

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อการเพาะเลี้ยง
ชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอดเชื้อ

EFFECT OF MS MEDIUM SUPPLEMENT WITH SOME PLANT GROWTH REGULATORS
ON LEAF CULTURE OF *PAPHIOPEDIME CONCOLOR*. EX BELUME IN VITRO



โดย

นายณัฐภูมิ ร่วมโพธิ์ชัย

นางสาวนทีกานต์ เหล็กพิมาย

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....120135
วัน, เดือน, ปี.....6.ก.พ. 2555

b. 120135
i.

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตรบัณฑิต
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ
ปีการศึกษา 2553

ชื่อเรื่อง

ผลของอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอดเชื้อ

EFFECT OF MS MEDIAM SUPPLEMENT WITH SOME PLANT GROWTH REGURATORS ON LEAF CULTURE OF *PAPHIOPEDIUME CONCOLOR. EX BELUME IN VITRO*

ชื่อ - สกุล

นายณัฐภูมิ ร่มโพธิ์ชัย
นางสาวนทีกานต์ เหล็กพิมาย

หลักสูตร

ค.อ.บ. (เทคโนโลยีการเกษตร – การผลิตพืช) สาขาวิชา วิศวกรรมเกษตร

คณะ

วิศวกรรมศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์สุเมธ ศรีศักดิ์ศรี

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง แบ่งเป็น 2 การทดลอง แต่ละการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD ประกอบด้วย 15 Treatments แต่ละ Treatments มีจำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 4 ชั้น

การทดลองที่ 1 นำชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหาร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบมากที่สุด คือ 33.33 เปอร์เซ็นต์ และมีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบมากที่สุด คือ 1.33 คะแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 นำชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบมากที่สุดคือ 16.66 เปอร์เซ็นต์ และมีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบมากที่สุดคือ 1.16 คะแนน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อาจารย์สุเมธ ตรีศักดิ์ศรี อาจารย์ที่ปรึกษา ปัญหาพิเศษ ที่ได้กรุณาเสียสละเวลา กำลังทรัพย์และกำลังกายกำลังใจ พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะ ติดตามแก้ไขปัญหา และข้อผิดพลาดต่างๆ ในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ จนทำให้ปัญหาพิเศษ สำเร็จลงได้เป็นอย่างดี จึงขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตรทุกท่านที่ช่วยเหลือและ อำนวยความสะดวกในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้

ขอขอบใจเพื่อน ๆ และน้อง ๆ สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร ทุกคนที่ให้การช่วยเหลือ และ กำลังใจในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ครอบครัว ตลอดไปจนถึงผู้มีพระคุณซึ่งเป็นกำลังใจให้ผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ขอมอบให้กับผู้ที่สนใจ ศึกษาด้วยไม่รอน้ำใจทุก ๆ ท่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใดกับงานวิจัยในชิ้นนี้ ผู้วิจัยขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นายณัฐภูมิ ร่มโพธิ์ชี

นางสาวนทีกานต์ เหล็กพิมาย

พฤษภาคม 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	ก
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบของปัญหา.....	2
1.4 ตัวแปรที่ศึกษา.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้องกับกล้วยไม้รองเท้านารี สกุล <i>Paphiopedilum</i>	4
2.1.1 ประวัติและวิวัฒนาการ.....	4
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้รองเท้านารี.....	7
2.1.3 รองเท้านารีเหลืองปราจีน.....	8
2.2 ธาตุอาหารและอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	9
2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต.....	11
2.3.1 ออกซิน.....	11
2.3.2 ไซโตไคนิน.....	12
2.4 การเพาะเลี้ยงแคลลัส.....	13
2.4.1 การกระตุ้นให้เกิดแคลลัส.....	13
2.4.2 ลักษณะภายนอกของแคลลัส.....	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.3 ปัจจัยที่มีบทบาทต่อการเลี้ยงแคลลัส.....	15
2.4.4 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงแคลลัส.....	16
2.5 การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้รองเท้านารีในสภาพปลอดเชื้อ.....	16
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	17
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....	21
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	21
3.2 วิธีการ.....	22
3.2.1 การวางแผนการวิจัย.....	22
3.2.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	24
3.3 สถานที่ทำการวิจัย.....	25
3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย.....	25
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....	26
4.1 ผลการวิจัย.....	26
4.2 วิจารณ์ผล.....	43
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	45
5.1 สรุป.....	45
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	46
บรรณานุกรม.....	47
ภาคผนวก.....	49

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
1	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	30
2	คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA:BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	34
3	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	38
4	คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA:BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	42
ตารางภาคผนวกที่		
1	ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหารเป็นเวลา 1 สัปดาห์.....	50
2	ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหารเป็นเวลา 2 สัปดาห์.....	50
3	ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหารเป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	51
4	ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหาร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	51
5	ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหาร เป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
6 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	52
7 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 7 สัปดาห์.....	53
8 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	53
9 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน ในอาหาร เป็นเวลา 1 สัปดาห์.....	54
10 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน ในอาหาร เป็นเวลา 2 สัปดาห์.....	54
11 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่ ในอาหาร เป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	55
12 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน ในอาหาร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	55
13 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน ในอาหาร เป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	56
14 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน ในอาหาร เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	56
15 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน ในอาหาร เป็นเวลา 7 สัปดาห์.....	57
16 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน อาหาร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

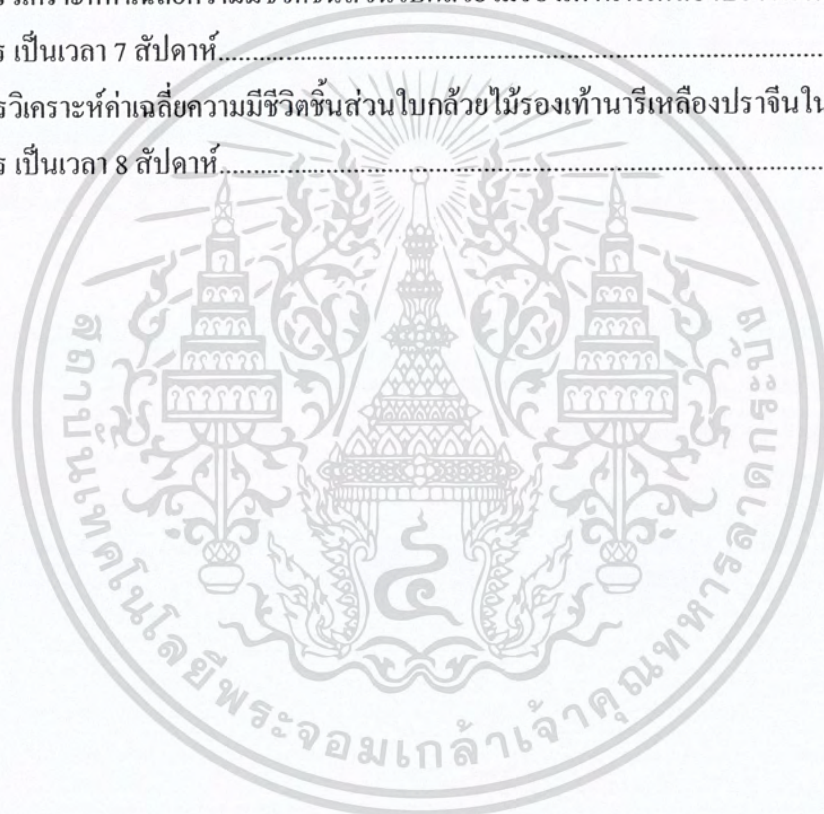
สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
17 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 1 สัปดาห์.....	58
18 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 2 สัปดาห์.....	58
19 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	59
20 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	59
21 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	60
22 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	60
23 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 7 สัปดาห์.....	61
24 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในอาหาร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	61
25 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน ในอาหาร เป็นเวลา 1 สัปดาห์.....	62
26 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน อาหาร เป็นเวลา 2 สัปดาห์.....	62
27 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน อาหาร เป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	63
28 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนใน อาหาร เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
29 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชีวาส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหาร เป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	64
30 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชีวาส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหาร เป็นเวลา 6 สัปดาห์.....	64
31 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชีวาส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหาร เป็นเวลา 7 สัปดาห์.....	65
32 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชีวาส่วนไบโกลูว์ไมร์องเท้านารีเหลืองปราจีนในอาหาร เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	65



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

1 การให้คะแนนลักษณะชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน.....25



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นแหล่งกล้วยไม้เขตร้อนที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก มีกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ ที่ถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทยกว่า 1,000 ชนิด จากจำนวนกล้วยไม้ของโลกที่อยู่ในวงศ์ Orchidaceae ทั้งหมด 796 สกุล ประมาณ 17,500 ชนิด รวมทั้งสกุลกล้วยไม้รองเท้านารีด้วย

กล้วยไม้รองเท้านารี หรือที่ภาษาอังกฤษเรียกว่า Lady slipper นั้น มีถิ่นกำเนิดทั้งในเขตร้อนและเขตหนาวของโลก เท่าที่พบแล้วทั่วโลก มี 4 สกุล 125 ชนิด คือ สกุล *Cypripedium* มี 35 ชนิด สกุล *Paphiopedilum* มี 66 ชนิด สกุล *Phragmipedium* มี 20 ชนิด และสกุล *Selenipedium* มี 4 ชนิด (อุไร จิรมงคลการ, 2550 : 8)

กล้วยไม้รองเท้านารีมีแหล่งกำเนิดอยู่ในเขตอบอุ่น และเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตั้งแต่อินเดีย ฟิลิปปินส์ พม่า มาเลเซีย และในประเทศไทยซึ่งพบกล้วยไม้รองเท้านารีขึ้นอยู่ในแถบป่าทั่ว ๆ ไป บางชนิดชอบอาศัยอยู่ในต้นไม้ แต่ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นพวกที่ขึ้นอยู่ตามพื้นดินหรือซอกหินที่มีต้นไม้ใบหญ้าเน่าตายทับถมกันเจริญงอกงามในที่โปร่ง แสงแดดส่องถึงไม่ชอบที่รกรกทึบ

ด้วยความหลากหลายของกล้วยไม้ทำให้มีคณินิยมนำมาปลูกเลี้ยงเป็นงานอดิเรก และเพื่อเป็นการค้า ทำให้มีปริมาณความต้องการกล้วยไม้มีจำนวนมากเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เป็นสาเหตุที่ทำให้กล้วยไม้พื้นเมืองในประเทศไทยถูกลักลอบนำออกจากป่าเป็นจำนวนมาก อาจทำให้สูญพันธุ์ได้

(อบฉันท์ ไทยทอง, 2545 : 15)

กล้วยไม้รองเท้านารี (*Paphiopedilum*) เป็นกล้วยไม้พื้นเมืองของไทยอีกตัวอย่างหนึ่งที่ตกอยู่ในสถานการณ์ดังกล่าว เนื่องจากกล้วยไม้รองเท้านารีมีทรงพุ่มเตี้ย ดอกสวยและบานทน จึงเป็นที่นิยมปลูกเลี้ยง ส่วนใหญ่จะพบกล้วยไม้รองเท้านารีขึ้นอยู่ตามธรรมชาติในสภาพที่อยู่บนพื้นดินหรือซอกหิน เมื่อกว่าถึงกล้วยไม้คนทั่วไปส่วนใหญ่จะนึกถึงเพียงดอกไม้กลุ่มหนึ่งที่ขึ้นอยู่ตามต้นไม้เท่านั้น อาจมีใครบ้างแต่คิดว่าเป็นกล้วยไม้ดิน ในต่างประเทศนั้นชาวตะวันตกได้มีการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารี ให้มีลักษณะที่ที่สวยงามมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วทนต่อสภาพแวดล้อม ผลผลิตต่อต้นสูงมากขึ้น (ระพี สาคริก, 2535 : 5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศไทยได้มีการส่งออกกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีในปริมาณที่มากมาเป็นเวลานานแล้ว ในสภาพธรรมชาติกล้วยไม้สกุลนี้มักเจริญอยู่บนพื้นและมีการเจริญเติบโตช้า เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ประกอบกับการทำลายป่าไม้และสภาพแวดล้อมทำให้แหล่งกำเนิดธรรมชาติของกล้วยไม้ลดจำนวนไปด้วย การปรับปรุงพันธุ์ภายในประเทศยังไม่ได้กระทำอย่างจริงจังเท่าที่ควรทำ ให้กล้วยไม้สกุลนี้ในประเทศไทยยังคงมีจำนวนจำกัด (วิวัฒน์ วุฒิพันธ์ไชย, 2529 : 1)

กล้วยไม้สามารถจะนำมาศึกษาเพาะเลี้ยง เพื่อการอนุรักษ์ ขยายพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ให้เกิดประโยชน์ในด้านสังคม เศรษฐกิจ และอนุรักษ์ธรรมชาติได้เป็นอย่างดี กล้วยไม้ป่ามีความสวยงาม ทั้งลำต้นและดอก โดยเฉพาะดอกมีความสวยงามสะดุดตา ใช้พื้นที่น้อย ปลูกเลี้ยงง่าย ได้ดอกไวเชยชม สามารถปลูกเป็นการค้า ขยายต้นและดอก ลักษณะนี้ทำให้กล้วยไม้เป็นพืชสกุลที่ผู้คนที่ต้องการทุกภาคทุกภาษา ทำให้กล้วยไม้จำนวนมากทยอยหลายชนิดถูกลักลอบนำออกจากป่าเพื่อปลูกเลี้ยงเป็นงานอดิเรก เพื่อการวิจัย และเพื่อการค้าจึงทำให้กล้วยไม้ในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะกล้วยไม้ป่าที่ตลาดมีความต้องการสูง กล้วยไม้หลายชนิดเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์อันเป็นผลมาจาก 2 สาเหตุ คือการเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศวิทยาอันเนื่องมาจากธรรมชาติ เช่นความผิดปกติของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ฯลฯ และสาเหตุที่สำคัญคือการเปลี่ยนแปลงโดยมนุษย์ มนุษย์จะเปลี่ยนแปลงที่อยู่ของกล้วยไม้ หรือทำลายป่าเพื่อนำพื้นที่ไปใช้ประโยชน์และเก็บกล้วยไม้ป่าเป็นการค้า

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA และ NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA และ NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

1.3 ขอบเขตของปัญหา

1. ศึกษาผลของอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลของอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.4 ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรอิสระ อาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตัวแปรตาม ลักษณะการเจริญของชิ้นส่วนใบรองเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA : BA และ NAA : TDZ ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอดเชื้อ
2. เป็นแนวทางในการผลิตและขยายพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์และการค้าต่อไป

บทที่ 2

การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้องกับกล้วยไม้รองเท้านารี สกุล *Paphiopedilum*

กล้วยไม้รองเท้านารี สกุล *Paphiopedilum* (อุไร จิรมงคลการ, 2550 : 8)

ประเทศไทยเป็นแหล่งกล้วยไม้เขตร้อนที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก มีกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ ที่ถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทยกว่า 1,000 ชนิด จากจำนวนกล้วยไม้ของโลกที่อยู่ในวงศ์ Orchidaceae ทั้งหมด 796 สกุล ประมาณ 17,500 ชนิด รวมทั้งสกุลกล้วยไม้รองเท้านารีด้วย กล้วยไม้รองเท้านารี หรือที่ภาษาอังกฤษเรียกว่า Lady slipper นั้น มีถิ่นกำเนิดทั้งในเขตร้อนและเขตหนาวของโลก เท่าที่พบแล้วทั่วโลก มี 4 สกุล 125 ชนิด คือ

สกุล *Cypripedium* มี 35 ชนิด

สกุล *Paphiopedilum* มี 66 ชนิด

สกุล *Phragmipedium* มี 20 ชนิด

สกุล *Selennipedium* มี 4 ชนิด

สำหรับประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อนพบกล้วยไม้รองเท้านารีพันธุ์พื้นเมืองเพียงสกุลเดียว คือสกุล *Paphiopedilum* เท่าที่พบแล้วมี 17 ชนิด ปัจจุบันกล้วยไม้รองเท้านารีพันธุ์พื้นเมืองของไทยหลายชนิดได้รับความสนใจอย่างมาก มีการนำมาปรับปรุงและขยายพันธุ์เพื่อการค้ากันอย่างแพร่หลาย ทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะที่สหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น กับบางประเทศในยุโรปและเอเชีย ทำให้ประเทศไทยกลายเป็นแหล่งที่ส่งออกกล้วยไม้รองเท้านารีที่สำคัญทั้งในรูปแบบของไม้กระถางและไม้ตัดดอก

2.1.1 ประวัติและวิวัฒนาการ (อุไร จิรมงคลการ, 2550 : 10-13)

กล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* จัดเป็นพันธุ์ไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน โดยเฉพาะแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งไทย อินเดี๋ย อินโดนีเซีย ภาคตะวันออกเฉียงใต้ของจีน นิวไวกินี ฟิลิปปินส์ และหมู่เกาะโซโลมอน แต่คนในพื้นที่ไม่นิยมนำมาปลูกเลี้ยงกัน ปล่อยให้อยู่ตามธรรมชาติและบางชนชาติยังมีความเชื่อที่ไม่เป็นมงคลก็มี จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2359 กล้วยไม้รองเท้านารีชนิดแรกจึงถูกค้นพบโดย ดร.นาธานิล วอลลิซ ชาวอังกฤษ ที่เมืองซีลเล็ด (ปัจจุบันอยู่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในบังกลาเทศ) และนำไปทดลองปลูกเลี้ยงในประเทศอังกฤษจนให้ดอกครั้งแรกในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2362 และมีการบันทึกลงใน Curtis's Botanical Magazine โดยตั้งชื่อว่า *Cypripedium venustum* ซึ่งมีการเปลี่ยนชื่อเป็น *Paphiopedilum veanustum* ในภายหลัง จากนั้น ดร. วอลลิซ ได้ค้นพบกล้วยไม้รองเท้านารีชนิดที่ 2 คือ *Paph. insigne* (เดิมเรียก *Cypripedium insigne*) ที่เมืองเดียวกัน และนำมาปลูกเลี้ยงจนให้ดอกได้ที่สวนพฤกษศาสตร์ลิเวอร์พูล ต่อมา นาย วิลเลียม กริฟฟิธ ได้พบกล้วยไม้รองเท้านารีชนิดนี้อีกบนยอดเขากาสีในเมืองนั้น และนายจอห์น ลินด์เลย์ ได้นำไปบันทึกลงใน Collectanea Botanica ในปี พ.ศ. 2364 หลังจากนั้น 2 ปี จึงพบกล้วยไม้รองเท้านารีชนิดที่ 3 คือ *Paph. javanicum* และอีก 13 ปีต่อมาจึงพบ *Paph. purpuratum* (*Cypripedium purpuratum*) เป็นชนิดที่ 4

จนถึงปี พ.ศ. 2403 กล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* ถูกค้นพบแล้วรวม 17 ชนิด ต่อมาในปี พ.ศ. 2412 นายจอห์น โดมินีย์ ผสมพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีสำเร็จเป็นครั้งแรก โดยได้รับคำแนะนำจากนายแพทย์แฮร์ริส ด้วยการนำ *Paphiopedilum villosum* (ชนิดเดียวกับรองเท้านารีอินทนนท์) ที่พบในพม่าเมื่อปี พ.ศ. 2396 มาผสมกับ *Paphiopedilum barbatum* (เป็นชนิดเดียวกับรองเท้านารีม่วงสงขลา หรือรองเท้านารี कांगภภาคใต้) ที่พบในมาเลเซียเมื่อปี พ.ศ. 2381 จนได้รองเท้านารีลูกผสมเป็นต้นแรก และตั้งชื่อว่า *Paphiopedilum Harrisianum* เพื่อเป็นเกียรติแก่นายแพทย์แฮร์ริส หลังจากนั้นจึงเริ่มมีผู้นิยมปลูกเลี้ยงกล้วยไม้รองเท้านารีกันอย่างแพร่หลาย มีการผสมพันธุ์และได้กล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสมใหม่ๆ อีกมากมายรวมทั้งยังค้นพบรองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* ชนิดใหม่เพิ่มขึ้นด้วย

ขณะเดียวกันนักพฤกษศาสตร์ได้พบว่ากล้วยไม้รองเท้านารีพันธุ์แท้หลายต้นที่จำแนกให้อยู่ในสกุล *Cypripedium* นั้น มีลักษณะของใบและดอกที่แตกต่างกันมากระหว่างต้นที่พบในเขตร้อนและเขตหนาว จนทำให้เกิดความสับสนขึ้นในการจำแนกสกุลและชนิด ดังนั้นในปี พ.ศ. 2429 นายเออร์เนส ฟิทเซอร์ นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมัน จึงได้จัดจำแนกใหม่ ให้กล้วยไม้รองเท้านารีที่พบในเขตร้อนอยู่ในสกุล *Paphiopedilum* และชนิดที่พบในเขตหนาวอยู่ในสกุล *Cypripedium* (พิจารณาเฉพาะสกุล *Paphiopedilum* และ *Cypripedium* เท่านั้น)

จากหลักฐานที่ปรากฏนั้น อาจกล่าวได้ว่าการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีมีจุดเริ่มต้นจากชาวตะวันตกมากกว่าชนชาติที่อยู่ในถิ่นกำเนิดของมัน โดยนำต้นที่เป็นพันธุ์แท้มาคัดเลือกลักษณะที่ดีเด่นของดอก ทั้งสี รูปร่าง ขนาด ความหนาของกลีบ ดอก และความคงทนของดอก แล้วผสมพันธุ์กันจนได้กล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสมที่มีคุณภาพออกมามากมาย

ส่วนในประเทศไทยนั้น แต่เดิมยังไม่มีผู้ใดให้ความสำคัญกับกล้วยไม้มากนัก จนถึงต้นรัตนโกสินทร์จึงมีผู้ริเริ่มปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ขึ้น โดยนายเฮนรี อาลาบาสเตอร์ (ต้นตระกูล“เสวต-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิลา”) นำกล้วยไม้หลายชนิดจากต่างประเทศเข้ามาปลูกเลี้ยงเป็นคนแรกในประเทศไทย และมีการศึกษาและทดลองปลูกเลี้ยงจนชำนาญ แล้วจึงเผยแพร่ไปสู่เจ้านายในราชสำนักและกลุ่มข้าราชการบริพารแต่คงเป็นเพียงกล้วยไม้ที่ปลูกในกระถางแขวนจำพวกรากอากาศหรือกิ่งรากอากาศ เช่น หวาย แวนดา คัทลียา เป็นต้น และถือกันว่า กล้วยไม้เป็นต้นไม้สำหรับกลุ่มชนชั้นสูง ความนิยมในการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จึงอยู่ในวงแคบ และมีจุดประสงค์เพียงนำมาอวดกัน เพื่อแสดงถึงความสามารถในการปลูกเลี้ยงต้นไม้ต่างถิ่นได้เท่านั้น ยังไม่มีการพัฒนาพันธุ์หรือสนใจที่จะศึกษากล้วยไม้ไทยที่มีความสวยงามที่มีอยู่มากมายด้วย

ต่อมาในรัชสมัยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว พระปิยมหาราช ความนิยมกล้วยไม้จึงเพิ่มขึ้น มีการนำดอกกล้วยไม้มาใช้ประดับในงานพระราชพิธีต่าง ๆ กันมาก จนทำให้ความนิยมปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ได้แพร่หลายสู่ประชาชนทั่วไป แต่ถึงกระนั้นก็ไม่ปรากฏหลักฐานแน่ชัดว่าใครเริ่มปลูกเลี้ยงกล้วยไม้รองเท้านารีขึ้นแล้วหรือยัง และการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้รองเท้านารีอย่างจริงจังในประเทศไทยนั้นเริ่มมีมาแต่เมื่อใด

จนกระทั่งในช่วง 30-40 ปีที่ผ่านมาคนไทยให้ความสนใจกล้วยไม้รองเท้านารีกันมากขึ้น เริ่มด้วยการนำต้นที่เป็นพันธุ์แท้ มาปลูกเลี้ยง มีการทดลองคิดแปลงสภาพปลูกให้มีเหมาะสม รวมทั้งวิธีการขยายพันธุ์เริ่มมีการปรับปรุงพันธุ์และผสมพันธุ์กันอย่างจริงจังจนสามารถผลิตกล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสมพันธุ์ใหม่ ๆ ที่มีคุณภาพไม่แพ้พันธุ์ลูกผสมของต่างประเทศเช่นกัน

กล้วยไม้รองเท้านารีที่พบว่ามียีนกำเนิดอยู่ในประเทศไทยเป็นกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* ปัจจุบันที่ค้นพบแล้วมีทั้งหมด 17 ชนิด (อุไร จิรมงคลการ, 2550 : 13-14) ได้แก่

1. รองเท้านารีคาบคอคอดแดง (*Paphiopedilum appletonianum*)
2. รองเท้านารีม่วงสงขลา หรือรองเท้านารีคางคกภาคใต้ (*Paphiopedilum barbatum*)
3. รองเท้านารีฝ่าหอย (*Paphiopedilum bellatulum*)
4. รองเท้านารีคาบคบ หรือรองเท้านารีไทยแลนด์ หรือรองเท้านารีม่วงสงขลา (*Paphiopedilum callosum*)
5. รองเท้านารีคอดยุง (*Paphiopedilum charlesworthii*)
6. รองเท้านารีเหลืองปราจีน หรือรองเท้านารีเหลืองกาญจน์ หรือรองเท้านารีเหลืองอุดร (*Paphiopedilum comcolor*)
7. รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*Paphiopedilum Exul*)
8. รองเท้านารีขาวชุมพร (*Paphiopedilum godefroyae*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. รองเท้านารีเหลืองครึ่ง หรือรองเท้านารีเหลืองพังงา (*Paphiopedilum godefroyae* var. *leucochilum*)

10. รองเท้านารีเหลืองเลย (*Paphiopedilum hirsutissimum* var. *esquirolei*)

11. รองเท้านารีอินชิกเน่ (*Paphiopedilum insigne*)

12. รองเท้านารีขาวสตูล (*Paphiopedilum miveum*)

13. รองเท้านารีเมืองกาญจน์ หรือรองเท้านารีเซียงดาว (*Paphiopedilum parishii*)

14. รองเท้านารีปึกแมลงปอ หรือรองเท้านารีสุขะกุล (*Paphiopedilum sukhakulii*)

15. รองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum*)

16. รองเท้านารีช่องอ่างทอง (*Paphiopedilum* x *Ang thong*)

17. รองเท้านารีเกาะช้าง (*Paphiopedilum* x *Siamensis*)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้รองเท้านารี (อุไร จิรมงคลการ, 2550 : 16-19)

กล้วยไม้รองเท้านารีเป็นกล้วยไม้ประเภทฐานร่วม (sympodium) คือ เติบโตโดยแตกหน่อใหม่จากตาข้างของต้นเดิม เพื่อสร้างช่อดอก ลำต้นสั้นมาก ไม่มีลำลูกกล้วย ในธรรมชาติมักอิงอาศัยกับต้นไม้ใหญ่บนพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเลมาก ๆ หรือขึ้นตามซอกผาหินและพื้นดินที่มีซากใบไม้สุกทับถมอยู่เป็นเวลานานหลายปี

ราก ออกจากโคนต้นแล้วแผ่กระจายในแนวราบ มีขนาดใหญ่ สีน้ำตาล และมีขนรากปกคลุมอยู่ทั่วไป

ใบ มีหลายแบบทั้งรูปขอบขนาน (Oblong) รูปรี (Elliptic) รูปรีแกมรูปขอบขนาน หรือรูปแถบออกสลับกันทั้งสองข้าง จำนวน 2 - 7 ใบต่อต้น อาจตั้งขึ้นหรือแผ่ขนานไปกับพื้นดิน แผ่นใบหนา เส้นกลางใบพับเป็นร่อง ปลายใบมนเว้า หรือแหลม มีทั้งสีเขียวเป็นมัน เป็นลายตารางหรือเป็นลายคล้ายหินอ่อน สีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอมเทาทั่วทั้งใบ ใต้ใบมีสีเขียวบางชนิดมีสีม่วงแดง หรือจุดเล็ก ๆ สีม่วงแดงกระจายทั่วไป โคนกาบใบอาจมีสีม่วงเรื่อและมีขนเล็ก ๆ ปกคลุมตามขอบใบ

ดอก ออกที่ปลายยอด มีทั้งดอกเดี่ยวและดอกช่อ ขนาดแตกต่างกันไป ก้านดอกอาจยาวหรือสั้น มีสีเขียว ม่วงแดง หรือน้ำตาลแดง และมักมีขนปกคลุม กาบรองดอกรูปไข่หรือรูปหอกเรียวยาวแหลมห่อหุ้มรังไข่ไว้ มีสีเขียว น้ำตาลแดง หรือม่วงแดง หนาเป็นมัน ด้านนอกมักมีขนนุ่มปกคลุมเช่นกัน ด้านในมีสีสันสวยงาม แบ่งเป็น

- กลีบนอก หรือกลีบเลี้ยง (Sepal) จะห่อหุ้มกลีบดอกชั้นในไว้ มีขนนุ่มปกคลุมแบ่งเป็น 3 กลีบ คือ กลีบนอกบน หรือหลังคา (Dorsal sepal) 1 กลีบ อยู่ส่วนบนของดอกและเห็นเด่นชัด มีปลายกลีบแหลม อาจแผ่แบน ตั้งตรงหรือโค้งงุ้มมาด้านหน้า อีก 2 กลีบอยู่ด้านล่างและมักเชื่อมติดกันเป็นชิ้นเดียวเรียกว่า กลีบนอกล่าง (Synsepalum) ปลายกลีบนอกล่างมักแหลมงุ้มน้อยกว่ากลีบนอกบน

- กลีบใน หรือกลีบดอก (Petal) มีกลีบใน 2 กลีบซึ่งออกด้านข้างทั้งสองด้าน อาจเรียกว่า หู มีขนาดและลักษณะเหมือนกัน อาจเป็นแถบ เรียวยาว กลม หรือป้อม แผ่แบน บิดเป็นคลื่น หรืองุ้มงอ กลีบในอีกกลีบหนึ่งซึ่งอยู่ด้านล่างของดอกได้เปลี่ยนรูปเป็นถุงห้อยลงคล้ายหัวรองเท้าแตะของชาวคัตซ์ สีของกลีบนี้ผิดแปลกไปจากกลีบอื่น ๆ เรียกว่า กระเป๋ (Pouch)

ในอีกส่วนหนึ่งของดอกซึ่งเป็นส่วนของอวัยวะเพศ มีหน้าที่สืบพันธุ์ อวัยวะเพศของกล้วยไม้รองเท้านารีมีลักษณะแตกต่างไปจากกล้วยไม้อื่น ๆ คือ แทนที่เกสรตัวผู้จะจับตัวกันเป็นก้อนค่อนข้างแข็ง แฝงอยู่ในแอ่งตรงปลายเส้นเกสรและมีฝากรอบปิดไว้ปรากฏว่ารวมตัวกันเป็นกลุ่ม มีลักษณะค่อนข้างอ่อนตัวคล้ายเนย มีเยื่อบาง ๆ หุ้มไว้และมีสีเหลืองอ่อน ๆ เห็นได้สองข้างเส้นเกสรข้างละมีขนาดประมาณเท่าหัวเข็มหมุดหรือเล็กกว่า เส้นเกสรในช่วงกลาง ๆ แยกออกไปเป็นสองปลาย ปลายหนึ่งยื่นลงสู่ด้านล่าง อีกปลายหนึ่งยื่นออกมาสู่ด้านหน้า ทั้งสองปลายมีชิ้นส่วนซึ่งมีลักษณะแบนคล้ายโล่เป็นแผ่นปิดอยู่ตรงปลาย ที่ยื่นสู่ด้านหน้ามีไว้เพื่อป้องกันเกสรตัวผู้ไม่ให้ถูกกระทบและเป็นอันตรายได้ง่าย โล่ชิ้นนี้เองที่เป็นส่วนหนึ่งซึ่งมีผู้สนใจพยายามนำลักษณะของแต่ละชนิดมาใช้ประกอบการศึกษาความแตกต่างระหว่างชนิด อีกชิ้นหนึ่งมีลักษณะเป็นโล่เช่นกัน แต่ปิดอยู่ที่ปลายของเส้นเกสรปลายซึ่งชี้ลงสู่ด้านล่างมีลักษณะคว่ำหน้า พื้นผิวด้านล่างคือยอดเกสรตัวเมีย (ระพี สาคริก, 2535 : 3)

ผล เป็นผลแบบผลแห้งแตก (Capsule) ซึ่งเกิดจากการขยายตัวของก้านดอกหลังการผสมพันธุ์เมื่อแก่มีสีน้ำตาลและแตกออกตามแนวยาว ภายในมีเมล็ดเล็ก ๆ คล้ายฝุ่นปลิวไปตามลมได้ง่าย (อุไร จิรมงคลการ, 2550 : 19)

2.1.3 รองเท้านารีเหลืองปราจีน (อุไร จิรมงคลการ, 2550 : 75-77)

รองเท้านารีเหลืองปราจีน ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Paphiopedilum concolor*. อยู่ในสกุลย่อย *Brachypetalum* หมู่ *Brachypetalum* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 26$ มีถิ่นกำเนิดและการกระจายพันธุ์ในพม่า เวียดนาม กัมพูชา และไทยในจังหวัดสระบุรี อุตรธานี ปราจีนบุรี นครนายก จันทบุรี กาญจนบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งสูงจากระดับน้ำทะเล 300 - 1,000 เมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทั่วไป มีการเจริญเติบโตแบบพืชอาศัยบนดินและเป็นพืชอิงอาศัยบ้าง ต้น มีพุ่มใบขนาด 15 - 18 เซนติเมตร ใบ รูปขอบขนาน แผ่นใบเป็นลายตารางสีเขียวเข้มสลับเขียวเทา ดอก ออกเป็นช่อหรือดอกเดี่ยวมี 1 - 2 ดอกต่อช่อ ก้านช่อดอกตั้งตรงสีเขียวอ่อนยาว 8 - 12 เซนติเมตร และมีขนนุ่มปกคลุมบนกาบรองและก้านช่อดอก เมื่อดอกบานเต็มทีก่อนข้างกลม มีขนาด 6 - 9 เซนติเมตร กลีบดอกหนาแล้งงอมาด้านหน้า ส่วนกลีบนอกบน กลีบดอก กระเปาะ และโล่มีสีเหลือง และมีจุดประสีม่วงแดงกระจายทั่วโล่มีรูปร่างเป็นรูปหัวใจ ขนาด 1 เซนติเมตร ด้านบนหยักเป็นร่องลึก ด้านล่างหยักเป็นซี่ฟันเล็ก ๆ ฤดูออกดอก เมื่อต้นสมบูรณ์เต็มที่ ลักษณะนิสัย แข็งแรงปลูกง่ายสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และเจริญเติบโตได้ดีในที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 28 องศาเซลเซียส แต่ระบบรากอ่อนแอต่อปริมาณเกลือที่สะสมในเครื่องปลูก ถ้าได้รับแสงค่อนข้างมากจะให้ดอกดก แต่มีสีซีดกว่าเมื่อปลูกในแสงรำไร

รองเท้านารีเหลืองปราจีนมีการกระจายพันธุ์อยู่ทั่วไปในประเทศไทย จึงมีรูปร่างและลักษณะของดอก ใบ และชื่อแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น ได้แก่

1. รองเท้านารีเหลืองกาญจน์ พบที่อำเภอสังขละบุรีและด่านเจดีย์สามองค์ จังหวัดกาญจนบุรี ดอกสีเหลืองเข้ม และมักมีจุดประสีม่วงแดงเรียงเป็นเส้นกึ่งกลางกลีบดอกทั้งสองกลีบและหลังคา
2. รองเท้านารีเหลืองอุตร พบในจังหวัดนครพนมและอุดรธานี ดอกมีจุดประน้อยกว่ารองเท้านารีเหลืองปราจีน
3. รองเท้านารีเหลืองปราจีนเผือก กลายเป็นพันธุ์จากรองเท้านารีเหลืองปราจีน ดอกไม่มีจุดประเกิดขึ้น

2.2 ธาตุอาหารและอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รังสฤษฎ์ กาวิตะ, 2541 : 8-15)

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับความเหมาะสมต่อชนิดของพืชพันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืช (explants) ที่จะนำมาเพาะเลี้ยง อาหารที่นิยมใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุดคืออาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนา (differentiated) มีช่องว่างในเซลล์จำนวนมาก (highly vacuolated) และเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน (unorganized) ทั้งนี้ เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัส และเซลล์แขวนลอย ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่น ๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็ง ประกอบด้วยสารอินทรีย์ และสารอินทรีย์ ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

2.2.1 ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (inorganic substances) ประกอบด้วย

2.2.1.1 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (macro – elements/nutrients) ได้แก่ C, H, O, N, P, K, Ca, Mg และ S

2.2.1.2 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro – elements/nutrients) ได้แก่ Fe, Mn, Cu, Zn, B, Cl และ Mo

2.2.2 ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (organic substances) ประกอบด้วย

2.2.2.1 วิตามิน (vitamins) ที่ใช้กันมากได้แก่ thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, inositol, biotin, panthothenic acid, folic acid, choline chloride, riboflavin และ ascorbic acid

2.2.2.2 ฮอร์โมน และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant hormones และ plant growth regulators) ได้แก่

สารในกลุ่มออกซิน (auxins) เช่น

- indole - 3 acetic acid (IAA)
- indole butyric acid (IBA)
- naphthaleneacetic acid (NAA)
- 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T)

สารในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) เช่น

- N6-Benzyladenine (BA)
- kinetin
- zeatin
- N6 - isopentenyl adenine (2iP)
- Thidiazuron (TDZ)

สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ เช่น

- gibberellic acid (GA)
- paciobutazol
- abscissic acid (ABA)
- daminozide
- picloram

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่าง ๆ เช่น glucose, sucrose, fructose, saccharose และ mannitol

กรดอะมิโน (amino acids) ได้แก่ glutamine, asparagines, adenine, glycine และ casein hydrolysate

สารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมันพริก สารสกัดจากยีสต์ น้ำต้นมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ กล้วยหอมบด และจากมอลต์สกัด

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต (คำนำณ การอนุญาต, 2542 : 29-33)

ปัจจุบันแบ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชตามคุณสมบัติที่มีต่อพืช ออกได้เป็น 5 พวกใหญ่ ๆ โดยในที่นี้จะกล่าวถึง สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้ในการทดลอง เพียง 2 ชนิด คือ ออกซิน และไซโตไคนิน

2.3.1 ออกซิน

เป็นชื่อเรียกกลุ่มสารที่กระตุ้นการยึดตัวของเซลล์ทั้งในส่วนต้นและรากแหล่งสังเคราะห์ ออกซินได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญ ใบอ่อน ดอก ผล ปลายราก และปลายโคเลออปไทล์ (coleoptile) การลำเลียงออกซินเกิดขึ้นในโฟลเอ็ม (phloem) และเป็นแบบตามขั้ว (polarity) คือ จากบนลงล่าง (basipetal) ในยอดและลำต้น และจากล่างขึ้นบน (acropetal) ในราก การเคลื่อนที่ของออกซินต้องอาศัยพลังงาน ออกซินถูกทำลายโดยแสง (photo oxidation) หรือถูกทำลายโดยแสง (photo oxidation) หรือถูกทำลายโดยเอนไซม์ได้ ตัวอย่างออกซิน เช่น IAA, IBA, NAA และ 2,4-D

IAA เป็นออกซินที่เกิดเองตามธรรมชาติ ถูกทำลายโดยแสงและเอนไซม์ เอนไซม์ที่ย่อย IAA คือ ไอเอเอออกซิเดส (IAA oxidase) ซึ่งพบเอนไซม์ชนิดนี้ในปริมาณสูงในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเพราะฉะนั้น ถ้าใช้ IAA ในอาหารเพาะเลี้ยง ควรใช้ความเข้มข้นที่สูง เช่น 1-30 มิลลิกรัมต่อลิตร

NAA เป็นออกซินที่สังเคราะห์ขึ้นมาจึงไม่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ดังนั้นปริมาณที่ใช้จึงน้อย เช่น NAA 0.1 – 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มี 2 ไอโซเมอร์ (isomer) คือ แอลฟาและบีตา แต่นิยมใช้แอลฟาไอโซเมอร์ เพราะบีตาไอโซเมอร์เป็นออกซินที่มีฤทธิ์อ่อนกว่า

2,4-D เป็นออกซินที่มีฤทธิ์ค่อนข้างแรงกว่า IAA และ NAA เมื่อใช้ 2,4-D ในความเข้มข้น 5-10 มิลลิกรัมต่อลิตร พืชบางชนิดอาจเกิดแคลลัสได้ นอกจากนี้ 2,4-D ยังมีลักษณะที่แปลกอีกอย่างหนึ่ง คือ บางครั้งสามารถทำหน้าที่เป็นได้ทั้งออกซินและไซโตไคนินซึ่งก็ยังไม่ทราบว่าเป็นเพราะอะไร

สรุปหน้าที่ของออกซิน ได้ดังนี้

1. ช่วยในการยึดตัวของเซลล์
2. ส่งเสริมหรือชักนำการแบ่งเซลล์
3. ช่วยในเรื่องการเปลี่ยนสภาพของเซลล์
4. เพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงโดยการเพิ่มการสังเคราะห์ mRNA ในนิวเคลียส
5. ออกซินบริเวณปลายยอดควบคุมการแตกออกของข้างตา (lateral bud)

2.3.2 ไซโตไคนิน

เมื่อปี ค.ศ. 1940 มีผู้ค้นพบสารพวกไซโตไคนิน ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ ในขณะนั้นมีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่าพืชจะเติบโตอย่างรวดเร็วในสูตรอาหารที่มีออกซินอยู่ด้วยเป็นเวลาหนึ่งเท่านั้น จากนั้นพืชจะหยุดการเจริญเติบโตแต่ถ้าใส่น้ำมะพร้าวหรือสารละลายที่สกัดจากยีสต์เพิ่มลงไป ในสูตรอาหารที่มีออกซินอยู่ด้วย พืชจะเติบโตต่อไปและมีรากเกิดขึ้นได้ จึงสันนิษฐานว่าในน้ำมะพร้าวหรือสารละลายที่สกัดจากยีสต์มีสารที่สามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์ได้

ปี ค.ศ. 1941 Van Overbeek ศึกษาการเจริญของเอ็มบริโอของต้นลำโพงในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ ปรากฏว่าเอ็มบริโอไม่เจริญเติบโตเลย แต่ภายหลังที่ใส่น้ำมะพร้าวลงไป ในสูตรนั้น เอ็มบริโอจึงจะเจริญ การเจริญแบบนี้ไม่เกิดขึ้นถ้าใส่สารพวกออกซิน เช่น IAA ลงไปในสูตรอาหารแต่เพียงอย่างเดียว

ปี ค.ศ. 1975 Skoog และ Miller พบว่าสารที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ที่อยู่ในน้ำมะพร้าวและในส่วนสกัดจากยีสต์นี้เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างแบบเพียวรีน (purine) ต่อมา Miller พบโคเนทินที่มีสูตรเป็น 6-furfuryl amino purine ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และที่มีชื่อว่าโคเนทินก็เพราะว่าสารชนิดนี้ช่วยในกระบวนการแบ่งไซโทพลาซึมของเซลล์ที่เรียกว่า ไซโทไคนีซิส (cytokinesis)

หลังจากนั้นผู้ค้นพบสารที่มีพิวรีนอยู่ใน โครงสร้าง และมีคุณสมบัติคล้ายกับโคเนทินอีกหลายตัว จึงได้รวมเรียกสารเหล่านี้ว่า ไซโทไคนิน อาจใช้ไซโทไคนินแทนแสงหรือเกิดปฏิกิริยาร่วมกับแสงในการควบคุมกระบวนการต่าง ๆ ในพืช เช่น การสังเคราะห์รงควัตถุ พัฒนาการของคลอโรพลาสต์ และอาจใช้แทนแสงสีแดงในการงอกของเมล็ดได้ ไซโทไคนินความเข้มข้นสูง ๆ เช่น 1 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะชักนำการสร้างยอดและยับยั้งการสร้างราก นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเกิดตาข้าง โดยการปลด apical dominance ตัวอย่างของสารในกลุ่มนี้ได้แก่ BA, TDZ, ซีเอทิน และน้ำมะพร้าว ซึ่งนิยมใส่ในความเข้มข้น 10 - 15%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TDZ ไทเดียซูรอน (Thidiazuron; TDZ) มีชื่อเต็มว่า N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-yl urea เป็นสารสังเคราะห์ที่ออกฤทธิ์ต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ใกล้เคียงกับไซโตไคนิน และนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างกว้างขวาง TDZ เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย แต่ละลายได้ดีในเอทานอล TDZ กระตุ้นให้พืชหลายชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาได้ดี แม้ว่าจะใช้ในปริมาณต่ำหรือพืชชนิดนั้นจะตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโต อื่นๆ ได้น้อย เช่นในกลุ่มของไม้เนื้อแข็ง

สรุปหน้าที่ของไซโตไคนิน มีดังนี้

1. เร่งการแบ่งเซลล์
2. ช่วยในกระบวนการเปลี่ยนสภาพของเซลล์
3. ช่วยชะลอการแก่ในใบ
4. ช่วยการขยายตัวของเซลล์
5. ชักนำการสังเคราะห์รงควัตถุ

2.4 การเพาะเลี้ยงแคลลัส (ศิวพงศ์ จารัสพันธุ์, 2546 : 106)

แคลลัสเป็นกลุ่มเซลล์ที่เกิดขึ้นและยังไม่มี การเปลี่ยนแปลงสภาพ แคลลัสมักเกิดจากเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่เกิดรอยแผล เช่น ต้นไม้ที่ถูกฟันด้วยมีดหรือของมีคมอื่น ๆ เนื้อเยื่อรอบ ๆ รอยแผลจะสร้างเซลล์ขึ้นมาเพื่อสมานแผลเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นมาใหม่นี้ก็คือ แคลลัสนั่นเอง ในทำนองเดียวกันเมื่อนำชิ้นส่วนพืชมาตัดเป็นชิ้น ๆ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารก็จะเกิดแคลลัสขึ้นมาตามบริเวณรอยตัดเหล่านั้นได้ เมื่อเกิดแคลลัสขึ้นมาแล้วเราสามารถทำให้ก้อนแคลลัสนี้เติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นไปอีกได้เรื่อย ๆ โดยการเปลี่ยนย้ายใส่อาหารชนิดใหม่ และในบางครั้งแคลลัสเหล่านี้ อาจจะเจริญเป็นอวัยวะหรือพืชต้นใหม่ขึ้นมาได้ อย่างไรก็ตามระหว่างแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและแคลลัสที่เกิดขึ้นจากรอยแผลธรรมชาติก็มีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันหลายประการ ทั้งโครงสร้างของเซลล์การเจริญเติบโตและเมแทบอลิซึมจากแคลลัส อาจจะนำไปทำเป็นเซลล์แขวนลอย หรือเซลล์เดี่ยว และเพาะเลี้ยงต่อไปเพื่อศึกษาการเจริญของพืชหรือเพื่อสกัดเอาสารที่เป็นประโยชน์หรือกระตุ้นให้เปลี่ยนแปลงเป็นเอ็มบริโอแล้วนำไปทำเป็นเมล็ดเทียมต่อไป

2.4.1 การกระตุ้นให้เกิดแคลลัส (ศิวพงศ์ จารัสพันธุ์, 2546 : 106-107)

เทคนิคในการเพาะเลี้ยงแคลลัสพัฒนาขึ้นมาครั้งแรกในปลายทศวรรษ 1920 และต้นทศวรรษ 1930 และเป็นวิธีการเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาเป็นเวลาหลายปีเนื้อเยื่อพืชส่วน

ใหญ่สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ทั้งนั้น มีเพียงเนื้อเยื่อส่วนน้อยที่ไม่สามารถจะกระตุ้นให้เติบโตเป็นแคลลัสได้

เนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของพืชไม่ว่าจะเป็นเมล็ดเอ็มบริโอ ราก ลำต้น ใบ หรือดอก สามารถนำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดเป็นแคลลัสได้ ส่วนที่เติบโตเป็นแคลลัสได้ดีคือเอ็มบริโอ ใบเลี้ยง และใบอ่อนถ้าเนื้อเยื่อมาเพาะเลี้ยงแล้วไม่เกิดแคลลัส ก็สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเหล่านั้นแบ่งเซลล์และสร้างแคลลัสได้โดยใช้ฮอร์โมน ฮอร์โมนที่ใช้ก็คือ ฮอร์โมนพวกออกซิน ตัวที่นิยมใช้มากคือ 2,4-D และ NAA หรือในพืชบางชนิดอาจจะต้องใช้ไซโตไคนิน ร่วมด้วยเพื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัสในบางครั้งมีการเติมน้ำมะพร้าวอ่อนร่วมกับออกซินจะช่วยกระตุ้นให้แคลลัสเจริญเติบโตได้ดีขึ้นนอกจากนี้การเติบโตของแคลลัสยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีกหลายประการ ได้แก่ จีโนไทป์ป้องกันประกอบของอาหาร สภาพแวดล้อมทางกายภาพ เป็นต้น

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัส นิยมใช้สูตรของ มูราชิเกและสคูก หรือดัดแปลงจากสูตรนี้ แล้วเติมน้ำตาลทรายหรือกลูโคส 2-4% ในบางครั้งอาจเติมแคเซอิน ไฮโดรไลเสด สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีสต์ หรือน้ำมะพร้าวลงไปด้วย ส่วนประกอบสำคัญคือ ออกซิน และไซโตไคนินที่เติมลงในอาหาร ออกซินที่นิยมใช้เช่น IAA ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-10} M และ NAA ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-10} M เนื้อเยื่อบางชนิดต้องการไซโตไคนิน ด้วยไซโตไคนินที่ใช้ คือไคเนทินความเข้มข้น 10^{-7} - 10^{-6} M ช่วยให้มีประสิทธิภาพในการเกิดแคลลัสได้ดีขึ้น

การเพาะเลี้ยงนิยมเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสารที่นิยมใช้ทำอาหารแข็ง คือ วุ้น โดยใช้ความเข้มข้น 6-10 กรัมต่อลิตร พืชบางชนิดต้องการแสงแต่บางชนิดก็อาจต้องการความมืด อุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการเจริญของแคลลัสอยู่ในช่วง 22 - 28 องศาเซลเซียส

เมื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัสขึ้นมาแล้ว จะนำมาเพาะเลี้ยงต่อไปต้องถ่ายแคลลัสไปใส่ในอาหารขวดใหม่ การย้ายแคลลัสไปใส่ในอาหารใหม่ควรจะทำเป็นระยะ ๆ การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของแคลลัสจะใช้อาหารเป็นจำนวนมาก และมีการปล่อยของเสียออกมา และทำให้อาหารแห้งลงด้วยจึงต้องมีการย้ายเนื้อเยื่อไปใส่ในอาหารใหม่บ่อย ๆ เพื่อไม่ให้แคลลัสหยุดการเจริญเติบโต ถ้าเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่านี้ควรจะเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 - 6 สัปดาห์ ถ้าแคลลัสมีขนาดใหญ่ จำต้องตัดแบ่งเป็นก้อนเล็ก ๆ ก่อนที่จะย้ายลงในอาหารใหม่

2.4.2 ลักษณะภายนอกของแคลลัส (คำานูณ กาญจนภูมิ, 2542 : 63)

ความแตกต่างของเนื้อเยื่อแคลลัสแต่ละชั้นอยู่กับพื้นผิว (texture) และคุณสมบัติทางกายภาพ กล่าวคือ แคลลัสบางชนิดเกาะกันแน่น แยกจากกันได้ยากเรียกว่า คอมแพค (compact) หรือฮาร์ด (hard) แคลลัส บางชนิดอยู่กันหลวม ๆ แยกจากกันได้ง่ายเรียกว่า ฟร่ายเอเบิล (friable)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือซอฟต์แวร์ (soft) แคลลัส นิยมนำซอฟต์แวร์แคลลัสมาเลี้ยงเป็นเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว เนื่องจากเซลล์หลุดจากกันได้ง่ายเมื่อมีการเขย่า พีชชนิดเดียวกันอาจให้แคลลัสเป็นทั้งแบบซอฟต์แวร์หรือฮาร์ด และอาจเปลี่ยนกลับไปมาระหว่างกันได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอาหารที่เลี้ยง ดังเช่น ในปี ค.ศ. 1961 Blakely และ Steward ได้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ NAA และ นำมะพร้าวในอาหารเลี้ยง ทำให้เกิดการเปลี่ยนไปมาระหว่างซอฟต์แวร์และฮาร์ดแคลลัสของ *Haplopappus gracilis* สีของเนื้อเยื่อแคลลัสนั้นมีได้หลายสี เช่น สีขาว เหลือง ม่วง แดง เขียว ทั้งนี้ ขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ภายในเซลล์

(คำานูณ กาญจนภูมิ, 2542 : 60-61) โดยทั่วไปชั้นนอกของรอยตัดของชิ้นส่วนพืชที่ถูกชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัสได้ศึกษาก่อนบริเวณอื่น ๆ เนื่องจาก

1. มีการตอบสนองของบริเวณผิวรอยตัดต่อสารที่พืชปล่อยออกมา ซึ่งอาจเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือสารฟีนอลิก (phenolic compounds)
2. บริเวณรอยตัดมีการแลกเปลี่ยนเกิดขึ้นได้ดีกว่าเซลล์ข้างใน
3. บริเวณรอยตัดสามารถรับสารอาหารได้สะดวก แต่ในขณะที่เดียวกันก็ปล่อยสารยับยั้งออกได้ง่ายเช่นกัน
4. ถ้าแสงสว่างช่วยในการเกิดแคลลัส บริเวณรอยตัดจะได้รับแสงโดยตรงกว่า

2.4.3 ปัจจัยที่มีบทบาทต่อการเพาะเลี้ยงแคลลัส (ประศาสตร์ เกี่ยมณี, 2538 : 55-56)

1. สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) โดยเฉพาะฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งการพัฒนาของพืชจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของฮอร์โมนสองกลุ่มนี้ คือ ถ้าสัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูง พืชจะพัฒนาไปเป็นราก สัดส่วนออกซินต่อไซโตไคนินต่ำ จะพัฒนาเป็นต้น และหากอยู่ในสัดส่วนที่เป็นปานกลางหรือสมดุล ก็จะพัฒนาไปเป็นแคลลัสจากการศึกษาในหลาย ๆ พืช พบว่า ออกซินที่ใช้อยู่ในช่วง 0.01 - 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin (ไซโตไคนินชนิดหนึ่ง) 0.1 - 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ธาตุอาหาร (nutrients) นอกจากธาตุเป็นส่วนประกอบทั่ว ๆ ไปของสูตรอาหารแล้ว พบว่า อาหารเสริมจำพวกกรดอะมิโน เช่น กลูตามีน แอสปาราจีน อาร์จินีน ฟูรีน และไพรมิดีน เป็นต้น เลซินไฮโดรไลเซท สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีสต์ และนำมะพร้าว มีส่วนสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส

3. แหล่งของคาร์บอน (carbon sources) แหล่งคาร์บอนที่สำคัญ คือ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแซคคาไรส ความเข้มข้น 2 - 4 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (environmental factors) เช่น แสง การเพาะเลี้ยงแคลลัส ต้องการแสงความเข้มต่ำหรือไม่ใช้แสงเลย อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 25 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังต้องการก๊าซออกซิเจน เพื่อการหายใจของเซลล์ด้วย

5. สถานะของอาหารที่ใช้เลี้ยง (media status) จากรายงานพบว่า แคลลัสที่เลี้ยงอาหารแข็งเจริญเติบโตได้น้อยกว่าแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารเหลว ทั้งนี้เป็นเพราะมีพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับอาหารน้อยกว่า และตรงตำแหน่งที่ชิ้นส่วนของแคลลัสสัมผัสกับอาหาร จะมีสารที่มีผลต่อการเติบโตซึ่งเป็นของเสียกระบวนการเมตาโบลิซึม (metabolic wastes) ที่เซลล์ปล่อยออกมา

2.4.4 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงแคลลัส (ประศาสตร์ เกษมณี, 2538 : 62–63)

1. เพื่อการขยายพันธุ์พืช (plant propagation) เราสามารถที่จะชักนำให้เกิดต้นพืชได้จากเนื้อเยื่อของแคลลัส
2. เพื่อใช้ในการผลิตโปรโตพลาสต์ (protoplast production) แคลลัสเหมาะแก่การนำไปผลิตโปรโตพลาสต์ เพราะง่ายต่อการย่อยผนังเซลล์ และมีสภาพปลอดเชื้ออยู่แล้ว
3. เพื่อการผลิตสารเคมีจากพืชในหลอดทดลอง พืชบางชนิดสามารถผลิตสารเคมี (secondary metabolites) บางชนิดที่สามารถสกัดนำเอาไปใช้ในทางการแพทย์หรือในทางอุตสาหกรรมได้
4. เพื่อการผลิตพืชพันธุ์ทนทาน (tolerance plant) เช่น ทนต่อสภาพดินเค็ม ดินเปรี้ยว ทนต่ออากาศร้อนและหนาว เป็นต้น
5. เพื่อการผลิตพืชพันธุ์ต้านทาน (resistant plant) เช่น พันธุ์ต้านทานต่อยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืช และพันธุ์ต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส เป็นต้น
6. เพื่อการผลิตพืชที่มีโครโมโซมหลายชุด (polyploidy) โดยการใช้สารเคมี (colchicines) ชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดของโครโมโซม
7. เพื่อการเก็บรักษาพันธุ์พืช (germplasm)

2.5 การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้รองเท้านารีในสภาพปลอดเชื้อ

Morel (1974 : 495-497) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Paphiopedilum* เป็นครั้งแรกโดยสามารถเพาะเลี้ยงปลายยอดให้เกิดเป็นแคลลัสได้ในอาหารสูตร Thomale GD ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยบางชิ้นที่เกิดแคลลัสมีการพัฒนาของโปรโตคอร์ัมขึ้นมา และสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้โดยการย้ายลงอาหารขูดใหม่ที่มี 2,4-D และเมื่อย้ายชิ้นพืชที่เกิดแคลลัสลง

อาหารที่ไม่มี 2,4-D แคลลัสจะมีการพัฒนาเป็นต้น แต่ชิ้นส่วนปลายยอดที่เพาะเลี้ยงมีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสูงขึ้น 90%

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กัลยาณี อรรถฉัตร (2536 : บทคัดย่อ) ได้ทำการชักนำและการพัฒนาของแคลลัสจากใบอ่อนกล้วยหอมแกรนด์เนน ส่วนของใบอ่อนเท่านั้นที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ซึ่งแคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นวุ้นใส (friable callus) และชักนำได้ภายใน 1 - 2 สัปดาห์ หลังจากเลี้ยงบนอาหารโดยสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำได้แก่ สูตร MS ที่เติม BA (MS + BA) ในระดับ 0 - 5 ppm และออกซินในระดับ 1.5 ppm ออกซินที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสได้ดีที่สุด คือ NAA เมื่อใช้ทั้ง 3 ปัจจัยร่วมกัน พบว่ามี 5 สิ่งทดลองที่สามารถชักนำแคลลัสได้ดี ได้แก่ NAA 1 ppm ร่วมกับ BA 2.5 ppm ให้น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด

วิชชุดา รุ่งเรือง (2535 : บทคัดย่อ) เพาะเลี้ยงหน้าวัวพันธุ์ดวงสมรในสภาพปลอดเชื้อ โดยเลี้ยงใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวพันธุ์ดวงสมร ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.6 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า แคลลัสสามารถเกิดได้ดีในอาหารสูตรที่เติม BA ทั้งสองสูตร สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เมื่อครบ 4 เดือน และแคลลัสเจริญได้ดีในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

นิภา ประมวลพิมพ์ (2541 : บทคัดย่อ) เพาะเลี้ยง PLBs ของกล้วยไม้ *Phalaenopsis Adendrot* 'Kelvin' ที่ได้จากการขยายพันธุ์ชิ้นส่วนใบบนอาหารวุ้นสูตรเกี้ยวโตดัดแปลง ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร adenine 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และชูโครส 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพได้รับแสงและสภาพมืด พบว่า อัตราการเกิด PLBs สูงสุดของชิ้นส่วนใบในอาหารวุ้นในสภาพได้รับแสงร่วมกับการใช้ purify agar 10 กรัมต่อลิตร ที่ pH 5.3 และเพิ่มปริมาณ PLBs ได้ดีในอาหารเหลวสูตร KPS2 โดยสามารถชักนำให้ PLBs พัฒนาเป็นต้นได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร WS ซึ่งประกอบด้วยมหาธาตุ จากสูตร VW ร่วมกับจุลธาตุ จากสูตร MS และน้ำมะพร้าวอ่อน 15 เปอร์เซ็นต์

ดวงพร บุญชัย (2546 : บทคัดย่อ) ขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการชักนำให้เกิด protocorm-like bodies (PLBs) จากชิ้นส่วนใบของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดพบว่า หลังจากการเลี้ยงนาน 90 วัน ชิ้นส่วนใบรอดชีวิตสูงสุดและมีจำนวนชิ้นส่วนใบที่เกิด PLBs มากที่สุดเท่ากับ 46 เปอร์เซ็นต์ และ 56 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร VW และสูตรปุ๋ย Hypones® (6.5 - 6 - 19) ดัดแปลงโดยเติม BA และ NAA ชนิดละ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

Myint *et al.* อ้างโดย (ดวงพร บุญชัย, 2546 : 16) ทดลองขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis* โดยการใช้ส่วนของใบจากต้นกล้าที่เลี้ยงในสภาพภายนอก บนสูตรอาหาร VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การเติม NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชั้นใบเกิด PLBs มากที่สุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์และ PLBs สามารถเพิ่มปริมาณได้ดีที่สุด บนอาหารแข็งสูตรเดิมที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

Tanaka and Sakanishi อ้างโดย (ดวงพร บุญชัย, 2546 : 14) เพาะเลี้ยงส่วนของใบอ่อนกล้วยไม้ *Phalaenopsis* โดยตัดเป็น 3 ส่วน แล้ววางบนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร adenine 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงไปแล้ว 10 วัน ส่วนปลายใบ (distal) จำนวนหนึ่งตาย หลังจากนั้น 3 เดือน ส่วนปลายใบตาย 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลางใบ (middle) ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ และส่วนโคนใบ (basal) ตาย 26 เปอร์เซ็นต์และชิ้นส่วนใบทั้ง 3 ส่วน หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 7 เดือน พบว่าตายทั้งหมด เหลือชิ้นส่วนโคนใบ ซึ่งเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสงน้อย (basal etiolated part) เกิดปุ่มที่แผ่นใบด้านบน (adaxial) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารนาน 135 วัน และแปรสภาพเป็น PLBs ภายใน 8 เดือน

Wong อ้างโดย (ดวงพร บุญชัย, 2546 : 15) พบว่า ปลายยอด (shoot tip) ส่วนของลำต้นและใบอ่อน ของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* สามารถชักนำให้เกิด PLBs ได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 - 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ PLBs สามารถพัฒนาต่อไปเป็นต้นอ่อนได้เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารเดิมที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

Morel (1960 : 24-26) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Paphiopedilum* เป็นครั้งแรกโดยสามารถเพาะเลี้ยงปลายยอดให้เกิดเป็นแคลลัสได้ในอาหารสูตร Thomale GD ที่มี 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยบางชิ้นที่เกิดแคลลัสมีการพัฒนาของ โพรโตคอร์ัมขึ้นมา และสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้โดยการย้ายลงอาหารชนิดใหม่ที่มี 2,4-D และเมื่อย้ายขึ้นพืชที่เกิดแคลลัสลงอาหารที่ไม่มี 2,4-D แคลลัสจะมีการพัฒนาเป็นต้น แต่ชิ้นส่วนปลายยอดที่เพาะเลี้ยงมีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสูงถึง 90%

Allenberg (1967 : 682) พบว่า ปลายยอดและปลายใบของร่องเท้ามารีคางกบ (*Paph. callosum*) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อสามารถเกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร Thomale GD คัดแปลง เติม IAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

Huang (1988 : 274-278) รายงานผลการเพาะเลี้ยงปลายยอดของ *Paphiopedilum* ลูกผสม ให้เกิดต้นเป็นจำนวนมากได้จากการแตกกอ (axillary branching) โดยทดลองใน 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการเลี้ยงปลายยอดให้ขยายมากขึ้น ในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่มี NAA เข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร 2iP เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าวเข้มข้น 15% ขั้นตอนที่สองเพิ่มจำนวนยอด โดยใช้อาหารสูตรเดิมที่เพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 7.5% และเติม BA อัตรา 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 2iP อัตรา 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และมะพร้าว อัตรา 15% ขั้นตอนสุดท้าย ชักนำให้เกิดรากโดยใช้อาหารสูตร MS คัดแปลง ที่เติม NAA อัตรา 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร จากขั้นตอนดังกล่าวทำให้สามารถผลิตกล้วยในร่องเท่านั้น ได้มากกว่า 200 ต้นในเวลา 1 ปี และที่ได้จากการทดลองมีการเจริญเติบโตและออกดอกได้ตามปกติเมื่อนำออกปลูก

ภาณีรัตน์ โตเจริญ (2539 : 136) พบว่า PLBs ของกล้วยไม้ร่องเท่านั้นฝ้ายหอย (*Paph. bellatulum*) มีการเพิ่มปริมาณจุดกำเนิดยอดในอาหารเหลวสูตร Vacin and Went (VW) และ สูตร Thamle GD (TH) คัดแปลงร่วมกับ Thidiazuron (TDZ) เข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ หรือบนอาหารแข็งสูตร VW และ TH คัดแปลง ร่วมกับ BA เข้มข้น 20 และ 40 ไมโครโมลาร์ และ TDZ เข้มข้น 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ แต่ PLBs ของร่องเท่านั้นเหลืองปราจีน (*Paph. comcolor*) เพิ่มปริมาณได้ไม่แตกต่างกันในอาหารทุกสูตร โดยอาหารแข็งสูตร VW คัดแปลงร่วมกับ TDZ เข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ชักนำจุดกำเนิดยอดให้เป็นต้นกล้าได้ดีที่สุด และหน่อที่เกิดจากการตัดชำลำต้นของร่องเท่านั้นสุชะกุล (*Paph. sukhakulii*) เจริญเติบโตที่สุดในอาหารแข็งสูตร VW คัดแปลงที่เติม TDZ 5 ไมโครโมลาร์

นายจักรกฤษณ์ ไวยกิจการณ์; นางสาวนลินภัทร์ สุวรรณชาติ, นางสาวอุทัยศรี เกรรัมย์ (2549 : บทคัดย่อ) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเลี้ยงลำต้นกล้วยไม้ร่องเท่านั้นพันธุ์ขาวสตูลในอาหารสูตร MS (Murashige & Skoog) ที่เติม 2,4-D และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 16 สัปดาห์ กล้วยไม้ร่องเท่านั้นพันธุ์ขาวสตูลที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA 20 มิลลิกรัมต่อลิตร, 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตรให้การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นดีที่สุดคือ 1.167 ต้น อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเจริญเติบโตทางด้านจำนวนใบดีที่สุดคือ 3.17 ใบ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D มิลลิกรัม และ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเจริญเติบโตทางด้านความยาวใบดีที่สุดคือ 1.68 เซนติเมตร และอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักสดดีที่สุดคือ 1.80 กรัม

นายวิษณุ วัชรปัญญากรณ์ (2550 : บทคัดย่อ) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้เอื้องจิวในอาหารสูตร MS (Murashige & Skoog) ที่เติม NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า

การทดลองที่ 1 นำชิ้นส่วนกลางใบมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนกลางใบที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนมากที่สุด คือ 33.33 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนกลางใบ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่ดีที่สุดคือ 22.22 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนกลางใบ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดของแคลลัสที่ดีที่สุดคือ 1.33 คะแนน ชิ้นส่วนกลางใบ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ลักษณะของแคลลัสที่ดีที่สุดคือ 1.33 คะแนน

การทดลองที่ 2 นำชิ้นส่วนโคนใบมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนโคนใบที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วน โคนใบมากที่สุด คือ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนโคนใบ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่ดีที่สุดคือ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วน โคนใบ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดของแคลลัสที่ดีที่สุดคือ 3.83 คะแนน ชิ้นส่วน โคนใบ ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ลักษณะของแคลลัสที่ดีที่สุดคือ 3.16 คะแนน

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. Beaker ขนาด 1,000 ml, 500 ml, 100 ml, 50 ml
2. Cylinder ขนาด 1,000 ml, 500 ml, 100 ml, 50 ml
3. Pipette ขนาด 10 ml, 5 ml, 1 ml
4. ขวดแก้วสีชา
5. ขวดขนาด 4 ออนซ์
6. หลอดหยด
7. กระจกบดน้ำกลั่น
8. จานแก้ว
9. แปร่งล้างขวด
10. ถุงมือกันความร้อน
11. Hot plate
12. Magnetic stirrer
13. pH meter
14. autoclave
15. เครื่องชั่งหยาบ/ละเอียด
16. ตู้เย็น
17. ชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
18. ตู้ปลอดเชื้อ
19. ตะเกียงแอลกอฮอล์
20. มีดผ่าตัด
21. ปากคีบ
22. สำลี
23. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสูตรอาหารสูตร MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24. สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA
25. สารควบคุมการเจริญเติบโต BA
26. สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ
27. Alcohol 95%
28. Alcohol 70%

3.2 วิธีการ

3.2.1 การวางแผนการวิจัย

ทำการทดลองโดยศึกษาการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน ใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ในสภาพปลอดเชื้อ โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 เลี้ยงชิ้นส่วน ใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD ประกอบด้วย 15 Treatments แต่ละ Treatments มีจำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 4 ชั้น โดยมี Treatments ที่ทำการทดลองดังต่อไปนี้

Treatments 1	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 2	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 3	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 4	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 5	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 6	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 7	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 8	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 9	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 10	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 11	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 12	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 13	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 14	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 15	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ BA	3 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 เลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD ประกอบด้วย 15 Treatments แต่ละ Treatments มีจำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 4 ชั้น โดยมี Treatments ที่ทำการทดลองดังต่อไปนี้

Treatments 1	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 2	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 3	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 4	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 5	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 6	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 7	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 8	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 9	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 10	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 11	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 12	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	3 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 13	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	0 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 14	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Treatments 15	อาหารสูตร MS ที่เติม NAA	1 มิลลิกรัมต่อลิตร	และ TDZ	3 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการทดลอง

นำต้นอ่อนกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่ได้จากการเพาะเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS มาทำการตัดเอาเฉพาะส่วนใบให้มีขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรและอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 สัปดาห์

3.2.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนปลายใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วน

โดยมีวิธีการให้เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนใบคือ ชิ้นส่วนใบที่มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลและตายให้ 0 เปอร์เซ็นต์และ ชิ้นส่วนใบที่มีลักษณะสีเขียวเข้ม, สีเขียวปนน้ำตาลให้ 25 เปอร์เซ็นต์ นำเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนใบในซ้ำมารวมกัน และนำเปอร์เซ็นต์ในแต่ละซ้ำที่ได้มาหารด้วย 3 ได้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบ นำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

คะแนนลักษณะชิ้นส่วนใบ

โดยมีวิธีการให้คะแนนชิ้นส่วนใบคือ ใบที่มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลและตายให้ 1 คะแนน ชิ้นส่วนใบที่มีลักษณะสีเขียวปนน้ำตาลให้ 2 คะแนน และชิ้นส่วนใบที่มีลักษณะสีเขียวเข้มให้ 3 คะแนน นำคะแนนชิ้นส่วนใบแต่ละซ้ำมารวมกัน แล้วหารด้วย 4 และนำคะแนนในแต่ละซ้ำที่ได้มารวมกันแล้วหารด้วย 3 ได้ค่าเฉลี่ยคะแนนลักษณะชิ้นส่วนใบ นำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ



ภาพที่ 1 การให้คะแนนลักษณะชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

- | | |
|--|-------------|
| 1. ลักษณะของใบที่มีสีเขียวเข้ม | ได้ 3 คะแนน |
| 2. ลักษณะของใบที่มีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล | ได้ 2 คะแนน |
| 3. ลักษณะของใบที่มีสีน้ำตาลและตาย | ได้ 1 คะแนน |

เมื่อรวบรวมข้อมูลจากการทดลองทั้งหมดแล้ว นำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์
อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถนนฉลองกรุง แขวงลำ-
ปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย

เดือนพฤศจิกายน 2553 ถึง มีนาคม 2554



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาผลผลของอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน ใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอดเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน ใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนได้ผลการทดลองดังนี้

4.1 ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 เลี้ยงชิ้นส่วน ใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

1.1 เปรอ์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

นำไปจากต้นกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร บันทึกผลการทดลองทุก ๆ สัปดาห์ โดยบันทึกความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบที่เกิดขึ้นทุก ๆ สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังนี้

สัปดาห์ที่ 1

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดคือ ชิ้นส่วนใบมีลักษณะสีเขียวเข้มทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 2

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดคือ ชิ้นส่วนใบมีลักษณะสีเขียวเข้มอยู่แต่ก็มีการเปลี่ยนสีจากเดิมไม่มากทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 3

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดคือ มีลักษณะของใบสีเขียวเข้มอยู่แต่ก็มีการเปลี่ยนสีจากเดิมไม่มาก (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 4

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวแต่ไม่เข้มเหมือนสัปดาห์แรกๆ และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบที่เริ่มมีสีเขียวปนน้ำตาลเพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 5

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวอ่อน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่ง มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนน้ำตาล (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 6

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้ร่องเท่านั้นที่เหลือปราจีนเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวจางๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล, สีน้ำตาลและตาย (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 7

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้ร่องเท่านั้นที่เหลือปราจีนเป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ,NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 41.61 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีลักษณะใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลแต่มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายมากกว่า (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 8

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้ร่องเท่านั้นที่เหลือปราจีนเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 33.33 เปอร์เซ็นต์ คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลอยู่บ้าง และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีเขียวน้ำตาลและตายมากกว่า (ตารางที่ 1)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 เปรอ์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

		เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน							
NAA + BA		สัปดาห์							
(มิลลิกรัม/ลิตร)		1	2	3	4	5	6	7	8
T1	0:0	100	100	100	83.33	33.33 ^{CI/}	0.00 ^E	0.00 ^B	0.00
T2	0:1	100	100	100	83.33	33.33 ^C	8.33 ^{DE}	0.00 ^B	0.00
T3	0:3	100	100	100	91.67	58.33 ^{ABC}	25.00 ^{CDE}	0.00 ^B	0.00
T4	0.1:0	100	100	100	83.33	66.66 ^{ABC}	16.66 ^{CDE}	8.33 ^B	0.00
T5	0.1:1	100	100	100	91.67	66.66 ^{ABC}	41.66 ^{BCDE}	16.66 ^{AB}	0.00
T6	0.1:3	100	100	100	100.00	100.00 ^A	100.00 ^A	41.66 ^A	8.33
T7	0.3:0	100	100	100	91.67	41.66 ^{BC}	25.00 ^{CDE}	8.33 ^B	0.00
T8	0.3:1	100	100	100	91.67	58.33 ^{ABC}	33.33 ^{CDE}	8.33 ^B	8.33
T9	0.3:3	100	100	100	83.33	75.00 ^{ABC}	41.66 ^{BCDE}	16.66 ^{AB}	0.00
T10	0.5:0	100	100	100	83.33	75.00 ^{ABC}	33.33 ^{CDE}	8.33 ^B	0.00
T11	0.5:1	100	100	100	83.33	33.33 ^C	16.66 ^{CDE}	0.00 ^B	0.00
T12	0.5:3	100	100	100	83.33	58.33 ^{ABC}	33.33 ^{CDE}	0.00 ^B	0.00
T13	1:0	100	100	100	83.33	75.00 ^{ABC}	66.66 ^{ABCD}	33.33 ^{AB}	33.33
T14	1:1	100	100	100	91.67	75.00 ^{ABC}	75.00 ^{ABC}	25.00 ^{AB}	16.67
T15	1:3	100	100	100	100.00	91.66 ^{AB}	91.66 ^{AB}	41.66 ^A	0.00
F-test		NS ^{2/}	NS	NS	NS	** ^{3/}	**	* ^{4/}	NS
CV%		0	0	0	15.62	33.95	55.89	124.62	307.27

- 1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test
- 2/ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- 3/ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %
- 4/ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

นำใบจากต้นกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร บันทึกผลการทดลองทุก ๆ สัปดาห์ โดยบันทึกความมีชีวิตของชิ้นส่วน โคนใบที่เกิดขึ้นทุก ๆ สัปดาห์ได้ผลการทดลองดังนี้

สัปดาห์ที่ 1

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบ 3 คะแนน ทั้งหมด คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวเข้ม (ตารางที่ 2)

สัปดาห์ที่ 2

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร , NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร , NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 3 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวเข้ม และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีเขียวอ่อน ๆ (ตารางที่ 2)

สัปดาห์ที่ 3

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร , NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 2.92 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวเข้มปนอ่อน และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีเขียวอ่อนจาง ๆ (ตารางที่ 2)

สัปดาห์ที่ 4

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้ร่องเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร , NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้ร่องเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 2.00 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวอ่อนจางปนน้ำตาล และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล (ตารางที่ 2)

สัปดาห์ที่ 5

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้ร่องเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้ร่องเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 2.00 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล, สีนํ้าตาลและตายเป็นบางส่วน (ตารางที่ 2)

สัปดาห์ที่ 6

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้ร่องเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้ร่องเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 2.00 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร,

NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตรคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล, สีนํ้าตาลและตายเป็นบางส่วน (ตารางที่ 2)

สัปดาห์ที่ 7

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 6สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 1.41 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล, มีสีน้ำตาลและตายบางส่วน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตรคือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก (ตารางที่ 2)

สัปดาห์ที่ 8

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 4สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 1.33 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล, มีสีน้ำตาลและตายบางส่วนและไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA :BA ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA:BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

		คะแนนลักษณะชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน							
NAA + BA		สัปดาห์							
(มิลลิกรัม/ลิตร)		1	2	3	4	5	6	7	8
T1	0:0	3.00	2.58	2.58	1.83	1.33 ^{CI/}	1.00 ^E	1.00 ^B	1.00
T2	0:1	3.00	2.50	2.42	1.64	1.33 ^C	1.08 ^{DE}	1.00 ^B	1.00
T3	0:3	3.00	2.92	2.58	1.92	1.58 ^{ABC}	1.25 ^{CDE}	1.00 ^B	1.00
T4	0.1:0	3.00	2.75	2.58	1.83	1.66 ^{ABC}	1.16 ^{CDE}	1.08 ^B	1.00
T5	0.1:1	3.00	2.67	2.67	1.92	1.66 ^{ABC}	1.41 ^{BCDE}	1.16 ^{AB}	1.00
T6	0.1:3	3.00	2.83	2.75	2.00	2.00 ^A	2.00 ^A	1.41 ^A	1.08
T7	0.3:0	3.00	3.00	2.92	1.92	1.41 ^{BC}	1.25 ^{CDE}	1.08 ^B	1.00
T8	0.3:1	3.00	3.00	2.92	1.92	1.58 ^{ABC}	1.33 ^{CDE}	1.08 ^B	1.08
T9	0.3:3	3.00	2.58	2.50	1.83	1.75 ^{ABC}	1.41 ^{BCDE}	1.16 ^{AB}	1.00
T10	0.5:0	3.00	2.75	2.58	1.83	1.75 ^{ABC}	1.33 ^{CDE}	1.08 ^B	1.00
T11	0.5:1	3.00	2.92	2.83	1.83	1.33 ^C	1.16 ^{CDE}	1.00 ^B	1.00
T12	0.5:3	3.00	2.83	2.75	1.83	1.58 ^{ABC}	1.33 ^{CDE}	1.00 ^B	1.00
T13	1:0	3.00	2.83	2.75	1.83	1.75 ^{ABC}	1.66 ^{ABCD}	1.33 ^{AB}	1.33
T14	1:1	3.00	2.92	2.75	1.92	1.75 ^{ABC}	1.75 ^{ABC}	1.25 ^{AB}	1.17
T15	1:3	3.00	3.00	2.83	2.00	1.91 ^{AB}	1.91 ^{AB}	1.41 ^A	1.00
F-test		NS ^{2/}	NS	NS	NS	** ^{3/}	**	* ^{4/}	NS
CV%		0	7.39	6.94	9.14	13.09	16.12	15.19	13.07

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี

Duncan's New Multiple Range Test

2/ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3/ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

4/ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 2 เลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

2.1 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

นำใบจากต้นกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทั้งหมด 15 สูตร บันทึกผลการทดลองทุก ๆ สัปดาห์ โดยบันทึกความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบที่เกิดขึ้นทุก ๆ สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังนี้

สัปดาห์ที่ 1

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดคือ ชิ้นส่วนใบมีลักษณะสีเขียวเข้มทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 3)

สัปดาห์ที่ 2

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดคือ ชิ้นส่วนใบมีลักษณะสีเขียวอ่อน ๆ ทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 3)

สัปดาห์ที่ 3

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดคือ ชิ้นส่วนใบมีลักษณะสีเขียวอ่อนจาง ๆ (ตารางที่ 3)

สัปดาห์ที่ 4

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์คือ ชิ้นส่วนใบมีลักษณะสีเขียวอ่อนจาง ๆ และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับสูตรอาหารอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลบางส่วน (ตารางที่ 3)

สัปดาห์ที่ 5

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลบางส่วน และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลเป็นส่วนมาก, มีสีน้ำตาลและตายบางส่วน (ตารางที่ 3)

สัปดาห์ที่ 6

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 33.33 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลเป็น, มีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลเป็น, มีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมากกว่า (ตารางที่ 3)

สัปดาห์ที่ 7

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 33.33 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลเป็น, มีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TDZ 1 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร คือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก (ตารางที่ 3)

สัปดาห์ที่ 8

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มีลิกกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบสูงสุด 16.66 เปอร์เซ็นต์คือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมากและยังมีสีเขียวปนน้อยมาก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มีลิกกรัมต่อลิตร, NAA 1 มีลิกกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มีลิกกรัมต่อลิตรคือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายทั้งหมด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ที่เลี้ยงบนอาหารอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

		เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน							
NAA + TDZ		สัปดาห์							
(มิลลิกรัม/ลิตร)		1	2	3	4	5	6	7	8
T1	0:0	100	100	100	91.67	25.00	0.00	0.00 ^{B1/}	0.00 ^B
T2	0:1	100	100	100	91.67	41.67	0.00	0.00 ^B	0.00 ^B
T3	0:3	100	100	100	91.67	41.67	0.00	0.00 ^B	0.00 ^B
T4	0.1:0	100	100	100	75.00	50.00	16.67	8.33 ^B	0.00 ^B
T5	0.1:1	100	100	100	83.33	50.00	0.00	0.00 ^B	0.00 ^B
T6	0.1:3	100	100	100	91.67	41.67	16.67	8.33 ^B	0.00 ^B
T7	0.3:0	100	100	100	66.67	25.00	0.00	0.00 ^B	0.00 ^B
T8	0.3:1	100	100	100	100.00	58.33	25.00	16.66 ^{AB}	8.33 ^{AB}
T9	0.3:3	100	100	100	91.67	50.00	0.00	0.00 ^B	0.00 ^B
T10	0.5:0	100	100	100	83.33	33.33	8.33	8.33 ^B	0.00 ^B
T11	0.5:1	100	100	100	75.00	8.33	0.00	0.00 ^B	0.00 ^B
T12	0.5:3	100	100	100	83.33	66.67	33.33	16.66 ^{AB}	0.00 ^B
T13	1:0	100	100	100	100.00	33.33	16.67	8.33 ^B	0.00 ^B
T14	1:1	100	100	100	91.67	33.33	33.33	33.33 ^A	16.66 ^A
T15	1:3	100	100	100	91.67	33.33	8.33	8.33 ^B	0.00 ^B
F-test		NS ^{2/}	NS	NS	NS	NS	NS	* ^{3/}	*
CV%		0	0	0	19.34	62.57	144.95	150.44	310.52

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี

Duncan's New Multiple Range Test

2/ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3/ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

นำใบจากต้นกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร บันทึกผลการทดลองทุก ๆ สัปดาห์ โดยบันทึกความมีชีวิตของชิ้นส่วน โคนใบที่เกิดขึ้นทุก ๆ สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังนี้

สัปดาห์ที่ 1

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยให้ค่าเฉลี่ยคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบ 3 คะแนน ทั้งหมดคือ มีลักษณะของชิ้นส่วนใบมีสีเขียวเข้ม (ตารางที่ 4)

สัปดาห์ที่ 2

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 2.91 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวเข้มปนอ่อน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลเป็นบางส่วน (ตารางที่ 4)

สัปดาห์ที่ 3

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 2.75 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวเข้มปนอ่อนจางๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตรคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล (ตารางที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัปดาห์ที่ 4

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 2.00 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาล และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นบางส่วน (ตารางที่ 4)

สัปดาห์ที่ 5

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 1.67 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีเขียวปนดำปนน้ำตาลเป็นส่วนมาก และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นบางส่วน (ตารางที่ 4)

สัปดาห์ที่ 6

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 1.33 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นบางส่วน และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก (ตารางที่ 4)

สัปดาห์ที่ 7

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 1.25 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ กับอาหารสูตร MS

ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ แต่มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนมาก (ตารางที่ 4)

สัปดาห์ที่ 8

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ผลอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนสูงสุด 1.16 คะแนนคือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายมีสีเขียวปนเป็นบางส่วน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับ สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 3 คือ มีลักษณะของใบมีสีน้ำตาลและตายทั้งหมด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน ที่เลี้ยงบนอาหารอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งหมด 15 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

		คะแนนลักษณะชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน							
NAA + TDZ		สัปดาห์							
(มิลลิกรัม/ลิตร)		1	2	3	4	5	6	7	8
T1	0:0	3	2.75 ^{AI}	2.41 ^{AB}	1.92	1.25	1.00	1.00	1.00 ^B
T2	0:1	3	2.83 ^A	2.41 ^{AB}	1.92	1.42	1.00	1.00	1.00 ^B
T3	0:3	3	2.58 ^A	2.41 ^{AB}	1.92	1.42	1.00	1.00	1.00 ^B
T4	0.1:0	3	2.50 ^A	2.50 ^A	1.75	1.50	1.17	1.08	1.00 ^B
T5	0.1:1	3	2.08 ^B	2.00 ^B	1.83	1.50	1.00	1.00	1.00 ^B
T6	0.1:3	3	2.91 ^A	2.58 ^A	1.92	1.42	1.17	1.08	1.00 ^B
T7	0.3:0	3	2.50 ^A	2.33 ^{AB}	1.58	1.25	1.00	1.00	1.00 ^B
T8	0.3:1	3	2.66 ^A	2.75 ^A	2.00	1.58	1.25	1.17	1.08 ^{AB}
T9	0.3:3	3	2.66 ^A	2.50 ^A	1.92	1.50	1.00	1.00	1.00 ^B
T10	0.5:0	3	2.91 ^A	2.41 ^{AB}	1.83	1.33	1.08	1.08	1.00 ^B
T11	0.5:1	3	2.58 ^A	2.41 ^{AB}	1.75	1.08	1.00	1.00	1.00 ^B
T12	0.5:3	3	2.91 ^A	2.50 ^A	1.83	1.67	1.33	1.17	1.00 ^B
T13	1:0	3	2.91 ^A	2.58 ^A	2.00	1.33	1.17	1.08	1.00 ^B
T14	1:1	3	2.66 ^A	2.66 ^A	1.92	1.42	1.33	1.25	1.16 ^A
T15	1:3	3	2.83 ^A	2.66 ^A	1.92	1.33	1.08	1.08	1.00 ^B
F-test		NS ^{2/}	** ^{3/}	**	NS	NS	NS	NS	* ^{4/}
CV%		0	6.27	7.74	9.05	17.77	13.84	9.43	5.09

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี

Duncan's New Multiple Range Test

2/ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3/ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

4/ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 วิจารณ์ผล

จากการศึกษาผลของอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอดเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 33.33 เปอร์เซ็นต์ และมีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 1.33 คะแนน และการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 16.66 เปอร์เซ็นต์ และมีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 1.16 คะแนน จากการทดลองทั้งสองการทดลอง ชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มีการตายของชิ้นส่วนมากและไม่เกิดแคลลัส อาจเนื่องจาก สารควบคุมการเจริญเติบโตมีมากเกินไปและใบของกล้วยไม้รองเท้านารีอาจแก่ทำให้การเจริญเติบโตช้าและตายในที่สุดตามที่ ศิวพงษ์ จำรัสพันธุ์ (2546 : 67-68) กล่าวว่าเนื้อเยื่อที่ยังอ่อนอยู่ของพืชจะเจริญได้ดีกว่า และก้านใบอ่อนเจริญได้ดีกว่าก้านใบแก่ ส่วนอวัยวะของพืชที่มีอายุมากเนื้อเยื่อส่วนใหญ่มักจะหยุดการเจริญเติบโต ดังนั้นเอ็กซ์พลนต์ที่แยกออกมาจากอวัยวะที่แก่ของพืชจะให้ความสามารถในการเจริญใหม่และการแบ่งเซลล์ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tanaka and Sakanishi (อ้างโดย ดวงพร บุญชัย, 2546 : 14) เพาะเลี้ยงใบอ่อนกล้วยไม้ *Phalaenopsis* โดยตัดเป็น 3 ส่วน แล้ววางบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร adenine 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าหลังเพาะเลี้ยงไปแล้ว 10 วัน ส่วนปลายใบ (distal) จำนวนหนึ่งตายหลังจากนั้น 3 เดือน ส่วนปลายใบตาย 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลางใบ (middle) ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ และส่วนโคนใบ (basal) ตาย 26 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนใบทั้ง 3 ส่วน หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 7 เดือน พบว่าตายทั้งหมด เหลือชิ้นส่วนโคนใบซึ่งเลี้ยงในสภาพที่ได้รับความเข้มของแสงน้อย (basal etilated part) เกิดปุ่มที่แผ่นใบด้านบน (adaxial) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารนาน 135 วัน และแปรสภาพเป็น PLBs ภายใน 8 เดือน และภาณีรัตน์ โตเจริญ (2539 : 136) พบว่า PLBs ของกล้วยไม้รองเท้านารีฝ่าหอย (*Paph. bellatulum*) มีการเพิ่มปริมาณจุดกำเนิดยอดในอาหารเหลวสูตร Vacin and Went (VW) และ สูตร Thamle GD (TH) คัดแปลง ร่วมกับ Thidiazuron (TDZ) เข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ หรือบนอาหารแข็ง สูตร VW และ TH คัดแปลง ร่วมกับ BA เข้มข้น 20 และ 40 ไมโครโมลาร์ และ TDZ เข้มข้น 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 10 ไมโครโมลาร์ แต่ PLBs ของรองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paph. concolor*) เพิ่มปริมาณได้ ไม่แตกต่างกันในอาหารทุกสูตร โดยอาหารแข็งสูตร VW คัดแปลงร่วมกับ TDZ เข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ชักนำจุดกำเนิดยอดให้เป็นต้นกล้าได้ดีที่สุด และหน่อที่เกิดจากการตัดชำลำต้นของรองเท้านารีสุขะกุล (*Paph. sukhakulii*) เจริญเติบโตที่สุดในอาหารแข็งสูตร VW คัดแปลงที่เติม TDZ 5 ไมโครโมลาร์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

ผลของอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอดเชื้อ

5.1 สรุป

ในการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA จำนวน 15 สูตร และบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ จำนวน 15 สูตร เพื่อศึกษาผลของอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลของอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0:0, 0:1, 0:3, 0.1:0, 0.1:1, 0.1:3, 0.3:0, 0.3:1, 0.3:3, 0.5:0, 0.5:1, 0.5:3, 1:0, 1:1 และ 1:3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต และคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารี โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design (Factorial in RCBD) อาหารแต่ละสูตร มีจำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 4 ชิ้น โดยนำต้นกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาทำการทดลอง

การทดลอง นำต้นอ่อนกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่ได้จากการเพาะเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS มาทำการตัดเอาเฉพาะส่วนใบมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

การทดลองที่ 1 เลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหาร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 33.33 เปอร์เซ็นต์

2. คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

การเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วน ใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 1.33 คะแนน

การทดลองที่ 2 เลี้ยงชิ้นส่วน ใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA : TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

1. เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหาร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 16.66 เปอร์เซ็นต์

2. คะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนบนอาหาร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีคะแนนลักษณะของชิ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน มากที่สุด คือ 1.16 คะแนน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาเพิ่มเติมเรื่องของอาหารเสริม ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน
2. ควรศึกษาเพิ่มเติมเรื่องสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นๆ ที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจากกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน
3. ควรศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการชักนำให้เกิดยอด และการชักนำให้เกิดรากเพื่อเพื่อให้ได้ผลในการขยายพันธุ์ที่รวดเร็วกับกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กัลยานี อรรถฉัตร. 2536. การชักนำและการพัฒนาของแคลลัสจากใบอ่อนกล้วยหอมเกรนด์เนม.
กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 68 น.
- คำนูน กาญจนภูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย. 162 น.
- ดวงพร บุญชัย. 2546. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte ในภาพปลอดเชื้อ.
กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 94 น.
- ดวงพร บุญชัย. 2546. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte ในภาพปลอดเชื้อ.
กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 94 น. อ้างถึง Myint, T.M. Y.
C. Mi, D. C. Jae and C.K.kim. 2001 *Phalaenopsis* by Tissue culture. Acta Horticulturae
Sinica. 16 : 73-77
- ดวงพร บุญชัย. 2546. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte ในภาพปลอดเชื้อ.
กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 94 น. อ้างถึง Tanaka and
Sakanishi 1984. Regenerative capacity of in vitro cultured leaf segment excised from mature
Phalaenopsis plant. Bull. Univ. Osaka Pref. Ser. B. 37 : 1-4
- ดวงพร บุญชัย. 2546. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte ในภาพปลอดเชื้อ.
กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 94 น. อ้างถึง Wong, H. J.
1984. Rapid Clonal propagation of *Phalaenopsis* by culture. Acta Horticulturae Sinica. 16 :
73-77
- นิภา ประมวลพิมพ์. 2541. การขยายโคลนกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Adendrot 'Kelvin' ในสภาพ
ปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 27 น
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์. 158 น.
- ภาณีรัตน์ โศจรณ. 2539. การขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีในสภาพ
ปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 136 น.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- รังสฤษฎ์ กาวีตะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชัน. 219 น.
- ระพี สาคริก. 2535. กล้วยไม้รองเท้านารี. กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พรินติ้งเฮาส์. 134 น.
- วิชชุดา รุ่งเรือง. 2535. การเพาะเลี้ยงหน้าวัวพันธุ์ดวงสมรในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ : ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 14 น.
- วิวัฒน์ วิฆพันธิชย. 2529. ผลของอายุฝัก การเค็มมันฝรั่ง น้ำมะพร้าว และถ่านในอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร
- วิษณุ วัชรปัญญาภรณ์. 2550. ผลของ NAA และ BA ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเลี้ยงจิวในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ : ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 99 น.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี. 187 น.
- อุไร จิรมงคลการ. 2550. กล้วยไม้รองเท้านารี (ฉบับปรับปรุงข้อมูลใหม่). กรุงเทพฯ : อมรินทร์พรินติ้ง แอนด์พับลิชชิ่งจำกัด. 224 น.
- อบฉันท ไทยทอง. 2545. กล้วยไม้ไทย. กรุงเทพฯ : บ้านและสวน. 75 น.
- Allenberg. H. 1967. "Nortizen zur Keimung, Meristemkultur and Regeneration von Erdorhidee". Cited by J. Arditti and R. Emst. Micropropagation of Orchids. John Wiley & sons, Inc. New York. 682 p.
- Huang, L.-C. 1988. "A procedure for asexual multiplication of *Paphiopedilum* in vitro." Amer Orchid. Soc. Bull. Vol.51 . pp. 274-278
- Morel, G.M. 1960. "Producing virus- Free *Cymbidium*." Amer. Orchid Soc. Bull. Vol.40. pp. 24-26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 1

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม่รองพื้นนารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 1 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0	0	0	3.34	5.45
Treatment	14	0	0	0 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	0	0	0		
Total	44	0	0			

CV = 0%

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม่รองพื้นนารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 2 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0	0	0	3.34	5.45
Treatment	14	0	0	0 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	0	0	0		
Total	44	0	0			

CV = 0%

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 3 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0	0	0	3.34	5.45
Treatment	14	0	0	0 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	0	0	0		
Total	44	0	0			

CV = 0%

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	83.3333	41.6667	0.22	3.34	5.45
Treatment	14	1583.3333	113.0952	0.59 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	5333.3333	190.4762			
Total	44	7000.0000	159.0909			

CV = 15.6241 %

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 5 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	194.4444	97.2222	0.21	3.34	5.45
Treatment	14	17861.1111	1275.7937	2.81**	2.04	2.75
Ex.Error	28	12722.2222	454.3651			
Total	44	30777.7778	699.4949			

CV = 33.9544 %

LSD .05 = 35.6440296061044

LSD .01 = 48.0881122078449

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 6 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	1027.7778	513.8889	1	3.34	5.45
Treatment	14	37444.4444	2674.6032	5.2**	2.04	2.75
Ex.Error	28	14388.8889	513.8889			
Total	44	52861.1111	1201.3889			

CV = 55.8965 %

LSD .05 = 37.9069582198504

LSD .01 = 51.1410769343001

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม่รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 7 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	361.1111	180.5556	0.6	3.34	5.45
Treatment	14	9444.4444	674.6032	2.25*	2.04	2.75
Ex.Error	28	8388.8889	299.6032			
Total	44	18194.4444	413.5101			

CV = 124.6252 %

LSD .05 = 28.9439319334329

LSD .01 = 39.0488691074585

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม่รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	194.4444	97.2222	0.52	3.34	5.45
Treatment	14	3694.4444	263.8889	1.41 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	5222.2222	186.5079			
Total	44	9111.1111	207.0707			

CV = 307.2778 %

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 1 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0	0	0	3.34	5.45
Treatment	14	0	0	0 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	0	0	0		
Total	44	0	0			

CV = 0%

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 2 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0.1694	0.0847	1.97	3.34	5.45
Treatment	14	1.1111	0.0794	1.84 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	1.2056	0.0431			
Total	44	2.4861	0.0565			

CV = 7.3960 %

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชีวน์ส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 3 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0.3111	0.1556	4.44	3.34	5.45
Treatment	14	0.9444	0.0657	1.93 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	0.9806	0.035			
Total	44	2.2361	0.0508			

CV = 6.9452 %

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตชีวน์ส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0.0426	0.0213	0.73	3.34	5.45
Treatment	14	0.321	0.0229	0.78 ^{NS}	2.04	2.75
Ex.Error	28	0.82	0.0293			
Total	44	1.1836	0.0269			

CV = 9.1491 %

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 5 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0.0194	0.0097	0.21	3.34	5.45
Treatment	14	1.7861	0.1276	2.81**	2.04	2.75
Ex.Error	28	1.2722	0.0454			
Total	44	3.0778	0.0699			

CV = 13.0951 %

LSD .05 = .356440296061044

LSD .01 = .48088112207845

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตขึ้นส่วนใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลือง
ปราจีนในอาหารเป็นเวลา 6 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	2	0.1028	0.0514	1.00	3.34	5.45
Treatment	14	3.7444	0.2675	5.20**	2.04	2.75
Ex.Error	28	1.4389	0.0514			
Total	44	5.2861	0.1201			

CV = 16.1282 %

LSD .05 = .379069582198505

LSD .01 = .511410769343002

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้