



KKU Res.j. 2014; 19(3) : 399-413

<http://resjournal.kku.ac.th>

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องนางชีในหลอดทดลอง *In vitro* tissue culture of *Dendrobium kontumense* Gagnep.

รัตนาวัลี เสนาวงศ์¹, ปิยะพร แสนสุข^{1*} และสุรพล แสนสุข²
Rattana-Vallee Senavongse¹, Piyaporn Saensouk^{1*} and Surapon Saensouk²

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต. ขามเรียง อ. กันทรวิชัย จ. มหาสารคาม 44150

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Mahasarakham, 44150

² สถาบันวิจัยวลัยรุกเขษ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต. ขามเรียง อ. กันทรวิชัย จ. มหาสารคาม 44150

² Walai Rukhvej Botanical Research Institute, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Mahasarakham, 44150

*Corresponding author: pcornukaempferia@yahoo.com

บทคัดย่อ

เพาะเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องนางชี (*Dendrobium kontumense* Gagnep.) โดยนำยอดอ่อนที่มีขนาด 0.5 ซม. ที่เจริญมาจากโปรโตคอร์ม มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร half-Murashige and Skoog ($\frac{1}{2}$ MS) และ MS พบว่าอาหารสูตร MS เกิดเป็นยอดได้ดีที่สุดโดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.40 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และความยาวยอดเฉลี่ย 2.86 ซม. จากนั้นนำต้นอ่อนที่ได้ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ N_6 -benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. และ BA 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย (2.80 ยอดต่อต้น) ความยาวยอดเฉลี่ย (4.02 ซม.) จำนวนรากเฉลี่ย (8.16 รากต่อต้น) และความยาวรากเฉลี่ย (15.00 ซม.) ย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 0, 5, 10, 15, 20 และ 25% พบว่าน้ำมะพร้าว 15% ชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีที่สุด และนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำกล้วยสุกบด 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% พบว่าอาหารที่เติมน้ำกล้วยสุกบด 6% ชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีที่สุด และเมื่อย้ายออกปลูกในกาบมะพร้าวสับมีอัตราการรอดชีวิต 90%

Abstract

Tissue culture of *Dendrobium kontumense* Gagnep. was performed by culturing shoots (0.5 cm long) which were derived from protocorms on half-Murashige and Skoog ($\frac{1}{2}$ MS) and MS media. The average number of shoots was 1.40 shoot/explant, and the average length of the root was 2.86 cm when cultured on MS medium. When seedlings were transferred to culture on MS medium supplemented with 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 and 5 mg/L Naphthaleneacetic acid (NAA) in combination with 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 and 5 mg/L N_6 -Benzyladenine (BA). The average number of shoots (2.80 shoot/explant), the high average length of the shoot (4.02 cm), the average number of roots (8.16 root/shoot) and the average length of the root (15.00 cm), were best achieved on MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA and 0.5 mg/L BA. They were transferred MS medium containing with 0, 5, 10, 15, 20 and 25% coconut water, the best shoot growth was observed with 15% coconut water. Upon subculture, the plantlets on MS medium supplemented with 0, 2, 4, 6, 8 and 10% ground banana, the shoots were formed at the best on MS medium with 6% ground banana. The plantlets transplanted to pots containing coconut hack under natural conditions displayed 90% survival.

คำสำคัญ: กล้วยไม้เอื้องนางชี การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การขยายพันธุ์

Keywords: *Dendrobium kontumense* Gagnep., Tissue culture, Micropropagation

1. บทนำ

กล้วยไม้เอื้องนางชี (*D. kontumense* Gagnep.) เป็นกล้วยไม้ป่าสกุลหวายชนิดหนึ่งที่ใกล้สูญพันธุ์ เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย เจริญทางด้านข้าง ต้นเป็นลำกลม โคนเรียวสอบ ผิวแห้งเป็นร่องตื้น มีขนสั้นสีดำละเอียดบริเวณใกล้ยอด ขึ้นเป็นกอเอนหลายทิศทาง ใบรูปขอบขนานแกมรูปรี ปลายใบเว้าหักมน แผ่นใบค่อนข้างแข็งและเหนียว ช่อดอกเกิดใกล้ปลายยอด ก้านช่อสั้น กลีบทุกกลีบสีขาว กลีบปากอาจมีแต้มสีแดงตรงแนวกลาง ปลายมน ขอบเป็นคลื่น ดอกบานทนหลายวัน พบค่อนข้างน้อย (1) การขยายพันธุ์กล้วยไม้แบบอาศัยเพศเพื่อการผลิตพืชให้ได้ต้นใหม่อย่างสมบูรณ์โดยใช้เมล็ดเป็นเรื่องยากเพราะเมล็ดไม่มีเอนโดสเปิร์ม (endosperm) จึงไม่มีอาหารสะสมทำให้เมล็ดไม่สามารถงอกเป็นต้นใหม่ได้ ดังนั้น จึงต้องอาศัยเชื้อราไมคอร์ไรซาเพื่อชักนำให้เกิดการงอกในสภาพธรรมชาติ (2,3) การขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยการสร้างโปรโตคอร์ม (protocorm, PLB) เป็นอีกทางเลือกที่ทำให้ได้ต้นกล้วยไม้จำนวนมากที่สามารถทำได้ในระยะเวลาอันสั้น ไม่จำกัดเรื่องเวลาและฤดูกาล โดยใช้ชิ้นส่วนพืชต่อไปนี้ ได้แก่ ปลายยอด (4,5) ใบ (6,7) โปรโตคอร์ม (8,9) ก้านช่อดอก (10,11) ลำต้น (12) ปลายราก (13,14) ตายอด (15) เมล็ดโตเต็มที่ (16) ตาข้าง (axillary buds) หัวเทียม (pseudobulb) และข้อ (17-22)

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อเพิ่มจำนวนกล้วยไม้ในสภาวะปลอดเชื้อที่สำคัญเชิงพาณิชย์ (10, 19, 23-25) การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาวะปลอดเชื้อ เป็นวิธีการที่ใช้ในการผลิตกล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์ใหม่ๆ ที่ได้จากการผสมและปรับปรุงพันธุ์โดยเกษตรกรและผู้สนใจ และใช้ในการขยายพันธุ์ต้นกล้วยไม้ที่มีลักษณะดีที่มีคุณค่าทั้งทางเศรษฐกิจและเชิงพาณิชย์ก่อให้เกิดอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้ตัดดอก และกล้วยไม้กระถาง นำรายได้เข้าสู่ประเทศ ซึ่งเทคนิคการเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สามารถเรียนรู้และฝึกฝนให้เกิดความชำนาญจนสามารถนำไปประกอบอาชีพได้ (26) นอกจากนี้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้นำมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชและการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชที่สำคัญหลายสายพันธุ์ (27) จากที่

มนุษย์มีความต้องการกล้วยไม้เพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณกล้วยไม้ลดจำนวนลง ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องนางชี เพื่อให้ได้กล้วยไม้ในปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็วและเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมกล้วยไม้ป่าของไทยให้คงอยู่อย่างยั่งยืนต่อไป

2. วิธีวิจัย

2.1 การเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้

2.1.1 การเพาะเมล็ดกล้วยไม้

นำฝักแก่กล้วยไม้เอื้องนางชี มาล้างทำความสะอาดผ่านน้ำไหล ล้างด้วยน้ำสบู่เหลวเพื่อล้างสิ่งสกปรกที่ติดมาออกให้หมด ฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% ให้ทั่ว เป็นเวลา 30 วินาที นำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 15% หยดสารจับใบจำนวน 1-2 หยด เป็นเวลา 15 นาที (เขย่าเป็นครั้งคราว) จากนั้นย้ายไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 10% เป็นเวลา 10 นาที (เขย่าเป็นครั้งคราว) ล้างสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ออกให้หมดด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที ใช้ปากคีบคีบฝักกล้วยไม้จุ่มแอลกอฮอล์ 70% ลงผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง แล้ววางบนจานเพาะเชื้อ ใช้มีดผ่าตัด ตัดส่วนปลายออก ผ่าฝักตามยาว คีบเมล็ดกล้วยไม้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.1 มก./ล. จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม

2.1.2 การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้

นำโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องนางชี ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อปรับสภาพเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จนเกิดยอด จากนั้นนำยอดอ่อน ขนาด 0.5 ซม. นำไปใช้ทำการทดลองต่อไป

2.2 ศึกษาอิทธิพลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดอ่อนให้เกิดเป็นต้นใหม่

นำยอดอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีขนาด 0.5 ซม. มีใบ 2 ใบ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ย้ายมาเพาะเลี้ยง

บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS และสูตร MS ทำการทดลอง 15 ขวดๆ ละ 1 ขอด ต่อหน่วยการทดลอง เพื่อชักนำให้เจริญเติบโตเป็นต้นอ่อน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และบันทึกภาพ

2.3 ศึกษาผลของฮอร์โมน NAA และ BA ร่วมกับผงถ่าน

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และผงถ่าน 1 ก./ล. ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับผงถ่าน 1 ก./ล. ทำการทดลอง 10 ขวดๆ ละ 1 ต้น ต่อหน่วยการทดลอง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และบันทึกภาพ

2.4 ศึกษาปริมาณของน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางชี

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และผงถ่าน 1 ก./ล. ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวปริมาณ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25% ทำการทดลอง 10 ขวดๆ ละ 1 ต้น ต่อหน่วยการทดลอง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และบันทึกภาพ

2.5 ศึกษาปริมาณของกล้วยน้ำว้าสุกบดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางชี

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และผงถ่าน 1 ก./ล. ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมกล้วยน้ำว้าสุกบดปริมาณ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% ทำการทดลอง 10 ขวดๆ ละ 1 ต้น ต่อหน่วยการทดลอง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และบันทึกภาพ

2.6 ศึกษาการย้ายออกปลูก

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชี ที่มีความสูง 8 ซม. มีใบ 8 ใบ ที่มีดินและรากสมบูรณ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาวะปลอดเชื้อ นำมาล้างวันออกให้หมด แล้วนำไป

ปลูกในกาบมะพร้าวสับ ก้อนถ่าน เศษกระเบื้อง กาบมะพร้าวสับและก้อนถ่าน (1:1) กาบมะพร้าวสับและเศษกระเบื้อง (1:1) ก้อนถ่านและเศษกระเบื้อง (1:1) และกาบมะพร้าวสับ ก้อนถ่าน และเศษกระเบื้อง (1:1:1) ทำการทดลอง 10 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ต่อหน่วยการทดลอง จากนั้นนำไปไว้ในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ รดน้ำเวลาเช้าและเย็นทุกวัน บันทึกอัตราการรอดชีวิต ได้แก่ จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ และบันทึกภาพ

2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (Oneway Anova) ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (version 11.5 for Windows)

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 ผลการวิจัย

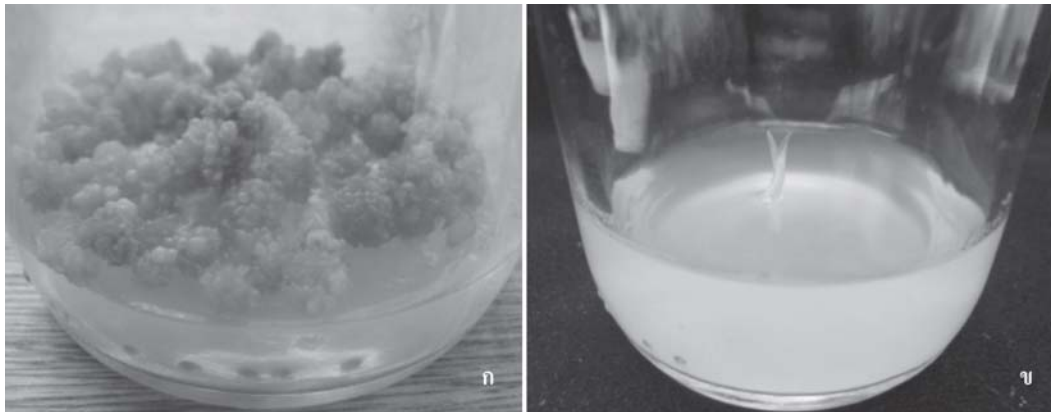
จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องนางชีในหลอดทดลองได้ผลการทดลองดังนี้

ศึกษาอิทธิพลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดอ่อนให้เกิดเป็นต้นใหม่

เพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้เจริญเป็นโปรโตคอร์ม ขนาดเล็กประมาณ 0.2-0.3 ซม. สีเขียว รูปร่างกลม จากนั้นย้ายโปรโตคอร์ม (รูปที่ 1ก) ที่ได้จากเพาะเลี้ยงเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อให้เกิดเป็นยอดอ่อน จากนั้นนำยอดอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีขนาด 0.5 ซม. (รูปที่ 1ข) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS และสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดยอด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.40 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 2.86 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 8.16 รากต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 9.57 ซม. และจำนวนใบเฉลี่ย 3.53 ใบต่อชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช

ความยาวยอดเฉลี่ย 2.38 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 9.86 รากต่อ
ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 12.56 ซม. และจำนวนใบ
เฉลี่ย 3.40 ใบต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ
ด้วยวิธี DMRT พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางซีที่เพาะ
เลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS และสูตร MS มีจำนวนยอด

เฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วน
ความยาวยอดเฉลี่ยจำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ย
มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง
ที่ 1 และรูปที่ 2)

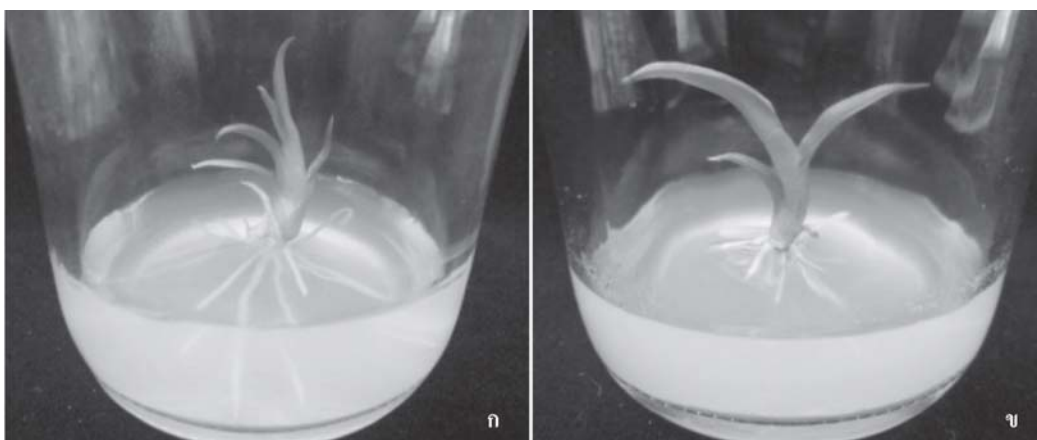


รูปที่ 1 กล้วยไม้เอื้องนางซีที่นำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง
ก. โพรโตคอร์ัม ข. ยอดอ่อน

ตารางที่ 1 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องนางซี

สูตร อาหาร	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช)
$\frac{1}{2}$ MS	1.33 ± 0.12^a	2.38 ± 0.14^b	9.86 ± 0.77^a	12.56 ± 0.13^a	3.40 ± 0.16^a
MS	1.40 ± 0.16^a	2.86 ± 0.10^a	8.16 ± 0.66^b	9.57 ± 0.12^b	3.53 ± 0.13^a

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



รูปที่ 2 ลักษณะยอดอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางซีเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. สูตร $\frac{1}{2}$ MS ข. สูตร MS

ศึกษาผลของฮอร์โมน NAA และ BA ร่วมกับผงถ่าน

เมื่อย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS อายุ 8 สัปดาห์ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับผงถ่าน 1 ก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. ต้นอ่อนมีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.80 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 4.02 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 8.16 รากต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 15.00 ซม. และจำนวนใบเฉลี่ย 6.73 ใบต่อชิ้นส่วนพืช จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA ทุกความเข้มข้น มีจำนวนยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ในสูตรอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน มีความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 2 และรูปที่ 3)

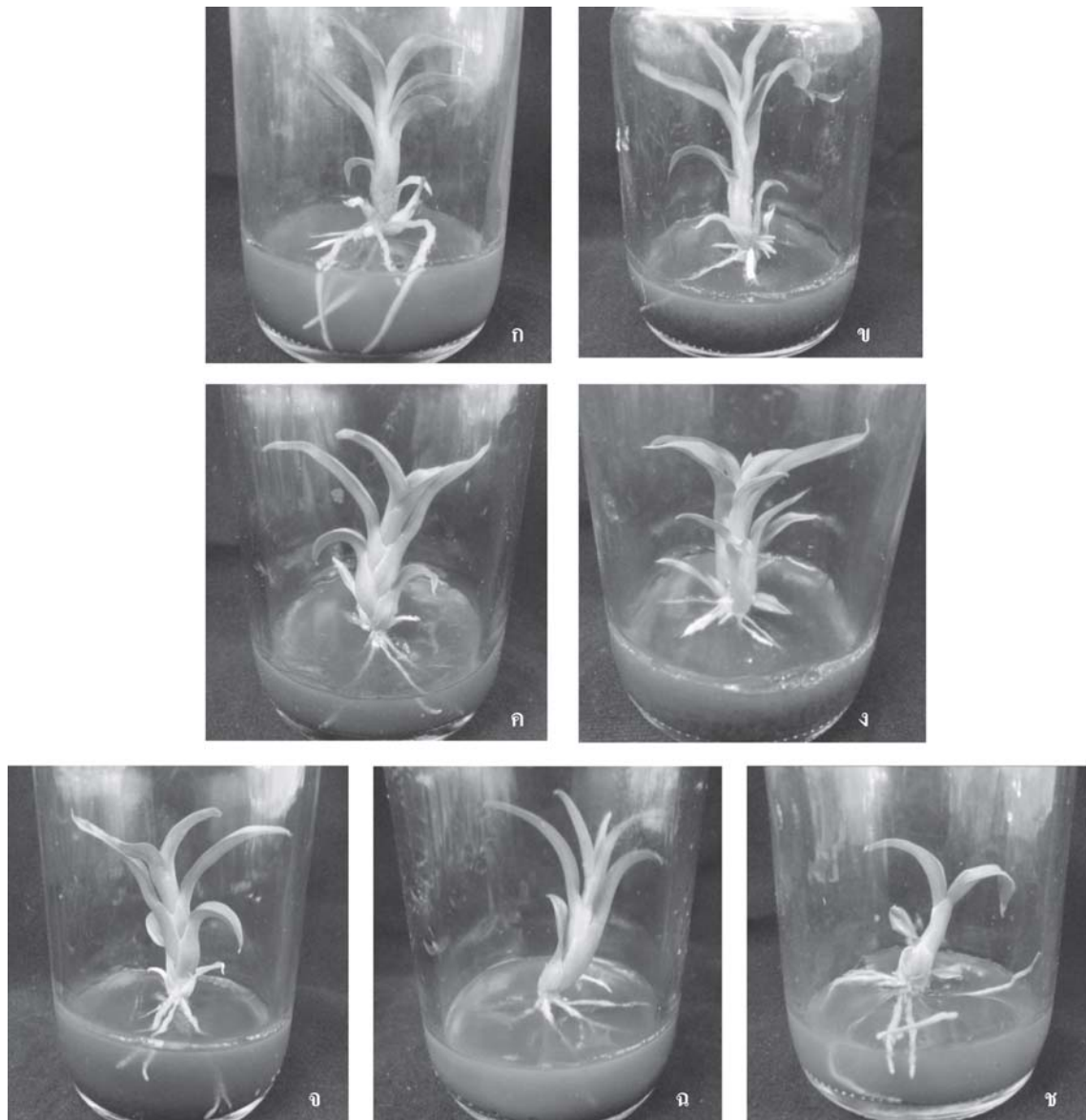
ศึกษาปริมาณของน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางชี

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และผงถ่าน 1 ก./ล. ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 0, 5, 10, 15, 20 และ 25% เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15% มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.60 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 8.51 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 11.50 รากต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 7.89 ซม. และจำนวนใบเฉลี่ย 7.89 ใบต่อชิ้นส่วนพืช จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวทุกความเข้มข้น มีความยาวยอดเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวระดับความเข้มข้นต่างกัน จำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3 และรูปที่ 4)

ตารางที่ 2 ผลของฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ร่วมกับผงถ่าน 1 ก./ล. ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องนางชี

NAA (มก./ล.)	BA (มก./ล.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช)
0	0	1.53±0.19 ^a	3.27±0.18 ^{ab}	8.41±0.80 ^a	15.27±0.21 ^a	5.45±0.30 ^{bc}
0.5	0.5	2.80±0.30 ^a	4.02±0.21 ^a	8.16±0.90 ^a	15.00±0.13 ^a	6.73±0.38 ^a
1	1	2.80±0.39 ^a	2.76±0.62 ^{bc}	6.71±0.82 ^{ab}	12.69±0.19 ^{ab}	5.58±0.36 ^b
2	2	2.73±0.23 ^a	2.91±0.19 ^{bc}	4.90±0.51 ^b	8.72±0.12 ^{bc}	4.48±0.20 ^{cd}
3	3	1.73±0.09 ^a	3.40±0.15 ^{ab}	5.87±0.83 ^{ab}	9.10±0.19 ^{bc}	5.45±0.41 ^{bc}
4	4	1.60±0.27 ^a	2.38±0.17 ^c	5.45±0.86 ^b	7.07±0.15 ^c	4.35±0.36 ^d
5	5	1.53±0.29 ^a	3.46±0.18 ^{ab}	4.29±0.73 ^b	5.56±0.17 ^c	4.57±0.34 ^{bcd}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



รูปที่ 3 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางซีเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ร่วมกับผงถ่าน 1 ก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. BA 0.5 มก./ล. และ NAA 0.5 มก./ล.

ค. BA 1 มก./ล. และ NAA 1 มก./ล.

ง. BA 2 มก./ล. และ NAA 2 มก./ล.

จ. BA 3 มก./ล. และ NAA 3 มก./ล.

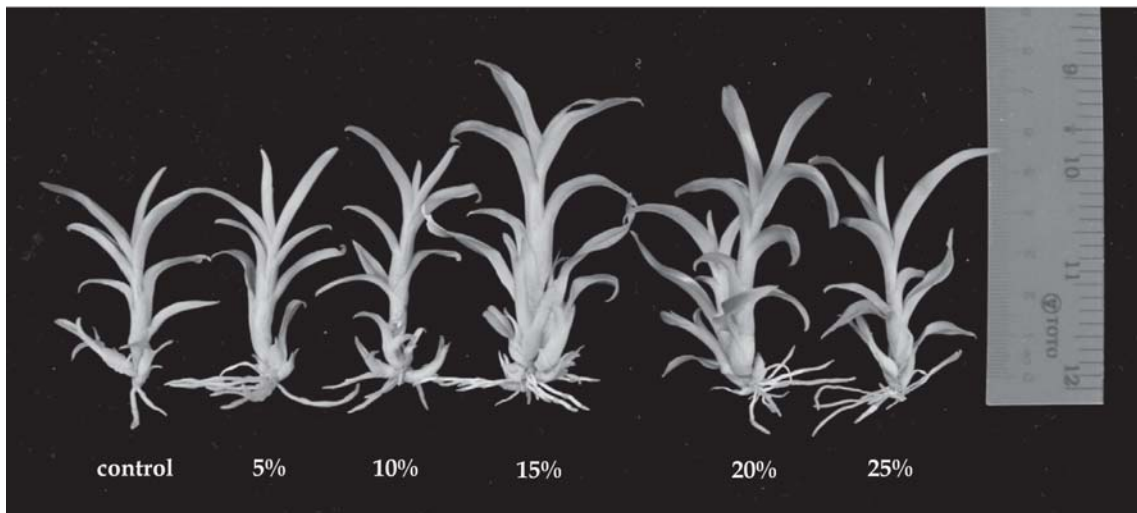
ฉ. BA 4 มก./ล. และ NAA 4 มก./ล.

ช. BA 5 มก./ล. และ NAA 5 มก./ล.

ตารางที่ 3. ผลของปริมาณน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเื้องนางซี

น้ำมะพร้าว (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช)
0	2.50±0.63 ^{ab}	6.21±0.12 ^a	5.87±0.13 ^c	5.82±0.92 ^a	5.82±0.78 ^a
5	2.40±0.63 ^{ab}	7.21±0.13 ^a	7.70±0.13 ^{abc}	5.61±0.86 ^a	5.10±0.65 ^a
10	3.40±0.60 ^a	7.74±0.23 ^a	10.40±0.18 ^{ab}	6.59±0.75 ^a	6.59±0.63 ^a
15	3.60±0.63 ^a	8.51±0.56 ^a	11.50±0.14 ^a	7.89±0.39 ^a	7.89±0.17 ^a
20	1.30±0.15 ^b	6.24±0.65 ^a	7.50±0.10 ^{bc}	6.51±0.57 ^a	6.51±0.95 ^a
25	1.40±0.22 ^b	5.60±0.11 ^a	6.20±0.12 ^c	5.36±0.32 ^a	5.36±0.26 ^a

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



รูปที่ 4 ดันอ่อนกล้วยไม้เื้องนางซีเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และน้ำมะพร้าว 0, 5, 10, 15, 20 และ 25% (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ศึกษาปริมาณของกล้วยน้ำว้าสุกบดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเื้องนางซี

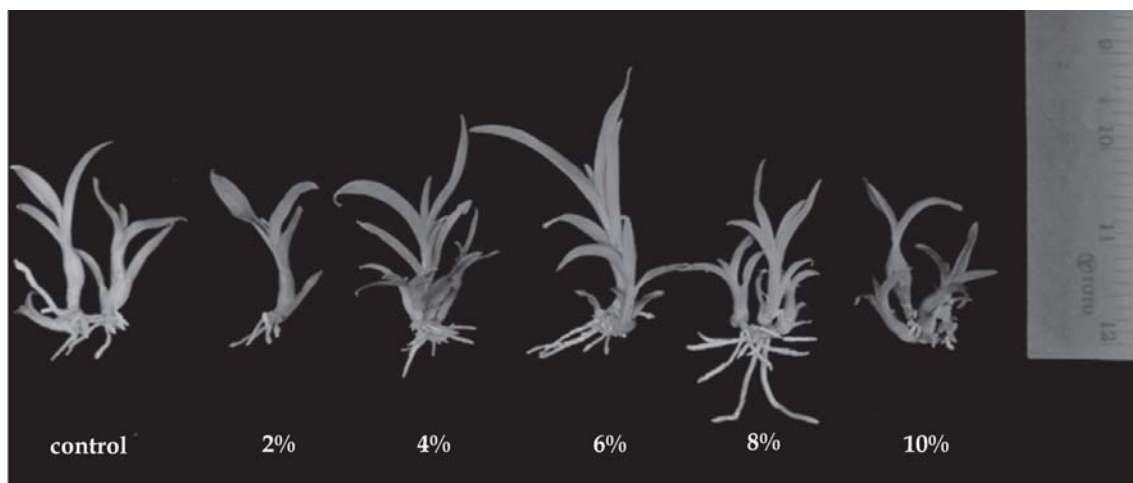
นำดันอ่อนกล้วยไม้เื้องนางซีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และผงถ่าน 1 ก./ล. ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมกล้วยน้ำว้าสุกบด 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าดันอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมกล้วยน้ำว้าสุกบด 10% มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.80 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และพบว่าดันอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมกล้วย

น้ำว้าสุกบด 6% มีความยาวยอดเฉลี่ย 7.24 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 7.40 รากต่อชิ้นส่วนพืช และจำนวนใบเฉลี่ย 6.90 ใบต่อชิ้นส่วนพืช และดันอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมกล้วยน้ำว้าสุกบด 8% มีความยาวรากเฉลี่ย 7.97 ซม. จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าดันอ่อนกล้วยไม้เื้องนางซีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมกล้วยน้ำว้าสุกบดทุกความเข้มข้น มีจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4 และรูปที่ 5)

ตารางที่ 4 ผลของปริมาณกล้วยน้ำว้าสุกบดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางชี

กล้วยบด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช)
0	1.40±0.16 ^c	5.10±0.08 ^b	6.32±0.92 ^{abc}	6.03±0.81 ^{ab}	5.30±0.30 ^c
2	1.20±0.13 ^c	3.66±0.13 ^d	5.20±0.74 ^b	2.67±0.26 ^b	5.70±0.15 ^{bc}
4	2.30±0.39 ^{bc}	4.38±0.30 ^c	5.00±0.81 ^b	6.15±0.24 ^{ab}	6.20±0.24 ^b
6	1.80±0.24 ^{bc}	7.24±0.08 ^a	7.40±0.70 ^a	6.76±0.09 ^a	6.90±0.10 ^a
8	2.80±0.55 ^{ab}	4.31±0.19 ^c	7.20±0.72 ^a	7.97±0.13 ^a	5.60±0.22 ^{bc}
10	3.80±0.67 ^a	3.66±0.06 ^d	4.30±0.42 ^c	2.58±0.17 ^b	4.60±0.22 ^d

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

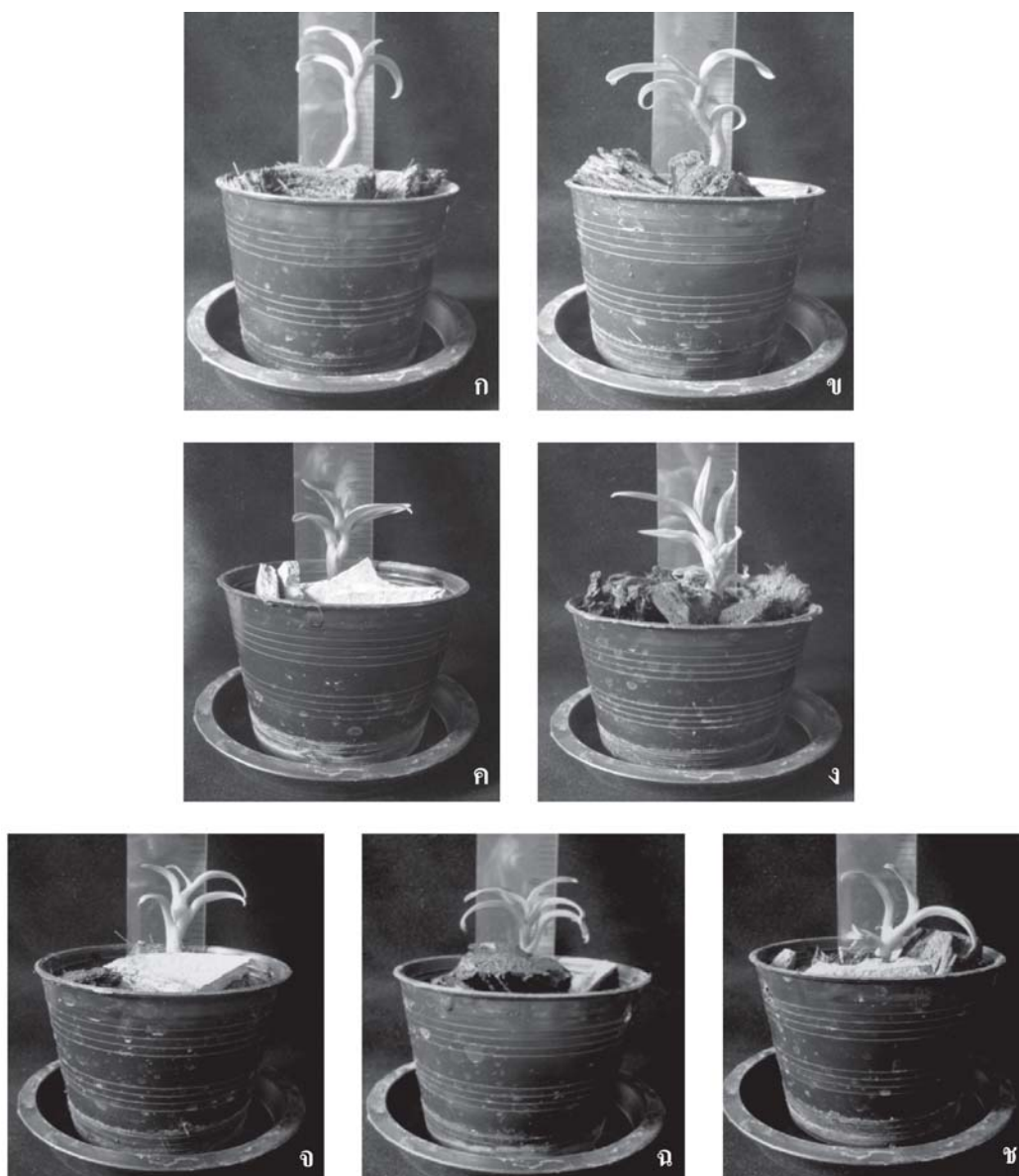


รูปที่ 5 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และกล้วยสุกบด 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ศึกษาการย้ายออกปลูก

เมื่อย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชี ที่มีความสูงประมาณ 8 ซม. มีใบ 8 ใบ ที่มีต้นและรากสมบูรณ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากล้วยไม้เอื้องนางชีที่ย้ายออกปลูกในกาบมะพร้าวสับมีอัตราการรอดชีวิต 90% มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.30 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด

เฉลี่ย 9.75 ซม. และจำนวนใบเฉลี่ย 8.40 ใบต่อชิ้นส่วนพืช จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าวัสดุปลูกทุกชนิด จำนวนยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ในวัสดุปลูกทุกชนิด ความยาวยอดเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 5 และรูปที่ 6)



รูปที่ 6 ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางที่ย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. กาบมะพร้าวสับ

ข. ก้อนถ่าน

ค. เศษกระเบื้อง

ง. กาบมะพร้าวสับและก้อนถ่าน (1:1)

จ. กาบมะพร้าวสับและเศษกระเบื้อง (1:1)

ฉ. ก้อนถ่านและเศษกระเบื้อง (1:1)

ช. กาบมะพร้าวสับ ก้อนถ่าน และเศษกระเบื้อง (1:1:1)

ตารางที่ 5 ชนิดของวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางชี

วัสดุปลูก	อัตราการรอด ชีวิต (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด เฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช)
1. กาบมะพร้าวสับ	90	1.30±0.15 ^a	9.75±0.07 ^a	8.40±0.16 ^a
2. ก้อนถ่าน	90	1.20±0.13 ^a	8.60±0.04 ^b	7.60±0.30 ^{bc}
3. เศษกระเบื้อง	70	1.00±0.00 ^a	8.26±0.02 ^d	7.10±0.27 ^c
4. กาบมะพร้าวสับและก้อนถ่าน	90	1.00±0.00 ^a	8.61±0.06 ^b	7.90±0.10 ^{ab}
5. กาบมะพร้าวสับและเศษกระเบื้อง	80	1.20±0.13 ^a	8.14±0.02 ^{dc}	7.40±0.26 ^{bc}
6. ก้อนถ่านและเศษกระเบื้อง	80	1.20±0.13 ^a	8.12±0.02 ^c	7.40±0.30 ^{bc}
7. กาบมะพร้าวสับ ก้อนถ่าน และเศษกระเบื้อง	90	1.00±0.00 ^a	8.41±0.02 ^c	7.80±0.13 ^{abc}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

3.2 อภิปรายผล

เมื่อนำยอดอ่อนขนาด 0.5 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS และสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้มีจำนวนยอดและความยาวยอดดีกว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS ทั้งนี้เนื่องจากยอดอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีมีความต้องการธาตุอาหารในปริมาณมาก ซึ่งธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง แร่ธาตุ และวิตามินในอาหารสูตร MS มีมากกว่าอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีเพียงครึ่งเดียว ต่างจากการศึกษาของ Kong และคณะ (28) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Dendrobium strongylanthum* Rchb. f. ในหลอดทดลอง โดยนำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มบนอาหารสูตร 1/2 MS, MS, B5 และ N6 พบว่าอาหารสูตร 1/2 MS โปรโตคอร์มเพิ่มจำนวน และมีการขยายจำนวนมากขึ้น มีขนาด 2-2.5 ซม.

จากการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS อายุ 8 สัปดาห์ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ BA เข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. และผงถ่าน 1 ก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. ต้นอ่อนมีจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด แตกต่างจากการทดลองของ อิศรารัตน์ มาขันพันธ์ (29) ที่ศึกษาผลของ BA และ NAA

ต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชี เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าอาหารที่เติม NAA 1.0 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีเจริญเติบโตได้ดีที่สุด Wang และ Xu (30) ศึกษาการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *D. candidum* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1.5 มก./ล. สามารถกระตุ้นให้เกิดโปรโตคอร์มหรือยอดได้ Shiao และคณะ (31) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *D. candidum* เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 2.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. พบว่ายอดและรากมีการขยายขนาดยาวยิ่งขึ้น Zhao และคณะ (32) ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *D. candidum* Wall Ex Lindl. โดยนำยอดและตาพิเศษ (adventitious buds) นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2% ร่วมกับฮอร์โมน NAA 1.2 มก./ล. และ BA 1.2 มก./ล. พบว่าอาหารสูตรนี้มีความเหมาะสมสำหรับการเกิดยอดใหม่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 92% ซึ่ง NAA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน (auxin) มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดจุดกำเนิดของราก การแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ และ BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน (cytokinin) มีคุณสมบัติต่อการเจริญเติบโตของยอด การแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ ทั้งนี้พบว่าขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชิ้นส่วนของพืช (33) ถ้าอัตราส่วนระหว่างฮอร์โมนออกซินมากกว่าไซโทไคนิน แคลลัสพัฒนาเป็นราก ถ้าอัตราส่วนระหว่างฮอร์โมนไซโทไคนิน

มากกว่า ออกซิน แคลลัสพัฒนาเป็นยอด และถ้าอัตราส่วนระหว่างฮอร์โมนออกซินเท่ากับไซโทไคนินจะพัฒนาเป็นแคลลัสต่อ (34-35) การเลือกใช้ฮอร์โมนในกลุ่มของออกซินร่วมกับฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินที่ความเข้มข้น 0:0, 0.5:0.5, 1:1, 2:2, 3:3 และ 4:4 มก./ล. ในสัดส่วนที่เท่ากันตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hossain และคณะ (36) และการใช้ฮอร์โมนในปริมาณที่สูงมากเกินไปจะทำให้ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ และต้นอ่อนที่ได้ไม่แข็งแรงสมบูรณ์

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15% มีจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยดีที่สุด สอดคล้องกับการทดลองของ ประวิมล คงโนนกอก (37) ที่ศึกษาการชักนำให้เมล็ดกล้วยไม้เอื้องเงิน (*Dendrobium draconis* Rchb. f.) เอื้องคำ (*D. chrysotaxum* Lindl.) และเขาแกะ (*Rhyncostylis coelestis* Rchb. f.) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม เอื้องเงินเจริญเป็นต้น 92% ส่วนโปรโตคอร์มเอื้องคำและเขาแกะ สามารถเจริญเป็นต้นได้ 100% และ 60% ตามลำดับ มินตรา เลื่อนำ (38) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*D. formosum* Roxb.) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% มีผลต่อการเจริญของโปรโตคอร์มมากที่สุด De และคณะ (39) ศึกษาการงอกของเมล็ดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดแก่กล้วยไม้ *D. chrysanthum* Wall. พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงกล้วยไม้บนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15% สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีที่สุด แตกต่างจากการทดลองของ Aktar และคณะ (40) ศึกษาการพัฒนาของโปรโตคอร์ม *D. aqueum* Lindl. พบว่าในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 10% มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 40.30 ยอด ความยาวยอด 1.50 ซม. จำนวนใบ 2.50 ใบต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน Asghar และคณะ (41) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *D. nobile* var. *Emma white* เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวระดับความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 มล. พบว่ากล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มล. มีจำนวนยอด 3.42 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 4.23 ซม. Nitsch (42) รายงานว่าในน้ำมะพร้าวมีคาร์โบไฮเดรต วิตามิน กรดอะมิโน

และกรดอินทรีย์ อินทรียสาร และเอ็นไซม์ที่สำคัญในการพัฒนาของเซลล์พืช น้ำมะพร้าวปริมาณ 10-15% จะเพิ่มการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ในหลอดทดลอง (43-46)

เพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมกล้วยสุกบด 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมกล้วยน้ำว้าสุกบด 6% ต้นอ่อนมีความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด แตกต่างจากการทดลองของ (40) ศึกษาการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *D. aqueum* Lindl. พบว่าในอาหารที่เติมกล้วยบด 10% มีจำนวนยอด 22.30 ยอด ความยาวยอด 1.11 ซม. จำนวนใบ 2.12 ใบต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน Lo และคณะ (47) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *D. tosaense* เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมกล้วยบด 8% น้ำมันฝรั่ง 8% และน้ำมะพร้าว 8% เป็นเวลา 20 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีและแข็งแรงในอาหารที่เติมกล้วยบด 8% (48) ซึ่งในกล้วยสุกมีไบโอติน วิตามิน และธาตุอาหารหลายชนิดที่สำคัญ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส และธาตุเหล็ก เป็นต้น ที่พืชสามารถนำไปใช้ในการพัฒนารากและการเจริญเติบโตของต้น

จากการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีที่มีต้นและรากสมบูรณ์ออกปลูกในวัสดุปลูกต่างๆ พบว่ากล้วยไม้เอื้องนางชีที่ย้ายปลูกในกาบมะพร้าวสับมีอัตราการรอดชีวิต 90% สอดคล้องกับการทดลองของ Sunitibala และคณะ (49) ย้ายกล้วยไม้ *D. transparens* L. ปลูกในอิฐและก้อนถ่าน (2:1) พบว่าต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิต 90% แต่ไม่สอดคล้องกับการทดลองของ (47) ศึกษาการย้ายกล้วยไม้ *D. tosaense* ปลูกในมอส (moss) หรือ มอสและดินเฟิร์น (tree fern) หรือดินเฟิร์น นำไปปลูกในเรือนเพาะชำ ต้นพืชที่ได้มีการรอดชีวิต เจริญเติบโต ออกดอกและติดผลหลังจากปลูกเป็นเวลา 1 ปี 6 เดือน (5) ศึกษาการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. nobile* ออกปลูกในก้อนถ่าน กาบมะพร้าวและเศษกระเบื้อง (2:2:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 92% (33) ศึกษาการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. candidum* Wall Ex Lindl. ปลูกในหินภูเขาไฟ (vermiculite) ภายในเรือนเพาะชำพบว่าอัตราการรอดชีวิต 95% Kong และคณะ (50) ศึกษาการย้ายกล้วยไม้ *D. strongylanthum* Rchb. f. ปลูกในปุ๋ยอินทรีย์และขี้เลื่อย (1:1) เมื่อย้ายต้นกล้วยไม้ปลูกในเรือนเพาะชำพบว่าอัตราการ

การรอดชีวิตได้มากกว่า 98% Sharma และคณะ (51) ศึกษาการย้ายกล้วยไม้ *D. microbulbon* A. Rich ออกปลูกในทรายดิน ก้อนอิฐ และก้อนถ่าน (1:1:4:4) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 60% (52) ทั้งนี้เนื่องจากหินภูเขาไฟ เศษกระถาง และก้อนถ่าน มีคุณสมบัติถ่ายเทอากาศได้ดี เก็บความชื้นระบายน้ำไม่เป็นแหล่งสะสมเชื้อโรคหรือปล่อยสารพิษให้กับราก และรากสามารถยึดเกาะได้ ส่วนกาบมะพร้าวสับเป็นวัสดุปลูกที่เป็นแหล่งธาตุอาหาร ซึ่งมีความพรุนและโปร่งมาก ทำให้รากกล้วยไม้ยึดเกาะได้ดี

4. สรุป

จากการศึกษาการเกิดเป็นต้นใหม่และการเกิดรากของกล้วยไม้เอื้องนางชี เมื่อนำยอดอ่อนกล้วยไม้เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เดิมซอร์โบน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. และผงถ่าน 1 ก./ล. ต้นอ่อนสามารถเจริญเติบโตได้ดี จากนั้นนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องนางชีมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% พบว่าต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีมียอดและรากสมบูรณ์ และต้นอ่อนเอื้องนางชีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมกล้วยสุกบด 6% ต้นอ่อนสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ดีมียอดและรากสมบูรณ์ จากนั้นนำกล้วยไม้เอื้องนางชีที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกนำไปไว้ในเรือนเพาะชำ พบว่ากล้วยไม้เอื้องนางชีที่ย้ายออกปลูกในกาบมะพร้าวสับมีอัตราการรอดชีวิต 90% จากการศึกษาในครั้งนี้ยังเป็นการอนุรักษ์กล้วยไม้ป่าเอื้องนางชีในหลอดทดลองเพื่อไม่ให้สูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2557 ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย และขอขอบพระคุณ คุณเนตรชนก ทั้งสุพานิช ที่ให้ทุนการศึกษา

6. เอกสารอ้างอิง

- (1) Thaithong A. Orchid of Thailand. Edition 1., Bangkok. Home and garden press. 1999. Thai.
- (2) Anjum S, Zia M, Chaudhary MF. Investigations of different strategies for high frequency regeneration of *Dendrobium malones* victory. African Journal of Biotechnology. 2006;5(19): 1738-1743.
- (3) Thomas TD, Michael A. High-frequency plantlet regeneration and multiple shoot induction from cultured immature seeds of *Rhynchostylis retusa* Blume., an exquisite Orchid. Plant Biotechnology Report. 2007;1: 243-249.
- (4) Sheela VL, Rajmohan K, Anita S, Sarada S. Effect of growth regulators on development and multiplication of protocorm like bodies in *Dendrobium* cv. 'Sonia'. The Journal of the Orchid Society of India. 2004;18: 21-23.
- (5) Malabadi RB, Mulgund GS, Kallappa N. Micropropagation of *Dendrobium nobile* from shoot tip sections. Journal Plant Physiology. 2005;162: 473-478.
- (6) Park SY, Murthy HN, Paek KY. Rapid propagation of *Phalaenopsis* from floral stalk-derived leaves. In *Vitro Cell Development Biology Plant*. 2002;38: 168-172.
- (7) Martin KP, Madassery J. Rapid *in vitro* propagation of *Dendrobium* hybrids through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm-like bodies. Scientia Horticulturae (Amsterdam). 2006;108: 95-99.
- (8) Teng WL, Nicholson L, Teng MC. Micropropagation of *Spathoglottis plicata*. Plant Cell Reports. 2004;16: 831-835.
- (9) Sheelavanthmath SS, Murthy HN, Hema BP, Hahn EJ, Paek KY. High frequency of protocorm like bodies (PLBs) induction and plant regeneration from protocorm and leaf sections of *Aerides crispum*. Scientia Horticulturae. 2005;106: 395-401.

- (10) Chen JT, Chang WC. Plant regeneration via embryo and shoot bud formation from flower-stalk explants of *Oncidium* 'Sweet Sugar'. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2000;62: 95-100.
- (11) Chen LR, Chen JT, Chang WC. Efficient production of protocorm-like bodies and plant regeneration from flower stalk explants of the sympodial Orchid *Epidendrum radicans*. *In Vitro Cell Development Biology Plant*. 2002; 38: 441-445.
- (12) Luo JP, Wang Y, Zha XQ, Huang L. Micropropagation of *Dendrobium densiflorum* Lindl. ex Wall. through protocorm-like bodies: effects of plant growth regulators and lanthanoids. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2008;93: 333-340.
- (13) Park SY, Murthy HN, Paek KY. Protocorm-like body induction and subsequent plant regeneration from root tip cultures of *Doritaenopsis*. *Plant Science*. 2003;164: 919-923.
- (14) Manners V, Kumaria S, Tandon P. Micropropagation of *Vanda coerulea* Griff ex Lindl.: A study of regeneration competence of roots *in vitro*. *Proceedings of the International Conference on Environmental Engineering and Applications (ICEEA 2010)*; 2010 Sep 10-12; Singapore; 2010.
- (15) Bagde P, Sharon M. *In vitro* regeneration of *Oncidium* 'Gower Ramsey' by high frequency protocorm like bodies proliferation. *Journal Plant Physiology*. 1997;2: 10-14.
- (16) Shimura H, Koda Y. Micropropagation of *Cypripedium macranthos* var. *rebutense* through protocorm-like bodies derived from mature seeds. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2004;78: 273-276.
- (17) Manorama, P, Rao AN, Goh CJ, Loh CS. Leaf callus development in *Aranda* and *Dendrobium*. In: Fifth ASEAN Orchid Congress. National University of Singapore. Singapore; 1986. p.102-109.
- (18) Arditti J, Ernst R. *Micropropagation of Orchids*. New York, John Wiley and Sons. 1993.
- (19) Chang C, Chang WC. Plant regeneration from callus culture of *Cymbidium ensifolium* var. *misericors*. *Plant Cell Reports*. 1998;17: 251-255.
- (20) Sheelavantmath SS, Murthy HN, Pyati AN, Kumar HGA, Ravishankar BV. *In vitro* propagation of the endangered orchid, *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. through rhizome section culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2000;60: 151-154.
- (21) Nayak NR, Rath SP, Patnaik S. *In vitro* propagation of three epiphytic orchids, *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw., *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch and *Dendrobium moschatum* (Buch-Ham) Sw. through thidiazuron-induced high frequency shoot proliferation. *Scientia Horticulturae*. 1997;71: 243-250.
- (22) Nayak NR, Sahoo S, Patnaik S, Rath SP. Establishment of thin cross section (TCS) culture method for rapid micropropagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. and *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). *Scientia Horticulturae* (Amsterdam). 2002;94: 107-116.
- (23) Rao AN. Tissue culture in orchid industry. In: Bajaj, Y.P.S., Reinert, J, editors. *Applied and Fundamental Aspects of Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*. Berlin, Springer; 1977. p. 44-69.
- (24) Chung JD, Chun CK, Choi SO. Asymbiotic germination of *Cymbidium ensifolium*. *Journal Korean Society for Horticultural Science*. 1985;26: 182-196.
- (25) Chen TY, Chang WC. Plant regeneration through direct shoot bud formation from leaf cultures of *Paphiopedilum* Orchids. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2004;76: 11-15.
- (26) Pileuk J. Seed culture and tissue culture of orchid. Documentation, training, public courses seed culture and tissue culture of Orchid at Rapee Sagarik Orchid garden. Bangkok. Kasetsart University; 2007. Thai.

- (27) Fay MF. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods. In *Vitro Cell Development Biology Plant*. 1992;28: 1-4.
- (28) Kong Q, Yuan SY, Vegvari Gy. Micropropagation of an Orchid *Dendrobium strongylanthum* Rchb.f. *International Journal of Horticultural Science*. 2007;13(1): 61-64.
- (29) Makhanpan I. Effect of benzyladenine (BA) and naphthalene acetic acid (NAA) on growth and development of young shoots of *Dendrobium virgineum* Rchb. f.) *in vitro* [MSc thesis]. Loei: Loei Rajabhat University. 2010. Thai.
- (30) Wang GY, Xu ZH. *In Vitro* flowering of *Dendrobium candidum*. *Science in China Series C: Life Sciences*. 1997;40(1): 35-42.
- (31) Shiau YJ, Nalawade SM, Hsia CN, Mulabagal V, Tsay HS. *In vitro* propagation of the Chinese medicinal plant, *Dendrobium candidum* Wall. Ex Lindl., from axenic nodal segments. *In Vitro Cell Development Biology Plant*. 2005;41: 666-670.
- (32) Zhao P, Wang W, Feng FS, Wu F, Yang ZQ, Wang WJ. High-frequency shoot regeneration through transverse thin cell layer culture in *Dendrobium candidum* Wall Ex Lindl. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2007;90: 131-139.
- (33) Arteca RN. *Plant Growth Substances: Principles and Applications*. Chapman and Hall, New York. 1995; p.288.
- (34) Roy TL, Barbour MG, Stocking CR, Murphy TM. *Plant Biology*. 2nd Thomson Brooks/Cole. USA. 2006.
- (35) Kaveeta R. *Plants tissue culture: The principles and techniques*. Bangkok. Kasetsart University press. 1997. Thai
- (36) Hossain MM, Sharma M, Teixeira da Silva JA, Pathak P. Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. Ex Lindl. *Scientia Horticulturae*. 2010;123: 479-487.
- (37) Konknok P. A preliminary study on transformation of some species of wild orchids mediated by *Agrobacterium tumefaciens* [MSc thesis]. Khon Kaen: Khon Kaen University; 2001. Thai.
- (38) Chuaychum M, Homhuan S. *In vitro* micropropagation of *Dendrobium formosum* Roxb. [MSc thesis]. Ubon Ratchathani: Ubon Ratchathani University. 2007. Thai.
- (39) De KK, Sudipta M, Ramnath S, Bibaychana S. Green pod culture and rapid micropropagation of *Dendrobium chrysanthum* Wall. a horticultural and medicinal Orchid. *Folia Horticulturae*. 2006;18(1): 81-90.
- (40) Aktar S, Nasiruddin KM, Hossain K. Effects of different media and organic additives interaction on *in vitro* regeneration of *Dendrobium* orchid. *Journal of Agriculture and Rural Development*. 2008;6(1&2): 69-74.
- (41) Asghar S, Ahmad T, Hafiz IA and Yaseen M. *In vitro* propagation of Orchid (*Dendrobium nobile*) var. *Emma white*. *African Journal of Biotechnology*. 2011; 10(16): 3097-3103.
- (42) Nitsch JP. Growth and development *in vitro* excises ovaries. *American Journal of Botany*. 1951;38: 566-571.
- (43) Murashige T. Nutrition of plant cells and organs *in vitro*. *In Vitro*. 1973;9: 81-85.
- (44) Raghavan V, Torrey JG. Inorganic nitrogen nutrition of the seedlings of the orchid *Cattleya*. *American Journal of Botany*. 1964;51: 264.
- (45) Shantz EM, Steward FC. Coconut milk factors: The growth promoting substance in coconut milk. *Journal of the American Chemistry Society Science*. 1952;74: 6133-6135.
- (46) Shantz EM, Steward FC. The identification of compound a from coconut milk as 1,3-diphenylurea *Journal of the American Chemistry Society Science*. 1955;77: 6351-6353.

- (47) Lo SF, Nalawade SM, Kuo CL, Chen CL, Tsay HS. Asymbiotic germination of immature seeds, plantlet development and *ex vitro* establishment of plants of *Dendrobium tosaense* makino-A medicinally important Orchid. In Vitro Cell Development Biology Plant. 2004;40: 528-535.
- (48) Pileuk J. Seed culture and tissue culture of orchid. Bangkok. Kasetsart University press. 1993. p. 82. Thai.
- (49) Sunitibala H, Kishor R. Micropropagation of *Dendrobium transparens* L. from axenic pseudobulb segments. Indian Journal of Biotechnology. 2009; 8: 448-452.
- (50) Kong Q, Yuan SY, Vegvari GY. Micropropagation of an Orchid *Dendrobium strongylanthum* Rchb.f. International Journal of Horticultural Science. 2007;13(1): 61-64.
- (51) Sharma U, Rama Rao V, Mohan JSS, Reddy AS. *In vitro* propagation of *Dendrobium microbulbon* A. Rich-A rare ethnomedicinal herb. Indian Journal of Biotechnology. 2007;6: 381-384.
- (52) Kanchanakul S. Hundreds of botanical species of Lady's Slipper In: Kanchanakul S, editors. Plant material. Bangkok. Satesinlp press. 2008. p. 21-22. Thai.