

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2561

1. ชุดโครงการวิจัย : ที่ 103 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร (โครงการวิจัยเดี่ยว)

2. โครงการวิจัย : ที่ 133 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร  
กิจกรรม : 2. เทคโนโลยีการผลิต  
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : 2.1.2 ศึกษาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ): 2.1.2 In vitro tissue culture of *Dendrobium officinale*

รหัสการทดลอง : 01-76-57-02-01-01-02-58

#### 4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวฉัตรดนตา ช่มอาวูร ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

ผู้ร่วมงาน : นางสาวนงคราญ โชติอิมอุตม ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

นายสมคิด รัตนบุรี ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

นางสาคร ยิ่งพ้อง ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

#### 5. บทคัดย่อ :

ศึกษาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการเดือน ต.ค. 2557-กันยายน 2561 ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่เหียะ) อ.หางดง จ.เชียงใหม่ ซึ่งเป็นกล้วยไม้หวายสกุล *Dendrobium officinale* จำนวน 2 เบอร์ มี 3 การทดลองย่อยคือ การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้หวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ปัจจัย A คือ ส่วนของยอด และ ส่วนของข้อ ปัจจัย B คือ สูตรอาหาร มี 8 สูตรพบว่า การใช้ส่วนของปลายยอด ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด และแตกต่างจากการใช้ส่วนของข้อ ในด้านสูตรอาหารทั้ง 8 สูตรพบว่า มีความแตกต่างกัน โดยสูตรอาหาร VW+น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด ซึ่งเหมือนกันทั้งใน *D. officinale* no.1 และ no.2 คือ 2.94 และ 6.4 ยอดตามลำดับ การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธีใน *D. officinale* no.1 พบว่า สูตรอาหาร 1/2MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% มีแนวโน้มชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด คือ 14.7 ยอด และสูตรอาหารคือ VW + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% มี

แนวโน้มนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุดคือ 1.91 ซม. สำหรับ *D. officinale* no.2 พบว่า สูตรอาหาร 1/2MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% มีแนวโน้มนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 14.79 ยอด และสูตรอาหาร VW + น้ำมะพร้าว 15%+ Sugar 1% + กล้วยหอม 10% + ผงถ่าน 0.5 g/l ชักนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุดคือ 3.03 ซม. การทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับชักนำรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี ใน *D. officinale* no.1 พบว่า สูตรอาหาร MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8 มีแนวโน้มนำให้เกิดรากและมีความยาวมากที่สุดคือ 8.6 ราก และ 4.64 ซม. ตามลำดับ สำหรับ *D. officinale* no.2 พบว่า สูตรอาหาร 1/2 MS + NAA 0.2 มก./ลิตร +Sugar 7.5% + Potato 5% + กล้วยหอม 10% pH 5.8 มีแนวโน้มนำให้เกิดรากมากที่สุดคือ 23.8 ราก ด้านความยาวราก พบว่าสูตรอาหาร MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8 มีแนวโน้มนำให้มีความยาวรากมากที่สุดคือ 1.74 ซม. ซึ่งได้ต้นพร้อมออกขวดสำหรับใช้ในโครงการทดสอบเทคโนโลยีในอนาคต

คำสำคัญ : กล้วยไม้สกุลหวาย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

### Abstract

In vitro tissue culture of *Dendrobium officinale* aim to increasing plantlets by tissue culture. Researched in October 2014-September 2018 at the Royal Agricultural Research Centre (Mae - Hia) Chiang Mai Thailand. Trial on the *D. officinale* for 2 number in 3 sub-experiments. Sub-experiments 1 for induction of shoot by shoot tip was higher than internode which were cultured on VW solid medium supplemented with 15% coconut water. Sub-experiments 2 for sub culture of shoot in *D. officinale* no.1 and no.2, the highest increase in shoot (14.7 and 14.79 shoots) was obtained on 1/2MS solid medium supplemented with 0.2 mg / l BA, 0.2 mg / L NAA, 2% sucrose, 5% Potato and 5% bananas. Sub-experiments 3 for induction of root in *D. officinale* no.1, the highest increase in root (8.6 roots) was obtained on MS solid medium supplemented with 1 mg/l IAA and 0.1 g/L activated charcoal in pH 5.8 and in *D. officinale* no.2, the highest increase in root (23.8 roots) was obtained on 1/2MS solid medium supplemented with 0.2 mg/l NAA, 7.5% sucrose, 5% Potato and 10% bananas. in pH 5.8. Transplanting the healthy and will use in yield trial in the future.

Keywords: Tissue culture, *Dendrobium officinale*

### 6. คำนำ

ประเทศไทยมีความหลากหลายของทรัพยากรพันธุพืชมาก ซึ่งในจำนวนนี้มีกล้วยไม้รวมอยู่ด้วยถึง 177 สกุล 1,135 ชนิด ปัจจุบันพบกล้วยไม้ 796 สกุล 19,000 ชนิด เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ เป็น 1 ใน product champion ของพืชผลการเกษตรที่มีความสำคัญในการส่งออก กล้วยไม้ นอกจากมีประโยชน์ในแง่ของความสวยงาม แต่มีประโยชน์ในด้านอื่นด้วย ได้แก่ เป็นอาหาร และบางสกุลยังมีสรรพคุณเป็นยา แต่ไม่เป็นที่แพร่หลาย ไม่เหมือนกับในประเทศจีนที่นำเอากล้วยไม้เป็นส่วนประกอบในตำรายาสมุนไพรจีนมาหลายร้อยปีแล้ว โดยเฉพาะสกุลหวายชนิด *Dendrobium officinale* ที่ Yunnan Rural Science and Technology Service Center

(2012) กล่าวว่า ได้มีการนำกล้วยไม้โดยเฉพาะสกุลหวาย (*Dendrobium*) มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์เป็นเวลานานแล้วตั้งแต่ ศตวรรษที่ 19 เชื่อกันว่า มีสรรพคุณทางการแพทย์ ดังนี้ ขจัดสารตะกั่ว ช่วยให้ออนหลับสบาย กระตุ้นการหลั่งน้ำนมในสตรีที่คลอดบุตร ลดน้ำหนัก ป้องกันโรคโลหิตจาง เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ลดไขมันในเลือด ลดน้ำตาลในเลือด ป้องกันออกซิเดชัน เพิ่มหน่วยความจำ บรรเทาความเมื่อยล้าตา บรรเทาอาการไอและระคายคอ ลดความดันโลหิต บรรเทาความเมื่อยล้า เพิ่มความทนทานต่อการขาดออกซิเจน การป้องกันจากรังสี ช่วยการเจริญเติบโต เพิ่มความหนาแน่นของกระดูก ล้างของเสียในตับและไต รักษาสิ่ว รักษาเกลื้อน เพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิว ลดน้ำมันผิว ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของธรรมชาติในลำไส้ ช่วยระบบการย่อยอาหาร รักษาแผลที่ผิวหนัง บรรเทาความร้อนในร่างกาย บรรเทาอาการเนื้องอก มะเร็ง ระบบกระเพาะปัสสาวะ บรรเทาโรคที่เกิดการสั่นในร่างกาย (Parkinson's syndrome) เป็นต้น ปัจจุบัน ทางทางการแพทย์แผนปัจจุบัน ได้มีการวิเคราะห์องค์ประกอบ พบว่า พืชสกุลหวายดังกล่าว มีปริมาณของสาร polysaccharide และ น้ำตาล mannose สูงถึง 25-40% และ 10-25% ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิด (species) ในแต่ละพันธุ์ ในแต่ละอายุ (อายุ 2 ปีมีสารมากที่สุด) ช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยว สถานที่ปลูก ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ ส่วนที่มีคุณค่าทางยามากที่สุด คือ ลำต้น นอกจากนี้มีการใช้ประโยชน์ในส่วนอื่นๆ อีก ได้แก่ ดอก และ ใบ โดยมีรูปแบบการจำหน่ายซึ่งมีราคาแตกต่างกัน สำหรับราคาของ *Dendrobium officinale* มีราคาสูงที่สุดคือ ลำต้นสด กิโลกรัมละ 500-1000 หยวน (1 หยวน = 5บาท = 2,500-5,000 บ./กก.) ดอก กิโลกรัมละ 20,000-30,000 หยวน (1 หยวน = 5บาท = 100,000-150,000 บ./กก.) ใบ กิโลกรัมละ 50-80 หยวน (1 หยวน = 5บาท = 250-400 บ./กก.) ทั้งนี้หากเป็นต้นที่ได้จากป่า จะมีราคาสูงกว่าพันธุ์ที่ปลูกเลี้ยงในโรงเรือน ส่วนชนิดอื่นจะมีราคาต่ำกว่าแตกต่างกันไป และได้แนะนำสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้หวายสกุล *Dendrobium officinale* ดังนี้ จากส่วนเมล็ด แนะนำ สูตรอาหารสำหรับฝักสมบูรณ์อายุ 4 เดือนขึ้นไปคือ ½ MS + Sugar 2% + Potato 2% pH 5.8 และสูตรอาหารสำหรับฝักไม่สมบูรณ์คือ ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2° สูตรชักนำโปรโตคอม ได้แก่ ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2° ส่วนลำต้นและปลายยอด สูตรอาหารสำหรับชักนำยอด (stage hemispheroid) คือ ½ MS + BA 0.2-0.5 มก./ลิตร + NAA 0.2-0.5 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2° สูตรชักนำโปรโตคอม ได้แก่ ½ MS + BA 1 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2° สูตรอาหารสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ได้แก่ ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2° สูตรอาหารสำหรับชักนำราก ได้แก่ ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 7.5% + Potato 5% + กล้วยหอม 10% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 4000 LX เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2° ศิริวรรณ บุรีคำ (2553) พบว่า เมื่อนำหน่ออ่อนจากต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ Madame Pompadour พอกฆ่าเชื้อในสารละลายคลอรัออกซ์ความเข้มข้น 20% และ 5% โดยปริมาตร เป็นเวลานาน 10 นาที และ 5 นาทีตามลำดับ ตัดเนื้อเยื่อเจริญขนาด 0.3 มม. พบว่า อาหารเหลวสูตร VW (Vacin & Went, 1949) ซึ่งมีน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% โดยปริมาตร และในอาหารสูตร VW ไม่มีน้ำมะพร้าวแต่มี NAA ความเข้มข้น 0.1-1.0 มก.ต่อลิตร สามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญที่มีการพัฒนา

เป็นโปรโตคอร์มได้ร้อยละ 14.3-64.3 ของจำนวนเนื้อเยื่อเจริญที่ใช้ในแต่ละการทดลอง พบว่าร้อยละ 26.5 ของจำนวนเนื้อเยื่อเจริญทั้งหมด มีการพัฒนาเป็นยอด และโปรโตคอร์มได้ ภายในเวลา 6 สัปดาห์ เนื่องจากได้รับต้นพันธุ์กล้วยไม้หวายสกุล *Dendrobium officinale* ที่ใช้ในการทดลองเป็นต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

## 7. วิธีการดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. กล้วยไม้หวายสกุล *Dendrobium officinale* จำนวน 2 เบอร์ได้แก่ กล้วยไม้ *Dendrobium officinale* no.1 ที่มีลักษณะลำต้นสีเขียว ใบเล็ก ลำต้นยาวเรียว ช่อยาว และ *Dendrobium officinale* no.2 ที่มีลักษณะลำต้นเล็กสีเขียว ใบเล็ก ลำต้นอ้วน ช่อสั้น
2. วัสดุวิทยาศาสตร์สำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70% ,สาร sodium hypochlorite อาหารสูตร Murashige and Skoog medium (1962), อาหารสูตร VW, BA, NAA, IBA, วุ้นผง, น้ำตาลทราย มันฝรั่ง กล้วยหอม น้ำมะพร้าว เป็นต้น
3. วัสดุสำนักงาน ได้แก่ กล้องถ่ายรูป กระดาษ ดินสอ ปากกา ไม้บรรทัด เป็นต้น
4. วัสดุคอมพิวเตอร์ ได้แก่ เครื่องไมโครคอมพิวเตอร์ หมึกพิมพ์ เครื่องพรินท์

### วิธีการ

ทดลองในกล้วยไม้ *Dendrobium officinale* แบ่งออกเป็น 3 การทดลองย่อย ดังนี้

การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

แบบและวิธีการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ปัจจัย A คือ ส่วนของยอด และ ส่วนของข้อ ปัจจัย B คือ สูตรอาหาร มี 8 สูตร ๆ ละ 5 ช้ำ ๆ ละ 10 ขวด ๆ ละ 4 ชั้น ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ½ MS+BA 0.2 มก./ลิตร+NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%

กรรมวิธีที่ 2 ½ MS+BA 0.3 มก./ลิตร+NAA 0.3 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%

กรรมวิธีที่ 3 ½ MS+BA 0.4 มก./ลิตร+NAA 0.4 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%

กรรมวิธีที่ 4 ½ MS+BA 0.5 มก./ลิตร+NAA 0.5 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%

กรรมวิธีที่ 5 VW+น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 6 VW+NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 VW+NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 VW+NAA ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี ๆ ละ 10 ช้ำ ๆ ละ 10 ขวด ๆ ละ 10 ชั้น ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±20

กรรมวิธีที่ 2 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±20

กรรมวิธีที่ 3 VW + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%

กรรมวิธีที่ 4 VW + น้ำมะพร้าว 15% + Sugar 1% + กล้วยหอม 10% + pH 5.2 + ผงถ่าน 0.5 g/l

การทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับชักนำรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

แบบและวิธีการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวด ๆ ละ 10 ชั้น ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 MS + ผงถ่าน 0.1 g/l

กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 0.02 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l

กรรมวิธีที่ 3 MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l

กรรมวิธีที่ 4 MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l

กรรมวิธีที่ 5 MS + BAP 0.1 mg/l + IBA 0.2 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l

กรรมวิธีที่ 6 ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 7.5% + Potato 5% + กล้วยหอม 10% pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 4000 LX เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±20

วิธีปฏิบัติทดลอง

1. ใช้ส่วนของปลายยอด หรือลำต้นที่มีข้อ นำส่วนกาบใบและใบออกให้หมด
2. ตัดเนื้อเยื่อให้มีขนาด 3-5 มม. แล้วนำไปย้ายเลี้ยงในอาหารสำหรับชักนำยอดในการทดลองย่อยที่ 1 คือ สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดยอดตามกรรมวิธี ปริมาณ 30 ml pH 5.8 ในสภาพแสงความเข้มข้น 1600-2000 LX เป็นเวลา 10 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±20 บันทึกผลการทดลอง และวิเคราะห์หากกรรมวิธีที่ดีที่สุด
3. ทำการย้ายเลี้ยง (sub-culture) ในอาหารตามกรรมวิธี โดยนำกรรมวิธีที่ดีที่สุดของการทดลองย่อยที่ 1 มาดำเนินการทดลอง ในการทดลองย่อยที่ 2 คือ สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำกรรมวิธีที่ดีที่สุด ในการทดลองย่อยที่ 1 มาทำการทดลอง และบันทึกผลการทดลอง
4. นำยอดที่ได้มาชักนำให้เกิดราก ในอาหารตามกรรมวิธี โดยนำกรรมวิธีที่ดีที่สุดของการทดลองย่อยที่ 2 มาดำเนินการทดลอง ในการทดลองย่อยที่ 3 คือ สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดราก โดยนำกรรมวิธีที่ดีที่สุด ในการทดลองย่อยที่ 2 มาทำการทดลอง และบันทึกผลการทดลอง
5. จากนั้นนำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายลงในโรงเรือนอนุบาล โดยย้ายปลูกลงใน Peat mass ที่ผสม vermiculite อัตรา 3:1 ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เก็บรักษาภายในอุโมงค์หลังคาพลาสติกที่มีการควบคุมความชื้นเป็นเวลา 10 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 85 % อุณหภูมิกลางวัน 21 °C อุณหภูมิกลางคืน 19 °C รับแสง 16 ชั่วโมง แสงความเข้มข้น 3000 Lux

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2557 – กันยายน 2561

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่เหียะ) ต.หนองควาย อ.หางดง จ.เชียงใหม่

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้หวายสกุล *Dendrobium officinale* ที่เป็นต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งได้ดำเนินการในกล้วยไม้หวายสกุล *Dendrobium officinale* จำนวน 2 เบอร์ ได้แก่ กล้วยไม้ *Dendrobium officinale* no.1 ที่มีลักษณะลำต้นสีเขียว ใบเล็ก ลำต้นยาวเรียว ข้อยาว และ *Dendrobium officinale* no.2 ที่มีลักษณะลำต้นเล็กสีเขียว ใบเล็ก ลำต้นอ้วน ข้อสั้น ทั้งนี้ได้ดำเนินการใน *Dendrobium officinale* no.2 ก่อนเนื่องจากมีต้นที่พร้อมในการทดลองมากกว่าคือ

#### 8.1 *Dendrobium officinale* no.2

การทดลองย่อยที่ 1 คือ ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

การใช้ชิ้นส่วนของพืชคือ ส่วนของปลายยอดและข้อ ชักนำให้เกิดยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า พบว่า การใช้ส่วนของปลายยอด ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 7.1 ยอด และแตกต่างจากการใช้ส่วนของข้อคือ 3.44 ยอด ในด้านสูตรอาหารทั้ง 8 สูตรพบว่า อาหารสูตรที่ 5 ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 6.4 ยอดและมีความแตกต่างกับอาหารสูตรที่ 2, 3, 4, 1, 6, 8 และ 7 คือ 4.86, 4.32, 4.26,, 4.17, 3.44, 3 และ 2.97 ยอด ตามลำดับ ทั้งนี้ในแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกัน แต่ไม่มีความสัมพันธ์ในการใช้ชิ้นส่วนของพืชและสูตรอาหาร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนยอดที่เกิดใหม่ของ *Dendrobium officinale* no.2 ที่เกิดจากการใช้ส่วนของยอดและข้อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 8 สูตรเพื่อชักนำให้เกิดยอดเป็นเวลา 4 เดือน

สูตรอาหาร	ชิ้นส่วนพืช		เฉลี่ย(สูตรอาหาร) <sup>1/</sup>
	ปลายยอด	ข้อ	
สูตรที่ 1 ½ MS+BA 0.2 มก./ลิตร+NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%	5.22	3.12	4.17 bcd
สูตรที่ 2 ½ MS+BA 0.3 มก./ลิตร+NAA 0.3 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%	5.72	4.00	4.86 b
สูตรที่ 3 ½ MS+BA 0.4 มก./ลิตร+NAA 0.4 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%	4.98	3.66	4.32 bc
สูตรที่ 4 ½ MS+BA 0.5 มก./ลิตร+NAA 0.5 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กล้วยหอม 5%	5.20	3.32	4.26 bc
สูตรที่ 5 VW+น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร	7.10	5.72	6.41 a
สูตรที่ 6 VW+NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ลิตร	4.08	2.80	3.44 cd
สูตรที่ 7 VW+NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร	3.44	2.50	2.97 d
สูตรที่ 8 VW+NAA ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร	3.62	2.38	3.00 d
เฉลี่ย (ชิ้นส่วนพืช) <sup>1/</sup>	4.92 a	3.44 b	

C.V. = 23.17%

<sup>1/</sup> จำนวนยอดระหว่างค่าเฉลี่ยของสูตรอาหาร หรือระหว่างค่าเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืชที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

แม้ว่า การใช้ส่วนของปลายยอดสามารถชักนำให้เกิดยอดมากกว่าส่วนของข้ออย่างมีความแตกต่างนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 พบว่า ยอดที่เกิดขึ้น จากส่วนของข้อมีความสมบูรณ์และแข็งแรงมากกว่ายอดที่เกิดขึ้นจากส่วนของปลายยอด ดังนั้น จึงเลือกใช้ส่วนของยอดที่ได้จากการทดลองที่ใช้ส่วนของข้อ จากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 5 VW + น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร มาทำการทดลองต่อในการทดลองย่อยที่ 2

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

เมื่อนำส่วนของยอดมาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ตามกรรมวิธีเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือนพบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1 สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 14.78 ยอด และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4, 3 และ 2 คือ 13.51, 11.95 และ 11.39 ยอดตามลำดับ สำหรับความยาวยอดพบว่า

สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4 สามารถชักนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุดคือ 3.03 ซม. ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 3 คือ 2.07 ซม. แต่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1 และ 2 คือ 1.61 และ 1.31 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 จำนวนยอดที่เกิดใหม่และความยาวยอดของ *Dendrobium officinale* no.2 ที่เกิดจากการใช้ส่วนของยอดเพื่อชักนำให้เกิดยอดในการย้ายเลี้ยง (sub-culture) เป็นเวลา 5 เดือน

สูตรอาหาร	จำนวนยอด <sup>1/</sup>	ความยาวยอด <sup>1/</sup>
กรรมวิธีที่ 1 1/2MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%	14.79 a	1.61 b
กรรมวิธีที่ 2 1/2MS + BA 0.2มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%	11.39 a	1.31 b
กรรมวิธีที่ 3 VW + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%	11.95 a	2.07 ab
กรรมวิธีที่ 4 VW + น้ำมะพร้าว 15%+ Sugar 1% + กล้วยหอม 10% + ผงถ่าน 0.5 g/l	13.51 a	3.03 a
C.V. (%)	15.04	26.72

<sup>1/</sup> จำนวนยอดและความยาวยอดระหว่างค่าเฉลี่ยของสูตรอาหาร ที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยใช้ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

แม้ว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1 สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4, 3 และ 2 แต่พบว่าสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4 สามารถชักนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 3 แต่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ดังนั้น จึงเลือกใช้ส่วนของยอดที่ได้จากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4 มาทำการทดลองต่อในการทดลองย่อยที่ 3

การทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับชักนำรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร

เมื่อนำส่วนของยอดมาชักนำรากในอาหารสูตรต่างๆ ตามกรรมวิธี เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือนพบว่า สูตรอาหารทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างในด้านจำนวนราก และความยาวราก แต่มีความแตกต่างในด้านจำนวนหน่อและความสูงต้นคือ

จำนวนราก พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 6 ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร +Sugar 7.5% + Potato 5% + กล้วยหอม 10% pH 5.8 สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุดคือ 23.8 ราก และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4, 3, 1, 5 และ 2 คือ 23.5, 22.4, 21.8, 20.9 และ 20.7 รากตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ความยาวราก พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 3 MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8 สามารถชักนำให้มีความยาวรากมากที่สุดคือ 1.73 ซม. และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1, 2, 4, 5 และ 6 คือ 1.66, 1.63, 1.62 1.58 และ 1.26 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

จำนวนหน่อ พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 6 ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร +Sugar 7.5% + Potato 5% + กล้วยหอม 10% pH 5.8 สามารถชักนำให้เกิดหน่อมากที่สุดคือ 44.2 หน่อ และแตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 5, 3, 4, 1 และ 2 คือ 16.7, 15.4, 14.7, 11.5 และ 10.8 หน่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ความสูงต้น พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ MS + NAA 0.02 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8 สามารถชักนำให้มีความสูงต้นมากที่สุดคือ 1.89 ซม. ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 5, 3, 4 และ 1 แต่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 6 คือ 1.84, 1.83, 1.79, 1.7 และ 0.71 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนราก ความยาวราก จำนวนหน่อ และความสูงต้น ของ *Dendrobium officinale* no.2 ในอาหารสูตรสำหรับชักนำรากเป็นเวลา 5 เดือน

กรรมวิธี	จำนวนราก <sup>1/</sup>	ความยาวราก(ซม.) <sup>1/</sup>	จำนวนหน่อ <sup>1/</sup>	ความสูงต้น(ซม.) <sup>1/</sup>
----------	------------------------	-------------------------------	-------------------------	-------------------------------

กรรมวิธีที่ 1 MS + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	21.8	1.66	11.5 b	1.70 a
กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 0.02 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	20.7	1.64	10.8 b	1.89 a
กรรมวิธีที่ 3 MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	22.4	1.74	15.4 b	1.83 a
กรรมวิธีที่ 4 MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	23.5	1.63	14.7 b	1.77 a
กรรมวิธีที่ 5 MS + BAP 0.1 mg/l + IBA 0.2 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	20.9	1.59	16.7 b	1.84 a
กรรมวิธีที่ 6 ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 7.5% + Potato 5% + กลัวยหอม 10% pH 5.8	23.8	1.26	44.2 a	0.71 b
C.V.	29.52	21.02	48.29	22.06

<sup>1/</sup> จำนวนยอดและความยาวยอดระหว่างค่าเฉลี่ยของสูตรอาหาร ที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยใช้ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

จากผลการทดลองย่อยที่ต้องการชักนำให้เกิดราก พบว่า อาหารสูตรต่างๆ ตามกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างในการชักนำให้เกิดรากด้านจำนวนและความยาวราก และพบว่ากรรมวิธีที่ 6 ที่มีจำนวนรากและหน่อเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น แต่รากที่เกิดขึ้นมีขนาดสั้นที่สุดและมีความสูงต้นน้อยที่สุด แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 พบว่า มีรากที่แข็งแรง มีความสูงต้นมากที่สุด

## 8.2 *Dendrobium officinale* no.1

การทดลองย่อยที่ 1 คือ ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

เดิมวางแผนเปรียบเทียบการใช้ชิ้นส่วนของพืชคือ ส่วนของปลายยอดและข้อ ชักนำให้เกิดยอด แต่จากการทดลองใน *D. officinale* no.2 พบว่า การใช้ส่วนของข้อ สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มีความสมบูรณ์และแข็งแรงมากกว่า ดังนั้นในการทดลองย่อยที่ 1 จึงศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดโดยใช้ส่วนของข้อ คือ เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารทั้ง 8 กรรมวิธี (สูตร) เป็นเวลา 5 เดือน พบว่า สูตรอาหารสูตรที่ 5 ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 2.94 ยอด และไม่มีมีความแตกต่างกับอาหารสูตรที่ 7, 8, 2, 6, 1, 4 และ 3 คือ 2.9, 2.19, 2.01, 1.94, 1.85, 1.67 และ 1.45 ยอด ตามลำดับ สำหรับความยาวยอดพบว่า อาหารสูตรที่ 2 ชักนำให้เกิดยอดยาวมากที่สุดคือ 1.4 ซม. ซึ่งไม่แตกต่างกับอาหารสูตรที่ 1, 4, 3, 5, 8, 6 และ 7 คือ 1.39, 1.38, 1.27, 1.24, 1.09, 1.05 และ 0.98 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 จำนวนยอดและความยาวยอดที่เกิดใหม่ของ *Dendrobium officinale* no.1 ที่เกิดจากการใช้ส่วนของยอดเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 8 สูตรเพื่อชักนำให้เกิดยอดเป็นเวลา 4 เดือน

สูตรอาหาร	จำนวนยอด <sup>1/</sup>	ความยาวยอด <sup>1/</sup>
สูตรที่ 1 ½ MS+BA 0.2 มก./ลิตร+NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กลัวยหอม 5%	1.67	1.39
สูตรที่ 2 ½ MS+BA 0.3 มก./ลิตร+NAA 0.3 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กลัวยหอม 5%	1.94	1.4
สูตรที่ 3 ½ MS+BA 0.4 มก./ลิตร+NAA 0.4 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กลัวยหอม 5%	1.45	1.27
สูตรที่ 4 ½ MS+BA 0.5 มก./ลิตร+NAA 0.5 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กลัวยหอม 5%	1.62	1.38
สูตรที่ 5 VW+น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร	2.94	1.24
สูตรที่ 6 VW+NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ลิตร	1.85	1.05
สูตรที่ 7 VW+NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร	2.19	0.98
สูตรที่ 8 VW+NAA ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร	2.01	1.09
C.V.	26.43	16.15

<sup>1/</sup> จำนวนยอดระหว่างค่าเฉลี่ยของสูตรอาหาร หรือระหว่างค่าเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืชที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดลอง เลือกใช้ส่วนของยอด ที่ได้จากการทดลองในสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 5 มาทำการทดลองต่อในการทดลองย่อยที่ 2



การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

เมื่อนำส่วนของยอดมาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ตามกรรมวิธีเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือนพบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1 สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 14.7 ยอด และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4, 3 และ 2 คือ 14.41, 13.94 และ 9.54 ยอดตามลำดับ สำหรับความยอดพบว่าสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 3 สามารถชักนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุดคือ 1.91 ซม. ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 2, 1 และ 4 คือ 1.63, 1.51 และ 1.37 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 จำนวนยอดที่เกิดใหม่และความยาวยอดของ *Dendrobium officinale* no.1 ที่เกิดจากการใช้ส่วนของยอดเพื่อชักนำให้เกิดยอดในการย้ายเลี้ยง (sub-culture) เป็นเวลา 5 เดือน

สูตรอาหาร	จำนวนยอด <sup>1/</sup>	ความยาวยอด <sup>1/</sup>
กรรมวิธีที่ 1 1/2MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%	14.70	1.51
กรรมวิธีที่ 2 1/2MS + BA 0.2มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%	9.54	1.63
กรรมวิธีที่ 3 VW + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%	13.94	1.91
กรรมวิธีที่ 4 VW + น้ำมะพร้าว 15%+ Sugar 1% + กล้วยหอม 10% + ผงถ่าน 0.5 g/l	14.41	1.37
C.V.	41.92	26.77

<sup>1/</sup> จำนวนยอดและความยาวยอดระหว่างค่าเฉลี่ยของสูตรอาหาร ที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยใช้ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

แม้ว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1 สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4, 3 และ 2 แต่พบว่าสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4 สามารถชักนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีอื่นๆ ดังนั้น จึงเลือกใช้ส่วนของยอดที่ได้จากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4 มาทำการทดลองต่อในการทดลองย่อยที่ 3

การทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับชักนำรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรร

เมื่อนำส่วนของยอดมาชักนำรากในอาหารสูตรต่างๆ ตามกรรมวิธี เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือนพบว่า สูตรอาหารทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างในด้านจำนวนราก ความยาวราก จำนวนหน่อและความสูงต้นคือ

จำนวนราก พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4 สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุดคือ 8.6 ราก และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 3, 5, 2 และ 6 คือ 7.76, 7.76, 7.72, 7.48 และ 7.16 รากตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ความยาวราก พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 4 สามารถชักนำให้มีความยาวรากมากที่สุดคือ 4.64 ซม. และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1, 5, 3, 6 และ 2 คือ 4.62, 4.11, 3.49, 2.99 และ 2.24 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

จำนวนหน่อ พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 6 สามารถชักนำให้เกิดหน่อมากที่สุดคือ 6.09 หน่อ และไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1, 2, 5, 3 และ 4 คือ 5.76, 5.67, 5.29, 5.08 และ 4.47 หน่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ความสูงต้น พบว่า สูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 1 สามารถชักนำให้มีความสูงต้นมากที่สุดคือ 3.72 ซม. ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอาหารตามกรรมวิธีที่ 2, 5, 4, 3 และ 6 คือ 3.4, 3.22, 3.06, 2.82 และ 2.48 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

จากผลการทดลองย่อยที่ต้องการชักนำให้เกิดราก พบว่า อาหารสูตรต่างๆ ตามกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างในการชักนำให้เกิดรากด้านจำนวนและความยาวราก และพบว่ากรรมวิธีที่ 6 ที่มีจำนวนรากและหน่อเพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีอื่น แต่รากที่เกิดขึ้นมีขนาดสั้นที่สุดและมีความสูงต้นน้อยที่สุด แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 พบว่า มีรากที่แข็งแรง มีความสูงต้นมากที่สุด

**ตารางที่ 6** จำนวนราก ความยาวราก จำนวนหน่อ และความสูงต้น ของ *Dendrobium officinale* no.1 ในอาหารสูตรสำหรับชักนำรากเป็นเวลา 5 เดือน

กรรมวิธี	จำนวนราก <sup>1/</sup>	ความยาวราก(ซม.) <sup>1/</sup>	จำนวนหน่อ <sup>1/</sup>	ความสูงต้น(ซม.) <sup>1/</sup>
กรรมวิธีที่ 1 MS + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	7.72	4.62	5.76	3.72
กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 0.02 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	7.48	2.24	5.67	3.4
กรรมวิธีที่ 3 MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	7.76	3.49	5.08	2.82
กรรมวิธีที่ 4 MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	8.60	4.64	4.47	3.06
กรรมวิธีที่ 5 MS + BAP 0.1 mg/l + IBA 0.2 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8	7.76	4.11	5.29	3.22
กรรมวิธีที่ 6 ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร +Sugar 7.5% + Potato 5% + กลัวยหอม 10% pH 5.8	7.16	2.99	6.09	2.48
C.V.	23.06	33.08	17.05	25.19

<sup>1/</sup> จำนวนยอดระหว่างค่าเฉลี่ยของสูตรอาหาร หรือระหว่างค่าเฉลี่ยของชิ้นส่วนพืชที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดลองที่ 1 พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำยอดใน *D. officinale* no.1 และ no.2 คือ สูตรอาหาร VW+น้ำมะพร้าว 15% ซึ่งแตกต่างกับ Yunnan Rural Science and Technology Service Center (2012) คือ ½ MS + BA 0.2-0.5 มก./ลิตร + NAA 0.2-0.5 มก./ลิตร +Sugar 2% + Potato 5% + กลัวยหอม 5% pH 5.8 สำหรับผลการทดลองที่ 2 พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับย้ายเลี้ยงใน *D. officinale* no.1 และ no.2 คือ 1/2MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2% + Potato 5% + กลัวยหอม 5% ซึ่งสอดคล้องกับ Yunnan Rural Science and Technology Service Center (2012) และ ผลการทดลองที่ 3 พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำรากใน *D. officinale* no.1 คือ สูตรอาหาร MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8 ซึ่งแตกต่างกับ Yunnan Rural Science and Technology Service Center (2012) และใน *D. officinale* no.2 คือ สูตรอาหาร ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร +Sugar 7.5% + Potato 5% + กลัวยหอม 10% pH 5.8 ซึ่งสอดคล้องกับ Yunnan Rural Science and Technology Service Center (2012)

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นกลัวยไม้หวายสกุล *Dendrobium officinale* จำนวน 2 เบอร์ ที่เป็นต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ

9.1 กลัวยไม้ *Dendrobium officinale* no.1 ที่มีลักษณะลำต้นสีเขียว ใบเล็ก ลำต้นยาวเรียว ช้อยาว พบว่า

9.1.1 การใช้ส่วนของช่อ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ทั้ง 8 สูตร โดยสูตรอาหาร VW+น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร มีแนวโน้มทำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 2.94 ยอด และสูตรอาหาร ½ MS+BA 0.3 มก./ลิตร+NAA 0.3 มก./ลิตร+Sugar 2%+Potato 5%+กลัวยหอม 5% มีแนวโน้มทำให้เกิดยอดยาวมากที่สุดคือ 1.4 ซม.

9.1.2 เมื่อนำส่วนของยอดมาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณได้ทั้ง 4 สูตร โดยสูตรอาหาร 1/2MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% มีแนวโน้มชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 14.7 ยอด และสูตรอาหาร VW + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% มีแนวโน้มชักนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุดคือ 1.91 ซม.

9.1.3 เมื่อนำมาชักนำรากในสูตรอาหาร 6 สูตรพบว่า สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทั้ง 6 สูตร โดยสูตรอาหาร MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8 มีแนวโน้มชักนำให้เกิดรากและมีความยาวมากที่สุดคือ 8.6 ราก และ 4.64 ซม. ตามลำดับ

9.2 กล้วยไม้ *Dendrobium officinale* no.2 ที่มีลักษณะลำต้นเล็กสีเขียว ใบเล็ก ลำต้นป้อม ข้อสั้น

9.2.1 การใช้ชิ้นส่วนของพืชคือ ส่วนของปลายยอดและข้อ ชักนำให้เกิดยอด พบว่า การใช้ส่วนของปลายยอด ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 7.1 ยอด และแตกต่างจากการใช้ส่วนของข้อคือ 3.44 ยอด ในด้านสูตรอาหารทั้ง 8 สูตรพบว่า มีความแตกต่างกัน โดยสูตรอาหาร VW+น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 6.4 ยอด

9.2.1 เมื่อนำส่วนของยอดมาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) พบว่า สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ทั้ง 4 สูตร โดยสูตรอาหาร 1/2MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร+Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% มีแนวโน้มชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคือ 14.79 ยอด แต่มีความแตกต่างกันของสูตรอาหารในการให้เกิดความยาวยอด โดยสูตรอาหาร VW + น้ำมะพร้าว 15%+ Sugar 1% + กล้วยหอม 10% + ผงถ่าน 0.5 g/l ชักนำให้ยอดมีความยาวมากที่สุดคือ 3.03 ซม.

9.2.3 เมื่อนำมาชักนำรากในสูตรอาหาร 6 สูตร พบว่า สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทั้ง 6 สูตร โดยสูตรอาหาร ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร +Sugar 7.5% + Potato 5% + กล้วยหอม 10% pH 5.8 มีแนวโน้มชักนำให้เกิดรากมากที่สุดคือ 23.8 ราก ด้านความยาวราก พบว่า สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทั้ง 6 สูตร โดยสูตรอาหาร MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8 มีแนวโน้มชักนำให้มีความยาวรากมากที่สุดคือ 1.74 ซม.

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

ได้ต้นพันธุ์กล้วยไม้สมุนไพรร่วมเพื่อดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมต่อไป

## 11. คำขอขอบคุณ (ถ้ามี) :

ข้าราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานราชการของศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

## 12. เอกสารอ้างอิง :

ศิริวรรณ บุรีคำ. 2553. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญของกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อผลิตต้นพันธุ์กล้วยไม้ปลอดโรคไวรัส.

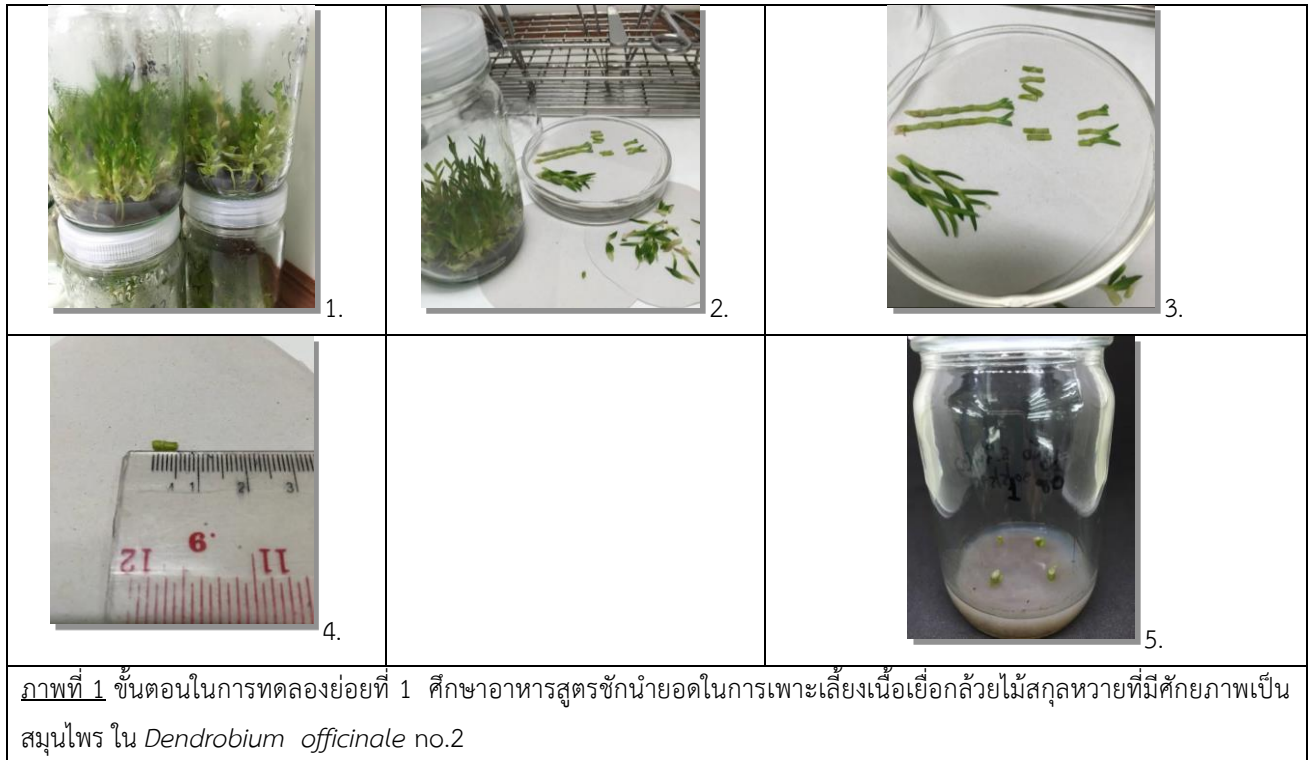
ในผลงานภาคโปสเตอร์ ประจำปี พ.ศ. 2553 สาขา ไม้ดอกไม้ประดับเนื่องในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. แหล่งสืบค้น :

[http://rdi.ku.ac.th/kasetresearch54/GroupAward/11-Siriwan\\_Buri/template.html](http://rdi.ku.ac.th/kasetresearch54/GroupAward/11-Siriwan_Buri/template.html)

Yunnan Rural Science and Technology Service Center. 2012. International training workshop on Dendrobium Cultivation Techniques on August 1-20, 2012, Kunming, China. 154 p.



## 13. ภาคผนวก :

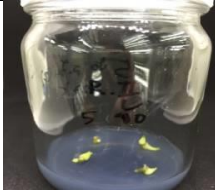
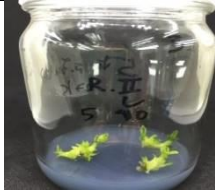

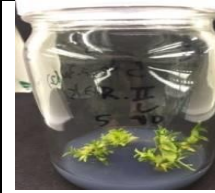
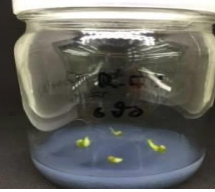


















กรรมวิธี	อายุ 1 เดือน	อายุ 2 เดือน	อายุ 3 เดือน	อายุ 4 เดือน
กรรมวิธีที่ 1 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 2 ½ MS + BA 0.3 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 3 ½ MS + BA 0.4 มก./ลิตร + NAA 0.4 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 4 ½ MS + BA 0.5 มก./ลิตร + NAA 0.5 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 5 VW + น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร				



กรรมวิธีที่ 6 VW + NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 7 VW + NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 8 VW + NAA ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร				
ภาพที่ 2 พัฒนาการของยอดในการทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรใน <i>Dendrobium officinale</i> no.2 โดยใช้ส่วนยอด				

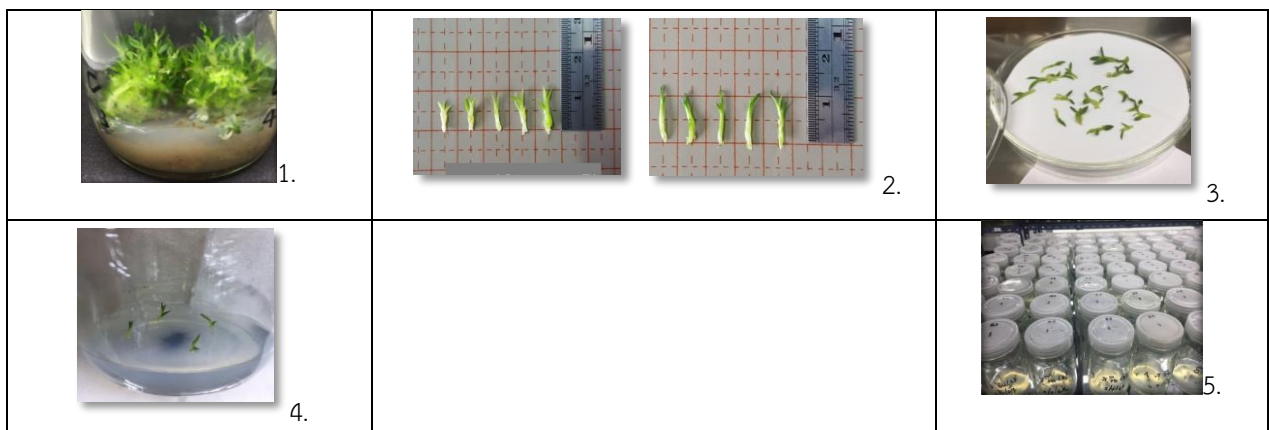
กรรมวิธี	อายุ 1 เดือน	อายุ 2 เดือน	อายุ 3 เดือน	อายุ 4 เดือน
กรรมวิธีที่ 1 $\frac{1}{2}$ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 2 $\frac{1}{2}$ MS + BA 0.3 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 3 $\frac{1}{2}$ MS + BA 0.4 มก./ลิตร + NAA 0.4 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 4 $\frac{1}{2}$ MS + BA 0.5 มก./ลิตร + NAA				

0.5 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 5 VW + น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร				
กรรมวิธีที่ 6 VW + NAA ความ เข้มข้น 0.1 มก./ ลิตร				
กรรมวิธีที่ 7 VW + NAA ความ เข้มข้น 0.5 มก./ ลิตร				
กรรมวิธีที่ 8 VW + NAA ความ เข้มข้น 1 มก./ลิตร				
ภาพที่ 3 พัฒนาการของยอดในการทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรมะใน <i>Dendrobium officinale</i> no.2 โดยใช้ส่วนข้อ				

		
		
ภาพที่ 4 ขั้นตอนในการทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรมะใน <i>Dendrobium officinale</i> no.2		



อายุ 1 เดือน	อายุ 2 เดือน	อายุ 3 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน
กรรมวิธีที่ 1 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8				
กรรมวิธีที่ 2 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5% pH 5.8				
กรรมวิธีที่ 3 VW + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%				
กรรมวิธีที่ 4 VW + น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร + Sugar 2% + กล้วยหอม 10% + pH 5.2 + ผงถ่าน 0.5 ก./ลิตร				
ภาพที่ 5 พัฒนาการของยอดในการทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับย้ายเลี้ยง (sub-culture) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กล้วยไม้ สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร ใน <i>Dendrobium officinale</i> no.2				

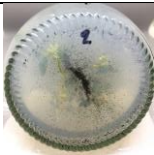




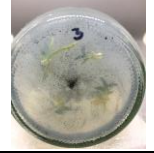


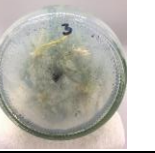

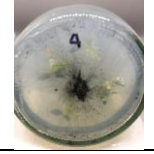
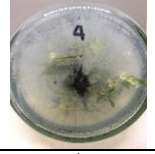

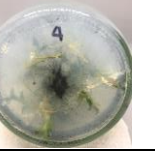

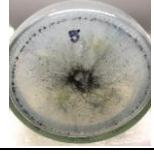

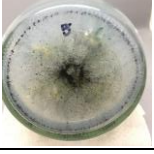
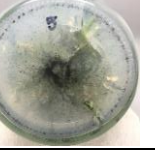











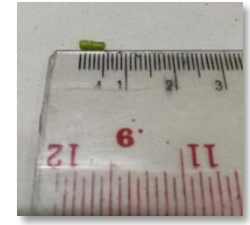



ภาพที่ 6 ขั้นตอนในการทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับชักนำรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรมะใน *Dendrobium officinale* no.2

อายุ 1 เดือน	อายุ 2 เดือน	อายุ 3 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน	อายุ 6 เดือน
กรรมวิธีที่ 1 MS + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8					
กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 0.02 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8					
กรรมวิธีที่ 3 MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8					
กรรมวิธีที่ 4 MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8					
กรรมวิธีที่ 5 MS + BAP 0.1 mg/l + IBA 0.2 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8					
กรรมวิธีที่ 6 ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 7.5% + Potato 5% + กล้วยหอม 10% pH 5.8					
ภาพที่ 7 พัฒนาของต้นในการทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับชักนำรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรมะ หลังย้ายเลี้ยง 6 เดือนใน <i>Dendrobium officinale</i> no.2					

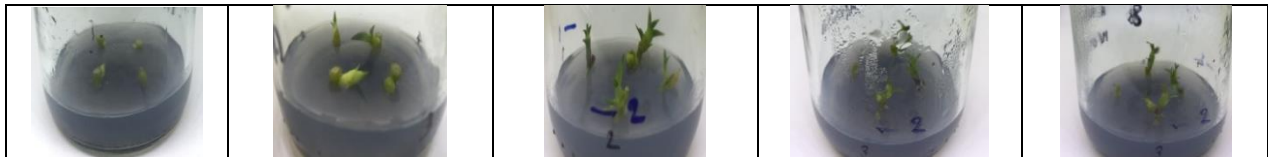
อายุ 2 เดือน	อายุ 3 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน	อายุ 6 เดือน

กรรมวิธีที่ 1 MS + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8				
				
กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 0.02 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8				
				
กรรมวิธีที่ 3 MS + IBA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8				
				
กรรมวิธีที่ 4 MS + IAA 1 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8				
				
กรรมวิธีที่ 5 MS + BAP 0.1 mg/l + IBA 0.2 mg/l + ผงถ่าน 0.1 g/l pH 5.8				
				
กรรมวิธีที่ 6 ½ MS + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 7.5% + Potato 5% + กลี๋ยหอม 10% pH 5.8				
ภาพที่ 8 พัฒนาการของรากในการทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาอาหารสูตรสำหรับชักนำรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรรองหลังย้ายเลี้ยง 6 เดือน ใน <i>Dendrobium officinale</i> no.2				

		
1.	2.	3.
		
4.		5.
ภาพที่ 9 ขั้นตอนในการทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรรอง ใน <i>Dendrobium officinale</i> no.1		

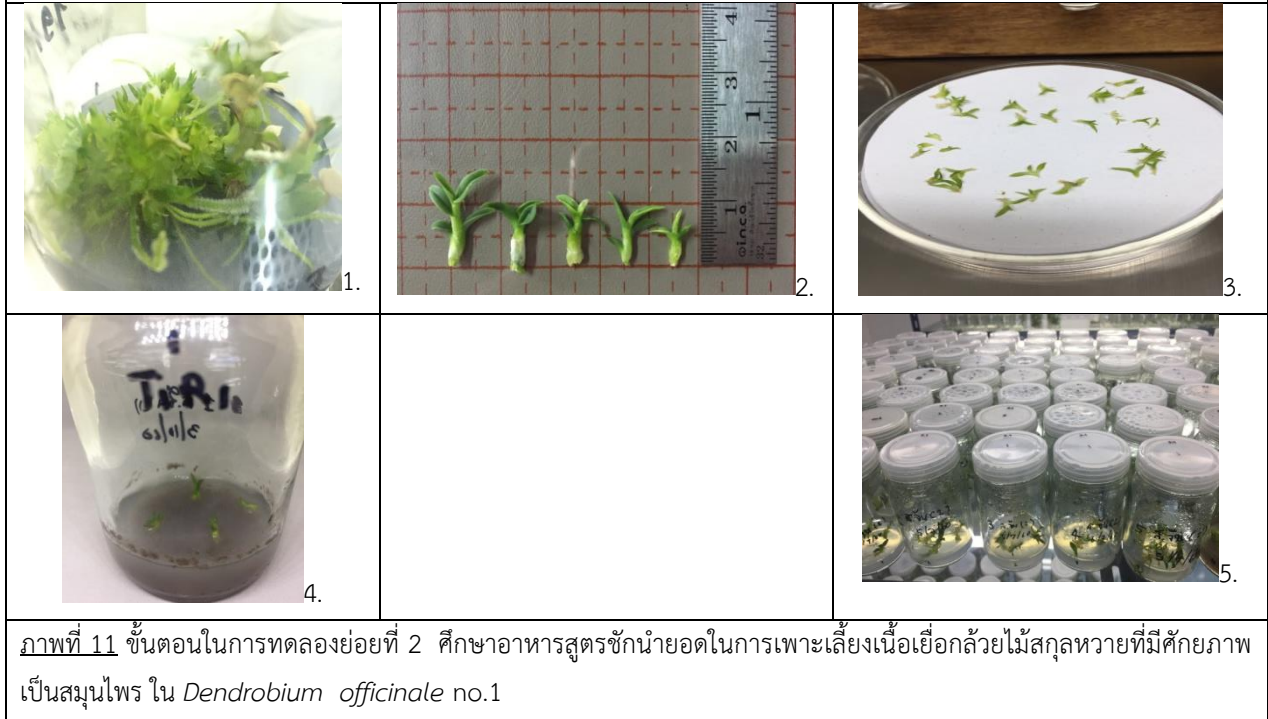
อายุ 1 เดือน	อายุ 2 เดือน	อายุ 3 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน
กรรมวิธีที่ 1 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 2 ½ MS + BA 0.3 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 3 ½ MS + BA 0.4 มก./ลิตร + NAA 0.4 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 4 ½ MS + BA 0.5 มก./ลิตร + NAA 0.5 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 5 VW + น้ำมะพร้าว 15% โดยปริมาตร				
กรรมวิธีที่ 6 VW + NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ลิตร				
กรรมวิธีที่ 7 VW + NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร				





กรรมวิธีที่ 8 VW + NAA ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร

ภาพที่ 10 พัฒนาการของยอดในการทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรมะพร้าว ใน *Dendrobium officinale* no.1 โดยใช้ส่วนข้อ



ภาพที่ 11 ขั้นตอนในการทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรมะพร้าว ใน *Dendrobium officinale* no.1

อายุ 1 วัน	อายุ 1 เดือน	อายุ 2 เดือน	อายุ 3 เดือน	อายุ 4 เดือน	อายุ 5 เดือน
กรรมวิธีที่ 1 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + NAA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%					
กรรมวิธีที่ 2 ½ MS + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%					
กรรมวิธีที่ 3 VW + BA 0.2 มก./ลิตร + Sugar 2% + Potato 5% + กล้วยหอม 5%					
กรรมวิธีที่ 4 VW + น้ำมะพร้าว 15% + Sugar 1% + กล้วยหอม 10% + ผงถ่าน 0.5 g/l					

ภาพที่ 12 ขั้นตอนในการทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาอาหารสูตรชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร ใน *Dendrobium officinale* no.1

