อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและถ่านกัมมันต์ที่มีผลต่อกล้วยไม้ช้างแดง

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS AND ACTIVATED CHARCOAL EFFECT ON *Rhynchostylis* orchid

สุภัสสร ลิ้มสกุล

อนิชญา เข็มเพ็ชร์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS AND ACTIVATED CHARCOAL EFFECT ON *Rhynchostylis* orchid

SUPATSORN LIMSAKUL

ANICHAYA KHEMPET

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและถ่านกัมมันต์ที่มีผลต่อกล้วยไม้ช้างแดง Influence of Growth Regulators and Activited Charcoal Effect on *Rhynchostylis orchid*
ชื่อนักศึกษา	นางสาวสุภัสสร ลิ้มสกุล รหัสนักศึกษา 62050549 นางสาวอนิชญา เข็มเพ็ชร์ รหัสนักศึกษา 62050555
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.วิมลมาศ บุญมี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	
ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและถ่านกัมมันต์ที่มีผลต่อกล้วยไม้ช้างแดง

ชื่อนักศึกษา นางสาวสุภัสสร ลิ้มสกุล รหัสนักศึกษา 62050549

นางสาวอนิชญา เข็มเพ็ชร์ รหัสนักศึกษา 62050555

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.วิมลมาศ บุญมี

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อของกล้วยไม้ช้างแดง *Rhynchostylis* ในงานวิจัยนี้ มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดงให้เกิดราก ในอาหารแต่ละสูตร ดังนี้ 1) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วย *m*T หรือ BA 2) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T หรือ BA ที่เสริมด้วย NAA 3) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T หรือ BA ที่เสริมด้วย NAA และถ่านกัมมันต์ (AC) พบว่า อาหารสูตรที่ไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ให้ผลจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นใกล้เคียงกันกับอาหารสูตรที่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ โดยอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.71±0.49 ราก และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ *m*T และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดรากได้มากกว่าสูตรอาหารอื่นๆ ซึ่งให้ผลจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 3.57±0.79 ราก ในสัปดาห์ที่ 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : กล้วยไม้ช้างแดง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ถ่านกัมมันต์ การชักนำให้เกิดราก

Title	Influence of Growth Regulators and Activited Charcoal Effect on *Rhynchostylis orchid*
Students	Miss Supatsorn Limsakul Student ID 62050549
	Miss Anichaya Khempet Student ID 62050555
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Assoc.Prof.Dr. Anurug Poeaim
Co- Advisor	Dr.Wimonmat Boonmee

Abstract

In this research, the tissue culture of *Rhynchostylis* orchids is used to study the effects of plant growth regulators (PGRs) and activated charcoal (AC) on root induction. The explants were cultured under the following conditions: 1) MS medium supplemented with *m*T or BA 2) MS medium supplemented with *m*T or BA and added with NAA 3) MS medium supplemented with *m*T or BA which was added by NAA and AC. As a result, it was found that the average amount of roots per explant in the medium without AC was slightly similar to that in the medium with AC. While MS with BA at a concentration of 1.5 mg/L had an average number of roots per explant of 1.71±0.49 roots. And MS with *m*T and NAA at 1.0 mg/L and AC at 2.1 g/L could significantly induce roots from the explant more than other mediums that were used in this study, which showed the highest average number of roots per explant at 3.57±0.79 roots cultured in the 16th week.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keywords : *Rhynchostylis* orchid, Tissue culture, Activited charcoal, Root induction

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเรื่อง “อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและถ่านกัมมันต์ที่มีผลต่อกล้วยไม้ช้างแดง”ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ช่วยให้ความรู้ คำแนะนำ และถ่ายทอดประสบการณ์ อีกทั้งยังทำการช่วยเหลือและสนับสนุนในทุกด้านให้กับคณะผู้จัดทำ จนโครงงานสำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยดีจึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบคุณ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และ ดร.วิมลมาศ บุญมี ที่สละเวลามาเป็นประธานกรรมการและกรรมการสำหรับสอบโครงงานพิเศษนี้ และคอยให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษาและแนวทางในการแก้ไขปัญหา จุดบกพร่องต่าง ๆ ทำให้โครงงานพิเศษเล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยให้คำปรึกษาในการใช้อุปกรณ์ให้กับทางคณะผู้จัดทำและขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำโครงงานพิเศษ

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ นักศึกษาปริญญาโท และครอบครัวที่คอยช่วยเหลือสนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงเพื่อน ๆ ในห้องปฏิบัติการที่คอยช่วยเหลือให้คำแนะนำและให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้มาตลอด ทำให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

คณะผู้จัดทำหวังอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่นำไปศึกษาข้อมูลไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

สุภัสสร ลิ้มสกุล
อนิชญา เข็มเพ็ชร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... จ
สารบัญรูป ..... ฉ
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ช
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ลักษะทั่วไปของกล้วยไม้ช้างแดง 4
2.2 พฤษศาสตร์ของกล้วยไม้ช้างแดง 4
2.2.1 พฤษศาสตร์ของกล้วยไม้ช้างแดง 5
2.2.2 ระบบราก 5
2.2.3 ลำต้น 6
2.2.4 ใบ 6
2.2.5 ช่อดอกและดอก 6
2.2.6 ฝักและเมล็ด 6
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ 7
2.3.1 ความหมายของการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ 7
2.3.2 ประวัติของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ 7
2.3.3 การขยายพันธุ์กล้วยไม้ 8
2.3.4 การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพที่ปลอดเชื้อ 8
2.3.5 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ 9
2.4 ปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ 9
2.4.1 ชนิดของเมล็ดกล้วยไม้ 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

2.4.2 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ ... 9
2.4.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต ... 10
2.4.4 การแบ่งกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต ... 10
2.4.4.1 ออกซิน (auxin) ... 10
2.4.4.2 ไซโตไคนิน (cytokinin) ... 11
2.4.5 สารที่ช่วยให้ความคงตัว ... 11
2.4.6 อุณหภูมิ ... 11
2.4.7 การปรับสภาพก่อนนำออกปลูก ... 11
2.4.8 วัสดุที่ใช้ในการปลูกกล้วยไม้ ... 12
2.5 ถ่านกัมมันต์ ... 12
2.5.1 ประโยชน์ของถ่านกัมมันต์ ... 13
2.5.2 การผลิตถ่านกัมมันต์ ... 13
2.5.2.1 การกระตุ้นทางกายภาพ ... 13
2.5.2.2 การกระตุ้นด้วยสารเคมี ... 14
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ... 14
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย ... 17
3.1 ตัวอย่างพืช ... 17
3.2 วัสดุและอุปกรณ์ ... 17
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ... 18
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย ... 18
3.4.1 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดใบ ยอด และรากจากชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดง ... 18
3.4.2 การศึกษาผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดใบ ยอด และรากจากชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดง ... 19
3.5 การคำนวณสถิติและวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ... 21
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล ... 22
4.1 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดและการชักนำยอดของต้นกล้วยไม้ช้างแดง ... 22
4.2 การศึกษาอิทธิพลของผงถ่านกัมมันต์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ช้างแดง ... 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 34
5.1 ผลสรุปการวิจัย 34
5.2 ข้อเสนอแนะ 34
เอกสารอ้างอิง 35
ภาคผนวก 37
ภาคผนวก ก 38
ภาคผนวก ข 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T BA NAA และ ผงถ่านกัมมันต์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ช้างแดง 20
4.1 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 23
4.2 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 27
4.3 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ และผงถ่านกัมมันต์ ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 30
4.4 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ และผงถ่านกัมมันต์ ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะของกล้วยไม้ช้างแดง 5
2.2 แบบจำลองโครงสร้างการดูดซับของถ่านกัมมันต์..... 13
4.1 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 24
4.2 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 24
4.3 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 24
4.4 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 25
4.5 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมกับ BA เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 25
4.6 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 28
4.7 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 28
4.8 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 28
4.9 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 29
4.10 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 29
4.11 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ *m*T และ NAA เสริมด้วย AC ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.12 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์..... 31

4.13 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ *m*T และ NAA เสริมด้วย AC ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 33

4.14 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA และ NAA เสริมด้วย AC ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์..... 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
MS	Murashige and Skoog
AC	Activited charcoal
NAA	α -Naphthaleneacetic acid
BA	6-Benzylaminopurine
*m*T	*Meta*-Topolin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ประเทศไทยนับเป็นหนึ่งที่มีความก้าวหน้าในด้านการพัฒนาการเพาะปลูกไม้ดอกไม้ประดับ โดยเฉพาะการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ จนสามารถส่งออกดอกกล้วยไม้เมืองร้อนได้เป็นอันดับหนึ่งของโลก และส่งออกต้นกล้วยไม้ได้เป็นอันดับสองของโลกรองจากไต้หวัน และมีมูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ที่ขยายตัวต่อเนื่อง โดยในช่วงครึ่งแรกปี 2549 มูลค่าการส่งออกดอกกล้วยไม้และต้นกล้วยไม้เท่ากับ 36.8 ดอลลาร์สหรัฐ เพิ่มขึ้นร้อยละ 1.7 เมื่อเทียบกับช่วงเดียวกันของปีก่อน

กล้วยไม้ช้างแดง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Rhynchostylis orchid* วงศ์ Orchidaceae เป็นกล้วยไม้สกุลช้าง ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้สกุลช้างมีขนาดกลางไปจนถึงค่อนข้างใหญ่ ธรรมชาติพบขึ้นในป่าดิบแล้งและป่าเบญจพรรณ ต้นกลมยาวและแข็ง ยาวได้ถึง 50 เซนติเมตร ใบยาวเป็นรางหนา อวบน้ำหรือค่อนข้างหนา แต่เหนียว เรียงสลับซ้ายขวา โคนใบซ้อนถี่คลุมต้น ช่อดอกเกิดตามซอกใบ ยาวพอๆกับใบหรือยาวกว่า อาจจะตั้งตรง เอน หรือห้อยลง แต่ละต้นมักจะมีมากกว่าหนึ่งช่อ ดอกมีกลีบคงรูปได้นาน กลีบปากมีเดือย และปลายกลีบมักจะพับขึ้น เส้าเกสรสั้น กลุ่มเรณูเกือบกลม และมีร่องเว้า มี 2 กลุ่มติดอยู่ปลายแถบ บางที่ยาวและแคบ (อบฉันท์ , 2543)

กล้วยไม้ช้างแดงเป็นกล้วยไม้กระถางที่ได้รับความนิยม การปลูกเลี้ยงค่อนข้างยาก และการขยายพันธุ์ที่ยากเนื่องจากต้องอาศัยการแตกหน่อ หรือการชักนำส่วนยอดไปปลูกต่อ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตที่น้อยลง และการผสมเกสรซึ่งใช้เวลานาน และมีปัญหาในการผสมข้ามสายพันธุ์ ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้จะนำส่วนที่เป็นเมล็ดมาเพาะเป็นส่วนใหญ่ แต่การใช้เมล็ดมีโอกาสกลายพันธุ์ได้มาก ผู้วิจัยจึงเลือกใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ช้างแดงด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ช้างแดงให้ได้จำนวนมาก โดยการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจะสามารถเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อ และได้ต้นกล้วยไม้ช้างแดงในระยะเวลาที่รวดเร็ว มีลักษณะเหมือนต้นแม่ทุกประการ ต้นที่ได้จะปลอดโรค มีความสม่ำเสมอของการเจริญเติบโต และช่วยในการอนุรักษ์พันธุกรรมของกล้วยไม้ช้างแดงไม่ให้สูญพันธุ์ไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดและชักนำยอด

1.2.2 เพื่อศึกษาผลผงถ่านกัมมันต์ต่อการพัฒนาให้ต้นกล้วยไม้ช้างแดงเจริญเติบโตโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.2.3 เพื่อศึกษาผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอด

1.2.4 เพื่อเปรียบเทียบจำนวนยอดและการชักนำยอดลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1. ศึกษาการทำให้ต้นกล้วยไม้ช้างแดงเจริญเติบโต โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T BA ร่วมกับ NAA และถ่านกัมมันต์

1.3.2. ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ช้างแดงด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้วยไม้ช้างแดงในหลอดทดลอง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถนำความรู้เกี่ยวกับเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยไม้ช้างแดงในปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น

1.4.2 ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของการเพิ่มจำนวนยอดและชักนำยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโต

1.4.3 ทราบถึงผลการตอบสนองการชักนำยอดเมื่อได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะเนื้อเยื่อ เซลล์หรือเซลล์ไม่มีผนัง มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และอยู่ในสภาพควบคุมอุณหภูมิแสงและความชื้นเพื่อให้เซลล์พืชที่นำมาเพาะเลี้ยงนั้น ปราศจากเชื้อที่มารบกวนและทำลายการเจริญเติบโตของพืช

การเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ หมายถึง เป็นการนำชิ้นส่วนพืชเข้ามาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยควบคุมแสงและอุณหภูมิ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีประโยชน์หลายอย่าง เริ่มตั้งแต่ขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณพืชให้ได้ปริมาณในระดับเป็นหมื่นเป็นแสนในเวลาสั้น และทำประโยชน์ในเรื่องของการปรับปรุงพันธุ์ เช่น ทำให้พืชออกดอกในขวดและผสมพันธุ์โดยไม่ต้องปลูกข้างนอก ข้อดีคือไม่ต้องกังวลกับเรื่องโรค แมลง เรื่องการให้ปุ๋ยและสามารถเก็บรักษาพันธุ์ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อเป็นหลายๆ ปี โดยไม่ต้องปลูกพืชในสภาพดินปกติข้างนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช หมายถึง เป็นสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืช (Plant hormones) โดยทั่วไปมักจะเรียกสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชว่า "ฮอร์โมน" ซึ่งบทบาทหน้าที่ของฮอร์โมนพืชจะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชทุกขั้นตอนตั้งแต่ งอก การพัฒนาของพืช การออกดอกติดผล การพัฒนาของผล การสุก จนกระทั่งต้นตาย ฮอร์โมนพืชเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นในปริมาณน้อยมาก โดยพืชจะสร้างสารดังกล่าวที่อวัยวะหรือเนื้อเยื่อส่วนหนึ่งแล้วเคลื่อนย้ายไปยังอีกส่วนหนึ่งและมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ค่อนข้างเฉพาะเจาะจงภายในพืช

ถ่านกัมมันต์ หมายถึง ถ่านที่มีรูพรุนสำหรับดูดจับจำนวนมาก ประกอบไปด้วยอะตอมคาร์บอนที่ยึดเกาะกันเป็นโครงสร้างซับซ้อน รูพรุนจำนวนมากในถ่านกัมมันต์เกิดขึ้นจากการเรียงตัวกันของแผ่นโครงสร้างอะตอมคาร์บอน เรียงตัวระเกระกะไม่เป็นระเบียบ แผ่นโครงสร้างเหล่านี้มีการยึดติดกันด้วยพันธะเคมี แต่เป็นไปแบบประปราย บางส่วนมีการยึดเกาะกัน บางส่วนก็ไม่ได้ยึดติดกัน จึงเกิดเป็นช่องว่างที่ห่างกันของแผ่นโครงสร้างเหล่านี้ เป็นช่องว่างเล็กบ้างใหญ่บ้าง ซอกเล็กซอกน้อยจำนวนมากมาย จึงกลายเป็นโครงสร้างของรูพรุนจำนวนมาก ถ่านกัมมันต์ผลิตขึ้นจากกะลามะพร้าว ถ่านหิน ไม้ เมล็ดพืช และวัสดุจำพวกที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบการผลิตถ่านกัมมันต์จากวัสดุเหล่านี้ทำได้ทั้งแบบใช้สารเคมีหรือใช้ไอน้ำอุณหภูมิสูงโครงสร้างที่เป็นรูพรุนในเนื้อถ่านกัมมันต์ทำให้เกิดการแยกสารปนเปื้อนทั้งหลายออกจากแก๊สและของเหลวได้ โดยกลไกที่เรียกว่าการดูดจับ โครงสร้างรูพรุนเหล่านี้เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ถ่านกัมมันต์มีประสิทธิภาพในการดูดจับได้
(บริษัท คาร์โบ กาญจน์ จำกัด, 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้ช้างแดง

จากการสำรวจพบว่ากล้วยไม้สกุลช้างที่มีอยู่ในโลกมีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย พม่า มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ประเทศในแถบอินโดจีน อินเดีย ศรีลังกา ภาคใต้ของหมู่เกาะในทะเลจีน และหมู่เกาะอินเดียตะวันออก ซึ่งกล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เป็นไม้ดอกที่อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) เป็นไม้ล้มลุกหรือเป็นพืชอิงอาศัย (Epiphyic) ใบเดี่ยวเรียงสลับ ขอบเรียบ โคนใบแผ่ออกเป็นกาบ มีหัวเทียมแตกกอ (Sympodial) และเป็นไม้หลายปีที่มีต้นเป็นกอแน่นจำพวกไม่มีเนื้อไม้ (Perennial herb) มีรากแบบกึ่งอากาศ (Semi-terrestrial) อาศัยบนต้นไม้มีรากที่ช่วยในการยึดเกาะให้ติดแน่นกับต้นไม้ และยังสามารถลำเลียงอาหารมาเลี้ยงลำตันได้ (ธนุชา บุญจรัส, 2547) ดอกเป็นดอกช่อ ดอกสมบูรณ์เพศกลีบรวมมี 6 กลีบ พัฒนาไปเป็นกลีบเลี้ยง (Sepal) 3 กลีบ อาจแยกหรือเชื่อมติดกัน มักคล้ายกับกลีบดอก กลีบดอก (Petal) 3 กลีบ กลีบกลางเป็นปากที่เรียกว่าปาก หรือ ลิบ (lip or labellum) มีรูปร่างและสีต่างกัน แตกต่างจากกลีบข้าง (Lateral Sepal) 2 กลีบ มีเกสรเพศผู้ (Stamen) และเกสรเพศเมีย (Pisti) เชื่อมติดกันเป็นเส้าเกสร (column) อับเรณู (anther) เป็นกลุ่ม มี 2 หรือ 4 กลุ่ม รังไข่ (Ovan) ใต้วงกลีบ ฝัก (Pod) แห้งแตกแบบแคปซูล มี 3 หรือ 6 แนวตะเข็บ เมล็ดคล้ายฝุ่นผงขนาดเล็ก จำนวนมาก กล้วยไม้มีการกระจายพันธุ์ทั่วโลกประมาณ 899 สกุล ประมาณ 27,000 ชนิด (ณัฐพล, 2559)

2.2 พฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ช้างแดง

กล้วยไม้ช้างแดงเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลำต้นอวบตั้งตรงหรือเอนเอียงเล็กน้อย ใบรูปขอบขนานออกเรียงสลับระนาบเดียวกัน แผ่นใบหนาและเหนี่ยวมีลายเป็นเส้นสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้มตามความยาวของใบ ขนาดใบกว้าง 5 - 7 เซนติเมตร ยาว 25 - 40 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อรูปทรงกระบอก ช่อดอกค่อนข้างหนาแน่น โค้งลง ดอกมีแดงเข้มทั้งดอก มีกลิ่นหอมมากเวลาสาย ช่วงออกดอก ประมาณเดือนธันวาคม - มีนาคม หรือในช่วงฤดูหนาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 ลักษณะของกล้วยไม้ช้างแดง
(ที่มา: https://www.bloggang.com/m/viewdiary.php?id=honeyorchid&month=08-2007&date=15&group=9&gblog=17)

2.2.1 พฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ช้างแดง

กล้วยไม้ช้างแดงเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยชนิดเดียวกับช้างกระแต่มีช่อดอกสีแดงเข้ม ลำต้นสูง 30 เซนติเมตร มีรากอากาศขนาดใหญ่ ใบเดี่ยวเรียงสลับซ้อนกัน รูปขอบขนานกว้าง 4 - 6 เซนติเมตร ยาว 30-40 เซนติเมตร มีช่อดอกออกทุกซอกก้านใบ ช่อดอกยาว 25 - 35 เซนติเมตร มีดอกย่อยจำนวนมาก มีกลีบดอก 6 กลีบ เมื่อบานมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 3 เซนติเมตร ผลเป็นฝัก มีเมล็ดขนาดเล็ก ออกดอกเป็นช่อดอกยาว 25 - 35 เซนติเมตร มีดอกย่อยจำนวนมาก ดอกสีแดง มีกลีบดอก 6 กลีบ เมื่อบานมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 - 3 เซนติเมตร ดอกช้างแดง จะออกดอกในช่วงเดือนธันวาคม-มีนาคม ดอกทยอยบานทั้งซ่อส่งกลิ่นหอมแรงตลอดทั้งวัน แต่ละต้นอาจจะแทงช่อดอกพร้อมกันหลายช่อ และดอกช้างแดงจะบานอยู่ได้นานหลายวัน

2.2.2 ระบบราก (Root)

รากกล้วยไม้ในกลุ่มกล้วยไม้ตระกูลข้างนั้นจัดเป็นประเภทรากอากาศขนาดใหญ่ โดยปกติหน้าที่หลักของรากกล้วยไม้ คือ ยึดจับติดกับวัสดุที่อาศัยอยู่ ไม่ว่าจะเป็นเปลือกลำตันของต้นไม้ตามธรรมชาติและในขณะเดียวกันก็ทำหน้าที่ซึมซับน้ำความชื้นและแร่ธาตุจากอากาศ ส่วนประกอบรากกล้วยไม้ช้างนั้นหากสังเกตุตามองค์ประกอบที่มองเห็นด้วยตาเปล่าจะมีแกนรากซึ่งอยู่ตรงกลางราก และห่อหุ้มด้วยส่วนที่เป็นเนื่อเยื่ออ่อนคล้ายฟองน้ำห่อหุ้มไว้อีกที (นุชณัฐ, 2553 ; สลิล,2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ลำต้น (Stem)

กล้วยไม้มีลำต้นแท้จริง มีข้อ ปล้อง เหมือนพืชทั่ว ๆ ไป ที่ข้อมีตา ลำต้นแท้จะเจริญไปตามวัสดุปลูกและมีลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย เจริญขึ้นตรงรากกับลำต้น ทำหน้าที่สะสมอาหาร ลำลูกกล้วยติดกับเหง้าจะมีตาที่สมบูรณ์ 2 ตา เมื่อลำลูกกล้วยเจริญจนสุด ลำต้นที่โคนตาหนึ่งจะแตกออกมาเป็นลำใหม่ ส่วนตาอีกข้างหนึ่งพักตัว ลำที่เกิดก่อนซึ่งเป็นลำที่มีอายุมาก เรียกว่า ลำหลัง ส่วนลำที่แตกใหม่มีอายุน้อยกว่าเรียกว่าลำหน้า สำหรับตาที่อยู่ข้อบนของลำที่เจริญเต็มที่ก็จะเปลี่ยนเป็นตาดอก (นันทิยา, 2555)

2.2.4 ใบ (Leaf)

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบของกล้วยไม้มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามชนิดของกลัวยไม้ นับตั้งแต่รูปร่าง สี ขนาด และความหนา (นันทิยา, 2555) สามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามลักษณะของใบ เช่น ใบกลม (Terete) ใบแบบนี้มีลักษณะเป็นทรงกระบอก มองดู คล้ายแท่งดินสอ ใบร่อง (Semi-terete) และใบแบน (Strap-lea) ใบมีร่องตื้นอยู่ตรงกลางใบ และ ส่วนของขอบใบแผ่ออกกว้าง บางชนิดโค้งห้อยลงเล็กน้อย (สลิล, 2549)

2.2.5 ช่อดอกและดอก (Inflorescence and flower)

ช่อดอกเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยชูดอกขึ้นให้เด่นเพื่อล่อแมลงให้มาผสมเกสร บางชนิดมีก้านช่อสั้นมาก บางชนิดมีก้านช่อยาว บางชนิดมีช่อดอกตั้งแข็ง (Erect) บางช่อดอกมีดอกเดียว ตำแหน่งที่ช่อดอกแทงออกที่ด้านข้างของหัวหรือลำต้น และจากซอกใบ กล้วยไม้มีดอกที่สมมาตรทางด้านข้าง (Lateral Symmetry) คือลักษณะเหมือนกันทั้งด้านขวาและด้านซ้าย ดอกเกิดตามข้อใกล้ยอด เป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อสั้นแบบกะจุก ดอกกล้วยไม้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือ เกสรตัวผู้เกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน กลีบดอกกล้วยไม้มี 6 กลีบ แบ่งออกเป็น 2 ชั้น ชั้นนอกคือกลีบ เลี้ยง (Sepal) มี 3 กลีบ จะเห็นได้ชัดเมื่อคว่ำดอก แยกเป็นกลีบเลี้ยงบน (Dorsal Sepal) 1 กลีบ และกลีบเลี้ยงด้านล่าง (Lateral Sepal) 2 กลีบ สำหรับชั้นในคือกลีบดอก (Petal) มี 3 กลีบ ประกอบด้วยกลีบดอกด้านข้าง (Lateral Petal) 2 กลีบอยู่ข้างบน กลีบคู่นี้จะมีขนาด รูปทรง สีสัน เหมือนกัน และอีก 1 กลีบอยู่ข้างล่างและมีลักษณะแตกต่างไปอย่างชัดเจน กลีบล่างนี้มีชื่อเรียกเฉพาะว่า ปาก (นันทิยา, 2555; อบฉันท์, 2543)

2.2.6 ฝักและเมล็ด (Pod and Seed)

ฝักหรือผล (Pod) ของกล้วยไม้มีหลายลักษณะ เช่น รูปรี รูปกลม เมื่ออ่อนอยู่จะเป็นสีเขียวแล้วค่อยเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล เมื่อแก่เต็มที่แล้วจะแตกตามแนวยาว 3 แนว ภายในมีเมล็ดที่มีขนาดเล็กมาก ลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองจำนวนมาก มีน้ำหนัก ประมาณ 0.3-14.0 ไมโครกรัม ซึ่งในหนึ่งฝักอาจมีเมล็ดตั้งแต่ 1,300,000 - 4,000,000 เมล็ด เป็นเมล็ด ที่ภายในไม่มีอาหารสะสม ในธรรมชาติเมล็ดจำนวนมากมีโอกาสงอกเจริญเป็นต้นใหม่ได้ไม่มากนัก เมล็ดที่งอกและเจริญเติบโตได้นั้นต้องปลิวไปตกในที่ที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม และมีราพวก mycorrhiza อยู่ด้วย

เอกสารนี้ [illegible] ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ราพวกนี้จะมีเส้นใยเจริญเข้าไปในเมล็ด ทั้งราและเมล็ดหรือต้นอ่อนของกล้วยไม้จะอยู่ด้วยกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (อบฉันท์, 2551) ดังนั้นจึงอาศัยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการเพาะเมล็ด

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

2.3.1 ความหมายของการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ คือ การนำเอาชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้ เช่น เมล็ด หน่ออ่อน ช่อดอกอ่อน ใบและราก เป็นต้น โดยนำเอาชิ้นส่วนดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อและนำไปชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ สิ่งสำคัญต้องทำในสภาพปลอดเชื้อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นิยมใช้เพื่อการศึกษาวิจัยในด้านอุตสาหกรรม การผลิตเชิงพาณิชย์ ส่วนมากจะเป็นกล้วยไม้ตัดดอก (Cut Lower) และกล้วยไม้กระถาง (Pot Plant) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่วยเพิ่มจำนวนต้นในปริมาณมากได้รวดเร็ว และได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนต้นพ่อแม่เดิม แต่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้อาจมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นได้โดยเปอร์เซ็นต์ของการกลายพันธุ์จะมากหรือน้อยขึ้นกับวิธีการในการชักนำให้เกิด PLBs ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้และลักษณะเด่นของพันธุ์กล้วยไม้ชนิดนั้นๆ (จิตราพรรณ, 2550)

2.3.2 ประวัติของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีประวัติความเป็นมายาวนานคู่กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเดียวของการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้รวดเร็วในปี ค.ศ. 1849 David Moore เป็นนักวิทยาศาสตร์ท่านแรกศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้โดยใช้เชื้อรา Mycorrhiza มาเลี้ยงร่วมกับกล้วยไม้แบบ Symbiosis พบว่ารากของกล้วยไม้เจริญเติบโตดีต่อมาในปี ค.ศ. 1989 Barnard ประสบความสำเร็จ ในการทดลองนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับ Mycorrhiza พบว่าเมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ในสภาพปลอดเชื้อ และ ในปี ค.ศ. 1946 Knudson ได้ศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารวิทยาศาสตร์ พบว่า เมล็ดเจริญเติบโตดีและพัฒนาเป็นต้นอ่อน ในปี ค.ศ. 1949 Vacin and Went ค้นพบสูตรอาหารเหมาะสมในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้พัฒนาไปเป็นต้นได้ และในปีเดียวกันนั้น Govino Rotor สามารถเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกของกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส (*Phalanopsis*) ให้เกิดเป็นต้นได้ และจุดเปลี่ยนที่สำคัญของการขยายพันธุ์กล้วยไม้คือ ในปี ค.ศ. 1960 Georges Morel ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium*) เพื่อการขยายพันธุ์ เพิ่มปริมาณให้ได้จำนวนมาก โดยปลอดจากเชื้อไวรัส เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ชักนำ ให้เกิด PLBs (จิตราพรรณ, 2550) หลังจากนั้นเป็นต้นมาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ได้รับการพัฒนาและมีความก้าวหน้าขึ้นไปมากมีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้เมล็ด และเนื้อเยื่อเจริญจากส่วนยอดและตาข้างเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์การผลิตกล้วยไม้ปลอดไวรัส ตลอดจนการ ดัดแปลงพันธุ์กล้วยไม้ให้มีความหลากหลายยังช่วยเพิ่มปริมาณและเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้ ด้วย (Laishram et al, 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การขยายพันธุ์กล้วยไม้

การขยายพันธุ์กล้วยไม้ สามารถแบ่งได้ 2 แบบคือ แบบที่มีการผสมเกสรและเพาะเมล็ด (Seed Propagation) คือ การนำเมล็ดที่เกิดจากการผสมเกสรมาเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ต้นใหม่ สามารถเพิ่มกล้วยไม้ได้เป็นจำนวนมาก แต่ต้นกล้วยไม้ที่ได้จะมีพันธุกรรมแตกต่างกันไปจากต้นพ่อแม่ อาจได้ต้นที่มีลักษณะเด่น หรือด้อยกว่าเดิม มีผลดีต่อการปรับปรุงพันธุ์ กับแบบที่ไม่มีการผสมเกสร (Vegetative Propagation) คือ การนำเอาชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งของต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้จากการผสมเกสรไปขยายพันธุ์ ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้ ลดระยะเวลา และเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว และได้ต้นใหม่ที่เหมือนเดิมทุกประการ (ระพี, 2508)

2.3.4 การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพที่ปลอดเชื้อ (*In vitro* seed propagation)

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ คือ การนำเอาฝักกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมเกสรของกล้วยไม้จนติดฝัก ซึ่งภายในฝักกล้วยไม้มีเมล็ดกล้วยไม้อยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อฝักกล้วยไม้อยู่บนต้นได้ช่วงระยะเวลาหนึ่งที่โตเต็มที่เมล็ดกล้วยไม้ที่อยู่ในฝักจะพัฒนาเจริญเติบโตเป็นเอ็มบิโอ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ที่เหมาะสมจะสามารถงอกเป็นโปรโตคอร์ม (Protocorm) ต่อมา จะพัฒนาเป็นต้นอ่อน (Seedling) สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยไม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมจากต้นพ่อและต้นแม่พันธุ์ของกล้วยไม้ฝัก การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ นิยมใช้สำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมที่ผสมพันธุ์ขึ้นมาใหม่ เพื่อการคงความหลากหลาย ทางพันธุกรรมของกลัวยไม้พันธุ์พื้นเมือง หรือพันธุ์ป่า เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากไม่มี เอนโดสเปอร์ม (Endosperm) ไม่มีอาหารสะสมไว้ใช้สำหรับเอ็มบริโอ เมล็ดจึงไม่สามารถงอกขึ้น ได้แม้แต่อยู่ในสภาพธรรมชาติ แต่มีกลัวยไม้บางชนิดที่สามารถงอกได้เพราะได้รับอาหารจากเชื้อ รากลุ่ม Mychorrhiza ในสกุล *Rhizoctinia* ดังนั้นการเพาะเลี้ยง เอ็มบริโอของกล้วยไม้ จึงมี ความสำคัญช่วยให้ผลิตต้นกล้าได้รวดเร็วและทำได้ง่ยกว่าการขยายพันธุ์จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของ พืชที่เรียกว่า การปั่นตา (จิตราพรรณ, 2550; สุนทรี, 2558)

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพที่ปลอดเชื้อเริ่มจากการฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดหรือฝักกล้วยไม้ นำเอาเมล็ดที่แก่จากฝักที่ยังไม่แตก (อายุประมาณ 2 ใน 3 ของอายุฝักแก่) มาทำความสะอาดตัดส่วนดอกแห้งที่ติดอยู่ออก ด้วยความระมัดระวังอย่าให้เกิดแผลเป็นช่องเปิดถึงภายในฝักกล้วยไม้ หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน นำมาเช็ดให้แห้ง ฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เพื่อทำความสะอาดก่อนนำเข้าตู้ปลอดเชื้อ เพื่อฟอกฆ่าเชื้อผิวฝัก การฆ่าเชื้อที่ผิวฝัก ทำได้วิธี คือ

1) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยความร้อน โดยการนำฝักกล้วยไม้จุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ ทำซ้ำ 3 ครั้ง

2) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ โดยนำฝัก กล้วยไม้มาแช่ในยาคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 15 - 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ว่ากรณีใดๆ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

เมื่อฟอกฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้เรียบร้อยแล้ว นำเอาฝักกล้วยไม้มาผ่าตามแนวยาวของฝัก เพื่อเขี่ยเมล็ดออกใส่อาหาร อาจใช้ปากคีบเมล็ดใส่ในอาหารโดยตรง

2.3.5 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

1. เพื่อขยายพันธุ์กล้วยไม้ ต้นกล้วยไม้ที่มีลักษณะเด่น เช่น มีดอกสวย บานทน เริ่มแรกได้มาจากธรรมชาติ อดีตที่ผ่านมากล้วยไม้ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการแยกกอหรือปักชำ ทำให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนไม่เพียงพอต่อระบบธุรกิจการค้ากล้วยไม้ แต่ในปัจจุบันนี้กล้วยไม้สามารถขยายพันธุ์โดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทำให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนมากและใช้เวลาไม่นาน ต้นพันธุ์ที่ได้ก็มีความสม่ำเสมอให้ผลผลิตสูงมีพันธุกรรมเหมือนต้นแม่พันธุ์เดิมทุกต้น ธุรกิจการค้ากล้วยไม้โลกจึงเติบโตขยายตัวอย่างรวดเร็ว

2. เพื่อผลิตกล้วยไม้ปลอดไวรัส เชื้อไวรัสทำให้กล้วยไม้แสดงอาการผิดปกติ เช่น ใบด่าง ดอกด่าง จำนวนดอกลดลง มาตรฐานการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ต่ำลง ไม่มีประเทศไหนต้องการกล้วยไม้ติดไวรัส ไวรัสจึงเป็นปัญหาอุปสรรคสำคัญต่อระบบการค้ากล้วยไม้โลก มีไวรัสสำคัญที่ต้องควบคุมป้องกันไม่ให้ติดไปกับกล้วยไม้ อย่างน้อย 3 ชนิด คือ เชื้อไวรัส Cymbidium mosaic virus เชื้อไวรัส Odontoglossum ringspot virus และ เชื้อไวรัส Poty virus

2.4 ปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

2.4.1 ชนิดของเมล็ดกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพันธุ์ไม้ที่ฝักมีขนาด ลักษณะและรูปร่างต่างกัน อายุฝักแก่ก็ไม่เท่ากันและเมล็ดกล้วยไม้ มีน้ำหนักน้อยเนื่องจากไม่มีอาหารสะสม (Endosperm) ส่วนเอ็มบริโอ (Embryo) ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (Parenchyma cells) ขนาดเล็ก จำนวนน้อย ไม่มีรากแรกเกิด (Radicle) และใบเลี้ยง (Cotyledon) และอาหารสะสมส่วนใหญ่เป็นไขมัน (Lipid) (Hadley, 1982) เมล็ดที่มีความแข็งแรงมีพันธุกรรมที่สามารถทำให้เจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมนั้น ดังนั้นการที่มีเมล็ดจำนวนมากจะช่วยเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม เพิ่มโอกาสในการอยู่รอด และการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม (Adaptation) นำไปสู่วิวัฒนาการในที่สุด แสดงถึงความสำเร็จของกล้วยไม้ในการปรับตัวและวิวัฒนาการจากการใช้ประโยชน์จากเรณูสูงสุดและผลิตเมล็ดมากที่สุด (Behar, 1995; ครรชิต, 2547)

2.4.2 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง แต่สูตรที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ สูตร MS และ สูตร VW ใช้เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ได้ทุกชิ้นส่วน นอกจากนี้อาหารเพาะเลี้ยงกลัวยไม้ได้มีการพัฒนาดัดแปลงเพื่อความสะดวกรวดเร็วในการเตรียม โดยใช้ สารอินทรีย์ต่าง ๆร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณน้อย การดัดแปลงสูตรอาหารให้เหมาะสมต่อระยะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้และการเติมสารต่าง ๆ ที่กล้วยไม้ต้องการในอาหารสามารถทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล้วยไม้พัฒนาเติบโตดีขึ้น อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของธาตุอาหารก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ ถ้าธาตุอาหารความเข้มข้นต่ำจะทำให้เมล็ดของกล้วยไม้บางชนิดงอกได้ดี แต่บางชนิดไม่งอก เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของธาตุอาหาร จะยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ (Pierik, 1988)

2.4.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยทั่วไปมักเรียกว่าฮอร์โมน ซึ่งบทบาทหน้าที่ของฮอร์โมนจะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชทุกขั้นตอนตั้งแต่การงอก การพัฒนาของพืช การออกดอกออกผล จนกระทั่งต้นพืชตายฮอร์โมนพืชเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสามารถสร้างออกมาในปริมาณได้น้อยมาก โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจะช่วยสร้างอวัยวะส่วนหนึ่งที่มีผลโดยตรงต่ออวัยวะเนื้อเยื่อพืชนั้นๆ ปัจจุบันสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในด้านการยับยั้งหรือส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจะเปลี่ยนระดับความสมดุลของฮอร์โมนภายในทำให้ต้นพืชแสดงลักษณะต่าง ๆ ออกมาและสามารถแสดงผลตามความต้องการ แต่ถ้าใช้ผิดประเภท อัตราและระยะเวลามักเกิดผลเสียมากกว่าผลดีจำเป็นต้องเรียนรู้และทำความเข้าใจหน้าที่ของสารและการใช้สารอย่างถูกต้องเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช (ทวีศักดิ์, 2559)

2.4.4 การแบ่งกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต

สามารถแบ่งกลุ่มควบคุมการเจริญเติบโตได้ ดังนี้

2.4.4.1 ออกซิน (auxin)

ออกซิน (auxin) ในธรรมชาติฮอร์โมนกลุ่มนี้ปกติพืชสร้างได้มากที่ปลายยอด ที่กำลังเติบโตและบริเวณเนื้อเยื่อเจริญอื่นๆ มีบทบาทการยืดของลำต้นและปล้อง การโค้งเข้าหาสิ่งเร้า (Tropism) การยับยั้งการเจริญของตาข้าง (Apical dominance) การหลุดร่วงของใบ ดอก ผล และการเกิด ราก เป็นต้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชออกซินส่งเสริมเนื้อเยื่อให้เกิดแคลลัส กระตุ้นการแบ่งเซลล์และส่งเสริมการเกิดรากกแต่ยับยั้งการเกิดยอด ออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีดังนี้ IAA (Indole-3 acetic acid) IBA (Indole-3 butyric acid) NAA (α-Naphthaleneacetic acid) NOA (Naphthoxy acetic acid) p-CPA (Para-chlorophenoxy acetic acid) และ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)

ออกซินเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ IAA IBA และ NAA เพื่อกระตุ้นให้เกิดรากและใช้ร่วมกับไซโตไคนินเพื่อการเจริญของต้นส่วน 2,4-D และ 2,4,5-T (Trichlorophenoxy acetic acid) มีผลกระตุ้นต่อการเจริญของแคลลัสได้ดี จะละลายออกซิน ด้วยเอทานอล (ethanol) หรือโซเดียมไฮดรอกไซค์ (NaOH) ที่เจือจางในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีการใช้ IAA และ NAA ในความเข้มข้นที่ต่ำ การใช้ออกซินความเข้มข้นสูงมักจะก่อให้เกิดความเป็นพิษ เช่น ใบร่วง และต้นพืชหยุดชะงักการเจริญเติบโตจนอาจตายได้ ซึ่งความเข้มข้นที่ เหมาะสมนี้ขึ้นอยู่กับ

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของพืช ส่วนการใช้ 2,4-D ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการชักนำให้เกิด เอ็มบริโอ (Embryogenesis) สามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราห์แสง และช่วยให้เซลล์ที่กลายพันธุ์ (Mutated cells) เพิ่มปริมาณได้รวดเร็วการใช้ 2,4-D จะต้องระวังกว่าการใช้ออกซินชนิดอื่นเพราะมีฤทธิ์รุนแรงและสลายตัวยากกว่าออกซินชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (บุญยืน, 2544)

2.4.4.2. ไซโตไคนิน (Cytokinin)

ไซโตไคนินเป็นสารประเภทที่ถูกสร้างขึ้นจากบริเวรปลายรากและใบอ่อน มีผลกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโต ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดขณะที่ยับยั้งการเกิดราก เร่งให้ชิ้นส่วนของพืชเกิดหน่อเป็นจำนวนมากและยังช่วยการเจริญเติบโตของใบ กระตุ้นให้เกิดแคลลัสเมื่อใช้ร่วมกันกับออกซินในอัตราส่วนที่เหมาะสม การใช้ออกซินกับไซโตไคนินมีบทบาทส่งผลให้การเจริญติบโตของเนื้อเยื่อดีกว่าการใช้ออกซินหรือไซโตไคนินอย่างใดอย่างหนึ่ง ส่วนใหญ่นิยมใช้ไซโตไคนินดังต่อไปนี้ BA (6-Benzyladenine) และ kinetin (6-Furfurylaminopurine)

2.4.5 สารที่ช่วยให้ความคงตัว

โดยทั่วไปมักใช้วุ้น (Agar) ซึ่งเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ที่มีมวลโมเลกุลสูง ใช้สำหรับการเตรียมอาหารกึ่งแข็ง ความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไป คือ 0.6 - 1.0 เปอร์เซ็นต์ หรือ 6 - 10 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร การใช้วุ้นในปริมาณที่ต่ำ (0.5 เปอร์เซ็นต์) จะทำให้อาหารไม่แข็งตัวและไหลไปมาได้ โดยเฉพาะเมื่อมี pH ต่ำ จึงไม่สามารถพยุงเนื้อเยื่อพืชไว้ได้ แต่ถ้าใช้วุ้นในปริมาณที่สูง (1.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป) จะทำให้อาหารแข็งมากจนไม่สามารถให้น้ำเพียงพอสำหรับ การเจริญเติบโตของพืชและยังทำให้พืชดูดอหารไปใช้ได้ยาก ด้วยลักษณะเป็นวุ้นที่คล้ายกับเจล จึงมีข้อดี คือ ทำให้เนื้อเยื่อพืชดูดซึมสารอาหารได้ดีกว่าและได้ใช้ในปริมาณที่น้อยกว่า

2.4.6 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อการงอกของเมล็ดของกล้วยไม้ การเกิดยอด และการเกิดรากของกล้วยไม้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกของกล้วยไม้ส่วนใหญ่ประมาณ 20 - 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของกล้วยไม้ ควรได้รับขณะปลูกต้องสม่ำเสมอ ไม่ควรเปลี่ยนแปลงเกิน 2 องศาเซลเซียส (Arditti and Ernst, 1993)

2.4.7 การปรับสภาพก่อนนำออกปลูก

การปรับสภาพต้นกล้าก่อนนำออกปลูก โดยนำขวดกล้วยไม้ที่เป็นต้นกล้าสมบูรณ์ มีใบ 3 – 4 ใบ ราก 3 ราก เป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ นำออกมาจากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คลายฝาขวดและย้ายไปอาหารใหม่ที่มีวุ้นมากขึ้นเพื่อลดความชื้น และนำออกมาไว้นอกห้องอุณหภูมิปกติเพื่อเพิ่มอุณภูมิและแสง เป็นเวลา 1 – 2 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำต้นกล้าไปล้างวุ้นออกให้หมด แล้ววางใส่ตะแกรงก่อนจุ่มลงในน้ำยากันราเพื่อนำไปปลูกในวัสดุปลูกต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.8 วัสดุปลูกที่ใช้ในการปลูกกล้วยไม้

- พีทมอส เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุปลูกอื่นๆ พีทมอสนั้นมีความสะอาดมากกว่าวัสดุปลูกอื่นอยู่มาก ใช้งานง่ายสะดวกสบาย คุณสมบัติที่ดีของพีทมอส คือ ปลอดเชื้อไม่มีแบคทีเรียใดๆ เชื้อรา สารเคมีอันตราย ทำให้วัสดุปลูกนี้เหมาะสำหรับต้นกล้า และยังดูดซับน้ำได้ดี แม้ว่าพีทมอสจะดูดซับน้ำได้ดี แต่ก็ไม่ร่วนซุยเหมือนดิน ปัญหาของการเกาะตัวแน่น คือทำให้ยากต่อการไหลผ่านของน้ำและอากาศ การนำพีทมอสมาใช้เป็นส่วนผสมจึงช่วยแก้ปัญหาการเกาะตัวแน่นได้ ทำให้ได้ส่วนผสมที่เหมาะกับการเจริญเติบโต ช่วยระบายน้ำและอากาศได้ดีขึ้น

- เพอร์ไลท์มีคุณสมบัติเป็นตัวดูดซึมที่ดี และมีความพรุนในตัวสูง ทำให้สภาพดินเป็นดินร่วนและเพอร์ไลท์ยังสามารถช่วยรักษาความสมดุลย์ระหว่างปริมาณของน้ำและอากาศในดินได้ด้วย จากผลการทดลองของบริษัทผลิตเพอร์ไลท์ของประเทศญี่ปุ่น พบว่าเมื่อผสมเพอร์ไลท์ลงไปในดิน จะมีคุณสมบัติดังนี้

– ความพรุนของเพอร์ไลท์มีมากกว่าดินเหนียวทั่วไปกว่า 5 เท่า ทำให้มีปริมาณของก๊าซออกซิเจนในดินเหนียวพอต่อความต้องการของพืช

– สามารถกักเก็บความชื้นไว้ได้ดีกว่าดินทรายถึง 4 เท่า ซึ่งจะช่วยป้องกันไม่ให้ดินแห้งจนเกินไป

– ทำให้รักษาความสมดุลระหว่างปริมาณน้ำและอากาศในดิน และทำให้ดินรักษาสภาพไม่ชื้นหรือแห้งจนเกินไป

– ทำให้ดินมีความยุ่ย ไม่จับตัวกันแข็ง

– คุณสมบัติความเป็นฉนวน จะช่วยรักษาอุณหภูมิของดินไม่ให้เปลี่ยนแปลงมาก

– ช่วยรากพืชในการดูดซึมอาหาร

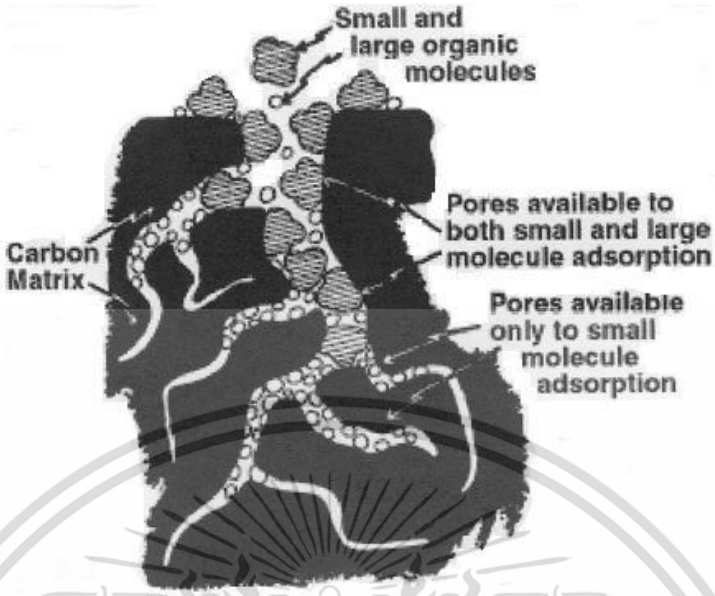
– เนื่องจากมีสภาพเป็นกลาง มีความคงทนต่อปฏิกิริยาทางเคมี สามารถผสมเพอร์ไลท์กับปุ๋ยเคมีทุกชนิดได้

– เพอร์ไลท์จัดเป็นพวกสารอนินทรีย์ เมื่อผสมลงในดินจะมีความคงทนและไม่ผุสลายจากจุลินทรีย์

2.5 ถ่านกัมมันต์

ถ่านกัมมันต์ มีชื่อเรียกภาษาอังกฤษ คือ Activated carbon หรือ Activated charcoal คือ ถ่านที่ต้องนำไปผ่านกระบวนการกระตุ้นด้วยสารเคมีหรือวิธีทางกายภาพก่อน เพื่อทำให้โครงสร้างทางกายภาพของถ่านเกิดรูพรุนหรือรอยแตกขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจำนวนมหาศาลโดยขนาดรูพรุนของถ่านกัมมันต์ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการดูดซับ เมื่อมีรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมากทำให้การดูดซับของโมเลกุลขนาดเล็กเพิ่มมากขึ้น ดังรูปที่ 2.2 เป็นแบบจำลองโครงสร้างการดูดซับของถ่านกัมมันต์ในการดูดซับโมเลกุลขนาดต่าง ๆ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แบบจำลองโครงสร้างการดูดซับของถ่านกัมมันต์

(ที่มา: http://ib3.dss.go.th/fulltext/dss knowledge/chem-2-62-charcoal.pdl)

2.5.1 ประโยชน์ของถ่านกัมมันต์

ผงถ่านกัมมันต์ (Powdered activated carbon) นิยมใช้ในอุตสาหกรรม ยารักษาโรค สารเคมี ยางรถยนต์ โครงสร้างอาคาร บำบัดน้ำเสีย และการกรองน้ำ เมล็ดถ่านกัมมันต์ (Granular activated carbon) ใช้ในการกรองอากาศเสีย อุตสาหกรรมสารเคมีและเวชภัณฑ์ยาน ยนต์ใช้ในการ ถ่ายเทพลังงานความร้อน และการกลั่นแยกก๊าซธรรมชาติ และถ่านกัมมันต์แบบอัดแท่ง (Extruded activated carbon) ใช้ในการกำจัดสารเคมีที่มีพิษ ตัวเร่งปฏิกิริยาต่าง ๆ

2.5.2 การผลิตถ่านกัมมันต์

กระบวนการผลิตถ่านกัมมันต์สามารถใช้วัสดุใดๆ ก็ได้ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น เปลือกไม้ ไม้ไผ่ ถ่านหิน กะลามะพร้าว ฯลฯ ซึ่งกระบวนการผลิตมี 2 วิธีคือ

2.5.2.1 การกระตุ้นทางกายภาพ (physical reactivation)

การกระตุ้นทางกายภาพเป็นการนำถ่านที่ผ่านการเผาไหม้ในสภาพบอากาศหรือจำกัดอากาศทำให้มีออกซิเจนน้อย มากระตุ้นโดยใช้ก๊าซคาร์บอน ($C0_2$) หรือไอน้ำที่มีอุณหภูมิกระตุ้น (activation temperature) ประมาณ 600 - 750 องศาเซลเซียส ซึ่งจำเป็นต้องใช้พลังงานสูงมากเป็นการเพิ่มคำใช้จ่ายในทางอ้อม ทั้งยังไม่สามารถควบคุมสมบัติของถ่านกัมมันต์ให้คงที่ได้รวมถึงพื้นที่ผิวและรูพรุนเกิดในปริมาณน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.2 การกระตุ้นด้วยสารเคมี (chemical activation)

การกระตุ้นด้วยสารเคมีเป็นการเปลี่ยนวัตถุติบโดยใช้สารเคมีบางชนิด เช่น ซิงค์คอลไรด์ (zinc chloride) กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ ประมาณ 450 - 900 องศาเซลเซียส ในอุตสาหกรรม นิยมผลิตถ่านด้วยวิธีนี้มากกว่าวิธีกระตุ้นทางกายภาพ เนื่องจากใช้ความร้อนและเวลาในการผลิตน้อยกว่า แต่บางครั้งถ่านกัมมันต์ที่ได้จากการผลิต วิธีนี้อาจมีปัญหาเรื่องสารตกค้างได้ เช่น การพบสังกะสีตกค้างในผลิตภัณฑ์ สังกะสีเป็นโลหะหนักเมื่อเข้าสู่ร่างกายมากขึ้น เกิดการสะสมที่บริเวณตับและไตทำให้โครโมโซมผิดปกติเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็ง

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วราภรณ์ (2551) ได้ทำการศึกษางานวิจัยนี้ โดยที่ประเทศไทยผลิตและส่งออกกล้วยไม้สกุลหวายเป็นอันดับ 1 ของโลก กล้วยไม้สกุลหวายเป็นที่นิยมของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ ไม่ว่าจะเป็นดอกกล้วยไม้สด หรือต้นกล้วยไม้ ปัจจุบันมีการนำต้นกล้วยไม้สกุลหวายพร้อมดอกมาใช้ประโยชน์หลากหลายมากขึ้น เช่น ใช้จัดสวน ใช้ประดับภายในอาคาร เป็นต้น ลักษณะต้นกล้วยไม้สกุลหวายที่ผู้บริโภคต้องการ คือ รูปทรงต้นแข็งแรง ไม่ล้มง่าย ไม่สูงเกินไป และมีปล้องสั้น จากการทดลองใช้สาร paclobutrazol ความเข้มข้น 0 200 300 400 500 และ 600 ppm รดต้นกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ Sonia 'Earsakul' ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อายุหลังจากออกขวด 12 เดือน และอยู่ในระยะมีหน่อใหม่ กระถางละ 250 มิลลิลิตร รดสารเพียงครั้งเดียว เพื่อลดความสูงของลำกล้วยไม้ เมื่อหน่อใหม่เจริญสุดลำ พบว่ารูปทรงของต้นเปลี่ยนแปลงไป โดยความสูงลำกล้วยไม้ของหน่อใหม่ลดลง เส้นรอบวงลำกล้วยไม้ของหน่อใหม่เพิ่มขึ้น ความยาวใบของหน่อใหม่ลดลง ความหนาใบของลำที่ 5 ลดลง ความยาวช่อของหน่อใหม่ลดลง และความหนากลีบดอกของหน่อใหม่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสาร paclobutrazol ที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้นของสาร paclobutrazol ไม่มีผลต่อขนาดดอก จำนวนดอกต่อช่อ จำนวนช่อดอก ระยะเวลาสุดลำ ความกว้างทรงพุ่ม และความเขียวใบ โดยการใช้สาร paclobutrazol ที่ความเข้มข้น 200 และ 300 ppm ทำให้ได้รูปทรงต้นที่สวยงาม ตรงกับความต้องการของผู้บริโภค

ธวัชชัย และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องสายล่องแล่งในหลอดทดลองเพื่อชักนำให้เกิดโพรโทคอร์มบนอาหารสังเคราะห์ ½Murashige and Skoog (½MS) โดยการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าการเพิ่มจำนวนโพรโทคอร์มในอาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดโพรโทคอร์มได้ดีที่สุดคือ 0.43 กรัม และเมื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ต่อการชักนำให้โพรโทคอร์มกล้วยไม้เอื้องสายล่องแล่งเจริญ เป็นต้น โดยเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BA 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดคือ 180 ยอด อาหารที่ชักนำให้ต้นสูงมากที่สุดคืออาหาร ½MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นสูงมากที่สุดเท่ากับ 0.93 เซนติเมตร ส่วนอาหารที่ชักนำให้เกิดรากมากที่สุดคืออาหาร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุดคือ 8.44 ราก และอาหารที่ชักนำให้เกิดรากยาวที่สุดคืออาหาร ½MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากคือ 0.60 เซนติเมตร ในระยะ 4 เดือน จึงนำอาหารสูตรนี้ไปประยุกต์ชักนำให้เกิดโพรโทคอร์มและเจริญเป็นต้น เพื่อใช้ในการอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

นพวรรณ และคณะ (2561) ได้ทำการสำรวจกล้วยไม้เอื้องคำปอน (*Dendrobium dixanthun* Lchb.f.) เอื้องคำกิ่ว *(Dendroium signatum* Rchb. f.) และเอื้องเก๊ากิ่วแม่สะเรียง (*Dendroium tortile* Lindl.) พบกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิดในเขตป่าทางภาคเหนือของประเทศไทย กล้วยไม้เหล่านี้เป็นกล้วยไม้ที่ค่อนข้างหายากและการอนุรักษ์โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถเพิ่มจำนวนกล้วยไม้จำนวนมากคืนสู่ป่า การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ลงบนสูตรอาหารดัดแปลง MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 เดือน ในห้องปลอดเชื้ออุณหภูมิ 25±2 °C ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่ากล้วยไม้เอื้องคำปอนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารทีมีการเติม NAA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด โดยมีจานวนต้น 3.40 ต้น จำนวนใบ 7.46 ใบจำนวนราก 2.46 ราก ความสูง 1.06 เซนติเมตร และความยาวราก 0.34 เซนติเมตร กล้วยไม้เอื้องคากิ่วที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติม NAA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตเฉลียสูงสุด โดยมีจานวนต้น 4.60 ต้น จานวนใบ 16.80 ใบ จำนวนราก 3.13 ราก ความสูง 2.28 เซนติเมตรและความยาวราก 0.42 เซนติเมตร เอื้องเก๊ากิ่วแม่สะเรียงที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติม NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด โดยมีจานวนต้น 2.53 ต้น จานวนใบ 9.46 ใบ จานวนราก 3.00 ราก ความสูง 2.44 เซนติเมตรและความยาวราก 0.76 เซนติเมตร ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรได้รับการพัฒนาอย่าง เฉพาะเจาะจงกับกล้วยไม้แต่ละชนิด

โสภา และสมปอง (2562) ได้ทำการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกในหลอดทดลองของลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายซานทานา (*Dendrobium santana*) กับเหลืองจันทบูร (D. *friedericksianum*) โดยการนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ด บนอาหารสูตร Vacin and Went (VW) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเพาะเลี้ยงบนอาหารเติมไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การเติมไคโตซานเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยงส่งเสริมให้ต้นกล้ามีน้ำหนักสดมากที่สุด การศึกษาการออกดอกในหลอดทดลอง โดยนำต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารสูตร VW เติม BA หรือ paclobutrazol (PBZ) ความเข้มข้นต่าง ๆ หรือ thidiazuron (TDZ) ร่วมกับ PBZ หลังเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ...

เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การเติม BA ทุกความเข้มข้นไม่พบการสร้างดอก อย่างไรก็ตาม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเพิ่มปริมาณยอด และต้นกล้ามีน้ำหนักสดมากที่สุด การเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร VW เติม PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.20 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 45 วัน สามารถชักนำดอกได้ 3.67 และ 3.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แม้ว่าจะมีการสร้างดอกได้แต่เมื่อวางเลี้ยงต่อไปดอกมีสีซีด และเหี่ยวโดยไม่มีการบาน

อัญจนา และคณะ (2549) ได้ทำการการศึกษาการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินหลวง พบว่า ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 3 เดือน เมล็ดสามารถงอกและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นย้ายต้นอ่อนไปเลี้ยงในอาหารสูตร VW และ KC ที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ และที่เติม BA ความเข้มข้น 0 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นอ่อน พบว่า ต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร VW และ KC ที่เติมกล้วยหอมร่วมกับมันฝรั่ง และที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

วาสนา และคณะ (2561) ได้ทำการศึกษาการขยายพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมและเทคนิคในการขยายพันธุ์และเป็นการเพิ่มปริมาณลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม ตั้งแต่ปี 2560 - 2561 ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร โดยนำชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด ได้แก่ Kinetin 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เปรียบเทียบการไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า ชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW เติม Kinetin 0.5 หรือ 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 5 - 7 เดือน สามารถจริญและพัฒนาเกิดยอดและรากได้ดี มียอด 1.00 ยอด 2.00 - 3.50 ใบ ความสูงยอด 4.70 - 11.0 เซนติเมตร มี 2.00 - 7.00 ราก ความยาวราก 6.50 - 9.50 เซนติเมตร แต่ชิ้นส่วนตาข้างมีการรอดชีวิตและการเจริญน้อย เนื่องจากในระหว่างการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเกิดสีน้ำตาลขึ้น ทำให้ชิ้นส่วนตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างของพืช

ต้นกล้วยไม้สายพันธุ์ช้างแดง ได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 วัสดุและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องแก้ว

3.2.1.1 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue Culture Bottle)

3.2.1.2 จานเพาะเลี้ยง (Petri Dish)

3.2.1.3 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.1.4 กระบอกตวง (Cylender)

3.2.2 อุปกรณ์อื่นๆ

3.2.2.1 เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)

3.2.2.2 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.2.2.3 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter)

3.2.2.4 ไมโครเวฟ (Microwave oven)

3.2.2.5 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.2.2.6 ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tips)

3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ถ่ายเนื้อเยื่อ

3.2.3.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.2.3.2 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Bunner)

3.2.3.3 มีดผ่าตัดเบอร์ 24 (Scalpel Blades No.24)

3.2.3.4 ตะแกรงวางอุปกรณ์ภายในตู้ปลอดเชื้อ (Rack)

3.2.3.5 กระบอกฉีดแอลกอฮอล์ (Foggy)

3.2.3.6 ปากคีบสแตนเลส (Forceps)

3.2.3.7 กรรไกรตัดเนื้อเยื่อพืช (Scissors)

3.2.3.8 แอลกอฮอล์ 70% และ 95% (Alcohol 70% and 95%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตร MS (Murashige and Skoog,1962)

3.3.2 น้ำกลั่น (Distilled Water)

3.3.3 น้ำตาลทราย (Sucrose)

3.3.4 ผงวุ้น (Agar)

3.3.5 ผงถ่านกัมมันต์ (Activated Charcoal)

3.3.6 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.5 และ1 N (Hydrochloric, HCl)

3.3.7 สารละลายกรดโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 และ 1 N (Sodium hydroxide, NaOH)

3.3.8 สารควบคุมการเจริญเติบโต

3.3.9.1 6-Benzylaminopurine (BA)

3.3.9.2 α-Naphthaleneacetic acid (NAA)

3.3.9.3 *Meta*-Topolin (*m*T)

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดใบ ยอด และราก จากชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดง

นำชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดงจากในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อความยาวประมาณ 2 – 3 เซนติเมตรมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ ได้แก่ 1) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) 2) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ *m*T หรือ BA และ 3) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T หรือ BA ร่วมกับ NAA โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตในแต่ละสูตรมีความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามตารางที่ 3.1 ทำการเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายใต้สภาวะที่มีแสง 16 ชั่วโมง และไม่มีแสง 8 ชั่งโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกผลจำนวนต้นที่รอดชีวิต จำนวนราก จำนวนใบ ความยาวราก (เซนติเมตร) ความสูงยอด (เซนติเมตร) ที่ 8 สัปดาห์ และ16 สัปดาห์ แล้วนำไปคำนวณหาร้อยละการรอดชีวิต จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น (ใบ) และความสูงยอดเฉลี่ย (เซนติเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การศึกษาผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดใบ ยอด และรากจากชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดง

ทำการตัดชิ้นส่วนข้อต้นกล้วยไม้ช้างแดงให้มีความยาวประมาณ 2 – 3 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ *m*T หรือ BA ที่เสริมด้วย NAA ความเข้มข้นเดียวกัน (0.5 1.0 1.5 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) และผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร ตามตารางที่ 3.1 ทำการเพาะเลี้ยง บันทึกผล และคำนวณหาค่าต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 3.4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต *m*T BA NAA และ ผงถ่านกัมมันต์ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ช้างแดง

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)				
Control	*m*T	BA	NAA	AC
0				
	0.5			
	1.0			
	1.5			
	2.0			
		0.5		
		1.0		
		1.5		
		2.0		
	0.5		0.5	
	1.0		1.0	
	1.5		1.5	
	2.0		2.0	
		0.5	0.5	
		1.0	1.0	
		1.5	1.5	
		2.0	2.0	
	0.5		0.5	2.1
	1.0		1.0	2.1
	1.5		1.5	2.1
	2.0		2.0	2.1
		0.5	0.5	2.1
		1.0	1.0	2.1
		1.5	1.5	2.1
		2.0	2.0	2.1

หมายเหตุ : ชิ้นส่วนพืชในการทดลองละ 10 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การคำนวณค่าทางสถิติ

นำผลการทดลองจากข้อ 3.4.1 และ 3.4.2 มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี ANOVA โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Social Science) เวอร์ชั่น 29 (IBM SPSS Station 29)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดใบ ยอด และรากจากชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดง

จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดงมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS แสดงผลดังตารางที่ 4.1 พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลที่ดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 50 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.20±0.45 ราก จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 5.80±0.84 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.17±0.29 เซนติเมตร (รูปที่ 4.2 (ข)) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 70 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.14±0.38 ราก จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 3.43±0.54 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.70±0.34 เซนติเมตร (รูปที่ 4.3 (ค)) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลที่ดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 70 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 0.71±0.49 ราก จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 3.43±0.53 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.78±0.40 เซนติเมตร (รูปที่ 4.4 (ข)) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลที่ดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 80 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 0.88±0.64 ราก ความยาวราก <2 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 6.50±0.53 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.94±0.39 เซนติเมตร (รูปที่ 4.5 (ค)) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)		ร้อยละการรอดชีวิตของพืช	จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น (ราก)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น (ใบ)	ความสูงยอดเฉลี่ย (ซม.)
control	0	60	0.83±0.76	-	4.00±0.89	3.57±0.43
mT	0.5	60	0.50±0.55	-	4.00±0.89	3.17±0.29
	1.0	50	1.20±0.45	-	5.80±0.84	3.08±0.24
	1.5	60	0.67±0.52	-	4.83±0.76	3.44±0.54
	2.0	60	1.00±0.63	+	6.00±0.89	3.40±0.59
control	0	60	0.83±0.76	-	3.50±0.55	2.99±0.27
BA	0.5	40	1.00±0.00	-	4.00±0.82	3.25±0.41
	1.0	80	0.62±0.52	-	3.38±0.74	2.77±0.32
	1.5	70	1.14±0.38	-	3.43±0.54	2.70±0.34
	2.0	60	0.50±0.55	+	3.33±0.52	2.70±0.37
control	0	60	0.83±0.76	-	3.50±0.55	3.22±0.33
mT:NAA	0.5	70	0.57±0.55	-	2.72±0.49	2.50±0.38
	1.0	70	0.71±0.49	-	3.43±0.53	2.78±0.40
	1.5	80	0.50±0.53	-	3.25±0.46	2.93±0.58
	2.0	60	0.67±0.52	++	3.33±0.52	2.50±0.79
control	0	60	0.50±0.55	-	4.50±0.55	2.90±0.28
BA:NAA	0.5	50	0.80±0.45	-	2.60±0.55	2.26±0.35
	1.0	70	0.57±0.53	-	3.29±0.49	2.28±0.44
	1.5	80	0.88±0.64	++	6.50±0.53	2.94±0.39
	2.0	60	0.67±0.52	+	4.00±0.89	2.63±0.32

หมายเหตุ ความยาวราก <1 ให้เป็น + , <2 ให้เป็น +++ , <3 ให้เป็น +++ ,<4 ให้เป็น ++++ (เซนติเมตร)

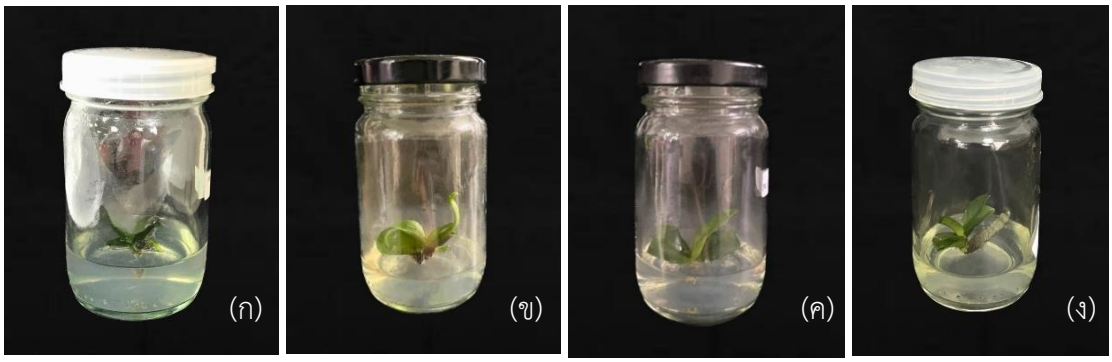
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.1 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

รูปที่ 4.2 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

รูปที่ 4.3 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

รูปที่ 4.5 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงผลดังตารางที่ 4.2 พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 60 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.50±0.55 ราก ความยาวราก <1 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 6.67±0.82 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.79±0.46 เซนติเมตร (รูปที่ 4.7 (ค)) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 70 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.71±0.49 ราก ความยาวราก <2 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 5.29±0.49 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.29±0.316 เซนติเมตร (รูปที่ 4.8 (ค)) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 60 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.00±0.64 ราก ความยาวราก <3 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 5.33±0.52 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.02±0.23 เซนติเมตร (รูปที่ 4.9 (ง)) อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 50 จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.20±0.45 ราก ความยาวราก <2 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 5.20±0.45 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.06±0.49 เซนติเมตร (รูปที่ 4.10 (ก)) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)		ร้อยละการรอดชีวิตของพืช	จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น (ราก)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น (ใบ)	ความสูงยอดเฉลี่ย (ซม.)
control	0	60	1.17±0.76	-	4.00±0.89	3.67±0.29
mT	0.5	60	0.83±0.40	-	4.83±0.76	3.27±0.33
	1.0	50	1.40±0.55	-	7.00±0.70	3.66±0.24
	1.5	60	1.50±0.55	+	6.67±0.82	3.79±0.46
	2.0	60	1.33±0.82	++	6.67±0.82	3.70±0.50
control	0	60	1.17±0.76	-	3.50±0.55	3.27±0.39
BA	0.5	40	1.50±0.58	-	5.50±0.58	3.60±0.32
	1.0	80	1.38±0.52	+++	5.63±0.52	3.20±0.44
	1.5	70	1.71±0.49	++	5.29±0.49	3.29±0.31
	2.0	60	1.33±0.52	+++	5.33±0.52	3.10±0.42
control	0	60	1.33±0.52	-	3.50±0.55	3.12±0.28
mT:NAA	0.5	70	1.00±0.58	+	4.29±0.49	2.95±0.53
	1.0	70	1.00±0.58	++	5.29±0.49	3.22±0.33
	1.5	80	0.75±0.89	+++	5.38±0.52	3.30±0.46
	2.0	60	1.00±0.64	+++	5.33±0.52	3.02±0.23
control	0	60	1.00±0.63	-	4.50±0.55	3.12±0.27
BA:NAA	0.5	50	1.20±0.45	++	5.20±0.45	3.06±0.49
	1.0	70	1.15±0.38	++	4.29±0.76	2.62±0.39
	1.5	80	1.13±0.36	++	7.00±0.92	3.65±0.45
	2.0	60	1.17±0.40	++	6.33±0.82	3.30±0.37

หมายเหตุ ความยาวราก <1 ให้เป็น + , <2 ให้เป็น +++ , <3 ให้เป็น +++ ,<4 ให้เป็น ++++ (เซนติเมตร)

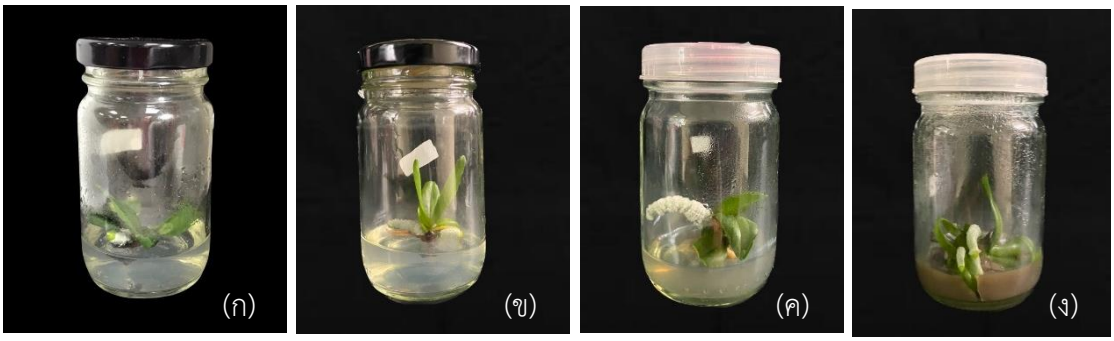
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.6 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

รูปที่ 4.7 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

รูปที่ 4.8 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

ที่ 4.10 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA เสริมด้วย NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดใบ ยอด และรากจากชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดง

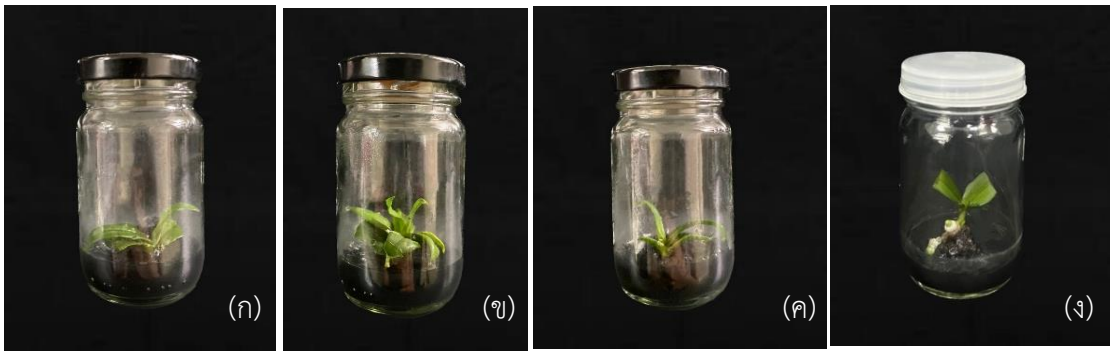
จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดงมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตและผงถ่านกัมมันต์ แสดงผลดังตารางที่ 4.3พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 70 มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 2.14±0.69 ราก จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 3.29±0.49 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.38±0.36 เซนติเมตร (รูปที่ 4.11 (ข)) และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 70 มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.86±0.89 มิลลิเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 3.72±0.49 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.26±0.40 เซนติเมตร (รูปที่ 4.12 (ข)) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 4.3 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ และผงถ่านกัมมันต์ ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)		ร้อยละการรอดชีวิตของพืช	จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น (ราก)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น (ใบ)	ความสูงยอดเฉลี่ย (ซม.)
control	0	60	0.83±0.76	-	3.50±0.55	2.96±0.37
mT:NAA:AC	0.5	70	1.89±0.89	-	3.43±0.53	2.51±0.54
	1.0	70	2.14±0.69	-	3.29±0.49	2.38±0.36
	1.5	80	1.75±0.89	-	3.38±0.52	3.18±0.62
	2.0	70	1.86±0.89	+	3.72±0.49	3.60±0.58
control	0	60	0.67±0.52	-	4.00±0.89	3.05±0.13
BA:NAA:AC	0.5	60	1.17±0.48	-	3.67±0.82	3.77±0.60
	1.0	70	1.86±0.89	-	3.72±0.49	3.26±0.40
	1.5	80	1.63±0.74	-	3.50±0.53	3.20±0.30
	2.0	70	1.86±0.89	+	3.29±0.49	3.00±0.41

หมายเหตุ ความยาวราก <1 ให้เป็น + , <2 ให้เป็น +++ , <3 ให้เป็น +++ ,<4 ให้เป็น ++++ (เซนติเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ *m*T และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

รูปที่ 4.12 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

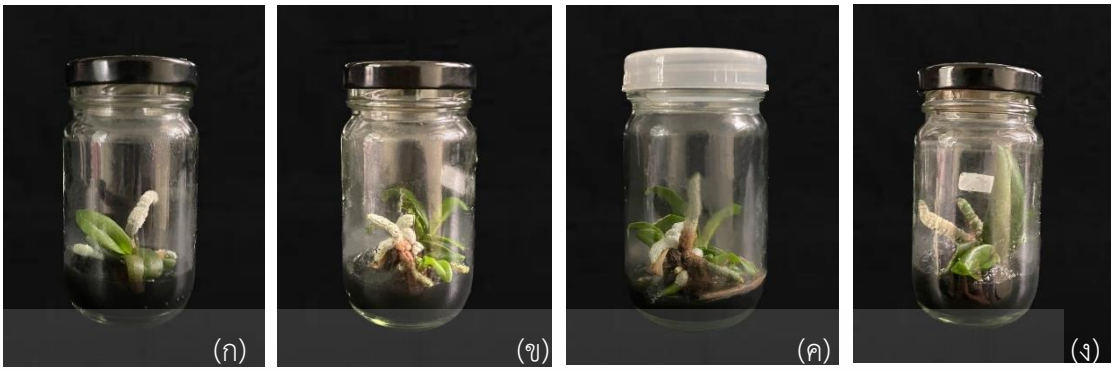
แสดงผลดังตารางที่ 4.4 พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ *m*T และ NAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 70 มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 3.57±0.79 ราก ความยาวราก <3 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 5.29±0.49 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.69±0.55 เซนติเมตร (รูปที่ 4.13 (ข)) และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ร่วมกับ BA และ NAA ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 70 มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 2.71±0.49 ราก ความยาวราก <3 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 5.86±0.89 ใบ และมีความสูงยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.55±0.62 เซนติเมตร (รูปที่ 4.14 (ง)) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

ตารางที่ 4.4 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของพืช จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ย และความสูงของยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ และผงถ่านกัมมันต์ ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)		ร้อยละการรอดชีวิตของพืช	จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น (ราก)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น (ใบ)	ความสูงยอดเฉลี่ย (ซม.)
control	0	60	1.00±0.63	-	3.67±0.82	3.03±0.19
mT:NAA:AC	0.5	70	2.00±0.82	+++	5.15±0.67	3.83±0.62
	1.0	70	3.57±0.79	+++	5.29±0.49	3.69±0.55
	1.5	80	2.25±0.89	++++	4.00±0.76	3.88±0.57
	2.0	70	2.00±0.82	++++	4.86±0.70	3.73±0.46
control	0	60	1.00±0.63	-	4.00±0.89	3.19±0.28
BA:NAA:AC	0.5	60	2.00±0.89	+++	4.83±0.98	4.10±0.54
	1.0	70	2.43±0.79	+++	5.86±0.89	3.67±0.29
	1.5	80	2.25±0.89	+++	5.75±0.88	3.95±0.56
	2.0	70	2.71±0.49	+++	5.86±0.89	3.55±0.62

หมายเหตุ ความยาวราก <1 ให้เป็น + , <2 ให้เป็น +++ , <3 ให้เป็น +++ ,<4 ให้เป็น ++++ (เซนติเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ *m*T และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

รูปที่ 4.14 ลักษณะของชิ้นส่วนข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม AC 2.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 (ก) 1.0 (ข) 1.5 (ค) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ในช่วงเวลา 16 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการนำชิ้นส่วนข้อของต้นกล้วยไม้ช้างแดงมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่าอาหารสูตรที่ไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ให้ผลจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นใกล้เคียงกันกับอาหารสูตรที่ไม่ใส่ผงกัมมันต์ โดยอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.71±0.49 ราก และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับ *m*T และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เสริมด้วยผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดรากได้มากกว่าสูตรอาหารอื่นๆ ซึ่งให้ผลจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 3.57±0.79 ราก ในสัปดาห์ที่ 16

จากผลการทดลองที่กล่าวมาจึงสรุปได้ว่าถ่านกัมมันต์มีผลต่อการชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดรากได้มากขึ้นในต้นกล้วยไม้ช้างแดง

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินชนิดอื่นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ช้างแดง

2. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ชนิดอื่นเพิ่มเติม เช่น อาหารสังเคราะห์สูตร Woody Plant Medium (WPM) ในการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ช้างแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ครรชิต ธรรมศิริ. (2547). เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพมหานคร.

จิตราพรรณ พิลึก. (2550). การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ เอกสารประกอบการฝึกอบรม ประชาชนหลักสูตรการเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ณ สวนกล้วยไม้

ทีมงานทรูปลูกปัญญา. (2564). **ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** (ออนไลน์). เข้าถึงเมื่อ 12 มิถุนายน 2566. https://www.trueplookpanya.com/learning/detail/917.

ทวีศักดิ์ แสงอุดม. (2559). **สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช.** พิมพ์ครั้งที่1.สถาบันวิจัยพืชสวน, กรุงเทพฯ :สำนักพิมพ์Post Tech.

นันทิยา วรรธนะภูติ. (2555). ดอกเอื้อง: กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร.

นุชรัฐ บาลลา. (2553). การเพิ่มปริมาณณโปรโตคอร์มล: ผลของโคลชิซีนที่มีต่อกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในสภาพที่ปลอดเชื้อ. (วิทยานิพนธ์). มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. (สาขาวิชาเทศโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ).

บุญยืน กิจวิจารณ์. (2544). เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขอนแก่น: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บริษัท คาร์โบกาญจน์ จำกัด. (2018). ถ่านกัมมันต์. (ออนไลน์). เข้าถึงเมื่อวันที่ 12 มิถุนายน 2566. เข้าถึงได้จาก ถ่านกัมมันต์ - CARBOKARN.

วราภร. (2551). อิทธิพลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ *Sonia Earsakul*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัชชัย และคณะ. (2556). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องสายล่องแล่ง (*Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fischer) ในสภาพปลอดเชื้อ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นพวรรณ และคณะ. (2561). ผลของ NAA และ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องคำปอน (*Dendrobium dixanthun* Lchb.f.) เอื้องคำกิ่ว (*Dendroium signatum* Rchb. f.) และเอื้องเก๊ากิ่วแม่สะเรียง (*Dendroium tortile Lindl*.) ในสภาพปลอดเชื้อ. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โสภา และสมปอง. (2562). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายซานทานากับเหลืองจันทบูร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร.

อัญจนา และคณะ. (2549). ผลของ benzyladenine (BA) และสารอินทรีย์บางชนิดต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในสภาพปลอดเชื้อ.กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วาสนา และคณะ. (2561). การศึกษาการขยายพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สังกัดศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร.

ระพี. (2508). **ชื่อวิทยาศาสตร์กล้วยไม้ช้างแดง.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แผนกวิชาพืชกรรม, กรุงเทพฯ

สลิล สิทธิสัจจธรรม. (2549). กล้วยไม้ป่าเมืองไทย Wild orchid of Thailand. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

สุเม อรัญนารถ. (2558). **การเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

สุนทรี ทารพันธ์. (2558). การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง. (ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อบฉันท์ ไทยทอง. (2543). กล้วยไม้เมืองไทย. กรุงเทพฯ บ้านและสวน.

Arditti, J., & Ernst, R. (1993). Micropropagation of orchids: John Wiley & Sons, Inc,New York.

Behar, H. (1995). Evolution and orchids. American Orchid Society Bulletin, 64, 1326-1332.

Laishram, H., Rocky, T., Sachin, S., Lakshmi, H., & Preema, D. M. (2019). In vitro conservation and asymbiotic propagation of Dendrobium nobile Lindl.: A rare threatened orchid of Northeast India. Research Journal of Biotechnology Vol, 14, 2.

Pierik, R. (1988). Handicaps for the large scale commercial application of micropropagation. Paper presented at the Symposium on High Technology in Protected Cultivation 230.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 ตารางสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashing and Skoog, 1962)

สารเคมี	ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
KNO_3	1,900
$NA4NO_3$	1,650
$CaCl_2$ **.**$2H_2O$	440
$MgSO_4$.$7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3 $MnSO_4$.$4H_2O$	6.2
$ZnSo_4$.$7H_2O$	22.3
KI $NaMoO_4$.$2H_2O$	8.6
$CoCl_2$.$6H_2O$	0.83
$CuSO_4$.$5H_2O$	0.25
Na_4EDTA	0.025
$FeSO_4$.$7H_2O$	37.25
Glycine	27.85
Myo-inositol	2.0
Pyridoxin HCl	100
Nicotinic acid	0.5
Thiamine HCl	0.5
Sucrose	0.1
	30,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. ชั่งสารต่าง ๆ ได้แก่ อาหารสูตร MS 4.43 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30.0 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 2.1 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาละลายน้ำปริมาตรครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมดที่ต้องการเตรียม

2. ปรับปริมาตรอาหารด้วยกระบอกตวงตามปริมาตรอาหารที่ต้องการเตรียม

3. แบ่งอาหารใส่บีกเกอร์ตามจำนวนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องการเตรียม

4. คำนวณปริมาตรของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องเติมลงในอาหารในแต่ละความเข้มข้นจากสูตรดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

C_1 คือ ความเข้มข้นจาก Stock เริ่มต้น

C_2 คือ ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม

V_1 คือ ปริมาตรที่ใช้

V_2 คือ ปริมาตรของอาหารทั้งหมด

เช่น จาก Stock ความเข้มข้น 1 mg/mL (C_1) ต้องการเตรียมความเข้มข้น *m*T ความเข้มข้น 0.5 mg/L (C_2) ปริมาตร 1,000 mL (V_2)

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$\left(\frac{1\text{mg}}{1\text{mL}}\right) V_1 = \left(\frac{0.5\text{mg}}{1{,}000\text{mL}}\right) (1{,}000\text{mL})$$

$$V_1 = \left(\frac{0.5\text{mg}}{1{,}000\text{mL}}\right) (1{,}000\text{mL}) \left(\frac{1\text{mg}}{1\text{mL}}\right)$$

$$V_1 = 0.5\ \text{mL} \times 1{,}000 = 500\ \mu\text{L}$$

5. ดูดสารควบคุมการเจริญเติบโตจาก Stock แล้วเติมลงในบีกเกอร์ แล้วจึงปรับปริมาตรอาหารด้วยกระบอกตวงตามปริมาณที่ต้องการเตรียม

6. นำอาหารไปปรับพีเอชในระหว่าง 5.6 – 5.8

7. เติมวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ลงในแต่ละบีกเกอร์ แล้วทำการละลายวุ้นด้วยไมโครเวฟ 1-2นาที

8. แบ่งใส่ขวดแก้วที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปริมาตร 20 มิลลิลตร

9. นำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

10. นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปเก็บไว้ในห้องไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสังเกตการปนเปื้อนก่อนนำอาหารไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 21 เดือน มิถุนายน พ.ศ 2566

ข้าพเจ้า นางสาว สุภัสสร ลิ้มสกุล รหัสประจำตัว 62050549
นางสาว อนิชญา เข็มเพ็ชร์ รหัสประจำตัว 62050555

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา ชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและถ่านกัมมันต์ที่มีผลต่อกล้วยไม้ช้างแดง

ชื่อภาษาอังกฤษ Influence of Growth Regulators and Activited Charcoal Effect on *Rhynchostylis orchid*

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 6.67%

ลงชื่อ.....สุภัสสร ลิ้มสกุล..... ลงชื่อ.....อนิชญา เข็มเพ็ชร์.....
(นางสาวสุภัสสร ลิ้มสกุล) (นางสาวอนิชญา เข็มเพ็ชร์)
นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / ผศ. / ดร. / อ..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้วขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ..... ลงชื่อ.....

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้