



## 2. ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมสกุลว่านอิงโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้หมูกิ่ง (*Eulophia andamanensis*) ว่านหัวครุ (*Eulophia spectabilis*) และลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามชนิดของว่านหัวครุและหมูกิ่ง (interspecific hybridization between *Eulophia andamanensis* and *Eulophia spectabilis*) หลังจากเพาะเมล็ดบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินทั้ง 3 ชนิด คืออาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลงร่วมกับน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร โดยนำไปเลี้ยงในสภาพได้รับแสงตลอดและเก็บในที่มืด สามารถกระตุ้นให้เมล็ดงอกและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ เมื่อนำโปรโตคอร์มไปเลี้ยงในอาหารที่มีการชักนำให้โปรโตคอร์มเจริญเป็นต้นอ่อนเป็นระยะเวลา 4 เดือน สำหรับกล้วยไม้หมูกิ่ง พบว่า สูตรอาหาร VW (1949) ดัดแปลง ที่มีการเติมน้ำมะพร้าว กล้วยหอม และผงถ่าน ทำให้มีการพัฒนาของโปรโตคอร์มไปเป็นต้นอ่อนดีที่สุด ส่วนกล้วยไม้วานหัวครุพบว่า สูตรอาหาร VW (1949) ดัดแปลง ที่มีการเติมน้ำมะพร้าว กล้วยหอม และผงถ่าน ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 9.74 ยอด และสูตรอาหารที่มีการเติมกล้วยหอมอย่างเดียว ให้จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 46.56 ราก และกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครุผสมหมูกิ่ง พบว่า สูตรอาหาร VW (1949) ดัดแปลง ที่มีการเติมน้ำมะพร้าว กล้วยหอม และ ผงถ่าน ให้จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 3.5 ยอด และ 23 ยอด ตามลำดับ นั่นคือสูตรอาหารที่มีการเติมสารประกอบอินทรีย์ คือน้ำมะพร้าว กล้วยหอม และผงถ่าน กระตุ้นให้มีการเจริญของโปรโตคอร์มซึ่งมีการพัฒนาเกิดเป็นยอดและรากได้ดีกว่าสูตรอาหารที่ไม่ได้เติมสารประกอบอินทรีย์ และสามารถเลี้ยงต้นอ่อนให้เป็นต้นที่สมบูรณ์พร้อมออกปลูกได้ภายในเวลา 4 เดือน

### Abstract

A study of suitable medium for seed germination and seedling development of Terrestrial Orchids *Habenaria* sp. and *Eulophia* sp. culture in vitro. The study divided into two parts

Part 1 To study the hybrid orchid propagation of *Habenaria rhodocheila* Hance. with in vitro seed germination for four month. It was found that the solid vw (1949) modified with 50 – 150 ml/l young coconut water with the addition of 1 g/l peptone was highest seed germination to protocorms and development to seedling. After four months culture, the seeds were germinated the *H. rhodocheila* protocorms were transferred on seedling medium. The results showed that the modified solid vw (1949) medium with 20 g/l sugar, 150 ml/l young coconut

water, 100 g/l potato extract, 20 g/l banana, 2 g/l activated charcoal and 6 g/l agar was highest average number of tubers and leaves was 11 and 12 respectively

Part 2 To study the orchid propagation of *Eulophia andamanensis*, *Eulophia spectabilis* and interspecific hybridization between *Eulophia andamanensis* and *Eulophia spectabilis* with in vitro seed germination for eight weeks. It was found that the solid vw (1949) modified with 20 g/l sugar incubated in light and without light condition stimulated seed germination and development to protocorm for terrestrial orchids three species. After the seeds were germinated, all protocorms were transferred on seedling medium for four months. The results showed that the modified solid vw (1949) medium with young coconut water, banana and activated charcoal suitable for *E. andamanensis*. While the modified solid vw (1949) medium with young coconut water, banana and activated charcoal was highest average of shoot was 9.74 ; only with banana was highest average number of root was 46.56 suitable for *E. spectabilis* and the modified solid vw (1949) medium with young coconut water, banana and activated charcoal was highest average number of shoot and root was 3.5 and 23 respectively suitable for interspecific hybridization between *E. andamanensis* and *E. spectabilis*. Therefore the medium with the addition of organic compound was young coconut water, banana and activated charcoal stimulated those protocorms were developed as shoot and root better than no organic compound. The growth of seedling become to the plantlets and grown in nursery within 4 months.

## 6. คำนำ

ปี 2549-2551 สถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์วิจัยเครือข่ายได้ทำการประเมินศักยภาพเบื้องต้นของกล้วยไม้ที่จะนำมาต่อยอดงานวิจัยในเชิงลึกเพื่อสนับสนุน ส่งเสริมให้มีการผลิตและการใช้ประโยชน์ให้กว้างขวางขึ้น ซึ่งสินค้ากล้วยไม้ชนิดใหม่ๆพร้อมการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมจะเป็นส่วนหนึ่งที่ช่วยผลักดันให้การส่งออกกล้วยไม้ของไทยบรรลุเป้าหมาย 10,000 ล้าน ตามยุทธศาสตร์กล้วยไม้แห่งชาติ 2551 จากรายงานการส่งออกต้นกล้วยไม้ของด่านกักกันพืช กรมวิชาการเกษตรพบว่ามี การส่งออกต้นกล้วยไม้ดินจำนวนมาก สกุลที่ส่งออกมากที่สุดคือ Habenaria (เช่น ลิ่นมังกร) ส่งออกในปี พ.ศ.2533 จำนวน 64,625 หัว ปี 2534 รวม 134,400 หัว และอีก 66,604 หัวในปี 2535 รองลงมาคือสกุลคาตันเท (Catanthe) ส่งออกในปี 2533-35 จำนวน 38,992 หัว, 30,366 หัว และ 17,255 หัว ตามลำดับ สกุลอื่นๆ นอกจากนี้เช่นเอื้องดินใบหมาก (Spathoglottis) ว่านอึ้ง (Eulophia) เอื้องพร้าว (Phaius) รวมแล้วปีละหลายพันหัว กล้วยไม้เหล่านี้เกือบทั้งหมดเก็บจากป่า (จิตรพรพรรณ,2558) กล้วยไม้ดินเป็นกล้วยไม้ป่าประเภทหนึ่งที่พบขึ้นบริเวณพื้นดิน บางชนิดพบขึ้นอยู่ใต้ร่มไม้ บางชนิดพบในทุ่งหญ้า ดอกมีหลายสี เช่น ขาว เหลือง เขียว ม่วง ม่วงแดง บางชนิดมีสีน้ำตาล ในฤดู

แล้งจะทิ้งใบเหลืองหว่างอยู่ใต้ดิน เมื่อได้รับความชุ่มชื้น มีฝนตกลงมาจะผลิดอกหรือช่อดอกพร้อมใบ ปลุกเลี้ยงง่าย ต้นมีลักษณะที่จะใช้เป็นไม้กระถาง

กล้วยไม้ดินลั่นมังกกร (*Habenaria rhodocheila* Hance) เป็นกล้วยไม้ที่มีความสวยงามมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากต้นเล็ก กะทัดรัด มีดอกสวยงามแปลกตา จึงมีผู้นิยมนำกล้วยไม้ดินชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ในการทำเป็นไม้กระถาง กล้วยไม้ดินสกุลว่านอิ่ง (*Eulophia* sp.) เป็นพืชในในตระกูล Orchidaceae พบว่าพืชสกุลนี้มีมากกว่า 300 ชนิด จัดเป็นกลุ่มกล้วยไม้ดิน (Terrestrial orchid) กระจายอยู่ทั่วไปในเขตร้อนของโลก พบขึ้นอยู่ตามพื้นดินที่ปกคลุมด้วยอินทรีย์วัตถุ ส่วนมากเป็นพวกที่มีหัวอยู่ใต้ดินและมีการพักตัวตลอดฤดูแล้งโดยเหลือเพียงหัวฝังอยู่ใต้ดิน เมื่อเริ่มเข้าสู่ฤดูฝนจะผลิใบ ช่อดอกและสร้างหัวใหม่ขึ้นมาพร้อมๆกัน เมื่อดอกโรยใบจะเหี่ยวแห้ง คงเหลือหัวฝังอยู่ในดินตลอดฤดูแล้ง (ครรรชิต, 2541) กล้วยไม้ที่จัดอยู่ในสกุลว่านอิ่ง ได้แก่ กล้วยไม้ว่านอิ่ง (*Eulophia macrobulbon*) ว่านหัวครุ (*Eulophia spectabilis*) ช้างผสมโคลง (*Eulophia graminea*) หมูกิ่ง (*Eulophia andamanensis*) และอิ่งนวล (*Eulophia herbacea*) ซึ่งเป็นพวกที่เจริญเติบโตบนดิน อาจมีหัวอยู่ใต้ดินหรือมีลำลูกกล้วยอยู่เหนือดิน และอาจมีใบหรือไม่มีใบในช่วงออกดอก ใบมีลักษณะบางและเหนียว ช่อดอกตั้งตรง ดอกมีขนาดปานกลางจนถึงใหญ่ มีการเจริญเติบโตเป็นวงจร และใน 1 วงจรการเจริญเติบโตครบคลุมเวลา 1 ปี โดยมีการเจริญเติบโตสลับกับการพักตัว จารุภทร (2549) รายงานว่า กล้วยไม้ช้างผสมโคลง (*Eulophia graminea* Lindl.) เริ่มวงจรในเดือนมกราคม โดยมีการเจริญของช่อดอก และดอกทยอยบานจากโคนไปถึงปลายช่อจนบานหมดในเดือนมีนาคม ดอกติดฝักในสภาพธรรมชาติ ช่วงเดือนพฤษภาคมมีการเจริญของใบ ใบเริ่มเหี่ยวแห้งในเดือนตุลาคม และเข้าสู่ระยะพักตัวในเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม จากลักษณะของดอกที่สวยงามของดอกกล้วยไม้ดินจึงเป็นที่นิยมใช้ปลูกเป็นไม้กระถาง เพื่อประดับในอาคารและภายนอกอาคารอย่างแพร่หลาย ซึ่งเหมาะสำหรับการพัฒนาไปเป็นไม้กระถางเพื่อจำหน่ายต่อไปได้ ซึ่งทั้งหมดเป็นการเก็บหัวจากป่าทำให้ปริมาณกล้วยไม้ดินในสภาพธรรมชาติ ลดลงอย่างรวดเร็ว เดิมการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินในสภาพธรรมชาติทำได้โดยใช้เมล็ดและการใช้หัว แต่การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพธรรมชาติทำได้ยาก เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากคล้ายแป้งฝุ่น ภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสมช่วยในการงอก จำเป็นต้องพึ่งพาอาศัยเชื้อราพวก mycorrhiza ให้น้ำตาลและสารอินทรีย์ที่เป็นอาหารของเมล็ดกล้วยไม้ (ฉันทนา และคณะ, 2548) จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1946 Knudson ศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุต่างๆ น้ำตาล และวุ้น โดยไม่ต้องอาศัยเชื้อรา วิธีการนี้ทำให้เมล็ดงอกได้สูงขึ้น แต่การงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้บนอาหารสังเคราะห์นั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการงอกและการเจริญพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ เช่น แสง แหล่งของไนโตรเจนและคาร์โบไฮเดรตจากพืชและผลไม้บางชนิด เช่น น้ำมะพร้าว มันฝรั่ง กล้วยหอม เห็ดหูหนู และมะเขือเทศ (ครรรชิต, 2541) ซึ่งปริมาณและชนิดของสารที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยงและจุดประสงค์ของการเลี้ยง จึงมีนักวิทยาศาสตร์คิดสูตรอาหารต่างๆ ให้เหมาะสมกับพืชที่ทดลอง อาหารที่ใช้เพาะเมล็ดแบ่งออกเป็น 2 สูตร คือสูตรอาหารสำหรับเพาะฝักอ่อนซึ่งไม่จำเป็นต้องให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากนัก และสูตรสำหรับย้ายต้นกล้าซึ่งจะเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรตสำหรับเร่งการเจริญเติบโต และใส่ผงถ่านเพื่อดูดสารที่รากต้นกล้าปล่อยออกมา

## 7. วิธีดำเนินการ

### 7.1 ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลลั่นมังกกรโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

## อุปกรณ์

1. ฝักลูกผสมกล้วยไม้ลินม้งกรสีชมพู (*Habenaria rhodocheila* Hance. )
2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
3. ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยเคมีชนิดละลายช้าสูตร 14-14-14
4. สารป้องกันกำจัดโรคพืชและแมลง
5. วัสดุปลูก ได้แก่ โฟม พีทมอส หินกรวดเล็กๆ
6. ตะกร้าพลาสติก และกระถางพลาสติก



ภาพที่ 1 ดอกกล้วยไม้ดินสกุลลินม้งกร



ภาพที่ 2 ฝักกล้วยไม้ดินสกุลลินม้งกร

## วิธีการ

1. นำฝักกล้วยไม้ลูกผสมสกุลลิ้นมังกรพันธุ์สีชมพูอายุ 6 สัปดาห์หลังการผสม มาเพาะเมล็ดในอาหารสูตร VWดัดแปลง โดยมีปัจจัยร่วม 2 ชนิด คือ ปัจจัยที่ 1 การใส่ peptone 2 ระดับคือ 0 และ 1 มิลลิกรัม/ลิตร ปัจจัยที่ 2 การใส่น้ำมะพร้าว 3 ระดับ คือ 50 100 และ 150 มิลลิลิตร/ลิตร ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตร VW เติม peptone 0 กรัม/ลิตร และน้ำมะพร้าว 50 มิลลิลิตร/ลิตร  
กรรมวิธีที่ 2 สูตร VW เติม peptone 0 กรัม/ลิตร และน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร/ลิตร  
กรรมวิธีที่ 3 สูตร VW เติม peptone 0 กรัม/ลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร  
กรรมวิธีที่ 4 สูตร VW เติม peptone 1 กรัม/ลิตร และน้ำมะพร้าว 50 มิลลิลิตร/ลิตร  
กรรมวิธีที่ 5 สูตร VW เติม peptone 1 กรัม/ลิตร และน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร/ลิตร  
กรรมวิธีที่ 6 สูตร VW เติม peptone 1 กรัม/ลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (factorial in CRD) จำนวน 6 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด ทำการเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์จนเมล็ดมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม

**การบันทึกข้อมูล** โดยให้คะแนนเป็นระดับการพัฒนาของเมล็ด ดังนี้

ระดับที่ 1 เมล็ดไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ระดับที่ 2 เอ็มบริโอมีการบวม

ระดับที่ 3 เอ็มบริโอมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม

ระดับที่ 4 มีใบ 2 ใบเจริญทางด้านบนของโปรโตคอร์ม

2. นำโปรโตคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ดที่มีการขยายขนาดกลายเป็นต้นอ่อนที่เริ่มใบมียอด 1 ใบความสูงประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร มาเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสมในการลงหัวทั้งหมด 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม/ลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม/ลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร peptone 1 กรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม/ลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร BAP 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม/ลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร น้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัม/ลิตร กล้วยหอม 20 กรัม/ลิตร

ทุกสูตรใส่ผงถ่าน 2 กรัม/ลิตร ผงวุ้น 6 กรัม/ลิตร และปรับ pH 5.7 วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) จำนวน 4 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น/ขวด ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 เดือน จนเมล็ดมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์

**การบันทึกข้อมูล**

บันทึกการเจริญเติบโตของต้นอ่อนโดยการนับจำนวนหัว และจำนวนรากของต้นอ่อน

## 7.2 ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมสกุลว่านอิงโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ อุปกรณ์

1. ฝักกล้วยไม้หมูกิ่ง (*Eulophia andamanensis*) ฝักกล้วยไม้วานหัวครุ (*Eulophia spectabilis*) และฝักกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครุผสมหมูกิ่ง
2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
3. ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยเคมีชนิดละลายช้าสูตร 14-14-14
4. สารป้องกันกำจัดโรคพืชและแมลง
5. วัสดุปลูก ได้แก่ ททราย ขุยมะพร้าว ขี้เถ้าแกลบ
6. ตะกร้าพลาสติก และกระถางพลาสติก



ภาพที่ 3 ฝักกล้วยไม้ดินสกุลว่านอิง

### วิธีการ

1. ฝักกล้วยไม้หมูกิ่ง ฝักกล้วยไม้วานหัวครุ และฝักกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครุผสมหมูกิ่งอายุฝักประมาณ 3 เดือนหลังการผสม ซึ่งฝักมีสีเขียว มีลักษณะป่องตรงกลาง ทำความสะอาดฝักโดยพอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 % เป็นเวลา 1-2 นาที แล้วจุ่มฝักลงในแอลกอฮอล์ 95% แล้วนำฝักไปลงไฟ จากนั้นทำการผ่าฝักแล้วเขี่ยเมล็ดลงเพาะบนอาหารสูตร VW ดัดแปลง เพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยมีปัจจัยร่วม 2 ชนิด สำหรับกล้วยไม้หมูกิ่ง คือ การใส่น้ำตาลที่มีความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0 20 และ 40 กรัม/ลิตร และนำไปเลี้ยงในสภาพแสง 2 แบบ คือ การได้รับแสงตลอดเวลา และเก็บในที่มืดหลังเมล็ดงอกแล้วนำมาให้แสง จำนวน 6 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 สูตร VW เติมน้ำตาล 0 กรัม และได้รับแสง

กรรมวิธีที่ 2 สูตร VW เติมน้ำตาล 0 กรัม และ ที่มืด

กรรมวิธีที่ 3 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม และได้รับแสง

กรรมวิธีที่ 4 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม และ ที่มืด

กรรมวิธีที่ 5 สูตร VW เติมน้ำตาล 40 กรัม และได้รับแสง

กรรมวิธีที่ 6 สูตร VW เติมน้ำตาล 40 กรัม และ ที่มีดี  
สำหรับกล้วยไม้ว่านหัวครูและกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครูผสมหมูกิ่งคือ การใส่น้ำตาลที่มี  
ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0 10 และ 20 กรัม/ลิตร และนำไปเลี้ยงในสภาพแสง 2 แบบ คือ การได้รับแสง  
ตลอดเวลา และเก็บในที่มืดหลังเมล็ดงอกแล้วนำมาให้แสง จำนวน 6 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 สูตร VW เติมน้ำตาล 0 กรัม และได้รับแสง

กรรมวิธีที่ 2 สูตร VW เติมน้ำตาล 0 กรัม และ ที่มีดี

กรรมวิธีที่ 3 สูตร VW เติมน้ำตาล 10 กรัม และได้รับแสง

กรรมวิธีที่ 4 สูตร VW เติมน้ำตาล 10 กรัม และ ที่มีดี

กรรมวิธีที่ 5 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม และได้รับแสง

กรรมวิธีที่ 6 สูตร VW เติมน้ำตาล 20 กรัม และ ที่มีดี

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำๆละ 1 ขวด  
ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จนเมล็ดมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม

2. นำโปรโตคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ดที่มีการขยายขนาดกลายเป็นต้นอ่อนที่เริ่มใบมียอด 1 ใบความ  
สูงประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร ของกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ดัดแปลง ที่มีการเติมสารอินทรีย์  
ชนิดต่างๆ เพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จำนวน 5 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 สูตร VW

กรรมวิธีที่ 2 สูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 สูตร VW + กล้วยหอม 100 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 สูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร+ กล้วยหอม 100 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 สูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร+ กล้วยหอม 100 กรัม+ถ่าน 0.5 กรัม

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำๆละ 1 โปรโตคอร์มต่อขวด ทำการเพาะเลี้ยงเป็น  
ระยะเวลา 4 เดือน จนเมล็ดมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์

#### การบันทึกข้อมูล

1. ระยะเวลาในการงอกของเมล็ด
2. ลักษณะการเจริญเติบโต และสีของโปรโตคอร์มในระดับต่างๆ
3. ระยะเวลาในการเกิดโปรโตคอร์ม
4. การพัฒนาเป็นต้นอ่อนในระดับต่างๆ
5. ระยะเวลาในการเกิดต้นอ่อน
6. จำนวนราก และจำนวนยอด
7. ระยะเวลาในการเจริญของต้นอ่อนจนเป็นต้นพร้อมปลูก
8. บันทึกภาพเมล็ด โปรโตคอร์ม และต้นอ่อน

#### เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2557 ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยง  
เนื้อเยื่อของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง จ.ลำปาง



## 7. ผลการทดลองและวิจารณ์

### ผลการทดลอง

#### 7.1 ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมสกุลลิ้นมังกรโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำฝักกล้วยไม้ลูกผสมลิ้นมังกรสีชมพูอายุ 6 สัปดาห์หลังการผสมมาเพาะเมล็ดลงบนอาหารแข็งในสภาพปลอดเชื้อที่มีการเติม peptone ร่วมกับการเติมน้ำมะพร้าวในปริมาณที่แตกต่างกัน พบว่าเมล็ดใช้เวลาประมาณ 9 สัปดาห์ เมล็ดมีลักษณะการบวมป้องกันบริเวณกลางเมล็ด มีความกว้างและความยาวของเอ็มบริโอเพิ่มมากขึ้น จากนั้นมีการพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มที่มีการสร้างยอดขนาดเล็กและยึดตัวไปเป็นต้นอ่อน ซึ่งอาหารสูตร VW เติม peptone 1 กรัม/ลิตร ให้ผลที่แตกต่างทางสถิติกับอาหารที่ไม่มีการเติม peptone แต่ปริมาณของน้ำมะพร้าว 50 100 และ 150 มิลลิลิตร/ลิตร ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือเมล็ดสามารถงอกและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ และยังพบว่าปริมาณของน้ำมะพร้าวและปริมาณของ peptone ไม่มีผลร่วมกันต่อการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมลิ้นมังกร (ตารางที่ 1 )

ตารางที่ 1 ระดับคะแนนผลของน้ำมะพร้าวและ peptone ต่อระดับการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมลิ้นมังกร หลังเพาะเมล็ดในเดือนที่ 4

ปริมาณน้ำมะพร้าว มล./ล.	ปริมาณ peptone		ระดับการงอกของเมล็ด เฉลี่ย
	0 กรัม/ลิตร	1 กรัม/ลิตร	
50	2.9	3.5	3.20
100	3.0	3.5	3.25
150	2.9	3.6	3.25
ค่าเฉลี่ยการได้รับ	2.9 b	3.5 a	ns

peptone		
F-test	*	*
CV	18.44	

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ระดับที่ 0 ตายหรือปนเปื้อน

ระดับที่ 1 เมล็ดไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ระดับที่ 2 เอ็มบริโอมีการบวม

ระดับที่ 3 เอ็มบริโอมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม

ระดับที่ 4 มีใบ 2 ใบเจริญทางด้านบนของโปรโตคอร์ม



ภาพที่ 4 โปรโตคอร์มอายุ 4 เดือน



ภาพที่ 5 ต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลลิ้นมังกร

หลังจากนั้นนำต้นอ่อนที่มีใบจำนวน 2 ใบ ความสูงต้นระหว่าง 0.5-1 เซนติเมตร หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็งในสภาพปลอดเชื้อ โดยเปรียบเทียบอาหาร 4 สูตร พบว่า อาหารแข็งสูตรที่ 4 คือ อาหารสูตร VW ที่มีการเติมน้ำตาล 20 กรัม/ลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร น้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัม/ลิตร กล้วยหอม 20 กรัม/ลิตร ร่วมกับการใส่ผงถ่าน 2 กรัม/ลิตร และผงวุ้น 6 กรัม/ลิตร ปรับ pH 5.7 พบว่าให้ทั้งจำนวนหัวและจำนวนใบเฉลี่ยแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม โดยให้จำนวนหัวเฉลี่ย 11 หัว และจำนวนใบเฉลี่ย 22 ใบ (ตารางที่ 2) หลังจากนั้นนำต้นอ่อนที่สมบูรณ์ ย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือน โดยย้ายปลูกในตะกร้าซึ่งประกอบโฟม พีทมอส และหินกรวดเล็กๆ เป็นวัสดุในการปลูก ปลูกต้นอ่อนจำนวน 69 ต้น ดูแลรักษาโดยการให้น้ำและปุ๋ยภายในโรงเรือน

**ตารางที่ 2** จำนวนหัวและจำนวนใบเฉลี่ยของต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมลีนมังกรในอาหารสูตรต่างๆหลังเพาะเลี้ยงในเดือนที่ 4

กรรมวิธีที่	จำนวนหัวเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย
	(หัว)	(ใบ)
1. VW เติมน้ำตาล 20 ก./ล. น้ำมะพร้าว 150 มล./ล.	4.1 c	7.9 c
2. สูตร VW เติมน้ำตาล 20 ก./ล. น้ำมะพร้าว 150 มล./ล. peptone 1 ก./ล.	7.9 b	14.9 b
3. สูตร VW เติมน้ำตาล 20 ก./ล. น้ำมะพร้าว 150 มล./ล. BAP 1 มก./ล.	2.5 c	3.6 c
4. สูตร VW เติมน้ำตาล 20 ก./ล. น้ำมะพร้าว 150 มล./ล. น้ำสกัดมันฝรั่ง 100 ก./ล. กล้วยหอม 20 ก./ล.	11.0 a	22.0 a
F-test	*	*
CV	49.67 %	44.0 %

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT



A

B

C

D

ภาพที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลลิ้นมังกรอายุ 2 เดือนในอาหาร 4 สูตร

- A. สูตรที่ 1
- B. สูตรที่ 2
- C. สูตรที่ 3
- D. สูตรที่ 4



ภาพที่ 6 แสดงต้นอ่อนกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่พร้อมย้ายออกปลูกลงในโรงเรือน



## ภาพที่ 7 แสดงต้นอ่อนกล้วยไม้ลินมังกรที่ย้ายออกปลูกในโรงเรือน

### 7.2 ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมสกุลว่านอิงโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

การศึกษาศูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ด โดยการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลง ในสภาพปลอดเชื้อ โดยสูตรอาหารมีความเข้มข้นของน้ำตาลต่างกันร่วมกับการได้รับแสงตลอดเวลาและเก็บในที่มืดหลังเมล็ดงอกแล้วนำมาให้แสง พบว่า อาหารทุกสูตรเมล็ดมีการงอกหลังจากเพาะเมล็ดได้ 4 สัปดาห์ และมีระดับการงอกเพิ่มขึ้นในทุกๆสัปดาห์ โดยคัพภะมีการขยายขนาดเป็นลูกกลมมีปลายแหลมเรียกว่าโปรโตคอร์ม ซึ่งเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญที่พร้อมจะขยายขนาดและแบ่งเซลล์ไปเรื่อยๆ โดยเมล็ดที่เพาะในสภาพแสงตลอด โปรโตคอร์มมีสีเขียว ส่วนเมล็ดที่เพาะในที่มืดโปรโตคอร์มมีสีขาว หลังจากนั้นนำออกมาเลี้ยงในสภาพแสงตลอด ภายในเวลา 7 วัน โปรโตคอร์มจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว หลังจากเมล็ดงอกได้ 8 สัปดาห์ โปรโตคอร์มมีการพัฒนาจนมี ยอดขนาด 0.3-0.5 เซนติเมตร นำมาเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆเพื่อชักนำให้พัฒนากลายเป็นต้นอ่อน ภายในระยะ 4 เดือน ซึ่งผลการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้แต่ละชนิดมีดังนี้

1. การพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้หมูกิ่ง ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลแต่ละระดับให้ผลแตกต่างกัน ทางสถิติ พบว่าความเข้มข้นของระดับน้ำตาล 0 และ 20 กรัม ให้การพัฒนาของเมล็ดดีที่สุด โดย โปรโตคอร์มมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 40 กรัม มีผลทำให้โปรโตคอร์มที่งอก กลายเป็นสีดำและพัฒนาเป็นต้นอ่อนไม่ได้ ซึ่งความเข้มข้นของระดับน้ำตาล 20 กรัม การพัฒนาของ โปรโตคอร์มเกิดยอดอ่อนมากที่สุด ส่วนการได้รับแสงและการเก็บในที่มืดให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งหลัง เพาะเมล็ดนาน 8 สัปดาห์ พบว่าโปรโตคอร์มที่งอกส่วนใหญ่มีการพัฒนากลายเป็นสีเขียว และ โปรโตคอร์มบางส่วนมีการพัฒนาเป็นยอดแหลมอยู่ทางด้านบนของโปรโตคอร์มซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ ยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลและการได้รับแสงไม่มีผลร่วมกันต่อการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ หมูกิ่ง (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 3** ระดับคะแนนผลของน้ำตาลและการได้รับแสงต่อระดับการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้หมูกิ่งหลังเพาะเมล็ดในสัปดาห์ที่ 8

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัม)	การได้รับแสง		เฉลี่ย
	ได้รับ	ไม่ได้รับ	
0	4.2	3.8	4.0 a
20	3.8	4.5	4.2 a
40	2.5	2.5	2.5 b
เฉลี่ย	3.5	3.6	
F-test	**		
CV	43.4 %		

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ระดับที่ 0 ตายหรือปนเปื้อน

ระดับที่ 1 เมล็ดไม่งอก

ระดับที่ 2 โปรโตคอร์มสีดำ

ระดับที่ 3 โปรโตคอร์มสีขาว

ระดับที่ 4 โปรโตคอร์มสีเขียว

ระดับที่ 5 โปรโตคอร์มเกิดยอดอ่อน

จากผลของการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้หมูกิ่งในอาหารสูตรต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อาหารแต่ละสูตรและระดับการพัฒนาในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 5 ซึ่งประกอบด้วยสูตรอาหาร VW ที่มีการเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร ร่วมกับกล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร และผงถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร ให้ค่าเฉลี่ยระดับการพัฒนาดีที่สุด ซึ่งแต่ละเดือนมีระดับการพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้เร็วและได้จำนวนมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โปรโตคอร์มที่ได้มีการพัฒนาแตกเป็นใบอ่อน 2-3 ใบ และเริ่มเกิดรากเมื่อ



ทางสถิติ พบว่าความเข้มข้นของระดับน้ำตาล 10 และ 20 กรัม ให้การพัฒนาของเมล็ดดีที่สุดใน โดย โปรโตคอร์มมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ซึ่งความเข้มข้นของระดับน้ำตาล 20 กรัม การพัฒนาของ โปรโตคอร์มเกิดยอดอ่อนมากที่สุด ส่วนการได้รับแสงและการเก็บในที่มืดให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งหลังเพาะ เมล็ดนาน 8 สัปดาห์ พบว่า โปรโตคอร์มที่ออกส่วนใหญ่มีการพัฒนากลายเป็นสีเขียว และ โปรโตคอร์มบางส่วนมีการพัฒนาเป็นยอดแหลมอยู่ทางด้านบนของโปรโตคอร์มซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ ยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลและการได้รับแสงไม่มีผลร่วมกันต่อการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ วานหัวครุ (ตารางที่ 5)

**ตารางที่ 5** ระดับคะแนนผลของน้ำตาลและการได้รับแสงต่อระดับการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้วานหัวครุ หลังจากเพาะเมล็ดในสัปดาห์ที่ 8

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัม)	การได้รับแสง		เฉลี่ย
	ได้รับ	ไม่ได้รับ	
0	3.4	3.6	3.5 b
10	4.3	3.9	4.1 ab
20	5.0	4.8	4.9 a
เฉลี่ย	4.2	4.1	
F-test	*		
CV	30.6 %		

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่

ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ระดับที่ 0 ตายหรือปนเปื้อน      ระดับที่ 3 โปรโตคอร์มสีขาว

ระดับที่ 1 เมล็ดไม่ออก      ระดับที่ 4 โปรโตคอร์มสีเขียว

ระดับที่ 2 โปรโตคอร์มสีดำ      ระดับที่ 5 โปรโตคอร์มเกิดยอดอ่อน



จากผลของการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ว่านหัวครุในอาหารสูตรต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าอาหารแต่ละสูตรและการพัฒนาในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยสูตรอาหาร VW ที่มีการเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร เพียงอย่างเดียวให้ค่าเฉลี่ยระดับการพัฒนาที่ดีที่สุด ซึ่งแต่ละเดือนมีระดับการพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้เร็วและได้จำนวนมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โปรโตคอร์มที่ได้มีการพัฒนาแตกเป็นใบอ่อน 2-3 ใบ และเริ่มเกิดรากเมื่อเพาะเลี้ยงได้นาน 1 เดือน หลังจากนั้นรากจะยืดยาวและมีจำนวนรากมากขึ้น แล้วเจริญกลายเป็นต้นอ่อนที่มียอดและรากที่สมบูรณ์ในเดือนที่ 4 และเมื่อนับจำนวนยอดและราก พบว่ากรรมวิธีที่ 2 ให้ทั้งจำนวนยอดและรากเฉลี่ยแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมโดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 7.80 ยอด และจำนวนรากเฉลี่ย 43.80 ราก (ตารางที่ 5 และ 6)

**ตารางที่ 5** ระดับคะแนนผลของการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ว่านหัวครุในอาหารสูตรต่างๆ จำนวน 4 เดือน

กรรมวิธีที่	ค่าเฉลี่ยระดับการพัฒนา (เดือน)			
	1	2	3	4
1. VW	1.44 b	2.11 ab	2.88 b	4.22 ab
2. VW+ น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร	2.20 a	2.80 a	4.00 a	4.60 a
3. VW + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร	1.66 ab	2.30 ab	2.88 b	4.55 a
4. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร	1.40 b	2.20 ab	2.80 b	3.60 b
5. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร + ถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร	1.50 ab	1.80 b	2.66 b	4.33 ab
F-test	*	*	*	*
CV	41.19 %	41.46 %	35.76 %	17.12%

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ

เชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ระดับที่ 0 ตายหรือปนเปื้อน	ระดับที่ 3 ต้นอ่อนมีใบ 3 ใบขึ้นไป
ระดับที่ 1 โพรโตคอร์มแตกใบอ่อน	ระดับที่ 4 ต้นอ่อนเริ่มเกิดราก
ระดับที่ 2 ต้นอ่อนมีใบ 2 ใบ	ระดับที่ 5 เป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์

ตารางที่ 6 จำนวนยอดและจำนวนรากของต้นอ่อนกล้วยไม้ว่านหัวครุในอาหารสูตรต่างๆหลังเพาะเลี้ยงในเดือนที่ 4

กรรมวิธีที่	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก)
1. VW	2.00 b	18.00 b
2. VW+ น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร	7.80 a	43.80 a
3. VW + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร	5.88 ab	46.56 a
4. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร	9.75 a	32.50 ab
5. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร + ถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร	6.67 ab	36.67 ab
F-test	*	*
CV	67.70 %	52.13 %

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

3. การพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครุผสมหมูกิ่งที่ความเข้มข้นของน้ำตาลแต่ละระดับให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ พบว่าทุกสูตรอาหารให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยโปรโตคอร์มมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ซึ่งความเข้มข้นของระดับน้ำตาล 20 กรัม การพัฒนาของโปรโตคอร์มเกิดยอดอ่อนมากที่สุด ส่วนการได้รับแสงและการเก็บในที่มืดให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งหลังเพาะเมล็ดนาน 8 สัปดาห์ พบว่า โปรโตคอร์มที่ออกส่วนใหญ่มีการพัฒนากลายเป็นสีเขียว และโปรโตคอร์มบางส่วนมีการพัฒนาเป็นยอดแหลมอยู่ทางด้านบนของโปรโตคอร์มซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ ยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลและการได้รับแสงไม่มีผลร่วมกันต่อการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครุผสมหมูกิ่ง (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ระดับคะแนนผลของน้ำตาลและการได้รับแสงต่อระดับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมของว่านหัวครุผสมหมูกิ่ง หลังเพาะเมล็ดในสัปดาห์ที่ 8

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัม)	การได้รับแสง		เฉลี่ย
	ได้รับ	ไม่ได้รับ	
0	4.4	3.5	3.9
10	4.5	4.8	4.6
20	4.8	4.8	4.8
เฉลี่ย	4.5	4.3	
F-test	ns		
CV	26.1 %		

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ระดับที่ 0 ตายหรือปนเปื้อน      ระดับที่ 3 โพรโตคอร์มสีขาว  
 ระดับที่ 1 เมล็ดไม่งอก      ระดับที่ 4 โพรโตคอร์มสีเขียว  
 ระดับที่ 2 โพรโตคอร์มสีดำ      ระดับที่ 5 โพรโตคอร์มเกิดยอดอ่อน

จากผลของการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครุผสมหมูกิ่งในอาหารสูตรต่างๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าอาหารแต่ละสูตรและการพัฒนาในเดือนที่ 2 3 และ 4 มีความแตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 5 ซึ่งประกอบด้วยสูตรอาหาร VW ที่มีการเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร ร่วมกับกล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร และผงถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร ให้ค่าเฉลี่ยระดับการพัฒนาที่ดีที่สุด ซึ่งแต่ละเดือนมีระดับการพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้เร็วและได้จำนวนมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โปรโตคอร์มที่ได้มีการพัฒนาแตกเป็นใบอ่อน 2-3 ใบ และเริ่มเกิดรากเมื่อเพาะเลี้ยงได้นาน 1 เดือน หลังจากนั้นรากจะยืดยาวและมีจำนวนรากมากขึ้น แล้วเจริญกลายเป็นต้นอ่อนที่มียอดและรากที่สมบูรณ์ในเดือนที่ 4 และเมื่อนับจำนวนยอดและราก พบว่ากรรมวิธีที่ 5 ให้ทั้งจำนวนยอดและรากเฉลี่ยแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 4.10 ยอด และจำนวนรากเฉลี่ย 23 ราก (ตารางที่ 8 และ 9)

**ตารางที่ 8** ระดับคะแนนผลของการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ลูกผสมของว่านหัวครุผสมหมูกิ่ง ในอาหารสูตรต่างๆจำนวน 4 เดือน

กรรมวิธีที่	ค่าเฉลี่ยระดับการพัฒนา (เดือน)
-------------	--------------------------------

	1	2	3	4
1. VW	1.66 b	1.77 b	2.55 b	4.33 ab
2. VW+ น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร	1.70 b	2.10 ab	3.20 a	4.30 ab
3. VW + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร	2.10 ab	2.10 ab	3.00 ab	4.30 ab
4. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร	1.75 ab	1.75 b	2.75 ab	3.75 b
5. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร + ถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร	2.30 a	2.50 a	3.40 a	4.60 a
F-test	ns	*	*	*
CV	26.38 %	25.24 %	22.11 %	13.70%

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ระดับที่ 0 ตายหรือปนเปื้อน	ระดับที่ 3 ต้นอ่อนมีใบ 3 ใบขึ้นไป
ระดับที่ 1 โพรโตคอร์มแตกใบอ่อน	ระดับที่ 4 ต้นอ่อนเริ่มเกิดราก
ระดับที่ 2 ต้นอ่อนมีใบ 2 ใบ	ระดับที่ 5 เป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์

**ตารางที่ 9** จำนวนยอดและจำนวนรากของต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมข้ามชนิดของว่านหัวครูผสมหมูกลิ้ง ในอาหารสูตรต่างๆหลังเพาะเลี้ยงในเดือนที่ 4

กรรมวิธีที่	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนรากเฉลี่ย
	(ยอด)	(ราก)
1. VW	3.10 ab	18.80 ab
2. VW+ น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร	3.80 ab	18.20 ab
3. VW + กล้ายหอม 100 กรัม/ลิตร	2.00 b	15.20 ab
4. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้ายหอม 100 กรัม/ลิตร	3.50 ab	9.00 b
5. VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร + กล้ายหอม 100 กรัม/ลิตร + ถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร	4.10 a	23.00 a
F-test	*	*
CV	63.04%	55.2%

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT



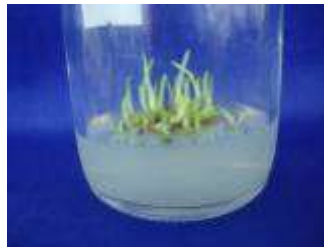
ภาพที่ 7 โพรโตคอร์มสีเขียว



ภาพที่ 8 โพรโตคอร์มขาว



ภาพที่ 9 โพรโตคอร์มที่มียอดอยู่ระหว่าง 0.3-0.5 เซนติเมตร



ภาพที่ 10 ต้นอ่อนอายุ 2 เดือน



ภาพที่ 11 ต้นอ่อนกล้วยไม้หลังจากเพาะเมล็ดประมาณ 6 เดือน

### วิจารณ์ผลการทดลอง

อาหารสังเคราะห์ที่ใช้เพาะเมล็ดแบ่งออกเป็น 2 สูตร คือสูตรสำหรับเพาะฝักอ่อนซึ่งไม่จำเป็นต้องให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากนัก และสูตรสำหรับย้ายต้นกล้าซึ่งจะเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรตสำหรับเร่งการเจริญเติบโตและใส่ผงถ่านเพื่อดูดสารที่รากต้นกล้าปลดปล่อยออกมา (ครรชิต, 2541) นั่นคือสูตรอาหารสังเคราะห์

จะประกอบด้วยสารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโต วิตามิน กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต และสารอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ น้ำมะพร้าว น้ำมะเขือเทศ น้ำสกัดจากหัวมันฝรั่ง และกล้วยบด

น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่มีความจำเป็นสำหรับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ซึ่งการทดลองนี้พบว่า การเติมและไม่เติมน้ำตาลในสูตรอาหารเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุลว่านอึ้งทั้ง 3 ชนิดทำให้เมล็ดมีการพัฒนาได้ อาจเป็นผลจากการเติมน้ำมะพร้าวลงในอาหาร VW สูตรดัดแปลงลงไปด้วยเนื่องจากในน้ำมะพร้าวมีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบด้วย นิพาพร (2542) ได้เพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรและนางอ้วสาคริกในอาหารสูตร VW ดัดแปลง พบว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารในสูตร VW ระดับ 0.25 เท่า ที่เติมน้ำตาลทราย 0 10 และ 20 กรัมต่อลิตร ทำให้เมล็ดมีดัชนีการงอกไม่แตกต่างกัน และเมื่อใช้ระดับน้ำตาลที่สูง (ความเข้มข้น 40 กรัม/ลิตร) ส่งผลให้โปรโตคอร์มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จึงเป็นข้อบ่งชี้อย่างชัดเจนว่าระดับน้ำตาลที่สูงมากเกินไปส่งผลให้ความมีชีวิตของโปรโตคอร์มลดลง เนื่องจากระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นมีผลให้ค่าแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ในอาหารสูงขึ้นโปรโตคอร์มบางส่วนจึงไม่สามารถทนต่อความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงขึ้นได้ นอกจากนี้ชนิดของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบต่างกันแล้ว แสงก็เป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการงอกและการเจริญพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้หลายชนิด ทั้งในด้านส่งเสริมและยับยั้งการเจริญพัฒนา สัจจพร (2545) พบว่าการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินนางอ้วน้อยสามารถงอกได้ดีที่สุดในสภาพที่ไม่มีแสงมากกว่าสภาพมีแสง สุภาวรรณ (2538) พบว่าเมล็ดกล้วยไม้เอื้องพร้าวสามารถงอกได้ทั้งในสภาพที่มีแสงตลอดและในสภาพมืดเป็นช่วงๆก่อนได้รับแสง เป็นผลให้การเจริญของเอ็มบริโอและโปรโตคอร์มมีขนาดไม่แตกต่างกัน ในทำนองเดียวกันเมื่อเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน พบว่าสามารถงอกได้ดีทั้งในสภาพที่มีแสงสว่างตลอดและภายใต้ความมืด แต่ในส่วนของคัพภะสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่ภายใต้ความมืดได้ดีกว่า (ธีระพล, 2535) นั่นคือกล้วยไม้ดินหลายชนิดมีความสามารถงอกได้ทั้งในที่มืดและในที่มืด ถึงแม้จะต้องการแสงในระยะต่อมาเพื่อการเจริญเติบโต

จากสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มไปเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ของกล้วยไม้สกุลว่านอึ้งทั้ง 3 ชนิด พบว่าสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีการเติมสารประกอบอินทรีย์ คือน้ำมะพร้าวร่วมกับ กล้วยหอมและเติมผงถ่าน มีการตอบสนองต่อการพัฒนาของต้นอ่อน จำนวนยอดต่อต้น และจำนวนรากต่อต้น เป็นผลให้ต้นมีการเจริญเติบโตสมบูรณ์และแข็งแรง ทำให้ได้จำนวนต้นกล้าปริมาณมากสามารถนำออกปลูกและเลี้ยงในสภาพโรงเรือน ถึงแม้ว่าการเติมน้ำมะพร้าวอย่างเดียวจะให้ผลดีกับกล้วยไม่ว่านหัวครูกก็ตาม ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นส่วนที่ช่วยในการชักนำให้เซลล์พืชมีการเจริญเติบโตเหมาะสมสำหรับเป็นอาหารเสริมพิเศษสำหรับการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ และยังมีผลในการส่งเสริมการเจริญของชิ้นส่วนของพืช เป็นผลจากน้ำมะพร้าว โดยในน้ำมะพร้าวประกอบด้วยสารต่างๆมากมาย เช่น กรดอะมิโน สารประกอบไนโตรเจน เอนไซม์ กรดอินทรีย์ น้ำตาล และฮอร์โมนพืช ซึ่งสารเหล่านี้จะช่วยเร่งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช (Shantz *et al.*, 1959) ดังนั้นเมื่อเติมน้ำ

มะพร้าวลงในอาหารสังเคราะห์สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้และเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มจะส่งผลต่อการเจริญพัฒนาของเมล็ดและโปรโตคอร์มในลักษณะต่างๆกัน นอกจากนั้นกล้วยหอมยังเป็นที่นิยมใช้ผสมในอาหารเพาะเมล็ดกล้วยไม้ โดยผลการวิเคราะห์ของ Barnell (อ้างตามอรสา,2525) พบว่าในเนื้อกล้วยหอมประกอบด้วย วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินซี และแร่ธาตุจำนวนมาก โดยเฉพาะธาตุเหล็กซึ่งอยู่ในรูปที่กล้วยไม้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและการเกิดรากได้ และการเติมผงถ่านลงในอาหารทำให้เกิดการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นอ่อนดีขึ้น เนื่องจากผงถ่านมีจุลินทรีย์ที่สามารถขับสารต่างๆที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตได้ จากการทดลองกล้วยไม้สกุลว่านอิงจะมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกสู่อาหารเพาะเลี้ยง มีผลยับยั้งการเจริญของกล้วยไม้ จึงใส่ผงถ่านเพื่อช่วยดูดซับเอาสารสีน้ำตาลไว้ ธีระพล (2535) ทำการย้ายโปรโตคอร์มกล้วยไม้ร่องเท้านารีเหลืองปราจีนมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร VW ดัดแปลงโดยเติมกล้วยหอมและผงถ่าน เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

## 8. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

### 8.1 ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลลิ้นมังกรโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

1. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลลิ้นมังกร หลังจากเพาะเมล็ดบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง เป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง ที่มีการเติมน้ำมะพร้าวปริมาณ 50 - 150 มิลลิลิตร/ลิตร ร่วมกับการเติม peptone 1 กรัม/ลิตร ให้ผลดีคือเมล็ดมีการงอกสามารถเจริญไปเป็นโปรโตคอร์มและพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้
2. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลลิ้นมังกร หลังจากนำโปรโตคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ด ที่มีการขยายขนาดกลายเป็นต้นอ่อนที่เริ่มมีใบยอด 1-2 ใบ ความสูงประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อาหารสูตรที่ 4 คือ อาหารสูตร VW ที่มีการเติมน้ำตาล 20 กรัม/ลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร น้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัม/ลิตร กล้วยหอม 20 กรัม/ลิตร ร่วมกับการใส่ผงถ่าน 2 กรัม/ลิตร และผงวุ้น 6 กรัม/ลิตร ปรับ pH 5.7 ให้จำนวนหัวและจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด โดยให้จำนวนหัวเฉลี่ย 11 หัว และจำนวนใบเฉลี่ย 12 ใบ

### 8.2 ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลว่านอิงโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

1. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้สกุลว่านอิงทั้ง 3 ชนิด จากการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 8 สัปดาห์บนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง ที่มีการเติมและไม่เติมน้ำตาลซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ทำให้เมล็ดมีการงอกและพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มได้ และการเติมน้ำตาลในอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลงที่ความเข้มข้น 20 กรัม/ลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเมล็ดกลายเป็นโปรโตคอร์มที่มีการเกิดยอดอ่อนทั้งในสภาพการเลี้ยงที่ได้รับแสงตลอดและเก็บไว้ในที่มืด



2. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลว่านอึ้งทั้ง 3 ชนิด จากการนำโปรโตคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ด ที่มีการขยายขนาดกลายเป็นต้นอ่อนที่เริ่มมีใบยอด 1 ใบ ความสูงประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือนบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลงที่มีการเติมสารประกอบอินทรีย์โดยการเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร ร่วมกับกล้วยหอม 100 กรัม/ลิตร และถ่าน 0.5 กรัม/ลิตร สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มมีการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่มียอดและรากแข็งแรง ได้ต้นกล้าที่สมบูรณ์และมีปริมาณมากเพื่อนำออกปลูกและเลี้ยงในสภาพโรงเรือน

## 9. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การนำสูตรอาหารที่ได้จากการเพาะเมล็ดและการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมกล้วยไม้ลินม้งกรและสกุลว่านอึ้งไปประยุกต์ใช้กับกล้วยไม้ดินชนิดอื่นๆ

**กลุ่มเป้าหมายคือ** นักวิชาการ อาจารย์ และเกษตรกรผู้สนใจทั่วไป

## 10. เอกสารอ้างอิง

- ครรชิต ธรรมศิริ. 2541. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. อัมรินทร์พรินติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด. กรุงเทพฯ. 230 หน้า.
- จารุภัทร ประราศรี. 2549. การศึกษาลักษณะของกล้วยไม้ข้ามผสมโคลงที่ศูนย์การพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 82 หน้า.
- ฉันทนา สุวรรณธาดา จารุภัทร ประราศรี ประภัสสร อารยะกิจเจริญชัย และรณรงค์ อินทุภูติ. 2548. การเจริญเติบโตและการกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้ข้ามผสมโคลง. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร 35: 33-36
- ธีระพล พรสวัสดิ์ชัย. 2535. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการงอก และการพัฒนาโปรโตคอร์มของรองเท้านารีเหลืองปราจีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 129 หน้า.
- นิภาพร ชัยทนุ. 2542. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดและพัฒนาต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินลินม้งกรและนางอ้วกสาคริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 53 หน้า.
- สังจพร จันทะวงษ์. 2545. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการงอกและพัฒนาของกล้วยไม้ *Geodorum siamense* Rolfe ex Downie และ *Habenaria dentate* (Sw.) Schltr. ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 84 หน้า.
- สุภาวรรณ วงศ์คำจันทร์. 2538. ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญของโปรโตคอร์มของเอื้อง

พรวัวในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 141 หน้า.

อรสา ตันติวิรุฬห์. 2525. ผลของกล้วยหอมและต้นกล้าข้าวโพดในวุ้นอาหารถ่ายขวดกล้วยไม้สกุลหวาย.

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 16 หน้า.

Shantz, E.M., J.K.Pollard and F.C Steward. 1959. The growth promoting activity of coconut milk : The nature of the active fraction. Plant Physio. 34: 8-9.