ห้องสมุด
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

14106

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้พันธุ์ Blc Alma Kee

Study on the Media for Protocrom Like Body Profitable of Cattleya var. Blc Alma Kee

โดย

นายพรสิน ส่งเกษรชาติ

.....

ดร. ครรชิต ธรรมคิริ ประธานกรรมการที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

.....

รศ. ช.ณิฏฐ์คิริ สุยสุวรรณ กรรมการอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 8 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2534

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 100377
วัน.เดือน.ปี 18 JUN 2009

T100377

ฝพ.
พ284ก
2534

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าของขอบพระคุณ ดร.ครรชิต ธรรมคิริ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือเกี่ยวกับอุปกรณ์ สถานที่ทำการทดลอง ที่สถานีวิจัยพืชสวน บางกอกน้อย ในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้ ขอขอบพระคุณ รศ. ช.ณิฏฐ์ศิริ สุยสุวรรณ ได้ให้คำแนะนำและติดต่อเรื่องสถานที่ในการทำปัญหาพิศษครั้งนี้ ตั้งแต่เริ่มต้นจนประสพความสำเร็จได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ที่รับผิดชอบ ช่วยหลือในระหว่างทำการทดลองครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ตลอดจน พี่ ๆ เพื่อน ๆ ทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จด้วยดีมาตลอด

พรสิน ส่งเกษรชาติ

มีนาคม 2534

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 4 Replications จำนวน 16 treatments

จากการทดลองพบว่า อาหารเหลวสูตรที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์ม พบว่า อาหารเหลวสูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะเริ่มแรก (starting medium cattleya explant) Tr_3 ดีที่สุด คือ เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 50.22 กรัม รองลงมา ได้แก่ อาหารเหลวสูตรสูตร Vacin and went (Tr_1) มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 32.13 กรัม ส่วนอาหารสูตร MS (Tr_4) มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 9.17 กรัม อันดับที่ 4 คือ อาหารเหลวสูตร Knudson C (1964) (Tr_2) จะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยคือ 6.07 กรัม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(3)
สาบัญตารางภาคผนวก	(4)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	6
ผลการทดลอง	9
วิจารณ์ผลการทดลอง	12
สรุป	13
เอกสารอ้างอิง	14
ภาคผนวก	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม (9)	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่		หน้า
1	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อเริ่มทำการทดลอง	17
2	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 2 สัปดาห์	18
3	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 4 สัปดาห์	19
4	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 6 สัปดาห์	20
5	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 8 สัปดาห์	21
6	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 10 สัปดาห์	22
7	แสดงปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 12 สัปดาห์	23
8	อาหารสูตร Vacin and went	24
9	อาหารสูตร Knudson C (1946)	25
10	อาหารสูตร Stanting medium cattleya explant	26
11	อาหารสูตร MS (Murashing and skoog)	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ในอาหารสูตร Vacin and went	28
2	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มในอาหาร สูตร Knudson C (1946)	29
3	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มในอาหาร สูตร Stenting medium cattleya explant	30
4	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มในอาหาร สูตร MS	31
5	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Vacin and went	32
6	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Knudson C (1946)	33
7	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Stenting medium cattleya explant	34
8	แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจอย่างมากในปัจจุบัน ซึ่งทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยปีละหลายร้อยบาท จากการผลิตกล้วยไม้ตัดดอก จำหน่ายทั้งต้น เพื่อส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศและภายในประเทศ ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ได้นำเอาเทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งได้ผลดีและเป็นการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้จำนวนมากในเวลาอันสั้น และปราศจากโรค ทำให้พันธุ์ที่ได้ตรงตามพันธุ์ มีคุณภาพดี ผลผลิตสูง ซึ่งในการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์ม กล้วยไม้ให้ได้ผลดีนั้นจะต้องมีการปรับปรุงหาสูตรที่เหมาะสมในการเจริญของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้แต่ละชนิด และสามารถเลี้ยงโปรโตคอร์มให้ได้จำนวนมาก ดังนั้นในการศึกษาเกี่ยวกับทดลองสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ให้ได้ปริมาณมาก เป็นประโยชน์อย่างมากในการปลูกกล้วยไม้จำหน่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์ม (protocrom) ของกล้วยไม้พันธุ์ Brassolaeliocattleya Almakee (Blc. AlmaKee)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Plant tissue culture) หมายถึง เทคนิคการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช จะเป็นอวัยวะของพืช เนื้อเยื่อเซล หรือเซลที่ไม่มีผนังที่เรียกว่า โปรโตพลาส (protoplast) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยเกลือแร่ ธาตุอาหาร น้ำตาลและไวตามิน ในสภาพปลอดเชื้อรา แบคทีเรียและสาหร่าย นอกจากนี้จะต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง (อรดี, 2522) กล่าวไว้ว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การนำเอาเนื้อเยื่อหรือกลุ่มเซลพืชมาเลี้ยงในหลอดแก้ว หรือในขวด โดยมีธาตุอาหารเป็นโภชนาการ แร่ธาตุที่จำเป็นและฮอร์โมนบางชนิดในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ซึ่งเนื้อเยื่อพืชหรือกลุ่มเซลจะมีการเจริญเติบโตขึ้นมาเป็นต้นพืช มีราก ลำต้นและใบครบเหมือนต้นไม้ปกติ โดยที่เนื้อเยื่อหรือกลุ่มเซลนั้น จะต้องมีคุณสมบัติที่เจริญเติบโตเพิ่มขนาดขึ้นได้ จากบริเวณปลายยอดอ่อน ตา หรือเนื้อเยื่อถาวรที่สามารถเปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อเจริญได้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชั้นสูงได้มีการศึกษาค้นคว้ากันมานานนับตั้งแต่ปี ค.ศ.1902 โดย Harber Landt ชาวเยอรมันได้พยายามที่จะเลี้ยงเซลของพืชสีเขียวในอาหารสังเคราะห์ เพื่อจะเพิ่มจำนวนเซลและสามารถเจริญเติบโตได้เป็นต้นใหญ่ แต่ก็ประสบความล้มเหลว ต่อมาในปี ค.ศ.1934 white ได้พยายามศึกษาถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ตามแนวทางของ Robbins and Kotte และได้ประสบความสำเร็จในการเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายรากมะเขือเทศ ในสภาพปลอดเชื้อ ด้วยการเติมเกลือแร่ yeast extract และน้ำตาลที่สกัดจากอ้อย ปรากฏว่าชิ้นส่วนของรากมีการเจริญเติบโตดี เมื่อ white พบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งให้ชื่อว่า "white medium" ซึ่งสามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อให้มีชีวิตรอด และกลายเป็นต้นใหม่ได้

Sharp and Larsen (1977) ได้อ้างถึงว่าในปี ค.ศ.1939 Gustheret ได้ศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วนเล็กๆ ของหัวแครอทที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารอินทรีย์ น้ำตาลกลูโคส วิตามินบี 1 (thiamin) crystein hydrochloride และ IAA ได้สำเร็จ Knudson (1925) กล่าวว่า ในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้จะมีเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตให้อยู่ในสภาพสารละลายเป็น simple sugar ซึ่งเมล็ดกล้วยไม้สามารถเอาไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน

ระพี (2513) กล่าวไว้ว่า ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้ผลดีและรวดเร็วนั้น นิยมใช้การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม ซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนกลม เล็ก ๆ มากมาย เมื่อนำเนื้อเยื่อเจริญไปเลี้ยงให้เจริญเป็นต้น ราก ของกล้วยไม้ ต้องขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารสูตรต่าง ๆ และจำนวนธาตุอาหารนั้น ๆ ในปี พ.ศ.2516 การถ่ายขวดกล้วยไม้นี้มีความสัมพันธ์กับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในขวดระยะแรก ดังนั้นจึงได้มีการดัดแปลงสูตรอาหารวุ้นของ Vacin and Went โดยใช้น้ำตาลซูโครส 2.0 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในอาหาร ปรากฏว่า ได้ผลดี

Knudson (1922) พบว่ากล้วยไม้พวกอีพิไฟต์ (Epiphyte) ต้นอ่อนจะงอกได้ดีในวุ้นอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรต พวก ซูโครส และฟรุคโตส ส่วนน้ำตาล มอลโตส พรุคโตส กลูโคส และซูโครส จะให้ผลดีกับกล้วยไม้ลูกผสมของ Cattleya terianei

Yates and Curtis (1949) ได้ทดลองหาระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสกับการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้พวกอีพิเดนดรัม (Epidendrum) และแคทลีย่า (Cattleya) พบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารวุ้นที่มีน้ำตาลซูโครงในความเข้มข้นสูง จะเพิ่มการเจริญของส่วนราก ขณะเดียวกันการเจริญของส่วนยอดลดลง และถ้าหากมีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่ำ จะเหมาะต่อการเจริญของยอดอ่อน และรากของต้นอ่อน

Skoog and Miller (1953) ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ pith ของยาสูบโดยใช้ Kinetin กระตุ้นการสร้างตา นอกจากสูตรอาหารที่เป็นปัจจัยสำคัญแล้ว ปรากฏว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชประสบความสำเร็จในปี 1957 Skoog and Miller ได้พบว่า การพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชเป็นต้นหรือราก ขึ้นอยู่กับความสมดุลย์ของฮอร์โมน 2 กลุ่มคือ ออกซิน (auxins) และไซโตไคนิน (cytokinins) โดยพบว่าหากอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินสูงกว่าอัตราสมดุลย์แล้ว เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นแคลลัส (callus) และราก (root) แต่ถ้าอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินต่ำกว่าอัตราสมดุลย์แล้ว เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอด ถ้าอัตราของฮอร์โมน 2 กลุ่มนี้สมดุลย์กัน เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอดและรากพร้อมกัน ต่อในในปี ค.ศ.1962 Murashige and Shoog ได้ทำการศึกษาปรับปรุงองค์ประกอบของอาหารให้เหมาะสมต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญเติบโตของเนื้อเยื่อยาสูบ กล้วยไม้ และเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด จนกระทั่งปัจจุบันนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงมีความจำเป็นในการขยายพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ การป้องกันกำจัดโรคพืช ตลอดจนการเก็บรักษารวบรวมพันธุ์ และการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชกัน

ธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งประกอบด้วย 2 ชนิด คือ สารประกอบอินทรีย์ และสารประกอบอนินทรีย์

ส่วนประกอบอินทรีย์ ซึ่งมีองค์ประกอบของ คาร์บอน (C) ไฮเดรเจน (H) ออกซิเจน (O)

1. คาร์โบไฮเดรท (carbohydrats) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของพืชได้แก่ น้ำตาลซูโครส (sucrose) กลูโคส (glucose) และฟรุคโตส (fructose)

2. วิตามิน วิตามินที่ใช้กันมากได้แก่ ไทอามีน (thiamin) ซึ่งใช้ในระดับความเข้มข้น 0.1-1 ม.ก. ต่ออาหาร 1 ลิตร ไนอาซีน (niacine) หรือนิโคตินิค แอซิด (nicotinic acid) ไพริด็อกซีน (pyridoxine) ไพบูลย์ (2524)

สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic) ธาตุอาหารที่ใช้ได้แก่

ไนโตรเจน	(N)	ฟอสฟอรัส	(P)	โปตัสเซียม	(K)
แคลเซียม	(Ca)	แมกนีเซียม	(mg)	เหล็ก	(Zn)
กำมะถัน	(S)	แมงกานีส	(Mn)	สังกะสี	(Zn)
อลูมินั่ม	(Al)	ทองแดง	(Cu)	โมลิบดีนัม	(Mo)
โบรอน	(B)	คาร์บอน	(C)	ไฮโดรเจน	(H)

ซึ่งในแต่ละสูตรไม่จำเป็นต้องใช้ทุกตัว แล้วแต่ความเหมาะสมของอาหารแต่ละสูตร ไพบูบย์ (2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์ในการทดลอง

1. พืชทดลอง คือ โปรโตคอร์มของกล้วยไม้ตระกูล cattleya พันธุ์ Blc. AlmaKee
2. เครื่องชั่ง (Balance) เป็นเครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดที่ชั่งได้ละเอียด
3. หม้อนึ่ง (Autoclave) แบบอัตโนมัติ ใช้ไฟฟ้า
4. ตู้ย้ายกล้วยไม้
5. สารเคมี
   - 5.1 สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ
     เอทธิล แอลกอฮอล์ (70-95%
   - 5.2 สารเคมีที่ใช้เตรียมสูตรอาหาร
     - Vecin and Went
     - Stenting medium cattleya explant
     - Knudson
     - M S (Murashige and Skoog)

     ให้ดูตารางภาคผนวกที่ 1, 2, 3 และ 4
   - 5.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต
     - Kinetin (6-Furfurglamino purine)
     - NAA (Naphthaleneacetic a)
     - IAA (Indro acetic acid)
6. เครื่องมือที่ใช้เตรียมอาหาร
   - Plate
   - Cylinder ขนาด 10, 100, 500 และ 1000 ม.ล.
   - Beaker

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Valumetric slask ขนาด 25 ม.ล.
- pH meter
- Pipet

7. อุปกรณ์อื่น ๆ

- สำลี จุกยาง
- กระดาษอลูมินั่ม (Aluminum Foil)

วิธีการทดลอง

นำโปรโตคอร์มกล้วยไม้ cattleya Blc. AlmaKee มาเลี้ยงในอาหารเหลว ในสูตร Vacin and Went, Knudson C (1946) Stanting medium, MS เพื่อศึกษาถึงความเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของจำนวนโปรโตคอร์ม

1. การวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 4 สูตรๆ ละ 4 ซ้ำ

2. การเตรียมเครื่องมือ เครื่องมือที่จำเป็นต้องใช้ในการย้ายโปรโตคอร์ม ได้แก่ ปากคีบ มีดผ่าตัด เพลท บิกเกอร์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ คือ นึ่งที่อุณหภูมิ 121.5 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำไปเก็บไว้ในตู้ ย้ายโปรโตคอร์ม อุปกรณ์ทุกอย่างที่จะเข้าตู้ ควรมีการเช็ดด้วยกอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซนต์ ก่อนทุกครั้งที่เข้าตู้

3. การเตรียมตู้ย้ายโปรโตคอร์ม เป็นตู้แบบมีเครื่องระบายอากาศก่อนใช้อบฆ่าเชื้อด้วยหลอด UV โดยทิ้งไว้ 30 นาที

4. วิธีการยายโปรโตคอร์ม นำโปรโตคอร์ม cattleya Blc. AlmaKee และขวดอาหารใหม่เข้าตู้ย้าย โดยเช็ดด้วยแอลกอฮอร์ที่บริเวณด้านนอก จนปากขวดด้วยเปลวไฟ เปิดกระดาษฟอร์ยออจ แล้วใช้ช้อนตักโปรโตคอร์มสูงประมาณ 10-12 ม.ม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 7-8 ม.ม. ใส่ในขวดอาหารที่เตรียมไว้ขวดละ 4 โปรโตคอร์มครบทั้ง 4 สูตร จำนวน 16 ขวด และทำการเปลี่ยนอาหารทุก 14 วัน หาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของโปรโตคอร์ม และนำไปวางไว้บนเครื่องเขย่าต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาและสถานที่ทดลอง

เวลาทดลองเริ่มวันที่ 17 มกราคม 2533 สิ้นสุดวันที่ 25 เมษายน 2533

สถานที่ทำการทดลอง

สถานีวิจัยพืชสวนบางกอกน้อย กรมวิชาการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม (กรัม) หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรต่าง ๆ เมื่อเวลาต่างกัน

1. เป็นน้ำหนักของโปรโตคอร์ม เมื่อเริ่มทำการทดลอง ซึ่งแต่ละ treatment ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และขนาดของโปรโตคอร์มมีขนาดเท่า ๆ กันหมด (ตารางที่ 1)

2. ผลการทดลองแต่ละ treatment ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณน้ำหนักและการเพิ่มโปรโตคอร์มมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ตารางที่ 1)

3. จากผลการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 ปรากฏว่า treatment ที่ 3 มีน้ำหนักของโปรโตคอร์ม 7.32 กรัม และการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับ treatment ที่ 1, 2 และ 4 ซึ่งจะเพิ่มน้ำหนักและขนาดปริมาณน้อยกว่า (จากตารางที่ 1)

4. จากผลการทดลองในสัปดาห์ที่ 6 พบว่า treatment ที่ 3 น้ำหนักของโปรโตคอร์ม 14.24 กรัม และการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์ม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ treatment ที่ 1, 2 และ 4 แต่พบว่า treatment ที่ 1 มีสภาพของโปรโตคอร์มใหญ่กว่า treatment ที่ 3 (จากตารางที่ 1)

5. จากผลการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 ใน treatment ที่ 3 มีน้ำหนักของโปรโตคอร์ม 22.03 กรัม มีการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มมาก แต่ขนาดของโปรโตคอร์มจะเล็กกว่า treatment ที่ 2 และ 4 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ treatment ที่ 1, 2 และ 3 และใน treatment ที่ 4 โปรโตคอร์มมีสีเขียวสด และส่วนที่อยู่นอกสุดจะเริ่มตายลง (จากตารางที่ 1)

6. จากผลการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 ปรากฏว่า treatment ที่ 3 มีน้ำหนักของโปรโตคอร์ม 35.19 กรัม ระยะนี้ขนาดของโปรโตคอร์มที่สังเกตดูพบว่าจะมีขนาดเล็กและฉ่ำน้ำ แต่น้ำหนักและจำนวนนั้นเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับวิธีการที่ 1, 2 และ 4 แต่ treatment ที่ 2 จะเพิ่มน้ำหนักเพียง .64 กรัม ซึ่งถือว่าน้อยมาก แต่สีของโปรโตคอร์มจะเขียวมาก (จากตารางที่ 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. จากผลการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 ปรากฏว่า treatment ที่ 3 มีน้ำหนัก 50.22 กรัม มีการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มมาก แต่มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับ treatment ที่ 1, 2 และ 4 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ treatment ที่ 2 และ 4 และในช่วงนี้ treatment จะมีน้ำหนักลดลง เนื่องจากสภาพของโปรโตคอร์มเริ่มตายมีสีดำอยู่ภายนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์มหลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อเวลาต่างกัน (กรัม)

treatment	ระยะเวลาของการเจริญเติบโตในขวด (สัปดาห์)						
	0 N.S.	2 S	4 *	6 **	8 **	10 **	12 **
Treatment ที่ 1/	1.62	3.09	5.95 b	10.89 b	17.07 b	23.79 b	32.13 b
Treatment ที่ 2/	2.13	3.25	3.61 c	4.56 c	5.63 c	6.27 b	6.07 c
Treatment ที่ 3/	1.75	3.50	7.32 a	14.24 a	22.63 a	35.19 a	50.22 a
Treatment ที่ 4/	1.56	2.63	3.87 c	5.64 c	7.57 c	13.36 c	9.17 c

N.S. ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตัวอักษร (ตามหลังตัวเลข) ไม่เหมือนกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติในการเปรียบเทียบ LSD

1/ อาหารสูตร Vacin and went

2/ อาหารสูตร Knudsun C (1946)

3/ อาหารสูตร Starting medium cattleya explant

4/ อาหารสูตร Murashige and skoog (MS)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้ ตระกูล แคทลียา Blc. Almakee โดยการนำโปรโตคอร์มมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Vacin and went, Knudsun C (1946), MS และ starting medium cattleya explant ปรากฏว่าได้มีการพัฒนาการเพิ่มน้ำหนัก จำนวน ขนาดของโปรโตคอร์ม โดยเฉพาะอาหารสูตร starting medium cattleya explant ซึ่งอยู่ใน treatment ที่ 3 จะมีการเพิ่มน้ำหนักเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มอย่างมากและเห็นได้ชัดเจน โดยเปรียบเทียบกับสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร ใน treatment ที่ 1, 2 และ 4 ในแต่ละ treatment ปริมาณเพิ่มขึ้นหรือลดลงของโปรโตคอร์ม จะมีความแตกต่างกัน เพราะการใช้สูตรอาหารเหลวนั่นเอง จากการสังเกตพบว่า treatment ที่ 3 จะมีการเพิ่มน้ำหนักมีปริมาณมากที่สุด แต่ลักษณะของโปรโตคอร์มจะอวบน้ำมีสีเขียวคล้ำ มีขนาดเล็ก ลักษณะต้นไม่เท่ากัน ซึ่งเปรียบเทียบกับ treatment ที่ 1 ซึ่งมีลักษณะของโปรโตคอร์มมีสีเขียวสด มีขนาดเท่า ๆ กัน แต่ก็เพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มน้อยกว่า ถ้าหากมีการนำเอาโปรโตคอร์มไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Knudsum C (1964) ก่อนเมื่อได้จำนวนโปรโตคอร์มเพียงพอแล้ว ก็นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS จะทำให้การเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนรวดเร็วกว่าเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร Vacin and went

ส่วนใน treatment ที่ 2 นั้นจะไม่ค่อยเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์ม แต่จะมีการเพิ่มขนาดให้โตขึ้น ลักษณะของโปรโตคอร์มจะมีสีเขียวสด แต่มีค่าเฉลี่ยต่ำสุด อาหารสูตรนี้ไม่เหมาะสมกับการที่จะใช้เพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ตระกูลนี้ใน treatment ที่ 4 โปรโตคอร์มจะมีลักษณะสีเขียวแก่ แยกเป็นหน่อ ๆ ไม่ติดกัน มีลักษณะหน่อใหญ่ แต่มีการเพิ่มจำนวนและน้ำหนักน้อย อาหารสูตรนี้ไม่เหมาะที่จะใช้ในการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์ม แต่จะเหมาะในการเลี้ยงโปรโตคอร์มสักระยะหนึ่งก่อนที่จะนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งต่อไป เพราะมีการสะสมอาหารไว้มาก สังเกตดูจากสีของโปรโตคอร์มมีสีเขียวเข้ม ซึ่งผิดกับ treatment ที่ 1, 2 และ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลอง ปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ทั้ง 4 สูตร พบว่าในอาหารแต่ละสูตรจะให้จำนวนโปรโตคอร์มแตกต่างกันในระยะเวลา 12 สัปดาห์ จะเป็นดังนี้

treatment ที่ 3 เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดที่สามารถเร่งจำนวนโปรโตคอร์มให้เพิ่มปริมาณได้มากในเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งได้น้ำหนักทั้งหมด 50.22 กรัม แต่โปรโตอร์มมีขนาดเล็ก มีสีเขียวคล้ำคล้าย ๆ กับฉ่ำน้ำ ซึ่งต่างจาก treatment ที่ 1 ซึ่งมีน้ำหนักน้อยกว่าประมาณ 32.13 กรัม แต่มีขนาดของโปรโตคอร์มเท่า ๆ กัน มีสีเขียวอ่อน ส่วนผลการทดลองที่ 2 และที่ 4 มีการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเพียงเล็กน้อย แต่ขนาดของโปรโตคอร์มจะโตกว่า treatment ที่ 1 และที่ 3 และใน treatment ที่ 2 และ 4 มีอายุครบ 12 สัปดาห์ ซึ่งมีน้ำหนักดังนี้ 6.07 กรัม และ 9.17 กรัม ตามลำดับ

ดังนั้นอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มได้มากที่สุด คือ สูตร starting medium cattleya explant และรองมาได้แก่ สูตร Vacin and went อีกสองสูตรไม่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2528. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ภาควิชาวิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 165 หน้า.

ระพี สาคริก. 2513. คำบรรยายวิชากล้วยไม้. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บางเขน. (โรเนียว)

ระพี สาคริก. 2516. การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย. ชวนพิมพ์. กรุงเทพฯ. 856 หน้า.

อรดี สหัชรินทร์. 2522. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้านการเกษตร. วารสารพืชสวน. 14 : 35-43.

อรดี สหัชรินทร์. 2526. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Murashige, T. and F. skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol . Plant. 15 : 473-497.

Sharp W.R. and P.O. Larsen. 1977. Plant cell and tissue culture : current application and potential. In Sharp, W.R., P.O. Larsen, E.F. Poddock and V. Saghevan. 1977. Plant cell and Tissue Culture. Columbus : Ohio State University Press.

Knudson, L. 1925. Physiological study of the symbiotic Germination of orchid seeds. Proc . Intnl . Cong . Pl. Sci. 2 : 1183-1189.

Knudson L. 1922. Nonsymbiotic Germination of orchid seed. Prot . Gaz. 73 : 1-125.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yates, C.R. and J.T. Curtis. 1949. The Effect of sucrose and other Factors on The Shoot-Root Ratio of orchid seedling. Amer. J. Bot. 36 : 819-821.

Murashige, T. 1974. Plant Propagation through tissus culture Ann. Rev. Plant. Physiol. 25 : 135-166.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อเริ่มทำการทดลอง

treatment	Replication				
	1	2	3	4	เฉลี่ย
1	.55	.34	.38	.35	1.62
2	.60	.14	.59	.80	2.13
3	.80	.28	.30	.37	1.75
4	.68	.27	.29	.32	1.58

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Source	ds	SS	MS	F-Ratio	F-Table	
					0.05	0.01
treatment	3	4.9125	1.6374	.3537	3.49	5.95
Error	12	.5554	4.6287			

C.V 48.76

$LSD_{.05}$

$LSD_{.01}$

100377

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 2 สัปดาห์

treatment	Replication				
	1	2	3	4	เฉลี่ย
1	1.02	.92	.61	.54	3.09
2	.94	.53	.97	.81	3.25
3	1.18	0.87	.68	.77	3.50
4	1.04	.40	.58	.61	2.63

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Source	ds	SS	MS	F-Ratio	F-Table	
					0.05	0.01
treatment	3	.1005	3.3523	.6214	3.49	5.95
Error	12	.6473	5.3943			

C.V 29.801

$LSD_{.05}$

$LSD_{.01}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 4 สัปดาห์

treatment	Replication				
	1	2	3	4	เฉลี่ย
1	1.80	2.09	1.11	.95	5.95[b]
2	.71	1.07	1.34	.49	3.61[c]
3	2.07	2.31	1.53	1.41	7.32[a]
4	.71	1.47	.64	1.05	3.87[c]

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Source	ds	SS	MS	F-Ratio	F-Table	
					0.05	0.01
treatment	3	2.3383	.7794	4.0560*	3.49	5.95
Error	12	2.3060	.1921			

C.V 33.80

$LSD_{.05}$ 0.777

$LSD_{.01}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 6 สัปดาห์

treatment	Replication				
	1	2	3	4	เฉลี่ย
1	3.84	4.16	1.45	1.44	10.89[b]
2	.99	1.25	1.76	.56	4.56[c]
3	3.32	4.13	3.01	3.78	14.24[a]
4	.98	2.36	1.13	1.17	5.64[c]

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Source	ds	SS	MS	F-Ratio	F-Table	
					0.05	0.01
treatment	3	15.9729	5.3243	6.7106**	3.49	5.95
Error	12	9.5209	.7934			

C.V 40.13

$LSD_{.05}$ 1.584

$LSD_{.01}$ 2.190

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14106

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 8 สัปดาห์

treatment	Replication				
	1	2	3	4	เฉลี่ย
1	4.45	7.85	2.35	2.42	17.07^{b}
2	1.43	1.42	2.14	.64	5.63^{c}
3	6.63	6.55	4.78	4.67	22.63^{a}
4	1.17	3.36	1.41	1.63	7.57^{c}

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Source	ds	SS	MS	F-Ratio	F-Table	
					0.05	0.01
treatment	3	48.2252	16.0757	7.0021**	3.49	5.95
Error	12	27.5487	2.2957			

C.V 45.82

$LSD_{.05}$ 2.695

$LSD_{.01}$ 3.725

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 10 สัปดาห์

treatment	Replication				
	1	2	3	4	เฉลี่ย
1	10.82	6.79	2.70	3.48	23.79[b]
2	1.71	1.79	2.25	0.52	6.27[c]
3	9.85	9.94	7.81	7.59	35.19[a]
4	3.68	1.41	1.65	1.77	13.36[c]

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Source	ds	SS	MS	F-Ratio	F-Table	
					0.05	0.01
treatment	3	138.9747	46.3249	10.9880**	3.49	5.95
Error	12	50.8457	4.2371			

C.V 44.65

$LSD_{.05}$ 3.662

$LSD_{.01}$ 4.692

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงปริมาณการเพิ่มน้ำหนักของโปรโตคอร์ม หลังจากนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อมีอายุได้ 12 สัปดาห์

treatment	Replication				
	1	2	3	4	เฉลี่ย
1	13.77	10.28	4.98	3.48	32.13^{**b}
2	1.41	1.89	2.27	.50	6.07^{c}
3	13.85	13.20	10.77	11.90	50.22^{***a}
4	3.99	1.22	2.14	1.82	9.17^{c}

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Source	ds	SS	MS	F-Ratio	F-Table	
					0.05	0.01
treatment	3	320.1195	106.7065	15.3155	3.49	5.95
Error	12	83.6063	6.9671			

C.V 43.40

$LSD_{.05}$ 9.392

$LSD_{.01}$ 12.982

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8 อาหารสูตร Vacin and went (1949)

ชื่อสารเคมี	สูตร	จำนวนที่ใช้ในอาหาร 1 ลิตร (mg)
Tricalcium phosfate	$Ca_3 (PO_4)_2$	200
Potassium nitrate	KNO_3	525
Monopotassium acid phosfate	$KH_2 PO_4$	250
Magnesium sulfate	$MgSO_4 7H_2O$	250
Ammonium sulfate	$(NH_4)_2 SO_4$	500
Ferric tartrate	$Fe_2 (C_4 H_4 O_6) 2H_2O$	28
Manganese sulfate	$Mn SO_4 H_2O_2$	57
น้ำตาล		10-20 g
น้ำมะพร้าว		200 ml
PH 4.8-5		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 9 อาหารสูตร Knudson C (1946)

ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร 1 ลิตร (mg)
Ammonium sulfate	$(NH_4)_2\ SO_4$	1000
Ferrous sulfate	$FeSO_4\ 7H_2O$	25
Magnesium sulfate	$MgSO_4\ 7H_2O$	250
Magnesium sulfate	$MnSO_4\ 4H_2O$	7.5
Ammonium nitrate	NH_4NO_3	500
Calcium nitrate	$Ca(NO_3)_2\ 4H_2O$	500
Potassium phosphate	$KH_2\ PO_4$	250
Potassium phosphate	KCl	250
Sucrose		209

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 10 อาหารสูตร Stenting medium eattleya explant

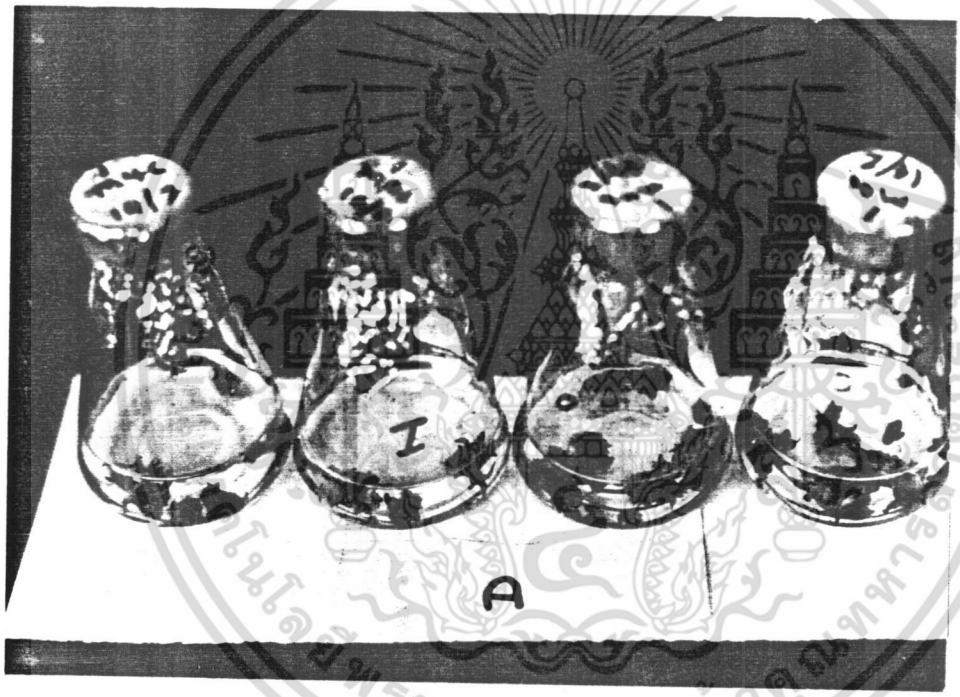
ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร 1 ลิตร (mg)
Macroelements		
Ammonium sulfate	$(NH_4)_2\ SO_4$	1000 mg
Calcium nitrstee	$Ca(NO_3)_2\ 4H_2O$	500
Potassium chloride	KCl	1050
Magnesium sulfate	$MgSO_4\ 7H_2O$	120
Potassium phosphate	$KH_2\ PO_4$	135
Iron citrate	$Fec_6\ H_8O_7\ 3H_2O$	5.4
Micorelements		
Zinc sulfate	$ZnSO_4\ 7H_2O$	0.565
Boric acide	$H_3\ BO_3$	1.014
Magnesium sulfate	$MnSO_4\ 4H_2O$	0.068
Cupric sulfate	$CUSO_4\ 5H_2O$	0.019
Aluminium chloride	$AlCl_3$	0.031
NicKel chloride	$NiCl_2$	0.017
Potassium iodide	KI	0.099
Auxin		
Naphthaleneacetic acid	NAA	0.1
CytoKinin		
Kinetin		0.2
Complex additive		
Coconut water		150
Sucrose		5000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 11 สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog)

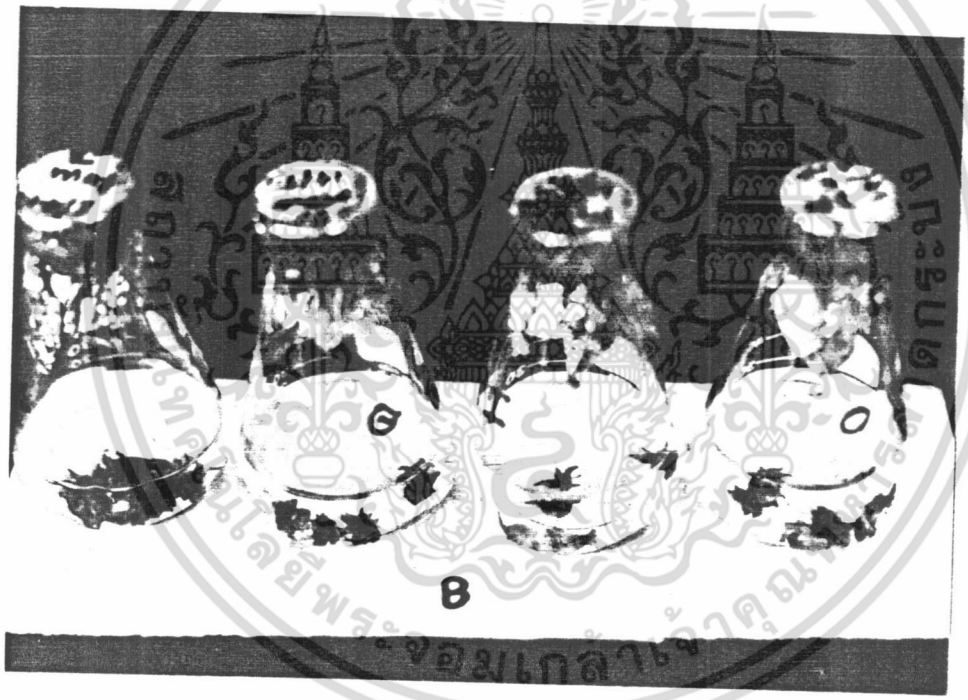
ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร 1 ลิตร (mg)
Ammonium sulfate	$(NH_4)_2 SO_4$	1650
Potassium nitrate	KNO_3	1900
Calcium chloride	$Cacl_2 2H_2O$	440
Magnesium sulfate	$MgSO_4 7H_2O$	250
Ferrous sulfate	$FeSO_4 7H_2O$	27.8
Sodium Ethlene diameme	Na_2 EDTA	37.3
Magnesium sulfate	$MnSO_4 4H_2O$	22.3
Zinc sulfate	$ZnSO_4 7H_2O$	8.6
Boric acide	$H_3 BO_3$	6.2
Potassium iodide	KI	0.83
Sodium	$Na_2 MoO_4 2H_2O$	0.25
Cupric sulfate	$CUSO_4 5H_2O$	.025
CO chloride	$COcl_2 6H_2O$	.025
myo-inositol		100 ml
Nicotinic acid		0.5
Pyridoxine - Hcl		0.5
thiemine		0.1
glycine		2.0
Sucrose		30,000
Kinetin		0.1
Indroacetic acid	IAA	1.0
PH		5.7-5.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



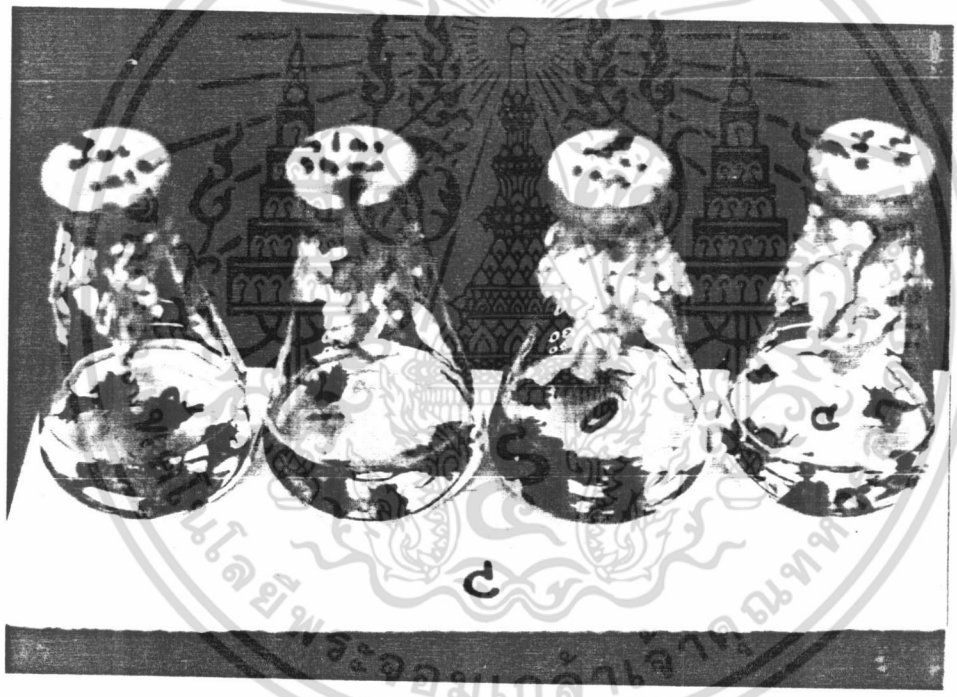
ภาพที่ 1 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ในอาหารสูตร Vacin and went

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



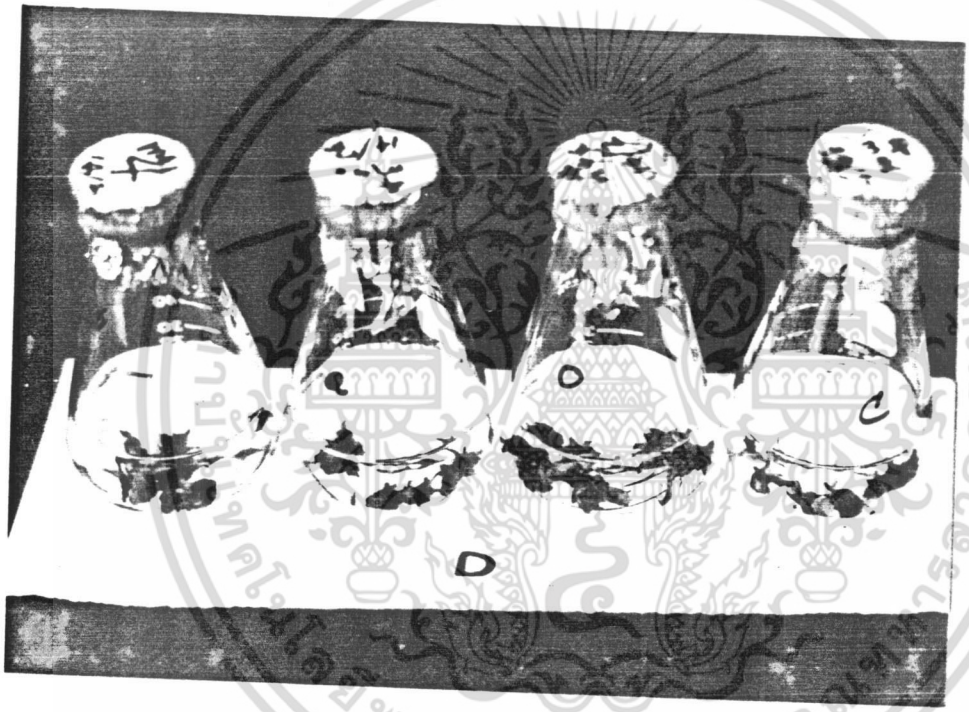
ภาพที่ 2 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ ในอาหารสูตร Knudsun C (1964)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



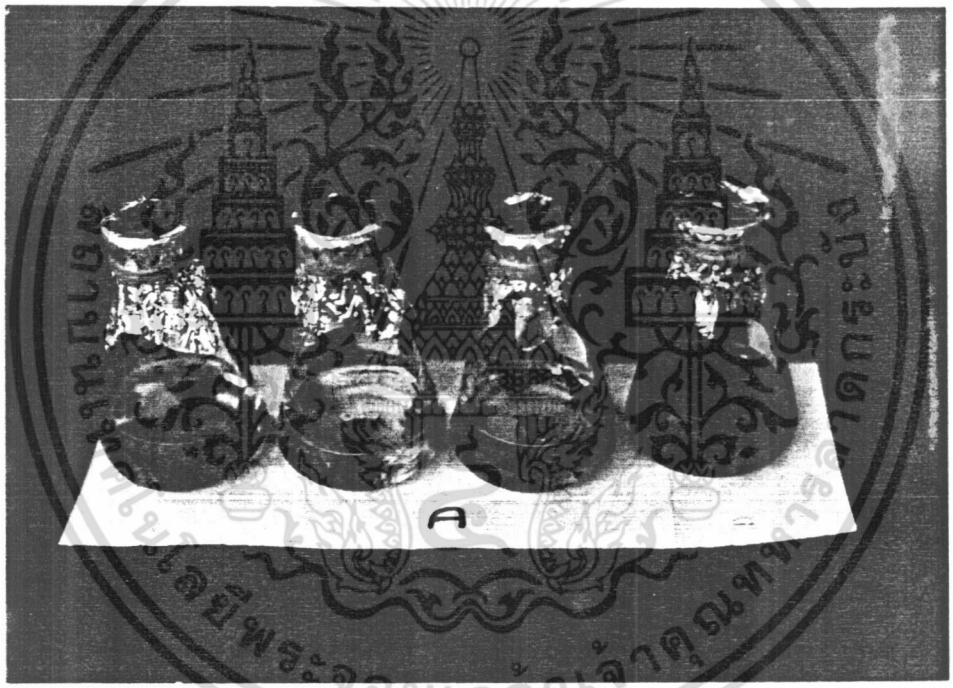
ภาพที่ 3 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 4 สัปดาห์
เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร starting medium cattleya explants

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



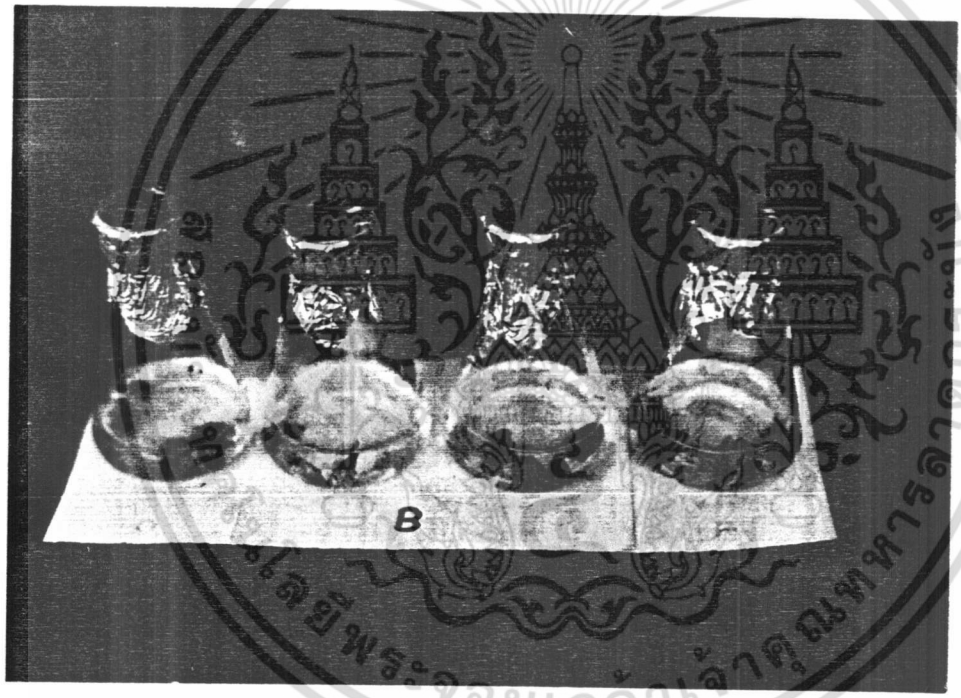
ภาพที่ 4 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



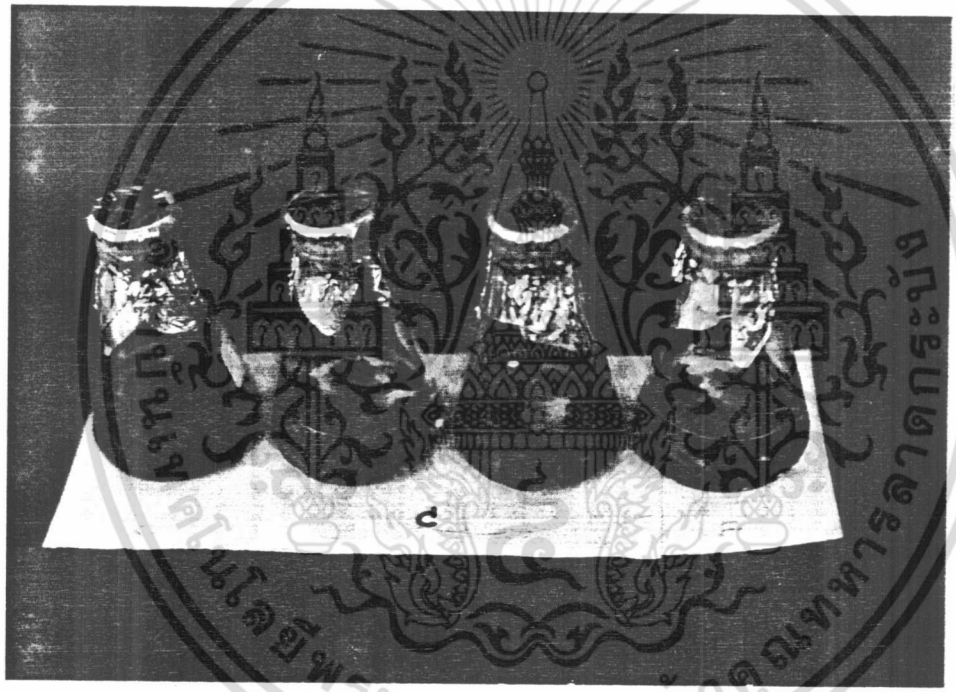
ภาพที่ 5 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Vacin and went

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



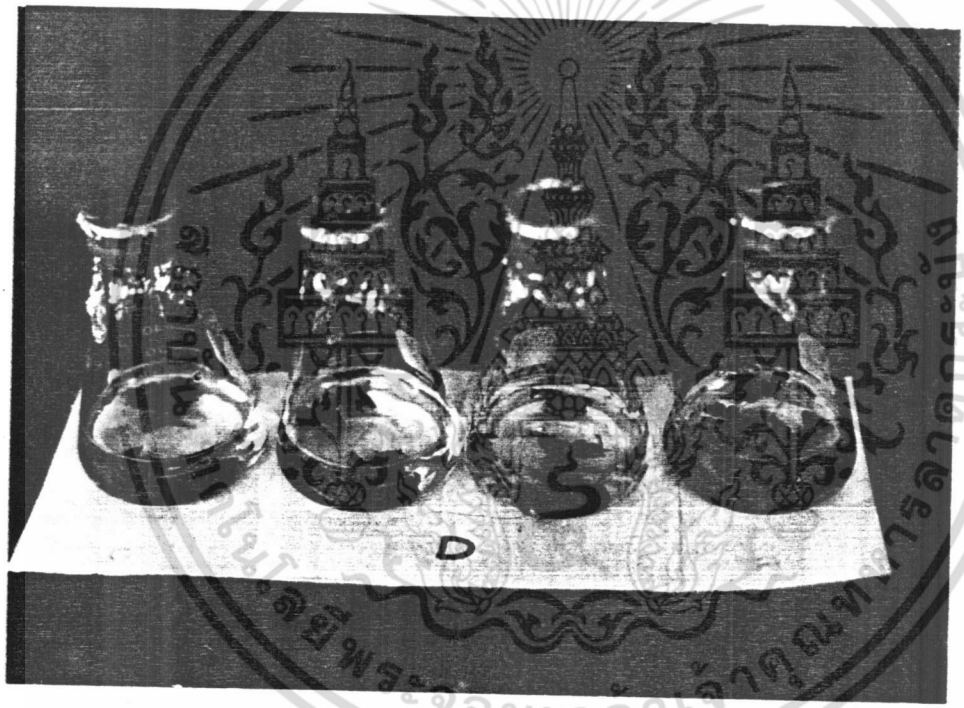
ภาพที่ 6 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Knudsun C (1964)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร starting medium cattleya explants

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 แสดงการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้