บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้ที่พบอยู่บนโลกนี้มีอยู่ 15,000-30,000 ชนิด และมากกว่า 800 สกุล (ครรชิต, 2547) กล้วยไม้เป็นพืชในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดของพรรณพืชในโลก (สลิล, 2549)

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1.1 กล้วยไม้สกุล *Liparis*

กล้วยไม้สกุล *Liparis* เป็นสกุลที่ใหญ่มาก พบทั่วโลกถึง 350 ชนิด (สลิล, 2549) อยู่ในวงศ์ย่อย Epidendroideae เผ่า Malaxideae (Dressler, 1993; Wood *et al.*, 1993) ลักษณะแปลกที่เป็นลักษณะประจำของกล้วยไม้ดินสกุลนี้คือการมีกลีบปากอยู่ด้านบนของดอก (Holtum, 1964; Soon, 1989) มีลำลูกกล้วยอวบน้ำและสั้น (Holtum, 1964) ในประเทศไทยมี 30 ชนิด มีทั้งที่เป็นพวกอิงอาศัยและพวกที่ขึ้นตามพื้นดิน ส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก มักขึ้นเป็นกระจุกหรือเป็นกอ (อบฉันท์, 2543)

ลักษณะของส่วนประกอบของกล้วยไม้สกุล *Liparis* มีดังนี้

1.1.1 หัว รูปร่างค่อนข้างกลมหรือรูปรี แต่ส่วนใหญ่มักจะยาว มีปล้องเดียวหรือหลายปล้อง (สลิล, 2549)

1.1.2 ใบ ใบออกตามต้นหรือที่ยอด เรียงเวียนรอบต้น บางครั้งพบว่าเรียงแบบสลับแต่พบน้อย (สลิล, 2549) ผิวใบเรียบ ใบพับจีบตามยาว (อบฉันท์ และชุมพล, 2543) ใบอ่อนม้วนตามแนวยาวหรือพับตามแนวยาว (สลิล, 2549) ใบแก่อาจจะไม่หลุดจากต้นหรือหลุดร่วงที่ข้อต่อ (สลิล, 2549; อบฉันท์ และชุมพล, 2543)

1.1.3 ช่อดอก ช่อดอกเป็นช่อแบบช่อกระจะ (สลิล, 2549) ช่อดอกเกิดที่ปลายยอด มีน้อยมากที่พบว่าเกิดจากโคนของลำลูกกล้วย (อบฉันท์ และชุมพล, 2543) และช่อห้อยย้อย (สลิล, 2549) มีจำนวนดอกในช่อน้อยหรือมาก บางชนิดมีใบประดับย่อยของดอกเรียงตัวต่อกันเป็นสองแถว ดอกบานคราวละ 1 ดอก (อบฉันท์ และชุมพล, 2543) ดอกเรียงเวียนหรือเรียงสลับบนก้านช่อดอก ใบประดับของดอกมักหลุดร่วงเมื่อดอกบาน (สลิล, 2549)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1.4 ดอก ดอกบิด ดอกมีขนาดกลางถึงขนาดเล็ก (Beaman *et al.*, 2001) หรือเล็กมาก (อบฉันท์ และชุมพล, 2543) ดอกมีกลิ่น มีสีขาว สีเขียว สีเหลืองหรือสีค่อนข้างน้ำตาล (Rice, 2004) สีม่วง สีเขียวปนเหลืองหรือสีส้มอ่อน (Beaman *et al.*, 2001) สีค่อนข้างเขียวหรือค่อนข้างม่วง ดอกเมื่อแก่มักกลายเป็นสีม่วง (Holtum, 1964) หรือสีส้ม (Linder and Kurzweil, 1999) สีแดง สีชมพูหรือสีน้ำตาลเข้มปนแดง กลีบเลี้ยงและกลีบดอกแยกจากกันเป็นอิสระ (Rice, 2004) กลีบเลี้ยงไม่เชื่อมติดกัน กลีบมักจะแคบและห้อยลง (อบฉันท์ และชุมพล, 2543) รูปไข่ถึงรูปรีแคบ (Beaman *et al.*, 2001) หรือรูปไข่แคบ (Wood *et al.*, 1993) แผ่กางออกและมักพับกลับ (Rice, 2004) กลีบแคบ รูปแถบ (Beaman *et al.*, 2001) จนถึงรูปคล้ายเส้นด้าย (Rice, 2004) กลีบปากอยู่ทางด้านล่างของดอก ไม่มีเดือย (สลิล, 2549; อบฉันท์ และชุมพล, 2543) ปลายกลีบปากแผ่กางออก ช่วงโคนกลีบแคบและหนา เชื่อมติดกับโคนเส้าเกสร (อบฉันท์, 2543) เส้าเกสรค่อนข้างยาวและโค้งงอ มีส่วนโคนกว้างและมีปีกบาง ๆ ที่ส่วนปลาย (Beaman *et al.*, 2001; Holtum, 1964; Wood *et al.*, 1993) ไม่มีคาง (อบฉันท์ และชุมพล, 2543) อับเรณูอยู่ด้านหลังเส้าเกสร (Holtum, 1964) มีจะงอยปากสั้น รูปสามเหลี่ยมแผ่นเดียวหรือแบ่งเป็น 2 สัน กลุ่มเรณูมี 4 กลุ่ม อยู่เป็นคู่ ลักษณะเป็นไข รูปคล้ายกระบองหรือรูปคล้ายสี่เหลี่ยมมุมฉาก (Rice, 2004) หรือรูปรี (อบฉันท์, 2543) ไม่มีเยื่อหรือก้านกลุ่มเรณูและไม่มีแป้นเหนียว (อบฉันท์ และชุมพล, 2543) เกสรเพศเมียอยู่ใกล้ยอดเส้าเกสร โดยมีแอ่งเกสรอยู่ด้านล่างเส้าเกสร (Rice, 2004)

1.2 เอกลักษณ์ทางพฤกษศาสตร์ของเอื้องมรกต

เอื้องมรกต (*Liparis sutepensis* Rolfe ex Downie) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้

1.2.1 หัว หัวอยู่ใต้ดิน รูปร่างไม่แน่นอน กลมหรือรี หรือรูปอื่น มักมีสีขาวค่อนข้างใส (อบฉันท์, 2543) หัวมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 ซม มีลำต้นสั้น เจริญด้านข้าง (สลิล, 2549)

1.2.2 ราก เกิดจากส่วนด้านข้างและด้านล่างของหัวใต้ดิน มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1 ซม (พรวิวรรณ, 2550)

1.2.3 ใบ มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขนาด 6-10×4-6 ซม แผ่นใบค่อนข้างบาง อวบน้ำ ผิวใบมัน มีแนวพับจีบตามยาว ปลายใบแหลม ใบเกิดที่ระดับดิน มี 2 ใบ แผ่กางออกในแนวระนาบ (อบฉันท์, 2543) ขอบใบเรียบ (พรวิวรรณ, 2550)

1.2.4 ดอก มีขนาดเล็ก กว้าง 1.5 ซม ช่อดอกแบบกระจะ (สลิล, 2549) ช่อดอกเกิดที่ยอด สูง 12-20 ซม ดอกในช่อโปร่ง ทยอยบาน ขนาดดอกประมาณ 1 ซม กลีบปากรูปเกือบกลม ขนาดใหญ่เด่นชัดกว่ากลีบอื่น ๆ (อบฉันท์, 2543) กลีบปากกว้าง 1.0 ซม ปากเป็นรูปเกือบกลม มีขนาดใหญ่เด่นชัดกว่ากลีบอื่น (อบฉันท์, 2543) มีสีเขียวมรกต สีเขียวเข้มใส หรือสีเขียวอม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เหลือง ขอบปากไม่เรียบเป็นฟันเลื่อยที่บริเวณปลายปาก มีตุ่มตรงกลางที่ฐานปากเชื่อมติดกับฐานเส้าเกสร แผ่นปากมีแถบเป็นเส้นตรง แบน สีเขียวเข้มเป็นเงามัน และหนา มีความยาว 2 ใน 3 ของแผ่นปาก ฝาครอบอับเรณู มีความกว้างเท่ากับฐาน ปลายแหลม มีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยมยื่นออกมาด้านหน้า (Seidenfaden, 1976) กลีบปากมีขนาด 0.7-1.0×0.6-0.8 ซม ความยาวก้านช่อดอก 12-20 ซม ความยาวช่อดอก 5-9 ซม ดอกย่อยแต่ละดอกมีกลีบประดับย่อยรองดอก สีเขียวอมเหลือง มีดอก 28-35 ดอกต่อช่อ ความยาวก้านดอก 0.9-1.1 ซม เส้าเกสร ยาว 3.0-3.5 มม โค้งไปข้างหน้า (พรวิวรรณ, 2550) กลีบเลี้ยงด้านบน มีขนาดเล็กมาก เป็นรูปรี ยาว ปลายแหลม สีเขียวอ่อนใส มีขนาดเล็กมาก คือ 0.1×0.2 ซม อยู่ในแนวระนาบเดียวกับรังไข่ กลีบเลี้ยงด้านข้างมีขนาดเล็กมาก เป็นรูปหอกหรือขอบขนาน ปลายแหลม สีเขียวอ่อนใสเป็นมัน กว้าง 0.1-0.2 ซม ยาว 0.7-1.1 ซม แนวกลีบทั้งสองข้างลู่ลงด้านล่าง ปลายแยกออกจากกันเล็กน้อยซ่อนอยู่ใต้ปาก (Seidenfaden, 1976) กลีบดอกด้านข้าง เป็นรูปรีปลายแหลม สีเขียวสด กลีบดอกมีขนาด 0.2-0.3×0.2-0.4 ซม (พรวิวรรณ, 2550)

2. ลักษณะทางกายวิภาควิทยา

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของพืชเป็นการศึกษาเกี่ยวกับรูปร่างลักษณะภายในของเนื้อเยื่อ การเจริญ วิวัฒนาการ การเปลี่ยนสภาพ และความสำคัญของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดตลอดจนลักษณะภายในและการเจริญของส่วนต่าง ๆ ของพืช ซึ่งสัมพันธ์กับรูปร่างลักษณะภายนอก (เทียมใจ, 2546) เนื้อเยื่อพืชชั้นสูงจำแนกได้หลายแบบ โดยอาศัยความแตกต่างกันของรูปร่าง โครงสร้าง หน้าที่ ตำแหน่งที่อยู่ ลักษณะของผนังเซลล์และกิจกรรมทางสรีรวิทยาของเนื้อเยื่อ (ลิลลี่, 2546) ข้อมูลทางกายวิภาควิทยามีประโยชน์อย่างยิ่งในการไขปัญหาทางด้านความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชและยังสามารถช่วยในการแปลผลทางวิวัฒนาการได้เป็นอย่างดี (กันยา, 2545)

Stern and Judd (2002) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของกล้วยไม้ในเผ่า Cymbidieae 28 สกุลด้วยกัน เพื่องานอนุกรมวิธานและเปรียบเทียบ โดยศึกษาในส่วนของราก ลำต้น และ ใบ รายงานว่า กล้วยไม้ที่ศึกษาทั้งหมดมีลักษณะทางกายวิภาควิทยาที่คล้ายคลึงกัน ยกเว้นในสกุล *Govenia* ซึ่งสกุลนี้ในรากไม่มีชั้นของวีเลเมน และท่อลำเลียงไม่ปรากฏเซลล์สเคลอเรงคิมาซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้แตกต่างจากสกุลอื่น ๆ ในเผ่าเดียวกัน ส่วนในสกุล *Grammatophyllum* และ *Porphyroglottis* พบว่า มัดของเซลล์เส้นใยรอบนอกของใบประกอบด้วยกลุ่มของเซลล์เส้นใยที่อยู่ชิดกับเซลล์ผิวและเป็นเซลล์ที่มีลักษณะเรียวมีผนังเซลล์หนา ส่วนกลุ่มของเซลล์เส้นใยที่มีความหนานั้นเป็นกลุ่มที่อยู่ถัดเข้ามาทางด้านชั้นมีโซฟิลล์ ซึ่งลักษณะเช่นนี้พบในกล้วยไม้บางชนิดของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สกุล *Maxillaria* จากการวิเคราะห์ DNA ผลที่ได้แสดงความใกล้ชิดกันระหว่างเผ่า Cymbidieae และ Maxillarieae ส่วนสกุล *Govenia* เป็นสกุลเดียวที่จัดออกไว้นอกกลุ่มเนื่องจากลักษณะทั้งทางกายวิภาควิทยาและทางโมเลกุลไม่ใกล้เคียงพอที่จะจัดไว้ในเผ่า Cymbidieae

Sood (1989) ศึกษาคัพภะวิทยาของสกุล *Liparis* รายงานว่า ผนังอับเรณูขณะที่ยังอ่อนอยู่ประกอบด้วย ชั้นเซลล์ผิว 1 ชั้น ชั้นเซลล์เอนโดทีเซียม 1 ชั้น ชั้นกลาง 3 ชั้น และชั้นทาพีตัมที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีนิวเคลียส 1 อัน เมื่ออับเรณูโตเต็มที่เซลล์ของชั้นใต้เซลล์ผิว 2-3 ชั้น เกิดการสร้าง และสะสมไขให้หนาขึ้น ผนังอับเรณูมีลักษณะหนา

จารุภัทร (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) รายงานว่า เนื้อเยื่อของลำต้นมีระบบเนื้อเยื่อในลักษณะเดียวกันกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป แต่เนื้อเยื่อพื้นในชั้นคอร์เทกซ์ที่อยู่ในบริเวณรอบนอกเป็นเซลล์สเคลอเรงคิมา และเกิดในแนวรัศมีเห็นเป็นขอบเขตที่ชัดเจน ส่วนเนื้อเยื่อพื้นด้านในของคอร์เทกซ์เป็นเซลล์พาเรงคิมาที่มีรูปร่างกลมหรือหลายเหลี่ยม เซลล์ด้านในมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ด้านนอก และปรากฏช่องว่างระหว่างเซลล์ในบางบริเวณ มีมัดท่อลำเลียงซึ่งเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง และที่เนื้อเยื่อผิวพบปากใบด้วย

จารุวรรณ (2550) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของเอื้องน้ำต้น (*Calanthe cardioglossa* Schltr.) ที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ 2 แหล่ง รายงานว่า เนื้อเยื่อของใบพืชจากทั้งสองแหล่งมีระบบเนื้อเยื่อในลักษณะเดียวกันกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป แต่มีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยที่เนื้อเยื่อชั้นผิวของต้นที่มาจากแหล่งกระจายพันธุ์ที่ 1 มีรูปร่างค่อนข้างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า แคบและยาว ส่วนใบของต้นที่มาจากแหล่งกระจายพันธุ์ที่ 2 มีลักษณะสี่เหลี่ยมหรือหลายเหลี่ยมหรือค่อนข้างกลม ขนาดไม่เท่ากัน ใบของต้นพืชทั้งสองแหล่งมีเซลล์คุมลักษณะเป็นรูปไต พบปากใบทั้ง 2 ด้านของผิวใบ ในชั้นมีโซฟิลล์ไม่แบ่งเป็นชั้นแพลิเซดและสปอนจี แต่เป็นเซลล์พาเรงคิมาที่มีรูปร่างกลมหรือกลมรี มีขนาดไม่สม่ำเสมอ เรียงตัวกันแน่น มีช่องว่างระหว่างเซลล์ในบางบริเวณ ในเซลล์มีโซฟิลล์บางเซลล์พบว่ามีผลึกรูปเข็ม มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านผิวใบด้านบนใบ และเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านผิวใบด้านใต้ใบ

ศลิษา (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของว่านจูงนาง 2 ชนิด คือ *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ ราก มีระบบเนื้อเยื่อประกอบด้วยชั้นของเนื้อเยื่อผิวหนา 4-9 ชั้น เนื้อเยื่อใต้ชั้นผิว 1 ชั้น ชั้นคอร์เทกซ์เป็นเซลล์พาเรงคิมามีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือหลายเหลี่ยม มีหลายขนาด ผนังเซลล์บาง เซลล์เรียงตัวค่อนข้างแน่น มีช่องว่างระหว่างเซลล์ เซลล์ในชั้นเนื้อเยื่อชั้นในสุดของคอร์เทกซ์มีรูปร่างไม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แน่นอน เป็นเซลล์หลายเหลี่ยมที่มีขนาดต่างกัน และสตีลที่มีชั้นของเพอริไซเคิล มัดท่อลำเลียงมีการเรียงตัวของเซลล์ไซเล็มสลับกับเซลล์โฟลเอ็มแบบรัศมี

3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ

3.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อชิ้นส่วนที่นำไปเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้ คือ การนำเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของต้นกล้วยไม้ไปเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหาร และสารประกอบที่จำเป็นต่อการชักนำให้เกิดรากและต้นกล้วยไม้ต่างสกุลกัน หรือต่างชนิดกันมีความยากง่ายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่างกัน มีการนำสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินมาใช้ในการเพิ่มจำนวนต้น เนื่องจากไซโตไคนินเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลทำให้พืชมีการแบ่งเซลล์ และช่วยในการเจริญเติบโตทางลำต้น และเนื้อเยื่อเจริญ ตาข้าง พร้อมทั้งชักนำการเพิ่มจำนวนยอดของพืช

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากที่เมล็ดงอกแล้วนั้น ต้นอ่อนกล้วยไม้มีความต้องการทางด้านอาหารมากขึ้นจึงจำเป็นต้องให้สารอาหารที่ต่างกันแก่กล้วยไม้แต่ละชนิด สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ เช่น ออกซิน และไซโตไคนิน กลุ่มของออกซินที่นิยมใช้คือ indole-3-acetic acid (IAA), indole-butyric acid (IBA), naphthaleneacetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 2,4,5- trichlorohenoxyacetic acid (2,4,5-T) ส่วนในกลุ่มไซโตไคนินที่นิยมใช้ คือ N_6-Benzyladine (BA), kinetin, zeatin และ N_6-isopentenyl adenine (2iP) ซึ่งสมดุลของออกซินและไซโตไคนินมีผลต่อการสร้างอวัยวะและมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการกำเนิดอวัยวะ เช่น การเกิดเป็นแคลลัส ราก หรือ ยอด สัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดที่ต้องการขึ้นกับระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อและชนิดพืช (รังสฤษฎ์, 2540) ผลของออกซินทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์ และไซโตไคนินกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด (ดนัย, 2539)

Polonca *et al*. (2004) ศึกษาผลของส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีต่อการชักนำการเกิดอวัยวะใหม่เพื่อการเพิ่มปริมาณของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* รายงานว่าอาหารที่มีส่วนประกอบของ BAP เข้มข้น 4.41 มิลลิกรัมต่อลิตร(มก/ล) และ NAA 1 มก/ล ทำให้มีการสร้างยอดน้อยลง แต่ยอดเพิ่มความยาวมากขึ้น

Roy and Banerjee (2003) ศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนซึ่งเกิดจากปลายยอดของ *Dendrobium fibriatum* Lindl. var. *oculatum* Hk. f. ในอาหารสูตร Knudson's C ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 % (v/v), ไนอะซิน 0.5 มก/ล, ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ 0.5 มล/ล, ไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์ 0.1 มล/ล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ร่วมกับ การเติม BAP และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ต้นอ่อนเหล่านั้นสร้างก้อนแคลลัสเอ็มบริโอที่มีลักษณะเป็นก้อนเนื้อเยื่อแน่นและใส อาหารที่มีการเติม NAA 0.5 มล/ล ร่วมกับ BAP 1.0 มล/ล เหมาะกับการเกิดแคลลัสมากที่สุด ต่อมาเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าแคลลัสเริ่มขยายขนาดอย่างรวดเร็ว และพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์ม ซึ่งโปรโตคอร์มเกิดรากได้ดีในอาหารสูตรนี้เช่นกันทำให้สามารถรักษาสภาพไว้ได้นาน 2 ปีหรือนานกว่า

สุจรรยา (2548) ศึกษาการใช้ไซโตไคนิน เพื่อชักนำให้กล้วยไม้ชนิด *Coelogyne tenasserimensis* Scidenf. แตกยอดและงอกราก รายงานว่า TDZ เข้มข้น 5 µM สามารถเพิ่มจำนวนยอดและราก ส่วนการใช้ BA เข้มข้น 5 µM ให้ผลดีในการชักนำการเกิดใบใหม่

ภาณีรัตน์ (2539) ศึกษากล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor*) รายงานว่า TDZ เข้มข้น 5 µM สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดี Nayak *et al*. (1997) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบของ *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter McCann ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (1962) ที่เพิ่ม BA, KN หรือ TDZ พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่เพิ่ม TDZ เข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 2 มก/ล และ BA 0.5 มก/ล ได้ยอดที่ยืดตัวดี NAA ที่ความเข้มข้นต่ำไม่มีผลต่อการเกิดยอดแต่ที่ความเข้มข้นสูงยับยั้งการเกิดยอด IBA เข้มข้น 1.0 มก/ล ชักนำให้เกิดราก

Jheng *et al*. (2006) ทดลองการชักนำก้อนแคลลัสเอ็มบริโอ จากเนื้อเยื่อปลายยอดของ *Oncidium* “Gower Ramsey” พบว่าเนื้อเยื่อนี้สามารถรักษาไว้ได้นานถึง 5 ปีโดยไม่เสียสภาพ การให้ 2,4-D ร่วมกับ TDZ พบว่าสามารถทำให้แคลลัสเปลี่ยนจากก้อนกลม สีเหลืองไปเป็นก้อนที่หลวมลง ใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลมอลโตสและทรีฮาโลสชักนำให้เกิด protocorm-like-bodies (PLBs) จากก้อนเอ็มบริโอได้สำเร็จ

Nuraini and Shaib (1992) ชักนำการเกิดต้นอ่อนได้สำเร็จจากการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกของ *Oncidium* ในอาหารสูตร VW(1949) และ เพาะเลี้ยง *Dendrobium* และ *Phalaenopsis*w ได้สำเร็จ ในอาหารสูตร MS (1962) ที่เพิ่ม BAP ลงในอาหาร

Ernst (1994) รายงานว่า ประสิทธิภาพของการเกิดยอดของ *Phalaenopsis* หรือ *Doritaenopsis* จะเพิ่มขึ้น เมื่ออาหารมี thidiazuron เข้มข้น 0.23-11.35 ไมโครโมลาร์ ซึ่งทำให้เกิด PLBs และยอดจำนวนมาก และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ TDZ จะทำให้ยอดและรากลดลง นอกจากนั้นยังทำให้จำนวนของโปรโตคอร์มของ *Phalaenopsis* ลดลงเมื่อใช้ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.23-1.14 ไมโครโมลาร์

Nguyen (2007) รายงานว่าการขยายพันธุ์ *Dendrobium* โดยวิธีตัดส่วนของลำต้นตามขวางแล้วนำมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อบนอาหาร MS ที่มีส่วนประกอบของ BA และ NAA พบว่า มีการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สร้าง PLBs เกิดขึ้นบนแต่ละชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงมีเปอร์เซ็นต์ความรอด 44.3-100 % เกิดยอดใหม่ จากต้นที่มีความยาว 5 มิลลิเมตรได้ เมื่อเติม BA 1 มล/ล และ NAA 1 มล/ล

Mohapatra and Rout (2004) ศึกษาผลของไซโตไคนิน และออกซินต่อการเกิดยอดจากเนื้อเยื่อเจริญของตาข้างกล้วยไม้ดิน *Geoderum purpureum* ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารที่มีการเติม benzyladenine 3.0 มล/ล และ IAA 1.0 มล/ล ทำให้มีการเกิดยอดสูงที่สุด มีการยืดของยอดและราก ในอาหาร 1/2 MS ที่เติม IAA หรือ IBA ร่วมกับ น้ำตาล 2 % และที่เติม IAA 0.5 มล/ล จะทำให้การเกิดรากสูงที่สุด และเมื่อทำการย้ายต้นออกปลูก พบว่ามีการรอดชีวิต 80 %

Tokuhara and Mii (2001) ศึกษาการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ และ การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยจากปลายก้านช่อดอกของ *Phalaenopsis* บนอาหารสูตร New Dogashima Medium (NDM) โดยมีการเติม NAA 0.5 ไมโครโมล, BA 4.4 ไมโครโมล และ ซูโครส 29.2 มิลลิโมล พบว่ามีการเกิดเอ็มบริโอแคลลัส 75 % จากเนื้อเยื่อก้านช่อดอกเมื่อเลี้ยงนาน 7 เดือน

Chen and Chang (1999) ศึกษาการเกิดเอ็มบริโอจากเนื้อเยื่อใบของออนซิเดียมพันธุ์ Gower Ramsey พบว่า เกิดกลุ่มของเนื้อเยื่อเอ็มบริโอจากเมล็ดจากเซลล์ผิวและเซลล์มีโซฟิลล์ของเนื้อเยื่อใบ และตรงบริเวณบาดแผลของชิ้นส่วนใบ ซึ่งเจริญไปเป็นแคลลัสในเวลา 1 เดือน ต่อมาเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Gelrite ™-gelled ½ MS ที่เติม TDZ เข้มข้น (0.3-1.0 มก/ล)

Chen and Chang (2001) ศึกษาผลของออกซิน 4 ชนิด คือ IAA, IBA, NAA และ 2,4-D และไซโตไคนิน 5 ชนิด คือ 2iP, zeatin, kinetin, BA และ TDZ ที่มีผลต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อใบของ ออนซิเดียม “Gower Ramsey” พบว่าการเกิดต้นอ่อนเกิดได้จากอวัยวะหลายส่วน คือ 1) เกิดจากเนื้อเยื่อปลายใบ 40 % 2) เกิดจาก ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อที่ใกล้กับเส้นกลางใบ 20 % และ 3) เกิดจากผิวใบ 5 % แต่ไม่เกิดจากเนื้อเยื่อส่วนที่ห่างจากเส้นกลางใบ และรายงานว่าออกซินทั้ง 4 ชนิด มีผลในการยับยั้งการเจริญของเนื้อเยื่อในขณะที่ไซโตไคนินช่วยส่งเสริม

Chung *et al*. (2005) ศึกษาผลของออกซิน 4 ชนิด ได้แก่ 2,4-D, IAA, IBA และ NAA และไซโตไคนิน 5 ชนิด คือ 2iP, BA, kinetin, TDZ และ zeatin ในการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอโดยตรงจากเนื้อเยื่อใบของ *Dendrobium* cv. Chiangmai Pink โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ในสภาพที่มีแสงหรือสภาพมืด รายงานว่าออกซินมีผลในการยับยั้งการชักนำแต่ไซโตไคนินให้ผลในการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอจากเนื้อเยื่อใบ และการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่มีแสงช่วยส่งเสริมการเกิดเอ็มบริโอจากเนื้อเยื่อได้ดีเท่าในสภาพมืด อาหารที่มีการเติม TDZ 18.16 ไมโครโมล ในสภาพที่มีแสงให้ผลในการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอสูงที่สุด

Chung *et al.* (2005) รายงานการพัฒนาเนื้อเยื่อเอ็มบริโอที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบของ *Dendrobium* cv. Chiangmai Pink TDZ (0.3, 1.0 และ 3.0 $mgdm^{-3}$) ช่วยชักนำให้เกิดเอ็มบริโอจาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื้อเยื่อปลายใบ เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 60 วัน และ TDZ ที่ความเข้มข้น 1.0 $mgdm^{-3}$ เป็นกรรมวิธีที่ดีที่สุด เนื้อเยื่อเอ็มบริโอมักเกิดจากส่วนของเนื้อเยื่อใบตรงบริเวณรอยตัดหรือปลายใบและสภาพที่มีแสงชักนำได้ดีกว่าสภาพมืด การใช้ NAA 0, 0.3, 1.0 และ 3.0 $mgdm^{-3}$ สามารถเพิ่มอัตราการเกิดเอ็มบริโอได้ และเอ็มบริโอสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ เมื่อเลี้ยงนาน 8 เดือน

Kuo *et al*. (2005) ศึกษาผลของ 2,4-D เข้มข้น 0.45, 2.26 และ 4.52 ไมโครโมล, kinetin เข้มข้น 2.32, 4.65 และ 13.95 ไมโครโมล , BA เข้มข้น 2.22, 4.44 และ 13.32 ไมโครโมล และ TDZ เข้มข้น 2.27, 4.54 และ 13.62 ไมโครโมล ในการชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อเอ็มบริโอจากใบของ *Phalaenopsis* พันธุ์ "Little Steve" พบว่า kinetin ไม่มีผลในการชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดเอ็มบริโอ ส่วน 2,4-D ยับยั้งการเกิดเอ็มบริโอแต่ TDZ สามารถชักนำให้เกิดเอ็มบริโอได้ โดยที่เนื้อเยื่อบริเวณที่ใกล้กับเส้นกลางใบสามารถชักนำให้เกิดเอ็มบริโอได้มากกว่าส่วนอื่น ๆ และเมื่อย้ายเอ็มบริโอที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 3-4 เดือน พบว่าเกิดใบ 3-4 ใบ แต่มีรากเป็นจำนวนมาก

Sheelavanthmatha *et al*. (2005) กล่าวว่าประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวนต้นของ *Aerdies crispum* L. โดยการใช้โปรโตคอร์ม และเนื้อเยื่อใบเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมไซโตไคนิน คือ BA, TDZ และ kinetin ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 ไมโครโมล ร่วมกับออกซิน คือ NAA และ IAAเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 2.0 และ 5.0 ไมโครโมล เติมน้ำมะพร้าว 5, 10 หรือ 15 % พบว่าอาหารที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 ไมโครโมล เหมาะสมกับการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม และสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อใบพัฒนาไปเป็น PLBs และพบว่า ต้นที่ได้จากการเลี้ยงมีอัตราการรอดชีวิตหลังจากย้ายปลูกสูงถึง 85 %

3.2 การเพาะเลี้ยงอับเรณู

อับเรณู เป็นอวัยวะที่สามารถนำไปเพาะเลี้ยงได้ ถึงแม้ว่าจะสำเร็จยาก แต่ถ้าทำได้จะมีโอกาสได้ต้นอ่อนที่เป็นแฮพพลอยด์ ปัจจุบันมีต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเรณูมากกว่า 200 ชนิด ระยะการเจริญของเรณูซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการชักนำให้เกิดต้นพืชแฮพพลอยด์นั้นแตกต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์พืช เช่น ในยาสูบระยะที่เหมาะสมที่สุดคือ ระยะแรกของ meiotic II ส่วนพืชในสกุล *Brassica* คือ ระยะก่อน uninucleate ในการเพาะเลี้ยงอับเรณูของพืชบางชนิด การบ่มเพาะอับเรณูที่เลี้ยงไว้ในอุณหภูมิต่างระดับมีผลในการช่วยชักนำให้เกิดต้นพืชแฮพพลอยด์ได้มากขึ้น (รังสฤษฎ์, 2540)

Huang (1986) รายงานว่า การบ่มเพาะอับเรณูของสาลี่ด้วยอุณหภูมิสูงที่ 30 °ซ และ 35°ซ นาน 8 วัน ก่อนนำไปเลี้ยงที่ 25 °ซ ให้ผลในการเพิ่มปริมาณแคลลัสและต้นอ่อนที่มีสีเขียวได้มากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วน Koleva-Gudeva *et al.* (2006) กล่าวว่า การที่จะได้พืชที่เป็น androgenic ขึ้นอยู่กับจีโนไทป์ รวมทั้ง แสง อาหารและ สารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเฉพาะออกซินซึ่ง ถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญ และจากการทดลองเพาะเลี้ยงอับเรณูพริกไทยโดยเพาะเลี้ยงไว้ใน 3 สภาพ คือ เพาะเลี้ยงในที่มืด บ่มที่อุณหภูมิ 7 ˚ซ เป็นเวลา 7 วัน เพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25˚ซ เป็นเวลา 7 วัน และเพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 35 ˚ซ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 25˚ซ ให้แสง 12 ชั่วโมงนาน 4 สัปดาห์ พบว่า สภาพอุณหภูมิ 7 ˚ซ และ 25 ˚ซ ชักนำให้เกิดแคลลัส และสภาพอุณหภูมิ 35 ˚ซ ชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ

เฉลิมศรี และคณะ (2549) รายงานการเพาะเลี้ยงอับเรณูของไม้ดอกชนิดต่าง ๆ ว่า อับเรณูที่อยู่ในระยะ tetrad และ uninucleate เหมาะสำหรับการนำไปชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ และพบว่าไม้ดอกที่ทำได้สำเร็จคือ ดาวเรือง ดาวเรืองฝรั่งเศส ผีเสื้อ และ พิทูเนียสามารถชักนำให้เกิดต้นได้

ประศาสตร์ (2538) รายงานว่าการนำอับเรณูไปบ่มโดยใช้อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมก่อนการเพาะเลี้ยงอับเรณู จะช่วยให้การเจริญและการพัฒนาของเรณูดีขึ้น

Chen *et al*. (2005) ศึกษาการเพาะเลี้ยงอับเรณูของ *Narcissus tazetta* L. var. Chinensis Roem ในระยะ ก่อน uinucleate ในอาหาร สูตร MS ที่ใส่ 2,4-D เข้มข้น 0.5-2.0 มก/ล ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5-2.0 มก/ล บ่มไว้ในที่มืด พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และ มีการเจริญและพัฒนาของต้นพืชค่อนข้างสูง

Feng and Wolyn (1991) รายงานการผลิตต้นแฮพลอยด์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออับเรณูในหน่อไม้ฝรั่ง เริ่มจากคัดเลือกดอกของหน่อไม้ฝรั่งจากต้นพันธุ์ที่มีรหัส G203 ในแปลงเพาะเลี้ยง แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ˚ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลี้ยงอับเรณูในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย casein hydrolysate 500 มล/ล glutamine 800 มล/ล NAA 2 มล/ล BA 1 มล/ล Sucrose 5% เลี้ยงในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 32˚ซ เป็นระยะเวลา 3-4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เมื่อเกิดแคลลัสแล้วย้ายไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ˚ซ โดยเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสงเป็นระยะเวลา 3-4 สัปดาห์ จากนั้นเปลี่ยนสูตรอาหารเพื่อให้แคลลัสเกิดการพัฒนาไปเป็นเซลล์เอมบริโอที่เจริญเต็มที่ โดยใช้อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย ซูโครส 6 % NAA 0.1 มล/ล kinetin 0.1 มล/ล และ ancymidol 0.65 มล/ล เลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเจริญเติบโตมากกว่า 50 % เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี GA_3 ร่วมด้วย ซึ่งอับเรณูที่มีไมโครสปอร์ในระยะปลาย uninucleate นั้นมีการพัฒนาเป็นแคลลัสรวมและมีการชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด

Pongsupasamit *et al*. (2001) เพาะเลี้ยงอับเรณู ที่มีการแบ่งเซลล์ของเรณูในระยะ uninucleate ของถั่งลิสงจำนวน 6 พันธุ์ในอาหารวุ้นที่แตกต่างกัน 4 สูตร พบว่าอาหารทั้ง 4 สูตรสามารถชักนำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ให้เกิดแคลลัสได้ไม่แตกต่างกัน และถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 60-4 มีการตอบสนองได้ดีกว่าอีก 5 พันธุ์ เมื่อย้ายแคลลัสของทั้ง 6 พันธุ์ไปเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นชุดที่สองที่แตกต่างกันจำนวน 5 สูตร เพื่อชักนำให้เกิดยอดพบว่า อาหารสูตร N_6 + 2 mg/l IAA + 2 mg/l Kinetin + 2 mg/l GA_3 สามารถชักนำแคลลัสของถั่วลิสงจำนวน 3 พันธุ์ให้เกิดยอดได้ 2 %

Tsay and Su (1985) เลี้ยงอับเรณูของมะละกอในที่มืดสำเร็จโดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตร ½ strength MS salts ที่เพิ่ม BA 1 มก/ล NAA 2 มก/ล และน้ำตาล 6% Feng and Wolyn (1991) เพาะเลี้ยงอับเรณูหน่อไม้ฝรั่งในอาหารสูตร MS ที่เพิ่ม BA 1 มก/ล และ NAA 2 มก/ล และน้ำตาลร้อยละ 5 ที่ 32 ˚ซ ในที่มืดนาน 3-4 สัปดาห์พบว่าเกิดแคลลัสได้

Phippen and Ockendon (2004) รายงานว่าในการเพาะเลี้ยงอับเรณูกะหล่ำดอกในสภาพปลอดเชื้อนั้น สามารถสร้างเอ็มบริโอจากอับเรณูได้ โดยได้เอ็มบริโอเฉลี่ย 82 อัน จากอับเรณู 100 อันและเมื่อเปรียบเทียบสภาพอาหารเลี้ยงระหว่างอาหารแข็ง และอาหารเหลวพบว่า การเลี้ยงอับเรณูบนอาหารแข็ง เกิดเอ็มบริโอได้ดีกว่าเลี้ยงในอาหารเหลว และถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ 2,4-D จาก 0.1 มก/ล เป็น 0.3 มก/ล จะช่วยทำให้การสร้างเอ็มบริโอเกิดมากตามไปด้วย และเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าเมื่อเพาะในอาหารแข็งที่มี 2,4-D เข้มข้น 0.3 มก/ล

Radojevic *et al*. (2000) รายงานการเพาะเลี้ยงอับเรณูของ horse chestnut ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้อาหารวุ้นสูตร MS ที่มีส่วนประกอบของ 2,4-D เข้มข้น 1.0 มก/ล และ 6-furfurylaminopurine เข้มข้น 1.0 มก/ล พบว่าเกิดเอ็มบริโอได้

Zhoa *et al*. (2006) นำอับเรณูของ *Echinacea purpurea* L. มาเพาะเลี้ยงในอาหาร N_6 basal medium เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสมากกว่าอาหารสูตร Murashige and Skoog ที่มีส่วนประกอบของ BA ที่ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมล ร่วมกับ (NAA) ที่ความเข้มข้น 0.054 ไมโครโมล และรองลงมาได้แก่อาหารที่มีส่วนประกอบของ 2,4-D เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 4.52 ไมโครโมล อัตราการเกิดแคลลัสพบว่าเกิดได้มากถึง 85.8 %

3.3 การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

กล้วยไม้แต่ละชนิดมีการดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อม และระบบนิเวศน์ที่แตกต่างกัน การขยายพันธุ์ในสภาพธรรมชาติต้องอาศัยความสัมพันธ์กับเชื้อราช่วยให้เมล็ดงอก เมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็ก (Rasmussen, 1995) มีอาหารสะสมอยู่น้อยอาจจะไม่เพียงพอต่อการงอก (ครรชิต, 2541) การขยายพันธุ์จากเมล็ดเป็นวิธีการขยายพันธุ์ในสภาพธรรมชาติของกล้วยไม้โดยทั่วไป (Cribb, 1997) Croix and Croix (1997) กล่าวว่า การเจริญของเมล็ดกล้วยไม้ใช้เวลาแตกต่างกัน บางชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใช้เวลา 1-2 สัปดาห์หลังจากการถ่ายเรณู แต่บางชนิด เช่น สกุล *Cypripedium* ใช้เวลา 13 สัปดาห์ เกษนันท์ และ พิมพ์ใจ (2539) พบว่า อายุที่เหมาะสมของฝักกล้วยไม้รองเท้านารีฝาหอยในการนำไปเพาะเมล็ดอยู่ระหว่าง 18-28 สัปดาห์

จิตราพรรณ (2539) รายงานว่า เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกและเจริญเติบโตบนอาหารเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้ทั้งบนอาหารแข็งและในอาหารเหลวโดยที่การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแตกต่างกันไปตามชนิดของกล้วยไม้ เมล็ดกล้วยไม้ดินส่วนใหญ่เจริญเป็นโปรโตคอร์มในอาหารเหลวได้เร็วกว่าและมากกว่า

Henrich *et al.* (1981) ศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้เมล็ดกล้วยไม้ดิน 29 ชนิด จาก 15 สกุล มาฟอกฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 0.5% คลอร็อกซ์ ล้างและเพาะในอาหารซึ่งเป็นอาหารกึ่งแข็งที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอโดยเฉพาะ และเติมธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง น้ำตาล กรดอะมิโน และวิตามิน แล้วนำไปเลี้ยงในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 25°ซ พบว่า กล้วยไม้ 16 ชนิด จาก 9 สกุล มีการงอกและพัฒนาเป็นต้นได้ แต่อีก 13 ชนิด จาก 10 สกุล ไม่งอก

ธีรพล (2535) ศึกษาอายุฝักที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor* Lindl.) โดยเพาะเมล็ดจากฝักอายุ 10, 12, 14, 16,18, 20, 22, 24 และ 28 สัปดาห์หลังการผสมเกสร ในอาหารเหลวสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง พบว่าเมล็ดสามารถงอกได้ในอาหารเหลวเมื่อฝักมีอายุตั้งแต่ 14 ถึง 28 สัปดาห์หลังผสมเกสร โดยเมล็ดจากฝักอายุ 18 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด และให้โปรโตคอร์ม ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ส่วนรองเท้านารีฝาหอย (*P. bellatulum* Rchb. F.) พบว่าอายุฝักที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 18-28 สัปดาห์หลังผสมเกสร โดยเมล็ดมีความสมบูรณ์มากกว่า 60 % ความสมบูรณ์ของเมล็ดเพิ่มขึ้นตามอายุฝักที่มากขึ้น เมื่อเพาะในอาหารเหลวสูตร VW (1949) ดัดแปลง เมล็ดเริ่มงอกตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะ และเมื่อเพาะนาน 5-7 สัปดาห์เมล็ดงอกมากกว่า 75 %

Mei-Zi *et al.* (no date) นำเมล็ดอ่อนของ *Liparis makinoana* มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้อาหารแข็งสูตร ½ MS และ ½ B5 พบว่ามีโปรโตคอร์มเกิดขึ้น และได้ rhizoid เป็นจำนวนมาก ส่วนการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร H และ KC พบว่าไม่ได้ผล และเมื่อนำเมล็ดอ่อนของ *Liparis nervosa* มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตร H, KC, MS และ B5 พบว่ามีการพัฒนาของโปรโตคอร์มเกิดขึ้น เมล็ดของ *L. nervosa* เมื่อเพาะในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ และเติม GA_3 เข้มข้น 500 มล/ล และ thiourea 5 มล/ลในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ทำให้เมล็ดเหล่านั้นพัฒนาและงอกเร็วขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Masahide and Koji (2008) พบว่า เมื่อนำเมล็ดอ่อนของ *Cepharanthera falcate* ในระยะที่มีอายุ 65 วันหลังผสมเกสร เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกโดยเฉลี่ย 50% Timothy *et al.* (2007) นำเมล็ดของ *Eulophia alta* (Linnaeus) Fawcet มาเพาะเลี้ยงในอาหารในสภาพปลอดเชื้อ 18 สัปดาห์และนำเมล็ดที่งอกแล้วไปเพาะในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ช่วยให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้น 87.9 % และเปอร์เซ็นต์การเกิดโปรโตคอร์มเพิ่มขึ้น 32.7% ซึ่งได้ผลดีกว่าเมล็ดที่เพาะในอาหาร Knudson's C, Malmgren Modified Terrestrial Orchid Medium, ½-strength Murashige & Skoog หรือ Vacin & Went Modified Orchid Medium

Shimada *et al.* (2008) ทดลองเอาเมล็ดของ *Habenaria radiat* มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตร Hyponex เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า 12.6 %ของเมล็ดที่นำมาเพาะเลี้ยง สามารถเกิดโปรโตคอร์มและเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรกระตุ้นการสร้างหัวเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าสามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดหัว (tuber) ได้ประมาณ 90 % เขาใช้วิธีนี้กับเมล็ดที่เกิดจากต้นที่ขึ้นตามธรรมชาติ

Miyoshi and Mii (1995) ศึกษาผลของการให้ฮอร์โมนจากภายนอกต่อการเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดและการเกิดโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ *Calanthe discolor* ในสภาพปลอดเชื้อ โดยแช่เมล็ดกล้วยไม้ในสารละลายที่มีส่วนผสมของ NAA 1-100 มล/ล Ethephon 1,000 มล/ล หรือ BA 10 และ 100 มล/ล เป็นระยะเวลา 7 วัน ก่อนนำไปเพาะในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าทุกกรรมวิธีช่วยเพิ่มอัตราการเกิดโปรโตคอร์ม เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved