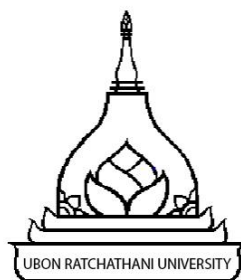


การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนและข้อมกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว
(*Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl.)

ภาณุกรณ์ บุญสิทธิ

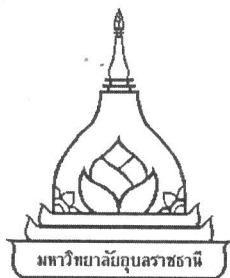
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



SEEDLING AND NODE CULTURE OF *Dendrobium pulchellum* Roxb.
ex Lindl. IN VITRO

PANUKRON BOONSIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
MAJOR IN BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2018
COPYRIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

เรื่อง การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนและชักกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว (Dendrobium pulchellum Roxb.ex Lindl.)

ผู้วิจัย นายภาณุกรณ์ บุญสิทธิ

คณะกรรมการสอบ

ดร.ขวัญเดือน รัตนา

ประธานกรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญญา พิมพ์มงคล

กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพย์ กัณฑ์โชติ

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

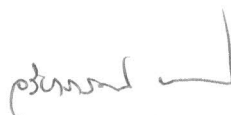


(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญญา พิมพ์มงคล)



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชริดา ปุกหุต)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์



(รองศาสตราจารย์ ดร.อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2561

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญญา พิมพ์มงคล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่คอยฝึกฝนเทคนิคต่าง ๆ และให้คำแนะนำและให้การสนับสนุนด้านวัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพย์ กันตโชติ และ ดร.ขวัญเดือน รัตนากรรณการ สอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ดร.สุทธนา พลอดสมบูรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และขอขอบคุณคณาจารย์ ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้คำปรึกษาและคอยเป็นกำลังใจให้เสมอมา รวมทั้งเจ้าของผลงานวิจัยและสิ่งพิมพ์ที่ข้าพเจ้านำมาใช้ อ้างอิงประกอบการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่และผู้ช่วยวิจัย ประจำประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยให้ลุล่วงได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณแม่ลำไย บุญสิทธิ์ คุณพ่อสุข บุญสิทธิ์ และทุกคนในครอบครัว ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญ ในการทำงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงด้วยดีอย่างที่ตั้งใจไว้

ภาณุกรณ์ บุญสิทธิ์

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

เรื่อง : การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนและชักกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว (*Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl.)

ผู้วิจัย : ภาณุกรณ์ บุญสิทธิ์

ชื่อปริญญา : ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญญา พิมพ์มงคล

คำสำคัญ : NAA (naphthalene acetic acid), BA (benzyladenine), กล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA NAA น้ำตาลซูโครส อาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร) ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าว และอิทธิพลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงชักกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม BA 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมและไม่เติมอาหารเสริม พบว่า สูตรที่ไม่เติมอาหารเสริมส่งผลให้มีจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางกอก ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ส่วนสูตรที่เติมอาหารเสริม พบว่าจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น เส้นผ่านศูนย์กลางกอก จำนวนราก และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การศึกษาอิทธิพลระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว โดยเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหาร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร ที่เติมและไม่เติมอาหารเสริม พบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ไม่เติมอาหารเสริมส่งผลให้มีจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น เส้นผ่านศูนย์กลางกอก จำนวนราก และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนสูตรที่เติมอาหารเสริมส่งผลให้มีจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น และจำนวนราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางกอก และความยาวรากไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และการศึกษาความเข้มข้นของ BA (2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อการเพาะเลี้ยงชักกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว โดยแบ่งชิ้นส่วนข้อออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนปลาย พบว่าชิ้นส่วนของชักกล้วยไม้และความเข้มข้นของ BA มีอิทธิพลต่อจำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ABSTRACT

TITLE : SEEDLING AND NODE CULTURE OF *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl. IN VITRO

AUTHOR : PANUKRON BOONSIT

DEGREE : MASTER OF SCIENE

MAJOR : BIOTECHNOLOGY

ADVISOR : ASST. PROF. ARUNYA PIMMONGKOL, Ph.D.

KEYWORDS : NAA (naphthalene acetic acid), BA (benzyladenine), *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl.

The objectives of this research were to study the effects of BA (benzyladenine) complemented with NAA (naphthalene acetic acid), sucrose and supplements (potatoes 50 g/l, banana 50 g/l and coconut milk 150 ml/l) on growth of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl. seedlings; and the influence of BA on node culture was also studied for 12 weeks. After seedlings were cultured on ½MS added with 0, 1, 2 and 4 mg/l BA combined with 0, 0.5 and 1 mg/l NAA, with or without supplements, the results showed that number of shoot, shoot height and shoot clump diameter were not significantly different when cultured on the medium without supplements ($p < 0.05$). Root could not be initiated from any medium. The medium with supplement caused number of shoot, shoot height, shoot clump diameter, root number and root length significantly difference ($p < 0.05$). For the study of different concentrations of sucrose on growth of *D. pulchellum* seedlings, seedlings were culture on 1/2MS medium added with 0, 10, 20, 30, 40 and 50 g/l sucrose with or without supplements. The results revealed that number of shoot, shoot height, shoot clump diameter, root number and root length were significantly different after cultured on the medium without supplements ($p < 0.05$). On the other hand, the medium with supplements could induce significantly difference of number of shoot, shoot height and root number ($p < 0.05$). However, shoot clump diameter and root length were not significantly different ($p > 0.05$). Another experiment were to study on different concentrations of BA (2.5, 5 and 10 mg/l) on node culture of *D. pulchellum*.

The orchid nodes were separated into 3 parts; basal, middle and terminal nodes. After cultured, the results showed that different node explants and concentrations of BA affected on shoot number, shoot height, root number, root length and leaf number, insignificantly ($p>0.05$).

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้	3
2.2 ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว	5
2.3 การขยายพันธุ์กล้วยไม้	7
2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้	7
2.5 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้	8
2.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุล <i>Dendrobium</i>	10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 พืชทดลอง	15
3.2 สารเคมีและอุปกรณ์	15
3.3 วิธีการวิจัย	16
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, NAA และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว	19
4.2 ผลการศึกษาอิทธิพลระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยง ข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว	21
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา	
5.2 อภิปรายผลการศึกษา	32
5.2 สรุปผลการศึกษา	35
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก	
ก ผลงานที่ตีพิมพ์	43
ข สารเคมีและการเตรียมสารเคมี	50
ค การคำนวณค่าทางสถิติ	57
ง การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต	73
ประวัติผู้วิจัย	75

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 สูตรอาหาร ½MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร	16
4.1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์บนสูตรอาหาร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริมเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	22
4.2 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์บนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมอาหารเสริมเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	24
4.3 อิทธิพลของระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์บนสูตรอาหาร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริมเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	26
4.4 อิทธิพลของระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกิ่งพันธุ์บนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	27
4.5 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA บนสูตรอาหาร ½MS ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงกิ่งพันธุ์บนสูตรอาหาร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 เดือน	29
4.6 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA บนสูตรอาหาร ½MS ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงกิ่งพันธุ์บนสูตรอาหาร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 เดือน	30
๗.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารตามสูตร Murashige and Skoog	52
๗.2 การแบ่งกลุ่มสารเคมีและการเตรียมสารละลายเข้มข้นของสูตรอาหาร MS	53
๗.3 ตัวทำละลายของฮอร์โมน	55
๘.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์	58

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของต้นในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 58
ค.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางของกอในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 59
ค.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวด ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 59
ค.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความสูงของต้น ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 60
ค.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางกอ ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 60
ค.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 61
ค.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของรากในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค. 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางกอลในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	61
ค.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความสูงของต้น ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	62
ค.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนต้นต่อขวด ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	62
ค.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวด ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	62
ค.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวราก ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	63
ค.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางกอลในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	63
ค.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงต้น ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	63
ค.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวด ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	64
ค.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวด ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์	64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.18	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวราก ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 64
ค.19	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 65
ค.20	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 65
ค.21	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 66
ค.22	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 66
ค.23	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 67
ค.24	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 67
ค.25	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 68
ค.26	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์ 68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์	69
ค.28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์	69
ค.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์	70
ค.30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์	70
ค.31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์	71
ค.32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเป็นเวลา 12 สัปดาห์	71
ค.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 12 สัปดาห์	72

สารบัญภาพ

ตารางที่		หน้า
2.1	ลักษณะทั่วไปของดอกกล้วยไม้สกุล Dendrobium	5
2.2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเอื้องช้างน้าว (D. pulchellum)	6
4.1	อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตเอื้องช้างน้าวบนสูตรอาหาร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริม เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Scale bar = 1.0 เซนติเมตร)	23
4.2	อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตเอื้องช้างน้าวบนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมอาหารเสริมชนิดต่างๆ (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Scale bar = 1.0 เซนติเมตร)	25
4.3	อิทธิพลของระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร) ต่อการเจริญเติบโตกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว บนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมและไม่เติมอาหารเสริม (supplement) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Scale bar = 2.0 เซนติเมตร)	28
4.4	อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (B คือ Basal node, M คือ Middle node, T คือ Terminal node) บนสูตรอาหาร ½MS ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงช่อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 10 เดือน (Scale bar = 2.35 เซนติเมตร)	31
ง.1	อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (B คือ Basal node, M คือ Middle Node, T คือ Terminal node) บนสูตรอาหาร ½MS ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงช่อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 10 เดือน	74

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ

สัญลักษณ์และอักษรย่อ	ความหมาย
BA	Benzyadenine
NAA	naphthalene
DMRT	Duncan's multiple range test
M	Middle node
B	Basal node
T	Terminal node

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง

เอื้องช้างน้าว (*Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl.) หรือเอื้องคำตาควาย เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยอยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีลักษณะลำตรงหรือโค้งเล็กน้อยยาวประมาณ 1 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1-1.5 เซนติเมตร ขึ้นเป็นกลุ่มไม่มีทิศทางแน่นอน พบในแถบอินเดีย เนปาล เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และทุกภาคของประเทศไทยตามป่าผลัดใบ และป่าดิบแล้ง (สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์, 2551) ออกดอกช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน ลักษณะเด่นของดอกกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวคือ กลีบดอกสีเหลืองครีมอมชมพู กลางกลีบมีแต้มสีน้ำตาลหรือม่วงแดงขนานอยู่สองด้าน และมีเส้นสีน้ำตาลพาดตามยาว กลีบปากมีขนนุ่ม (อบฉันท ไททอง, 2543) แตกต่างจากกล้วยไม้สายพันธุ์อื่น กล้วยไม้ชนิดนี้ได้รับความนิยม เนื่องจากปลูกง่ายมีดอกสวยงาม ส่งผลทำให้มีการลักลอบนำกล้วยไม้ออกจากแหล่งธรรมชาติเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้การตัดไม้ทำลายป่า เป็นอีกสาเหตุที่ส่งผลต่อจำนวนประชากรเอื้องช้างน้าวลดลงอย่างรวดเร็ว (สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2537) การจัดการปัญหาเหล่านี้มีหลากหลายวิธีการ เช่น การเพิ่มจำนวนพื้นที่ป่าและการรวบรวมแหล่งพันธุ์กล้วยไม้ ในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) ช่วยในการเพิ่มจำนวนพืชอย่างแพร่หลาย โดยการนำส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ลำต้น ใบ ผล เมล็ด และส่วนอื่น ๆ มาเลี้ยงบนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณพืชในระยะเวลานานขึ้น อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้ประสบความสำเร็จนั้นต้องอาศัยปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น สูตรอาหารที่เหมาะสม รวมทั้งการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต ในกลุ่มออกซิน (auxin) เช่น NAA (naphthalene acetic acid) และไซโทไคนิน (cytokinin) เช่น BA (benzyladenine) รวมถึงอาหารเสริมต่าง ๆ เช่น มันฝรั่งกล้วยสุก และน้ำมะพร้าว มีงานวิจัยที่มีการศึกษาอิทธิพลออกซินและไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในระดับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาแล้วหลายชนิด เช่น ช้างพลาย (*Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl.) (อรัญญา พิมพ์มงคล และวาริณี พลสาร, 2559) เหลืองจันทร์บูร (*D. friedericksianum* Rchb. f.) (ธนชัยจารุจิต และอรัญญา พิมพ์มงคล, 2555; นายิกา สันทาร์ณัย, 2558) เอื้องสายสามสี (*D. crystallinum* Rchb.f.) (วิชญานันต์ เทียมสุวรรณ และอรัญญา พิมพ์มงคล, 2551) และเอื้องผึ้ง (*D. lindleyi* Steud.) (สุมิตรา สุป็นราช และอิศร สุป็นราช, 2557) อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ศึกษาปัจจัยการเจริญเติบโตเหล่านี้ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้

เอื้องช้างน้าวมีน้อยมาก ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA และ NAA) น้ำตาลซูโครส และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

ในสภาพธรรมชาติเมล็ดกล้วยไม้งอกได้ยากมาก เนื่องจากเมล็ดไม่มีเ็นโดสเปิร์ม (endosperm) ซึ่งเป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับการงอกของเมล็ด เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถนำมาใช้ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ได้ดี เพราะในอาหารเพาะเลี้ยงมีสารอาหารที่ช่วยในการงอกของเมล็ดได้ เมล็ดสามารถงอกได้ในอัตราที่สูง เป็นการช่วยในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ได้อีกวิธีหนึ่ง อย่างไรก็ตามพบว่ากล้วยไม้บางชนิดมีการติดฝักน้อยมากจนถึงไม่สามารถติดฝักได้เลย ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้ง ที่อากาศมีความชื้นต่ำ สภาพเช่นนี้การติดฝักจะน้อย การไม่ติดฝักจึงเป็นอุปสรรคอย่างหนึ่งในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวก็ประสบปัญหานี้เช่นเดียวกัน ดังนั้น การนำส่วนอื่นของกล้วยไม้ เช่น ช่อ หน่อ และ ใบ มาทำการเพาะเลี้ยง อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ป่า ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาอิทธิพลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงช่อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการขยายพันธุ์กล้วยไม้และการอนุรักษ์กล้วยไม้ให้เหมาะสมในอนาคตต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างและอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

1.2.3 เพื่อศึกษาอิทธิพลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงช่อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.3.1 ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ของกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวและสามารถนำไปใช้กับกล้วยไม้ชนิดอื่นได้โดยเฉพาะกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

1.3.2 ทราบถึงการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวและสามารถนำวิธีการนี้ประยุกต์ใช้กับกล้วยไม้สายพันธุ์อื่น ๆ ได้

1.3.3 สามารถเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวได้ในปริมาณมาก ๆ ในระยะเวลาอันสั้นและสามารถนำกลับคืนสู่ธรรมชาติได้ เพื่อลดปัญหากล้วยไม้เอื้องช้างน้าวใกล้จะสูญหายไปจากพื้นที่

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกในกลุ่มใบเลี้ยงเดี่ยวอยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นพืชที่มีอายุหลายปีและเป็นวงศ์ที่มีสมาชิกมากที่สุดประมาณ 25,000 ชนิด จากการรายงานของนักพฤกษศาสตร์ สามารถจำแนกกล้วยไม้ออกเป็น 20 หมู่ ประเทศไทย พบกล้วยไม้ประมาณ 1,000 ชนิด มีการเจริญเติบโตแบบแตกหน่อ (sympodial) ได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลแคทลียา และสกุลรองเท้านารี และแบบไม่แตกหน่อ (monopodial) ได้แก่ กล้วยไม้สกุลช้าง (*Rhynchostylis*) สกุลแวนด้า (*Vanda*) และสกุลกุหลาบ (*Aerides*) (ดวงพร โจรนวงศ์, 2549)

2.1 ลักษณะพื้นฐานวิทยาของกล้วยไม้

ราก (root) รากกล้วยไม้มีลักษณะคล้ายกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั่วไป ทำหน้าที่ดูดความชื้น ดูดอาหาร เกาะตามต้นไม้เพื่อให้ลำต้นสามารถทรงตัวอยู่ได้ ซึ่งสามารถจำแนกกล้วยไม้ได้หลายประเภท ตามแบบต่างๆ ของระบบราก ได้แก่ กล้วยไม้ที่มีระบบรากดิน (terrestrial) เป็นกล้วยไม้ที่เกิดจากหัวที่อยู่ใต้ดิน สามารถทนความแห้งแล้งได้ดี เช่น กล้วยไม้สกุล *Pecteilis* กล้วยไม้ที่มีระบบรากกึ่งดิน (semi terrestrial) เป็นกล้วยไม้ที่มีรากใหญ่แตกแขนงแผ่กระจายหนาแน่นสามารถเก็บสะสมน้ำได้ดี เช่น กล้วยไม้สกุล *Paphiopedilum* กล้วยไม้ที่มีระบบรากกึ่งอากาศ (semi epiphyte) มีลักษณะรากแขนงใหญ่ คล้ายพองน้ำสามารถเก็บและดูดน้ำได้ดี ผิวนอกเกลี้ยงไม่มีขน เช่น กล้วยไม้สกุล *Oncidium* และกล้วยไม้ที่มีระบบรากอากาศ (epiphyte) เป็นกล้วยไม้ที่มีระบบรากหยาบ โดยจะยึดเกาะกับต้นไม้หรือวัสดุปลูก เช่น สกุล *Vanda*

ลำต้น (stem) ประกอบด้วย ข้อหรือเรียกว่า ลำลูกกล้วย (pseudobulbs) ส่วนที่อยู่ระหว่างข้อเรียกว่า ปล้อง ลักษณะเรียวยาว ทำหน้าที่สะสมอาหาร พบว่ามีตาอยู่ตามข้อซึ่งจะสามารถพัฒนาเจริญเติบโตไปเป็นหน่อหรือเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้ เรียกว่า ตะเกียง และสามารถเจริญเติบโตไปเป็นช่อดอกได้ สามารถแบ่งลำต้นออกได้ 3 ประเภท ดังนี้

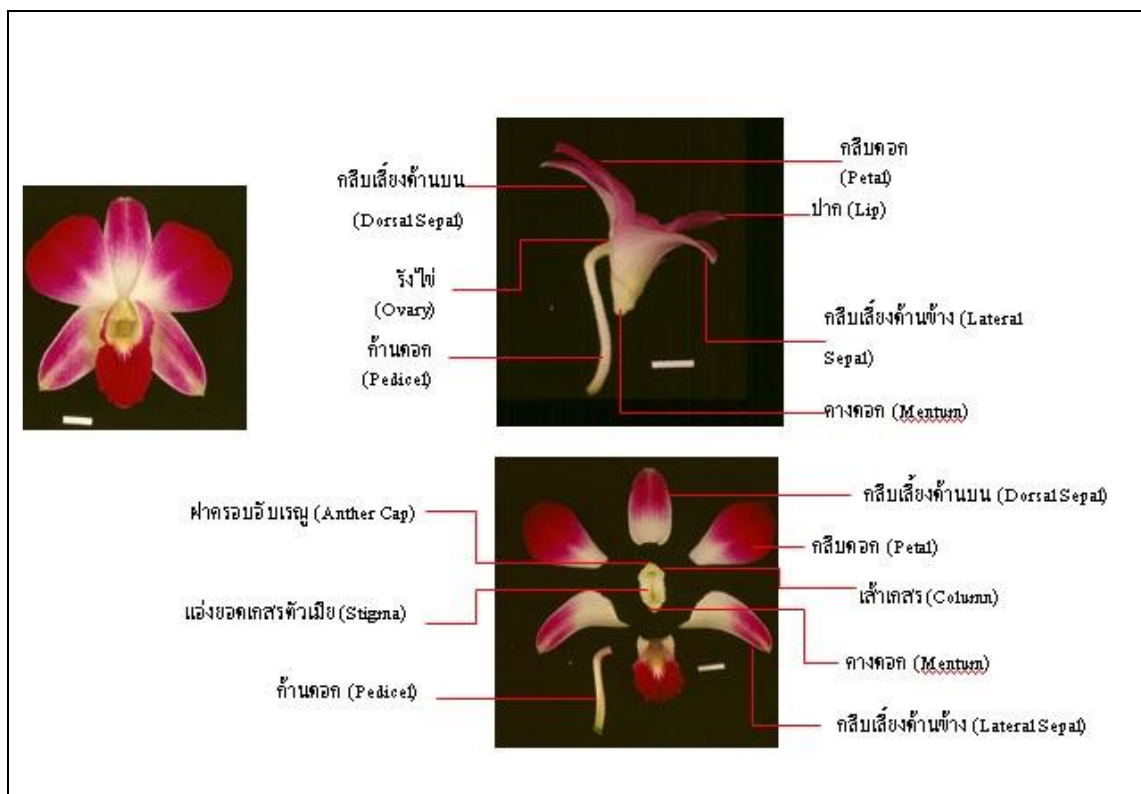
(1) แบบเหง้า (rhizome) เป็นลำต้นใต้ดินมีการเจริญเติบโตบนเศษซากวัสดุอินทรีย์ที่ปกคลุม เช่น สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*)

(2) แบบคอรัม (corm) เป็นลำต้นใต้ดินชนิดหนึ่ง ลักษณะเป็นหัวมีข้อปล้องโดย พบว่า มีหัวอยู่ใต้ดินทำหน้าที่สะสมอาหารมีลักษณะรูปร่างบวมพอง ถูกล้างใบจะหลุดร่วงและมีการพักตัว คงเหลือเฉพาะหัวที่อยู่ใต้ดิน ทนแล้งได้ดี เช่น สกุลสปาโตกลอสติส (*Spathoglottis*)

(3) แบบลำลูกกล้วย (pseudobulb) เป็นลำต้นเหนือดิน มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบ sympodial เช่น สกุลหวาย (*Dendrobium*)

ใบ (leaf) ประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ แผ่นใบ (leaf blade) มีลักษณะรูปร่างต่างกัน บางชนิดใบยาวหรือชูขึ้นและทอดขนานไปกับพื้น สีของใบทั่วไปกล้วยไม้มีสีเขียวหรือเขียวอ่อนทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและสายพันธุ์ อาทิ ใบลายมีจุดต่างบนพื้นที่ใบ เช่น กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*) นอกจากนี้ยังมีลักษณะใบเรียงสลับกันในแนวระนาบเป็น 2 แถว (distichous) เช่น สกุลแวนด้า (*Vanda*) บางชนิดมีรูปทรงกระบอกอาจมีหรือไม่มีกาบลักษณะค่อนข้างหนาและแข็ง เช่น สกุลแคทลียา (*Cattaria*) โดยจำนวนใบที่พบทั่วไปมีหลายใบและเรียงสลับกันตลอดลำต้น เมื่อลำต้นแก่ พบว่าใบและกาบใบจะหลุดร่วงเหลือคงแต่ลำลูกกล้วย เช่น สกุลหวาย (*Dendrobium*) ซึ่งบางสายพันธุ์ใบแข็ง อวบน้ำ กลางใบเป็นร่องอย่างเห็นได้ชัดและบริเวณพื้นที่ใบมีเส้นสีตามแนวยาวของใบ เช่น สกุลช้าง (*Rhychostylis*) อย่างไรก็ตาม พบว่าบางชนิดใบเรียงสลับกันซ้ายขวา ปลายใบหยุก ยาวประมาณ 15-25 เซนติเมตร เช่น สกุลกุหลาบ (*Aerides*) หรือแผ่นใบบางและหนา การเรียงตัวของเส้นใบเป็นแบบขนาน มีบางชนิดที่เป็นร่างแห เช่น สกุล *Anoectochilus* และกาบใบ (leaf sheath) คือ ส่วนที่อยู่ต่อจากแผ่นใบและทำหน้าที่ห่อหุ้มลำต้นและตาข้าง ซึ่งจะป้องกันลำต้นและใบให้ยึดติดกัน (ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์ และคณะ, 2559)

ดอก (flower) ประกอบด้วย กลีบเลี้ยง (sepal) 3 กลีบ มีลักษณะเรียงตัวอยู่นอกสุด กลีบดอก (petal) 3 กลีบ ลักษณะเป็นชั้นเรียงตัวอยู่ด้านในถัดจากกลีบเลี้ยง ประกอบด้วยกลีบดอกด้านข้าง (lateral petal) 2 กลีบที่มีลักษณะเหมือนกัน ส่วนอีก 1 กลีบ เรียกว่า กลีบปาก (lip) และเส้าเกสร (column) มีลักษณะเป็นแท่งตรงบริเวณกลางดอก ส่วนบนมีฝักเล็กๆ หรือ anther cap ปิดกลุ่มเรณู และมีแองเทอริก ภายในมีน้ำเหนียว ๆ ภายในเส้าเกสร (เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล, 2552(ก))



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของดอกกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*
ที่มา: ระพี สาคริก (2530)

ผลหรือฝักและเมล็ด ปัจจุบันกล้วยไม้แต่ละชนิดมีลักษณะไม่เหมือนกันรวมทั้งฝักหรือผลซึ่งมีขนาดรูปร่างแตกต่างกัน เมื่อฝักแก่เต็มที่จะแตกออกตามแนวยาวของฝัก โดยภายในฝัก พบว่าจะมีเมล็ดที่มีขนาดเล็ก ลักษณะเป็นผงละเอียดจำนวนมาก อย่างไรก็ตาม พบว่าธรรมชาติเมล็ดของฝักกล้วยไม้เหล่านี้มีโอกาสงอกเจริญเติบโตไปเป็นต้นใหม่ได้น้อยมาก เนื่องจากภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสมในเอนโดสเปิร์ม ดังนั้นเมล็ดที่งอกและเจริญเติบโตได้นั้นต้องมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังพบว่าภายในฝักมีลักษณะเป็นเส้นยาวสีขาวหรือเหลืองน้ำตาลอ่อนอยู่กับเมล็ด เรียกว่า spring hairs ซึ่งจะทำหน้าที่ช่วยในการแพร่กระจายของเมล็ดออกจากฝักได้ง่ายขึ้น

2.2 ลักษณะทั่วไปกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

ลักษณะทั่วไปกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบแตกหน่อ มีลำลูกกล้วยยาวเรียว ขนาด 1.5 เมตร ใบรูปใบหอก ชี้นอาศัยอยู่ตามป่าและป่าเบญจพรรณ ดอกมีขนาดใหญ่ 5-10 ดอกต่อช่อ ก้านดอกยาว 5-6 เซนติเมตร ขนาดดอกเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 เซนติเมตร ฝักกล้วยไม้ในมันวาว มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีครีมแกมชมพู กลีบปากมีขน

นุ่มและแต้มสีแดงแกมน้ำตาลทั้งสองข้าง (ภาพที่ 2.2) ออกดอกช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤษภาคมของทุกปี กระจายพันธุ์ในแถบ อินเดีย เนปาล เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และทั่วทุกภาคของประเทศไทย ตามป่าผลัดใบ หรือป่าดิบแล้ง ที่ระดับความสูง 200-1,500 เมตร (อบฉันท์ ไทยทอง, 2549)

กล้วยไม้สกุล *Dendrobium* เป็นกล้วยไม้ที่สกุลใหญ่ที่สุด ทั่วโลกพบกล้วยไม้ในสกุลนี้ถึง 900 ชนิด และประเทศไทยพบ 184 ชนิด มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนของภูมิภาคเอเชีย และมหาสมุทรแปซิฟิก (ระพี สาคริก, 2549) สำหรับในประเทศไทย พบขึ้นตามป่าดิบเขาทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตกของประเทศไทย ซึ่งพบมากที่สุดทางภาคเหนือ โดยเฉพาะตามตะเข็บรอยต่อระหว่างไทยกับพม่า มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบแตกหน่อ คือ เป็นกล้วยไม้ที่มีลำลูกกล้วยเมื่อลำต้นเจริญเติบโตเต็มที่ จะมีการแตกหน่อเป็นกอใหม่ ใบหนาแข็งสีเขียว (เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล, 2552(ข))

การจำแนกทางอนุกรมวิธาน

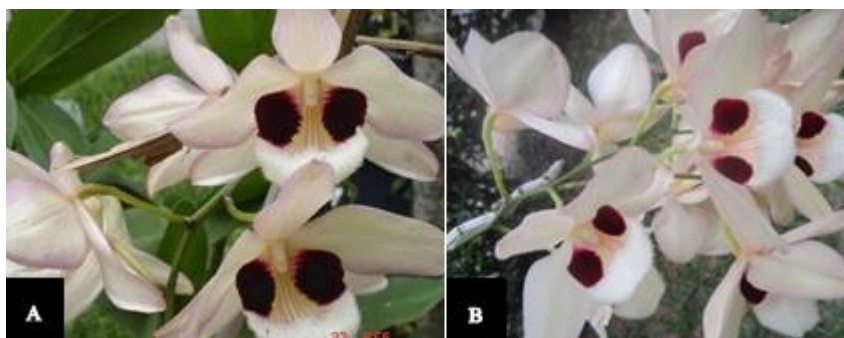
Class: Monocotyledoneas

Family: Orchidaceae

Genus: *Dendrobium*

Species: *Dendrobium pulchellum*

Scientific name: *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl.



ภาพที่ 2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเอื้องช้างน้าว (*D. pulchellum*)

ที่มา: ภาพอนุรักษ์ บุญสิทธิ (2560)

2.3 การขยายพันธุ์กล้วยไม้

การขยายพันธุ์เป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการเลี้ยงกล้วยไม้ เพราะเป็นปัจจัยที่สำคัญช่วยให้การเลี้ยงกล้วยไม้เจริญก้าวหน้าในด้านต่าง ๆ เพื่อให้กล้วยไม้สามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้ (ดวงพร โรจนวงศ์, 2549) จากการศึกษา พบว่ากล้วยไม้มีการขยายพันธุ์ได้ 2 แบบ คือ

2.3.1 การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual propagation) การขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนต่างๆ ของต้น โดยที่ไม่มีการผสมเกสร หรือการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เมล็ด ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตัดแยกลำหน้ำลำหลัง การตัดลำแก่ปักชำ การตัดยอดหรือการแยกหน่อ รวมทั้งการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น

2.3.2 การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual propagation) เป็นการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดที่ได้จากการผสมเกสร (pollination) หลังจากการผสมแล้ว ส่วนของรังไข่ (ovule) จะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปเป็นผล (fruit) ซึ่งคำศัพท์เฉพาะกล้วยไม้ เรียกว่า ฝัก (pod) ปกติธรรมชาติกล้วยไม้ป่า ถ้าเจริญเติบโตอยู่ในสภาพแวดล้อม มีความชื้นที่เหมาะสม เมล็ดสามารถงอกและเจริญเติบโตได้โดยอาศัยการเจริญร่วมกับเชื้อรา Mycorrhiza ที่อยู่ตามรากกล้วยไม้

2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง ที่อยู่ภายใต้การควบคุมให้ปลอดเชื้อ โดยการนำเอาชิ้นส่วนของพืช เช่น ยอด ลำต้น ตาข้าง ใบ อับเรณู เป็นต้น มาทำการเพาะเลี้ยงไว้บนอาหารสังเคราะห์ โดยชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญไปเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้และสามารถนำไปปลูกในสภาพแวดล้อมได้ (คำณูญ กาญจนภูมิ, 2544) ปัจจุบันสูตรอาหารที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ VW (Vacin and Went, 1949) เป็นต้น เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้ไม่สามารถงอกเองได้ตามธรรมชาติ เพราะไม่มีอาหารสะสมในเอ็นโดสเปิร์ม จึงได้มีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้เนื่องจากสามารถเพิ่มจำนวนปริมาณของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องข้างนาวได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยอาหารสังเคราะห์มาช่วยในการพัฒนา จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยแก้ไขปัญหาค่าใช้จ่ายของกล้วยไม้ที่ลดลงอย่างรวดเร็ว

2.5 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้

กล้วยไม้ เป็นพืชที่จำเป็นต้องใช้ธาตุอาหารต่าง ๆ ในการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะได้รับธาตุอาหารอย่างเพียงพอและเหมาะสมตามความต้องการ สำหรับสูตรอาหารที่นิยมในปัจจุบัน คือ สูตร MS และ VW เป็นต้น

2.5.1 องค์ประกอบของอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

2.5.1.1 เกลือแร่อนินทรีย์ (inorganic component) สามารถจำแนกได้ 2 กลุ่ม คือ ธาตุอาหารหลัก คือ ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต พืชต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ใช้ในรูป NH_4^+ หรือ NO_3^- ฟอสฟอรัส (P) ใช้ในรูป PO_4^{3-} และธาตุอาหารรอง คือ ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต พืชต้องการในปริมาณน้อย ได้แก่ แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) โบรอน (B) สังกะสี (Zn) คลอรีน (Cl) โมลิบดีนัม (Mo) (Arditti and Ernt, 1993)

2.5.1.2 น้ำตาล (sugar) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการพัฒนาและการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ เพราะเนื้อเยื่อสร้างอาหารเองไม่ได้ และมีปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด (Pierik, 1987) ปัจจุบันนิยมใช้น้ำตาลซูโครสอย่างแพร่หลายในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากหาซื้อง่ายและมีราคาถูก จากการศึกษาการเจริญเติบโตของหวายจันทร์บูรที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ กล้วยหอมบด ปริมาณ 100 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร พบว่า ส่งผลให้ลำลูกกล้วยกว้างและเพิ่มมากขึ้น และรากเจริญเติบโตดี (จักรพันธ์ วนิชกุล, 2545)

2.5.1.3 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ (organic component) สารประกอบอินทรีย์ทำหน้าที่ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในส่วนต่าง ๆ เช่น ลำต้น ใบ ราก เป็นต้น เนื่องจากสารอินทรีย์ประกอบด้วย วิตามินและกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารอินทรีย์เชิงซ้อนที่สกัดได้จากพืช จำพวก กล้วยหอมบด น้ำมะพร้าวและน้ำมันฝรั่งต้ม

1) น้ำมะพร้าว ถูกใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งช่วยในการเจริญเติบโตของพืช โดยน้ำมะพร้าวมีสารจำพวกชีวเคมีและสารต่าง ๆ หลายชนิด ได้แก่ ไซโตไคนิน คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้ดี (Shantz et al., 1959) และมีสารประกอบอื่น ๆ คือ น้ำตาลซูโครส กลูโคส แร่ธาตุต่าง ๆ ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) เหล็ก (Fe) (Jean et al., 2009)

2) วิตามิน จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เพื่อช่วยในการพัฒนาและการเจริญเติบโตให้ดีขึ้น เช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 5 วิตามินบี 2 และวิตามินอี

3) มันฝรั่ง ประกอบไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก ไอโอดีน แมกนีเซียม กรดโฟลิก วิตามินซี วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 riboflavin วิตามินบี 3 วิตามินบี 6 และยังมีโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญของเนื้อเยื่อพืช กระจาย

อยู่ในส่วนต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อพืช (Pal et al., 2008) นอกจากนี้ยังมีสารพวก polyamines ได้แก่ putrescine, spermidine และ spamine เป็นต้น สารกลุ่มนี้ มีผลต่อการเจริญและพัฒนาของเซลล์ โดยเฉพาะมีผลต่อการเพิ่มกรดนิวคลีอิก ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น (Flores and Galston, 1982)

4) กล้วยหอม มีน้ำตาลธรรมชาติ 3 ชนิด คือ ซูโครส ฟรุคโทส และ กลูโคส และมีเส้นใยและกากอาหาร นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารต่าง ๆ หลายชนิด ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามินเอ วิตามินบีและวิตามินซี (เบญจมาศ ศิลาชัย, 2545) ปัจจุบัน กล้วยถูกนำมาใช้เป็นอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้อย่างแพร่หลาย โดยใช้กล้วยหอมบดเติมลงในสูตรอาหาร จากการศึกษาของ (Seeni and Latha, 1992) โดยการเติมกล้วยหอมบด 35 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีผลชักนำให้มีจำนวนยอดสูงสุด 40 ยอด ของกล้วยไม้ *Renanthera imschootiana* Rolfe.

2.5.1.4 สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดขึ้นภายในพืชที่มีคุณสมบัติกระตุ้นหรือยับยั้งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ปัจจุบันสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช พบว่ามีหลายชนิดตามคุณสมบัติที่แตกต่างกันโดยสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช กลุ่ม ออกซิน ได้แก่ IAA, NAA และ 2,4-D ซึ่งสารกลุ่มนี้ช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์พืชและกระตุ้นการเกิดราก และกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA และ kinetin ซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และกระตุ้นการเกิดยอดหรือหน่อใหม่ของเนื้อเยื่อพืช (Gamborg, 1991)

2.5.1.5 สารและองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) วัณ ความเป็นกรด-ด่าง แสงและอุณหภูมิ

1) ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) มีคุณสมบัติดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ละเอียด มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง จึงสามารถดูดซับสารพิษ เช่น สารประกอบฟีนอล (phenol) เอทิลีน ทำให้ปริมาณสารดังกล่าวลดลง เช่น การดูดซับฮอร์โมน หรือ สารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นพิษกับเซลล์ ทำให้เจริญเติบโตได้ดี ผงถ่านจึงสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชบางชนิดที่สร้างสารพิษเหล่านี้

2) วัณ (agar) เป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่ได้จากสาหร่ายทะเล การใส่วัณลงไปในการอาหารต้องใส่ในปริมาณที่เหมาะสม ใส่มากเกินไปจะส่งผลทำให้อาหารแข็ง พืชจะสัมผัสกับอาหารได้ลดน้อยลง นอกจากนี้การดูดสารอาหารของพืชก็จะถูกจำกัดน้อยลง ส่งผลให้พืชไม่เจริญเติบโต (ดวงพร บุญชัย, 2546)

3) แสงและอุณหภูมิ (light and temperature) มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนใหญ่ความเข้มแสงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะเฉลี่ย 2,000-3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง และอุณหภูมิอยู่ที่ 22-25 องศาเซลเซียส (ครรชิต ธรรมศิริ, 2550)

2.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

2.6.1 อิทธิพลของฮอร์โมนพืชต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

สารควบคุมการเจริญเติบโต จัดเป็นกลุ่มของสารที่ได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางและเห็นผลได้ชัดเจน เช่น ออกซิน และไซโตไคนิน โดยมีคุณสมบัติกระตุ้นหรือยับยั้งต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ซึ่งมีรายละเอียดเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

Martin and Madassery (2006) ศึกษาโดยการนำใบของต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสม *Dendrobium* สายพันธุ์ Sonia 17 และ Sonia 28 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในขวด ขนาด 1.0-1.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี BA (4.44-48.8 μ m), kinetin (4.65-46.5 μ m) และ NAA (0.54-5.4 μ m) พบว่าอาหารที่เติม BA 4.44 μ m กล้วยไม้ 2 สายพันธุ์ ส่งเสริมชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุดเฉลี่ย 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นแยกยอดใหม่ไปเลี้ยงบนอาหารเดิม พบว่าสามารถชักนำให้เกิด protocorm-like bodies (PLBs) ได้มากที่สุดเฉลี่ย 8.3 และ PLBs ต่อยอด ใน Sonia 17 และ 8.1 PLBs ต่อยอด ใน Sonia 28 จากนั้น ชักนำให้ PLBs เจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ พบว่าอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติม kinetin 6.97 μ m เป็นเวลา 60 วัน มีผลชักนำเจริญให้เป็นต้นใหม่ได้ดี 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อย้ายทั้งสองสายพันธุ์ไปเลี้ยงบนอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 9.9 และ 9.5 รากต่อยอด ตามลำดับ

Rangsayatorn (2009) นำชิ้นส่วนตัดขวางของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงิน (*D. draconis* Rchb.f.) ขนาด 0.3 ถึง 0.5 มิลลิเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (1.0, 2.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) kinetin (1.0, 2.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ NAA (0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าอาหารที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้เกิด PLBs ดีที่สุด 68 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำต้นอ่อนที่พัฒนาจาก PLBs มาเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่มีฮอร์โมนที่เติมน้ำตาล 0 10 และ 20 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลชักนำให้มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยดีที่สุด 9.40 เซนติเมตร จำนวนใบ 4.7 ใบต่อต้น จำนวนราก 6.7 รากต่อต้น และความยาวราก 3.5 เซนติเมตร

Vajayakamar et al. (2012) ศึกษาการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มจากเมล็ดให้พัฒนาเป็นยอดและรากอย่างมีประสิทธิภาพในกล้วยไม้เอื้องผึ้ง (*D. aggregatum*) จากฝักอ่อน 120 ฝัก อายุ 120 วัน หลังจากการถ่ายละอองเรณูมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS โดยเลี้ยงบนอาหารที่มี benzyl amino purine (BAP) เพียงอย่างเดียวหรือ BAP ร่วมกับ NAA และน้ำมะพร้าว หรือสูตรอาหารเดียวกันโดยศึกษาการเพิ่มจำนวนความสูง และการเกิดรากของต้นอ่อน สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนโปรโตคอร์ม จำนวนต้น ความสูงของต้น และการเกิดรากได้ดีที่สุดหลังจากการปรับสภาวะแวดล้อมและการอนุบาลต้นอ่อนเป็นเวลา 1 เดือน พบว่ามีต้นที่รอดชีวิต 95 เปอร์เซ็นต์

วิชญานันต์ เทียมสุวรรณ (2551) ศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการเลี้ยงโปรโตคอร์มเอื้องสายสามสี (*D. crystallinum* Rchb.f.) โดยเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ด ในอาหาร MS ที่เติม (NAA; 0.0 1.0 2.5 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA; 0.0, 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า อาหารที่ไม่มีการเติม BA แต่มีการเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ขนาดโปรโตคอร์ม น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของโปรโตคอร์มดีกว่าอาหารเติมเฉพาะ BA และอาหารที่มีการเติม BA ร่วมกับ NAA โดย อาหารที่เติม NAA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มมีขนาด และน้ำหนักสดดีที่สุด โดยมีขนาดโปรโตคอร์ม 23.43 มม. และน้ำหนักสด 6.68 กรัม และในอาหารที่มีการเติมอาหารที่เติม NAA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 0.2347 กรัม

สุมิตรา สุปินราช และอิศร์ สุปินราช (2557) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องผึ้ง (*D. lindleyi* Steud.) โดยนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร VW อายุ 8 สัปดาห์ มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้จำนวนราก จำนวนใบ จำนวนหน่อและน้ำหนักสด เฉลี่ยต่อต้นสูงสุดคือ 20.4 ราก 20.7 ใบ 1.37 หน่อ และ 1 กรัม ตามลำดับ ขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงหน่อเฉลี่ยมากที่สุดคือ 2.11 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวใบเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.45 เซนติเมตร และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดต่อรากคือ 2.08 เซนติเมตร ตามลำดับ

นายิกา สันทาร์นัย (2558) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เหลืองจันทร์ พบว่า กล้วยไม้เหลืองจันทร์ (*D. fredericksianum* Rchb.f.) จากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 3.89 ยอด และศึกษาสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม Thidiazuron (TDZ) 0.5, 1 และ 2 ไมโครลิตร พบว่า สูตรอาหารที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเฉลี่ย 4.75 ยอดต่อชิ้นและสามารถชักนำให้เกิดการยึดของลำต้นได้สูงสุดเฉลี่ย 4.75 เซนติเมตร

2.6.2 อิทธิพลของน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

น้ำตาล (sugar) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญชนิดหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด และการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้จึงจำเป็นต้องใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน (Pierik, 1987) ซึ่งความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้หลายชนิด ซึ่งมีรายละเอียดเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

Faria et al. (2004) ศึกษาความแตกต่างของระดับน้ำตาลต่อการงอกของรากและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *D. nobile* Lindl. โดยนำต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาดความสูง 1.92 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 0, 5, 10, 20, 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ที่ pH 5.8 พบว่าอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด 4.21 เซนติเมตร มีการเกิดยอดใหม่ 4 ยอดต่อต้น และมีน้ำหนักสดดีที่สุด 171.7 มิลลิกรัมต่อต้น

Senavongse et al. (2014) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องนางชีในหลอดทดลอง โดยนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชี เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีที่สุดและนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 6 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีที่สุด

Samala et al. (2015) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้สิงโตพินจักรภายใต้สภาวะปลอดเชื้อโดยการนำแคลลัสกล้วยไม้สิงโตพินจักรอายุ 4 สัปดาห์ มาเลี้ยงบนสูตรอาหารแข็ง ½ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบระหว่าง การเติมและไม่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ มีการเพิ่มปริมาณแคลลัสได้สูงกว่าอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าว ซึ่งน้ำหนักสดมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างเห็นได้ชัด

ธนชัย จารุจิต (2555) ศึกษาอิทธิพลระดับน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เหลืองจันทร์พุด ความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาหารทุกสูตรเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร กล้วยหอมสับ 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่งสับ 50 กรัมต่อลิตร และเติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีความสูงของยอดเฉลี่ย 3.86 เซนติเมตร น้ำหนักสด 0.78 กรัมต่อต้น จำนวนราก 15.76 รากต่อต้น และความยาวราก 3.32 เซนติเมตร

สุรัชย์ แก้วสีสุข (2558) ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่ออัตราการงอกของ เมล็ดกล้วยไม้ นำฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยง มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่า อาหารที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอก 95.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวนต้น 10.69 ต้นต่อขวด และความสูงต้น 0.73 เซนติเมตร จากนั้น นำต้นอ่อนที่มีขนาดความสูง 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีและไม่มีอาหารเสริมร่วมกับ น้ำตาลความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าอาหารที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนต้นมากที่สุด 6.5 ต้นต่อขวด และส่งเสริมให้มีความสูงต้น 4.07 เซนติเมตร ส่วนสูตรอาหารที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนใบมากที่สุด 20.10 ใบต่อต้น ขณะที่ สูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำตาล พบว่าสามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากสูงที่สุด 5.11 รากต่อขวด นอกจากนี้ ยังสามารถส่งเสริมให้มีความยาวรากดีที่สุด 1.61 เซนติเมตร เช่นกัน

ปลายฝัน จันทรแสง (2560) ศึกษาต้นอ่อนกล้วยไม้สิงโตนกเหยี่ยวใหญ่ อายุ 5 เดือน เลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้นต่างกัน (0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 กรัมต่อลิตร) ที่ไม่เติมและเติมอาหารเสริม (น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร) ผลการทดลองพบว่า มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด (100 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตรร่วมกับอาหารเสริม พบว่า มีความสูงของต้นสูงสุด (1.57 ± 0.43 เซนติเมตร) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ไม่เติมน้ำตาล ซูโครสและไม่เติมอาหารเสริม พบว่า มีจำนวนใบสูงสุด (5.83 ± 1.72 ใบ) ความกว้างใบสูงสุด (0.78 ± 0.24 เซนติเมตร) และจำนวนรากสูงสุด (11.00 ± 2.34 ราก) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตรที่เติมอาหารเสริม พบว่า มีความยาวใบสูงสุด (1.01 ± 0.15 เซนติเมตร) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตรที่ไม่เติมอาหารเสริม ในขณะที่ความยาวรากสูงสุด (2.53 ± 1.19 เซนติเมตร) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตรร่วมกับอาหารเสริม

2.6.3 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้

ปัจจุบัน การติดฝักของกล้วยไม้ป่าทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะในสกุลหวาย พบว่ามีปริมาณลดน้อยลง ทั้งนี้อาจเกิดจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น สภาพแวดล้อมที่แห้งแล้ง ความชื้นน้อย ส่งผลทำให้ช่อดอกไม่ติดฝัก จึงนำส่วนอื่น ๆ (ข้อ) ของกล้วยไม้มาทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องรายละเอียด ดังนี้

Pyati et al. (2002) ศึกษาการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวาย *macrostachyum* นำชิ้นส่วนลำต้น มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 2.22, 4.44 และ 8.88 ไมโครกรัม kinetin 2.32, 4.65 และ 9.29 ไมโครกรัม น้ำมะพร้าว 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ และ NAA 2.69 ไมโครกรัม ผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่เติม BA 4.44, kinetin 4.65 และน้ำมะพร้าว

ส่งเสริมชักนำให้มีจำนวนต้นสูงสุด 6 ต้นต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้สูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5 รากต่อต้น

Shiau et al. (2005) ศึกษาการเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรจีนของ *Dendrobium candidum* wall ex lindl. จากกลุ่ม axenic โดยใช้หน่อที่เกิดจากต้นกล้าในหลอดทดลอง ที่ได้จากเมล็ดอายุ 120 วันหลังจากผสมเกสรบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง 4 เดือน แล้วนำต้นกล้าที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันที่เติม I-1 HYPONEX 1 มิลลิกรัมต่อลิตร homogenate มันสำปะหลังและถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ผลการทดลอง พบว่า หน่อที่ได้จากต้นกล้าอายุ 9 เดือน ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง 75 วัน พบว่าชิ้นส่วนพืชสามารถแตกตาหรือหน่อยาวเพิ่มขึ้น

Tan chin et al. (2011) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการงอกของแคลลัสที่ได้จากใบและลำต้นกล้วยไม้สกุล *Vanilla planifolia* นำชิ้นส่วนแคลลัสที่ได้จากลำต้นและใบเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำชิ้นส่วนใบที่เกิดจากแคลลัส มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลอง พบว่าสูตรอาหารที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนแคลลัสมากที่สุดคือ 4.2 ต้นต่อแคลลัส และมีความยาว 3.80 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 88.30 เปอร์เซ็นต์ หลังเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ ส่วนสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้รากได้ดีที่สุด 90.00 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาว 4.4 เซนติเมตร หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ศักดิ์นันท์ จันทคนานุรักษ์ (2559) ศึกษาศักยภาพการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของวานิลลา (*Vanilla planifolia*) โดยนำชิ้นส่วนปลายยอด ช่อ และตาข้าง มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติมสารในกลุ่มไซโตไคนิน kinetin, zeatin และ TDZ หรือสารตั้งต้นของไซโตไคนิน เช่น adenine sulfate หรือสารอินทรีย์ที่ได้จากพืช เช่น น้ำมะพร้าว ผลการทดลอง พบว่ายอดวานิลลาที่เกิดขึ้นสามารถเกิดรากได้ง่ายในอาหารสังเคราะห์ที่มีหรือไม่มีการเติมสารในกลุ่มออกซิน พบว่าต้นอ่อนวานิลลามีอัตราการรอดชีวิต 85-95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พืชทดลอง

3.1.1 กลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว ขนาดความสูง 0.5 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี

3.1.2 กล้วยไม้เอื้องช้างน้าวที่ปลูกเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์

3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.1.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS

3.2.1.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช BA (Benzyladenine) และ NAA (∞ -Naphthalene acetic acid)

3.2.1.3 สารประกอบอินทรีย์ที่ใช้ร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal, AC) และผงวุ้น

3.2.1.4 อาหารเสริม ได้แก่ มันฝรั่ง กล้วยหอม และน้ำมะพร้าว

3.2.1.5 สารเคมีที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อ ได้แก่ 70 เปอร์เซ็นต์ ethyl alcohol และ Haite

3.2.1.6 สารเคมีสำหรับปรับความเป็นกรด-ด่าง ได้แก่ 1 N NaOH และ 1 N HCl

3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเตรียมอาหารและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่

หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ตู้อบ (hot air oven) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) เครื่องชั่ง (balance) ตู้เย็น ปีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต แท่งแก้วคนสาร และขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่

ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow) ตะเกียงแอลกอฮอล์ มีดผ่าตัด ปากคิ๊บ และ Petri dish

3.2.3 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีหลอดฟลูออเรสเซนต์ชนิดแสงสีขาวขนาด 36 วัตต์ ชนิด day light ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

3.2.4 อุปกรณ์บันทึกภาพและผลการทดลอง

3.3 วิธีการวิจัย

3.3.1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, NAA และอาหารเสริมต่อการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

นำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวขนาดความสูง 0.5 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่ม 0.5 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3.1) ที่มีและไม่มีอาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทุกสูตรอาหารเติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร จำนวน 10 ข้ำ นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวโดยนับ จำนวนต้น ความสูงของต้น เส้นผ่านศูนย์กลางของกอ จำนวนราก และความยาวราก

ตารางที่ 3.1 สูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

BA (mg/l) \ NAA (mg/l)	0	1	2	4
0	BN1	BN2	BN3	BN4
0.5	BN5	BN6	BN7	BN8
1	BN9	BN10	BN11	BN12

3.3.2 อิทธิพลของน้ำตาลซูโครสที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ และอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของ ช้างน้ำ

นำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำขนาดความสูง 0.5 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่ม 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}MS$ ที่เติมน้ำตาลซูโครส 0, 10, 20, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ที่มีและไม่มีอาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร) เติมน้ำ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร จำนวน 10 ข้าง นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำโดยนับ จำนวนต้น ความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางกอก จำนวนราก และความยาวราก

3.3.3 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงช็อกกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำ

3.3.3.1 การฟอกฆ่าเชื้อ และการชักนำให้เกิดหน่อ

นำลำต้นกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำที่ปลูกในสภาพธรรมชาติมาล้างทำความสะอาด ตัดเป็นท่อนให้มีขนาดความยาวท่อน 3 เซนติเมตร แช่สารกันรา (Farmer Cap 50) ความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร เติมน้ำ 10 หยด และ tween20 3-4 หยด บนเครื่องเขย่า (shaker) ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นแช่ในสารฟอกฆ่าเชื้อ Haiteer ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที ตามด้วย 5 เปอร์เซ็นต์ 10 นาที หยด tween20 3-4 หยด วางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 rpm ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ย้ายตัวอย่างมาวางบน Petri dish ปลอดเชื้อ ตัดข้อให้มีขนาดความยาวของข้อ 0.5 เซนติเมตร เลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}MS$ เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์

3.3.3.2 อิทธิพลของ BA ต่อการเพาะเลี้ยงช็อกกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำ

นำหน่อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำที่เจริญเติบโตจากข้อ 3.3.3.1 ที่มีขนาดความสูงหน่อประมาณ 4 เซนติเมตร แบ่งข้อออก 3 ส่วน คือ ส่วนโคนหน่อ (B) ส่วนกลางหน่อ (M) และส่วนปลายหน่อ (T) แต่ละส่วนให้มีขนาดความยาวข้อ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}MS$ ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร จำนวน 6 ข้าง นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 เดือน บันทึกผลการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำโดยนับ จำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบ

3.3.4 วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD)

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, NAA และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว

นำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกลุ่ม 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีและไม่มีอาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ วัดการเจริญเติบโตโดยนับจำนวนต้นต่อขวด วัดความสูงของต้น วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอ นับจำนวนราก และนับความยาวราก

จากการทดลองนำกลุ่มต้นอ่อนที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่เติมอาหารเสริม ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางกอ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงชนิดเดียว ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุด คือ 70.33 ต้นต่อขวด และสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีความสูงต้นสูงสุดคือ 2.25 เซนติเมตร นอกจากนี้สูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางกอใหญ่ที่สุดคือ 1.80 เซนติเมตร โดยทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำให้เกิดราก (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1)

ส่วนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลอง พบว่าจำนวนต้น ความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางกอ จำนวนราก และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียว ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุดคือ 12.25 ต้นต่อขวด และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมที่มี BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีความสูงต้นสูงสุดคือ 1.63 เซนติเมตร และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมที่มี BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางกอใหญ่ที่สุดคือ 1.81 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมที่มี BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มี

จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด คือ 9.25 รากต่อขวดและอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมที่มี BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีความยาวรากสูงสุดคือ 2.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.2)

4.2 ผลการศึกษาอิทธิพลระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

นำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกลุ่ม 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร ยกเว้นสูตรควบคุมที่ไม่มีการเติมน้ำตาล ที่มีและไม่มีอาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ วัดการเจริญเติบโตโดยการนับจำนวนต้น ความสูงของต้น เส้นผ่านศูนย์กลางกอ จำนวนราก และความยาวราก

จากการทดลองนำกลุ่มต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่เติมอาหารเสริม พบว่าจำนวนต้น ความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางกอ จำนวนราก และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุดคือ 12.50 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีความสูงต้นสูงสุดคือ 1.05 เซนติเมตร และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ชักนำให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางกอใหญ่ที่สุด คือ 1.80 เซนติเมตร ขณะที่อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนรากสูงสุดคือ 6.00 รากต่อขวด และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ชักนำให้มีความยาวรากสูงสุดคือ 2.00 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3)

ส่วนกลุ่มต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีการเติมอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ จากการทดลอง พบว่าจำนวนต้น ความสูงต้น และจำนวนราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนต้นสูงสุดคือ 6 ต้นต่อขวด และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีความสูงต้นสูงสุดคือ 0.98 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมร่วมกับน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนรากสูงสุด คือ 10.60 รากต่อขวด นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางกอ และความยาวราก ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางกอเฉลี่ยใหญ่ที่สุดคือ 0.96 เซนติเมตร และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร ชักนำให้มีความยาวรากสูงสุดคือ 0.65 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.4)

4.3 ผลการศึกษาอิทธิพลสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำ

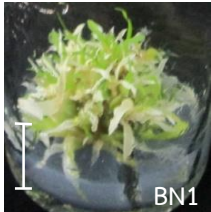
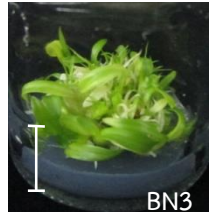
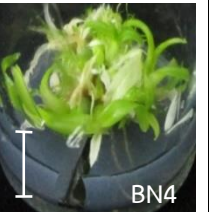
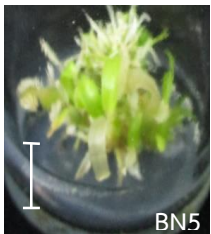
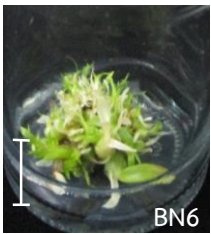
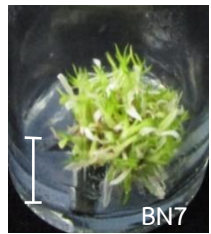
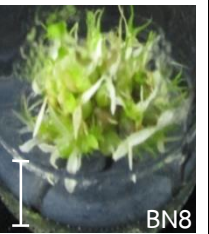
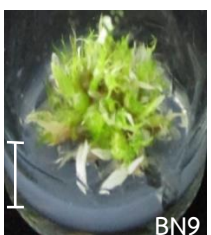
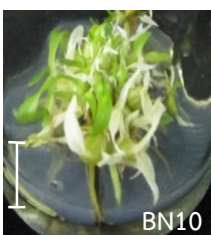
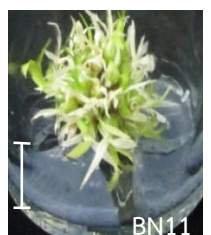
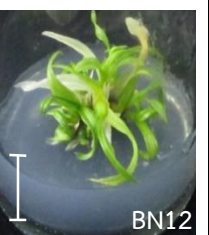
การเพาะเลี้ยงข้อได้แบ่งข้อออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนโคน (B: Basal node) ส่วนกลาง (M: Middle node) และส่วนปลาย (T: Terminal node) ของหน่อ แต่ละส่วนตัดให้มีขนาดความยาวข้อ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}MS$ ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าจำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบของทุกชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในทุกความเข้มข้นของ BA ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ยกเว้นอาหารสูตร $\frac{1}{2}MS$ ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ความสูงของต้นของข้อส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนปลายมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่ข้อส่วนโคนมีความสูงมากที่สุด คือ 1.66 เซนติเมตร รองลงมาคือส่วนกลาง และ ส่วนปลาย คือ 0.83 และ 0.53 เซนติเมตร ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้ยังส่งเสริมให้จำนวนต้นของข้อส่วนโคนที่ดีที่สุด คือ 3.00 ต้นต่อขวด ส่วนอาหารสูตร $\frac{1}{2}MS$ ที่เติม BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนรากส่วนโคนหน่อดีที่สุด คือ 6.33 เซนติเมตร และอาหารสูตร $\frac{1}{2}MS$ ที่เติม BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีความยาวรากส่วนโคนหน่อและปลายหน่อดีที่สุด คือ 4.46 เซนติเมตร นอกจากนี้ อาหารสูตร $\frac{1}{2}MS$ ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนใบส่วนโคนหน่อ ดีที่สุด คือ 3.66 ใบต่อขวด

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี Two-way ANOVA หาความสัมพันธ์ระหว่างชิ้นส่วนของกล้วยไม้กับสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าชิ้นส่วนของกล้วยไม้และความเข้มข้นของสูตรอาหาร ไม่มีความสัมพันธ์หรืออิทธิพลต่อจำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบ (ตารางที่ 4.5 และ 4.6 และภาพที่ 4.4)

ตารางที่ 4.1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของข้างน้ำวบนสูตรอาหาร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริมเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Treatments	BA:NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนต้นเฉลี่ยต่อขวด ± S.E.	ความสูงเฉลี่ยของต้น (เซนติเมตร) ± S.E.	เส้นผ่านศูนย์กลางกอเฉลี่ย (เซนติเมตร) ± S.E.
BN1	0:0	69.85±8.07 ^a	1.70±0.16 ^e	1.72±0.14 ^{ab}
BN2	1:0	63.62±7.85 ^{ab}	1.76±0.11 ^{fe}	1.28±0.07 ^{de}
BN3	2:0	70.33±7.11^a	1.98±0.14 ^{cb}	1.11±0.16 ^e
BN4	4:0	50.66±3.51 ^c	1.87±0.19 ^{edc}	1.70±0.12 ^{ab}
BN5	0:0.5	41.33±4.45 ^d	1.80±0.10 ^{fed}	1.41±0.14 ^{cd}
BN6	1:0.5	36.60±3.28 ^d	1.95±0.21 ^{cb}	1.27±0.17 ^{de}
BN7	2:0.5	57.00±7.00 ^{cb}	2.10±0.17 ^{cb}	1.80±0.10^a
BN8	4:0.5	39.80±5.63 ^d	2.01±0.16 ^{cb}	1.54±0.31 ^{bc}
BN9	0:1	39.60±4.82 ^d	1.94±0.12 ^{cb}	1.38±0.20 ^{cd}
BN10	1:1	33.00±4.52 ^d	1.99±0.17 ^{cb}	1.11±0.26 ^e
BN11	2:1	37.66±5.13 ^d	2.25±0.15^a	1.62±0.10 ^{ab}
BN12	4:1	27.80±4.49 ^e	1.91±0.19 ^{ecd}	1.10±0.28 ^e
F-test		*	*	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมต์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

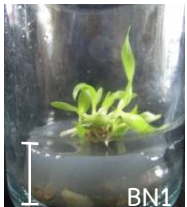
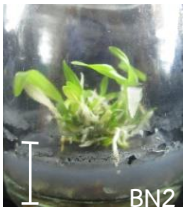
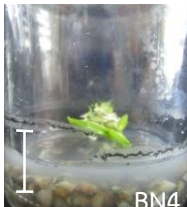
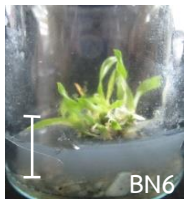
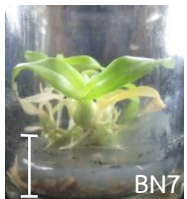
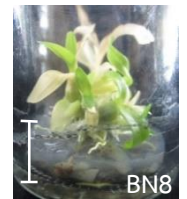
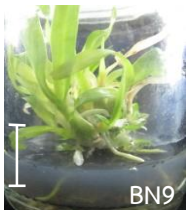
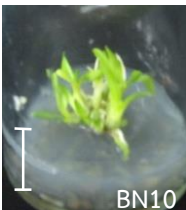
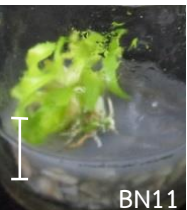
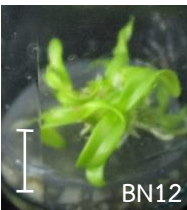
BA (mg/l) NAA (mg/l)				
	0	1	2	4
0				
0.5				
1				

ภาพที่ 4.1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนอาหาร 1/2MS ที่ไม่เติมอาหารเสริม เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Scale bar = 1.0 เซนติเมตร)

ตารางที่ 4.2 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของช่ำนาวบนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมอาหารเสริม เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Treatments	BA:NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนต้นต่อขวด ± S.E.	ความสูงของต้น (เซนติเมตร) ± S.E.	เส้นผ่านศูนย์กลางกอก (เซนติเมตร) ± S.E.	จำนวนรากต่อขวด ± S.E.	ความยาวราก (เซนติเมตร) ± S.E.
BN1	0:0	3.70±1.88 ^f	1.23±0.88 ^{ab}	1.11±0.47 ^{bc}	3.14±0.69 ^{cd}	0.88±0.59 ^{de}
BN2	1:0	5.00±1.00 ^{def}	0.90±0.61 ^{bc}	1.05±0.49 ^{bc}	2.71±0.75 ^{cd}	0.73±0.41 ^{de}
BN3	2:0	2.90±1.59 ^f	0.82±0.27 ^{bc}	1.09±0.22 ^{bc}	3.33±1.65 ^{cd}	0.74±0.30 ^{de}
BN4	4:0	2.70±1.56 ^f	0.60±0.21 ^c	0.93±0.25 ^{bc}	3.20±1.39 ^{cd}	0.56±0.22 ^{de}
BN5	0:0.5	6.83±1.60 ^{bcd}	0.61±0.30 ^c	0.84±0.30 ^c	3.50±1.77 ^{bcd}	0.48±0.26 ^e
BN6	1:0.5	5.11±1.69 ^{cdef}	0.83±0.29 ^{bc}	1.01±0.26 ^{bc}	5.33±2.06 ^b	0.84±0.32 ^{de}
BN7	2:0.5	4.75±0.95 ^{ef}	0.91±0.28 ^{bc}	1.04±0.53 ^{bc}	4.00±0.89 ^{bcd}	1.02±0.59 ^{cd}
BN8	4:0.5	7.50±1.29 ^{bc}	1.63±0.31^a	1.81±0.34^a	9.25±2.98^a	2.10±0.60^a
BN9	0:1	12.25±1.89^a	1.45±0.54 ^a	1.78±0.40 ^a	4.50±1.37 ^{bc}	1.45±0.59 ^{bc}
BN10	1:1	9.16±2.48 ^b	1.47±0.61 ^a	1.58±0.37 ^a	4.00±1.26 ^{bcd}	1.65±0.86 ^{ab}
BN11	2:1	6.88±2.42 ^{bcd}	0.60±0.17 ^c	1.24±0.22 ^b	2.44±1.42 ^d	1.05±0.42 ^{cd}
BN12	4:1	7.25±2.25 ^{bcd}	0.66±0.05 ^c	1.05±0.27 ^{bc}	4.37±1.99 ^{bcd}	1.00±0.33 ^{cd}
F-test		*	*	*	*	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมต์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง ของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

BA (mg/l) \ NAA (mg/l)	0	1	2	4
0	 BN1	 BN2	 BN3	 BN4
0.5	 BN5	 BN6	 BN7	 BN8
1	 BN9	 BN10	 BN11	 BN12

ภาพที่ 4.2 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Scale bar = 1.0 เซนติเมตร)

ตารางที่ 4.3 อิทธิพลของระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของช้างน้ำหนักตัวอาหาร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริม เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

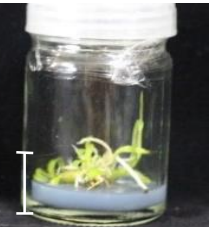
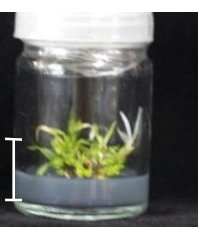
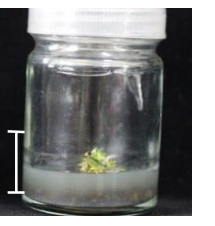
Treatments	ปริมาณที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	จำนวนต้นต่อขวด ± S.E.	ความสูงต้น (เซนติเมตร) ± S.E.	เส้นผ่านศูนย์กลางกอ (เซนติเมตร) ± S.E.	จำนวนรากต่อขวด ± S.E.	ความยาวราก (เซนติเมตร) ± S.E.
½MS	0	3.00±1.00 ^d	0.50±0.21 ^d	0.62±0.15 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^e
½MS	10	11.00±0.57 ^a	0.62±0.18 ^{cd}	1.16±0.32 ^b	2.00±0.00 ^b	2.00±0.00 ^a
½MS	20	12.50±0.70 ^a	1.05±0.47 ^a	1.80±0.23 ^a	4.00±2.44 ^{ab}	1.50±0.29 ^b
½MS	30	5.33±1.00 ^c	0.81±0.48 ^{bc}	0.87±0.33 ^{bc}	4.75±0.54 ^{ab}	0.68±0.13 ^d
½MS	40	3.71±0.95 ^d	0.93±0.55 ^{bc}	1.08±0.52 ^b	6.00±0.81 ^a	1.14±0.27 ^{bc}
½MS	50	7.00±0.81 ^b	0.94±0.70 ^b	1.03±0.45 ^{bc}	4.00±0.84 ^{ab}	0.86±0.25 ^{cd}
F-test		*	*	*	*	*

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 4.4 อิทธิพลของระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำบนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมอาหารเสริมชนิดต่างๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Treatments	ปริมาณที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	จำนวนต้นต่อขวด ± S.E.	ความสูงต้น (เซนติเมตร) ± S.E.	เส้นผ่านศูนย์กลางกอ (เซนติเมตร) ± S.E.	จำนวนรากต่อขวด ± S.E.	ความยาวราก (เซนติเมตร) ± S.E.
½MS	0	5.00±1.09 ^a	0.61±0.37 ^{ab}	0.67±0.23	3.00±0.81 ^b	0.42±0.09
½MS	10	6.00±1.41^a	0.98±0.48^a	0.96±0.23	4.40±1.67 ^b	0.47±0.28
½MS	20	3.00±1.58 ^{bc}	0.71±0.45 ^{ab}	0.66±0.19	4.60±2.30 ^b	0.48±0.24
½MS	30	3.00±1.22 ^{bc}	0.34±0.15 ^b	0.73±0.38	3.66±2.08 ^b	0.54±0.33
½MS	40	1.75±0.95 ^c	0.46±0.11 ^b	0.66±0.20	4.00±1.00 ^b	0.58±0.21
½MS	50	4.33±1.34 ^{ab}	0.50±0.17 ^b	0.70±0.19	10.60±2.70^a	0.65±0.17
F-test		*	*	ns	*	ns

หมายเหตุ: * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมต์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

Sucrose (g/l)	0	10	20	30	40	50
$\frac{1}{2}$ MS						
$\frac{1}{2}$ MS+Supplement						

ภาพที่ 4.3 อิทธิพลของระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆ (0 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร) ต่อการเจริญเติบโตกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว บนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมและไม่เติมอาหารเสริม (supplement) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Scale bar = 2.0 เซนติเมตร)

ตารางที่ 4.5 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA บนสูตรอาหาร ½MS ความเข้มข้น 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้ เอื้องช้างน้ำพาเลี้ยง เป็นเวลา 10 เดือน

BA (mg/l)	จำนวนต้นต่อขวด			ความสูงต้น (เซนติเมตร)		
	B	M	T	B	M	T
2.5	2.00±0.00 ^{NS, ns}	2.66±1.52 ^{NS, ns}	2.00±1.00 ^{NS, ns}	1.00±0.45 ^{NS, ns}	0.76±0.47 ^{NS, ns}	0.50±0.10 ^{NS, ns}
5	3.00±0.00 ^{NS, ns}	2.00±1.00 ^{NS, ns}	1.66±0.57 ^{NS, ns}	1.66±0.72 ^{A, ns}	0.83±0.49 ^{AB, ns}	0.53±0.05 ^{B, ns}
10	2.50±2.12 ^{NS, ns}	2.33±0.57 ^{NS, ns}	1.66±0.57 ^{NS, ns}	0.60±0.14 ^{NS, ns}	0.60±0.17 ^{NS, ns}	0.60±0.10 ^{NS, ns}

หมายเหตุ B คือ Basal node

M คือ Middle node

T คือ Terminal node

ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยอักษรอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติในแนวนอน และอักษรตัวพิมพ์เล็กเป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

NS, ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 4.6 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA บนสูตรอาหาร ½MS ความเข้มข้น 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำพาเลี้ยง เป็นเวลา 10 เดือน

BA (mg/l)	จำนวนราก			ความยาวราก (เซนติเมตร)			จำนวนใบ		
	B	M	T	B	M	T	B	M	T
2.5	6.33±3.05 ^{NS, ns}	5.66±2.88 ^{NS, ns}	2.33±2.08 ^{NS, ns}	4.46±3.30 ^{NS, ns}	3.90±3.13 ^{NS, ns}	4.46±0.42 ^{NS, ns}	2.33±0.57 ^{NS, ns}	3.00±0.00 ^{NS, ns}	2.33±0.57 ^{NS, ns}
5	6.00±1.00 ^{NS, ns}	3.00±0.00 ^{NS, ns}	2.00±1.00 ^{NS, ns}	3.36±3.19 ^{NS, ns}	0.86±0.28 ^{NS, ns}	1.26±1.15 ^{NS, ns}	3.66±2.08 ^{NS, ns}	3.00±0.00 ^{NS, ns}	3.00±0.00 ^{NS, ns}
10	4.00±1.41 ^{NS, ns}	3.33±2.31 ^{NS, ns}	3.33±1.52 ^{NS, ns}	4.00±1.48 ^{NS, ns}	3.33±2.70 ^{NS, ns}	3.33±0.97 ^{NS, ns}	3.00±1.41 ^{NS, ns}	3.00±1.00 ^{NS, ns}	3.00±0.00 ^{NS, ns}

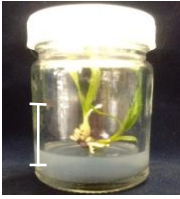
หมายเหตุ B คือ Basal node

M คือ Middle node

T คือ Terminal node

ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติในแนวนอน และอักษรตัวพิมพ์เล็กเป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติในแนวตั้ง

NS, ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

BA (mg/l)	B	M	T
2.5			
5			
10			

ภาพที่ 4.4 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (B คือ Basal node M คือ Middle node T คือ Terminal node) บนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว เป็นเวลา 10 เดือน (Scale bar = 2.35 เซนติเมตร)

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

5.1 อภิปรายผลการศึกษา

5.1.1 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, NAA และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้าง

สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดขึ้นภายในพืชที่มีคุณสมบัติกระตุ้นหรือยับยั้งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ปัจจุบันสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช พบว่า มีหลายชนิดตามคุณสมบัติที่แตกต่างกันโดยสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช กลุ่ม auxin ได้แก่ IAA, NAA และ 2,4-D ซึ่งสารกลุ่มนี้ช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์พืชและกระตุ้นการเกิดราก และ cytokinin ได้แก่ BA และ kinetin ซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และกระตุ้นการเกิดยอดหรือหน่อใหม่ของเนื้อเยื่อพืช (Gamborg, 1991) จากการทดลองนำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างนำที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีและไม่มีอาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทุกสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางกอ ของแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ผลการทดลอง พบว่าทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ เช่น จากรายงานของ วิษญานันต์ เทียมสุวรรณ (2551) ได้ศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการเลี้ยงโปรโตคอร์มเอื้องสายสามสี (*Dendrobium crystallinum* Rchb.f.) โดยเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ด ในอาหาร MS ที่เติม NAA; 0.0, 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA; 0.0, 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารที่ไม่มีการเติม BA แต่มีการเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ขนาดโปรโตคอร์ม น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของโปรโตคอร์มดีกว่าอาหารเติมเฉพาะ BA และอาหารที่มีการเติม BA ร่วมกับ NAA โดยอาหารที่เติม NAA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มมีขนาด และน้ำหนักสดดีที่สุด โดยมีขนาดโปรโตคอร์ม 23.43 มม. และน้ำหนักสด 6.68 กรัม และในอาหารที่มีการ

เติมอาหารที่เติม NAA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 0.2347 กรัม

อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองในครั้งนี้แม้ว่าอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ไม่สามารถหรือส่งเสริมชักนำให้เกิดรากได้แต่พืชก็สามารถเจริญเติบโตในส่วนจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้นและเส้นผ่านศูนย์กลางกอกของแต่ละสูตรอาหารได้ดีและสูตรที่เติมอาหารเสริมสามารถชักนำให้เกิดรากได้แต่จำนวนรากและความยาวรากยังไม่ดีเนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน มีหน้าที่ส่งเสริมการแบ่งเซลล์และกระตุ้นการขยายตัวของเซลล์รวมทั้งส่งเสริมการสร้างยอดใหม่ ซึ่งการเพิ่มอัตราความเข้มข้นฮอร์โมนไซโตไคนิน ส่งผลทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างหน่อใหม่ แต่การพัฒนาของรากไม่ดีอาจเป็นเพราะตาข้างมีการนำอาหารจากส่วนต่าง ๆ ของพืชมาใช้เพื่อกระตุ้นการพัฒนาให้เกิดเป็นหน่อใหม่ ดังนั้นการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวควรเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตและอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืชที่นำมาเลี้ยง อวัยวะพืช ชิ้นส่วนพืช และความเข้มข้นที่ใช้ การตอบสนองของพืชก็จะแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการทดลองในครั้งนี้ พบว่ากลุ่มต้นอ่อนการพัฒนาของรากยังไม่ดีเท่าที่ควรเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริม แต่จำนวนต้นอ่อนที่ได้ นั้น พบว่าต้นอ่อนมีจำนวนมากซึ่งเราสามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากได้ในภายหลัง โดยใช้ฮอร์โมนพืชชนิดอื่น ๆ ในการชักนำให้เกิดราก และสามารถนำไปใช้สำหรับการขยายพันธุ์ต่อไป

5.1.2 การศึกษาอิทธิพลระดับน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว

น้ำตาล (sugar) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญชนิดหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด และการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้จึงจำเป็นต้องใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน (Pierik, 1987) ซึ่งระดับความเข้มข้นน้ำตาลส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้หลายชนิด เช่น กล้วยไม้สิงโตพินจักร (Samala et al., 2015) กล้วยไม้เอื้องนางชี (Senavongse et al., 2014) ซึ่งจากการทดลองในกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวครั้งนี้ พบว่าเมื่อนำกลุ่มต้นอ่อนขนาดความสูง 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลความเข้มข้นต่างๆ คือ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร ที่มีและไม่มีอาหารเสริม พบว่าจำนวนเส้นผ่านศูนย์กลางกอก ความสูงของต้น จำนวนต้นต่อขวด จำนวนรากต่อขวด และความยาวรากแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนเส้นผ่านศูนย์กลางกอกสูงสุด 1.80 เซนติเมตร ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 1.05 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อขวด เฉลี่ยสูงสุด 12.50 เซนติเมตร โดยอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากต่อขวดได้ดีที่สุด คือ

6.00 เซนติเมตร และอาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ส่งผลชักนำให้มีความยาวรากสูงสุด 2.00 เซนติเมตร

ส่วนสูตรอาหาร ½MS ที่มีการเติมอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนเส้นผ่านศูนย์กลางกอ ความสูงของต้น จำนวนต้นต่อขวด จำนวนรากต่อขวด และความยาวราก แต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยทุกสูตรอาหาร ½MS ที่เติมอาหารเสริมร่วมกับน้ำตาลซูโครส ชักนำให้เส้นผ่านศูนย์กลางกอ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) คือ 0.96 เซนติเมตร ในขณะที่อาหารสูตร ½MS ที่เติมอาหารเสริมที่มีน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้มีความสูงต้นสูงที่สุดคือ 0.98 เซนติเมตร และจำนวนต้นต่อขวดสูงที่สุดคือ 6.00 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตร ½ MS ที่เติมอาหารเสริมร่วมกับน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนรากต่อขวดสูงที่สุด คือ 10.60 จากการรายงานของ ธนชัย จารุจิต (2555) ได้ศึกษาอิทธิพลระดับน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เหลืองจันทร์พุด ความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาหารทุกสูตรเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสับ 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่งสับ 50 กรัมต่อลิตร และเติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีความสูงของยอดเฉลี่ย 3.86 เซนติเมตร น้ำหนักสด 0.78 กรัมต่อต้น จำนวนราก 15.76 รากต่อต้น และความยาวราก 3.32 เซนติเมตร

จากผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าอาหารสูตรที่ไม่เติมน้ำตาลรวมทั้งสูตรอาหารที่มีและไม่มีการเติมอาหารเสริมต้นอ่อนมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าสูตรอาหารที่มีการเติมน้ำตาลแต่ต้นอ่อนก็สามารถเจริญเติบโตได้ อาจเกิดจากอัตราการเจริญเติบโตของพืชจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น และการเติมอาหารเสริมร่วมกับน้ำตาลซูโครสมีสารอาหารมากเกินไปส่งผลให้พืชมีการชะงักการเจริญเติบโต

5.1.3 การศึกษาอิทธิพลสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงช่อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำ

การเพาะเลี้ยงช่อได้แบ่งช่อออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนโคน (B: Basal node) ส่วนกลาง (M: Middle node) และส่วนปลาย (T: Terminal node) แต่ละส่วนให้มีขนาดความยาวช่อ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าจำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยอาหารสูตร ½MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีจำนวนต้นและความสูงต้นส่วนโคนหน่อดีที่สุด คือ 3.00 ต้นต่อขวด และ 1.66 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตร ½MS ที่เติม BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนรากส่วน

โคนหน่อดีที่สุด คือ 6.33 เซนติเมตร และอาหารสูตร ½MS ที่เติม BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีความยาวรากส่วนโคนหน่อและปลายหน่อดีที่สุด คือ 4.46 เซนติเมตร นอกจากนี้ อาหารสูตร ½MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนใบส่วนโคนหน่อ ดีที่สุด คือ 3.66 ใบต่อช่อด

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี Two-way ANOVA เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างชิ้นส่วนของกล้วยไม้กับสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าชิ้นส่วนของกล้วยไม้และความเข้มข้นของสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลต่อจำนวนต้น ความสูงของต้น จำนวนราก ความยาวราก และจากการทดลองนำข้อมูลมาเพาะเลี้ยงในครั้งนี้ พบว่าอัตราการงอกและเจริญเติบโตดี ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากข้อของแต่ละส่วนมีความแข็งแรงจึงทำให้มีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ดีและเป็นส่วนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตาม ผลการทดลอง พบว่าจำนวนหน่อใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อในสูตรอาหาร ½MS ที่เติม BA 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังได้จำนวนน้อย ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงข้อให้ได้จำนวนต้นมาก ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร รวมทั้งการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น

5.2 สรุปผลการศึกษา

5.2.1 ผลการศึกษานิธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, NAA และอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำ

สูตรอาหาร ½MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีและไม่มีอาหารเสริมทุกสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนต้นต่อช่อด ความสูงของต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางกอก ของแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพบว่าอาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริมมี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุด 70.33 ต้นต่อช่อด อาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีความสูงของต้นสูงสุด 2.25 เซนติเมตร และอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอกใหญ่ที่สุดคือ 1.80 เซนติเมตร อย่างไรก็ตาม อาหารทุกสูตรที่ไม่เติมอาหารเสริมไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้

ส่วนสูตรอาหาร ½MS ที่มีการเติมอาหารเสริม พบว่าอาหารที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงชนิดเดียว ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุดคือ 12.25 ต้นต่อช่อด อาหารที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีความสูงต้นสูงสุด 1.63 เซนติเมตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกอกใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.81 เซนติเมตร มีจำนวนรากสูงสุด คือ 9.25 รากต่อช่อด และมีความยาวรากสูงสุด 2.10 เซนติเมตร

5.2.2 ผลการศึกษาอิทธิพลระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ และอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำ

สูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลความเข้มข้นต่างๆ คือ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตรที่มีและไม่มีอาหารเสริม พบว่ามีจำนวนเส้นผ่านศูนย์กลาง ความสูงของต้น จำนวนต้นต่อขวด จำนวนรากต่อขวด และความยาวรากของแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพบว่าอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่ไม่เติมอาหารเสริมที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุด 1.80 ต้นต่อขวด ความสูงของต้นสูงสุด 1.05 เซนติเมตรขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอใหญ่ที่สุดคือ 12.50 เซนติเมตร อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนรากสูงสุด 6.00 รากต่อขวด และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีความยาวรากสูงสุด 2.00 เซนติเมตร

ส่วนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีการเติมอาหารเสริมที่มีน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตรส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุด 6.00 ต้นต่อขวด ความสูงของต้นสูงสุด 0.98 เซนติเมตรและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอใหญ่ที่สุดคือ 0.96 เซนติเมตร อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนรากสูงสุด 10.60 รากต่อขวด และส่งเสริมให้มีความยาวรากสูงสุด 0.65 เซนติเมตร

5.2.3 ผลการศึกษาอิทธิพลสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำ

การเพาะเลี้ยงข้อได้แบ่งข้อออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนโคน (B: Basal node) ส่วนกลาง (M: Middle node) และส่วนปลาย (T: Terminal node) ของหน่อแต่ละส่วนให้มีขนาดความยาวข้อ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าจำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี Two-way ANOVA เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างชิ้นส่วนของกล้วยไม้กับสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าชิ้นส่วนของกล้วยไม้และความเข้มข้นของสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลต่อจำนวนต้น ความสูงของต้น จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

- ญานูวรรณ ดวงขาว. (2559). “การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ”, การขยายพันธุ์พืช.
<https://sites.google.com/site/yanuwan0000/home>. 23 สิงหาคม, 2559.
- คำณูณ กาญจนภูมิ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.
- จักรพันธ์ วนิชกุล. ผลของน้ำตาลทราย กล้วยหอมและมันฝรั่ง ต่อการเจริญเติบโตของลูกกล้วยไม้
 หวายเหลืองจันทร์บูร (Dendrobium friedericksianum Rchb.f.) ในสภาพปลอด
 เชื้อ. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2545.
- ดวงพร บุญชัย. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* ในสภาพปลอดเชื้อ.
 วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.
- ดวงพร ไรจนวงศ์. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้ออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้
 ลูกผสมฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis silky Moon*). วิทยานิพนธ์ปริญญา
 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2549.
- ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์. ความหลากหลายกล้วยไม้ในศูนย์การศึกษาสามพร้าว มหาวิทยาลัยราชภัฏ
 อุดรธานี. อุดรธานี: ศรีอักษรการพิมพ์, 2559.
- ธนชัย จารุจิต. อิทธิพลของ NAA BA อาหารเสริม น้ำตาลซูโครสและอุณหภูมิต่อการเจริญของต้น
 อ่อนเหลืองจันทร์บูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.). วิทยานิพนธ์
 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2555.
- ธนชัย จารุจิต และอรัญญา พิมพ์มงคล. “อิทธิพลของ NAA BA อาหารเสริม น้ำตาลซูโครสและ
 อุณหภูมิต่อการเจริญของต้นอ่อนเหลืองจันทร์บูร (*Dendrobium friedericksianum*
 Rchb. f.)”, ใน การประชุมวิชาการ มอบ. วิจัย ครั้งที่ 6. น. 62-68. อุบลราชธานี:
 มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2555.
- นายิกา สันทาร์นัย. “การศึกษาสูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลือง
 จันทร์บูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.) ในหลอดทดลอง”, ใน การประชุม
 วิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 2. น. 155-161. นครราชสีมา:
 วิทยาลัยนครราชสีมา, 2558.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- ปลายฝัน จันทรแสง และคณะ. “อิทธิพลของน้ำตาลซูโครสและอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สิงโตนกเหยี่ยวใหญ่ (*Bulbophyllum putidum*) ในหลอดทดลอง INFLUENCES OF SUCROSE AND SUPPLEMENTS ON IN VITRO SEEDLING GROWTH OF *Bulbophyllum putidum*”, ใน การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติการวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 8. น. 367-373. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2560.
- ระพี สาคริก. การขยายพันธุ์กล้วยไม้. กรุงเทพฯ: ศิระ, 2530.
- . กล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มต้น. กรุงเทพฯ: ศิระ, 2549.
- วิชชานันต์ เทียมสุวรรณ. อิทธิพลของ NAA BA น้ำตาลซูโครส และอาหารเสริมต่อการเจริญของโปรโตคอร์มเอื้องสายสามสี (*Dendrobium crystallinum* Rchb.f.). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2551.
- วิชชานันต์ เทียมสุวรรณ และอริญญา พิมพ์มงคล. “อิทธิพลของ NAA BA น้ำตาลซูโครส และอาหารเสริมต่อการเจริญของโปรโตคอร์มเอื้องสายสามสี (*Dendrobium crystallinum* Rchb.f.)”, ใน การประชุมวิชาการ มอ. วิจัย ครั้งที่ 2. น. 309-314. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2551.
- ศักดิ์นันท์ จันทกานารักษ์. “ศักยภาพการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ”, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 18 (2): 74-87; พฤษภาคม, 2559.
- เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล. กล้วยไม้ไทย (Orchids in Thailand). กรุงเทพฯ: เศรษฐศิลป์, 2552.(ก)
- . ร้อยพรรณพฤกษา กล้วยไม้ดอกหอม. กรุงเทพฯ: เศรษฐศิลป์, 2552.(ข)
- สุรัชย์ แก้วสีสุข. อิทธิพลของความเข้มข้นน้ำตาลและอาหารเสริมต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดและต้นอ่อนกล้วยไม้กะเหรี่ยง (*Cymbidium finlaysonianum*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2558.
- สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2535). “พ.ร.บ. พันธุ์พืชกับการค้าและการอนุรักษ์พืชป่าที่ใกล้จะสูญพันธุ์”, กองคุ้มครองสัตว์ป่าและพืชป่าตามอนุสัญญา.
http://www.sa.ac.th/biodiversity/contents/7result/result072_3.htm.
 12 มิถุนายน, 2559.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. **คู่มือศึกษากล้วยไม้ป่า**. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์
การเกษตรแห่งประเทศไทย, 2551.
- สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. **กล้วยไม้ไทย 1 (Thai Native Orchids 1)**. เชียงใหม่:
วนิดาการพิมพ์, 2551.
- สุมิตรา สุปินราช และอิศร สุปินราช. “ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องผึ้ง
(*Dendrobium lindleyi* Steud.) ในสภาพปลอดเชื้อ”, **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา**.
19(12): 84-92; กรกฎาคม, 2557.
- อบฉันท ไทยทอง. **กล้วยไม้เมืองไทย**. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน, 2543.
- อรัญญา พิมพ์มงคล และวาริณี พาละสาร. “อิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเจริญของโปรโตคอร์
กล้วยไม้ช้างพลาย (*Rhynchostylis gigantea* Lindl. Ridl.)”, ใน **การประชุมวิชาการ
ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สร. ครั้งที่ 7**. น. 352-358. อุบลราชธานี:
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2559.
- Arditti, J. and Ernst, R. **Micropropagation of Orchids**. New York: John Wiley & Son,
1993.
- Flores, H. E. and Galston, A. W. “Analysis of Polyamines in Higher Plants by High
Performance Liquid Chromatography”, **Plant physiology**. 69(3): 701–706;
March, 1982.
- Faria, R.T. and et al. “*In vitro Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different
sucrose concentrations”, **Horticultura Brasileira**. 22(4): 780-783; March,
2004.
- Gamborg, O. L. “Media Preparation”, **Plant Tissue Culture Manual**. 50: 1-24;
January, 1991.
- Jean W. H. Y. and et al. “The Chemical Composition and Biological Properties of
Coconut (*Cocos nucifera* L.)”, **Molecules**. 14:5144- 5164; December, 2009.
- Murashige, T. and Skoog, F. “A revised medium for rapid growth and bioassays with
tobacco tissue cultures”, **Physiology Plant**. 15: 473-497; April, 1962.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Martin, K. P. and Madassery, J. “Rapid in vitro propagation of *Dendrobium* hybrids through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm-like bodies”, **Scientia Horticulture**. 10(108): 95-99; October, 2006.
- Pierik, R. L. M. ***In vitro Culture of Higher Plants***. Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1987.
- Pal, S. and et al. “Chemical Composition of Potato at Harvest and After Cold Storage”, **International Journal of Vegetable Science**. 14(2): 162-176; October, 2008.
- Pyati, A. N, Murthy, H. N and Hahn, E. J. “In vitro propagation of *Dendrobium macrostachyum* Lindl. a the cutened Orchid”, **Indian Journal Experimental Biology**. 40: 620-623; May, 2002.
- Tan, B. C., Chin, C. F. and Alderson, P. “Optimisation of plantlet regeneration from leaf and nodal derived callus of *Vanilla planifolia* Andrews. Plant Cell”, **plant cell tissue organ culture**. 105: 457-463; November, 2010.
- Rangsayatorn, N. “Micropropagation of *Dendrobium draconis* Rchb.f. from thin cross-section culture”, **Scientia Horticulture**. 30(122): 662-662; June, 2009.
- Samala, S., Pattarakulpisutti, P. and Yenchon, Y. “In vitro propagation of *Bulbophyllum dentiferum* Ridl”, **Khon Kaen Agriculture Journal**. 43(2): 277-284; January, 2015.
- Senavongse, R., Saesouk, P. and Saensouk, S. “In vitro tissue culture of *Dendrobium kontumense* Gagnep”, **KKU Research Journal**. 19(3): 399-413; January, 2014.
- Seeni, S. and Latha, P. G. “Foliar regeneration of the endangered Red Vanda, *Renanthera imschootiana* Rolfe (Orchidaceae)”, **Plant cell tissue and organ culture**. 29(3): 167-172; June, 1992.
- Shiau, Y. H., Malawade, S. M. and Hsia, C. N. “In vitro propagation of the Chinese medical Plant, *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindll., from axenic nodal segments”, **In vitro cellular & developmental biology – plant**. 41: 666-670; September, 2005.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Shantz, E. M., Pollard, J. K and Steward, F. C. “The growth Promoting activity of coconut milk the nature of the active fraction”, **Plant Physiology**. 34: 8-9; July, 1959.
- Vijayakumar, S., Rajalkshmi, P. and Kalimuthu, K. “Propagation of *dendrobium Aggregatum* through the culture of immature seeds from green capsules”, **Lankesteriana**. 12(2): 131- 135; January, 2012.
- Vacin, E. F. and Went, F. W. “Some pH changes in nutrient solutions”, **Botanical Gazette Journal**. 110: 605-613; January, 1949.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ผลงานที่ตีพิมพ์



ประมวลบทความในการประชุมทางวิชาการระดับชาติ

มอว.วิจัย ครั้งที่ 11

อาคารเทพรัตนสิริปภา มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

13-14 กรกฎาคม 2560

ผลงานนำเสนอแบบโปสเตอร์

PROCEEDINGS



อิทธิพลของ BA NAA และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าว
(*Dendrobium pulchellum* Roxb. ex. Lindl.)
Effects of BA, NAA and Supplements on Growth and Development of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex. Lindl. Seedlings

ภาณุกรณ์ บุญสิทธิ์ , อรุณญา พิมพ์มงคล*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

*E-mail : arunya.p@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (benzyladenine) NAA (naphthalene acetic acid) ความเข้มข้นต่างๆ และอาหารเสริม ต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้าว (*Dendrobium pulchellum* Roxb. ex. Lindl.) โดยนำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่ม 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงลงบนสูตรอาหาร ½MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีและไม่มีอาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริมที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุด 70.33 ต้นต่อขวด อาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีความสูงของต้นสูงสุด 2.25 เซนติเมตร และอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอใหญ่ที่สุดคือ 1.80 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามอาหารทุกสูตรที่ไม่เติมอาหารเสริมไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ส่วนสูตรอาหาร ½MS ที่มีการเติมอาหารเสริม พบว่าอาหารที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียว ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุดคือ 12.25 ต้นต่อขวด อาหารที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีความสูงต้นสูงสุด 1.63 เซนติเมตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกอใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.81 เซนติเมตร มีจำนวนรากสูงสุด คือ 9.25 รากต่อขวด และมีความยาวรากสูงสุด 2.10 เซนติเมตร

คำสำคัญ : เอื้องช้างน้าว Benzyladenine Naphthaleneacetic acid การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Abstract

The objective of this research was to study effects of different concentrations of BA (benzyladenine), NAA (naphthalene acetic acid) and supplements on growth and development of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex. Lindl. seedlings. The experiments were conducted by culturing of 0.5 cm. in diameter of the seedling groups on ½MS (Murashige and Skoog, 1962) containing various concentrations of BA (0, 1, 2 and 4 mg/l) combined with NAA (0, 0.5 and 1 mg/l). These media were supplemented with or without mixture of 50 g/l potato, 50 g/l banana and 150 ml/l coconut water. The seedlings were cultured for 12 weeks. For the media without the supplements, it was showed that ½MS added with 2 mg/l BA only could promote the highest shoot number, 70.33 shoots/bottle. The medium added with 2 mg/l BA and 1 mg/l NAA stimulated the highest plant height, 2.25 cm. The widest diameter of seedling group, 1.80 cm., was promoted by the medium contained 2 mg/l BA and 0.5 mg/l NAA. However, the media without supplements could not generate any root. For ½MS containing the supplements, the results displayed that the highest shoot number, 12.25 shoots/bottle, was induced by 1 mg/l NAA only. The medium containing 4 mg/l BA and 0.5 mg/l NAA could stimulate the highest seedling height, 1.63 cm., the widest seedling group, 1.81 cm., the highest root number, 9.25 roots/bottle, and the highest root length, 2.10 cm.

Keywords : *Dendrobium pulchellum* Roxb, Benzyladenine, Naphthaleneacetic acid, plant tissue culture

บทนำ

เอื้องช้างน้าว (*Dendrobium pulchellum*) หรือเอื้องคำตาควาย เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยอยู่ในวงศ์กล้วยไม้ Orchidaceae มีลักษณะรูปร่างรี พบในแถบอินเดีย เนปาล เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และทุกภาคของประเทศไทยตามป่าผลัดใบ และป่าดิบแล้ง (กล้วยไม้ไทย 1, 2551) ออกดอกช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน ลักษณะเด่นของดอกกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว คือ กลีบดอกมีน้ำตาหรือม่วงแดง กลีบปากมีขนนุ่มและกลิ่นหอม (อบฉันท, 2543) โดยแตกต่างจากกล้วยไม้สายพันธุ์อื่น กล้วยไม้ชนิดนี้ได้รับความนิยม เนื่องจากปลูกง่ายมีดอกสีสวยงามส่งผลทำให้มีการลักลอบนำกล้วยไม้ออกจากแหล่งธรรมชาติเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้การตัดไม้ทำลายป่า บุกรุกถางป่าเป็นอีกสาเหตุที่ส่งผลต่อจำนวนประชากรเอื้องช้างน้าวลดลงอย่างรวดเร็ว (สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2537) การจัดการปัญหาเหล่านี้มีหลากหลายวิธีการ เช่น การเพิ่มจำนวนพื้นที่ป่า การรวบรวมแหล่งพันธุ์กล้วยไม้ ในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) ช่วยในการเพิ่มจำนวนพืชอย่างแพร่หลาย โดยการนำส่วนต่างๆ ของพืชเช่น ลำต้น ใบ ผล เมล็ด และส่วนอื่นๆ มาเลี้ยงบนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณพืชในระยะเวลาอันสั้น อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้ประสบผลสำเร็จนั้นต้องอาศัยปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น สูตรอาหารเหมาะสมรวมทั้งการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต ในกลุ่มออกซิน (auxin) เช่น NAA (naphthalene acetic acid) และไซโทไคนิน (cytokinin) เช่น BA (benzyladenine) รวมถึงอาหารเสริมต่างๆ เช่น มันฝรั่ง กล้วยสุก และน้ำมะพร้าว มีงานวิจัยที่ศึกษาอิทธิพลของออกซินและไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในระดับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาแล้วหลายชนิด เช่น ช้างพลาย (*Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl.) (อรัญญาและวาริณี, 2559) เหลืองจันทร์บูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. F.) (ธนชัยและอรัญญา, 2555; นาอิกา, 2558) เอื้องสายสามสี (*Dendrobium crystallinum* Rchb.f.) (วิชชญาณันต์และอรัญญา, 2551) และเอื้องผึ้ง (*Dendrobium lindleyi* Steud.) (สมิตรา และอัคร, 2557) อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ศึกษาปัจจัยการเจริญเติบโตเหล่านี้ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวมีน้อยมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ต่อการเจริญเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อเดิมอาหารเสริมและไม่เติมอาหารเสริมบนสูตรอาหาร 1/2MS ซึ่งจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการขยายพันธุ์กล้วยไม้และการอนุรักษ์กล้วยไม้ให้เหมาะสมในอนาคตต่อไปได้

วิธีการวิจัย

1. พืชทดลอง

ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว (*Dendrobium pulchellum* Roxb. ex. Lindl.) ความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตร 1/2MS (Murashige and Skoog, 1962) ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี

2. วิธีการวิจัย

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่ม 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร 1/2MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีและไม่มีอาหารเสริม (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทุกสูตรอาหารเติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 500 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร จำนวน 10 ข้ำ นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกจำนวนต้น ความสูงของต้น เส้นผ่านศูนย์กลางของกอ จำนวนรากและความยาวราก ใช้แผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการวิจัย

จากการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้าวที่ไม่เติมอาหารเสริม โดยนำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงลงบนสูตรอาหาร 1/2MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางของกอ ของแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองพบว่า ทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดยที่อาหารสูตร 1/2MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 70.33 ต้นต่อขวด อาหาร

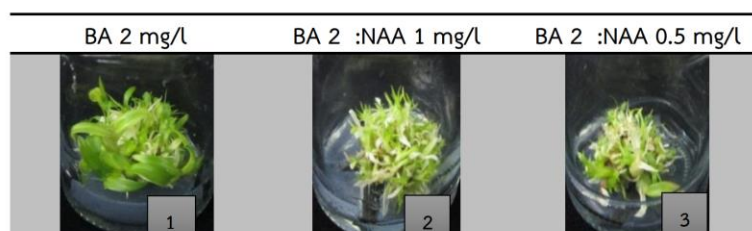
สูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีความสูงของต้นเฉลี่ยสูงสุด 2.25 เซนติเมตร และอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกอใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.80 เซนติเมตร (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1)

ส่วนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีการเติมอาหารเสริมชนิดต่างๆ (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า จำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น เส้นผ่านศูนย์กลางกอ จำนวนรากต่อขวด และความยาวรากของแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียว ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุดคือ 12.25 ต้นต่อขวด อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมอาหารเสริมที่มี BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 1.63 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกอใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.81 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดคือ 9.25 เซนติเมตร และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.10 เซนติเมตร (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของช่ำนาวที่ไม่เติมอาหารเสริมบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Treatments	BA:NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนต้นต่อขวด	ความสูงของต้น (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางกอ (เซนติเมตร)
BN1	0:0	69.85±8.07 ^a	±1.700.16 ^e	±1.720.14 ^{ab}
BN2	1:0	7.85±63.62 ^{ab}	1.76±0.11 ^{fe}	1.28±0.07 ^{de}
BN3	2:0	70.33±7.11^a	1.98±0.14 ^{cb}	0.16±1.11 ^e
BN4	4:0	50.66±3.51 ^c	1.87±0.19 ^{edc}	1.70±0.12 ^{ab}
BN5	0:0.5	41.33±4.45 ^d	1.80±0.10 ^{fed}	1.41±0.14 ^{cd}
BN6	1:0.5	36.60±3.28 ^d	1.95±0.21 ^{cb}	1.27±0.17 ^{de}
BN7	2:0.5	57.00±7.00 ^{cb}	2.10±0.17 ^{cb}	1.80±0.10^a
BN8	4:0.5	39.80±5.63 ^d	2.01±0.16 ^{cb}	1.54±0.31 ^{bc}
BN9	0:1	39.60±4.82 ^d	1.94±0.12 ^{cb}	0.20±1.38 ^{cd}
BN10	1:1	33.00±4.52 ^d	1.99±0.17 ^{cb}	1.11±0.26 ^e
BN11	2:1	37.66±5.13 ^d	2.25±0.15^a	1.62±0.10 ^{ab}
BN12	4:1	27.80±4.49 ^e	1.91±0.19 ^{ecd}	1.10±0.28 ^e
F-test		*	*	*

หมายเหตุ* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของช่ำนาวที่ไม่เติมอาหารเสริมบนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

ตารางที่ 2 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของขั้วนำที่ติดอาหารเสริมบนสูตรอาหาร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

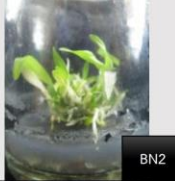
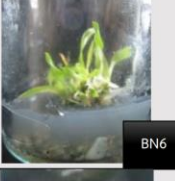
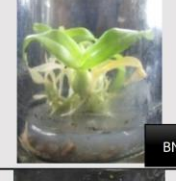
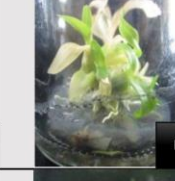
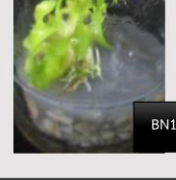
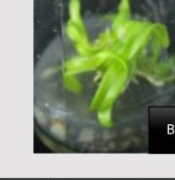
Treatments	BA:NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนต้นต่อ ขวด	ความสูงของต้น (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางกอก (เซนติเมตร)	จำนวนรากต่อขวด	ความยาวราก (เซนติเมตร)
BN1	0:0	3.70±1.88 ^f	0.88±1.23 ^{ab}	0.47±1.11 ^{bc}	3.14±0.69 ^{cd}	0.88±0.59 ^{de}
BN2	1:0	5.00±1.00 ^{def}	0.90±0.61 ^{bc}	1.05±0.49 ^{bc}	2.71±0.75 ^{cd}	0.73±0.41 ^{de}
BN3	2:0	2.90±1.59 ^f	0.27±0.82 ^{bc}	0.22±1.09 ^{bc}	3.33±1.65 ^{cd}	0.74±0.30 ^{de}
BN4	4:0	2.70±1.56 ^f	0.60±0.21 ^c	0.93±0.25 ^{bc}	3.20±1.39 ^{cd}	0.56±0.22 ^{de}
BN5	0:0.5	6.83±1.60 ^{bcd}	0.61±0.30 ^c	0.84±0.30 ^c	3.50±1.77 ^{bcd}	0.48±0.26 ^e
BN6	1:0.5	5.11±1.69 ^{cdef}	0.83±0.29 ^{bc}	1.01±0.26 ^{bc}	5.33±2.06 ^b	0.84±0.32 ^{de}
BN7	2:0.5	4.75±0.95 ^{ef}	0.91±0.28 ^{bc}	1.04±0.53 ^{bc}	4.00±0.89 ^{bcd}	1.02±0.59 ^{cd}
BN8	4:0.5	7.50±1.29 ^{bc}	1.63±0.31 ^a	1.81±0.34 ^a	9.25±2.98 ^a	2.10±0.60 ^a
BN9	0:1	12.25±1.89 ^a	0.54±1.45 ^a	0.40±1.78 ^a	4.50±1.37 ^{bc}	1.45±0.59 ^{bc}
BN10	1:1	9.16±2.48 ^b	0.61±1.47 ^a	1.58±0.37 ^a	4.00±1.26 ^{bcd}	1.65±0.86 ^{ab}
BN11	2:1	6.88±2.42 ^{bcd}	0.17±0.60 ^c	1.24±0.22 ^b	2.44±1.42 ^d	1.05±0.42 ^{cd}
BN12	4:1	7.25±2.5± ^{bcd}	0.66±0.05 ^c	0.27±1.05 ^{bc}	4.37±1.99 ^{bcd}	1.00±0.33 ^{cd}
F-test		*	*	*	*	*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

(+) หมายถึง สูตรอาหาร ½ MS ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีการเติมอาหารเสริม มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

BA mg/l \ NAA mg/l	BA mg/l			
	0	1	2	4
0	 BN1	 BN2	 BN3	 BN4
0.5	 BN5	 BN6	 BN7	 BN8
1	 BN9	 BN10	 BN11	 BN12

ภาพที่ 2 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของขั้วนำที่ติดอาหารเสริมบนสูตรอาหาร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

สารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดขึ้นภายในพืชที่มีคุณสมบัติกระตุ้นหรือยับยั้งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ปัจจุบันสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชพบว่า มีหลายชนิดตามคุณสมบัติที่แตกต่างกัน โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช กลุ่ม ออกซิน ได้แก่ IAA , NAA และ 2,4-D ซึ่งสารกลุ่มนี้ช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์พืชและกระตุ้นการเกิดราก และกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA และ kinetin ซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และกระตุ้นการเกิดยอดหรือหน่อใหม่ของเนื้อเยื่อพืช (Gamborg, 1991) จากการทดลองนำกลุ่มต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริม ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียว มีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 70.33 ต้นต่อขวด อาหารสูตร ½MS ที่ไม่เติมอาหารเสริม ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 2.25 เซนติเมตร และอาหารสูตร ½MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1.83 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตรที่เติมอาหารเสริมชนิดต่างๆ (มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอม บด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียว มีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ 12.25 ต้นต่อขวด อาหารสูตร ½MS ที่มี BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 1.63 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยสูงสุด 1.81 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด คือ 9.25 เซนติเมตร และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.10 เซนติเมตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนวัสดุสารเคมีและสถานที่สำหรับทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ธนชัย จารุจิต และ อรุณญา พิมพ์มงคล. (2555). อิทธิพลของ NAA BA และน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญของต้นอ่อนเหลืองจันทร์บูร. การประชุมวิชาการ ม.อบ.วิจัย. 25-27 กรกฎาคม (ครั้งที่ 6), หน้า 62-68.
- นายิกา สันธารนัย. (2558). การศึกษาสูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร. การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 2 . หน้า 155- 162 .
- วิชญานันต์ เทียมสุวรรณ และ อรุณญา พิมพ์มงคล.(2551). ผลของ NAA และ BA ต่อการเลี้ยงโปรโตคอร์มเอื้องสายสามสี. ประชุมวิชาการ ม.อบ.วิจัย. 28-29 กรกฎาคม (ครั้งที่ 2), หน้า 309-376.
- สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2537). พ.ร.บ. พันธุ์พืช. 2518. กับการค้าและการอนุรักษ์พืชป่าที่ใกล้จะสูญพันธุ์. สืบค้นเมื่อ 12 กุมภาพันธ์ 2559, จาก www.sa.ac.th/biodiversity/contents/7result/result072_3.html.
- สุมิตรา สุป็นราช และ อิศร์ สุป็นราช. (2557). ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้เอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 19 (ฉบับที่ 2) หน้า 84-92.
- อบฉัตร ไทยทอง. (2543). กล้วยไม้เมืองไทย. (ครั้งที่พิมพ์ 1). สถานที่พิมพ์บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน) กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- อรุณญา พิมพ์มงคล และ วาริณี พละสาร. (2559). อิทธิพล NAA และ BA ต่อการเจริญของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ช้างพลายใน: รายงานการประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 7 “ทวนดูทรัพยากรสิ่งมีชีวิต”. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 352-358.
- Gamborg, O. L., (1991). Media Preparation. In Lindsey, K., *Plant Tissue Culture Manual : Supplement 1*. (1-24). Kluwer Academic Publishers: London.
- Murashige, T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Nanakorn, W. & Watthana, S. (2008). *Queen Sirikit Botanic Garden (Thai Native Orchids 1)*. Wanida Press, Chiang Mai, 312 pp.

ภาคผนวก ข
สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1.1.1 อุปกรณ์

- 1.1.1.1 Laminar air flow (Faster S.R.L., Bio 72, Italy)
- 1.1.1.2 Autoclave (ALP Co., LTD, Japan)
- 1.1.1.3 Hot air oven (Contherm Scientific LTD, New Zealand)
- 1.1.1.4 pH meter (Metrohm, Switzerland)
- 1.1.1.5 Hot plate (HS115, HL Instrument, Thailand)
- 1.1.1.6 เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler AE 200, Diethelm & Co., LTD.,)
- 1.1.1.7 ตู้เย็น (Hitachi, Thailand)

1.1.2 สารเคมีและวิธีเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1) Macro nutrient element

- 1.1) Ammonium nitrate (JT Baker, Inc., U.S.A.)
- 1.2) Calcium nitrate (Merck, Germany)
- 1.3) Potassium sulphate (Merck, Germany)
- 1.4) Magnesium sulphate (Fluka Chemika-Bio Chemika,

Switzerland.)

2) micro nutrient element

- 2.1) Zinc sulphate (Fluka Chemika-Bio Chemika, Switzerland.)
- 2.2) Curic sulphate (Merck, Germany)
- 2.3) Calcium chloride (Merck, Germany)
- 2.4) Potassium dihydrogen ortho- phosphate (BDH, England)
- 2.5) Boric acid (BDH, England)
- 2.6) Sodium molybdate (Fluka Chemika-Bio Chemika,

Switzerland.)

- 2.7) Ferrous sulphate (JT Baker, Inc., U.S.A.)
- 2.8) Sodium EDTA (Fluka Chemika-Bio Chemika, Switzerland.)

- 3) Vitamins and amino acids
 - 3.1) Thiamine HCl (Vitamin B₁) (Sigma Chemicals Co., U.S.A.)
 - 3.2) Nicotinic acid (Sigma Chemicals Co., U.S.A.)
 - 3.3) Pyridoxine HCl (Vitamin B₆) (Sigma Chemicals Co., U.S.A.)
 - 3.4) Glycine (Sigma Chemicals Co., U.S.A.)
 - 3.5) Myo- inositol (Sigma Chemicals Co., U.S.A.)
- 4) naphthaleneacetic acid (NAA) (Sigma Chemicals Co., U.S.A.)
- 5) benzyladenine (BA) (Sigma Chemicals Co., U.S.A.)
- 6) 70% ethyl alcohol
- 7) 90% ethyl alcohol

1.2 การเตรียมสารเคมี

1.2.1 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.2.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารตามสูตร Murashige and Skoog (1962)

ตารางที่ ข.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารตามสูตร Murashige and Skoog

สารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Ammonium nitrate	NH ₄ NO ₃	1,650
Potassium nitrate	KNO ₃	19,000
Calcium chloride	CaCl ₂ 2H ₂ O	440
Magnesium sulfate	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370
Potassium dihydrogen phosphate	KH ₂ PO ₄	170
Boric acid	H ₃ BO ₃	6.2
Manganese sulfate	MnSO ₄ ·4H ₂ O	6.9
Zinc sulphate	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	6.14
Potassium iodine	KI	0.83
Sodium molybdate	Na ₂ ·MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25
Copper sulfate	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025

ตารางที่ ข.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารตามสูตร Murashige and Skoog (ต่อ)

สารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Cobolt chloride	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
Sodium - EDTA	Na-EDTA	37.25
Ferrous sulfate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
Glycine		2.0
Nicotinic acid		0.5
Pyridoxine-HCl		0.5
Thiamine-HCl		0.1
Myo-inocitol		100
Sucros		20,000
pH 5.6		

1.2.1.2 การแบ่งกลุ่มสารเคมีและการเตรียมสารละลายเข้มข้นของสูตรอาหาร MS สามารถแบ่งเป็น 6 stock ดังนี้

ตารางที่ ข.2 การแบ่งกลุ่มสารเคมีและการเตรียมสารละลายเข้มข้นของสูตรอาหาร MS

stock	สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)	ปริมาตรที่ เตรียม (ลิตร)	ความเข้มข้น (เท่า)	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	Ammonium nitrate	82.5 95	1	50	20
	Potassium nitrate	18.5			
	Magnesium sulfate	8.5			
	Potassium dihydrogen phosphate				

ตารางที่ ข.2 การแบ่งกลุ่มสารเคมีและการเตรียมสารละลายเข้มข้นของสูตรอาหาร MS (ต่อ)

stock	สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)	ปริมาตรที่ เตรียม (ลิตร)	ความเข้มข้น (เท่า)	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	Calcium chloride	44	1	100	10
3	Boric acid	6.2	1	1,000	1
	Potassium iodine	0.83			
	Sodium molybdate	0.25			
	Cobalt chloride	0.025			
4	Manganese sulfate	0.69	1	100	10
	Zinc sulphate	0.614			
	poter sulfate	0.0025			
5	Sodium - EDTA	3.725	1	100	10
	Ferrous sulfate	2.785			
6	inoisal	50	1	100	10
	Glycine	2.0			
	Nicotinic acid	0.5			
	Pyridoxine-HCl	0.5			
	Thiamine-HCl	0.1			

1.2.1.3 การเตรียมอาหารสูตร ½MS

- 1) Stock solution ต่าง ๆ มารวมกันตามปริมาตรในตาราง เพื่อเตรียมอาหาร 1 ลิตร โดยเท Stock solution ที่เตรียมไว้ ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 2) เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร คนให้ละลาย แล้วเติมฮอร์โมนในปริมาตรตามที่กำหนดไว้ในแต่ละสูตรอาหารและปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร หรือ 1,000 มิลลิกรัม
- 3) นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ pH 5.6 โดยใช้ NaOH 1 N และ HCl 1 N
- 4) เติมน้ำมัน 8.5 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร หลอมน้ำมันให้ละลายโดยใช้เตาแม่เหล็กไฟฟ้าและเติมผงถ่านกัมมันต์ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

5) นำอาหารมาแบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เหมาะสมตามขนาดขวดและปิดฝาขวดให้สนิท

6) นำขวดอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที

1.3 การเตรียมฮอร์โมน

1.3.1 ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (Auxin) ได้แก่ Naphtaleneacetic (NAA)

1.3.2 ฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) ได้แก่ Benzyladenine (BA)

เตรียมฮอร์โมนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร การเตรียมฮอร์โมนแต่ละชนิดเตรียมแยกขวดกัน โดยชั่งฮอร์โมนแต่ละชนิดมา 25 มิลลิลิตร ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยจะค่อย ๆ เติมตัวทำละลายจนฮอร์โมนละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 25 มิลลิลิตร นำไปบรรจุในขวดสีชา หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.3.3 ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมฮอร์โมน

ตารางที่ ข.3 ตัวทำละลายของฮอร์โมน

ฮอร์โมน	ตัวทำละลาย
NAA	1N NaOH
2,4-D	50% EtOH หรือ 1N NaOH
BA	1N NaOH
Kinetin	1N NaOH
TDZ	1N NaOH หรือ 1N KOH

1.4 การเตรียมสารอินทรีย์

1.4.1 กล้วยหอม

นำกล้วยหอมที่สุกห้าม มาปอกเปลือกและหั่นเนื้อกล้วยให้ละเอียด นำมาชั่งน้ำหนัก ปริมาณ 50 กรัม เติลงบนอาหารสูตร 1/2MS และคนกล้วยหอมให้กระจายทั่วอาหาร

1.3.2 มันฝรั่ง

นำมันฝรั่งสดมาล้างให้สะอาดและปอกเปลือก นำมาสับเป็นให้ละเอียด นำมาชั่งน้ำหนัก ปริมาณ 50 กรัม เติลงบนอาหารสูตร 1/2MS และคนให้กระจายทั่วอาหาร

1.3.3 มะพร้าวน้ำหอม

นำมะพร้าวมาผ่าออก กรองเอาน้ำมะพร้าว ปริมาณ 150 มิลลิลิตร เติลงบนอาหารสูตร 1/2MS และคนให้กระจายทั่วอาหาร

ภาคผนวก ค
การคำนวณค่าทางสถิติ

การคำนวณค่าทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	13710.696	1246.427	33.908	0.000
Error	51	1874.732	36.759		
Corrected Total	62	15585.429			

C.V. (%) 28.32

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของต้นในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	2.169	0.197	7.471	0.000
Error	93	2.454	0.026		
Corrected Total	104	4.623			

C.V. (%) 13.33

ตารางที่ ค.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางของกอในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	5.962	0.542	14.671	0.000
Error	88	3.251	0.037		
Corrected Total	99	9.212			

C.V. (%) 12.80

ตารางที่ ค.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	10369.931	942.721	36.071	0.000
Error	41	1071.540	26.135		
Corrected Total	52	11441.472			

C.V. (%) 48.37

ตารางที่ ค.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความสูงของต้นในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	12.459	1.133	5.386	0.000
Error	99	20.820	0.210		
Corrected Total	110	33.279			

C.V. (%) 67.47

ตารางที่ ค.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางกอในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	11.200	1.018	7.837	0.000
Error	97	12.602	0.130		
Corrected Total	108	23.802			

C.V. (%) 41.52

ตารางที่ ค.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวด ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	179.377	16.307	6.418	0.000
Error	79	200.733	2.541		
Corrected Total	90	380.110			

C.V. (%) 64.21

ตารางที่ ค.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวของรากในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	11	21.718	1.974	8.108	0.000
Error	98	23.864	0.244		
Corrected Total	109	45.582			

C.V. (%) 53.41

ตารางที่ ค.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางกอในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	5	4.937	0.987	6.399	0.000
Error	44	6.789	0.154		
Corrected Total	49	11.725			

C.V. (%) 29.72

ตารางที่ ค.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความสูงของต้นในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	5	2.189	0.438	1.611	0.177
Error	44	11.956	0.272		
Corrected Total	49	14.145			

C.V. (%) 48.53

ตารางที่ ค.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนต้นต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	5	203.405	40.681	48.448	0.000
Error	15	12.595	0.840		
Corrected Total	20	216.000			

C.V. (%) 54.01

ตารางที่ ค.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	4	23.955	5.989	2.057	0.132
Error	17	49.500	2.912		
Corrected Total	21	73.455			

C.V. (%) 47.03

ตารางที่ ค.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	4	3.480	0.870	15.048	0.000
Error	19	1.098	0.58		
Corrected Total	23	4.578			

C.V. (%) 36.00

ตารางที่ ค.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเส้นผ่านศูนย์กลางกอ ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	4	0.504	0.101	1.638	0.177
Error	33	2.032	0.062		
Corrected Total	38	2.536			

C.V. (%) 29.22

ตารางที่ ค.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงต้นในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	5	1.752	0.350	2.913	0.028
Error	32	3.850	0.120		
Corrected Total	37	5.602			

C.V. (%) 60.19

ตารางที่ ค.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	5	60.885	12.177	6.870	0.000
Error	26	46.083	1.772		
Corrected Total	31	106.969			

C.V. (%) 36.63

ตารางที่ ค.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	5	114.971	22.994	2.25	0.079
Error	29	299.714	10.335		
Corrected Total	34	414.686			

C.V. (%) 53.77

ตารางที่ ค.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากในการศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครส ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารเสริมบนอาหารสูตร ½MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	5	0.225	0.045	0.755	0.589
Error	29	1.730	0.060		
Corrected Total	34	1.955			

C.V. (%) 41.11

ตารางที่ ค.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำวเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	0.133	0.667	0.318	0.737
Error	7	1.467	0.210		
Corrected Total	9	1.600			

C.V. (%) 35.25

ตารางที่ ค.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	0.808	0.404	2.692	0.116
Error	10	1.500	0.150		
Corrected Total	12	2.308			

C.V. (%) 94.30

ตารางที่ ค.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนต้นต่อขวดส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	0.233	0.117	0.437	0.662
Error	7	1.867	0.267		
Corrected Total	9	2.100			

C.V. (%) 87.50

ตารางที่ ค.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	0.740	0.370	2.333	0.165
Error	7	1.101	0.157		
Corrected Total	9	1.841			

C.V. (%) 62.73

ตารางที่ ค.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	4.216	2.108	16.071	0.001
Error	10	1.312	0.131		
Corrected Total	12	5.528			

C.V. (%) 110.22

ตารางที่ ค.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	0.409	0.205	0.781	0.494
Error	7	1.832	0.262		
Corrected Total	9	2.241			

C.V. (%) 124.10

ตารางที่ ค.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดส่วนโคนหน่อ (B) ใน การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้อง ช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	2130.533	1065.267	1.221	0.351
Error	7	6108.367	872.624		
Corrected Total	9	8238.900			

C.V. (%) 42.07

ตารางที่ ค.26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดส่วนกลางหน่อ (M) ใน การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้อง ช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	88.595	44.298	44.979	0.000
Error	11	10.833	0.985		
Corrected Total	13	99.429			

C.V. (%) 112.56

ตารางที่ ค.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากต่อขวดส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	48.700	24.350	3.708	0.054
Error	7	37.300	5.329		
Corrected Total	9	86.000			

C.V. (%) 50.40

ตารางที่ ค.28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	1.976	0.988	1.981	0.219
Error	6	2.993	0.499		
Corrected Total	8	4.968			

C.V. (%) 73.04

ตารางที่ ค.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	0.584	0.292	0.715	0.513
Error	10	4.085	0.408		
Corrected Total	12	4.669			

C.V. (%) 145.80

ตารางที่ ค.30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	0.800	0.400	0.468	0.644
Error	7	5.984	0.855		
Corrected Total	9	6.784			

C.V. (%) 163.63

ตารางที่ ค.31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบส่วนโคนหน่อ (B) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	5.733	2.867	3.152	0.106
Error	7	6.367	0.910		
Corrected Total	9	12.100			

C.V. (%) 43.10

ตารางที่ ค.32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบส่วนกลางหน่อ (M) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	18.750	9.375	4.644	0.041
Error	9	18.167	2.019		
Corrected Total	11	36.917			

C.V. (%) 116.71

ตารางที่ ค.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบส่วนปลายหน่อ (T) ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารสูตร ½MS ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Source of variation	DF	sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	2	4.633	2.317	2.172	0.185
Error	7	7.467	1.067		
Corrected Total	9	12.100			

C.V. (%) 113.42

ภาคผนวก ง
การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต



ภาพที่ ง.1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (B คือ Basal node, M คือ Middle node, T คือ Terminal node) บนสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ MS ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพาะเลี้ยงข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว เป็นเวลา 10 เดือน

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นาย ภาณุกรณ์ บุญสิทธิ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 26 เมษายน 2536
สถานที่เกิด	ร้อยเอ็ด
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2555 – 2558 มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์