



วส 122848

ผลของ N6-benzylamimopurine (BA) ต่อการเจริญและพัฒนาของต้น
อ่อนกล้วยไม้กะระรอนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.)

M 121308

พันธิชา แก้วมาตย์



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHA SARAKHAM UNIVERSITY

สำนักวิทยบริการ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม	
ในวัน.....	15 พ.ศ. 2555
วันลงทะเบียน.....	249851
เลขทะเบียน.....	24
เลขเรียกหนังสือ.....	635.9344 พ115 ๗ 2555

๒๒

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

ชื่อเรื่อง : ผลของ N6-benzylamimopurine (BA) ต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อน
กล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.)

ผู้วิจัย : นางสาวพันธิวา แก้วมาตย์

หน่วยงาน/คณะ : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ปีที่ได้รับทุน : 2555

ปีที่แล้วเสร็จ : 2558

บทคัดย่อ

การเพาะปลูกกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ได้เมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l สามารถกระตุ้นให้ได้ใบมากที่สุด จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 8.80 ใบต่อต้น สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l มีความยาวของรากเฉลี่ยสูงที่สุด 1.24 เซนติเมตร สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/l ต้นอ่อนสามารถกระตุ้นให้สร้างรากได้เฉลี่ยสูงที่สุดคือ 5.60 รากต่อต้น และสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l สามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนมีความสูงของลำต้นมากที่สุด มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 4 เซนติเมตร

คำสำคัญ: กะเหรี่ยง, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

TITLE : Effect of N6-benzylamimopurine (BA) on growth and development of young shoots of *Cymbidium bicolor* Lindl

RESEARCHER: Miss Puntivar Kaewmad

FACULTY : Department of Biology, Faculty of Science,

ACADEMIC YEAR : 2012

ACADEMIC YEAR : 2015

Abstract

Micropropagation of *Cymbidium bicolor* Vacin and Went (1949) medium and modified VW with growth regulator N6-benzylamimopurine (BA) at concentrations of 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l. The results show that seed can germinate and grow of all plant media after 12 week. After 3 months of seeding culture showed that modified VW supplemented with 1.5 mg/l BA could promote better leaf formation (8.80 leaves per new shoot) and highest root length (1.24 cm in length). The VW medium with 2.0 mg/l BA can induce highest root formation (5,6 roots per shoot) and the medium with 1.0 mg/l whereas highest shoot length (4.00 cm in length).

คำสำคัญ: *Cymbidium bicolor*, Micropropagation, Tissue culture

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่องการผลิตของ N6-benzylamimopurine (BA) ต่อการเจริญและ
พัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้กะเรกะร้อนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.) ในครั้งนี้ สำเร็จลง
ได้ดี เนื่องจากได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏ
มหาสารคาม ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิทยาศาสตร์ อนุญาตให้ใช้ห้องปฏิบัติการชีววิทยา
ตลอดจนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆในการวิจัย จึงขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้

พันธิธา แก้วมาตย์



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

กิตติกรรมประกาศ

สารบัญ

บทที่ 1 บทนำ	1
- บทนำ	1
- ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
- วัตถุประสงค์การวิจัย	3
- ขอบเขตการวิจัย	3
- นิยามศัพท์เฉพาะ	3
- ประโยชน์ที่ได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
- ทฤษฎีหรือแนวคิดที่เกี่ยวข้อง	5
- งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
- การจัดจำแนกกล้วยไม้	7
- ลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	14
- การศึกษากกล้วยไม้กระร่อนในประเทศไทย.....	16
- เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	22
- ข้อมูลและแหล่งที่มาของข้อมูล	22
- ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง.....	22
- แผนการวิจัย	22
- เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	22
- การเก็บรวบรวมข้อมูล	23
- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฝักกล้วยไม้กระร่อน.....	24
- ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย	29

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัย	30
- ลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	30
- ศึกษาการเพาะฝักกล้วยไม้กะระกะร้อนสองสีด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเพื่อชักนำ ให้เกิดเป็นโปรโตคอร์มของกล้วยไม้.....	32
- การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของกะระกะร้อนสองสีด้วยสูตร อาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสารควบคุม การเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความ เข้มข้นต่างกันเพื่อชักนำให้เกิดเป็นโปรโตคอร์มของกล้วยไม้.....	34
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผล.....	47
- สรุปผล	47
- อภิปรายผล	52
- ข้อเสนอแนะ	54
- ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยครั้งต่อไป.....	55
บรรณานุกรม	56
ภาคผนวก	58
ประวัติผู้วิจัย	74

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1	ลักษณะของกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสี	1
ภาพที่ 2.1	ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยง	15
ภาพที่ 3.1	ฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยง	26
ภาพที่ 3.2	การลนไฟฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยง	27
ภาพที่ 3.3	การผ่าฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยง	27
ภาพที่ 3.4	การวางเมล็ดกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนอาหารสังเคราะห์	28
ภาพที่ 4.1	ลักษณะต้นกล้วยไม้กะเหรี่ยงในสภาพธรรมชาติ	30
ภาพที่ 4.2	ลักษณะดอก และฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยงในสภาพธรรมชาติ	31
ภาพที่ 4.3	การฝักเมล็ดจากฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยงด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสารควบคุมการ เจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ ในสัปดาห์ที่ 1	32
ภาพที่ 4.4	การฝักเมล็ดจากฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยงด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสารควบคุมการ เจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ ในสัปดาห์ที่ 5	32
ภาพที่ 4.5	การเจริญของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนสูตรอาหาร VW ที่ไม่มี สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทั้งหมด 12 สัปดาห์	34
ภาพที่ 4.6	การเจริญของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนสูตรอาหาร VW ที่มีสาร ควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์	35
ภาพที่ 4.7	การเจริญของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนสูตรอาหาร VW ที่มีสาร ควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.0 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์	36
ภาพที่ 4.8	การเจริญของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนสูตรอาหาร VW ที่มีสาร ควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.9	การเจริญของกล้วยไม้กะระร้อนบนสูตรอาหาร VW ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์	38
ภาพที่ 5.1	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 6	49
ภาพที่ 5.2	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 8	50
ภาพที่ 5.3	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 10	51
ภาพที่ 5.4	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 12	52

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1	แสดงอัตราการงอกของโปโตคอร์มของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อน ด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	33
ตารางที่ 4.2	แสดงจำนวนใบเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหารสูตร มาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลง มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	39
ตารางที่ 4.3	แสดงความสูงเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหาร สูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลง มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	41
ตารางที่ 4.4	แสดงจำนวนรากเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหาร สูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลง มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	43
ตารางที่ 4.5	แสดงความยาวรากเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหาร สูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลง มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	45

สารบัญแผนภูมิ

หน้า

กราฟที่	4.1	แสดงอัตราการงอกของโบทโครัมของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อน ด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	33
กราฟ	4.2	แสดงจำนวนใบเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหารสูตร มาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลง มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	40
กราฟ	4.3	แสดงความสูงเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหารสูตร มาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลง มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	42
กราฟที่	4.4	แสดงจำนวนรากเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหารสูตร มาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมี สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	44
กราฟที่	4.5	แสดงความยาวรากเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนบนอาหาร สูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสาร ควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ	46

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและความเป็นมาของปัญหา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง แต่มีการปฏิบัติภายใต้สภาพที่ควบคุม เรื่องความสะอาดแบบปลอดเชื้อ อุณหภูมิ และแสง ด้วยการนำชิ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิต เช่น ลำต้น ยอด ตาข้างก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ และชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ที่ผ่านมาได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประยุกต์ใช้กับงานด้านเภสัชวิทยา และชีววิทยา แต่ปัจจุบันมีการพัฒนา และนำมาใช้แก้ปัญหาหรือเพื่อประโยชน์ในภาคเกษตร และภาคอุตสาหกรรมกันมากขึ้น ในปัจจุบันพืชพรรณหลายชนิดได้สูญพันธุ์ไปหรือกำลังจะสูญพันธุ์ไปอย่างน่าเป็นห่วง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมหรือเกิดจากการทำลายของมนุษย์เอง



ภาพที่ 1.1 ก. ลักษณะของกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสี
ข. ลักษณะของดอกกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสี
ค. ลักษณะของฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสี

ด้วยเหตุนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นวิธีที่จะเก็บรักษาพืชพรรณต่างๆ ไว้ในหลอดทดลอง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีส่วนผสมของสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิด หรือมีสารที่ทำให้เกิดความเครียดของน้ำขึ้นในหลอดทดลอง ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่

ข้ามาก ๆ เพื่อเป็นการประหยัดแรงงาน เวลา และอาหารในการที่จะต้องทำการย้ายเนื้อเยื่อบ่อย ๆ จนกว่าเมื่อใดที่ต้องการจะเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อนั้นสามารถย้ายลงเลี้ยงในอาหารสูตรปกติของพืชชนิดนั้น ๆ นอกจากนี้ต้นพืชที่ผลิตได้จะปลอดโรค โดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส มายโคพลาสมา ด้วยการตัดเนื้อเยื่อ

ฮอร์โมนพืชเป็นสารเคมีภายในพืชซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญของพืชไม่เพียงแต่การเจริญของพืชทั้งต้นเท่านั้น หากแต่ยังเกี่ยวข้องกับการเจริญของพืชแต่ละส่วนด้วย ในปัจจุบันทราบกันดีแล้วว่าฮอร์โมนพืชมีทั้งชนิดที่กระตุ้นการเจริญเติบโต และระงับการเจริญเติบโต ฮอร์โมนพืชที่พบในปัจจุบันคือออกซิน (Auxin) จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) ไซโตไคนิน (Cytokinins) กรดแอบซิวลิก (Abscisic Acid) หรือ ABA และเอทิลีน (Ethylene) ซึ่งมีสภาพเป็นก๊าซ

ฮอร์โมนพืชสามารถเคลื่อนย้ายภายในต้นพืชได้และมีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและการพัฒนาของเนื้อเยื่อ และอวัยวะของพืชซึ่งได้รับฮอร์โมนนั้น ๆ คำว่า ฮอร์โมน นั้นเริ่มใช้โดยนักสรีรวิทยาของสัตว์ ซึ่งต่อมานักสรีรวิทยาของพืชได้นำมาใช้กับสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งสามารถมีผลกระทบในปริมาณที่น้อยมาก โดยพืชจะสังเคราะห์ที่ส่วนหนึ่งแล้วเคลื่อนย้ายไปยังอีกส่วนหนึ่ง และมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ค่อนข้างเฉพาะเจาะจง ดังนั้นในการศึกษาทางด้านฮอร์โมนจึงมักศึกษาในแง่ของแหล่งและกระบวนการสังเคราะห์ การเคลื่อนที่และเคลื่อนย้าย และปฏิกิริยาของฮอร์โมนที่มีต่อพืช

ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกำลังเป็นที่นิยม และได้รับความสนใจมากไม่ว่าจะเป็นในด้านการศึกษา และด้านการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากการผลิตพืชเศรษฐกิจในปัจจุบันนี้นิยมขยายพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะสามารถผลิตพืชปลอดเชื้อโรค และได้ต้นพืชที่แข็งแรง สมบูรณ์ กล้วยไมกะเรกะร้อนสองสีเป็นกล้วยไม้ป่าที่ได้รับความนิยมในการนำไปปลูกตามบ้านเรือน และชาวบ้านได้ลักลอบไปเก็บออกมาจากป่าเพื่อนำมาวางขายตามตลาดเกษตรกร และตามงานประกวดกล้วยไม้ มีราคาสูงในช่วงของการออกดอก แต่โดยส่วนใหญ่เมื่อนำมาเลี้ยงตามอาคารบ้านเรือน มักจะออกดอกช้าเนื่องจากสภาพสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญกล้วยไม้ชนิดนี้ยังนิยมเลี้ยงในแถบประเทศจีน และญี่ปุ่น ในสภาพธรรมชาติกล้วยไม้พันธุ์นี้กำลังลดลงจากรวมชาติ สำหรับการศึกษาค้นคว้าเพื่อที่จะเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อของกะเรกะร้อนสองสีจากการเพาะเลี้ยงฝัก เพื่อช่วยลดปัญหาจากการนำกล้วยไม้ป่าจากธรรมชาติมาขายในท้องตลาด และศึกษาปริมาณฮอร์โมน N^6 -benzylamimopurine (BA) ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาต้นอ่อนของกะเรกะร้อนสองสี

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเพาะผักกั้วกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสีด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสารควบคุมการเจริญเติบโต N⁶-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน
2. เพื่อเพิ่มปริมาณกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากผักกั้วกล้วยไม้
3. เพื่อเก็บรักษาพันธุ์กล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสีไว้ในหลอดทดลอง

ขอบเขตการวิจัย

1. สูตรอาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949)
2. ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากผักกั้วกล้วยไม้ของกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสี
3. สารควบคุมการเจริญเติบโต N⁶-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l

นิยามศัพท์เฉพาะ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) เป็นศาสตร์ด้าน biotechnology สาขาหนึ่ง โดยนำเซลล์เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ (synthetic medium) ในสภาพปราศจากเชื้อ (aseptic condition) ภายใต้การควบคุมสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ แสงสว่าง และความชื้นเป็นต้น โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิยมเนื้อเยื่อจากต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดแบบปราศจากเชื้อ (aseptic technique) เพราะทุกชิ้นส่วนของต้นอ่อนสามารถนำมาใช้เป็นเนื้อเยื่อตั้งต้นในการเพาะเลี้ยง ส่วนเนื้อเยื่อหรือชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากพืชต้องนำมาฆ่าเชื้อที่บริเวณผิว (surface sterilization) ก่อนนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถทำได้บนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง (agar medium) และในอาหารเหลว (liquid medium) ซึ่งอย่างหลังนิยมทำบนเครื่องเขย่า (shaker) เพื่อเพิ่มออกซิเจนให้แก่เซลล์ หลังจากเลี้ยงเนื้อเยื่อไปได้สักระยะเวลาหนึ่ง ต้องมีการถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ (subculturing) เนื่องจากอาหารเดิมลดน้อยลง และของเสียที่เซลล์ขับออกมาเพิ่มมากขึ้น

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. เพื่อให้เกิดการพัฒนาสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้กะเรกะร้อนสองสี และสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับกล้วยไม้ชนิดอื่น ๆ ได้ในอนาคต
2. เพื่อทราบปริมาณฮอร์โมน BA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้กะเรกะร้อนสองสี
3. สามารถเพิ่มปริมาณกล้วยไม้กะเรกะร้อนสองสี ในสภาพปลอดเชื้อ และนำไปสู่การอนุรักษ์ และกลับคืนสู่ป่าได้



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledons) อยู่ใน Family Orchidaceae ประกอบไปด้วยชนิดมากกว่า 25,000 ชนิด และมีลูกผสมอีกมากกว่า 100,000 ชนิด เป็นตระกูลไม้ดอกที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดในโลก เราสามารถพบเห็นกล้วยไม้ได้ตั้งแต่เขตร้อนไปจนถึงเขตหนาว และแม้แต่ในเขตทะเลทราย ก็มีกล้วยไม้ขึ้นอยู่ได้ กล้วยไม้มีความใกล้เคียงกับดอกกล้วยไม้มากที่สุด ลักษณะของกล้วยไม้ทั้งต้นและดอก มีความหลากหลายมาก ตั้งแต่ดอกที่มีลักษณะ รูปทรง สี สัน สวยงาม ไปจนถึงลักษณะรูปทรงสีสันที่แปลกประหลาด สะดุดตาผู้ที่ได้พบเห็น สีของกล้วยไม้ตั้งแต่สีที่สดใสไปจนถึงสีที่มีดกทึบ กล้วยไม้จัดเป็นไม้ดอกที่มีวิวัฒนาการสูงสุดในบรรดาไม้ดอกทั่วไป

2.1 ทฤษฎีหรือแนวคิดที่เกี่ยวข้อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การนำเอาเซลล์หรือเนื้อเยื่อ หรือ อวัยวะบางส่วนของพืช เช่น ยอด ลำต้น ใบ ราก ส่วนต่างๆ ของดอกหรือผล มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ในสภาพปลอดเชื้อ และควบคุมสภาพแวดล้อม ปัจจุบันนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทอย่างมากทั้งในด้านการเกษตรกรรม อุตสาหกรรม และด้านการแพทย์ ด้วยเหตุนี้จึงขอกกล่าวถึงประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นข้อ ๆ ดังนี้

2.1.1 เพื่อการขยายพันธุ์

โดยอาศัยอาหารสูตรที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นเป็นทวีคูณจากไดอะแกรมประกอบ จะเห็นว่าจากที่เราเริ่มต้นทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพืชเพียงต้นเดียว และทำการย้ายเนื้อเยื่อเดือนละครั้ง และแต่ละเดือนต้นพืชสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ 10 ต้น เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 6 เดือน เราสามารถผลิตต้นพืชในหลอดทดลองได้ถึง 1 ล้านต้น ซึ่งไม่มีวิธีอื่นใดที่จะ ผลิตต้นกล้าพืชให้ได้ปริมาณมากและรวดเร็วเช่นนี้

2.1.2 เพื่อการปรับปรุงพันธุ์

ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถคัดเลือกสายพันธุ์พืช เพื่อการผลิตพืชพันธุ์ต้านทาน (resistant plant) สามารถที่จะชักนำให้เกิดความต้านทานขึ้นในต้นพืช โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเงื่อนไขต่าง ๆ เช่น การสร้างพันธุ์ต้านทานต่อสารพิษของโรค ต้านทานต่อแมลง หรือต้านทานต่อยากำจัดวัชพืช เป็นต้น หรือเพื่อการผลิตพืชพันธุ์ทนทาน (tolerance plant) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถที่จะคัดเลือกสายพันธุ์ทนทานได้จากการจัดเงื่อนไขของ

อาหารและสภาวะแวดล้อม เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์พืชทนเค็มจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีส่วนผสมของเกลือ การคัดเลือกสายพันธุ์ทนต่อดินเปรี้ยวจากการเลี้ยงในอาหารที่มีสภาพเป็นกรด การคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนร้อนโดยการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง เป็นต้น

โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ แล้วคัดเลือกเอาสายพันธุ์ดีไว้ ซึ่งอาจทำได้โดยการใช้สารเคมี การฉายรังสี การตัดต่อยีนส์ (DNA recombination) และการย้ายยีนส์ (gene transformation) ยังเปิดโอกาสให้สามารถใช้ประโยชน์ในการสร้างพืชสายพันธุ์ใหม่ (transgenic plants) ที่ต้องการในพืชบางชนิด

2.1.3 เพื่อการผลิตพืชที่ปราศเชื้อไวรัส (Virus-free plant propagation)

ปัญหาสำคัญประการหนึ่งของการผลิตพืช คือ โรค ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเชื้อรา แบคทีเรีย หรือไวรัส ต้นพืชที่ผลิตได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะปราศจากเชื้อราและแบคทีเรียเป็นอันดับแรก เพราะถ้าหากว่ามีอนุภาคของเชื้อเหล่านั้นตกลงไปในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ก็แสดงอาการปนเปื้อนของเชื้อ (contamination) เพราะทั้งอนุภาคของแบคทีเรียและสปอร์ของราสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วบนอาหารและจะปรากฏกลุ่ม colony ของจุลินทรีย์เหล่านั้น ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า เราจึงสามารถเก็บออกมาจัดทิ้งได้ ส่วนในกรณีของการปนเปื้อนของเชื้อไวรัส ซึ่งเป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็กมาก และจะสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ก็ต่อเมื่ออาศัยอยู่ในเซลล์ชนิดอื่น ฉะนั้นต้นพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสจึงไม่แสดงอาการปนเปื้อนให้เห็น สามารถทราบได้ก็ต่อเมื่อเกิดอาการบนต้นพืช ดังนั้นก่อนทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องคัดเลือกและตรวจสอบเนื้อเยื่อ ชิ้นส่วนของพืชที่นับว่ามีความปลอดภัยจากเชื้อไวรัสมากที่สุด คือ apical meristem ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่อยู่บริเวณปลายยอดของลำต้น และเนื้อเยื่อของคัพภะ (embryo) ที่อยู่ในเมล็ด อันเนื่องจากอนุภาคของไวรัสสามารถเคลื่อนย้ายได้ทางท่ออาหาร (phloem) และ ท่อน้ำ (xylem) แต่เนื้อเยื่อดังกล่าวไม่มีท่อน้ำและท่ออาหารที่จะติดต่อกับ ส่วนอื่น ๆ ของต้นพืช

2.1.4 เพื่อการผลิตสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite)

พืชบางชนิดสามารถให้สารที่มีคุณสมบัติทางยา หรือมีประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรม แต่ในบางครั้งปริมาณเนื้อสารที่ต้องการมีอยู่ในปริมาณน้อยมาก จะต้องใช้ชิ้นส่วนพืชจำนวนมากนำมาสกัดแยก การเพาะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพืชเหล่านั้น ในสภาพแวดล้อมและอาหารที่เหมาะสมก็อาจชักนำให้เกิดการสังเคราะห์สารที่เราต้องการได้มากขึ้น

2.1.5 เพื่อการศึกษาทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของพืช (Biochemical and Physiology study)

ต้นพืชที่เลี้ยงในหลอดทดลองนั้นสามารถที่จะติดตามการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงได้ง่ายและอย่างใกล้ชิด เช่น การศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อพืชต่อยาฆ่าแมลง ยาปราบศัตรูพืช หรือต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และการควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ในหลอดทดลองทำได้ง่ายได้กว่าแปลงทดลอง

2.1.6 เพื่อการเก็บรักษาพันธุ์พืช (Germplasm conservation, gene bank)

ปัจจุบันพืชพรรณหลายชนิดได้สูญพันธุ์ไปหรือกำลังจะสูญพันธุ์ไปอย่างน่าเป็นห่วง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมหรือเกิดจากการทำลายของมนุษย์เอง ด้วยเหตุนี้นักเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงได้พยายามคิดหาวิธีที่จะเก็บรักษาพืชพรรณต่าง ๆ ไว้ในหลอดทดลอง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีส่วนผสมของสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิด หรือมีสารที่ทำให้เกิดความเครียดของน้ำขึ้นในหลอดทดลอง ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ช้ามาก ๆ เพื่อเป็นการประหยัดแรงงาน เวลา และอาหารในการที่จะต้องทำการย้ายเนื้อเยื่อบ่อย ๆ จนกว่าเมื่อใดที่ต้องการจะเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อนั้นสามารถย้ายลงเลี้ยงในอาหารสูตรปกติของพืชชนิดนั้น ๆ อีกวิธีหนึ่งก็คือ การเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้ในไนโตรเจนเหลวที่ อุณหภูมิ ต่ำถึง -196 องศาเซลเซียส ในสภาพเช่นนี้เซลล์และเนื้อเยื่อจะคงสภาพและมีชีวิตอยู่ได้ยาวนาน

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 การจัดจำแนกกล้วยไม้

สุทัศน์ ลิ้มปิยะประพันธ์ (2554) กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดในโลกชนิดหนึ่ง จึงได้มีการจัดแบ่งกล้วยไม้ออกเป็นกลุ่มต่างๆ ได้หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่

1. การจัดแบ่งตามลักษณะการเจริญเติบโต โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

1.1 การเจริญไปทางเดียว หรือที่เรียกว่า แบบ monopodial กล้วยไม้กลุ่มนี้ มีการเจริญเติบโตไปในด้านตั้ง หรือการเกิดใบ เกิดจากส่วนของปลายยอดเพียงอย่างเดียว มีการเพิ่มความสูงของต้นไปเรื่อยๆ ไม่มีที่สิ้นสุด ในกรณีที่ปลายยอดโดนทำลาย สามารถเกิดหน่อใหม่ที่บริเวณโคนต้นได้ ตัวอย่างได้แก่ สกุลช้าง (*Rhynchostylis*) สกุลแวนด้า (*Vanda*) สกุลกุหลาบ (*Aerides*) เป็นต้น

1.2 การเจริญไปทางแนวนอน หรือที่เรียกว่า แบบ sympodial การเจริญเติบโตของกล้วยไม้กลุ่มนี้ เป็นไปในแนวนอน เนื่องจากกล้วยไม้กลุ่มนี้มีลักษณะต้นแตกต่างไปจากกลุ่ม

แรก คือมีส่วนของลำต้นที่แท้จริงเป็นเหง้าของลำต้นเทียม ศัพท์ทางกล้วยไม้เรียกว่า pseudobulb และเรียกเป็นภาษาไทยว่า ลำลูกกล้วย ที่บริเวณฐานของลำลูกกล้วยนี้ คือส่วนของลำต้นจริง มีส่วนของตาอยู่ เมื่อลำลูกกล้วยพัฒนาไปจนได้ระยะโตเต็มวัยแล้ว ตาด้านล่างที่ฐาน ก็เจริญขึ้นเกิดเป็นลำลูกกล้วยลำใหม่ ตัวอย่างเช่น สกุลหวาย (*Dendrobium*) สกุลแคทลียา (*Cattleya*) สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*) เป็นต้น

2. การจัดแบ่งตามลักษณะของแหล่งที่อยู่และลักษณะของราก สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มด้วยกัน ได้แก่

2.1 กล้วยไม้ดิน (terrestrial) ในกลุ่มนี้ แหล่งที่อยู่ในธรรมชาติ เจริญเติบโตอยู่บนดิน ในการปลูกเลี้ยง ใช้ดินหรือดินผสมเป็นวัสดุปลูก และมักมีหัวอยู่ใต้ดินด้วย ได้แก่ สกุลเอื้องพร้าว (*Phaius*) สกุลเอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis*) สกุลนางอ้ว (*Habenaria*) เป็นต้น

2.2 กล้วยไม้กึ่งดิน (semi-terrestrial) มีการเจริญเติบโตอยู่บนผิวดิน บริเวณที่มีซากไม้หรือใบไม้ผุ ลำต้นค่อนข้างอวบน้ำ ได้แก่ สกุลรองเท้านารี สกุลกะระกะร้อน (*Cymbidium*) เป็นต้น

2.3 กล้วยไม้กึ่งอากาศ (semi-epiphyte) เป็นพวกที่เจริญได้ดีบนต้นไม้ หรือโขกหิน รากมีขนาดค่อนข้างเล็ก ในการปลูกเลี้ยงต้องใช้วัสดุปลูก ได้แก่ กล้วยหวาย บางชนิดของสกุลแคทลียา เป็นต้น

2.4 กล้วยไม้อากาศ (epiphyte) สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนต้นไม้ หรือโขกหิน รากมีขนาดใหญ่ และอวบน้ำ บริเวณปลายรากมีสีเขียว สามารถสังเคราะห์แสงได้ การปลูกเลี้ยงใช้วัสดุปลูกน้อยมาก ถ้ามีความชื้นดี อาจไม่ต้องใช้เครื่องปลูกเลยก็ได้ ได้แก่ สกุลแวนด้า สกุลฟาแลนอปซิส (*Phalaenopsis*) เป็นต้น

3. การจัดแบ่งตามหลักพฤกษศาสตร์

การจัดแบ่งตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ได้อาศัยหลักการจัดแบ่งตามอนุกรมวิธาน (taxonomy) ซึ่งเป็นหลักการที่ใช้ในการจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิตต่างๆบนโลกนี้ กล้วยไม้จัดอยู่ในวงศ์ (family) Orchidaceae และได้มีการแบ่งออกเป็น 5 sub-family ด้วยกัน (Dressler, 1993) ได้แก่

- 3.1 sub-family Apostasioideae
- 3.2 sub-family Cyrtipedioideae
- 3.3 sub-family Orchidoideae (3 Tribes)
- 3.4 sub-family Spiranthoideae (3 Tribes)
- 3.5 sub-family Epidendroideae (17 Tribes)

จาก sub-family ได้มีการแบ่งออกเป็น Tribe ต่างๆอีก และมี sub-tribe แยกออกมา ก่อนที่จะแยกเป็น สกุลต่างๆ ในบางสกุล เนื่องจากมีกล้วยไม้อยู่มากชนิด จึงได้มีการแบ่งออกเป็น section ต่างๆ โดยพิจารณาตามลักษณะการเจริญเติบโตและสัณฐานวิทยาเป็นส่วนประกอบ

ในปี 1995 Szlachetko ได้มีการเสนอการแบ่งกล้วยไม้ออกเป็น วงศ์ใหม่อีก 3 วงศ์ด้วยกัน ได้แก่

- Apostasiaceae
- Cyripediaceae
- Orchidaceae ประกอบไปด้วย 8 sub-families ด้วยกัน คือ

* Orchidoideae (5 Tribes)	* Thelymthroideae (7 Tribes)
* Spiranthoideae (3 Tribes)	* Neottioideae (2 Tribes)
* Tropidiolideae	* Vanilloideae (6 Tribes)
* Epidendroideae (9 Tribes)	* Vandoideae (12 Tribes)

ในการจำแนกกล้วยไม้ออกเป็นกลุ่มต่างๆ (sub-family) มีการพิจารณาจาก

1. ลักษณะของ pollen และการสร้าง pollinia
2. ลักษณะของ anther และจำนวนของ anther
3. กาบใบที่มาห่อหุ้มส่วนของลำต้น

จากนั้นก็มาพิจารณาถึงลักษณะของใบ กลีบดอก รังไข่ ลำต้น และลักษณะปลีกย่อยต่างๆ ที่สามารถจำแนกชนิดต่างๆ ออกจากกันได้

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ ซึ่งกล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา แตกต่างไปจากดอกไม้ชนิดอื่นๆ เป็นไม้ดอกที่มีวิวัฒนาการขั้นสูงแล้ว ลักษณะเหล่านั้นได้แก่

1. ดอก กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีลักษณะเด่น แปลกไปจากไม้ดอกชนิดอื่นๆ คือ ส่วนของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย รวมอยู่บนฐานเดียวกัน เรียกโครงสร้างนี้ว่า เสาเกสร (column) ซึ่งในไม้ดอกชนิดอื่นๆ ไม่มีโครงสร้างนี้ ลักษณะของกลีบดอก แบ่งออกได้เป็น 2 ชั้น คือกลีบชั้นนอก (sepal) ประกอบไปด้วยกลีบดอก 3 กลีบคือ กลีบชั้นนอกด้านบน เรียกว่า dorsal sepal และกลีบชั้นนอกด้านข้าง ซึ่งมีอยู่ 2 กลีบเรียกว่า lateral sepals ในส่วนกลีบดอกชั้นใน (petal) มีส่วนของ กลีบดอกอยู่ 2 กลีบ และมีกลีบชั้นในอีกกลีบหนึ่ง ที่มีการแปรรูปไปเป็นส่วนที่เรียกว่า

ปาก (labellum หรือ lip) ในบางครั้ง เมื่อมีการนับจำนวนกลีบดอกของกล้วยไม้มักพูดว่ามี 5 กลีบ และ 1 ปาก ซึ่งส่วนปากนี้ในกล้วยไม้บางสกุลเรียกว่า กระเป่า กระโปรง หรือหัวรองเท้า

2. ช่อดอก ของกล้วยไม้ มีทั้งที่เป็นดอกช่อและดอกเดี่ยว ช่อดอกของกล้วยไม้ (inflorescence) มีทั้งเป็นช่อเดี่ยว (raceme) และช่อแขนง (panicle)

3. ลำต้น ลักษณะของกล้วยไม้ มีหลากหลายอยู่มาก สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มด้วยกัน ตามลักษณะการเจริญของทรงต้นคือ แบบเจริญไปทางเดียว (monopodial) กล้วยไม้ในกลุ่มนี้ มีการเจริญเติบโตขึ้นไปทางสูงแต่เพียงอย่างเดียว การเกิดของใบเกิดสลับเป็นแบบฟันปลา ซ้อนกันขึ้นไปในระนาบเดียว จุดเจริญอยู่ที่ส่วนยอด รากเกิดขึ้นได้ตามลำดับที่เจริญสูงขึ้นไป เมื่อมีการเจริญไปทางสูงระยะหนึ่งแล้ว ส่วนโคนของลำต้นอาจมีการแทงหน่อใหม่ขึ้นมาจากที่บริเวณส่วนโคนได้ และ แบบเจริญไปทางแนวนอน (sympodial) กล้วยไม้ในกลุ่มนี้ การเจริญเติบโต เป็นไปในแนวนอน มีส่วนของลำต้นที่แท้จริงอยู่บริเวณโคน ในบางชนิดเรียกว่า เหง้า (rhizome) ส่วนที่เห็นเป็นลำต้นนั้น แท้จริงคือลำต้นเทียม หรือส่วนที่มีการพัฒนาไปในการสะสมอาหาร เรียกว่า ลำลูกกล้วย (pseudobulb) มีจุดเจริญอยู่ที่เหง้า เมื่อต้นเดิมพัฒนาไปได้ระยะหนึ่งแล้ว ก็เกิดต้นใหม่ขึ้นมาจากตาด้านข้าง

4. ใบ ของกล้วยไม้มีอยู่หลากหลายลักษณะด้วยกัน สามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามลักษณะของใบได้ดังนี้ ใบกลม (terete) ใบแบบนี้มีลักษณะกลมเป็นทรงกระบอก มองดูคล้ายแท่งดินสอ ใบร่อง (semi-terete) ใบมีลักษณะเกือบกลม แต่ยังคงแยกออกจากกันพอมองเห็นได้ ถ้าทำการตัดขวาง มองเห็นเป็นรูปตัว V และใบแบน (strap-leaf) ใบมีร่องตื้นๆ อยู่ตรงกลางใบ แล้วส่วนของขอบใบแผ่ออกกว้าง บางชนิดใบโค้งห้อยลงเล็กน้อย

5. ราก ของกล้วยไม้ เป็นแบบรากแขนง มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับเชื้อราที่เรียกว่า *Mycorrhiza* ซึ่งอยู่รวมกันแบบภาวะเกื้อกูล (symbiosis) รากกล้วยไม้มีความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารได้ดี และรากของกล้วยไม้บางชนิดที่ปลายรากมีสีเขียวห่อหุ้มสามารถทำหน้าที่สังเคราะห์แสงได้

6. เมล็ด มีขนาดเล็ก น้ำหนักประมาณ 0.3 – 0.6 ไมโครกรัม เนื่องจากเมล็ดของกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากนี้เอง ทำให้ไม่สามารถที่จะทำการเพาะเมล็ดของกล้วยไม้เหมือนไม้ดอกชนิดอื่นๆ ต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการเพาะเมล็ด

2.2.2 การจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลกะระระอ่อน

กล้วยไม้สกุลกะระระอ่อน (*Cymbidium* Sw.) หรือซิมบิเดียม ตั้งขึ้นเมื่อปีคริสต์ศักราช 1799 โดย Peter Olof Swartz นักพฤกษศาสตร์ชาวสวีเดน ชื่อสกุลมีรากศัพท์มาจากภาษากรีกว่า *kymbes* แปลว่า รูปทรงเหมือนเรือ หมายถึง รูปทรงของกลีบปากที่ดูคล้ายเรือ

กล้วยไม้สกุลนี้พบทั้งกล้วยไม้อิงอาศัยและกล้วยไม้ดิน บางชนิดเป็นกล้วยไม้กินซาก ลำต้นมีทั้งลักษณะเป็นหัวแบบเผือกหรือเป็นเหง้าใต้ดิน ใบรูปแถบมีหลายใบเรียงสลับระนาบเดียว มีทั้งชนิดใบบางจนถึงหนาและแข็ง ใบอ่อนพับตามแนวยาว ใบแก่หลุดร่วงที่ข้อเหลือกาบใบติดคาค้น ข้อดอกเป็นกระจะออกที่ข้อข้างลำต้นหรือที่เหง้าในบางชนิด มีทั้งตั้งตรงหรือโค้ง บางชนิดห้อยลง ดอกใหญ่ มีหลายดอก เรียงเวียนกันแน่น กลีบเลี้ยงและกลีบดอกคู่ข้างคล้ายกัน กลีบปากมีหูปากตั้งชิดกับเส้าเกสร กลางกลีบมีเยื่อหนูนเป็นสันตามยาว 2 แนว เส้าเกสรยาวและโค้งเล็กน้อย บางชนิดมีกลุ่มเรณู 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มเว้าลึก บางชนิดมีกลุ่มเรณู 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มยึดติดกับแผ่นเยื่อ มีการกระจายพันธุ์ตามป่าผลัดใบและป่าไม่ผลัดใบในเขตอบอุ่นและเขตร้อนของทวีปเอเชียจนถึงทวีปออสเตรเลีย (สลิล สิทธิสังจรธรรม, 2549)

Du Puy and Cribb (2007) ได้เสนอให้จัดหมู่ของกล้วยไม้สกุลกะระระอ่อนออกเป็น 11 หมู่ (section) โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภูมิอากาศที่กล้วยไม้แต่ละชนิดอาศัย โดยแต่ละหมู่มีลักษณะที่แตกต่างกันไปดังนี้

1. Section *Cyperorchis* (Blume) P.F.Hunt เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากเชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสร กลีบเลี้ยงคู่ข้างแผ่กางออก สันแคลลัสจำนวน 2 สัน แยกกัน เส้าเกสรมีขนเฉพาะด้านใต้แต่ไม่หนาแน่น แผ่นใบจำนวน 5 แผ่นใบ หรือมากกว่า แผ่นใบที่อยู่ด้านล่างยาวกว่าด้านบน แผ่นใบเรียวยาวรูปรีแคบรูปแถบ โคนใบเป็นกาบหุ้มหัวเทียม ซึ่งมีลักษณะเล็ก กลีบปากมีจุดแต่ไม่มาก กลีบเลี้ยงและกลีบปากเรียวแหลม กลีบเลี้ยงบนมักโค้งลงมาปกคลุมเส้าเกสร ประกอบด้วย

- 1.1 *Cymbidium lowianum* (Rchb.f.) Rchb.f.
- 1.2 *C. iridiodes* D. Don
- 1.3 *C. tracyanum* L. Castle
- 1.4 *C. hookerianum* Rchb.f.
- 1.5 *C. sanderae* (Rolfe) Du Puy & P.J. Cribb
- 1.6 *C. insigne* Rolfe
- 1.7 *Cymbidium erythraeum* Lindl.
- 1.8 *C. schroederi* Rolfe
- 1.9 *C. wilsonii* (Rolfe ex Cook) Rolfe

- 1.10 *C. mastersii* Griff
- 1.11 *C. parishill* Rchb.f.
- 1.12 *C. roseum* J.J. Smith
- 1.13 *C. eburneum* Lindl.
- 1.14 *C. banaense* Gagnep.
- 1.15 *C. elegans* Lindl.
- 1.16 *C. cochleare* Lindl.
- 1.17 *C. whiteae* King & Pantl.
- 1.18 *C. sigmoideum* J.J. Smith
- 1.19 *C. wenshanense* Y.S. Wu & F.Y. Liu
- 1.20 *C. wadae* Yukawa

2. Section *Parishiella* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากเชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสรยาวประมาณ 3-6 มม. กลีบเลี้ยงคู่ข้างโค้งงุ้ม หรือแผ่กางออก สันแคลลัสจำนวน 2 สัน ปลายไม่เชื่อมติดกัน ด้านใต้ของเส้าเกสรมีขนปกคลุมห่าง ๆ ด้านบนไม่มี ใบมีจำนวน 2-4 ใบ แผ่นใบสั้น รูปรี ยาวไม่เกิน 17 ซม. หัวเทียมโป่งนูน แฉกกลีบข้างของกลีบปากมักมีสีน้ำตาลอมม่วง แฉกกลางของกลีบปากมีจุดประสีน้ำตาลอมม่วงจำนวนมาก แตกหัวเทียมใหม่ทุก ๆ ปี ประกอบด้วย

C. tigrinum Parish ex Hook.

3. Section *Annamaea* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากเชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสรยาวประมาณ 3-6 มม. กลีบเลี้ยงคู่ข้างโค้งลง ทำให้ดอกดูแคบและคล้ายรูปสามเหลี่ยมปลายสันแคลลัสเชื่อมติดกันเป็นรูปปลี 3 แฉก ด้านใต้ของเส้าเกสรมีขนหนาแน่น สีชมพูเข้ม ช่อดอกมักเกิดขึ้นตั้งแต่ต้นยังไม่โตเต็มที่ ใบประดับยาว กลีบเลี้ยงหลังตั้งตรง กลีบดอกโค้งเป็นแอ่งปกคลุมเส้าเกสร แฉกกลีบปากกลางสั้น รูปสามเหลี่ยม ประกอบด้วย

C. erythrostylum Rolfe

4. Section *Himantophyllum* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสร แผ่นใบบางเรียวยาวรูปรีแกมรูปแถบ ไม่มีก้านใบ ปลายใบแหลมหรือเรียวยาวแหลม ก้อนเรณู 2 อัน สันแคลลัสมีขนสั้นนุ่มปกคลุม หรือมีขนสั้นคล้ายต่อมสีขาวปกคลุม ดอกมีสีแดงเลือดนกและสีขาว กลีบเลี้ยงและกลีบดอกเหลืองแหลม ปลายกลีบดอกมักโค้งงุ้มคล้ายรูปห้อยเรือ อยู่เหนือเส้าเกสร ประกอบด้วย

C. dayanum Rchb.f.

5. Section *Bigibbarium* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสร สันแคลลัสลดรูปไปไม่มีลักษณะเป็นหลอด โดยลดรูปลงมาเป็น swelling เล็ก ๆ ที่โคนของแฉกกลางของกลีบปาก ก้อนเรณู 2 อัน ด้านหลังมีรอยเว้าลึก แผ่นใบรูปรีมีก้านใบชัดเจน ประกอบด้วย

C. devonianum Paxton

6. Section *Jensoa* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสร แผ่นใบรูปแถบ หัวเทียมรูปไข่ มีน้อยชนิดที่เห็นหัวเทียมไม่ชัดเจน กลีบปากมีสันแคลลัส ตั้งแต่โคนกลีบมาจนถึงปลายกลีบ และมีรูปร่างคล้ายหลอดติดอยู่กับโคนของแฉกกลางของกลีบปาก ก้อนเรณู 4 อัน แยกเป็น 2 กลุ่มขนาดไม่เท่ากัน ประกอบด้วย

6.1 *C. sinense* (Jackson in Andr.) Willd.

6.2 *C. ensifolium* (L.) Sw.

6.3 *C. kanran* Makino

6.4 *C. munronianum* King & Pantl.

6.5 *C. defoliatum* Y.S. Wu & S.C. Chen

6.6 *C. cyperifolium* Wall. ex Lindl.

6.7 *C. faberi* Rolfe

6.8 *C. goeringii* (Rchb.f.) Rchb.f.

6.9 *C. tortisepalum* Fukuyama

6.10 *C. nanulum* Y.S. Wu & S.C. Chen

6.11 *C. omeiense* Y.S. Wu & S.C. Chen

6.12 *C. qiubeiense* Y.S. Wu & S.C. Chen

7. Section *Pachyrhizanth* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสร ก้อนเรณู 4 อัน แยกเป็น 2 กลุ่มไม่เท่ากัน กลีบปากมีสันแคลลัสตั้งแต่โคนกลีบจนถึงปลายกลีบ และมีรูปร่างคล้ายหลอดติดอยู่บริเวณโคนของแฉกกลางของกลีบปาก แผ่นใบรูปรี หรือไม่มีแผ่นใบ หัวเทียมรูปกระสวยหรือไม่เห็นชัดเจน ประกอบด้วย

7.1 *C. macrorhizon* Lindl.

7.2 *C. lancifolium* Hook.

8. Section *Floribundum* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมกับโคนเส้าเกสร แผ่นใบรูปรีจนถึงรูปรีแกมรูปแถบ ไม่มีก้านใบ สันแคลลัสลดรูปแต่ก็เห็นเป็นหลอด ขอบหยักมน ก้อนเรณู 2 อัน ด้านหลังเว้าลึก ช่อดอกตั้งตรง บางชนิดแผ่นใบไม่หนา เหนียวคล้ายหนัง มีแผ่นใบ 5-10

ปลายใบเบี้ยวหรือเว้าเป็น 2 แฉก ไม่มีจุดบนกลีบเลี้ยงและกลีบดอก กลีบปากมีแฉกข้างกว้าง ซึ่งมักจะโค้งเข้าโอบเส้าเกสร ประกอบด้วย

- 8.1 *Cymbidium floribundum* Lindl.
- 8.2 *C. sauvissimum* Sander ex C. Curtis
- 8.3 *C. hartinahianum* J.B. Comber & Nasution
- 8.4 *C. chloranthum* Lindl.
- 8.5 *C. elongatum* J.J. Wood, Du Puy & P.S. Shim

9. Section *Austrocymbidium* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสร สันแคลลัสลดรูป แผ่นใบรูปรีจนถึงรูปรีแกมรูปแถบไม่มีก้านใบ ก้อนเรณู 2 อัน แผ่นใบไม่หนามาก ปลายใบแหลมหรือมน และมักจะมีรูปร่างปลายใบไม่สมมาตร ถ้าเป็นชนิดที่แผ่นใบหนาแข็ง ปลายใบมักจะแหลม สันแคลลัสก็มีลักษณะเป็นริ้วแบน ๆ เกือบจะ ปลายใบประกอบด้วย

- 9.1 *C. madidum* Lindl.
- 9.2 *C. canaliculatum* R. Brown
- 9.3 *C. suave* R. Brown

10. Section *Cymbidium* เป็นหมู่ที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมรวมกับโคนเส้าเกสร แผ่นใบรูปรีแคบ ๆ ปลายใบมนหรือเว้าลึกแยกเป็น 2 แฉก ขนาดไม่สมมาตรกัน ไม่มีก้านใบ ช่อดอกเกือบตั้งตรง หรือห้อยลง ขอบของสันแคลลัสไม่หยักมน ก้อนเรณู 2 อัน ประกอบด้วย

- 10.1 *C. aloifolium* (L.) Sw.
- 10.2 *C. bicolor* Lindl.
- 10.3 *C. rectum* Ridley
- 10.4 *C. finlaysonianum* Lindl.
- 10.5 *C. atropurpureum* (Lindl.) Rolfe

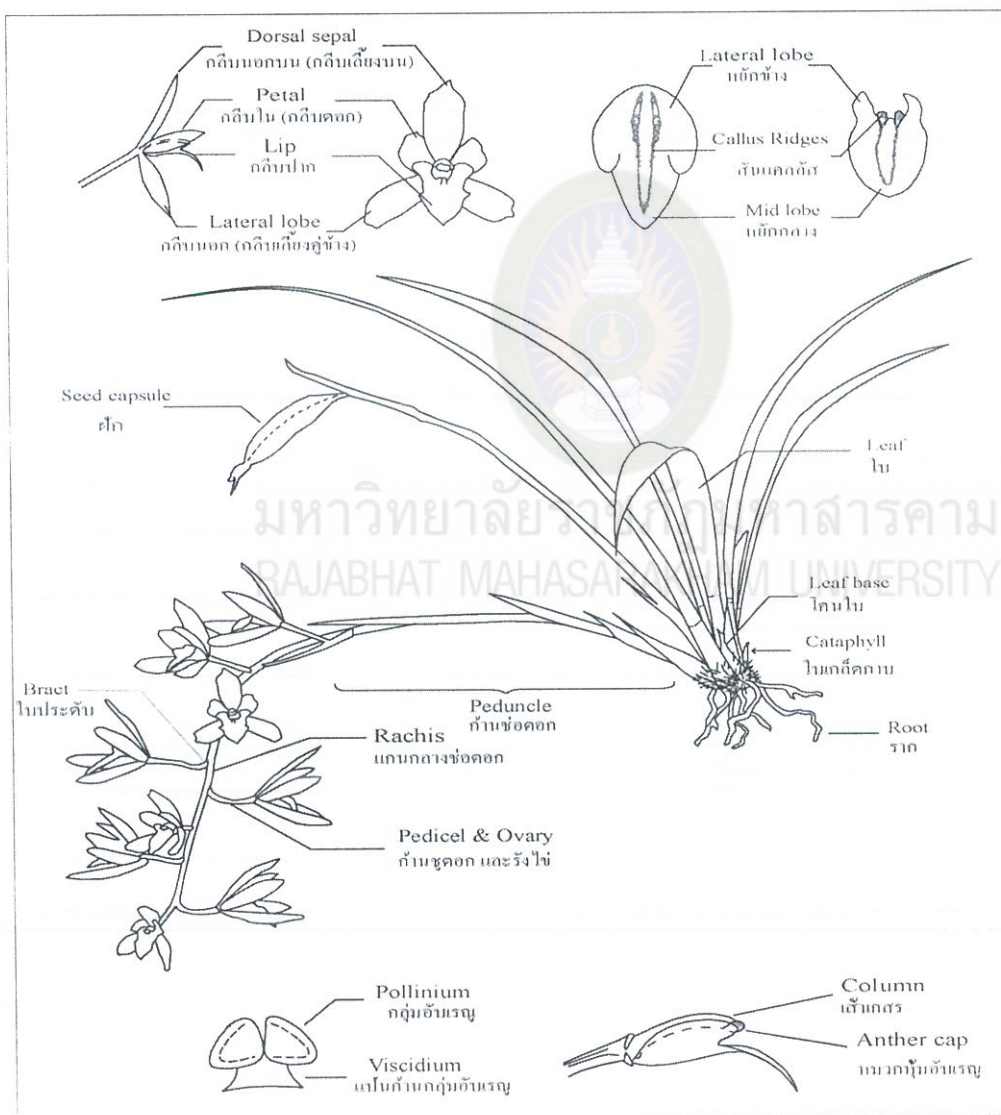
11. Section *Borneense* เป็นกลุ่มที่มีโคนกลีบปากไม่เชื่อมกับโคนเส้าเกสร สันแคลลัสบน กลีบปากลดรูป ไม่มีลักษณะเป็นหลอด อับเรณู 4 อัน แยกเป็น 2 กลุ่ม ถ้าตัดแผ่นใบตามขวางจะพบว่าแผ่นใบบาง และคล้ายกับไม่มีเนื้อเยื่อชั้น palisade mesophyll ประกอบด้วย

- 11.1 *C. borneense* J.J. Wood
- 11.2 *C. aliciae* Quisumb

2.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยง

กล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยงจัดเป็นกล้วยไม้ประเภทแตกกอ (sympodial) ลำต้นลดรูปและอัดแน่นเป็นหัวเทียม (pseudobulb) บางชนิดหัวเทียมมีลักษณะกลม ป่องชัดเจน บางชนิดแบนยาวหรือเป็นลำต้นยืดยาวจนเป็นเพียงง่าม (rhizome) ใต้ดิน ในธรรมชาติมีทั้งที่เจริญบนต้นไม้ใหญ่ บนหิน และบนพื้นดิน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยง อธิบายได้ ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยง (กอบสุข แก่นรัตน์, 2552)

ใบ (Leaves)

ใบของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยงส่วนใหญ่เป็นใบรูปแถบ คือ มีลักษณะบาง ยาว แคบ อ่อน โค้ง ปลายแหลม และมีแนวหรือร่องกลางใบตลอดความยาวของใบ ใบสีเขียว แต่ในบางชนิดได้มีการพัฒนาใบให้มีลักษณะหนาแข็ง (coriaceous) ตั้งตรงเพื่อให้สามารถทนต่อสภาวะแห้งแล้งสำหรับกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยงชนิดที่กินซากจะไม่มีใบ เพราะใบลดรูปกลายเป็นเกล็ดบนข้อ และเนื่องจากใบของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยงส่วนใหญ่เรียงอัดกันแน่นเป็นระเบียบสวยงามเหมือนพัด อยู่บนส่วนยอดของหัวเทียม ทำให้กล้วยไม้กะเหรี่ยงมีรูปทรงที่สวยงามในขณะที่ไม่มีดอก

ดอก (Flower)

ดอกมีขนาดตั้งแต่ 1.5 เซนติเมตรไปจนถึงมากกว่า 10 เซนติเมตร กลีบดอกชั้นนอกและกลีบดอกชั้นในมีขนาดใกล้เคียงกัน กลีบเลี้ยงบน (dorsal sepal) 1 กลีบ กลีบเลี้ยงคู่ข้าง (lateral sepal) 2 กลีบ กลีบในหรือกลีบดอก (petal) 2 กลีบ ซึ่งมีทั้งแบบที่กางออก หรือหันตรงมายังด้านหน้า (porrect) ปากหรือกลีบปาก (lip) 1 ปาก มี 3 แฉก ที่มีลักษณะเด่น คือ มีสันแคลลัส (callus ridge) 2 แนว และเส้าเกสร (column) ซึ่งอยู่เหนือปาก หลายชนิดมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว

ช่อดอก (Inflorescence)

ช่อดอกของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยงเป็นช่อกระจุก (raceme) ส่วนใหญ่เจริญจากบริเวณโคนของหัวเทียม แต่ในบางหมู่ ช่อดอกอาจเจริญมาจากซอกใบ (leaf axil) ลักษณะช่อดอกมีทั้งที่ห้อยลง (pendulous) ตั้งโค้ง (arching) และตั้งตรง (erect) ในหนึ่งหัวให้ช่อดอก 1-2 ช่อ จำนวนดอกต่อช่อมีหลากหลาย ตั้งแต่ 1 ดอก ไปจนถึงมากกว่า 60 ดอก

ราก (Root)

รากของกล้วยไม้สกุลกะเหรี่ยงส่วนใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่ต่ำกว่า 5-8 มิลลิเมตร มี วิลามาเนน (velamen) คล้ายฟองน้ำสีขาวหุ้มอยู่ โดยทั่วไปรากของกะเหรี่ยงจะแทงดิ่งลงด้านล่าง แต่มีบางชนิดที่สร้างรากพิเศษขึ้นด้านบน (aerotropic root) ซึ่งมีขนาดเล็กกว่า ค่อนข้างแข็งแรงและมีปลายแหลมคม คาดว่าน่าจะมีจุดประสงค์เพื่อดักจับเศษใบไม้ กิ่งไม้ผุ ทำให้ช่วยรักษาความชุ่มชื้นของรากได้นานขึ้น และยังเป็นการดักจับสารอาหารที่ได้จากการย่อยสลายของเศษกิ่งไม้ ใบไม้

2.4 การศึกษากกล้วยไม้กระแจะร้อนที่พบในประเทศไทย

Vaddhanaphuti (1997) ได้รายงานชนิดและรูปภาพพร้อมกับอธิบายลักษณะของกล้วยไม้สกุลกระแจะร้อนไว้ 4 ชนิด ได้แก่ 1. *C. ensifolium* (L.) Sw. 2. กระแจะร้อนดอย *C. lowianum* Rchb.f. 3. *C. sinense* (Jackson in Andr.) Willd. และ 4. เอื้องกำเบ้อ *C. tracyanum* L. Castle

อบฉันทน์ ไทยทอง (2543) ได้รายงานชื่อและรูปภาพพร้อมกับอธิบายลักษณะของกล้วยไม้ในสกุลกระแจะร้อนไว้ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ 1. กระแจะร้อนปากเปิด *C. finlaysonianum* Lindl. 2. สำเภางาม *C. insigne* Rolfe 3. ปากนกแก้ว หรือกระแจะร้อนดอย *C. lowianum* Rchb.f. และ 4. เอื้องกำเบ้อ *C. tracyanum* O' Brien

สลิล สิริสังจธรรม (2549) รายงานว่ากล้วยไม้สกุลกระแจะร้อนในประเทศไทยมี 18 ชนิด ตามป่าผลัดใบและไม้ผลัดใบทุกภูมิภาคของประเทศ และมีรายงานชื่อ รูปภาพ พร้อมกับอธิบายลักษณะและสถานภาพไว้ 9 ชนิด ได้แก่ 1. กระแจะร้อน *C. aloifolium* (L.) Sw. 2. กระแจะร้อนเขา *C. dayanum* Rchb.f. 3. กระแจะร้อนภูหลวง *C. devonianum* Paxton 4. จุฬลัน *C. ensifolium* (L.) Sw. 5. กระแจะร้อนปากเปิด *C. finlaysonianum* Lindl. 6. กระแจะร้อนสำเภางาม *C. insigne* Rolfe 7. กระแจะร้อน สำเภาอินทนนท์ *C. mastersii* Griff. ex Lindl. 8. กระแจะร้อนนิล *C. sinense* (Jacks.) Willd. และ 9. กระแจะร้อนอินทนนท์ *C. tracyanum* O' Brien

กอบสุข แก่นรัตน์ (2552) รายงานข้อมูลของกระแจะร้อนพันธุ์แท้ที่พบในประเทศไทย พร้อมรูปภาพ เขตการกระจายพันธุ์ นิเวศวิทยา และฤดูกาลออกดอกไว้ทั้งหมด 20 ชนิด ดังนี้ 1. กระแจะร้อน *C. aloifolium* (L.) Sw. 2. กระแจะร้อนเอโทรเปอเปอรูม *C. atropurpureum* (Lindl.) Rolfe 3. กระแจะร้อนสองสี *C. bicolor* Lindl. 4. กระแจะร้อนคลอแรนทัม *C. chloranthum* Lindl. 5. กระแจะร้อนไซเปอริโฟเลียม *C. cyperifolium* Wall. Ex Lindl. 6. กระแจะร้อนแดงหรือกระแจะร้อนเขา *C. dayanum* Rchb.f. 7. กระแจะร้อนใบพาย *C. devonianum* Paxton 8. กระแจะร้อนจุฬลัน *C. ensifolium* (L.) SW. 9. กระแจะร้อนปากเปิด *C. finlaysonianum* Lindl. 10. กระแจะร้อนสำเภางาม *Cymbidium insigne* Rolfe 11. กระแจะร้อนเลนซีโฟเลียมหรือกระแจะร้อนตุ๊กตาร้อนเร่ *C. lancifolium* Hook. 12. กระแจะร้อนปากนกแก้ว *C. lowianum* Rchb.f. 13. กระแจะร้อนมาโครไรซอน *C. macrorhizon* Lindl. 14. กระแจะร้อนสำเภาอินทนนท์ *C. mastersii* Griffith ex Lindl. 15. กระแจะร้อนเรคตัม *C. rectum* Ridl. 16. กระแจะร้อนโรเซอุม *C. roseum* J.J. Sm. 17. กระแจะร้อนนิล *C. sinense* (Jacks.) Willd. 18. กระแจะร้อนไทกรินัมหรือกระแจะร้อนเสือโคร่ง

C. tigrinum Parish ex Hook. 19. กะเกะร่อนอินทนนท์หรือกะเกะร่อนกำเปื้อ *C. tracyanum* L. Castle และ 20. กะเกะร่อนวาเด๋ *C. wadae* Yukawa ซึ่งเป็นการรายงานกะเกะร่อนชนิดใหม่ที่พบในประเทศไทย ตีพิมพ์ในวารสาร *Annals of Tsukuba Botanical Garden* (2002) โดย Tomohisa Yukawa

2.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกำเนิดมาจากหลักการ totipotency ที่ว่า "เซลล์พืชเดี่ยว ๆ (single cells) ทุกเซลล์มีลักษณะและองค์ประกอบทางพันธุกรรมสมบูรณ์เหมือนต้นแม่ ซึ่งสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชทั้งต้น (whole plant) ได้" เซลล์พืชเหล่านี้ไม่ว่าจะเป็นเซลล์ที่เจริญเต็มที่ (mature cell) หรือเนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะอย่าง (differentiated tissue) ได้แก่เนื้อเยื่อใบ สามารถเจริญและแบ่งตัวเป็น callus หรือพัฒนาเป็นอวัยวะ (organ) เช่น ยอดอ่อน (shoot) และราก (root) ซึ่งสามารถเจริญต่อไปเป็นต้นพืชทั้งต้นได้ ในทางเดียวกัน callus ซึ่งเป็นก้อนของกลุ่ม parenchyma cells ซึ่งยังไม่มีเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง (undifferentiated cells) สามารถเจริญและแบ่งตัวเป็น callus หรือพัฒนาเป็นยอดอ่อน และ ราก ขึ้นกับการกระตุ้นของ plant growth regulator ที่เหมาะสม

ขนาดของเนื้อเยื่อ โดยเนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่จะง่ายต่อการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์และเชื้อโรคต่าง ๆ ขณะที่เนื้อเยื่อขนาดเล็กมีโอกาสหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม ขนาดของเนื้อเยื่อที่เล็กที่สุดที่มีประสิทธิภาพ เป็นสิ่งที่ควรพิจารณา เนื่องจากเนื้อเยื่อเจริญที่มีขนาดเล็กเกินไปอาจโตช้า และไม่ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงเท่าเนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่ หากเกิดสภาพเครียดหรือช็อคจากการแยก ในทางปฏิบัตินิยมแก้ไขโดยเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาดเล็กหลาย ๆ ชิ้นในภาชนะ (ขวด) เดียวกัน เพื่อกระตุ้นให้มีการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงมากขึ้นแต่อาจเกิดปัญหาอิทธิพลของชิ้นส่วนจากแคลลัสที่โตเร็วกว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อเพียงชิ้นเดียวมาก ทำให้ต้องย้ายเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารบ่อยครั้งขึ้น ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองทั้งเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่าย ทั้งยังเพิ่มความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนมากขึ้นด้วย

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช พันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุด คือ อาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนามีช่องว่างในเซลล์จำนวนมาก และเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัสและเซลล์แขวนลอย ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่น ๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหาร

กึ่งแข็งที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของ ธาตุอาหารที่ต้องการครบ คือ สารประกอบอนินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์ ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงแม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนักก็ตาม แต่การนำขึ้นส่วนของพีชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้น มีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า คือ ต้องการทั้งธาตุอาหารหลัก (macro-elements/nutrients) และธาตุอาหารรอง (micro elements/nutrients) ที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย นอกจากนี้ยังต้องการธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แคลเซียมของธาตุคาร์บอน และวิตามินอย่างมาก ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามินและ สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ต่าง ๆ ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ยังอีกส่วนหนึ่งของต้นพืช แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่น ๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาโบลิซึม อย่างไรก็ตาม ผลของแต่ละสารประกอบที่จำเป็นนี้ยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน โดยเฉพาอย่างยิ่งในกรณีของสารที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึม (secondary metabolites) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของ สูตรอาหารที่ใช้มักถูกดัดแปลงไปตามความมุ่งหมาย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดอวัยวะ (organogenesis) และ/หรือ การกำเนิดคัพภะ (embryogenesis) จึงทำให้ยากต่อการหาข้อสรุปพื้นฐานที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันได้โดยง่าย (สุตารัตน์ ถนอมแก้ว, 2553)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง แต่มีการปฏิบัติภายใต้สภาพที่ควบคุม เรื่องความสะอาดแบบปลอดเชื้อ อุดมภูมิ และแสง ด้วยการนำขึ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิต เช่น ลำต้น ยอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ และขึ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ที่ผ่านมามีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประยุกต์ใช้กับงานด้านเภสัชวิทยา และชีววิทยา แต่ปัจจุบันมีการพัฒนา และนำมาใช้แก้ปัญหาหรือเพื่อประโยชน์ในภาคเกษตร และภาคอุตสาหกรรมกันมากขึ้น เช่น การนำเมล็ดไผ่มาผลิตขยายด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อครั้งเกิดเหตุการณ์ไผ่ออกดอกประมาณปี 2538 หรือการนำหน่อที่มีคุณลักษณะที่ดีของหน่อไม้ฝรั่งมาผลิตขยายด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อลดปัญหาการใช้เมล็ดซึ่งมีการคละเพศ นอกเหนือจากราคาของเมล็ดพันธุ์ที่ค่อนข้างสูง และยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศอีกด้วย

2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สลีสา อูตร และคณะ (2549) ศึกษาการใช้ น้ำสกัดจากต้นกล้วยเขียวและงา วิตามินรวม จากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมไนโตรเจนเปลกซ์น้ำเชื่อม และโปรตีนจากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมแบนเนอร์ โปรตีน ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ช้างกระ *Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridll. หลังจากเพาะเลี้ยง 6 เดือน พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหารกึ่งแข็ง สูตร VW ที่เติมน้ำสกัดจากต้นกล้วย 100 กรัมต่อลิตร และอาหารเสริมไนโตรเจนเปลกซ์น้ำเชื่อม 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แนวโน้มของการเจริญเติบโตกล้วยไม้ช้างกระบนอาหารที่มีไนโตรเจนเปลกซ์ดีกว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำสกัดจากธรรมชาติ

สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์ และคณะ (2549) ศึกษาผลของน้ำนาโนต่อการเจริญของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บุรีที่เจริญในอาหารวันแข็งสูตร Vacin & Went ที่เตรียมโดยใช้น้ำธรรมดา เปรียบเทียบกับที่เจริญบนอาหารวันผสมน้ำนาโน พบว่าน้ำหนักรวมของต้นกล้วยไม้เหลืองจันทร์บุรีที่เจริญบนอาหารวันผสมน้ำนาโน จะเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผสมน้ำนาโนร้อยละ 20 ซึ่งสูงกว่าที่เจริญบนอาหารวันผสมน้ำธรรมดาอย่างมีนัยสำคัญ น้ำหนักทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นของกล้วยไม้จะลดลงเมื่อผสมน้ำนาโนมากขึ้นในอาหารวัน

อนุพันธ์ กงบังเกิด และ ธนากร วงษศา (2550) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมคอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium Green Lantern*) โดยชักนำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Zeatin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนใบเฉลี่ย 4.1 ใบต่อต้น สูงที่สุดในขณะที่สูตรอาหารที่เติม Zeatin 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าความยาวยอดและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 3.5 เซนติเมตร และ 2.8 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยที่ Zeatin 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่า จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.6 ยอดต่อชิ้นส่วน ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 6.8 รากต่อยอด โดยต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium Green Lantern* ที่มีขนาดความสูงน้อยกว่า 2.5 เซนติเมตร และมากกว่า 2.5 เซนติเมตรขึ้นไปนั้น เมื่อนำไปออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ จะมีอัตราการรอดชีวิต คือ 88.6 เปอร์เซ็นต์ และ 89.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ราตรี พระนคร (2547) ได้ทำการทดลองผลของออกซินและไซโตไคนินบางชนิดต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินพันธุ์นางอ้วนน้อย แบ่งออกเป็น 8 การทดลอง โดยนำเนื้อเยื่อปลายยอดและหัวนางอ้วนน้อยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VS ซึ่งเติม NAA 2,4-D , BA หรือ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 90 วัน พบว่าการเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ TDZ 1.5 มิลลิกรัมต่อ

ลิตรในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้เนื้อเยื่อปลายยอดมีการสร้าง protocorm like bodies (plbs) สูงที่สุดเท่ากับ 99plbs ต่อชิ้นส่วน หรือ 77.4 protocorm like bodies ต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหัวพบว่า การเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้ชิ้นส่วนหัวสร้าง protocorm like bodies สูงที่สุดเท่ากับ 32.94 protocorm like bodies ต่อชิ้นส่วน ส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบและปลายรากนางอ้วนน้อย ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 การทดลอง แต่ละการทดลองทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบและปลายรากบนอาหารแข็ง VS ซึ่งเติม 2,4-D หรือ NAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 3 เดือนพบว่า 2,4-D หรือ NAA ร่วมกับ BA ไม่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบและปลายรากมีการสร้าง protocorm like bodies ได้

ทิวา รักนิม และคณะ (2550) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการงอกในเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารี कांगคกใต้ พบว่า การเลี้ยงบนสูตรอาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 300 มล./ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 100 หลังเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ อาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 82.22 หลังเลี้ยงเป็นเวลา 15.7 สัปดาห์ สูตรอาหาร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 73.81 หลังเลี้ยงเป็นเวลา 18 สัปดาห์ สูตรอาหาร MT เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 50 หลังเลี้ยงเป็นเวลา 20.33 สัปดาห์ ส่วนอาหารสูตรอื่น ๆ เช่น สูตรอาหาร MT เติม BA 2.9 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มก./ลิตร อาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ลิตร ร่วมกับกล้วยหอมบด 100 มก./ลิตร และผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร ไม่พบการงอกของเมล็ด

ทิวา รักนิม และคณะ (2551) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้พันธุ์เมืองสิงโตอาจารย์เต็มในสภาพปลอดเชื้อ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์พบว่า สูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตรร่วมกับ กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุดที่ 80 เปอร์เซ็นต์ หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ โปรโตคอร์มที่ได้มีสีเขียว และมีการพัฒนาเป็นต้น รองลงมาคือ สูตร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอก 65 เปอร์เซ็นต์ หลังเพาะเลี้ยงนาน 5.5 สัปดาห์ โปรโตคอร์มมีลักษณะสีเขียว ไม่เกิดการพัฒนา และค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส่วนสูตรที่ให้เปอร์เซ็นต์การงอกน้อยสุด คือ สูตร MT ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การงอก 5 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 8 ลักษณะโปรโตคอร์มมีสีเขียวแกมเหลือง และไม่เกิดการพัฒนาเป็นต้นอ่อน

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฝักกล้วยไม้กะเรกะร้อน โดยพิจารณาจากฝักที่มีลักษณะสีเขียวเหลือง ซึ่งมีอายุประมาณ 80-120 วัน ซึ่งเป็นระยะที่ฝักเริ่มแก่ และเหมาะต่อการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเพาะเลี้ยงฝักกล้วยไม้ในสูตรอาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949) เพื่อชักนำให้เกิดเป็นโปรโตคอมส์ และนำไปเลี้ยงบนอาหาร Vacin and Went (1949) เปรียบเทียบกับ VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l

3.1 ข้อมูลและแหล่งที่มาของข้อมูล

รวบรวมฝักกล้วยไม้กะเรกะร้อน และศึกษาส่วนประกอบของอาหารสังเคราะห์ Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร ฝักกล้วยไม้กะเรกะร้อน

กลุ่มตัวอย่าง กล้วยไม้กะเรกะร้อน ที่วางจำหน่ายในตลาดต้นไม้

3.3 แผนการวิจัย

การศึกษารอกของเมล็ดของกล้วยไม้กะเรกะร้อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ Vacin and Went (1949) เปรียบเทียบกับสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l

3.4 เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- 1) ฝักกะเรกะร้อน

- 2) สารละลายคลอริฟอก
- 3) Tween 20
- 4) สารละลายเอธิลอัลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์
- 5) น้ำกลั่น
- 6) เตาอุ่นความร้อน และเครื่องคนสาร
- 7) เครื่องแก้วขนาดต่าง ๆ
- 8) ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 8 ออน และ 12 ออน
- 9) เครื่องชั่งแบบหยาบ และแบบละเอียด
- 10) ตะเกียงอัลกอฮอล์ กระจกตาชกรอง
- 11) มีดผ่าตัด และใบมีด
- 12) คีมกริบ
- 13) เครื่องปั่นน้ำผลไม้
- 14) จานเพาะเชื้อ
- 15) ผ้าขาวบาง
- 16) สารเคมีเตรียม stock อาหาร
- 17) ปุ๋ยสูตรสม้าเสมอ
- 18) น้ำมะพร้าว
- 19) น้ำตาลทราย
- 20) วิตามินบีรวม



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล

เก็บรวบรวมข้อมูลโดยศึกษาตัวอย่างกล้วยไม้กะเรกะร้อน ดังนี้

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
3. ศึกษาระยะเวลาในการเพาะฟักกล้วยไม้กะเรกะร้อน
4. การศึกษาการงอกของเมล็ดของกล้วยไม้กะเรกะร้อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์

Vacin and Went (1949) เปรียบเทียบกับสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l

3.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฝักกล้วยไม้กระถาง

1. การเตรียมสารละลายต้นตอสูตร Vacin and Went (1949)

1.1 การเตรียมสารอาหารหลัก เป็นสารที่ต้องการใช้ในปริมาณที่มาก มักชั่งและละลายรวมกันในขวดใบเดียวกัน เรียกว่า Stock I (Macro media) เตรียม 10 เท่า มีส่วนประกอบดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (mg/l)
potassium nitrate	KNO_3	525
potassium dihydrogen phosphate	KH_2PO_4	250
magnesium sulfate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250
ammonium sulfate	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500

1.2 การเตรียมสารอาหารรอง เป็นสารที่ต้องการใช้ในปริมาณที่น้อย และขาดไม่ได้ มักชั่งและละลายรวมกันในขวดใบเดียวกัน เรียกว่า Stock II (Micro media) เตรียม 100 เท่า มีส่วนประกอบดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้
manganese sulfate	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7.5 g

1.3 การเตรียมธาตุเหล็ก เป็นสารที่ต้องการใช้ในปริมาณที่ปานกลาง และมักทำการแยกต่างหาก มักชั่งและละลายรวมกันในขวดใบเดียวกัน เรียกว่า Stock III (เหล็ก) เตรียม 100 เท่า มีส่วนประกอบดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้
Ferric sulphate	$\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.3925 g
Sodium di EDTA	Na_2EDTA	1.865 g

2. การเตรียมอาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงฝักกล้วยไม้สูตร Vacin and Went (1949)

การเตรียมอาหารแข็ง ปริมาตรอาหารที่เตรียม คือ 1,000 มิลลิตร

สารเคมี (stock)	ปริมาณที่ใช้
Stock I (Maro Media)	100 ml
Stock II (Micro Media)	10 ml
Stock III (เหล็ก)	10 ml
calcium phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)	200 mg
น้ำตาล sucrose	20 g
น้ำมะพร้าว (coconut water)	150 ml
มันฝรั่ง (น้ำต้มมันฝรั่ง)	100 g หรือ 100 ml
กล้วยหอมบด	100 g
ผงถ่าน	2 g
วุ้น	7 g
pH	4.8-5.0

เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิตร คนให้เข้ากันทั่วแล้วนำไปปรับค่าความเป็นกรด เป็นด่าง ให้ได้ 4.8-5.0 ด้วย 1N HCl หรือ 1 N NaOH จะได้อาหารสังเคราะห์ในรูปอาหารเหลว (liquid media) นำไปวัด pH ก่อนนำไปต้ม

ต้มจนวุ้นละลายหมด แล้วบรรจุลงในขวดบรรจุอาหารที่เป็นขวดแก้ว ปิดฝาให้เรียบร้อย แล้วนำไปนิ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที นำออกจากหม้อนึ่งความดัน ปล่อยให้เย็นก่อนนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3. การเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA)

การเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโตมักเตรียมเป็นสารละลายต้นต่อ โดยการศึกษาครั้งนี้เตรียมสาร BA ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิตร จะต้องชั่งสารมา $(100 \times 100) / 1,000 = 10$ มิลลิกรัม ดังนั้น จะต้องใช้สาร 10 มิลลิกรัม หยดตัวทำละลายสาร คือ

โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จึงจะได้สารละลายเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เมื่อต้องการใช้งานจะตวงสารใส่ในอาหารโดยสามารถคำนวณปริมาตรที่จะใช้ได้จากสารละลายต้นตอ ดังนี้

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

- เมื่อ
- C1 = ความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้นเดิม
 - V1 = ปริมาตรของสารละลายเข้มข้นเดิม
 - C2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ถูกเจือจางแล้ว
 - V2 = ปริมาตรของสารละลายที่ถูกเจือจางแล้ว

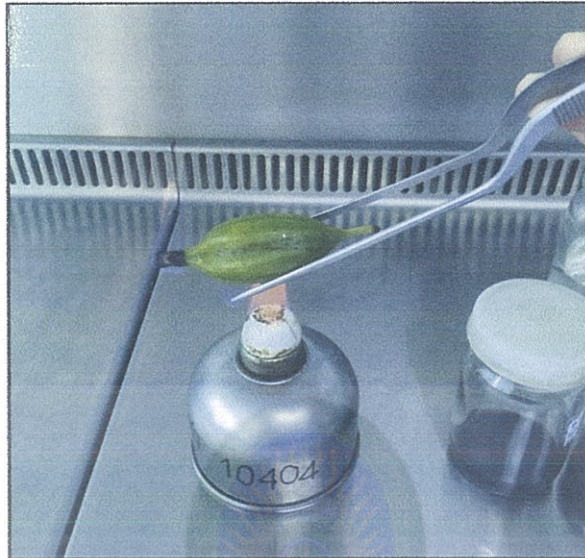
4. ขั้นตอนในการเพาะฝักกล้วยไม้กะเรกะร้อน

1. ล้างฝักกล้วยไม้ให้สะอาด



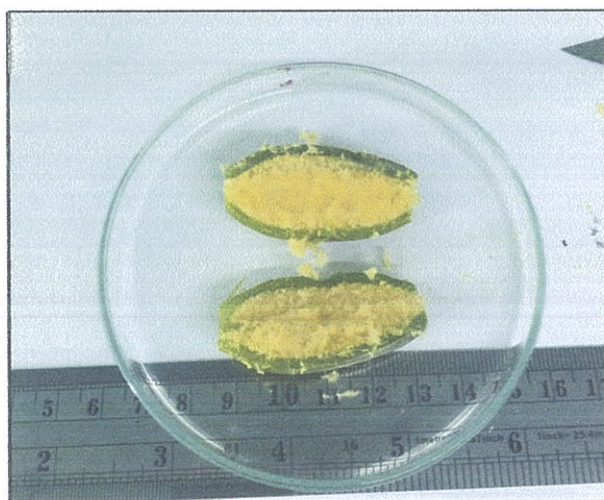
ภาพที่ 3.1 ฝักกล้วยไม้กะเรกะร้อน

2. ชุบฝักด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 % และพอกด้วยสารพอกฆ่าเชื้อคลอโรค 5% และ 10 %
3. ลนไฟให้ไฟลุกนอกเปลวตะเกียง



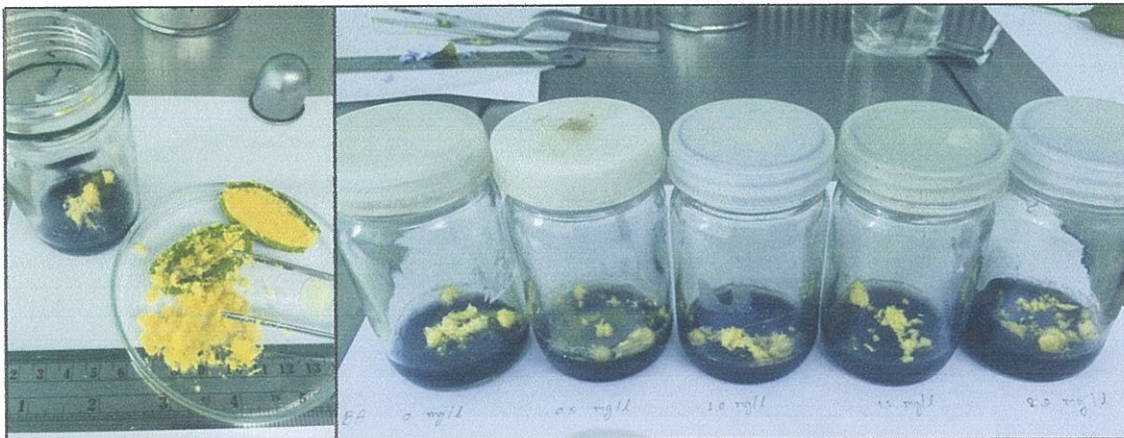
ภาพที่ 3.2 การลนไฟฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยง

4. วางบนจานแก้ว ตัดหัวท้ายของฝัก และผ่ากลางด้วยมีด



ภาพที่ 3.3 การผ่าฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยง

5. คีบเอาเมล็ดมาเพาะในอาหารสังเคราะห์ Vacin and Went (1949) เปรียบเทียบกับสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l



ภาพที่ 3.4 การวางเมล็ดกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนอาหารสังเคราะห์

6. เก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิ และเปิดไฟให้เนื้อเยื่อ 12 ชั่วโมงต่อวัน
7. ใช้เทคนิคปลอดเชื้อย้ายอาหารใหม่ทุกๆ เดือน จนได้ต้นที่มีราก
8. ระยะเวลาในการศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้กะเหรี่ยงเป็นเวลา 4 -12

สัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

5. ขั้นตอนในการศึกษาความเหมาะสมของอาหารที่จะนำไปชักนำให้เกิดต้นและราก

5.1 นำโปรโตคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ดกล้วยไม้กะเหรี่ยงจากการทดลองที่ 5 จากสูตรที่ให้การเจริญเติบโตดีที่สุดมาเพาะลงในอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต

5.2 ทำการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตเป็นเวลา 12 สัปดาห์

5.3 ทำการวัดการเจริญเติบโตของกล้วยไม้กะเหรี่ยงเพื่อใช้เปรียบเทียบการเจริญเติบโต โดย

1. วัดความสูงของต้นกล้วยไม้
2. วัดขนาดความยาวของใบ
3. นับจำนวนใบต่อต้นของกล้วยไม้กะเหรี่ยง

4. นับจำนวนราก และวัดขนาดของราก

3.7 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

เดือนตุลาคม 2556 – เดือนกันยายน 2557 ทำการรวบรวมเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการวิจัย สรุปผล และเขียนรูปเล่มรายงาน



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการรวบรวมฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนจากบ้านเรือน สถานศึกษา และจากร้านขายกล้วยไม้ จำนวน 20 ฝัก เพื่อใช้ในการเพาะขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

กล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อน เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย สามารถพบเห็นได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ใบยาวรูปแถบ และโค้งลง สวยงาม มักปลูกเป็นไม้ประดับอยู่ตามอาคาร บ้านเรือน



ภาพที่ 4.1 ลักษณะต้นกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนในสภาพธรรมชาติ

ใบ มีใบจำนวนมาก ใบหนา เป็นร่องตื้น แผ่นเป็นรูปแถบ ขอบขนาน กว้าง 0.8-1.6 ซม. ยาว 40-48 ซม. ค่อยๆ สอบลงไปทีโคน ปลายมน ปลายสองด้านไม่เท่ากัน ใต้ใบเป็นสันนูนตรงเส้นกลางใบ

ลำต้น ลำต้นเป็นแบบหัวเทียมไม่ป้องพอง ขนาด 5 x 2.5 ซม. รูปไข่แกมรูปขอบขนาน ลักษณะแบนท่อนุ่มด้วยกาบใบที่แผ่นใบร่วงไปแล้ว และมีใบเกล็ดกาบ 4 – 5 ใบ ใบมีจำนวน 4 – 7 ใบ ต่อ 1 ลำต้น

ช่อดอก เป็นช่อห้อยลง ยาว 50-70 ซม. ดอกย่อยจำนวน 5 – 26 ดอกย่อย ก้านช่อดอกยาว 16 ซม. โคนก้านช่อดอกหุ้มด้วยกาบรูปท้องเรือ 5 กาบเรียงซ้อนกัน ยาว 3.5 – 5.5 ซม. แฉกกลางช่อดอกยาว 8 – 33 ซม.

ดอก กลีบดอกรูปใบหอกแคบหรือรูปแถบขอบขนาน กว้าง 3.5-4 มม. ยาว 1.6-1.8 ซม. ปลายมน กลีบปากรูปคล้ายลูกข้าง โคนกลีบสอบแคบ กว้างประมาณ 1.35 ซม. ยาวประมาณ 1.5 ซม. ปลายแยกเป็นสามแฉกสั้น โคนกลีบมีเส้นเป็นสันสีส้มอมเหลือง 2 สัน ยาวขนานเกือบถึง โคนแฉกกลาง ขอบยกตั้งขึ้นถึงหูกลิบ แฉกกลางรูปสามเหลี่ยม กว้างประมาณ 6 มม. ยาวประมาณ 7 มม. ปลายมน สีแดง เส้นแฉกรูปยาว กลุ่มเรณูสีเหลืองอมส้ม ฝักปิดสีเกือบดำ



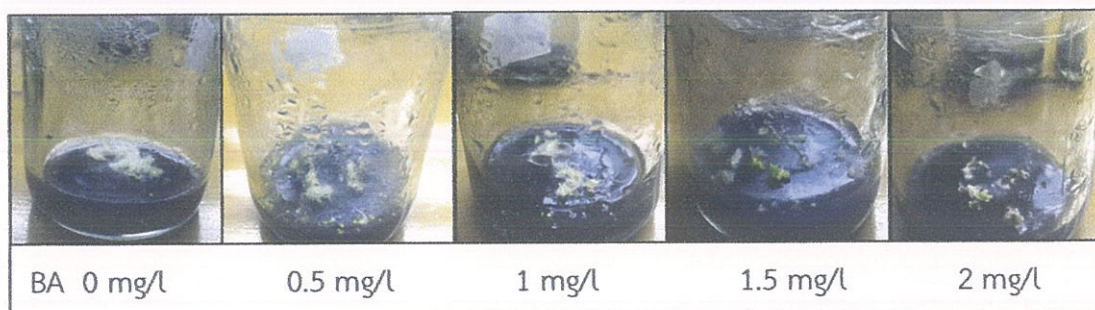
ภาพที่ 4.2 ลักษณะดอก และฝักกล้วยไม้กะเรกะร้อนในสภาพธรรมชาติ

4.2 ศึกษาการเพาะฟักรากกล้วยไม้กะเหรี่ยงสองสีด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเพื่อชักนำให้เกิดเป็นโปรโตคอร์มของกล้วยไม้

จากผลการศึกษาพบว่า หลังจากทำการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ข้างกระลงบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสูตรอาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 4-5 สัปดาห์จะเริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มเมล็ดกล้วยไม้ เป็นกลุ่มของเนื้อเยื่อสีเขียวที่เรียกว่า “โปรโตคอร์ม (protocorm)” ทำการเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้ต่ออีก 4-8 สัปดาห์เพื่อจะได้จำนวนโปรโตคอร์มที่มากพอในการย้ายลงในอาหารสังเคราะห์เพื่อชักนำให้เกิดต้น และรากต่อไป



ภาพที่ 4.3 การฟักเมล็ดจากฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยงด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ ในสัปดาห์ที่ 1

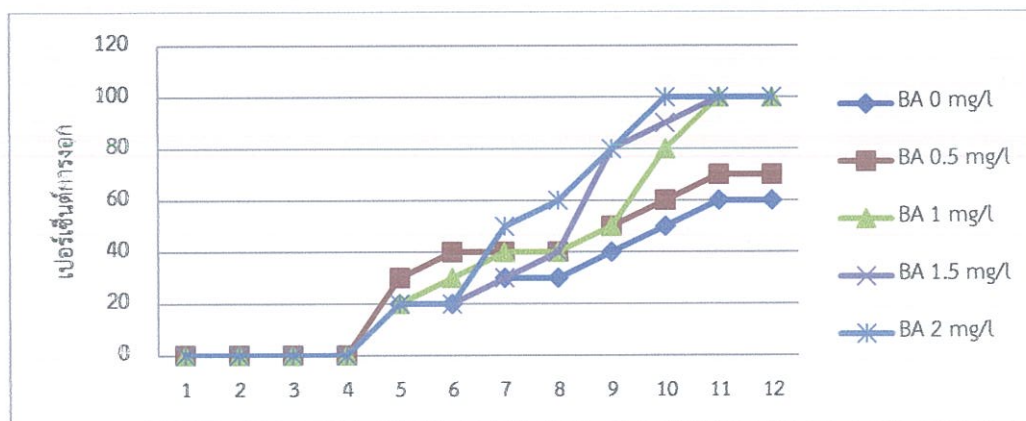


ภาพที่ 4.4 การฟักเมล็ดจากฝักกล้วยไม้กะเหรี่ยงด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ ในสัปดาห์ที่ 5

ตารางที่ 4.1 แสดงอัตราการงอกของโบทโครัมของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ตัดแปลงมีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

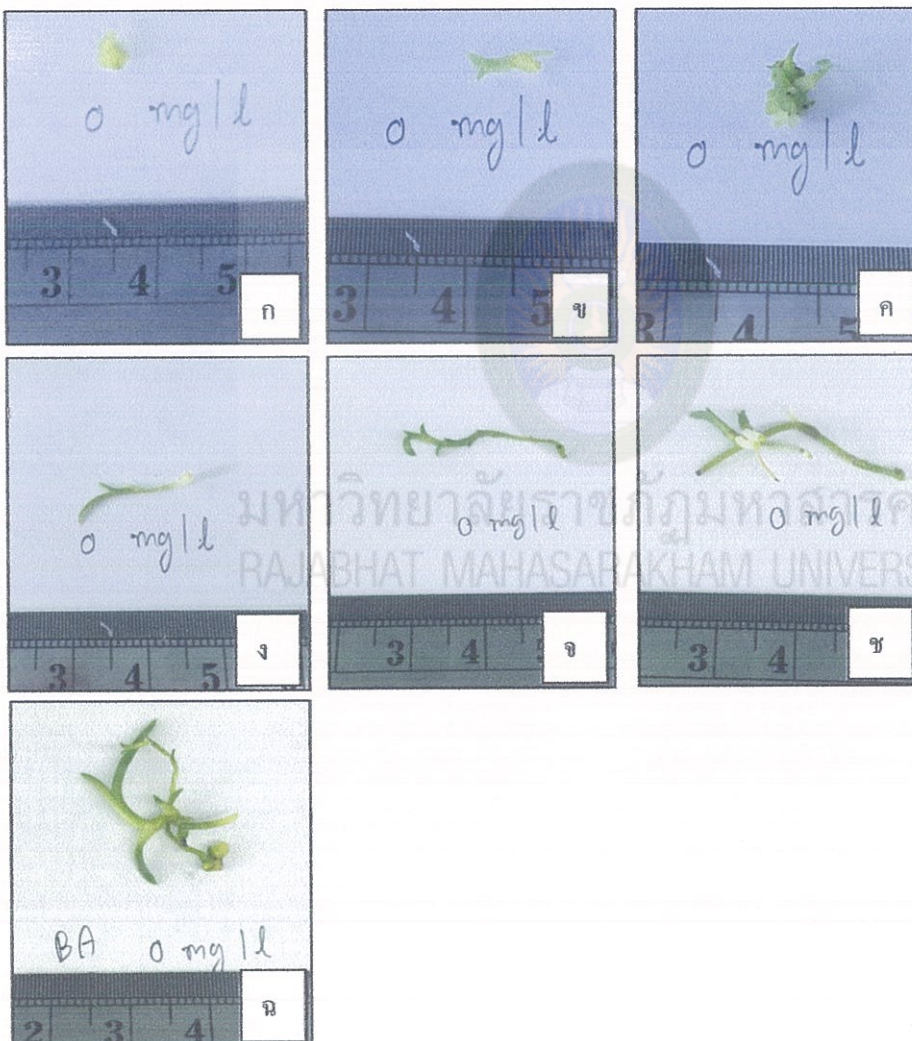
สูตรอาหาร ลำดับที่	VW BA 0 mg/l	VW BA 0.5 mg/l	VW BA 1 mg/l	VW BA 1.5 mg/l	VW BA 2 mg/l
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	20	30	20	20	20
6	20	40	30	20	20
7	30	40	40	30	50
8	30	40	40	40	60
9	40	50	50	80	80
10	50	60	80	90	100
11	60	70	100	100	100
12	60	70	100	100	100

กราฟที่ 4.1 แสดงอัตราการงอกของโบทโครัมของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ตัดแปลงมีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

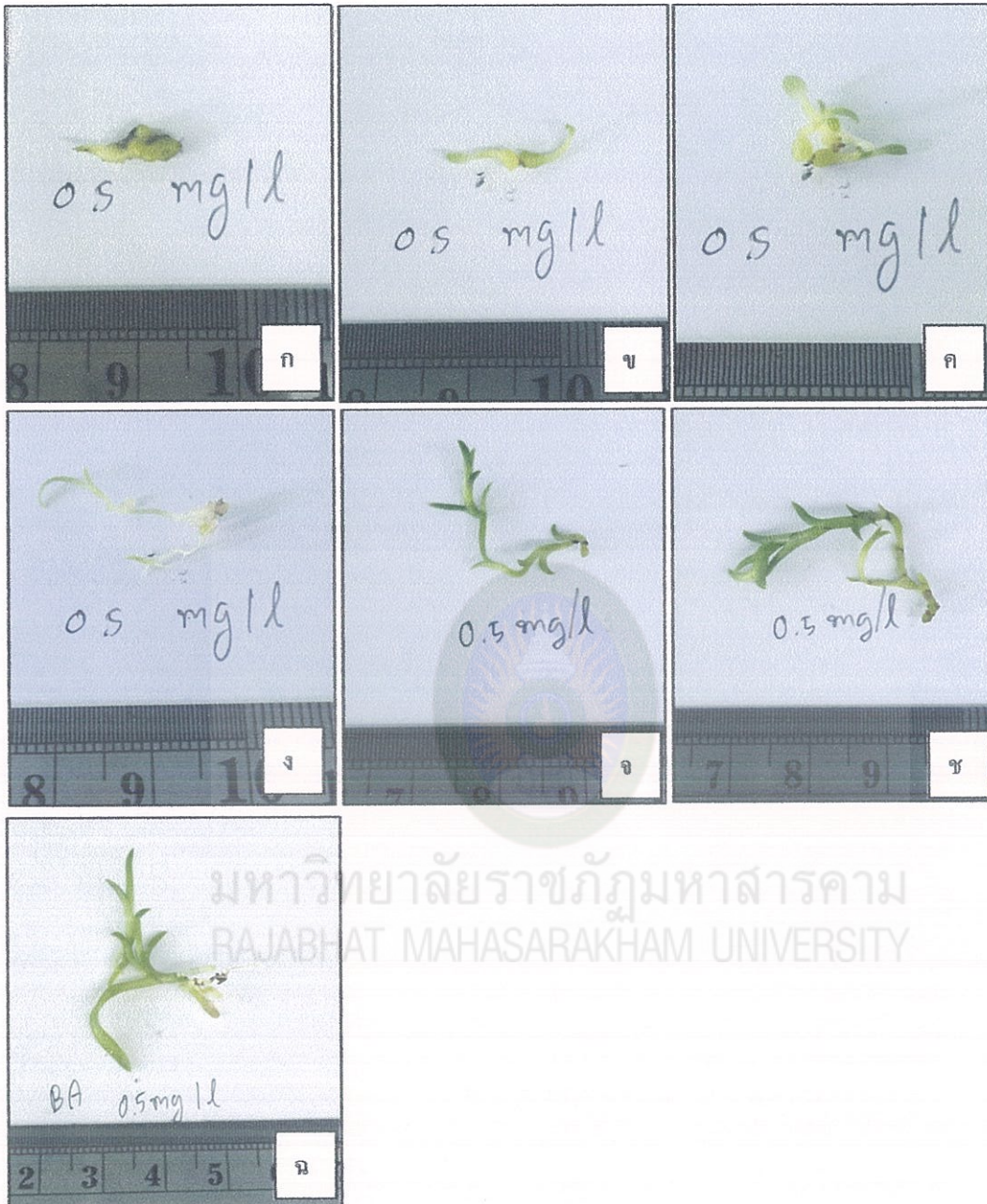


4.3 การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของกะระร้อนสองสปีดด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเพื่อชักนำให้เกิดเป็นโปรโตคอร์มของกล้วยไม้

จากการศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้กะระร้อนสองสปีดในสูตรอาหารต่าง ๆ พบว่า เมล็ดกล้วยไม้เริ่มงอกในสัปดาห์ที่ 4 และทำการเลี้ยงต่ออีก 4 สัปดาห์จะได้โปรโตคอร์มกล้วยไม้ในปริมาณที่มากพอ ที่จะนำไปทดสอบการชักนำให้เกิดเป็นต้น และรากต่อไป จากนั้นทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตจากการเพิ่มความสูงของต้นกล้วยไม้ จำนวนใบ ความยาวของใบ จำนวนราก และความยาวของราก โดยทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์



ภาพที่ 4.5 การเจริญของกล้วยไม้กะระร้อนบนสูตรอาหาร VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทั้งหมด 12 สัปดาห์ ภาพก. สัปดาห์ที่ 3 ภาพข. สัปดาห์ที่ 4 ภาพค. สัปดาห์ที่ 5 ภาพง. สัปดาห์ที่ 6 ภาพจ. สัปดาห์ที่ 8 ภาพช. สัปดาห์ที่ 10 ภาพฉ. สัปดาห์ที่ 12



ภาพที่ 4.6 การเจริญของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนสูตรอาหาร VW ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์

ภาพ ก. สัปดาห์ที่ 3

ภาพ ข. สัปดาห์ที่ 4

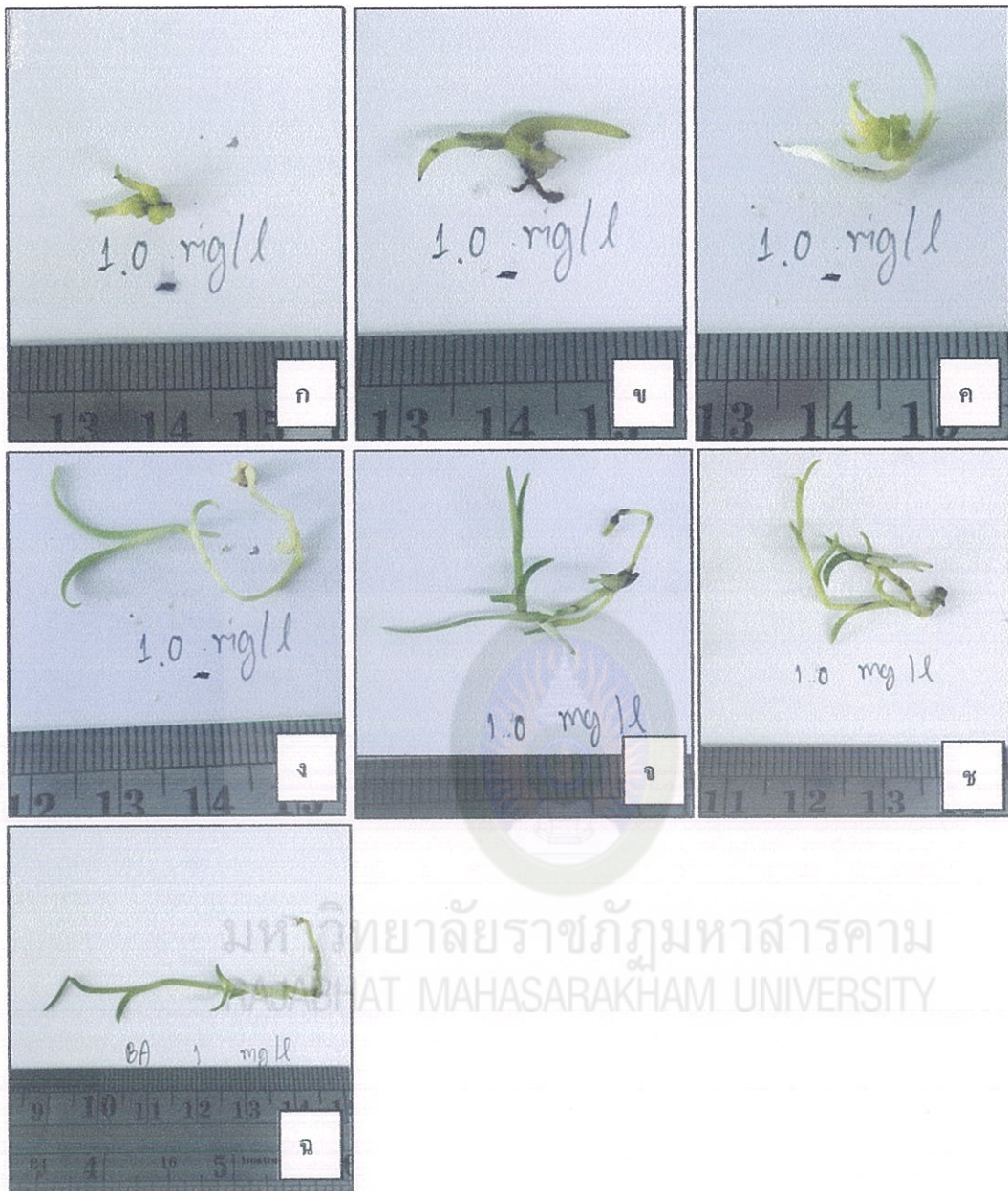
ภาพ ค. สัปดาห์ที่ 5

ภาพ ง. สัปดาห์ที่ 6

ภาพ จ. สัปดาห์ที่ 8

ภาพ ช. สัปดาห์ที่ 10

ภาพ ฉ. สัปดาห์ที่ 12



ภาพที่ 4.7 การเจริญของกล้าไม้กะแระร้อนบนสูตรอาหาร VW ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์

ภาพ ก. สัปดาห์ที่ 3

ภาพ ข. สัปดาห์ที่ 4

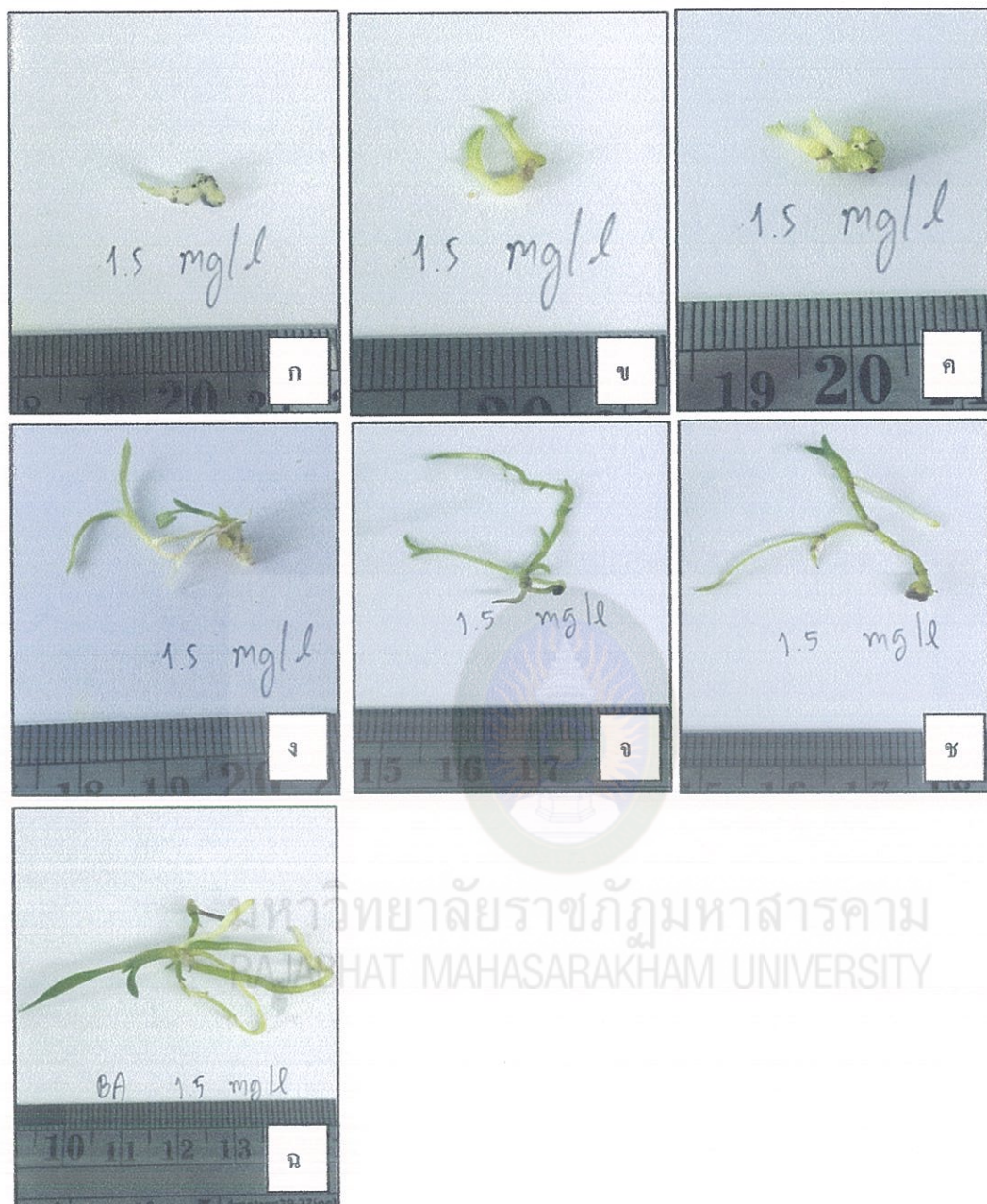
ภาพ ค. สัปดาห์ที่ 5

ภาพ ง. สัปดาห์ที่ 6

ภาพ จ. สัปดาห์ที่ 8

ภาพ ช. สัปดาห์ที่ 10

ภาพ ฉ. สัปดาห์ที่ 12



ภาพที่ 4.8 การเจริญของกล้าวัยไม่วัยกะระร้อนบนสูตรอาหาร VW ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์

ภาพ ก. สัปดาห์ที่ 3

ภาพ ข. สัปดาห์ที่ 4

ภาพ ค. สัปดาห์ที่ 5

ภาพ ง. สัปดาห์ที่ 6

ภาพ จ. สัปดาห์ที่ 8

ภาพ ฉ. สัปดาห์ที่ 10

ภาพ ฉ. สัปดาห์ที่ 12



ภาพที่ 4.9 การเจริญของกล้วยไม้กะระก๋อนบนสูตรอาหาร VW ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 mg/l ทั้งหมด 12 สัปดาห์

ภาพ ก. สัปดาห์ที่ 3

ภาพ ข. สัปดาห์ที่ 4

ภาพ ค. สัปดาห์ที่ 5

ภาพ ง. สัปดาห์ที่ 6

ภาพ จ. สัปดาห์ที่ 8

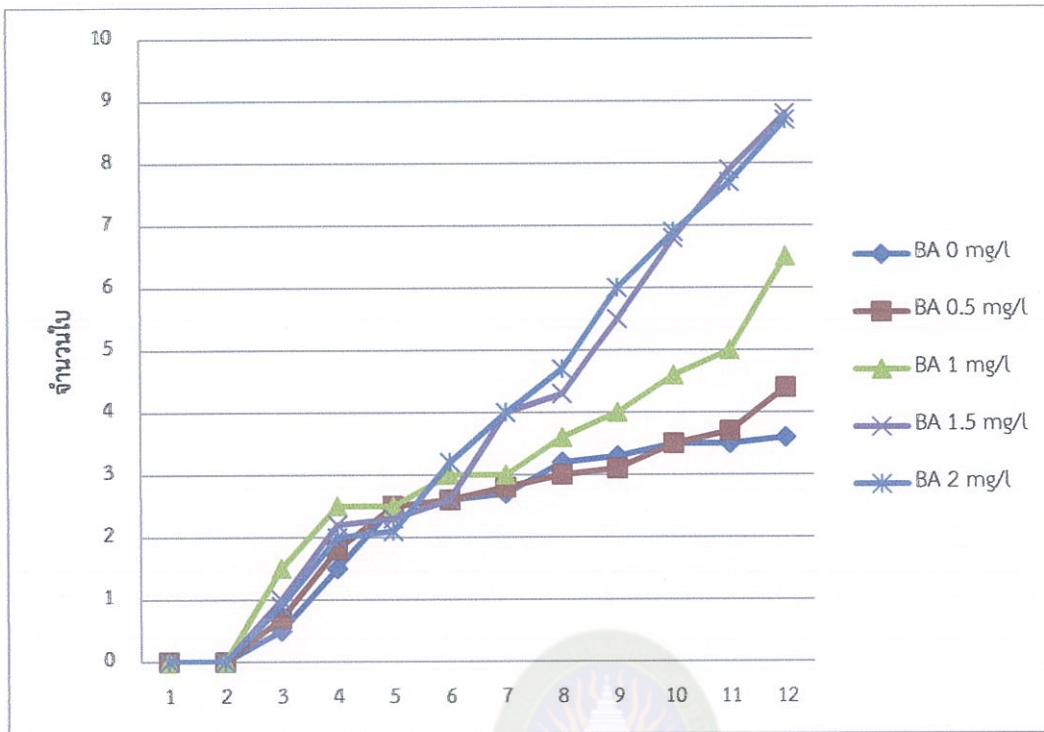
ภาพ ช. สัปดาห์ที่ 10

ภาพ ฉ. สัปดาห์ที่ 12

ผลการศึกษาจำนวนใบของกล้วยไม้กะเรกะร้อนที่เลี้ยงในสูตรอาหาร VW และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทั้ง 4 ระดับ พบว่าทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดใบได้ในสูตรอาหาร VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ต้นกล้วยไม้กะเรกะร้อนมีการผลิตใบได้น้อยที่สุดประมาณ 3.60 ใบต่อต้น และในสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l สามารถผลิตใบได้มากที่สุดคือ 8.80 ใบต่อต้น และ 8.70 ใบต่อต้นตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 แสดงจำนวนใบเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเรกะร้อนบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

สูตรอาหาร ลำดับ	VW BA 0 mg/l	VW BA 0.5 mg/l	VW BA 1 mg/l	VW BA 1.5 mg/l	VW BA 2 mg/l
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.50	0.70	1.50	1.00	0.90
4	1.50	1.80	2.50	2.20	2.00
5	2.50	2.50	2.50	2.30	2.10
6	2.60	2.60	3.00	2.60	3.20
7	2.70	2.80	3.00	4.00	4.00
8	3.20	3.00	3.60	4.30	4.70
9	3.30	3.10	4.00	5.50	6.00
10	3.50	3.50	4.60	6.80	6.90
11	3.50	3.70	5.00	7.90	7.70
12	3.60	4.40	6.50	8.80	8.70



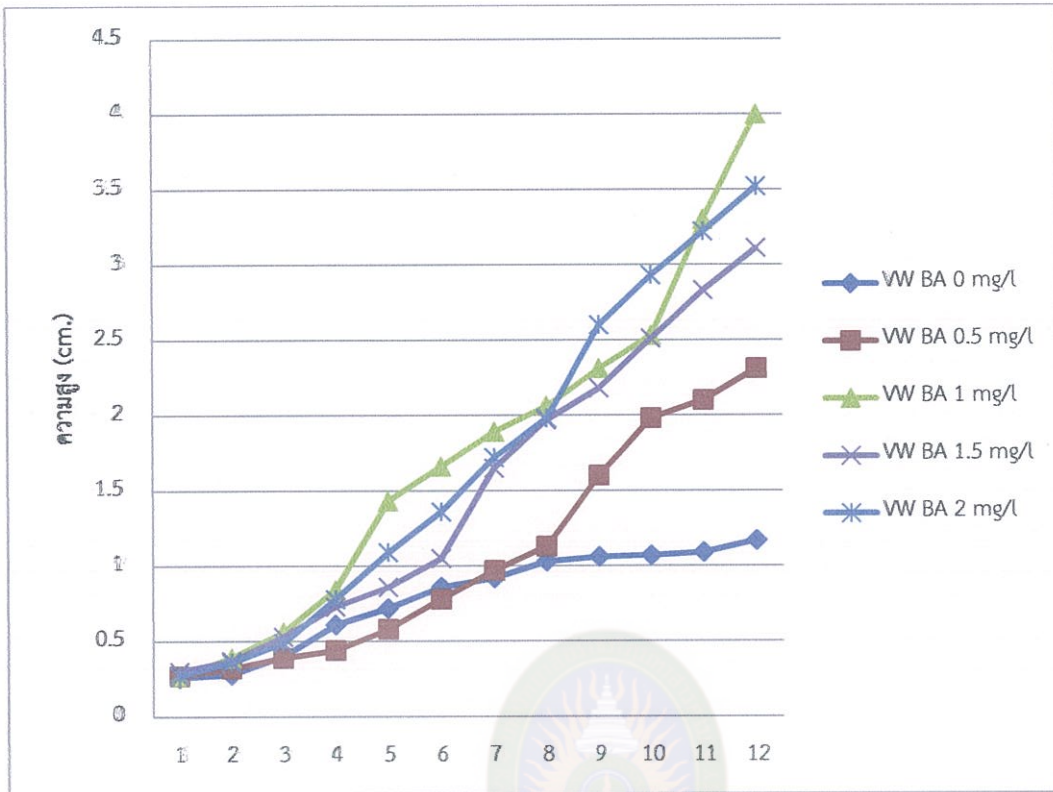
กราฟ 4.2 แสดงจำนวนใบเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

จากกราฟแสดงให้เห็นความแตกต่างจำนวนใบของต้นกล้วยไม้กะเหรี่ยงที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ และพบว่าในสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l มีจำนวนใบต่อต้นไม่แตกต่างกัน โดยเฉพาะในสัปดาห์ที่ 8-12

ผลการศึกษาความสูงของกล้วยไม้กะเรกะร้อน ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร VW และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทั้ง 4 ระดับ พบว่า ในสูตรอาหาร VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ต้นกล้วยไม้กะเรกะร้อนมีความสูงได้น้อยที่สุดประมาณ 1.17 เซนติเมตร และในสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l มีขนาดความสูงของต้นกล้วยไม้เฉลี่ยสูงที่สุดประมาณ 4.0 เซนติเมตร

ตารางที่ 4.3 แสดงความสูงเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเรกะร้อนบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

สูตรอาหาร ลำดับที่	VW BA 0 mg/l	VW BA 0.5 mg/l	VW BA 1 mg/l	VW BA 1.5 mg/l	VW BA 2 mg/l
1	0.26	0.27	0.27	0.30	0.27
2	0.28	0.32	0.39	0.37	0.36
3	0.40	0.39	0.56	0.53	0.49
4	0.61	0.44	0.84	0.73	0.78
5	0.72	0.58	1.43	0.86	1.09
6	0.86	0.78	1.66	1.05	1.36
7	0.92	0.97	1.89	1.65	1.72
8	1.03	1.13	2.06	1.97	1.98
9	1.06	1.60	2.31	2.18	2.60
10	1.07	1.98	2.53	2.51	2.93
11	1.09	2.10	3.30	2.83	3.22
12	1.17	2.31	4.00	3.11	3.52



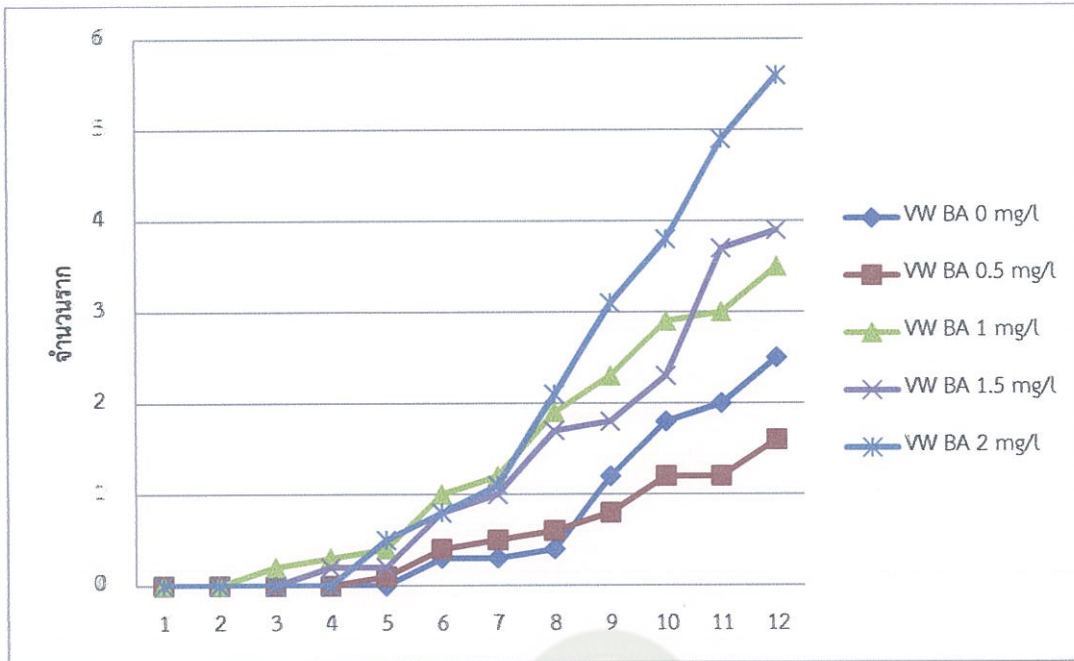
กราฟ 4.3 แสดงความสูงเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงมีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

จากกราฟแสดงให้เห็นว่ากล้วยไม้กะเหรี่ยงที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ต่างกัน มีความสูงเฉลี่ยต่อต้นแตกต่างกัน โดยสูตรที่สามารถชักนำให้ต้นกล้วยไม้สูงที่สุดคือสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l และความสูงของต้นจะเริ่มมีความแตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป

ผลการศึกษานำปริมาณของกล้วยไม้กะระร้อนที่เลี้ยงในสูตรอาหาร VW และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทั้ง 4 ระดับ พบว่าทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดยเริ่มพบการเปลี่ยนแปลงในสัปดาห์ที่ 3 ในสูตรอาหารบางสูตร ในสูตรอาหาร VW ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.5 mg/l มีจำนวนรากเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 1.60 รากต่อต้น และในสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดคือ 5.60 รากต่อต้น

ตารางที่ 4.4 แสดงจำนวนรากเฉลี่ยของกล้วยไม้กะระร้อนบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

สูตรอาหาร สัปดาห์	VW BA 0 mg/l	VW BA 0.5 mg/l	VW BA 1 mg/l	VW BA 1.5 mg/l	VW BA 2 mg/l
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.20	0.00	0.00
4	0.00	0.00	0.30	0.20	0.00
5	0.00	0.10	0.40	0.20	0.50
6	0.30	0.40	1.00	0.80	0.80
7	0.30	0.50	1.20	1.00	1.10
8	0.40	0.60	1.90	1.70	2.10
9	1.20	0.80	2.30	1.80	3.10
10	1.80	1.20	2.90	2.30	3.80
11	2.00	1.20	3.00	3.70	4.90
12	2.50	1.60	3.50	3.90	5.60



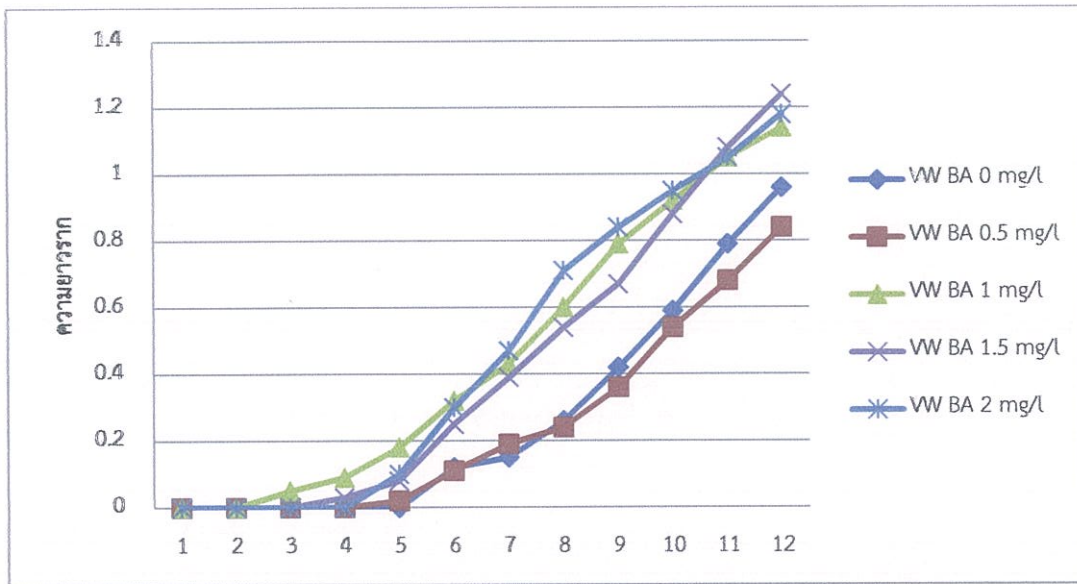
กราฟที่ 4.4 แสดงจำนวนรากเฉลี่ยของกล้วยไม้กะระร้อนบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าจำนวนรากของต้นกล้วยไม้กะระร้อนจะเริ่มเพิ่มจำนวนมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 และเพิ่มขึ้นในทุกๆ สูตรอาหาร แต่สูตรที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดคือสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/l

ผลการศึกษาคความยาวรากของกล้วยไม้กะเหรี่ยงที่เลี้ยงในสูตรอาหาร VW และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทั้ง 4 ระดับ ในสูตรอาหาร VW ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.5 mg/l มีความยาวรากเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 0.84 เซนติเมตร และในสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l มีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 1.24 เซนติเมตร

ตารางที่ 4.5 แสดงความยาวรากเฉลี่ยของกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

สูตรอาหาร ลำดับ	VW BA 0 mg/l	VW BA 0.5 mg/l	VW BA 1 mg/l	VW BA 1.5 mg/l	VW BA 2 mg/l
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00
4	0.00	0.00	0.09	0.03	0.00
5	0.00	0.02	0.18	0.08	0.10
6	0.12	0.11	0.32	0.25	0.30
7	0.15	0.19	0.43	0.39	0.47
8	0.26	0.24	0.60	0.54	0.71
9	0.42	0.36	0.79	0.67	0.84
10	0.59	0.54	0.92	0.88	0.95
11	0.79	0.68	1.05	1.08	1.05
12	0.96	0.84	1.14	1.24	1.18



กราฟที่ 4.5 แสดงความขุ่นของกล้ายไม้กะเหรี่ยงบนอาหารสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับต่างๆ

จากกราฟแสดงความขุ่นของกล้ายไม้กะเหรี่ยงที่เลี้ยงบนอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสูตรอาหารอาหาร VW ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l, 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l มีความขุ่นของรากไม้แตกต่างกัน

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของกล้วยไม้กะเรกระร้อนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.) พบว่าเป็นกล้วยไม้ดินแบบแตกกอ มีใบจำนวนมาก ใบหนา เป็นร่องตื้น แผ่นเป็นรูปแถบ ขอบขนาน กว้าง 0.8-1.6 ซม. ยาว 40-48 ซม. ค่อยๆ สอบลงไปที่โคน ปลายมน ปลายสองด้านไม่เท่ากัน ใต้ใบเป็นสันนูนตรงเส้นกลางใบ ลำต้นเป็นแบบหัวเทียมไม่ป้องกัน ขนาด 5 x 2.5 ซม. รูปไข่แกมรูปขอบขนาน ลักษณะแบนห่อหุ้มด้วยกาบใบที่แผ่นใบร่วงไปแล้ว และมีใบเกล็ดกาบ 4 - 5 ใบ ใบมีจำนวน 4 - 7 ใบ ต่อ 1 ลำต้น ช่อดอกเป็นช่อห้อยลง ยาว 50-70 ซม. ดอกย่อยจำนวน 5 - 26 ดอกย่อย ก้านช่อดอกยาว 16 ซม. โคนก้านช่อห่อหุ้มด้วยกาบรูปท้องเรือ 5 กาบ เรียงซ้อนกัน ยาว 3.5 - 5.5 ซม. แกนกลางช่อดอกยาว 8 - 33 ซม. กลีบดอกรูปใบหอกแคบหรือรูปแถบขอบขนาน กว้าง 3.5-4 มม. ยาว 1.6-1.8 ซม. ปลายมน กลีบปากรูปคล้ายลูกข้าง โคนกลีบสอบแคบ กว้างประมาณ 1.35 ซม. ยาวประมาณ 1.5 ซม. ปลายแยกเป็นสามแฉกตื้น โคนกลีบมีเส้นเป็นสันสีส้มอมเหลือง 2 สัน ยาวขนานเกือบถึงโคนแฉกกลาง ขอบยกตั้งขึ้นถึงหูกลีบ แฉกกลางรูปสามเหลี่ยม กว้างประมาณ 6 มม. ยาวประมาณ 7 มม. ปลายมน สีแดง เล้าเกสรแผ่ยาว กลุ่มเรณูสีเหลืองอมส้ม ฝาปิดสีเกือบดำ

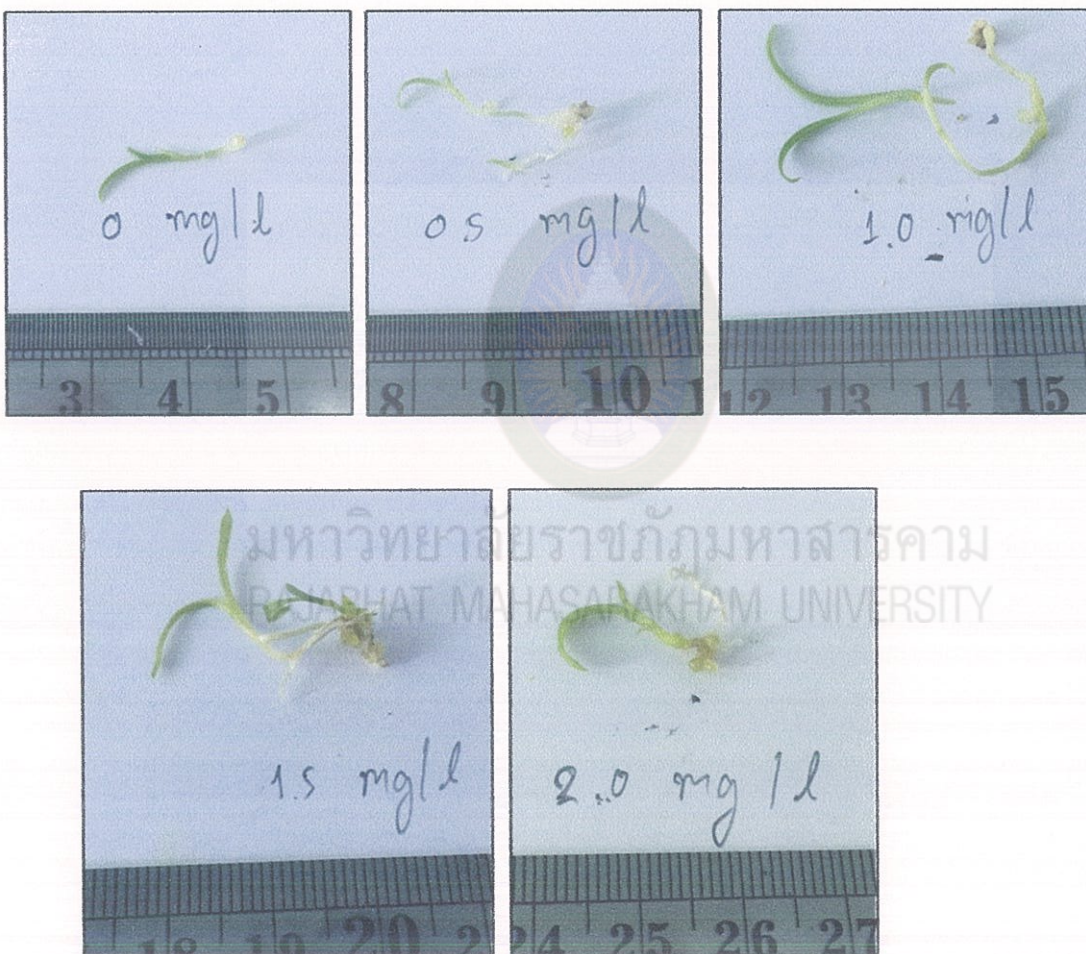
จากการศึกษาอัตราการงอกของเมล็ดกล้วยไม้กะเรกระร้อนที่นำมาเพาะบนอาหารสังเคราะห์ Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l พบว่าสูตรอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เมล็ดกล้วยไม้เจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์มได้ โดยจะเริ่มสังเกตเห็นการเปลี่ยนเป็นเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อสีเขียวในสัปดาห์ที่ 5-6 ทำการศึกษาทั้งหมด 12 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้นที่ 1.0 mg/l, 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดกลุ่มของโปรโตคอร์มได้ร้อยละ 100 และในสูตรพบว่าในอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดกลุ่มของโปรโตคอร์มได้ 70 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA สามารถชักนำให้เกิดกลุ่มของโปรโตคอร์มได้ 60 เปอร์เซ็นต์

จากนั้นทำการย้ายโปรโตคอร์มของกล้วยไม้กะระร้อนที่เลี้ยงได้ 8 สัปดาห์ ลงในอาหารสังเคราะห์สูตร Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l เช่นเดิม เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของต้นอ่อนโดยศึกษาจากจำนวนใบ ความสูงของต้น จำนวนราก และความยาวของราก ผลที่ได้จากการศึกษาจำนวนใบพบว่าสูตรอาหารทุกสูตรสามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนผลิตใบได้ โดยในสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l สามารถกระตุ้นให้ได้ใบมากที่สุดเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 8.80 ใบต่อต้น สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/l สามารถกระตุ้นให้ได้ใบรองลงมาเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 8.70 ใบต่อต้น สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l สามารถกระตุ้นให้ได้ใบปานกลางเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 6.50 ใบต่อต้น และในสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l และสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถกระตุ้นให้ได้น้อยที่สุดเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 4.40 ใบต่อต้น และ 3.60 ใบต่อต้นตามลำดับ

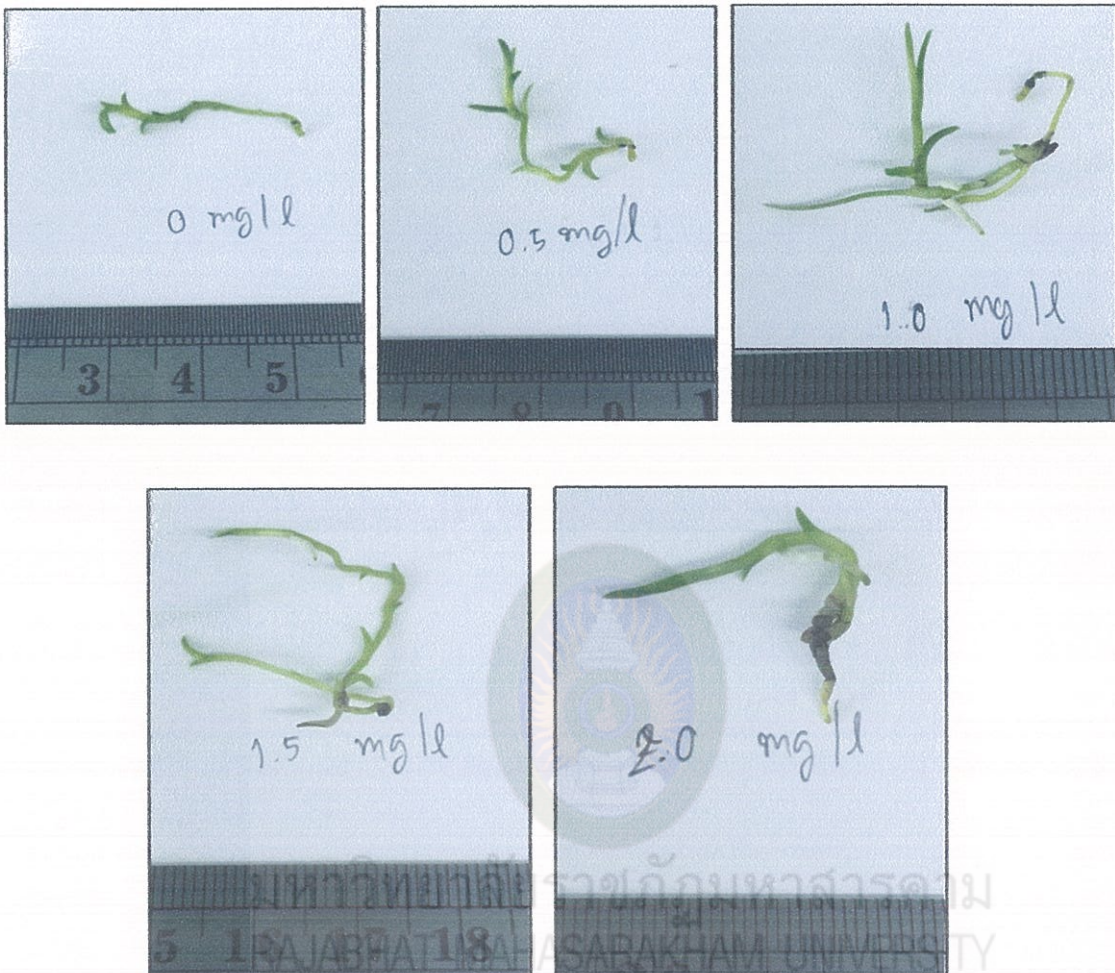
จากการศึกษาความสูงของต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ พบว่าอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l สามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนมีความสูงของลำต้นมากที่สุดเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 4 เซนติเมตร รองลงมาคือสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/l, 1.5 mg/l, 0.5 mg/l และ สูตร VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยมีความสูงของต้นเฉลี่ยที่ 3.52 เซนติเมตร, 3.11 เซนติเมตร, 2.31 เซนติเมตร และ 1.17 เซนติเมตร ตามลำดับ

เมื่อทำการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนผ่านไป 5 สัปดาห์จะพบการเจริญเติบโตของรากในต้นอ่อนบางต้นของแต่ละสูตรอาหาร ทำการศึกษาจำนวนราก และขนาดความยาวของราก เมื่อครบ 12 สัปดาห์พบว่าสูตรอาหารทุกสูตรสามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนสามารถเกิดรากได้ โดยสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/l ต้นอ่อนสามารถกระตุ้นให้สร้างรากได้เฉลี่ยสูงที่สุดคือ 5.60 รากต่อต้น รองลงมาคือ สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l, 1.0 mg/l, VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความ

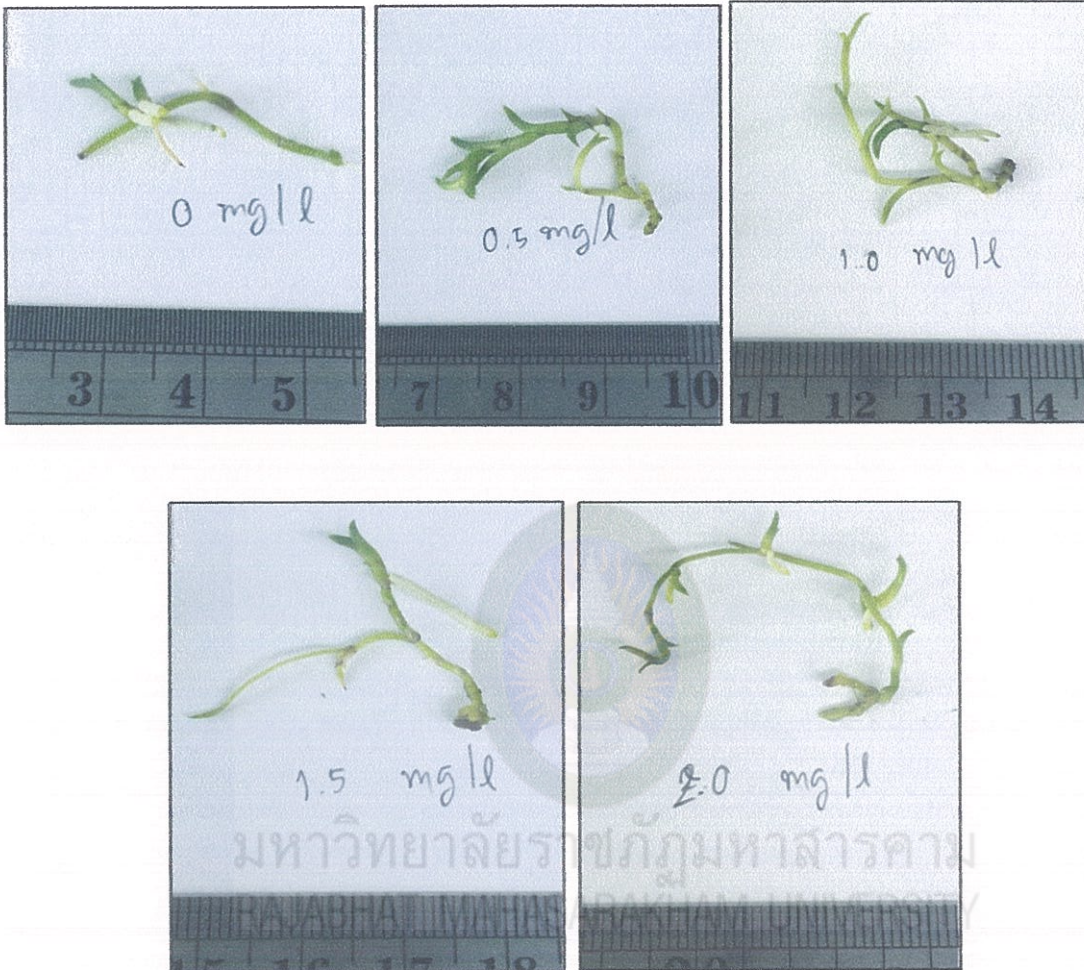
เข้มข้น 0.5 mg/l, โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นคือ 3.90, 3.50, 2.50 และ 1.60 รากต่อต้นตามลำดับ และสูตรที่มีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุดคือสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l รากยาวเฉลี่ย 1.24 เซนติเมตร รองลงมาคือ สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 mg/l, 1.0 mg/l, VW ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญ และสูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l, โดยมีความยาวเฉลี่ยของรากคือ 1.18, 1.14, 0.96 และ 0.84 เซนติเมตร ตามลำดับ



ภาพที่ 5.1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้า秧ไม้กะเหรี่ยงบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 6



ภาพที่ 5.2 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะระร้อนบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 8



ภาพที่ 5.3 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะเหรี่ยงบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 10



ภาพที่ 5.4 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะเรกระร่อนบนสูตรอาหาร VW สูตรต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 12

อภิปรายผลการวิจัย

ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของกล้วยไม้กะเรกระร่อนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.) พบว่าเป็นกล้วยไม้กึ่งดินแบบแตกกอ มีใบจำนวนมาก ใบหนา เป็นร่องตื้น แผ่นเป็นรูปแถบ ขอบขนาน กว้าง 0.8-1.6 ซม. ยาว 40-48 ซม. ค่อยๆ สอดลงไปโคน ปลายมน ปลายสองด้านไม่เท่ากัน ใต้ใบเป็นสันนูนตรงเส้นกลางใบ ลำต้นเป็นแบบหัวเทียมไม่ป่องพอง ขนาด 5 x 2.5 ซม. รูปไข่แกมรูปขอบขนาน ลักษณะแบนทอหุ้มด้วยกาบใบที่แผ่นใบร่วงไปแล้ว และมีใบเกล็ดกาบ 4 - 5 ใบ ใบมีจำนวน 4 - 7 ใบ ต่อ 1 ลำต้น ช่อดอกเป็นช่อห้อยลง ยาว 50-70 ซม. ดอกย่อยจำนวน 5 - 26 ดอกย่อย โคนก้านช่อดอกหุ้มด้วยกาบรูปท่อนเรือ 5 กาบเรียงซ้อนกัน ยาว 3.5 -

5.5 ซม. แกนกลางช่อดอกยาว 8 – 33 ซม. กลีบดอกรูปใบหอกแคบหรือรูปแถบขอบขนาน กว้าง 3.5-4 มม. ยาว 1.6-1.8 ซม. ปลายมน กลีบปากรูปคล้ายลูกข้าง โคนกลีบสอบแคบ ปลายแยกเป็นสามแฉกตื้น โคนกลีบมีเส้นเป็นสันสีส้มอมเหลือง 2 สัน ยาวขนานเกือบถึงโคนแฉกกลาง สอดคล้องกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่รายงานโดย สลิล สิทธิสังธรรม (2550)

จากการศึกษาอัตราการงอกของเมล็ดกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนที่นำมาเพาะบนอาหารสังเคราะห์ Vacin and Went (1949) และ VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-benzylamimopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l ในครั้งนี้พบว่าสูตรอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เมล็ดกล้วยไม้เจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์มได้ โดยจะเริ่มสังเกตเห็นการเปลี่ยนเป็นเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อสีเขียวในสัปดาห์ที่ 5-6 ทำการศึกษาทั้งหมด 12 สัปดาห์ ซึ่งให้ผลที่แตกต่างจากการศึกษาของ ทิวา รักนิ่ม และคณะ (2550) ที่ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการงอกในเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารี कांगคกได้ พบว่า การเลี้ยงบนสูตรอาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 300 มล./ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 100 หลังเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ อาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 82.22 หลังเลี้ยงเป็นเวลา 15.7 สัปดาห์ สูตรอาหาร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 73.81 หลังเลี้ยงเป็นเวลา 18 สัปดาห์ ส่วนในสูตรอาหาร MT เติม BA 2.9 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มก./ลิตร ซึ่งในการทดลองนี้ได้ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA เช่นกันแต่ไม่สามารถชักนำให้เมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารี कांगคกได้งอกได้ อาจเนื่องมาจากอายุของเมล็ดกล้วยไม้ที่นำมาเพาะแตกต่างกัน และเป็นกล้วยไม้คนละชนิด ซึ่งจะเห็นได้ว่าการศึกษานี้ใช้เวลาในการกระตุ้นเมล็ดกล้วยไม้เป็นเวลา 5-8 สัปดาห์ก็สามารถชักนำให้เกิดการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ได้ นอกจากนี้พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นให้เมล็ดกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนงอกในการศึกษานี้มีความใกล้เคียงกับการศึกษาของทิวา รักนิ่ม และคณะ (2551) ที่ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้พื้นเมืองสิงโตอาจารย์เต็มในสภาพปลอดเชื้อ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์พบว่า สูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตรร่วมกับ กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูตรอาหารที่ใช้เป็นสูตรเดียวกับสิ่งทดลองที่ 1 อาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และการศึกษาครั้งนี้มีอัตราการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ 60 เปอร์เซ็นต์ แต่ในสูตร MT ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร กลับให้เปอร์เซ็นต์การงอก 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหาร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น

ต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l และ 2.0 mg/l สามารถกระตุ้นให้เมล็ดกล้วยไม้กะระระร้อนสามารถงอกเมล็ดได้ทุกสูตร

การชักนำให้เกิดต้นอ่อนของกล้วยไม้กะระระร้อนในครั้งนี้ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของอนุพันธ์ กงบังเกิด และ ธนากร วงษศา (2550) ที่ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนนชนิดต่าง ๆ โดยพบว่าสามารถชักนำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Zeatin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนใบเฉลี่ย 4.1 ใบต่อต้น สูงที่สุด ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l สามารถกระตุ้นให้ได้ใบมากที่สุดเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ จำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 8.80 ใบต่อต้น สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว ที่เติม Zeatin 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 3.5 เซนติเมตร ในการศึกษาครั้งนี้ สูตร VW ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l รากยาวเฉลี่ย 1.24 เซนติเมตร ต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 6.8 รากต่อยอด ในการศึกษาต้นอ่อนกล้วยไม้กะระระร้อนในครั้งนี้ มีจำนวนรากเฉลี่ย 5.60 รากต่อต้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ใช้ฝักกล้วยไม้กะระระร้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผู้วิจัยพบว่าหากนำฝักที่ยังไม่แก่เต็มที่มาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจจะใช้เวลามากกว่า 8 สัปดาห์ในการกระตุ้นให้เกิดการงอกเป็นโปรโตคอร์ม ฝักที่ควรนำมาเพาะสามารถพิจารณาจากฝักที่มีลักษณะสีเหลืองอ่อนถึงสีน้ำตาลเป็นฝักที่เหมาะสมที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากที่สุดเพาะสามารถกระตุ้นให้เกิดเป็นโปรโตคอร์มได้อย่างรวดเร็ว หลังจากที่ได้โปรโตคอร์มแล้วใช้เวลาประมาณ 8 สัปดาห์เพื่อรอให้เกิดโปรโตคอร์มจำนวนมากพอที่จะนำไปทดสอบด้วยสูตรอาหารแบบต่าง ๆ เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมในการเลี้ยงต้นอ่อนต่อไป และควรที่จะศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ โดยเฉพาะในกลุ่มของออกซินร่วมด้วย

ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยครั้งต่อไป

ฝักกล้วยไม้ที่นำมาใช้ในงานวิจัยควรเป็นฝักที่ได้มาจากต้นเดียวกัน ในก้านช่อดอกเดียวกัน เพราะจะทำอายุฝักที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงใกล้เคียงกัน อัตราการเจริญเติบโตจะใกล้เคียงกันมากกว่าฝักที่นำมาจากคนละต้น เพราะอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เนื่องจากอายุของฝักไม่เท่ากัน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถที่จะช่วยในการเพิ่มจำนวนต้นพืชที่หายาก หรือหากต้องการรักษาพันธุ์ไว้ก็ควรใช้เนื้อเยื่อจากส่วนอื่นๆ ของพืช เพื่อจะทำให้ได้ลักษณะทางพันธุกรรมแบบเดิม การใช้เมล็ดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่สามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์พืชให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว แต่ก็ขึ้นอยู่กับอายุของฝักกล้วยไม้ที่นำมาใช้ในการวิจัยด้วยเช่นกัน



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บรรณานุกรม

- กอบสุข แก่นรัตนะ. 2552. ซิมบิเดียมทนร้อน. อัมรินทร์พรินตังแอนด์พับลิชชิง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ.
- ระพี สาคริก. 2530. กล้วยไม้. ประชาชนการพิมพ์. กรุงเทพฯ.
- ระพี สาคริก และวรรณิ จันท์เจริญสุข. 2507. การเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบ Asymbiosis. พีชสวน ปีที่ 1(2), 8-16.
- ราตรี พระนคร. 2547. ผลของออกซินและไซโตไคนินบางชนิดต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดิน พันธุ์นางอ้ว. โครงการวิจัย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ทิวา รักนั่ม อมรพันธ์ แก้วศรีนวล ปรีชา วิทย์พันธุ์ และจිරศักดิ์ แสงศรี. 2550. อิทธิพลของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงต่อการงอกของเมล็ดรองเท้านารีคางบไตในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38(6) (พิเศษ), 287-290.
- ทิวา รักนั่ม อมรพันธ์ แก้วศรีนวล ปรีชา วิทย์พันธุ์ และจिरศักดิ์ แสงศรี. 2551. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้พื้นเมืองสิงโตอาจารย์เต็มในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3) (พิเศษ), 258-261.
- สลิสสา อุดร, สุรียา ตันติวิวัฒน์, จิตราพรรณ พิสิฐ และกฤติณ วิทยานันต. 2549. สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ช้างกระ (*Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl.) ในสภาพปลอดเชื้อ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44, 282-288.
- สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์, รักษาติ จ้อยร่อย และอุไร ก่ายศ. 2549. ผลของน้ำนาโนต่อกาเจริญของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปีที่ 9(3), 30-40.
- สุดารัตน์ ถนนแก้ว. 2553. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ในหลอดแก้ว: เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการผลิตกล้วยไม้. สารวลัยรุกขเวช ปีที่ 11(1), 17-19.
- สุทัศน์ ลิ้มปิยประพันธ์. 2554. กล้วยไม้. ซีเอ็ดยูเคชั่น. กรุงเทพฯ.
- สลิล สิทธิสัจธรรม. 2550. กล้วยไม้ป่าเมืองไทย: Wild Orchid of Thailand. พิมพ์ครั้งที่ 4. บริษัทอมรินทร์พรินตังแอนด์พับลิชชิง จำกัด. กรุงเทพฯ

อนุพันธ์ กงบังเกิด และธนากร วงษ์ศา. 2550. ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญและพัฒนาต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium Green Lantern*). วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. ปีที่ 22 (2), 115-125.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้เมืองไทย. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ.

Pierik, R. L. M. 1985. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff publishers. Natherland.

Arditti, J. 1977. Clonal propagation of orchids by means of tissue culture. A manual In: *Orchid Biology II*. Arditti, J. (Ed.). Cornell University Press. New York.



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. อัตราการงอกของเมล็ดในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	ร้อยละ
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	✓	0	0	0	0	0	✓	0	0	0	20
6	✓	0	0	0	0	0	✓	0	0	0	20
7	✓	0	0	✓	0	0	✓	0	0	0	30
8	✓	0	0	✓	0	0	✓	0	0	0	30
9	✓	0	0	✓	0	0	✓	✓	0	0	40
10	✓	0	0	✓	0	0	✓	✓	✓	0	50
11	✓	0	✓	✓	0	0	✓	✓	✓	0	60
12	✓	0	✓	✓	0	0	✓	✓	✓	0	60

2. อัตราการงอกของเมล็ดในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	ร้อยละ
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	✓	0	✓	0	0	0	✓	0	0	0	30
6	✓	0	✓	✓	0	0	✓	0	0	0	40
7	✓	0	✓	✓	0	0	✓	0	0	0	40
8	✓	0	✓	✓	0	0	✓	0	0	0	40
9	✓	0	✓	✓	0	0	✓	✓	0	0	50
10	✓	0	✓	✓	0	0	✓	✓	✓	0	60
11	✓	0	✓	✓	0	✓	✓	✓	✓	0	70
12	✓	0	✓	✓	0	✓	✓	✓	✓	0	70

5. อัตราการงอกของเมล็ดในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 2 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	ร้อยละ
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	✓	0	0	0	✓	0	0	0	20
6	0	0	✓	0	0	0	✓	0	0	0	20
7	0	✓	✓	✓	0	0	✓	0	0	✓	50
8	✓	✓	✓	✓	0	0	✓	0	0	✓	60
9	✓	✓	✓	✓	✓	0	✓	✓	0	✓	80
10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100
11	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100
12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	100

6. ความสูงของต้นกล้วยไม้กระแจะร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0.20	0.30	0.20	0.20	0.30	0.30	0.25	0.30	0.30	0.25	0.26	0.05
2	0.20	0.35	0.22	0.20	0.30	0.32	0.30	0.30	0.35	0.30	0.28	0.06
3	0.30	0.40	0.40	0.30	0.40	0.50	0.35	0.50	0.40	0.40	0.40	0.07
4	0.52	0.60	0.65	0.50	0.60	0.75	0.50	0.70	0.65	0.60	0.61	0.08
5	0.60	0.75	0.68	0.60	0.70	0.82	0.62	0.85	0.80	0.82	0.72	0.10
6	0.65	0.78	0.75	0.82	0.82	0.92	0.82	0.95	1.02	1.04	0.86	0.12
7	0.80	0.84	0.80	0.82	0.84	0.98	0.86	1.05	1.10	1.10	0.92	0.12
8	0.92	0.92	0.84	0.86	0.84	1.21	0.90	1.30	1.20	1.35	1.03	0.21
9	0.98	0.94	0.84	0.86	0.90	1.25	0.90	1.32	1.25	1.38	1.06	0.21
10	1.01	0.96	0.92	0.90	0.85	0.96	1.35	0.95	1.35	1.42	1.07	0.22
11	1.08	0.96	0.92	0.90	0.90	0.96	1.36	1.00	1.36	1.42	1.09	0.21
12	1.12	1.00	0.98	0.91	1.00	1.40	1.05	1.38	1.36	1.45	1.17	0.21

7. ความสูงของต้นกล้วยไม้กะระระร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0.24	0.25	0.25	0.30	0.30	0.30	0.25	0.30	0.30	0.25	0.27	0.03
2	0.30	0.28	0.30	0.32	0.32	0.35	0.25	0.40	0.35	0.35	0.32	0.04
3	0.32	0.32	0.35	0.35	0.35	0.35	0.30	0.62	0.51	0.40	0.39	0.10
4	0.38	0.36	0.42	0.40	0.40	0.40	0.36	0.65	0.56	0.46	0.44	0.09
5	0.42	0.48	0.60	0.58	0.58	0.65	0.52	0.78	0.60	0.56	0.58	0.10
6	0.60	0.60	0.75	0.75	0.68	0.82	0.88	1.02	0.95	0.75	0.78	0.14
7	0.72	0.75	0.92	1.10	0.75	1.10	1.00	1.25	1.10	0.98	0.97	0.18
8	0.80	0.84	1.25	1.20	0.88	1.30	1.25	1.45	1.20	1.15	1.13	0.22
9	1.56	1.40	1.36	1.62	1.12	1.75	1.86	1.90	1.80	1.65	1.60	0.25
10	1.75	1.80	1.96	1.95	1.65	2.10	2.16	2.04	2.18	2.20	1.98	0.19
11	1.80	1.95	1.98	2.10	1.85	2.15	2.32	2.10	2.42	2.32	2.10	0.21
12	2.12	2.20	2.12	2.18	2.05	2.32	2.68	2.25	2.72	2.45	2.31	0.24

8. ความสูงของต้นกล้วยไม้กะระระร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0.25	0.30	0.25	0.30	0.25	0.30	0.25	0.20	0.25	0.30	0.27	0.03
2	0.36	0.45	0.30	0.40	0.32	0.48	0.36	0.30	0.38	0.52	0.39	0.08
3	0.42	0.61	0.54	0.50	0.40	0.58	0.55	0.55	0.62	0.78	0.56	0.11
4	0.72	0.80	0.76	0.80	0.84	0.86	0.86	0.84	0.92	0.98	0.84	0.08
5	1.20	1.40	1.20	1.31	1.34	1.60	1.60	1.52	1.62	1.48	1.43	0.16
6	1.44	1.68	1.44	1.60	1.56	1.86	1.82	1.74	1.86	1.62	1.66	0.16
7	1.72	1.80	1.64	1.75	1.85	2.06	2.10	2.02	2.10	1.90	1.89	0.17
8	1.96	1.90	1.88	1.95	2.0	2.16	2.20	2.16	2.40	2.02	2.06	0.16
9	2.1	2.05	2.00	2.30	2.40	2.30	2.40	2.50	2.60	2.45	2.31	0.20
10	2.32	2.16	2.16	2.60	2.75	2.48	2.65	2.72	2.80	2.62	2.53	0.24
11	3.5	2.60	3.10	3.00	3.56	3.50	3.50	3.20	3.40	3.6	3.30	0.32
12	3.98	3.15	3.75	3.80	4.45	4.06	4.25	4.16	4.20	4.15	4.00	0.36

9. ความสูงของต้นกล้วยไม้กะระร่อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0.30	0.25	0.25	0.30	0.25	0.30	0.35	0.30	0.35	0.30	0.30	0.04
2	0.35	0.30	0.35	0.40	0.30	0.35	0.40	0.35	0.45	0.40	0.37	0.05
3	0.55	0.50	0.52	0.60	0.50	0.50	0.55	0.45	0.55	0.55	0.53	0.04
4	0.60	0.70	0.75	0.75	0.70	0.75	0.80	0.70	0.75	0.80	0.73	0.06
5	0.65	0.75	0.80	0.80	0.95	0.90	0.95	0.90	0.85	1.05	0.86	0.11
6	0.80	0.95	1.00	0.95	1.10	1.05	1.25	1.10	1.05	1.25	1.05	0.14
7	1.50	1.45	1.65	1.45	1.40	1.65	1.80	1.75	1.80	2.00	1.65	0.20
8	1.80	1.75	2.00	1.85	2.05	1.85	2.10	2.20	1.80	2.30	1.97	0.19
9	1.95	2.05	2.15	2.35	2.15	2.25	2.35	2.10	1.95	2.45	2.18	0.17
10	2.25	2.30	2.50	2.85	2.65	2.65	2.70	2.40	2.20	2.60	2.51	0.22
11	2.65	2.65	2.75	3.05	2.85	2.95	2.95	2.65	2.85	2.95	2.83	0.15
12	3.10	2.80	3.10	3.30	3.25	3.20	3.15	2.80	3.10	3.25	3.11	0.18

10. ความสูงของต้นกล้วยไม้กะระร่อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 2 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0.25	0.30	0.25	0.30	0.24	0.25	0.30	0.30	0.25	0.30	0.27	0.03
2	0.30	0.40	0.30	0.35	0.40	0.35	0.35	0.35	0.35	0.40	0.36	0.04
3	0.50	0.55	0.45	0.45	0.55	0.45	0.45	0.55	0.40	0.50	0.49	0.05
4	0.85	0.80	0.60	0.65	0.85	0.75	0.90	0.95	0.75	0.70	0.78	0.11
5	1.05	1.05	0.85	0.75	1.15	1.10	1.45	1.45	1.05	0.95	1.09	0.23
6	1.15	1.15	0.95	0.95	1.30	1.65	1.85	1.95	1.45	1.15	1.36	0.36
7	1.30	1.45	1.10	1.30	2.00	2.10	2.35	2.45	1.65	1.45	1.72	0.48
8	1.55	1.60	1.25	1.65	2.20	2.30	2.55	2.55	2.05	2.10	1.98	0.45
9	2.30	2.20	2.05	2.05	3.10	2.80	3.00	2.85	2.35	3.25	2.60	0.45
10	2.45	2.65	2.15	2.30	3.30	3.15	3.10	3.25	2.85	4.05	2.93	0.57
11	2.65	3.15	3.00	2.85	3.45	3.20	3.20	3.50	3.10	4.05	3.22	0.39
12	2.95	3.35	3.55	3.80	3.60	3.30	3.40	3.65	3.45	4.10	3.52	0.31

11. จำนวนใบกล้วยไม้กระแจะร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

ลำดับ	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	1	0	2	0	0	2	0	0	0	0.50	0.85
4	0	2	2	2	0	2	2	1	2	2	1.50	0.85
5	2	3	2	3	2	3	3	2	2	3	2.50	0.53
6	2	3	2	3	2	3	3	3	2	3	2.60	0.52
7	3	3	2	3	2	3	3	3	3	2	2.70	0.48
8	3	3	3	4	3	3	3	4	3	3	3.20	0.42
9	3	4	3	4	3	3	3	4	3	3	3.30	0.48
10	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3.50	0.53
11	4	4	3	4	3	4	3	4	3	3	3.50	0.53
12	4	4	4	4	3	4	3	4	3	3	3.60	0.52

12. จำนวนใบกล้วยไม้กระแจะร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/L,

ลำดับ	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	2	0	1	2	0	2	0	0	0	0.70	0.95
4	2	2	2	2	2	1	2	1	2	2	1.80	0.42
5	3	2	3	2	3	2	3	2	2	3	2.50	0.53
6	3	2	3	2	3	2	3	3	2	3	2.60	0.52
7	3	3	3	2	3	3	2	3	3	3	2.80	0.42
8	3	4	3	3	3	3	2	3	3	3	3.00	0.47
9	3	4	3	3	4	3	3	2	3	3	3.10	0.57
10	3	4	3	3	4	4	3	3	4	4	3.50	0.53
11	3	4	3	3	5	3	4	4	4	4	3.70	0.67
12	4	5	4	4	5	4	4	4	5	5	4.40	0.52

13. จำนวนใบกล้วยไม้กะระร่อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	2	2	2	0	2	2	3	0	2	1.50	1.08
4	2	3	2	3	2	3	3	3	2	2	2.50	0.53
5	2	3	2	3	2	2	3	3	3	2	2.50	0.53
6	3	3	3	3	2	3	3	4	3	3	3.00	0.47
7	3	3	3	2	3	3	3	4	3	3	3.00	0.47
8	3	3	4	3	3	4	4	5	4	3	3.60	0.70
9	3	4	4	4	3	4	5	6	4	3	4.00	0.94
10	5	4	5	4	4	4	5	6	5	4	4.60	0.70
11	5	4	5	4	4	5	6	6	6	5	5.00	0.82
12	5	5	6	6	7	7	8	7	7	7	6.50	0.97

14. จำนวนใบกล้วยไม้กะระร่อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	1	0	2	0	1	2	2	2	1.00	0.94
4	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2.20	0.42
5	2	2	3	2	2	2	2	2	3	3	2.30	0.48
6	3	2	3	3	2	2	3	3	3	2	2.60	0.52
7	5	5	5	5	4	3	3	3	4	3	4.00	0.94
8	5	5	5	5	6	4	3	3	4	3	4.30	1.06
9	7	6	5	7	6	4	4	5	6	5	5.50	1.08
10	7	6	7	7	6	7	6	6	8	8	6.80	0.79
11	9	7	7	8	7	8	8	7	10	8	7.90	0.99
12	11	7	9	10	7	9	8	7	11	9	8.80	1.55

15. จำนวนใบกล้วยไม้กะระรอนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 2 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	1	2	0	0	0	2	0	2	0	2	0.90	0.99
4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2.00	0.00
5	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2.10	0.32
6	3	4	4	4	4	3	2	3	3	2	3.20	0.79
7	5	4	4	4	5	4	4	3	4	3	4.00	0.67
8	5	5	5	6	5	7	3	4	3	4	4.70	1.25
9	6	5	5	6	7	8	5	6	7	5	6.00	1.05
10	6	6	7	7	8	10	5	6	8	6	6.90	1.45
11	8	7	8	8	8	10	7	7	8	6	7.70	1.06
12	9	9	8	8	9	12	7	7	10	8	8.70	1.49

16. จำนวนรากกล้วยไม้กะระรอนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
6	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0.30	0.48
7	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0.30	0.48
8	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0.40	0.52
9	1	2	1	2	0	2	2	0	2	0	1.20	0.92
10	2	3	1	2	3	1	2	2	2	0	1.80	0.92
11	2	3	2	2	3	1	2	2	2	1	2.00	0.67
12	2	3	3	2	3	3	2	3	3	1	2.50	0.71

17. จำนวนรากกล้วยไม้กระแจะร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.10	0.32
6	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	0.40	0.70
7	0	1	0	0	0	1	2	1	0	0	0.50	0.71
8	0	1	0	0	0	2	2	1	0	0	0.60	0.84
9	0	1	1	2	0	1	2	1	0	0	0.80	0.79
10	1	1	1	2	2	3	1	1	0	0	1.20	0.92
11	1	1	1	2	2	3	1	1	0	0	1.20	0.92
12	1	1	1	3	3	3	2	2	0	0	1.60	1.17

18. จำนวนรากกล้วยไม้กระแจะร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0.20	0.42
4	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0.30	0.67
5	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0.40	0.84
6	0	0	0	2	2	0	2	2	2	0	1.00	1.05
7	0	0	0	2	2	0	2	2	2	2	1.20	1.03
8	0	1	2	2	3	0	3	3	2	3	1.90	1.20
9	1	1	2	3	3	3	3	2	2	3	2.30	0.82
10	1	2	2	3	3	5	3	2	4	4	2.90	1.20
11	1	2	3	3	3	5	3	2	4	4	3.00	1.15
12	1	2	3	4	4	5	4	4	4	4	3.50	1.18

19. จำนวนรากกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0.20	0.42
5	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0.20	0.42
6	0	1	0	2	0	2	0	1	2	0	0.80	0.92
7	0	1	0	2	0	2	1	2	2	0	1.00	0.94
8	0	1	2	3	2	2	2	3	2	0	1.70	1.06
9	0	1	2	3	2	2	2	3	3	0	1.80	1.14
10	1	1	2	3	2	2	2	3	3	4	2.30	0.95
11	2	3	4	5	3	3	4	4	5	4	3.70	0.95
12	2	3	4	5	3	3	4	4	5	6	3.90	1.20

20. จำนวนรากกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 2 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
5	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0.50	0.53
6	0	2	1	2	0	0	2	0	1	0	0.80	0.92
7	0	2	1	2	0	0	2	0	1	3	1.10	1.10
8	2	2	3	2	1	3	2	2	1	3	2.10	0.74
9	3	4	3	3	1	3	3	3	3	5	3.10	0.99
10	5	4	5	3	2	3	5	3	3	5	3.80	1.14
11	5	6	5	4	3	5	5	5	5	6	4.90	0.88
12	7	6	6	4	3	5	6	6	6	7	5.60	1.26

21. ความยาวรากกล้วยไม้กะระร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่ไม่มีสารควบคุม
การเจริญเติบโต

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
6	0	0	0	0.2	0	0.4	0	0	0.6	0	0.12	0.21
7	0	0	0	0.4	0	0.5	0	0	0.6	0	0.15	0.25
8	0.3	0	0	0.8	0	0.65	0	0	0.80	0	0.26	0.36
9	0.4	0.2	0	1.0	0.3	0.8	0.4	0.3	0.80	0	0.42	0.34
10	0.6	0.4	0.3	1.15	0.5	1.05	0.5	0.35	1.00	0	0.59	0.37
11	0.75	0.5	0.7	1.3	0.7	1.10	0.7	0.5	1.35	0.3	0.79	0.35
12	0.9	0.7	0.9	1.45	0.85	1.35	0.75	0.6	1.55	0.5	0.96	0.37

22. ความยาวรากกล้วยไม้กะระร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุม
การเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
5	0	0	0	0	0	0.2	0	0	0	0	0.02	0.06
6	0	0	0	0	0	0.3	0.4	0.4	0	0	0.11	0.18
7	0	0.3	0	0	0	0.45	0.7	0.45	0	0	0.19	0.26
8	0	0.4	0	0	0	0.65	0.8	0.55	0	0	0.24	0.32
9	0	0.55	0.2	0.4	0	0.85	0.9	0.70	0	0	0.36	0.37
10	0.3	0.80	0.4	0.70	0.3	1.10	1.00	0.8	0	0	0.54	0.39
11	0.5	0.85	0.55	0.95	0.55	1.25	1.05	1.10	0	0	0.68	0.44
12	0.75	1.00	0.65	1.15	0.85	1.45	1.30	1.25	0	0	0.84	0.51

23. ความยาวรากกล้วยไม้กะระร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุม
การเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0.2	0	0.3	0	0	0	0.05	0.11
4	0	0	0	0	0.3	0	0.6	0	0	0	0.09	0.20
5	0	0	0	0	0.6	0	1.2	0	0	0	0.18	0.40
6	0	0	0	0.4	0.8	0	1.3	0.4	0.3	0	0.32	0.44
7	0	0	0	0.55	0.95	0	1.45	0.5	0.5	0.3	0.43	0.48
8	0	0.2	0.35	0.65	1.45	0	1.6	0.65	0.6	0.5	0.60	0.55
9	0.2	0.4	0.45	0.85	1.60	0.2	1.85	0.80	0.75	0.75	0.79	0.55
10	0.45	0.55	0.70	0.95	1.65	0.4	1.90	0.80	0.95	0.80	0.92	0.49
11	0.65	0.65	0.90	1.15	1.70	0.55	2.10	0.90	0.95	0.90	1.05	0.49
12	0.75	0.70	1.05	1.15	1.80	0.65	2.15	1.05	1.10	1.00	1.14	0.48

24. ความยาวรากกล้วยไม้กะระร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุม
การเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 mg/L,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	0.2	0	0.1	0	0	0.03	0.07
5	0	0	0	0	0	0.4	0	0.4	0	0	0.08	0.17
6	0	0.5	0	0.3	0	0.8	0	0.55	0.3	0	0.25	0.29
7	0	0.7	0	0.6	0	0.95	0.3	0.75	0.55	0	0.39	0.37
8	0	0.8	0.3	0.65	0.25	1.15	0.65	0.9	0.70	0	0.54	0.39
9	0	0.95	0.45	0.80	0.50	1.20	0.85	1.10	0.80	0	0.67	0.42
10	0.3	1.15	0.65	0.80	0.70	1.60	0.95	1.30	1.05	0.3	0.88	0.42
11	0.5	1.25	0.85	0.95	0.80	1.85	1.25	1.55	1.20	0.6	1.08	0.42
12	0.7	1.35	1.05	1.10	0.95	2.05	1.45	1.65	1.25	0.8	1.24	0.41

25. ความยาวรากกล้วยไม้กะเหรี่ยงร้อนในสูตรมาตรฐาน Vacin and Went (1949) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 2 mg/l,

สัปดาห์	ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ขวดที่ 4	ขวดที่ 5	ขวดที่ 6	ขวดที่ 7	ขวดที่ 8	ขวดที่ 9	ขวดที่ 10	เฉลี่ย	SD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
5	0	0.1	0.2	0.2	0	0	0.2	0	0.3	0	0.10	0.12
6	0	0.4	0.6	0.5	0	0	0.7	0	0.8	0	0.30	0.33
7	0	0.6	0.9	0.7	0	0	1.1	0	1.10	0.3	0.47	0.47
8	0.4	0.85	1.2	0.9	0.3	0.25	1.15	0.3	1.25	0.5	0.71	0.40
9	0.65	0.85	1.20	1.10	0.5	0.35	1.20	0.6	1.30	0.65	0.84	0.34
10	0.85	0.95	1.30	1.15	0.75	0.45	1.25	0.65	1.35	0.80	0.95	0.30
11	1.00	1.05	1.40	1.35	0.85	0.50	1.40	0.70	1.45	0.80	1.05	0.34
12	1.15	1.15	1.55	1.45	1.00	0.65	1.55	0.75	1.60	0.90	1.18	0.35

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สูตรของสถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

สารเคมี (stock)	ปริมาณที่ใช้
ปุ๋ยสูตรเสมอ (21-21-21)	2 g/l
น้ำมะพร้าว	120 ml/l
น้ำตาลทราย	30 กรัม
วิตามินบีรวม	1-2 mg/l
ผงวุ้น	8 กรัม

การเตรียมสารละลายต้นตอสูตร Vacin and Went (1949)

1. การเตรียมสารอาหารหลัก เป็นสารที่ต้องการใช้ในปริมาณที่มาก มักชั่งและละลายรวมกันในขวดใบเดียวกัน เรียกว่า Stock I (Macro media) ส่วนใหญ่มักเตรียม 10 เท่า มีส่วนประกอบดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (mg/l)
potassium nitrate	KNO_3	525
potassium dihydrogen - phosphate	KH_2PO_4	250
magnesium sulfate	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250
ammonium sulfate	$(NH_4)_2SO_4$	500

ถ้าเตรียมให้มีความเข้มข้น 10 เท่า ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะใช้สารทั้งหมด ดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ (mg/l)
potassium nitrate	KNO_3	2.625 g
potassium dihydrogen - phosphate	KH_2PO_4	1.750 g
magnesium sulfate	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1.750 g
ammonium sulfate	$(NH_4)_2SO_4$	2.5 g

2. การเตรียมสารอาหารรอง เป็นสารที่ต้องการใช้ในปริมาณที่น้อย และขาดไม่ได้ มักชั่งและละลายรวมกันในขวดใบเดียวกัน เรียกว่า Stock II (Micro media) ส่วนใหญ่มักเตรียม 100 เท่า มีส่วนประกอบดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้
manganese sulfate	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.5 g

3. การเตรียมธาตุเหล็ก เป็นสารที่ต้องการใช้ในปริมาณที่ปานกลาง และมักทำการแยกต่างหาก มักชั่งและละลายรวมกันในขวดใบเดียวกัน เรียกว่า Stock III (เหล็ก) ส่วนใหญ่มักเตรียม 100 เท่า มีส่วนประกอบดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้
Ferric sulphate	$\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.3925 g
Sodium di EDTA	Na_2EDTA	1.865 g



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. (ชื่อ - สกุล ไทย) นางสาวพันธิวา แก้วมาตย์
(ชื่อ - สกุล อังกฤษ) Mis.Puntivar Keawmad

2. ตำแหน่งวิชาการปัจจุบัน อาจารย์

3. สถานที่ทำงาน

สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000 โทรศัพท์: 043-742620 โทรสาร: 043-742620

e-mail: puntivar.juu@gmail.com โทรศัพท์มือถือ: 089-7129110

4. ประวัติการศึกษา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) ชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) ชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

5. ประสบการณ์ด้านการวิจัย

งานวิจัยทางด้านชีววิทยา , พันธุศาสตร์เซลล์

6. ประสบการณ์ด้านการเผยแพร่งานวิจัยทั้งภายในและนอกประเทศ

6.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* บางชนิดในประเทศไทย (The

Cytogenetics of Some Species of The Genus *Cymbidium* in Thailand.)

Keawmad, P., Tanomtong, A and Khunsook, S. 2007. A Study on Karyotype of the

Asian Leopard Cat, *Prionailurus bengalensis* (Carnivora, Felidae) by

Conventional Staining, G-banding and High-resolution Technique. *Cytologia*

72(1) : 101-110.

Tanomtong, A., Khunsook, S., Keawmad, P. and Bunjonrat, R. 2008. Standardized

Karyotype and idiogram of the Clouded Leopard, *Neofelis nebulosa*

(Carnivora, Felidae) by Conventional Staining, G-banding and High-

resolution Technique. *Cytologia* 73: 71-80.

Tanomtong, A., Khunsook, S., Keawmad, P. and Pintong, K. 2008. Cytogenetic

Study of the Leopard, *Panthera pardus* (Carnivora, Felidae) by

Conventional Staining, G-banding and High-resolution Technique.

Cytologia 73: 81-90.