



รายงานการวิจัย

การศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม
(*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ

Study on the growth and development of *Cymbidium* sp.
in vitro.

โดย

นางสาวศศิคารา เจริญศิริ

นางสาวนัตยา มนตรี

นายวัชรินทร์ รัตนพันธ์

RCM

SB

409.8

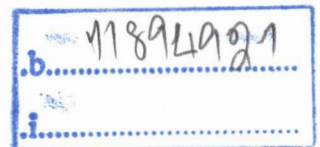
-C95

๕,๒๕๙๐

เลขหมู่..... 79684

เลขทะเบียน.....

วัน,เดือน,ปี..... 10 เม.ย. 2551



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2549

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ภายใต้การดูแลของสถาบันฯ เมื่อผู้ยืมคืนให้สถาบันฯ กรุณา
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเปรียบเทียบสูตรอาหารสูตรดัดแปลง VW และ อาหารสูตรดัดแปลง KC ที่มีการเติมอินทรียสาร

นำฝักกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) คือ กล้วยไม้กะระกะร้อนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.) กล้วยไม้กะระกะร้อนปากนกแก้ว (*C. lowianum* Rchb.f.) และกล้วยไม้กะระกะร้อนปากเป็ด (*C. finlaysonianum* Lindl.) ที่มีอายุฝัก 150 200 250 และ 300 วัน จากการทดลองพบว่า ฝักที่มีอายุ 300 วัน ภายหลังจากเพาะเมล็ดกล้วยไม้ 2 เดือน ในอาหารสูตรดัดแปลง VW และอาหารสูตรดัดแปลง KC ที่เติมอินทรียสารทุกสูตร ได้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตและค่าร้อยละการเจริญเติบโตเมล็ด ขนาดโปรโตคอร์ม จำนวนใบที่ขึ้นบนก้อนโปรโตคอร์ม และสีของเมล็ด ไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อนำโปรโตคอร์มที่เลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง VW และอาหารสูตรดัดแปลง KC ที่เติมอินทรียสารต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตร VW + CBPAC และอาหารเพาะเลี้ยงสูตร KC + CP และ KC + CBPAC ให้น้ำหนักสด ความสูง จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวราก เฉลี่ย/ต้นมากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัย การเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ คุณลัดดา อธิกิจรุ่งเรือง และครอบครัว ซึ่งได้อนุเคราะห์ต้นพันธุ์กล้วยไม้สำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ ดร.อรดี สหวัชรินทร์ อ.วัชรินทร์ รัตนพันธ์ ดร.นาคยา มนตรี อ.พรประพา กงตะกุต ที่ให้คำปรึกษาต่างๆ ด้วยดีมาตลอด และขอขอบคุณทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกทุกด้าน

และที่สำคัญ ขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณ (เงินรายได้) ประจำปี 2549 จนงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	II
กิตติคุณประกาศ	IV
สารบัญ	V
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 นิยามศัพท์ / ตัวแปร	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ลักษณะทั่วไปกล้วยไม้	3
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	5
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	
3.1 อุปกรณ์	9
3.2 วิธีการ	9
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	12
บทที่ 5 สรุป	24
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ค่าร้อยละการเจริญเติบโตเมล็ด (Percentage of seed germination) ระยะเวลา 1 เดือน	13
ตารางที่ 2 ค่าร้อยละการเจริญเติบโตเมล็ด (Percentage of seed germination) ระยะเวลา 2 เดือน	14
ตารางที่ 3 ค่าดัชนีการเจริญเติบโต (Germination index) ระยะเวลา 1 เดือน	15
ตารางที่ 4 ค่าดัชนีการเจริญเติบโต (Germination index) ระยะเวลา 2 เดือน	16
ตารางที่ 5 การงอกและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้	17
ตารางที่ 6 ขนาดโปรโตคอร์ม จำนวนใบทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์ม และสีของเมล็ดกล้วยไม้	19
ตารางที่ 7 น้ำหนักสดเฉลี่ย/ต้น ความสูง จำนวนราก/ต้น ความยาวราก	21
ตารางที่ 8 จำนวนใบ/ต้น ความยาวของใบ ความกว้างของใบ	22

สารบัญภาพ

หน้า

18

ภาพที่ 1 ลักษณะการงอกและพัฒนาของต้นอ่อน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Subclass Monocotyledoneae) อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Family Orchidaceae) นับเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดวงศ์หนึ่งในพืชมีดอก (Class Angiospermae) ประกอบด้วยกล้วยไม้ประมาณ 25,000 ชนิด (species) มีทั้งที่ชอบความชุ่มชื้นและที่ทนแล้ง ให้ดอกที่มีสีสันสวยงามแปลกตา มีขนาด รูปร่างและลักษณะหลากหลายมาก (ครรรชิต, 2547 และองค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2543)

กล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมเป็นหนึ่งในกล้วยไม้ที่นิยมปลูกกันแพร่หลายที่สุด ความต้องการทั้งเป็นพืชสำหรับปลูกและพืชตัดดอกมีให้เห็นอยู่ตลอดเวลา มีผู้ให้ความสนใจกับกล้วยไม้สกุลนี้ นอกจากนี้ยังเป็นพืชที่ผู้ปลูกมือสมัครเล่นนิยมปลูก เพราะเป็นสกุลที่ตายยาก ถึงแม้กระนั้นการปลูกให้ได้ผลดีก็เป็นสิ่งที่ทำได้ยากมาก (ปฐพีชล, 2547) กล้วยไม้สกุลนี้มีถิ่นกำเนิดส่วนใหญ่หรือเกือบทั้งหมดอยู่ในทวีปเอเชีย มีประมาณ 50 ชนิด พบบริเวณเทือกเขาหิมาลัย เนปาล อินเดีย จีน พม่า ศรีลังกา ไทย กลุ่มอินโดจีน มาเลเซีย บรูไน ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย หมู่เกาะคาบสมุทรมลายู และบางชนิดไปขึ้นอยู่ในออสเตรเลีย (สารโรจน์, มปป.) กล้วยไม้สกุลนี้ที่เป็นพืชพื้นเมืองภาคใต้ของประเทศไทย เช่น กะระกะร่อน (*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) กะระกะร่อนก้ามข้าว, กะระกะร่อนสองสี (ชื่อพื้นเมือง) (*C. bicolor* Lindl.) กะระกะร่อนปากแดง (*C. dayanum* Rehb. F.) จุหลอน, นางคำ (*C. ensifolium* (L.) Sw.) กะระกะร่อนปากเป็ด (*C. finlaysonianum* Lindl) เป็นต้น (สกลิต, 2545)

กล้วยไม้ไทยหรือกล้วยไม้ที่ได้จากป่าของประเทศไทยมักออกดอกปีละครั้งเป็นส่วนใหญ่ ดอกมีความสวยงามเฉพาะตัวซึ่งเป็นจุดดึงดูดสำหรับผู้ที่ยื่นชอบและเป็นนักสะสมกล้วยไม้ โดยสามารถนำต้นมาปลูกเลี้ยงภายในบริเวณอาคารบ้านเรือนได้โดยไม่ใช้พื้นที่มากนัก และยังสามารถปลูกเป็นการค้าทั้งขายต้นและตัดดอก คุณลักษณะเหล่านี้ทำให้กล้วยไม้จำนวนมากทยอยหลากหลายชนิดได้ถูกนำออกมาจากป่าเพื่อการค้า เพื่อปลูกไว้ดูเล่นและเพื่อการศึกษาวิจัย (ปฐพีชล, 2547) นับได้ว่าจุดนี้เป็นจุดเริ่มต้นที่ทำให้ประชากรกล้วยไม้ลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะกล้วยไม้ที่เป็นที่ต้องการของตลาด จึงได้มีการศึกษาหาวิธีขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลนี้ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนต้นพันธุ์จำนวนมากกลับสู่ธรรมชาติต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการพัฒนาของเมล็ด ไปเป็นต้นของกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.)
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ
3. เพื่อเป็นแนวทางในการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) เพื่อปลูกคืนสู่สภาพธรรมชาติในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาการพัฒนาของเมล็ดและความสัมพันธ์ของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม

1.4 นิยามศัพท์ / ตัวแปร

ซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.), การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue culture, *in vitro*)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทราบการพัฒนาของเมล็ด ไปเป็นต้นของกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.)
2. เพื่อทราบถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ
3. สามารถนำกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ปลูกคืนสู่สภาพธรรมชาติได้
4. ทำให้สภาพธรรมชาติมีความสมดุล และมีความสวยงามเหมาะสมที่จะใช้เป็นแหล่งท่องเที่ยวต่อไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Subclass Monocotyledoneae) อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Family Orchidaceae) นับเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดวงศ์หนึ่งในพืชมีดอก (Class Angiospermae) ประกอบด้วยกล้วยไม้ประมาณ 25,000 ชนิด (species) เจริญเติบโตได้ในทุกทวีปยกเว้นทวีปแอนตาร์กติก (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2543 และ ออบันท์, 2543) รูปแบบการเจริญเติบโตมีหลายแบบ เช่น เจริญเติบโตบนกิ่งไม้ พื้นหิน พื้นดิน และที่ชื้นแฉะ ความแตกต่างของชนิดกล้วยไม้จะพบมากในเขตร้อน (tropic) และมักเป็นกล้วยไม้

อากาศ (epiphyte) ส่วนกล้วยไม้เขตอบอุ่น (temperate) มักเป็นพวกกล้วยไม้ดิน (terrestrial) (ครรรชิต, 2547) นักพฤกษศาสตร์ได้จัดจำแนกวงศ์กล้วยไม้เป็นวงศ์ย่อย (Subfamily) ในระบบต่างๆ กัน ยกตัวอย่างในระบบของ R. L. Dressler (1981, 1990) ได้จัดจำแนกวงศ์กล้วยไม้เป็นวงศ์ย่อย (Subfamily) 6 วงศ์ย่อย (ออบันท์, 2543) ได้แก่

1. Apostasioideae เป็นกล้วยไม้ดิน กลีบเลี้ยงและกลีบดอกคล้ายกัน ไม่มีกลีบปากที่แตกต่างจากกลีบอื่น เกสรเพศผู้ (stamen) มีจำนวน 3 หรือ 2 อัน เรณูเป็นวง ยอดเกสรเพศเมียมีก้านชูและภายในรังไข่ยังแยกเป็น 3 ช่อง (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2543) มี 2 สกุล คือ *Apostasia* และ *Neuwiedia* (ครรรชิต, 2547)

2. Cypripedioideae เป็นกล้วยไม้ดิน กลีบเลี้ยงด้านข้างเชื่อมติดกันเป็นอันเดียว กลีบปากเป็นตุ่มคล้ายหั่วรองเท้า และมีเกสรเพศผู้ 2 อัน อยู่ด้านข้างของเกสรเพศผู้ที่เป็นหมันซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่น (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2543 และ ออบันท์, 2543) ละอองเรณูเหนียวจับเป็นกลุ่ม มี 4 สกุล คือ *Cypripedium*, สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*), *Phragmipedium* และ *Selenipedium* (อุไร, 2544)

3. Neottioideae เป็นกล้วยไม้ดิน มีเหง้าทอดไปตามผิวดินหรือใต้ดิน หรือมีรากสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน ใบบาง เกสรเพศผู้มี 1 อัน ผนังฝาปิดอับเรณูไม่หลุดร่วง กลุ่มละอองเรณูจับเป็นก้อนมีลักษณะอ่อน ยึดติดกับ viscidium และ rostellum มักจะยึดตัวยาว ไม่มีกล้วยไม้ไทยและลูกผสมที่ปลูกเลี้ยงในประเทศไทยอยู่ในวงศ์ย่อยนี้ (ครรรชิต, 2547)

4. Orchidioideae มีลักษณะใกล้เคียงกับวงศ์ย่อย Neottioideae แต่กลุ่มละอองเรณูมี stipe ไปยึดติดกับ viscidium ส่วนปลายของ rostellum มักจะยึดตัวอยู่ระหว่าง pollinium และ stigma (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2543 และ ออบันท์, 2543) มีกล้วยไม้หลายสกุลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสำหรับประเทศไทย อาทิ สกุลวนิลา สกุลต่างๆ ในกลุ่มแคทลียา สกุลหวาย เป็นต้น (ครรรชิต, 2547)

5. Epidendroideae กล้วยไม้ที่มีลักษณะของต้นและใบหลากหลายแบบ มีเกสรเพศผู้ 1 อัน operculum ร่วงหลุดไปเมื่อเจริญเต็มที่ pollinium จับเป็นก้อนแน่นแต่ไม่แข็ง ส่วนใหญ่ไม่มี stipe กล้วยไม้ในวงศ์ย่อยนี้มีทั้งกล้วยไม้อิงอาศัยและกล้วยไม้ดิน การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Vandoideae กล้วยไม้ที่มีลักษณะต้น ใบ และจำนวนเกสรเพศผู้คล้ายวงศ์ย่อย Epidendroideae แต่ pollinium ค่อนข้างเหนียวหรือแข็ง มี stipe และ viscidium ส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยมากกว่าพวกที่เป็นกล้วยไม้ดิน (สลิต, 2545) มี 4 เผ่า แต่เผ่าที่มีกล้วยไม้ไทยมี 2 เผ่า คือ เผ่า Vandae เป็นเผ่าเดียวที่มีลำต้นเดี่ยว ไม่มีการแตกกอ (monopodial) ใบอวบหนา และมีรากขนาดใหญ่ที่สุด ได้แก่ สกุลพญาไร้ใบ (*Chiloschista*) สกุลม้าวิ่ง (*Doritis*) สกุลช้าง (*Rhynchostylis*) สกุลแวนด้า (*Vanda*) สกุลแวนคอปซิส (*Vandopsis*) เป็นต้น และเผ่า Cymbideae อาทิ สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium*) สกุลแกรมมาโตฟิลลัม (*Grammatophyllum*) สกุลออนซิเดียม (*Oncidium*) (ครรชิต, 2547)

ลักษณะทั่วไป กล้วยไม้ซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.)

วงศ์ : Orchidaceae (วงศ์กล้วยไม้)

สกุล : *Cymbidium* (สกุลซิมบิเดียม)

ที่มาของชื่อสกุล : ชื่อสกุลนี้มาจากภาษากรีกคำว่า kymbos = boat-shaped (มีรูปทรงเหมือนเรือ) ทั้งนี้เนื่องจากกลีบปากของกล้วยไม้ชนิดนี้มีรูปร่างคล้ายเรือ (ไม่รู้เหมือนกันครับว่าฝรั่งคุยงังถึงได้เหมือนเรือ)

ถิ่นกำเนิด : กล้วยไม้สกุล *Cymbidium* พบตั้งแต่ประเทศอินเดีย แถบเชิงเขาหิมาลัย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย ตอนเหนือของออสเตรเลีย

กล้วยไม้สกุล *Cymbidium* นี้มีอยู่ด้วยกันประมาณ 44 ชนิด แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

- พวกที่ขึ้นเกาะอาศัยตามต้นไม้ กลุ่มนี้มีดอกขนาดเล็ก สีล้วน ไม่ค่อยสะดุดตา ช่อดอกห้อยลง ใบหนา และแข็ง ทนต่ออากาศร้อนได้ดี เพราะขึ้นอยู่ตามพื้นราบสูงจากระดับน้ำทะเลไม่มากนัก เช่น กะระกอร่อน ซึ่งพบขึ้นเกาะตามต้นตาลแถบจังหวัดเพชรบุรี

- พวกที่ขึ้นอยู่ตามพื้นดิน กลุ่มนี้มีดอกขนาดใหญ่สะดุดตา ช่อดอกตั้งขึ้น ใบเรียวยาว เนื้อใบบางกว่าพวกแรก ดูเหมือนใบตะไคร้ใบหญ้า ไม่ทนต่ออากาศร้อน แต่ชอบอากาศเย็น เพราะขึ้นอยู่ตามคอยสูง ฝรั่งนำเอาซิมบิเดียมกลุ่มนี้ไปผสมพันธุ์จนได้ลูกผสมสวยงาม ดอกใหญ่ จำนวนมาก ใช้เป็นไม้ตัดดอกและปลูกดูดอก กลุ่มนี้เช่น เอื้องลำเภางาม ที่พบแถบภูหลวง ภูกระดึง เป็นต้น (สลิต, 2545)

เมล็ดและการเจริญเติบโตของเมล็ด

1. ลักษณะของเมล็ด

เมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก เป็นผงละเอียดคล้ายฝุ่น อยู่ในฝักซึ่งมีลักษณะกลมยาวหรือป่องกลางในฝักหนึ่งๆ มีเมล็ดได้ตั้งแต่เพียงไม่กี่เมล็ด ไปจนถึงนับหมื่นนับแสนเมล็ดขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้และพันธุกรรมของต้นแม่และต้นพ่อ เมล็ดที่สมบูรณ์จะมีลักษณะป่องกลางและมีสีเข้ม ตรงกลางของเมล็ดคือคัพภะ (embryo) มีสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน เมล็ดที่ไม่สมบูรณ์หรือเมล็ดลีบจะมีลักษณะเรียวยาวตลอด ไม่เอกลักษณะเป็นเอกลักษณะที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับญาติเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษา ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีคัพภะ หรือมีแต่ขนาดเล็กว่่าปกติ ภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสม (ชาวลิต, 2542) จากการวิเคราะห์ ส่วนประกอบของเมล็ด *Cymbidium* พบว่ามีไขมัน 32% น้ำตาล 1% แต่ไม่พบแป้ง (Arditti, 1968)

2. การงอกของเมล็ด

การงอกของเมล็ดกล้วยไม้แตกต่างจากการงอกของการงอกของเมล็ดชนิดอื่น โดยการงอกของเมล็ดกล้วยไม้คล้ายกับการพัฒนาของตา (bud) ที่พักตัวอยู่ เมื่อเมล็ดได้รับสภาพที่เหมาะสมจะมีการสะสมอาหาร คัพภะมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน มีขนาดใหญ่ขึ้น (อบฉันท, 2543) แต่เมล็ดกล้วยไม้บางส่วนไม่สามารถงอกได้เอง เนื่องจากไม่มีอาหารสะสมและขาดคลอโรฟิลล์ในคัพภะ ดังนั้นจึงต้องอาศัยอาหารจากภายนอกมาช่วยในการพัฒนาการงอกของเมล็ด อาจเกิดได้ทั้งในสภาพธรรมชาติและในอาหารสังเคราะห์ ดังนี้

1. Symbiosis Germination เป็นการงอกของเมล็ดตามธรรมชาติ ซึ่งต้องอาศัยเชื้อราบางชนิดที่อยู่บริเวณรากกล้วยไม้ (mycorrhiza หรือ root fungus) ช่วยนำธาตุอาหารจากสิ่งแวดล้อมภายนอกเข้าไปในเซลล์ของรากพืช โดยเชื้อราเหล่านี้จะงอกเส้นใยเข้าไปในเมล็ดกล้วยไม้ ในเส้นใยจะมีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ด เมล็ดจะย่อยสลายเส้นใย นำธาตุอาหารไปใช้ ทำให้งอกได้

2. Asymbiosis Germination เป็นการงอกของเมล็ดที่ไม่ต้องอาศัยเชื้อราประเภท mycorrhiza เมล็ดสามารถงอกได้ดี เมื่อเพาะในอาหารสังเคราะห์ที่มีสภาพเหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด (จิตราพรธม, 2540)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น ใบ ตายอด ตาข้าง เนื้อเยื่อหรือเซลล์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังต้องทำการเพาะเลี้ยงในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และในสภาวะที่ควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้น ซึ่งชิ้นส่วนของพืชดังกล่าวจะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปในรูปแบบต่างๆ เช่น เกิดเป็นยอด เกิดเป็นราก เกิดเป็นเอ็มบริโอ หรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า “แคลลัส” ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์จำนวนมากได้

หลักการสำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ต้องทำในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์กล่าวคือ ทุกขั้นตอนต้องปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยขั้นตอนในการทำงานจะเริ่มจากการฟอกฆ่าเชื้อที่ชิ้นส่วนพืชแล้วตัดเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการนำมาวางเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองหรือขวดแก้วที่บรรจุอาหารสังเคราะห์ซึ่งได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วเช่นกัน ขวดเพาะเลี้ยงนี้จะถูกนำไปวางเลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมสภาวะต่างๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ให้เป็นไปตามที่ต้นพืชต้องการ ชิ้นส่วนของพืชจะได้รับแร่ธาตุและสารอาหารจากอาหารสังเคราะห์และเจริญเติบโตต่อไป ซึ่งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชนี้สามารถควบคุมได้โดยการเลือกใช้สารอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เช่น ฮอร์โมนพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยงว่าต้องการให้ชิ้นส่วนนั้นเจริญไปเป็นส่วนตัว เช่น ถ้าต้องการให้เจริญไปเป็นต้นกล้า ต้นก็สามารถทำการชักนำโดยใช้ฮอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) หากต้องการให้เกิดรากอาจใช้ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (Auxin) หรืออาจจะใช้ฮอร์โมนหลายๆ ชนิดรวมกัน (คิวพงศ์, 2546 และ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า อรดี, 2539)

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นการนำเมล็ดจากฝักหรือผลกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ในสภาพปลอดเชื้อ (ประศาสตร์, 2538) ดังนั้นการเจริญเติบโตของเมล็ดจึงมีความสัมพันธ์กับอาหารของเนื้อเยื่อ ซึ่งความต้องการอาหารของเนื้อเยื่อจึงแตกต่างไปจากความต้องการของต้นพืชทั้งต้น องค์ประกอบอาหารที่จำเป็นประกอบด้วย สารอนินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโต วิตามิน กรดอะมิโน สารอินทรีย์ คาร์โบไฮเดรต น้ำและวุ้น ซึ่งปริมาณและชนิดของสารที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช สำหรับกล้วยไม้สามารถนำมาเพาะเมล็ดและเนื้อเยื่อมาเลี้ยงในอาหารได้หลายสูตร อาทิ สูตร Modified Vacin and Went (1949) , สูตร Knudson C (1946) , สูตร Heller (1953) , สูตร White (1963) (ครรรชิต, 2547 และสิวพงศ์, 2546)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเมล็ดกล้วยไม้และการเจริญเติบโตของต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อ

ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อน มี 3 กลุ่มคือ

1. แร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต (mineral sources) ประกอบด้วย คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) กำมะถัน (S) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) เหล็ก (Fe) คลอรีน (Cl) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) และอลูมิเนียม (Al)

2. สารให้พลังงาน (Energy Sources) ปกติในพืชเป็นสารที่ได้จากขบวนการสังเคราะห์แสง ได้แก่ น้ำตาล ชนิดต่างๆ เช่น sucrose , glucose ซึ่งเหมาะที่สุดสำหรับการงอกและการเจริญของต้นอ่อน น้ำตาลที่ใช้ได้ผลดีรองลงมา คือ fructose (ประศาสตร์, 2538)

ความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้น พบว่าการใช้ความเข้มข้น 0.05 M ช่วยหยุดมีการเจริญเติบโต เมื่อใช้มากถึง 0.1-0.15 M พบว่ารากมีการเจริญดีกว่า ปริมาณน้ำตาลที่นิยมใช้ในสูตรอาหารต่างๆ คือ 20 กรัม/ลิตร (จิตรพรรณ, 2540)

3. สารช่วยการเจริญเติบโต (Growth promoting substance) เป็นสารที่ใส่เพิ่มลงในวุ้นอาหารเพื่อช่วยให้การงอกของเมล็ดเพิ่มขึ้น ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดีขึ้น เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอมบด มันฝรั่งบด น้ำสกัดมันฝรั่ง เนื้อมะเขือเทศบด เห็ดหูหนูบด เป็นต้น (ครรรชิต, 2547 และปฐพีชล, 2547)

สำหรับ กล้วยไม้ต่างๆ ไปแล้วการเพิ่มน้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอมบด และมันฝรั่งบด (หรือน้ำสกัดมันฝรั่ง) ดีที่สุด ไม่จำเป็นต้องเพิ่มสารเร่งการเจริญเติบโต

น้ำมะพร้าว (coconut water) ใช้ในการเพาะเลี้ยงอาหารเพาะเลี้ยงต่างๆ ไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะเริ่มแรกและยังคงใช้อยู่จนปัจจุบัน มีรายงานครั้งแรกจากโอเวอร์บีค (Overbeek) ในปี ค.ศ. 1941 ในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ Datura แคปลิน (Caplin) และสตีวาร์ด (Steward) เพาะเลี้ยงโฟลเอ็ม (phloem) ของหัวผักกาดในปี ค.ศ. 1948 โดยใช้น้ำมะพร้าวและแคเซอินไฮโดรไลเสต เสริมในอาหารแล้วมีผลทำให้เกิดแคลลัสมากกว่าใช้ซีเอทีน อีโนซิทอลแคเซอินไฮโดรไลเสตและ IAA เสียอีก มีการใช้น้ำมะพร้าวอย่างกว้างขวางในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ วินเทอร์ (Withner) ได้ทำการเพาะเลี้ยง Phalaenopsis เป็นครั้งแรกใน ค.ศ. 1961 โดยใช้อาหารของวาซินและเวนต์ (Vacin and Went) และเติมน้ำมะพร้าว 15%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออโรรา เคล โรซารีโอ (1990) ได้กล่าวถึงการนำน้ำมะพร้าวมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชว่า ได้ทำมานานแล้วตั้งแต่ปี ค.ศ. 1952 โดย สตีวาร์ด (Steward) และแคพลิน (Caplin) ได้รายงานว่ น้ำมะพร้าวช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อแครอต และเคลโรซารีโอ (1990) ยังได้รวบรวมผลงานที่กล่าวถึงสารเร่งการเจริญเติบโตที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวว่ามีมากมายหลายชนิด เช่น 1,3-ไดฟีนิลยูเรีย ไมโอ-อินซิทอล ซิลโล-อินซิทอล ซอร์บิทอล สารคล้ายเพียวรีน ซีเอทีน และไซโทโคไนนชนิดอื่นๆ จากนี้ยังพบว่ามีออกซินและจิบเบอเรลลินอยู่ด้วย

นอกจากน้ำมะพร้าวแล้วอาจจะใช้น้ำผลไม้ชนิดอื่นๆ เติมลงในอาหารก็ได้ เช่น น้ำมะเขือเทศ น้ำองุ่น น้ำสับปะรด น้ำมันฝรั่ง กล้วยบด เพื่อให้พืชมีการเจริญที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น น้ำผลไม้จะใช้น้ำความเข้มข้น 50-150 มก./ลิตร (ศิวพงศ์, 2546)

ในมันฝรั่ง มีสารสารพวก polyamine ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มกรดนิวคลีอิก ส่งผลให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ในเนื้อเยื่อพืชให้มีจำนวนมากขึ้น

สำหรับกล้วยนั้นมีโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย (ไฟเบอร์) แคลเซียม เบตาแคโรทีน เหล็ก วิตามิน เอและวิตามิน ซี

นอกจากนี้ ยังมีการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต วิตามิน อื่นๆ หลายชนิด เช่น adenine, nucleic acid, ascorbic acid, Vitamin B, IAA, IBA, NAA (พีระเดช, 2537)

4. วัสดุ (agar) ใส่ลงไปเพื่อให้อาหารแข็ง เมื่อเพาะเมล็ดเมล็ดจะได้ไม่จมน้ำ การใส่วัสดุลงในอาหารต้องใช้ในปริมาณที่พอเหมาะไม่ให้อาหารแข็งจนเกินไป เพราะจะทำให้การดูใช้ธาตุอาหารไม่ดีและรากแทงลงไปไม่ได้

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kazuhiko (1990) การเพาะเลี้ยง *Cymbidium goeringii* Reichenbach fil. ซึ่งนำปลายยอดช่อดอกไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง Murashige and Skoog (MS medium) ที่เพิ่มสาร N⁶-benzyladenine (BA) และ α -naphthaleneacetic acid (NAA) พบว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง MS ซึ่งเติม 0.1 mg l⁻¹ BA และ 10 mg l⁻¹ NAA เป็นเวลา 107 วัน เนื้อเยื่อเริ่มขยายตัว มีการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์และมีการแตกหน่อได้ดีที่สุด

Chen et al., (1995) และ Zhang and Ou (1995) เมล็ด *Cymbidium Cinense* สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารสูตรดัดแปลง MS หรือ ½ MS โดยพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม (protocorms) ภายใน 3-4 เดือน ซึ่งน้ำมะพร้าวมีผลต่อการเจริญเติบโตของเมล็ด และโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นปลายยอดได้

Chang et al. (2005) ฝักของ *Cymbidium dayanum* หลังการจากผสมเกสร 12 เดือน นำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย 2% NaOCl และหยด Tween 20 นาน 15 นาที แล้วนำเมล็ดไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4 MS ซึ่งประกอบด้วย 0.5 mg l⁻¹ niacin, 0.5 mg l⁻¹ pyridoxine HCl, 0.1 mg l⁻¹ thiamine HCl, 100 mg l⁻¹ myo-inositol, 1 g l⁻¹ peptone, 20 g l⁻¹ น้ำตาลทราย, 2 g l⁻¹ ผงถ่านกัมมันต์ และ 50 g l⁻¹ กล้วยบด พบว่าเอมบริโอเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มขยายตัวในระยะเวลา 1 เดือน และเมื่อครบ 2 เดือน เปลือกหุ้มเมล็ดเริ่มหลุด เริ่มมีลักษณะคล้ายราก ตาพัฒนาเป็นยอด จนกระทั่งเมล็ดพัฒนาเป็นต้นอ่อนจากโปรโตคอร์ัม

Nayak et al. (1998) เมล็ด *Cymbidium aloifolium* พัฒนาเป็นโปรโตคอร์ัมภายใน 15-18 วันหลังการเพาะเมล็ด และพัฒนาเป็น rhizome ภายใน 2-3 เดือน แล้วหลังจากนั้น 8 สัปดาห์ได้พัฒนาเป็นต้นอ่อน



บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

1. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาคารปฏิบัติการเกษตร ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ (clean bench) ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room) หม้อนึ่งความดัน (autoclave) เครื่องชั่ง เครื่องแก้ว และอุปกรณ์การเตรียมชิ้นส่วนพืช เป็นต้น
2. อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ตามสูตรอาหาร VW (Vacin and Went, 1949) และสูตรอาหาร KC (Kundaon C, 1946) และใช้ อินทรียัสสาร ได้แก่ น้ำมะพร้าว มันฝรั่ง กลัวยหอม
3. ชิ้นส่วนพืชในการทดลอง

3.2 วิธีการ

การทดลองที่ 1. การศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ

นำฝักกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) คือ กล้วยไม้กะระระร้อนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.), กล้วยไม้กะระระร้อนปากนกแก้ว (*C. lowianum* Rchb.f.) และกล้วยไม้กะระระร้อนปากเปิด (*C. finlaysonianum* Lindl.) ที่มีอายุฝัก 150 200 250 และ 300 วัน มาทำความสะอาดผิวฝักด้วยสบู่เหลว เช็ดผิวฝักด้วยแอลกอฮอล์ 70% นำฝักเข้าสู่ตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คีบฝักจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% นำไปลงบนเปลวไฟ ทำการตัดหัวท้ายปลายฝักออก คีบเมล็ดใส่ขวดน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ใช้หลอดหยดค่อยๆ ควบน้ำผสมเมล็ดค่นลงในขวดวุ้นอาหาร เพื่อศึกษาการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

สูตรการคำนวณค่าดัชนีการเจริญเติบโต

$$\text{Germination index} = \frac{(1b + 2c + 3d) 10}{a + b + c + d}$$

สูตรการคำนวณค่าร้อยละการเจริญเติบโตของเมล็ด

$$\text{Percentage of seed germination} = \frac{100 (b + c + d)}{a + b + c + d}$$

ปัจจัยที่ใช้ในการวัดค่าดัชนีการเจริญเติบโตและค่าร้อยละการเจริญเติบโตของเมล็ด คือ ตั้งแต่เมล็ดไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ นับเป็นดัชนีการเจริญเติบโตที่ระดับ 0 จนกระทั่งเมล็ดมีอัตราการเจริญเติบโต 100% นับเป็นค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่ระดับ 3 โดยได้แบ่งลักษณะการเจริญเติบโต ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Class value	Seed number	Characteristics
0	a	No germination
1	b	Seed containing a greens swollen embryo
2	c	Green embryos rupturing the seed coat
3	d	Embryos completely out of the seed coat

(Pierik *et al.*, 1988)

ทำการบันทึกการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้หลังจากการเพาะเมล็ด เป็นเวลา 2 เดือน ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนออาหารสูตรต่างๆ ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ 2x5 Factor in CRD การทดลองละ 20 ซ้ำ ซึ่งศึกษา 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยแรก ได้แก่ 1. สูตรอาหาร VW

2. สูตรอาหาร KC

ปัจจัยที่สอง คือ สารอินทรีย์ที่เพิ่มชนิดต่างๆ ได้แก่

1. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

2. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร

3. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

4. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

5. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร

โดยบันทึกเป็นระดับคะแนนดังนี้ คือ

ระดับคะแนน 1 เมล็ดกล้วยไม้ไม่มีการเจริญเติบโต

ระดับคะแนน 2 เมล็ดกล้วยไม้ไม่มีการเจริญเติบโตเล็กน้อย

ระดับคะแนน 3 เมล็ดกล้วยไม้ไม่มีการเจริญเติบโตปานกลาง

ระดับคะแนน 4 เมล็ดกล้วยไม้ไม่มีการเจริญเติบโตดี

ระดับคะแนน 5 เมล็ดกล้วยไม้ไม่มีการเจริญเติบโตดีที่สุด

การทดลองที่ 2. การศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ

โดยนำต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) คือ กล้วยไม้กะเรกะร้อนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.), กล้วยไม้กะเรกะร้อนปากนกแก้ว (*C. lowianum* Rchb.f.) และกล้วยไม้กะเรกะร้อนปากเป็ด (*C. finlaysonianum* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว สูตร VW เป็นเวลา 1 เดือนที่มีขนาดต้นอ่อนสูงประมาณ 1 เซนติเมตร มีใบเลี้ยง 1-2 ใบ มาทำการเพาะเลี้ยงเอกสารนเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอาหารสูตรต่างๆ โดยให้พืชได้รับแสง 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ การทดลองแบบ 2x5 Factor in CRD การทดลองละ 20 ซ้ำ ซึ่งศึกษา 2 ปีวิจัย คือ

ปีวิจัยแรก ได้แก่ 1. สูตรอาหาร VW

2. สูตรอาหาร KC

ปีวิจัยที่สอง คือ สารอินทรีย์ที่เพิ่มชนิดต่างๆ ได้แก่

1. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

2. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร

3. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

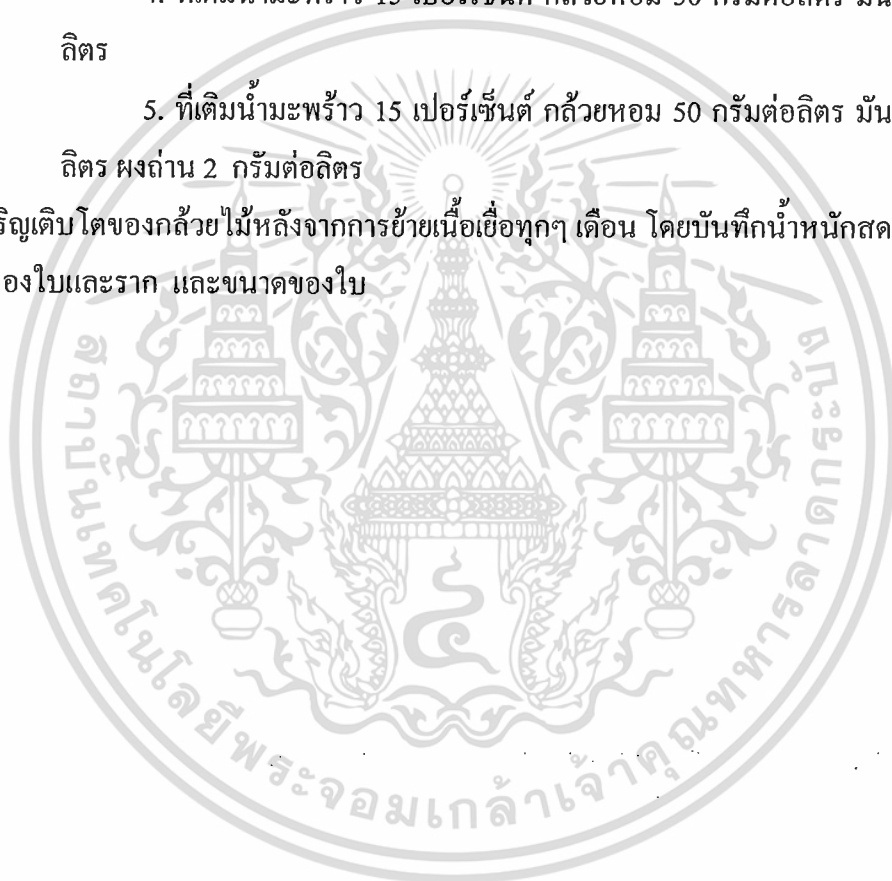
4. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อ

ลิตร

5. ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อ

ลิตร ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร

บันทึกการเจริญเติบโตของกล้วยไม้หลังจากการย้ายเนื้อเยื่อทุกๆ เดือน โดยบันทึกน้ำหนักสดเฉลี่ย ความสูง ต้น จำนวนของใบและราก และขนาดของใบ



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1. การศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาอัตราการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ทั้ง 3 ชนิด โดยนำเมล็ดกล้วยไม้อายุ 150 200 250 และ 300 วัน มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW และ KC ที่มีการเติมอินทรียสารต่างๆ พบว่าฝักกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงจนต้นอ่อนมีใบยอดเห็นได้ชัดเจน 1 ใบ ขึ้นมาด้านบนก่อนโปรโตคอร์ม เป็นเวลา 2 เดือน นั้นได้จากฝักกล้วยไม้ที่มีอายุ 300 วัน มีอัตราการงอกดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับจิตราพรรณ (2536) ที่ว่า อายุฝักอ่อนของกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* sp. ที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงได้ มีอายุฝักอ่อน 280-360 วัน (ตารางที่ 1-4) และพบว่าหลังการเพาะประมาณ 25-30 วัน เมล็ดเริ่มขยายขนาดขึ้น เอมบริโอขยายตัวพองบวมขึ้น แต่เปลือกหุ้มเมล็ดยังไม่หลุดออก โดยเมล็ดเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีเขียวใส หลังจากการเพาะเมล็ดประมาณ 35-45 วัน เมล็ดกล้วยไม้จะงอกต้นเปลือกเมล็ดออกมา มีลักษณะกลม ปลายแหลม มีรากขนอ่อนโอบรอบซึ่งเรียกลักษณะนี้ว่า โปรโตคอร์ม (protocorm) หลังจากการเพาะเมล็ดเป็นเวลาประมาณ 50-60 วัน เอมบริโอจะมีการพัฒนาการเป็นต้นอ่อนที่มีใบยอดเห็นได้ชัดเจน 1 ใบ งอกขึ้นมาทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์ม หลังจากการเพาะเมล็ด 60-85 วัน ต้นอ่อนมีใบยอด 1-2 ใบ และหลังจากการเพาะเมล็ด 80-110 วัน ต้นอ่อนมี 2-3 ใบ และมีรากอย่างน้อย 1 ราก ซึ่งได้จัดแบ่งระดับ Growth Index สำหรับวัดการงอกและพัฒนาการของต้นอ่อนเช่นเดียวกับ Arditti (1968) ในกล้วยไม้ *Cymbidium* sp. (ตารางที่ 5 และภาพที่ 1) ขนาดโปรโตคอร์ม จำนวนใบที่ขึ้นบนก้อนโปรโตคอร์ม และสีของเมล็ด ภายหลังจากเพาะเมล็ด 2 เดือน บนอาหารสูตรต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันมาก โดยมีขนาดโปรโตคอร์มใหญ่ปานกลาง มีจำนวนใบเฉลี่ย 21-30 ใบ/เมล็ด 50 เมล็ด และมีสีเขียว-สีเขียวเข้ม (ตารางที่ 6) ซึ่งสนับสนุนจิตราพรรณ (2536) ที่กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ต่างๆ ไปแล้ว การเพิ่มน้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอมบด และมันฝรั่งบด (หรือน้ำสกัดมันฝรั่ง) ดีที่สุด ไม่จำเป็นต้องเพิ่มสารเร่งการเจริญเติบโต

ตารางที่ 1 ค่าร้อยละการเจริญเติบโตเมล็ด (Percentage of seed germination) ของเมล็ดกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rchb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl. ที่นำมาเพาะได้จนได้ต้นอ่อนมีใบยอดเห็นได้ชัดเจน 1 ใบ ขึ้นมาทางด้านบนของกอนโปรโตคอร์รัม ภายในระยะเวลา 1 เดือน บนอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	Germination Percentage											
	อายุฝัก 150 วัน			อายุฝัก 200 วัน			อายุฝัก 250 วัน			อายุฝัก 300 วัน		
	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³
VW + C	0.0	0.0	0.0	0.6	0.5	0.7	10	11	11	26	20	22
VW + CB	0.0	0.0	0.0	0.5	0.7	0.7	15	17	18	20	22	24
VW + CP	0.0	0.0	0.0	0.7	0.9	0.6	17	17	18	23	30	29
VW + CBP	0.0	0.0	0.0	0.6	0.8	0.8	14	13	14	21	27	24
VW + CBPAC	0.0	0.0	0.0	0.9	0.9	0.8	18	15	20	27	27	28
KC + C	0.0	0.0	0.0	0.7	0.6	0.5	13	13	14	22	22	30
KC + CB	0.0	0.0	0.0	0.6	0.7	0.8	18	19	18	23	27	24
KC + CP	0.0	0.0	0.0	0.7	0.6	0.8	19	20	18	26	25	28
KC + CBP	0.0	0.0	0.0	0.8	0.7	0.7	15	16	18	24	27	26
KC + CBPAC	0.0	0.0	0.0	0.9	0.8	0.8	19	19	18	25	30	29
F-test				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)				31.47	26.89	29.88	11.23	8.90	10.41	22.24	25.73	19.90

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละการเจริญเติบโตเมล็ด (Percentage of seed germination) ของเมล็ดกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rchb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl. ที่นำมาเพาะได้จนได้ต้นอ่อนมีใบยอดเห็นได้ชัดเจน 1 ใบ ขึ้นมาทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์ัม ภายในระยะเวลา 2 เดือน บนอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	Germination Percentage											
	อายุฟัก 150 วัน			อายุฟัก 200 วัน			อายุฟัก 250 วัน			อายุฟัก 300 วัน		
	<i>C. bic</i> ^u	<i>C. low</i> ^z	<i>C. fin</i> ^z	<i>C. bic</i> ^u	<i>C. low</i> ^z	<i>C. fin</i> ^z	<i>C. bic</i> ^u	<i>C. low</i> ^z	<i>C. fin</i> ^z	<i>C. bic</i> ^u	<i>C. low</i> ^z	<i>C. fin</i> ^z
VW + C	0.0	0.0	0.0	18	20	20	41	39	41	91	90	89
VW + CB	0.0	0.0	0.0	22	25	23	47	42	46	93	91	90
VW + CP	0.0	0.0	0.0	25	24	26	49	46	45	92	92	95
VW + CBP	0.0	0.0	0.0	26	28	24	49	45	44	90	89	94
VW + CBPAC	0.0	0.0	0.0	27	25	25	50	45	47	95	90	96
KC + C	0.0	0.0	0.0	28	22	26	52	44	46	93	90	95
KC + CB	0.0	0.0	0.0	29	29	24	51	42	45	94	87	96
KC + CP	0.0	0.0	0.0	29	27	28	49	48	47	94	89	95
KC + CBP	0.0	0.0	0.0	26	25	27	47	47	45	92	90	94
KC + CBPAC	0.0	0.0	0.0	29	29	29	50	51	49	95	92	96
F-test				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)				21.89	23.45	20.71	8.66	11.29	10.86	9.58	9.78	8.79

ตารางที่ 3 ค่าดัชนีการเจริญเติบโต (Germination index) ของกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rchb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl. ที่นำมาเพาะได้จนได้ต้นอ่อน มีใบยอดเห็นได้ชัดเจน 1 ใบ ขึ้นมาทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์ม ภายในระยะเวลา 1 เดือน บนอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	Germination index											
	อายุฟัก 150 วัน			อายุฟัก 200 วัน			อายุฟัก 250 วัน			อายุฟัก 300 วัน		
	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³	<i>C. bic</i> ¹	<i>C. low</i> ²	<i>C. fin</i> ³
VW + C	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.10	0.11	0.11	0.26	0.19	0.21
VW + CB	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.16	0.17	0.18	0.30	0.32	0.34
VW + CP	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.17	0.18	0.18	0.34	0.34	0.36
VW + CBP	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.14	0.13	0.14	0.31	0.35	0.34
VW + CBPAC	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.18	0.16	0.17	0.35	0.37	0.38
KC + C	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.14	0.13	0.14	0.32	0.32	0.30
KC + CB	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.18	0.19	0.18	0.33	0.37	0.34
KC + CP	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.18	0.17	0.18	0.35	0.35	0.38
KC + CBP	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.15	0.16	0.18	0.34	0.34	0.36
KC + CBPAC	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.19	0.18	0.18	0.37	0.39	0.39
F-test							ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)							11.23	8.90	10.41	18.24	15.73	14.90

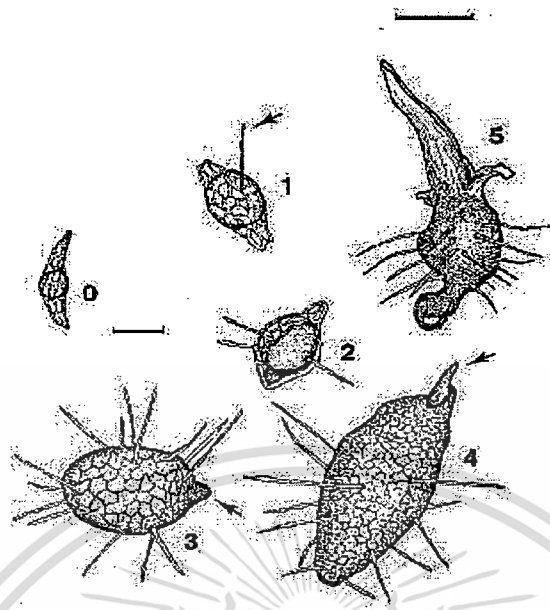
ตารางที่ 4 ค่าดัชนีการเจริญเติบโต (Germination index) ของกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rehb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl. ที่นำมาเพาะได้จนได้ต้นอ่อน มีใบยอดเห็นได้ชัดเจน 1 ใบ ขึ้นมาทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์รัม ภายในระยะเวลา 2 เดือน บนอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	Germination index ¹¹											
	อายุฟัก 150 วัน			อายุฟัก 200 วัน			อายุฟัก 250 วัน			อายุฟัก 300 วัน		
	<i>C. bic</i> ²¹	<i>C. low</i> ³¹	<i>C. fin</i> ⁴¹	<i>C. bic</i> ¹¹	<i>C. low</i> ²¹	<i>C. fin</i> ³¹	<i>C. bic</i> ¹¹	<i>C. low</i> ²¹	<i>C. fin</i> ³¹	<i>C. bic</i> ¹¹	<i>C. low</i> ²¹	<i>C. fin</i> ³¹
VW + C ⁵¹	0.0	0.0	0.0	0.45	0.46	0.43	12.34	13.42	12.59	32.18	32.20	31.05
VW + CB ⁶¹	0.0	0.0	0.0	0.51	0.52	0.49	15.61	15.62	16.25	32.00	33.98	32.11
VW + CP ⁷¹	0.0	0.0	0.0	0.50	0.54	0.47	17.56	17.51	17.22	32.39	34.26	34.00
VW + CBP ⁸¹	0.0	0.0	0.0	0.48	0.56	0.46	16.49	16.39	16.59	33.48	33.96	33.28
VW + CBPAC ⁹¹	0.0	0.0	0.0	0.52	0.56	0.48	17.83	17.89	17.99	37.77	33.28	34.19
KC + C	0.0	0.0	0.0	0.48	0.53	0.47	18.461	18.12	18.01	36.59	34.20	35.26
KC + CB	0.0	0.0	0.0	0.49	0.54	0.46	17.63	17.26	17.26	36.03	34.01	34.02
KC + CP	0.0	0.0	0.0	0.47	0.53	0.48	19.10	16.99	18.09	35.08	35.16	33.56
KC + CBP	0.0	0.0	0.0	0.49	0.57	0.46	18.11	17.10	19.04	32.89	33.92	34.08
KC + CBPAC	0.0	0.0	0.0	0.52	0.59	0.47	17.23	18.11	19.31	35.12	37.12	34.26
F-test				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)				12.38	18.01	16.38	5.98	9.16	6.33	9.08	8.31	13.10

- 1/ ตัวเลขที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's multiple rang test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
- ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์
- 2/ *C. bicolor* Lindl.
- 3/ *C. lowianum* Rchb.f.
- 4/ *C. finlaysonianum* Lindl.
- 5/ C = 15% coconut water
- 6/ CB = 15% coconut water + 50 g/l banana
- 7/ CP = 15% coconut water + 50 g/l potato
- 8/ CBP = 15% coconut water + 50 g/l banana + 50 g/l potato
- 9/ CBPAC = 15% coconut water + 50 g/l banana + 50 g/l potato + 2 g/l activated charcoal

ตารางที่ 5 การงอกและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rchb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl.

ระยะเวลา หลังการเพาะ (วัน)	Growth Index	ลักษณะเมล็ดหรือต้นอ่อน
20-25	1	เมล็ดสมบูรณ์ แต่ยังไม่งอก
25-35	2	เมล็ดขยายขนาดจากเดิม 5-10 เท่า โดยคัพภะ (embryo) เริ่มขยายขึ้นอาจมีหรือไม่มีสีเขียวของคลอโรฟิลล์และจะดันเปลือกเมล็ดแตกออก
35-50	3	คัพภะเจริญเป็นลูกกลม ปลายแหลม มีรากขนอ่อนโดยรอบ
50-60	4	ต้นอ่อน มีใบยอดเห็นได้ชัดเจน 1 ใบ งอกขึ้นมาทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์ม
60-85	5	ต้นอ่อนมีใบยอด 1-2 ใบ
80-100	6	ต้นอ่อนมี 2-3 ใบ และมีรากอย่างน้อย 1 ราก



ภาพที่ 1 ลักษณะการงอกและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Cymbidium* sp. ในสภาพปลอดเชื้อ

- โดย
- 0 : เมล็ดที่ไม่มีการพัฒนาการ
 - 1 : เริ่มมีการพัฒนาการซึ่งมีลักษณะคล้ายรากพืช (rhizoids)
 - 2 : ลักษณะเอมบริโอ (embryo) ขยายตัว
 - 3 : รากเริ่มปรากฏ,
 - 4 : ใบแท้ใบแรกเริ่มปรากฏ,
 - 5 : การขยายตัวของใบแท้และรากเริ่มแตกแขนงออกมา, Scale bar = 1 mm.

ตารางที่ 6 ขนาดโปรโตคอร์ม จำนวนใบทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์ม และสีของเมล็ดกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rchb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl. บนอาหารสูตร VW และ สูตร KC ที่มีการเติมอินทรีย์สารชนิดต่าง ภายหลังจากการเพาะเมล็ด 2 เดือน

สูตรอาหาร ^{1/}	จำนวนใบด้านบน						สี		
	ขนาดโปรโตคอร์ม ^{2/}			ของก้อนโปรโตคอร์ม ^{3/}			<i>C. bic</i> ^{4/}	<i>C. low</i> ^{5/}	<i>C. fin</i> ^{6/}
	<i>C. bic</i> ^{4/}	<i>C. low</i> ^{5/}	<i>C. fin</i> ^{6/}	<i>C. bic</i> ^{4/}	<i>C. low</i> ^{5/}	<i>C. fin</i> ^{6/}			
VW + C	++	++	++	++	++	++	สีเขียว	สีเขียว	สีเขียว
VW + CB	++	++	++	++	++	++	สีเขียวเข้ม	สีเขียว	สีเขียวเข้ม
VW + CP	+++	+++	+++	+++	+++	+++	สีเขียวเข้ม	สีเขียว	สีเขียวเข้ม
VW + CBP	++	++	++	++	++	++	สีเขียวเข้ม	สีเขียว	สีเขียวเข้ม
VW + CBPAC	+++	+++	+++	+++	+++	+++	สีเขียว	สีเขียวเข้ม	สีเขียวเข้ม
KC + C	+++	+++	+++	++	++	++	สีเขียวเข้ม	สีเขียว	สีเขียวเข้ม
KC + CB	+++	+++	+++	+++	+++	+++	สีเขียว	สีเขียวเข้ม	สีเขียวเข้ม
KC + CP	+++	+++	+++	+++	+++	+++	สีเขียวเข้ม	สีเขียว	สีเขียวเข้ม
KC + CBP	+++	+++	+++	+++	+++	+++	สีเขียว	สีเขียวเข้ม	สีเขียว
KC + CBPAC	+++	+++	+++	+++	+++	+++	สีเขียวเข้ม	สีเขียวเข้ม	สีเขียว

- 1/ C = 15% coconut water
 CB = 15% coconut water + 50 g/l banana
 CP = 15% coconut water + 50 g/l potato
 CBP = 15% coconut water + 50 g/l banana + 50 g/l potato
 CBPAC = 15% coconut water + 50 g/l banana + 50 g/l potato + 2 g/l activated charcoal

2/ ขนาดโปรโตคอร์ม

- + ขนาดเล็กมาก
 ++ ขนาดเล็ก
 +++ ขนาดปานกลาง
 ++++ ขนาดใหญ่

3/ จำนวนใบทางด้านบนของก้อนโปรโตคอร์ม

- ไม่มีใบ
 + เฉลี่ย 10-20 ใบ
 ++ เฉลี่ย 21-30 ใบ
 +++ เฉลี่ยมากกว่า 31 ใบ

4/ *C. bicolor* Lindl.

5/ *C. lowianum* Rehb.f.

6/ *C. finlaysonianum* Lindl.

การทดลองที่ 2. การศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ชนิดชิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อนำต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลชิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW เป็นเวลา 1 เดือนที่มีขนาดต้นอ่อนสูงประมาณ 1 เซนติเมตร มีใบเลี้ยง 1-2 ใบ มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW และอาหารสูตร KC ที่เติมอินทรีย์สารต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตร VW + CBPAC และอาหารเพาะเลี้ยงสูตร KC + CP และ KC + CBPAC ให้น้ำหนักสด ความสูง จำนวนใบ ความยาว-ความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวราก เฉลี่ย/ต้น มากใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 7-9)

ตารางที่ 7 น้ำหนักสดเฉลี่ย/ต้น ความสูง จำนวนราก/ต้น และความยาวราก ของกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rchb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl.

สูตรอาหาร ^{1/}	น้ำหนักสด (กรัม) ^{2/}			ความสูง (ซม.) ^{2/}			จำนวนราก/ต้น ^{2/}			ความยาวราก (ซม.) ^{2/}		
	<i>C. bic</i> ^{3/}	<i>C. low</i> ^{4/}	<i>C. fin</i> ^{5/}	<i>C. bic</i> ^{3/}	<i>C. low</i> ^{4/}	<i>C. fin</i> ^{5/}	<i>C. bic</i> ^{3/}	<i>C. low</i> ^{4/}	<i>C. fin</i> ^{5/}	<i>C. bic</i> ^{3/}	<i>C. low</i> ^{4/}	<i>C. fin</i> ^{5/}
VW + C	0.28b	0.29b	0.24b	3.43b	3.82b	3.73b	2.79	3.00	2.90	1.67b	1.80b	1.51b
VW + CB	0.18b	0.26b	0.20b	2.67b	2.68b	3.28b	2.83	2.92	2.70	1.85ab	1.96ab	1.82ab
VW + CP	0.33ab	0.33ab	0.34ab	4.40ab	4.52ab	4.52ab	3.12	3.00	2.67	2.01ab	2.00ab	2.03a
VW + CBP	0.33ab	0.35ab	0.34ab	4.53ab	4.11ab	4.41ab	3.03	3.00	3.05	1.72ab	1.92ab	2.01ab
VW+CBPAC	0.38a	0.39a	0.38ab	4.82ab	4.72ab	4.80a	3.21	3.0	3.05	2.03a	2.07a	2.05a
KC + C	0.30ab	0.32ab	0.31a	4.25b	4.15b	4.30ab	3.20	3.00	3.00	2.02a	2.02a	2.02ab
KC + CB	0.35a	0.34a	0.34ab	4.58ab	4.53ab	4.60ab	2.99	3.04	2.50	1.91ab	2.03a	1.98ab
KC + CP	0.37a	0.38a	0.39ab	4.83a	4.92a	4.85a	3.13	3.05	3.00	2.03a	2.08a	2.03a
KC + CBP	0.34ab	0.35ab	0.31ab	4.58ab	4.58ab	4.58ab	3.15	2.95	2.95	2.02ab	2.06a	2.03a
KC+CBPAC	0.38a	0.39a	0.37a	4.75a	4.95a	4.90a	3.25	3.03	3.02	2.03a	2.06a	2.06a
F-test	*	*	*	*	*	*	ns	ns	ns	*	*	*
C.V.(%)	18.13	16.33	19.78	23.83	29.98	25.69	5.98	9.70	6.55	11.64	22.17	16.55

ตารางที่ 8 จำนวนใบ/ต้น ความยาวของใบ ความกว้างของใบ ของกล้วยไม้ *C. bicolor* Lindl., *C. lowianum* Rchb.f. และ *C. finlaysonianum* Lindl.

สูตรอาหาร ^{1L}	จำนวนใบ/ต้น ^{2L}			ความยาวของใบ (ซม.) ^{2L}			ความกว้างของใบ (ซม.) ^{2L}		
	<i>C. bic</i> ^{3L}	<i>C. low</i> ^{4L}	<i>C. fin</i> ^{5L}	<i>C. bic</i> ^{3L}	<i>C. low</i> ^{4L}	<i>C. fin</i> ^{5L}	<i>C. bic</i> ^{3L}	<i>C. low</i> ^{4L}	<i>C. fin</i> ^{5L}
VW + C	2.50	2.50	2.37	1.80ab	1.98ab	1.32b	0.52b	0.54	0.50b
VW + CB	2.67	3.00	2.83	0.89b	0.97b	0.92b	0.34ab	0.40	0.31b
VW + CP	2.67	3.00	2.83	1.87ab	2.02ab	1.89ab	0.51ab	0.52	0.52ab
VW + CBP	2.69	2.83	2.50	1.87ab	2.03ab	2.00a	0.53ab	0.53	0.54ab
VW+CBPAC	3.15	3.00	3.00	1.89a	2.10a	2.03a	0.57a	0.54	0.55ab
KC + C	2.83	3.00	3.12	1.93ab	2.06a	2.01ab	0.55ab	0.52	0.53ab
KC + CB	3.11	3.05	3.12	1.80ab	2.02a	1.97ab	0.56ab	0.50	0.55a
KC + CP	3.12	3.13	3.12	1.93ab	1.98ab	2.01ab	0.57a	0.53	0.56a
KC + CBP	2.67	2.67	2.50	1.80ab	1.95ab	2.02ab	0.56ab	0.52	0.54ab
KC + CBPAC	3.14	2.50	3.39	2.07a	1.99ab	2.04a	0.58a	0.56	0.57a
F-test	ns	ns	ns	*	*	*	*	ns	*
C.V.(%)	4.30	4.79	5.93	19.61	21.33	19.73	14.17	10.23	12.13

- 1/ C = 15% coconut water
- CB = 15% coconut water + 50 g/l banana
- CP = 15% coconut water + 50 g/l potato
- CBP = 15% coconut water + 50 g/l banana + 50 g/l potato
- CBPAC = 15% coconut water + 50 g/l banana + 50 g/l potato + 2 g/l activated charcoal

2/ ตัวเลขที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's multiple rang test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

3/ *C. bicolor* Lindl.

4/ *C. lowianum* Rchb.f.

5/ *C. finlaysonianum* Lindl.



บทที่ 5

สรุป

การศึกษาอัตราการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.)

พบว่า

1. เมล็ดกล้วยไม้ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW และอาหารสูตร KC ที่เติมอินทรียสารทุกสูตร ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโต และค่าร้อยละการเจริญเติบโตเมล็ดที่เพาะจนได้ต้นอ่อนที่มีใบยอดที่เห็นได้ชัดเจน 1 ใบ ขึ้นบนก้อนโปรโตคอร์ม ภายหลังจากเพาะ 2 เดือน จากฟักที่มีอายุ 300 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2. ขนาดโปรโตคอร์ม จำนวนใบที่ขึ้นบนก้อนโปรโตคอร์ม และสีของเมล็ด ภายหลังจากเพาะเมล็ด 2 เดือน บนอาหารสูตรต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันมาก โดยมีขนาดโปรโตคอร์มใหญ่ปานกลาง มีจำนวนใบเฉลี่ย 21-30 ใบ/เมล็ด 50 เมล็ด และมีสีเขียว-สีเขียวเข้ม

3. เมื่อนำต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium* sp.) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW และอาหารสูตร MS ที่เติมอินทรียสารต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตร VW + CBPAC และอาหารเพาะเลี้ยงสูตร KC + CP และ KC + CBPAC ให้น้ำหนักสด ความสูง จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวราก เฉลี่ย/ต้น มากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 283 น.
- ชวลิต ดาบแก้ว. 2542. การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สำหรับผู้แรกเริ่ม. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 139 น.
- งานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. 2542. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นพื้นฐาน. พิมพ์ครั้งที่ 8. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 117 น.
- จิตรภาพรณ พิถี. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 82 น.
- _____ . 2540. เอกสารประกอบการสอนวิชาวิทยาการกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. มปน.
- ปรัชพิชล วายุอัคคี. 2547. คู่มือกล้วยไม้. เพ็ท-แพลน พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 238 น.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 158 น.
- พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอว์โมนพืชและสารสังเคราะห์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 195 น.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบัน - ราชภัฏอุดรธานี, อุดรธานี. 187 น.
- สลิล สิทธิสังขธรรม และนฤมล กฤษณชาญดี. 2545. คู่มือกล้วยไม้. สารคดี, กรุงเทพฯ. 248 น.
- สาโรจน์ ทรัพย์สุนทร. มปป. ความสุขจากจากกล้วยไม้. ยูไนเต็ด โปรดักชั่น, กรุงเทพฯ. 270 น.
- องค์การสวนพฤกษศาสตร์. 2543. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 6 กล้วยไม้ไทย. โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 291 น.
- อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้เมืองไทย. หน่วยปฏิบัติการวิจัยพรรณไม้ประเทศไทย ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 461 น.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2539. หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 73 น.
- อัญญา จันทร์ปะทิว, ปรีศณี สุขจีบและนายตา มนตรี. 2549. ผลของ Benzyladenine (BA) และสารอินทรีย์บางชนิดต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในสภาพปลอดเชื้อ **ใน เอกสารการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 44.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ. หน้า. 695-702
- Arditti, J. 1968. Germination and growth of orchid on banana fruitbtissue and of its extracys. Amer. Orch. Soc. Bull. 37: 112-116

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Chang, C. and W.C. Chang. 2000: Effect of thidiazuron on bud development of *Cymbidium sinense* Willd. *In vitro*. Plant Growth Regul. 30: 171-175.
- Chang et al., 2005. Protocorm or rhizome?. Plant Growth Regul. 46: 71-74.
- Chen et al., 1995. Observations on the seed development and the root stock formation in *Cymbidium sinense*. In : Rui Chi Pan, Qing Sheng Ye and Choy Sin Hew. 1997. Physiology of *Cymbidium sinense* : a review. Sci Hort. 70: 123-129
- Chiou, C.C. and P. J. Wang. 1985. Seed germination and shoot formation of *Cattleya* and *Cymbidium*. J. Chinese Soc. Hort. Sci. 31: 10-22. (English abstract)
- Chung, J.D., C.K. Chun, and S.O. Choi. 1985. Asymbiotic germination of *Cymbidium ensifolium*. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 26: 186-192. (English abstract)
- Duan, J. Y. and Y. H. Xie. 1983. Germination of seeds of *Cymbidium goeringii* and the effect of hormones on the differentiation of rhizomes. Acta Bot. Yunn. 5: 197-200. (English abstract)
- Ernst, R. 1967. Effect of select organic nutrient additives on growth *in vitro* of *Phalaenopsis* seedlings. Amer. Orch. Soc. Bull. 36: 386-394
- Kazuhiko Shimasaki and Shunpei Uemoto. 1990. Studies on seed germination of *Cymbidium goeringii* Reichenbach fil. Physiol. Plant. 15: 473-497. (English abstract)
- Kongmanee, P. 2001. Study on Seed Germination and Seedling Development of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. *in vitro*. M.S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok.
- Mao Minea, Chitrapan Piluek, Alisara Menakanit and Sureeya Tantiwiwat. 2004. A Study on seed Germination and Seedling Development of *Spathoglottis* Bl. Orchids. M.S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-479.
- Nagashima, T. 1982. Studies on the seed germination and embryogenesis in the *Cymbidium goeringii* Rehb. F. and *Paphiopedilum insigne* var. *sanderæ* Rehb. F. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51: 94-105. (English abstract)
- Nayak, N.R., P.K. Chasd, S.P. Rath, and S.N. Patsaik. 1998. Influence of some plant grow regulators on the growth and organogenesis of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. seed derived rhizomes *in vitro*. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 34: 185-188.
- Paek, K.Y. and E.C. Yeung. 1991. The effects of 1-naphthaleneacetic acid and N⁶-benzyladenine on the growth of *Cymbidium forrestii* rhizomes *in vitro*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 24: 65-71.

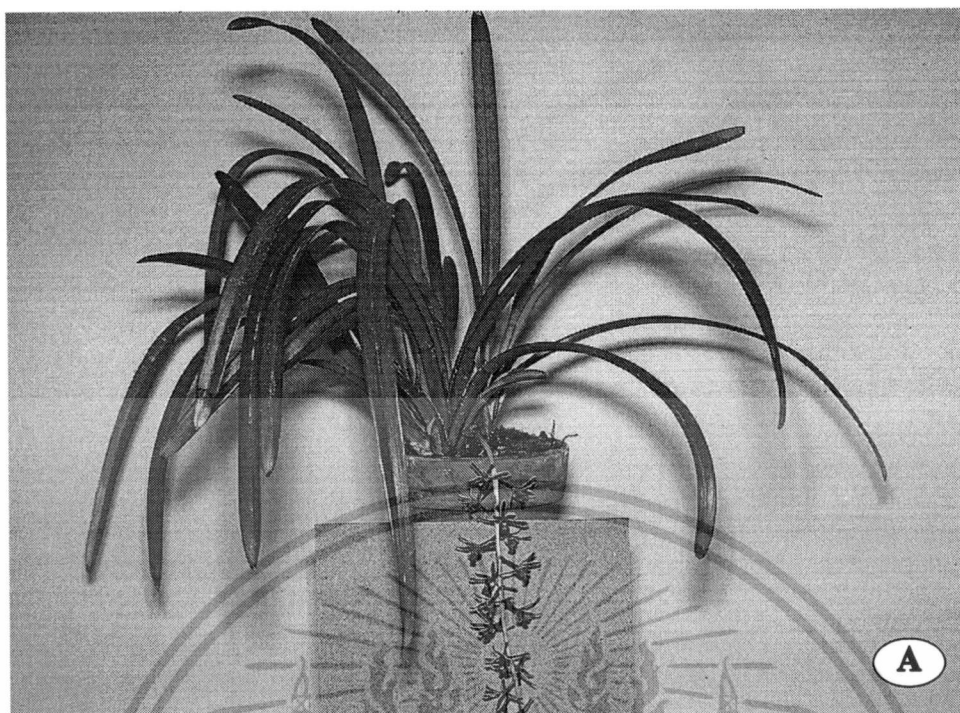
- Pierik, R. L. M., P.A. Sprankels., B. Van Der Harst and Q.G. Van Der Meys. 1988. Seedgermination and further development of plantlets of *Paphiopedium ciliolare* Pfitz. In vitro. Sci Hort. 34: 139-153
- Shimasaki, K. and S. Uemoto. 1987. Comparative organogenesis between terrestrial and epiphytic cymbidium-spp. J. Faculty Agri. Kyushu Univ. 32: 31-40.
- Shimasaki, K. and S. Uemoto. 1991. Rhizome induction and plantlet regeneration of *Cymbidium goeringii* from flower bud cultures *in vitro*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 25: 49-52.
- Zhang, Z.S., Ou, X.J., 1995. Tissue culture of *Cymbidium sinense*. In : Physiology of *Cymbidium sinense* : a review. 1997. Sci Hort. 70: 123-129



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสี(*C. bicolor* Lindl.)

A : ลักษณะลำต้น

B : ลักษณะดอกและการเรียงตัวของดอก

C : ลักษณะฝัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารทสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้กระแจะร้อนปากนกแก้ว (*C. lowionnum* Rchb.f.)

A : ลักษณะลำต้น

B : ลักษณะดอกและการเรียงตัวของดอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C : ลักษณะฝักอ่อน

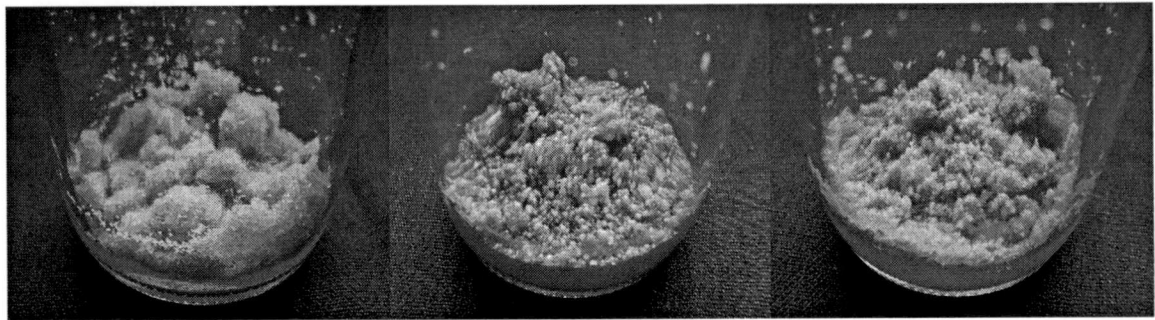


ภาพภาคผนวกที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้กระร่อนปากเปิด (*C. finlaysonianum* Lindl.)

A : ลักษณะลำต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

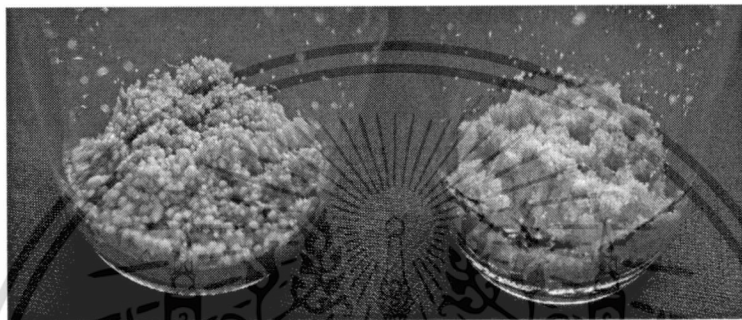
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น C : ลักษณะฝักอ่อน และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



KC+C

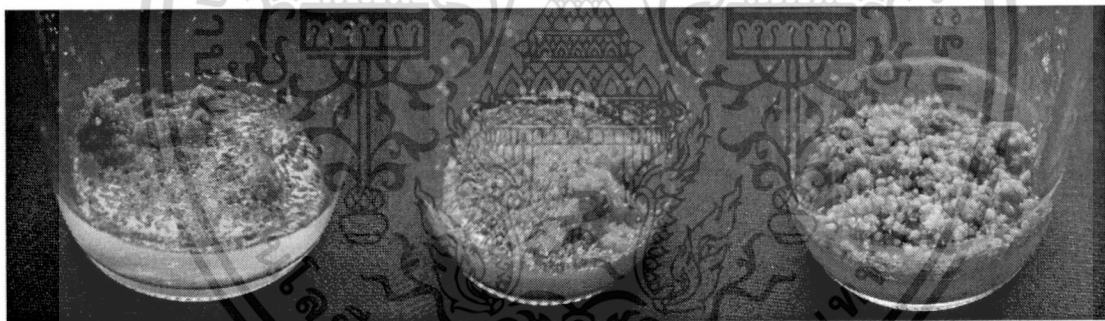
KC+CB

KC+CP



KC+CBP

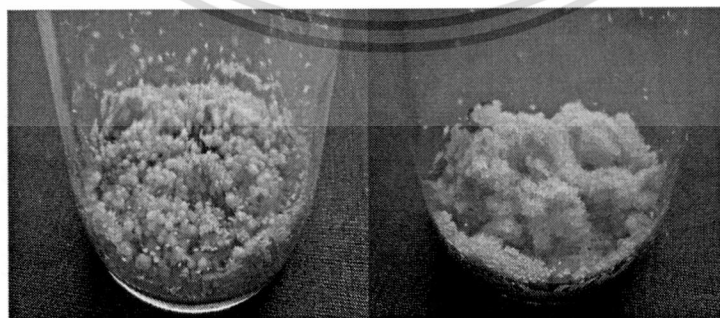
KC+CBPAC



VW+C

VW+CB

VW+CP



VW+CBP

VW+CBPAC

ภาพภาคผนวกที่ 4 ก้อนโปรโตคอร์ัมของกล้วยไม้ *Cymbidium* sp. บนอาหารสูตร VW และ สูตร KC เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าที่มีการเติม อินทรีย์สารชนิดต่าง ภายหลังจากการเพาะเมล็ด 2 เดือน ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้