บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้สกุล *Brachycorythis* มีจำนวนทั้งหมด 33 ชนิด จัดอยู่ใน Subfamily Orchidoideae, Tribe Orchideae, Subtribe Orchidinae พืชสกุลนี้ถูกค้นพบโดย John Lindley ในปี ค. ศ. 1838 เป็นสกุลที่มีความใกล้เคียงกับสกุล *Orchis* และ *Dactylorhiza* ซึ่งพบในแถบยุโรป ชื่อสกุล *Brachycorythis* เป็นภาษากรีก จากคำว่า *brachys* (short) และ *korys* (helmet) ซึ่งเป็นลักษณะของดอก กล้วยไม้สกุลนี้พบในแถบแอฟริกาใต้ ชนิดที่พบในแถบแอฟริกามีความสวยงามและมี 2 ชนิดที่ได้มีการนำมาปลูกเลี้ยง แถบเอเชียเขตร้อนขึ้นในทุ่งหญ้า ป่าเขตร้อนและทุ่งหญ้า savanna (Croix and Croix, 1997 ; Linder and Kurzweil, 1999) และยังพบที่มาดากัสการ์ (Hawkes, 1965) ในประเทศไทยพบกล้วยไม้ชนิดนี้มีอยู่ในป่าจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย กำแพงเพชร น่าน เลย ตราด และสุราษฎร์ธานี ขึ้นได้ในบริเวณทั้งที่เป็นดินแฉะใกล้ลำธารและบริเวณที่เป็นดินทรายที่ค่อนข้างแห้ง การขึ้นมักพบกระจายกันบางที่พบเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 2-3 ต้น บางกลุ่มอาจมากถึง 10 ต้น (พิมพ์ใจ, 2544)

กล้วยไม้ดินพบขึ้นตามพื้นดินหรือซอกหินที่มีซากพืชสลายผุพังแทรกอยู่ โดยมากมีการเจริญเติบโตเป็นฤดูกาลโดยช่วงของการมีใบ ดอก และฝักเฉพาะฤดูกาลเท่านั้น อาจมีการสร้างหัวเทียม (pseudobulb) หรือเหง้า (rhizome) หรือส่วนสะสมอาหารใต้ดินซึ่งอาจเป็นส่วนของต้น (tuber) หรือส่วนของราก (tuberous root) อยู่ที่ระดับดินหรือใต้ดิน จัดเป็นพวกไม้ล้มลุกหลายฤดู (อบฉันท์, 2544) พืชสกุล *Brachycorythis* เป็นกล้วยไม้ดินที่มีหัว (tuberoid stem) อยู่ใต้ดิน เมื่อถึงฤดูฝนต้นจะงอกโผล่ออกจากพื้นดินขึ้นมา แล้วเจริญทางลำต้นเรื่อยไป โดยใช้อาหารที่สะสมไว้ภายในหัว จนกระทั่งเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม ดอกจะเริ่มทะยอยบานตั้งแต่ใกล้โคนจนถึงปลาย ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน ในระยะที่ดอกบานอาหารในหัวเก่าถูกใช้ไป หัวจะยุบลงซึ่งเป็นขณะเดียวกับที่โคนต้นส่วนที่ติดต่อกับหัวเดิม จะสร้างหัวใหญ่ขึ้นมาเป็นตุ่มเล็กๆ เมื่อดอกเริ่มโดยต้นยังคงมีชีวิตอยู่และเป็นระยะที่หัวใหม่เจริญ มีขนาดใหม่และมีอาหารสะสมมากขึ้น เมื่อหมดฤดูฝนต้นซึ่งให้ดอกแล้วจะยุบตาย คงเหลือแต่หัวฝังดินอยู่ ในฤดูหนาวและฤดูแล้งหัวจะพักตัว ต่อเมื่อฤดูฝนใหม่มาถึงต้นจะเจริญขึ้นมาเหนือดินและให้ดอกต่อไป (พิมพ์ใจ, 2544) ลำต้นมีลักษณะตั้งตรงเรียวผอมมีสีเขียวถึงสีม่วง ใบติดกับลำต้นไม่มีก้านใบใบออกเรียงตัวเวียนโดยตลอดต้น ลักษณะใบแบบ

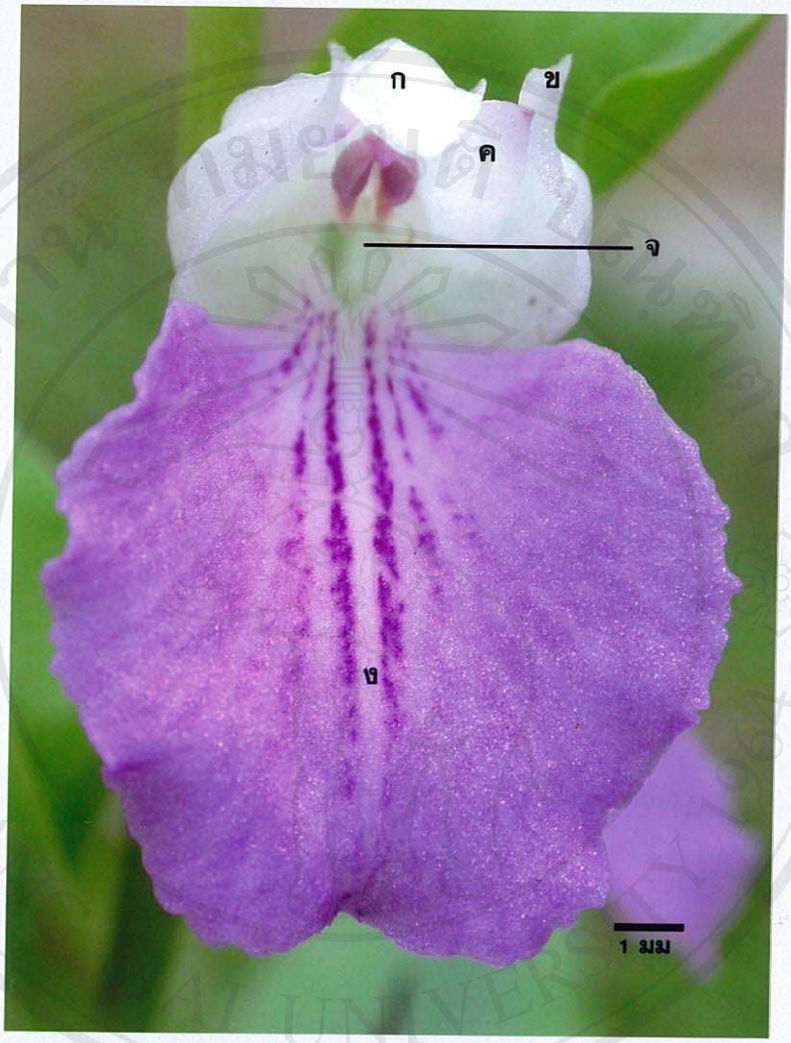
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใบหอก (lanceolate) ใบแหลม (acute) ถึงใบปลายแหลมเรียว (acuminate) ขอบใบเรียบ ลักษณะช่อดอกบางชนิดเป็นดอกเดี่ยวออกดอกตามซอกใบประดับ ใบประดับคล้ายกับใบจริงหรือใหญ่กว่าปกติ บางชนิดมีช่อดอกแบบ spike หรือ raceme มีดอกจำนวนมาก ดอกมีสีชมพูถึงสีม่วง บางชนิดสีขาว เหลือง เขียวอ่อน กลีบนอกลักษณะกลีบแบบหอก (lanceolate) โค้งเว้าเข้ากลางดอก กลีบในมีลักษณะ คล้ายกลีบนอกส่วนฐานเชื่อมกับ gynostemium กลีบปากใหญ่กว่ากลีบอื่นๆ ติดกับส่วนของ gynostemium และมีเดือย เกสรตัวผู้มี 2 pollinia เกสรตัวเมียเป็นแอ่งกลมขนาดเล็ก (ภาพ 1, 2 และภาพ 3) ซึ่งลักษณะโครงสร้างของดอกสกุลนี้มีความคล้ายกับสกุล *Neobolusia* ซึ่งมีความสัมพันธ์ที่ใกล้กัน (Linder and Kurzweil, 1999 ; Croix and Croix, 1997)

ภาพ 1 ลักษณะด้านข้างของดอกกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก (*Brachycorythis* sp.)

ก. กลีบนอกบน ข. กลีบนอกล่าง
ง. ปาก จ. เดือย
ฉ. ก้านดอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 2 ลักษณะด้านหน้าของดอกกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก (*Brachycorythis* sp.)

ก. กลีบนอกบน ข. กลีบนอกล่าง
ค. กลีบใน ง. ปาก
จ. เกสรตัวเมีย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 3 ลักษณะต้นกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก (*Brachycorythis* sp.) ขณะออกดอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมล็ดของกล้วยไม้มีลักษณะเฉพาะซึ่งเมล็ดมีขนาดเล็กและเบามากจึงเรียกว่า dust seed ภายในฝักกล้วยไม้มีเมล็ดจำนวนมากโดยในฝักกล้วยไม้บางชนิดมีเมล็ดมากถึง 4,000,000 เมล็ด เมล็ดมีความกว้าง 0.07 – 0.40 มิลลิเมตร (มม) และความยาว 0.11 – 1.97 มม มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 0.31 – 24 ไมโครกรัม (มคก) สำหรับเมล็ดกล้วยไม้เขตร้อนมีน้ำหนักน้อยกว่า 1 มคก (Arditti and Ghani, 2000 ; Sheena, 2000 ; Rassmussen, 1995) เมล็ดกล้วยไม้สกุล *Cypripedium* มีน้ำหนักประมาณ 1 – 2 มคก ซึ่ง *C. acaule* มีน้ำหนัก 1.9 มคก (Cribb, 1997) ภายในเมล็ดกล้วยไม้มีคัพภะที่ประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 100 – 200 เซลล์ หุ้มด้วยเปลือกหุ้มเมล็ด เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กจึงไม่มีอาหารสะสมหรือมีอาหารสะสมอยู่น้อย อาหารที่สะสมอยู่ในเมล็ดจะมีความเข้มข้นสูงโดยจะเป็นไขมัน โปรตีนหรือแป้ง จากความจำกัดของอาหารทำให้ในธรรมชาติเมล็ดกล้วยไม้งอกได้ยากและต้องอาศัยความสัมพันธ์กับเชื้อรา mycorrhiza เพื่อให้น้ำตาลและธาตุอาหารแก่เมล็ด (Cribb, 1997 ; Croix and Croix, 1997 ; Sheena, 2000; Rassmussen, 1995) การนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อเพื่อช่วยเพิ่มการงอก เมื่อทำการเพาะเมล็ดแล้วการแบ่งตัวของเซลล์จะเพิ่มขึ้นและดันให้หลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดเรียกว่าโปรโตคอร์ม (protocorm) ระยะเวลาที่ใช้ในการงอกนั้นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ โดยบางชนิดให้เวลาเป็นสัปดาห์ เป็นเดือนหรือในบางชนิดใช้เวลาเป็นปี ต่อมาจึงมีการพัฒนาเป็นใบและราก ในกล้วยไม้ดินความสัมพันธ์ระหว่างกล้วยไม้กับเชื้อรามีความสำคัญอย่างมากในระยะแรกของการเจริญในระยะที่เป็นโปรโตคอร์มซึ่งเป็นระยะที่ยังไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ ส่วนในกล้วยไม้อิงอาศัยโปรโตคอร์มที่มีสีเขียวทำให้สามารถสร้างอาหารเองได้ (Sheena, 2000)

เมล็ดกล้วยไม้ดิน *Caladenia arenicola* ในธรรมชาติจะงอกได้ต่อเมื่อมีความสัมพันธ์กับเชื้อราเท่านั้น โดยจำนวนเมล็ดทั้งหมดสามารถงอกและมีชีวิตอยู่รอดได้ในธรรมชาติน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อจึงสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกได้ (Batty *et al.*, 2001) Zettle and McInnis (1992) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ของกล้วยไม้ดิน *Platanthera integrilabia* (Correll) Luer ซึ่งมีแหล่งกำเนิดในอเมริกาเหนือและใกล้สูญพันธุ์โดยเพาะเมล็ดแบบอาศัยเชื้อรา 16 ชนิด เลี้ยงในอาหาร 2 ชนิดและการเก็บเมล็ด 3 แบบ พบว่า การเลี้ยงที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส และใช้เชื้อรา *Platanthera ciliaris* ทำให้มีการงอกสูงสุดคือ 73.1 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา 6 ชนิดช่วยให้ต้นอ่อนเจริญได้ดี ภายใต้สภาพโรงเรือนจากต้นอ่อน 213 ต้น มี 98 ต้นสามารถเจริญได้ดี ส่วนการเพาะ *Caladenia latifolia* และ *Diuris magnifica* โดยใช้วัสดุเพาะเป็นใบ *Allocasuarina fraseriana* และ เพอร์ไลท์ ในอัตราส่วน 1:1 และแบ่งการฆ่าเชื้อวัสดุเพาะเป็น 3 แบบ คือ ไม่มีการฆ่าเชื้อ ฆ่าเชื้อด้วยรังสี 7 Gy เป็นเวลา 14 ชั่วโมง และฆ่าเชื้อด้วยการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 70 อาศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้เชื้อที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อช่วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การงอกของเมล็ดกล้วยไม้คือ ไมคอร์ไรซ่า และ sterile red fungus (SRF) หรือใช้ทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน พบว่าหลังจากเพาะ 8 สัปดาห์เกิดโปรโตคอร์มและ 10 สัปดาห์หลังเพาะเกิดเป็นยอด วัสดุเพาะที่มีเชื้อ mycorrhiza ร่วมกับ SRF ทำให้ *C. latifolia* เกิดต้นอ่อน 84 ต้น และ *D. magnifica* เกิดต้นอ่อน 234 ต้นต่อภาชนะขนาด 270 มิลลิลิตร (มล) ส่วนในวัสดุเพาะที่ฆ่าเชื้อและมีไมคอร์ไรซ่า หลังจากเพาะ 20 สัปดาห์ต้นอ่อนที่ได้มีความสูงมากที่สุดคือ *C. latifolia* สูง 28 มม และ *D. magnifica* สูง 52 มม ส่วนในวัสดุเพาะชุดควบคุมที่ไม่มีไมคอร์ไรซ่า แต่มี SRF และวัสดุเพาะที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อที่มีไมคอร์ไรซ่า หรือ SRF หรือมีทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน ไม่พบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ (Quay *et al.*, 1995)

Croix and Croix (1997) กล่าวว่า การพัฒนาของเมล็ดเริ่มจากเมื่ออับเรณูตกลงบนยอดเกสรตัวเมีย และงอกท่อลงไปผสมกับไข่ในหลายวันต่อมาในบางชนิดใช้เวลาในการผสมหลังจากถ่ายละอองเรณู 1 – 2 สัปดาห์ แต่ในสกุล *Cypripedium* บางชนิดใช้เวลา 13 สัปดาห์ เวลาที่ใช้ในการผสมเกสรที่ต่างกันเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีผลต่อเนื่องไปถึงการแก่ของเมล็ด ซึ่งในกล้วยไม้แต่ละชนิดใช้เวลาต่างกัน คุณภาพของเมล็ดขึ้นอยู่กับปัจจัยระหว่างการถ่ายละอองเรณูและระหว่างที่เมล็ดพัฒนาโดยเฉพาะที่มาของอับเรณูมีความสำคัญอย่างมาก กล้วยไม้บางชนิดที่ได้รับการผสมภายในดอกเดียวกันทำให้ได้เมล็ดมีคุณภาพต่ำกว่าเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามดอก แต่ในกล้วยไม้บางชนิดที่มนุษย์ทำการผสมภายในดอกเดียวกันให้เมล็ดที่มีคุณภาพเหมือนกันกับเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามดอก ดังนั้นการนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อจำเป็นต้องให้ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการงอกทั้งในด้านปัจจัยที่ให้กับเมล็ดเช่น อาหารที่ใช้เพาะและสภาพแวดล้อมรวมทั้งปัจจัยทางด้านคุณภาพของเมล็ด เช่นเมล็ดที่นำมาเพาะต้องมีอายุที่เหมาะสมต่อการนำมาเพาะ ซึ่งในกล้วยไม้แต่ละชนิดมีอายุที่เหมาะสมต่อการนำมาเพาะแตกต่างกันไป เมล็ดกล้วยไม้สกุล *Cypripedium* แก่หลังจากได้รับการผสมเกสร 3 – 4 เดือน โดยเวลาที่ใช้ในการพัฒนาเมล็ดนั้นขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมด้วย มีรายงานว่า บางครั้งเมล็ดของ *Aerangis verdickii* แก่หลังจากได้รับการผสมเกสร 8 เดือน แต่บางครั้งหลังจากผสมเกสร 11 เดือนเมล็ดยังอ่อนอยู่ และกล้วยไม้ที่มีฝักขนาดเล็กเช่น *Microcoelia* ใช้เวลาในการพัฒนาเมล็ดน้อยกว่า *Ansellia africana*

กล้วยไม้บางสกุลเช่น *Dactylorhiza* และ *Orchis* สามารถงอกได้ในน้ำและมีชีวิตอยู่ได้หลายวันหรือหลายสัปดาห์โดยไม่ได้รับอาหารจากภายนอก (Rasmussen, 1995) แต่กล้วยไม้หลายชนิดต้องการอาหารจากภายนอก เช่น *Cypripedium reginae* ต้องการน้ำตาลในการงอกในสภาพปลอดเชื้อ ส่วน *Galeola septentrionalis* ต้องการธาตุอาหารในการงอกและกล้วยไม้อีกหลายชนิดต้องการฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินในการงอก (Croix and Croix, 1997)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การนำเมล็ดอ่อนของกล้วยไม้เขตร้อนหลายชนิดมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อสามารถงอกได้เร็วกว่าการนำเมล็ดแก่มาเพาะ แต่ในกล้วยไม้บางชนิดเช่น *Dactylorhiza majalis, D. maculata, D. incarnata* และ *Gymnadenia conopsea* เมล็ดแก่สามารถงอกได้ดีกว่าเมล็ดอ่อน ส่วนในสกุล *Platanthera* และ *Cypripedium calceolus* เมล็ดแก่ไม่สามารถงอกได้ ความแตกต่างในการตอบสนองนี้ขึ้นอยู่กับการพักตัวของเมล็ดซึ่งเป็นการพัฒนาการเจริญของเมล็ด (Borris, 1969) การเพาะฝักอ่อนของ *Cypripedium* ซึ่งเมล็ดยังไม่แก่และยังไม่มีการพัฒนาของสารยับยั้งการงอกซึ่งในธรรมชาติสารนี้จะช่วยให้เมล็ดมีชีวิตรอดในฤดูหนาว พบว่า การเพาะฝักอ่อนนั้นหากเก็บเมล็ดในระยะที่ถูกต้องจะช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้นโดยอายุที่เหมาะสมต่อการนำมาเพาะอยู่ระหว่าง 5 – 12 สัปดาห์หลังการผสมเกสรโดยขึ้นอยู่กับชนิดของ *Cypripedium* ด้วย (Cribb, 1997) Pierik (1987) ได้รายงานอายุฝักกล้วยไม้ที่เหมาะสมต่อการนำมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อหลายชนิด เช่น *Calanthe, Cattleya, Cymbidium, Cypripedium, Paphiopedilum, Phalaenopsis* และ *Vanda* มีอายุ 4, 11, 10, 3.5, 10, 6 และ 20 เดือนหลังจากผสมเกสรตามลำดับ ส่วนเมล็ดกล้วยไม้ *Vanda coerulea* Sharma (1998) รายงานว่าเมล็ดที่มีอายุ 270 วันหลังการผสมเกสรสามารถงอกได้ดีโดยมีการงอกสูงที่สุดคือร้อยละ 90.13 ส่วนเมล็ดที่มีอายุมากกว่า 270 วันหลังการผสมเกสรมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง

นอกจากปัจจัยทางด้านอายุแล้วปัจจัยที่ให้ระหว่างการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อก็มีความสำคัญเช่นกันซึ่งได้แก่ ปัจจัยทางด้านอุณหภูมิ *Dactylorhiza incarnata* เมื่อเพาะที่อุณหภูมิ 23 – 24 อาศาเซลเซียส สามารถงอกได้ภายใน 11 วัน และเมื่อเพาะที่อุณหภูมิ 20 – 21 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการงอก 20 วัน ส่วนการเพาะที่อุณหภูมิ 27 – 28 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 24 วัน (Eiberg, 1970) กล้วยไม้ส่วนมากสามารถงอกได้ที่อุณหภูมิ 22 – 25 องศาเซลเซียส แต่กล้วยไม้บางชนิดต้องได้รับอุณหภูมิต่ำจึงจะสามารถงอกได้ดีโดยส่วนมากเป็นกล้วยไม้เขตหนาวเช่น *Cypripedium* งอกได้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Stoutamire, 1974) ทำนองเดียวกัน Pierik (1987) กล่าวว่าเมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 20 – 25 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดต้องการอากาศเย็นจึงจะสามารถงอกได้ ส่วนปัจจัยทางด้านแสงมีรายงานที่แตกต่างกันไปโดยไม่ขึ้นอยู่กับสัญฐานและแหล่งกำเนิดของกล้วยไม้ เช่นกล้วยไม้ที่มีแหล่งกำเนิดในออสเตรเลียต้องการแสง 16 ชั่วโมง (Clements, 1982) และกล้วยไม้เขตร้อนต้องการแสงในการงอก (Thomale, 1957) ส่วนกล้วยไม้ดินบางชนิดที่เลี้ยงในที่มืดหรือ ความเข้มแสงต่ำมีผลยับยั้งการงอก (Harvais and Hadley, 1967) และกล้วยไม้เขตยุโรปเมื่อเลี้ยงในที่ความเข้มแสงต่ำไม่สามารถงอกได้ แต่ในกล้วยไม้บางชนิดเช่น *Cypripedium calceolus* var. parviflorum ที่เลี้ยงในที่มีแสงไม่สามารถงอกได้ (Riley, 1983) แต่ *Dactylorhiza majalis* งอกได้มากที่สุดเมื่อเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 14 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(Rasmussen *et al.*, 1990a) ส่วนในกล้วยไม้สกุล *Paphiopedilum* Peirik (1987) รายงานว่าเมล็ดต้องการความมืดในการงอกหลังจากเมล็ดงอกแล้วจึงค่อยๆ เพิ่มความเข้มแสงขึ้น

เนื่องจากในเมล็ดกล้วยไม้มีอาหารสะสมอยู่น้อยหรือไม่มีอาหารสะสมอยู่เลยอาหารที่จะใช้เพาะเมล็ดนั้นจึงต้องเป็นอาหารที่ให้สารจำเป็นแก่เมล็ดเพื่อช่วยในการงอก โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงนั้นประกอบด้วยหลายส่วนเช่น ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง น้ำตาล และสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ เป็นต้น Rasmussen (1995) รายงานว่า เมล็ดกล้วยไม้ดินต้องการธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นต่ำ แต่ในอาหารต้องเพิ่มสารอินทรีย์ เช่นวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต และมีแหล่งคาร์โบไฮเดรตจากน้ำตาล ซึ่งมีหลายรูปเช่น น้ำตาลกลูโคส หรือ น้ำตาลซูโครส ใน *Cypripedium reginae, Listera ovata, Goodyera rapens* และ *G. oblongifolia* งอกได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลซูโครส แต่ไม่สามารถงอกได้ในน้ำ ส่วน *Dactylorhiza majalis* สามารถงอกได้ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลและในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำ แต่หากในอาหารมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงก็จะจำกัดการงอกของเมล็ดได้ Mead and Bulard (1979) รายงานว่าเมล็ด *Orchis laxiflora* งอกได้ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 10 และ 20 กรัมต่อลิตร (ก/ล) แต่ที่ความเข้มข้น 80 ก/ล มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ด Peirik (1987) กล่าวว่า น้ำตาลเป็นแหล่งให้พลังงานที่สำคัญต่อการงอกของเมล็ดโดยเฉพาะอย่างยิ่งการงอกในที่มืด ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสใช้อยู่ในช่วงร้อยละ 1 – 3 ส่วนน้ำตาลกลูโคส หรือฟรุกโตสใช้ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 – 1.5 ส่วนธาตุอาหารก็มีความสำคัญต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เช่นกัน สูตรอาหารเลี้ยงที่นิยมใช้มีหลายสูตร เช่น Knudson C (1946), Vacin and Went (1949) (VW), Thomale GD1 (1957) เป็นต้น เมล็ดกล้วยไม้บางชนิดต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อช่วยการงอกเช่นเมล็ดของ *Dendrobium, Cymbidium, Cattleya* และ *Galeola* ต้องการ IBA และ NAA ช่วยในการงอก ส่วน *Aranda* ต้องการ kinetin และ *Vanda* ต้องการ GA_3 ในอาหารบางครั้งมีการเพิ่ม complex mixture ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโน โดยมากที่นิยมใช้ได้แก่ กล้วยบด น้ำมะพร้าว น้ำสกัดน้ำฝรั่ง peptone และ tryptone เป็นต้น กล้วยไม้สกุล *Paphiopedilum* ใช้ peptone และ tryptone เพื่อช่วยการงอก

กล้วยไม้แต่ละชนิดที่นำเมล็ดมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อมีความต้องการอาหารที่แตกต่างกันไป โดยเมล็ดแก่ของ *Cypripedium calceolus* var. pubescens เมื่อนำมาเลี้ยงด้วยอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่มีความเข้มข้น ¼ เท่า ร่วมกับน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร (มล/ล) พบว่า การเลี้ยงที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส กับการเลี้ยงที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ก่อนนำมาเลี้ยงที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เมล็ดงอกเพียงร้อยละ 45 เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารวุ้นที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ส่วนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ก่อนมีการงอกเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 90 ส่วนเมล็ดที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส สามารถงอกได้ถึงร้อยละ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

80 (Chu and Mudge, 1994) ส่วนเมล็ด *Vanda coerulea* Devi *et al.* (1998) รายงานว่า เมื่อเพาะด้วยอาหารเหลวสูตร VW สามารถงอกได้เร็วและมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าการเพาะด้วยอาหารวุ้นในอาหารสูตรเดียวกัน และการเติม NAA, BA หรือ kinetin ทำให้เกิดโปรโตคอร์มและต้นอ่อนที่ต่างกัน Nagaraju and Parthasarathy (1994) ทำการเพาะเมล็ด *Phaius tankervilliae* ด้วยอาหาร 3 สูตร คือ MS, Raghavan and Torrey และ VW พบว่าเมล็ดสามารถงอกและต้นอ่อนพัฒนาได้ดีบนอาหารสูตร VW ในการเลี้ยงโปรโตคอร์มเพื่อให้เกิด protocorm – like bodies (PLBs) พบว่า ในอาหารสูตร Heller สามารถเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มให้เกิดเป็น PLBs และพัฒนาต่อเป็นต้นอ่อนได้ ส่วน Bhuyan and Deka (1999) รายงานว่าเมล็ด *Phaius tankervilliae* Bl. สามารถงอกได้ดีบนอาหารสูตร Nitsch and Nitsch โดยใช้เวลา 170 วัน และงอกร้อยละ 70 แต่หากเพิ่มน้ำมะพร้าวหรือน้ำคั้นสับปะรดในปริมาณ 20 มล/ล การงอกเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 90 ต้นอ่อนสามารถพัฒนาได้ดีบนอาหารที่มีการเติมน้ำกล้วยสกัดในปริมาณ 20 มล/ล Vejsadova and Mala (1996) พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ดิน 8 ชนิดที่ใกล้สูญพันธุ์คือ *Orchis morio, Gymnadenia conopsea, Liparis loselii, Epipactis palustris, Dactylorhiza longebracteata, D. bohemica, D. incarnata* และ *D. maculata* ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย โซเดียมไฮโพคลอไรท์ 10 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับ แคลเซียม ไฮโพคลอไรท์ 7 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 18 – 22 องศาเซลเซียส พบว่า การงอกของเมล็ดแก่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในเมล็ดอ่อนพบการงอกใน *D. longebracteata, D. bohemica, D. incarnata,D. maculata* และ *O. morio* ส่วนในกล้วยไม้ดินของอเมริกาเหนือจำนวน 29 ชนิด Henrich *et al.* (1981) ได้ทำการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้โวเดียมไฮโพคลอไรท์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็ง (semi – solid) ที่มีธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง น้ำตาลซูโครส กรดอะมิโนและวิตามิน โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากเลี้ยงนาน 6 เดือน พบการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ 16 ชนิด ส่วนอีก 13 ชนิดไม่สามารถงอกได้ในอาหารชนิดเดียวกัน Szendrak and Read (2000) ได้ทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินเขตหนาวจำนวน 52 ชนิด ลงในอาหารสูตร Fast ดัดแปลง และเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 10 – 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ต่อจากนั้นจึงนำมาเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 – 26 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเมล็ดงอกโดยสังเกตจากเมื่อเปลือกหุ้มเมล็ดเปิดออกและพัฒนาสู่ระยะโปรโตคอร์ม พบว่าสามารถงอกได้ 25 ชนิดภายในเวลาไม่กี่สัปดาห์หลังจากเพาะ ส่วนในกล้วยไม้สกุลหวาย Devi *et al.* (1990) ได้เพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นอ่อนของหวาย 4 ชนิดคือ *Dendrobium moschatum, D. fameri, D. fimbriatum* var. oculatum และ *D. primulinum* ด้วยอาหาร 4 สูตร คือ VW, Burgeff, Nitsch and Nitsch และ Knudson C พบว่า *D. fameri* และ *D. primulinum* สามารถงอกได้ในอาหารสูตร VW โดยมีการงอกร้อยละ 50 – 60 และเมื่อเติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 ร่วมกับน้ำกล้วยสกัดร้อยละ 5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และน้ำคั้นสับปะรดร้อยละ 5 จะช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกและกระตุ้นการเกิดใบและราก ส่วน *D. moschatum* และ *D. fimbriatum* var. oculatum งอกได้ในอาหารของ Nitsch and Nitsch และเมื่อเติมน้ำมะพร้าวร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (มก/ล) กระตุ้นการเกิดใบและราก ส่วนใน *D. linleyi* Steud. Satinder and Sarma (1997) ทำการเพาะเมล็ดลงในอาหาร 3 สูตร คือ MS, Gamborg's B5 และ VW โดยอาหารทั้ง 3 สูตรมีการเพิ่ม NAA 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (มคก/มล) และ kinetin 0.1 มคก/มล พบว่าในอาหารทั้ง 3 สูตรใช้เวลาในการงอก 31, 37 และ 45 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 100, 98 และ 75 ตามลำดับ ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดนำมาเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่มี NAA (0.1, 1, 1.5 และ 2 มคก/มล) kinetin (0.1 และ 1 มคก/มล) และ IBA (0.1 และ 1 มคก/มล) พบว่าในอาหารที่มี NAA, kinetin และ IBA ที่ 2, 1 และ 1 มคก/มล ตามลำดับ และการเติมผงถ่านกำมันต์ร้อยละ 0.2 ต้นอ่อนมีการเจริญดีที่สุด Reddy *et al.* (1992) รายงานว่า เมล็ดของ *Cymbidium aloifolius, Dendrobium crepidatum, Epidendrum radicans* และ *Spathoglottis plicata* สามารถงอกได้บนอาหารสูตร MS และ Rosa and Laneri ดีกว่าอาหารสูตร Knudson และ VW และพบว่า ต้นอ่อนของ *S. plicata* เจริญได้ดีที่สุด ในอาหารสูตร MS ส่วนกล้วยไม้อีก 3 ชนิดต้นอ่อนเจริญได้ดีบนอาหารสูตร Rosa and Laneri ส่วน Lee *et al.* (1999) พบว่าต้นอ่อน *Sarcanthus scolopendrifolius* เจริญได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลร้อยละ 5 และวุ้นร้อยละ 0.7 ในอาหารที่มีผงถ่านกัมมันต์ 500 มก/ล โดยมีการเพิ่มขึ้นทางด้านจำนวนและน้ำหนักสดขณะที่การเจริญของรากลดลง แต่ในอาหารที่มี NAA 1 มก/ล ต้นอ่อนตายในเวลาต่อมา ส่วนในอาหารที่มี NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 10 มก/ล การเจริญของต้นอ่อนทางด้านจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวรากและน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น Ichihashi (1979) ได้ศึกษาการเจริญของกล้วยไม้บางชนิด ในอาหาร 6 ชนิด คือ Knudson, VW ดัดแปลง, Kano, Thompson และอาหารที่ออกแบบเพื่อเลี้ยง *Bletilla striata* อีก 2 ชนิด พบว่า *B. striata* เจริญได้ดีบนอาหาร Knudson ส่วน *Dendrobium nobile* และ *Laelia anceps* เจริญได้ดีบนอาหาร Kano ส่วนอาหารสูตร Thompson นั้น *Cymbidium* สามารถงอกและต้นอ่อนเจริญได้ดี แต่ต้นอ่อนของ *Cym.* cv. Sensation Purple Queen × *Cym. Orion* และ *Cym. pumilum* var. album เจริญได้อย่างช้าๆ เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสูตร Knudson แต่ต้นอ่อนของ *Paphiopedilum insigne* ไม่สามารถเจริญได้ดีในอาหารทุกสูตร ส่วน *Doritaenopsis* เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสูตร Thompson มีการเจริญที่ดีที่สุด

การนำเมล็ดอ่อนกล้วยไม้บางชนิดมาเพาะให้ผลดีกว่าการนำเมล็ดแก่มาเพาะเช่น เมล็ดแก่ของ *Ponerorchis graminifolia* Reichb. f. งอกได้ยาก แต่เมล็ดอ่อนที่มีอายุ 25 – 40 วันหลังการผสมเกสรสามารถงอกได้ถึงร้อยละ 40 (Nagashina, 1989) Leroux *et al.* (1995) นำเมล็ดของ *Cypripedium acule* ที่มีกลุ่มเซลล์ประมาณ 100 เซลล์ซึ่งภายในเซลล์มีไขมันและโปรตีนอยู่มาศึกษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การพัฒนาของเมล็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อโดยเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลกลูโคส 0 และ 19 กรัมต่อลิตร (ก/ล) พบว่า ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสสามารถเกิด การพัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม และต้นอ่อนได้ ส่วนเมล็ดอ่อนของ *Ipsea malabarica* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลวที่มี casein hydrolysate ร้อยละ 0.05 พบการงอกถึงร้อยละ 90 และโปรโตคอร์มมีการเจริญเป็น PLBs ภายใน 60 วัน ส่วนการเลี้ยงเพื่อให้เกิดเป็นหัวใช้ต้นอ่อนที่มีขนาด 0.5 – 1.0 เซนติเมตร (ซม) มาเลี้ยงด้วยอาหารที่มี BAP 0.5 มก/ล พบว่า ภายใน 90 วันสามารถเกิดยอดได้ถึงร้อยละ 72 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่มียอด 4 – 5 ซม นำมาชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารที่มีออกซินโดยรากที่ได้จากการชักนำของ NAA เป็นรากที่อ้วน และสั้นกว่ารากที่เกิดจากการชักนำของ IAA ที่ 1.0 มก/ล (Gangaprasad *et al.*, 1999) สำหรับเมล็ดแก่และเมล็ดอ่อนของ *Ophrys lutea* และ *O. fusca* งอกได้ดีในอาหารสูตร Curtis ดัดแปลงภายในเวลา 2 เดือน หลังจากนั้นย้ายลงอาหารสูตร OCM4 เพื่อให้เกิด PLBs และสามารถเกิดต้นอ่อนภายใน 2 เดือน หลังจากนั้นอีก 2 เดือนย้ายลงอาหาร OCM4 อีกครั้งเพื่อให้ได้ต้นที่มีขนาดสูงประมาณ 5 ซม และเกิดรากได้ สามารถย้ายออกปลูกได้ ส่วน *O. lutea* และ *O. speculum* สามารถชักนำให้เกิดหัวได้ในอาหารสูตร OCM ดัดแปลง (Barroso *et al.*, 1990) Pauw *et al.* (1979) รายงานผลของไซโตคินินต่อการงอกและการเจริญของโปรโตคอร์มของ *Cypripedium candidum* โดยใช้อาหารสูตร Norstong ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของไซโตคินินตั้งแต่ 0.1 – 1.6 มก/ล พบว่าเมล็ดอายุ 8 สัปดาห์หลังการผสมเกสร เมื่อเพาะในอาหารที่มี BA และ 2iP 0.8 มก/ล ส่งเสริมการงอกหลังจากเพาะนาน 4 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ โดยให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าอาหารที่ไม่มีหรือที่มี kinetin ส่วนการพัฒนาของโปรโตคอร์มเกิดขึ้นได้ในอาหารที่มีไซโตคินินทั้ง 3 ชนิด โดยอาหารที่มีความเข้มข้น BA สูงทำให้เกิดรากได้ช้า

การเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมีความต้องการปัจจัยที่ค่อนข้างคล้ายกับการเพาะเมล็ด แต่กล้วยไม้บางชนิดมีความต้องการที่มากกว่าการเพาะเมล็ดไม่ว่าความต้องการทางด้านสภาพแวดล้อมและอาหารที่ใช้เลี้ยง เกี่ยวกับความต้องการทางด้านสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้ออยู่ระหว่าง 20 – 25 องศาเซลเซียส โดยแต่ละพืชมีความแตกต่างกัน เช่น *Galeola septentrionalis* ต้องการอุณหภูมิ 22 – 24 องศาเซลเซียส (Nakamura, 1976) ส่วนต้นอ่อนของ *Dactylorhiza majalus* ต้องการอุณหภูมิ 23 – 24.5 องศาเซลเซียส (Rasmussen *et al.*, 1990b) ส่วนโปรโตคอร์มของ *D. purpurella* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส มีขนาดเล็กกว่าโปรโตคอร์มที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส (Harvais and Hadley, 1967) การเลี้ยงต้นอ่อนที่อุณหภูมิต่ำที่ 12 – 15 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ต้นอ่อนมีการเจริญช้าลง (Rasmussen *et al.*,1990b) แต่กล้วยไม้บางชนิด เช่น พวกที่มีแหล่งกำเนิดในเขตหนาวต้องการอุณหภูมิต่ำที่ 5 – 10 องศาเซลเซียสในช่วงเวลาหนึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของการเจริญ (Rasmussen, 1995) Nayak *et al.* (1997) รายงานว่า ได้เลี้ยงยอดของ *Cymbidium aloifolium*, *Dendrobium aphyllum* และ *D. moschatum* ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ส่วน Huang *et al.* (2001) ได้เลี้ยงต้นอ่อนลูกผสม *Paphiopedilum* เลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส และให้แสง 16 ชั่วโมง สำหรับโปรโตคอร์มของ *Geodorum densiflorum* เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส และให้แสง 10 ชั่วโมง (Roy and Banerjee, 2001) ส่วน George and Ravishankar (1997) เลี้ยงยอดของ *Vanilla planifolia* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในทำนองเดียวกันเลี้ยงแคลลัสเพื่อให้ได้ต้นอ่อนของ *Cymbidium ensifolium* var. misericors ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส Chang and Chang (1998) ส่วนปัจจัยในด้านแสงในแต่ละพืชมีความต้องการต่างกัน เช่น ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่มีแหล่งกำเนิดในออสเตรเลียต้องการแสง 20 ชั่วโมง (Collin and Dixon, 1992) ต้นอ่อนของ *Bletilla striata* ที่ เลี้ยงในที่มืดเกิดการยืดของข้อ และความมืดกระตุ้นการเกิด rhizoid ของต้นอ่อน (Rasmussen, 1995)

หลังจากเมล็ดกล้วยไม้งอกแล้วต้นอ่อนกล้วยไม้มีความต้องการทางด้านอาหารมากขึ้น จึงจำเป็นต้องให้สารอาหารที่ต่างกันแก่กล้วยไม้แต่ละชนิด สารควบคุมการเจริญที่นิยมใช้ เช่น ออกซิน และไซโตคินิน กลุ่มออกซิน ที่นิยมใช้ คือ indole – 3 – acetic acid (IAA), indole – butyric acid (IBA), naphthaleneacetic acid (NAA), 2,4 – dichlorophenoxyacetic acid (2,4 – D) และ 2,4,5 – trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5 – T) ส่วนในกลุ่มไซโตคินินที่นิยมใช้ คือ N_6 – Benzyladenine (BA), kinetin, zeatin และ N_6 – isopentenyl adenine (2iP) ซึ่งสมดุลของออกซินและไซโตคินินมีผลต่อการสร้างอวัยวะและมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการกำเนิดอวัยวะ เช่นการเกิดเป็นแคลลัส ราก หรือยอด สัดส่วนและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญแต่ละชนิดที่ต้องการขึ้นกับระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อและชนิดพืช (รังสฤษดิ์, 2540) ผลของออกซินทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์ (cell enlargement) และไซโตคินินกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์และการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด (ดนัย, 2539) จากงานทดลองของ Huang *et al.* (2001) เลี้ยงต้นอ่อนลูกผสมของ *Paphiopedilum* โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มีวิตามิน ไกลซีน และ inositol และมีสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ BA ความเข้มข้น 13 ไมโครโมล (มคม) NAA 1.6 มคม adenine sulfate 0.15 มิลลิโมล (มลม), $NaH_2PO_4.H_2O$ 1.23 มลม, น้ำตาลซูโครส 0.18 โมล (ม) และน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 พบว่าอาหารที่มีน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 มันฝรั่ง 10 ก/ล หรือ casein hydrolysate 1 ก/ล ต้นอ่อนมีการเจริญดีที่สุด ส่วนในอาหารที่มีผงกล้วย 20 ก/ล ชักนำให้เกิดการแตกยอด และน้ำมะพร้าวสามารถทดแทนได้ด้วย casein hydrolysate 1 ก/ล หรือ มันฝรั่ง 10 ก/ล ส่วน TDZ (tridiazuron) มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนยอดและราก Roy and Banerjee (2002) เลี้ยงโปรโตคอร์มของ *Geodorum*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

densiflorum (Lam.) Schltr. ด้วยอาหารที่มีสารประกอบอินทรีย์ และสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าในอาหารที่มี BAP และ NAA โปรโตคอร์มเกิดไรโซมน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แต่ไรโซมสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มี NAA โดย NAA 1 มก/ล ให้ผลดีที่สุด ส่วนในอาหารที่มีทั้ง BAP และ NAA ร่วมกันมีผลยับยั้งการแตกแขนงของไรโซม และพบว่า BAP มีผลต่อการพัฒนาของยอด หากเพิ่มความเข้มข้นของ BAP ทำให้ไรโซมมีขนาดสั้นลง ส่วน *Orchis morio* NAA มีผลต่อการเจริญเติบโตโดยขึ้นอยู่กับน้ำตาลที่มีในอาหาร โดยกลูโคสช่วยให้ NAA ส่งเสริมการเจริญมากกว่าในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส ส่วนใน *Dactylorhiza* spp. พบว่า NAA ไม่มีผลต่อการเจริญของยอด แต่มีผลต่อการเจริญของรากของต้นอ่อน *D. maculata* subsp. *maculata* ส่วนต้นอ่อน *Platanthera bifolia* พบว่า 2,4 – D สามารถกระตุ้นการเจริญได้และสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน (kinetin, BA, isopentenyladenosine, thidiazuron, zeatin และ adenine sulfate) ไม่มีผลต่อการเจริญของต้นอ่อนของ *Orchis morio, Dactylorhiza maculata* subsp. *maculata, D. incarnata* และ *Platanthera bifolia* (Vejsadova *et al.*, 2002) แต่โปรโตคอร์มของ *Geodorum densiflorum* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA พบว่ามีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ส่วนในอาหารที่มี BAP มีผลทำให้การเจริญเติบโตชะงัก การพัฒนาของต้นอ่อนเพื่อให้เกิดเป็นไรโซมในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตนั้นไรโซมสามารถเจริญได้อย่างช้าๆ โดยในอาหารที่มี BAP สูง และ NAA ต่ำทำให้ต้นอ่อนมีอัตราการเจริญสูง (Roy and Banerjee, 2001) ส่วนชิ้นส่วนจากไรโซมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS และ Knudson C ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและผงถ่านกำมันต์ร้อยละ 0.1 พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS สามารถเจริญได้ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหาร Knudson C เนื้อเยื่อจะตายภายใน 6 – 8 สัปดาห์ และยังพบว่า อาหารที่มี NAA 2.0 มคม กระตุ้นการเจริญของไรโซม ส่วนอาหารที่มี BA 5 มคม สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ภายใน 4 สัปดาห์ และยับยั้งการเจริญของไรโซม อาหารสูตร MS หรือมีการเติม NAA 1.0 มคม สามารถชักนำให้เกิดรากได้ (Sheelavantmath *et al.*, 2000) Geetha and Shettly (2000) รายงานว่า ยอดและข้อของ *Vanilla planifolia* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP 1 มก/ล สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ในอาหารสูตร N69 ที่มี BAP 0.5 มก/ล ร่วมกับ d – biotin 0.05 มก/ล และ folic acid 0.5 มก/ล โดยมีน้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 และในอาหารสูตรนี้สามารถชักนำให้เกิดรากได้ด้วย ส่วนต้นอ่อนของ *Dendrobium cruentum* เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่มีความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซล 0, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 ส่วนต่อล้าน (สตล) ภายใต้ความเข้มแสง 27.1 หรือ 74.5 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที (มคม/ตรม/ว) พบว่าต้นอ่อนเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีพาโคลบิวทราโซล 0.0001 สตล และเลี้ยงที่ความเข้มแสงสูง ในอาหารที่มีความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลสูงมีผลทำให้ความสูงน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งลดลง (Kititrakunyanun *et al.*, 1999) Bose and Mukherjee (1974) รายงานว่า ต้นอ่อนของ *Vanda*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

roxburghii เลี้ยงในอาหารสูตร Knudson C ที่มี NAA หรือ GA_3 เกิดแคลลัสและสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ในอาหารที่มี GA_3 1 หรือ 2 มก/ล แต่ต้นอ่อนไม่มีราก ส่วนอาหารที่มี NAA หรือ IAA 1 มก/ล กระตุ้นการเกิดยอดและราก พบว่าอาหารที่มี NAA ต้นอ่อนให้รากที่ใหญ่ ส่วน IAA ชักนำการเกิดใบ นอกจากนี้ GA_3 ยังการกระตุ้นให้ต้นอ่อนสูงขึ้น ในขณะที่ต้นอ่อน *Spathoglottis plicata* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิด PLB เมื่อเติม NAA 5.37 มคม และ BA 0.44 มคม และต้นอ่อนเจริญได้ดีที่ระดับ NAA 2.69 – 10.74 มคม และ BA 8.88 มคม (Teng *et al.*, 1997)

นอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตแล้วบางครั้งมีการเติมสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนลงในอาหารเพื่อช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต เช่น Ichihashi and Hiraiwa (1996) เลี้ยงแคลลัสของ *Phalaenopsis* และ *Doritaenopsis* ในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว ส่วน Ichihashi and Islam (1999) ใช้อาหารที่มี peptone หรือน้ำสกัดจากพืชเลี้ยงแคลลัสของ *Phalaenopsis, Doritaenopsis* และ *Neofinetia falcate* โดยน้ำเผือกสกัด (*Colocasia esculenta*) น้ำสกัดมันฝรั่ง น้ำสกัดแอปเปิ้ล และน้ำมะพร้าว มีผลชักนำการเจริญของแคลลัส การใช้น้ำเผือกสกัดที่ 50 – 200 มล/ล ให้ผลดีที่สุด ส่วนกล้วยบดและ peptone มีผลต่อการเจริญของแคลลัสเพียงเล็กน้อย และน้ำสกัดจากมันเทศมีผลยับยั้งการเจริญของแคลลัส การเลี้ยงต้นอ่อนลูกผสม *Vanda* ในอาหารที่มีน้ำมะพร้าวร้อยละ 20 ทำให้ได้ต้นอ่อนที่ต้นใหญ่ Pan *et al.* (1997) รายงานว่า น้ำมะพร้าวมีผลต่อการชักนำการงอกของเมล็ดและการเจริญของโปรโตคอร์มของ *Cymbidium sinense* ส่วนใน *Dendrobium* Joannie Ostenhault อาหารที่ใช้เลี้ยงยอดมีน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ทำให้เกิดแคลลัส และเกิดเป็น PLB ภายใน 4 สัปดาห์ PLB ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่มีน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 แต่ในอาหารที่มี IBA 0.5 สตล ร่วมกับน้ำตาลซูโครสร้อยละ 3 หรืออาหารที่มี NAA 1.0 สตล ร่วมกับน้ำตาลซูโครสร้อยละ 1 PLB สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ แต่ไม่สามารถเกิดรากได้ ต้นอ่อนสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสร้อยละ 1 Shoron and Vasundhara (1990) ชักนำให้เกิดยอดของ *Dendrobium* ได้โดยเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสร้อยละ 3 ร่วมกับ IAA, IBA หรือ NAA 1 สตล ให้ผลดีที่สุด ธีรพล (2535) รายงานว่าโปรโตคอร์มและต้นอ่อนของรองเท้านารีเหลืองปราจีนเจริญได้ดีบนอาหารที่มีผงถ่านกัมมันต์ร้อยละ 0.2 และกล้วยหอมบดร้อยละ 5 นอกจากนั้นยังพบว่าอาหารที่มีการเติมน้ำตาลร้อยละ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 10 ช่วยให้โปรโตคอร์มและต้นกล้ามีการเจริญเติบโตที่ดี นิพาพร (2542) รายงานว่าต้นอ่อนของลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance.) และนางอั้วสาคริก (*Pecteilis sagarikii* Seidenf.) ที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลงที่มีน้ำมพร้าว 150 มล/ล น้ำสกัดมันฝรั่ง 100 ก/ล ผงถ่านกัมมันต์ 2 ก/ล และวุ้น 6 ก/ล โดยเปรียบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เทียบความเข้มข้นของธาตุอาหารในสูตร VW 0.5 หรือ 1 เท่า ร่วมกับน้ำตาลทราย 10 หรือ 20 ก/ล และกล้วยหอมบด 0 หรือ 20 ก/ล หลังจากเลี้ยงนาน 1 เดือน ไม่มีความแตกต่างของต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารทุกสูตร ในการเลี้ยงต้นอ่อนลิ้นมังกรเพื่อเพิ่มขนาดหัวโดยเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลทราย 20 40 หรือ 60 ก/ล ร่วมกับพาโคลบิวทราโซล 0, 0.001, 0.01, 0.1 หรือ 1 มก/ล ในอาหารสูตร VW ดัดแปลง หลังจากเลี้ยง 3 เดือน พบว่าหัวมีขนาดใหญ่ขึ้นและเกิดราก แต่ไม่พบความแตกต่างของจำนวนและขนาดของหัวหรือรากในอาหารทุกสูตร Sharma and Tandon (1990) เลี้ยงต้นอ่อน *Cymbidium elegans* และ *Coelogyne punctulata* ด้วยอาหารสูตร Knudson ที่มี และไม่มีน้ำตาล ร้อยละ 2 – 7 โดยเลือกใช้น้ำตาล sucrose, D – glucose, D – fructose, D – mannose, trehalose, raffinose, L – glucose, L – mannose หรือ maltose พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มี trehalose, maltose, D – mannose หรือ raffinose มีการเจริญเติบโตปานกลาง ส่วนในอาหารที่มี L – glucose และอาหารที่ไม่มีน้ำตาลต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตต่ำ และในอาหารที่มี sucrose, D – fructose และ D – glucose 20 หรือ 30 ก/ล ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดีที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved