บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของเมล็ด

1.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับพืช

การศึกษาอายุฝักที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดในอาหารวุ้น โดยการนำเมล็ดจากฝักกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่มีอายุตั้งแต่ 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์หลังการผสมเกสรมาเพาะในอาหารเหลว วุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง ก่อนนำมาเพาะบนอาหารวุ้นสูตรเดียวกัน และเก็บไว้ในสภาพแสง 24 ชั่วโมง มีความเข้ม 30 มคม/ตรม/ว พบว่าเมล็ดที่ได้จากฝักอายุ 4 และ 5 สัปดาห์ ไม่สามารถงอกได้ ซึ่งเมื่อศึกษาเมล็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า คัพภะที่ได้จากเมล็ดอายุนี้ยังมีการพัฒนาไม่เต็มที่ ดังนั้นเมื่อมีการนำเมล็ดมาเพาะจึงไม่สามารถงอกขึ้นมาได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่คัพภะยังพัฒนาไม่สมบูรณ์นั้นอาหารที่ใช้เพาะในครั้งนี้ไม่เหมาะสมสำหรับการนำเมล็ดอ่อนมาเพาะ โดยอาหารที่จะนำมาเพาะเมล็ดอ่อนควรมีสารเพื่อช่วยให้เมล็ดมีการพัฒนาเป็นเมล็ดที่มีคัพภะสมบูรณ์และงอกขึ้นมาได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ ธีรพล (2535) ที่พบว่าเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนที่คัพภะพัฒนาไม่สมบูรณ์ไม่สามารถงอกได้ และเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรที่มีอายุ 3 และ 4 สัปดาห์ที่คัพภะยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ไม่สามารถงอกได้เมื่อเพาะลงในอาหารเหยวสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง แต่เมล็ดอ่อนของ *Ipsea malabarica* สามารถงอกได้ในอาหารเหลวที่มีการเติม casein hydrolysate ร้อยละ 0.05 โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงถึงร้อยละ 90 (Gangaprasad *et al.*, 1999) จากผลนี้ถ้าหากนำเมล็ดอ่อนของกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กอายุ 4 และ 5 สัปดาห์ ที่คัพภะยังพัฒนาไม่สมบูรณ์มาเพาะลงในอาหารที่มี casein hydrolysate อาจจะสามารถงอกได้ ส่วนเมล็ดแก่ที่มีอายุ 8 สัปดาห์สามารถงอกได้แต่มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำและยังใช้เวลาในการงอกนาน อาจเนื่องมาจากเมล็ดแก่ที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดย Rasmussen (1995) กล่าวว่าเมล็ดกล้วยไม้ที่แก่จะมีสีน้ำตาลถึงดำ เปลือกหุ้มเมล็ดอาจมีความหนามากกว่าเมล็ดที่ได้จากฝักอายุน้อยกว่านี้จึงทำให้การผ่านเข้าสู่เมล็ดของน้ำและสารอาหารต่างๆเป็นไปได้ยาก และเมล็ดแก่มีการลดความชื้นภายในเมล็ดลงเหลือเพียงร้อยละ 11 (Pritchard, 1984) และจากการที่เมล็ดแก่ของกล้วยไม้งอกได้ยากนั้นอาจเนื่องมาจากสารที่สะสมอยู่ภายในเมล็ดเปลี่ยนรูปไป ซึ่ง Manning and van Staden (1987) พบว่า หลังจากเกิดการผสมเกสรพบแป้งในรูปของ amyloplast ภายในคัพภะ แต่เมื่อเมล็ดแก่จะไม่พบแป้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในเมล็ด ส่วนเมล็ดแก่ของ *Calypso bulbosa* พบว่าภายในเมล็ดมีโปรตีนสะสมอยู่ ส่วน Harison (1977) รายงานว่าพบแป้งที่สะสมในเมล็ดเฉพาะในส่วนของ proplastid และภายในเซลล์พบเม็ดไขมันและโปรตีน ซึ่งจากอาหารสะสมนี้ทำให้เมล็ดไม่สามารถงอกได้โดยง่าย (Arditti, 1979) โดยในธรรมชาติจะอาศัยเชื้อราในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการงอกของเมล็ด (Sheena, 2000) หรืออาจเกิดจากสารที่เกี่ยวข้องกับการพักตัวของเมล็ดเมื่อมีการนำเมล็ดมาเพาะจึงใช้เวลาในการงอกนาน ซึ่งในงานทดลองของ Withner (1953) พบว่าในสภาพปลอดเชื้อเมล็ดอ่อนของกล้วยไม้เขตร้อนสามารถงอกได้เร็วกว่าเมล็ดกล้วยไม้เขตหนาว และเมล็ดกล้วยไม้ดินเขตหนาวงอกได้ยาก นอกจากนี้ Wagner and Hansel (1994) ยังพบว่า เมื่อนำเมล็ดแก่ของ *Cypripedium calceolus* มาเพาะมีการงอกลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ที่เมล็ดแก่มีการงอกลดลงเหลือเพียงร้อยละ 3 โดยเมล็ดที่ได้จากฝักอายุ 7 สัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดถึงร้อยละ 62.50 ที่เป็นเช่นนี้เพราะเมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าคัพภะมีการพัฒนาที่สมบูรณ์และเปลือกหุ้มเมล็ดยังไม่มีการเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลจึงสามารถงอกได้สูงสุดและงอกได้อย่างรวดเร็ว นอกจากเรื่องของอาหารสะสมแล้ว น่าจะเป็นผลของเปลือกหุ้มเมล็ดหนา และมีสารเคลือบเมล็ดที่แก่ทำให้น้ำผ่านได้ยากด้วย Nagashima (1989) ศึกษาการพัฒนาคัพภะของกล้วยไม้ดิน *Ponerorchis graminifolia* Reichb. f. ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเกิดการปฏิสนธิหลังจากได้รับการผสมเกสร 12 – 13 วัน และมีการเจริญอย่างรวดเร็วจนมีขนาดคัพภะเต็มที่เมื่อ 40 วันหลังการผสมเกสร เมื่อมีการนำเมล็ดอายุ 35 – 40 วันหลังการผสมเกสร มาเพาะมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดคือร้อยละ 40 แต่ในกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่นำมาทำการทดลองครั้งนี้เมล็ดจะเริ่มงอกที่อายุฝัก 6 สัปดาห์แต่เมล็ดที่ได้จากฝักอายุนี้มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่าเมล็ดที่ได้จากฝักอายุ 7 สัปดาห์ เมื่อทำการศึกษาเมล็ดที่ได้จากฝักอายุ 6 สัปดาห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า บางเมล็ดมีการพัฒนาแล้วแต่บางเมล็ดยังมีการพัฒนาที่ไม่สมบูรณ์จึงทำให้เมล็ดที่ได้จากฝักอายุนี้มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ และใช้เวลาในการงอกนานกว่าฝักอายุ 7 สัปดาห์ อาจเนื่องมาจากเมล็ดที่ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ ต้องใช้เวลาในการพัฒนาต่อจึงจะสามารถงอกได้ จึงใช้เวลาในการงอกนานและสาเหตุที่ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำอาจเนื่องมาจากบางเมล็ดที่คัพภะยังพัฒนาไม่สมบูรณ์นั้นไม่สามารถพัฒนาต่อได้จึงทำให้เมล็ดนั้นไม่งอก เมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์มีคัพภะที่สมบูรณ์อยู่แล้วจึงมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงและสามารถงอกได้อย่างรวดเร็ว

สภาพวัสดุพันธุ์พืชที่ใช้ในการทดลองขึ้นกับสภาพแวดล้อมที่ต้นพืชขึ้นอยู่อย่างมากดังจะเห็นจากการทดลองนี้ (การทดลองที่ 1.1) ที่เมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์เหมาะสมที่สุด แต่ในอีกการทดลองคือ การทดลองที่ 1.2 ซึ่งใช้เมล็ดที่ได้จากต่างปีกัน พบว่าเมล็ดจากฝักอายุ 8 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกดีจึงทำให้ฝักใช้เวลาในการพัฒนาไม่เท่ากัน อาจเนื่องมาจากสภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แวดล้อมที่ได้รับในแต่ละปีแตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิและความชื้นที่ต่างกัน รวมทั้งความสมบูรณ์ของต้นแม่พันธุ์ ปัจจัยด้านอุณหภูมิ และความชื้นของแต่ละปีที่ต่างกันมีผลต่อการพัฒนาของเมล็ด ทำให้เมล็ดแก่เร็วขึ้นหรือช้าลง ส่งผลให้ฝักที่นำมาเพาะในแต่ละปีแตกต่างกันไปด้วย เนื่องจากในแต่ละปีเมล็ดอาจใช้เวลาในการพัฒนาไม่เท่ากัน ดังนั้นเมื่อจะนำเมล็ดมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อจึงควรมีการนำเมล็ดมาดูการพัฒนาของคัพภะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หรืออาจสังเกตุได้จากสีของฝักที่เปลี่ยนจากสีเขียวอ่อนเป็นสีเขียวเข้มก่อนนำมาเพาะซึ่งจะทำให้ได้เมล็ดที่เหมาะสมต่อการงอกได้ดียิ่งขึ้น ส่วนสภาพความสมบูรณ์ของต้นแม่พันธุ์ส่งผลต่อความสมบูรณ์ของคัพภะ โดยต้นแม่พันธุ์ที่มีความสมบูรณ์ให้เมล็ดที่มีคัพภะที่สมบูรณ์ทำให้เมื่อนำมาเพาะมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงตามไปด้วย

1.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอาหาร

1.2.1 ส่วนประกอบของอาหาร

จากการศึกษาอายุฝักที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด พบว่าเมล็ดจากฝักอายุ 6 สัปดาห์ที่คัพภะเริ่มมีการพัฒนาแต่ในบางเมล็ดยังมีการพัฒนาที่ไม่สมบูรณ์ถือได้ว่าเป็นเมล็ดอ่อนซึ่งการนำมาเพาะจึงต้องใช้อาหารที่เหมาะสมโดยอาจต้องมีการเพิ่มสารอาหารบางชนิดลงไปเพื่อให้เมล็ดเกิดการพัฒนาของคัพภะต่อไป เช่น casein hydrolysate รวมทั้งอาหารนั้นต้องมีความสมดุลและมีธาตุอาหารรองที่เหมาะสมซึ่งทั้ง 2 ปัจจัยนี้มีความสำคัญต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ (Arditti, 1992) การงอกของเมล็ดมีความต้องการน้ำตาลเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งในธรรมชาติได้รับมาจากการอาศัยเชื้อรา แต่เมื่อมีการนำเมล็ดมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อจึงต้องมีการเติมน้ำตาลลงในอาหาร โดยใช้น้ำตาลความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 2 – 5 (Arditti and Ernst, 1992) ในการศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำตาลต่อการงอกของเมล็ดโดยใช้ความเข้มข้น 3 ระดับคือ ร้อยละ 2, 4 และ 6 พบว่าเมล็ดงอกได้ในน้ำตาลทุกระดับ การงอกของเมล็ดกล้วยไม้เริ่มจากคัพภะขยายขนาดใหญ่ขึ้นจนดันเปลือกหุ้มเมล็ดฉีกขาด หลังจากนั้นคัพภะมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากที่มีลักษณะกลมก็เกิดมีปลายยอดแหลมซึ่งเรียกว่า โปรโตคอร์ม โปรโตคอร์มนี้จะพัฒนาเป็นยอด เกิดมีใบ และเป็นต้นอ่อนได้ในสภาพที่เหมาะสม ผลจากการศึกษาเกี่ยวกับอายุฝักครั้งนี้พบว่า อายุฝักที่เหมาะสมคือ 7 สัปดาห์ ที่เพาะบนอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 2 และ 4 โดยให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายทั้งหมด แต่เมื่อฝักมีอายุอ่อนกว่าหรือแก่กว่านี้เปอร์เซ็นต์การตายของโปรโตคอร์มเกิดขึ้นมาก สำหรับที่น้ำตาลระดับสูงกว่าร้อยละ 2 เมื่อใช้ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 เป็นความเข้มข้นมากเกินไป เนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์การงอกต่ำลง และมีเปอร์เซ็นต์การตายของโปรโตคอร์มเพิ่มขึ้น และยังไม่เหมาะสมต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มทำให้ได้ต้นที่มีขนาดเล็กซึ่งเป็นผลมาจากความดันออสโมติคในอาหารที่มากเกิน Yates and Curtis (1949) กล่าวว่าความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลโดยตรงต่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อัตราส่วนของการเกิดยอดและรากคือ น้ำตาลตั้งแต่ 0.06 – 0.20 โมลาร์ ที่ใช้เพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Epidendrum* และ *Cattleya* พบว่า ในอาหารที่มีความเข้มข้นสูงเพิ่มการเจริญของราก ในขณะที่การเจริญของยอดลดลง และการใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0.10 – 0.15 โมลาร์ เหมาะสมต่อการเจริญของยอดและรากของต้นอ่อน จากการศึกษาครั้งนี้เพื่อหาระดับที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก พบว่าที่น้ำตาลความเข้มข้นร้อยละ 2 เหมาะสมต่อการงอกมากที่สุดเนื่องจาก เมื่อเมล็ดงอกแล้วพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มโดยไม่มีการตาย ทำให้เกิดการพัฒนาเป็นต้นอ่อนต่อได้

1.2.2 สภาพอาหาร

จากการศึกษาสภาพอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด พบว่า เมล็ดที่เพาะในอาหารเหลวมีการพัฒนาของคัพภะทั้งในด้านความกว้าง และความยาวรวดเร็วกว่าในอาหารวุ้นหรืออาหารวุ้นที่หยดอาหารเหลวตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองและยังสามารถงอกได้เร็วกว่าอีกด้วย ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกันกับงานทดลองของ Devi *et al.* (1998) ที่เพาะเมล็ด *Vanda coerulea* ในอาหารสูตร Vacin and Went ที่มีวิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโต และน้ำมะพร้าวโดยทำการเปรียบเทียบระหว่างอาหารเหลวกับอาหารกึ่งแข็ง พบว่าเมล็ดที่เพาะในอาหารเหลวสามารถงอกได้เร็วกว่า ส่วน Arditti (1992) กล่าวว่าการเพาะเมล็ดสามารถใช้ได้ทั้งอาหารวุ้นและอาหารเหลว แต่ควรจะเลือกใช้ตามความเหมาะสม ซึ่งก็พบว่าอาหารเหลวสามารถงอกได้เร็วกว่าในอาหารวุ้น แต่อย่างไรก็ตามอาหารเหลวก็ไม่เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้บางสกุล เช่น *Paphiopedilum* ซึ่งเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นให้ผลดีกว่าอาหารเหลว จากการเพาะเมล็ดในอาหารเหลวทำให้เมล็ดสามารถงอกได้เร็วกว่าในอาหารอื่นอาจเนื่องมาจากเมล็ดที่อยู่ในอาหารเหลวนั้นสามารถรับน้ำและสารอาหารได้รอบเมล็ดทำให้น้ำและสารอาหารผ่านเข้าสู่เมล็ดได้ดีกว่าอีกทั้งเมล็ดสามารถสัมผัสกับอาหารได้ทุกด้านซึ่งในอาหารวุ้นหรืออาหารวุ้นที่หยอดอาหารเหลวสัมผัสกับอาหารเพียงด้านเดียวจึงทำให้เมล็ดได้รับสารอาหารได้น้อยกว่าในอาหารเหลว และเมื่อในอาหารเหลวได้รับสารอาหารเต็มที่จึงทำให้คัพภะพัฒนาได้อย่างรวดเร็ว เมล็ดจึงสามารถงอกได้เร็วกว่าแต่เมื่อคัพภะพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มแล้ว โปรโตคอร์มที่เลี้ยงในอาหารเหลวหรืออาหารวุ้นที่หยดอาหารเหลวเกิดการฉ่ำน้ำ ทำให้โปรโตคอร์มตายไปเป็นส่วนใหญ่ ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นอ่อนต่ำ แต่ในอาหารวุ้นที่ไม่เกิดการฉ่ำน้ำโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้เกือบทั้งหมด ดังนั้นการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กอาจทำได้โดยเพาะลงในอาหารเหลวก่อนเพื่อเร่งการพัฒนาของคัพภะและเมื่อคัพภะหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดแล้วจึงย้ายมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นเพื่อลดการตายของโปรโตคอร์มที่เกิดจากการฉ่ำน้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัว

2.1 ปัจจัยที่เกี่ยวกับอุณหภูมิ

การศึกษาหาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัว ในการศึกษานี้นำต้นอ่อนที่ยังไม่เกิดหัวมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง แล้วนำไปเลี้ยงในที่มีอุณหภูมิต่างกัน พบว่าต้นที่เลี้ยงในที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส การเจริญเติบโตทางด้านต้นต่ำและไม่สามารถเกิดหัวได้ ซึ่งเห็นได้ว่าที่อุณหภูมินี้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก อาจเนื่องมาจากกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กเป็นพืชเขตร้อนและในธรรมชาติงอกในช่วงฤดูฝนซึ่งมีอุณหภูมิค่อนข้างสูง เมื่อนำมาเลี้ยงในอุณหภูมิต่ำจึงมีการเจริญเติบโตไม่ดีและไม่สามารถเกิดหัว ในขณะที่กล้วยไม้ดินลิ้นมังกรที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ (ปิยะนุช, 2547) ส่วนการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตทางต้นแต่ไม่สามารถเกิดหัวได้ ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากอุณหภูมิสูงเหมาะสำหรับการเจริญด้านต้น แต่พืชยังไม่มีปัจจัยที่กระตุ้นการสะสมอาหารในหัว ในขณะที่ต้นอ่อนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตทั้งทางด้านต้นและหัวได้ดีที่สุด ปัจจัยทางด้านอุณหภูมินั้นมีผลต่อการเจริญของพืช โดยในแต่ละพืชมีความต้องการที่ต่างกันออกไปซึ่งการเลี้ยงในที่มีอุณหภูมิเหมาะสมจะทำให้มีการเจริญเติบโตที่ดี โดยทั่วไปการเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อนั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิช่วง 22 –26 องศาเซลเซียส ซึ่งกล้วยไม้เขตร้อนของอาเซียนมีการเจริญเติบโตเป็นอย่างดี แต่กล้วยไม้บางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิต่ำ เช่น *Disa uniflora* ที่เจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Arditti, 1992) กล้วยไม้ดินที่มีแหล่งกำเนิดในเขตหนาวมีความต้องการอุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่งของการเจริญเติบโต

ต้นกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กสามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยต้นมีการเจริญเติบโตและสามารถสร้างหัวได้เฉพาะที่อุณหภูมินี้เท่านั้น แต่เมื่อเลี้ยงต้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ต้นสามารถเจริญได้แต่ไม่สามารถเกิดหัวได้ ดังนั้นหากต้องการหัวด้วยจึงควรเลี้ยงต้นในที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จึงจะได้ต้นที่สมบูรณ์

2.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของอาหาร

2.2.1 น้ำตาล น้ำมะพร้าว น้ำมันฝรั่งสกัด และกล้วยบด

อาหารที่ใช้เพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นนั้นนิยมเติมน้ำมะพร้าวลงไป Arditti and Ernst (1992) กล่าวว่าน้ำมะพร้าวสามารถส่งเสริมการเจริญของเซลล์ เนื้อเยื่อ อวัยวะหรือต้นที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยน้ำมะพร้าวประกอบด้วยส่วนประกอบหลายชนิด ได้แก่ สารอนินทรีย์ต่างๆ หลายชนิด กรดอะมิโน เอนไซม์ วิตามิน น้ำตาล รวมทั้งสารควบคุมการเจริญเติบโต (ตารางภาคผนวก 1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดลองพบว่า ในอาหารที่ไม่มีทั้งน้ำตาลและน้ำมะพร้าวนั้นมีการเจริญเติบโตทางต้นและหัวต่ำที่สุด เนื่องจากอาหารไม่มีแหล่งคาร์บอนที่ให้พลังงานซึ่งก็คือน้ำตาล และนอกจากนี้ยังไม่มีน้ำมะพร้าวที่เป็นสารช่วยส่งเสริมการเจริญจึงทำให้มีการเจริญเติบโตต่ำ อาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล และน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้น คือ อาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 15.0 ซึ่งให้ผลการเจริญด้านต้น ราก และหัวดี ซึ่งดีพอๆ กับผลจากน้ำตาลร้อยละ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 22.5 ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงควรเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวต่ำกว่าเพื่อลดต้นทุนการผลิต แต่ต้นที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล และน้ำมะพร้าวเพิ่มขึ้น ต้นที่ได้มีการเจริญเติบโตลดลง เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Huang *et al.* (2001) ที่เลี้ยงต้นกล้วยไม้รองเท้านารีในอาหารที่มีน้ำมะพร้าว พบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 มีการเจริญเติบโตสูงสุด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นมีผลให้การเจริญเติบโตลดลง และอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 18 โมล/ลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 มีจำนวนรากลดลงเช่นกัน และน้ำตาลซูโครสให้ผลดีกว่าน้ำตาลมอลโตส ดังนั้นจึงน่าอธิบายได้ว่าในอาหารที่มีความเข้มข้นสูงทำให้พืชไม่สามารถดูดอาหารไปใช้ได้อย่างเต็มที่และอาหารที่มีน้ำมะพร้าวความเข้มข้นต่ำหรือสูงเกินไปมีผลด้านลบต่อการเจริญของต้น ซึ่งเป็นผลจากความสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีในน้ำมะพร้าวนั้นไม่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการเจริญ การเลี้ยงต้นกล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการอาหารที่มีความเข้มข้นต่างกัน โดย Arditti (1982) รายงานว่า ต้น *Calypso bulbosa* เลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 50 มล/ล ร่วมกับน้ำมันฝรั่งสกัด 100 มล/ล ส่วนต้น *Epipactis gigantean* เลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 50 มล/ล และ *Spathoglottis plicata* เลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 100 มล/ล ร่วมกับ casein hydrolysate 1 ก/ล

อาหารที่ใช้เลี้ยงกล้วยไม้นอกจากน้ำมะพร้าวแล้วยังนิยมเติมน้ำมันฝรั่งสกัด ซึ่งในน้ำมันฝรั่งสกัด พบว่า มีน้ำตาลหลายชนิด เช่น ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส แต่มีปริมาณน้อย นอกจากนี้ยังมี tyrosin, ascorbic acid, cystein, glutathione และ inositol (เกศดา, 2523) จากการทดลองความเข้มข้นน้ำตาลและน้ำมันฝรั่งสกัดต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัวครั้งนี้พบว่า ต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลร่วมกับน้ำมันฝรั่งสกัดตายอาจเนื่องมาจากอาหารที่ไม่มีน้ำตาลแต่มีน้ำมันฝรั่งสกัดอาจมีความเข้มข้นที่ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของต้น และในอาหารไม่มีน้ำตาลที่เป็นแหล่งให้พลังงานเพื่อการเจริญเติบโต แต่ในอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 4 ร่วมกับน้ำมันฝรั่งสกัด 20 ก/ล มีความเหมาะสมต่อการเจริญของต้นและหัว ซึ่งหากเลี้ยงต้นในอาหารที่มีน้ำตาลร่วมกับน้ำมันฝรั่งสกัดต่ำหรือสูงกว่านี้การเจริญของต้นและหัวลดลง ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกันกับงานทดลองของ Huang *et al.* (2001) ที่พบว่าต้นอ่อนรองเท้านารีมีการเจริญของต้นและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รากดีที่สุดในอาหารที่มีมันฝรั่งสับ 10 ก/ล และในอาหารที่มันฝรั่งเพิ่มขึ้นส่งผลให้การเจริญลดลง ซึ่งความเหมาะสมของน้ำมันฝรั่งสกัดในแต่ละพืชนั้นต่างกันไป Arditti *et al.* (1982) รายงานว่า การงอกของเมล็ดและการเจริญของต้น *Goodyera oblongifolia* ในอาหารที่มีน้ำมันฝรั่งสกัด 100 มล ร่วมกับน้ำตาลกลูโคส 10 ก/ล มีการงอกและการเจริญดี ส่วนต้น *Rhynchostylis gigantea* เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Vacin and Went ที่มีน้ำมันฝรั่งสกัด 250 มล/ล ร่วมกับกล้วยสุก หรือ น้ำมะพร้าว 200 มล/ล ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 20 ก/ล ส่วนต้น *Cypripedium reginae* เลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำมันฝรั่งสกัด 100 มล/ล ร่วมกับน้ำตาลร้อยละ 2

กล้วยบดเป็นส่วนประกอบอีกอย่างหนึ่งที่นิยมนำมาเติมลงในอาหารเลี้ยงกล้วยไม้ Barnell (1940) รายงานว่ากล้วยประกอบด้วยวิตามินเอ บี และซี รวมทั้งยังมีโปรตีนและแร่ธาตุเช่น โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม และเหล็ก ซึ่งอยู่ในรูปที่ต้นกล้วยไม้สามารถนำไปใช้ได้ ส่วน Khalifah (1966) พบว่าในกล้วยมีสารคล้ายไซโตคินินซึ่งช่วยเร่งการเจริญเติบโต แต่ Arditti (1967) กล่าวว่าสารเร่งการเจริญเติบโตที่มีในกล้วยนั้นไม่ใช่ฮอร์โมนพืช แต่เป็นผลร่วมกันของสารหลายชนิด กล้วยจึงสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นได้ (Arditti *et al.*, 1982) จากการทดลองครั้งนี้พบว่าในอาหารที่มีน้ำตาลร่วมกับกล้วยบดมีการเจริญน้อยกว่าต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำตาล หรือกล้วยบดอย่างใดอย่างหนึ่ง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในอาหารที่มีน้ำตาลเมื่อใช้ร่วมกับกล้วยบดซึ่งเป็นกล้วยสุกมีปริมาณน้ำตาลสูงอยู่แล้วจึงทำให้มีความเข้มข้นสูงเกินไป พืชไม่สามารถดูดอาหารไปใช้ได้ หรืออาจเกิดการสูญเสียน้ำจากเซลล์ออกมายังอาหาร ผลจากการทดลองครั้งนี้เมื่อใช้กล้วยบดอย่างเดียวร้อยละ 5 ให้ผลต่อต้นดี แต่ให้หัวระดับปานกลาง แต่ถ้าหากเลี้ยงต้นเลี้ยงต้นในอาหารที่มีเพียงน้ำตาลร้อยละ 4 ให้หัวในระดับที่ดี เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่สามารถนำไปใช้ได้ทันทีในปริมาณที่ไม่สูงจนเกินไป และผลของปริมาณน้ำตาลในกล้วยดังกล่าวเห็นผลชัดว่าใช้แทนน้ำตาลอย่างเดียวร้อยละ 2 และ 4 ในเรื่องการเกิดรากได้ แต่ในพืชอื่นมีความต้องการกล้วยในปริมาณต่างกันไป Arditti *et al.* (1982) สรุปไว้คือ อาหาร Knudson C ที่มีกล้วยสุก 100 –150 ก/ล ใช้เพาะเมล็ดและเลี้ยงต้น ส่วนการเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นรองเท้านารีใช้กล้วยสุก 100 ก/ล ร่วมกับ น้ำตาล 20 ก/ล ขนิษฐา (2517) พบว่า ต้นกล้วยไม้ลูกผสม *Arachnis* Maroon Maggie × *Renanthera coccinea* เจริญได้ในอาหารที่มีน้ำตาล แต่ไม่ใส่กล้วยดีกว่าในอาหารที่มีกล้วยอยู่ด้วยไม่ว่าจะเป็นกล้วยสุก ห่าม หรือดิบ และในอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 2 หรือ 2.5 ที่ไม่มีกล้วยทำให้ต้นกล้วยไม้ลูกผสมดังกล่าวมีความสม่ำเสมอดี นอกจากกล้วยบดแล้วยังสามารถเติมผงกล้วยลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงต้นรองเท้านารี โดย Huang *et al.* (2001) พบว่า ต้นที่เลี้ยงในอาหารที่มีผงกล้วย 20 ก/ล ส่งเสริมการเจริญทางต้น แต่ในอาหารที่มีผงกล้วยร้อยละ 10 ส่งเสริมการเจริญทางด้านราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการเลี้ยงต้นในอาหารที่มีน้ำตาล ร่วมกับน้ำมะพร้าว น้ำมันฝรั่งสกัด หรือกล้วยบด เห็นได้ว่าต้นที่เลี้ยงในอาหารที่มีส่วนประกอบต่างกัน ที่มีระดับความเข้มข้นพอเหมาะต่อการเจริญของต้นและหัวคือ อาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 มีการเจริญทุกด้านดีกว่าต้นที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 4 ร่วมกับน้ำมันฝรั่งสกัด 20 ก/ล หรืออาหารที่มีกล้วยบดร้อยละ 5 หรืออาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 4

ดังนั้นการเลี้ยงต้นท้าวคูลูดอกเล็กเพื่อให้ได้ต้นที่มีการเจริญเติบโตทั้งทางต้นและหัวที่ดี ควรเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลร้อยละ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 15.0 การเตรียมน้ำมะพร้าวยังทำได้สะดวกและรวดเร็วกว่าการเตรียมน้ำมันฝรั่งสกัดหรือกล้วยบด

2.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA

จากการทดลองผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัว ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 พบว่า ต้นที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีทั้ง NAA และ BA มีการเจริญทั้งทางด้านต้นและหัวดีที่สุด และถ้าหากมีการเติม NAA ลงในอาหารทำให้ความสูงต้นลดลง และทำให้หัวที่ได้มีลักษณะผิดปกติ คือเป็นก้อนปม ซึ่งอาจเกิดจากผลของออกซินที่เติมลงไปรวมกับที่มีในน้ำมะพร้าวมีปริมาณมากขึ้นมีผลทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์ และในอาหารที่มีการเติม BA ความยาวของหัวที่ได้ลดลง แต่ขนาดใหญ่ขึ้นซึ่งน่าจะเป็นผลจากการแบ่งเซลล์ในหัว แต่เมื่อใช้ BA ความเข้มข้นสูงขึ้นสมดุลไม่เหมาะสมจึงน่าจะหยุดการแบ่งเซลล์จึงทำให้ขนาดลดลง แต่ระดับ BA สูงสุดเป็นพิษจนทำให้ต้นและหัวตายจะเห็นว่า การเจริญเติบโตของต้นและหัวขึ้นอยู่กับสมดุลของออกซิน และไซโตคินินอย่างชัดเจน จากการทดลองนี้ ความเข้มข้นของ NAA และ BA 0.5 มก/ล เป็นความเข้มข้นที่ต่ำก็ยังไม่เหมาะสมต่อการเจริญของกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก ซึ่งพืชนี้อาจไม่มีความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตเพิ่มเติมจากที่มีในน้ำมะพร้าวอยู่แล้ว สำหรับพืชอื่นมีความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น โปรโตคอร์มของรองเท้านารีเหลืองปราจีนเลี้ยงในอาหารที่มีการเติม IBA 1.01 มก/ล ร่วมกับ BA 0.28 มก/ล (ธีรพล, 2535) ส่วน Arditti (1992) รายงานว่า ใช้ NAA 0.25 – 0.50 มก/ล ร่วมกับ BA 0.25 – 0.50 มก/ล เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของ PLBs ของ *Aranda* Christine No. 1 (*Arachnis hookeriana* × *Vanda* Hilo Blue) ส่วนต้นอ่อนของ *Cattleya* เลี้ยงในอาหารที่มี kinetin 0.1 – 1.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.0 – 5.0 มก/ล หรือ kinetin 0.1 – 0.5 มก/ล ร่วมกับ 2,4 – D 0.1 มก/ล และพบว่า อาหารที่มี NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 1.0 มก/ล สามารถชักนำให้ PLBs ของ *Cattleya* เกิดเป็นยอดได้ และการเกิดยอดบนชิ้นส่วนไรโซมของ *Eulophia hormusji* สามารถชักนำได้บนอาหารที่มี NAA 1 มก/ล ร่วมกับ kinetin 1.0 มก/ล และสามารถเลี้ยงต้นได้เช่นกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการอาหารที่มีส่วนประกอบแตกต่างกันทั้งในส่วนของอาหารพื้นฐาน และสารช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต รวมทั้งปัจจัยทางด้านอุณหภูมิ และแสงด้วย อีกทั้งความต้องการในแต่ละระยะยังมีความแตกต่างกันไป การจะนำกล้วยไม้แต่ละชนิดมาขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อจึงควรมีการศึกษาก่อนทำการขยายพันธุ์โดยเฉพาะกล้วยไม้ดินประเภทมีหัวที่ยังมีการศึกษาน้อย

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของโปรโตคอร์มที่มีเนื้อเยื่อเจริญ และจุดกำเนิดของใบที่มีการสร้างขึ้นแล้วแสดงให้เห็นถึงโครงสร้างคล้ายตายอดที่พร้อมจะงอก และพัฒนาท่อลำเลียง และใบอ่อนต่อไป แต่ต่างจากดัพภะทั่วไปคือ ไม่มีจุดกำเนิดราก แม้ว่าโปรโตคอร์มจะพัฒนาไปเป็นยอดอ่อนที่ยังไม่มีราก คือไม่เป็นต้นที่สมบูรณ์ แต่จุดกำเนิดของหัวก็สามารถเกิดขึ้นได้จากเซลล์บริเวณเนื้อเยื่อเจริญตั้งแต่ยอดยังอ่อนอยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved