

1 รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : แผนบูรณาการวิจัยและพัฒนาเพื่อความยั่งยืนของกล้วยไม้และไม้นดอก
ไม้ประดับ
2. โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนากล้วยไม้ที่มีศักยภาพอื่น ๆ
กิจกรรม : การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์สิงโตกลอกตา 2 ชนิด
ด้วยเมล็ด
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Seed propagation In vitro 2 species *Bulbophyllum* Thou.
4. คณะผู้ดำเนินงาน
- | | | | |
|-----------------|------------------------|--------|---|
| หัวหน้าการทดลอง | : นายยรรยง พันธุ์ฤกษ์ | สังกัด | ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศ
และการสื่อสาร |
| ผู้ร่วมงาน | : นายอำนาจ อรรถลิ่งรอง | สังกัด | สถาบันวิจัยพืชสวน |
| | : ผศ.ดร.พัฒนา ทวีโชค | สังกัด | คณะสิ่งแวดล้อมและ
ทรัพยากรศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล |
5. บทคัดย่อ :

การเพาะเมล็ดสิงโตสยามบนอาหารสูตรปลอดเชื้อ 4 สูตรพบว่าอาหารสูตร Orchid seed sowing medium (P723) จะมีร้อยละของการงอก และพัฒนาการของต้นอ่อนดีที่สุด ที่ร้อยละ 43.63 ในขณะที่เมล็ดสิงโต อาจารย์เต็มที่เพาะบนอาหารปลอดเชื้อสูตร Murashige & Skoog (MS) สูตร Vacin & Went ที่มีการเพิ่มกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร (VW++) และสูตร Orchid seed sowing medium (P723) มีร้อยละของการงอกที่ไม่ต่างกันร้อยละ 19.7 21.17 และ 20.04 ตามลำดับ แต่ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะด้วยสูตร P723 มีลักษณะต้นสมบูรณ์

เมื่อทำการย้ายต้นอ่อนไปปลูกเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin & Went ที่มีการเติมสารอินทรีย์เช่น มันฝรั่ง และกล้วยที่ 2 ระดับ พบว่า ต้นอ่อนของสิงโตสยามมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันที่ทุกระดับของการเพิ่มสารอินทรีย์ ในขณะที่ต้นอ่อนสิงโตอาจารย์เต็มมีการเจริญเติบโตได้ดีในระดับการเติมกล้วย 50 กรัมต่อลิตร ที่ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นของการเติมมันฝรั่ง และ เมื่อทดสอบย้ายปลูกต้นกล้าที่ได้จากอาหารทุกสูตรในสภาพโรงเรือนของเกษตรกร โดยใช้สแฟกนัมมอสเป็นวัสดุปลูก พบว่า ต้นอ่อนมีการรอดชีวิตทั้งหมด

Abstrac

Bulbophyllum siamense Rchb.f. seed sowing on 4 kinds medias. The Best germination percentage at 43.63 and the best enhancement of seedling is Orchid seed sowing medium (P723). While *Bulbophyllum smitinandii* Seidenf. & Thorut seed can germinated on Murashige & Skoog (MS), Vacin & Went add 100 grams per liter banana plus with 100 grams per liter potato extract (VW+ +) and Orchid seed sowing medium (P723) at 19.7, 21.17, and 20.04 percent but vigorous seedling is on Orchid seed sowing medium (P723)

Then transplants to Vacin & Went medium and Vacin & Went add organic 2 level of banana and potato extract. *Bulbophyllum siamense* Rchb.f. seedling growing good on every combination of organic add. While *Bulbophyllum smitinandii* Seidenf. & Thorut seedling growing better on 50 gram per liter banana with both potato level add. After that transplants to farmer nursery by sphagnum moss. Whole seedling alive and healthy.

คำสำคัญ (keyword) : สูตรอาหาร สิ่งโตกลอกตา เพาะเมล็ด สภาพปลอดเชื้อ

6. คำนำ

กล้วยไม้สกุลสิ่งโตกลอกตา มีการกระจายตัวอย่างกว้างขวางในทวีป อเมริกา แอฟริกา ออสเตรเลีย และ เอเชีย โดยเฉพาะ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จัดเป็นศูนย์กลางการกระจายตัวของกล้วยไม้สกุลสิ่งโตกลอกตา (*Bulbophyllum* Thou.) สำหรับในประเทศไทยพบมีการกระจายพันธุ์อยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ กล้วยไม้สกุลสิ่งโตกลอกตาที่พบตามธรรมชาติมี หลากหลายกลุ่ม คือ กลุ่มที่มีช่อดอกแบบร่ม ได้แก่ Section *Cirrhopetalum* และ Section *Cirrhopetaloides* กลุ่มที่มีช่อดอกแบบรวงข้าว ได้แก่ Section *Racemosae* และ Section *Careyana* และกลุ่มที่มีดอกเดี่ยวขนาดใหญ่ ได้แก่ Section *Sestochilos* และ Section *Stenochilus* ซึ่งแต่ละกลุ่ม/แต่ละชนิดสามารถพบได้ในสภาพพื้นที่ที่แตกต่างกัน ทำให้การปลูกเลี้ยงสิ่งโตแต่ละชนิดให้ดอกงาม จำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับแหล่งกำเนิด สภาพแวดล้อม และบรรยากาศของถิ่นที่อยู่ และพื้นที่การกระจายพันธุ์ (สลิล, 2553)

สูตรอาหารปลอดเชื้อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้มีหลากหลายสูตร มีสูตรที่เป็นสูตรมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป และสูตรทางการค้าที่มีการปรับเปลี่ยนองค์ประกอบบางชนิดเพื่อให้เกิดความเหมาะสมกับกล้วยไม้แต่ละชนิดที่ทำการเพาะเลี้ยงแตกต่างกันไป สิ่งที่สำคัญต่อการงอกและการเจริญเติบโต เช่นความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง สารประกอบอินทรีย์ (Pitchard, 1989) และ การเลือกสูตรอาหารให้เหมาะสมกับช่วงการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แต่ละชนิด สามารถทำให้กล้วยไม้มีพัฒนาการที่ดีขึ้น (จิตรภาพรณ, 2536) วิตามิน

เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ที่ซับซ้อน มีผลต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้แต่ละชนิดในช่วงการเจริญเติบโตต่างกันจะแตกต่างกัน (Arditti, 1984)

การเพาะขยายพันธุ์สิ่งโตกลอกตาเพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ ต้องใช้กรรมวิธีและสูตรอาหารที่ต่างกันตามการจำแนกกลุ่มชนิด ในปี 2546 ธีรวิ ขำทอง ได้ทำการศึกษาการขยายพันธุ์สิ่งโตก้ามปูแดงและสิ่งโตเครายาว โดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยเมล็ดจะมีการงอกได้ดีบนอาหารสูตร VW ดัดแปลง ที่มีปริมาณน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์และวิตามินรวม 1 แคปซูลต่อลิตร และต้นอ่อนสามารถพัฒนาได้ดีบนอาหารสูตร VW ดัดแปลง ในขณะที่ ชัยชาญ มณีรัตน์รุ่งโรจน์ และ คณะ (2554) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สิ่งโตประหลาด พบว่าการเลี้ยงต้นอ่อนสิ่งโตประหลาดบนอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่มีการเพิ่มน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัม กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดใหม่เกิดขึ้นมากที่สุด โสภา ชูเพ็ง และ คณะ(2560) ศึกษาผลของ Hyponex และ BA ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สิ่งโตกลอกตา (*Bulbophyllum carunculatum*) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเมื่อเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้สิ่งโตกลอดตาบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติม Hyponex และ BA และอาหารที่มีการเติม BA เข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ต้นกล้ามีจำนวนใบ และน้ำหนักสดดีที่สุด และ ปลายฝัน จันท์แสง และ คณะ (2560) ศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสและอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สิ่งโตนกเหยี่ยวใหญ่ (*Bulbophyllum putidum*) ในหลอดทดลอง พบว่า อาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้สิ่งโตนกเหยี่ยวใหญ่ในหลอดทดลองคืออาหารสูตร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตรที่มีการเติม น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัม และกล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร จะเห็นว่าการทำให้ได้ต้นที่มีการเจริญเติบโตที่ดี จนสามารถนำออกปลูกได้ความมีชีวิตสูงนั้น กล้วยไม้สิ่งโตกลอกตาแต่ละชนิด ก็จะมีการตอบสนองต่อสูตรอาหารที่แตกต่างกัน เพื่อมีส่วนช่วยในการอนุรักษ์ และพัฒนาสายพันธุ์ การทดสอบสูตรอาหารต่อกล้วยไม้แต่ละชนิดจึงมีความจำเป็น

7. วิธีดำเนินการ :

การทดลอง 3.1

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 1) ฝักกล้วยไม้สกุลสิ่งโตกลอกตา 2 ชนิด คือ สิ่งโตสยาม (*Bulbophyllum siamense* Rchb.f.) และ สิ่งโตอาจารย์เต็ม (*Bulbophyllum smitinandii* Seidenf. & Thorut) จากธรรมชาติ
- 2) อาหารปลอดเชื้อ 4 สูตร ได้แก่
 - a อาหารสูตร Vacin & Went (1949) (VW)
 - b อาหารสูตร Murashige & Skoog (1962) (MS)
 - c อาหารสูตร VW เติมกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร (VW++)
 - d อาหารสูตร Orchid Seed Sowing Medium (P723 : ร้าน แพลนทมิเดียชอป)

การทดลองที่ 3.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเมล็ด กล้วยไม้สิ่งโตกลอก 2 ชนิดด้วยเมล็ด

วิธีการทดลอง

1. วางแผนการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษา
2. เพาะเมล็ดสิงโตกลอกตาชั้น *Sestochilus* 2 ชนิด ในอาหารปลอดเชื้อ 4 สูตร โดยนับจำนวนร้อยละการงอกของเมล็ด

2.1 ทำความสะอาดผิวฝักกล้วยไม้สิงโตกลอกตาที่ได้จากธรรมชาติ โดยล้างด้วยน้ำยาล้างทำความสะอาดที่โพล (Tepol) แล้วล้างด้วยน้ำเปล่า 3 นาที ซับผิวฝักให้แห้งด้วยผ้าสะอาด

2.2 นำฝักที่ล้างทำความสะอาดผิวฝักเรียบร้อยแล้ว ไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV จากหลอด UV นาน 5 นาที

2.3 เผาฆ่าเชื้อที่ผิวฝักด้วยการจุ่มแอลกอฮอล์ ลนไฟ

2.4 เปิดฝักแล้วนำเมล็ดลงในน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร ที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว

3. เพาะเมล็ดบนสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ด 4 สูตร ได้แก่

1. อาหารสูตร Vacin & Went (1949) (VW)

2. อาหารสูตร Murashige & Skoog (1962) (MS)

3. อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร (VW++)

4. อาหารสูตร Orchid Seed Sowing Medium (P723 : ร้าน แพลนทิมี่เดียชอป)

โดยการใช้หลอดหยดดูดเมล็ดจากขวดน้ำกลั่นที่มีเมล็ดแล้ว ใส่ลงในขวดอาหาร

4. เก็บขวดที่ทำการเพาะเมล็ด ไว้ในห้องปลอดเชื้อที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 45 ± 5 เปอร์เซ็นต์RH ความเข้มแสง $3,000 \pm 200$ ลักซ์ (Lux)

5. บันทึกการงอกของเมล็ดเมื่อครบกำหนด 4 เดือนหลังทำการเพาะ

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับพัฒนาต้นอ่อนเพื่อการออกปลูกกล้วยไม้สิงโตกลอก 2 ชนิด

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1) ต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา 2 ชนิด คือ สิงโตสยาม (*Bulbophyllum siamense* Rchb.f.) และ สิงโตอาจารย์เต็ม (*Bulbophyllum smitinandii* Seidenf. & Thorut) จากการเพาะเมล็ดบนอาหารปลอดเชื้อสูตรที่ให้ต้นอ่อนที่มีลักษณะสมบูรณ์ สูง 1-1.5 เซนติเมตร คือมีลำต้นแข็งแรงไม่อวบน้ำ ใบเหยียดตั้ง รากสมส่วนไม่อวบสั้น

- 2) อาหารปลอดเชื้อ 5 สูตร ได้แก่

a อาหารสูตร Vacin & Went (1949) (VW)

b อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 50 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

c อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 50 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร

d อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

e อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร (VW++)

วิธีการทดลอง

1. วางแผนการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษา
2. คัดเลือกต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะบนอาหารสูตร ที่ต้นมีความสมบูรณ์ที่สุด คือ มีใบ 1-2 ใบ สูงประมาณ 1-2 เซนติเมตร ใบไม่หงิกงอ ลำต้นไม่อวบน้ำ รากยาว 0.5-1.0 เซนติเมตร แข็งแรงไม่อ้วนสั้น โดยย้ายลงบนอาหารเพื่อศึกษาสูตรที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจำนวน 5 สูตร ได้แก่
 1. อาหารสูตร Vacin & Went (1949) (VW)
 2. อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 50 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร (VW 50/50)
 3. อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 50 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร (VW 50/100)
 4. อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร (VW 100/50)
 5. อาหารสูตร VW เต็มกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร (VW 100/100)
3. เก็บขวดที่ทำการปักดำต้นอ่อน ในห้องปลอดเชื้อที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 45 ± 5 เปอร์เซ็นต์RH ความเข้มแสง $3,000 \pm 200$ ลักซ์ (Lux)
4. เมื่อครบเวลา 4 เดือนหลังปักดำต้นอ่อน บันทึกจำนวนยอดที่มี และความสูงจากโคนต้นถึงตำแหน่งสูงสุดของใบ
5. เมื่อเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์นำออกปลูกทดสอบ ในสภาพโรงเรือน

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเมล็ด กล้วยไม้สิงโตกลอก 2 ชนิด คือ สิงโตสยาม (*Bulbophyllum siamense* Rchb.f.) และ สิงโตอาจารย์เต็ม (*Bulbophyllum smitinandii* Seidenf. & Thorut) เมื่อครบ 4 เดือนหลังทำการเพาะเมล็ดสิงโตกลอกตา 2 ชนิด บนอาหารสูตรต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเมล็ดสิงโตสยาม มีร้อยละของการงอก เมล็ดมีการงอกมากที่สุดร้อยละ 43.63 บนอาหารสูตร P723 ต่างจากอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยลักษณะของเมล็ดที่งอก มีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง เหมาะสำหรับการย้ายปลูกลงเพื่อให้เจริญเติบโตจนสามารถออกปลูกลงได้ ในขณะที่เมล็ดที่งอกบนสูตรอาหาร MS และ VW++ มีการงอกที่ใกล้เคียงกันที่ร้อยละ 18.34 และ 18.47 ตามลำดับ และบนอาหารสูตร VW ที่ไม่มีการดัดแปลงมีอัตราการงอกของเมล็ดสิงโตสยามน้อยที่สุดที่ร้อยละ 7.09 (ตารางที่ 1)

ในส่วนของเมล็ดสิงโตอาจารย์เต็มเมื่อครบเวลา 4 เดือน ไม่พบการงอกของเมล็ดบนอาหารสูตร VW ที่ไม่มีการดัดแปลง และพบการงอกบนอาหารสูตร MS VW++ และ P723 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีร้อยละของจำนวนเมล็ดที่งอกคือ 19.70 21.17 และ 20.04 ตามลำดับ และเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า พบว่าเมล็ดที่มีการงอกบนอาหารสูตร P723 ต้นอ่อนต้นอ่อนจะมีลักษณะสมบูรณ์มากที่สุด คือ ใบมีลักษณะเหยียดตรงไม่บิดงอ บางส่วนสม่ำเสมอ มองเห็นลำลูกกล้วยขนาดเล็ก ไม่อ้วนผิดปกติ มีราก 1-2 เส้น ยาว 0.5-1 เซนติเมตร มีขนาดปกติไม่อวบอ้วนสั้น เหมาะที่จะนำไปย้ายปลูกลงเพื่อให้เจริญเติบโตเพื่อออกปลูกลงต่อไป แต่ต้นอ่อนที่งอกบนอาหารสูตร MS และ VW++ ไม่มีการพัฒนาจนสามารถย้ายต้นกล้าได้ และ ต้นกล้ามีการพัฒนาในลักษณะอวบอ้วนผิดปกติ ลำต้นหนาสั้น ใบหนาสั้น รากอวบอ้วนสั้น เมื่อย้ายปลูกลงในอาหารเพื่อให้เจริญเติบโต จะไม่โตต่อเนื่อง และแตกหน่อขนาดเล็กจำนวนมาก ทำให้ได้ต้นอ่อนที่ไม่สามารถย้ายออกปลูกลงได้

จากการทดลองพบว่าสิงโตสยามงอกและพัฒนาจนเข้าสู่ระยะย้ายต้นกล้าได้ดีที่สุด บนอาหารสูตร P723 ซึ่งสูตร P723 มีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับ 0.25 เท่าของสูตร MS (ตารางผนวกที่ 1) มีปริมาณ Thiamine HCl (VitaminB1) มากกว่าสูตร MS 100 เท่า มีการเพิ่ม Peptone ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีน และ MES free acid (2-(N-Morpholino)ethanesulfonic Acid) เป็นสารที่ช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดต่างของอาหารที่เตรียม (buffer) VitaminB1 เป็น โค เอน ไซ ม์ ที่ ช่วย เอน ไซ ม์ pyruvate dehydrogenase and 2-oxoglutarate dehydrogenase ในกระบวนการหายใจเพื่อเกิดการแตกตัวของโมเลกุลน้ำตาล ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นพืช โดยเฉพาะกล้วยไม้ จากการที่เมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กและไม่มีเอ็นโดสเปิร์ม (<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t3902?lang=en®ion=TH>) และ VitaminB1 มีส่วนส่งเสริมให้เกิดการเกิดยอดที่สมบูรณ์ ซึ่งในอาหารสูตร MS มี VitamineB1 แต่ปริมาณไม่มากเท่าในสูตร P723 ในขณะที่อาหารสูตร VW ไม่มีการเพิ่ม VitamneB1 เลย และ อาหารสูตร VW++ มีการเติมกล้วยหอมบด และน้ำมะพร้าว ซึ่งในสารประกอบอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด มี VitamneB1 ประกอบอยู่จึงทำให้มีการตอบสนองโดยมีการงอกที่ดี

ในขณะที่ สิงโตอาจารย์เต็ม มีร้อยละของการงอกบนอาหารสูตร MS VW++ และ P723 ไม่แตกต่างทางสถิติ แต่บนอาหารสูตร VW ไม่พบการงอกเลยที่เวลา 4 เดือนหลังทำการเพาะ สอดคล้องกับ งานทดลองของ ชัยชาญ มณีรัตน์รุ่งโรจน์ และ คณะ (2554) และ ปลายฝัน จันทร์แสง และ คณะ (2560) ที่พบว่าต้นอ่อนจะเจริญได้ดีบนอาหารที่มีการเพิ่มสารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำมะพร้าว มันฝรั่ง และกล้วย ซึ่งเป็นแหล่งของวิตามินหลายชนิด

เมื่อเทียบการงอกของสิงโตสยามและสิงโตอาจารย์เต็ม ที่เพาะบนอาหารชนิดเดียวกันมีการตอบสนองต่ออาหารแต่ละสูตรแตกต่างกัน โดยบนสูตร VW พื้นฐาน สิงโตสยามยังสามารถพบร้อยละการงอกได้ ควรเป็นผลมาจากลักษณะทางพันธุกรรม ด้วยการที่มีการกระจายพันธุ์กว้างสามารถไปได้ตั้งแต่ภาคเหนือ เช่นที่จังหวัดเชียงใหม่ จนถึงภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในเขตพื้นที่อนุรักษ์ และพื้นที่รอยต่อใกล้เคียง ในขณะที่การปรับตัวกับสภาพแวดล้อมของสิงโตอาจารย์เต็มมีน้อยกว่า เพราะมีการกระจายตัวเฉพาะจุดแล้วยังถูกจัดไว้ในบัญชีพืชที่ถูกคุกคามเสี่ยงต่อการใกล้สูญพันธุ์ในเอกสาร Thailand Red Data: Plants (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2549) บ่งบอกความสามารถในการงอกของเมล็ดสิงโตทั้ง 2 ชนิดแตกต่างกัน ขึ้นกับความสามารถในการงอกและความอุดมสมบูรณ์ของสภาพแวดล้อมที่งอก

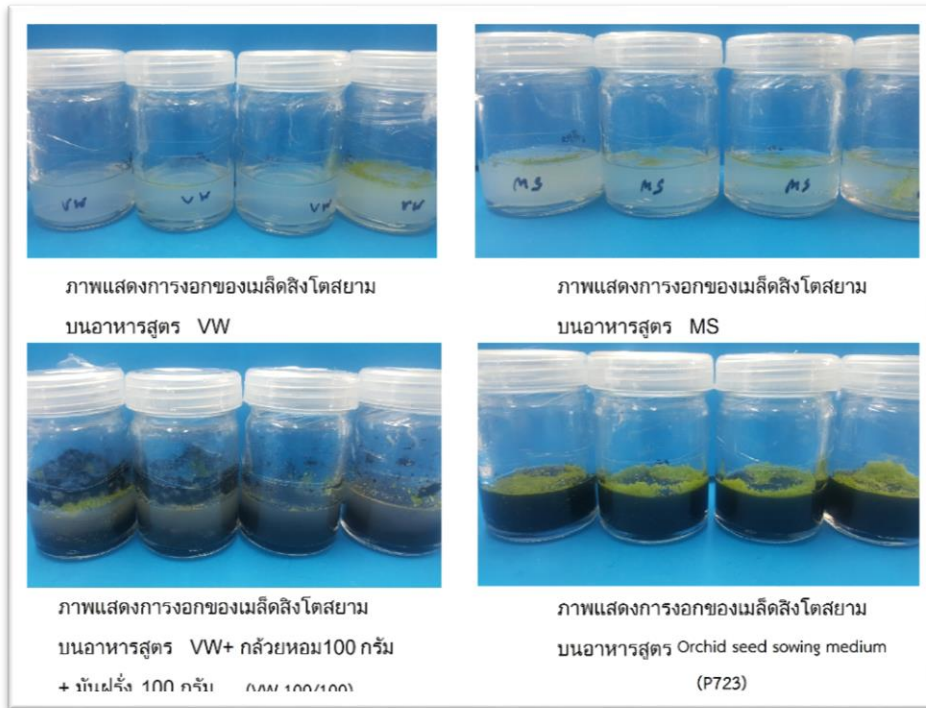
ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของสิงโตกลอกตา 2 ชนิดที่งอกบนอาหารสูตรต่างๆ ภายหลังจากการเพาะนาน 4 เดือน

สูตรอาหาร	จำนวนเมล็ดที่งอก(เฉลี่ย)	
	สิงโตสยาม (<i>Bulbophyllum siamense</i> Rchb.f.)	สิงโตอาจารย์เต็ม (<i>Bulbophyllum smitinandii</i> Seidenf. &Thorut)
VW	7.90 c*	nd**
MS	18.34 b	19.70 a
VW++	18.47 b	21.17 a
P723	43.63 a	20.04 a
CV%	27.9	14.1

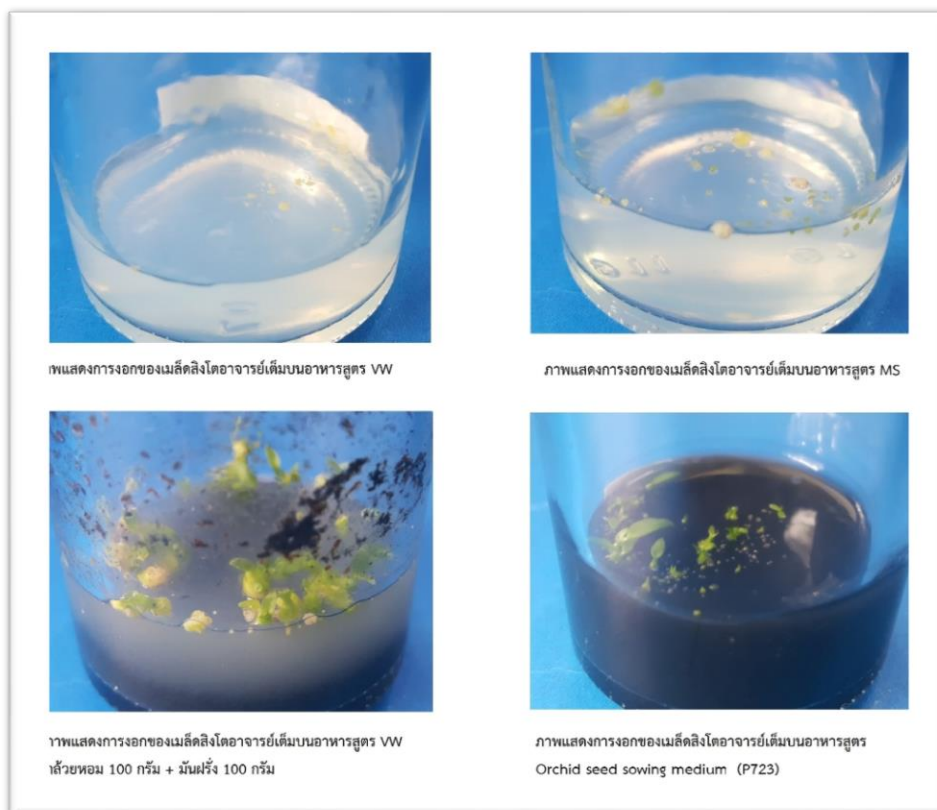
*เลขที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างค่าสถิติ

Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

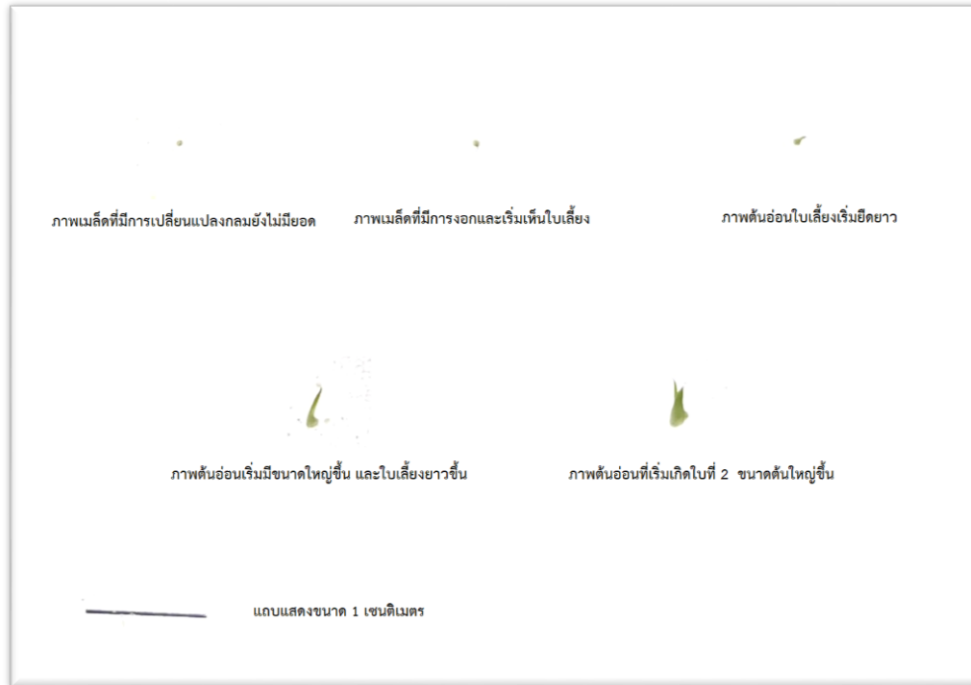
** nd คือ Non detect (ไม่พบการงอกของเมล็ด ในวันที่ทำการบันทึกข้อมูล และไม่นำไปคำนวณทางสถิติ)



ภาพที่ 1 แสดงการงอกของเมล็ดสิงโตสยามที่เพาะบนอาหารสูตรต่างๆ เมื่อครบกำหนด 4 เดือน



ภาพที่ 2 แสดงการงอกของเมล็ดสิงโตอาจารย์เต็มที่เพาะบนอาหารสูตรต่างๆ เมื่อครบกำหนด 4 เดือน



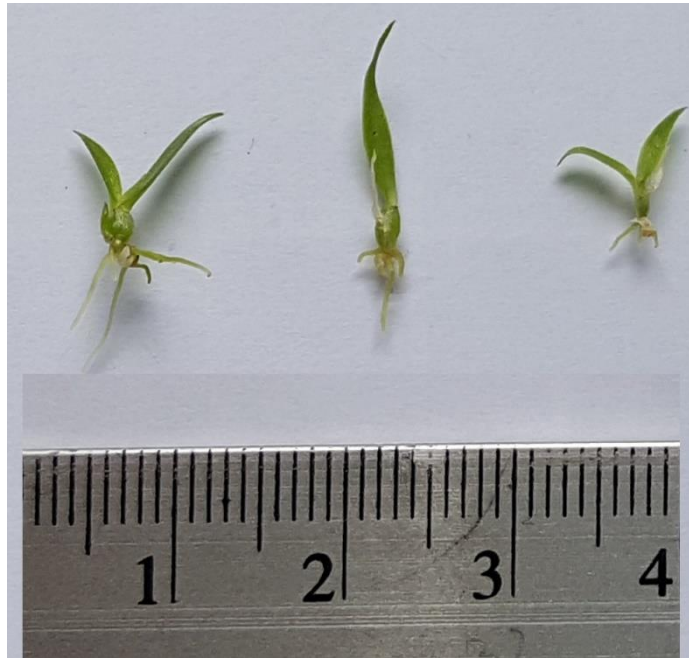
ภาพที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแมลงและต้นอ่อนที่สามารถพบภายหลังทำการเพาะนาน 4 เดือน

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนยอด และความสูงของสิ่งโตลกอกตา 2 ชนิดที่งอกบนอาหารสูตรต่างๆ ภายหลังทำการย้ายต้นอ่อนนาน 4 เดือน

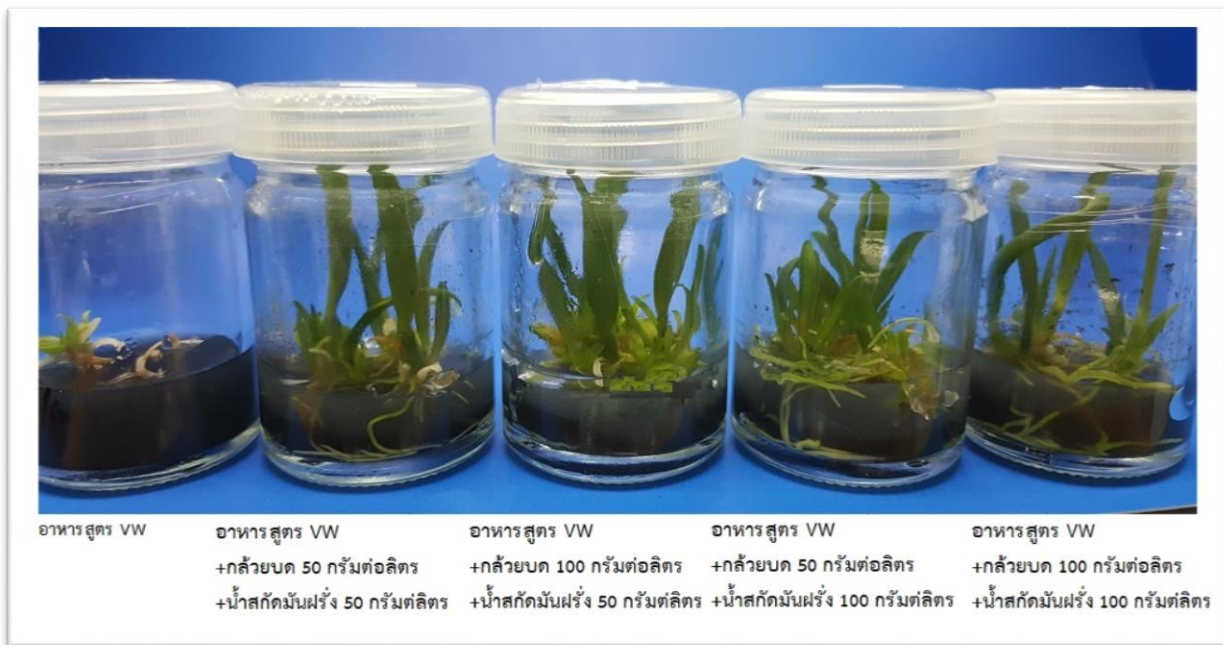
สูตรอาหาร	สิ่งโตสยาม (<i>Bulbophyllum siamense</i> Rchb.f.)		สิ่งโตอาจารย์เต็ม (<i>Bulbophyllum smitinandii</i> Seidenf. &Thorut)	
	ความสูงถึงจุดสูงสุด (เซนติเมตร)	จำนวนยอด	ความสูงถึงจุดสูงสุด (เซนติเมตร)	จำนวนยอด
	vw	0.229 c	0.292 b	1.183 b
vw 50/50	4.040 a	2.875 a	1.745 a	1.313 a
vw 100/50	3.320 b	2.729 a	1.275 b	0.938 b
vw 50/100	4.463 a	3.167 a	1.743 a	1.208 a
vw 100/100	4.168 a	2.729 a	1.155 b	0.895 b
CV%	10.4	23.4	12.3	13.8

*เลขที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างค่าสถิติ

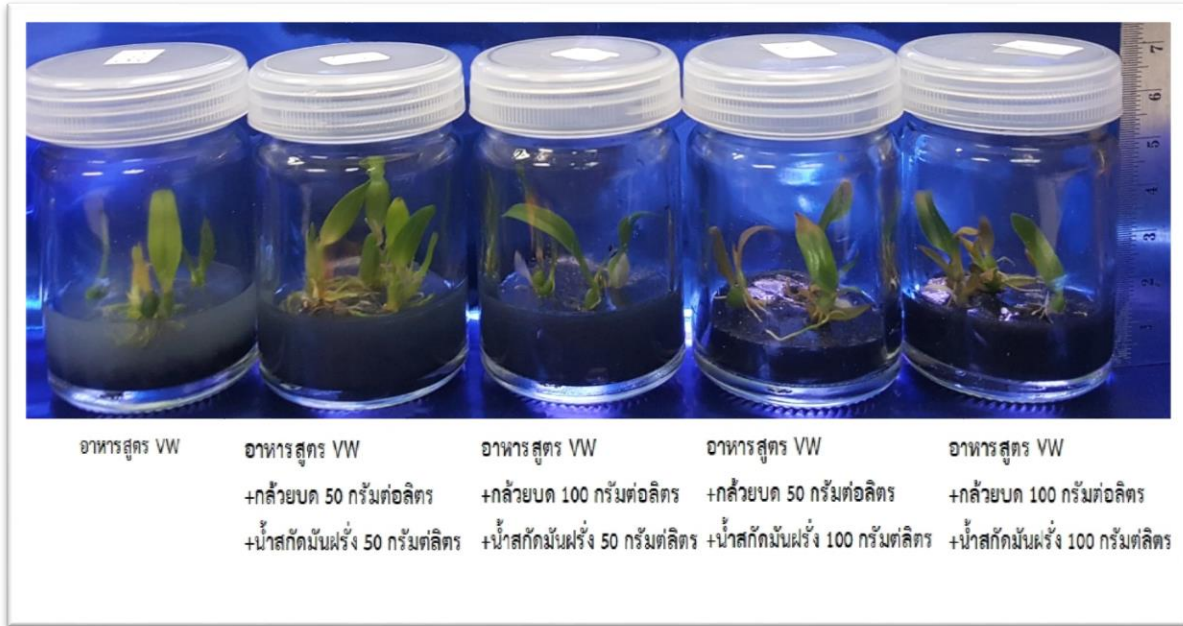
Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะต้นกล้าที่เลือกใช้ทดสอบสูตรอาหารสำหรับการเจริญเติบโตเพื่อการออกปลูก



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะต้นสิ่งโตสยามที่เจริญบนอาหารสูตรต่างๆ



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะต้นสิงโตอาจารย์เต็มที่เจริญบนอาหารสูตรต่างๆ

เมื่อทำการย้ายต้นกล้วยสิงโตสยามและสิงโตอาจารย์เต็มจากอาหารสูตร P723 ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่มีการเพิ่มสารอินทรีย์ที่ระดับต่างๆ ตามแผนการทดลอง โดยมีอาหารสูตร VW ที่ไม่มีการเพิ่มสารอินทรีย์ใดๆ เป็นสูตรเปรียบเทียบ พบว่าบนอาหารที่มีการเพิ่มสารอินทรีย์สิงโตสยาม มีความสูงถึงจุดสูงสุด และ จำนวนยอดแตกต่างจากอาหารพื้นฐานที่ไม่มีการเพิ่มสารอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ สิงโตอาจารย์เต็ม จะมีการเจริญเติบโตบนอาหารที่มีการเพิ่มมันฝรั่งที่ระดับ 50 กรัมต่อลิตรรวมกับการเพิ่มกล้วยหอมบดทุกระดับ จะมีความสูงถึงจุดสูงสุด และ จำนวนยอด แตกต่างจากอาหารพื้นฐานที่ไม่มีการเพิ่มสารอินทรีย์ และเพิ่มมันฝรั่งที่ระดับ 100 กรัมต่อลิตรร่วมกับทุกระดับการเพิ่มกล้วยหอมบด อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2)

อาหารเพาะเลี้ยงสิงโตกโลกตาในหลายการทดลอง เช่น ชัยชาญ มณีรัตน์รุ่งโรจน์ และ คณะ (2554) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สิงโตประหลาด พบว่าการเลี้ยงต้นอ่อนสิงโตประหลาดบนอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่มีการเพิ่มน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัม กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร โสภา ชูเพ็ง และ คณะ (2560) ศึกษาผลของ Hyponex และ BA ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สิงโตกโลกตา (*Bulbophyllum carunculatum*) ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่มีการเพิ่มน้ำสกัดมันฝรั่ง 70 กรัมต่อลิตร และ ปลายฝัน จันทร์แสง และ คณะ (2560) ศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสและอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สิงโตนกเหยี่ยวใหญ่ (*Bulbophyllum putidum*) ในหลอดทดลอง โดยอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้สิงโตนกเหยี่ยวใหญ่ในหลอดทดลองคืออาหารสูตร ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตรที่มีการเติม น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัม และกล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร ปริมาณมันฝรั่งที่ใช้กับการเพาะเลี้ยง

สิงโตกลอกตาตาละชนิด เปลี่ยนแปลงตามชนิดของกล้วยไม้ ดังนั้นควรมีการทดลองที่มากชนิดขึ้น หรือใช้ในปริมาณที่พอเหมาะ กับหลักทางเศรษฐศาสตร์ด้วย

การสังเกตการย้ายออกปลุก

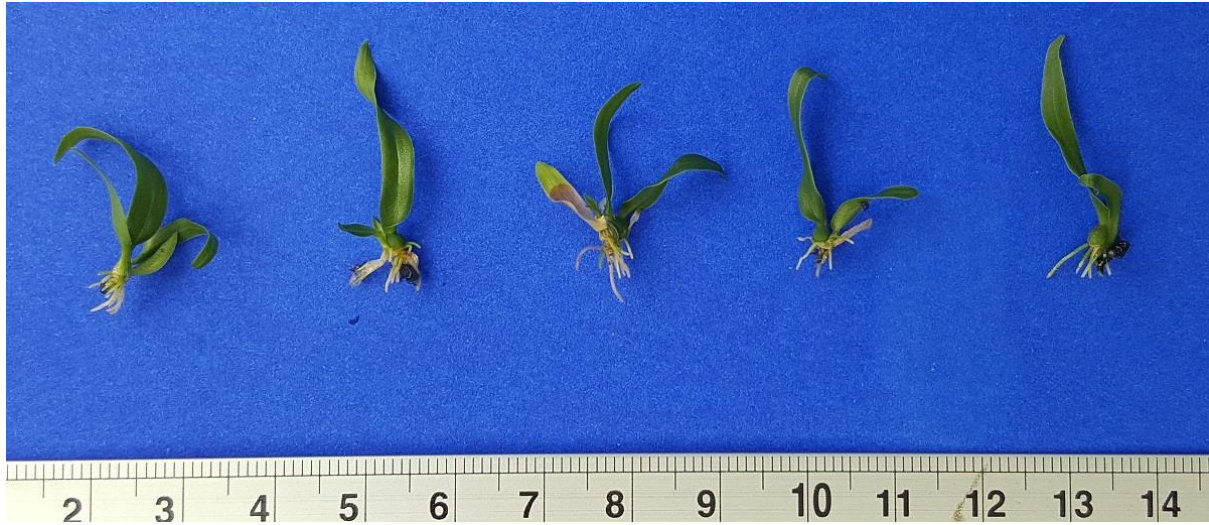
เมื่อต้นกล้ามีขนาดพอเหมาะ นำออกปลุกทดสอบในสภาพโรงเรือนโดยใช้สแฟกนัมมอสเพียงอย่างเดียวเป็นวัสดุปลุก พบต้นอ่อนมีการรอดชีวิตทั้งหมด และมีการเจริญเติบโตต่อเนื่อง หลังย้ายออกปลุกนาน 4 เดือน



ภาพที่ 7 แสดงลักษณะต้นสิงโตสยามที่เจริญพร้อมออกปลุก



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะต้นสิงโตสยาม หลังออกปลุกนาน 4 เดือน



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะต้นสิงโตอาจารย์เต็มที่เจริญพร้อมออกปลูก

9. สรุปผลการทดลอง

เมื่อเพาะเมล็ดสิงโตสยามและสิงโตอาจารย์เต็มในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมล็ดสามารถงอกได้บนอาหารสูตร MS VW+กล้วยหอม 100 กรัมต่อลิตร + มันฝรั่งสกัด 100 กรัมต่อลิตร และ Orchid seed sowing medium (P723) โดยสิงโตสยามสามารถงอกและพัฒนาต้นอ่อนได้ดีมากบนอาหารสูตร Orchid seed sowing medium (P723) ในขณะที่สิงโตอาจารย์เต็มมีร้อยละของการงอกไม่แตกต่างกันในทั้ง 3 สูตรอาหาร

เมื่อทำการย้ายต้นกล้าสิงโตสยามและสิงโตอาจารย์เต็มลงบนอาหารสูตรสำหรับการเจริญเติบโตตามแผนการทดลอง พบว่า บนอาหารสูตร VW ที่ไม่มีการเพิ่มสารอินทรีย์ สิงโตสยามมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด และพบการตายของต้นอ่อนเกิดขึ้นจำนวนมาก ในขณะที่สิงโตอาจารย์เต็มบนอาหารสูตร VW ที่ไม่มีการเพิ่มสารอินทรีย์ และมีระดับการเติมกล้วยที่ 100 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตอ่อนไม่แตกต่างกัน แต่จะมีการเจริญเติบโตของต้นอ่อนต่างจากบนอาหารสูตร VW ที่มีการเพิ่มกล้วยที่ระดับ 50 กรัมต่อลิตร

10.

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตัดสินใจในการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตาชนิดอื่น ๆ
2. นักวิชาการสามารถใช้เป็นข้อมูลในการตัดสินใจเพื่อการอนุรักษ์ และขยายพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์ได้
3. เกษตรกร ใช้เป็นข้อมูลในการตัดสินใจในการขยายพันธุ์ปลูกเลี้ยงเพื่อการค้า
4. เจ้าหน้าที่ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการขยายพันธุ์กล้วยไม้จากเมล็ดเพื่อการอนุรักษ์ และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไป

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : -

12. เอกสารอ้างอิง

จิตราพรรณ พิสิก. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 82 น.

ชัยชาญ มณีรัตน์รุ่งโรจน์, ศรีสังวาล ลายวิเศษกุล และ อนุพันธ์ กงบังเกิด. 2554. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สิงโตประหลาด. NU Science Journal 2011 7(2): 45-59.

ธันว์ ขำทอง. 2546. การขยายพันธุ์กล้วยไม้สิงโตกำมปูแดงและสิงโตครายาว โดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

โสภา ชูเพ็ง และ ชุติพร นุเคราะห์ชน 2560. ผลของ Hyponex และBA ต่อการเจริญเติบโตของ กล้วยไม้สิงโตกลอกตา (*Bulbophyllum carunculatum*) ในสภาพปลอดเชื้อ. แก่นเกษตร 45 ฉบับพิเศษ 1:1289-1295.

ปลายฝัน จันทร์แสง, วาริณี พละสาร, สุทธนา ปลอดสมบูรณ์, สุรสิทธิ์ สิทธิคำภา และ อรัญญา พิมพ์มงคล 2560. อิทธิพลของน้ำตาลซูโครสและอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สิงโตนกเหยี่ยวใหญ่ (*Bulbophyllum putidum*) ในหลอดทดลอง. การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติการวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 8 “ทรัพยากรไทย : ศักยภาพมากล้นมีให้เห็น” (ภาคนิทัศน์ หน้า 367-373)

สลิล สิทธิจักรธรรม. 2553. กล้วยไม้สิงโตกลอกตาในประเทศไทย. กรุงเทพฯ บ้านและสวน.

สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2549. Thailand Red Data: Plants. กรุงเทพฯ.

Arditti, J. 1984. Orchid Biology Reviews and Perspectives. Vol. III. Cornell University Press, London. 432 p.

<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t3902?lang=en®ion=TH>

Pitchard, H.W. 1989. Modern Methods in Orchid Conservation. Cambridge University Press, NewYork. 169 p.

Seidenfaden, G. 2522. "Orchids Genera in Thailand VIII Bulbophyllum Thou." Dansk Botanisk

Arkiv.33-3

Seigerist, E.S. 2544. Bulbophyllums and Their Allies. Portland,Oregon. Timber Press.

Thoms, B. 2552. Bulbophyllums The incomplete Guide; From A to Why?. Valrico,Florida.

13. ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงปริมาณสารเคมีในอาหารเพาะเลี้ยง 3 สูตร (มิลลิกรัมต่อลิตร)

	VW	MS	P723
NH ₄ NO ₃	500	1,650.0	412.5
KNO ₃	525	1,900.0	475.0
H ₃ BO ₃	-	6.2	1.65
KH ₂ PO ₄	250	170.0	42.5
NaMoO ₄ :2H ₂ O	-	0.213	0.0625
CoCl ₂ :6H ₂ O	-	0.025	0.0063
KI	-	0.830	0.2075
(CaCl ₃) ₂ PO ₄	200	-	-
CaCl ₂ :2H ₂ O	-	332.0	83.0
CuSO ₄ :5H ₂ O	-	0.025	0.0063
MnSO ₄	26.3	16.9	4.23
MgSO ₄	122.09	180.69	75.18
ZnSO ₄ :7 H ₂ O	-	8.6	2.65
Na ₂ EDTA	-	37.3	18.65
FeSO ₄ :7 H ₂ O	5.68	27.8	13.93
Thiamine HCl (VitamineB1)	-	0.1	10.0
Nicotinic acid	-	0.5	1.0

Pyridoxine HCl	-	0.5	1.0
Glycine	-	2.0	
Myoinositol	-	100.0	100.0
MES Free acid	-	-	500.0
Peptone	-	-	2,000.0