขย่า | T5 เหลว, เขย่า

รูปที่ 20 ตาข้าง *D.* Fleischeri ในอาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 4.3 ผลของปริมาตรของอาหารเหลวและจำนวนตาข้างต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Fleischeri

เมื่อนำตาข้าง *D.* Fleischeri ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน จำนวน 1 และ 5 ตาข้างต่อขวด มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ปริมาตรของอาหารเหลวต่อขวดเท่ากับ 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนตาข้างต่อขวดพบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต โดยให้น้ำหนักสด จำนวนต้นและความสูงต้นเฉลี่ยรวมไม่แตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ดีจำนวน 5 ตาต่อขวดให้จำนวนราก 0.1 ราก แต่จำนวน 1 ตาต่อขวดไม่มีรากเกิดขึ้น (ตารางที่ 23)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาตรอาหารพบว่าอาหาร 20 มิลลิลิตร (T4) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด จำนวนต้นและความสูงต้นเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 185.8 มก.ต่อตา 1.7 ต้นและ 6.1 มม.ตามลำดับแต่น้ำหนักสดและความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหาร 10 มิลลิลิตร (T2) และ 15 มิลลิลิตร (T3) จำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหาร 5 (T1), 10 และ 15 มิลลิลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าอาหาร 5 มิลลิลิตรให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 0.2 รากแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 23)

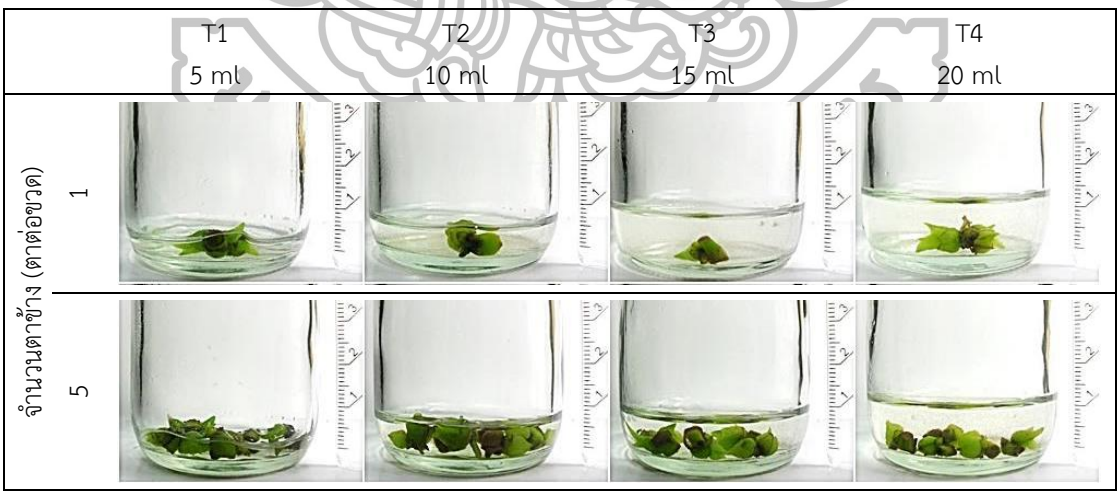
เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนตาข้างต่อขวดและปริมาตรอาหารพบว่าจำนวน 1 ตาต่อขวดในอาหาร 20 มิลลิลิตร ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด จำนวนต้นและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 238.9 มก.ต่อตา 2.1 ต้นและ 6.9 มม.ตามลำดับแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับจำนวน 5 ตาต่อขวดในอาหาร 10 มิลลิลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติ (1.4-2.1 ต้น) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวน 5 ตาต่อขวดในอาหาร 5 มิลลิลิตร ให้จำนวนราก 0.4 รากแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 23 และรูปที่ 21)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 23 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Fleischeri จำนวน 1 และ 5 ตาต่อขวด ในอาหารเหลว Hyponex ปริมาตร 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

จำนวนตาข้าง (ตาต่อขวด)	ปริมาตรอาหาร (ml)	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	จำนวนต้นต่อตา	จำนวนรากต่อตา	ความสูงต้นเฉลี่ย (มม.)
1		170.6 a	1.6 a	0.0 b	5.6 a
5		156.1 a	1.5 a	0.1 a	5.6 a
F-test		ns	ns	*	ns
	T1 (5 ml)	142.5 b	1.5 a	0.2 a	5.0 b
	T2 (10 ml)	165.8 ab	1.6 a	0.1 b	5.6 ab
	T3 (15 ml)	159.3 ab	1.6 a	0.0 b	5.6 ab
	T4 (20 ml)	185.8 a	1.7 a	0.0 b	6.1 a
	F-test	*	ns	*	*
1	T1	144.4 bc	1.5 ab	0.0 b	4.8 c
	T2	137.4 c	1.5 ab	0.0 b	4.9 c
	T3	161.5 bc	1.4 ab	0.0 b	5.6 bc
	T4	238.9 a	2.1 a	0.0 b	6.9 a
5	T1	140.4 c	1.5 ab	0.4 a	5.2 c
	T2	194.1 ab	1.6 ab	0.1 b	6.3 ab
	T3	157.0 bc	1.8 ab	0.0 b	5.6 bc
	T4	132.7 c	1.2 b	0.0 b	5.3 c
	F-test	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 21 ตาข้าง *D.* Fleischeri จำนวน 1 และ 5 ตาต่อขวด ในอาหารเหลว Hyponex ปริมาตร 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

การทดลองที่ 4.4 ผลของอาหารเหลวสูตรต่างๆ น้ำตาลซูโครสและระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

เมื่อนำตาข้าง *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรต่างๆ ที่มีและไม่มี sucrose 2.0% (w/v) โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้พบว่า *D.* Judy Rutz มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 400.4 และ 32.9 มก.ต่อตา 3.0 ต้น และ 1.9 รากตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 24) เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารพบว่าทุก 4 สัปดาห์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 239.7 และ 19.3 มก.ต่อตา 2.5 ต้นและ 0.9 รากตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักแห้งและจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 24) เมื่อเปรียบเทียบอาหารที่มีหรือไม่มีน้ำตาลซูโครสพบว่าอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยรวมเท่ากับ 262.6 และ 30.3 มก.ต่อตา 2.7 ต้นและ 0.7 รากตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นจำนวนรากไม่แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 24) เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารพบว่า Hyponex (T2) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 319.5 และ 26.4 มก.ต่อตาและ 3.0 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ water (T4) อย่างไรก็ตามพบว่า water ให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 1.8 รากแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 24)

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหาร อาหารที่มีหรือไม่มีน้ำตาลซูโครสและสูตรอาหาร สำหรับ *D. discolor* พบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water (T4) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยตาข้างที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water จะมีสีเขียวสดกว่าตาข้างที่เลี้ยงในอาหารสูตรอื่น โดยเฉพาะอาหารสูตรปุ๋ยนูตราฟอสทำให้ตายภายใน 1 เดือน และอาหารสูตร Hyponex (T2) กับ VW (T3) ตาข้างจะมีสีน้ำตาลและสีดำ นอกจากนี้ยังพบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water (T4) ให้น้ำหนักสด จำนวนต้นและจำนวนรากเท่ากับ 180.8 มก.ต่อตา 4.5 ต้นและ 2.2 รากตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water (T4) ให้น้ำหนักแห้งมากที่สุดเท่ากับ 35.7 มก.ต่อตา แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 24 และรูปที่ 22)

สำหรับ *D. antennatum* พบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water (T4) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยสีของตาข้าง *D. antennatum* เหมือนกับ *D. discolor* คือ ตาข้างที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water จะมีสีเขียวสดกว่าตาข้างที่เลี้ยงในอาหารสูตรอื่น โดยเฉพาะอาหารสูตรปุ๋ยนูตราฟอสทำให้ตายภายใน 1 เดือน และอาหารสูตร Hyponex (T2) กับ VW (T3) ตาข้างจะมีสีน้ำตาลและสีดำ นอกจากนี้ยังพบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water ให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 1.0 รากแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water (T4) ให้จำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 4.4 ต้นแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 24 และรูปที่ 22)

สำหรับ *D.* Fleischeri พบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตร Hyponex (T2) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุดเท่ากับ 480.0 และ 63.4 มก.ต่อตาตามลำดับแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตร Hyponex อย่างไรก็ตามพบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตร water (T4) ให้จำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 3.1 รากแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 24 และรูปที่ 23)

สำหรับ *D.* Judy Rutz พบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตร Hyponex (T2) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 864.3 และ 78.5 มก.ต่อตาและ 6.1 ต้นตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักสดไม่แตกต่างทางสถิติกับการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตร VW (T3) และน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับการเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตร Hyponex (ตารางที่ 24 และรูปที่ 23)

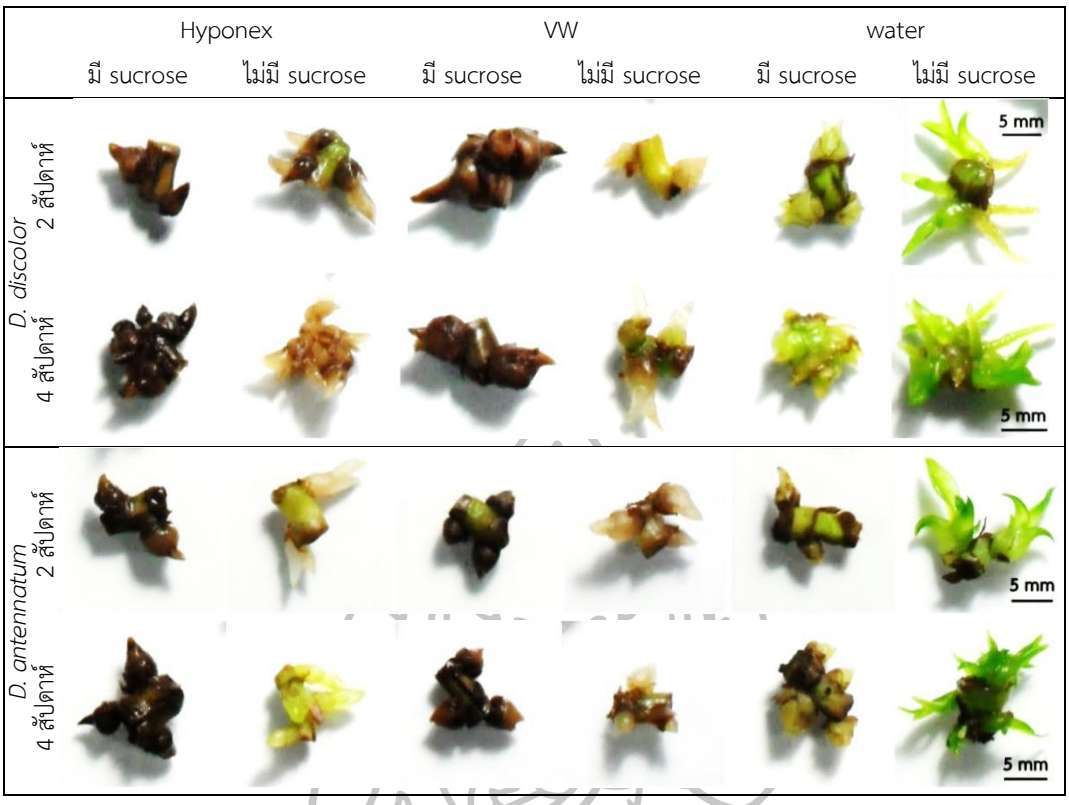
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 24 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

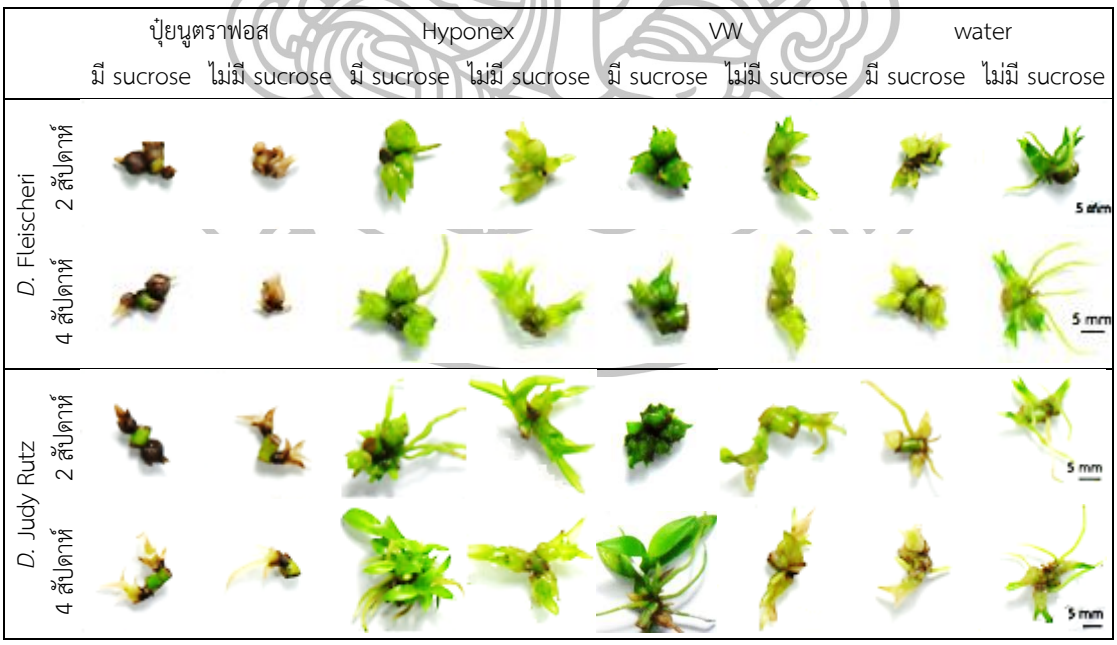
พันธุ์	เปลี่ยนอาหาร (สัปดาห์)	sugar	อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อตา)	จำนวนต้น ต่อตา	จำนวนราก ต่อตา
D. discolor				106.9 c	9.5 c	2.1 c	0.3 c
D. antennatum				91.4 d	7.4 d	2.3 c	0.1 c
D. Fleischeri				311.1 b	27.2 b	2.5 b	0.8 b
D. Judy Rutz				400.4 a	32.9 a	3.0 a	1.9 a
F-test				*	*	*	*
	2			215.2 b	19.1 a	2.4 a	0.7 b
	4			239.7 a	19.3 a	2.5 a	0.9 a
	F-test			*	ns	ns	*
		มี		262.6 a	30.3 a	2.7 a	0.7 a
		ไม่มี		192.3 b	8.2 b	2.2 b	0.8 a
		F-test		*	*	*	ns
			T1 (นูตราฟอส)	83.7 d	6.4 d	0.9 c	0.0 c
			T2 (Hyponex)	319.5 a	26.4 a	3.0 a	0.5 b
			T3 (VW)	298.9 b	22.7 b	2.8 b	0.7 b
			T4 (water)	207.7 c	21.5 c	3.2 a	1.8 a
			F-test	*	*	*	*
D. discolor	2	มี	T1	0.0 e	0.0 g	0.0 h	0.0 b
			T2	126.3 d	10.6 d	1.9 fg	0.0 b
			T3	188.0 ab	15.7 c	2.3 efg	0.0 b
			T4	134.0 cd	28.8 b	3.2 cd	0.0 b
		ไม่มี	T1	0.0 e	0.0 g	0.0 h	0.0 b
			T2	102.7 d	4.5 f	2.5 ef	0.0 b
			T3	118.8 d	6.0 ef	2.0 fg	0.0 b
			T4	166.0 ab	7.5 e	3.3 bc	1.9 a
	4	มี	T1	0.0 e	0.0 g	0.0 h	0.0 b
			T2	127.1 d	11.1 d	1.7 g	0.0 b
			T3	194.3 a	15.9 c	3.0 cde	0.0 b
			T4	157.8 bc	35.7 a	3.9 ab	0.0 b
		ไม่มี	T1	0.0 e	0.0 g	0.0 h	0.0 b
			T2	102.8 d	4.3 f	2.6 def	0.0 b
			T3	112.0 d	4.4 f	2.3 efg	0.0 b
			T4	180.8 ab	7.4 e	4.5 a	2.2 a
D. antennatum	2	มี	T1	0.0 g	0.0 f	0.0 e	0.0 c
			T2	119.4 cd	10.0 d	3.1 bcd	0.0 c
			T3	155.5 b	15.0 b	2.6 cd	0.0 c
			T4	88.5 f	17.1 ab	3.3 b	0.0 c
		ไม่มี	T1	0.0 g	0.0 f	0.0 e	0.0 c
			T2	87.9 f	3.9 e	2.5 cd	0.0 c
			T3	95.2 ef	3.8 e	3.0 bcd	0.0 c
			T4	125.0 c	5.6 e	2.7 bcd	0.7 b
	4	มี	T1	0.0 g	0.0 f	0.0 e	0.0 c
			T2	206.6 a	16.3 ab	3.2 bc	0.0 c
			T3	145.8 b	12.7 c	2.8 bcd	0.0 c
			T4	120.5 cd	17.7 a	4.4 a	0.0 c
		ไม่มี	T1	0.0 g	0.0 f	0.0 e	0.0 c
			T2	106.2 de	5.2 e	2.8 bcd	0.0 c
			T3	92.3 ef	4.7 e	2.6 cd	0.0 c
			T4	119.4 cd	5.8 e	3.1 bcd	1.0 a

พันธุ์	เปลี่ยนอาหาร (สัปดาห์)	sugar	อาหาร	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อตา)	จำนวนต้น ต่อตา	จำนวนราก ต่อตา
D. Fleischeri	2	มี	T1	225.4 h	20.9 d	2.4 bc	0.0 d
			T2	453.8 ab	62.8 a	2.9 abc	0.5 d
			T3	368.6 d	44.7 bc	3.0 ab	0.1 d
			T4	289.3 fg	42.2 c	3.2 a	2.1 b
		ไม่มี	T1	173.0 i	7.5 f	1.5 e	0.0 d
			T2	309.9 efg	14.4 e	2.3 cd	0.6 cd
			T3	347.8 de	13.0 e	2.5 bc	0.5 d
			T4	264.5 gh	12.0 e	2.3 cd	1.5 bc
	4	มี	T1	163.1 i	14.1 e	1.7 de	0.0 d
			T2	480.0 a	63.4 a	3.0 ab	0.8 cd
			T3	420.1 bc	47.7 b	2.9 abc	0.6 cd
			T4	317.9 ef	43.4 bc	2.9 abc	2.0 b
		ไม่มี	T1	85.7 j	3.7 f	1.3 e	0.0 d
			T2	387.6 cd	16.9 de	2.9 abc	0.5 d
			T3	379.3 cd	13.5 e	2.5 bc	0.5 d
			T4	312.0 efg	14.8 e	2.6 abc	3.1 a
D. Judy Rutz	2	มี	T1	238.4 efg	21.7 d	2.3 cdef	0.2 f
			T2	623.6 b	80.1 a	4.6 b	2.4 bcde
			T3	617.5 b	70.9 b	4.9 b	2.0 cdef
			T4	273.3 ef	40.8 c	3.3 cd	1.9 cdef
		ไม่มี	T1	130.5 i	6.8 f	2.1 def	0.0 f
			T2	452.4 c	19.7 de	2.8 cde	0.5 ef
			T3	359.7 d	13.0 ef	2.4 cde	1.6 cdef
			T4	251.1 ef	13.3 ef	2.7 cde	4.3 ab
	4	มี	T1	166.2 ghi	19.5 de	1.9 ef	0.0 f
			T2	864.3 a	78.5 a	6.1 a	2.8 bcd
			T3	833.6 a	71.1 b	3.2 cd	4.8 a
			T4	303.7 de	40.1 c	2.9 cde	3.1 abc
		ไม่มี	T1	157.3 hi	7.8 f	1.2 f	0.0 f
			T2	561.1 b	20.9 de	3.4 c	0.6 ef
			T3	354.7 d	10.6 f	2.5 cde	0.9 def
			T4	218.8 fgh	11.1 f	2.3 cdef	5.0 a
			F-test	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)



รูปที่ 22 ตาข้าง *D. discolor* และ *D. antennatum* ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน



รูปที่ 23 ตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

การทดลองที่ 4.5 ผลของระยะเวลาในการเปลี่ยนจากอาหารเหลวและน้ำเป็นอาหารกึ่งแข็งต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Judy Rutz

เมื่อนำตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เปรียบเทียบกับน้ำ เป็นระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex หรือน้ำ พบว่าอาหารเหลว Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนรากและความสูงต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 328.9 และ 48.1 มก.ต่อตา 2.8 ต้น 2.4 รากและ 7.6 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับตาข้างที่เลี้ยงในน้ำ (ตารางที่ 25) เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารพบว่าเวลา 2 สัปดาห์ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนรากและความสูงต้นเฉลี่ยรวมเท่ากับ 384.1 และ 48.8 มก.ต่อตา 2.7 ต้น 4.2 รากและ 9.2 มม. ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับ 4 สัปดาห์ (T2) จำนวนต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 25)

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex หรือน้ำกับระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหาร พบว่าเวลา 2 สัปดาห์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยตาข้างที่เลี้ยงในน้ำให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนรากและความสูงต้นเท่ากับ 309.1 และ 45.3 มก. ต่อตา 3.6 ต้น 1.4 รากและ 7.7 มม.ตามลำดับแต่น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับ 4 สัปดาห์ จำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ 4 สัปดาห์และ 6 สัปดาห์ (T3) จำนวนรากไม่แตกต่างทางสถิติกับ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ (T4) ความสูงต้นไม่แตกต่างทางสถิติกับ 8 สัปดาห์ ส่วนตาข้างที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนรากและความสูงต้นเท่ากับ 459.1 และ 52.4 มก.ต่อตา 6.9 รากและ 10.8 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับ 4 และ 8 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามพบว่าเวลา 8 สัปดาห์ ให้จำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 3.7 ต้นแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 25 และรูปที่ 24)

ตารางที่ 25 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex หรือน้ำเป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน

อาหาร	ระยะเวลา (สัปดาห์)	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อตา)	จำนวนต้นต่อตา	จำนวนรากต่อตา	ความสูงต้นเฉลี่ย (มม.)
น้ำ		226.9 b	35.6 b	3.3 a	0.9 b	6.6 b
Hyponex		328.9 a	48.1 a	2.8 a	2.4 a	7.6 a
F-test		*	*	ns	*	*
	T1 (2 สัปดาห์)	384.1 a	48.8 a	2.7 a	4.2 a	9.2 a
	T2 (4 สัปดาห์)	310.1 b	46.5 a	3.4 a	1.2 b	7.5 b
	T3 (6 สัปดาห์)	182.3 d	32.6 c	3.0 a	0.5 b	5.3 d
	T4 (8 สัปดาห์)	235.1 c	39.4 b	3.1 a	0.7 b	6.3 c
	F-test	*	*	ns	*	*
น้ำ	T1	309.1 a	45.3 a	3.6 ab	1.4 a	7.7 a
	T2	311.7 a	46.9 a	4.0 a	0.3 a	6.3 b
	T3	132.5 b	24.3 b	3.0 ab	0.7 a	5.2 c
	T4	154.3 b	25.9 b	2.4 b	1.0 a	7.0 ab
Hyponex	T1	459.1 a	52.4 a	1.8 c	6.9 a	10.8 a
	T2	308.5 b	46.1 ab	2.8 b	2.1 b	8.6 b
	T3	232.0 c	41.0 b	2.9 b	0.3 c	5.5 c
	T4	315.9 b	52.8 a	3.7 a	0.4 c	5.7 c
	F-test	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

รูปที่ 24 ตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex หรือน้ำเป็นระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน

การทดลองที่ 4.6 ผลของระยะเวลาในการเปลี่ยนจากอาหารเหลวเป็นอาหารกึ่งแข็งต่อการพัฒนาของตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz

เมื่อนำตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 2 เดือน พบว่ากล้วยไม้แต่ละพันธุ์มีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน โดยกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสมเจริญเติบโตได้ดีกว่ากล้วยไม้สายพันธุ์แท้ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารพบว่าเวลา 0 สัปดาห์ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 331.5 และ 35.3 มก.ต่อตา 11.0 และ 8.4 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 26) เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กล้วยไม้และระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหาร สำหรับ *D. discolor* พบว่าเวลา 2 สัปดาห์ (T2) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 186.6 และ 24.9 มก.ต่อตา 7.7 และ 1.8 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างทางสถิติกับเวลา 0 สัปดาห์ (T1) อย่างไรก็ตามพบว่าจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 26 และรูปที่ 25) สำหรับ *D.* Fleischeri พบว่าเวลา 0 สัปดาห์ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 341.6 และ 34.4 มก.ต่อตา 15.7 และ 15.8 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 26 และรูปที่ 25) สำหรับ *D.* Judy Rutz พบว่าเวลา 0 สัปดาห์ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 466.3 และ 46.9 มก.ต่อตา 11.0 และ 8.1 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 26 และรูปที่ 25) อย่างไรก็ตามพบว่า ตาข้าง *D. discolor* ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์มีสีน้ำตาลและตายทำให้ไม่เหลือตาข้างมาใช้เพาะเลี้ยงต่อไป

เมื่อเพาะเลี้ยงตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz เป็นระยะเวลารวม 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารพบว่าเวลา 0 สัปดาห์ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเฉลี่ยรวมมากที่สุดเท่ากับ 1049.2 และ 87.5 มก. ต่อตา 21.2 และ 27.9 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าเวลา 8 สัปดาห์ (T5) ให้จำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 3.3 ต้นต่อตาแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 27) และการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กล้วยไม้และระยะเวลาในการเปลี่ยนอาหารพบว่าเวลา 0 สัปดาห์ (T1) ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดย *D.* Fleischeri ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 1033.6 และ 90.6 มก.ต่อตา 26.2 และ 31.1 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าเวลา 8 สัปดาห์ (T5) ให้จำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 2.9 ต้นแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ 2, 4 และ 6 สัปดาห์ (ตารางที่ 27 และรูปที่ 26) และ *D.* Judy Rutz ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 1064.8 และ 84.4 มก.ต่อตา 16.3 และ 24.6 มม.ตามลำดับแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าเวลา 8 สัปดาห์ (T5) ให้จำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 3.7 ต้นแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 27 และรูปที่ 26)

ตารางที่ 26 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 2 เดือน

พันธุ์	ระยะเวลา (สัปดาห์)	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อตา)	จำนวนต้นต่อตา	ความสูงต้นเฉลี่ย (มม.)	ความยาวรากเฉลี่ย (มม.)
D. discolor		147.2c	19.5b	1.5b	5.8c	0.8b
D. Fleischeri		200.9b	27.1a	1.6b	8.9a	4.0a
D. Judy Rutz		220.7a	28.9a	2.1a	6.8b	2.0b
F-test		*	*	*	*	*
	T1 (0 สัปดาห์)	331.5a	35.3a	1.6a	11.0a	8.4a
	T2 (2 สัปดาห์)	167.9b	25.8b	1.7a	7.1b	0.7b
	T3 (4 สัปดาห์)	141.6c	21.5c	1.6a	5.6c	0.0b
	T4 (6 สัปดาห์)	117.5d	18.0d	2.0a	5.0c	0.0b
	F-test	*	*	ns	*	*
D. discolor	T1	186.5a	24.7a	1.5a	6.3b	1.4b
	T2	186.6a	24.9a	1.5a	7.7a	1.8a
	T3	111.2b	13.9b	1.2a	5.2bc	0.0bc
	T4	104.6b	14.4b	1.8a	4.1c	0.0c
D. Fleischeri	T1	341.6a	34.4a	1.2b	15.7a	15.8a
	T2	178.0b	27.5b	1.5ab	7.6b	0.0b
	T3	156.5bc	25.5bc	2.0a	5.7b	0.0b
	T4	127.4c	21.1c	1.6ab	6.6b	0.0b
D. Judy Rutz	T1	466.3a	46.9a	2.2ab	11.0a	8.1a
	T2	139.1b	24.8b	2.1ab	6.1b	0.0b
	T3	157.2b	25.1b	1.6b	5.9b	0.0b
	T4	120.4b	18.6b	2.5a	4.2c	0.0b
	F-test	*	*	*	*	*

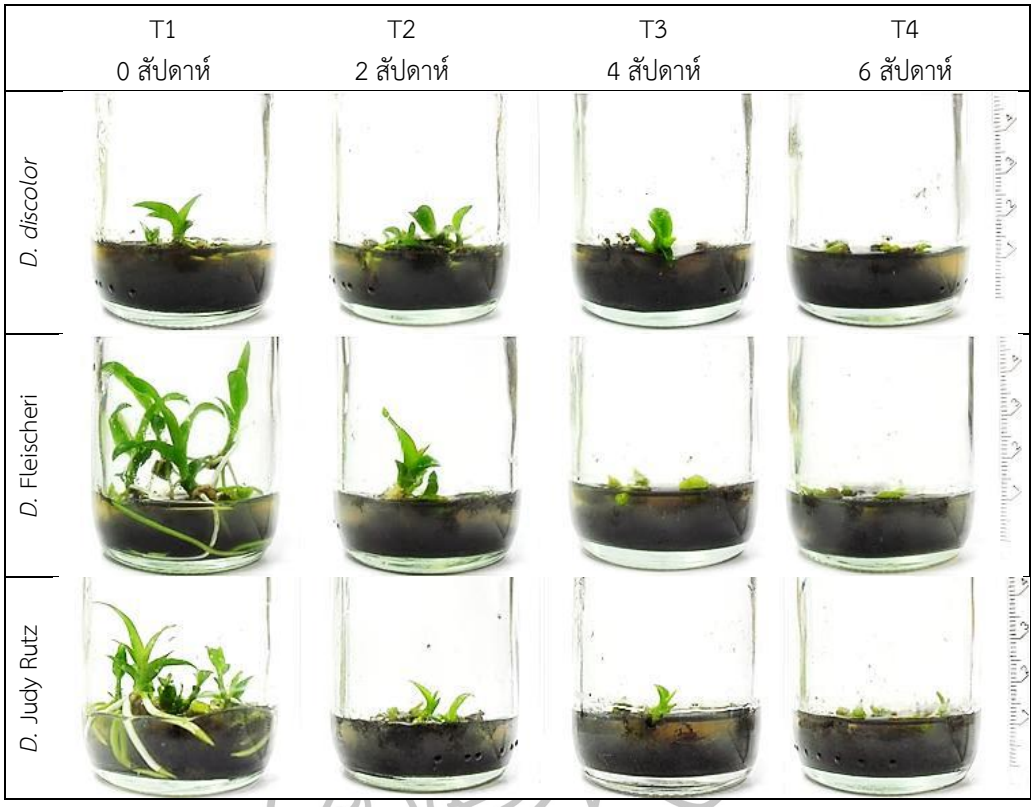
ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

ตารางที่ 27 การเจริญเติบโตของตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน

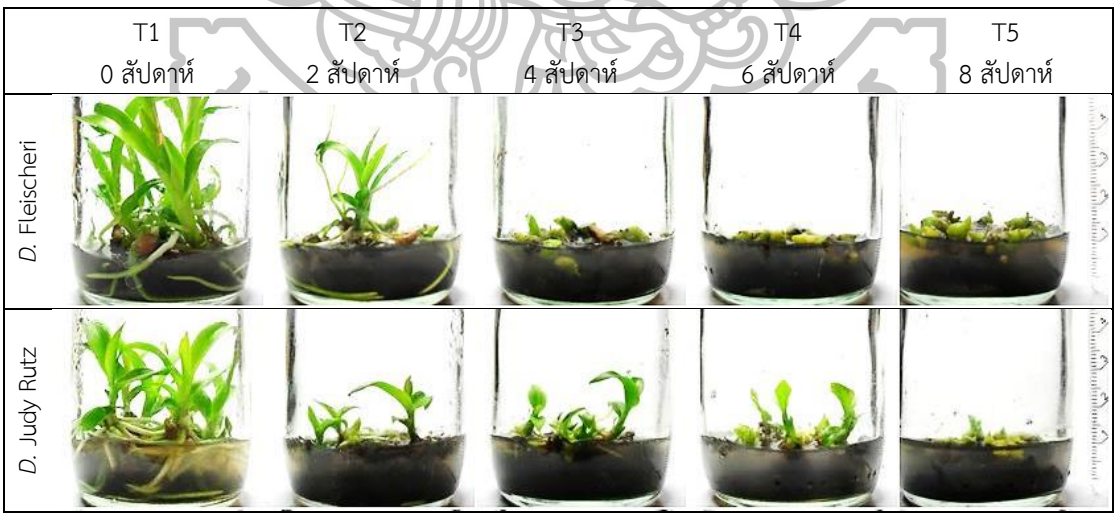
พันธุ์	ระยะเวลา (สัปดาห์)	น้ำหนักสด (มก.ต่อตา)	น้ำหนักแห้ง (มก.ต่อตา)	จำนวนต้นต่อตา	ความสูงต้นเฉลี่ย (มม.)	ความยาวรากเฉลี่ย (มม.)
D. Fleischeri		421.6b	52.0b	2.4b	11.2a	8.6a
D. Judy Rutz		476.1a	55.3a	2.8a	9.4b	8.8a
F-test		*	*	*	*	ns
	T1 (0 สัปดาห์)	1049.2a	87.5a	2.1d	21.2a	27.9a
	T2 (2 สัปดาห์)	434.9b	54.9b	2.2cd	10.9b	10.3b
	T3 (4 สัปดาห์)	258.5c	40.8cd	2.6bc	7.4c	3.2c
	T4 (6 สัปดาห์)	230.2c	39.5d	2.8b	5.9d	1.2c
	T5 (8 สัปดาห์)	271.3c	45.5c	3.3a	6.0d	1.1c
	F-test	*	*	*	*	*
D. Fleischeri	T1	1033.6a	90.6a	1.5b	26.2a	31.1a
	T2	410.8b	57.5b	2.5a	11.0b	7.0b
	T3	208.5c	35.5c	2.3a	6.2c	2.6c
	T4	228.4c	38.0c	2.6a	6.3c	1.5c
	T5	226.7c	38.3c	2.9a	6.3c	0.9c
D. Judy Rutz	T1	1064.8a	84.4a	2.6b	16.3a	24.6a
	T2	459.1b	52.4b	1.8c	10.8b	13.5b
	T3	308.5cd	46.1bc	2.8b	8.6c	3.8c
	T4	232.0d	41.0c	2.9b	5.5d	0.9d
	T5	315.9c	52.8b	3.7a	5.7d	1.3cd
	F-test	*	*	*	*	*

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT (n=10)
ns (Not significant), * (Significant at P≤0.05)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 25 ตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน



รูปที่ 26 ตาข้าง *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมเป็นระยะเวลารวม 3 เดือน

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์

1.1 การเพาะเมล็ด

เมื่อเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายในอาหารต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงขยายขนาดและเปลี่ยนเป็นสีเขียว เนื่องจากเอ็มบริโอดูดน้ำโดยผ่านชั้น testa ทำให้เมล็ดขยายขนาด และในสภาพที่มีแสงทำให้มีการสร้างคลอโรฟิลล์เกิดขึ้น (Pierik, 1997) ทำให้เอ็มบริโอมีสีเขียว หลังจากนั้นเอ็มบริโอมีการเพิ่มขนาดจนมีลักษณะเกือบกลม ดันเปลือกเมล็ดฉีกออกและหลุดออกจากเปลือก และเอ็มบริโอที่พัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม เนื่องจากเมื่อเอ็มบริโอดูดน้ำจะทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วจนทำให้เอ็มบริโอหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด จนทำให้เกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า โปรโตคอร์ม (Arditti, 1992) ในสูตรที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารสูงเกินไป จะยับยั้งกระบวนการงอกของเมล็ด โดยความเข้มข้นของสารจะส่งผลต่อค่าแรงดันออสโมติกให้สูงขึ้น ทำให้เมล็ดได้รับน้ำเพื่อใช้ในกระบวนการงอกได้น้อยลง (Thompson *et al*., 2006) ในอาหารเหลวเมล็ดสามารถพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม ยังไม่พัฒนาเป็นต้นที่มีใบและราก ซึ่งต่างจากเมล็ดกล้วยไม้ที่เพาะในอาหารกึ่งแข็ง สามารถพัฒนาจนเกิดเป็นต้นที่มีใบและรากได้ โดยสูตรอาหารที่ดี คือ สูตรปุ๋ย Hyponex ที่เติมเปปโตนหรือน้ำต้มมันฝรั่ง สอดคล้องกับการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte โดยอาหารสูตร Hyponex เพิ่มจำนวน PLBs ได้ดีที่สุด และอาหารสูตร Hyponex ร่วมกับกล้วยหอมบดและน้ำต้มมันฝรั่งชนิดละ 5% ทำให้ต้นกล้าเจริญเติบโตดีที่สุด (ดวงพร, 2546) และอาหารสูตร Hyponex 0.35% ร่วมกับเปปโตน 0.2% น้ำต้มมันฝรั่ง 10% และผงถ่านกัมมันต์ 0.1% ทำให้ *Phalaenopsis* Silky Moon งอกได้ดีที่สุด (ดวงพร, 2549) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เพชรหึง *Grammatophyllum speciosum* Blume บนอาหารสูตรปุ๋ย 16-21-27 โดยอาหารที่เติมมันฝรั่งเพียงอย่างเดียวให้น้ำหนักสดและจำนวนต้นสูงที่สุด (นันทิดา, 2556) เมื่อเปรียบเทียบราคาแล้วมันฝรั่งราคาถูกกว่าเปปโตนมาก ราคามันฝรั่งกิโลกรัมละ 30-40 บาท (ราคาในตลาดสด) สามารถทำอาหารได้ประมาณ 10 ลิตร คิดเป็นลิตรละ 3-4 บาท ส่วนเปปโตน 500 กรัม ราคา 1,300-2,800 บาทแล้วแต่ชนิดที่เลือกใช้ สามารถทำอาหารได้ 250 ลิตร คิดเป็นลิตรละ 5.2-11.2 บาท จึงเลือกใช้อาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ที่เติมน้ำต้มมันฝรั่งดีที่สุด ในการทดลองที่ 1.1.2 เมล็ดของกล้วยไม้สามารถงอกได้ในอาหารที่มีน้ำมะพร้าวแต่เจริญเติบโตไม่ค่อยดี อาจเนื่องมาจากไซโตไคนินที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวไปยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายในระยะแรกได้ หากได้รับน้ำมะพร้าวในปริมาณที่สูงเกินไป (Kotomori and Murashige, 1965)

อย่างไรก็ตามมีอาหารสูตรอื่นๆ ที่เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ชนิดต่างๆ เช่น การใช้อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 15% กล้วยหอมบด 10% ถ่านกัมมันต์ 0.2% และวิตามินรวม เพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องแซะหลวง (*D. scabrilingue* Lindl) ได้ทั้งบนอาหารแข็งและในอาหารเหลว (ภุมรินทร์, 2544) อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15% น้ำต้มมันฝรั่ง 5% และกล้วยหอมบด 10% เพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*D. formosum* Roxb.) (ศิริลักษณ์, 2544) อาหารสูตร VW เพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Minho Valentine 'Taisuco' (จุฑามาส, 2549) อาหารสูตร VW หรืออาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15% และมันฝรั่ง 10% เพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน *Paphiopedilum concolor* (วิวัฒน์, 2529; สกุณา, 2538; Flamee, 1978) อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 30% เพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีคางกบ *Paphiopedilum callosum* (ทิวาและคณะ, 2550) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมดิบที่ไม่มีน้ำตาลซูโครส เพาะเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสม *Vanda* Rothschildiana × *V. sanderiana* (อิทธิพล, 2523) อาหารสูตร MS เพาะเมล็ดกล้วยไม้ดิน *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr. (สัจจพร, 2545) และ *Oncidium* sp. (Kalimuthu *et al.,* 2007) อาหารสูตร KC ร่วมกับกล้วย 15% เพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Cymbidium aurantiaca* (Arditti, 2008) อาหารสูตร KC ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 5% เพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Spiranthes magnicamporum* สามารถงอกเป็นโปรโตคอร์มได้ถึง 99% บน (Arditti, 1967) อาหารสูตร KC ร่วมกับเปปโตน 0.2% เพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Cattleya aclandiae* Lindl., *C. bowringiana* Veitch, *C. granulose* Lindl., *C. percivaliana* O'Brien, *C. lindenii* (Lindl.) Cogn. และ *Dendrobium parishii* Rchb.f. (Buyun *et al.,* 2004)

1.2 การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม

จากการทดลองที่ 1.2.1 เมื่อนำโปรโตคอร์ม *D. discolor* เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ที่แตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าโปรโตคอร์ม สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ในอาหารทุกสูตร อย่างไรก็ดีอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งและเปปโตนทำให้ *D. discolor* มีการเจริญเติบโตดีที่สุด เนื่องจากความเข้มข้นที่เหมาะสมทั้งแบบอินทรีย์และอนินทรีย์ของไนโตรเจนสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืช (Chen and Chang, 2002) จากส่วนประกอบของมันฝรั่งที่มีคาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามินหลายชนิด กรดไขมันและกรดอะมิโนต่างๆ เหล่านี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เปปโตนเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ มีปริมาณกรดอะมิโนสูงซึ่งช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เปปโตนยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของแคลลัสใน *Phalaenopsis*, *Doritaenopsis* และ *Neofinetia* (Ichihashi and Islam, 1999)

จากการทดลองที่ 1.2.2 เมื่อนำโปรโตคอร์ม *D. discolor* เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าสูตรอาหารกึ่งแข็ง VW ร่วมกับกล้วยหอมทำให้โปรโตคอร์ม *D. discolor* พัฒนาไปเป็นต้นได้ดีที่สุด เนื่องจากกล้วยไม้ได้รับสารที่ช่วยในการเจริญเติบโตบางชนิดจากกล้วยหอม เช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินซีและแร่ธาตุอาหารจำนวนมาก โดยเฉพาะธาตุเหล็กนั้นอยู่ในสภาพที่กล้วยไม้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ (Arditti, 2008) นอกจากนี้ในเนื้อกล้วยหอมทองยังประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งได้แก่ lysine, cysteine, methionine และ arginine (Arditti, 2008) สอดคล้องกับรายงานการใช้อาหารสูตร VW ร่วมกับการใส่กล้วยหอมช่วยให้โปรโตคอร์มกล้วยไม้ลูกผสม *Vanda* Rothschildiana × *V. sanderiana* มีขนาดใหญ่และมีสีเขียวเข้ม (อิทธิพล, 2523) สำหรับสูตรอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งทำให้มีจำนวนโปรโตคอร์มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรอื่นๆ ทั้งนี้เพราะในมันฝรั่งมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิดในการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เช่น สารพวกโพลีเอมีนซึ่งมีคุณสมบัติช่วยป้องกันการสลายของคลอโรฟิลล์ทำให้เพิ่มการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนและยังมีบทบาทต่อ nucleic acid metabolism รวมถึงช่วยให้มีการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสทำให้โปรโตคอร์มมีปริมาณเพิ่มขึ้น (Kaur-Sawhney *et al.*, 1982) นอกจากนี้ถ่านกัมมันต์ช่วยดูดซับสารต่างๆทั้งแก๊สของเหลวหรือสารที่ละลายน้ำไว้ที่ผิวของรูพรุนและช่วยดูดกรดคาร์บอนิกที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างของอาหารซึ่งเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มเอื้องปากนกแก้ว (*D. cruentum* Rchb.f.) พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 10% น้ำมะพร้าว 15% และมันฝรั่ง 5% ทำให้โปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นยอดและรากได้ดีที่สุด (โกวิท, 2542) นอกจากนี้โปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องผาเวียงสามารถพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดในอาหารสูตร ½ VW ที่มีน้ำตาลซูโครส 1% (สรัญญา, 2547) อย่างไรก็ดีการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม ของกล้วยไม้เพชรหึงในอาหารเข็งและอาหารเหลวสูตร VW สูตร MS และสูตร ½ MS พบว่าในอาหารเหลวสูตร ½ MS สามารถเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์มได้มากที่สุด (Sopalun *et al.*, 2010)

อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบอาหารสูตรเดียวกันในการทดลองที่ 1.2.1 พบว่าโปรโตคอร์ม *D. discolor* พัฒนาไปเป็นต้นได้ดีกว่าการทดลองที่ 1.2.2 เนื่องจากโปรโตคอร์มของการทดลองที่ 1.2.1 มีการคัดเลือกโปรโตคอร์มที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงและวางบนเนื้อวุ้นโดยวางขวดละ 5 โปรโตคอร์ม แต่การทดลองที่ 1.2.2 โปรโตคอร์มถูกวางโดยให้กระจายบนเนื้อวุ้นในแต่ละขวดๆละ 30 โปรโตคอร์ม เป็นไปได้ว่าโปรโตคอร์มได้รับสารอาหารและแสงน้อยเนื่องจากโปรโตคอร์ม หนาแน่นเกินไป ทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำลงเกิดการแก่งแย่งปัจจัยการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องเงินแดงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW พบว่าจำนวนต้นต่อขวดที่ 5 ต้น ให้น้ำหนักสดและความยาวรากดีกว่าจำนวน 1 และ 10 ต้นต่อขวดขนาด 4 ออนซ์ (อรรถพล, 2552)

1.3 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง

น้ำตาลซูโครส

ในการทดลองที่ 1.3.1 สูตรอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 2% (w/v) ทำให้ต้น *D.* Fleischeri มีการเจริญเติบโตมากที่สุด โดยให้น้ำหนักสดและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 399.3 มก.ต่อต้นและ 16.2 มม. อย่างไรก็ตามสูตรอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 6% (w/v) ทำให้มีจำนวนต้นต่อกอและจำนวนรากต่อกอมากที่สุดเท่ากับ 3.5 ต้นต่อกอและ 9.5 รากต่อกอตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณน้ำตาลซูโครส 6% (w/v) ยังทำให้น้ำหนักสดและความสูงต้นต่ำที่สุดอีกด้วย

น้ำตาลเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อที่ภายในขวดมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด (Arditti and Pridgeon, 2013; Pierik, 1997) คาร์โบไฮเดรตมีบทบาทในการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีนในระหว่างการคายน้ำที่รู้จักกันดีจากการศึกษาแบบจำลองของละอองเกสรดอกไม้และเมล็ด (Hoekstra *et al.,* 1991; Sun *et al.,* 1994) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสในอาหารส่งผลต่อรูปแบบการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ โดยทำให้เกิดการเจริญเติบโตของรากเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่การเจริญเติบโตของต้นลดลงที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง (Yates and Curtis, 1949) เนื่องจากการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้มีความไวต่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส นอกจากนี้การเจริญเติบโตของต้นและรากที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากความแตกต่างในการแพร่กระจายคาร์โบไฮเดรตภายในพืช ซูโครสจะมีประสิทธิภาพในการนำไปใช้กับใบพืชมากกว่านำไปใช้ในราก (Went and Carter, 1948) อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้นจะทำให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจนถึงจุดจำเพาะ ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสสูงกว่าจุดจำเพาะนี้ก็จะทำให้การเจริญเติบโตลดลงจนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ (Rasmussen, 1995) อาจเป็นเพราะน้ำตาลความเข้มข้นสูงเกินไปมีผลต่อค่า osmotic potential ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการดูดซึมธาตุอาหารและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเนื่องจากการขาดน้ำ (Langford and Wainwright, 1988; Wainwright and Sceace, 1989; Capellades *et al*.,1991) หรืออาจเป็นเพราะน้ำตาลความเข้มข้นสูงส่งผลให้เกิดสะสมแป้งในคลอโรพลาสต์มากหรือมีการสร้างเอนไซม์ Ribulose bisphosphate carboxylase ขึ้นใหม่ได้ช้า (Arditti, 2008; Pierik, 1997; Hew and Yong, 2004) เป็นผลให้ดูดซึมคาร์บอนต่ำทำให้อัตราสังเคราะห์แสงต่ำลงไป (Hdider and Desjardins, 1994)

สอดคล้องกับการทดลองอื่นๆ ที่รายงานว่าอาหารสูตรดัดแปลง VW ที่มีน้ำตาลซูโครส 2.0% และ 2.5% ร่วมกับกล้วยหอมสุกทำให้ต้นอ่อน *D. taurianum* มีการเจริญเติบโตทั้งส่วนยอดและส่วนรากดีกว่าน้ำตาลซูโครส 0, 0.5, 1.0 และ 1.5% ร่วมกับกล้วยดิบ กล้วยห่ามหรือไม่ใส่กล้วย (ขนิษฐา, 2517) นอกจากนี้อาหาร สูตรปุ๋ยมาสเตอร์ (20-20-20) 0.2% ร่วมกับ BA 5 ppm และน้ำตาลซูโครส 2% ทำให้ต้นอ่อน *Calanthe rosea* (Lindl.) Benth มีความสูงทรงพุ่มและขนาดของใบใหญ่ที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร VW ร่วมกับ BA 5 ppm และน้ำตาลซูโครส 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 และ 4.0% เป็นเวลา 6 เดือน (สุลัคน์, 2546)

อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการใช้น้ำตาลซูโครสน้อยกว่า 2% ทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตดี เช่น อาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15% และน้ำตาลซูโครส 1% ทำให้ส่วนยอดของกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Joannie Ostenhault เกิด PLBs ภายใน 4 สัปดาห์และเกิดรากได้ดีที่สุด แต่น้ำตาลซูโครส 3% ร่วมกับ IAA หรือ IBA หรือ NAA 1 ppm เกิดยอดได้ดีที่สุด (Sharon *et al.,* 1990) อาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 1% และ 1.5% ให้ดัชนีการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายดีกว่า 2% เมื่อเลี้ยงเป็นเวลานาน 3 เดือน (Widiastoety and Bahar, 1995) อาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาล 1% ร่วมกับกล้วยหอม 2% ทำให้โปรโตคอร์ม ของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* พัฒนาเป็นต้นอ่อนและเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (จุฑามาส, 2549) และในอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่มีน้ำตาลซูโครส 1% ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) มีการเจริญเติบโตดีกว่าน้ำตาลซูโครส 0, 2.0, 3.0 และ 4.0% เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ (แสงเดือน, 2549) อาหารสูตรดัดแปลง VW ที่มีน้ำตาลซูโครส 1.0-1.5% ทำให้โปรโตคอร์มของต้นอ่อนเอื้องผาเวียงเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุด (เหมวรรณ, 2556) อาหารสูตร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1% ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เพชรหึง *Grammatophyllum speciosum* Blume เจริญเติบโตดีกว่าการเติมน้ำตาล 2% (นันทิดา, 2556) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้น้ำตาลซูโครสมากกว่า 2% สามารถทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดี เช่น อาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส 4% ร่วมกับน้ำมะพร้าว 20% สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจาก PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Richard Shaffer ‘Santa Curz’ ได้ดีที่สุด (Ishii *et al.,* 1998) อาหารสูตร MS ที่ธาตุอาหารหลักมีความเข้มข้นครึ่งเท่าที่เติมน้ำตาล 6% ทำให้ต้น *D. nobile* มีน้ำหนักสดและความสูงต้นมากกว่าการเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาล 0-30 กรัมต่อลิตร (Faria *et al.,* 2004)

อาหารเสริมอินทรีย์

ในการทดลองที่ 1.3.2 เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับอาหารเสริมอินทรีย์ที่แตกต่างกัน 7 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งและเปปโตนดีที่สุด รองลงมาคือ Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง ในมันฝรั่งมีสารพวกโพลีเอมีน ได้แก่ putrescine spermidine spermine และ biosynthetic enzymes เช่น arginine decarboxylase ornithine decarboxylase กระจายอยู่ในส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อ สารเหล่านี้จะมีปริมาณมากขึ้นเมื่อหัวมันฝรั่งเกิดการงอก สารกลุ่มนี้มีผลต่อการเจริญพัฒนาของเซลล์และการเพิ่มกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบ mitosis มากขึ้นและป้องกันการสลายตัวของคลอโรพลาสต์และโปรตีน (Kaur-Sawhney *et al.*, 1982) สอดคล้องกับการใช้น้ำต้มมันฝรั่ง 5% และ 10% มีผลทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดของ *Dendrobium nobile* (Sudeep *et al.,* 1997) นอกจากนี้มันฝรั่งยังช่วยให้ต้นอ่อนจะมีความแข็งแรงมากขึ้น (Arditti, 2008) ช่วยส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (Noggle and Wynd, 1943; Arditti, 1967) อย่างไรก็ตามสูตรอาหาร Hyponex ร่วมกับนมโคให้การเติบโตต่ำเมื่อเทียบกับสูตรอื่นๆ เนื่องจากนมเป็นของเหลวสีขาวที่ผลิตโดยสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีคาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด (Jost, 2002) อาจเป็นเพราะไขมันในนมไปรบกวนการดูดซึมของสารอาหารสำหรับพืช อย่างไรก็ตามสูตรอาหาร Hyponex ร่วมกับนมถั่วเหลืองชนิดผง (Ovaltine Nature Select Soy) ให้การเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุม นมถั่วเหลืองเป็นเครื่องดื่มที่ทำจากถั่วเหลือง ประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 3.5% ไขมัน 2% คาร์โบไฮเดรต 2.9% และขี้เถ้า 5% (Liu, 1997) นอกจากนี้นมถั่วเหลืองยังมีกรดอะมิโนจำเป็น 10 ชนิด รวมทั้งวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียมและฟอสฟอรัสอีกด้วย

ในการทดลองที่ 1.3.3 เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่แตกต่างกัน 20 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่ากล้วยไม้สายพันธุ์แท้ที่เลี้ยงในอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมสามารถเจริญเติบโตดีที่สุด ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากดีที่สุด อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสมสามารถโตได้ดีในอาหารสูตรอื่นนอกเหนือจากอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม เช่น MS ร่วมกับเปปโตน ปุ๋ย Hyponex หรือปุ๋ย Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง เป็นต้น ดังนั้นอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมจึงเหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ทั่วไปเพื่อทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง เนื่องจากกล้วยอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ thiamine riboflavin niacin วิตามินซี และแร่ธาตุจำนวนมาก เช่น แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียม แมกนีเซียม เป็นต้น อีกทั้งมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ที่ทำให้ pH ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยเฉพาะธาตุเหล็กอยู่ในรูปที่กล้วยไม้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้และการเกิดรากได้ (Arditti, 2008) นอกจากนี้ในเนื้อกล้วยหอมยังประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งได้แก่ lysine, cysteine, methionine และ arginine (Arditti, 2008) การนึ่งอาหารที่ใส่กล้วยภายใต้ความดันและความร้อนสูงในสภาพเป็นกรดจะทำให้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกล้วยละลายน้ำได้ดีขึ้นทำให้ต้นกล้วยไม้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น (Arditti, 2008) สอดคล้องกับรายงานการใช้อาหารสูตรดัดแปลง VW ร่วมกับกล้วยหอม 5% สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวาย (Kerbauy, 1993) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 10% ทำให้ *D. nobile* มีความสูงลำลูกกล้วยและจำนวนใบเพิ่มมากขึ้น (Sudeep *et al.,* 1997) อาหารสูตร KC ร่วมกับกล้วยหอมสามารถเร่งการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Cattleya* ได้มากขึ้น (Arditti, 1967) และอาหารสูตรดัดแปลง VW ที่เติมน้ำตาล 1% ร่วมกับกล้วยหอม 2% และผงถ่านกัมมันต์ 0.1% ทำให้โปรโตคอร์มของ *Phalaenopsis* Minho Valentine ‘Taisuco’ มีการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุด (จุฑามาส, 2549) นอกจากนี้ถ่านกัมมันต์ช่วยดูดซับสารประกอบฟีโนลิก (Pierik, 1997) ทำให้อาหารมีสีดำส่งผลให้รากมีการเจริญเติบโตดีขึ้นและยังช่วยรักษาความเป็นกรดด่างของอาหารไม่ให้เปลี่ยนแปลงไปมากนัก ทั้งช่วยเพิ่มการระบายอากาศในอาหารได้ดีขึ้นด้วย (Arditti, 2008) สอดคล้องกับรายงานการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Phalaenopsis* ในสูตรอาหาร KC ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 0.3% ให้การเจริญเติบโตของยอดและรากเพิ่มขึ้น ส่วนกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* และ *Cymbidium* รากจะมีการเจริญเติบโตในอาหารได้ดีขึ้น (Wang and Huang, 1976)

อย่างไรก็ตามมีรายงานการใช้อาหารเสริมอินทรีย์สารมากกว่าหนึ่งอย่างร่วมกันระหว่างกล้วยหอมมันฝรั่งหรือน้ำมะพร้าว เช่น น้ำมะพร้าว 10% และกล้วยสุก 3.5% ทำให้ชิ้นส่วนใบของ *Renanthera inschootiana* Rolfe มีจำนวนยอดเพิ่มขึ้นถึง 4 ยอดโดยเฉลี่ยใน 12 สัปดาห์ (Seeni and Latha, 1992) อาหารกึ่งแข็งสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 10% มันฝรั่งบด 5% หรือน้ำต้มมันฝรั่ง 10% น้ำมะพร้าวอ่อน 15% และถ่านกัมมันต์ 0.2% ทำให้ PLBs ของกล้วยไม้เอื้องบุษราคัม (*Eulophia flava*) มีจำนวนยอดมากและน้ำต้มมันฝรั่งทำให้ PLBs มีการพัฒนาเกิดจำนวนยอดมากกว่าการไม่เติมมันฝรั่ง (สุจรรยา, 2539) อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 15% กล้วยหอม 10% ถ่านกัมมันต์ 0.2% และวิตามินรวมทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องแซะหลวงเจริญเติบโตดีที่สุด (ภุมรินทร์, 2544) อาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม 5% มันฝรั่ง 5% น้ำตาลซูโครส 1% ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*D. formosum* Roxb. ex Lindl.) เจริญเติบโตดีที่สุด (เหมวรรณ, 2556)

ปุ๋ยเคมี

ในการทดลองที่ 1.3.4 เมื่อนำกล้วยไม้ *D. discolor*, *D. phalaenopsis*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรปุ๋ยที่แตกต่างกัน 6 สูตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าสำหรับ *D. discolor* ปุ๋ย Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือ ปุ๋ยนูตราฟอสและปุ๋ยไบโอเมอร์ตามลำดับ สำหรับ *D. phalaenopsis* ปุ๋ย Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีที่สุดเช่นกัน รองลงมาคือ ปุ๋ยไบโอเมอร์ สำหรับ *D.* Fleischeri ปุ๋ยนูตราฟอสให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ส่วน *D.* Judy Rutz ปุ๋ยไบโอเมอร์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด อย่างไรก็ตามพบว่าปุ๋ยโพลีนทำให้กล้วยไม้ทุกสายพันธุ์ตายทั้งหมด ส่วนปุ๋ยเมก้าเฟอร์ทำให้กล้วยไม้สายพันธุ์แท้ *D. discolor* และ *D. phalaenopsis* ตาย ปุ๋ยนูตราฟอสทำให้ *D. phalaenopsis* บางส่วนตายเช่นกัน

ดังนั้นสำหรับกล้วยไม้สายพันธุ์แท้สามารถใช้ปุ๋ย Hyponex ปุ๋ยไบโอเมอร์ทดแทนสูตรอาหารสังเคราะห์อื่นๆ ได้ อย่างไรก็ดีกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสมสามารถใช้ปุ๋ยนูตราฟอสและปุ๋ยไบโอเมอร์ทดแทนสูตรอาหารสังเคราะห์อื่นๆ ได้เช่นกัน ทั้งนี้ปุ๋ยชนิดอื่นสามารถนำมาปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมหรือเติมสารเสริมอินทรีย์อื่นๆ ก็สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ได้อีกด้วย

ปุ๋ยส่วนใหญ่ประกอบด้วยไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P_2O_5) โพแทสเซียม (K_2O) (ครรชิต, 2547) ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน และเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ (Handreck and Black, 2002) ปริมาณไนโตรเจนสูงส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตทางใบและเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของโปรตีนในต้นกล้วยไม้ (ระพี, 2530) ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบสำคัญของการเคลื่อนย้ายพลังงาน ใน ATP หรือ nucleoprotein มีบทบาทสำคัญในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม คือ DNA และ RNA เป็นส่วนประกอบสำคัญของ cell membrane และ phosphoproteins โพแทสเซียมมีความสำคัญในการรักษาระดับของ osmotic potential และการดูดน้ำของพืช และมีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช โดยเฉพาะช่วยในเรื่อง CO_2 assimilation ของพืช (Gardner *et al*., 1985) อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่มากเกินไปจะทำให้ใบและรากไหม้เนื่องจากความเค็มและความเข้มข้นของปุ๋ยจะดึงน้ำออกจากเซลล์จนเซลล์ตายในที่สุด (ครรชิต, 2547)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารเคมีในอาหารสูตรปุ๋ยจากผลการทดลองที่ 1.3.4 ดังตารางที่ 28 พบว่าปุ๋ยเมก้าเฟอร์ โพลีนและนูตราฟอส 0.35% (w/v) ทำให้กล้วยไม้บางชนิดมีการตายเกิดขึ้น เนื่องจากปุ๋ยเมก้าเฟอร์และโพลีนมีไนโตรเจนมากที่สุดเท่ากับ 0.35 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ปุ๋ยโพลีนยังมีฟอสฟอรัสมากที่สุดเท่ากับ 1.82 กรัมต่อลิตร ส่วนโพแทสเซียมมากที่สุดเท่ากับ 1.19 กรัมต่อลิตรพบในปุ๋ยนูตราฟอสและปุ๋ยไบโอเมอร์ แต่เนื่องจากปุ๋ยไบโอเมอร์มีแร่ธาตุอาหารเสริมต่างๆ ในรูปของคีเลทอีดีทีเอ (EDTA chelates) และฮิวมิกแอซิด (Humic acid) ทำให้ธาตุอาหารค่อยๆ ถูกปลดปล่อยกล้วยไม้จึงรอดชีวิตและเจริญเติบโตได้

ตารางที่ 28 ปริมาณของไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในปุ๋ยเคมีชนิดต่างๆ

อาหารสูตรปุ๋ย	ไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ฟอสฟอรัส (กรัมต่อลิตร)	โพแทสเซียม (กรัมต่อลิตร)
ปุ๋ย Hyponex® (6.5-6-19) 0.35% (w/v)	0.23	0.21	0.67
ปุ๋ยเมก้าเฟอร์® (10-20-30) 0.35% (w/v)	0.35	0.70	1.05
ปุ๋ยนูตราฟอส® (7-13-34) 0.35% (w/v)	0.25	0.46	1.19
ปุ๋ยติวเตอร์® (6-32-32) 0.35% (w/v)	0.21	1.12	1.12
ปุ๋ยไบโอเมอร์® (7-24-34) 0.35% (w/v)	0.25	0.84	1.19
ปุ๋ยโพลีน® (10-52-17) 0.35% (w/v)	0.35	1.82	0.60

มีรายงานการใช้ปุ๋ย Hyponex เพาะเลี้ยงกล้วยไม้พันธุ์ต่างๆ เช่น Hyponex (7-6-6) 0.3% ส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*, *Cattleya*, *Cymbidium* และ *Paphiopedilum* ดีกว่าอาหารสูตร KC (Kano, 1965) Hyponex (6.5-4.5-19 0.1% + 20-20-20 0.1%) ร่วมกับเปปโตน 0.2% น้ำต้มมันฝรั่ง 3% ผงถ่านกัมมันต์ 0.05% และน้ำตาลซูโครส 3% สามารถชักนำให้ PLBs ของ *Phalaenopsis* พัฒนาเป็นต้นได้ภายใน 6 สัปดาห์ (Park *et al.*, 2002) Hyponex (6.5-4.5-19 0.1% +20-20-20 0.1%) สามารถชักนำให้ PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* พัฒนาเป็นต้นได้ดีที่สุด 83% ภายในเวลา 8 สัปดาห์และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและน้ำหนักสดต้นอ่อนมากกว่าอาหารสูตร MS, VW และ KC (Young *et al.*, 2000) Hyponex (6.5-6-19) 0.3% สามารถชักนำให้ *Phalaenopsis violacea* เพิ่มจำนวน PLBs ได้ดีที่สุด (ดวงพร, 2546) Hyponex 0.3% หรือปุ๋ยทวินเฟอร์ติ้ตราตุ๊กตา สูตร 21-21-21 0.2% ทำให้ต้นกล้วยไม้สิงโตก้ามปูแดงเจริญเติบโตใกล้เคียงกับอาหารสูตรดัดแปลง VW แต่ในสิงโตเครายาวพบว่าอาหารสูตร VW ให้ผลดีที่สุด (ธันว์, 2546) นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยอื่นๆอีก เช่น ปุ๋ยมาสเตอร์ (20-20-20) 0.2% ที่มีวิตามินรวมทำให้ต้นกล้วยไม้ *D. sulcatum* Lindl. เจริญเติบโตดีกว่าอาหารสูตร VW เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน และปุ๋ยมาสเตอร์ (20-20-20) 0.2% ร่วมกับ BA 5 ppm ทำให้ต้น *Calanthe rosea* (Lindl.) Benth มีความสูงทรงพุ่มและขนาดของใบใหญ่ดีกว่าอาหารสูตร VW เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน (สุลัคน์, 2546) ปุ๋ยมาสเตอร์ทำให้ต้นกล้วยไม้เอื้องผาเวียง (*D. albosanguineum* L.) เจริญเติบโตดีใกล้เคียงกับอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (สรัญญา, 2547) ปุ๋ยกล้วยไม้สูตร 21-21-21, 30-20-10, 16-8-12+2MgO และ 18-18-18 ปริมาณ 0.1% สามารถใช้แทนอาหารสูตร VW ได้ (กัลยา, 2549) ปุ๋ยกล้วยไม้ 20-10-20 และ 21-21-21 0.1% ร่วมกับวิตามินทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Happy Girl เจริญเติบโตดีกว่า MS, VW, KC และ Hyponex (จุฑามาส, 2549) ปุ๋ยกล้วยไม้ Pokon และ Polean (16-21-27) 0.15% ทำให้โปรโตคอร์มของกล้วยไม้ช้างกระพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าอาหารสูตร VW และปุ๋ยกล้วยไม้ที่ความเข้มข้น 0.30 และ 0.45% เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ดาวอน, 2553) ปุ๋ยเกล็ดละลายน้ำ (16-21-27) ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เพชรหึงมีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้มีน้ำหนักสดความสูงต้นความยาวใบและจำนวนรากมากที่สุด (นันทิดา, 2556)

ตอนที่ 2 ผลของอาหารเหลว ขนาดต้นและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 และ 1.0 ซม. มาตัดรากและเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าอาหารเหลวทำให้ *D. discolor* ขนาดต้น 1.0 ซม. มีการเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนต้นมากที่สุด คล้ายกับการทดลองใน *D.* Judy Rutz และ *D.* Fleischeri ขนาดต้น 1.0 ซม. ที่เลี้ยงในอาหารเหลวให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นมากที่สุด การเลี้ยงในอาหารเหลวให้การเจริญเติบโตและพัฒนาดีกว่าอาหารแข็งอาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนของพืชสัมผัสกับอาหารได้มากกว่าการเลี้ยงบนอาหารแข็ง (Pierik, 1997) นอกจากนี้การเลี้ยงในอาหารเหลวยังช่วยเจือจางความเข้มข้นของสารที่พืชขับออกมาได้ (Pierik, 1997) สอดคล้องกับการทดลองเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องมรกตในอาหารเหลวมีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง (เกศรินทร์, 2551) อาหารเหลวจึงเหมาะสำหรับการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้ซึ่งเป็นการประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหารได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามอาหารเหลวไม่ส่งเสริมให้เกิดรากใหม่ ถ้าต้องการให้ต้นกล้วยไม้ที่สมบูรณ์พร้อมออกปลูกควรเลือกใช้อาหารกึ่งแข็ง

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารที่ทำให้เกิดเจลทั้ง 3 ชนิด พบว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของ *D. discolor* ไม่แตกต่างกัน แต่ Phytagel ให้จำนวนต้นมากกว่า CleriGar และ Agar สำหรับ *D.* Fleischeri พบว่า Phytagel ให้น้ำหนักสดมากกว่า CleriGar และ Agar อย่างไรก็ดี Phytagel และ CleriGar ให้น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากไม่แตกต่างกัน ส่วน *D.* Judy Rutz พบว่า Phytagel ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนรากมากกว่า CleriGar และ Agar เนื่องจากสารที่ทำให้เกิดเจลแต่ละชนิดมีองค์ประกอบและคุณสมบัติบางประการแตกต่างกันจึงส่งผลให้การเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน ด้วย Phytagel เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จาก *Pseudomonas elodea* จึงมีความบริสุทธิ์มากกว่า Agar ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีแดงหลายชนิด มักจะมีแร่ธาตุต่างๆ ปนอยู่ด้วยหลายชนิด เช่น ash, calcium, magnesium, silica (ศิวพงศ์, 2546; Teixeira da Silva *et al.*, 2006; Arditti, 2008) นอกจากนี้ Phytagel 0.2% ที่ใช้ในการทดลองทำให้อาหารกึ่งแข็งมีสภาพอ่อนนุ่มกว่าการใช้ Agar 0.55% ซึ่งพบว่าอาหารกึ่งแข็งที่มีสภาพอ่อนนุ่มทำให้ปลายรากของกล้วยไม้ซึ่งมีผนังเซลล์บางสามารถเจริญและดูดธาตุอาหารได้ดี (Arditti, 1992) และรากของ *Cymbidium* สามารถดูดธาตุอาหารได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีวุ้นความเข้มข้นต่ำ (Ogasawara *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการใช้ Chile agar ในอาหารกึ่งแข็ง VW เลี้ยงกล้วยไม้เอื้องเงินแดงทำให้จำนวนหน่อใหม่ น้ำหนักสด ความสูงต้นและเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำนวนรากและความยาวรากมากกว่าการใช้ Phytagel (อรรถพล, 2552)

เมื่อเปรียบเทียบต้นที่เคยหรือไม่เคยได้รับ PBZ ก่อนนำมาเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ พบว่าต้นที่เคยได้รับ PBZ ให้การเติบโต น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งดีกว่าต้นที่ไม่เคยได้รับ PBZ เนื่องจาก PBZ เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงช่วยเพิ่มความแข็งแรงของพืช จัดอยู่ในกลุ่ม triazole มีผลไปยับยั้งการสร้างหรือการทำงานของจิบเบอเรลลิน (พีรเดช, 2537; สมบุญ, 2548) โดยไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation จาก kaurene ไปเป็น kaurenoic acid ซึ่งมีผลในการลดการเจริญเติบโตของลำต้นโดยตรง ลดความสูงของต้นแต่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงและทำให้พืชมีใบหนา มีผลในการเพิ่มจำนวนคลอโรฟิลล์ต่อพื้นที่ใบทำให้ใบมีสีเขียวเข้ม (Sterrett, 1985) ช่วยเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ให้สูงขึ้น ทำให้การสังเคราะห์ด้วยแสงเกิดได้ดีขึ้น (Huang *et al.*, 1995; Jingyang *et al.*, 1992) ส่งผลให้มีการเพิ่มคาร์โบไฮเดรตในต้นอ่อนกล้วยไม้ซึ่งทำให้มีอาหารสะสมมากกว่าต้นที่ไม่เคยได้รับ PBZ

ตอนที่ 3 ผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

เมื่อนำต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่มีความสูงเฉลี่ย 2.0 ซม. มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน เปรียบเทียบการตัดรากและไม่ตัดรากพบว่าการตัดรากทำให้ *D. discolor* ตายมากกว่าไม่ตัดราก เมื่อ PBZ เพิ่มขึ้นก็ยิ่งทำให้ *D. discolor* ที่ตัดรากมีการตายเพิ่มขึ้น แต่การตัดหรือไม่ตัดรากของ *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ไม่มีผลต่อการตายและการได้และไม่ได้รับ PBZ ก็ไม่มีผลต่อการตายเช่นกัน อย่างไรก็ตามการตัดและไม่ตัดรากไม่มีผลต่อการเติบโตของ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในเวลา 2 เดือน เนื่องจากการเติบโตช้าจึงไม่ค่อยเห็นความแตกต่าง อย่างไรก็ดีต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารที่มี PBZ ทุกความเข้มข้นมีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี PBZ และยังสามารถทำให้มีจำนวนต้นเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย แต่การได้รับ PBZ ครั้งแรกทำให้ต้นสั้นกว่าต้นที่ไม่ได้รับ PBZ อย่างชัดเจน เมื่อนำมาเลี้ยงต่อในอาหารที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน ต้นที่เคยได้รับความเข้มข้นต่ำสามารถเติบโตจนมีความสูงใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมแต่น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและจำนวนรากมากกว่ากลุ่มควบคุม จากนั้นเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่มีหรือไม่มี PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน พบว่า *D. discolor* ตัดรากที่เคยได้รับ PBZ 0.5 ppm ให้การเติบโต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้น จำนวนราก ความสูงต้นและ TNC มากที่สุด คล้ายกับการทดลองใน *D.* Fleischeri ตัดรากที่เคยได้รับ PBZ 0.5 ppm ก็ยังคงให้การเติบโตดีที่สุด อย่างไรก็ตามพบว่า *D.* Judy Rutz ที่ไม่ตัดรากและเคยได้รับ PBZ 0.5 ppm ให้การเติบโตดีที่สุด ถึงแม้ว่าความสูงจะน้อยกว่าต้นที่ไม่เคยได้รับ PBZ สำหรับจำนวนต้นที่ได้จากวิธีนี้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 เดือน ในต้นกล้วยไม้ที่เคยได้รับ PBZ 0.5 ppm สามารถเพิ่มจำนวนต้น *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz จาก 1 ต้นเป็น 31, 18 และ 25 ต้นตามลำดับ โดยมีการเปลี่ยนอาหารทุกๆ 2 เดือน

เมื่อเปรียบเทียบเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นต่างกันแต่ความสูงต้นเท่ากัน โดยนำต้นกล้วยไม้ *D.* Judy Rutz ในสภาพปลอดเชื้อที่ไม่ตัดราก ความสูงเฉลี่ย 2.0 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม.มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน อาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน พบว่า *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม. ที่เคยได้รับ PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 ซม. ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนราก ความสูงต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.52 และ 0.13 กรัมต่อต้น 7.80 รากต่อต้น 5.26 ซม. 25.86, 9.07 และ 6.17 µg/mL of extract ตามลำดับ ส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.4 ซม. ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนราก ความสูงต้นและ TNC เท่ากับ 2.43 และ 0.13 กรัมต่อต้น 7.80 รากต่อต้น 5.14 ซม. และ 105.15 mg glucose eq/g.dry wt. ตามลำดับ เนื่องจาก Paclobutrazol (PBZ) เป็นสารชะลอการเติบโตที่มีประสิทธิภาพสูงที่นิยมใช้ในปัจจุบัน จัดเป็นสารควบคุมการเติบโต (plant growth regulator) ที่พืชไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเองได้

สารนี้จะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้แก่พืช ชะลอการแบ่งเซลล์และการยืดตัวของเซลล์จึงมีผลทำให้ต้นพืชที่ได้รับสารมีความสูงน้อยกว่าปกติ มีใบหนาและเขียวเข้ม (พีรเดช, 2537) โดยจะไปยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน (gibberellin) ส่งผลให้ยับยั้งปฏิกิริยา oxidation จาก kaurene ไปเป็น kaurenoic acid ซึ่งมีผลในการลดการเจริญเติบโตของลำต้นโดยตรง ยับยั้งการแบ่งเซลล์และการยืดขยายขนาดของเซลล์ในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญใต้ปลายยอด (subapical meristem) (Sterrett, 1985) สารนี้เคลื่อนที่ได้ดีในท่อน้ำ (xylem) เคลื่อนไปสู่ใบและตา แต่ไม่เคลื่อนที่ในท่ออาหาร (phloem) จึงมีการดูดซึมเข้าทางรากได้ดี (Greene and Murray, 1983; Rademacher, 1991) ช่วยเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ให้สูงขึ้นและมีสัดส่วนของคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีลดลงโดยส่งผลให้การสังเคราะห์ด้วยแสงเกิดได้ดีขึ้น (Huang *et al*., 1995; Jingyang *et al*., 1992) ช่วยเพิ่มคลอโรฟิลล์ต่อพื้นที่ใบให้มากขึ้นเพราะว่าเซลล์ในใบพืชมีขนาดเล็กลงและยังมีผลต่อการเพิ่มคาร์โบไฮเดรตในส่วนของต้นอ่อน อัตราการหายใจน้อยลงและต้นอ่อนสามารถอยู่ในสภาพที่มีแสงน้อยได้ดีกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารนี้ (Stang and Weis, 1984) การเปรียบเทียบปริมาณ TNC ในใบและลำหน้าของกล้วยไม้หวายไม่มีความแตกต่างกัน (ศรายุธ, 2554) อาจเนื่องจากอาหารสะสมถูกสร้างที่ใบและมีการเคลื่อนย้ายมาสะสมที่ลำของกล้วยไม้ จึงทำให้ทั้ง 2 ส่วนมีอาหารสะสมในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน (Hew and Ng, 1996; Yong and Hew, 1995) อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์ปริมาณอาหารสะสม (TNC) ในใบกล้วยไม้พบมากที่สุดในอาหารที่มี PBZ 1.0 ppm แสดงให้เห็นว่า PBZ ทำให้การสังเคราะห์แสงมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการสร้างน้ำตาลและแป้งซึ่งเป็นอาหารสะสมสำหรับพืชเพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม เช่น การเจริญเติบโต ส่งผลให้กล้วยไม้เจริญเติบโตเร็วขึ้นและปริมาณ TNC มากขึ้นด้วย (Hew and Yong, 2004; Salisbury and Ross, 1992) อีกทั้งสารนี้ไม่มีผลต่อลักษณะใดก็ตามที่ไม่ได้ถูกควบคุมโดยจิบเบอเรลลินก็ไม่มีผลกระทบกระเทือนต่อลักษณะนั้นด้วย เช่น การเปลี่ยนแปลงของจำนวนข้อ จำนวนดอก ขนาดดอก เป็นต้น (พีรเดช, 2537) สอดคล้องกับการทดลองใช้ PBZ 0.0001 ppm ทำให้กล้วยไม้เอื้องปากนกแก้วมีการเจริญเติบโตดีและแข็งแรง โดยให้ความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด (โกวิท, 2542) PBZ 0.01 ppm ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Calanthe rosea* (Lindl.) Benth มีค่าเฉลี่ยความสูงทรงพุ่มความยาวใบและความกว้างใบสูงสุด และ PBZ 1 ppm ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. sulcatum* Lindl. มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสด ความยาวใบและจำนวนรากสูงสุด (สุลัคน์, 2546) PBZ 0.1 ppm ทำให้ต้นกล้วยไม้สิงโตก้ามปูแดงมีน้ำหนักสด ความยาวรากและจำนวนรากดีที่สุด (ธันว์, 2546) PBZ 0.5 ppm ทำให้ต้นกล้าของกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์มีน้ำหนักสด ความกว้างใบ ความยาวรากและจำนวนรากต่อต้นสูงสุด (วัลยา, 2537) PBZ 1 ppm ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องพวงหยกมีน้ำหนักสดและจำนวนรากมากที่สุด แต่การไม่เติม PBZ ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ช้างกระมีน้ำหนักสดจำนวนรากความยาวรากความสูงจำนวนใบและขนาดของใบมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการเติม PBZ 0.1 และ 1 ppm (ศิริพร, 2552) PBZ 1 ppm ทำให้กล้วยไม้เอื้องผาเวียงเจริญเติบโตดีที่สุด และเมื่อออกปลูกในโรงเรือน อาหารที่มี PBZ 0.001-0.01 ppm ให้อัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดเท่ากับ 90-100% (สรัญญา, 2547) นอกจากนี้ PBZ ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังย้ายปลูกในสภาพโรงเรือนของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องมัจฉาเหลือง *(D. griffithianum* Lindl.) เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นโดยที่ความเข้มข้น 0.1 ppm มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 64.44% (อัญชัน, 2544)

ตอนที่ 4 การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง

ในการทดลองที่ 4.1 เมื่อนำตาข้างของกล้วยไม้ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับ PBZ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าตาข้างของกล้วยไม้ทั้งสามสายพันธุ์ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี PBZ ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้นดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตาข้างที่เลี้ยงในอาหารที่มี PBZ เนื่องจาก PBZ เป็นสารชะลอการเติบโตที่มีประสิทธิภาพสูง ชะลอการแบ่งเซลล์และการยืดขยายขนาดของเซลล์ในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญใต้ปลายยอด (subapical meristem) (Sterrett, 1985) ถึงแม้ว่าสารนี้จะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับพืชก็ตาม แต่ก็ไม่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงตาข้างของกล้วยไม้ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz คล้ายกับรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้บางชนิดที่ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลับให้ผลดีกว่า เช่น การขยายพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารี *Paphiopedilum rothschildianum* จากตาข้างเป็นเวลา 16 สัปดาห์ โดยอาหารสูตร ½ MS ร่วมกับเปปโตน 0.1% และไม่มีสารควบคุมการเติบโตให้จำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 2.9 ยอด (Ng and Saleh, 2011) การเพาะเลี้ยงเอื้องมรกตจากเนื้อเยื่อปลายยอด ในอาหารดัดแปลงสูตร VW ที่เติม BA หรือ TDZ ให้ผลในทางยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ (เกศรินทร์, 2551) การชักนำให้เกิด PLBs จากตาข้างของกล้วยไม้เอื้องเงินแดง (*D. carinifeรum* Rchb.f.) อาหารที่เติม BA และ TDZ ส่งผลลบต่อ PLBs กล้วยไม้เอื้องเงินแดงเช่นกัน ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารที่ชักนำ PLBs ของกล้วยไม้เอื้องเงินแดง (อรรถพล, 2552) และ Hyponex 0.3% ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ทำให้เกิดยอดจากส่วนข้อของกล้วยไม้รองเท้านารี *Paphiopedilum* ‘Delrosi’ โดยมีอัตราการเกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 100% จำนวนยอดใหม่เฉลี่ย 1.0 ยอด เป็นเวลา 16 สัปดาห์ (เอกสิทธิ์, 2553) ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างกล้วยไม้ของการทดลองต่อไปจึงไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ในการทดลองที่ 4.2 เมื่อนำตาข้างของ *D.* Fleischeri ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 1 ppm ขนาด 0.5 ซม. มาเลี้ยงในอาหาร VW ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ร่วมกับสารที่ทำให้เกิดเจลแตกต่างกัน 3 ชนิด เปรียบเทียบกับอาหารเหลวที่เขย่า 120 รอบต่อนาทีและไม่เขย่า เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร VW ที่เติม Phytagel ให้น้ำหนักสดมากที่สุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารเหลว VW อย่างไรก็ตามอาหารเหลว VW ทำให้มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด สูตรอาหารกึ่งแข็งส่งเสริมการเกิดรากและให้ความยาวรากมากกว่าอาหารเหลว นอกจากนี้ยังให้ความสูงมากกว่าอาหารเหลวอีกด้วยโดย Phytagel ให้ความสูงดีที่สุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ CleriGar คล้ายกับการเพาะเลี้ยงตาข้างเอื้องปากนกแก้วบนอาหารกึ่งแข็งทำให้เกิดยอดได้ดีกว่าอาหารเหลว (บุญมา, 2548) เมื่อเปรียบเทียบอาหารเหลว VW ที่มีการเขย่า 120 รอบต่อนาทีกับไม่เขย่า พบว่าในสภาพอาหารเหลวที่ไม่เขย่าทำให้ตาข้างกล้วยไม้มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และความสูงต้นดีกว่าการเขย่า แม้ว่าการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าทำให้มีการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์และเอทธิลีน เพิ่มการกระจายของสารอาหาร ยับยั้งการรวมตัวของสารอาหารและฮอร์โมน อีกทั้งยังกำจัดผลของแรงดึงดูดของโลก จึงเกิดการเจริญในระบบแนวราบและแบ่งเซลล์ได้ดีขึ้น (Street, 1973; Wimber, 1963) เช่น โปรโตคอร์ม

เอื้องมรกตที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่าสามารถเพิ่มโปรโตคอร์มได้เป็นจำนวนมากโดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 3-4 สัปดาห์ (เกศรินทร์, 2551) ในด้านขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนจากผลการทดลองพบว่าอาหารเหลวในสภาพนิ่งให้จำนวนต้นดีที่สุดทั้งยังให้น้ำหนักแห้งดีที่สุดอีกด้วย เนื่องจากการเลี้ยงตาในอาหารเหลวนั้นสารต่างๆ อยู่ในรูปของสารละลายซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้เร็วกว่าการเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง (Arditti, 1992) สอดคล้องกับการใช้อาหารเหลวหรืออาหารเหลวสลับกับอาหารกึ่งแข็งสามารถเพิ่มจำนวน PLBs ของกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมได้ดีทั้งสองแบบแต่การใช้อาหารเหลวตลอดการเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มจำนวน PLBs ได้ดีกว่า (ศุภณัฏฐ์, 2549) และการเพาะเลี้ยงตาจากก้านช่อดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมในอาหารเหลวสามารถให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อตาสูงกว่าการเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง เมื่อเลี้ยงนาน 60 วัน (ศุภณัฏฐ์, 2549) อาหารเหลวจึงเหมาะสำหรับการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้และสะดวกในการเปลี่ยนอาหารเพราะไม่ต้องตัดราก ซึ่งเป็นการประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหารได้อีกด้วย นอกจากนี้การเลี้ยงในอาหารเหลว อย่างไรก็ดีอาหารกึ่งแข็งทำให้เนื้อเยื่อตาข้างเจริญพัฒนาไปเป็นต้นได้เร็วกว่าอาหารเหลว

ในการทดลองที่ 4.3 เมื่อนำตาข้างของ *D.* Fleischeri ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม PBZ 1 ppm ขนาด 0.5 ซม. จำนวน 1 และ 5 ตาข้างต่อขวด มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) ปริมาตรของอาหารเหลว 5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตรในขวดขนาด 4 ออนซ์ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าปริมาตรของอาหารเหลว 20 มิลลิลิตรต่อ 1 ตาให้การเจริญเติบโตดีที่สุดโดยให้น้ำหนักสด จำนวนต้นและความสูงต้นมากที่สุดเท่ากับ 238.9 มก.ต่อตา 2.1 ต้นและ 6.9 มม. ตามลำดับแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับจำนวน 5 ตาต่อขวดในอาหาร 10 มิลลิลิตร เมื่อคำนึงถึงต้นทุนต่อขวดและพื้นที่บนชั้นวางขวดในห้องเพาะเลี้ยงจึงควรเลือกจำนวน 5 ตาต่อขวดในอาหาร 10 มิลลิลิตรดีที่สุด นอกจากนี้ปริมาตรของอาหารเหลว 5 มิลลิลิตรต่อ 5 ตา ยังทำให้จำนวนรากมากที่สุด ซึ่งอัตราส่วนของอาหารต่อจำนวนตาข้างน้อยที่สุดอาจทำให้ตาข้างได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ ยังต้องการสารอาหารเพิ่มเติม จึงเกิดการกำเนิดอวัยวะ (organogenesis) และการสร้างคลอโรฟิลล์ขึ้น (chlorophyll formation) โดยใช้อาหารสะสมที่อยู่ในเนื้อเยื่อ (Ichihashi and Islam, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องเงินแดง (*Dendrobium cariniferum* Rchb.f.) บนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW โดยมีจำนวนต้นเท่ากับ 1, 5 หรือ 10 ต้นต่อขวดขนาด 4 ออนซ์ พบว่าจำนวนต้นต่อขวดที่ 5 ต้น ให้น้ำหนักสดและความยาวรากดีกว่าจำนวน 1 และ 10 ต้นต่อขวด (อรรถพล, 2552) แสดงให้เห็นว่าจำนวนชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อปริมาตรอาหารที่เหมาะสมจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น

ในการทดลองที่ 4.4 เมื่อนำตาข้างของ *D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม PBZ 1 ppm ขนาด 0.5 ซม. มาเลี้ยงในอาหารเหลวแบบต่างๆ ที่มีและไม่มี sucrose 2.0% (w/v) โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 และ 4 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์เหมาะสมกว่า 2 สัปดาห์ อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนอาหารทำให้กล้วยไม้ต้องปรับตัวในสภาพแวดล้อมใหม่ คล้ายกับการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินแดง (*D. cariniferum* Rchb.f.) บนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW พบว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 60-120 วัน ให้ความยาวรากมากกว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 30 วัน เพราการเปลี่ยนอาหารบ่อยครั้งทำให้รากชะลอการเติบโต (อรรถพล, 2552) จากการการทดลองที่ 1.3.4 ปุ๋ยที่ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่ใช้ในการทดลอง

ส่วนใหญ่เติบโตดี ได้แก่ ปุ๋ย Hyponex ปุ๋ยนูตราฟอส และปุ๋ยไบโอเมอร์ แต่เนื่องจากปุ๋ยไบโอเมอร์มีแร่ธาตุอาหารเสริมต่างๆ ในรูปของคีเลท อีดีทีเอ (EDTA chelates) และฮิวมิกแอซิด (Humic acid) ทำให้อาหารเหลวมีสีเข้ม (สีดำปนน้ำตาลเข้ม) ทำให้แสงไม่สามารถส่องผ่านได้ จึงไม่เหมาะสำหรับเป็นอาหารเหลวในการเพาะเลี้ยงตาข้างจึงไม่เลือกมาใช้ในการทดลองที่ 4.4 อย่างไรก็ตามพบว่าอาหารเหลวปุ๋ยนูตราฟอสก็ไม่เหมาะสมในการเลี้ยงตาข้าง ทำให้ตาข้างมีสีน้ำตาลหรือดำ อาจเป็นเพราะความเข้มข้น 0.35% ที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่เหมาะสมในการเลี้ยงตาข้าง เนื่องจากไนโตรเจนที่มากเกินไปในเนื้อเยื่อมีแนวโน้มทำให้พืชอวบน้ำและอ่อนแอ ฟอสฟอรัสที่มากเกินไปก็เป็นพิษกับพืช (Ichihashi, 1978) สำหรับโพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมากเนื่องจากถูกใช้มากในเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตโดยมีผลต่อการพัฒนาของผนังเซลล์ (Sheehan and McConnell, 1980) ความเข้มข้นของปุ๋ยที่มากเกินไปจะทำให้เกิดอาการใบและรากไหม้ เนื่องจากความเค็มและความเข้มข้นของปุ๋ยจะดึงน้ำออกจากเซลล์จนเซลล์ตายในที่สุด (ครรชิต, 2547) อีกทั้งอาหารที่มีความเข้มข้นสูงมีผลทำให้ค่าแรงดันออสโมติกของอาหารเพิ่มขึ้น (Arditti, 2008) ทำให้เนื้อเยื่อไม่สามารถดูดน้ำและแร่ธาตุไปใช้ได้จึงทำให้เนื้อเยื่อตายในที่สุด ในตาข้างของกล้วยไม้สายพันธุ์แท้ *D. discolor* และ *D. antennatum* ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลซูโครสสูตรน้ำให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ตาข้างมีสีเขียวสดกว่าที่เลี้ยงในอาหารสูตรอื่นและยังให้จำนวนรากดีที่สุดอีกด้วย เนื่องจากน้ำไม่มีแหล่งพลังงานให้กับเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นพืชจึงต้องมีกิจกรรมการสังเคราะห์แสงสำหรับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ จึงเกิดการกำเนิดอวัยวะ (organogenesis) และการสร้างคลอโรฟิลล์ขึ้น (chlorophyll formation) โดยใช้อาหารสะสมที่อยู่ในเนื้อเยื่อทำให้น้ำหนักแห้งน้อยกว่าอาหารที่มีน้ำตาล แม้ว่าจะเกิดราก ใบ และมีความสูงต้นดี คล้ายกับการเพาะเลี้ยงแคลลัสของ *Phalaenopsis*, *Doritaenopsis* และ *Neofinetia* ในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส พบว่ามีการเพิ่มปริมาณแคลลัสโดยไม่เกิดการกำเนิดอวัยวะและการสร้างคลอโรฟิลล์ (Ichihashi and Islam, 1999) และในการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของ *Holttumara* ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่ำหรือไม่ใช้น้ำตาลซูโครสส่งผลดีต่อการเกิด PLBs ส่วนน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงมีผลให้คลอโรฟิลล์และไรโบโซมน้อยลง ทำให้สีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (Teo and Wong, 1978) การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมจากก้านช่อดอกในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสก็ทำให้ PLBs ที่ได้มีสีเหลืองเช่นเดียวกัน (ศุภณัฏฐ์, 2549) และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงทำให้ PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* และ *Doritaenopsis* มีสีเหลืองหรือสีเขียวอ่อน ส่วนอาหารที่เติมน้ำตาลซอบิทอลหรือน้ำตาลแมนนิทอลหรือไม่เติมน้ำตาลมีผลทำให้ PLBs พัฒนาเป็นต้น (Ichihashi and Hiraiwa, 1996) อย่างไรก็ตามตาข้างของกล้วยไม้สายพันธุ์แท้ *D. discolor* และ *D. antennatum* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสสูตรน้ำจะให้น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นดีที่สุด เพราะน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นต่อเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เป็นปัจจัยสำคัญในขบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เนื่องจากในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้จำเป็นต้องใช้น้ำตาล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะแรกซึ่งยังไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ ทำให้ต้องพึ่งแหล่งพลังงานจากภายนอก (Pierik, 1997) สำหรับรายงานอื่นๆ เกี่ยวกับการทดลองใช้น้ำตาลในการเพาะเลี้ยง PLBs ของกล้วยไม้ พบว่า fructose ความเข้มข้นต่ำ ทำให้ PLBs กล้วยไม้สกุล *Aranda* เจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้ดี (Chia *et al.*, 1988) นอกจากนี้น้ำตาลซูโครส 0.5-1% ทำให้ PLBs กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte เพิ่มปริมาณและขนาดได้ดีกว่า maltose และ sorbitol ที่ 2%

(ดวงพร, 2546) น้ำตาลซูโครส 0.5% ทำให้ PLBs กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมมีขนาดเฉลี่ยมากกว่า PLBs ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 1% (ราฮีมา, 2549) น้ำตาลซูโครส 0.5% ร่วมกับ BA 5 ppm เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยง PLBs ที่ได้จากก้านช่อดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมโดยให้จำนวนตาที่รอดชีวิตและมีการพัฒนาเป็นยอดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบการเติมน้ำตาลซูโครส 0 0.5 และ 1% ร่วมกับ BA 0.5 1 2 และ 5 ppm (ศุภณัฏฐ์, 2549) และการไม่เติมน้ำตาลซูโครสในอาหารเหลว VW แต่เติมน้ำมะพร้าว 15% ทำให้ตาข้างของกล้วยไม้เอื้องเงินแดง (*D. cariniferum* Rchb.f.) พัฒนาเป็น PLBs ได้ดี และน้ำตาลซูโครสตั้งแต่ 1-6% มีผลทำให้การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อตาข้างกล้วยไม้เอื้องเงินแดงลดลงเมื่อเทียบกับการที่ไม่เติมน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยง (อรรถพล, 2552) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าน้ำตาลซูโครส 2% เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* และ PLBs จะเจริญเติบโตได้เร็วเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบ (Tanaka and Sakanishi, 1977) และน้ำตาลซูโครส 4% สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจาก PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Richard Shaffer 'Santa Curz' ได้ดีที่สุด (Ishii *et al.,* 1998) ทำให้ PLBs ของ *Epidendrum radicans* เพิ่มจำนวนมากขึ้น (Chen *et al.,* 2002) อาจเนื่องจากความแตกต่างของสายพันธุ์ทำให้กล้วยไม้มีความต้องการความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตสำหรับการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (Ichihashi and Hiraiwa, 1996) อีกทั้งเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่แตกต่างกันด้วย (Arditti, 2008) สำหรับตาข้างของกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสม *D.* Fleischeri อาหารเหลว Hyponex ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด อย่างไรก็ตามตาข้างที่เลี้ยงในน้ำให้จำนวนรากมากที่สุด คล้ายกับการทดลองใน *D.* Judy Rutz พบว่าอาหารเหลว Hyponex ให้การเจริญเติบโตทั้งน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นมากที่สุด สอดคล้องกับรายงานเกี่ยวกับการใช้ Hyponex ในอาหารเพาะเลี้ยงพบว่า Hyponex (7-6-6) 0.3% ส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*, *Cattleya*, *Cymbidium* และ *Paphiopedilum* ดีกว่าอาหารสูตร KC (Kano, 1965) Hyponex (6.5-6-19) 0.3% สามารถชักนำให้ *Phalaenopsis violacea* Witte เพิ่มจำนวน PLBs ได้ดีและชักนำให้พัฒนาเป็นต้นที่แข็งแรงได้ดีที่สุด (ดวงพร, 2546) Hyponex (6.5-4.5-19 0.1% +20-20-20 0.1%) ร่วมกับเปปโตน 0.2% น้ำต้มมันฝรั่ง 3% ผงถ่านกัมมันต์ 0.05% และน้ำตาลซูโครส 3% สามารถชักนำให้ PLBs ของ *Phalaenopsis* พัฒนาเป็นต้นได้ภายใน 6 สัปดาห์ (Park *et al.*, 2002) Hyponex (6.5-4.5-19 0.1% + 20-20-20 0.1%) สามารถชักนำให้ PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* พัฒนาเป็นต้นได้ดีที่สุด 83% ภายในเวลา 8 สัปดาห์และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและน้ำหนักสดต้นอ่อนมากกว่าอาหารสูตร MS, VW และ KC (Young *et al.,* 2000) อย่างไรก็ตามมีรายงานการขยายพันธุ์กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมจากก้านช่อดอกในสภาพปลอดเชื้อพบว่าอาหารสูตร VW เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสามารถชักนำให้เกิด PLBs บนชิ้นส่วนปลายยอด *Phalaenopsis* ลูกผสมได้ดีกว่า Hyponex (ศุภณัฏฐ์, 2549)

ในการทดลองที่ 4.5 เมื่อนำตาข้าง *D.* Judy Rutz ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม PBZ 1 ppm ขนาด 0.5 ซม. มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น เป็นระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอม 10% (w/v) sucrose 2.0% (w/v) และ activated charcoal 0.05% (w/v) เป็น

ระยะเวลารวม 3 เดือน พบว่าตาข้างที่เลี้ยงในอาหารเหลวหรือน้ำเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนรากและความสูงต้นมากที่สุด อย่างไรก็ดีอาหาร Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีกว่าน้ำ แต่จำนวนต้นมากที่สุด (3-4 ต้น) เกิดจากตาข้างที่เลี้ยงในน้ำ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หรืออาหารเหลว Hyponex 8 สัปดาห์ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง ดังนั้นในการเพิ่มจำนวนของตาข้างกล้วยไม้ควรใช้อาหารเหลวในการเพิ่มจำนวนซึ่งสามารถใช้น้ำทดแทนได้ ในการทดลองที่ 4.6 เมื่อนำตาข้างของ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม PBZ 1 ppm ขนาด 0.5 ซม. มาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่เติม sucrose 2.0% (w/v) เป็นระยะเวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมกล้วยหอม 10% (w/v) sucrose 2.0% (w/v) และ activated charcoal 0.05% (w/v) เป็นระยะเวลารวม 3 เดือน พบว่าตาข้าง *D. discolor* ที่เลี้ยงในอาหารเหลวก่อน 2 สัปดาห์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุด อาจเนื่องจากตาข้าง *D. discolor* ปล่อยสารประกอบฟีโนลิกออกมามาก เนื่องจากชิ้นส่วนพืชที่เกิดบาดแผลจะปลดปล่อยสารประกอบฟีโนลิกจำนวนมากที่บริเวณบาดแผลซึ่งมีพิษต่อชิ้นส่วนของพืช เนื้อเยื่อที่บาดแผลจะตายเพื่อปิดรอยเปิดไม่ให้เนื้อเยื่อสูญเสียน้ำหรือป้องกันเชื้อโรคเข้าไปทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช (บุญยืน, 2544) สารประกอบฟีโนลิกสามารถส่งผลทางลบต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนของพืช (Kotomori and Murashige, 1965) การเลี้ยงในอาหารเหลวช่วยให้สารเหล่านี้แพร่กระจายและเจือจางได้ดีกว่าอาหารกึ่งแข็ง ยิ่งประกอบกับการเปลี่ยนอาหารใหม่ก็ยิ่งช่วยให้เนื้อเยื่อตาข้างนั้นเจริญเติบโตได้ดี คล้ายกับการศึกษาการขยายพันธุ์ฟาแลนนอปซิสจากชิ้นส่วนใบมีการปล่อยสารประกอบฟีโนลิก ทำให้อาหารมีสีดำขึ้นส่งผลให้จำนวน PLBs ลดลง แต่เมื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ จะช่วยเพิ่มจำนวน PLBs มากกว่าการไม่เปลี่ยนอาหารเลย (Tanaka, 1992) อย่างไรก็ตามการทดลองในตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz พบว่าตาข้างที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทันทีให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุด อาจเนื่องจากตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ปล่อยสารประกอบฟีโนลิกออกมาน้อยกว่าตาข้าง *D. discolor* การเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่มีผงถ่านกัมมันต์ก็เพียงพอในช่วยดูดซับสารพิษสีน้ำตาลซึ่งเป็นสารประกอบพวกฟีโนลิกและไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนอาหารใหม่อีกด้วย ผงถ่านกัมมันต์ยังทำให้อาหารมีสีดำทำให้รากมีการเจริญเติบโตดีขึ้นและยังช่วยรักษาความเป็นกรดด่างของอาหารไม่ให้เปลี่ยนแปลงไปมากนัก นอกจากนี้ผงถ่านที่เติมในอาหารช่วยเพิ่มการระบายอากาศในอาหารได้ดีขึ้นด้วย (Arditti, 2008) เมื่อเสริมกับกล้วยหอมที่มีสารต่างๆ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แล้ว ยังประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ thiamine riboflavin niacin วิตามินซีและแร่ธาตุจำนวนมาก เช่น แคลเซียม เหล็ก โพแทสเซียม แมกนีเซียม เป็นต้น อีกทั้งมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ที่ทำให้ pH ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยเฉพาะธาตุเหล็กอยู่ในรูปที่กล้วยไม้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้และการเกิดรากได้ (Arditti, 2008) นอกจากนี้ในเนื้อกล้วยหอมยังประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งได้แก่ lysine, cysteine, methionine และ arginine (Arditti, 2008) เหล่านี้ย่อมดีกว่าอาหารเหลว Hyponex ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2.0% ซึ่งเป็นอาหารเหลวที่ใช้ในการทดลองก่อนย้ายตาข้างมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง

อาหารเหลวเป็นอาหารสังเคราะห์ที่ไม่มีการเติมสารที่ทำให้อาหารเปลี่ยนสภาพนิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อจุดประสงค์ที่จะชักนำเนื้อเยื่อให้เป็นแคลลัส (Arditti, 2008) ส่วนใหญ่นิยมใช้อาหารเหลวในการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวน PLBs ของกล้วยไม้ เพื่อให้เกิดการแบ่งเซลล์ทั้งเร็วกว่าและมากกว่าการใช้อาหารแข็ง (Bonga and Durzan, 1982) เนื่องมาจากอาหารเหลวโดยทั่วไปส่งผลต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อกล้วยไม้มีการแบ่งเซลล์สร้างแคลลัสแล้วเจริญพัฒนาไปเป็น PLBs จำนวนมาก ซึ่งเป็นระยะการเจริญในช่วงแรกหลังจากนำเนื้อเยื่อเริ่มต้นของกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและ PLBs จะยังไม่มีการพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ในอาหารเหลวจนกว่าจะย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง (Arditti, 2008) อย่างไรก็ดีตาข้างสามารถเจริญเป็นยอด (organogenesis) ได้โดยตรงโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการชักนำเนื้อเยื่อตาข้างให้เจริญไปเป็น PLBs ก่อน ตาข้างสามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ในธรรมชาติ ตาเหล่านี้จะพักตัวอยู่ในระยะหนึ่งจากอิทธิพลของตายอด เมื่อตายอดถูกตัดหรือได้รับบาดเจ็บ ตาข้างจะสามารถเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตามในระยะแรกอัตราการเพิ่มจำนวนช้ากว่า ในช่วงหลังจึงมีอัตราการเพิ่มจำนวนเร็วขึ้นเป็นทวีคูณ (บุญยืน, 2544) ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงตาข้างบนอาหารกึ่งแข็งจึงมีความเหมาะสมมากกว่า วิธีนี้สามารถทำให้ตาข้างของกล้วยไม้ที่ใช้ในการทดลองนี้พัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ที่มีการแตกกอเพิ่มจำนวนต้นได้อีกด้วย ถึงแม้ว่าในแง่ของการเพิ่มจำนวนอาหารเหลวให้ผลดีกว่า

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

ตอนที่ 1 สูตรอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ให้เป็นต้นที่สมบูรณ์

1.1 การเพาะเมล็ด

อาหารเหลวสูตร Hyponex (Hyponex 0.35% (w/v) + peptone 0.20% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v)) ทำให้เมล็ดกล้วยไม้ *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz งอกได้ดีที่สุด ให้น้ำหนักสด (23.7, 14.0 และ 10.1 มก.ต่อโปรโตคอร์มตามลำดับ) และดัชนีการงอกดีที่สุด (296.3, 252.1 และ 280.7 ตามลำดับ) เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน อย่างไรก็ตามเมล็ดกล้วยไม้สามารถพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม ยังไม่พัฒนาเป็นต้นที่มีใบและราก อาหารเหลวจึงเหมาะสำหรับการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์ม แต่ถ้าต้องการต้นกล้วยไม้ให้เพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เพราะเมล็ดกล้วยไม้ที่เพาะในอาหารกึ่งแข็งจะพัฒนาจนเกิดเป็นต้นที่มีใบและราก สามารถลดระยะเวลาลงได้อีก 2-3 เดือนในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม โดยอาหารกึ่งแข็งสูตร Hyponex ที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง (Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v) + Phytagel 0.20% (w/v) + activated charcoal 0.05% (w/v)) ทำให้เมล็ดกล้วยไม้ *D. phalaenopsis* และ *D.* Suree Peach งอกได้ดีที่สุด ให้น้ำหนักสดมากที่สุดเท่ากับ 11.9 และ 27.2 มก.ตามลำดับ ดัชนีการงอกดีที่สุดเท่ากับ 346.4 และ 427.5 ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน

1.2 การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม

สูตรอาหารกึ่งแข็ง VW ร่วมกับกล้วยหอม (VW + banana 10% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v) + Phytagel 0.20% (w/v) + activated charcoal 0.05% (w/v)) ทำให้โปรโตคอร์ม *D. discolor* เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. พัฒนาไปเป็นต้นได้ดีที่สุด ให้น้ำหนักสด 82.1 มก.และความสูง 5.8 มม. เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน นอกจากนี้สามารถใช้สูตรอาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งเพื่อให้จำนวนโปรโตคอร์มเพิ่มขึ้นหรืออาหารกึ่งแข็ง Hyponex ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งและเปปโตน (Hyponex 0.35% (w/v) + potato extract 10% (w/v) + peptone 0.20% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v) + Phytagel 0.20% (w/v) + activated charcoal 0.05% (w/v)) ก็ให้การเจริญเติบโตดีเช่นกัน โดยทำให้โปรโตคอร์ม *D. discolor* เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.2 ซม. มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 182.0 มก. 13.0 มก. 9.6 มม. และ 9.0 มม. ตามลำดับ อย่างไรก็ตามควรมีการคัดเลือกโปรโตคอร์มที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงและวางกระจายภายในขวดไม่ให้หนาแน่นเกินไปเพื่อให้โปรโตคอร์มได้รับสารอาหารและแสงอย่างเพียงพอ

1.3 การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพื่อให้ต้นสมบูรณ์แข็งแรง

สูตรอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 2% (w/v) เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายมากกว่าสูตรอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 0, 3, 4 และ 6% (w/v) นอกจากนี้การเพิ่มอาหารเสริมอินทรีย์ยังช่วยให้กล้วยไม้สกุลหวายเจริญเติบโตได้ดีขึ้นอีกด้วย โดยอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอม (VW + banana 10% (w/v) + sucrose 2.0% (w/v) + Phytagel 0.20% (w/v) และ activated charcoal 0.05% (w/v)) ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลหวายเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง โดยกล้วยไม้สายพันธุ์แท้ (*D. discolor* ความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม.) ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 740.5 และ 70.7 มก.ต่อต้น 1.6 และ 4.4 ซม.ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน และในกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสม คือ *D.* Fleischeri ความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเท่ากับ 349.3 และ 36.7 มก.ต่อต้น 1.3 และ 3.6 ซม. ตามลำดับ สำหรับกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสม *D.* Judy Rutz ความสูงเฉลี่ย 0.5 ซม. ให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้นและความยาวรากเท่ากับ 298.0 และ 33.4 มก.ต่อต้น 1.4 และ 2.7 ซม. ตามลำดับ ดังนั้นอาหารสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมจึงเหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง นอกจากนี้ยังพบว่าปุ๋ย Hyponex จากประเทศญี่ปุ่นสามารถทำให้กล้วยไม้สกุลหวายเจริญเติบโตได้ดี จึงได้ทำการทดลองเปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมีที่มีอยู่ในท้องถิ่น พบว่าปุ๋ย Hyponex ทำให้ต้นกล้วยไม้ *D. discolor* และ *D. phalaenopsis* เจริญเติบโตได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามพบว่าสำหรับต้นกล้วยไม้ *D.* Fleischeri ปุ๋ยนูตราฟอสให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ส่วน *D.* Judy Rutz ปุ๋ยไบโอเมอร์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ปุ๋ยเคมีเหล่านี้สามารถนำมาทดแทนอาหารสังเคราะห์สูตรอื่นได้ อย่างไรก็ดีปุ๋ยอื่นนอกเหนือจากนี้สามารถปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมและเติมสารเสริมอินทรีย์อื่นๆ เพื่อช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตได้อีกด้วย

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายในสภาพปลอดเชื้อจนกระทั่งได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมออกจากขวดหรือส่งลูกค้าโดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 1 ปี หรือ 12 เดือน แต่การใช้อาหารกึ่งแข็งสูต Hyponex ที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง สามารถทำให้เมล็ดกล้วยไม้งอกเป็นต้นอ่อนที่มีใบและรากได้ในระยะเวลา 2 เดือน เป็นการลดระยะเวลาของโปรโตคอร์ม (2-4 เดือน) จากนั้นนำต้นอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2-3 เดือน จะได้ต้นกล้วยไม้ที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมออกจากขวดหรือส่งลูกค้าซึ่งใช้เวลารวม 8 เดือน วิธีการดังกล่าวสามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ซึ่งเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย แรงงาน วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีในการเตรียมอาหารลงได้อีกด้วย เป็นการส่งเสริมให้การพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ตอนที่ 2 ผลของอาหารเหลว ขนาดต้นและสารที่ทำให้เกิดเจลต่อการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลวทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนต้นมากกว่าที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลวจึงเหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณที่ต้องการ ซึ่งการใช้อาหารเหลวทำให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหารได้อีกด้วย อย่างไรก็ดี ต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลวมีจำนวนรากน้อยกว่าต้นที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง นอกจากนี้การเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ต้นขนาด 1.0 ซม. เจริญเติบโตดีกว่าต้นขนาด 0.5 ซม. และการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี PBZ 1 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน ก่อนย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลวทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี PBZ มาก่อน

ตอนที่ 3 ผลของอาหารเหลวร่วมกับ PBZ ต่อการเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

การเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ *D. discolor, D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นเลี้ยงในอาหารเหลว Hyponex ร่วมกับ PBZ 0.5 ppm เป็นระยะเวลา 2 เดือน และอาหารเหลว Hyponex ที่ไม่มี PBZ เป็นระยะเวลา 2 เดือน รวมเป็นระยะเวลา 8 เดือน ทำให้ต้นกล้วยไม้เจริญเติบโตดีที่สุด สามารถเพิ่มทั้งน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นได้ นอกจากนี้ PBZ ยังช่วยให้ต้นกล้วยไม้สะสมอาหาร ทำให้ *D.* Judy Rutz เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น 0.2 และ 0.4 ซม. ที่เคยได้รับ PBZ 0.5 ppm ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ถึงแม้ว่าความสูงจะน้อยกว่าต้นที่ไม่เคยได้รับ PBZ แต่สามารถปรับลดความเข้มข้นที่ใช้กับกล้วยไม้เพื่อให้ความสูงของต้นดีขึ้น ดังนั้น PBZ สามารถช่วยเพิ่มความแข็งแรงและเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ให้สูงขึ้นส่งผลให้การสังเคราะห์ด้วยแสงมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ทำให้มีการสร้างคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นอาหารสะสมเพื่อใช้ในกระบวนการต่างๆ เช่น การเจริญเติบโต ส่งผลให้กล้วยไม้เจริญเติบโตเร็วขึ้น

ตอนที่ 4 การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายจากตาข้าง

สารควบคุมการเจริญเติบโต PBZ เป็นสารชะลอการเติบโตที่มีประสิทธิภาพสูง ชะลอการแบ่งเซลล์ จึงทำให้มีการสะสมอาหารเพิ่มขึ้น ทั้งยังช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับตาข้างของกล้วยไม้ แต่เมื่อนำเนื้อเยื่อของตาข้างเหล่านั้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม PBZ กลับพบว่าไม่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างของกล้วยไม้ *D. discolor*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz เนื่องจากสารนี้ทำให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนต้นและความสูงต้นต่ำกว่าตาข้างที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต PBZ (ในการทดลองที่ 4.1) ดังนั้นในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างกล้วยไม้ดังกล่าวจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต PBZ

ในด้านขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนจากผลการทดลองที่ 4.2 พบว่าอาหารเหลวในสภาพนิ่งให้จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งดีที่สุด ดีกว่าอาหารเหลวที่มีการเขย่าอีกด้วย อาหารเหลวจึงเหมาะสำหรับการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้และการไม่ต้องเขย่าก็เป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายได้อีกด้วย อย่างไรก็ดีอาหารกึ่งแข็งทำให้เนื้อเยื่อตาข้างเจริญพัฒนาไปเป็นต้นได้เร็วกว่าอาหารเหลว โดยสารที่ทำให้เกิดเจล Phytagel และ CleriGar ทำให้ตาข้างเจริญพัฒนาไปเป็นต้นได้ดีกว่า Agar

ในการทดลองที่ 4.3 ปริมาตรของอาหารเหลวและจำนวนตาข้างที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงตาข้างกล้วยไม้สกุลหวาย *D.* Fleischeri เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ คือปริมาตรของอาหารเหลว 10 มิลลิลิตรต่อ 5 ตาในขวด 4 ออนซ์ โดยให้น้ำหนักสด 194.1 มก.ต่อตา จำนวนต้น 1.6 ต้นต่อตาและความสูงต้น 6.3 มม. ในเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งสามารถลดต้นทุนต่อขวดและพื้นที่บนชั้นวางขวดในห้องเพาะเลี้ยงได้อีกด้วย

ในการทดลองที่ 4.4 ระยะเวลาการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ ทำให้ตาข้างของกล้วยไม้ทั้งสี่พันธุ์ (*D. discolor*, *D. antennatum*, *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz) เจริญเติบโตได้ดีกว่าการเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์และตาข้างของกล้วยไม้สายพันธุ์แท้ *D. discolor* และ *D. antennatum* ที่เลี้ยงในน้ำมีลักษณะที่ดีกว่าตาข้างที่เลี้ยงในอาหารสูตรอื่นในระยะเวลา 3 เดือน อย่างไรก็ตามน้ำไม่มีสารอาหารจึงไม่ควรเลี้ยงในน้ำนานเกินไป ในกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสม *D.* Fleischeri อาหารเหลว Hyponex ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด อย่างไรก็ตามตาข้างที่เลี้ยงในน้ำให้จำนวนรากมากที่สุด คล้ายกับการทดลองใน *D.* Judy Rutz พบว่าอาหารเหลว Hyponex ให้การเจริญเติบโตทั้งน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งและจำนวนต้นมากที่สุด

ในการทดลองที่ 4.5 การเพาะเลี้ยงตาข้างกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสม *D.* Judy Rutz ในอาหารเหลวหรือน้ำเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ร่วมกับกล้วยหอมและผงถ่านกัมมันต์ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง จำนวนรากและความสูงต้นมากที่สุด อย่างไรก็ดีอาหาร Hyponex ให้การเจริญเติบโตดีกว่าน้ำ แต่จำนวนต้นมากที่สุด (3-4 ต้น) เกิดจากตาข้างที่เลี้ยงในน้ำ 2, 4 และ 6 สัปดาห์หรืออาหารเหลว Hyponex 8 สัปดาห์ก่อนย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง ดังนั้นในการเพิ่มจำนวนของตาข้างกล้วยไม้สามารถใช้น้ำในการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนต้นกล้วยไม้ได้ ซึ่งเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายและลดขั้นตอนการเตรียมอาหารได้อีกด้วย

ในการทดลองที่ 4.6 สำหรับตาข้างของกล้วยไม้สายพันธุ์แท้ *D. discolor* ควรเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวหรือน้ำก่อน 1-2 สัปดาห์ แล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1.3.3 คือ อาหารสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมและผงถ่านกัมมันต์เป็นระยะเวลารวม 3 เดือน ทำให้ตาข้างมีการเจริญเติบโตดีกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งทันที (น้ำหนักสด 186.6 มก.ต่อตา น้ำหนักแห้ง 24.9 มก.ต่อตา ความสูงต้น 7.7 มม. และความยาวราก 1.8 มม.) สำหรับตาข้าง *D.* Fleischeri และ *D.* Judy Rutz เหมาะกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทันที ซึ่งให้การเจริญเติบโตดีที่สุด โดยตาข้าง *D.* Fleischeri ให้น้ำหนักสด 1033.6 มก.ต่อตา น้ำหนักแห้ง 90.6 มก. ต่อตา ความสูงต้น 26.2 มม. และความยาวราก 31.1 มม. ส่วนตาข้างของ *D.* Judy Rutz ให้น้ำหนักสด 1064.8 มก.ต่อตา น้ำหนักแห้ง 84.4 มก.ต่อตา ความสูงต้น 16.3 มม. และความยาวราก 24.6 มม. จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายทั่วไป ที่นิยมใช้หน่ออ่อนของกล้วยไม้มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว แล้วตัดชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้มาเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อชักนำให้เกิด PLBs เมื่อได้ PLBs จำนวนมากตามที่ต้องการแล้ว นำ PLBs เหล่านั้นไปชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมออกจากขวดหรือส่งลูกค้า ขั้นตอนเหล่านี้มักจะใช้เวลาประมาณ 1.5 ปี หรือ 18 เดือน แต่ด้วยวิธีการข้างต้นภายในเวลา 3-6 เดือนก็สามารถได้ต้นออกปลูกได้ โดยขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้และจำนวนที่ต้องการ

ข้อเสนอแนะ

การเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไม่ควรเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้หรือชิ้นเนื้อเยื่อหนาแน่นเกินไป เลือกให้เหมาะสมกับปริมาณอาหารและพื้นที่ภายในขวด เพื่อให้กล้วยไม้ได้รับสารอาหารและแสงอย่างเพียงพอ

อาหารสูตรปุ๋ยเคมีควรปรับความเข้มข้นของปุ๋ยให้เหมาะสม โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาข้างควรลดความเข้มข้นของปุ๋ย (จากการทดลองที่ 4.4 อาหารสูตรปุ๋ยนูตราฟอสทำให้ตาข้างมีสีน้ำตาลและตาย แต่ต้นกล้วยไม้ในการทดลองที่ 1.3.4 สามารถเติบโตได้) นอกจากนี้สามารถทดลองเติมสารเสริมอินทรีย์อื่นๆ เพื่อช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตได้อีกด้วย

การได้รับ PBZ ความเข้มข้นสูงทำให้ความสูงของต้นลดลง จึงควรปรับลดความเข้มข้นของ PBZ ที่ใช้กับกล้วยไม้เพื่อให้ความสูงของต้นดีขึ้น อาจทดลองโดยใช้ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 0.5 ppm โดยใส่ในอาหารตลอดการเพาะเลี้ยงจนได้ต้นที่สามารถออกปลูก หรือเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในอาหารที่มี PBZ 0.5 ppm เพื่อเพิ่มความแข็งแรง จำนวนต้นและปริมาณคลอโรฟิลล์ให้สูงขึ้นก่อน แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี PBZ เพื่อให้ต้นกล้วยไม้มีความสูงเพิ่มขึ้นก็ได้

รายการอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2548. กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์การค้าในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.

กัลยา เมืองพระฝาง. 2549. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้พวงหยกในสภาพปลอดเชื้อ. พิษณุโลก: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยนเรศวร.

กุลนาถ อบสุวรรณ, สุนทรี ทารพันธ์. 2556. สูตรอาหารทางเลือกเพื่อลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 44(2)(พิเศษ):565-568.

เกศรินทร์ เกตุพยัคฆ์. 2551. การเพาะเลี้ยงเอื้องมรกตในสภาพปลอดเชื้อ. เชียงใหม่: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โกวิท กิติตระกูลญะนันท์, สุรียา ตันติวิวัฒน์, จิตราพรรณ พิลึก, ศรีสม สุรวัฒนานนท์. 2542. ผลของ paclobutrazol และความเข้มแสงที่มีต่อลูกกล้วยไม้เอื้องปากนกแก้วในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการเพิ่มอัตรารอดชีวิตภายหลังการย้ายปลูก. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 37 สาขาพืช 3-5 กุมภาพันธ์ 2542 256-261.

โกวิท กิติตระกูลญะนันท์. 2542. การอนุรักษ์และขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องปากนกแก้วโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขนิษฐา อภิชนกิจ. 2517. การเจริญเติบโตของต้นอ่อนในวุ้นอาหารถ่ายขวดที่ใส่กล้วย ซึ่งมีความสุก ห่าม และปริมาณซูโครสต่าง ๆ กัน. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด.

จิตราพรรณ พิลึก. 2550. การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. เอกสารประกอบการฝึกอบรมประชาชนหลักสูตรการเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ณ สวนกล้วยไม้ระพี สาคริก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฑามาส ศรีสำราญ. 2549. การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดวงพร บุญชัย. 2546. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte ในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดาวอน บุญแพงพัน. 2553. อิทธิพลของธาตุอาหารและไซโตไคนินที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช้างกระในสภาพปลอดเชื้อ. ขอนแก่น: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ตวงพร โรจนวงศ์. 2549. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้ออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis* Silky Moon). นครปฐม: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ทิวา รักนิ่ม, อมรพันธ์ แก้วศรีนวล, ปรีชา วิทยพันธุ์, จีรศักดิ์ แสงศรี. 2550. อิทธิพลของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงต่อการงอกของเมล็ดรองเท้านารีคางกบใต้ในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38(6)(พิเศษ):287-290.

ธันว์ ขำทอง. 2546. การขยายพันธุ์กล้วยไม้สิงโตก้ามปูแดงและสิงโตเครายาวโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทิดา โยทานันท์. 2556. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เพชรหึง (*Grammatophyllum speciosum* Blume) ในสภาพปลอดเชื้อ. ขอนแก่น: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุญมา เพ็งพระจันทร์. 2548. อิทธิพลของสภาพอาหาร ออกซิเจน และไซโตไคนินบางชนิดที่มีต่อการเจริญเติบโตของตาข้างเอื้องปากนกแก้ว. ขอนแก่น: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

ปรัชพรรณ หนูจีน. 2549. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) ในหลอดทดลอง. สงขลา: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พรพิมล สุริยจันทราทอง. 2545. หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. อุบลราชธานี: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ : แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์วิชัยการพิมพ์.

ไพบูลย์ ไพรีพ่ายฤทธิ์. 2521. ตำรากล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มเล่น. กรุงเทพฯ: สามัญนิติบุคคล อาทรการพิมพ์.

ภุมรินทร์ คงมณี. 2544. การศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องแซะหลวงในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2558. ธาตุอาหารพืช. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ระพี สาคริก. 2530. กล้วยไม้. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ช่องนนทรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ราฮีมา วาแมดีซา. 2549. การชักนำ protocorm-like bodies จากโปรโตคอร์มและต้นกล้ากล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วัลยา ทวีสมบูรณ์. 2537. ผลของเห็ดหูหนู NAA และ paclobutrazol ในวุ้นอาหารถ่ายขวดที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์. กรุงเทพฯ: ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิวัฒน์ วุฒิพันธไชย. 2529. ผลของอายุฝัก การเติมมันฝรั่ง น้ำมะพร้าวและถ่านในอาหาร สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor*). กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศรายุธ กิติภัทร์ถาวร. 2554. การเติบโตทางลำต้นของกล้วยไม้หวายตัดดอกและ ความสัมพันธ์กับสภาพอากาศภายในรอบปี. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริพร ชื่นสำโรง. 2552. ผลของไดโอดเปล่งแสง (LEDs) และสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ช้างกระ เอื้องพวงหยก และการพัฒนา Protocorm-like Body ของ *Renanstylis* Hybrid ในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริลักษณ์ เจริญดี. 2544. การอนุรักษ์และขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินหลวงโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. อุดรธานี: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

ศุภณัฏฐ์ กาญจนวัฒนาวงศ์. 2549. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสลูกผสมจากก้านช่อดอกในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สกุณา พาแก้ว. 2538. การศึกษาอายุฝักและสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดรองเท้านารีเหลืองปราจีน. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. 2556. ความรู้ทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ลำปาง: สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ: จามจุรีโปรดักท์.

สรัญญา อัมโร. 2547. การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องผาเวียง (*Dendrobium albosanguineum* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัจจพร จันทะวงษ์. 2545. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการงอกและพัฒนาของกล้วยไม้ดิน *Geodorum siamense* Rolfe ex Downie และ *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr. ในสภาพปลอดเชื้อ. ขอนแก่น: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2559. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

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

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2547. หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุลัคน์ เตชานันท์. 2546. ผลของสูตรอาหารในสภาพปลอดเชื้อที่มีต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ *Calanthe rosea* (Lindi.) Benth และ *Dendrobium sulcatum* Lindi. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

เหมวรรณ ยกฉวี. 2556. การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ. เพชรบุรี: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

อรรถพล วิศิษฐวาณิชย์. 2552. การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินแดง (*Dendrobium cariniferum* Rchb.f.) โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัญชัน ทองชั่ง. 2544. ผลของ 2,4-D, NAA และ paclobutrazol ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องมัจฉาเหลือง (*Dendrobium griffithianum* Lindl.). กรุงเทพฯ: ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2545. การวิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้เชิงการค้า ระยะที่ 2. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

อิทธิพล พรหมรส. 2523. การงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในวุ้นอาหารที่ใส่กล้วย ซึ่งมีความสุกและปริมาณน้ำตาลต่าง ๆ กัน. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสิทธิ์ นิสยันต์. 2553. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้รองเท้านารี (*Paphiopedilum* 'Delrosi'). นครปฐม: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

AOAC. 1990. Official method of analysis of the association of officiall analytical chemists. Virginia: Association of official analytical chemists. 1298 p.

Arditti J, Pridgeon A. 2013. Orchid Biology: Reviews and Perspectives, VII: Springer Science & Business Media. 394 p.

Arditti J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. The Botanical Review 33(1):1-97.

Arditti J. 1992. Fundamentals of orchid biology. New York: John Wiley & Sons. 691 p.

Arditti J. 2008. Micropropagation of Orchids. Australia: Blackwell Publishing. 1547 p.

Behar H. 1995. Evolution and orchids. American Orchid Society Bulletin 64:1326-1332.

Bhojwani SS, Razdan MK. 1983. Plant Tissue Culture: Theory and Practice. Natherlands: Elsevier Science Publishers Company Inc. 510 p.

Bonga JM, Durzan D. 1982. Tissue Culture in Forestry. Natherlands: Springer Science & Business Media. 420 p.

Buyun L, Lavrentyeva A, Kovalska L, Ivannikov R. 2004. In vitro germination of seeds of some rare tropical orchids. Latvijas Universitates raksti Biologija (Latvia) 676:159-162.

Capellades M, Lemeur R, Debergh P. 1991. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in Rosa cultured in vitro. Plant cell, tissue and organ culture 25(1):21-26.

Chen JT, Chang WC. 2002. Effects of tissue culture conditions and explant characteristics on direct somatic embryogenesis in *Oncidium* 'Gower Ramsey'. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 69(1):41-44.

Chen LR, Chen JT, Chang WC. 2002. Efficient production of protocorm-like bodies and plant regeneration from flower stalk explants of the sympodial orchid *Epidendrum radicans*. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant 38(5):441-445.

Chia T, Hew C, Loh C, Lee Y. 1988. Carbon/nitrogen ration and greening and protocorm formation in orchid callus tissues. HortScience 23(3):599-601.

Cribb PJ. 1986. A Revision of Dendrobium sect. Spatulata (Orchidaceae). Kew Bulletin 41(3):615-692.

Ernst R. 1967. Effect of select organic nutrient additives on growth in vitro of *Phalaenopsis* seedlings. American Orchid Society Bulletin 36:386-394.

Ernst R. 1974. The use of activated charcoal in asymbiotic seedling culture of *Paphiopedilum*. American Orchid Society Bulletin 43:35-38.

Faria RTd, Rodrigues FN, Oliveira LdV, Müller C. 2004. *In vitro Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different sucrose concentrations. Horticultura Brasileira 22(4):780-783.

Flamee M. 1978. Influence of selected media and supplements on the germination and growth of *Paphiopedilum* seedlings. American Orchid Society Bulletin 33(4):419-423.

Gardner FP, Pearce RB, Mitchell RL. 1985. Physiology of crop plants. USA: Iowa State University Press.

Greene DW, Murray J. 1983. Effect of paclobutrazol and analogs on growth, fruit quality and storage potential of 'Delicious' apples [as a growth retardant]. America. 207-212.

Hadley G. 1982. Germination of British orchids. Orchid Review 90:84-86.

Handreck KA, Black ND. 2002. Growing Media for Ornamental Plants and Turf. Australia: University of New South Wales Press. 542 p.

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.

Hegarty C. 1955. Observations on the germination of orchid seed. American Orchid Society Bulletin 24:457-464.

Hew CS, Ng CKY. 1996. Changes in Mineral and Carbohydrate Content in Pseudobulbs of the C_3 Epiphytic Orchid Hybrid *Oncidium Goldiana* at Different Growth Stages. Lindleyana 11:125-134.

Hew CS, Yong JW. 2004. The physiology of tropical orchids in relation to the industry. Singapore: World Scientific Press.

Hiscox JD, Israelstam GF. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian Journal of Botany 57(12):1332-1334.

Hoekstra FA, Crowe JH, Crowe LM. 1991. Effect of sucrose on phase behavior of membranes in intact pollen of *Typha latifolia* L., as measured with fourier transform infrared spectroscopy. Plant Physiology 97(3):1073-1079.

Huang WD, Shen T, Han ZH, Liu S. 1995. Influence of paclobutrazol on photosynthesis rate and dry matter partitioning in the apple tree. Journal of plant nutrition 18(5):901-910.

Ichihashi S, Hiraiwa H. 1996. Effect of solidifier, coconut water, and carbohydrate source on growth of embryogenic callus in *Phalaenopsis* and allied genera. The Journal of the Orchid Society of India 10:81-88.

Ichihashi S, Islam M. 1999. Effects of complex organic additives on callus growth in three orchid genera, *Phalaenopsis, Doritaenopsis* and *Neofinetia*. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 68:269-274.

Ichihashi S. 1978. Studies on the media for orchid seed germination. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science (Japan) 46(4):513-529.

Intuwong O, Sagawa Y. 1973. Clonal propagation of *Sarcanthine* orchids by aseptic culture of inflorescences. American Orchid Society Bulletin 43:35-38.

Ishii Y, Takamura T, Goi M, Tanaka M. 1998. Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis*. Plant Cell Reports 17:446-450.

Jingyang Z, Wenxun T, Baozhang B. 1992. Biological Effect of Paclobutrazol on Soybean. Journal of Jilin Agricultural University (China) 14(4):6-8.

Jost R. 2002. Milk and Dairy Products. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Kalimuthu K, Senthilkumar R, Vijayakumar S. 2007. *In vitro* micropropagation of orchid, *Oncidium* sp. (Dancing Dolls). African Journal of Biotechnology 6(10):1171-1174.

Kano K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem Fac Agric Kagawa Univ 20:1-68.

Kaur-Sawhney R, Shih LM, Galston AW. 1982. Relation of polyamine biosynthesis to the initiation of sprouting in potato tubers. Plant Physiology 69(2):411-415.

Kerbauy G. 1993. The effects of sucrose and agar on the formation of protocorm-like bodies in recalcitrant root tip meristems of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae). Lindleyana 8:149-154.

Khalifah R. 1966. Gibberellin-like substances from the developing banana fruit. Plant physiology 41(5):771-773.

Kim J, Lee J. 1992. Effect of cultural conditions on rhizome growth and organogenesis of *Cymbidium lancifolium* native to Korea *in vitro*. Journal of the Korean Society for Horticultural Science (Korea Republic) 33(6):471.

Knudson L. 1922. Nonsymbiotic Germination of Orchid Seeds. Botanical Gazette 73(1):1-25.

Knudson L. 1946. A new nutrient solution for germination of orchid seed. American Orchid Society Bulletin 15(9):214-217.

Kotomori S, Murashige T. 1965. Some aspects of aseptic propagation of orchids. American Orchid Society Bulletin 34:484-489.

Kunisaki JT, Kim KK, Sagawa Y. 1972. Shoot-tip culture of Vanda. American Orchid Society Bulletin 41:435-439.

Langford P, Wainwright H. 1988. Influence of sucrose concentration on the photosynthetic ability of *in vitro* grown rose shoots. Acta Horticulturae 22:305-308.

Letham DS. 1974. Regulators of Cell Division in Plant Tissues. Physiologia Plantarum 32(1):66-70.

Liu KS. 1997. Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization. Singapore: Springer. 532 p.

Lucke E. 1971. effect of biotin on sowings of *Paphiopedilum*. Amer Orchid Soc Bull 40:24-26.

Martin K, Madassery J. 2006. Rapid in vitro propagation of Dendrobium hybrids through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm-like bodies. Scientia Horticulturae 108(1):95-99.

Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum 15(3):473-497.

Ng CY, Saleh NM. 2011. In vitro propagation of Paphiopedilum orchid through formation of protocorm-like bodies. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 105(2):193-202.

Noggle GR, Wynd FL. 1943. Effects of Vitamins on Germination and Growth of Orchids. Botanical Gazette 104(3):455-459.

Ogasawara N, Haneishi S, Suzuki C, Takagi H. 1995. The growth and CO_2 exchange of *Cymbidium* protocorm-like bodies related to sugar in the culture medium. Acta Horticulturae 393:85-90.

Park S, Yeung E, Chakrabarty D, Paek K. 2002. An efficient direct induction of protocorm-like bodies from leaf subepidermal cells of *Doritaenopsis* hybrid using thin-section culture. Plant Cell Reports 21(1):46-51.

Pierik RLM, Sprenkels PA, Van Der Harst B, Van Der Meys QG. 1988. Seed germination and further development of plantlets of *Paphiopedilum ciliolare* Pfitz. *in vitro*. Scientia Horticulturae 34:139-153.

Pierik RLM. 1997. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Netherlands: Kulwer Acadamic Publishers.

Pritchard HW. 1989. Modern Methods in Orchid Conservation. New York: Cambridge University Press. 173 p.

Rademacher W. 1991. Inhibitors of Gibberellin Biosynthesis: Applications in Agriculture and Horticulture. In: Takahashi N, Phinney BO, MacMillan J, editors. Gibberellins. New York, NY: Springer New York. p 296-310.

Radley M, Dear E. 1958. Occurrence of gibberellin-like substances in the coconut. Nature 182:1098.

Rasmussen HN. 1995. Terrestrial Orchids: From Seed to Mycotrophic Plant. New York: Cambridge University Press. 444 p.

Salisbury FB, Ross CW. 1992. Plant Physiology. 4th, editor. California: Edn. Belmont, CA. Wadsworth.

Seeni S, Latha PG. 1992. Foliar regeneration of the endangered Red Vanda, *Renanthera imschootiana* Rolfe (Orchidaceae). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 29(3):167-172.

Sharon M, Vasundhara G. 1990. Micropropagation of *Dendrobium* Joannie Ostenhault. Journal of the Orchid Society of India 4:145-148.

Sheehan T, McConnell D. 1980. Mesophyll cell collapse of *Phalaenopsis*. Bangkok, Thailand. p 205-206.

Sopalun K, Thammasiri K, Ishikawa K. 2010. Micropropagation of the Thai orchid *Grammatophyllum speciosum* blume. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 101(2):143-150.

Staden JV, Drewes SE. 1975. Identification of Zeatin and Zeatinriboside in Coconut Milk. Physiologia Plantarum 34(2):106-109.

Stang E, Weis G. 1984. Influence of paclobutrazol plant growth regulator on strawberry plant growth, fruiting, and runner suppression. HortScience 19(5):643-645.

Sterrett J. 1985. Paclobutrazol: a promising growth inhibitor for injection into woody plants. Journal of the American Society for Horticultural Science 110(1):4-8.

Stover R, Simmonds N. 1987. Bananas. 3rd, editor. Singapore: Longman Scientific and Technical. 468 p.

Street HE. 1973. Plant Tissue and Cell Culture. California: University of California Press. 503 p.

Sudeep R, Rajeevan P, Valasalakumari P, Geetha C. 1997. Influence of organic supplements on shoot proliferation in *Dendrobium*. Journal of Horticulture 3:38-44.

Sun WQ, Irving TC, Leopold AC. 1994. The role of sugar, vitrification and membrane phase transition in seed desiccation tolerance. Physiologia Plantarum 90(4):621-628.

Tanaka M, Sakanishi Y. 1977. Clonal propagation of *Phalaenopsis* by leaf tissue culture. American Orchid Society Bulletin 46(8):733-737.

Tanaka M. 1992. Micropropagation of *Phalaenopsis* spp. Biotechnology in agriculture and forestry 20:246-268.

Teixeira da Silva JA, Chan M-T, Sanjaya, Chai M-L, Tanaka M. 2006. Priming abiotic factors for optimal hybrid *Cymbidium* (Orchidaceae) PLB and callus induction, plantlet formation, and their subsequent cytogenetic stability analysis. Scientia Horticulturae 109(4):368-378.

Teo C, Wong C. 1978. Effects of sucrose on the growth of protocorms of *Holttumara* Loke Tuck Yip [ornamental plants]. Orchid Review 86:285-289.

Thompson DI, Edwards TJ, van Staden J. 2006. Evaluating asymbiotic seed culture methods and establishing Disa (Orchidaceae) germinability in vitro: relationships, requirements and first-time reports. Plant Growth Regulation 49(2-3):269-284.

Vacin EF, Went F. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Botanical Gazette 110(4):605-613.

Wainwright H, Scrace J. 1989. Influence of *in vitro* preconditioning with carbohydrates during the rooting of microcuttings on in vivo establishment. Scientia Horticulturae 38(3–4):261-267.

Wang PJ, Huang LC. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. In Vitro 12(3):260-262.

Went FW, Carter M. 1948. Growth Response of Tomato Plants to Applied Sucrose. American Journal of Botany 35(2):95-106.

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.

Wimber DE. 1963. Clonal multiplication of *Cymbidiums* through tissue culture of the shoot meristem. American Orchid Society Bulletin 32:105-107.

Withner CL. 1974. The Orchids: Scientific Studies. New York: John Wiley and Son Inc. 604 p.

Yates RC, Curtis JT. 1949. The Effect of Sucrose and Other Factors on the Shoot-Root Ratio of Orchid Seedlings. American Journal of Botany 36(5):390-396.

Yong JWH, Hew CS. 1995. Partitioning of ^{14}C Assimilates between Sources and Sinks During Different Growth Stages in the Sympodial Thin-Leaved Orchid *Oncidium Goldiana*. International Journal of Plant Sciences 156(2):188-196.

Young PS, Murthy H, Yoeup PK. 2000. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 63(1):67-72.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

องค์ประกอบของอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงกล้วยไม้: Knudson C (KC), Murashige & Skoog (MS) และ Vacin & Went (VW).

	KC	MS	VW
Macronutrients (mg/L)			
NH_4NO_3		1650	
$(NH_4)_2SO_4$	500		500
KNO_3		1900	525
$Ca(NO_3)_2$	1000		
$CaCl_2 2H_2O$		440	
$MgSO_4 7H_20$	250	370	250
KH_2PO_4	250	170	250
$Ca_3(PO_4)_2$			200
Micronutrients (mg/L)			
KI		0.83	
H_3BO_3		6.2	
$MnSO_4 4H_2O$	7.5	22.3	5.7
$ZnSO_4 7H_2O$		8.6	
$Na_2MoO_4 2H_2O$		0.25	
$CuSO_4 5H_2O$		0.025	
$CoCl_2 6H_2O$		0.025	
Na_2EDTA		37.3	
$FeSO_4 7H_2O$	25	27.8	27.8
Vitamins & Amino Acids (mg/L)			
Glycine		2.0	
myo-Inositol		100	
Nicotinic acid		0.5	
Pyridoxine		0.5	
Thiamine		0.1	
Sucrose (mg/L)	20000	30000	20000

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ข

1. การวิเคราะห์ปริมาณอาหารสะสมหรือคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง (TNC) (A.O.A.C, 1990) การสกัด TNC จากตัวอย่างพืช ดัดแปลงโดยชั่งตัวอย่างพืชที่อบแห้ง 0.05 กรัม บดให้ละเอียดแล้วเติม 0.2 N H_2SO_4 40 ml ปิดปากภาชนะด้วยอลูมิเนียมฟอยล์แล้วอบที่อุณหภูมิ 70 ℃ เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง รอให้เย็นแล้วปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 0.1 N NaOH จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 50 ml กรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

การเตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curve) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโครส (D-glucose) 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 mg/ml ใช้สารละลายมาตรฐาน 1 ml เติม Nelson's alkaline copper reagent 1 ml เขย่าให้เข้ากันปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์นำไปแช่ใน water bath (100℃) 20 นาที ทำให้เย็นโดยวางในน้ำเย็น แล้วเติมสารละลาย arsenomolybdic acid reagent 1 ml เขย่า เติมน้ำกลั่นอีก 7 ml (รวม 10 ml) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) จากเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรแล้วนำค่าที่ได้มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ glucose (แกน X) กับค่า absorbance (แกน Y)

วิเคราะห์หาปริมาณ TNC นำสารละลายที่สกัดได้จากตัวอย่างใส่ในหลอดทดสอบ 1 ml แล้วทำเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟมาตรฐานนำค่า absorbance (A) ที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ทำไว้แล้วคำนวณเป็นปริมาณมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของ D-glucose ต่อน้ำหนักแห้งของตัวอย่างโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

TNC = [(mg) glucose equivalent X 50 ml] / (Wt. of sample X vol. make)

การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ TNC

การเตรียม Nelson's reagent A เตรียมสารละลาย anhydrous sodium carbonate (Na_2CO_3) 25 กรัม, sodium potassium tartrate ($C_4H_4KNaO_6.4H_2O$) 25 กรัม, sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) 20 กรัมและ anhydrous sodium sulfate (Na_2SO_4) 200 กรัมในน้ำกลั่น แล้วปรับเป็น 1 ลิตร

การเตรียม Nelson's reagent B เตรียมสารละลาย copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$) 15 กรัมลงในน้ำกลั่น 100 ml เติมกรด sulfuric เข้มข้น 2 หยด คนจนกระทั่งเกลือ copper sulfate ละลายจนหมด

การเตรียม Nelson's alkaline copper reagent นำ Nelson's reagent A 20 ml ผสมกับ Nelson's reagent B 0.8 ml เขย่าให้เข้ากัน การใช้แต่ละครั้งควรเตรียมใหม่เสมอ

การเตรียม Arsenomolybdic acid reagent เตรียมสารละลาย ammonium molybdate [$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$] 25 กรัมในน้ำกลั่น 450 ml เติมกรด sulfuric เข้มข้น 21 ml และเตรียมสารละลาย disodium hydrogen arsenate [$Na_2HAsO_4.7H_2O$] 3 กรัมในน้ำกลั่น 25 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำมาใช้สารละลายต้องมีสีเหลืองเท่านั้น

2. การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์แสง

นำพืชทดสอบมาล้างน้ำให้สะอาดจากนั้นตัดแยกเอาส่วนใบมาวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์แสง (Hiscox and Israelstam, 1979) ดัดแปลงโดยชั่งใบพืช 0.5 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แช่ใน DMSO 10 ml ปิดฝาให้แน่นแล้วไว้ในที่มืด 24 ชั่วโมง เพื่อสกัดรงควัตถุจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 664, 648 และ 470 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ (Chappelle and Kim, 1992) จากสูตร

Chlorophyll a (Chl a) = $12.25A_{664} - 2.79A_{648}$ (µg/mL of extract)

Chlorophyll b (Chl b) = $21.50A_{648} - 5.10A_{664}$ (µg/mL of extract)

Carotenoids = $(1000A_{470} - 1.82\text{Chl a} - 85.02\text{Chl b})/198$ (µg/mL of extract)

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล น.ส. สุนทรี ทารพันธ์

ที่อยู่ 183 ถนนรถไฟ ต. พระปฐมเจดีย์ อ. เมือง จ. นครปฐม 73000

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2547 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาชั้นปีที่ 6 จากโรงเรียนสาธิต มหาวิทยาลัยศิลปากร

พ.ศ. 2551 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยศิลปากร การศึกษารายบุคคลเรื่อง “ผลของแคดเมียมต่อการรอดชีวิตของสาหร่าย *Kirchneriella lunaris* (Effects of cadmium on the surviving of *Kirchneriella lunaris*)”

พ.ศ. 2554 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยานิพนธ์เรื่อง “การศึกษาความจุของหอยแมลงภู่จากงบออกซิเจนที่ละลายน้ำในสภาวะปกติโดยใช้แบบจำลองเชิงตัวเลขในอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี (Study on Stocking Capacity of Green Mussel from Dissolved Oxygen Budget in Normal Condition by Numerical Model in Ao Sriracha, Chon Buri Province)”

ประวัติการเข้าอบรม/ประชุมวิชาการ

- เข้าร่วมการฝึกอบรมเทคโนโลยีการเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีในสภาพปลอดเชื้อ ระหว่างวันที่ 26 – 27 พฤศจิกายน 2555 ณ ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พันธุ์พืชเพาะเลี้ยง) จังหวัดสุพรรณบุรี
- เข้าร่วมงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 7, วันที่ 1-2 ส.ค. 2556 ณ อาคารสัมมนา ศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
- เข้าร่วมงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 8, วันที่ 21-22 ก.ค. 2557 ณ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย
- เข้าร่วมงานประชุมวิชาการ ครั้งที่ 54 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 2-5 กุมภาพันธ์ 2559 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ผลงานที่ตีพิมพ์/เผยแพร่

Obsuwan K, Tharapan S. 2013. Alternative seeds culture medium for reducing cost and preparation steps in vitro seeds propagation of *Dendrobium* orchids. Agricultural Sci J 44(2)(Suppl.):565-568.

Obsuwan K, Tharapan S. 2014. The effect of culture media on growth of different stages of *Dendrobium discolor* in aseptic condition. Agricultural Sci J 45(2)(Suppl.):293-296.

Tharapan S, Thepsithar C, Obsuwan K. 2014. An effect of organic supplements on stimulating growth of *Dendrobium* protocorms and seedlings. International Journal of Biological, Veterinary, Agricultural and Food Engineering 8(7):648-653.

Obsuwan K., Tharapan S, Thepsithar C. 2015. Effects of sucrose concentrations on seedling growth of *Dendrobium antennatum X Dendrobium bigibbum*. Acta Hortic (ISHS) 1078:135-138.

Obsuwan K., Tharapan S, Thepsithar C. 2015. A suitable medium for in vitro seed propagation of *Dendrobium* hybrids. Acta Hortic (ISHS) 1078:159-162.

มหาวิทยาลัยศิลปากร