

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2561

---

1. ชุดโครงการวิจัย                      วิจัยและพัฒนากล้วยไม้
2. โครงการวิจัย                              วิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ  
กิจกรรม                                      การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม  
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี)
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)              การศึกษาการขยายพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมด้วยการ  
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ  
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)          Study on *In vitro* Propagation of *Cymbidium* sp. Hybrids
4. คณะผู้ดำเนินงาน  
หัวหน้าการทดลอง                          นางสาววาสนา สุภาพรหม                      สังกัดศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร  
ผู้ร่วมงาน                                      นายอำนาจ อรรถล่งล่อง                      สังกัดสถาบันวิจัยพืชสวน  
นางสุภาภรณ์ สาชาติ                          สังกัดสถาบันวิจัยพืชสวน
5. บทคัดย่อ

การศึกษาการขยายพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมและเทคนิคในการขยายพันธุ์และเป็นการเพิ่มปริมาณลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม ตั้งแต่ปี 2560-2561 ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร โดยนำชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด ได้แก่ Kinetin 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบการไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า ชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW เติม Kinetin 0.5 หรือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5-7 เดือน สามารถเจริญและพัฒนาเกิดยอดและรากได้ดี มียอด 1.00 ยอด 2.00-3.50 ใบ ความสูงยอด 4.70-11.0 เซนติเมตร มี 2.00-7.00 ราก ความยาวราก 6.50-9.50 เซนติเมตร แต่ชิ้นส่วนตาข้างมีการรอดชีวิตและการเจริญน้อย เนื่องจากในระหว่างการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเกิดสีน้ำตาลขึ้น ทำให้ชิ้นส่วนตายในที่สุด

Abstract

The purpose of this study was suitable medium and method for propagation and multiplication of *Cymbidium sp.* hybrids. The experimental did in the tissue culture laboratory at Phichit Agricultural Research and Development Center since 2017-2018. Young shoot axially bud were culture on VW medium supplement with 0.1, 0.5 and 1.0 ml/L Kinetin and 0.1, 0.5 and 1.0 ml/L NAA concentration compared without growth regulator. The result showed that young shoot axially bud were culture on VW medium supplement with 0.5 or 1.0 ml/L Kinetin and 1.0 ml/L NAA for 5-7 months, axially bud could regenerate and develop to shoot and root very well. There were shoot number 1.00, leaves number 2.00-3.50, shoot height 4.70-11.0 cm, root number 2.00-7.00 and root length 6.50-9.5 cm. Axially bud has less survival and regenerated because when cultured has phenolic compound, therefore axially bud were die.

## 6. คำนำ

กล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium Sw.*) ชื่อไทยมักเรียกว่าสกุล “กะเหรกร่อน” พบทั้งกล้วยไม้อิงอาศัยและกล้วยไม้ดิน บางชนิดเป็นกล้วยไม้กินซากเจริญทางด้านข้าง ลำต้นมีทั้งเป็นหัวแบบเผือกหรือเป็นเหง้าใต้ดิน ใบรูปแถบมีหลายใบเรียงสลับระนาบเดียว บางจนถึงหนาและแข็ง ใบอ่อนพับตามแนวยาว ใบแก่หลุดร่วงที่ข้อเหลือกาบใบติดคาคั่น ชนิดที่เป็นพืชอาศัยซากใบลดรูปเหลือเพียงเกล็ดที่ข้อ ช่อดอกเป็นกระจุกออกที่ข้อข้างลำต้นหรือที่เหง้า มีทั้งตั้งตรง ทอดเอียง และห้อยย้อย สั้นจนถึงยาว ดอกใหญ่ มีหลายดอก เรียงเวียนแน่น กลีบเลี้ยงรูปรีจนถึงรูปแถบ กลีบปากอยู่ทางด้านล่าง รูปทรงคล้ายเรือ มักมีหูปากรูปสามเหลี่ยม เส้นแวงเรียวยาว กลุ่มเรณู 2-4 กลุ่มบนแป้นก้านกลุ่มเรณู มีการกระจายพันธุ์ในเขตอบอุ่นและเขตร้อนของทวีปเอเชียจนถึงทวีปออสเตรเลียสำรวจพบประมาณ 45 ชนิด ประเทศไทยพบ 18 ชนิดตามป่าผลัดใบและป่าไม่ผลัดใบทุกภูมิภาค เนื่องจากความหลากหลายของรูปลักษณ์และธรรมชาติของนิเวศมีขอบเขตที่เปิดกว้างมากพอสมควร จึงมีแหล่งกำเนิดค่อนข้างกว้าง ครอบคลุมพื้นที่ตั้งแต่บริเวณใกล้เส้นศูนย์สูตรของโลกขึ้นไปจนถึงระดับเส้นรุ้งสูงกว่า 20 องศาจากนั้นยังพบว่า บางกลุ่มขึ้นอยู่ในบริเวณใกล้ระดับน้ำทะเล บางกลุ่มขึ้นอยู่ในพื้นที่ซึ่งสูงจากระดับน้ำทะเลมากกว่า 1,500 เมตร บางชนิดพบขึ้นบนต้นไม้สูง แต่บางชนิดพบขึ้นอยู่ที่พื้นดิน (สลิล, 2552)

สถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์วิจัยเครือข่ายได้ผสมพันธุ์และคัดเลือกกล้วยไม้ท้องถิ่นของไทยไว้หลายสกุล เพื่อพัฒนาเป็นกล้วยไม้ประดับชนิดใหม่ที่มีศักยภาพของไทย โดยส่งเสริมให้มีการผลิต การใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวางมากขึ้น กล้วยไม้เหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้ป่าและมีบางสกุลที่เริ่มมีการพัฒนา

เป็นไม้การค้า ลักษณะต้นและดอกเป็นเอกลักษณ์ สวยแปลกตา มีความต้องการในหมู่นักสะสมกล้วยไม้แปลก และหายากทั้งในและต่างประเทศ ทำให้เกิดการเก็บกล้วยไม้ป่าเหล่านี้ออกมาจำหน่ายเป็นจำนวนมาก จึงเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ตามธรรมชาติ กล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม ส่วนใหญ่ที่ปลูกในประเทศไทยเป็นประเภทอาศัยอากาศเย็นในการเจริญเติบโต ซึ่งเคยได้มีการผสมพันธุ์เพื่อคัดเลือกพันธุ์ให้มีความหลากหลายมากขึ้นและปลูกเลี้ยงได้ทั้งอากาศหนาวหรืออากาศร้อน แต่ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เพื่อจะพัฒนาเป็นกล้วยไม้การค้าชนิดใหม่ ซึ่งต้องศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ สำหรับการขยายพันธุ์ และเทคโนโลยีการผลิต เพื่อสร้างความหลากหลายและความแปลกใหม่รองรับการขยายตัวของตลาดในอนาคต จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เพื่อการขยายพันธุ์ ขึ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ส่วนใหญ่เป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญของกล้วยไม้ ได้แก่ ปลายยอด ปลายราก ตาข้าง ใบอ่อน ตาที่ก้านช่อดอกอ่อน เป็นต้น ดังนั้นจึงได้ศึกษาการขยายพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมและเทคนิคในการขยายพันธุ์และเป็นการเพิ่มปริมาณลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม

## 7. วิธีดำเนินการ

### - อุปกรณ์

- 1) ต้นพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม 2 ชนิด ได้แก่ ปากเกร็ดมัทพินและโกลเด้นเอลฟ์
- 2) สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารและใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- 3) อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารและใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- 4) วัสดุทางการเกษตร
- 5) อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

### - วิธีการ

- 1) ดูแลรักษาต้นลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม โดยการรดน้ำ ใส่ปุ๋ยละลายช้า ปุ๋ยทางใบและพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช
- 2) นำหน่ออ่อนอายุ 10-14 วัน มาทำความสะอาดฟอกฆ่าเชื้อและตัดเอาชิ้นส่วนตามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW ดัดแปลง โดยวางแผนการทดลองแบบ  $3 \times 3 + 1$  factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ปัจจัยแรก คือ ความเข้มข้นของ Kinetin 3 ระดับ ได้แก่ 0.1, 0.5 และ 1.0 มล./ลิตร ปัจจัยที่ 2 คือ ความเข้มข้นของ NAA 3 ระดับ ได้แก่ 0.1, 0.5 และ 1.0 มล./ลิตร จำนวน 10 กรรมวิธี 3 ซ้ำ แต่ละสูตรเต็ม

น้ำตาลทราย 20 กรัม/ลิตร ผงวุ้น 8 กรัม/ลิตร ปรับ pH 4.8 เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน

3) บันทึกข้อมูล การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตาที่เพาะเลี้ยง ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตา เปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตา ความสูงยอด จำนวนยอด จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวราก

#### - เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2559 สิ้นสุด กันยายน 2561

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ตำบลโรงช้าง อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองนำชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนลูกผสมกล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียม 2 ชนิด ได้แก่ ปากเกร็ด มัฟฟินและโกลเดินเอลท์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 เดือน

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตาข้าง พบว่า ปากเกร็ดมัฟฟิน เมื่อเพาะเลี้ยง 3 เดือน มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตมากที่สุด 40.0 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตน้อยสุด 10.0 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตน้อยสุด 13.4 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพาะเลี้ยง 5 เดือน มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตมากที่สุด 30.0 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตน้อยสุด 10.0-15.0 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และอาหารบนอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตน้อยสุด 13.4 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพาะเลี้ยง 7 เดือน มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตมากที่สุด 20.0-21.1 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสังเคราะห์

VW เต็ม Kinetin 0.1 และ 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตน้อยสุด 5.00 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตน้อยสุด 6.25 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โกลเด็นเอลฟ์ เมื่อเพาะเลี้ยง 1 3 และ 5 เดือน บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA ทุกกรรมวิธี เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 1 เดือน มีชิ้นส่วนที่มีชีวิต 22.6-69.8 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิต 46.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 3 เดือน มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิต 18.3-52.6 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิต 32.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 5 เดือน มีชิ้นส่วนที่มีชีวิต 3.85-17.8 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA ไม่มีชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิต เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของชิ้นส่วนตาข้างจะลดลง เนื่องจากชิ้นส่วนเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล ชิ้นส่วนตาข้างเริ่มมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมา เป็นผลให้ชิ้นส่วนเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลหรือดำ จึงไม่สามารถเจริญและพัฒนาได้ (ตาราง 1 และภาพผนวก 1) เนื้อเยื่อพืช เมื่อเกิดบาดแผลสามารถสร้างสารประกอบฟีนอลขึ้นมาเพื่อให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นตายและเนื้อเยื่อบริเวณรอยแผลที่ตายไปแล้วนั้นจะช่วยปิดรอยแผลไม่ให้เนื้อเยื่อสูญเสียน้ำหรือเป็นตัวกั้นการเข้าทำลายของเชื้อโรค (สุนนทิพย์, 2540)

จิตราพรรณ (2536) กล่าวว่า การเลือกชิ้นส่วนพืชจากต้นพืชเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อความสำเร็จในการขยายพันธุ์ ซึ่งต้องได้จากต้นที่แข็งแรงสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอายุของต้นพืช การ ปลูกดูแลรักษา สภาพแวดล้อมที่ต้นพืชนั้นได้รับและรวมถึงฤดูกาลด้วย ชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดี ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญ ตายอด, ตาข้าง, ช่อดอก, ใบ และราก เช่น กล้วยไม้ในสกุล *Doritis*, *Oncidium*, *Phalaenopsis* และลูกผสม ใช้ส่วนของก้านช่อดอกที่มีตาที่ข้อ และการตัดแปลงสูตรอาหารให้เหมาะสมต่อช่วงการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในสภาพเพาะเลี้ยง และการเติมสารอื่นที่ต้นกล้วยไม้ต้องการในอาหารสามารถทำให้กล้วยไม้พัฒนาได้เหมาะสมกับช่วงการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น และเนื่องจากความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ สายพันธุ์ อายุของต้น การดูแลรักษา สภาพแวดล้อมในการปลูกอาหาร และสภาพในการเพาะเลี้ยง (ประสาทร, 2541)

#### ตาราง 1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนปากเกร็ดมัพฟินและโกลเด็นเอลฟ์

เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW ดัดแปลง ที่เติมฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 เดือน

---

กรรมวิธี

สารควบคุมการ

ปากเกร็ดมัพฟิน

โกลเด็นเอลฟ์

---

เจริญเติบโต (ml/L)								
	Kinetin	NAA	3	5	7	1	3	5
1	0.1	0.1	15.6 cd	15.6 cd	10.6 ab	22.6 a	18.3 a	4.17 a
2	0.1	0.5	26.1 bc	26.1 ab	21.1 a	32.9 a	24.4 a	5.56 a
3	0.1	1.0	10.0 d	10.0 d	5.00 b	58.2 a	22.7 a	7.69 a
4	0.5	0.1	15.0 cd	10.0 d	10.0 ab	48.2 a	40.3 a	9.72 a
5	0.5	0.5	15.0 cd	15.0 d	10.0 ab	29.1 a	24.4 a	3.85 a
6	0.5	1.0	40.0 a	30.0 a	20.0 a	38.9 a	29.8 a	13.9 a
7	1.0	0.1	20.0 bcd	20.0 bcd	15.0 ab	69.8 a	52.6 a	3.85 a
8	1.0	0.5	30.0 ab	25.0 abc	15.0 ab	60.9 a	50.5 a	17.8 a
9	1.0	1.0	15.0 cd	10.0 d	10.0 ab	52.6 a	44.2 a	11.5 a
10	ไม่ใส่		13.4 d	13.4 d	6.25 b	46.9 a	32.4 a	0.00 a
C.V.(%)			23.5	23.6	38.8	53.1	42.2	99.4

ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตาข้างปากเกร็ดมัพฟิน พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยง 3 เดือน ชิ้นส่วนตาข้างมีการเจริญและพัฒนา 0.00-15.0 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนตาข้างสามารถเจริญและพัฒนาดีที่สุด บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 1.0 มิลลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิตรต่อลิตร มีการเจริญและพัฒนา 10.0 เปอร์เซ็นต์ มี 1.00 ยอด 2.00 ใบ ความสูงยอด 2.00 เซนติเมตร มี 1 ราก ความยาวราก 1.50 เซนติเมตร และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA ชิ้นส่วนตาข้างมีการเจริญและพัฒนา 6.25 เปอร์เซ็นต์ แต่ยังไม่เจริญและพัฒนาเป็นต้นและรากได้ (ตาราง 2 และภาพผนวก 2ก) เมื่อเพาะเลี้ยง 5 เดือน ชิ้นส่วนตาข้างมีการเจริญและพัฒนา 5.00-15.6 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนตาข้างสามารถเจริญและพัฒนาดีที่สุด บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.5 มิลลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิตรต่อลิตร มีการเจริญและพัฒนา 15.0 เปอร์เซ็นต์ มี 1.00 ยอด 2.00 ใบ ความสูงยอด 3.75 เซนติเมตร มี 4.00 ราก ความยาวราก 2.50 เซนติเมตร และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เต็ม Kinetin ร่วมกับ NAA ชิ้นส่วนตาข้างมีการเจริญและพัฒนา 6.25 เปอร์เซ็นต์ มี 1.00 ยอด ความสูงยอด 5.00 เซนติเมตร (ตาราง 3) เมื่อเพาะเลี้ยง 7 เดือน ชิ้นส่วนตาข้างมีการเจริญและพัฒนา 5.00-21.1 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนตาข้างสามารถเจริญและพัฒนาดีที่สุด บนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.5 มิลลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิตรต่อลิตร มีการเจริญและพัฒนา 20.0 เปอร์เซ็นต์ มี 1.00 ยอด 3.50 ใบ ความสูงยอด 11.0 เซนติเมตร มี 7.00 ราก ความยาวราก

9.50 เซนติเมตร และอาหารสังเคราะห์ VW ไม่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ขึ้นส่วนตาข้างมีการเจริญและพัฒนา 6.25 เปอร์เซ็นต์ มี 1.00 ยอด 2.00 ใบ ความสูงยอด 3.85 เซนติเมตร มี 1.00 ราก ความยาวราก 1.00 เซนติเมตร (ตาราง 4 และภาพผนวก 3)

**ตาราง 2** การเจริญและพัฒนาของขึ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนปากเกร็ดมัมฟีนเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW ดัดแปลงที่เติมฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

กรรมวิธี	สารควบคุมการ		การเจริญ (%)	ความสูง ยอด (ซม.)	จำนวน ยอด	จำนวนใบ	จำนวน ราก	ความยาว ราก (ซม.)
	เจริญเติบโต (ml/L)							
	Kinetin	NAA						
1	0.1	0.1	10.6	2.25	1.00	0.00	0.00	0.00
2	0.1	0.5	10.6	1.50	1.00	0.00	1.00	1.50
3	0.1	1.0	5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.5	0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.5	0.5	10.0	0.00	0.00	0.00	1.00	1.25
6	0.5	1.0	15.0	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
7	1.0	0.1	10.0	0.75	1.00	0.00	1.00	2.75
8	1.0	0.5	10.0	2.00	1.00	2.00	1.00	1.50
9	1.0	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	ไม่ใส่		6.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

**ตาราง 3** การเจริญและพัฒนาของขึ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนปากเกร็ดมัมฟีนเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์

VW ดัดแปลงที่เติมฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 เดือน

กรรมวิธี	สารควบคุมการเจริญเติบโต (ml/L)		การเจริญ (%)	ความสูง ยอด (ซม.)	จำนวน ยอด	จำนวนใบ	จำนวน ราก	ความยาว ราก (ซม.)
	Kinetin	NAA						
	1	0.1						
2	0.1	0.5	15.6	5.00	1.00	2.00	1.50	3.50
3	0.1	1.0	5.00	2.00	1.00	0.00	2.00	3.00
4	0.5	0.1	5.00	2.50	1.00	0.00	0.00	0.00
5	0.5	0.5	10.0	0.80	1.00	0.00	1.00	1.50
6	0.5	1.0	15.0	3.75	1.00	2.00	4.00	2.50
7	1.0	0.1	10.0	0.75	1.00	0.00	1.00	7.50
8	1.0	0.5	10.0	2.00	1.00	2.00	1.50	5.25
9	1.0	1.0	10.0	1.50	1.00	0.00	1.50	1.75
10	ไม่ใส่		6.25	3.50	1.00	0.00	0.00	0.00

**ตาราง 4** การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนปากเกร็ดมัมฟีนเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์

VW ดัดแปลงที่เติมฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 เดือน

กรรมวิธี	สารควบคุมการเจริญเติบโต (ml/L)		การเจริญ (%)	ความสูง ยอด (ซม.)	จำนวน ยอด	จำนวนใบ	จำนวน ราก	ความยาว ราก (ซม.)
	Kinetin	NAA						
	1	0.1						
2	0.1	0.5	21.1	9.25	1.00	3.50	2.00	7.00
3	0.1	1.0	5.00	1.50	1.00	0.00	2.00	10.0
4	0.5	0.1	5.00	3.15	1.00	3.00	0.00	0.00
5	0.5	0.5	10.0	10.9	1.00	2.00	4.50	6.75
6	0.5	1.0	20.0	11.0	1.00	3.50	7.00	9.50
7	1.0	0.1	15.0	10.7	1.00	3.00	1.00	11.7
8	1.0	0.5	15.0	9.50	1.00	5.00	2.50	13.3
9	1.0	1.0	10.0	3.50	1.00	1.50	1.50	7.75
10	ไม่ใส่		6.25	3.85	1.00	2.00	1.00	1.00





8	1.0	0.5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9	1.0	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	ไม่ใส่		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

**ตาราง 6** การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนจากหน่ออ่อนโกลเด้นเอลฟ์เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW  
ดัดแปลงที่เติมฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

กรรมวิธี	สารควบคุมการ		การเจริญ (%)	ความสูง ยอด (ซม.)	จำนวน ยอด	จำนวนใบ	จำนวน ราก	ความยาว ราก (ซม.)
	เจริญเติบโต (mL/L)							
	Kinetin	NAA						
1	0.1	0.1	4.17	4.50	1.00	2.00	1.00	2.00
2	0.1	0.5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.1	1.0	7.69	0.00	0.00	0.00	1.00	5.00
4	0.5	0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.5	0.5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	0.5	1.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7	1.0	0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	1.0	0.5	3.85	0.00	0.00	0.00	1.00	0.50
9	1.0	1.0	3.85	2.00	1.00	1.00	2.00	3.50
10	ไม่ใส่		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

**ตาราง 7** การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนจากหน่ออ่อนโกลเด้นเอลฟ์เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW  
ดัดแปลงที่เติมฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 เดือน

กรรมวิธี	สารควบคุมการ		การเจริญ (%)	ความสูง ยอด (ซม.)	จำนวน ยอด	จำนวนใบ	จำนวน ราก	ความยาว ราก (ซม.)
	เจริญเติบโต (mL/L)							
	Kinetin	NAA						
1	0.1	0.1	4.17	7.50	1.00	3.00	1.00	3.00
2	0.1	0.5	5.56	2.50	1.00	3.00	3.50	1.75
3	0.1	1.0	7.69	0.00	0.00	0.00	1.00	14.0

4	0.5	0.1	5.56	0.00	0.00	0.00	1.00	0.80
5	0.5	0.5	3.85	2.50	1.00	2.00	1.00	0.60
6	0.5	1.0	4.17	3.50	1.00	2.50	1.00	0.50
7	1.0	0.1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	1.0	0.5	17.8	1.50	1.00	2.00	1.00	1.00
9	1.0	1.0	7.69	4.70	1.00	2.00	2.00	6.50
10		ไม่ใส่	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ธวัชชัยและคณะ (2556) รายงานว่า จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เพื่อการขยายพันธุ์ ขึ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ส่วนใหญ่เป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญของกล้วยไม้ ได้แก่ ปลายยอด ปลายราก ตาข้าง ใบอ่อน ตาที่ก้านช่อดอกอ่อน เป็นต้น มีรายงานการใช้ขึ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงในแต่ละสกุลที่ประสบความสำเร็จแตกต่างกันออกไป เช่น ในกล้วยไม้สกุล *Oncidium* ใช้ส่วนของใบอ่อน และปลายราก สกุล *Cymbidium* ใช้ส่วนของยอด สกุล *Spathoglottis* ใช้ส่วนของปลายใบและตาที่ซ้อ สกุล *Doritaenopsis* และ *Phalaenopsis* ใช้ส่วนของตาดอกที่ก้านช่อดอก สกุล *Dendrobium* ใช้ขึ้นส่วนของยอด ปลายราก สกุล *Vanda* ใช้ส่วนปลายยอด สกุล *Paphiopedilum* ใช้ส่วนของใบ และสกุล *Acampe* ใช้ส่วนปลายใบ เป็นต้น และ Huan *et al.* (2004) รายงานว่า สามารถชักนำ PLBs จากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของ *Cymbidium* Twilight Moon 'Day Light' โดยเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 5.3 และยังสามารถชักนำ PLBs จากแคลลัส เมื่อเลี้ยงแคลลัสในอาหารสูตร VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และเมื่อเลี้ยง PLBs ในอาหาร VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต PLBs สามารถพัฒนาเป็นยอดและรากได้ดี และมีการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม โดยใช้ส่วนปลายยอดของหน่อ เลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอด คือ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม 6- benzylaminopurine (BAP) 0.1-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA) 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม thidiazuron (TDZ) 0.05-0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA) 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตรชักนำให้เกิดรากคือ ½ MS ที่เติมน้ำตาล 3% และ 0.7% agar pH 5.6 (Natarajan Kannan, 2009)

Arteca (1995) NAA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน (auxin) มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดจุดกำเนิดของราก การแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ และ BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน (cytokinin) มีคุณสมบัติต่อการเจริญเติบโตของยอด การแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ ทั้งนี้พบว่าขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชิ้นส่วนของพืช และถ้าอัตราส่วนระหว่างฮอร์โมนออกซินมากกว่าไซโทไคนิน แคลลัสพัฒนาเป็นราก ถ้าอัตราส่วนระหว่างฮอร์โมนไซโทไคนินมากกว่าออกซิน แคลลัสพัฒนาเป็นยอด และถ้าอัตราส่วนระหว่างฮอร์โมนออกซินเท่ากับไซโทไคนินจะพัฒนาเป็นแคลลัสต่อ (Kaveeta, 1997)

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการขยายพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนสามารถเจริญและพัฒนาเกิดยอดและรากได้ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW เต็ม Kinetin 0.5 หรือ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 5-7 เดือน แต่ชิ้นส่วนตาข้างมีการรอดชีวิตและการเจริญน้อย เนื่องจากในระหว่างการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเกิดสีน้ำตาลขึ้น ทำให้ชิ้นส่วนตายในที่สุด

การศึกษาการขยายพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อครั้งนี้ ได้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อการนำไปวางแผนการศึกษาเพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลองครั้งนี้ และได้เห็นแนวโน้มที่จะพัฒนาเทคนิคเพื่อทำให้การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกิดผลสำเร็จในที่สุด

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้สูตรอาหารและวิธีการที่นำไปปรับใช้หรือเป็นแนวทางในการศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียมหรือกล้วยไม้สกุลอื่นๆ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการเพิ่มปริมาณกล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียมหรือกล้วยไม้สกุลอื่นต่อไป

## 11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรฟิจิตรที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และปัจจัยการผลิต ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ช่วยปฏิบัติงานทดลองให้สำเร็จได้ด้วยดี

## 12. เอกสารอ้างอิง

จิตรภาพรรณ พิสิทธิ์. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 82 หน้า.

ธวัชชัย ทรัพย์ธีระและคณะ. 2556. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เอื้องสายล่องแล่ง (*Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fischer) ในสภาพปลอดเชื้อ วารสารวิจัย มข 13 หน้า.

ประสาทร สมิตะมาน. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: เทคนิคและการประยุกต์ใช้. นพบุรีการพิมพ์, เชียงใหม่. 141 หน้า.

สลิล สิทธิสังจธรรม. 2552. กล้วยไม้ป่าเมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 7. บ้านและสวน, กรุงเทพฯ. 495หน้า.

สุนนทิพย์ บุนนาค. 2541. การเจริญเติบโตและฮอร์โมนพืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น. 354 หน้า.

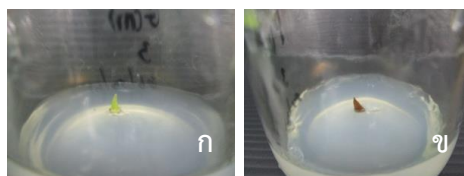
Arteca, R.N. 1995. Plant Growth Substances: Principles and Applications. Chapman and Hall, New York. p.288.

Huan, L.V.T., T. Takamura and M. Tanaka. 2004. Callus formation and plant regeneration from callus through somatic embryo structures in *Cymbidium* orchid. Plant Science 166: 1443-1449.

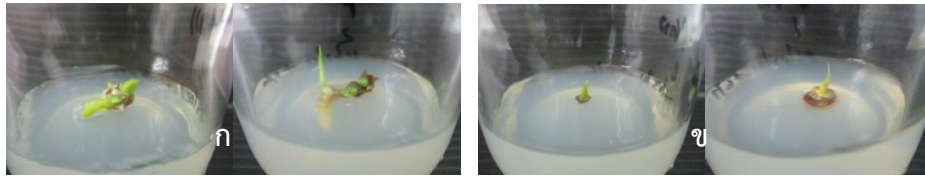
Kaveeta, R. 1997. Plant tissue culture: The principles and techniques. Bangkok. Kasetsart University press. Thai.

Natarajan Kannan. 2009. An in vitro study on micropropagation of *Cymbidium* orchids. Vol. 3 Issue 2, 2009.

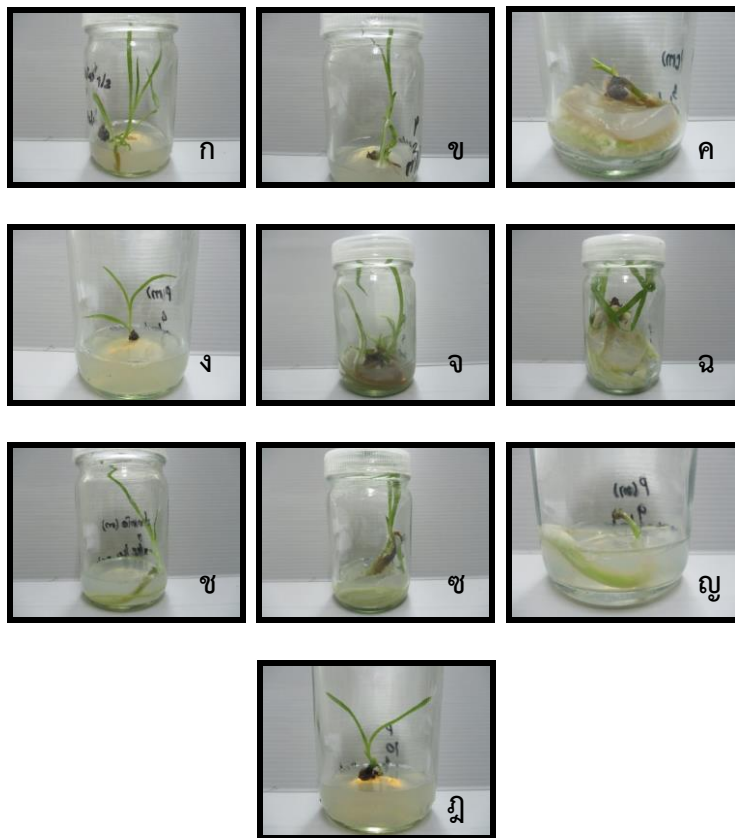
### 13. ภาคผนวก



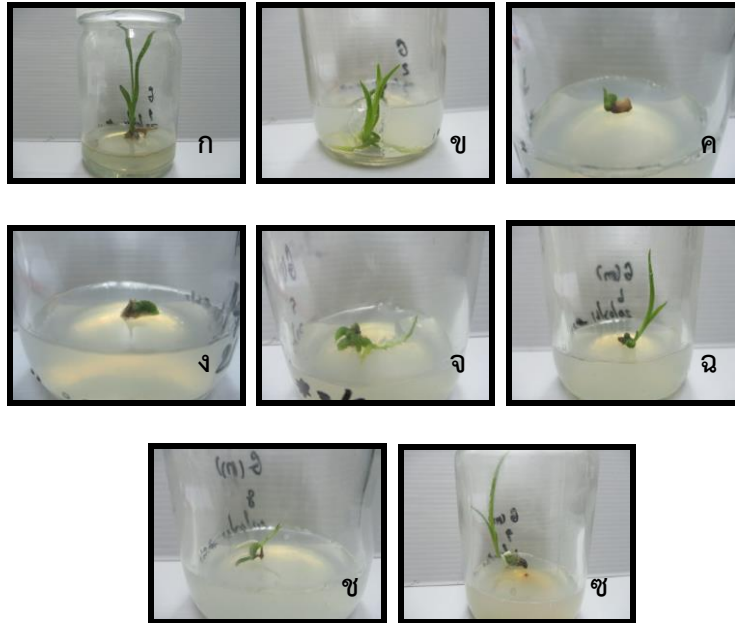
**ภาพผนวก 1** ลักษณะของชิ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนลูกผสมกล้วยไม้สกุลชิมบิเดียม เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ก: ชิ้นส่วนตาข้างที่มีชีวิต ข: ชิ้นส่วนตาข้างที่ตายแล้ว



ภาพผนวก 2 ลักษณะการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนลูกผสมกล้วยไม้สกุลชิมบิเดียม ก: ปากเกร็ดมัพฟินที่เพาะเลี้ยง 3 เดือน ข: โกลเด็นเอลฟ์ที่เพาะเลี้ยง 1 เดือน บนอาหารสังเคราะห์ VW ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



ภาพผนวก 3 ลักษณะการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนลูกผสมกล้วยไม้สกุลชิมบิเดียม ปากเกร็ดมัพฟิน เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 เดือน ก: 0.1:0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข: 0.1:0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ค: 0.1:1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ง: 0.5:0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร จ: 0.5:0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ฉ: 0.5:1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ช: 1.0:0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร ซ: 1.0:0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ญ: 1.0:1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ฎ: ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต



ภาพผนวก 4 ลักษณะการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตาข้างจากหน่ออ่อนลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม โกลเด็นเอפל เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW ที่เติม Kinetin ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 เดือน ก: 0.1:0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร ข: 0.1:0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ค: 0.1:1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ง: 0.5:0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร จ: 0.5:0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ฉ: 0.5:1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ช: 1.0:0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ช: 1.0:1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร