อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON MICROPROPAGATION OF ORCHID

วรรณรวี กุลวัลลภ

WANRAWEE KUNWANLOP

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2564

KMITL-2021-SC-M-020-037

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON MICROPROPAGATION OF ORCHID

WANRAWEE KUNWANLOP

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2021

KMITL-2021-SC-M-020-037

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2021

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้
ชื่อนักศึกษา	นางสาววรรณรวี กุลวัลลภ
รหัสประจำตัว	60605043
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

ศึกษาเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* *V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata โดยการชักนำเมล็ดของเอื้องสายมรกตให้เป็นโปรโตคอร์มบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP มีลักษณะการเจริญเป็นโปรโตคอร์มสีเขียวได้มากที่สุด และทั้ง 3 สารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เมล็ดเกิดเป็นโปรโตคอร์มได้ดี

การชักนำโปรโตคอร์มให้เกิดยอดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.20 ยอด และสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.98 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นทำการศึกษาการชักนำโปรโตคอร์มให้เกิดรากบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 4.33 ราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.08 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.33 ยอด และสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.81 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ส่วนวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.67 ยอด และสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.20 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.00 ยอด และสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.58 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

สำหรับวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.67 ยอด และ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.85 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด จำนวน 6 ราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 9.77 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ สำหรับวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.30 ราก ในสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 4.31 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ และเมื่อนำเอ้องสายมรกตพร้อมทั้งวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata ออกปลูกในสภาวะธรรมชาติ มีการรอดชีวิตร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดหลายยอดของเอ้องสายมรกตด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว (TIB) พบว่า อาหารเหลวสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบ TIB สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.96 ยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.05 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

คำสำคัญ : การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดราก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว วานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis V. planifolia* variegata เอ้องสายมรกต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Effect of Plant Growth Regulators on Micropropagation of Orchid
Student Name	Miss Wanrawee Kunwanlop
Student ID	60605043
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2021
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Anurug Poeaim

Abstract

The tissue culture technique studied *Dendrobium chrysanthum* Lindl., *Vanilla aphylla*, *Vanilla tahitensis* and *Vanilla planifolia* variegata. The seed germination of *Dendrobium chrysanthum* Lindl. It was cultured on B5 solids medium supplemented with BAP, *m*T and TDZ. It was found that B5 solids medium supplemented BAP showed the most growth characteristics as a green protocorm and all plant growth regulators were seed germinate successfully.

Then, the protocorms were induced to shoot induction on B5 solid medium supplemented with BAP, *m*T and TDZ for 12 weeks. The highest number of shoots is 2.20 shoots per explants at 3 mg/L TDZ and the highest length is 0.98 cm at 1.5 mg/L *m*T. Formerly, the root protocorm induction was studied on a B5 solid medium containing IAA, IBA and NAA for 12 weeks. The highest number of roots is 4.33 shoots per explants at 0.5 mg/L IBA and the highest length is 2.08 cm at 1 mg/L IBA.

The shoot induction of axillary buds for *V. aphylla* was cultured on a solid B5 medium with BAP, *m*T and TDZ for 12 weeks. The highest number of shoots is 2.33 shoots per explants at 5 mg/L BAP and the highest length is 3.81 cm at 3 mg/L BAP. The shoot induction of axillary buds for *V. tahitensis* was cultured on MS solid mediums with BAP and cultured on B5 solid mediums with BAP, *m*T and TDZ. The results for MS medium were BAP at 3 mg/L provided the highest number of shoots at 2.67 shoots per explants and the highest length of shoots 4.20 cm at 0.5 mg/L BAP for 12 weeks. The results for B5 medium were BAP at 1 mg/L provided the highest number of shoots at 2.00 shoots per explants and the highest length of shoots 2.58 cm at 2 mg/L *m*T for

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4 weeks. The shoot induction of axillary buds for *V. planifolia* variegata was cultured on a solid B5 medium with BAP, *m*T and TDZ for 12 weeks. The highest number of shoots is 1.67 shoots per explants at 5 mg/L *m*T and the highest length is 0.85 cm at 1.5 mg/L BAP.

The root induction of shoots for *V. aphylla* was cultured on a solid B5 medium with IAA, IBA and NAA for 12 weeks. The highest number of roots is 6 roots per explants at 0.5 mg/L NAA and the highest length is 9.77 cm at 3 mg/L IBA. For *V. tahitensis* was cultured on a solid B5 medium with IAA, IBA and NAA for 12 weeks. The highest number of roots is 1.30 roots per explants at 1 and 1.5 mg/L NAA and the highest length is 4.31 cm at 3 mg/L IAA. And when *Dendrobium chrysanthum* Lindl and *V. aphylla V. tahitensis* and *V. planifolia* variegata were planted in natural conditions. There was 100% survival when cultured for 4 weeks.

The study of multiplicative shoot proliferation of *Dendrobium chrysanthum* Lindl. using temporary immersion bioreactor systems (TIB). It was found that the TIB B5 liquid medium containing 3 mg/L TDZ showed the highest average number of shoots 1.96 shoots per explants, the highest average shoot length 1.05 cm after culture for 4 weeks.

Keywords : Shoot induction, Root induction, TIB, *V. aphylla V. tahitensis V. planifolia* variegata, *Dendrobium chrysanthum* Lindl.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง "อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้" ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดีด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา ตลอดจนสนับสนุนในด้านต่าง ๆ และให้ประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ประดิษฐ์ พงษ์ทองคำ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์บัณฑิตประจำสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำแนวทางการแก้ไขปัญหาและช่วยตรวจสอบความถูกต้องเพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีววิทยา รวมถึงพี่ เพื่อน และน้อง ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวก คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่คอยเป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนส่งเสริมการศึกษาในทุกด้านเสมอมา ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นางสาววรรณรวี กุลวัลลภ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูป	ฏ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ด
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 กล้วยไม้	4
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	4
2.1.2 สกุลกล้วยไม้ที่ใช้ในการศึกษา	5
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	8
2.2.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	8
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว	10
2.3.1 การให้เนื้อเยื่อพืชจมบนอาหารเหลวเป็นบางเวลาและสามารถเปลี่ยนอาหารได้	10
2.3.2 การให้เนื้อเยื่อพืชอยู่บนอาหารเหลวไม่สมบูรณ์เป็นบางเวลาและสามารถเปลี่ยนอาหารได้	10
2.3.3 การให้เนื้อเยื่อพืชจมบนอาหารเหลวเป็นบางเวลาโดยใช้แรงดันลมเป็นตัวผลักดัน	11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
2.4.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช	11
2.4.2 การชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.3 การชักนำให้เกิดยอด..... 14
2.4.4 การชักนำให้เกิดรากและการออกปลูกในธรรมชาติ..... 15
2.4.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว..... 17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 18
3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษา..... 18
3.2 สารเคมี..... 18
3.3 เครื่องแก้ว อุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ..... 18
3.4 วิธีการดำเนินงาน..... 19
3.4.1 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเมล็ดเอื้องสายมรกต..... 19
3.4.2 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดของเอื้องสายมรกต..... 20
3.4.3 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากของเอื้องสายมรกต..... 20
3.4.4 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* *V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata..... 21
3.4.5 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* และ *V. tahitensis*..... 22
3.4.6 การศึกษาการนำเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* *V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata ออกปลูกในสภาวะธรรมชาติ..... 22
3.4.7 การศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดหลายยอดของเอื้องสายมรกตด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว (TIB)..... 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.8 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ..... 23

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 24

4.1 ผลของการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเมล็ดเอื้องสายมรกต..... 24

4.2 ผลของการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดของเอื้องสายมรกต..... 27

4.3 ผลของการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากของเอื้องสายมรกต..... 31

4.4 ผลการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata..... 35

4.4.1 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla*..... 35

4.4.2 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis*..... 40

4.4.3 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata..... 49

4.5 ผลการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* และ *V. tahitensis* 53

4.5.1 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla*..... 53

4.5.2 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis*..... 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.6 ผลการศึกษาการนำเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* *V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata ออกปลูกในสภาวะธรรมชาติ... 62
4.7 ผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดหลายยอดของเอื้องสายมรกตด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว (TIB)..... 63
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 65
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 65
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 68
เอกสารอ้างอิง..... 69
ภาคผนวก..... 76
ภาคผนวก ก..... 77
ประวัติผู้เขียน..... 79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกต บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	28
4.2	ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดรากของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกต บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	32
4.3	ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *mT* และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	36
4.4	ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	42
4.5	ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	43
4.6	ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP mT และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	50
4.7	ผลการศึกษาการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์.....	54
4.8	ผลการศึกษาการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวล 12 สัปดาห์.....	59
4.9	ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดของต้นอ่อนเอื้องสายมรกต บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 แบบแข็งและเหลวในระบบ TIB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะลำต้น ใบและดอกของเอื้องสายมรกต (ก) ลักษณะฝักของเอื้องสายมรกต (ข).....	6
2.2	ลักษณะลำต้นของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla*.....	7
2.3	ลักษณะลำต้นและใบของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* J.W. Moore.....	7
2.4	ลักษณะลำต้นและใบของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifoli* variegata.....	8
2.5	ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบระบบ TIB โดยใช้แรงดันลม.....	11
4.1	ลักษณะการงอกของเมล็ดเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (ง) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	25
4.2	ลักษณะการงอกของเมล็ดเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ซ-ฐ) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฑ-ถ) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	26
4.3	ร้อยละการเกิดยอดของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	29
4.4	จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์....	29
4.5	ความยาวยอดเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.6	ลักษณะการเกิดยอดของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	30
4.7	ร้อยละการเกิดรากของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	33
4.8	จำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	33
4.9	ความยาวรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	34
4.10	ลักษณะการเกิดรากของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	34
4.11	ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	37
4.12	จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.13	ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	38
4.14	ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ซ-ฐ) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฑ-ถ) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	39
4.15	ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	44
4.16	จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	44
4.17	ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	45
4.18	ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	45
4.19	จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	46
4.20	ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.21	ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	47
4.22	ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ซ-ฐ) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฑ-ถ) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	48
4.23	ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์...	51
4.24	จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	51
4.25	ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	52
4.26	ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.27	ร้อยละการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	55
4.28	จำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	55
4.29	ความยาวรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	56
4.30	ลักษณะการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	56
4.31	ร้อยละการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	60
4.32	จำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	60
4.33	ความยาวรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.34	ลักษณะการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	61
4.35	ลักษณะการรอดชีวิตของเอื้องสายมรกต (ก) และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* (ข) *V. tahitensis* (ค) *V. planifolia* variegata (ง) หลังจากนำออกปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และ *V. tahitensis* (จ) *V. planifolia* variegata (ฉ) หลังจากนำออกปลูกเป็นระยะเวลา 60 สัปดาห์.....	62
4.36	การชักนำให้เกิดยอดหลายยอดของเอื้องสายมรกต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ระบบ TIB (ข) และอาหารเหลวที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบ TIB (ค) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	ชื่อเต็ม
B5	อาหารสังเคราะห์สูตร Gamborg. *et al.* (1968)
BAP	6-Benzylamminopurine
$HgCl_2$	เมอคิวริกคลอไรด์
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indole-3-butyric acid
MS	อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962)
*m*T	*meta*-Topolin
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
TDZ	Thidiazuron
TIB	Temporary Immersion Bioreactor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นวงศ์ใหญ่ ประกอบด้วยกล้วยไม้ประมาณ 20,000-25,000 ชนิด โดยประเทศไทยเป็นถิ่นกำเนิดของกล้วยไม้มากกว่า 1,100 ชนิด สามารถพบได้ในพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ ซึ่งบริเวณที่มีกล้วยไม้เป็นจำนวนมาก และมีความหลากหลายของสายพันธุ์ คือ แถบทวีปเอเชียตอนใต้และตอนตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีสภาพอากาศอบอุ่นและชุ่มชื้น (กาญจนา, 2555) สำหรับประเทศไทยเป็นถิ่นกำเนิดกล้วยไม้ป่าที่สำคัญของภูมิภาคเอเชีย เนื่องจากมีพันธุ์กล้วยไม้ป่าเป็นจำนวนมาก จึงชี้ให้เห็นว่าสภาพสิ่งแวดล้อมของประเทศไทยเอื้ออำนวยต่อการเจริญงอกงามของกล้วยไม้มาก (มาลินี, ม.ป.ป.) กล้วยไม้เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยในอุตสาหกรรมไม้ตัดดอกที่ส่งออกทั้งหมด โดยมีปริมาณส่งออกเป็นอันดับ 1 ของโลก ซึ่งสามารถทำรายได้เข้าสู่ประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 1,000 ล้านบาท และมีมูลค่าการส่งออกที่เพิ่มสูงขึ้นในแต่ละปี ในปี 2563 มีมูลค่าการส่งออก 1,370 ล้านบาท โดยกล้วยไม้ที่นิยมส่งออกทั้งหมด ส่วนมากเป็นกล้วยไม้สกุลหวาย (วิชิต, 2537; กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2564)

เอื้องสายมรกต (*Dendrobium chrysanthum* Lindl.) เป็นกล้วยไม้ป่า จัดอยู่ในสกุลหวาย พบเห็นได้ยากและอยู่ในสถานภาพที่ถูกคุกคาม พบในป่าดิบเขาโล่งแจ้งแสงแดดจัด (สุพัตรา และคณะ, 2555) จึงถูกจัดเป็นพืชอนุรักษ์บัญชีที่ 2 ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518 และสหภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติและทรัพยากรธรรมชาติ (International Union for Conservation of Nature หรือ IUCN) กำหนดให้เป็นกล้วยไม้หายากในประเทศไทยและของโลก

วานิลลาเป็นพรรณไม้ในสกุล *Vanilla* ซึ่งวานิลลาจัดเป็นกล้วยไม้ชนิดหนึ่ง มีถิ่นกำเนิดอยู่ในป่าแถบอเมริกากลาง บริเวณประเทศเม็กซิโกและกัวเตมาลา ซึ่งวานิลลาเป็นพืชปลูกในหลายประเทศ โดยเฉพาะในประเทศมาดากัสการ์ซึ่งมีการส่งออกเป็นอันดับหนึ่งของโลก ในปี พ.ศ. 2534 ประเทศไทยมีการปลูกเชิงพาณิชย์โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) เริ่มปลูกพันธุ์การค้าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 ในปัจจุบันได้ส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกตามศูนย์พัฒนาโครงการหลวงต่าง ๆ ในภาคเหนือแล้วนำผลผลิตมาบ่มและจำหน่ายสินค้าในนามมูลนิธิโครงการหลวง (ปิยะ, 2558) ซึ่งประเทศไทยมีวานิลลาพื้นเมืองอยู่ 5 ชนิด ได้แก่ *V. albida* (เอาะลบ) *V. aphylla* (เถางูเขียว) *V. borneesis* Rolfe (สามร้อยต่อใหญ่) *V. griffithii Rchb* (เถากล้วยไม้) และ *V. siamensis* Rolfe ex Downie (พลูช้าง) แต่วานิลลาพื้นเมืองของไทยทุกชนิดติดฝักน้อยและมีกลิ่นหอมน้อย ยังไม่เป็นที่นิยมในการส่งเสริมให้ปลูกเป็นการค้าได้อย่างคุ้มค่า จึงต้องนำสายพันธุ์จากต่างประเทศที่ให้ผลผลิตสูงและคุ้มค่าเชิงเศรษฐกิจมาส่งเสริมการปลูก สำหรับชนิดที่นิยมปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั่วโลกมากที่สุดในปัจจุบันมี 3 ชนิด ได้แก่ *V. pompona* Scheide *V. tahitensis* J.W. Moore และ *V. planifolia* Andrew ซึ่งเป็นวานิลลาที่ปลูกในประเทศไทย เพื่อใช้ประโยชน์จากกลิ่นของฝักในอุตสาหกรรมขนมหวาน ไอศกรีม รวมทั้งขายฝักสดเพื่อแต่งกลิ่นอาหาร สารที่อยู่ในฝักที่ให้กลิ่นหอมนั่นคือ วานิลลิน (Vanillin) ซึ่งมีปริมาณน้อยและต้องใช้วิธีการสกัดที่ยุ่งยาก จึงมีค่าใช้จ่ายสูง ทำให้มีการผลิตสารสังเคราะห์กลิ่นคล้ายวานิลลาออกมา การขยายพันธุ์วานิลลาโดยปกติปลูกขึ้นค้างเป็นแถวในโรงเรือนซึ่งต้องควบคุมปริมาณน้ำที่รดให้ (ปิยะ, 2558) และใช้ระยะเวลานานเพื่อให้เกิดผลผลิต อีกทั้งยังมีปัจจัยทางภูมิประเทศ และสภาพอากาศเป็นสิ่งสำคัญในการเพาะปลูก และการผสมพันธุ์วานิลลาต้องใช้ความชำนาญในการผสมทำให้มีต้นทุนที่ค่อนข้างสูง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นอีกทางหนึ่งที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ภายในระยะเวลาอันสั้นและได้ปริมาณมาก ซึ่งในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกรูปแบบหนึ่งที่เป็นที่นิยมคือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยระบบจมชั่วคราว (Temporary immersion bioreactor system, TIB) เป็นการเพาะเลี้ยงรูปแบบใหม่สามารถเพิ่มปริมาณการเจริญเติบโตได้สูงกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็งหรือกึ่งแข็ง สามารถลดต้นทุนการผลิตในด้านแรงงาน เวลาที่ใช้เพาะเลี้ยง และอีกหลาย ๆ ด้าน (สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2560)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเมล็ดเอื้องสายมรกต

2) เพื่อศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ของเอื้องสายมรกต

3) เพื่อศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata

4) เพื่ออนุรักษ์และขยายพันธุ์สายพันธุ์ของกล้วยไม้และวานิลลาโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเมล็ด โปรโตคอร์ม และชิ้นส่วนข้อในการชักนำให้เกิดยอด เกิดราก และนำออกปลูกตามธรรมชาติของเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ B5 ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T IAA IBA และ NAA เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง เพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมของสายพันธุ์กล้วยไม้และวานิลลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ของเมล็ดและโปรโตคอร์มของเอื้องสายมรกต และชิ้นส่วนข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata
2) สามารถขยายพันธุ์เอื้องสายมรกตซึ่งเป็นกล้วยไม้ป่าที่ควรอนุรักษ์พันธุ์ไว้และวานิลลาซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญโดยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กล้วยไม้ (Orchid)

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Subclass Monocotyledonae) อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Family Orchidaceae) นับเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดวงศ์หนึ่งของพืชมีดอก (Dressler, 1982) ประกอบด้วยกล้วยไม้ประมาณ 25,000 ชนิด (Class Angiospermae) เจริญเติบโตได้ในทุกทวีป ยกเว้นทวีปแอนตาร์กติก มีการเจริญหลากหลายลักษณะ เช่น เจริญเติบโตบนกิ่งไม้ พื้นหิน พื้นดิน และที่ชื้นแฉะ ความแตกต่างของชนิดกล้วยไม้จะพบมากในเขตร้อน และมักเป็นกล้วยไม้อากาศ (epiphyte) ส่วนกล้วยไม้ที่อยู่ในเขตอบอุ่น มักเป็นพวกกล้วยไม้ดิน (terrestrial) (ครรชิต, 2550)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ (ปฐพีชล, 2547; วรชาติ และคณะ, ม.ป.ป.)

2.1.1.1 ลำต้น

โดยทั่วไปแล้วลำต้นของกล้วยไม้ไม่มีแก่นและพบว่าเนื้อในของลำต้นนั้นเสมอกัน ในการแบ่งแยกลำต้นของกล้วยไม้แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ กลุ่มลำต้นกล้วยไม้ที่มีลักษณะเป็นลำต้นปกติ (Monopodial) มีลักษณะลำต้นที่เป็นข้อ ปล้องแข็ง และเหนียว เช่นเดียวกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่วไป เช่น สกุลกุหลาบ (Aerides) สกุลแวนด้า (Cleisostoma) และกลุ่มต้นกล้วยไม้ที่ไม่มีลักษณะเป็นลำต้นปกติ (Sympodial) มีลักษณะลำต้นคล้ายเหง้า (Rhizome) ส่งก้านใบขึ้นมาเป็นระยะ ๆ ความยาวของข้อและปล้องจะเจริญทอดขนานกับพื้นไปตามแนวนอน และถือเอาส่วนที่แตกหน่อเป็นยอด ดังนั้น ส่วนที่ชูใบขึ้นจากพื้นเป็นเพียงส่วนที่ทำหน้าที่คล้ายก้านใบ ทีชื่อเรียกเฉพาะว่าลำลูกกล้วย (Pseudo bulb) ซึ่งมีข้อ ปล้องและตา แต่ไม่ใช่ลำต้นที่แท้จริง เช่น สกุลหวาย (Dendrobium) สกุลออนซิเดียม (Oncidium)

2.1.1.2 ราก

ระบบรากมีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของกล้วยไม้ อาจเกิดที่โคนต้นหรือตามข้อ รากเก็บน้ำไว้ที่เซลล์ผิวรากซึ่งมีหลายชั้นและพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อมีลักษณะเป็นนวมหุ้มรอบรากเรียกว่า วีลาเมน (Velamen) เพื่อดูดซับน้ำได้ดีและแผ่ความชื้นไปทั่วราก แต่น้ำไม่สามารถซึมออกมาได้ พบในกล้วยไม้อิงอาศัยส่วนใหญ่และกล้วยไม้ดินบางชนิด ในกล้วยไม้ดินชนิดอื่น พบเป็นระบบรากฝอยเช่นเดียวกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่วไป ยังมีกล้วยไม้อีกหลายชนิดที่มีระบบรากอากาศหรือยึดเกาะอยู่ตามคบไม้ได้

2.1.1.3 ใบกล้วยไม้

ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงแบบสลับ เรียงแบบเวียน รอบลำต้น หรือมีใบเดียว แผ่นใบเป็นแผ่นพับกลางตามยาว พับเป็นจีบ เป็นเส้นหรือเป็นแท่งกลม ก้านใบแผ่เป็นกาบหุ้มลำต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ผลัดใบซึ่งใบมักหนา ค่อนข้างอวบน้ำและแข็ง บางชนิดใบอาจลดรูปไป ทั้งนี้เพราะเป็นพืชสกุลใหญ่นั่นเอง

2.1.1.4 ดอกกล้วยไม้

ดอกกล้วยไม้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ โดยทั่วไปกล้วยไม้มี 6 กลีบ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 3 กลีบ และกลีบดอก 3 กลีบ ช่อดอกของกล้วยไม้มีลักษณะแตกต่างกันมาก บางชนิดมีก้านช่อสั้น และบางชนิดมีก้านช่อยาว เช่น กล้วยไม้สกุลหวาย จำพวกเอื้องสายต่าง ๆ เป็นกล้วยไม้ที่มีก้านช่อดอกสั้นมาก

2.1.1.5 ฝักกล้วยไม้

ฝักกล้วยไม้หรือผล ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก เมื่อยังอ่อนจะมีสีเขียวและจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อแก่ ขนาดและรูปร่างมีหลายแบบ เช่น รูปทรงกระบอกยาวรูปกลมรูปไข่ อายุของฝักกล้วยไม้ตั้งแต่การผสมแล้วไปจนถึงฝักแก่แตกต่างกัน แล้วแต่ชนิดของกล้วยไม้และสภาพแวดล้อม ฝักกล้วยไม้ประเภท Monopodial มักติดอยู่กับก้านใบ ปลายชี้ขึ้นแต่ฝักกล้วยไม้ประเภท Sympodial มักจะห้อยลงมาเป็นส่วนมาก เช่น ฝักกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) แต่ละฝักหากมีความสมบูรณ์อาจให้เมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีลักษณะเล็กเป็นผงละเอียด

2.1.1.6 เมล็ดกล้วยไม้

ลักษณะเมล็ดมีขนาดเล็กมาก ขนาดละอองฝุ่น ภายในมีเอ็มบริโอขนาดเล็กล้อมรอบด้วยอากาศก่อนที่จะถูกห่อหุ้มด้วยเปลือกหุ้มเมล็ด ฝักที่โตและสมบูรณ์อาจมีจำนวนเมล็ดมากถึงล้านเมล็ด แต่เมล็ดกล้วยไม้ไม่มีเอนโดสเปิร์มไว้สำหรับต้นอ่อนที่เพิ่งงอก ซึ่งต่างจากเมล็ดพืชอื่น จึงทำให้จำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นขึ้นมามีเพียงเล็กน้อย ในธรรมชาติเมล็ดจะงอกได้ต้องอาศัยอาหารจากเชื้อราที่อาศัยอยู่ภายในเมล็ด เป็นการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน

2.1.2 สกุลกล้วยไม้ที่ใช้ในการศึกษา (กาญจนา, 2555)

กล้วยไม้ในโลกมีจำนวนสกุลมากกว่า 800 สกุล มีถิ่นกำเนิดในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน บางสกุลสามารถปรับตัวและปลูกในพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างจากถิ่นกำเนิดได้ กล้วยไม้ที่นิยมปลูกในประเทศไทย ประกอบด้วยกล้วยไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนและเขตอบอุ่น

2.1.2.1 สกุลหวาย (*Dendrobium* spp.)

กล้วยไม้สกุลหวายมีแหล่งกำเนิดอยู่ในเขตร้อนและกึ่งร้อนของเอเชีย เป็นสกุลใหญ่ที่สุดที่พบในไทย โดยพบกล้วยไม้ป่ามากกว่า 150 ชนิด (อบฉันท์, 2543) ซึ่งมีลักษณะของดอก ใบ ลำลูกกล้วย ที่แตกต่างกันมาก กล้วยไม้สกุลหวายเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ที่มีการเจริญเติบโตทางด้านข้าง จึงมีส่วนของลำลูกกล้วยไว้เก็บสะสมอาหารและใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์ได้เป็นอย่างดี ระบบรากเป็นกึ่งอากาศ ดอกของกล้วยไม้สกุลหวายมีกลีบขนาดใกล้เคียงกัน กลีบเลี้ยงคู่ข้างจะเชื่อมติดกับฐานเส้าเกสร และที่รอยต่อนี้จะปูดออกมาเรียกว่า เดือย (Mentum) กลุ่มเรณูมี 4 กลุ่ม สีเหลือง ไม่มีก้าน ติดอยู่ที่ปลายของเส้าเกสร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) เอื้องสายมรกต (*Dendrobium chrysanthum* Lindl.) (สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2551)

กล้วยไม้อิงอาศัยบนต้นไม้หรือก้อนหิน ลำต้นรูปรี ผิวเป็นร่องมีขนละเอียดสีดำ ใบรูปรี ปลายแหลมหยักไม่เท่ากันทั้งต้น ใบมีขนละเอียดสีดำ ดอกมีสีเหลืองเข้ม (รูปที่ 2.1 ก) เกิดจากข้อใกล้ยอดหรือที่ยอดเป็นช่อสั้น มี 1-2 ดอก ขนาดดอก 2-5 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาว กลีบปากรูปไต กลางกลีบปากมีแต้มสีแดงอมส้ม ปลายกลีบสีขาว มีขนสั้นปกคลุมไม่ถึงปลายกลีบ ปลายกลีบเว้าเล็กน้อย ดอกมีกลิ่นหอม ฤดูออกดอกเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม ฝักมีรูปร่างรีปลายเรียวห้อยปลายลง (รูปที่ 2.1 ข) (108 พรรณไม้ไทย, 2542) เป็นกล้วยไม้ป่าที่ถูกกำหนดให้เป็นกล้วยไม้หายาก แหล่งที่พบในประเทศไทย ป่าดิบแล้งที่สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 1,000 เมตรขึ้นไป ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

รูปที่ 2.1 ลักษณะลำต้น ใบและดอกของเอื้องสายมรกต (ก) ลักษณะฝักของเอื้องสายมรกต (ข) (ที่มา: (ก) ชมรมคนรักษ์พรรณไม้, 2560; (ข) ผู้จัดทำ, 2561)

2.1.2.2 สกุลวานิลลา (*Vanilla* spp.) (สารยูไนเต็ด, 2012)

ลำต้นเป็นเถายาว สีเขียว อวบน้ำ ขนาดของลำต้นขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของเถา ใบลักษณะแบน อวบน้ำ ใบกว้าง ปลายใบเรียว ก้านใบสั้น ช่อดอก ออกจากตรงซอกใบ ไม่มีก้านดอก ช่อดอกแต่ละช่อจะมีดอกเฉลี่ย 15 ดอก ดอกมีสีเหลืองอมเขียว บานในตอนเช้า เวลาที่พร้อมจะผสมเกสร คือระหว่างตอนเช้าถึงเที่ยง และลักษณะโครงสร้างของดอกทำให้ละอองเกสรตัวผู้ไม่สามารถถ่ายลงไปผสมเกสรตัวเมียได้ จึงต้องใช้ผู้ปลูกเลี้ยงช่วยผสมเกสร ไม่เช่นนั้นจะไม่ติดฝัก รากสีเขียว เป็นรากอากาศค่อนข้างยาว รากแตกออกตรงข้ามกับใบ

1) *Vanilla aphylla* (กองคุ้มครองพันธุ์สัตว์ป่าและพืชป่าตามอนุสัญญา กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2556; บ้านและสวน, 2559)

มีชื่อเรียกอีกอย่างว่า เถางูเขียว ลำต้นสีเขียวอวบน้ำเกือบกลมหรือแบนเล็กน้อย ผิวต้นเกลี้ยงไม่มีใบ รากออกที่ข้อ (รูปที่ 2.2) ออกดอกเป็นช่อสั้นตามข้อ 2-3 ดอก ดอกขนาด 3 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาวอมเขียวปลายกลีบมน กลีบปากสีขาวแกมชมพู โคนเชื่อมกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้าเกสรลักษณะม้วนห่อขึ้น ออกดอกช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม พบในป่าเต็งรังและป่าดิบแล้ง เขตการกระจายพันธุ์อยู่ที่พม่า ไทย ลาว เวียดนาม มาเลเซีย และอินโดนีเซีย

รูปที่ 2.2 ลักษณะลำต้นของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla*
(ที่มา: ผู้จัดทำ, 2561)

2) *Vanilla tahitensis* J.W. Moore (ฟ้าใสวันใหม่, 2562; Ravindran, 2018; Orchidsasiavanamorchilds, 2019)

เป็นวานิลลาพันธุ์พื้นเมืองปลูกมากที่เกาะตาฮิติ ลำต้นเรียวยาว ใบแคบ และเรียวซึ่งมีความยาว 12-14 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 9-10 มิลลิเมตร (รูปที่ 2.3) ดอกมีขนาดเล็ก สีเหลืองอ่อนครีม ฝักมีลักษณะอวบและหนา โดดเด่นในเรื่องของกลิ่นหอมมากกว่ารสชาติ จึงเหมาะในการใช้ทำอุตสาหกรรมเครื่องหอมและเครื่องสำอาง

รูปที่ 2.3 ลักษณะลำต้นและใบของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* J.W. Moore
(ที่มา: Tahititourisme, 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) *Vanilla planifolia* variegata (Glassbox tropical, 2019; Dave's garden, 2011)

เป็นวานิลลาพันธุ์พื้นเมืองของประเทศเม็กซิโกและสาธารณรัฐกัวเตมาลา ลำต้นหนาขนาด 1-2 เซนติเมตร มีลักษณะที่แตกต่างจากวานิลลาทั่วไปคือใบเรียวรูปหอกสีเขียวมีแถบสีขาวตรงกลางใบและไม่มีก้านใบ (รูปที่ 2.4) ดอกสีเขียว ออกดอกช่วงกลางฤดูใบไม้ผลิ ปลายฤดูใบไม้ผลิ และต้นฤดูร้อนสามารถเจริญเติบโตสูงได้ถึง 15 เซนติเมตร

รูปที่ 2.4 ลักษณะลำต้นและใบของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata
(ที่มา: ผู้จัดทำ, 2561)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ศิวพงศ์, 2546; สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม, 2542)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) หมายถึง การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชบนอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบไปด้วย ธาตุอาหาร เกลือแร่ วิตามิน น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโต ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อและควบคุมสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แสงสว่าง ในปัจจุบันเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มีการนำไปใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวาง ทั้งการเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) และโพรโทพลาสต์ (protoplast) ตลอดจนการทำลูกผสมของโพรโทพลาสต์ระหว่างพืชต่างชนิดกัน (ศิวพงศ์, 2546)

2.2.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (อนุรักษ์, 2550)

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายชนิด ประกอบด้วยสารประกอบหลายอย่าง ขึ้นกับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช อาจจะแบ่งออกได้เป็น 2 พวกใหญ่ ๆ ได้แก่ พวกที่เป็นสารอนินทรีย์ และพวกที่เป็นสารอินทรีย์

2.2.1.1 สารอนินทรีย์ (inorganic substances)

เกลือแร่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งบนอาหารเพาะเลี้ยง ต้องคำนึงถึงสัดส่วน และชนิดของเกลือแร่ที่เหมาะสม ประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) กำมะถัน (S) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และเหล็ก (Fe)

2) ธาตุอาหารรอง ได้แก่ โบรอน (B) โมลิบดินัม (Mo) แมงกานีส (Mn) โคบอลต์ (Co) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) คลอรีน (Cl) และ ไอโอดีน (I)

2.2.1.2 สารอินทรีย์ (Organic Substances)

สารเหล่านี้พืชสามารถสร้างขึ้นเองได้ แต่พืชที่นำมาเพาะเลี้ยงยังเจริญไม่สมบูรณ์พอที่จะสามารถสร้างสารต่าง ๆ นี้ได้ จึงจำเป็นต้องเติมบนอาหารเพาะเลี้ยงด้วย

1) คาร์โบไฮเดรต เป็นแหล่งพลังงานของพืช เช่น น้ำตาล แป้ง และเซลลูโลส สารประกอบเหล่านี้ประกอบด้วย คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O) น้ำตาลจำเป็นในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเพราะว่าการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชยังไม่เพียงพอ นิยมใช้น้ำตาลซูโครส (sucrose)

2) วิตามิน บนอาหารแต่ละสูตรอาจใช้วิตามินเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิด ได้แก่ อิโนซิทอล (myo-inositol) วิตามิน บี1 (thiamine หรือ Vitamin B1) วิตามิน บี2 (riboflavin หรือ Vitamin B2) วิตามิน ซี (ascorbic acid หรือ Vitamin C) ไนอาซีน (niacine) และไพริด็อกซิน (pyridoxine)

3) กรดอะมิโน จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการสร้างอวัยวะต่าง ๆ กรดอะมิโนที่นิยมใช้มากคือ ไกลซีน (glycine) ใช้ประมาณ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

4) สารอินทรีย์อื่น ๆ สารอินทรีย์ที่ได้จากพืชหรือยีสต์ เพื่อให้เจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น เช่น วุ้น (agar) เป็นสารสกัดจากสาหร่ายสีแดงหลายชนิด ทำให้อาหารแข็งพอที่จะช่วยพยุงเนื้อเยื่อพืชได้ ความเข้มข้นที่นิยมใช้ทั่วไปประมาณ 7-10 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร

5) สารควบคุมการเจริญเติบโตหรือฮอร์โมน เป็นสารที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช ใช้เรียกทั้งสารที่เกิดขึ้นจากธรรมชาติและสารที่สังเคราะห์ขึ้นมา โดยอาหารจะต้องมีอัตราส่วนและฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อชนิดของพืชด้วย ฮอร์โมนที่นิยมใช้กันมากมี 2 กลุ่ม ได้แก่

- ออกซิน (auxin) ช่วยในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดราก เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA (Indoleacetic acid) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA (Indole-3-butyric acid) และ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) มีการใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินในการกระตุ้นการแตกหน่อ

- ไซโตไคนิน (cytokinin) ช่วยควบคุมการงอกของเมล็ด การเจริญของตาข้าง ช่วยให้กระตุ้นการแบ่งเซลล์และเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อเล็ก ๆ (adventitious shoot) จากส่วนของแคลลัสหรืออวัยวะที่เพาะเลี้ยง (บุญยืน, 2544) เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP (Benzylamino purine) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T (*Meta*-topolin) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (Thidiazuron)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรด-ด่างของอาหารโดยทั่วไปจะปรับอยู่ในระหว่าง 5.0-6.0 ก่อนที่จะนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน (บุญยืน, 2544)

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor system, TIB) (สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชา การเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2560; นพมณีและคณะ, 2549)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว เป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารเหลวรูปแบบหนึ่งซึ่งเป็นวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบใหม่ที่พัฒนามาจากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมัก โดยมีการให้อาหารเป็นครั้งคราว แต่เนื้อเยื่อพืชไม่ได้จมอยู่บนอาหารเหลวตลอดเวลาเหมือนกับในระบบถังหมัก

ข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระบบ TIB

1. สามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชในการเพาะเลี้ยงได้มากขึ้น
2. ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแผ่นกรองอากาศ
3. เป็นวิธีที่ทำได้สะดวกและรวดเร็วเนื่องจากการเปลี่ยนอาหารทำได้ง่าย
4. ลดค่าใช้จ่ายในส่วนของค่าแรง วัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไปได้มาก
5. ประหยัดพื้นที่ในการใช้ห้องเพาะเลี้ยง
6. การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชสูงกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและกึ่งแข็ง

ข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระบบ TIB

1. การลงทุนเริ่มต้นค่อนข้างสูงถ้าทำในระบบใหญ่ เนื่องจากอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพง
2. หากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จะเกิดความเสียหายในปริมาณมาก
3. ผู้ปฏิบัติงานต้องมีความชำนาญในอุปกรณ์

การออกแบบระบบ TIB ต้องคำนึงถึงความต่อเนื่องในการใช้งาน ความยากง่ายในการปฏิบัติและดูแลรักษา ทำให้สามารถจำแนกรูปแบบของระบบ TIB จำแนกเป็น 3 ประเภท

2.3.1 การให้เนื้อเยื่อพืชจมบนอาหารเหลวเป็นบางเวลาและสามารถเปลี่ยนอาหารได้

หลักการทำงานคือให้อาหารเหลวท่วมเนื้อเยื้อพืชตามเวลาที่กำหนด หลังจากนั้นปล่อยให้อาหารเหลวไหลกลับสู่ขวดอาหาร ข้อดีของระบบนี้คือช่วยลดการฉ่ำน้ำของพืช สามารถขยายขนาดภาชนะและเปลี่ยนอาหารได้ง่าย

2.3.2 การให้เนื้อเยื่อพืชอยู่บนอาหารเหลวไม่สมบูรณ์เป็นบางเวลาและสามารถเปลี่ยนอาหารได้

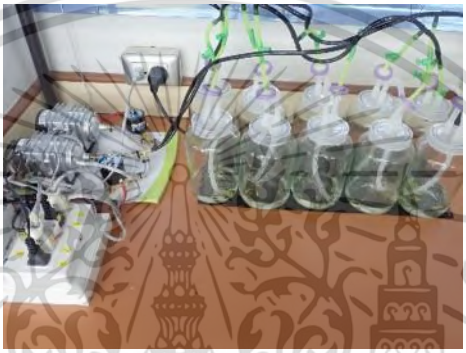
หลักการทำงานคือให้เนื้อเยื่อพืชอยู่บนสิ่งที่ช่วยพยุงเสมอ เช่น แผ่นตาข่าย หรือแผ่นเซลลูโลส อยู่แยกจากอาหาร และให้อาหารเหลวสัมผัสเฉพาะส่วนล่างของเนื้อเยื่อพืชตามเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่กำหนด วัตถุประสงค์ของระบบนี้ก็คือเพื่อเพิ่มอาหารหรือสารบางอย่างในช่วงเวลาหนึ่งของการเพาะเลี้ยง

2.3.3 การให้เนื้อเยื่อพืชจมบนอาหารเหลวเป็นบางเวลาโดยใช้แรงดันลมเป็นตัวผลักดัน

เป็นระบบที่ไม่ซับซ้อน ใช้งานง่าย หลักการทำงานคือให้อาหารเหลวกับชิ้นส่วนพืชโดยใช้แรงดันลมจากปั๊มอากาศที่ทำงานตามเวลาที่เรากำหนดไว้ เมื่อถึงเวลา แรงดันจากปั๊มอากาศ จะดันอาหารเหลวจากภาชนะบรรจุไปสู่ภาชนะที่มีชิ้นส่วนพืช ถ้ามีแรงดันลมต่อจะทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนอากาศในระบบ เมื่อครบเวลากำหนด แรงดันลมจากปั๊มที่อยู่ในภาชนะบรรจุชิ้นส่วนพืช จะไหลกลับเข้าสู่ภาชนะอาหารเช่นเดิม (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบระบบ TIB โดยใช้แรงลม
(ที่มา: ผู้จัดทำ, 2564)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ศิริวารินทร์ และอารักษ์ (2549) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและการเจริญของโปรโตคอร์มกล้วยไม้พญาฉัททันต์ โดยทำความสะอาดฝักกล้วยไม้ด้วยน้ำยาทำความสะอาด จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ นำไปผ่านไฟแล้วผ่าฝักนำเมล็ดออกมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและเหลวสูตร Vacin & Went (VW, 1949) ที่ปราศจากน้ำมะพร้าว และที่ประกอบด้วยน้ำมะพร้าว ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ นำไปเขย่าที่ 80 รอบต่อนาที พบว่า หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ เอ็มบริโอภายในเมล็ดเริ่มบวมจนหลุดออกจากเยื่อหุ้มเมล็ด มีการเจริญจนพบใบขนาดเล็ก 1-2 ใบ ในสัปดาห์ที่ 18-20 ซึ่งสรุปได้ว่าเมล็ดที่เพาะบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วยน้ำมะพร้าวในสภาพที่ให้แสงมีการงอกที่ดีที่สุด

Luo. *et al*. (2008) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อฝักของ *Dendrobium densiflorum* Lindl. *ex* Wall. ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที และแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 60 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง รอให้ฝักแห้งและผ่าตามความยาว นำเมล็ดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พบว่าชักนำให้เกิดยอดได้สำเร็จ

Hajong. *et al.* (2010) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อฝักของ *Dendrobium chrysanthum* ที่มีอายุฝัก 8 เดือน นำฝักมาล้างผ่านน้ำ ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์และเผาไฟทันที 3-4 ครั้ง ผ่าฝักตามความยาวและนำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Nitsch and Nitsch (1969) MS B5 และ Knudson C (KC, 1946) พบการงอกของเมล็ดได้ดีบนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 เนื่องจากบนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 มีไนโตรเจนที่มีสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด

มณฑิณี และสะใบทอง (2561) ทำการศึกษาการขยายพันธุ์ *Vanilla planifolia* (Andrews) โดยการนำปลายยอดและตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย คลอร็อกซ์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อีก 15 นาที และทำการล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 1 เดือน และนำยอดใหม่ที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.1 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 5 ยอด

Nag and Kumaria (2018) ศึกษาการชักนำโปรโตคอร์มจากเมล็ดกล้วยไม้ฟ้ามุ่ย (*Vanda coerulea*) โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที จากนั้นนำไปผ่านไฟ 2-3 วินาที และผ่าฝักนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS KC VW และ B5 ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร B5 สามารถชักนำการงอกของเมล็ดได้สูงสุด ร้อยละ 71.06 ซึ่งมากกว่าอาหารสังเคราะห์ MS KC และ VW ที่สามารถชักนำการงอกของเมล็ดได้ ร้อยละ 59.34 22.53 และ 43.36 ตามลำดับ ต่อมาเมื่อเมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มแล้วจึงชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี้บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ สารควบคุมการเจริญเติบโต kinetin (Kn) ความเข้มข้น 2-10 ไมโครโมลาร์ และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1-5 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ให้ผลทุกอย่างสูงที่สุด คือ ร้อยละการมีชีวิต ร้อยละ 70.25 จำนวนโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ 4.82 โปรโตคอร์มไลค์บอดี้ จำนวนยอด 4.34 ยอด ความยาวยอด 0.89 เซนติเมตร จำนวนราก 2.86 ราก และความยาวราก 1.04 ราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 การชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม

Zhao. *et al*. (2008) ศึกษาการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี้จากแคลลัสสีเหลืองอ่อน สีน้ำตาล และสีขาวของ *Dendrobium densiflorum* Wall *ex*. Lindl. เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.2 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือร่วมกัน พบว่า อาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต แคลลัสสีเหลืองอ่อนเปลี่ยนเป็นสีเขียว เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี้มากที่สุด ค่าเฉลี่ย 47.2 ต่อแคลลัสขนาด 16 ลูกบาศก์มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน

จตุพร และคณะ (2560) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เขาแกะ โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยการแช่ฝักในสารละลายแคลเซียมไฮเปอร์คลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง จากนั้นนำเมล็ดที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 3 สูตร VW MS และ New Dogashima Medium (NDM, 1993) เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดกล้วยไม้เขาแกะสามารถเจริญเป็นโปรโตคอร์มได้ดีบนอาหารสูตร NDM ร้อยละการงอกสูงสุด ร้อยละ 100 และเมื่อนำโปรโตคอร์มไปชักนำให้เกิดยอดโดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร NDM ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า อาหารทุกสูตรที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้โปรโตคอร์มเกิดยอดได้ ร้อยละ 80-100

Utami. *et al*. (2017) ศึกษาการขยายพันธุ์ของกล้วยไม้ *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm ที่ใกล้สูญพันธุ์ผ่านการเพาะเมล็ด โดยทำการล้างฝักกล้วยไม้ด้วยน้ำยาล้างจาน ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที และล้างผ่านน้ำประปา จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และฆ่าเชื้อในเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อมานำมาผ่านไฟ เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่ประกอบด้วยเพปโตน 1-3 กรัมต่อลิตร และบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า เมล็ดเกิดการงอกเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ และเอ็มบริโอมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

Kunakhonnuruk. *et al*. (2018) ศึกษาผลของฝักที่เก็บเกี่ยวหลังได้รับการผสมพันธุ์เป็นระยะเวลา 2 4 6 และ 8 สัปดาห์ บนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่ประกอบด้วย น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร สารสกัดมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร พบว่า ฝักที่เก็บเกี่ยวหลังการผสมพันธุ์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมล็ดมีการงอกบนอาหารกึ่งแข็ง ร้อยละการงอกสูงสุด ร้อยละ 79.2 และพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีการงอกของยอดและราก ร้อยละ 24 จากนั้นเพาะเมล็ดบนอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวสูตร VW MS BM (Van Waes and Debergh, 1986) MM (Malmgren, 1996) และ KC เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า อาหารสังเคราะห์สูตรกึ่งแข็ง VW เมล็ดมี

เอกสารนี้ [illegible] ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การงอกสูงสุดร้อยละ 70.2 และพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่มีการงอกของยอดและรากได้ ร้อยละ 54 จากนั้นเมื่อได้ต้นอ่อนที่มียอดหลายยอดแล้ว ทำการย้ายลงกระถางออกปลูกที่ประกอบด้วย ไฮโดรตรอน หินภูเขาไฟ หรือทั้งไฮโดรตรอนและหินภูเขาไฟอัตราส่วน 1:1 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ร้อยละการรอดชีวิตใกล้เคียงร้อยละ 100 ขณะที่ต้นอ่อนที่นำออกปลูกร้อยละ 63-68 สามารถผลิตยอดใหม่เกิดขึ้นได้

2.4.3 การชักนำให้เกิดยอด

Hajong. *et al.* (2013) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของ *D. chrysanthum* ตัดชิ้นส่วนข้อประมาณ 3-4 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ 2,4-D สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ 2,4-D และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ร่วมกับ BAP โดยความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ คือ 0 1.1 2.2 4.4 และ 6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0 1.1 2.2 4.5 และ 6.8 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบการเกิดยอด ร้อยละ 100 บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.1 และ 2.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนั้นพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดคือ 9.46 ยอด และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวยอดมากที่สุด คือ 1.52 เซนติเมตร

Zuraida. *et al.* (2013) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อและชิ้นส่วนปลายยอดของ *Vanilla planifolia* บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS และ ½ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 หรือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนข้อมีการชักนำให้เกิดยอดดีกว่าชิ้นส่วนปลายยอด ซึ่งพบการเกิดยอดที่ดีที่สุดที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหาร ½ MS หลังจากการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 พบยอดที่เกิดจำนวน 55 ยอด

Pongener and Deb (2016) ศึกษาการงอกของเมล็ด *Dendrobium densiflorum* Lindl. ในหลอดทดลอง โดยการชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ให้เกิดยอดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0-4 เปอร์เซ็นต์ และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0-9 ไมโครโมลาร์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุด 12 ยอด และมีการเกิดใบและราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Minh. *et al.* (2017) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้สกุลออนซิเดียม (*Oncidium* sp.) โดยการชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ให้เกิดยอด เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็บสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0 0.1 0.25 0.50 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดได้สูงสุด 12.42 ยอด ยอดมีสีเขียวและแข็งแรง ความสูง 3-5 เซนติเมตร และ 6-9 ใบ จากนั้นทำการชักนำยอดให้เกิดรากบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.1 0.25 0.50 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนรากได้สูงสุด 2.64 ราก และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวรากสูงสุด 12.58 เซนติเมตร

วริศา และสุมนทิพย์ (2548) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นและรากของกล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำ โดยเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มขนาด 0.2-0.3 มิลลิเมตร บนอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เพิ่มวิตามินและกรดอะมิโนต่าง ๆ ลงไป และที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0 0.1 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า อาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ทุกความเข้มข้น สามารถเจริญเป็นต้นได้ในกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด

Maharjan. *et al.* (2020) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายใกล้สูญพันธุ์ *Dendrobium chryseum* Rolfe จากการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม โดยการชักนำเมล็ดให้เกิดการพัฒนาโปรโตคอร์มบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS จากนั้นนำไปชักนำยอดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP Kn และ Gibberellic acid (GA) ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พร้อมกับน้ำมะพร้าว ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย Kn ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำมะพร้าว ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดสูงสุด 18.75 ยอด และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย GA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำมะพร้าว ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวยอดสูงสุด 2 เซนติเมตร

2.4.4 การชักนำให้เกิดรากและการออกปลูกในธรรมชาติ

Chyuam. *et al*. (2010) ศึกษาการนำ *Paphiopedilum rothschildianum* ออกปลูก โดยนำต้นอ่อนที่มีใบและราก ความสูงต้นประมาณ 2 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาดแล้วนำไปจุ่มบนอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากน้ำตาลซูโครสและย้ายลงกระถางที่ประกอบด้วยพีทมอส จากนั้นนำไปปลูกในเรือนกระจกแล้วรดน้ำวันละสองครั้งเพื่อรักษาความชื้น และฉีดพ่นอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากน้ำตาลซูโครสทุกสัปดาห์ พบว่า ต้นกล้ารอดชีวิตร้อยละ 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pant and Deepa (2012) ศึกษาการชักนำรากของ *Dendrobium primulinum* Lindl. โดยเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด จากนั้นนำต้นกล้าออกปลูก โดยนำต้นอ่อนที่มีใบและราก ความสูงต้นประมาณ 2 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาดแล้วนำไปจุ่มบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากน้ำตาลซูโครส ย้ายลงกระถางที่ประกอบด้วยขุยมะพร้าวและพีทมอส อัตราส่วน 2:1 จากนั้นนำไปปลูกในเรือนกระจกแล้วรดน้ำวันละสองครั้งเพื่อรักษาความชื้น และฉีดพ่นอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากน้ำตาลซูโครสทุกสัปดาห์ พบว่า ต้นกล้ารอดชีวิตร้อยละ 70

Ayele. *et al.* (2017) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากยอดของ *Vanilla planifolia* Andr. clone (Van. 2/05) นำยอดที่ได้จากการทดลอง ประมาณ 4 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ½ MS และ ¼ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0 0.5 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีการเกิดราก ร้อยละ 100 ในทุกสูตรอาหาร ส่วนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าเฉลี่ยความยาวรากมากที่สุด คือ 6.20 เซนติเมตร จากนั้นนำต้นอ่อนล้างในน้ำอุ่นและแช่สารฆ่าเชื้อรา ย้ายออกปลูกในกระถางที่มีแกลบ ดิน และทราย อัตราส่วน 1:1:1 คลุมพลาสติกไว้ 2 สัปดาห์ และย้ายออกเพื่อปรับสภาพอีกครั้ง พบการรอดชีวิตในการออกปลูกร้อยละ 83.4

Chaipanich. *et al*. (2020) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. siamensis* โดยเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และ วุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ร้อยละ 100 ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากสูงสุด 1.67 ราก และเมื่อนำออกปลูกในสภาวะธรรมชาติ อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการรอดชีวิตร้อยละ 91.7 เมื่อออกปลูกเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

Chen. *et a*l. (2014) ทำการศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์ *Dendrobium officinale* ด้วยการนำยอดขนาด 1.5 เซนติเมตร ชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ¼ MS ½ MS และ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ น้ำตาล 15 กรัมต่อลิตร ชานอ้อย 5.5 กรัมต่อลิตร ทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 80 วัน พบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 100

Naaz. *et a*l. (2019) ศึกษาการชักนำให้เกิดรากและการออกปลูกตามธรรมชาติของ *Syzygium cumini* โดยนำยอดที่มีความแข็งแรงสมบูรณ์ ขนาด 5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS และ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1-7.5 ไมโครโมลาร์ พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนราก 6.33 ราก และความยาวราก 0.21 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำไปลงกระถางที่มีดินและฉีดพ่นอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS คลุมด้วยถุงพลาสติกเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายออกปลูกในเรือนกระจก พบว่าต้นพืชมีการรอดชีวิต

2.4.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว

นิรมล (2556) ศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินด้วยระบบจมชั่วคราว (TIB) โดยการให้อาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ทุก 2 4 และ 6 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ให้อาหาร 5 นาที และ 10 นาที ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 เดือน ผลการทดลองพบว่า กล้วยไม้เอื้องเงินที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่ให้อาหารเป็นเวลา 5 นาที ทุก 2 ชั่วโมงนั้น มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ปริมาณการสร้างยอดใหม่เพิ่มขึ้น 2.9 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างพืชที่ใช้ศึกษา

วานิลลาจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata ได้รับความอนุเคราะห์จากพระตำหนักสวนปทุม ตำบลบางขะแยง อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี

เอื้องสายมรกต

3.2 สารเคมี

3.2.1 อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skooge, 1962)

3.2.2 อาหารสังเคราะห์สูตร B5 (Gamborg *et* al, 1968)

3.2.3 6-Benzylaminopurine (BAP)

3.2.4 *meta*-Topolin (*m*T)

3.2.5 Thidiazuron (TDZ)

3.2.6 Indole-3-butyric acid (IBA)

3.2.7 Indole-3-acetic acid (IAA)

3.2.8 1-Naphthaleneacetic acid (NAA)

3.2.9 เมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric (II) chloride)

3.2.10 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

3.2.11 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)

3.2.12 น้ำตาลซูโครส (sucrose)

3.2.13 ผงวุ้นเจลแลนกัม (phyto technology laboratory lnc.)

3.2.14 เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

3.2.15 ทวีน-20 (tween-20)

3.2.16 น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (distilled water)

3.3 เครื่องแก้ว อุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ

3.3.1 เครื่องชั่ง (balance)

3.3.2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.3.3 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแบบใช้ความดัน (autoclave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

3.3.5 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet)

3.3.6 เครื่องเขย่า (shaker)

3.3.7 เครื่องไมโครเวฟ (microwave oven)

3.3.8 ตะเกียง (alcohol burner)

3.3.9 ไฟแช็ค (lighter)

3.3.10 มีดผ่าตัด (scalpel)

3.3.11 กรรไกร (scissors)

3.3.12 ปากคีบ (forceps)

3.3.13 ช้อนตักสารเคมี (spatula)

3.3.14 ทิปขนาดต่าง ๆ (tip)

3.3.15 เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (auto pipette)

3.3.16 พาราฟิล์ม (parafilm)

3.3.17 แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ (aluminium foil)

3.3.18 ถ้วยชั่งสาร (weighing boat)

3.3.19 กระดาษทิชชู (tissue paper)

3.3.20 ถุงมือ (gloves)

3.3.21 บีกเกอร์ (beaker)

3.3.22 กระบอกตวง (cylinder)

3.3.23 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

3.3.24 จานแก้ว (petri dish)

3.3.25 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (bottle)

3.3.26 ชุดการทดลองระบบ TIB

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเมล็ดเอื้องสายมรกต

นำฝักของเอื้องสายมรกตมาล้างน้ำสะอาด ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ลนไฟทันที ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง จากนั้นผ่าฝักของเอื้องสายมรกตตามความยาว ชั่งเมล็ด 0.05 กรัม เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโต โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตร สูตรละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น (0.05 กรัม) เพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ย้ายมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สังเกตลักษณะการงอกของเมล็ด

3.4.2 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดของเอื้องสายมรกต

นำโปรโตคอร์มที่ได้จากการทดลองที่ 3.4.1 ขนาดประมาณ 0.1-0.2 เซนติเมตร จำนวน 10 โปรโตรคอร์ม เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตร สูตรละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 โปรโตคอร์ม เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกผลโดยนับจำนวนยอดที่เกิด ความยาวยอดเพื่อคำนวณหาร้อยละโปรโตคอร์มที่เกิดยอด (3.1) ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่เกิด (3.2) และค่าเฉลี่ยความยาวยอด (3.3) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละโปรโตคอร์มที่เกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนโปรโตคอร์มที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนโปรโตคอร์มทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.1)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่เกิด} = \frac{\text{จำนวนยอดที่เกิดจากโปรโตคอร์ม}}{\text{จำนวนโปรโตคอร์มทั้งหมด}} \qquad (3.2)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยความยาวยอด} = \frac{\text{ความยาวยอดที่เกิด}}{\text{จำนวนยอดที่เกิด}} \qquad (3.3)$$

3.4.3 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากของเอื้องสายมรกต

นำโปรโตคอร์มที่มียอดอ่อนที่ได้จากการทดลองที่ 3.4.2 เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตร สูตรละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 โปรโตคอร์มที่มียอดอ่อน เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกผลโดยนับจำนวนรากที่เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความยาวรากเพื่อคำนวณหาร้อยละโปรโตคอร์มที่เกิดราก (3.4) ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่เกิด (3.5) และค่าเฉลี่ยความยาวราก (3.6) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละของโปรโตคอร์มที่เกิดราก} = \frac{\text{จำนวนโปรโตคอร์มที่มียอดอ่อนแล้วเกิดราก}}{\text{จำนวนโปรโตคอร์มที่มียอดอ่อนทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.4)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่เกิด} = \frac{\text{จำนวนรากจากโปรโตคอร์มที่มียอดอ่อน}}{\text{จำนวนโปรโตคอร์มที่มียอดอ่อนที่เกิดราก}} \quad (3.5)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยความยาวราก} = \frac{\text{ความยาวรากที่เกิด}}{\text{จำนวนรากที่เกิด}} \quad (3.6)$$

3.4.4 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* *V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata

ตัดชิ้นส่วนข้อของวานิลลา ขนาดประมาณ 2 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำสะอาด นำไปฟอกฆ่าเชื้อโดยดัดแปลงวิธีจากศิริพร (2553) โดยทำการแช่ในน้ำยาฆ่าเชื้อเป็นเวลา 30 นาที นำมาเขย่าในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 80 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วย เมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ และ ทวีน-20 เขย่าเป็นความเร็วรอบ 220 rpm เป็นเวลา 10 นาที ต่อมาล้างด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วนำส่วนของข้อ ตัดให้มีขนาดประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร โดยในวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* และ *V. planifolia* variegata เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนในวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตร สูตรละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส บันทึกผลจำนวนข้อที่เกิดยอด ความยาวยอด เพื่อคำนวณหาร้อยละข้อที่เกิดยอด (3.7) และค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่เกิด (3.8) และค่าเฉลี่ยความยาวยอด (3.9) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ร้อยละข้อที่เกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนข้อที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนข้อทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.7)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่เกิด} = \frac{\text{จำนวนยอดที่เกิดจากข้อ}}{\text{จำนวนข้อทั้งหมด}} \quad (3.8)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยความยาวยอด} = \frac{\text{ความยาวยอดที่เกิด}}{\text{จำนวนยอดที่เกิด}} \quad (3.9)$$

3.4.5 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* และ *V. tahitensis*

นำต้นที่เกิดยอดที่ได้จากการทดลองที่ 3.4.4 เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงในแต่ละสูตร สูตรละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น บันทึกผลจำนวนต้นที่เกิดราก ความยาวราก เพื่อคำนวณหาร้อยละของต้นที่เกิดราก (3.10) และค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่เกิด (3.11) และค่าเฉลี่ยความยาวราก (3.12) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละของต้นที่เกิดราก} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เกิดราก}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.10)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่เกิด} = \frac{\text{จำนวนรากที่เกิดจากต้น}}{\text{จำนวนต้นที่เกิดราก}} \quad (3.11)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยความยาวราก} = \frac{\text{ความยาวรากที่เกิด}}{\text{จำนวนรากที่เกิด}} \quad (3.12)$$

3.4.6 การศึกษาการนำเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata ออกปลูกในสภาวะธรรมชาติ

นำต้นพืชที่สมบูรณ์จากการทดลองที่ 3.4.3 คือ เอื้องสายมรกต 3.4.4 คือวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata และ 3.4.5 คือ วานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* และ *V. tahitensis* ที่มีการชักนำให้เกิดยอดและรากที่แข็งแรง สามารถย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ โดยล้างบริเวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รากที่มีวุ้นติดอยู่ให้สะอาด แช่ในสารละลายคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 5-10 นาที ย้ายออกปลูกในกระถางพลาสติกที่มีกาบมะพร้าวและดิน อัตราส่วน 1:1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นรดน้ำและคลุมถุงพลาสติกที่เจาะรู นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกการเปลี่ยนแปลงและการรอดชีวิตของต้นพืชเพื่อคำนวณหาร้อยละการรอดชีวิต (3.13) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนต้นพืชที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}} \times 100 \qquad (3.13)$$

3.4.7 การศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดหลายยอดของเอื้องสายมรกตด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว (TIB)

นำโปรโตคอร์มที่ได้จากการทดลองที่ 3.4.2 ที่มีการเจริญเป็นต้นอ่อนที่มีใบอ่อนเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวด้วยระบบ TIB ที่มีอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยดัดแปลงวิธีจากนิรมล (2556) กำหนดความถี่ในการให้อาหารทุก ๆ 2 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ให้อาหาร 5 นาที วันละ 5 ครั้ง โดยเพาะเลี้ยงจำนวน 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีจำนวนต้นอ่อน 10 ต้น ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร และบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยงจำนวน 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีจำนวนต้นอ่อน 10 ต้น ปริมาตรอาหาร 10 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สัปดาห์ บันทึกผลเปรียบเทียบจำนวนโปรโตคอร์มที่เกิดยอด ความยาวยอด เพื่อคำนวณหาค่าเฉลี่ยโปรโตคอร์มที่เกิดยอด (3.2) และค่าเฉลี่ยความยาวยอด (3.3) คำนวณได้จากสูตรในสมการที่ 3.2 และ 3.3

3.4.8 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Sciences) เวอร์ชั่น 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

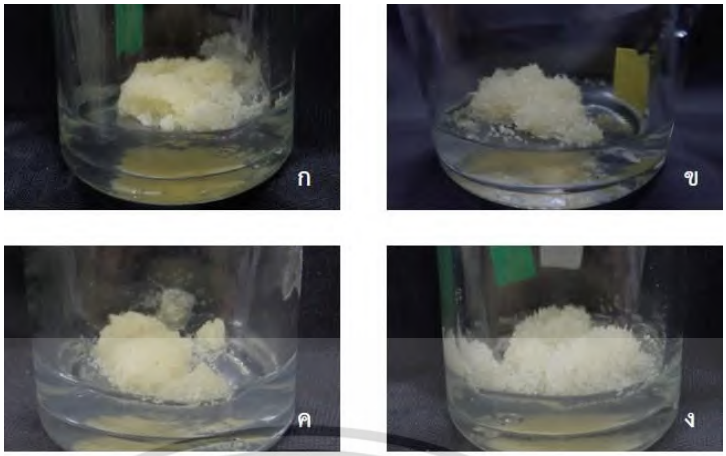
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลของการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเมล็ดเอื้องสายมรกต

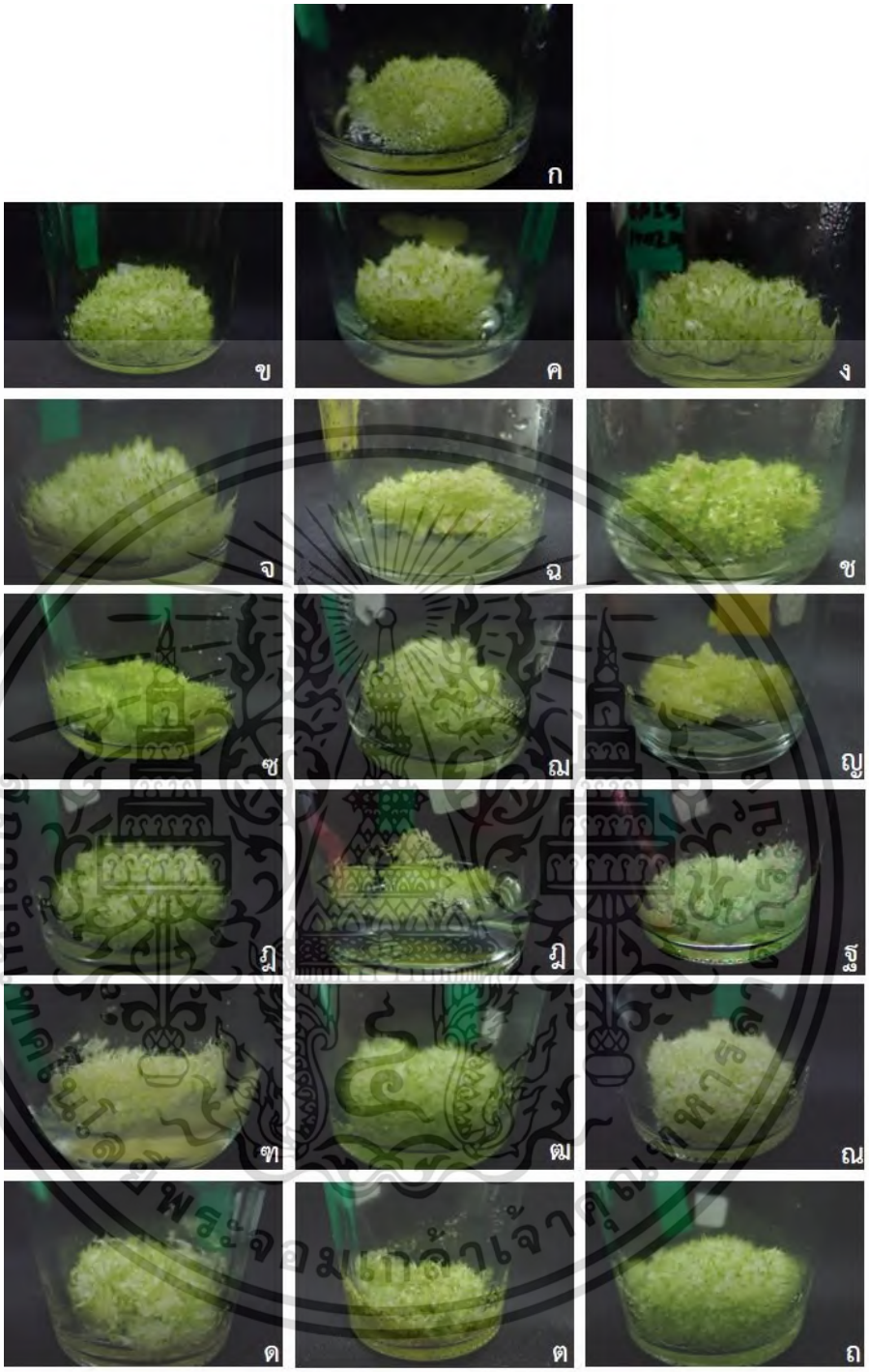
การนำฝักของเอื้องสายมรกต มาทำการฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงในที่มืด พบว่าอาหารสังเคราะห์ทุกสูตรที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตและปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เมล็ดมีลักษณะโตขึ้น รูปร่างบวมกลม สีขาว ปลายยอดรีแหลม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.1 ก-ข) ต่อมาจึงทำการย้ายมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง พบว่า โปรโตคอร์มมีขนาดใหญ่ขึ้น เปลี่ยนเป็นสีเขียวทั้งชิ้น และมีการเจริญของใบอ่อนเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ และโปรโตคอร์มเจริญเติบโตได้ในทุกสูตรอาหาร โดยในอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP มีลักษณะการเจริญเป็นโปรโตคอร์มสีเขียวได้มากกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.2 ก-ฉ) ซึ่งสอดคล้องกับ Lone. *et al*. (2020) ที่กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงเมล็ดในหลอดทดลองจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการงอกของเมล็ดที่งอกหรือเมล็ดที่งอกยากตามธรรมชาติ และการทดลองของศิริวารินทร์ และอารักษ์ (2549) ที่รายงานว่า เมล็ดที่เพาะในสภาวะมีแสง มีการงอกที่ดีกว่าเมล็ดที่เพาะในที่มืด เมล็ดที่เพาะในสภาวะที่มีแสง โปรโตคอร์มที่ได้จะมีสีเขียว ซึ่งแตกต่างจากเมล็ดที่เพาะในสภาวะที่มืด โปรโตคอร์มที่ได้จะมีสีขาวครีม และโปรโตคอร์มที่มีสีเขียว จะมีการเจริญจนงอกใบขนาดเล็ก อาจจะเป็นเพราะโปรโตคอร์มสีเขียวสามารถสร้างอาหารได้ ทำให้มีการเจริญได้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ลักษณะการงอกของเมล็ดเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (ง) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ลักษณะการงอกของเมล็ดเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ซ-ฐ) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฑ-ถ) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดของเอื้องสายมรกต

การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำ โปรโตคอร์มให้เกิดยอด โดยนำโปรตคอร์มที่ได้จากการทดลองที่ 3.4.1 ขนาดประมาณ 0.1-0.2 เซนติเมตร จำนวน 10 โปรโตรคอร์ม เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พบว่าโปรโตคอร์มมีการยืดยาวของลำต้น มีใบอ่อนเกิดขึ้น สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดได้มีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T โดยอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.2 ยอดต่อโปรโตคอร์ม (รูปที่ 4.6 ง) และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนการเกิดยอดเฉลี่ย 2 ยอดต่อโปรโตคอร์ม ซึ่งแสดงว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ สามารถชักนำโปรโตคอร์มให้เกิดยอดได้ดี (Nag and Kumaria, 2018) สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T สามารถชักนำให้เกิดความยาวยอดได้สูงสุดที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.98 เซนติเมตร (รูปที่ 4.5) (รูปที่ 4.6 ค) ซึ่งใกล้เคียงกับสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวยอดเฉลี่ย 0.77 และ 0.85 เซนติเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Naaz. *et al.* (2019) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์ของ *Syzygium cumini* และพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดความยาวยอดเฉลี่ย 5.2 เซนติเมตร ดังนั้นสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดความยาวยอด โดยบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ สามารชักนำโปรโตคอร์มให้เกิดยอดได้ ร้อยละ 100 (รูปที่ 4.3) (ตารางที่ 4.1) และพบว่ามีการเจริญของรากเช่นกันบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.9 รากต่อโปรโตคอร์ม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกต บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

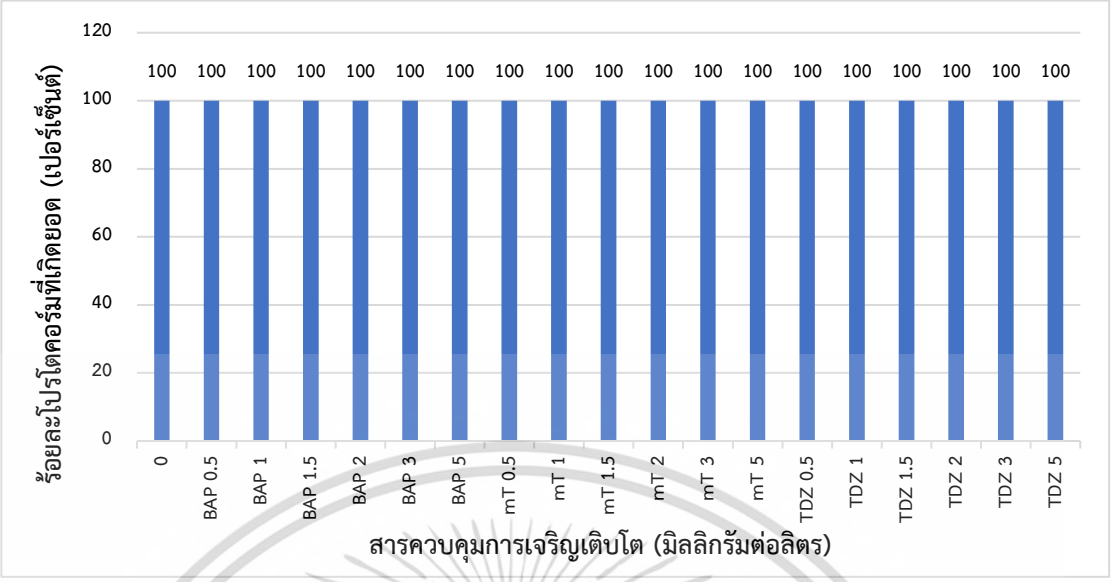
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละโปรโตคอร์มที่เกิดยอด (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย[123] ± SE (ราก)
	0	100	1.80^{a}±0.25	0.44^{cde}±0.06	1.90^{a}±0.55
BAP	0.5	100	1.00^{bc}±0.00	0.66^{bcd}±0.09	0.60^{bcd}±0.40
	1	100	1.00^{bc}±0.00	0.60^{cde}±0.08	0.00^{b}±0.00
	1.5	100	1.00^{bc}±0.00	0.60^{cde}±0.06	0.10^{d}±0.05
	2	100	1.00^{bc}±0.00	0.69^{ab}±0.12	1.00^{ab}±0.45
	3	100	0.80^{c}±0.42	0.16^{g}±0.09	1.40^{d}±0.85
	5	100	1.10^{bc}±0.57	0.25^{fg}±0.13	0.90^{abcd}±0.48
*m*T	0.5	100	1.40^{abc}±0.27	0.75^{bc}±0.06	0.90^{abcd}±0.28
	1	100	1.00^{bc}±0.00	0.88^{ab}±0.05	0.20^{cd}±0.13
	1.5	100	1.40^{abc}±0.22	0.98^{a}±0.04	0.70^{ab}±0.22
	2	100	1.60^{abc}±0.34	0.77^{abc}±0.05	0.40^{d}±0.16
	3	100	2.00^{ab}±0.15	0.85^{ab}±0.10	0.00^{c}±0.00
	5	100	1.20^{abc}±0.13	0.62^{cde}±0.03	0.20^{cd}±0.13
TDZ	0.5	100	1.60^{abc}±0.22	0.29^{fg}±0.03	0.20^{cd}±0.13
	1	100	1.10^{bc}±0.10	0.39^{ab}±0.03	0.20^{cd}±0.13
	1.5	100	2.00^{ab}±0.63	0.43^{ef}±0.07	0.10^{d}±0.05
	2	100	1.80^{abc}±0.44	0.34^{fg}±0.03	0.10^{d}±0.05
	3	100	2.20^{a}±0.36	0.44^{cde}±0.05	1.30^{abc}±0.34
	5	100	2.00^{ab}±0.37	0.40^{ef}±0.09	0.80^{bcd}±0.41

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น

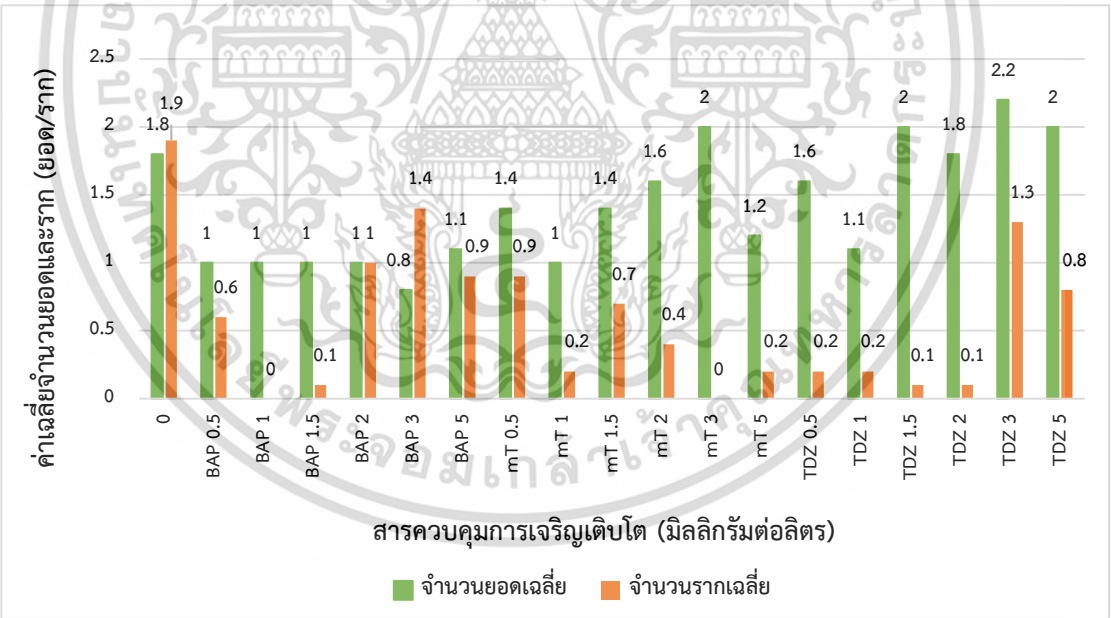
[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

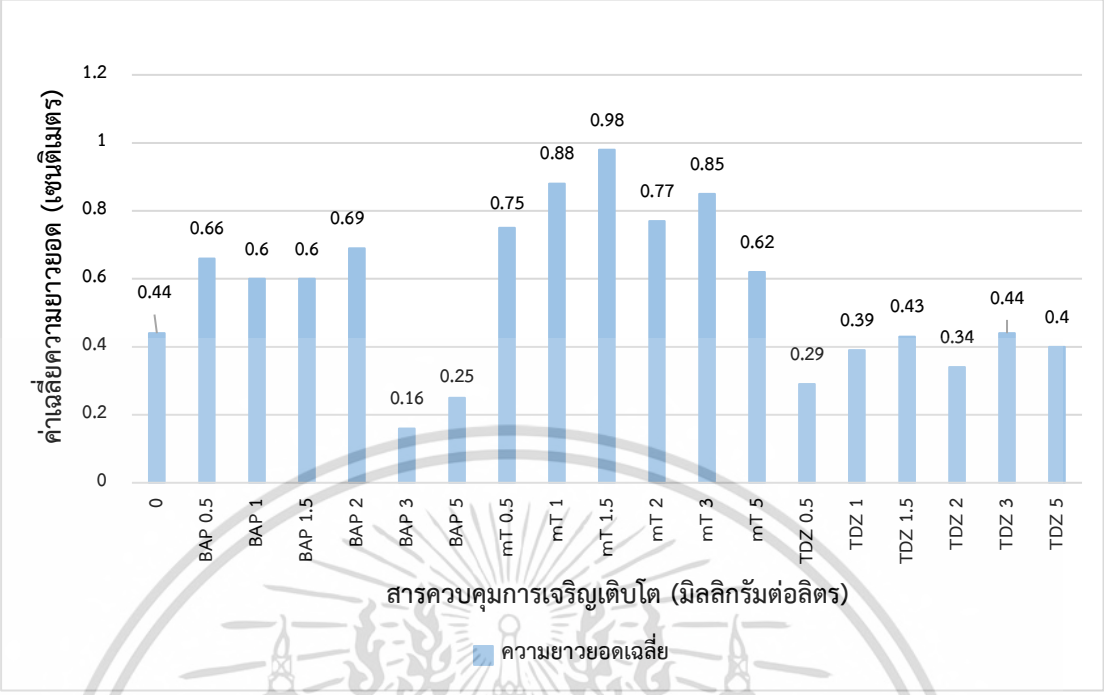


รูปที่ 4.3 ร้อยละการเกิดยอดของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

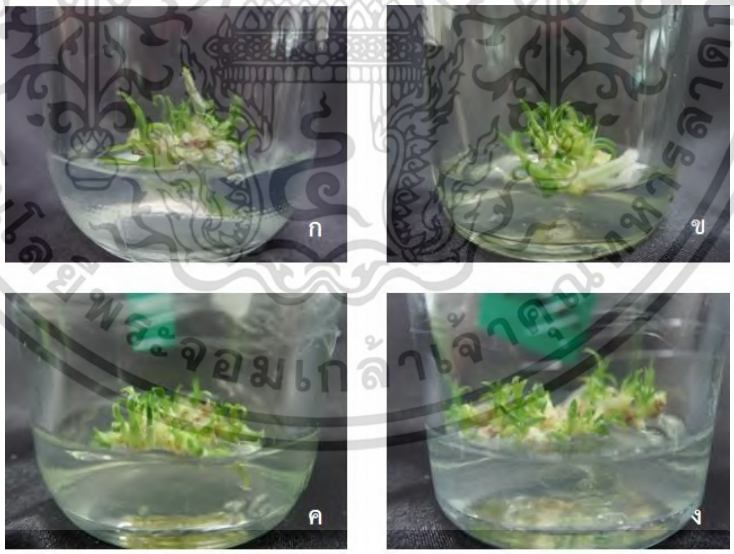


รูปที่ 4.4 จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ความยาวยอดเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *mT* และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.6 ลักษณะการเกิดยอดของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากของเอื้องสายมรกต

การศึกษานำโปรโตคอร์มที่มียอดอ่อนที่ได้จากการทดลองที่ 3.4.2 ขนาดประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (ตารางที่ 4.2) โดยพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 4.33 ราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากเฉลี่ย 2.08 เซนติเมตร (รูปที่ 4.10 ค) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rafique. *et al* (2012) ที่ทำการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ในการชักนำราก *Dendrobium sabin* H. พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.23 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยได้สูงสุด 2.25 รากต่อต้นอ่อน และ Asghar. *et al* (2011) ที่กล่าวว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA จากกผลการทดลองพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สามารถชักนำการเกิดรากได้น้อย ดังนั้น สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จึงมีประสิทธิภาพในการชักนำรากมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (Pant and Deepa, 2012) (รูปที่ 4.8 และ รูปที่ 4.9) โดยอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำโปรโตคอร์มให้เกิดรากได้สูงสุด ร้อยละ 80 (รูปที่ 4.7 รูปที่ 4.10 ก) นอกจากนี้ สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีเช่นกัน ที่สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยได้สูงสุด 5 ยอดต่อโปรโตคอร์ม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดรากของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกต บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

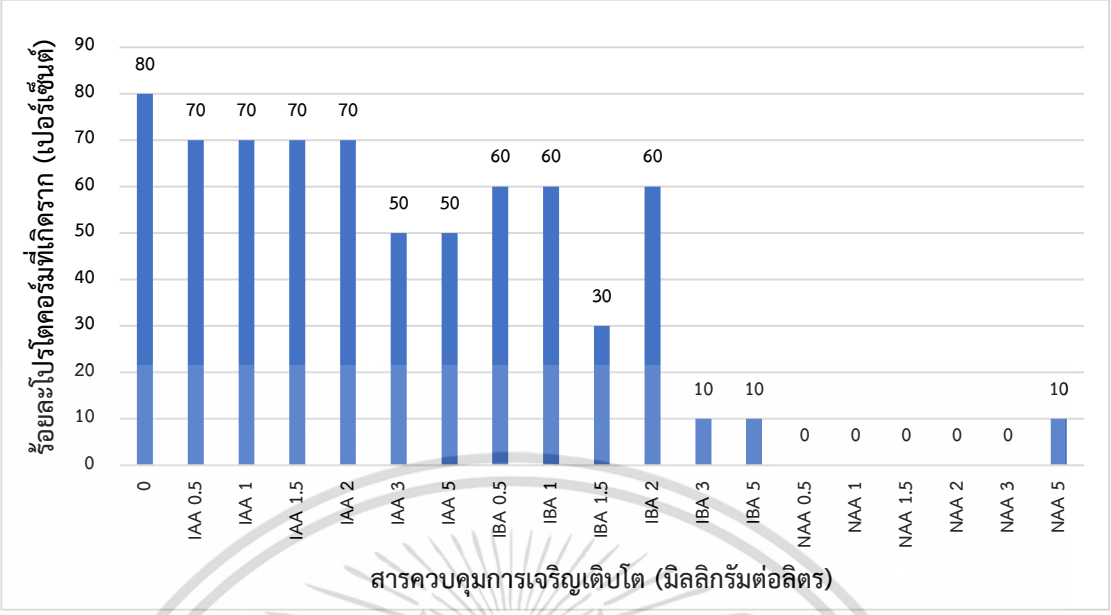
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละโปรโตคอร์มที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนราก เฉลี่ย[123] ± SE (ราก)	ความยาวราก เฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนยอด เฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)
	0	80	2.10^{abc}±0.05	0.26^{c}±0.05	2.00^{a}±0.06
IAA	0.5	70	2.00^{ab}c±1.53	0.34^{c}±0.20	2.67^{ab}±0.88
	1	70	0.67^{c}±0.33	0.42^{c}±0.30	2.33^{ab}±0.33
	1.5	70	0.67^{c}±0.33	0.52^{bc}±0.26	2.33^{ab}±0.33
	2	70	1.00^{bc}±0.00	0.14^{c}±0.08	3.00^{ab}±1.00
	3	50	1.67^{bc}±0.88	0.34^{c}±0.25	3.00^{ab}±0.00
	5	50	1.67^{bc}±1.20	0.15^{c}±0.08	2.33^{ab}±0.67
IBA	0.5	60	4.33^{a}±0.88	1.66^{ab}±0.53	2.22^{ab}±0.73
	1	60	1.33^{bc}±0.33	2.08^{a}±1.26	5.00^{ab}±1.10
	1.5	30	1.33^{bc}±0.67	0.78^{bc}±0.68	4.00^{a}±1.05
	2	60	3.33^{ab}±1.45	0.79^{bc}±0.22	3.80^{ab}±0.73
	3	10	0.33^{c}±0.17	0.13^{c}±0.06	2.20^{ab}±0.58
	5	10	0.33^{c}±0.17	0.64^{bc}±0.33	1.40^{b}±0.25
NAA	0.5	0	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00	3.40^{ab}±0.68
	1	0	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00	2.00^{ab}±1.67
	1.5	0	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00	2.00^{ab}±0.55
	2	0	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00	2.00^{ab}±0.32
	3	0	0.00^{c}±0.00	0.00^{c}±0.00	2.80^{ab}±0.80
	5	10	0.33^{c}±0.17	0.61^{c}±0.30	2.20^{ab}±1.71

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น

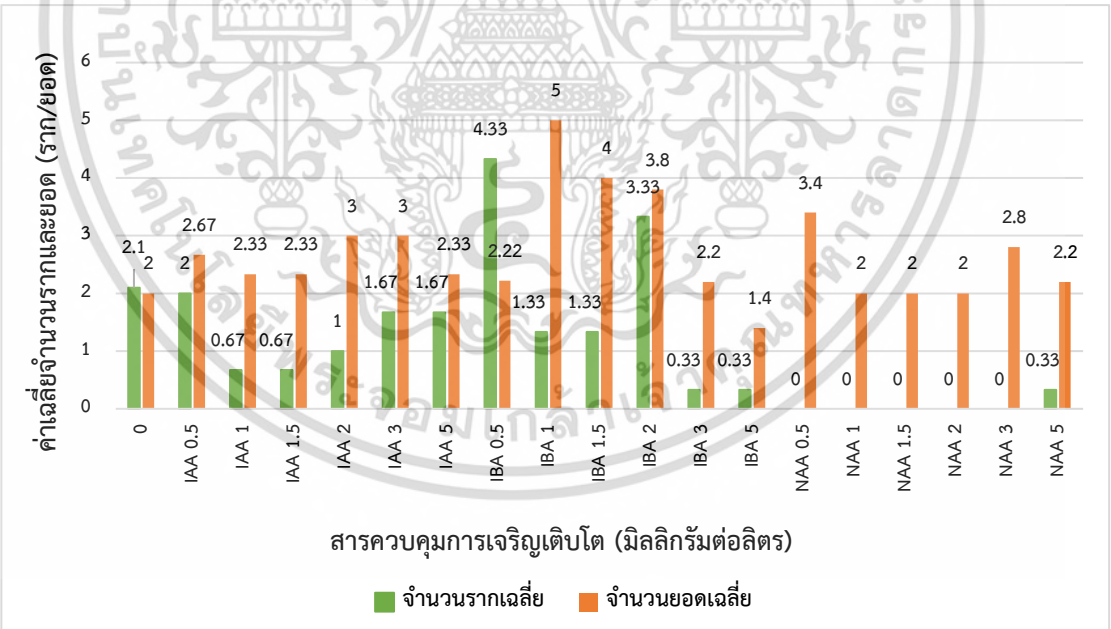
[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

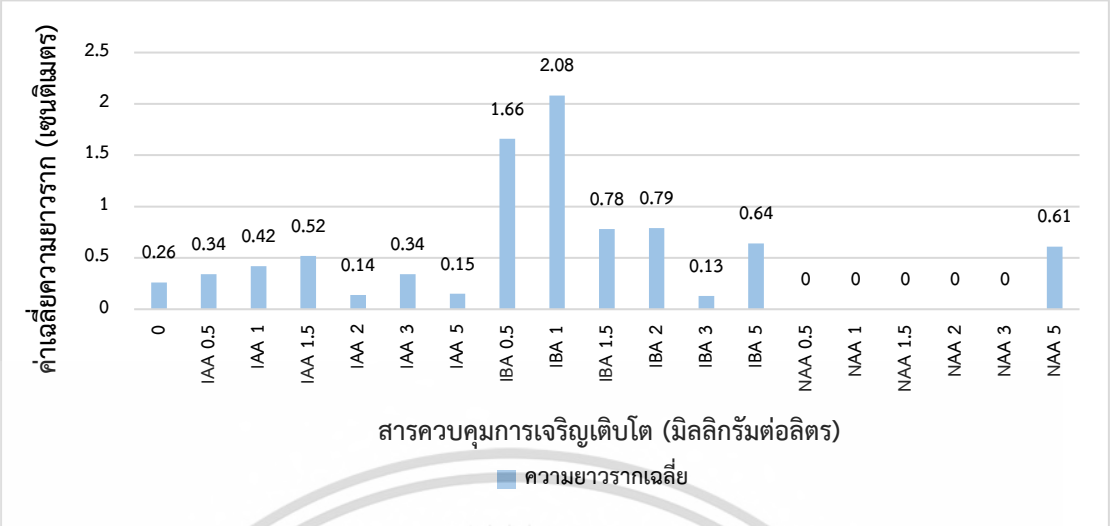


รูปที่ 4.7 ร้อยละการเกิดรากของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

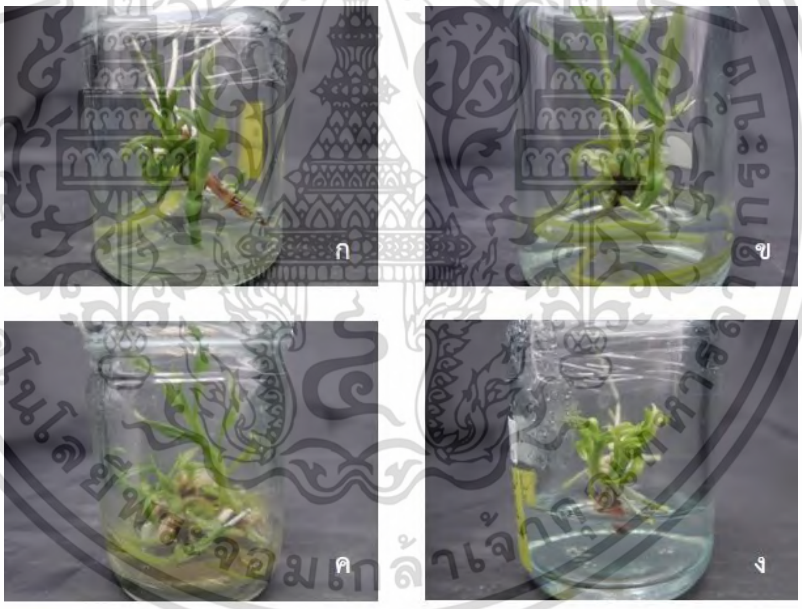


รูปที่ 4.8 จำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ความยาวรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.10 ลักษณะการเกิดรากของโปรโตคอร์มเอื้องสายมรกตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata

4.4.1 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla*

การชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ชิ้นส่วนข้อมีการเจริญของยอดหรือรากเล็กๆออกมา เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ และเห็นชัดเจนขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 1.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญของยอดและราก ยกเว้นสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่มีการเจริญของยอดเพียงอย่างเดียว และชิ้นส่วนข้อพบการเกิดยอดลักษณะบวมน้ำ (รูปที่ 4.14 ฑ-ฌ) พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP มีประสิทธิภาพในการชักนำยอดได้ดี เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยได้สูงสุดที่ 2.33 ยอด และที่ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.81 เซนติเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวยอดเฉลี่ย 3.08 เซนติเมตร (รูปที่ 4.14 ข-ช) สอดคล้องกับการทดลองของ Chaipanich. *et al.* (2020) ศึกษาการชักนำโปรโตคอร์มของวานิลลาสายพันธุ์ *V. siamensis* ให้เกิดยอด โดยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุด 2.67 ยอด ซึ่งอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด ร้อยละ 100 (รูปที่ 4.11) (ตารางที่ 4.3) โดยพบว่ายอดที่พัฒนาจากข้อมีสีเขียวเข้ม และเกิดการเจริญของรากสีเขียวอ่อน มีขนปกคลุมทั่วราก นอกจากนี้มีการชักนำให้เกิดรากได้ดีบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 2 ราก ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.13 รูปที่ 4.14 ซ-ฐ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

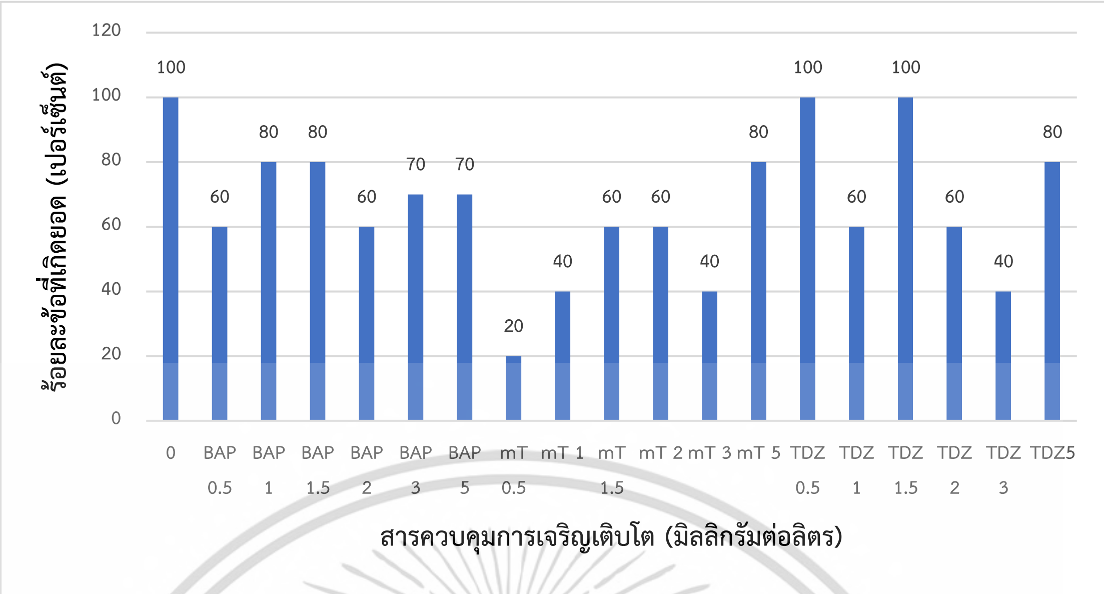
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละข้อที่เกิดยอด (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย[123] ± SE (ราก)
	0	100	1.00^{ab}±0.00	1.95^{abc}±0.99	2.00^{a}±1.15
BAP	0.5	60	1.00^{ab}±0.00	0.45^{c}±0.19	1.67^{ab}±1.20
	1	80	1.00^{ab}±0.00	3.08^{ab}±1.87	2.00^{a}±0.58
	1.5	80	1.00^{ab}±0.00	0.98^{bc}±0.23	0^{c}
	2	60	1.00^{ab}±0.00	0.98^{bc}±0.23	0.33^{bc}±0.33
	3	70	0.67^{b}±0.33	3.81^{a}±1.99	1.33^{abc}±0.67
	5	70	2.33^{a}±0.33	1.64^{abc}±0.36	0.33^{bc}±0.17
*m*T	0.5	20	1.60^{ab}±0.67	1.49^{bc}±0.35	0^{c}
	1	40	1.00^{ab}±0.00	1.34^{bc}±0.69	0^{c}
	1.5	60	0.30^{b}±0.33	0.16^{c}±0.16	0.33^{bc}±0.17
	2	60	1.60^{ab}±1.20	0.46^{c}±0.26	0^{c}
	3	40	0.30^{b}±0.15	0.34^{c}±0.17	0^{c}
	5	80	1.30^{ab}±0.67	0.64^{c}±033	0.67^{abc}±0.17
TDZ	0.5	100	1.00^{ab}±0.00	0.49^{c}±0.13	0^{c}
	1	60	0.67^{b}±0.33	0.53^{c}±0.33	0^{c}
	1.5	100	1.00^{ab}±0.00	0.66^{c}±0.05	0^{c}
	2	60	1.00^{ab}±0.00	0.56^{c}±0.28	0^{c}
	3	40	0.60^{b}±0.33	0.38^{c}±0.19	0^{c}
	5	80	1.00^{ab}±0.00	0.58^{c}±0.08	0^{c}

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

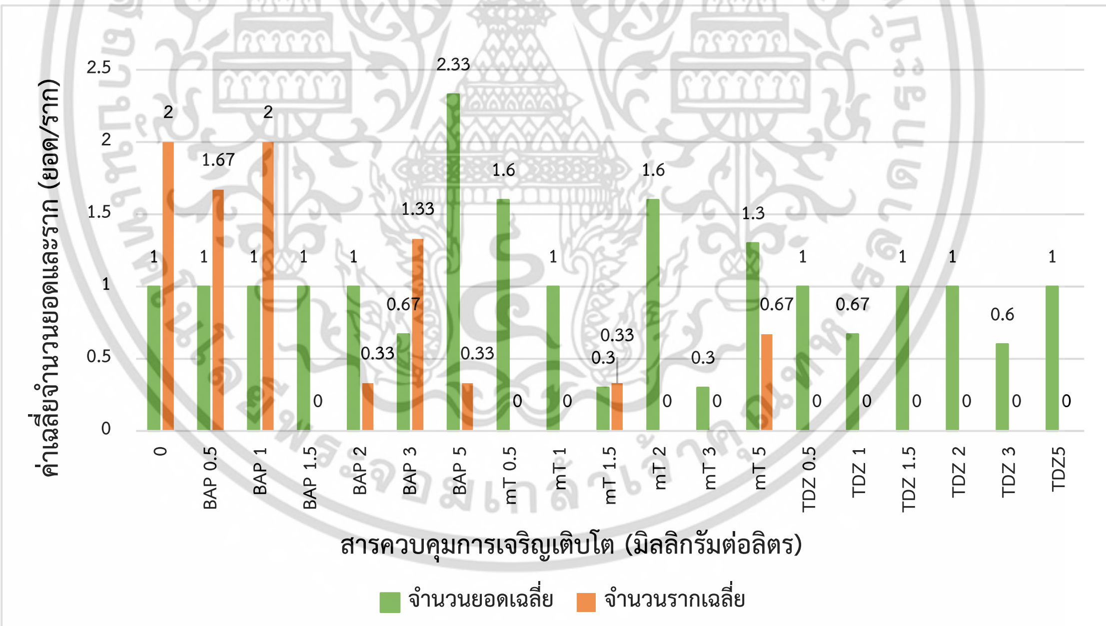
[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

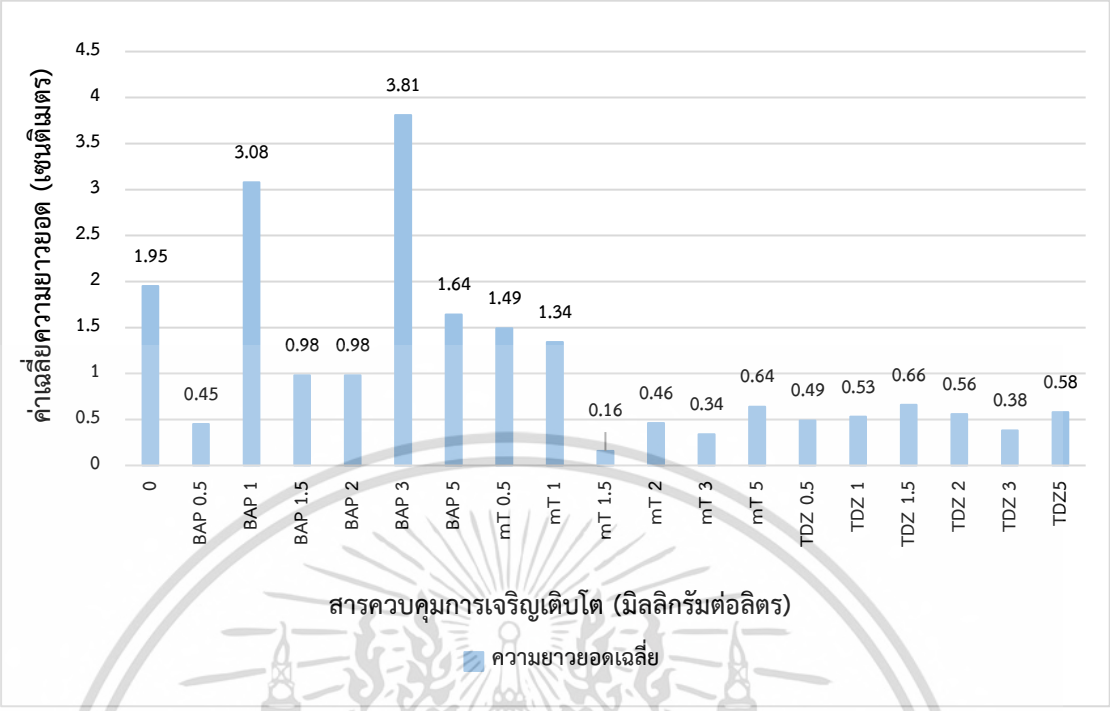


รูปที่ 4.11 ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์



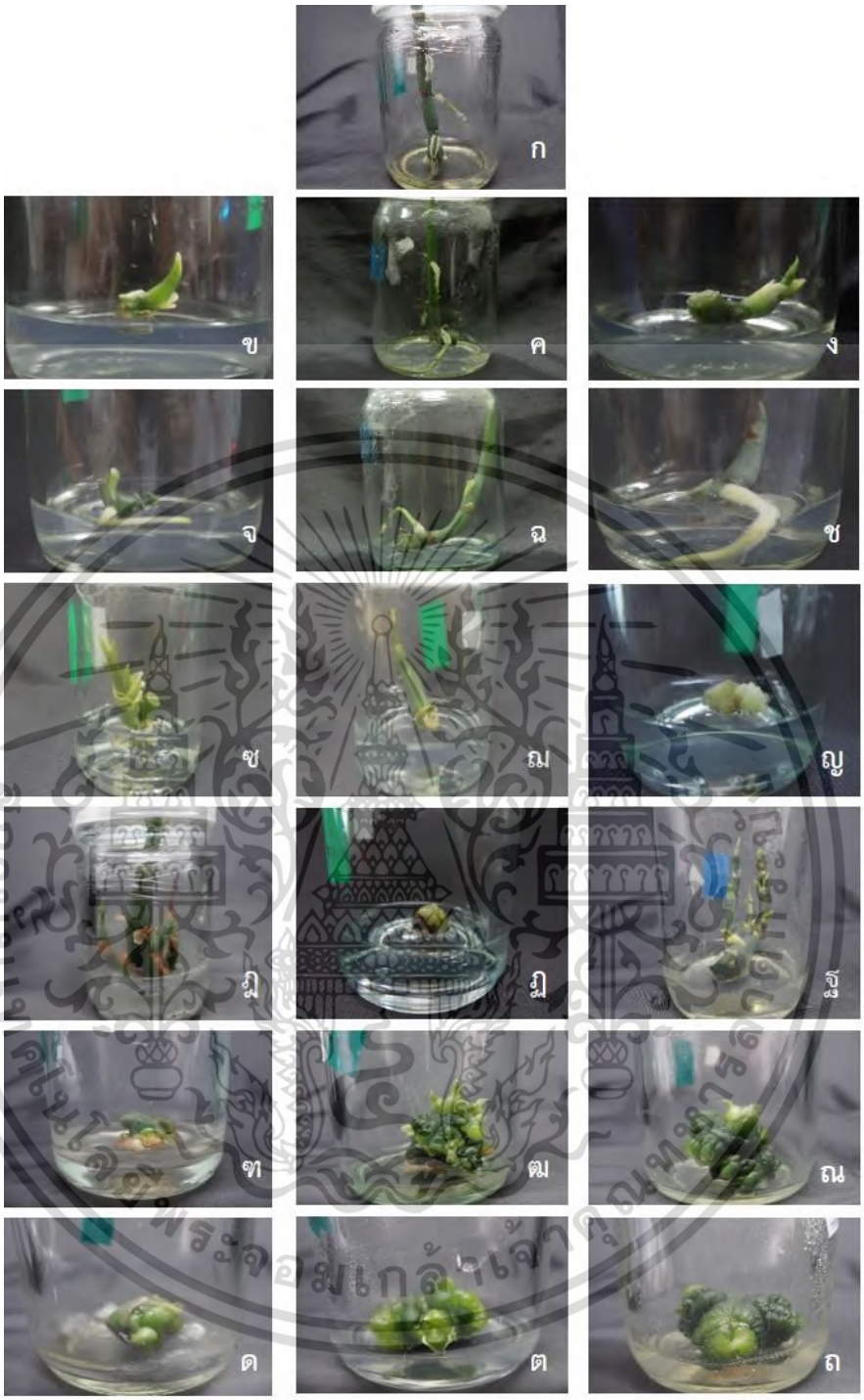
รูปที่ 4.12 จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ซ-ฐ) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฑ-ถ) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis*

การชักนำข้อให้เกิดยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนข้อมีการเจริญของยอดและรากบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ทุกความเข้มข้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ เนื่องจากอาหารสังเคราะห์สูตร MS มีธาตุอาหารหลักและอาหารรองที่มากพอสำหรับการชักนำให้เกิดยอด (Hajong. *et al*., 2010) ส่วนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการเจริญของใบอ่อน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และเกิดใบอ่อนทุกความเข้มข้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.67 ยอด (รูปที่ 4.16) ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.78 เซนติเมตร และสามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5.00 ราก ซึ่งอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ทุกความเข้มข้นให้ร้อยละข้อที่เกิดยอดได้ ร้อยละ 100 (รูปที่ 4.15) โดยพบว่ายอดที่พัฒนาจากข้อมีสีเขียว มีการเจริญของใบสีเขียวเข้ม และเกิดการเจริญของราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.17 รูปที่ 4.21 ก-ช) (ตารางที่ 4.4) แสดงให้เห็นว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สามารถชักนำยอดได้มีประสิทธิภาพ ซึ่งความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดจำนวนยอดและความยาวยอด (Cardoso and Ono, 2011) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sharma and Bora (2017) ที่อธิบายว่า อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *Vanilla planifolia* ให้เกิดยอดได้ดีที่สุด แต่พืชแต่ละชนิดมีลักษณะที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรปรับปรุงสูตรอาหารให้เหมาะสมต่อความต้องการของพืช (George. *et al*., 2008)

จากการชักนำข้อให้เกิดยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนข้อมีการเจริญของยอดบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ทุกความเข้มข้น (รูปที่ 4.22 ข-ช) และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนข้อเกิดการเจริญของรากด้วย (รูปที่ 4.19 และรูปที่ 4.20) ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ทุกความเข้มข้นเกิดการเจริญของยอดเพียงอย่างเดียวเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (รูปที่ 4.22 ซ-ฌ) สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.00 ยอด ซึ่งสอดคล้องกับ พรสุดา และคณะ (2557) รายงานว่า อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุด 1.1 ยอด จากการทดลองสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T สามารถชักนำความยาวยอดได้มากกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ โดยพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.58 เซนติเมตร สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1 ราก ซึ่งอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1.5 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำข้อให้เกิดยอดได้ ร้อยละ 100 (รูปที่ 4.18) โดยพบว่ายอดที่พัฒนาจากข้อมีสีเขียวอ่อน และเกิดการเจริญของรากสีขาว มีขนปกคลุมเล็กน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยที่สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ มีการชักนำให้เกิดการเจริญของรากได้น้อยมาก หรือแทบจะไม่เกิดเลย (ตารางที่ 4.5) ซึ่งในการทดลองใช้เวลาเพาะเลี้ยงเพียง 4 สัปดาห์ อาจเป็นเวลาที่ไม่มากพอในการชักนำให้เกิดการเจริญ เนื่องจากความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่เหมาะสม แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช และระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง (Deepa*. et al*., 2018) ดังนั้นจากผลการทดลองเห็นได้ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สามารถชักนำให้เกิดได้ทั้งยอดและราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละข้อที่เกิดยอด (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย[123] ± SE (ราก)
0		100	1.40^{a}±0.33	2.51^{abc}±1.29	0.67b^{c}±0.33
BAP	0.5	100	2.20^{a}±0.49	4.2^{ab}±0.30	4.60^{ab}±1.75
	1	100	2.20^{a}±0.49	4.78^{a}±0.96	5.00^{a}±1.05
	1.5	100	1.60^{a}±0.25	2.19^{bc}±0.45	3.20^{abc}±0.86
	2	100	2.40^{a}±0.51	2.66^{abc}±1.0	4.00^{abc}±0.63
	3	100	2.67^{a}±0.88	1.15^{c}±0.27	0.33^{c}±0.17
	5	100	2.60^{a}±0.98	1.10^{c}±0.21	3.20^{abc}±1.56

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

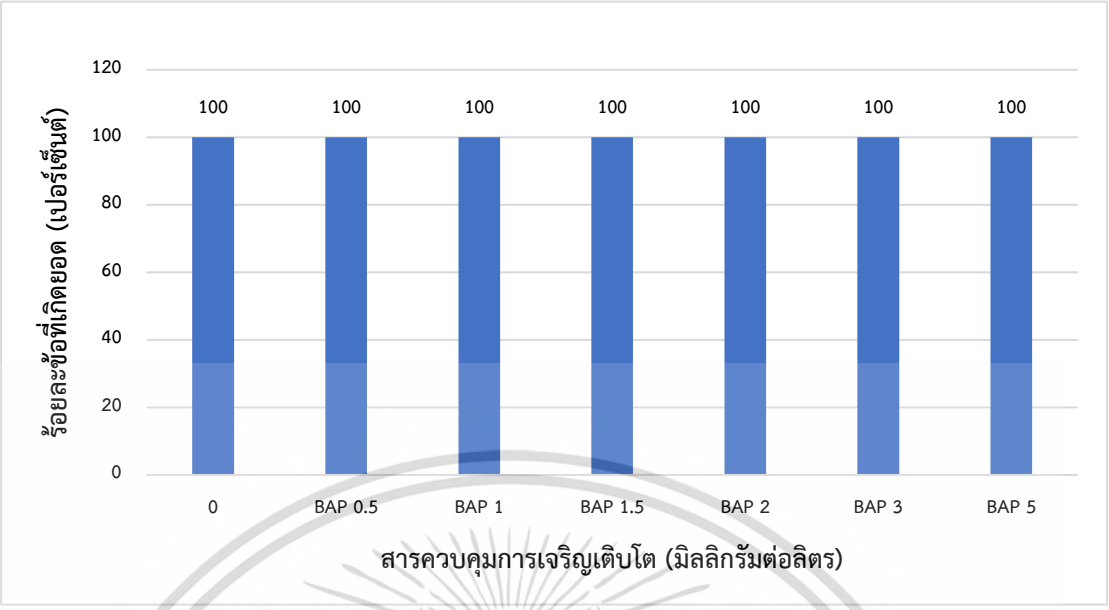
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละข้อที่เกิดยอด (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย[123] ± SE (ราก)
	0	100	1.00^{b}±0.00	0.64^{b}±0.62	0.80^{ab}±0.20
BAP	0.5	100	1.00^{b}±0.00	0.52^{b}±0.12	0.60^{abc}±0.25
	1	100	2.00^{a}±0.63	0.70^{b}±0.04	0^{c}
	1.5	80	1.20^{ab}±0.49	0.54^{b}±0.14	0.60^{abc}±0.25
	2	100	1.00^{b}±0.00	0.77^{b}±0.13	1.00^{a}±0.35
	3	100	1.20^{ab}±0.20	0.72^{b}±0.15	0.20^{bc}±0.10
	5	100	1.00^{b}±0.00	0.79^{b}±0.75	0.40^{abc}±0.25
*m*T	0.5	100	1.00^{b}±0.00	0.62^{b}±0.15	0.20^{bc}±0.10
	1	80	1.40^{ab}±0.51	0.73^{b}±0.21	0.20^{bc}±0.10
	1.5	100	1.00^{b}±0.00	0.83^{b}±0.11	0^{c}
	2	100	1.40^{ab}±0.25	2.58^{a}±1.30	0.60^{abc}±0.40
	3	100	1.40^{ab}±0.25	0.53^{b}±0.10	0.60^{abc}±0.40
	5	100	1.00^{b}±0.00	1.46^{b}±0.69	0^{c}
TDZ	0.5	60	0.80^{b}±0.32	0.43^{b}±0.19	0^{c}
	1	80	1.00^{b}±0.00	0.51^{b}±0.14	0^{c}
	1.5	100	1.00^{b}±0.20	0.54^{b}±0.09	0.20^{bc}±0.10
	2	80	0.80^{b}±0.00	0.36^{b}±0.11	0^{c}
	3	100	1.00^{b}±0.00	0.46^{b}±0.04	0^{c}
	5	100	0.80^{b}±0.20	0.43^{b}±0.16	0^{c}

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

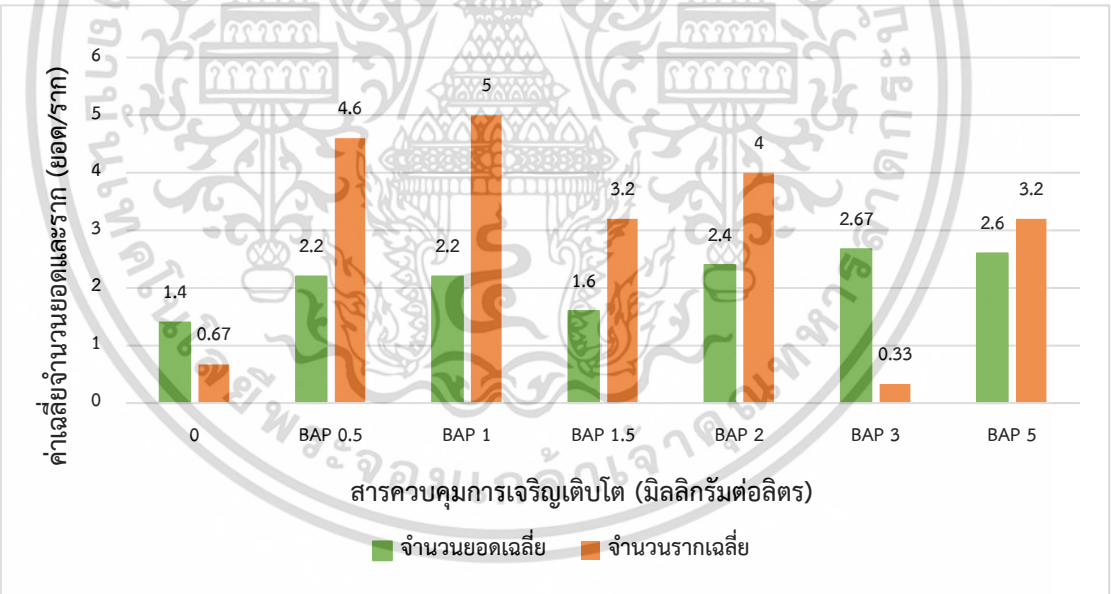
[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

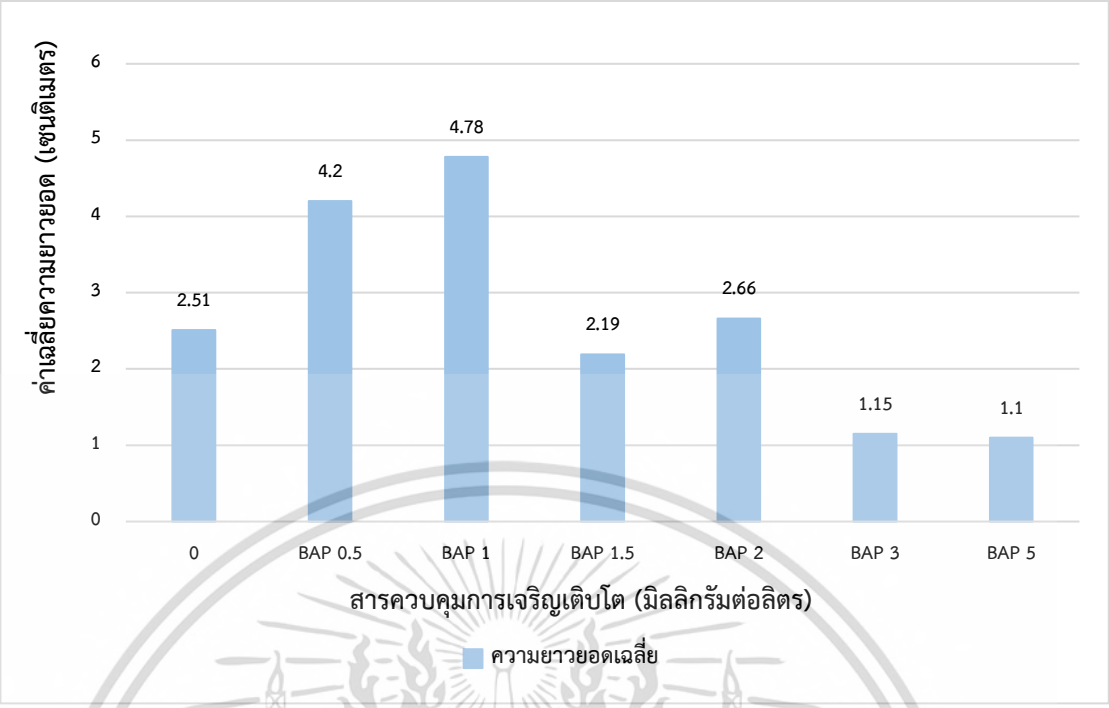


รูปที่ 4.15 ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

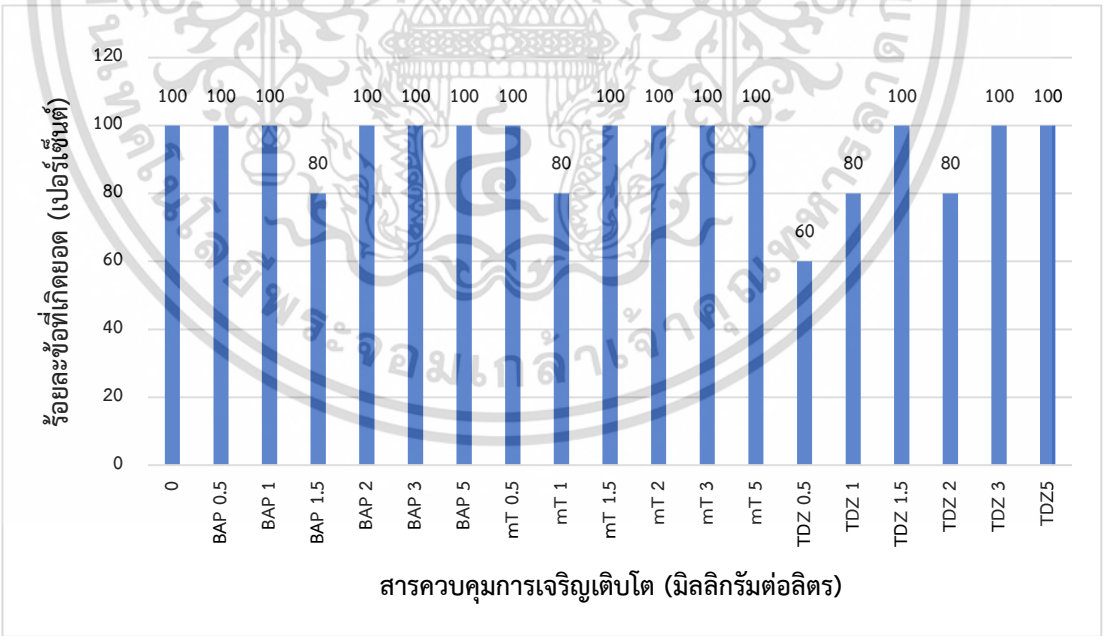


รูปที่ 4.16 จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

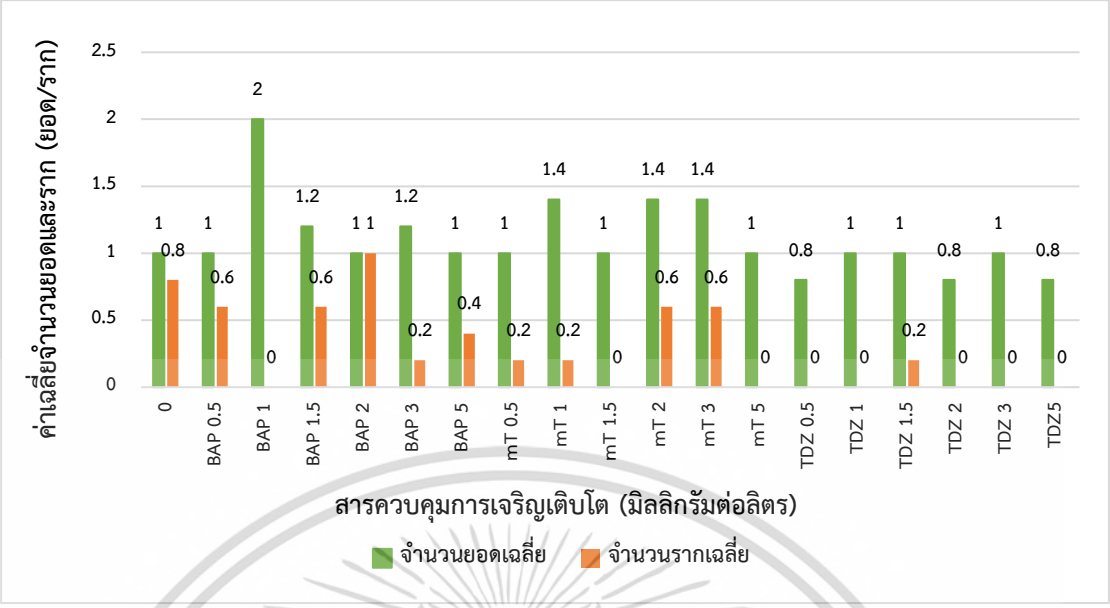


รูปที่ 4.17 ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

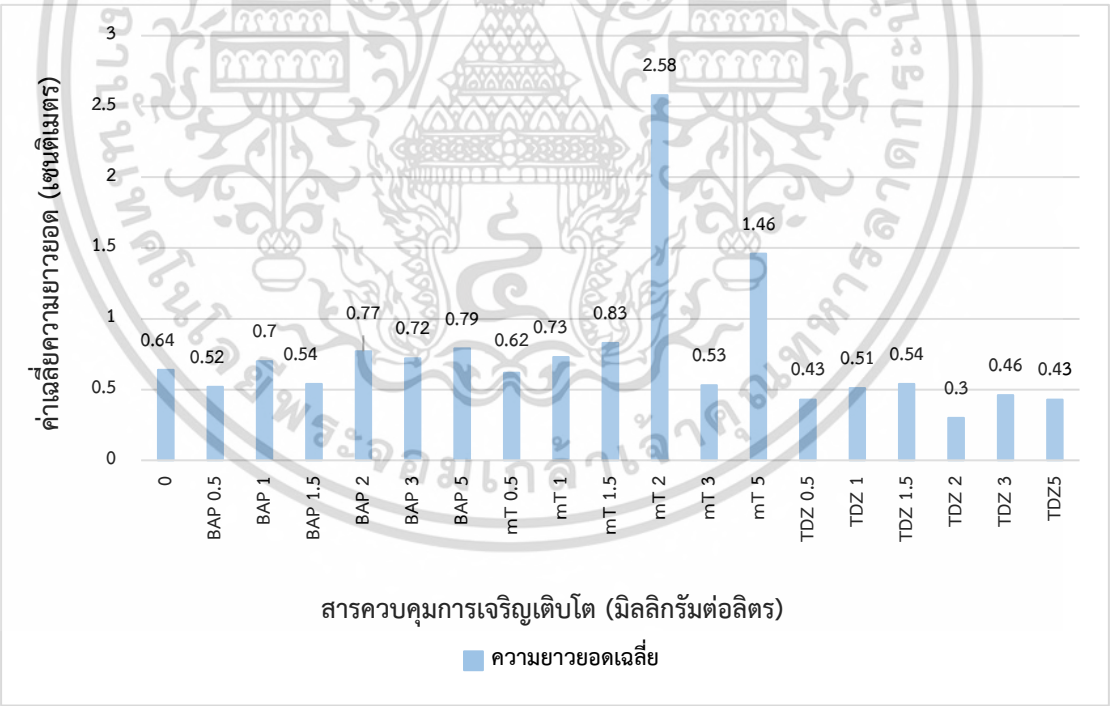


รูปที่ 4.18 ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

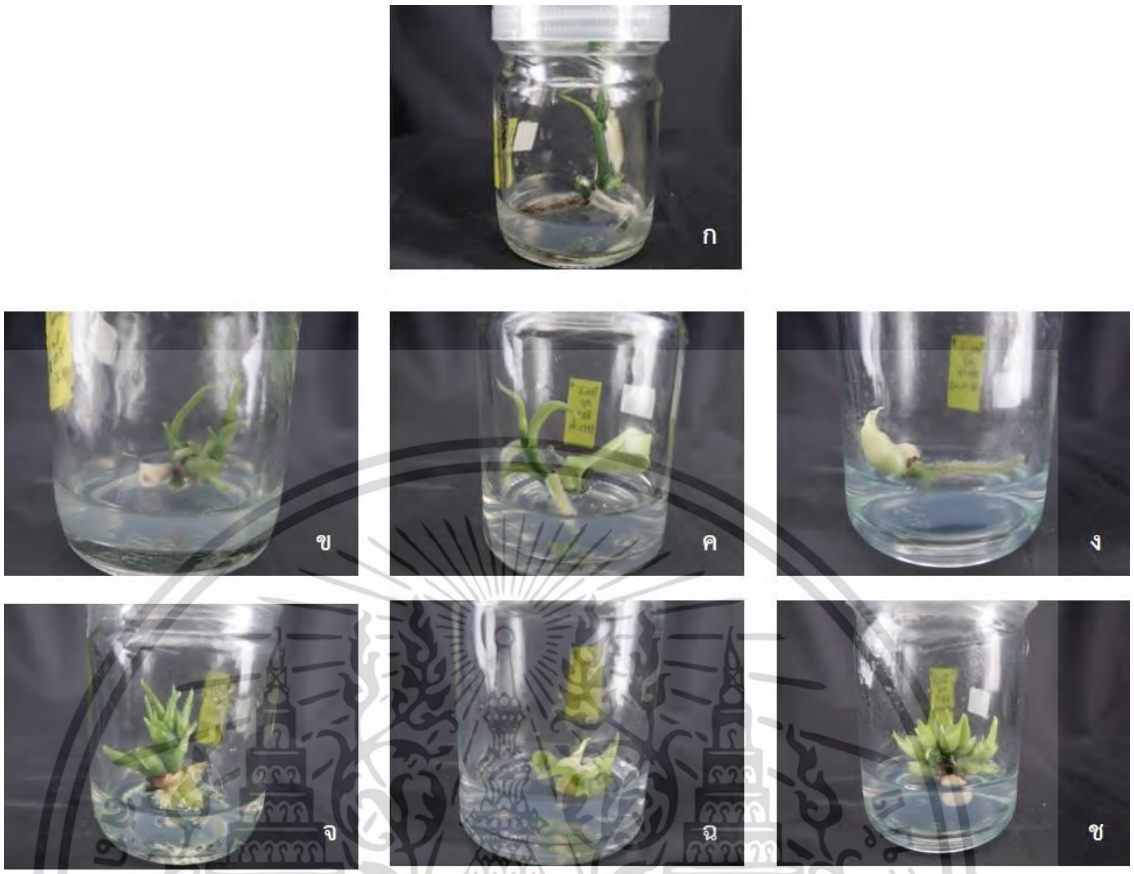


รูปที่ 4.19 จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์



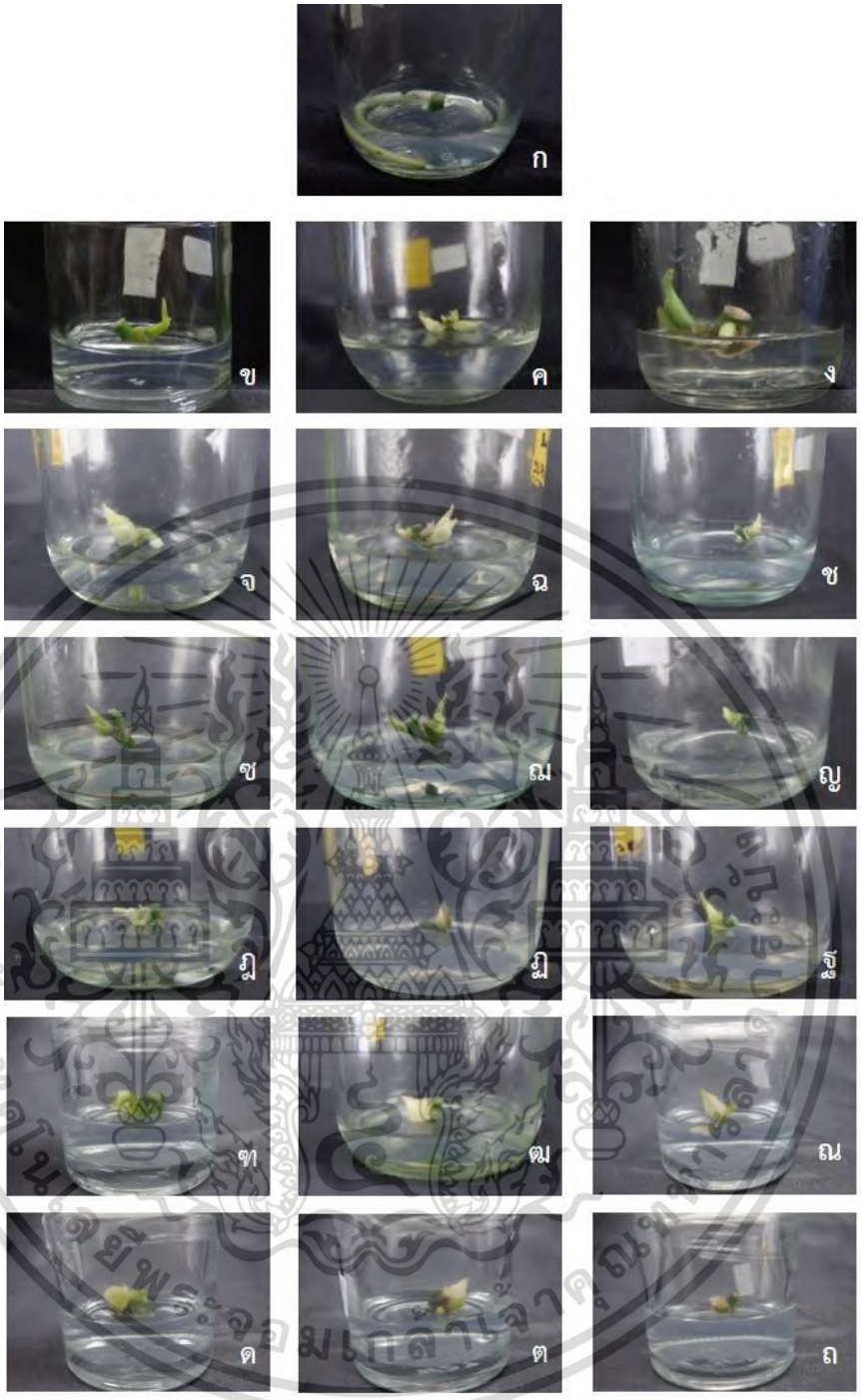
รูปที่ 4.20 ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข-ช) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ซ-ฐ) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฑ-ถ) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata

การทดลองการชักนำยอดจากชิ้นส่วนข้อบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ทุกสูตรอาหารพบการเจริญของยอด และมีการชักนำให้เกิดราก ยกเว้นที่สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่พบการเจริญของราก เช่นเดียวกับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มมีการเจริญของรากขึ้นมาเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญของใบอ่อน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ทุกความเข้มข้น มีการชักนำให้เกิดยอดได้น้อย ซึ่งสอดคล้องกับ Pradhan. *et al*. (2013) ศึกษาความเข้มข้นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดและการพัฒนาเป็นต้นอ่อนของกล้วยไม้ และพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมจะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของกล้วยไม้ ในส่วนของการชักนำจำนวนยอด พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.67 ยอด (รูปที่ 4.24) ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.85 เซนติเมตร จากการทดลองพบว่าทั้ง 3 สารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ แต่มีการเจริญของรากน้อย (รูปที่ 4.26 ข-ง) และพบว่าอาหารอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.33 ราก และพบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุดร้อยละ 100 (รูปที่ 4.23) โดยพบว่ายอดที่พัฒนาจากข้อมีสีเขียว มีการเจริญของใบสีเขียวอ่อนมีลายด่าง และเกิดการเจริญของรากสีเหลืองขาว มีขนปกคลุมทั่วราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (รูปที่ 4.24 ก) ซึ่งสารอาหารในสูตรอาหารส่งผลต่อการเจริญให้เกิดยอดและรากได้เมื่อเพาะเลี้ยงต่างสูตรอาหารกัน (Sidek. *et al*., 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

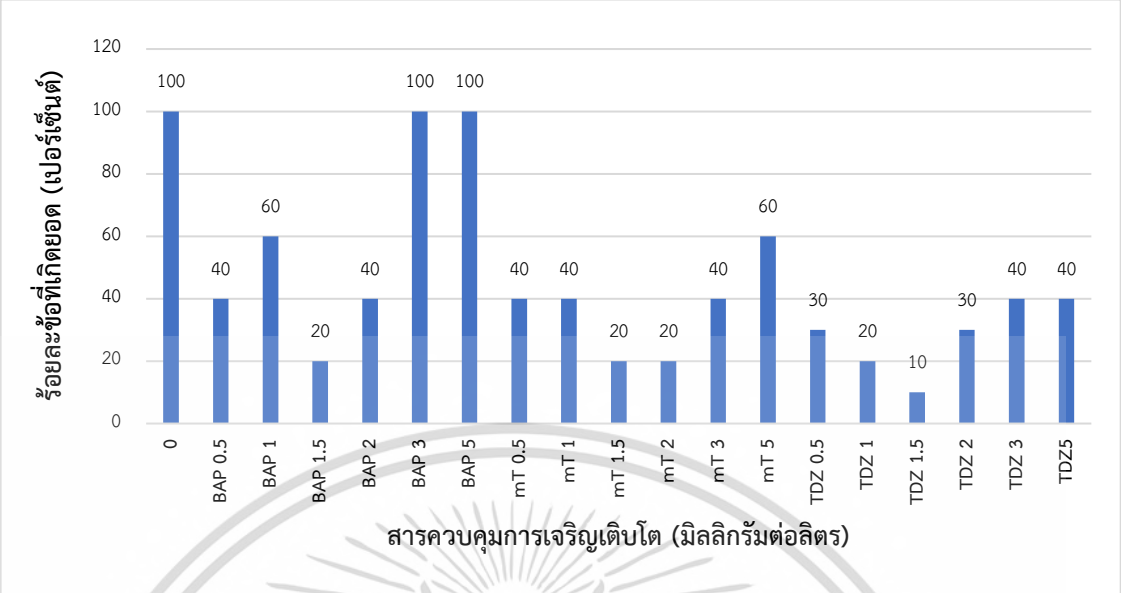
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละข้อที่เกิดยอด (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย[123] ± SE (ราก)
	0	100	1.00^{abcd}±0.00	0.84^{a}±0.34	1.33^{a}±0.33
BAP	0.5	40	0.40^{bcd}±0.25	0.33^{a}±0.17	0.20^{b}±0.10
	1	60	0.60^{bcd}±0.25	0.23^{a}±0.12	0.20^{b}±0.10
	1.5	20	0.20^{d}±0.10	0.85^{a}±0.42	0.20^{b}±0.10
	2	40	0.40^{bcd}±0.25	0.64^{a}±0.32	0.40^{b}±0.25
	3	100	1.20^{abc}±0.20	0.50^{a}±0.03	0.20^{b}±0.10
	5	100	1.00^{abcd}±0.00	0.79^{a}±0.33	0.20^{b}±0.10
*m*T	0.5	40	0.67^{bcd}±0.33	0.09^{a}±0.04	0^{b}
	1	40	1.00^{abcd}±0.00	0.33^{a}±0.14	0^{b}
	1.5	20	0.33^{cd}±0.00	0.19^{a}±0.19	0^{b}
	2	20	0.33^{cd}±0.17	0.11^{a}±0.05	0.33^{b}±0.17
	3	40	1.00^{abcd}±0.58	0.23^{a}±0.16	0^{b}
	5	60	1.67^{a}±0.33	0.13^{a}±0.00	0.33^{b}±0.17
TDZ	0.5	30	1.00^{abcd}±0.00	0.38^{a}±0.00	0.33^{b} ±0.17
	1	20	0.67^{bcd}±0.33	0.28^{a}±0.16	0.33^{b}±0.17
	1.5	10	0.33^{cd}±0.17	0.48^{a}±0.24	0^{b}
	2	30	1.00^{abcd}±0.00	0.68^{a}±0.45	0.33^{b}±0.17
	3	40	1.00^{abcd}±0.00	0.49^{a}±0.28	0.33^{b}±0.17
	5	40	1.33^{ab}±0.33	0.44^{a}±0.10	0.33^{b}±0.17

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

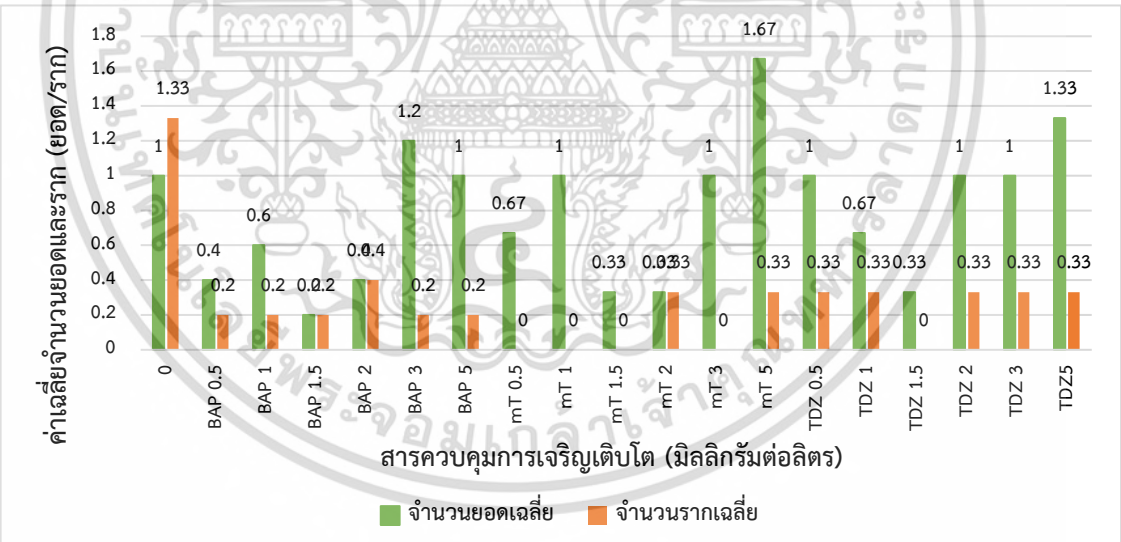
[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

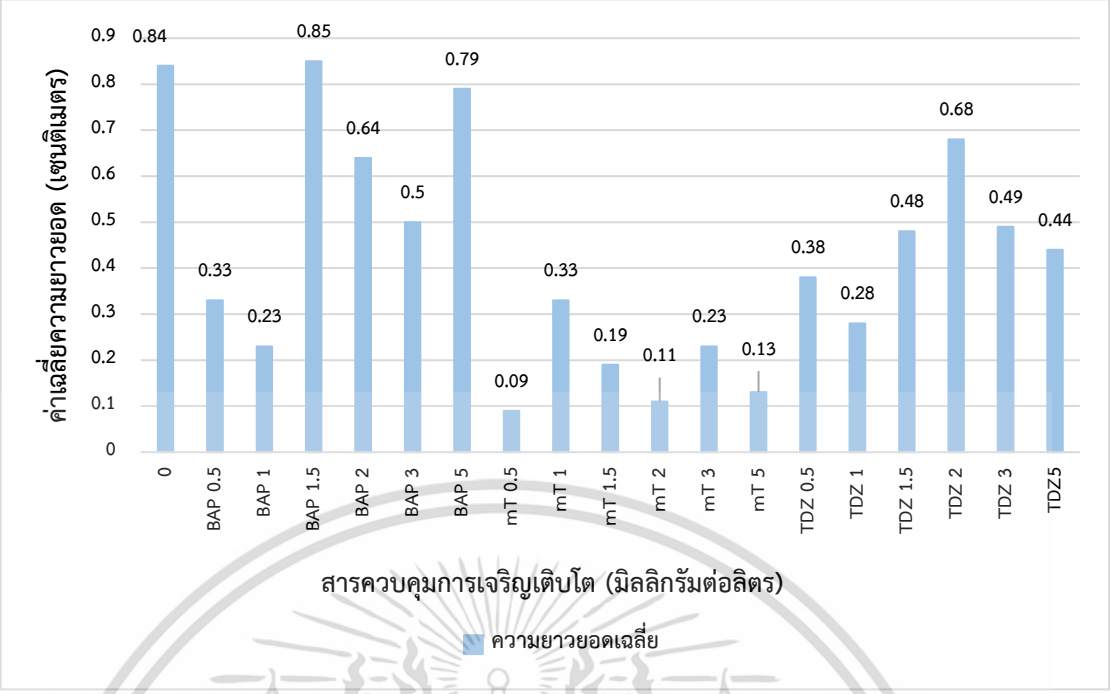


รูปที่ 4.23 ร้อยละการเกิดยอดจากข้อของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.24 จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้น ต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 ความยาวยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

รูปที่ 4.26 ลักษณะการเกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* และ *V. tahitensis*

4.5.1 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla*

การทดลองชักนำต้นให้เกิดรากบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ทุกความเข้มข้น เกิดการเจริญของรากและยอดขนาดเล็ก แต่สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA เกิดการเจริญของยอดเพียงอย่างเดียว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA มีการเจริญของราก ที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ทุกความเข้มข้น สามารถชักนำต้นให้เกิดรากได้ ร้อยละ 100 (ตารางที่ 4.7 รูปที่ 4.30 ก รูปที่ 4.27) ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 6.00 ราก โดยพบว่ารากที่เกิดจากการชักนำมีสีขาวหรือสีเขียว มีขนปกคลุมทั่วราก และเกิดการยืดยาวของข้อเพื่อเจริญเป็นยอด (รูปที่ 4.30 ง) (รูปที่ 4.28) ซึ่งสอดคล้องกับ Parvin. *et al.* (2009) ที่รายงานว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำจำนวนรากได้ 5.15 ราก และความยาวราก 2.67 เซนติเมตร ในกล้วยไม้สกุลหวาย จากการทดลองพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 9.77 เซนติเมตร สอดคล้องกับ Kabir. *et al.* (2013) ที่ทำการทดลองการขยายพันธุ์ของเอื้องแววมยุรา และพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA เหมาะสมสำหรับการชักนำราก (รูปที่ 4.29 รูปที่ 4.30 ข) ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญของราก ร้อยละ 70 ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.33 ยอด (รูปที่ 4.30 ค) สอดคล้องกับสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารควบคุมการเจริญทั้งสามชนิดสามารถชักนำให้เกิดรากและยอดได้ (Maharjan. *et al.,* 2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

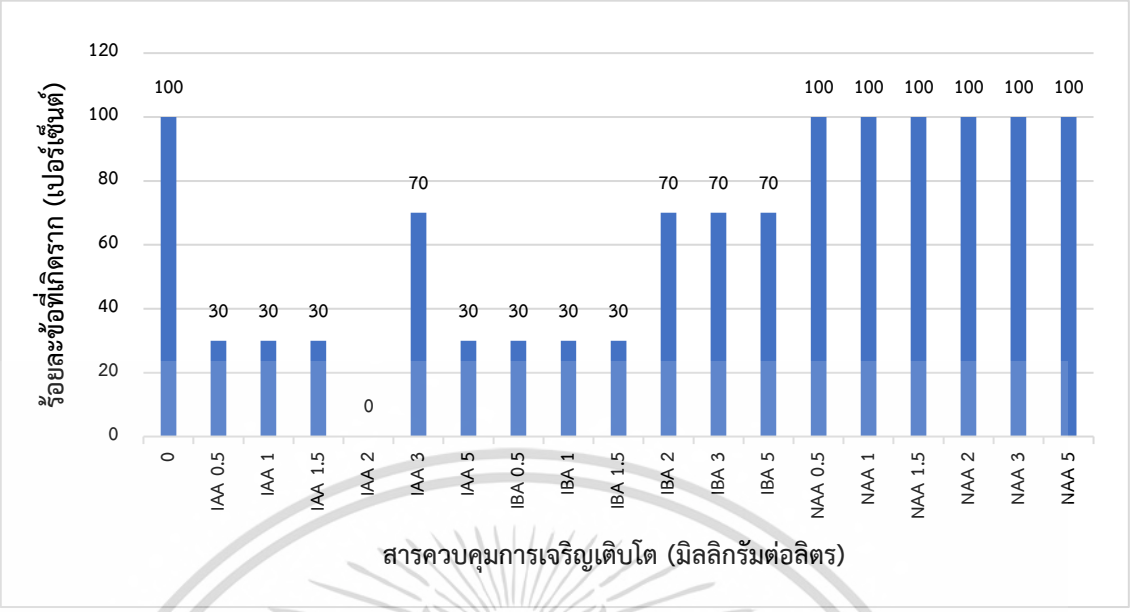
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละข้อที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนรากเฉลี่ย[123] ± SE (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)
	0	100	4.00^{ab}±0.00	3.50^{b}±1.42	1.00^{ab}±0.00
IAA	0.5	30	0.67^{bcd}±0.33	0.08^{b}±0.04	0.67^{ab}±0.33
	1	30	0.33^{cd}±0.17	1.93^{b}±1.09	0.67^{ab}±0.33
	1.5	30	0.67^{bcd}±0.33	2.86^{b}±1.44	0.33^{ab}±0.17
	2	0	0.00^{d}	0.00^{b}	0.33^{ab}±0.17
	3	70	1.00^{bcd}±0.58	9.77^{a}±5.66	0.67^{ab}±0.33
	5	30	0.33^{cd}±0.17	1.52^{b}±0.78	0.00^{b}
IBA	0.5	30	0.33^{cd}±0.17	0.18^{b}±0.10	1.33^{a}±0.33
	1	30	1.00^{bcd}±0.58	0.36^{b}±0.18	0.33^{ab}±0.33
	1.5	30	1.33^{bcd}±0.67	0.18^{b}±0.09	0.67^{ab}±0.33
	2	70	1.33^{bcd}±0.88	3.37^{b}±3.17	0.00^{b}
	3	70	1.67^{bcd}±0.88	0.96^{b}±0.65	0.67^{ab}±0.33
	5	70	2.67^{abcd}±1.77	1.23^{b}±0.65	1.33^{a}±0.33
NAA	0.5	100	6.00^{a}±2.00	3.81^{b}±1.12	1.00^{ab}±0.00
	1	100	3.33^{abcd}±0.88	2.72^{b}±1.08	1.00^{ab}±0.00
	1.5	100	3.33^{abcd}±1.67	1.80^{b}±1.36	1.00^{ab}±0.58
	2	100	3.33^{abcd}±1.20	5.78^{ab}±2.91	0.67^{ab}±0.33
	3	100	3.33^{abcd}±1.33	1.42^{b}±0.82	1.00^{ab}±0.00
	5	100	3.67^{abc}±1.20	3.63^{b}±0.80	1.33^{a}±0.33

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

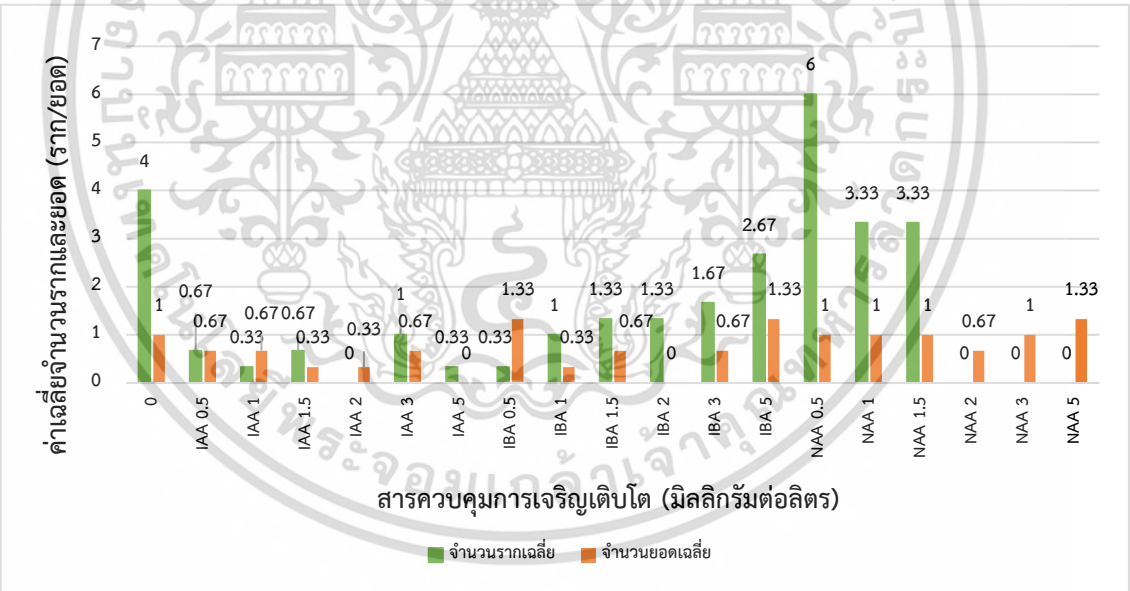
[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

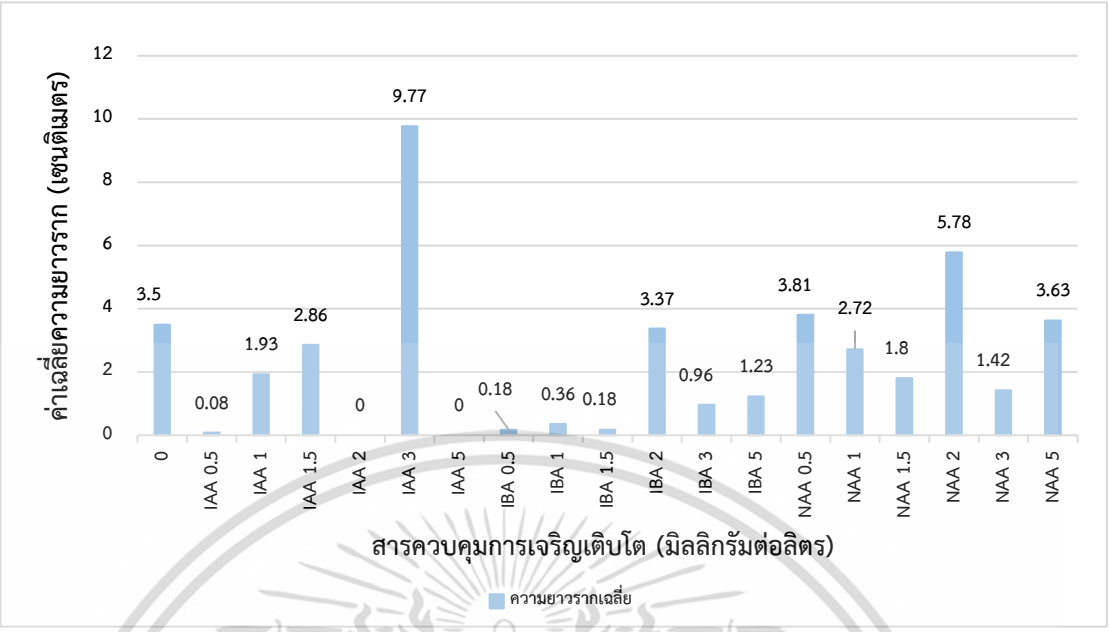


รูปที่ 4.27 ร้อยละการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์



รูปที่ 4.28 จำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.29 ความยาวรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

รูปที่ 4.30 ลักษณะการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 การศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis*

การทดลองชักนำต้นให้เกิดรากบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1.5 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนของต้นมีการเจริญของราก และบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ทั้งหมด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเจริญของราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 1.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ทุกความเข้มข้น และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 1.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเจริญของใบอ่อนเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเจริญของรากเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ และจากการทดลองพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.30 ราก (รูปที่ 4.32 รูปที่ 4.34 ง) ซึ่งสอดคล้องกับ Chaipanich. *et al.* (2020) รายงานว่า อาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ร้อยละ 100 ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากสูงสุด 1.67 ราก และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 4.31 เซนติเมตร ส่วนการทดลองการชักนำให้เกิดยอด พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.1 ยอด ซึ่งอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ร้อยละ 100 รวมถึงอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (รูปที่ 4.31 รูปที่ 4.34 ก) และพบว่ารากที่เกิดจากการชักนำมีสีขาว มีขนปกคลุมรอบเส้น และเกิดการยืดยาวของข้อเพื่อเจริญเป็นยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สามารถชักนำให้เกิดการเจริญของยอดได้ (รูปที่ 4.34 ค) (ตารางที่ 4.8) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khatun. *et al.* (2010) รายงานว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการศึกษาการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

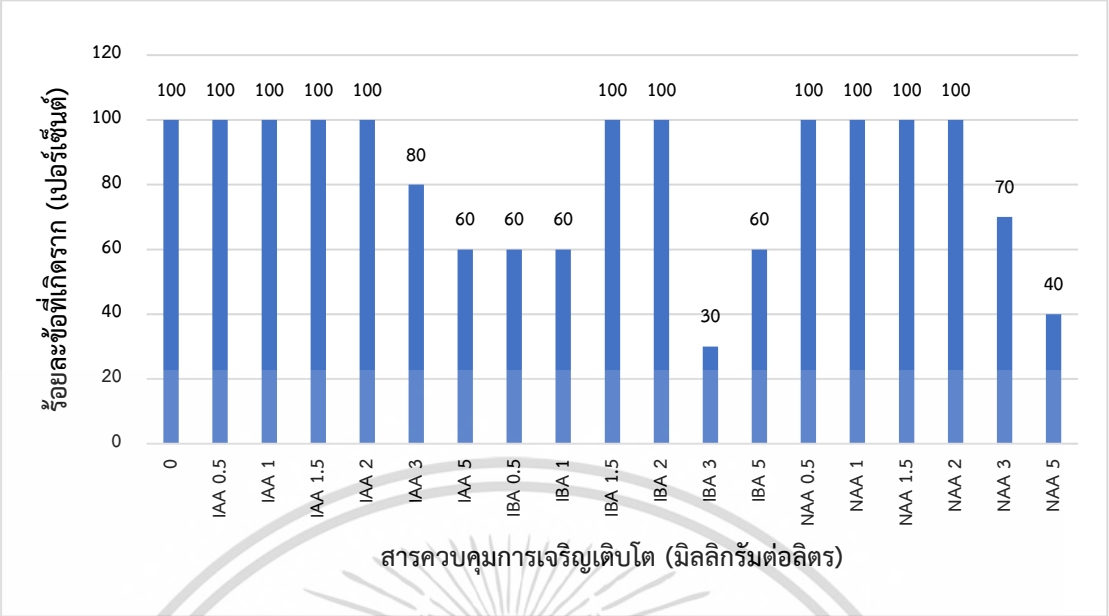
สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ร้อยละข้อที่เกิดราก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนรากเฉลี่ย[123] ± SE (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย[123] ± SE (เซนติเมตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)
0		100	0.60^{abc}±0.16	1.17^{ab}±1.08	1.00^{ab}±0.00
IAA	0.5	100	0.60^{abc}±0.16	2.18^{ab}±1.29	1.10^{a}±0.10
	1	100	0.70^{abc}±0.26	0.56^{b}±0.28	1.00^{ab}±0.00
	1.5	100	0.60^{abc}±0.40	0.24^{b}±0.12	1.00^{ab}±0.00
	2	100	0.70^{abc}±0.15	0.89^{b}±0.38	1.10^{a}±0.10
	3	80	0.70^{abc}±0.26	4.31^{a}±2.83	1.10^{a}±0.18
	5	60	0.10^{c}±0.05	0.90^{b}±0.45	0.80^{ab}±0.13
IBA	0.5	60	0.60^{abc}±0.16	2.75^{ab}±2.0	0.60^{bc}±0.16
	1	60	0.30^{bc}±0.15	0.28^{b}±0.27	0.60^{bc}±0.16
	1.5	100	0.60^{abc}±0.16	0.14^{b}±0.09	0.90^{ab}±0.10
	2	100	0.60^{abc}±0.16	0.11^{b}±0.06	0.90^{ab}±0.10
	3	30	0.30^{bc}±0.15	0.44^{b}±0.22	0.30^{c}±0.15
	5	60	0.30^{bc}±0.15	0.26^{b}±0.26	0.60^{bc}±0.16
NAA	0.5	100	1.10^{ab}±0.10	2.75^{ab}±2.0	1.00^{ab}±0.00
	1	100	1.30^{a}±0.40	0.73^{b}±0.18	1.00^{ab}±0.00
	1.5	100	1.30^{a}±0.54	1.45^{ab}±0.37	1.00^{ab}±0.00
	2	100	0.40^{abc}±0.16	0.68^{b}±0.21	1.00^{ab}±0.00
	3	70	1.20^{ab}±0.42	0.61^{b}±0.47	1.00^{ab}±0.00
	5	40	0.70^{abc}±0.40	0.49^{b}±0.31	0.40^{c}±0.16

[1]/ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

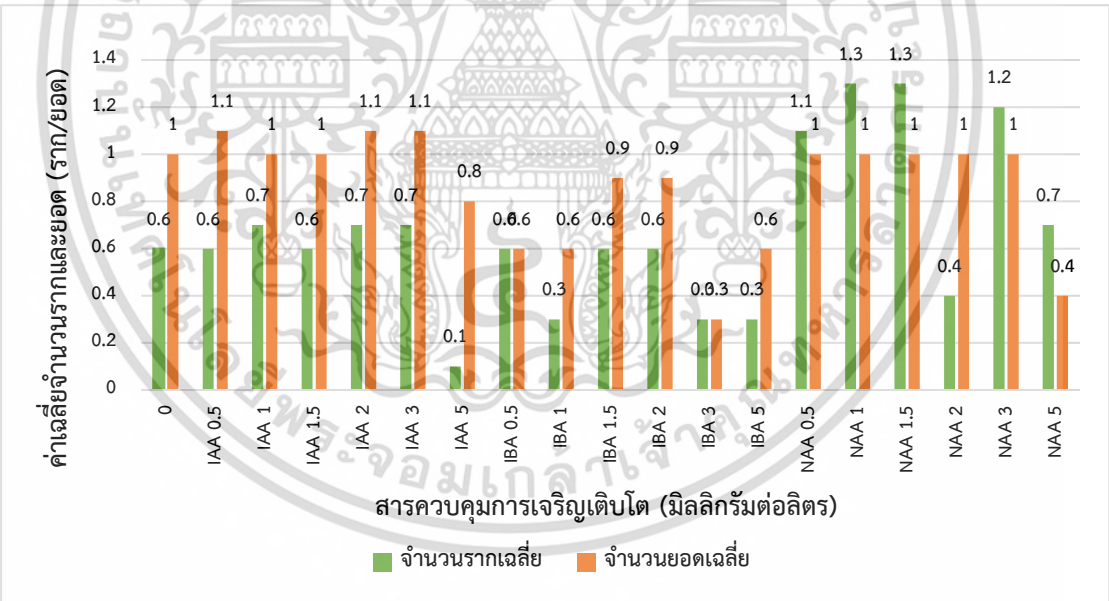
[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 3 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

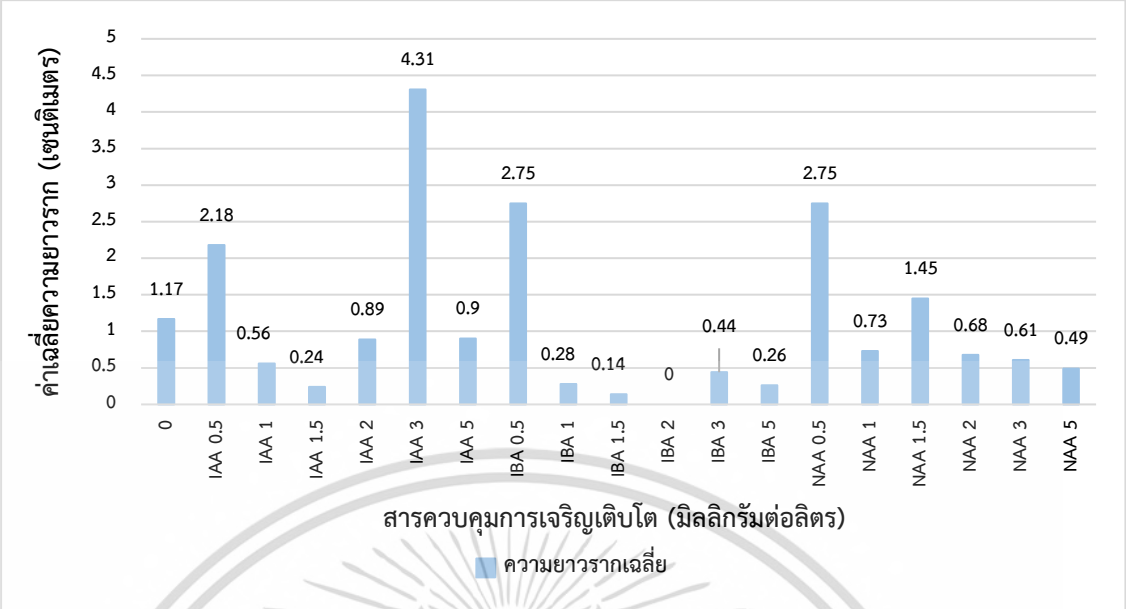


รูปที่ 4.31 ร้อยละการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

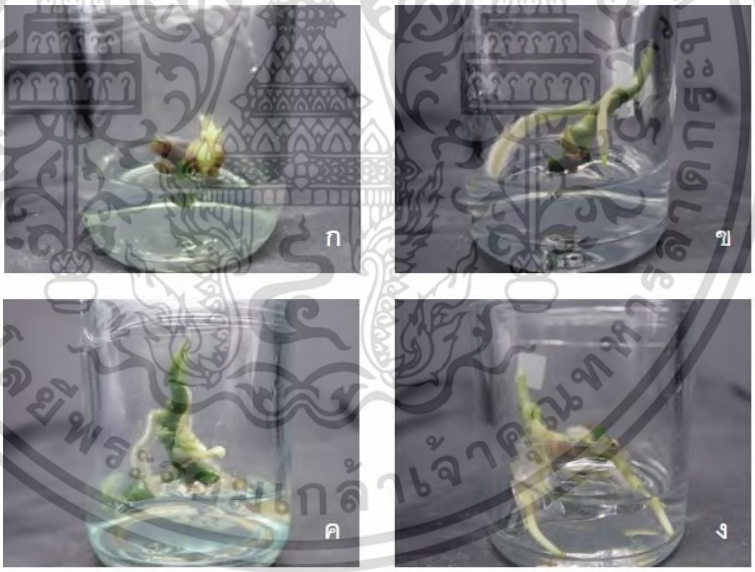


รูปที่ 4.32 จำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.33 ความยาวรากเฉลี่ยของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

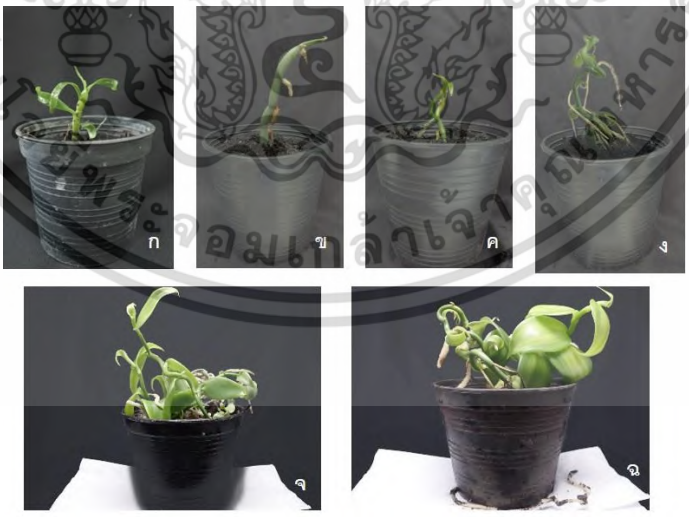


รูปที่ 4.34 ลักษณะการเกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลการศึกษาการนำเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* *V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata ออกปลูกในสภาวะธรรมชาติ

จากการเพาะเลี้ยงจนได้ต้นพืชที่สมบูรณ์จากการทดลองที่ 3.4.3 คือ เอื้องสายมรกต 3.4.4 คือวานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata และ 3.4.5 คือ วานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* และ *V. tahitensis* ทำการคัดเลือกต้นที่มีการชักนำให้เกิดยอดและรากที่แข็งแรง จากนั้นนำมาล้างบริเวณรากที่มีวุ้นติดอยู่ให้สะอาด แช่ในสารละลายคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 10 นาที ย้ายออกปลูกในกระถางพลาสติกที่มีกาบมะพร้าวและดิน อัตราส่วน 1:1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นรดน้ำและคลุมถุงพลาสติกที่เจาะรู นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พบว่าเอื้องสายมรกตและวานิลลาทุกสายพันธุ์มีร้อยละการรอดชีวิต 100 ต้นกล้ามีลำต้นสีเขียว ยืดยาวขึ้น และใบมีจำนวนเพิ่มขึ้น เมื่อนำออกปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับ Prasad. *et al.* (2001) รายงานว่า เมื่อทำการย้ายออกปลูกในกระถางที่มีเศษถ่านไม้หรือเปลือกไม้ที่บดเพียงอย่างเดียวของ *Dendrobium sonia* พบว่า มีการเจริญเติบโตมากขึ้น และการรอดชีวิตร้อยละ 100 และงานวิจัยของ ศักดินันท์ และกาญจนา (2559) รายงานว่า เมื่อนำต้นวานิลลาที่นำออกปลูก ทำให้มีความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 80-100 เป็นเวลา 15-30 วัน จากนั้นค่อย ๆ ลดความชื้นสัมพัทธ์ให้ใกล้เคียงกับธรรมชาติ พบว่าต้นวานิลลาจะพบการรอดชีวิตมากกว่า ร้อยละ 85-95 หลังจากนั้นถึงนำออกปลูกในพื้นที่ปลูก (รูปที่ 4.35 ก-ง) ส่วนในการทดลองต่อมา ต้นวานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata มีลักษณะต้นที่สูงขึ้น มีจำนวนใบและรากเพิ่มขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 สัปดาห์ (รูปที่ 4.35 จ-ฉ)



รูปที่ 4.35 ลักษณะการรอดชีวิตของเอื้องสายมรกต (ก) และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* (ข) *V. tahitensis* (ค) *V. planifolia* variegata (ง) หลังจากนำออกปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และ *V. tahitensis* (จ) *V. planifolia* variegata (ฉ) หลังจากนำออกปลูกเป็นระยะเวลา 60 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดหลายยอดของเอื้องสายมรกตด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว (TIB)

หลังจากเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มจนได้ต้นอ่อนจากการทดลองที่ 3.4.2 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 แบบแข็งและเหลว ในระบบ TIB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอด โดยมีความถี่ในการให้อาหารทุก ๆ 2 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ให้อาหาร 5 นาที วันละ 5 ครั้ง เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง ปราศจากแสง 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พบว่าอาหารเหลวในระบบ TIB สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.96 ยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.05 เซนติเมตร (รูปที่ 4.36 ข-ค) ซึ่งมากกว่า อาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ย 1.56 ยอด ความยาวยอดเฉลี่ย 0.58 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.36 ก) (ตารางที่ 4.9) จากการทดลองพบว่า อาหารเหลวในระบบ TIB สามารถชักนำยอดให้เกิดมากขึ้น (นิรมล, 2556) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mosqueda. *et al*. (2019) รายงานว่าระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 2 นาที ทุก ๆ 2 ชั่วโมง บนอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน พบว่าสามารถชักนำจำนวนยอดได้เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดของต้นอ่อนเอื้องสายมรกต บนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 แบบแข็งและเหลวในระบบ TIB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

อาหารสังเคราะห์สูตร B5	สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย[123] ± SE (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย[123]± SE (เซนติเมตร)
อาหารแข็ง	3	1.56[a]±0.16	0.58[b]±0.37
TIB	3	1.96[a]±0.16	1.05[a]±0.05

[1]/ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น

[2]/ ค่าเฉลี่ย ± SE แสดงจากการทดลอง 5 ซ้ำ

[3]/ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test

รูปที่ 4.36 การชักนำให้เกิดยอดหลายยอดของเอื้องสายมรกต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) ระบบ TIB (ข) และอาหารเหลวที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบ TIB (ค) ตามลำดับ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเมล็ดเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการ BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ สามารถชักนำให้เมล็ดมีการเจริญเป็นโปรโตคอร์มได้ทั้งหมด โดยอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP มีลักษณะการเจริญเป็นโปรโตคอร์มสีเขียวได้มากกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากโปรโตคอร์มของเอื้องสายมรกตบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดจำนวน 2.2 ยอด และพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 0.98 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบการชักนำให้เกิดรากบนอาหารปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยพบการชักนำให้เกิดรากมากที่สุด 1.9 ราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ สามารถชักนำโปรโตคอร์มให้เกิดยอดได้ในทุกความเข้มข้น ร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากโปรโตคอร์มของเอื้องสายมรกต บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 4.33 ราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.08 เซนติเมตร พร้อมกับชักนำจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 5 ยอด โดยอาหารที่ปราศจากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดรากได้ ร้อยละ 80 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำข้อให้เกิดยอดของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโต 3 ชนิด ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.33 ยอด และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.81 เซนติเมตร สำหรับอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 2 ราก โดยสามารถชักนำให้เกิดยอดได้บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ ร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

วานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP พบว่า BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.67 ยอด และสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.78 เซนติเมตร และพบจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5 ราก และสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ในทุกความเข้มข้น โดยพบการเกิดยอดร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ในส่วนของอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.00 ยอด และสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.58 เซนติเมตร และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1 ราก สำหรับอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 0.5 1.5 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1.5 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

วานิลลาสายพันธุ์ *V. planifolia* variegata ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP *m*T และ TDZ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด โดยพบจำนวนยอดเฉลี่ย 1.67 ยอด และสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.85 เซนติเมตร และพบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร B5 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.33 ราก สำหรับอาหารปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ ร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำต้นให้เกิดรากของวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 6 ราก และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 9.77 เซนติเมตร สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.33 ยอด สำหรับอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ทุกความเข้มข้น สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด ร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

วานิลลาสายพันธุ์ *V. tahitensis* เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.3 ราก และสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 4.31 เซนติเมตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดสูงสุด 1.1 ยอด และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร B5 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด ร้อยละ 100 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

จากนั้นศึกษาการนำต้นพืชที่สมบูรณ์ออกปลูกในสภาวะธรรมชาติ โดยย้ายต้นพืชออกปลูกในกระถางที่มีส่วนผสมของกาบมะพร้าวและดิน พบว่า เอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata พบการรอดชีวิต ร้อยละ 100 เมื่อออกปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดหลายยอดของเอื้องสายมรกตด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว (TIB) โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร B5 แบบแข็งและแบบเหลวใน TIB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารเหลวใน TIB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด โดยพบจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.96 ยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.05 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ศึกษาการนำออกปลูกด้วยวัสดุปลูกอื่น ๆ เพื่อให้ต้นเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata ออกปลูกตามสภาวะธรรมชาติได้มากขึ้น

5.2.2 ศึกษาการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบต้นเอื้องสายมรกต และวานิลลาสายพันธุ์ *V. aphylla V. tahitensis* และ *V. planifolia* variegata

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ สุดประเสริฐ วรรณสิริ ตัณฑ์ประศาสน์ และวาสิฏฐี จันทรสุขสันต์. 2554. “การเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงและการย้ายปลูกของสายพันธุ์วานิลลา” โครงงานพิเศษสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. 2564. **การส่งออกสินค้ากล้วยไม้.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://ditp.go.th/ditp_web61/article_sub_view.php?filename=contents_attach/730251/730251.pdf&title=730251&cate=743&d=0.

กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2540. **คู่มือจำแนกกล้วยไม้ไทย.** กรุงเทพฯ : มีเดียเพรส.

กองคุ้มครองพันธุ์สัตว์ป่าและพืชป่าตามอนุสัญญา กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. 2556. **กล้วยไม้ป่าในผืนป่าตะวันออก ตอนที่ 1.** พิมพ์ครั้งที่ 11 กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

กาญจนา รุ่งรัชกานนท์. 2555. **กล้วยไม้: เทคโนโลยีและการประยุกต์ใช้งาน.** อุบลราชธานี : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ครรชิต ธรรมศิริ. 2550. **เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้.** ปรับปรุงครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ : อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

ชมรมคนรักษ์พรรณไม้. 2560. **เอื้องสายมรกต.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.facebook.com/ChumchnKhnRaksPhrrnMi/posts/1760742560614761/?_rdc=1&_rdr.

จตุพร หงส์ทองคำ สุรชัย รัตนสุข และรชยา พรมวงศ์. 2560. “การงอกของเมล็ดและการเจริญเป็นต้นของกล้วยไม้เขาแกะ (*Rhynchostylis coelestis* Rchb.f) ในสภาพปลอดเชื้อ.” *วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาส์น*. 39(1) : 1-12.

นันทิยา วรรธนะภูติ. 2555. **ดอกเอื้อง.** กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์.

นพมณี โทปุญญานนท์ ปวีณา นามเจริญ วิภาดา ทองทักษิณ สุปัน ไม้ตัดจันทร์ รังสิมา อัมพวันทิพย์สุดา ปุกมณี และพรศักดิ์ บุญมี. 2548. “การพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว.” **รายงานการวิจัยสำนักคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ.**

นิรมล รังสยาธร. 2556. “การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินด้วยระบบจมชั่วคราว.” หน้า 312-318. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2 ขอนแก่น : โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ้านและสวน. 2559. **เถางูเขียว.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.baanlaesuan.com/plants/orchid/135987.html.

ปฐพีชล วายุอัคคี. 2547. **คู่มือกล้วยไม้.** พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ : เพ็ท-แพล้น พับลิชชิ่ง.

ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2558. “ปลูกวานิลลาแบบไหนดี” *เคหการเกษตร.* 39(8) : 180-185.

108 พรรณไม้. 2564. **กล้วยไม้.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.panmai.com/Orchid/orchid2.shtml.

พรสุดา ศิริรักวงษา พัชรียา บุญกอแก้ว และเฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันทร์. 2557. “การขยายพันธุ์วานิลลาพันธุ์ตาฮิติจากการเพาะเลี้ยงตาข้างในสภาพปลอดเชื้อ.” *แก่นเกษตร.* 42(3) : 450-455.

ฟ้าใสวันใหม่. 2562. **วานิลลากล้วยไม้มหัศจรรย์.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.bloggang.com/m/viewdiary.php?id=fasaiwonmai&month=05-2011&date-06&group=2&gblog=109.

มณฑิณี กมลธรรม และสะใบทอง ภูมิคอนสาร. 2561. “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์วานิลลา.” *วิทยาศาสตร์เกษตร.* 49(1) : 280-283.

มาลินี อนุพันธ์สกุล. ม.ป.ป. **การปลูกกล้วยไม้.** โครงการหนังสือเกษตรชุมชน.

วิชิต สุวรรณปรีชา. 2537. **การปลูกไม้ตัดดอก เล่ม 2.** กรุงเทพฯ : ทิพย์วิสุทธิ์การพิมพ์.

วรชาติ โตแก้ว ประนอม จันทรโณทัย และพงศ์ศักดิ์ พลเสนา. ม.ป.ป. **กล้วยไม้ในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว.** พิมพ์ครั้งที่ 1 ขอนแก่น : ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วริศา พิลาโฮม และสุมนทิพย์ บุนนาค. 2548. “การขยายพันธุ์กล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำด้วยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ.” *วารสารวิจัย มข.(บศ.).* 5 : 36-45.

ศักดินันท์ จันทคณานุรักษ์ และกาญจนา รุ่งรัชกานนท์. 2559. “วานิลลา: ศักยภาพการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.” *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.* 16(2) : 74-84.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

ศิริพร ขุนศรี. 2553. “การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของวานิลลา” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศิริวารินทร์ ธิบูลย์ และอารักษ์ จันทศิลป์. 2549. “การเจริญของโปรโตคอร์มกล้วยไม้พญาฉัททันต์ในหลอดทดลอง.” *วารสารสงขลานครินทร์ วทท.* 28(2) : 278-284.

เศรษฐมันตร์ กาญจนกุล. 2552. **กล้วยไม้ไทย.** กรุงเทพฯ : เศรษฐศิลป์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2560. **การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชสวนพันธุ์ดี โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว.** พิมพ์ครั้งที่ 4 กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

สถาบันวิจัยและพัฒนาชายแดนใต้ มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. 2559. **เถางูเขียว.** [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://srdi.yru.ac.th/bcqy/view/415_.

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 2542. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นพื้นฐาน.** พิมพ์ครั้งที่ 8 นครปฐม : โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน.

สารยูไนเต็ด. 2555. “วานิลลามาจากไหน.” *สารยูไนเต็ด.* (351) : 20-22.

สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช 2551. **คู่มือศึกษากล้วยไม้ป่า เล่ม 1.** กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. **ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืช.** กรุงเทพฯ : โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. **กล้วยไม้เมืองไทย.** กรุงเทพ ฯ: บ้านและสวน.

Asghar, S. Ahmad, T. Hafiz, I. and Yaseen, M. 2011. “*In Vitro* Propagation of Orchid (*Dendrobium nobile*) var. Emma White.” *African Journal of Biotechnology.* 10(16) : 3097-3103.

Ayele, Y. Tefera, W. and Bantte, K. 2017. “Enhanced Protocol Development for *In Vitro* Multiplication and Rooting of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews.) clone (Van.2/05).” *Biotechnology Journal International.* 18(3) : 1-11.

Cardoso, J and Ono, E. 2011. “*In Vitro* Growth of *Brassocattleya* Orchid Hybrid in Different Concentrations of KNO_3, NH_4NO_3 and Benzylaminopurine.” *Horticultura Brasileira*. 29 : 359-363.

Chen, B. Trueman, S. Li, J. Li, Q. Fan, H. and Zhang, J. 2014. “Micropropagation of the Endangered Medicinal Orchid, *Dendrobium officinale*.” *Life Science Journal*. 11(9) : 526-530.

Chaipanich, C. Robert, D. Yenchon, S. Te-chato, S and Divakaran, M. 2020. “*In Vitro* Seed Germination and Plantlet Regeneration of *Vanilla siamensis*: An Endemic Species in Thailand.” *ScienceAsia*. 46(3) : 315-322.

Dave’s garden. 2011. **Orchid, Variegatad Vanilla Orchid 'Variegata'.** [Online]. Available : https://davesgarden.com/guides/pf/go/192557/#b.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Deepa, V. Anju, M. and Thomas, T. 2018. "The Applications of TDZ in Medicinal Plant Tissue Culture." *The Applications of TDZ in Medicinal Plant Tissue Culture*. : 297-316.

Dressler, R. 1982. **The Orchids Natural History and Classification.** 2nd. United States of America : n.p.

Gamborg, O. L, Mille. and Ojima, K. 1968. "Nutrient Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells." *Experimental Cell Research.* 50 : 148-151.

George, E. Hall, M. and Klerk, G. 2008. "The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro- and Micro-Nutrients." *Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background.* 65-113.

Glassbox tropical. 2019. ***Vanilla planifolia* variegata.** [Online]. Available : https: //www.glassboxtropicals.com/Vanilla-planifolia-Variegatad-p/vanplavar.htm.

Hajong, S. Kumaria, S. and Tandon, P. 2010. "*In Vitro* Propagation of the Medicinal Orchid *Dendrobium chrysanthum*." *The Indian National Science Academy.* 76(1) : 1-6.

Hajong, S. Kumaria, S. and Tandon, P. 2013. "Effect of Plant Growth Regulators on Regeneration Potential of Axenic Nodal Segments of *Dendrobium chrysanthum* Wall. ex Lindl." *Agricultural Science and Technology.* 15 : 1425-1435.

Kabir, M. Rahman, M. Jamal, A Rahman, M and Khalekuzzaman, M. 2013. "Multiple Shoot Regeneration in *Dendrobium fimbriatum* Hook an Ornamental Orchid." *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 23(4) : 1140-1145.

Khatun, H. Khatun, M. Biswas, M Kabir, M and Amin, M. 2010. "*In Vitro* Growth and Development of *Dendrobium* Hybrid Orchid." *Bangladesh J. Agril. Res*. 35(3) : 507-514.

Knudson, L. 1946. "A New Nutrient Solution for the Germination of Orchid Seed." *American Orchid Society Bulletin*. 15 : 214-217.

Kunakhonnuruk, B. Inthima, P. and Kongbangkerd, A. 2018. "*In Vitro* Propagation of *Epipactis flava* Seidenf., an Endangered Rheophytic Orchid: A First Study on Factors Affecting Asymbiotic Seed Germination, Seedling Dvelopment and Greenhouse Acclimatization." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 135 : 419-432.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lone, S. Hussain, K. Malik, A. Magray, M. Hussain, S. Rashid, M and Farwah, S. 2020. "Plant Propagation through Tissue Culture – A Biotechnological Intervention." *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 9(7) : 2176-2190.

Luo, J. Wang, Y. Zha, X. and Huang, L. 2008. "Micropropagation of *Dendrobium densiflorum* Lindl. ex Wall. through Protocorm-Like Bodies: Effects of Plant Growth Regulators and Lanthanoids." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 93 : 333-340.

Maharin, S. Pradhan, S. Thapa, B and Pant, B. 2019. "*In Vitro* Propagation of Endangered Orchid, *Vanda pumila* Hook.f. through Protocorms Culture." *American Journal of Plant Sciences*. 10 : 1220-1232.

Maharjan, S. Thakuri, L. Thapa, B. Pradhan, S. Pant, K. Joshi, G and Pant, B. 2020. "*In Vitro* Propagation of the Endangered Orchid *Dendrobium chryseum* Rolfe from Protocorms Culture." *Nepal Journal of Science and Technology*. 19(1) : 39-47.

Malmgren, S. 1996. "Orchid Propagation: Theory and Practice. In: Allen C (ed) North American Native Terrestrial Orchids: Propagation and Production." *North American Native Terrestrial Orchid*. 63-71.

Minh, T. Khoa, N. and Hoa, B. 2017. "Rapid Micropropagation of Vu nu orchid (*Oncidium* sp.) by Using Tissue Culture Technique." 1241-1245. CBU International Conference on Innovations in Science and Education. Czech republic.

Mosqueda, M. Cruz, C. Ricardez, A and Bello, J. 2019. "Assessment of Different Temporary Immersion Systems in the Micropropagation of Anthurium (*Anthurium andreanum*)." *3 Biotech*. 9 : 307.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. "A Revised Medium for Rapid Growth Bioassays with Tobacco Tissue Culture." *Physiologia Plantarum*. 15 : 473-497.

Nag, S. and Kumaria, S. 2018. "*In Vitro* Propagation of Medicinally Threatened Orchid *Vanda coerulea*: An Improved Method for the Production of Phytochemicals, Antioxidants and Phenylalanine Ammonia Lyase Activity." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 7(4) : 2973-2982.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Naaz, A. Hussain, S. Anis, M and Alatar, A. 2019. "Meta-topolin Improved Micropropagation in *Syzygium cumini* and Acclimatization to *Ex Vitro* Conditions." *Biologia plantarum.* 63 : 174-182.

Chyuam, Y.N. Saleh, N.M. and Zamen, F.Q. 2010. "*In Vitro* Multiplication of the Rare and Endangered Slipper Orchid, *Paphiopedilum rothschildianum* (Orchidaceae)." *African Journal of Biotechnology*. 9(14) : 2062-2068.

Nitsch, J.P. and Nitsch, C. 1969. "Haploid Plants from Pollen Grains." *Science*. 163: 85-87.

Orchidsasiavanamorchilds. 2562. **Vanilla Beans, Plants, support systems.** [Online]. Available : http://www.orchidsasia.com/vanilla.htm.

Pant, B. and Deepa, T. 2012. "*In Vitro* Mass Propagation of an Epiphytic Orchid, *Dendrobium primulinum* Lindl. through Shoot Tip Culture." *African Journal of Biotechnology*. 11(42) : 9970-9974.

Parvin, M. Haque, M. Akhter, F Maniruzzaman and Khaldun, A. 2009. "Effect of Different Levels of NAA on *In Vitro* Growth and Development of Shoots of *Dendrobium* Orchid." *Bangladesh J. Agril. Res.* 34(3) : 411-416.

Pongener, A. and Deb, C. 2016. "*In Vitro* Seed Germination and Micropropagation of *Dendrobium densiflorum* Lindl. on Low-Cost Alternative Substrata." *Fazl Ali College Journal*. 6 : 50-57.

Pradhan, S. Paudel, Y. and Pant, B. 2013. "Efficient Regeneration of Plants from Shoot Tip Explants of *Dendrobium densiflorum* lindl., A Medicinal Orchid." *African Journal of Biotechnology*. 12(12) : 1378-1383.

Prasad, G. Rao, I. and Reddy, P. 2001. "*In Vitro* Propagation of Orchid-*Dendrobium* 'SONIA'." *Indian 1. Plant Physiol.* 6(3) : 284-288.

Rafique, R. Fatima, B. Mushtaq, S. Iqba, M. Rasheed, M. Ali, M and Hasan, S. 2012. "Effect of Indole-3-Butyric Acid (IBA) on *In Vitro* Root Induction in Dendrobium Orchid (*Dendrobium sabin* H.)." *African Journal of Biotechnology*. 11(20) : 4673-4675.

Ravindran, P. 2018. **The Encyclopedia of Herbs and Spices.** India: n.p.

Sharma, R. and Bora, S. 2017. "Influence of Explants Type and Plant Growth Regulators on *In Vitro* Mutiple Shoots Regeneration of *Vanilla planifolia*." *International Journal of Agricultural Science and Research*. 7(2) : 189-196.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sidek, N. Anuar, N. Naher, L and Rahman, K. 2018. "The Effect of Different Nutrient Media on *In Vitro* Shoot and Root Proliferation of *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews." *American Journal of Biotechnology*. 17(39) : 1241-1246.

Utami, E. Hariyanto, S. and Manuhara, Y. 2017. "*In Vitro* Propagation of the Endangered Medicinal Orchid, *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm through Mature Seed Culture." *Asian Pac J Trop Biomed*. 7(5) : 406-410.

Vacin, E. and Went, F. 1949. "Some pH Change in Nutrient Solution." *Botanic Gardens Conservation News*. 110 : 605-613.

Van, JM. and Debergh, PC. 1986. "*In Vitro* Germination of Some Western European Orchids." *Physiol Plant*. 67 : 253-261.

Tahititourisme. 2018. **Tahitian Vanilla, the Flavor of Paradise.** [Online]. Available : https://tahititourisme.com/en-us/travel-planner/tahitian-customs/tahitian-vanilla-the-flavor-of-paradise/

Tokuhara, K. and Mii, M. 1993. "Micropropagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* by Culturing Shoot Tips of Flower Stalks Buds." *Plant Cell Reports*. 13 : 7-11.

Zhao, P. Wu, F. Feng, F. and Wang, W. 2008. "Protocorm-Like Bodies (PLB) Formation and Plant Regeneration from the Callus Culture of *Dendrobium candidum* Wall *ex* Lindl." *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant.* 44 : 178-185.

Zuraida, A. Izzati, K. Nazreena, O Zaliha, W Radziah, C Zamri, Z and Sreeramanan, S. 2013. "A Simple and Efficient Protocol for the Mass Propagation of *Vanilla planifolia*." *Amarican Journal of Plant Sciences.* 4 : 1685-1692.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. **อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)**

   องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS แสดงดังตารางที่ 5.1

   ตารางที่ 5.1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2•2H_2O$	440
$MgSO_4•7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4•4H_2O$	6.9
$ZnSO_4•2H_2O$	6.14
KI	0.83
$Na_2MoO_4•2H_2O$	0.25
$CuSO_4•5H_2O$	0.025
Na_2-EDTA	37.25
$FeSO_4•7H_2O$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อาหารสังเคราะห์สูตร B5 (Gamborg. *et al.*, 1968)

องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร B5 แสดงดังตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร B5

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
$(NH_4)_2•SO_4$	134
KNO_3	2,500
$CaCl_2•2H_2O$	150
$MgSO_4•7H_2O$	250
$NaH_2PO_4•4H_2O$	150
H_3BO_3	3
$MnSO_4•4H_2O$	10
$ZnSO_4•2H_2O$	2
KI	0.75
$Na_2MoO_4•2H_2O$	0.25
$CuSO_4•5H_2O$	0.025
$CoCl_2•6H_2O$	0.025
EDTA Na Ferric	40
Nicotinic acid	1
Pyridoxine-HCl	1
Thiamine-HCl	10
Myo-inositol	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาววรรณรวี กุลวัลลภ

วัน เดือน ปีเกิด วันพุธที่ 16 สิงหาคม พ.ศ. 2538

ที่อยู่ปัจจุบัน 58/30 หมู่บ้าน มณีรินทร์ เลคแอนท์พาร์ค ถนน345 ตำบลบางคูวัด อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

ประวัติการศึกษา ปีการศึกษา 2559 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 2.93 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2564 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 3.68 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ทุนการศึกษาที่ได้รับ

ผลงานทางวิชาการ

Kunwanlop, W. Boonmee, W. Laipasu, P. Chareonsap, P. Krajangvuth, T. and Poeaim, A. 2018. "Effect of Plant Growth Regulators on Micropropagation of *Vanilla aphylla* and *Vanilla planifolia* sp. Variegate." *International Journal of Agricultural Technology*. 14(7): 1357-1364.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้