



ผลของโคโตซานต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย และการชักนำให้เกิดก้านช่อดอก
ในหลอดทดลอง

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

โดย

นางสาวกรรช สว่างศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลของโคโคซานต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย และการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกใน
หลอดทดลอง

โดย
นางสาวกรรช สว่างศรี

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

EFFECTS OF CHITOSAN ON TISSUE CULTURE OF *DENDROBIUM* HYBRIDS AND
IN VITRO INFLORESCENCE INDUCTION

By
Korakod Sawangsri

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Department of Biology

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2010

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง "ผลของไคโตซานต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย และการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลอง" เสนอโดย นางสาวกรกช สว่างศรี เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤษณา ออบสุวรรณ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร.กรกช ชันจิรกุล)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ดร.ชบา จำปาทอง)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพลีตรา)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤษณา ออบสุวรรณ)
...../...../.....

51303203 : สาขาวิชาชีววิทยา

คำสำคัญ : กล้วยไม้หวาย/การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ/ไคโตซาน

กรกช สว่างศรี : ผลของไคโตซานต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย และการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลอง. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ. 97 หน้า.

การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการงอกและการเจริญของเมล็ดกล้วยไม้ *Den. Queen Pink* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW ดัดแปลงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าในอาหารที่มีไคโตซาน 10 mg/L ชักนำให้เกิดการงอกของเมล็ดสูงสุด 31.85 % อาหารที่มีไคโตซาน 20 mg/L ชักนำให้เกิดโพรโทคอร์มระยะ 2 จำนวนมากที่สุด ในขณะที่อาหารที่มีไคโตซาน 60 mg/L มีผลทำให้โพรโทคอร์มทุกระยะ มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด แบ่งโพรโทคอร์มที่ได้เป็น 2 ขนาด คือขนาดเล็ก (0.1-0.2 cm) และใหญ่ (0.3-0.4 cm) แล้วนำมาเพาะเลี้ยงให้ได้ต้นในอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลงเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าต้นจากโพรโทคอร์มขนาดใหญ่มีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก โดยโพรโทคอร์มทั้ง 2 ขนาดเมื่อได้รับไคโตซานเจริญเติบโตดีกว่าที่ไม่มีไคโตซาน และเมื่อได้รับไคโตซานความเข้มข้นเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตดีขึ้น ในการชักนำให้เกิดต้นจากโพรโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นสูง ๆ (20-60 mg/L) มีการเจริญเติบโตทันโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับไคโตซานน้อยกว่า (10 mg/L) และไม่ได้รับไคโตซาน นำกล้วยไม้ไปสะสมอาหารในน้ำตาลความเข้มข้น 20 และ 40 g/L แล้วเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตร 1/2 VW ร่วมกับ BA และ PBZ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าไม่มีก้านช่อดอกเกิดขึ้นในทุกทริตเมนต์ การศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของกล้วยไม้ *Den. White Pansy Lip* อายุ 2 เดือนในอาหารเหลวสูตร VW ดัดแปลงที่มี BA 4.4 μ M และไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน มีจำนวนใบ ราก ไม่แตกต่างกัน แต่ไคโตซาน 20 mg/L สนับสนุนให้เกิดต้นใหม่มากที่สุด 5.09 ต้น จากนั้นย้ายต้นไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสองชั้นที่มี BA 22.2 μ M และไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าต้นที่ได้รับไคโตซาน 40 mg/L เกิดก้านช่อดอกเร็วที่สุดคือหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 150 วัน ในทริตเมนต์ที่มีไคโตซาน 40 mg/L เกิดก้านช่อดอกมากที่สุด 50 % แต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม อย่างไรก็ตามช่อดอกที่เกิดในทุกทริตเมนต์ไม่บาน และเหี่ยวไปในที่สุด

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

51303203 : MAJOR : BIOLOGY

KEY WORDS : DEN. ORCHID/TISSUE CULTURE/CHITOSAN

KORAKOD SAWANGSRI : EFFECTS OF CHITOSAN ON TISSUE CULTURE OF *DENDROBIUM* HYBRIDS AND *IN VITRO* INFLORESCENCE INDUCTION. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. KULANART OBSUWAN, Ph. D. . 97 pp.

The study of chitosan effects on seed germination and growth development of *Den.* Queen Pink cultured on modified VW for three month. The results showed that seed germination was 31.85 % which was highest in the presence of chitosan at 10 mg/L, chitosan at 20 mg/L induced maximum numbers of protocorms in stage 2 whereas chitosan at the concentration of 60 mg/L gave the maximum fresh and dry weight in all stages of protocorms. Next experiment, protocorms were divided into 2 sizes as following; small (0.1-0.2 cm) and large (0.3-0.4 cm) then further cultured on modified VW for 6 months. The results indicated that large protocorms had better growth and development than small protocorms. All protocorms cultured on media supplemented with chitosan at all concentrations accelerated growth better than the control without chitosan and chitosan at the higher concentrations tended to improve the growth of protocorms. Small protocorms cultured on modified VW supplemented with chitosan at 20-60 mg/L had similar growth rate compared with the large protocorms cultured on modified VW without chitosan or with chitosan at 10 mg/L. Next experiment was conducted to investigate the induction of *in vitro* flowering of *Den.* seedlings. Seedlings of *Den.* Queen Pink were cultured on half- strength VW supplemented with BA and PBZ for four months. There was no *in vitro* flowering induction in all treatments. Whereas, two months old seedlings of *Den.* White Pansy Lip were sub-cultured onto modified VW liquid supplemented with 4.4 μ M BA and various concentrations of chitosan for three months. The results revealed that seedlings cultured on chitosan at all concentrations gave similar number of leaves and roots with no significantly different to the control. The maximum numbers of new plantlets were obtained at 20 mg/L chitosan (5.09 plantlets). Later on, the plantlets were sub-cultured onto two layer medium supplemented with 22.2 μ M BA and various concentrations of chitosan. An early inflorescence formation within 60 days was observed in plantlets cultured on medium supplemented with 40 mg/L chitosan. The highest induction frequency of 50% were achieved after cultured for 150 days on two layer medium supplemented with 40 mg/L chitosan, but no significantly different to the control. However, all treatments showed flower buds abortion and wilt

Department of Biology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2010
Student's signature
Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบอุ่น และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชภพิศิษฐ์ เทพสิทธิ์า ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือ ตลอดจนแก้ไขปรับปรุงข้อผิดพลาดในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณ ดร. กรกช ชาญจิรกุล และดร. ชบา จำปาทอง ที่ได้กรุณาแนะนำ ตรวจสอบแก้ไข พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะเพื่อให้งานวิจัยครั้งนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กมลชนก พานิชการ ที่กรุณาให้คำแนะนำในเรื่องการวิเคราะห์ผลด้วยการใช้สถิติเพื่อให้การนำเสนอ งานวิจัยถูกต้องมากยิ่งขึ้นด้วย

ขอขอบคุณคุณสุลักษณ์ นามโชติ คุณสมโภช สัจธรรมธวัช คุณณรงค์ สามงามนัม และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย และติดต่อประสานงาน ด้านต่าง ๆ ตลอดจนพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจเพื่อให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ น้องชาย ที่เป็นผู้สนับสนุนทั้งทางด้านกำลังใจ และ กำลังทรัพย์ รวมไปถึงทุก ๆ ท่านที่ให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านเพื่อให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฐ
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
ความมุ่งหมายของวัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
ขอบเขตของการศึกษา.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้	5
กล้วยไม้สกุลหวาย (<i>Dendrobium</i>).....	6
การกระจายพันธุ์	6
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	6
การขยายพันธุ์กล้วยไม้	8
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	8
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้	9
ไคโตซาน	12
การประยุกต์ใช้ไคโตซานกับกล้วยไม้ และไม้ดอกไม้ประดับชนิดอื่น.....	14
การเกิดดอกของพืช.....	17
การชักนำให้เกิดดอกของกล้วยไม้	19
3 อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง	24
อุปกรณ์และสารเคมี	24
วิธีการทดลอง.....	25
ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการงอก และการเจริญของเมล็ด <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	25

บทที่	หน้า
ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink	27
ศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	29
ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> White Pansy Lip	31
4 ผลการทดลอง	33
ศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	33
ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink	39
ศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	57
ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> White Pansy Lip	64
5 อภิปรายผลการทดลอง	75
การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	75
การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink	76
การศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	77
ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> White Pansy Lip	78
6 สรุปผลการศึกษา	
การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	82
การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink	83
การศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> Queen Pink.....	84
ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ <i>Dendrobium</i> White Pansy Lip	85

บทที่	หน้า
ข้อเสนอแนะ.....	86
อุปสรรคและปัญหาในการทดลอง	86
บรรณานุกรม	87
ภาคผนวก	92
ประวัติผู้วิจัย	96

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ระยะเวลาเจริญของโพรโทคอร์มกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> โดยแบ่งตามขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของโพรโทคอร์ม.....	27
2	สูตรอาหาร VW สองชั้น โดยชั้นบนเป็นอาหารเหลวและชั้นล่าง เป็นอาหารแข็ง	32
3	การงอกของเมล็ด <i>Dendrobium Queen Pink</i> หลังจากเพาะเลี้ยงใน อาหารเหลวสูตร VW ร่วมกับโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ เป็น ระยะเวลา 3 เดือน	36
4	น้ำหนักเฉลี่ยของโพรโทคอร์ม <i>Dendrobium Queen Pink</i> แต่ละขนาด หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว VW ร่วมกับโคโคซานความ เข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน	37
5	ความสูงของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3- 0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็น ต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร	42
6	น้ำหนักสดของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3- 0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็น ต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร	43
7	น้ำหนักแห้งของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3- 0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็น ต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร	44
8	จำนวนใบของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็น ต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร	45

ตารางที่		หน้า
9	พื้นที่ใบของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็น ต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร	46
10	จำนวนรากของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็น ต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร	47
11	จำนวนต้นใหม่ที่เกิดจากต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร	48
12	การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 1 ปี	54
13	น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 1 ปี	55
14	การเจริญเติบโตของ <i>Dendrobium Queen Pink</i> บนอาหารแข็งสูตร VW ที่มีน้ำตาล 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 3 เดือน	58
15	การเจริญเติบโตของ <i>Dendrobium Queen Pink</i> ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร VW เดิม BA และ PBZ เป็นระยะเวลา 4 เดือน	61
16	น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของ <i>Dendrobium Queen Pink</i> ที่เพาะเลี้ยง บนอาหารสูตร VW เดิม BA และ PBZ เป็นระยะเวลา 4 เดือน	62
17	จำนวนใบของ <i>Dendrobium White Pansy Lip</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร เหลวเดิม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน	66

ตารางที่		หน้า
18	จำนวนรากของ <i>Dendrobium White Pansy Lip</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร เหลวเติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน.....	67
19	จำนวนต้นใหม่ของ <i>Dendrobium White Pansy Lip</i> ที่เพาะเลี้ยงใน อาหารเหลวเติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน	68
20	ลักษณะของปากใบ <i>Dendrobium White Pansy Lip</i> บนเซลล์ผิวใบด้านบน ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และโคโคซาน ความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็น ระยะเวลา 3 เดือน	69
21	ลักษณะของปากใบ <i>Dendrobium White Pansy Lip</i> บนเซลล์ผิวใบด้านล่าง ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และโคโคซาน ความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็น ระยะเวลา 3 เดือน.....	70
22	การเกิดถิ่นซอดดอกของ <i>Dendrobium White Pansy Lip</i> ที่เพาะเลี้ยงใน อาหารสองชั้นเป็นระยะเวลา 5 เดือน.....	72

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ส่วนประกอบของดอกกล้วยไม้หวายลูกผสม(<i>Dendrobium Queen Pink</i>)	7
2	โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตซาน	13
3	รูปเมล็ดกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> อายุ 4 เดือน ภายใต้อุณหภูมิ กล้องจุลทรรศน์.....	33
4	ลักษณะการเจริญพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> แบ่งเป็น 4 ระยะ	34
5	เปรียบเทียบการงอก และการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> จากฝักอายุ 4 เดือนหลังจากเพาะเลี้ยงบน อาหารเหลว VW ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาพหนึ่ง เป็นเวลา 3 เดือน	38
6	การเจริญของโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็ง VW ร่วมกับ ไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 1-3....	49
7	การเจริญของโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็ง VW ร่วมกับ ไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 4-6 ...	50
8	การเจริญของโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ (0.1-0.2 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็ง VW ร่วมกับ ไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 1-3 ...	51
9	การเจริญของโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ (0.1-0.2 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยง ในอาหารแข็ง VW ร่วมกับ ไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 4-6 ...	52
10	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น ต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ปี	56
11	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> หลัง จากสะสมอาหารในน้ำตาลความเข้มข้นต่างกันเป็นระยะเวลา 3 เดือน ..	59
12	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ <i>Dendrobium Queen Pink</i> หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 เดือน	63
13	เปรียบเทียบลักษณะปากใบของ <i>Dendrobium White Pansy Lip</i> หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ปี.....	71

ภาพที่		หน้า
14	การเกิดก้านช่อดอกของกล้วยไม้ <i>Dendrobium</i> White Pansy Lip ในหลอดทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้นเป็นเวลา 5 เดือน ...	73
15	ลักษณะของช่อดอกของกล้วยไม้ <i>Dendrobium</i> White Pansy Lip แบบต่าง ๆ ที่เกิดในหลอดทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้น เป็นเวลา 5 เดือน	74

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

คำอธิบายย่อ

คำย่อ	=	คำเต็ม
ABA	=	Abscisic acid
BA	=	6-Benzylaminopurine
cm	=	Centimetre
DMRT	=	Duncan's New Multiple Range Test
DZ	=	Dihydrozeatin
GA	=	Gibberellic acid
g	=	Gram
HPLC	=	High-performance liquid chromatography
IAA	=	Indoleacetic acid
iP	=	N ⁶ -(Δ^2 -isopentenyl)-adenine
iPA	=	N ⁶ -(Δ^2 -isopentenyl)-adenosine
KC	=	Knudson C
mg	=	Milligram
mg/L	=	Milligram/Litre
MS	=	Murashige and Skoog
MWUT	=	Mann -Whitney U Test
NAA	=	α -Naphthalene acetic acid
PBZ	=	Paclobutrazol
TDZ	=	Thidiazuron
VW	=	Vacin and Went
Z	=	Zeatin
ZR	=	Zeatin riboside
μ M	=	Micromolar

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กล้วยไม้ไทยเป็นสินค้าที่ได้รับความนิยมในต่างประเทศ โดยประเทศไทยครองอันดับส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกเมืองร้อนมากเป็นอันดับหนึ่งของโลกมาเป็นเวลานาน และมีมูลค่าการส่งออกขยายตัวอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงทศวรรษที่ผ่านมา นายกสมาคมผู้ส่งออกกล้วยไม้ไทยให้ข้อมูลว่า ไทยมีผลผลิตดอกกล้วยไม้เฉลี่ยประมาณปีละ 44,000 - 45,000 ตัน แยกเป็นปริมาณการใช้ในประเทศ 50 เปอร์เซ็นต์ และส่งออก 50 เปอร์เซ็นต์โดยมีการส่งออกดอกกล้วยไม้สกุลหวายคิดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์ของกล้วยไม้ที่ส่งออกทั้งหมด (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย 2549) และไทยเป็นประเทศที่บริโภคกล้วยไม้มากเป็นอันดับ 1 ของโลก อันดับ 2 คือ ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งญี่ปุ่นเป็นตลาดผู้ซื้อดอกกล้วยไม้หลักของไทยในปัจจุบัน และความต้องการกล้วยไม้ตัดดอกทั้งหมดในญี่ปุ่นอยู่ในเกณฑ์สูงมาก อาจถึง 230 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ ต่อปี ส่วนมูลค่าการค้ากล้วยไม้ในตลาดโลกนั้นอยู่ที่ราว 200 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ ต่อปี โดยแยกเป็นมูลค่าการค้ากล้วยไม้ตัดดอก 85.0 เปอร์เซ็นต์ และต้นกล้วยไม้ 15.0 เปอร์เซ็นต์ ปัจจุบันไทยมีสัดส่วนการส่งออกคิดเป็นมูลค่าเพียง 2 เปอร์เซ็นต์ของมูลค่าการค้าดอกไม้ของทั้งโลกเท่านั้น ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมามูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ของไทยขยายตัวอย่างต่อเนื่อง 10-15 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ดีปี 2549-2551 อัตราการเติบโตได้ลดลงอย่างต่อเนื่อง จากปัญหาทั้งภายในและภายนอก ทำให้การมองหาช่องทางใหม่ๆ และพัฒนาสินค้าให้ตรงกับความต้องการของตลาดเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ ไม่เพียงแต่ต้องพัฒนาเพื่อก้าวหนีคู่แข่ง แต่ต้องแข่งขันกับตัวเองมุ่งให้เป็นอุตสาหกรรมที่มีความยั่งยืนอีกด้วย (International Bussiness Times Thailand 2009)

นอกจากนี้รัฐบาลไทยมีการกำหนดยุทธศาสตร์การแข่งขันกล้วยไม้ไทยในตลาดโลก ในปีพ.ศ. 2554 - 2559 เพื่อเพิ่มมูลค่าการส่งออกจาก 3.5 พันล้านบาทในปี 2553 เป็น 10,000 ล้านบาท ในปี 2559 เนื่องจากรัฐบาลเห็นว่ากล้วยไม้เป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญและสร้างรายได้ให้กับประเทศเป็นจำนวนมาก โดยอนุมัติกรอบงบประมาณ 328 ล้านบาท เพื่อดำเนินงานตามยุทธศาสตร์ผลักดันการส่งออกกล้วยไม้จากมูลค่า 2,739 ล้านบาทในปี 2552 ให้ได้เป็น 10,000 ล้านบาทในปี 2559 หรือเพิ่มขึ้นไม่ต่ำกว่า 19.24 เปอร์เซ็นต์ (กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ 2553)

กล้วยไม้สกุลหวายเป็นกล้วยไม้ตัดดอกที่มีความสำคัญที่สุดของประเทศไทยมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2500 จนถึงปัจจุบัน มีหลายชนิดที่มีแหล่งกำเนิดในประเทศไทย และมีหลายชนิดที่นำมาทำเป็นลูกผสมเพื่อให้เกิดประโยชน์ในทางการค้าอย่างกว้างขวาง ดอกกล้วยไม้ที่ส่งจากประเทศไทยไปจำหน่ายยังต่างประเทศนั้นส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม เนื่องจากมีความหลากหลายทางสีอันเนื่องมาจากมีการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้พันธุ์ใหม่ ๆ ดอกสวย ทนโรคอยู่เสมอ ในประเทศไทยขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งใช้เวลาในการขยายพันธุ์จนถึงระยะออกปลูกประมาณ 8-15 เดือนจึงจะตัดดอกได้ โดยจะได้ช่อดอกดกและมีลักษณะใกล้เคียงกันหมด เหมาะที่จะใช้ตัดดอกเป็นการค้า (กรีนไฮเปอร์มาร์เก็ต 2546)

Dendrobium Queen Pink เป็นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมที่ได้มาจาก *Dendrobium Kao Sanan* x *Dendrobium Anna* ซึ่งถูกปรับปรุงพันธุ์เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาด โดยปกติดอกจะมีสีชมพู ซึ่งสามารถกลายจนสีดอกเป็นสีชมพูหลายสลับกับสีขาวที่อยู่บริเวณขอบกลีบดอกได้ แต่ลักษณะดังกล่าวไม่สามารถขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดได้ เนื่องจากมีความแปรผันสูง แต่ก็เป็นที่ต้องการของตลาดมาก และขายได้ในราคาดี

Dendrobium White Pansy Lip เป็นกล้วยไม้ที่มีลักษณะพิเศษตรงที่กลีบดอกมีการเปลี่ยนรูปร่างไปทำให้ดูเหมือนมี 3 ปาก จึงถูกเรียกว่าหวายสามปาก ซึ่งลักษณะพิเศษนี้ทำให้ได้รับความนิยมในตลาดเพิ่มขึ้น

การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบซึ่งในแต่ละแบบจะเหมาะสมต่อจุดมุ่งหมายที่แตกต่างกัน ได้แก่การขยายพันธุ์โดยไม่มีการผสมเกสร (vegetative propagation) จะใช้วิธีตัดแยกลำหน้า ลำหลัง หรือการตัดลำแก่ไปปักชำ วิธีการเหล่านี้จะสามารถเพิ่มจำนวนกล้วยไม้ได้ แต่ใช้เวลานาน มีข้อดีคือพันธุ์กรรมของต้นจะไม่มีเปลี่ยนแปลงนิยมใช้ในกรณีที่มีต้นพันธุ์ที่ได้อยู่แล้ว อีกวิธีก็คือการขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด (seed propagation) โดยนำเมล็ดมาทำการเพาะเพื่อให้งอกเป็นต้นใหม่ สามารถเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ได้เป็นจำนวนมาก แต่ต้นกล้วยไม้ที่เกิดจากการเพาะเมล็ดจะมีพันธุ์กรรมแตกต่างกันไปจากต้นพ่อแม่ อาจจะได้ต้นที่มีลักษณะที่ดี หรือด้อยกว่าเดิมก็ได้ แต่ก็นับว่าวิธีการนี้จะมีประโยชน์ในด้านของการปรับปรุงพันธุ์กรรม (ระพี 2530)

นอกจากนั้นยังมีการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) ที่นำมาปรับใช้กับกล้วยไม้หลายสายพันธุ์ ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมากในเวลารวดเร็ว และได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนต้นเดิม ใช้ผลิตพืชปลอดโรค และยังใช้วิธีนี้ในการปรับปรุงพันธุ์กรรมของกล้วยไม้ได้อีกด้วย (รังสฤษฎี 2541)

การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีการศึกษามาเป็นเวลานาน เนื่องจากเป็นกล้วยไม้ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย (International Business Times Thailand 2009) ทั้งการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด และการปั่นตา เพื่อเพิ่มจำนวนต้นที่มีคุณภาพตามต้องการ ปรับปรุงพันธุกรรมให้เกิดความหลากหลาย และเป็นที่ต้องการของตลาด รวมถึงเพื่อนำไปปลูกเลี้ยงใช้เป็นไม้ตัดดอกด้วย ในปัจจุบันการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ รวมถึงไม้ดอกอื่น ๆ มีการนำโคโคซานเข้ามาใช้เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากโคโคซานเป็นสารที่มีรายงานว่าเมื่อนำมาใช้กับกล้วยไม้ และไม้ดอกสามารถช่วยให้ต้นมีการเจริญเติบโตดีขึ้น มีความสามารถในการต้านทานโรค ทำให้เกิดดอกได้เร็ว และยังเพิ่มคุณภาพของช่อดอกให้ดีขึ้น ทำให้ผลผลิตที่ได้เป็นที่ต้องการของตลาด และได้ราคาดี ที่สำคัญโคโคซานได้มาจากของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิต เช่น เปลือกหัวกุ้ง กระจง และแกนปลาหมึก ทำให้สามารถย่อยสลายได้เองในธรรมชาติไม่ก่อให้เกิดการตกค้าง และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมซึ่งนับว่ามีประโยชน์อย่างมาก ดังนั้นจึงทดลองนำโคโคซานมาใช้ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย และเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ให้มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น เพื่อให้ได้ต้นที่มีคุณภาพดีจำนวนมาก ในเวลารวดเร็ว จากนั้นก็ทดลองใช้สารควบคุมการเจริญบางตัว เช่น BA และ PBZ ในการหาสูตรอาหารให้กล้วยไม้สกุลหวายออกดอกในหลอดทดลองได้ และใช้โคโคซานชักนำให้กล้วยไม้สกุลหวายเกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลองได้เร็วขึ้น เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ และการคัดเลือกต้นตามที่ต้องการไปเพาะเลี้ยงในแปลงปลูกต่อไป โดยผลที่ได้ก็จะทำให้สามารถลดค่าใช้จ่าย ระยะเวลาในการทำงาน และเพิ่มคุณภาพของต้นกล้วยไม้ให้ดียิ่งขึ้นได้

2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของโคโคซานต่อการเพาะเมล็ดของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของโคโคซานต่อการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่มีขนาดต่างกัน ในกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม
3. เพื่อศึกษาปัจจัยและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม
4. เพื่อศึกษาผลของโคโคซานต่อการชักนำให้เกิดดอกภายในหลอดทดลองของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม

3. ขอบเขตของการศึกษา

1. นำเมล็ดที่ได้จากฝัก *Dendrobium Queen Pink* อายุ 3-4 เดือน มาเพาะเลี้ยงในอาหาร VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 เดือนทำการเก็บผลโดยการนับจำนวน และวัดขนาดของเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอก และการเจริญของเมล็ด

2. ศึกษาเปรียบเทียบขนาดของโพรโทคอร์มที่มีต่อการเจริญของ *Dendrobium Queen Pink* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง VW เดิมไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เช่นเดียวกับการทดลองแรก

3. ศึกษาผลของน้ำตาลต่อการชักนำให้เกิดการออกดอกในกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* ที่มีขนาดและอายุเท่ากัน โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร VW ที่มีน้ำตาล 20 และ 40 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 เดือนก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดดอก โดยการลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ร่วมกับ BA เข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ และ PBZ เข้มข้น 0.17 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 เดือน

4. ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโต และการเกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy Lip* โดยนำเมล็ดที่ได้จากฝักของ *Dendrobium White Pansy Lip* อายุ 3-4 เดือนมาเพาะเลี้ยงในอาหาร VW กึ่งแข็ง หลังจากนั้น 2 เดือน นำไปเพาะเลี้ยงในอาหาร VW เหลวที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นย้ายต้นไปเลี้ยงในอาหาร 2 ชั้นที่มี BA เข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ ในส่วนของอาหารเหลว ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นเดิมหลังจากนั้นสังเกตการเกิดก้านช่อดอกภายในหลอดทดลอง

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบผลของไคโตซานที่มีต่อการเพาะเมล็ดของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม
2. ทราบผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มขนาดต่างกันในกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม
3. ทราบปัจจัยและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม
4. ทราบผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดดอกภายในหลอดทดลองของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์ออร์คิดเซีย (Family Orchidaceae) และนับว่าเป็นพืชวงศ์ใหญ่ที่สุดวงศ์หนึ่งของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีรายงานระบุไว้ว่ากล้วยไม้มีอยู่ไม่ต่ำกว่า 600 สกุล (genus) อยู่ในธรรมชาติประมาณ 17,500 ชนิด โดยไม่นับรวมลูกผสมที่ถูกผสมขึ้นใหม่ ซึ่งจะมีสีสัน และลักษณะแตกต่างกันออกไป พบอยู่ในหลายพื้นที่ทั้งบนดิน โขดหิน หรือบนต้นไม้ กล้วยไม้มีการกระจายพันธุ์ไปทั่วโลก แหล่งที่พบกล้วยไม้มากที่สุดคือแถบทวีปเอเชีย (ระพี 2516) ลักษณะของพืชในวงศ์นี้คือต้นมีลักษณะเป็นข้อ (node) บริเวณเหนือข้อและติดอยู่กับข้อจะมีตา ซึ่งตานี้อาจเจริญเป็นหน่ออ่อน กิ่งอ่อน หรือช่อดอก ส่วนที่เป็นข้อนี้อาจจะมีใบและกาบใบระหว่างข้อ แต่ละข้อเรียกว่า ปล้อง (internodes) ส่วนของใบมีเส้นใบขนานกันตามความยาวใบ (ปฐพีชล 2547)

1. ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพืชทั่วไปที่มีส่วนต่าง ๆ สมบูรณ์ คือ มีต้น ใบ ราก ดอก และผล จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่ใบมีเส้นใบขนานกันตามความยาวของใบ หากตัดส่วนที่เป็นลำต้นออกดูจะพบว่าเนื้อในของลำต้นเสมอกันโดยตลอด ไม่มีเนื้อไม้ (ระพี 2516) โดยส่วนของลำต้นมีหลายแบบขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย มีลำต้น โป่งพอง หรือที่เรียกว่าลำลูกกล้วย (pseudobulb) ซึ่งเป็นการปรับตัวให้ทนต่อสภาพแห้งแล้วได้ดีและบางชนิดนอกจากจะมีลำต้นหลักแล้วก็จะมีเหง้า (rhizome) ที่มีลักษณะเป็นเส้นยาวกลมขนาดเล็กเชื่อมระหว่างลำลูกกล้วยด้วย ใบของกล้วยไม้มีลักษณะหลายรูปแบบ ทั้งที่มีขนาดปกติ และแบบลดรูปใบลง สำหรับแบบใบปกติจะแบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือกลุ่มที่ทั้งใบ และไม่มีทั้งใบ ส่วนในกลุ่มที่มีใบลดรูปก็จะแบ่งเป็นการลดรูป หรือไม่เจริญ หน้าที่หลักของใบคือการสังเคราะห์แสงและการแลกเปลี่ยนก๊าซ ส่วนใหญ่จึงมีสีเขียวของรงควัตถุคลอโรฟิลล์ ซึ่งในส่วนของใบกล้วยไม้นี้มีการปรับตัวเพื่อให้สามารถดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมที่อาศัยอยู่ได้ เช่น การมีใบอวบหนาและมีไขเคลือบผิวเพื่อสะสม และลดการคายน้ำ รวมทั้งยังเป็นบริเวณที่มีการสังเคราะห์แสงด้วยวิธี Crassulacean acid metabolism (CAM) อีกด้วย โดยใบของกล้วยไม้จะมีส่วนประกอบ 2 ส่วนคือแผ่นใบ (leaf blade) และกาบใบ (leaf sheath) ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ต่อจากแผ่น

ใบเพื่อเชื่อมและห่อหุ้มลำต้นและตาข้าง ระบบรากของกล้วยไม้จะคล้ายกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป แต่จะมีลักษณะอวบน้ำ เป็นรากอากาศที่ไม่มีรากฝอยแต่มีเนื้อเยื่อคล้ายนวมหุ้มเอาไว้เรียกว่าเวลามิน (velamen) ซึ่งประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อของเซลล์ที่ตายแล้วมีหน้าที่ในการดูดซับน้ำและแร่ธาตุอาหาร และช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำจากการระเหยได้ ดอกของกล้วยไม้มี 6 กลีบ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง (sepal) 3 กลีบ และกลีบดอก (petal) 3 กลีบ โดยกลีบดอก 1 กลีบจะมีลักษณะต่างจากอีก 2 กลีบเรียกว่ากลีบปาก (lip) และเส้าเกสร (stamina column) ซึ่งเป็นที่รวมของวงเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียของกล้วยไม้ไว้ด้วยกัน ผลหรือฝักของกล้วยไม้ไม่มีลักษณะรูปร่างแตกต่างกัน เมื่อผลแก่เต็มที่ฝักจะแตกออกตามแนว มีเมล็ดจำนวนมากอาจมีถึงล้านเมล็ดในบางชนิด โดยเมล็ดจะมีโอกาสงอกในธรรมชาติได้น้อยมากเพราะต้องอาศัยราพวกไมคอร์ไรซา (mycorrhiza) เพื่อช่วยในการงอก เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้ไม่มีอาหารสะสมอยู่ในเมล็ด (เศรษฐมนันต์ 2552)

2. กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*)

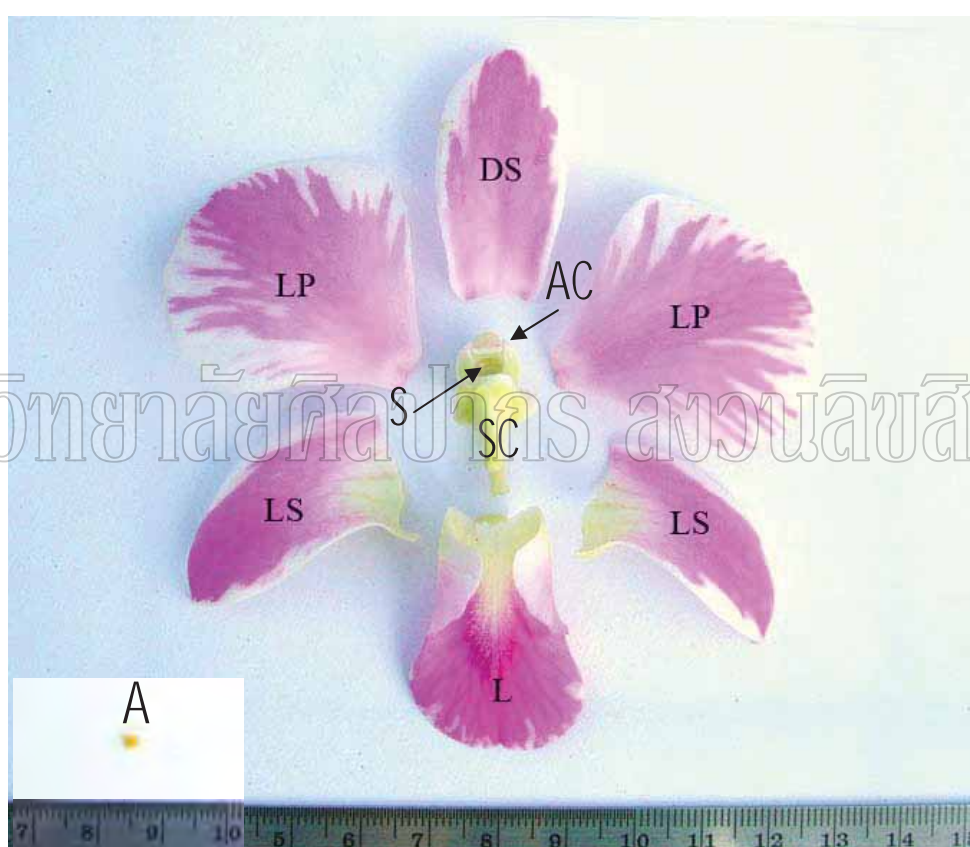
2.1 การกระจายพันธุ์

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) ถือเป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด เนื่องจากพบอยู่ตามธรรมชาติมากกว่าสกุลอื่น ๆ มีแหล่งกำเนิดและการกระจายพันธุ์อยู่ที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียตะวันออก และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก (กรีนไฮเปอร์มาร์ท 2546) นักพฤกษศาสตร์ได้จำแนก และรวบรวมกล้วยไม้ชนิดนี้ที่ค้นพบแล้วได้ประมาณ 1,000 ชนิด (สมศักดิ์ 2535) สำหรับประเทศไทยก็เป็นแหล่งหนึ่งซึ่งมีกล้วยไม้สกุลนี้อยู่เป็นร้อยชนิด ทั้งชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ให้ดอกสวยงาม และชนิดที่มีความสำคัญทางการศึกษา ในธรรมชาติของประเทศไทยกล้วยไม้สกุลนี้กระจายพันธุ์อยู่ทั่วไปทั้งในสภาพภูมิประเทศที่สูงจากระดับน้ำทะเลเป็นพันเมตรลงมาถึงกระทั่งบริเวณที่ใกล้ฝั่งทะเล พบในป่าที่ค่อนข้างทึบไปจนถึงป่าโปร่ง รวมทั้งพื้นที่ป่าแห้งแล้ง (ระพี 2516)

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลักษณะทั่วไปของกล้วยไม้สกุลนี้คือ เป็นพืชอิงอาศัย มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบซิมโพเดียล (sympodial) คือ มีลำลูกกล้วย เมื่อลำต้นเจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะแตกหน่อเป็นลำต้นใหม่ และเป็นกอ ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับเป็น 2 แถว ใบแข็งหนาสีเขียว ดอกออกเป็นช่อ โดยช่อดอกเป็นแบบช่อกระจุก ดอกมีขนาดใหญ่ สวยงามมีหลายสี เช่น สีขาว สีชมพู สีม่วง สีแดง สีเหลือง หรืออื่น ๆ ลักษณะทั่วไปของดอกมีกลีบชั้นนอกคู่บนและคู่ล่างขนาดยาวพอ ๆ กันโดยกลีบชั้นนอกบนจะอยู่อย่างอิสระเดี่ยว ๆ ส่วนกลีบชั้นนอกคู่ล่างจะมีส่วนโคนประสานติดกันตรงสันด้านหลังของฐานเส้าเกสร ซึ่งมีลักษณะยื่นออกไปทางด้านหลังของส่วนล่างของดอก ส่วนโคนของ

กลีบชั้นนอกคู่ล่างและส่วนฐานของเส้าเกสรซึ่งประกอบกันมีลักษณะคล้ายเดือยที่เรียกว่าเดือยดอก กลีบในทั้งสองกลีบนั้นมีลักษณะต่าง ๆ กันแล้วแต่ชนิดพันธุ์ของกล้วยไม้ นั้น ๆ มีเส้าเกสรค่อนข้างสั้นและแข็ง ตั้งตรงต่อจากท่อรังไข่หรือก้านดอกออกมา และมีเกสรตัวผู้ 4 ก้อน มีสีเหลืองลักษณะคล้ายขี้ผึ้ง รูปไข่หรือรูปยาวรี ค่อนข้างแบน ฝังเรียงขนานกันอยู่ภายในรังเกสรซึ่งมีฝาครอบปิด เมื่อติดผลแล้ว ผลเป็นแบบผลแห้งแตก ภายในมีเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก กล้วยไม้หวายส่วนใหญ่มีความเหมาะสมต่อการปลูกเลี้ยงในสภาพอากาศ และพื้นที่ของประเทศไทย จึงนับว่าเป็นสกุลที่ได้รับความนิยมปลูกกันแพร่หลายในประเทศไทยมาเป็นระยะเวลานาน (ระพี 2516)



รูปที่ 1 ส่วนประกอบของดอกกล้วยไม้หวายลูกผสม (*Dendrobium Queen Pink*) DS = dorsal sepal, LS = lateral sepal, LP = lateral petal, L = lip, SC = stamina column, AC = anther cap, A = anther, S = stigma

3. การขยายพันธุ์กล้วยไม้

การขยายพันธุ์เป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการเลี้ยงกล้วยไม้ เพราะเป็นปัจจัยในการช่วยให้การเลี้ยงกล้วยไม้เจริญก้าวหน้าไปสู่จุดมุ่งหมายในด้านต่าง ๆ เพื่อให้กล้วยไม้สามารถสืบทอดสายพันธุ์ให้ยังคงอยู่ เพิ่มปริมาณมากขึ้น นอกจากนี้การขยายพันธุ์ด้วยวิธีต่าง ๆ อาจทำให้ได้กล้วยไม้ลูกผสมที่มีคุณลักษณะใหม่ ๆ แปลก ๆ เพิ่มขึ้นอีกในอนาคต (ระพี 2516)

การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบซึ่งในแต่ละแบบจะเหมาะสมต่อจุดมุ่งหมายที่แตกต่างกัน

3.1 การขยายพันธุ์โดยไม่มีการผสมเกสร (vegetative propagation) คือการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของกล้วยไม้ที่ไม่ได้เกิดจากการผสมเกสร (ไม่ใช่เมล็ด) ไปขยายพันธุ์ เพื่อเพิ่มปริมาณกล้วยไม้นั้น ๆ ซึ่งในกล้วยไม้สกุลหวายจะนิยมใช้วิธีตัดแยกลำหน้า ลำหลัง ตัดตะเกียง หรือใช้วิธีตัดลำแก่ไปปักชำ วิธีการเหล่านี้จะสามารถเพิ่มจำนวนกล้วยไม้ได้ แต่ใช้ระยะเวลานาน มีข้อดีคือพันธุกรรมของต้นจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง นิยมใช้ในกรณีที่มีต้นพันธุ์ที่ค้อยู่แล้ว

3.2 การขยายพันธุ์โดยการผสมเกสร และเพาะเมล็ด (seed propagation) คือการนำเมล็ดซึ่งเกิดจากการผสมเกสรมาทำการเพาะเพื่อให้งอกเป็นต้นใหม่ สามารถเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ได้เป็นจำนวนมาก แต่ต้นกล้วยไม้ที่เกิดจากการเพาะเมล็ดจะมีพันธุกรรมแตกต่างกันไปจากต้นพ่อแม่ อาจจะได้ต้นที่มีลักษณะที่ดี หรือด้อยกว่าเดิมก็ได้ แต่ก็นับว่าวิธีการนี้จะมีประโยชน์ในด้านของการปรับปรุงพันธุกรรมด้วย (ระพี 2530)

4. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น อวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือโปรโตพลาสต์ มาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ และสารควบคุมการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ และอยู่ในสภาวะควบคุมสิ่งแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น โดยชิ้นส่วนของพืชจะมีการพัฒนาได้หลายรูปแบบ และเกิดเป็นต้นได้จำนวนมาก (อรดี 2528)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทมากทั้งในด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐาน เกษตรกรรม การแพทย์ และอุตสาหกรรม โดยเป็นการขยายพันธุ์พืชได้ทีละมาก ๆ ในระยะเวลาสั้น สามารถผลิตพืชปลอดโรค ปรับปรุงพันธุ์พืช ผลิตยา และสารเคมีจากพืช ใช้ในการศึกษาทางชีวเคมี สรีรวิทยา และพันธุศาสตร์ รวมทั้งใช้ในการเก็บรักษาพันธุ์พืชได้อีกด้วย (รังสฤษฎ์ 2541)

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

เนื่องจากเมล็ดของกล้วยไม้โดยทั่วไปไม่สามารถงอกได้ด้วยวิธีเพาะเมล็ดธรรมดา ทั้งนี้เป็นเพราะเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก ไม่มีเอนโดสเปิร์ม (endosperm) ซึ่งเป็นแหล่งเก็บอาหารสะสมไว้สำหรับการเจริญของเอ็มบริโอ การงอกจึงไม่เกิดขึ้นแม้อยู่ในสภาพธรรมชาติ เราอาจพบว่ามิกกล้วยไม้บางชนิดที่เมล็ดสามารถงอกได้เอง ก็เพราะได้รับอาหารมาจากเชื้อราพวกไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza) ในสกุล *Rhizoctonia* ฉะนั้นการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของกล้วยไม้จึงมีความสำคัญ เนื่องจากสามารถผลิตต้นกล้าได้รวดเร็ว และทำได้ง่ายกว่าการปั่นตา (ประศาสน์ 2536)

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อเป็นวิธีที่มีผู้ศึกษามาเป็นเวลานาน โดยในปี 1922-1925 ศาสตราจารย์ แอล. กนูคสัน พิสูจน์ได้ว่าในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ให้สามารถงอกเป็นต้นนั้น ทำโดยเพาะเมล็ดลงในวุ้นอาหารโดยตรงไม่ต้องอาศัยเชื้อรา โดยผสมวุ้นอาหารนั้นให้น้ำตาล และแร่ธาตุอาหารต่าง ๆ ของกล้วยไม้ในรูปที่ละลายน้ำได้ในปริมาณ และสัดส่วนที่พอเหมาะกับที่กล้วยไม้นั้น ๆ ต้องการ (Knudson 1922) โดยในปัจจุบันได้มีการใช้วิธีดังกล่าวเพื่อเพิ่มจำนวนของกล้วยไม้ให้ได้ปริมาณมาก สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเมล็ดจะมีการปรับเพื่อความเหมาะสมต่อการงอก และการเจริญเติบโตตามชนิดของกล้วยไม้ซึ่งจะมีความเหมาะสมต่ออาหารเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน (Kananont *et al.* 2010)

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นมีส่วนประกอบหลัก ๆ คือ ธาตุอาหารหลัก (macro-elements/nutrients) และธาตุอาหารรอง (micro-elements/nutrients) ที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย นอกจากนั้นยังต้องการธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอน วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ต่าง ๆ ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ที่อีกส่วนหนึ่งของต้น แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนต่าง ๆ ในกระบวนการเมตาบอลิซึม (รังสฤษฎ์ 2541) แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความต้องการของพืช ขึ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง และจุดมุ่งหมายที่ผู้เลี้ยงต้องการ

ในการเพาะเมล็ด และเพาะเลี้ยงกล้วยไม้นิยมใช้อาหารสูตรดัดแปลง Vacin and Went, 1949 (VW) เนื่องจากใช้สำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้ได้หลายสกุลอย่างมีประสิทธิภาพ และยังเป็นสูตรอาหารหลักที่มีการดัดแปลงนำไปใช้ในการเพาะเมล็ดจากฝักอ่อนของกล้วยไม้ และใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในระยะที่สองอย่างได้ผลดียิ่ง (ระพี 2516)

5.1 องค์ประกอบของอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

5.1.1 สารอนินทรีย์ (inorganic component)

ในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดต้องมีสารอนินทรีย์เป็นองค์ประกอบพื้นฐาน เนื่องจากพืชที่อยู่ในสถานะ *In vitro* มีความต้องการสารอนินทรีย์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตอย่างสม่ำเสมอเช่นเดียวกับพืชในธรรมชาติ (บุษราภรณ์ 2548) โดยจะมีการแบ่งกลุ่มสารอนินทรีย์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

5.1.1.1 ธาตุอาหารหลัก (Macroelements) คือธาตุอาหารที่พืชใช้ในการเจริญเติบโต และต้องการเป็นปริมาณมาก ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) ซัลเฟอร์ (S) แคลเซียม (Ca) และ แมกนีเซียม (Mg) โดยพืชจะได้รับธาตุอาหารเหล่านี้ในรูปของสารประกอบชนิดต่าง ๆ เช่น KNO_3 KH_2PO_4 K_2HPO_4 KCl NH_4NO_3 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ หรือ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

5.1.1.2 ธาตุอาหารรอง (Microelements) คือธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืช แต่พืชต้องการในปริมาณน้อย ได้แก่ แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) คลอรีน (Cl) โมลิบดีนัม (Mo) โดยพืชจะได้รับธาตุอาหารเหล่านี้ในรูปของสารประกอบชนิดต่าง ๆ เช่น MnCl_2 $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$ MnSO_4 CuSO_4 ZnCl_2 $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ H_3BO_3 Na_2MoO_4 หรือ MoO_3 (ดวงพร 2549)

เหล็กเป็นธาตุอาหารรองที่จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเกลือ EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) เช่น NaFeEDTA หรืออาจใช้ในรูปแบบ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ นอกจากนี้ยังมีสารอนินทรีย์อื่นที่ใช้ในสูตรอาหาร ได้แก่ อลูมิเนียม (Al) โคบอลต์ (Co) ไอโอดีน (I) และนิกเกิล (Ni) (ดวงพร 2546)

5.1.2 สารอินทรีย์ (organic component)

สารที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O) (บุษราภรณ์ 2548) แบ่งเป็นหลายประเภทได้แก่

5.1.2.1 สารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลซึ่งเป็นส่วนสำคัญในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ต้องเพิ่มจากภายนอกเนื่องจากการกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชเกิดลดลงเมื่ออยู่ในช่วงของการเพาะเลี้ยง โดยพืชจะต้องการสารประเภทคาร์บอนเพื่อสนับสนุนการเจริญเติบโต (บุษราภรณ์ 2548) น้ำตาลที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำตาลซูโครส (sucrose) ซึ่งเป็นไดแซ็กคาไรด์ (disaccharide) ที่เมื่อถูกความร้อนจากการอบฆ่าเชื้อจะแตกตัวให้กลูโคส และฟรุกโตส ที่สำคัญคือเป็นน้ำตาลที่หาได้ง่ายและมีราคาถูก (จิตรีบุล 2549)

5.1.2.2 กรดอะมิโน (amino acid) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะมีการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่าง ๆ แต่การเติมกรดอะมิโนก็มี

ความสำคัญต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ เช่นการเติมไกลซีน (glycine) ในอาหารสูตร Murashige and Skoog 1962 (MS) เป็นต้น (ดวงพร 2549)

5.1.2.3 วิตามิน (vitamins) พืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อส่วนใหญ่สามารถสร้างวิตามินได้เอง แต่มีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ โดยวิตามินมีหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ (coenzyme) ในขบวนการต่าง ๆ จึงมีความจำเป็นต้องเติมลงไปเพื่อให้พืชเจริญเติบโตได้ตามปกติ เช่นการเติมวิตามิน B1 (thiamine) วิตามิน B5 (nicotinic acid) และวิตามิน B6 (pyridoxine) เป็นต้น (บุษราภรณ์ 2548)

5.1.2.4 ผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ผงถ่านผลิตมาจากไม้ที่ถูกคาร์บอนไนซ์ด้วยอุณหภูมิสูงควบคู่ไปกับไอน้ำ ภายในมีรูพรุนสามารถดูดเอาแก๊สหรือสารเคมีไว้ได้ การใส่ผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะช่วยดูดซับสารพิษกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ช่วยให้อาหารเกิดสภาพมีดซึ่งช่วยให้รากเกิดได้ดี และช่วยคงสภาพเสถียรของ pH (คำณูณ 2544; Arditti and Ernst 1993)

5.1.2.5 สารประกอบธรรมชาติที่ซับซ้อน (natural complexes) เป็นสารประกอบซับซ้อนที่เกิดเองตามธรรมชาติ ไม่สามารถบอกความเข้มข้นที่แน่นอนของสารต่าง ๆ ในอาหารได้ เนื่องจากมีความแปรผันของปริมาณสารประกอบที่เป็น growth-promoting หรือ inhibitory ในสารประกอบจากธรรมชาติเหล่านั้น (บุษราภรณ์ 2548) เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน ถั่วคั่วบด น้ำต้มมันฝรั่ง และ protein hydrolysates (เช่น casein hydrolysate, peptone และ tryptone) โดยเมื่อใส่สารเหล่านี้ลงในอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้จะส่งเสริมการเจริญของกล้วยไม้ต่างกัน (รังสฤษฎ์ 2540)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มักจะมีการเติมน้ำมะพร้าวอ่อน เนื่องจากในน้ำมะพร้าวอ่อนมีสารต่าง ๆ ได้แก่ไซโทไคนิน คาร์โบไฮเดรตหลายชนิด กรดอินทรีย์และน้ำตาล

นอกจากนี้ยังนิยมเติมน้ำต้มมันฝรั่ง เนื่องจากในมันฝรั่งมีโพลีเอมีน (polyamine) และ biosynthetic enzyme กระจายอยู่ทั่วไปในส่วนต่าง ๆ โดยสารโพลีเอมีนจะไปมีผลต่อการเจริญพัฒนาของเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง มีผลต่อการเพิ่มกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ในเนื้อเยื่อมากขึ้น นอกจากนี้ในมันฝรั่งยังจะประกอบด้วยแป้ง น้ำตาล โปรตีนและวิตามินอีกด้วย การใส่น้ำต้มมันฝรั่งในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้มีรายงานว่าช่วยให้เมล็ดงอกได้ดีขึ้น และต้นอ่อนจะแข็งแรง (Arditti and Ernst 1993)

5.1.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulator) เป็นสารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น ถึงจะใช้ในปริมาณเล็กน้อยก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช โดยไปมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้น หรือยับยั้งการเจริญเติบโตในพืชนั้น ๆ

(บุญรากรณ์ 2548) สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแบ่งออกได้เป็นหลายกลุ่ม แต่ที่นิยมใช้โดยส่วนใหญ่คือ ออกซิน และไซโทไคนิน

ในปัจจุบันมีการนำสารอื่น ๆ นอกเหนือจากสารข้างต้นมาเติมลงในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นไม้ที่ทำการเพาะเลี้ยงให้ได้ผลดียิ่งขึ้น โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งไคโตซานก็เป็นสารสกัดจากธรรมชาติตัวหนึ่ง ที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ และมีรายงานว่าไคโตซานมีผลต่อการเจริญเติบโตในพืชหลายชนิด รวมทั้งกล้วยไม้ (Limpanavech *et al.* 2008; Uthairatanakij *et al.* 2007) ดังนั้นการใช้ไคโตซานเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ จะมีส่วนช่วยในการลดปัญหาการตกค้างของการใช้สารเคมีและยาปราบแมลงศัตรูพืช มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ช่วยลดการนำเข้าสารเคมีในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้จากต่างประเทศ

6. ไคโตซาน

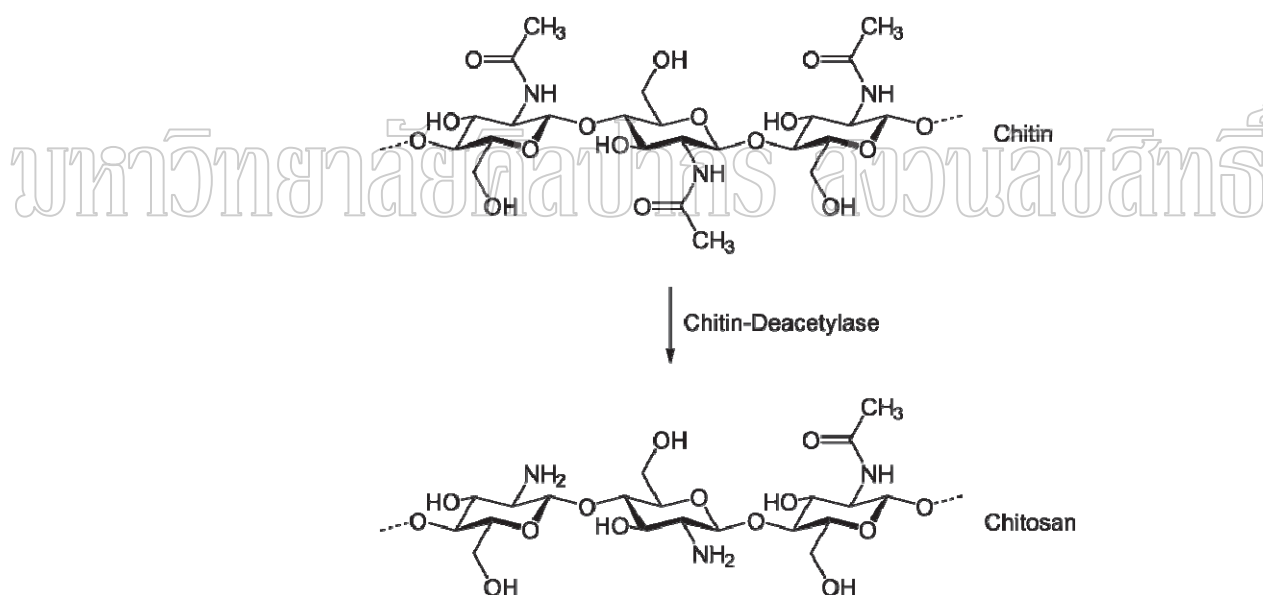
ในแต่ละปีประเทศไทยมีการส่งออกอาหารทะเลแช่แข็งเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะกุ้ง ปู และปลาหมึกซึ่งอัตราการส่งออกนี้เป็นดัชนีแสดงถึงกากของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตอาหารเปลือก-หัวกุ้ง กระดองปู และแกนปลาหมึก ในปัจจุบันของเหลือเหล่านี้ถูกขายให้กับโรงงานผลิตอาหารสัตว์ในราคาที่ต่ำมาก ดังนั้น การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม จึงเป็นที่จับตามองของนักอุตสาหกรรม ซึ่งของเหลือเหล่านี้สามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อว่า ไคติน (chitin) และไคโตซาน (chitosan) ได้ (Lertsutthiwong *et al.* 2002)

ไคติน-ไคโตซาน เป็นวัสดุชีวภาพเกิดในธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตผสมที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนติดอยู่ด้วยทำให้มีคุณสมบัติที่โดดเด่นและหลากหลาย มีประสิทธิภาพสูงในกิจกรรมชีวภาพ และยังสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ดังนั้นจึงเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม สารไคติน-ไคโตซานนี้มีลักษณะพิเศษในการนำมาใช้ดูดซับและจับตะกอนต่าง ๆ ในสารละลายแล้วนำสารกลับมาใช้ใหม่ได้ซึ่งเป็นการหมุนเวียนตามระบบธรรมชาติ (กมลศิริ 2546)

ไคตินที่เกิดในธรรมชาติมีโครงสร้างของผลึกที่แข็งแรงมีการจัดตัวของรูปแบบผลึกเป็น 3 ลักษณะได้แก่ แอลฟาไคติน, บีต้าไคติน, และแกมมาไคติน ไคตินที่เกิดในเปลือกกุ้งและปู ส่วนใหญ่อยู่ในรูปแอลฟาไคติน ส่วนไคตินที่อยู่ในปลาหมึกพบว่าส่วนใหญ่เป็นบีต้าไคติน ในการจัดเรียงตัวของโครงสร้างตามธรรมชาติ พบว่าแอลฟาไคตินมีคุณลักษณะของเสถียรภาพทางเคมีสูงกว่าบีต้าไคติน ดังนั้นจึงมีโอกาสที่บีต้าไคตินสามารถจะเปลี่ยนแปลงรูปแบบไปเป็นแอลฟาไคติน

ได้ในสารละลายของกรดแก่ เช่น กรดเกลือ เป็นต้น ส่วนแอมมาไคตินเป็นโครงสร้างผลสมระหว่างแอลฟาและบีต้าไคติน (ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ 2544)

ไคตินถือเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีมากรองจากเซลล์ulos โดยถือเป็นองค์ประกอบหลักภายนอกของสัตว์ทะเลต่าง ๆ รวมไปถึงแมลง รา และยีสต์ด้วย โครงสร้างหลักของไคตินคือ poly(β -(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose) ซึ่งเป็นวัสดุชีวภาพที่มีโครงสร้างคล้ายเซลลูลอส แต่แตกต่างกันที่ตำแหน่ง C-2 โดยเซลลูลอสจะประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ส่วนไคตินประกอบด้วยหมู่อะซิทามิโด (acetamido group) ส่วนไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เกิดจากปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิลของไคติน (deacetylation) ในสารละลายต่างเข้มข้น ซึ่งไคโตซานนี้มีชื่อทางเคมีว่า poly(β -(1-4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose) มีสมบัติที่ไม่ละลายในน้ำที่มี pH เป็นกลาง และตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทั้งหมด แต่สามารถละลายได้ในกรดอ่อน (รังสิมา และคณะ, 2552)



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตซาน

ที่มา: โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตซาน อ้างถึงใน Chitosan -Synthese. [Chitosan Synthese](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chitosan_Synthese.svg?uselang=fr) [Online], Accessed 11 May 2010. Available from http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chitosan_Synthese.svg?uselang=fr

การประยุกต์ใช้ไคโตซานทางการเกษตร

ในด้านการเกษตรกรรมนั้นมีการนำไคโตซานมาใช้เป็นอาหารเสริมให้แก่พืชเพื่อช่วยควบคุมการทำงานของพืช ผลไม้ และต้นไม้ให้ทำงานได้ดีขึ้นคล้าย ๆ กับการเพิ่มปุ๋ยพิเศษให้แก่พืชผักผลไม้ นอกจากนี้ยังนำไปใช้ในการป้องกันโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ และเชื้อราบางชนิดอีกด้วย ปัจจุบันนี้เกษตรกรได้นำเอาผลิตภัณฑ์ไคโตซานไปใช้ประโยชน์กับพืชผักผลไม้หลายชนิดแล้ว เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ต้นหอม กระเทียม แดงโม ข้าว ถั่ว ข้าวโพด ตลอดจนไม้ดอกไม้ประดับที่มีราคาสูงหลายชนิด เช่น ดอกคาร์เนชั่น ดอกเยอบีร่าพันธุ์นอก ดอกเกลดิโอลัส และดอกบานชื่นฝรั่ง เป็นต้น (กมลศิริ 2546) นอกจากนี้มีการใช้ไคตินและไคโตซานผสมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้เกิดการยึดเกาะกันอีกด้วย (รังสิมา และคณะ 2552)

7. การประยุกต์ใช้ไคโตซานกับกล้วยไม้ และไม้ดอกไม้ประดับชนิดอื่น

Wikitkankosol และ Thammasiri (1992) ศึกษาผลของไคโตซานความเข้มข้น 10 20 30 40 50 60 70 80 90 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อการเจริญของโพรโทคอร์มของกล้วยไม้ดินใบหมาก ขนาด 0.1-0.2 มิลลิเมตร ทั้งในอาหารรุ้น และอาหารเหลวสูตร Murashige and Skoog, 1962 (MS) ที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง ($1/2$ MS) ผลการทดลองพบว่าไคโตซานมีผลทำให้โพรโทคอร์มมีการเจริญเติบโตพัฒนาเป็นยอดและรากได้ ซึ่งการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เลี้ยงบนอาหารรุ้นที่มีไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเหลวที่มีไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่มีความยาวมากที่สุดคือ 1.75 และ 7.75 เซนติเมตรตามลำดับ และพบว่าไคโตซาน 80 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารรุ้น และ 90 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารเหลว สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดเท่ากับ 15.75 และ 78.25 ยอดตามลำดับ และไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารรุ้น สามารถชักนำให้เกิดความยาวรากได้สูงสุดเท่ากับ 3.13 เซนติเมตร และอาหารเหลวที่ไม่เติมไคโตซานชักนำให้เกิดความยาวรากได้สูงสุดเท่ากับ 4.51 เซนติเมตร อาหารรุ้นที่มีไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเหลวที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 3.02 และ 47.00 รากตามลำดับ และพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดในอาหารเหลวเกิดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าในอาหารรุ้น

Ohta และคณะ (2004) ศึกษาผลของไคโตซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่นำมาผสมในดินใช้ปลูกไม้ประดับ 8 ชนิด คือ *Torenia fournieri* Linden ex E. Fourn., *Exacum affine* Baft., *Begonia hiemalis* Fotsch., *Sinningia speciosa* (Lodd.), *Lobelia erinus* L., *Mimulus hybridus* hort. Ex A. Siebert et Voss, *Calceolaria herbeo hybrida* Voss และ *Campanula fragilis* L. เปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับปุ๋ยที่มีไนโตรเจนเท่ากับไคโตซาน และต้นที่ไม่ได้รับปุ๋ยซึ่งถือเป็นชุดควบคุมพบว่า

ไคโตซานที่ให้ไปมีผลสนับสนุนการเจริญเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และ ชุดที่ได้รับปุ๋ยที่มีไนโตรเจนเท่ากับในไคโตซานในช่วง 6-13 สัปดาห์หลังจากการปลูกเลี้ยง และพบว่า *Torenia fournieri* Linden ex E. Fourn., *Exacum affine* Baft., *Begonia hiemalis* Fotsch., *Sinningia speciosa* (Lodd.), *Lobelia erinus* L., *Mimulus hybridus* hort. Ex A. Siebert et Voss ที่ได้รับไคโตซานเกิดการออกดอกเร็วกว่าทริตเมนต์อื่น ๆ แต่ไม่มีผลใน *Calceolaria herbeohybrida* Voss และ *Campanula fragilis* L. ดังนั้นไคโตซานอาจไปมีผลเร่งการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพในดินตามการทดลองที่เคยมีมาก่อนหน้านี้ หรือ ไคโตซานอาจถูกรากพืชดูดเข้าไปใช้ประโยชน์

Chandrkrachang และคณะ (2005) ศึกษาผลของไคโตซาน 2 ชนิดคือ CTS-1 (เปอร์เซ็นต์ DD = 85 เปอร์เซ็นต์) และ CTS-2 (เปอร์เซ็นต์ DD = 75-80 เปอร์เซ็นต์) ที่ความเข้มข้น 3-4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อคุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้เมื่อทำการศึกษาระยะเวลา 1 ปี โดยใช้กล้วยไม้ *Dendrobium Sensational Purpul* (*Dendrobium* SP) อายุ 8 เดือน และมีต้นที่ไม่ได้รับไคโตซานเป็นชุดควบคุม หลังจากเริ่มทำการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับไคโตซานจะเกิดก้านช่อดอกเร็วกว่าในชุดควบคุม และขนาดของช่อดอกที่ได้จะจัดอยู่ในขนาดยาวพิเศษมากกว่าในชุดควบคุม ซึ่งผลที่ได้ทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น

Nge และคณะ (2006) ศึกษาผลของไคโตซานที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือ ไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง (shrimp chitosan) 10 กิโลดัลตัน และ 100 กิโลดัลตัน ไคโตซานโอลิโกเมอร์ (chitosan oligomer) จากบริษัท Kittolife Co. Ltd., Korea. 1 กิโลดัลตัน และ ไคโตซานที่สกัดจากเชื้อรา (fungal chitosan) 10 กิโลดัลตัน ที่มีต่อการเจริญ และพัฒนาของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ *Dendrobium phalaenopsis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารวุ้น และอาหารเหลวสูตร Vacin and Went, 1949 (VW) พบว่าผลการเจริญจากเนื้อเยื่อของตาข้างเกิดเป็น protocorm-like bodies ในอาหารเหลวที่เติมไคโตซานโอลิโกเมอร์ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมวลรวมเพิ่มเป็น 15 เท่าเมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์ และ ไคโตซานโอลิโกเมอร์ 1 กิโลดัลตัน ให้ผลดีกว่าการใช้ไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง 10 กิโลดัลตัน และให้ผลดีกว่า 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง 100 กิโลดัลตัน และสำหรับ ไคโตซานที่สกัดจากเชื้อรา พบว่าไคโตซานที่สกัดจากเชื้อรา 10 กิโลดัลตัน ให้ผลการเจริญที่ดีกว่า ไคโตซานโอลิโกเมอร์ 1 กิโลดัลตัน การพัฒนาของโพรโทคอร์มกล้วยไม้จึงเกิดเป็นราก และยอดถูกศึกษาในอาหารวุ้น พบว่ามี 5-7 ต้นเกิดขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่มีการเติมไคโตซานที่สกัดจากเชื้อรา 10 กิโลดัลตัน และไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้ง 1 กิโลดัลตัน ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้สามารถนำไปประกอบกับผลการทดลองที่ได้จากในฟาร์ม แต่ก็ยังไม่สามารถอธิบายถึงผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้ชัดเจน

อภิรดี และกุลนาถ (2550a) ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นดาวเรือง โดยการแช่เมล็ดดาวเรืองในไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 10 20 และ 40 พีพีเอ็ม และที่ไม่มีไคโตซานเป็นชุดควบคุม เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะในวัสดุเพาะ และย้ายต้นลงปลูกในกระถางหลังจากเพาะเมล็ด 12 วัน โดยรดปุ๋ยและไคโตซานทุกสัปดาห์จนสิ้นสุดการทดลอง พบว่าไคโตซานสามารถชักนำให้ดาวเรืองออกดอกเร็วขึ้น (36 วัน) เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้รับไคโตซาน (42 วัน) และมีผลต่อการชักนำการบานของดอกดาวเรืองอย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งมีน้ำหนักแห้งต้นและใบมากกว่าที่ไม่ได้รับไคโตซานอีกด้วย

อภิรดี และกุลนาถ (2550b) ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นเทียนฝรั่ง โดยนำต้นกล้าอายุ 2 สัปดาห์ไปปลูกในกระถาง แล้วรดด้วยไคโตซานความเข้มข้น 20 พีพีเอ็ม ร่วมกับปุ๋ย 16-16-16 และที่รดด้วยปุ๋ย 16-16-16 เพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้รับไคโตซานและปุ๋ย พบว่าการให้ไคโตซานร่วมกับปุ๋ย ชักนำให้ต้นเทียนฝรั่งมีขนาดต้น น้ำหนักสด และมีจำนวนดอกตมมากกว่าต้นเทียนฝรั่งที่ได้รับปุ๋ยเพียงอย่างเดียว และต้นที่ไม่ได้รับทั้งปุ๋ย และไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Limpanavech และคณะ (2008) ศึกษาผลของไคโตซาน 6 ชนิด คือ โพลีเมอร์(polymer) 70 80 และ 90 เปอร์เซนต์ (P-70 P-80 และ P-90) และ โอลิโกเมอร์(oligomer) 70 80 และ 90 เปอร์เซนต์ (O-70 O-80 และ O-90) ที่ความเข้มข้น 1 10 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อ *Dendrobium* 'Eiskul' ในแปลงปลูก พบว่าไคโตซานชนิด O-80 ที่ทุกความเข้มข้นมีผลทำให้เกิดดอกเร็วกว่าชนิดอื่น ๆ และเร็วกว่าที่ไม่ได้รับไคโตซานด้วย ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงใช้ไคโตซานชนิด O-80 มาศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของกล้วยไม้ชนิดนี้ และได้ผลการศึกษาดังนี้ ลักษณะของคลอโรพลาสต์ในใบอ่อนของต้นที่ได้รับไคโตซาน 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดใหญ่กว่าคลอโรพลาสต์ของใบอ่อนในต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน และในใบแก่ที่ได้รับไคโตซาน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดคลอโรพลาสต์ใหญ่กว่าในใบแก่ของต้นที่ไม่ได้รับไคโตซานด้วย

Kananont และคณะ (2010) ทำการศึกษาผลของชนิดไคโตซานที่แตกต่างกันต่อการงอกและการพัฒนาของโพรโทคอร์มกล้วยไม้ 2 ชนิดคือ *Dendrobium bigibbum* var. *compactum* และ *Dendrobium formosum* ซึ่งชนิดของไคโตซานที่ใช้มี 6 ชนิดแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ โพลีเมอร์ (polymer) 70 80 และ 90 เปอร์เซนต์ (P-70 P-80 และ P-90) และ โอลิโกเมอร์(oligomer) 70 80 และ 90 เปอร์เซนต์ (O-70 O-80 และ O-90) ความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้ทดลองคือ 0 10 20 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร VW เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าไคโตซานทั้ง 6 ชนิด 4 ความเข้มข้นมีผลเพิ่มสัดส่วนการงอกของเมล็ดเมื่อเทียบกับในอาหารที่ไม่มีไคโตซานในกล้วยไม้ *Dendrobium formosum* แต่ในทางตรงข้ามไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ *Dendrobium*

bigibbum var. *compactum* ในทุกชนิด และความเข้มข้นของไคโตซานที่นำมาทดสอบ อย่างไรก็ตามทุกชนิดของไคโตซานที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นชนิด O-90 มีผลเพิ่มการเจริญของโพรโทคอร์รัม *Dendrobium bigibbum* var. *compactum* และไคโตซานชนิด P-70 ที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นชนิดและความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการเพิ่มอัตราการเจริญของโพรโทคอร์รัม *Dendrobium formosum* ผลที่ได้ดังกล่าวพอจะสรุปได้ว่าผลของไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ และการพัฒนาของโพรโทคอร์รัมขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ และระยะในการพัฒนา

จากการศึกษาทดลองที่กล่าวมาพอจะสรุปได้ว่า นอกจากไคโตซานมีผลต่อการเจริญของกล้วยไม้ และไม้ดอกไม้ประดับแล้ว ยังมีผลในการเร่งระยะเวลาการเกิดดอกอีกด้วย ซึ่งการเกิดดอกของพืชมีความสำคัญในเรื่องของการขยายพันธุ์ และดำรงสายพันธุ์ต่อไป

8. การเกิดดอกของพืช

อย่างไรก็ตามกลไกควบคุมการเกิดดอกของพืชเป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาที่สลับซับซ้อน โดยมีหลาย ๆ ปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง ทั้งทางสภาพแวดล้อมภายนอก และอิทธิพลภายในต้นพืชเอง โดยจะเป็นการเปลี่ยนแปลงจากการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้านสาขา (vegetative growth) ไปสู่การเจริญทางด้านสืบพันธุ์ (reproductive growth) ที่เกิดอย่างเป็นลำดับขั้นตอนอย่างต่อเนื่อง (ลิลลี่ และคณะ 2549) โดยทั่ว ๆ ไปกระบวนการเกิดและพัฒนาของดอกจะแบ่งเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้

1. ระยะการเจริญเต็มวัย (maturation stage) เป็นระยะที่ขึ้นอยู่กับความพร้อมของอายุนอกเหนือจากอาหารสะสม และสภาพแวดล้อม โดยที่พืชแต่ละชนิดจะมีระยะเวลาความพร้อมที่แตกต่างกัน

2. ระยะชักนำ (induction stage) เป็นการเปลี่ยนแปลงในขั้นแรกของการเกิดดอก โดยที่พืชจะตอบสนองต่อการกระตุ้น และการชักนำจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น แสง อุณหภูมิ และความสมบูรณ์ เป็นต้น พืชจะมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการสร้างสารเมแทบอลิท์ในเซลล์ เพื่อสังเคราะห์ฮอร์โมนที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดดอก และลำเลียงไปยังส่วนต่าง ๆ เพื่อให้เกิดตาดอก

3. ระยะการเกิดตาดอก (initiation of floral primordia) เป็นระยะที่เริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงของตาที่จะเจริญเป็นดอก โดยเนื้อเยื่อเจริญมีการขยายตัวทำให้มีการพองตัวของตาดอก

4. ระยะการพัฒนาของดอก (floral development หรือ organogenesis) เป็นระยะที่เกิดส่วนประกอบต่าง ๆ ของดอก จนเกิดเป็นดอกที่สมบูรณ์ (สมบุญ 2548)

การเกิดดอกของพืชนั้นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิด โดยที่แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1. ปัจจัยภายในพืช

1.1 ชนิดและพันธุ์พืช ชนิดของพืชที่แตกต่างกันจะถูกควบคุมด้วยลักษณะทางพันธุกรรม ถึงแม้ว่าพืชต่างชนิดกันจะอยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน ระยะเวลาการเกิดดอกก็จะแตกต่างกัน (สมบุญ 2548)

1.2 อายุของพืช พืชแต่ละชนิดจะมีระยะเวลาในช่วงการเจริญไปจนถึงระยะเต็มวัยที่แตกต่างกัน โดยพืชจะออกดอกเมื่อถึงช่วงเวลาที่เหมาะสม และอายุของพืชจะมีความสัมพันธ์กับขนาด และปริมาณอาหารสะสมภายในพืชด้วย (สมบุญ 2548)

1.3 ปริมาณสารฮอร์โมนภายในพืช ระดับของฮอร์โมนและการสร้างฮอร์โมนก็มีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมทั้งภายใน และภายนอกพืช โดยพืชแต่ละชนิดก็มีการตอบสนองต่อฮอร์โมนแตกต่างกัน เช่น จิบเบอเรลลินมีผลในการสนับสนุนการเกิดดอกของพืชบางชนิด และสามารถยับยั้งการเกิดดอกของพืชบางชนิดได้เช่นกัน นอกจากนี้ก็มีรายงานสารกระตุ้นการเจริญเติบโตอื่น ๆ ที่มีผลในการเกิดดอกของพืช เช่น สารในกลุ่มของไซโทไคนิน และสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิด (สมบุญ 2548)

2. ปัจจัยกับสิ่งแวดล้อมภายนอก

2.1 แสง เป็นแหล่งพลังงานที่มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารของพืช จึงมีผลในเรื่องของอาหารสะสมในพืช ดังนั้นความเข้มแสงที่พืชได้รับ รวมทั้งช่วงเวลาการได้รับแสงก็มีความสำคัญต่อการเกิดดอกของพืช ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชนั้น ๆ ด้วย โดยสามารถจำแนกชนิดของพืชตามการตอบสนองต่อช่วงระยะเวลาการได้รับแสงออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

2.1.1 พืชวันสั้น (short day plant) พืชที่ออกดอกเมื่อได้รับแสงช่วงวันสั้นกว่าช่วงเวลาวิกฤติ

2.1.2 พืชวันยาว (long day plant) พืชที่ออกดอกเมื่อได้รับแสงช่วงวันยาวกว่าช่วงเวลาวิกฤติ

2.1.3 พืชที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงวัน (day neutral plant) พืชที่ออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาได้รับแสง (สัมพันธ์ 2525)

2.2 อุณหภูมิ พืชบางชนิดต้องการอุณหภูมิต่ำในการชักนำให้เกิดตาดอก หรือยับยั้งการพักตัวของตาดอก แต่สำหรับพืชบางชนิดการออกดอกก็ไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ แต่ขึ้นกับระดับฮอร์โมน สารอาหารในดิน และปริมาณน้ำแทน (สัมพันธ์ 2525)

2.3 น้ำ การขาดน้ำของพืชอาจก่อให้เกิดความเครียดจนไปชักนำให้เกิดการออกดอกได้ แต่ถ้าขาดน้ำในระยะการเจริญของตาดอกก็อาจทำให้ตาดอกไม่สามารถเจริญต่อได้ และการรดน้ำให้พืชในระยะที่สร้างตาดอกก็มีผลทำให้การสร้างตาดอกช้าลงได้เช่นกัน (สัมพันธ์ 2525)

2.4 ปริมาณสารอาหารในพืช การเกิดดอกของพืช ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของไนโตรเจน และคาร์โบไฮเดรตในต้นพืช ถ้าพืชได้รับไนโตรเจนมากจะทำให้เกิดดอกช้า เนื่องจากไปสนับสนุน การเจริญทางการสร้างใบ หรือกิ่งแทน แต่ถ้าพืชได้รับคาร์โบไฮเดรต หรือสารประกอบคาร์บอน รวมไปถึงฟอสฟอรัส โพแทสเซียมสูง จะไปมีผลสนับสนุนการเกิดดอกได้ (สมบุญ 2548)

2.5 สารเคมี รวมทั้งสารควบคุมการเจริญที่ให้จากภายนอกก็มีผลต่อการเจริญ และการ ออกดอกของพืชเช่นเดียวกัน เช่น การให้จิบเบอเรลลินจากภายนอกมีผลชักนำให้พืชวันยาวหลาย ชนิดออกดอกได้ในสภาพช่วงวันสั้น ไซโทไคนินและออกซินก็มีผลสนับสนุนให้เกิดการออกดอก ในพืชวันสั้นบางชนิดเช่นกัน (สัมฤทธิ์ 2544)

นอกจากการศึกษาเรื่องการเกิดดอกในธรรมชาติของพืชแล้ว ก็มีผู้สนใจศึกษาการชักนำให้ พืชเกิดการออกดอกในหลอดทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกล้วยไม้ซึ่งถือเป็นพืชเศรษฐกิจของ ประเทศไทย มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการออกดอกของกล้วยไม้พบว่า มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง

9. การชักนำให้เกิดดอกของกล้วยไม้

Goh (1979) ทดลองศึกษาการเกิดดอกของกล้วยไม้ *Dendrobium Louisae* cv. 'Dark' พบว่า กล้วยไม้ชนิดนี้จะเกิดดอกหลังจากมีการเจริญของลำลูกกล้วยแล้ว เมื่อต้นกล้วยไม้นั้นเพาะเลี้ยงอยู่ใน ที่ร่ม ลำลูกกล้วยใหม่จะเกิดในช่วงของการเจริญเติบโต และช่วงของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ แต่ จะไม่มีการเกิดก้านช่อดอกขึ้น จากนั้นทำการทดลองชักนำให้เกิดก้านช่อดอกโดยการให้ benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-4} โมลาร์ ให้ gibberellic acid (GA) ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-4} โมลาร์ และให้ผสมกันระหว่าง BA ความเข้มข้น 10^{-3} และ GA ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ พบว่าเมื่อกล้วยไม้ได้รับ BA จะกระตุ้นให้เกิดช่อดอกในเวลา 9-10 วัน เมื่อเวลาผ่านไป 21 วันเกิด ก้านช่อดอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ทั้งสองความเข้มข้น แต่เมื่อกล้วยไม้ได้รับ GA จะไม่เกิดก้าน ช่อดอกเลย และเมื่อกล้วยไม้ได้รับทั้ง BA และ GA จะเกิดก้านช่อดอกเมื่อเวลาผ่านไป 7-8 วัน และ เมื่อครบ 21 วันเกิดก้านช่อดอก 100 เปอร์เซ็นต์

Wang และคณะ (1997) ทดลองศึกษาผลของฮอร์โมน และ polyamines ที่มีต่อการชักนำให้ เกิดดอกของ *Dendrobium candidum* ในหลอดทดลอง โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี การเติม NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร MS เติม spermidine 0.5 2 และ 4 มิลลิโมลต่อลิตร MS เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร MS เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ spermidine 0.5 และ 2 มิลลิโมลต่อลิตร MS เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อ ลิตร MS เติม ABA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการเพาะเลี้ยงใน MS เติม ABA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนเป็นเวลา 15-20 วัน จนเกิดยอดใหม่ แล้วจึงย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

พบว่าในอาหารสูตรต่าง ๆ สามารถชักนำให้เกิดก้านช่อดอกจากยอด หรือโพรโทคอร์มได้ในเวลา 150 วัน คิดเป็น 31.6-45.8 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเลี้ยงในอาหาร MS เติม ABA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรก่อนแล้วจึงย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นสูตรที่ทำให้เกิดก้านช่อดอกดีที่สุดคือ 45.8 และ 82.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และในการทดลองนี้ยังพบว่าการคัดเลือกชิ้นส่วนของพืชมาเพาะเลี้ยงต่างกัน ก็มีผลตอบสนองต่ออาหารแต่ละชนิดต่างกัน

Kostenyuk และคณะ (1999) ทดลองศึกษาผลของธาตุอาหาร และสารเร่งการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินต่อการชักนำให้เกิดดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ *Cymbidium niveo-marginatum* Mak พบว่าการเติมสารเร่งการเจริญเติบโต BA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MS ที่ปรับลดปริมาณไนโตรเจน และเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัส สามารถชักนำให้เกิดการออกดอกได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 40 วัน ขณะที่การเติมสารเร่งการเจริญเติบโต TDZ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าเกิดดอกสูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นจะมีการเจริญเติบโตน้อยลง และดอกเหี่ยวไปในที่สุด ซึ่งอาจเกิดจากความไม่เหมาะสมของสารเร่งการเจริญเติบโต และยังพบว่าการตัดรากออกก็เป็นวิธีที่สามารถชักนำให้เกิดดอกในกล้วยไม้ชนิดนี้

Vaz และ Kerbuay (2000) ทดลองศึกษาผลของปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ คือไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) และแคลเซียม (Ca) ในอาหารสูตร VW ที่มีต่อการชักนำให้ *Psychomorchis pusilla* ออกดอกภายในหลอดทดลอง พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 150 วัน แล้วทำการย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ลดปริมาณธาตุอาหารทุกชนิดลงครึ่งหนึ่ง ($\frac{1}{2}$ VW) สามารถชักนำให้เกิดช่อดอกได้ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับอาหารที่มีการลดปริมาณไนโตรเจนลงเป็นครึ่งเท่า ($\frac{1}{2}$ N) และเศษหนึ่งส่วนสี่เท่า ($\frac{1}{4}$ N) และพบว่าถ้าเพิ่มปริมาณของไนโตรเจน และโพแทสเซียม 2 เท่า (2N และ 2K) ทำให้ปริมาณช่อดอกที่เกิดลดลง การเพิ่มปริมาณแคลเซียมเป็น 2 เท่า (2Ca) สนับสนุนการเกิดช่อดอกมากขึ้น และฟอสฟอรัสไม่มีผลต่อการเกิดช่อดอก นอกจากนั้นศึกษาผลของชนิดของไนโตรเจนที่กล้วยไม้ได้รับ คือในรูปไนเตรต (NO_3^-) และแอมโมเนียม (NH_4^+) พบว่าในช่วงการเจริญเติบโตถ้าต้นกล้วยไม้ได้รับไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมมีการเจริญดีกว่า แต่ในช่วงระยะการออกดอกต้นกล้วยไม้ในโตรเจนในรูปไนเตรตสนับสนุนให้เกิดช่อดอกมากกว่า

Kataoka และคณะ (2004) ทดลองศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับปริมาณน้ำตาลที่สะสมในใบของ *Phalaenopsis* ลูกผสม (*Phalaenopsis* White Dream x *Phalaenopsis* Yukimai Dream) ก่อนการออกดอก โดยมีปัจจัยที่สนใจคือปริมาณความเข้มแสงที่ได้รับ อุณหภูมิ และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าต้นที่ปลูกเลี้ยงในสภาพที่ความเข้มแสงต่ำ (0.6 โมลต่อตารางเมตรต่อวัน) จะมีระดับซูโครสสะสมในใบลดลงในอาทิตย์ที่ 3 ของการทดลอง และเลื่อนระยะเวลาออก

ดอกไป 47 วันเมื่อเทียบกับที่ปลูกในความเข้มแสงสูง (4.3 โมลต่อตารางเมตรต่อวัน) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และเมื่อปลูกเลี้ยงในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง (27 องศาเซลเซียส) จะมีปริมาณชูโครสลดลงในอาทิตย์ที่ 2 หลังเริ่มทดลอง และเลื่อนระยะเวลาออกดอกไป 9 วันเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิต่ำ (23 องศาเซลเซียส) และเมื่อปลูกเลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 1,000-3,000 พีพีเอ็ม ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณชูโครสสะสมในใบเพิ่มขึ้นในอาทิตย์ที่ 2-3 หลังเริ่มทดลอง และเร่งการเกิดดอกให้เร็วขึ้น 10 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ แสดงว่าความเข้มแสงสูง อุณหภูมิต่ำ และมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะช่วยส่งเสริมให้เกิดดอกของกล้วยไม้ชนิดนี้เร็วยิ่งขึ้น และปริมาณของชูโครสก็มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดดอกเช่นเดียวกัน

Ferreira และคณะ (2006) ทดลองศึกษาผลของ Thidiazuron (TDZ) ที่เกี่ยวข้องกับระดับของฮอร์โมนไซโทไคนิน และ indoleacetic acid (IAA) ในระหว่างการเกิดดอกจากยอดของ *Dendrobium Second Love* ในหลอดทดลอง โดยศึกษาปริมาณของ IAA และชนิดของไซโทไคนินต่าง ๆ คือ zeatin zeatin riboside isopentenyladenine และ isopentenyladenosine ในช่วงที่ถูกชักนำให้เกิดดอกเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร VW ที่เติมธาตุอาหารรองของสูตร MS เป็นชุดควบคุม พบว่าในอาหาร ที่มี TDZ 1.8 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโทไคนินและ IAA ในเนื้อเยื่อมากที่สุดเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับ TDZ และพบว่าระดับการเพิ่มของไซโทไคนินในเนื้อเยื่อโดยเฉพาะ isopentenyladenine isopentenyladenosine และ IAA ในช่วงแรก (วันที่ 5) ของการทดลองในทริตเมนต์ที่มี TDZ มีความเกี่ยวข้องกับการชักนำให้เกิดดอก และการเพิ่มของระดับฮอร์โมนในช่วงที่ 2 (วันที่ 25) ของการทดลองจะสัมพันธ์กับการพัฒนาของดอกมากกว่า และจากการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในเนื้อเยื่อของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ 1.8 ไมโครโมลาร์ในช่วงเวลา 30 วันแสดงว่าทั้งออกซิน และไซโทไคนินมีความเกี่ยวข้องกับการชักนำให้เกิดดอกในหลอดทดลองของ *Dendrobium Second Love*

Sim และคณะ (2007) ศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดดอกของกล้วยไม้ *Dendrobium Madame Thong-In* ในหลอดทดลองที่ได้มาจากการเพาะเมล็ด โดยดูการเปลี่ยนแปลงจากการเจริญแบบ vegetative จนเข้าสู่การเจริญแบบ reproductive ในช่วงแรกพบว่าการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์รัมในอาหารเหลวสูตร Knudson, 1946 (KC) ที่มี BA 4.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดก้านช่อดอกได้ ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรดังกล่าวมีแต่การเกิดยอด และรากเท่านั้น และพบว่าการเติมน้ำมะพร้าวลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญส่วนยอด และ BA จะช่วยชักนำให้เกิดก้านช่อดอก และสร้างดอกตูมได้ อย่างไรก็ตามในต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรดังกล่าวจะเกิดดอกได้ แต่ดอกที่เกิดจะมีลักษณะ

ผิดปกติ จึงทำการทดลองโดยการย้ายไปเลี้ยงต้นกล้วยไม้ในอาหารสองชั้น (ชั้นบนคืออาหารเหลว และชั้นล่างคืออาหารแข็ง) สูตรที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดดอกก็คือในส่วนของอาหารเหลวมีการเติม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และในส่วนของอาหารแข็ง น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และ ผงถ่านกัมมันต์ 0.03 เปอร์เซ็นต์ (charcoal) พบว่าดอกที่เกิดจะมีเปอร์เซ็นต์ของลักษณะปกติสูงที่สุด สามารถบานและติดฝักในหลอดทดลองได้ โดยภายใต้วิธีการดังกล่าวจะใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 5 เดือนหลังจากเพาะเมล็ด ก็สามารถชักนำให้เกิดการออกดอกในหลอดทดลองได้

Hee และคณะ (2007) ทดลองศึกษาวิธีการชักนำให้เกิดการออกดอกในหลอดทดลองของ *Dendrobium Chao Praya Smile* พบว่าเมื่อนำต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาเพาะเลี้ยงในอาหาร 2 ชั้น สูตร KC ที่มีสารเติม BA 11.1 ไมโครโมลาร์ จะเกิดการออกดอก 45 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 6 เดือนหลังจากเพาะเมล็ด และการชักนำให้เกิดดอกจะเพิ่มเป็น 72 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการคัดเลือกต้นที่สมบูรณ์ก่อนการย้ายไปลงในอาหาร 2 ชั้น ต้นที่นำมาเพาะเลี้ยงจะเกิดดอก ที่มีทั้งดอกสมบูรณ์เพศ และดอกไม่สมบูรณ์เพศ ในดอกสมบูรณ์เพศทั้งอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และเพศเมียจะมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ทั้งทางกายภาพ และสัณฐานวิทยาเหมือนกับที่อยู่ในสภาพธรรมชาติ และเมื่อนำละอองเกสรตัวผู้ที่ได้จากในหลอดทดลองไปผสมกับดอกที่อยู่ในธรรมชาติ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 18 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับเมล็ดที่ได้จากธรรมชาติซึ่งงอก 52.8 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่าจะได้เปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ แต่ดอกที่เกิดในหลอดทดลองจะสามารถผสมตัวเองได้ และ 90 เปอร์เซ็นต์เกิดเมล็ดที่สามารถเจริญเติบโต และสามารถนำมาชักนำให้เกิดดอกตามวิธีข้างต้นได้

Tee และคณะ (2008) ทดลองศึกษาวิธีการชักนำให้ *Dendrobium Sonia* 17 ออกดอกในหลอดทดลอง ผลการทดลองพบว่าเมื่อนำต้นกล้วยไม้ชนิดนี้มาเพาะเลี้ยงในสูตรลดปริมาณธาตุอาหารทุกชนิดลงครึ่งหนึ่ง ($1/2$ MS) เติม BA 20 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดก้านช่อดอกได้ แต่จะไปมีผลยับยั้งการเกิดราก และพบว่าในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี P สูง และ N ต่ำมีผลสนับสนุนให้เกิดก้านช่อดอกได้ แต่ในอาหารที่มี P ต่ำ N สูงจะสนับสนุนการเกิดยอดเพียงอย่างเดียว และเมื่อนำก้านช่อดอกมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองจะพบว่าดอกที่บานในหลอดทดลองจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างจากดอกที่เกิดในธรรมชาติเช่น มีโครงสร้างไม่สมบูรณ์ และแสดงอาการผิดปกติออกมาให้เห็นเป็นต้น

Sim และคณะ (2008) ทดลองศึกษาระดับของไซโทไคนินภายในต้นของ *Dendrobium Madame Thong-In* ที่อยู่ในหลอดทดลอง ในระหว่างช่วงการเจริญแบบ vegetative ไปจนถึงช่วงการชักนำให้เกิดดอกในหลอดทดลองโดยใช้ HPLC และ radioimmunoassay เป็นตัววิเคราะห์ ไซโทไคนินชนิดที่สนใจศึกษาคือ zeatin (Z) dihydrozeatin (DZ) N^6 -(Δ^2 -isopentenyl)-adenine (iP)

และอนุพันธ์ของมัน พบว่าในน้ำมะพร้าวที่นำมาใช้ในการทดลองมี zeatin riboside (ZR) ปริมาณมาก (>136 พิโคโมลต่อมิลลิลิตร) โพรโทคอร์มและต้นที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมะพร้าว จะพบไซโทไคนิน 0.5-3.9 พิโคโมลต่อมิลลิลิตรต่อน้ำหนักสด ต้นที่มีขนาด 1.0-1.5 เซนติเมตร ที่นำมาเพาะเลี้ยง และชักนำให้เกิดดอกในอาหารสูตรชักนำให้ออกดอก (อาหารเหลว KC ที่เติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และ น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร) ตรวจพบปริมาณของ iP และ iPA ปริมาณ 200 และ 133 พิโคโมลต่อมิลลิลิตรต่อน้ำหนักสดตามลำดับ ซึ่งระดับที่ตรวจพบดังกล่าวจะสูงกว่าอนุพันธ์ของไซโทไคนินชนิดอื่น ๆ ในต้นระยะเดียวกัน และสูงกว่า 80-150 เท่าในต้นที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ไม่ได้ชักนำให้เกิดดอก ในระหว่างการเปลี่ยนแปลงจากช่วง vegetative ไปเป็น reproductive ระดับของ iP (178 พิโคโมลต่อมิลลิลิตรต่อน้ำหนักสด) และ iPA (63 พิโคโมลต่อมิลลิลิตรต่อน้ำหนักสด) จะสูงกว่าไซโทไคนินชนิด Z และ DZ ในต้นระยะเดียวกัน โดยในต้นที่เลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดดอกแต่ไม่มีการเปลี่ยนการเจริญจาก vegetative ไปเป็น reproductive จะมีระดับของ iPA ต่ำ แสดงให้เห็นว่าไซโทไคนินในกลุ่มของ iP เป็นกลุ่มที่มีความสำคัญกับกระบวนการชักนำให้เกิดดอกของ *Dendrobium Madame Thong-In*

Te-chato และคณะ (2009) ทดลองนำยอดของ *Friederick's Dendrobium orchid* ขนาด 2-3 เซนติเมตร และมี 2-3 ข้อ (nodes) ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 3-เปอร์เซ็นต์ ซูโครส และมี paclobutrazol (PBZ) ความเข้มข้น 0.085, 0.17, 0.26 และ 0.34 ไมโครโมลาร์ พบว่า PBZ ความเข้มข้น 0.085-0.26 ไมโครโมลาร์ สนับสนุนให้เกิดการแตกหน่อบริเวณข้อ (node) ประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากในทริตเมนต์ที่มีความเข้มข้นสูง (0.34 ไมโครโมลาร์) ที่มีการแตกหน่อประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ และ PBZ ที่ 0.17 ไมโครโมลาร์ สนับสนุนให้เกิดดอก 29 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากทริตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งก่อนหน้านี้เคยทดลองใช้ BA ในการชักนำให้ออกดอก สามารถชักนำให้เกิดดอกได้แต่มีลักษณะผิดปกติ แต่ในการทดลองนี้ดอกที่เกิดในทุกสูตรอาหารที่มี PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาปกติ โดยดอกที่เกิดจะมีสีเหลือง เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 เซนติเมตร มี 3 กลีบเลี้ยง และ 2 กลีบดอก 1 ปาก และมีอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย

การศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดช่อดอกในกล้วยไม้ก็มีความน่าสนใจ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้กล้วยไม้สกุลหวายออกดอกในหลอดทดลอง และได้ดอกที่มีลักษณะปกติเหมือนในธรรมชาติมากที่สุด ซึ่งหากกระบวนการดังกล่าวสำเร็จจะมีประโยชน์ในด้านช่วยลดระยะเวลาการออกดอกของกล้วยไม้สกุลหวาย ลดพื้นที่ที่จะใช้เพาะปลูก มีประโยชน์ในด้านของการปรับปรุงพันธุ์ และการคัดเลือกต้นมาเพาะเลี้ยงต่อในธรรมชาติได้

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 พืชทดลอง

กล้วยไม้ *Dendrobium* Queen Pink

กล้วยไม้ *Dendrobium* White Pansy Lip

1.2 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหาร

1.2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร

- Vacin and Went (VW 1949)

1.2.2 สารเคมีควบคุมการเจริญเติบโต

- Benzyladenine (BA)

- Paclobutazol (PBZ)

- ไโคโตซาน (ออร์คิด-80 ศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน สถาบันวิจัยโลหะวัสดุ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

1.3 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

- Ethylalcohol 70 เปอร์เซ็นต์

- Ethylalcohol 95 เปอร์เซ็นต์

- Clorox (5.25% w/w Sodium hypochlorite)

- Tween 20

1.4 อุปกรณ์

1.4.1 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับการเตรียมอาหาร

- เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด และหยาด
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
- เตาไฟฟ้า (hot plate)
- เตาอบไมโครเวฟ
- ขวดแก้วบรรจุอาหารพร้อมฝาปิด
- เครื่องแก้ว : บีกเกอร์, ขวดสีชา, แ่งแก้วคน, กระจกตวง, ปิเปตต์
- ซ้อนตักสารเคมี

1.4.2 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับตัดถ่ายเนื้อเยื่อ

- ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อพีช (lamina air flow)
- เครื่องมือผ่าตัด : คีมมีด, ใบมีด, ปากคีบ
- เครื่องแก้ว: จานแก้ว, ขวดรูปชมพู่

ตะเกียงแอลกอฮอล์

มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ สงวนลิขสิทธิ์

2. วิธีการทดลอง

2.1 ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการงอก และการเจริญของเมล็ด *Dendrobium Queen Pink*

2.1.1 วิธีการเพาะเมล็ด

นำฝักกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* อายุ 4 เดือน มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยล้างฝักด้วยน้ำยาล้างจาน 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และล้างผ่านน้ำประปาเป็นเวลา 15 นาที นำฝักไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นแช่ฝักลงในคลอโรกซ์ 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เขย่าเบา ๆ เป็นระยะ ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำฝักจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วฉีกฝักผ่าเจียเมล็ดลงในอาหารเหลว VW สูตรดัดแปลง (VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L))

2.1.2 การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด

ดูอาหารเหลว VW ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว VW ในสภาพหนึ่ง ที่มีการเติมไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

สูตรที่ 1 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + chitosan (10 mg/L)

สูตรที่ 3 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + chitosan (20 mg/L)

สูตรที่ 4 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + chitosan (40mg/L)

สูตรที่ 5 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + chitosan (60 mg/L)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ส่วนวนวัฒนวิทยา

ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ใช้ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ที่มีอาหาร 20 มิลลิลิตร โดยอาหารสูตรทดลองทั้งหมดปรับ pH เท่ากับ 5.4 (ปรับด้วย 1N KOH หรือ 1N HCl) นิ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

บันทึกผลหลังจากที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน บันทึกจำนวนการงอก และอัตราการเจริญเติบโตของเมล็ดเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีการเติมไคโตซาน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางแล้วแบ่งระยะการเจริญออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

ตารางที่ 1 ระยะการเจริญของโพรโทคอร์ม กล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* โดยแบ่งตามขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของโพรโทคอร์ม

ระยะการเจริญ	ลักษณะการเจริญเติบโต
1	โพรโทคอร์มมีลักษณะกลม มีสีเขียวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ≤ 0.1 เซนติเมตร
2	โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.3 เซนติเมตร
3	โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลม หรือมีใบขนาดเล็กเกิดบริเวณปลายด้านหนึ่งของโพรโทคอร์ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 เซนติเมตร
4	โพรโทคอร์มมีสีเขียวมียอดแหลม หรือ มีใบขนาดเล็กเกิดบริเวณปลายด้านหนึ่งของโพรโทคอร์ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง > 0.4 เซนติเมตร

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

2.2 ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ *Dendrobium Queen Pink*

2.2.1 เปรียบเทียบผลของไคโตซานต่อการเจริญของโพรโทคอร์ม *Dendrobium Queen Pink* ขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร)

นำโพรโทคอร์ม *Dendrobium Queen Pink* จากการทดลองที่ 1 มา 2 ขนาด คือขนาดเล็ก ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.1-0.2 เซนติเมตร และขนาดใหญ่ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3-0.4 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW สูตรดัดแปลงที่มีการเติมไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

สูตรที่ 1 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L) (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L) + chitosan (10 mg/L)

สูตรที่ 3 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)+ chitosan (20 mg/L)

สูตรที่ 4 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)+ chitosan (40 mg/L)

สูตรที่ 5 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)+ chitosan (60 mg/L)

ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งโดยเติมวุ้น (phytagel) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ใช้ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ที่มีอาหาร 20 มิลลิลิตร โดยอาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.4 (ปรับด้วย 1N KOH หรือ 1N HCl) นำมาเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เปลี่ยนอาหารทุก 1 เดือน

ทำการบันทึกผลเปรียบเทียบกันทั้ง 2 ระยะ โดยวิธีการสุ่มทริตเมนต์ละ 10 ต้นหลังจาก เพาะเลี้ยงทุก 1 เดือน จนครบเวลา 6 เดือน บันทึกลักษณะการเจริญของโพรโทคอร์มไปเป็นต้น โดยวัดความสูง ชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง จำนวนใบ ขนาดของใบ พื้นที่ใบ จำนวนราก และ จำนวนต้นใหม่ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

2.2.2 ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญของโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ของ *Dendrobium Queen Pink* (เนื่องจากการทดลองที่ 2.1)

นำโพรโทคอร์ม *Dendrobium Queen Pink* ขนาดใหญ่ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3-0.4 เซนติเมตร และมีใบขนาดเล็กเกิดตรงส่วนยอดแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW สูตร ดัดแปลงที่มีการเติมไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

สูตรที่ 1 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L) (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L) + chitosan (10 mg/L)

สูตรที่ 3 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L) + chitosan (20 mg/L)

สูตรที่ 4 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)+ chitosan (40 mg/L)

สูตรที่ 5 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L) + chitosan (60 mg/L)

ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งโดยเติมวุ้น (phytagel) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ใช้ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ที่มีอาหาร 20 มิลลิลิตร โดยอาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.4 (ปรับด้วย 1N KOH หรือ 1N HCl) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

ทำการบันทึกผลโดยวิธีการสุ่มทริตเมนต์ละ 10 ต้นในช่วง 6 เดือนแรกหลังจากเพาะเลี้ยง และเก็บผลการทดลองเมื่อครบเวลา 12 เดือน บันทึกลักษณะการเจริญของโพรโทคอร์ัมไปเป็นต้น วัดความสูง ชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง จำนวนใบ ขนาดของใบ พื้นที่ใบ จำนวนราก ความยาวราก และการเกิดต้นใหม่ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

2.3 ศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium* Queen Pink

2.3.1 ศึกษาผลของน้ำตาลความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญของ *Dendrobium* Queen Pink ก่อนการชักนำให้เกิดก้านช่อดอก

นำต้น *Dendrobium* Queen Pink ที่มีอายุ 6 เดือน และมีขนาดเท่า ๆ กันคือสูง 0.4-0.6 เซนติเมตร มีใบ 3-5 ใบ นำมาตัดราก และย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW สูตรต่าง ๆ ต่อไปนี้

สูตรที่ 1 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)

สูตรที่ 2 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L)
+ sucrose (40 g/L) + charcoal (1g/L)

ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งโดยเติมวุ้น (phytagel) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ใช้ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ที่มีอาหาร 20 มิลลิลิตร โดยอาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.4 (ปรับด้วย 1N KOH หรือ 1N HCl) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 3 เดือน บันทึกผลการเจริญโดยวัดความสูง ซึ่งน้ำหนักสด นับจำนวนใบ จำนวนราก และการเกิดต้นใหม่ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

2.3.2 ศึกษาผลของ BA และ PBZ ที่มีต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium Queen Pink*

นำต้น *Dendrobium Queen Pink* ที่ผ่านการสะสมอาหารในน้ำตาล 2 ความเข้มข้น คือ 20 และ 40 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือนจากการทดลองที่ 2.3.1 มาตัดราก แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ต่อไปนี้

สูตรที่ 1 : ½ VW + peptone (2g/L) + BA (22.2 µM) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)

สูตรที่ 2 : ½ VW + peptone (2g/L) + PBZ (0.17 µM) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)

สูตรที่ 3 : ½ VW + peptone (2g/L) + BA (22.2 µM) + PBZ (0.17 µM) + potato juice (100 g/L) + coconut water (150 ml/L) + sucrose (20 g/L) + charcoal (1g/L)

ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งโดยเติมวุ้น (phytagel) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ใช้ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 8 ออนซ์ ที่มีอาหาร 45 มิลลิลิตร โดยอาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.4 (ปรับด้วย 1N KOH หรือ 1N HCl) ینگมาเชื่อมด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

บันทึกลักษณะการเจริญในแต่ละเดือนโดยนับจำนวนใบ จำนวนราก และการเกิดต้นใหม่ รวมทั้งการเกิดก้านช่อดอกด้วย เมื่อครบ 90 วัน นำต้นออกมาดูลักษณะการเจริญ โดยวัดความสูง ซึ่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง จำนวนใบ ขนาดของใบ พื้นที่ใบ จำนวนราก ความยาวราก และการเกิดต้นใหม่ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

2.4 ศึกษาผลของไลโคซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy* Lip

2.4.1 ศึกษาผลของไลโคซานที่มีต่อการเจริญของกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy* Lip ก่อนการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกที่เลี้ยงในอาหารเหลว VW

นำฝักกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy* Lip อายุ 4 เดือน มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยล้างฝักด้วยน้ำยาล้างจาน 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และล้างผ่านน้ำประปาเป็นเวลา 15 นาที นำฝักไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นแช่ฝักลงในคลอโรกซ์ 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เขย่าเบา ๆ เป็นระยะ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำฝักจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วลนไฟ ผ้าเช็ดเมล็ดลงในอาหาร VW ที่มีเปปโตนความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร phytigel 2 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ได้ต้นอ่อนสีเขียวขนาด 0.2-0.3 เซนติเมตร มีใบเล็ก ๆ 1-2 ใบ นำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรต่าง ๆ ดังนี้

สูตรที่ 1 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + sucrose (20 g/L)

+ BA (4.4 μ M) (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + sucrose (20 g/L)

+ BA (4.4 μ M) + chitosan (10 mg/L)

สูตรที่ 3 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + sucrose (20 g/L)

+ BA (4.4 μ M) + chitosan (20 mg/L)

สูตรที่ 4 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + sucrose (20 g/L)

+ BA (4.4 μ M) + chitosan (40 mg/L)

สูตรที่ 5 : VW + peptone (2 g/L) + potato juice (100 g/L) + sucrose (20 g/L)

+ BA (4.4 μ M) + chitosan (60 mg/L)

ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว pH 5.4 ทำการทดลอง 20 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด (2 ต้น/ขวด) ใช้ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ที่มีอาหาร 20 มิลลิลิตรโดยอาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.4 (ปรับด้วย 1N KOH หรือ 1N HCl) ینگฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 \pm 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

ทำการบันทึกผลหลังจากเพาะเลี้ยงอาทิตยยะ 1 ครั้ง เปลี่ยนอาหารทุก 3 สัปดาห์ จนครบเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเจริญของต้นอ่อน โดย นับจำนวนใบ จำนวนราก และการเกิดต้นใหม่ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

2.4.2 ศึกษาผลของไลโคซานที่มีต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy Lip* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 2 ชั้น

นำต้นที่มาจาก การเพาะเลี้ยงในการทดลองที่ 2.4.1 ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW สูตรดัดแปลงจนได้เป็นต้น จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 ชั้น ที่มีการเติมไลโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ โดยในชั้นล่างเป็นอาหารแข็ง และชั้นบนเป็นอาหารเหลวดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 2 สูตรอาหาร VW 2 ชั้น โดยชั้นบนเป็นอาหารเหลว และชั้นล่างเป็นอาหารแข็ง

สูตรอาหาร	อาหารเหลว			อาหารแข็ง		
	น้ำมะพร้าว (m/L)	BA (μ M)	ไลโคซาน (mg/L)	น้ำมะพร้าว (m/L)	ผงถ่านกัมมันต์ (g/L)	Phytigel (g/L)
VW 1	150	22.2	0	150	1	2
2	150	22.2	10	150	1	2
3	150	22.2	20	150	1	2
4	150	22.2	40	150	1	2
5	150	22.2	60	150	1	2

ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งโดยเติมวุ้น (phytagel) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 12 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ใช้ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 8 ออนซ์ ที่มีอาหารแข็ง 30 มิลลิลิตร อาหารเหลว 15 มิลลิลิตร โดยอาหารสูตรทดลองทั้งหมดปรับ pH เท่ากับ 5.4 (ปรับด้วย 1N KOH หรือ 1N HCl) ینگ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสงเฉลี่ย 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

ทำการบันทึกผลหลังจากเพาะเลี้ยงทุก 1 เดือน จนครบเวลา 1 ปีหลังจากเพาะเมล็ด บันทึกลักษณะการเจริญ โดยดูการเกิดก้านช่อดอก และจำนวนก้านช่อดอกที่เกิดในแต่ละทริตเมนต์ เมื่ออายุครบ 1 ปี นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด *Dendrobium Queen Pink*

การศึกษาค้นคว้าของไคโตซานที่มีต่อการงอกและการเจริญของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายที่มีอายุฝัก 4 เดือนหลังจากผสมเกสร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ

1.1 การเพาะเมล็ดเพื่อใช้ในการทดลอง

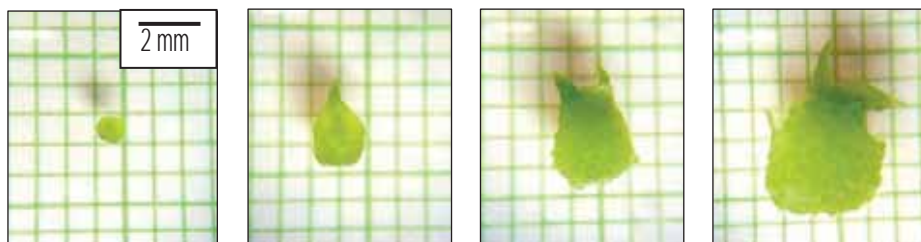
ฝักของกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* มีลักษณะฝักห้อยลง ฝักมีสีเขียว เมล็ดภายในเป็นผงสีเหลืองจำนวนมาก นำเมล็ด *Dendrobium Queen Pink* จากฝักอายุ 4 เดือนมาทำเมล็ดแขวนลอยในอาหารเหลวสูตร VW แล้วนำไปนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10x (รูปที่ 3) พบว่ามีเมล็ดประมาณ 1,500 เมล็ดต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 3 รูปเมล็ดกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* อายุ 4 เดือน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด

คุณเมล็ดแขวนลอยของกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* จากอาหารเหลวสูตร VW ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ปริมาตร 20 มิลลิลิตรที่เติมไคโตซาน ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพนิ่งเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงประมาณ 2 สัปดาห์ เมล็ดเริ่มมีสีเขียว ขยายขนาดเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการพัฒนาของเอ็มบริโอ จากนั้นเมล็ดมีขนาดใหญ่ขึ้น และเริ่มเกิดเป็นยอดสีเขียวบริเวณส่วนปลายด้านหนึ่ง โดยแต่ละเมล็ดมีขนาดและการเจริญเติบโตไม่เท่ากัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน สุ่มตัวอย่างมา 4 ขวด นับจำนวนการงอกของเมล็ดเพื่อนำไปหาเปอร์เซ็นต์การงอก และระยะของการเจริญเติบโต พบว่าการเจริญของเมล็ดจะแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ (รูปที่ 4) ดังนี้



ระยะ 1

ระยะ 2

ระยะ 3

ระยะ 4

ภาพที่ 4 ลักษณะการเจริญพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* แบ่งเป็น 4 ระยะ คือ

ระยะ 1 โพรโทคอร์มขยายขนาด มีลักษณะกลม มีสีเขียวเส้นผ่านศูนย์กลาง ≤ 0.1 เซนติเมตร

ระยะ 2 โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.3 เซนติเมตร

ระยะ 3 โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลมหรือใบขนาดเล็กเกิดด้านหนึ่งของโพรโทคอร์ม ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 เซนติเมตร

ระยะ 4 โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลมหรือใบขนาดเล็กเกิดด้านหนึ่งของโพรโทคอร์ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง > 0.4 เซนติเมตร

การนับจำนวนการงอกของเมล็ดในแต่ละทริตเมนต์ พบว่าเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว VW ร่วมกับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการงอกของเมล็ดสูงสุดเท่ากับ 31.85 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม และชุดที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไคโตซานเกิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้อัตราการงอกลดลงและแตกต่างทางสถิติกับการใช้ไคโตซานที่ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.1$ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 5) นอกจากนี้ยังพบว่าโพโทคอร์มระยะ 2 3 และ 4 ที่เลี้ยงในอาหารร่วมกับไคโตซานทุกความเข้มข้นมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงกว่าโพโทคอร์มที่เลี้ยงในอาหารชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน โดยพบว่าโพโทคอร์มทุกระยะที่เลี้ยงบนอาหารที่มีไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุดแตกต่างจากโพโทคอร์มที่เลี้ยงในอาหารชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.1$ (ตารางที่ 4)

เมื่อดูตามระยะการเจริญที่แบ่งเป็น 4 ระยะ (ภาพที่ 4) พบว่าโพโทคอร์มระยะที่ 2 ในสูตรอาหารที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์มากที่สุด คือ 49.65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากทริตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 5C) ในขณะที่ระยะที่ 1 3 และ 4 ทุกทริตเมนต์มีจำนวนไม่แตกต่างกัน เมื่อนำโพโทคอร์มไปหาน้ำหนักเฉลี่ยพบว่าโพโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดในระยะที่ 2 3 และ 4 และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยในระยะที่ 3 และ 4 มากที่สุด โดยในระยะที่ 2 มีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 5.15 มิลลิกรัม แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานแต่ไม่ต่างจากทริตเมนต์อื่น ๆ ในระยะที่ 3 มีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 15.02 มิลลิกรัม แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และโพโทคอร์มระยะที่ 4 มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 37.43 มิลลิกรัม แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.1$ (ตารางที่ 4) ในส่วนของน้ำหนักแห้งในระยะที่ 3 มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 1.13 มิลลิกรัม ไม่แตกต่างจากทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ และในระยะที่ 4 มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.43 มิลลิกรัม แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเจริญของโพโทคอร์มในระยะที่ 2 ถึงระยะที่ 4 เมื่อได้รับไคโตซานเพิ่มมากขึ้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของโพโทคอร์มก็เพิ่มมากขึ้น และมากกว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.1$

ตารางที่ 3 การงอกของเมล็ด *Dendrobium* Queen Pink หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว VW ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ไคโตซาน (mg/L)	การงอกของเมล็ด ^{1/} (%)	ระยะการเจริญเติบโตของเมล็ด ^{1/ 2/} (%)			
		1	2	3	4
0	29.09±4.92ab	30.79±12.17a	38.91±2.56b	23.75±8.37a	6.55±3.38a
10	31.85±2.46a	35.82±15.73a	27.48±4.22c	30.47±14.25a	6.24±3.60a
20	27.42±4.48ab	24.43±7.92a	49.65±4.32a	21.65±7.13a	4.28±1.68a
40	19.71±2.02b	34.69±10.16a	37.98±0.80b	23.23±8.00a	4.11±1.44a
60	20.37±3.86b	34.93±15.06a	31.34±5.23bc	27.87±9.32a	5.87±2.66a

^{1/} 1= โพรโทคอร์มขยายขนาด มีลักษณะกลม มีสีเขียวเส้นผ่านศูนย์กลาง ≤ 0.1 ซม., 2=โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.3 ซม., 3=โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลมหรือใบขนาดเล็กเกิดด้านหนึ่งของโพรโทคอร์มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 ซม., 4 = โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลมหรือใบขนาดเล็กเกิดด้านหนึ่งของโพรโทคอร์ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง > 0.4 ซม.

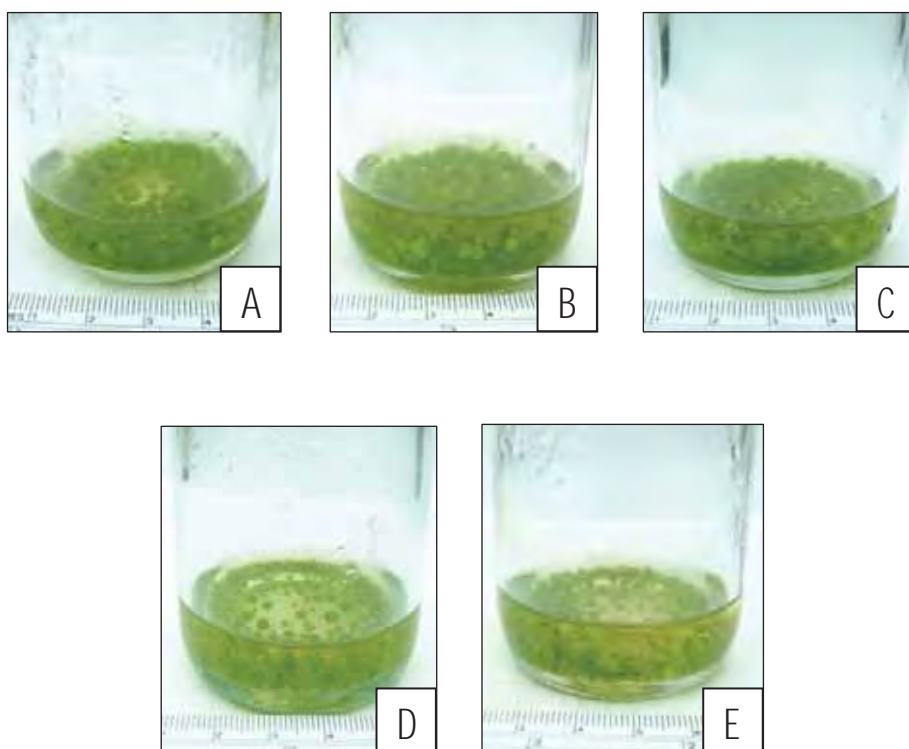
^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย \pm S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซนต์ ($P=0.1$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1,500 เมล็ด

ตารางที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยของโพรโทคอร์ม *Dendrobium* Queen Pink แต่ละขนาดหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว VW ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ไคโตซาน (mg/L)	น้ำหนักสดต่อโพรโทคอร์ม (mg) ^{1/ 2/}				น้ำหนักแห้งต่อโพรโทคอร์ม (mg) ^{1/ 2/}			
	1	2	3	4	1	2	3	4
0	0.97±0.16a	3.08±0.36b	9.41±0.45b	21.36±1.33b	0.09±0.02a	0.22±0.01a	0.66±0.02b	1.57±0.10b
10	1.15±0.10a	3.38±0.14ab	9.68±1.09b	30.19±0.63a	0.08±0.01a	0.21±0.01a	0.64±0.04b	1.87±0.03ab
20	1.06±0.17a	4.10±0.79ab	11.82±2.09ab	31.43±4.08a	0.06±0.01a	0.25±0.04a	0.78±0.10b	2.02±0.15ab
40	1.15±0.24a	4.73±0.92ab	13.38±0.38ab	32.28±1.91a	0.07±0.01a	0.31±0.07a	0.93±0.17ab	2.16±0.22a
60	1.34±0.26a	5.15±1.08a	15.02±1.89a	37.43±3.48a	0.09±0.02a	0.37±0.09a	1.13±0.16a	2.43±0.31a

^{1/} 1= โพรโทคอร์มขยายขนาด มีลักษณะกลม มีสีเขียวเส้นผ่านศูนย์กลาง ≤ 0.1 ซม., 2=โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.3 ซม., 3=โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลมหรือใบขนาดเล็กเกิดด้านหนึ่งของโพรโทคอร์มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3-0.4 ซม., 4 = โพรโทคอร์มมีสีเขียว มียอดแหลมหรือใบขนาดเล็กเกิดด้านหนึ่งของโพรโทคอร์ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง > 0.4 ซม.

^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย \pm S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1,500 เมล็ด



ภาพที่ 5 เปรียบเทียบการงอก และการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* จากฝักอายุ 4 เดือน หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว VW ร่วมกับไอโอดีนความเข้มข้น

ต่าง ๆ ในสภาพนิ่งเป็นเวลา 3 เดือน

(A) ไอโอดีน 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม)

(B) ไอโอดีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

(C) ไอโอดีน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

(D) ไอโอดีน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

(E) ไอโอดีน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ *Dendrobium* Queen Pink

นำโพรโทคอร์มทั้ง 2 ขนาดคือขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) จากการทดลองที่ 1 ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการใช้ผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ และขนาดเล็ก รวมทั้งศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญของต้นที่ได้จากโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW เป็นเวลา 1 ปีด้วย โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

2.1 เปรียบเทียบผลของไคโตซานต่อการเจริญของโพรโทคอร์ม *Dendrobium* Queen Pink ขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน

เมื่อนำโพรโทคอร์มขนาดเล็กและขนาดใหญ่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตรแล้วเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตทุก ๆ 1 เดือน พบว่าในช่วง 3 เดือนแรกต้นที่เจริญมาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็กทุกทรีตเมนต์มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 6) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน ต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.00 ใบ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน แต่ไม่แตกต่างจากโพรโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 8 และภาพที่ 7) แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือนแล้ว พบว่าจำนวนใบในทุกทรีตเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือนจำนวนรากเฉลี่ยในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดมากที่สุดเท่ากับ 5.50 ราก ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมแต่ไม่ต่างจากจำนวนรากของโพรโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 10 และภาพที่ 7) และยังพบว่าไคโตซานทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อความสูง จำนวนใบ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง พื้นที่ใบ และจำนวนต้นใหม่ที่เกิดขึ้นในโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (ตารางที่ 5 6 8 10 11 ภาพที่ 6 และ 7)

ต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดใหญ่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน และได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากที่สุดโดยมีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 0.111 กรัม (ตารางที่ 6 และภาพที่ 8) และมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.011 กรัมไม่ต่างจากที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 7 และภาพที่ 8) และเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 5 เดือนต้นที่เกิดจากโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ

0.386 กรัม ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม แต่ไม่ต่างจากที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 9) และต้นที่ได้รับโคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 6.67 ราก แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมแต่ไม่ต่างจากที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 10 และภาพที่ 9) เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 6 เดือน ความสูงของต้นที่ได้รับโคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.39 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีโคโตซานแต่ไม่ต่างจากที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 9) โดยใน ทริตเมนต์ที่ได้รับโคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้ง และจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 0.048 กรัม (ตารางที่ 7 และภาพที่ 9) และ 8.00 ราก (ตารางที่ 10 และภาพที่ 9) ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมแต่ไม่ต่างจากที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ และในทริตเมนต์ที่ได้รับโคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดและค่าเฉลี่ยพื้นที่ใบมากที่สุดเท่ากับ 0.444 กรัม (ตารางที่ 6 และภาพที่ 9) และ 0.62 ตารางเซนติเมตร (ตารางที่ 9 และภาพที่ 9) ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมแต่ไม่ต่างจากที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าโคโตซานทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อจำนวนใบ และจำนวนต้นใหม่ที่เกิด (ตารางที่ 8 11 และภาพที่ 8 9)

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของโพรโทคอร์ม 2 ขนาดที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าในช่วง 3-4 เดือนแรกของการทดลองต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดใหญ่มีการเจริญสูงกว่าต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็กอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 6 7 8 และ 9) โดยเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือนต้นจากโพรโทคอร์มทั้ง 2 ขนาดในทริตเมนต์ที่ได้รับโคโตซาน 20 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุมมีจำนวนใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8 และภาพที่ 6 8) และจำนวนรากใน ทริตเมนต์ที่ได้รับโคโตซาน 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุมไม่ต่างกัน (ตารางที่ 10 และภาพที่ 6 8) และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พื้นที่ใบของทุกทริตเมนต์ไม่ต่างกัน (ตารางที่ 9 และภาพที่ 7 9) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน ทริตเมนต์ที่ได้รับโคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตรของต้นจากโพรโทคอร์มทั้ง 2 ขนาด มีความสูงต้นไม่ต่างกัน (ตารางที่ 5 และภาพที่ 7 9) และจำนวนใบทุกทริตเมนต์ไม่ต่างกัน (ตารางที่ 8 และภาพที่ 7 9) และเมื่อผ่านไป 6 เดือน ความสูงของต้นที่ได้รับโคโตซาน 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 7 9) โดยน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของชุดควบคุมของต้นทั้ง 2 ขนาดไม่ต่างกัน แต่ต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับโคโตซาน 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากกว่าต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็กอย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.05$ (ตารางที่ 6 7 และภาพที่ 7 9)

นอกจากนั้นยังพบว่า ต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นสูง (20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะมีการเจริญเติบโตไม่ต่างจากต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นน้อยกว่า (10 มิลลิกรัมต่อลิตร) รวมถึงชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน โดยหลังจากที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ต้นจากโพโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีพื้นที่ใบไม่ต่างจากต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ในชุดควบคุม และได้รับไคโตซาน 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ก็ยังน้อยกว่าในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซานที่ความเข้มข้น 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 9 และภาพที่ 6 8) และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือนต้นจากโพโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงไม่ต่างจากต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ในชุดควบคุม แต่ก็ยังสูงน้อยกว่าต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่และได้รับไคโตซานทุกความเข้มข้น (ตารางที่ 5 และภาพที่ 7 9) โดยต้นจากโพโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซาน 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดไม่ต่างจากต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และต้นที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้งไม่ต่างจากต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ก็ยังน้อยกว่าต้นจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 6 7 และภาพที่ 7 9) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไคโตซานสนับสนุนการเจริญของต้นที่มาจากโพโทคอร์มทั้งสองขนาดโดยที่ไคโตซานความเข้มข้นสูง ๆ ทำให้ต้นมีการเจริญที่ดีกว่าไคโตซานความเข้มข้นต่ำ ๆ ดังนั้นต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นสูง ๆ จึงมีการเจริญไม่ต่างจากต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นต่ำ ๆ หรือไม่ได้รับไคโตซานเลย แต่ยังคงต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นเดียวกัน

ตารางที่ 5 ความสูงของต้นที่มาจากโพทอคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร

โพทอคอร์ม เริ่มต้น	ไคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (เดือน) ^{1/}					
		1 ^{2/}	2 ^{2/}	3 ^{1/}	4 ^{1/}	5 ^{1/}	6 ^{1/}
เล็ก	0	0.29±0.01b	0.35±0.03b	0.39±0.04b	0.60±0.05c	0.72±0.09d	0.86±0.05c
	10	0.26±0.03b	0.28±0.01b	0.49±0.09b	0.63±0.09c	0.78±0.07d	0.87±0.10c
	20	0.27±0.03b	0.36±0.04b	0.41±0.04b	0.57±0.09c	0.95±0.07bcd	1.03±0.08bc
	40	0.28±0.01b	0.35±0.03b	0.41±0.03b	0.62±0.10c	0.87±0.09cd	1.07±0.09abc
	60	0.29±0.02b	0.32±0.03b	0.44±0.04b	0.67±0.07bc	0.77±0.04d	1.02±0.09bc
ใหญ่	0	0.41±0.02a	0.57±0.07a	0.84±0.11a	0.91±0.08ab	1.27±0.12ab	0.87±0.05c
	10	0.44±0.02a	0.60±0.05a	0.90±0.03a	1.13±0.10a	1.35±0.13a	1.26±0.16ab
	20	0.42±0.02a	0.71±0.08a	0.94±0.07a	1.10±0.08a	1.47±0.11a	1.39±0.11a
	40	0.42±0.02a	0.69±0.07a	0.93±0.06a	1.08±0.10a	1.18±0.12abc	1.31±0.16ab
	60	0.43±0.02a	0.65±0.07a	0.79±0.10a	1.01±0.09a	1.20±0.19abc	1.33±0.13ab

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 6 น้ำหนักสดของต้นที่มาจากโพททอรัมขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร

โพททอรัม เริ่มต้น	ไคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (เดือน)					
		1 ^{1/}	2 ^{1/}	3 ^{1/}	4 ^{1/}	5 ^{1/}	6 ^{1/}
เล็ก	0	0.0106±0.0018c	0.0213±0.0048c	0.0382±0.0082b	0.0590±0.0131c	0.1354±0.0389d	0.1264±0.0166d
	10	0.0083±0.0020c	0.0091±0.0021c	0.0279±0.0071b	0.0406±0.0064c	0.0644±0.0193d	0.1523±0.0298d
	20	0.0117±0.0019c	0.0252±0.0056c	0.0459±0.0094b	0.0740±0.0169bc	0.1593±0.0308cd	0.2398±0.0455bcd
	40	0.0098±0.0012c	0.0288±0.0060c	0.0314±0.0090b	0.0831±0.0181bc	0.1622±0.0300cd	0.2107±0.0568cd
	60	0.0116±0.0022c	0.0197±0.0039c	0.0331±0.0090b	0.0675±0.0088c	0.1141±0.0220d	0.2382±0.0440bcd
	ใหญ่	0	0.0413±0.0056ab	0.0731±0.0074b	0.1250±0.0236a	0.1673±0.0279a	0.2123±0.0289bcd
10		0.0329±0.0035b	0.0798±0.0108b	0.1186±0.0087a	0.1547±0.0317ab	0.3029±0.0403abc	0.3917±0.1058abc
20		0.0346±0.0033ab	0.0877±0.0108ab	0.1371±0.0218a	0.2151±0.0391a	0.3861±0.0687a	0.3533±0.0733abc
40		0.0420±0.0020ab	0.0785±0.0093b	0.1373±0.0196a	0.2075±0.0423a	0.3139±0.0707ab	0.4245±0.0787ab
60		0.0433±0.0054a	0.1113±0.0203a	0.1574±0.0364a	0.1857±0.0168a	0.3540±0.0796ab	0.4439±0.0625a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 7 น้ำหนักแห้งของดินที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร

โพรโทคอร์ม เริ่มต้น	ไคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (เดือน) ^{1/}					
		1 ^{1/}	2 ^{1/}	3 ^{1/}	4 ^{1/}	5 ^{1/}	6 ^{1/}
เล็ก	0	0.0014±0.0002d	0.0022±0.0004d	0.0038±0.0009b	0.0054±0.0013c	0.0070±0.0013c	0.0101±0.0013d
	10	0.0009±0.0002d	0.0009±0.0002d	0.0024±0.0006b	0.0038±0.0006c	0.0053±0.0015c	0.0127±0.0022d
	20	0.0013±0.0002d	0.0023±0.0004d	0.0034±0.0008b	0.0048±0.0010c	0.0119±0.0021c	0.0206±0.0041cd
	40	0.0009±0.0001d	0.0025±0.0004d	0.0037±0.0012b	0.0079±0.0017bc	0.0124±0.0027c	0.0198±0.0055cd
	60	0.0011±0.0002d	0.0020±0.0004d	0.0033±0.0009b	0.0059±0.0008c	0.0092±0.0017c	0.0217±0.0043cd
	ใหญ่	0	0.0041±0.0005abc	0.0083±0.0009bc	0.0095±0.0017a	0.0157±0.0025a	0.0182±0.0024bc
10		0.0032±0.0003c	0.0068±0.0008c	0.0099±0.0005a	0.0146±0.0029ab	0.0263±0.0040ab	0.0405±0.0108ab
20		0.0036±0.0003bc	0.0097±0.0014ab	0.0103±0.0012a	0.0193±0.0029a	0.0374±0.0067a	0.0350±0.0070abc
40		0.0044±0.0003ab	0.0077±0.0009bc	0.0107±0.0015a	0.0195±0.0036a	0.0301±0.0065ab	0.0478±0.0092a
60		0.0046±0.0006a	0.0113±0.0019a	0.0124±0.0030a	0.0170±0.0017a	0.0324±0.0063a	0.0458±0.0052a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 8 จำนวนใบของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร

โพรโทคอร์ม เริ่มต้น	ไคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (เดือน)					
		1 ^{1/}	2 ^{2/}	3 ^{1/}	4 ^{1/}	5 ^{1/}	6 ^{1/}
เล็ก	0	0.80±0.13b	1.30±0.21c	2.13±0.23bc	1.83±0.31c	3.17±0.48ab	3.40±0.22a
	10	0.80±0.25b	1.30±0.21c	2.13±0.23bc	2.17±0.40bc	2.67±0.33b	3.20±0.29a
	20	1.00±0.21b	1.50±0.31c	2.63±0.50abc	3.00±0.45ab	3.00±0.26ab	4.10±0.48a
	40	0.70±0.21b	1.50±0.22c	1.57±0.30c	2.33±0.21bc	3.67±0.21ab	3.90±0.41a
	60	0.70±0.26b	0.90±0.23c	2.13±0.44bc	2.83±0.31ab	3.33±0.33ab	4.20±0.39a
ใหญ่	0	1.80±0.13a	2.40±0.31b	2.89±0.31ab	3.75±0.45a	4.00±0.37a	3.00±0.45a
	10	2.20±0.13a	2.80±0.33ab	3.30±0.37a	3.50±0.19a	3.50±0.50ab	3.60±0.34a
	20	2.20±0.25a	3.30±0.33a	2.70±0.26abc	3.63±0.26a	3.67±0.42ab	3.70±0.37a
	40	2.00±0.15a	3.40±0.37a	2.80±0.25ab	3.63±0.18a	3.67±0.42ab	3.90±0.43a
	60	1.90±0.18a	2.80±0.33ab	2.90±0.48ab	3.63±0.18a	3.67±0.33ab	4.00±0.47a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 9 พื้นที่ใบของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร

โพรโทคอร์ม เริ่มต้น	โคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (เดือน) ^{1/}					
		1 ^{1/}	2 ^{1/}	3 ^{1/}	4 ^{1/}	5 ^{1/}	6 ^{1/}
เล็ก	0	.	0.04±0.01cd	0.10±0.02cd	0.28±0.03abc	0.20±0.03b	0.35±0.04b
	10	0.02±0.00c	0.03±0.01d	0.11±0.02cd	0.14±0.02c	0.20±0.04b	0.34±0.04b
	20	0.02±0.00c	0.03±0.01d	0.14±0.02bcd	0.19±0.02bc	0.44±0.09ab	0.49±0.05ab
	40	0.03±0.01bc	0.04±0.01cd	0.10±0.02cd	0.32±0.04abc	0.20±0.03b	0.44±0.06ab
	60	0.02±0.00c	0.06±0.03cd	0.05±0.01d	0.21±0.06bc	0.35±0.11ab	0.47±0.05ab
	ใหญ่	0	0.06±0.01ab	0.12±0.01ab	0.25±0.05ab	0.36±0.09ab	0.34±0.07ab
10		0.08±0.02ab	0.16±0.03a	0.24±0.07ab	0.29±0.06abc	0.43±0.08ab	0.59±0.11a
20		0.08±0.02ab	0.13±0.03ab	0.30±0.05a	0.36±0.06ab	0.57±0.12a	0.58±0.08a
40		0.08±0.01a	0.09±0.02bc	0.27±0.04a	0.43±0.07a	0.50±0.07a	0.56±0.07ab
60		0.08±0.01a	0.13±0.02ab	0.22±0.02abc	0.35±0.05ab	0.49±0.11a	0.62±0.10a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 10 จำนวนรากของต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และ ขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร

โพรโทคอร์ม เริ่มต้น	ไคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (เดือน) ^{1/}					
		1 ^{2/}	2 ^{2/}	3 ^{1/}	4 ^{1/}	5 ^{1/}	6 ^{1/}
เล็ก	0	0.00±0.00a	0.20±0.13bc	0.38±0.26bc	0.67±0.42e	2.17±0.70c	1.90±0.55d
	10	0.00±0.00a	0.00±0.00c	0.38±0.26bc	1.17±0.40de	1.83±0.60c	3.80±0.68cd
	20	0.00±0.00a	0.10±0.10c	1.25±0.49abc	2.67±0.33bcd	4.17±1.08abc	4.50±0.98bcd
	40	0.00±0.00a	0.10±0.10c	0.14±0.14c	1.83±0.60cde	2.67±0.95bc	3.90±0.84cd
	60	0.00±0.00a	0.00±0.00c	0.25±0.16c	2.50±0.92bcde	2.83±0.40bc	5.50±0.89abc
	ใหญ่	0	0.00±0.00a	0.60±0.27abc	1.89±0.68ab	3.63±0.26abc	3.00±0.82bc
10		0.40±0.16a	1.30±0.30a	1.80±0.47ab	3.75±0.70abc	5.33±1.26ab	6.40±1.11abc
20		0.30±0.15a	1.20±0.44ab	1.40±0.58abc	4.00±0.68ab	5.67±0.95ab	6.30±1.30abc
40		0.30±0.21a	0.70±0.26abc	1.90±0.50ab	4.13±0.85ab	6.67±1.09a	8.00±1.03a
60		0.10±0.10a	0.40±0.31bc	2.40±0.54a	4.75±0.37a	6.33±1.20a	7.10±0.55ab

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

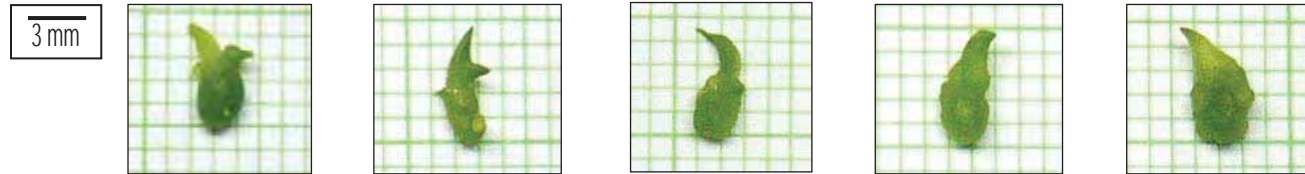
^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 11 จำนวนต้นใหม่ที่เกิดจากต้นที่มาจากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ไปเพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้เกิดเป็นต้นบนอาหารแข็ง VW ที่มีโคโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน

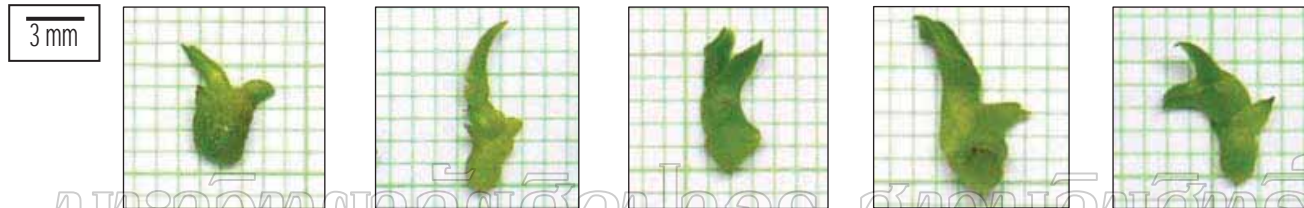
โพรโทคอร์มเริ่มต้น	โคโคซาน (mg/L)	จำนวนต้นเฉลี่ย ^{1/}
เล็ก	0	0.1±0.10a
	10	0.1±0.10a
	20	0.2±0.13a
	40	0.2±0.13a
	60	0.1±0.10a
ใหญ่	0	0.2±0.13a
	10	0.0±0.00a
	20	1.0±0.10a
	40	1.0±0.10a
	60	0.0±0.0a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

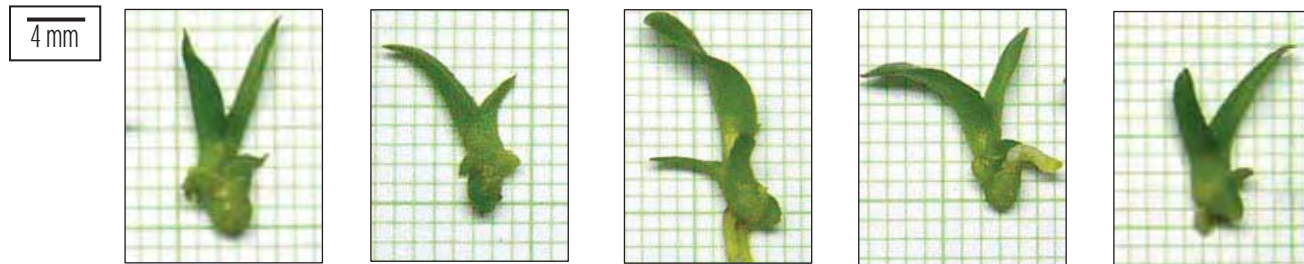
เดือนที่ 1



เดือนที่ 2



เดือนที่ 3



ไคโตซาน 0 mg/L

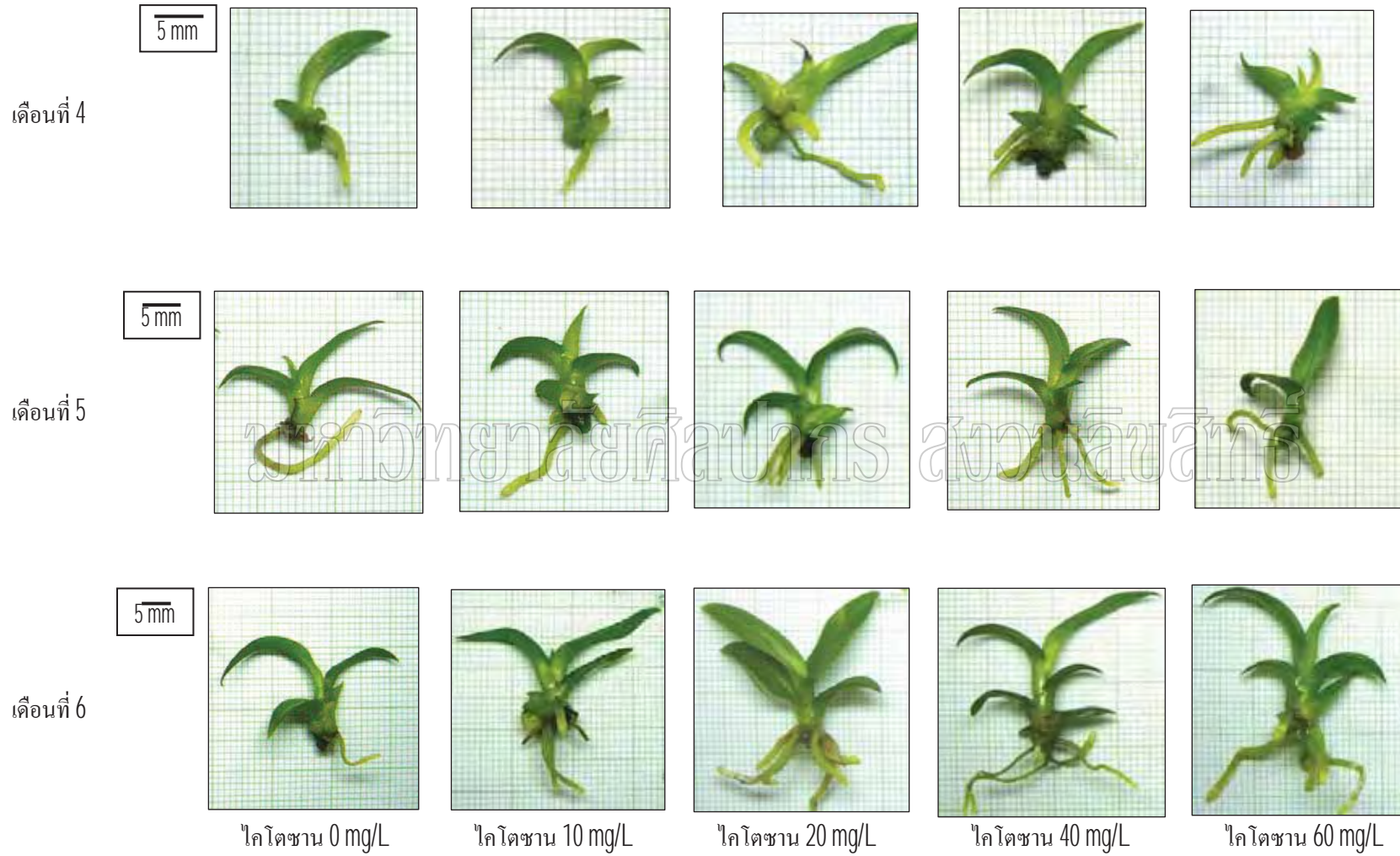
ไคโตซาน 10 mg/L

ไคโตซาน 20 mg/L

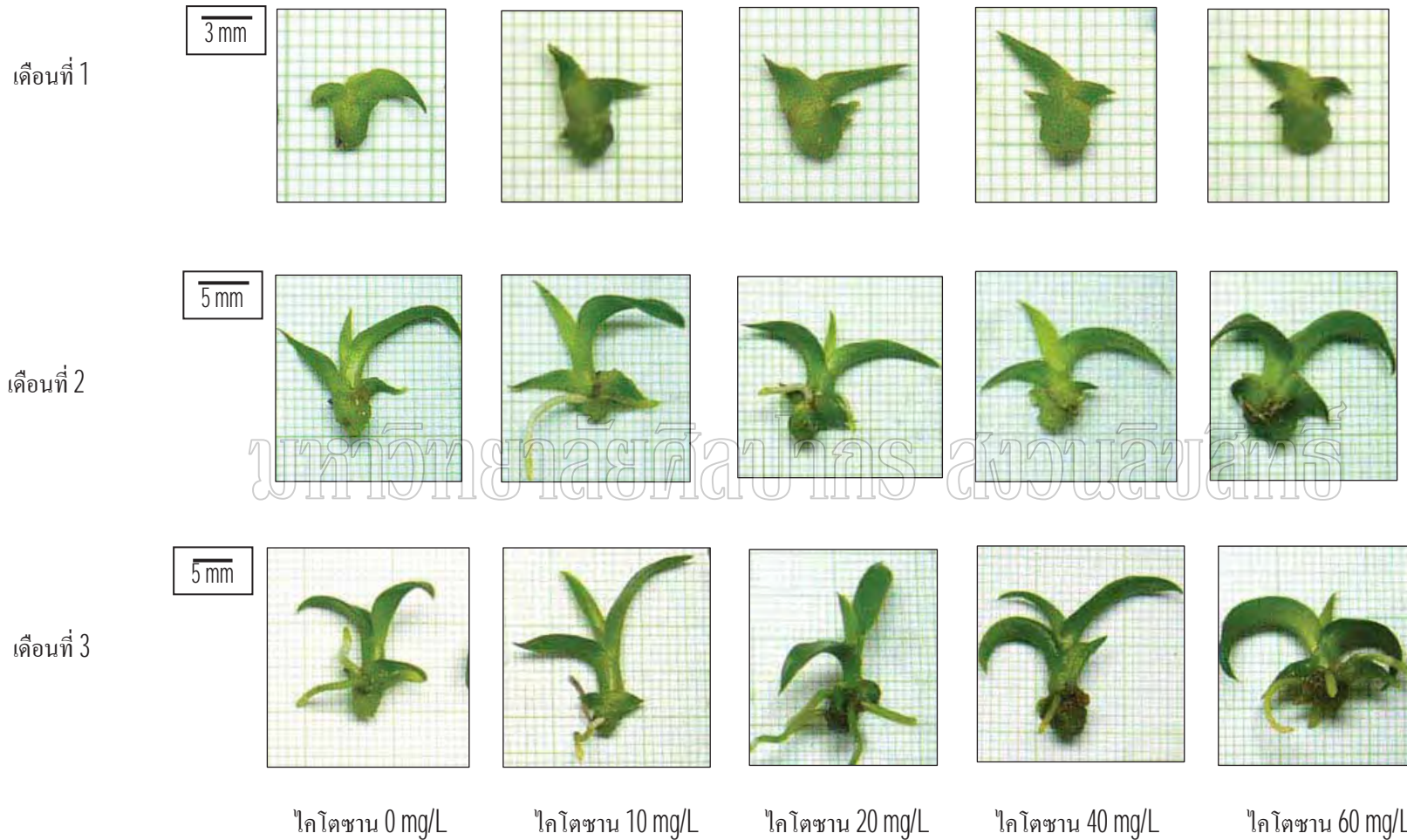
ไคโตซาน 40 mg/L

ไคโตซาน 60 mg/L

รูปที่ 6 การเจริญของโปรโตคอร์ัมขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง VW ร่วมกับ ไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 1-3



รูปที่ 7 การเจริญของโปรโตคอร์ัมขนาดใหญ่(0.3-0.4 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง VW ร่วมกับ ไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 4-6



รูปที่ 8 การเจริญของโปรโตคอร์ัมขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง VW ร่วมกับ ไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 1-3

เดือนที่ 4

5 mm



เดือนที่ 5

5 mm



เดือนที่ 6

5 mm



ไคโตซาน 0 mg/L

ไคโตซาน 10 mg/L

ไคโตซาน 20 mg/L

ไคโตซาน 40 mg/L

ไคโตซาน 60 mg/L

รูปที่ 9 การเจริญของโปรโตคอร์ัมขนาดใหญ่ (0.3- 0.4 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง VW ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เดือนที่ 4-6

2.2 ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญของโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ของ *Dendrobium* Queen Pink (ต่อเนื่องจากการทดลองที่ 2.1)

นำโพรโทคอร์ม *Dendrobium* Queen Pink ขนาดใหญ่ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3-0.4 เซนติเมตร และมีใบขนาดเล็กเกิดตรงส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมไคโตซานความเข้มข้น 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 เดือน จนได้เป็นต้นที่มีทั้งใบและราก โดยในแต่ละทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซานมีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (การทดลองที่ 2.1) หลังจากนั้นจึงทำการเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตรเดิมอีกเป็นเวลา 6 เดือนเพื่อศึกษาการเจริญเป็นระยะเวลา 1 ปี พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ *Dendrobium* Queen Pink ในอาหารที่เติมไคโตซานความเข้มข้น 0 10 20 40 และ 60 เป็นเวลา 1 ปี แล้วต้นที่ได้มีจำนวนใบ และจำนวนต้นใหม่ที่เกิดจากต้นเดิมในระหว่างเพาะเลี้ยงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.1$ (ตารางที่ 12 และภาพที่ 10) ต้นที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความสูงเท่ากับ 3.45 เซนติเมตร มีความยาวรากเท่ากับ 3.44 เซนติเมตร และมีพื้นที่ใบเท่ากับ 1.67 ตารางเซนติเมตร ซึ่งมากที่สุดและแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม และได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 12 และภาพที่ 10) ในทรีตเมนต์ที่มีไคโตซานความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดรวม น้ำหนักแห้งรวม และจำนวนรากมากที่สุด โดยน้ำหนักสดเท่ากับ 2.260 กรัม แบ่งเป็นน้ำหนักสดต้น 1.875 กรัม และน้ำหนักสดราก 0.385 กรัม มีน้ำหนักแห้งรวมเท่ากับ 0.216 กรัม แบ่งเป็นน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 0.152 กรัม และน้ำหนักแห้งรากเท่ากับ 0.064 กรัม และเกิดรากเท่ากับ 8.21 ราก ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานแต่ไม่แตกต่างจากไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.1$ (ตารางที่ 13 และภาพที่ 10)

ตารางที่ 12 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* ที่เลี้ยงโพรโทคอร์มขนาด ใหญ่บนอาหารแข็ง VW ที่มีไลโคซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 ปี

ไลโคซาน (mg/L)	ความสูง (cm) ^{1/}	จำนวนใบ ^{1/}	พื้นที่ใบ (cm ²) ^{1/}	จำนวนราก ^{1/}	ความยาวราก (cm) ^{1/}	จำนวนต้นใหม่ ^{1/}
0	1.16±0.12c	4.75±0.63a	0.72±0.20b	3.83±1.53b	1.02±0.34c	1.50±0.29a
10	1.68±0.23bc	4.75±0.33a	0.87±0.19b	5.06±0.96ab	1.92±0.30bc	2.11±0.39a
20	2.97±0.57a	5.17±0.47a	1.42±0.31ab	8.21±1.17a	2.52±0.30ab	1.50±0.38a
40	2.43±0.35ab	5.40±0.80a	1.19±0.23ab	7.69±2.08ab	2.65±0.37ab	2.00±0.60a
60	3.45±0.48a	5.89±0.70a	1.67±0.28a	6.48±0.83ab	3.44±0.46a	1.33±0.41a

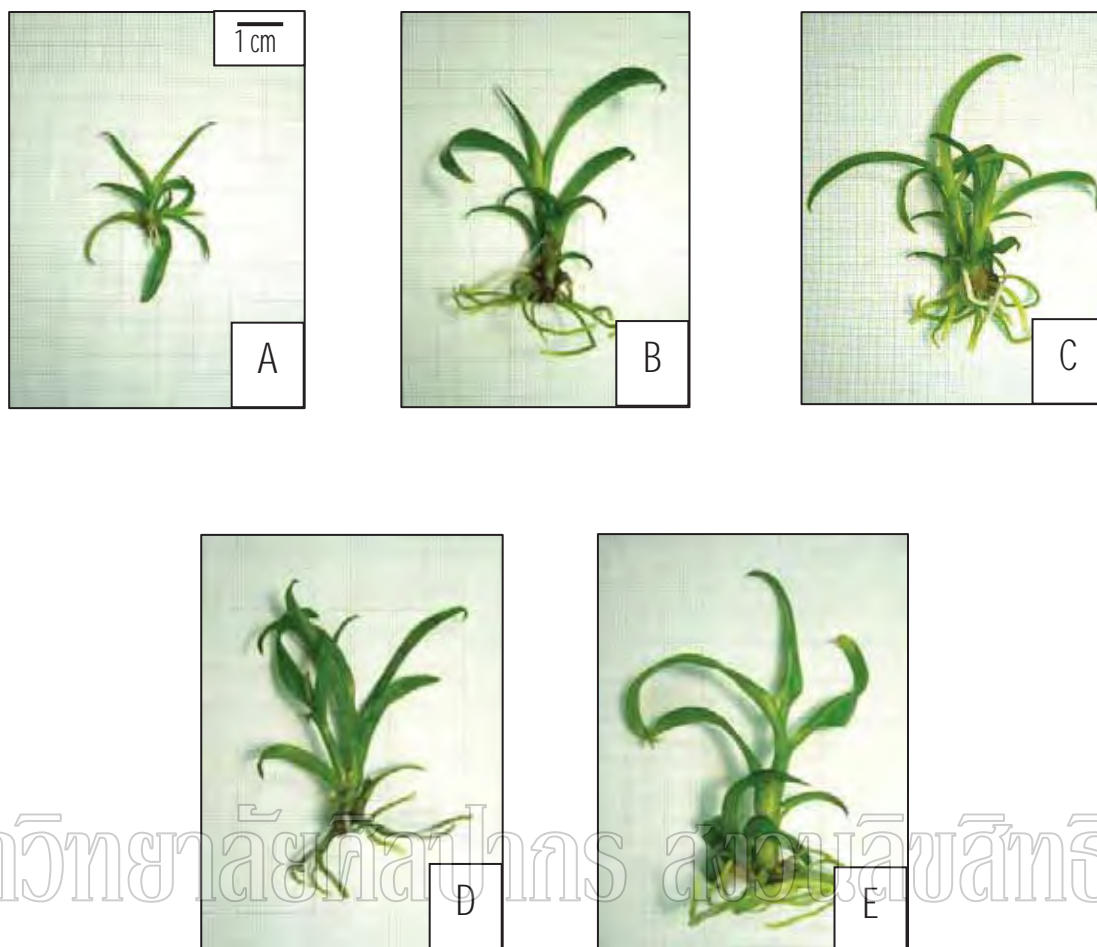
^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P=0.1$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 13 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* ที่เลี้ยงโพรโทคอร์มขนาดใหญ่บนอาหารแข็ง VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 ปี

ไคโตซาน (mg/L)	น้ำหนักสด (g) ^{1/}			น้ำหนักแห้ง (g) ^{1/}			อัตราส่วน ^{1/} ต้นต่อราก
	รวม	ต้น	ราก	รวม	ต้น	ราก	
0	0.904±0.285b	0.806±0.223b	0.098±0.068b	0.080±0.022b	0.067±0.015b	0.014±0.009b	1.98±0.32a
10	1.689±0.292a	1.460±0.244a	0.229±0.063ab	0.159±0.025a	0.113±0.013a	0.062±0.025a	2.73±0.52a
20	2.260±0.239a	1.875±0.188a	0.385±0.058a	0.216±0.024a	0.152±0.015a	0.064±0.010a	2.05±0.07a
40	1.830±0.320a	1.515±0.270a	0.314±0.064a	0.174±0.026a	0.118±0.018a	0.055±0.010a	2.26±0.15a
60	2.204±0.183a	1.913±0.164a	0.290±0.035a	0.197±0.015a	0.144±0.010a	0.053±0.008a	2.41±0.20a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น



รูปที่ 10 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ปี
 (A) ไคโตซาน 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม) (B) ไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร
 (C) ไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (D) ไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร
 (E) ไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร

3 ศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium Queen Pink*

การชักนำให้ต้นกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* เกิดก้านช่อดอกภายในหลอดทดลอง โดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดดอก เริ่มจากนำต้นกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW เติมผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 20 และ 40 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน เพื่อเป็นการสะสมอาหารในต้นกล้วยไม้ก่อนนำไปชักนำให้เกิดก้านช่อดอก แล้วนำต้นกล้วยไม้ที่ผ่านการสะสมอาหารแล้วไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร VW เติมผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม BA และ PBZ เพื่อชักนำให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลอง

3.1 ศึกษาผลของน้ำตาลความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญของ *Dendrobium Queen Pink* ก่อนการชักนำให้เกิดก้านช่อดอก

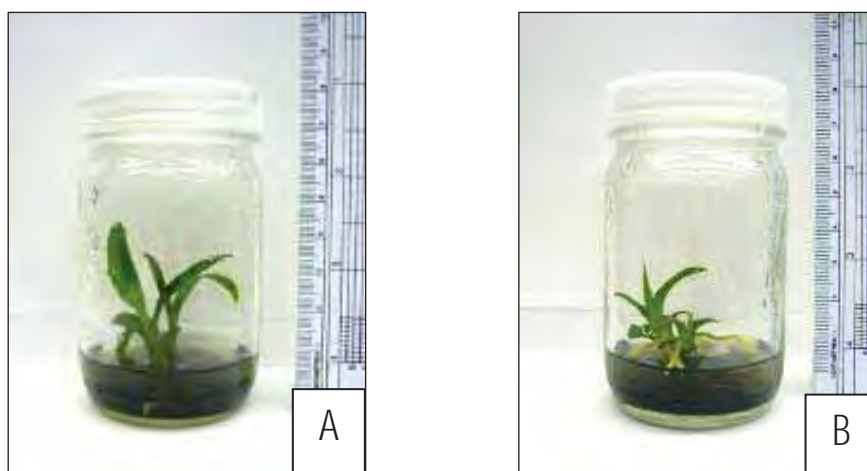
นำต้น *Dendrobium Queen Pink* ที่มีอายุ 6 เดือน และมีขนาดเท่า ๆ กันคือสูง 0.4-0.6 เซนติเมตร มีใบ 3-5 ใบ นำมาตัดราก และย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่มีน้ำตาล 20 และ 40 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลทั้งสองความเข้มข้น มีน้ำหนักต้น จำนวนใบ พื้นที่ใบ จำนวนราก และจำนวนต้นใหม่ที่เกิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ (ตารางที่ 14 และภาพที่ 11) ความสูงของต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร มีความสูงเท่ากับ 0.84 เซนติเมตร และมีความยาวรากเท่ากับ 1.52 เซนติเมตร (ภาพที่ 11B) ซึ่งน้อยกว่าที่มีน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ที่สูงเท่ากับ 1.34 เซนติเมตร และมีความยาวรากเท่ากับ 1.97 เซนติเมตร (ภาพที่ 11A) แต่ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดรากเท่ากับ 0.255 กรัม มากกว่าที่ได้รับน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ที่มีน้ำหนักรากเท่ากับ 0.127 กรัม อย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ (ตาราง 14 และภาพที่ 11)

ตารางที่ 14 การเจริญเติบโตของ *Dendrobium* Queen Pink บนอาหารแข็งสูตร VW ที่มีน้ำตาล 20 และ 40 กรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 3 เดือน

น้ำตาล (g/L)	ความสูง (cm) ^{1/}	น้ำหนักสดรวม (g) ^{1/}	น้ำหนักสดต้น (g) ^{1/}	น้ำหนักสดราก (g) ^{1/}	จำนวนใบ ^{1/}	พื้นที่ใบ (cm ²) ^{1/}	จำนวนราก ^{1/}	ความยาวราก (cm) ^{1/}	จำนวนต้นใหม่ ^{1/}
20	1.34±0.09a	0.743±0.102a	0.616±0.070a	0.127±0.038b	4.10±0.29a	0.74±0.06a	6.40±0.77a	1.97±0.16a	1.40±0.34a
40	0.84±0.05b	0.779±0.052a	0.524±0.031a	0.255±0.028a	3.57±0.27a	0.52±0.12a	7.07±1.01a	1.52±0.10b	1.07±0.15a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



รูปที่ 11 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* หลังจากสะสมอาหาร
ในน้ำตาลความเข้มข้นต่างกัน เป็นระยะเวลา 3 เดือน
(A) น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร
(B) น้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร

3.2 ศึกษาผลของ BA และ PBZ ที่มีต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium Queen Pink*

นำต้น *Dendrobium Queen Pink* ที่ผ่านการสะสมอาหารในน้ำตาล 2 ความเข้มข้น คือ 20 และ 40 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน จากการทดลองที่ 3.1 ทุกความเข้มข้นมาตัดราก แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ($\frac{1}{2}$ VW) ร่วมกับ BA 22.2 ไมโครโมลาร์ หรือ PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ หรือบนอาหารที่มีทั้ง BA 22.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าความสูง พื้นที่ใบ และน้ำหนักสดต้นมากที่สุดที่ต้นที่สะสมอาหารในน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ โดยมีความสูงเท่ากับ 3.14 เซนติเมตร และมีพื้นที่ใบเท่ากับ 1.53 ตารางเซนติเมตร ต่างจากต้นที่สะสมอาหารในน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ต่างจากทริตเมนต์อื่น ๆ (ตารางที่ 15 และภาพที่ 12) มีน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 2.925 กรัม ซึ่งมากกว่าต้นที่ผ่านการสะสมอาหารในน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตรมาก่อนทุกทริตเมนต์ แต่ไม่ต่างจากที่สะสมอาหารในน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ทริตเมนต์อื่น ๆ (ตารางที่ 16 และภาพที่ 12) เมื่อนำมาหาค่าอัตราส่วนต้นต่อรากพบว่าการนำอาหารไปเป็นการเจริญเติบโตของต้นมากกว่าราก ในต้นที่สะสมอาหารในน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ มีอัตราส่วนของน้ำหนักต้นต่อรากมากที่สุด เท่ากับ 2.82 กรัมต่างจากต้นที่สะสมอาหารในน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ และ BA 22.2 ไมโครโมลาร์ และต้นที่สะสมอาหารในน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 16 และภาพที่ 12) แต่น้ำหนักสดรวม น้ำหนักแห้งรวม น้ำหนักแห้งต้น น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวรากและการเกิดต้นใหม่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ (ตารางที่ 15 16 และภาพที่ 12) และไม่พบว่ามีก้านช่อดอกเกิดขึ้นในทุกทริตเมนต์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 15 การเจริญเติบโตของ *Dendrobium* Queen Pink ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW เดิม BA และ PBZ เป็นระยะเวลา 4 เดือน

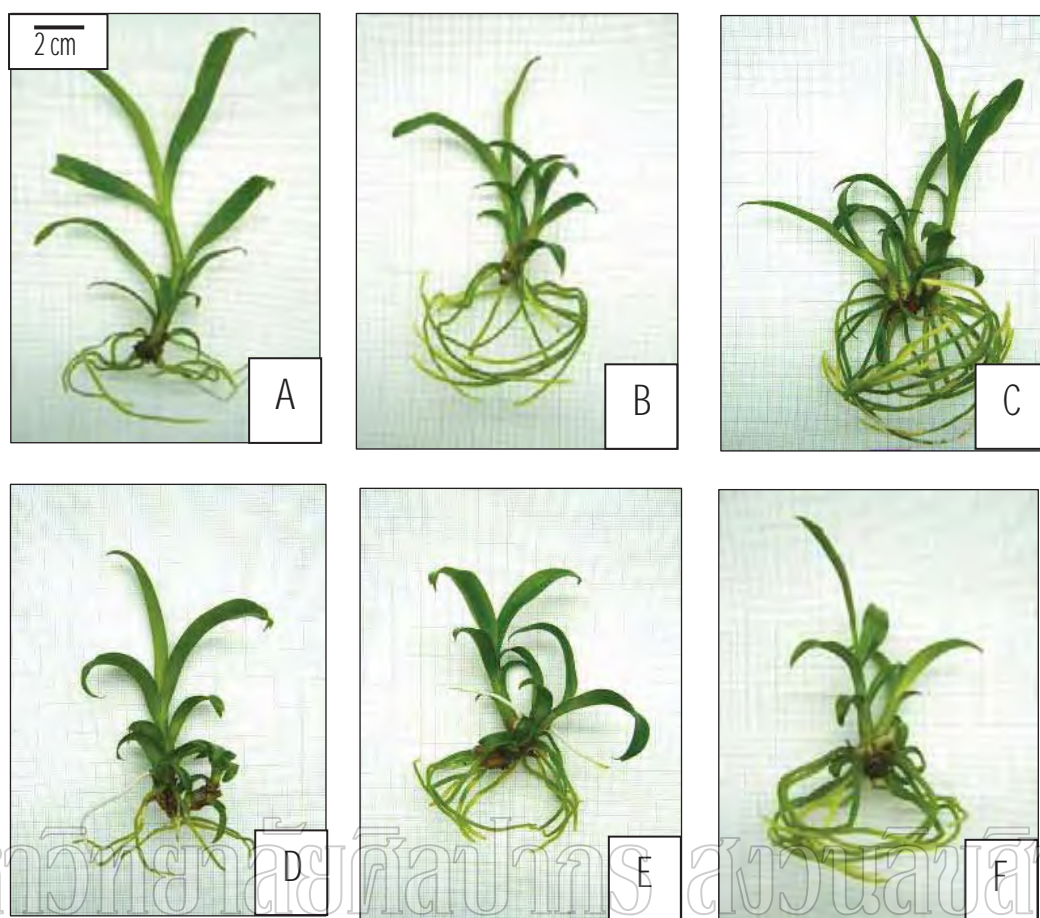
น้ำตาล (g/L)	สารควบคุมการเจริญเติบโต	ความสูง ^{1/} (cm)	จำนวนใบ ^{1/}	พื้นที่ใบ ^{1/} (cm ²)	จำนวนราก ^{1/}	ความยาวราก ^{1/} (cm)	จำนวนต้นใหม่ ^{1/}
20	BA 22.2 μ M	3.14 \pm 0.32a	5.03 \pm 0.39a	1.53 \pm 0.13a	5.36 \pm 0.81a	5.42 \pm 0.52a	1.60 \pm 0.34a
	PBZ 0.17 μ M	2.47 \pm 0.14ab	4.53 \pm 0.41a	1.43 \pm 0.10ab	5.64 \pm 0.27a	4.91 \pm 0.80a	1.70 \pm 0.21a
	BA 22.2 μ M + PBZ 0.17 μ M	2.78 \pm 0.19ab	4.05 \pm 0.25a	1.50 \pm 0.16ab	4.77 \pm 0.82a	6.23 \pm 0.33a	2.00 \pm 0.50a
40	BA 22.2 μ M	2.72 \pm 0.21ab	4.99 \pm 0.63a	1.21 \pm 0.10ab	4.26 \pm 0.83a	5.23 \pm 0.67a	1.60 \pm 0.16a
	PBZ 0.17 μ M	2.53 \pm 0.18ab	5.45 \pm 0.40a	1.16 \pm 0.15ab	5.50 \pm 0.42a	6.45 \pm 1.06a	1.70 \pm 0.21a
	BA 22.2 μ M + PBZ 0.17 μ M	2.41 \pm 0.22b	4.70 \pm 0.38	1.09 \pm 0.12b	5.03 \pm 0.74a	4.93 \pm 0.72a	1.70 \pm 0.21a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย \pm S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 16 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของ *Dendrobium* Queen Pink ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW เต็ม BA และ PBZ เป็นระยะเวลา 4 เดือน

น้ำตาล (g/L)	สารควบคุมการเจริญเติบโต	น้ำหนักสด (g)			น้ำหนักแห้ง (g)			น้ำหนัก ต้น:ราก ^{1/}
		รวม ^{1/}	ต้น ^{1/}	ราก ^{1/}	รวม ^{1/}	ต้น ^{1/}	ราก ^{1/}	
20	BA 22.2 μ M	3.690 \pm 0.459a	2.925 \pm 0.353a	0.765 \pm 0.151a	0.298 \pm 0.037a	0.199 \pm 0.024a	0.099 \pm 0.017a	1.99 \pm 0.14b
	PBZ 0.17 μ M	2.942 \pm 0.283a	2.202 \pm 0.194ab	0.740 \pm 0.174a	0.265 \pm 0.030a	0.161 \pm 0.015a	0.104 \pm 0.023a	2.00 \pm 0.06b
	BA 22.2 μ M + PBZ 0.17 μ M	3.014 \pm 0.408a	2.271 \pm 0.254ab	0.743 \pm 0.191a	0.303 \pm 0.042a	0.176 \pm 0.018a	0.127 \pm 0.027a	2.39 \pm 0.18ab
40	BA 22.2 μ M	2.609 \pm 0.356a	2.154 \pm 0.262b	0.456 \pm 0.121a	0.236 \pm 0.031a	0.157 \pm 0.019a	0.079 \pm 0.015a	2.82 \pm 0.41a
	PBZ 0.17 μ M	2.936 \pm 0.226a	2.119 \pm 0.151b	0.817 \pm 0.113a	0.293 \pm 0.013a	0.172 \pm 0.017a	0.121 \pm 0.018a	1.91 \pm 0.24b
	BA 22.2 μ M + PBZ 0.17 μ M	2.577 \pm 0.279a	1.939 \pm 0.182b	0.638 \pm 0.168a	0.248 \pm 0.031a	0.149 \pm 0.015a	0.099 \pm 0.022a	2.12 \pm 0.16ab

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย \pm S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น



รูปที่ 12 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* หลังจากเพาะเลี้ยงใน

อาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 เดือน

(A) น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร → BA 22.2 ไมโครโมลาร์

(B) น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร → PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์

(C) น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร → BA 22.2 ไมโครโมลาร์ + PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์

(D) น้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร → BA 22.2 ไมโครโมลาร์

(E) น้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร → PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์

(F) น้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร → BA 22.2 ไมโครโมลาร์ + PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์

4 ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy Lip*

การชักนำให้กล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลองโดยการใช้ BA ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่ลงในอาหารเพาะเลี้ยง โดยช่วงแรกจะเป็นการเพาะเลี้ยงต้นอายุ 2 เดือน ที่มาจากการเพาะเมล็ดในอาหารเหลว เดิม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซาน 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน จากนั้นนำต้นจากอาหารเหลวไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารแข็งสูตรเดิมที่เดิมผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร จนได้เป็นต้นแล้วจึงย้ายต้นไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสองชั้นสูตรต่าง ๆ (ตารางที่ 2)

4.1 ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* ก่อนการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกที่เลี้ยงในอาหารเหลว VW

นำฝักกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* อายุ 4 เดือน มาเพาะเมล็ดจนได้เป็นต้นอายุ 2 เดือน ขนาด 0.2-0.3 เซนติเมตร มีใบเล็ก ๆ 1-2 ใบ นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เดิม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซาน 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าจำนวนใบเฉลี่ยของแต่ละทริตเมนต์ไม่แตกต่างกันในช่วงสัปดาห์ที่ 1-7 ของการเพาะเลี้ยง ในสัปดาห์ที่ 8 และ 9 ของการทดลองจำนวนใบในทริตเมนต์ที่เดิมไคโตซานเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมากที่สุดเท่ากับ 4.62 และ 4.96 ใบตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซานเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ต่างจากชุดควบคุมและทริตเมนต์อื่น ในสัปดาห์ที่ 10 ทริตเมนต์ที่เดิมไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบเท่ากับ 5.34 ใบ ไม่แตกต่างแตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ต่างจากทริตเมนต์อื่นอย่างมีนัยสำคัญ และสัปดาห์ที่ 11 ของการเพาะเลี้ยง ทริตเมนต์ที่เดิมไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบเท่ากับ 5.15 ใบ แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตรอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพาะเลี้ยงไป 12 สัปดาห์ จำนวนใบเฉลี่ยทุกทริตเมนต์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.05$ (ตารางที่ 17)

จำนวนรากเฉลี่ยของแต่ละทริตเมนต์ไม่แตกต่างกันในช่วงสัปดาห์ที่ 1-5 ของการเพาะเลี้ยง ในสัปดาห์ที่ 6 มีจำนวนรากเฉลี่ยในชุดควบคุมเท่ากับ 1.03 ราก ไม่แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างจากทริตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ สัปดาห์ที่ 7 จำนวนรากเฉลี่ยในชุดควบคุม และได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมากที่สุดเท่ากับ 1.13 และ 1.11 รากตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ และ

ในช่วงอาทิตย์ที่ 8-9 จำนวนรากเฉลี่ยในชุดควบคุมมากที่สุดเท่ากับ 1.16 และ 1.31 ราก ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับจำนวนรากเฉลี่ยในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 18) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จำนวนต้นใหม่ที่เกิดในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมากที่สุดเท่ากับ 5.09 ต้น แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ต่างจากทรีตเมนต์อื่น ๆ (ตารางที่ 19)

จำนวนปากใบบนเซลล์ผิวบนอกด้านบนของใบในชุดควบคุมมีจำนวนมากที่สุดเท่ากับ 8.70 ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับทรีตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ขนาดของปากใบในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความกว้างเท่ากับ 41.75 ไมโครเมตร แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความยาวเท่ากับ 40.00 ไมโครเมตร แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม แต่ไม่ต่างจากที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญ มีความกว้างช่องเปิดในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 16.25 ไมโครเมตร แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม และที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และความยาวช่องเปิดในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 20.25 ไมโครเมตร แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 10 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่จำนวนและขนาดของคลอโรพลาสต์ทุกทรีตเมนต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.05$ (ตารางที่ 20 และภาพที่ 13)

จำนวนปากใบบนเซลล์ผิวบนอกด้านล่างของใบในชุดควบคุมมีจำนวนมากที่สุดเท่ากับ 52.80 ไม่แตกต่างทางสถิติกับทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่มากกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ขนาดของปากใบในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความกว้างเท่ากับ 40.25 ไมโครเมตร แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซาน 10 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความยาวเท่ากับ 38.75 ไมโครเมตร แตกต่างทางสถิติกับต้นที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่ต่างจากทรีตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ความกว้างช่องเปิดในทุกทรีตเมนต์ไม่แตกต่างกัน ความยาวช่องเปิดในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 19.50 ไมโครเมตร แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่ต่างจากทรีตเมนต์อื่น ๆ จำนวนคลอโรพลาสต์ในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมากที่สุดเท่ากับ 31.10 แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่ต่างจากที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ โดยขนาดของคลอโรพลาสต์ทุกทรีตเมนต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P=0.05$ (ตารางที่ 21 และภาพที่ 13)

ตารางที่ 17 จำนวนใบของ *Dendrobium White Pansy Lip* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน

ไคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (สัปดาห์)											
	1 ^{2/}	2 ^{2/}	3 ^{2/}	4 ^{2/}	5 ^{2/}	6 ^{2/}	7 ^{2/}	8 ^{1/}	9 ^{1/}	10 ^{1/}	11 ^{2/}	12 ^{1/}
0	2.25±0.09a	2.65±0.10a	2.94±0.09a	3.44±0.10a	3.63±0.07a	3.97±0.11a	4.28±0.10a	4.34±0.11a	4.47±0.13ab	4.63±0.20b	4.47±0.23bc	4.71±0.27a
10	2.15±0.07a	2.62±0.13a	2.92±0.12a	3.23±0.07a	3.65±0.13a	4.08±0.18a	4.54±0.26a	4.62±0.18a	4.96±0.21a	5.31±0.34a	5.15±0.29a	5.23±0.37a
20	2.11±0.05a	2.43±0.08a	2.86±0.06a	3.27±0.06a	3.64±0.07a	3.86±0.08a	4.30±0.10a	4.57±0.13a	4.80±0.14ab	5.34±0.18a	5.09±0.22a	5.36±0.24a
40	2.04±0.04a	2.54±0.06a	2.83±0.06a	3.50±0.08a	3.78±0.08a	3.87±0.10a	4.17±0.10a	4.39±0.12a	4.57±0.16ab	4.54±0.12b	4.80±0.14ab	4.93±0.13a
60	2.05±0.11a	2.55±0.11a	2.95±0.08a	3.36±0.10a	3.50±0.13a	3.73±0.16a	3.91±0.11a	3.77±0.22b	4.41±0.13b	4.23±0.21b	4.23±0.17c	4.68±0.26a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 18 จำนวนรากของ *Dendrobium White Pansy Lip* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และโคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน

โคโตซาน (mg/L)	ระยะเวลา (สัปดาห์)											
	1 ^{2/}	2 ^{2/}	3 ^{1/}	4 ^{2/}	5 ^{2/}	6 ^{1/}	7 ^{2/}	8 ^{1/}	9 ^{1/}	10 ^{2/}	11 ^{2/}	12 ^{2/}
0	0.16±0.06a	0.16±0.06a	0.44±0.09a	0.44±0.09a	0.63±0.12a	1.03±0.17a	1.13±0.21ab	1.16±0.22a	1.31±0.21a	1.00±0.16a	1.16±0.16a	1.16±0.16a
10	0.08±0.05a	0.22±0.06a	0.46±0.09a	0.50±0.15a	0.77±0.12a	0.62±0.12b	0.73±0.13bc	0.85±0.15abc	0.81±0.16ab	0.81±0.19a	0.73±0.17ab	0.85±0.15a
20	0.14±0.06a	0.41±0.06a	0.45±0.09a	0.70±0.14a	0.73±0.11a	0.98±0.11a	1.11±0.10a	1.07±0.15ab	1.20±0.20ab	1.95±0.59a	1.68±0.46a	1.82±0.50a
40	0.17±0.06a	0.37±0.08a	0.57±0.08a	0.67±0.12a	0.63±0.08a	0.63±0.08b	0.67±0.09bc	0.63±0.10bc	0.67±0.12b	0.87±0.15a	0.67±0.13b	0.76±0.15a
60	0.23±0.08a	0.27±0.10a	0.50±0.10a	0.55±0.13a	0.41±0.09a	0.50±0.10b	0.45±0.08c	0.55±0.13c	0.68±0.18b	0.73±0.19a	0.55±0.13b	0.64±0.15a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 19 จำนวนต้นใหม่ของ *Dendrobium White Pansy Lip* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน

ไคโตซาน (mg/L)	จำนวนต้นใหม่ ^{1/}
0	3.81±0.70ab
10	2.54±0.60b
20	5.09±0.67a
40	3.52±0.50ab
60	3.45±1.04ab

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P=0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 20 ลักษณะของปากใบ *Dendrobium White Pansy Lip* บนเซลล์ผิวใบด้านบนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเต็ม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และ โคลโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน

โคลโตซาน (mg/L)	จำนวนปากใบ ^{1/}	ความกว้างปากใบ ^{2/} (μM)	ความยาวปากใบ ^{2/} (μM)	ความกว้างช่องเปิด ^{1/} (μM)	ความยาวช่องเปิด ^{1/} (μM)	จำนวนคลอโรพลาสต์ ^{1/} (μM)	ขนาดคลอโรพลาสต์ ^{2/} (μM)
0	8.70±0.79a	36.00±1.59b	34.25±1.63b	7.50±0.65c	13.00±1.04d	32.60±1.27a	3.75±0.42a
10	4.70±0.80b	39.50±0.73ab	39.75±0.95a	11.50±0.93b	14.25±0.75cd	28.70±1.07a	4.00±0.55a
20	3.20±1.10bc	38.5±0.67b	38.00±0.50ab	14.50±1.04a	17.75±0.69ab	30.67±1.51a	2.75±0.25a
40	5.70±1.12b	41.75±1.67a	40.00±1.39a	16.25±1.41a	16.50±1.13bc	30.83±3.16a	3.25±0.38a
60	1.00±0.33c	38.50±1.30ab	35.25±2.72ab	15.25±0.69a	20.25±1.20a	28.86±2.52a	4.00±0.41a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

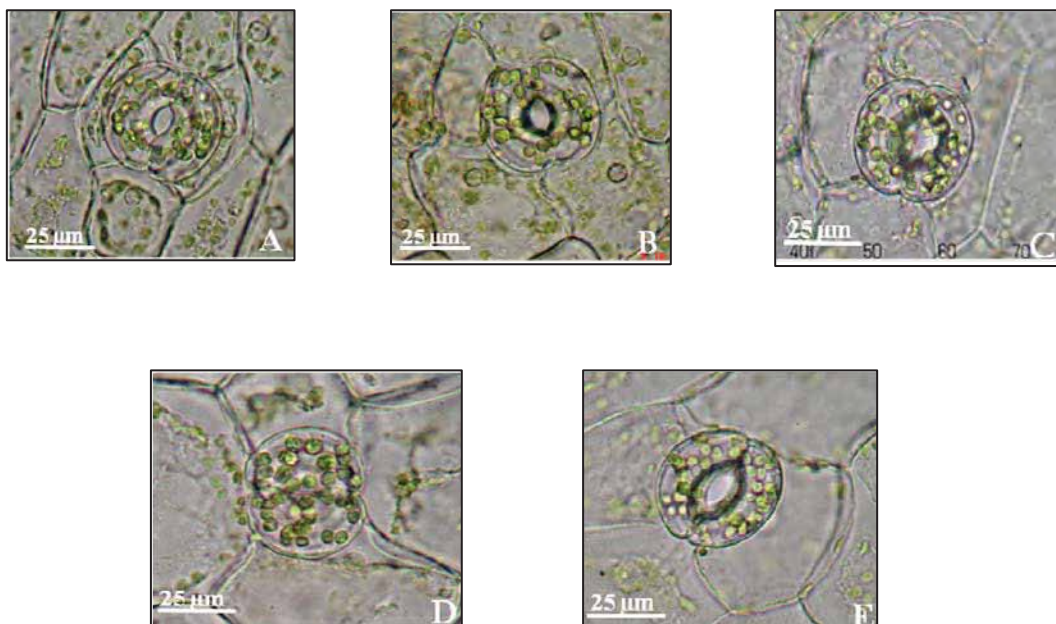
^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

ตารางที่ 21 ลักษณะของปากใบ *Dendrobium White Pansy Lip* บนเซลล์ผิวใบด้านล่างที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเต็ม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และ โคลโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน

โคลโตซาน (mg/L)	จำนวนปากใบ ^{1/}	ความกว้างปากใบ ^{2/} (μM)	ความยาวปากใบ ^{2/} (μM)	ความกว้างช่องเปิด ^{2/} (μM)	ความยาวช่องเปิด ^{1/} (μM)	จำนวนคลอโรพลาสต์ ^{1/} (μM)	ขนาดคลอโรพลาสต์ ^{2/} (μM)
0	52.80±1.49a	38.00±0.50ab	37.50±0.65ab	12.75±1.31a	16.25±1.36b	27.90±1.19bc	3.25±0.38a
10	42.80±1.31b	37.75±0.25b	38.00±0.33ab	12.25±0.45a	17.75±0.79ab	31.10±0.74a	3.25±0.38a
20	44.50±1.86b	40.25±0.87a	38.75±0.77a	10.75±0.53a	17.00±0.73ab	29.20±1.01ab	3.00±0.33a
40	50.60±1.19a	38.75±0.67ab	35.25±1.08b	12.75±0.25a	15.75±0.92b	28.40±0.93abc	2.50±0.00a
60	31.30±1.74c	33.25±1.45c	37.00±0.33ab	12.25±0.58a	19.50±1.11a	26.10±1.07c	3.25±0.38a

^{1/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น

^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น



รูปที่ 13 เปรียบเทียบลักษณะปากใบของ *Dendrobium White Pansy Lip* หลังจากเพาะเลี้ยงบน

อาหารแข็ง VW ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ และไอโอดีนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ปี

- | | |
|--|---------------------------------|
| (A) ไอโอดีน 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม) | (B) ไอโอดีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร |
| (C) ไอโอดีน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร | (D) ไอโอดีน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร |
| (E) ไอโอดีน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร | |

4.2 ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy Lip* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้น

นำต้น *Dendrobium White Pansy Lip* ที่มาจากการเพาะเลี้ยงในการทดลองที่ 4.1 ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW จนได้เป็นต้น จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสองชั้น โดยในชั้นล่างเป็นอาหารแข็ง และชั้นบนเป็นอาหารเหลวที่มีการเติมไคโตซานความเข้มข้น 0 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามสูตร (ตารางที่ 2) พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยง *Dendrobium White Pansy Lip* ในอาหารสองชั้นเป็นระยะเวลา 60 วัน ทริตเมนต์ที่มีไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดก้านช่อดอกเป็นครั้งแรก ซึ่งเร็วกว่าชุดควบคุมและที่มีไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 90 วัน ชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานก็เริ่มเกิดก้านช่อดอกเช่นเดียวกัน และเมื่อระยะเวลาผ่านไปครบ 1 ปี หลังจากที่เราเริ่มเพาะเมล็ดพบว่าชุดควบคุมมีจำนวนก้านช่อดอกเฉลี่ยเกิดมากที่สุดเท่ากับ 0.67 ช่อ ไม่ต่างจากทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ต่างจากที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ และเมื่อดูเปอร์เซ็นต์การเกิดช่อดอกต่อขวดพบว่าทริตเมนต์ที่มีการเติมไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดก้านช่อดอกคิดเป็น 50.00 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม แต่มากกว่าทริตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.1$ (ตารางที่ 22) ส่วนทริตเมนต์ที่มีการเติมไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีการเกิดก้านช่อดอกเกิดขึ้นในระยะเวลา 1 ปี ที่ทำการทดลอง ก้านช่อดอกที่เกิดขึ้นมีดอกตูมเห็นได้ชัดเจน แต่ดอกตูมไม่สามารถบานออกเป็นดอกปกติได้ (ภาพที่ 14 และ 15)

ตารางที่ 22 การเกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy Lip* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้น เป็นระยะเวลา 5 เดือน

ไคโตซาน (mg/L)	จำนวนวันที่เริ่มเกิดช่อดอก	จำนวนก้านช่อดอกเฉลี่ย ^{2/}	การเกิดช่อดอก (%) ^{2/}
0	90-150	0.67±0.28a	41.67±14.86a
10	-	0.00±0.00b	0.00±0.00b
20	120-150	0.25±0.13ab	25.00±13.06ab
40	60-150	0.50±0.15a	50.00±15.08a
60	120-150	0.36±0.20ab	27.27±14.08ab

^{2/} ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± S.E.) ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ ($P = 0.1$) โดยวิธีการเปรียบเทียบแบบ MWUT ทำการทดลอง 12 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 1 ต้น



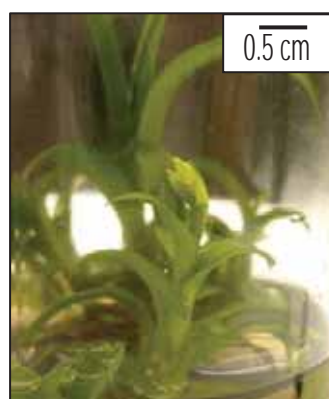
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

รูปที่ 14 การเกิดก้านช่อดอกของกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* ในหลอดทดลอง

หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้นเป็นเวลา 5 เดือน

(A) ช่อดอกที่เกิดภายในหลอดทดลอง

(B) ภาพขยายของช่อดอกที่เกิดภายในหลอดทดลอง



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

รูปที่ 15 ลักษณะของช่อดอกของกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* แบบต่าง ๆ ที่เกิดในหลอดทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้นเป็นเวลา 5 เดือน

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด *Dendrobium Queen Pink*

จากการทดลองศึกษาผลของไคโตซานความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อการงอกของเมล็ด *Dendrobium Queen Pink* พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือนในอาหารเหลวจะเห็นเป็นโพรโทคอร์มสีเขียวซึ่งมีหลายขนาด เมื่อนำมานับเปอร์เซ็นต์การงอกที่เกิดขึ้นพบว่าทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกน้อยกว่าที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ แต่ในทรีตเมนต์ที่มีไคโตซาน 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ไม่มีไคโตซานมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติ สอดคล้องกับการทดลองที่มีรายงานว่าไคโตซานกลุ่มโพลีเมอร์ (polymer) 70 80 และ 90 เปอร์เซ็นต์ (P-70 P-80 และ P-90) และ โอลิโกเมอร์ (oligomer) 70 80 และ 90 เปอร์เซ็นต์ (O-70 O-80 และ O-90) ความเข้มข้น 10 20 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด *Dendrobium bigibbum var. compactum* แต่ไคโตซานชนิดและความเข้มข้นดังกล่าว มีผลต่อการงอกของเมล็ด *Dendrobium formosum* (Kananont และคณะ 2010) แสดงว่าการงอกของเมล็ดกล้วยไม้แต่ละชนิดตอบสนองต่อไคโตซานแตกต่างกัน และเมื่อนำโพรโทคอร์มอายุ 3 เดือนที่ได้มาแบ่งเป็นระยะต่าง ๆ พบว่ามีโพรโทคอร์มในระยะ 2 (รูปที่ 4) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มากที่สุดเมื่อเทียบกับที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้นอื่น ๆ และในชุดควบคุม และในทรีตเมนต์ที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ยในระยะที่ 2-4 (รูปที่ 4) มากกว่าโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในชุดควบคุม รวมถึงมีน้ำหนักแห้งในระยะที่ 3 และ 4 (รูปที่ 4) มากกว่าชุดควบคุมด้วย ซึ่งผลการทดลองที่ได้เป็นไปในทางเดียวกับรายงานของ Kananont และคณะ (2010) ที่ว่าไคโตซานกลุ่มโพลีเมอร์ (polymer) 70 80 และ 90 เปอร์เซ็นต์ (P-70 P-80 และ P-90) และ โอลิโกเมอร์ (oligomer) 70 80 และ 90 เปอร์เซ็นต์ (O-70 O-80 และ O-90) ความเข้มข้น 10 20 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด *Dendrobium bigibbum var. compactum* แต่ที่ไคโตซานความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญเติบโตของเมล็ด *Dendrobium bigibbum var. compactum* จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไคโตซานจะมีผลสนับสนุนการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในช่วงของการเจริญเติบโตเท่านั้น และกล้วยไม้แต่ละชนิดก็ตอบสนองต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกันด้วย

2. การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ *Dendrobium Queen Pink*

จากการเพาะเมล็ดของกล้วยไม้หวาย *Dendrobium Queen Pink* และเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน ได้เป็นโพโทคอร์มขนาดแตกต่างกัน จากนั้นเลือกโพโทคอร์มออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารแข็งสูตร VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นเดิม เติมน้ำมันก๊วย 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าหลังจากที่ย้ายโพโทคอร์มลงในอาหารแข็งจะเกิดใบที่บริเวณส่วนยอด และเกิดรากที่อีกด้านหนึ่งจนได้เป็นต้นสมบูรณ์ เนื่องจากในอาหารแข็งมีการเติมผงวุ้น (phytagel) 2 กรัมต่อลิตร ทำให้มีส่วนช่วยพยุงให้โพโทคอร์มตั้งตัวได้ (กลุ่มงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 2554) และผงถ่านกัมมันต์ที่อยู่ในอาหารแข็งช่วยลดข้อผิดพลาด เช่น สารประกอบฟีนอล (phenol) ซึ่งเป็นพิษกับเซลล์ออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง นอกจากนี้ผงถ่านทำให้อาหารเกิดสภาพมืดซึ่งช่วยให้รากเกิดได้ดี และช่วยคงสภาพเสถียรของ pH ด้วย (คำานูณ, 2544; Arditti and Ernst, 1993) โดยต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดเล็กจะมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่เป็นปกติ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน การเจริญของต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดเล็กในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากกว่าชุดควบคุม แต่ลักษณะการเจริญอื่น ๆ ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ ความสูงของต้นที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยมากที่สุดโดยที่น้ำหนักสดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำหนักแห้งในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่ามากที่สุด และพื้นที่ใบในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยมากที่สุดและในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด และเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่อีก 6 เดือน พบว่าต้นที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูง ความยาวราก และพื้นที่ใบมากที่สุด และในทริตเมนต์ที่มีไคโตซานความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดรวม น้ำหนักแห้งรวม และจำนวนรากมากที่สุดซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ จะไปสนับสนุนลักษณะของการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในบริเวณที่แตกต่างกัน เช่น ไปมีผลทำให้ต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น เพิ่มจำนวนใบ จำนวนราก หรือทำให้ต้นมีขนาดใหญ่มากขึ้น สอดคล้องกับที่มีการทดลองในกล้วยไม้หลายชนิดที่ได้รับไคโตซานจะมีการเจริญเติบโตของต้นดีกว่าชุดควบคุม และกล้วยไม้ต่างชนิดกันความเข้มข้นของไคโตซานที่ต้องการเพื่อไปสนับสนุนการเจริญเติบโตต่างกัน (Wikitkankosol และ Thammasiri 1992; Nge และคณะ 2006; Kananont และคณะ 2010) แต่ในการทดลองกับ *Dendrobium bigibbum var. compactum* เมื่อให้ ไคโตซานชนิดโพลิโกเมอร์ 90

เปอร์เซ็นต์ (0-90) ไม่มีผลสนับสนุนการเจริญ ในขณะที่โคโตซานโครงสร้างอื่น ๆ สนับสนุนการเจริญของกล้วยไม้ชนิดนี้ (Kananont และคณะ 2010) แสดงว่านอกจากชนิดของกล้วยไม้ที่จะตอบสนองต่อโคโตซานแล้ว โครงสร้างของโคโตซานที่ใช้ก็มีผลต่อการเจริญเติบโตด้วยเช่นกัน และในการทดลองนี้ถึงแม้ว่าต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นสูงจะมีการเจริญไม่ต่างจากต้นที่มาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่อยู่ในชุดควบคุมหรือที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นน้อยกว่า แต่ก็แตกต่างจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้รับโคโตซานความเข้มข้นเดียวกัน แสดงว่าโคโตซานมีผลต่อการเจริญเติบโตของโพโทคอร์มทั้งสองระยะ โดยเมื่อได้รับโคโตซานความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะมีการเจริญเติบโตดีขึ้น

3. การศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium Queen Pink*

การชักนำให้กล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* เกิดดอกในหลอดทดลอง โดยใช้ต้นที่มีขนาดเท่า ๆ กันคือสูง 0.4-0.6 เซนติเมตร มีใบ 3-5 ใบ นำมาตัดรากแล้วนำไปสะสมอาหารในอาหารเชิงสูตร VW ที่มีน้ำตาลความเข้มข้นต่างกัน คือ น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และน้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน นำมาตัดรากก่อนย้ายต้นไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตรชักนำให้เกิดดอกเนื่องจากมีรายงานว่าการตัดราก *Cymbidium niveo-marginatum* Mak จะมีส่วนช่วยให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลองได้ (Kostenyuk และคณะ 1999) โดยอาหารที่ใช้ชักนำให้เกิดก้านช่อดอกคืออาหารสูตร VW ที่ลดธาตุอาหารทุกตัวลงครึ่งสูตร ($\frac{1}{2}$ VW) เดิม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ และเดิม BA ร่วมกับ PBZ เป็นระยะเวลา 4 เดือน

ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* ในอาหารที่มีน้ำตาลความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าต้นที่อยู่ในน้ำตาลความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร มีความสูงของต้นน้อยกว่าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร แต่มีน้ำหนักรากมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ruth C.Y. และ John T.C. (1949) ที่แสดงในต้นอ่อนของกล้วยไม้ว่าความเข้มข้นของน้ำตาลจะเป็นตัวที่มีผลสนับสนุนการเจริญของราก แต่จะยับยั้งการเจริญของยอด ยิ่งน้ำตาลความเข้มข้นสูงจะทำให้รากเจริญเติบโตดีขึ้น แต่ลดการเจริญของยอดลง โดยมีผลมาจากเมื่อพืชได้รับน้ำตาลที่ความเข้มข้นสูงมาก ๆ พืชจะเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแป้งสะสมไว้ในพืช และอาจเนื่องมาจากว่าที่น้ำตาลความเข้มข้นสูงมีผลทำให้พืชเกิดการขาดน้ำ ทำให้มีการเจริญเติบโตลดลงด้วย

หลังจากที่มีการสะสมอาหารเป็นเวลา 3 เดือนแล้วย้ายต้นไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารที่มีการลดธาตุอาหารสูตร VW ทุกตัวลงครึ่งสูตร ($\frac{1}{2}$ VW) เนื่องจากมีรายงานว่าในกล้วยไม้ *Psychmorchis pusilla* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร VW ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งมีการเกิดก้านช่อดอกมากที่สุด

(Vaz และ Kerbuay 2000) และในกล้วยไม้ *Dendrobium Sonia* 17 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารลดปริมาณ N เพิ่มปริมาณ P ชักนำให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลองได้ (Tee และคณะ 2008; Kostenyuk และคณะ 1999) โดยในอาหารเพาะเลี้ยงเดิม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีหลายการทดลองสรุปไว้ว่าเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการออกดอกในหลอดทดลอง (Kostenyuk และคณะ 1999; Sim และคณะ 2007) และเติม PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการชักนำให้ *Friederick's Dendrobium orchid* ออกดอกในการทดลอง และทดลองนำทั้งสองตัวมาใส่ร่วมกัน แต่ผลที่ได้หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือนพบว่าไม่มีการเกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลอง อาจเนื่องมาจากชนิดของกล้วยไม้ต่างกัน และชนิดของกล้วยไม้ที่ต่างกันก็มีผลต่อปัจจัยที่ใช้ชักนำให้เกิดดอกแตกต่างกันด้วย

4. ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy Lip*

การชักนำให้กล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลองเพื่อจะศึกษาถึงผลของไคโตซานต่อการเกิดก้านช่อดอกของกล้วยไม้ โดยใช้ต้นกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* ที่มาจากการเพาะเมล็ดอายุ 2 เดือน แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ไม่มีน้ำมะพร้าว เดิม BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซาน 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในสภาวะเขย่า 20 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 3 เดือน ก่อนที่จะย้ายต้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้นเดิมจนได้เป็นต้น นาน 1 เดือน แล้วจึงย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสองชั้น ที่มีน้ำมะพร้าวทั้งในส่วนของอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยในส่วนของอาหารเหลวมี BA ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ และไคโตซาน 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และในส่วนของอาหารแข็งมีผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร สังเกตการเกิดก้านช่อดอกทุก 1 เดือน และนับจำนวนก้านช่อดอกที่เกิดต่อขวดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้นครบ 5 เดือน (ต้นกล้วยไม้ อายุ 1 ปี)

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* ในอาหารเหลว เดิม BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซาน 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าในสัปดาห์ที่ 8 และ 9 จำนวนใบในทริตเมนต์ที่ไม่มีไคโตซานและได้รับไคโตซานเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบไม่ต่างกัน แต่มากกว่าที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และสัปดาห์ที่ 10 และ 11 ของการเพาะเลี้ยง มีจำนวนใบเฉลี่ยในทริตเมนต์ที่เดิม ไคโตซาน 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่จำนวนรากตั้งแต่สัปดาห์ที่ 6 ในชุดควบคุมมีมากกว่าที่ได้รับไคโตซานทุกความเข้มข้น และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จำนวนต้นใหม่ที่เกิดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมากที่สุด

สุดท้ายไม่ต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในกล้วยไม้หลายชนิดที่ไคโตซานจะไปสนับสนุนการเจริญบางจุดเท่านั้น เช่น ไปสนับสนุนการเกิดราก แต่ไม่มีผลต่อความสูงหรือทำให้มีน้ำหนักสดเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเกิดยอดใหม่เป็นต้น (Wikitkankosol และ Thammasiri 1992; Nge และคณะ 2006; Kananont และคณะ 2010) เมื่อนำใบไปศึกษาเซลล์ผิวหนังด้านบน และเซลล์ผิวหนังด้านล่างพบว่าจำนวนปากใบบนเซลล์ผิวหนังด้านบนของใบจะมีน้อยกว่าจำนวนปากใบบนผิวเซลล์ด้านล่างเนื่องมาจากว่าปากใบจะทำหน้าที่แลกเปลี่ยนก๊าซและไอน้ำระหว่างภายในและภายนอกใบ โดยภายในเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์ทำให้ส่วนนี้สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ และพบว่าพืชทุกชนิดที่ทั่ว ๆ ไปจะมีเซลล์คุมและปากใบทางผิวใบด้านล่างมากกว่าทางผิวใบด้านบนเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการสูญเสียน้ำได้ง่ายเกินไป ส่วนพืชที่มีใบลอยบนผิวน้ำจะมีปากใบอยู่เฉพาะผิวใบด้านบน เพราะด้านล่างของใบแตะสัมผัสอยู่กับน้ำ ส่วนพืชที่มีใบจมอยู่ใต้น้ำจะไม่มีปากใบเลย เช่น สาหร่ายหางกระรอกเป็นต้น (รัชนี้ 2554) จำนวนปากใบบนเซลล์ผิวหนังด้านบนของใบในชุดควบคุมมีจำนวนมากกว่าทริตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อวัดขนาดของปากใบในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความกว้างและยาวมากกว่าชุดควบคุม ความกว้างช่องเปิดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และความยาวช่องเปิดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุม โดยที่จำนวนและขนาดของคลอโรพลาสต์ทุกทริตเมนต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จำนวนปากใบบนเซลล์ผิวหนังด้านล่างของใบในชุดควบคุมมีจำนวนมากที่สุด ไม่ต่างจากที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาดของปากใบในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความกว้างมากกว่าต้นที่ได้รับไคโตซาน 10 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความยาวมากกว่าต้นที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่ต่างจากทริตเมนต์อื่น ๆ ความกว้างช่องเปิดในทุก ทริตเมนต์ไม่แตกต่างกัน ความยาวช่องเปิดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนคลอโรพลาสต์ในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยขนาดของคลอโรพลาสต์ทุกทริตเมนต์ไม่แตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ พิรพงษ์ และคณะ (2552) ที่ทดลองศึกษาเรื่องผลของไคโตซานต่อคุณภาพและการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของพริกสองชนิดคือพริกมันพันธุ์บางช้าง และพริกขี้หนูพันธุ์ชูเปอร์ฮอทแล้วพบว่าต้นกล้าพริกอายุ 4 สัปดาห์ที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลายที่มีไคโตซาน 200 พีพีเอ็มมีการเจริญเติบโตดีที่สุด มีขนาดของใบมากที่สุด เมื่อศึกษาโครงสร้างของใบพบว่าใบพริกที่ได้รับไคโตซาน 100 และ 200 พีพีเอ็ม มีจำนวนปากใบน้อยกว่าใบพริกที่ฉีดพ่นด้วยน้ำ และไคโตซาน 50 พีพีเอ็ม เนื่องมาจากว่าขนาดของใบพริกที่ใหญ่กว่าเซลล์จะมีขนาดใหญ่กว่าด้วย และเมื่อมีจำนวนปากใบน้อยก็จำเป็นจะไปมีผลลดการ

คายน้ำทำให้ต้นมีการเจริญเติบโตที่ดีมากขึ้น แต่ต่างจาก Limpanavech และคณะ (2008) ที่ทดลองผลของไคโตซาน 6 ชนิด คือ โพลีเมอร์ (polymer) 70 80 และ 90 เปอร์เซ็นต์ (P-70 P-80 และ P-90) และ โอลิโกเมอร์ (oligomer) 70 80 และ 90 เปอร์เซ็นต์ (O-70 O-80 และ O-90) ที่ความเข้มข้น 1 10 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อ *Dendrobium* 'Eiskul' พบว่าลักษณะของคลอโรพลาสต์ในใบอ่อนของต้นที่ได้รับไคโตซาน 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดใหญ่กว่าคลอโรพลาสต์ของใบอ่อนในต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน และในใบแก่ที่ได้รับไคโตซาน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดคลอโรพลาสต์ใหญ่กว่าในใบแก่ของต้นที่ไม่ได้รับไคโตซานด้วย

หลังจากที่ย้าย *Dendrobium* White Pansy Lip ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร 2 ชั้นที่เป็นสูตรชักนำให้เกิดก้านช่อดอก (Sim และคณะ 2007) โดยในส่วนของอาหารเหลวมีไคโตซาน 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ เนื่องจากมีผลการทดลองรายงานไว้ว่า BA ที่เป็นสารควบคุมการเจริญในกลุ่มของไซโทไคนินมีผลชักนำให้เกิดก้านช่อดอกได้ เหมือนกับการทดลองของ Goh (1979) ที่ใช้ BA ชักนำให้เกิดดอกของกล้วยไม้ *Dendrobium* *Louisae* cv. 'Dark' นอกจากนี้ Wang และคณะ (1997) ใช้ BA ชักนำให้เกิดดอกของ *Dendrobium candidum* ในหลอดทดลอง นอกจากนั้นก็ยังมีการทดลองที่นำ BA มาใช้ในการชักนำให้เกิดดอกของกล้วยไม้อีกมากมาย (Sim และคณะ 2007; Hee และคณะ 2007; Sim และคณะ 2008) และในส่วนของอาหารแข็งมีผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร มีรายงานไว้ว่าผงถ่านจะช่วยให้ออกดอกกล้วยไม้ที่เกิดในหลอดทดลองมีลักษณะปกติสูงที่สุด (Sim และคณะ 2007) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน พบว่าในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดก้านช่อดอกเร็วกว่าทริตเมนต์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับที่มีการทดลอง ของ Ohta และคณะ (2004) ที่ทดลองใช้ไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมในดินปลูกแล้วทำให้ *Torenia fournieri* Linden ex E. Fourn., *Exacum affine* Baft., *Begonia hiemalis* Fotsch., *Sinningia speciosa* (Lodd.), *Lobelia erinus* L., *Mimulus hybridus* hort. Ex A. Siebert et Voss ออกดอกเร็วกว่าทริตเมนต์อื่น แต่ไม่มีผลกับการเกิดดอกของ *Calceolaria herbeohybrida* Voss และ *Campanula fragilis* L. นอกจากนั้นยังมีการทดลองในกล้วยไม้ *Dendrobium* Sensational Perpul (*Dendrobium* SP) ที่เมื่อให้ไคโตซานจะทำให้ดอกเร็วกว่าชุดควบคุมและช่อดอกมีคุณภาพมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน (Chandrkrachang และคณะ 2005) และ ในกล้วยไม้ *Dendrobium* 'Eiskul' พบว่า ไคโตซานชนิด O-80 ที่ทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ต้นกล้วยไม้ในแปลงปลูก เกิดดอกเร็วกว่าชนิดอื่น ๆ และเร็วกว่าที่ไม่ได้รับไคโตซาน (Limpanavech และคณะ 2008) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 90 วัน ต้นกล้วยไม้ *Dendrobium* White Pansy Lip ที่เพาะเลี้ยงในชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานก็เกิดก้านช่อดอกเช่นเดียวกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 วัน ทริตเมนต์ที่มีไคโตซาน 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็เริ่มเกิดก้านช่อดอก และ

เมื่อเพาะเลี้ยง 150 วัน พบว่าจำนวนช่อดอกในทริตเมนต์ที่ไม่ได้รับโคโคซานมีมากที่สุด แต่ก็ไม่ต่างจากในทริตเมนต์ที่ได้รับโคโคซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งโคโคซานที่ใส่เข้าไปในอาหารชักนำไปเกิดก้านช่อดอกไปมีผลช่วยลดระยะเวลาในการเกิดก้านช่อดอกของกล้วยไม้ *Dendrobium White Pansy Lip* แต่ไม่มีผลเพิ่มจำนวนก้านช่อดอกให้มากขึ้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา

1. การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด *Dendrobium Queen Pink*

ผลของไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อการงอก และการเจริญของเมล็ดกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

1.1 เมื่อนำฝักของกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink* อายุ 4 เดือน มาเปิดฝักในห้องทดลอง มองด้วยตาเปล่าเมล็ดจะมีสีเหลือง ลักษณะเป็นผง ๆ มีปริมาณมาก แต่เมื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นว่าเมล็ดที่อยู่ในฝัก ๆ หนึ่งมีขนาดและความสมบูรณ์แตกต่างกัน โดยเมล็ดที่สมบูรณ์จะเห็นว่ามียเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) และต้นอ่อน (embryo) ซึ่งจะเจริญเป็นต้นกล้วยไม้ต่อไป เมื่อนับจำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าในปริมาณอาหาร 1 มิลลิตรมีเมล็ดอยู่ประมาณ 1,500 เมล็ด

1.2 เมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่มีไคโตซานความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร จะขยายขนาดจนเกิดเป็นโพโทคอร์มสีเขียว โดยที่แต่ละโพโทคอร์มจะมีการเจริญไม่เท่ากัน บางโพโทคอร์มจะมีลักษณะเป็นทรงกลม แต่บางโพโทคอร์มจะเกิดเป็นยอดสีเขียวทางด้านหนึ่ง ซึ่งโพโทคอร์มที่อยู่ในอาหารเหลวจะไม่ค่อยพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์

1.3 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดในอาหารที่มีไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีมากที่สุดเท่ากับ 31.85 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) ไม่ต่างจากในชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน และที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ขนาดของโพโทคอร์ม น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของโพโทคอร์มที่อยู่ในอาหารชุดควบคุม และที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ แตกต่างกัน

1.4 ในทริตเมนต์ที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนโพโทคอร์มในระยะ 2 มากที่สุดเท่ากับ 49.65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) เมื่อเทียบกับโพโทคอร์มระยะเดียวกันใน ทริตเมนต์อื่น ๆ โดยที่น้ำหนักสดของโพโทคอร์มที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะที่ 2 3 และ 4 และมีน้ำหนักแห้งในระยะที่ 3 และ 4 มากที่สุด และแตกต่างทางสถิติต่างกับชุดควบคุม

2. การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของ *Dendrobium Queen Pink*

ผลของไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อการเจริญของโพโทคอร์ม *Dendrobium Queen Pink* สองขนาดคือขนาดเล็ก (0.1-0.2 เซนติเมตร) และขนาดใหญ่ (0.3-0.4 เซนติเมตร) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร VW เต็มผงถ่านกัมมันต์ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเจริญเป็นต้นสมบูรณ์ ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

2.1 ทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน มีจำนวนรากมากกว่าชุดควบคุมทั้งในโพโทคอร์มขนาดเล็กและขนาดใหญ่

2.2 ต้นที่เจริญมาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่จะมีความสูงมากกว่าต้นที่เจริญจากโพโทคอร์มขนาดเล็ก และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าต้นจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่เลี้ยงบนอาหารที่มีไคโตซานทุกความเข้มข้นมีความสูงมากกว่าต้นจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีไคโตซาน(ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ต้นที่ได้จากโพโทคอร์มขนาดเล็กที่เลี้ยงบนไคโตซานทุกความเข้มข้นมีความสูงมากกว่าชุดควบคุม แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

2.3 เมื่อเลี้ยงโพโทคอร์มทั้งสองขนาดเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าต้นที่เกิดจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่จะมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งสูงกว่าต้นที่ได้จากโพโทคอร์มขนาดเล็กแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อนำโพโทคอร์มทั้งสองขนาดมาเลี้ยงบนอาหารที่มีไคโตซานความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าต้นที่ได้จากโพโทคอร์มขนาดเล็ก และโพโทคอร์มขนาดใหญ่มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซานแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติในต้นที่ได้จากโพโทคอร์มขนาดเล็ก แต่แตกต่างกันทางสถิติในต้นที่ได้จากโพโทคอร์มขนาดใหญ่

2.4 ไคโตซานทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อจำนวนใบของต้นที่เจริญมาจากโพโทคอร์มขนาดเล็ก และโพโทคอร์มขนาดใหญ่ในช่วงระยะเวลา 6 เดือนที่ทำการเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตาม จำนวนใบของต้นที่เจริญมาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ในทุกทริตเมนต์จะมากกว่าจำนวนใบของต้นที่เจริญมาจากโพโทคอร์มขนาดเล็กทุกทริตเมนต์ในช่วงเดือนที่ 1-4 ของการเพาะเลี้ยงแต่ไม่แตกต่างกันหลังจากนั้น

2.5 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงโพโทคอร์มทั้งสองขนาดเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าขนาดของใบของต้นที่ได้จากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่เลี้ยงบนอาหารที่มีไคโตซานทุกความเข้มข้นมีขนาดใหญ่กว่าใบของต้นที่ได้จากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อขนาดของใบในต้นที่เจริญมาจากโพโทคอร์มขนาดเล็ก

2.6 ต้นที่เจริญมาจากโพโทคอร์มขนาดใหญ่ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไคโตซานทุกความเข้มข้นจะเกิดรากเร็วกว่าชุดควบคุมที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีไคโตซาน โดยจะมีรากเกิดขึ้นในเดือน

แรกหลังทำการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ต้นที่ได้จากโพรโทคอร์มขนาดเล็กไม่พบว่ามีรากเกิดขึ้นทั้งในทริตเมนต์ที่มี และไม่มีไคโตซาน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงนานขึ้นจะพบว่าทั้งต้นที่ได้จากโพรโทคอร์มขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ที่เลี้ยงบนไคโตซานทุกความเข้มข้น จะมีจำนวนรากมากกว่าต้นที่เลี้ยงในชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน

2.7 ต้นที่ได้จากการเลี้ยงโพรโทคอร์มขนาดใหญ่บนอาหารที่มีไคโตซานทุกความเข้มข้นมีความสูง จำนวนใบ พื้นที่ใบ จำนวนราก และความยาวรากสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน อย่างไรก็ตามไคโตซานไม่มีผลต่อจำนวนต้นใหม่ที่เกิดขึ้น และไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นที่ได้จากโพรโทคอร์มขนาดใหญ่มีความสูง จำนวนใบ พื้นที่ใบ และความยาวรากสูงสุด และแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่มีไคโตซาน ในขณะที่ต้นที่เกิดจากการเลี้ยงโพรโทคอร์มขนาดใหญ่บนอาหารที่มีไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 8.2 ราก (ตารางที่ 12) และมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งรวมสูงที่สุด แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม

3. การศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium Queen Pink*

การชักนำให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลองของ *Dendrobium Queen Pink* โดยเริ่มจากการสะสมอาหารโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาล 20 และ 40 กรัมต่อลิตร ก่อนเป็นเวลา 3 เดือน แล้วจึงย้ายไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารแข็งสูตร VW ที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ และ PBZ 0.17 ไมโครโมลาร์ แล้วสังเกตการเกิดก้านช่อดอก ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

3.1 *Dendrobium Queen Pink* ที่ผ่านการสะสมอาหารในสูตรที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ต้นจะมีความสูง 0.84 เซนติเมตร และมีความยาวราก 1.52 เซนติเมตร น้อยกว่าที่มีน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร แต่มีน้ำหนักสดรากเท่ากับ 0.255 กรัม (ตารางที่ 14) ซึ่งมากกว่าที่ได้รับน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.2 เมื่อย้าย *Dendrobium Queen Pink* ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ร่วมกับใส่ BA และ PBZ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน ผลการทดลองสรุปได้ว่า ในต้นที่สะสมอาหารในน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 22.2 ไมโครโมลาร์ มีความสูง น้ำหนักสดต้น และพื้นที่ใบมากที่สุด แต่ทุกทริตเมนต์ในการทดลองไม่เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลอง

4. ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกของ *Dendrobium White Pansy Lip*

การชักนำให้ *Dendrobium White Pansy Lip* ออกดอกในหลอดทดลอง โดยนำต้นที่มาจากเมล็ดไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่มี BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ และไคโตซาน ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้นสูตร VW ในส่วนอาหารเหลวมี BA ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับไคโตซานความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 10 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีผงถ่านกัมมันต์ในส่วนของอาหารแข็ง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน แล้วสังเกตการเกิดก้านช่อดอก ผลการทดลองสรุปได้ว่า

4.1 ในสัปดาห์ที่ 8 9 10 และ 11ของการทดลองจำนวนใบในทริตเมนต์ที่มีไคโตซานเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มากที่สุดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จำนวนใบเฉลี่ยทุกทริตเมนต์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จำนวนรากเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 6 7 8 และ 9 ในชุดควบคุมมีมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จำนวนต้นใหม่เกิดมากที่สุด ในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 5.09 ต้น (ตารางที่ 19) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม

4.2 จำนวนปากใบบนเซลล์ผิวนอกด้านบนของใบในชุดควบคุมมีจำนวนมากที่สุดเท่ากับ 8.70 (ตารางที่ 20) ขนาดของปากใบในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความกว้างและยาวมากกว่าชุดควบคุม และมีความกว้างช่องเปิดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และความยาวช่องเปิดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่จำนวนและขนาดของคลอโรพลาสต์ทุกทริตเมนต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

4.3 จำนวนปากใบบนเซลล์ผิวนอกด้านล่างของใบในชุดควบคุมมีจำนวนมากที่สุดเท่ากับ 52.80 (ตารางที่ 21) ไม่ต่างจากที่ได้รับไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาดของปากใบในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความกว้างและมีความยาวมากที่สุดแต่ไม่ต่างทางสถิติกับชุดควบคุม ความกว้างช่องเปิดในทุกทริตเมนต์ไม่แตกต่างกัน แต่ความยาวช่องเปิดในทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนคลอโรพลาสต์ใน ทริตเมนต์ที่ได้รับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 31.10 (ตารางที่ 21) มากกว่าชุดควบคุมและที่ได้รับไคโตซาน 60 มิลลิกรัมต่อลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ขนาดของคลอโรพลาสต์ทุกทริตเมนต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

4.4 *Dendrobium White Pansy Lip* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสองชั้นที่มีไคโตซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 60 วัน มีการเกิดก้านช่อดอกเป็นครั้งแรก ซึ่งเร็วกว่าชุดควบคุมและมีไคโตซาน

ความเข้มข้นอื่น ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 90 วัน ชุดควบคุมที่ไม่มีโคโคซานก็เริ่มเกิดก้านช่อดอกเช่นเดียวกัน

4.5 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 150 วัน พบว่าชุดควบคุมมีจำนวนก้านช่อดอกเฉลี่ยเกิดมากที่สุดเท่ากับ 0.67 ช่อ (ตารางที่ 22) ไม่แตกต่างทางสถิติกับทริตเมนต์ที่ได้รับโคโคซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดก้านช่อดอกต่อขวดในทริตเมนต์ที่มีโคโคซาน 40 มิลลิกรัมต่อลิตรมากที่สุดคิดเป็น 50.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 21) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม และก้านช่อดอกที่เกิดขึ้นมีดอกตูมเห็นได้ชัดเจน แต่ดอกตูมไม่สามารถบานได้ และเหี่ยวไปในที่สุด

ข้อเสนอแนะ

1. กล้วยไม้แต่ละชนิดก็ตอบสนองต่อความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ไม่เท่ากัน ดังนั้นในการทดลองควรเริ่มศึกษาตั้งแต่การหาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดก่อน แล้วจึงค่อยนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

2. การชักนำให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลองมีหลายปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้อง โดยที่ในแต่ละชนิดของกล้วยไม้ก็ต้องการแต่ละปัจจัยไม่เท่ากัน ดังนั้นควรทำการศึกษาหลาย ๆ ปัจจัย เช่น แสง อุณหภูมิ และสารควบคุมการเจริญเติบโตด้วย

อุปสรรคและปัญหาในการทดลอง

ต้นกล้วยไม้ที่ใช้ในการทดลองมีจำนวนจำกัด ทำให้ไม่สามารถหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเพื่อชักนำให้เกิดก้านช่อดอกได้ และบางช่วงอุณหภูมิในห้องเพาะเลี้ยงมีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันค่อนข้างมาก อาจจะมีผลต่อการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกได้

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

กมลศิริ พันธนียะ. ไคติน-ไคโตซาน. [Online] accessed 5 April 2010. Available from http://www.nicaonline.com/articles9/site/view_article.asp?idarticle=158.

กลุ่มงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนพัฒนาการเพาะเลี้ยงและจัดการพันธุ์พืช สำนักพัฒนาการเพาะเลี้ยงและจัดการพันธุ์พืช. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. [Online] accessed 21 March 2011. Available from <http://pirun.ku.ac.th/~fagisvtc/buddhism/nanasara/entertain/tissureculture/tissue.pdf>.

กระทรวงเกษตร และสหกรณ์. ขออนุมัติดำเนินงานตามยุทธศาสตร์การแข่งขันกล้วยไม้ไทยในตลาดโลก พ.ศ.2554-2559. [Online] accessed 2 April 2010. Available from http://webnew.moac.go.th/ewt_news.php?id=3830&filename=index.

กรีนไฮเปอร์มาร์ท: สารานุกรมผลิตผลและผลิตภัณฑ์จากพืชในซูเปอร์มาร์เก็ต. กล้วยไม้หวาย. [Online] accessed 2 April 2010. Available from <http://www.sc.mahidol.ac.th/wiki/doku.php?id=กล้วยไม้หวาย>.

คำนำณ กาญจนภูมิ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.

จิตรีบูล พุ่มศิริ. เอกสารประกอบการสอนวิชา 512 521 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์พืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2549.

ดวงพร บุญชัย. "การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* Witte ในสภาพปลอดเชื้อ." วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.

ดวงพร โรจนวงศ์. "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้ออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ลูกผสมฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis Silky Moon*).” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2549.

บุษราภรณ์ งามปัญญา. เทคโนโลยีเซลล์และเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิคพื้นฐาน (Plant cell and Tissue Technology: Principle and Basic Technique). พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์, 2548.

ปฐพีชล วายุอัคคี. คู่มือกล้วยไม้. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: เพ็ท-แพลัน พับลิชชิ่ง, 2547.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร, 2536.

พีรพงษ์ แสงวนางค์กุล นววรรณ ฟารุ่งสาธ อุดม ฟารุ่งสาธ เจริญ ขุนพรม สมนึก ทองบ่อ ยูพิน
อ่อนศิริ และชูศักดิ์ คุณุไทย. "ผลของการใช้ไคโตซานต่อคุณภาพและการควบคุมโรคหลัง
เก็บเกี่ยวของพริก." ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
2552.

ระพี สาคริก. การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์,
2516.

ระพี สาคริก. กล้วยไม้. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ชอนนทรี, 2530.

รัชณี คุณยศยิ่ง. โครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์. [Online] accessed 1 April 2011. Available from
http://www.ratchanee.thport.com/E-learning/structure_cell.html

รังสฤษฎ์ กาวิฑะ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ:
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2541.

รังสิมา ชลคุป วีรศักดิ์ สมทิพย์ และกล้าณรงค์ ศรีรอด. วัสดุชีวภาพรักษ์โลก. กรุงเทพฯ:
โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วนจำกัด มณีสฟิล์ม, 2552.

ลิลลี่ กาวิฑะ มาลี ณ นคร ศรีสม สุวรรณวงศ์ และสุริยา ตันติวิวัฒน์. สรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ:
สำนักพิมพ์เกษตรศาสตร์, 2549.

สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. สรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

สัมพันธ์ เพ็ญจันทร์. สรีรวิทยาการพัฒนาของพืช. ขอนแก่น: หจก. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, 2544.

สมบูรณ์ เตชะภิญญาวัฒน์. สรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ: จามจุรีโปรดักท์, 2548.

สมศักดิ์ รักไพบุลย์สมบัติ. กล้วยไม้สกุลหาย. [Online] accessed 5 April 2010. Available from
<http://www.panmai.com/Orchid/Den/den.shtml>.

ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติร่วมกับชมรมไคติน-ไคโตซาน. เรื่องน่ารู้ไคติน-ไค
โตซาน. กรุงเทพฯ: ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC), 2544.

ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. กล้วยไม้ตัดดอก: ไทยส่งออกที่ 1 ของโลก. [Online] accessed 24
August 2010. Available from <http://www.positioningmag.com/magazine/Details.aspx?id=50991>.

เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล. กล้วยไม้ไทย Orchids in Thailand. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์เศรษฐศิลป์,
2552.

อภิรดี อุทัยรัตนกิจ และกุลนาถ ออบสุวรรณ. "ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นดาวเรือง."
ว.วิทย์. กษ. 38(6)(พิเศษ). (2550a): 200-203.

_____. "ผลของไคโตซานในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นเทียนฝรั่ง." ว.วิทย์. กษ. 38(6) (พิเศษ). (2550b): 197-199.

อรดี สหวัชรินทร์. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัทเอียร์น็อค พับลิชเชอร์ จำกัด, 2528.

อรนุช นาคชาติ. โพลีแซกคาไรด์ชนิดโครงสร้าง (Structural polysaccharide). [Online] accessed 18 September 2010. Available from <http://science.srru.ac.th/org/scielearning/courseonline/4022503/chapter3-structural1.htm>.

ภาษาต่างประเทศ

Arditti, J. and Ernst, R. Micropropagation of Orchids. New York : John Wiley & Sons, Inc., 1993.

Kataoka, K., Sumitomo, K., Fudano, T. and Kawase, K. "Changes in sugar content of *Phalaenopsis* leaves before floral transition." Sciencetia Horticulture. 102(2004): 121-132

Kostenyuk, I., Oh, B.J. and So, I.S. "Induction of early flowering in *Cymbidium niveo-marginatum* Mak in vitro." Plant Cell Reports. 19(1999): 1-5.

Chandrkrachang, S., Sompongchaiyakul, P. and Sangtain, S. "Profitable spin-off from using chitosan in orchid farming in Thailand." Journal of metals, Materials and Minerals. 15 No. 1 (2005): 45-48.

Chitosan –Synthese. Chitosan Synthese. [Online] Accessed 11 May 2010. Available from http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chitosan_Synthese.svg?uselang=fr.

Ferreira, W.M., Kerbauy, B.G., Kraus, J.E., Pescador, R. and Suzuki, R.M. "Thidiazuron influences the endogenous levels of cytokinins and IAA during the flowering of isolated shoots of *Dendrobium*." Journal of Plant Physiology. 163 (2006): 1126-1134.

Goh, C.J. "Hormonal regulation of flowering in a sympodial orchid hybrid *Dendrobium Louisae*." New Phytol. 82 (1979): 375-380.

Hee, K.H., Loh, C.S. and Yeoh, H.H. "Early in vitro flowering and seed production in culture in *Dendrobium Chao Praya Smile* (Orchidaceae)." Plant Cell Reports. 26 (2007): 2055-2062.

International Business Times Thailand. ส่งออกกล้วยไม้. [Online] Accessed 2 April 2010. Available from <http://www.ibtimesthailand.com/hot-topic/214-2009-03-26-05-39-54.html>.

Kananont, N., Pichyangkura, R., Chanprame, S., Chadchawan, S. and Limpanavech, P. "Chitosan specificity for the *in vitro* seed germination of two *Dendrobium* orchids (Asparagales: Orchidaceae)." Scientia Horticulturae. 124 (2010): 239-247.

Kataoka, K., Sumitomo, K., Fudano, T. and Kawase, K. "Changes in sugar content of *Phalaenopsis* leaves before floral transition." Scientia Horticulturae. 102 (2004): 121-132.

Knudson, L. "Non-symbiotic germination of orchid seed." Botany Gazette. 112 (1922): 528-532.

Knudson, L. "A new nutrient solution for the germination of orchid seed." American Orchid Society Bulletin. 15 (1946): 214-217.

Lertsutthiwong, P., Ng, C.H., Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. "Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan". Journal of Metals, Materials and Minerals. 12(1) (2002): 11-18.

Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A. and Bangyeekhun, T. "Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid." Scientia Horticulturae. 116 (2008): 65-72.

Nge, K.L., New, N., Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. "Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture." Plant Science. 170 (2006): 1185-1190.

Murashige, T. and Skoog, F. "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures." Physiologia Plantarum. 15 (1962): 473-497.

Ohta, K., Morishita, S., Suda, K., Kobayashi, N. and Hosoki, T. "Effects of chitosan soil mixture treatment in the seedling stage on the growth and flowering of several ornamental plants." Journal of the Japanese Society for Horticultural Science. 73 (2004): 66-68.

Ruth C.Y. and John T.C. "The Effect of Sucrose and Other Factors on the Shoot-Root Ratio of Orchid Seedlings." American Journal of Botany. 36 (1949): 390-396.

- Sim, G.E., Goh, C.J. and Loh, C.S. "High frequency early in vitro flowering of *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae)." Plant Cell Reports. 26 (2007): 383-393.
- Sim, G.E., Goh, C.J. and Loh, C.S. "Induction of in vitro flowering in *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae) seedlings is associated with increase in endogenous N⁶-(Δ^2 -isopentenyl)-adenine (iP) and N⁶-(Δ^2 -isopentenyl)-adenosine (iPA) levels." Plant Cell Reports. 27 (2008):1281-1289.
- Te-chato, S., Nujeen, P. and Muangsorn, S. "Paclobutrazol enhance budbreak and flowering of Friederick's *Dendrobium* orchid *In Vitro*." Journal of Agricultural Technology. 5(1) (2009): 157-165.
- Tee, C.S., Maziah, M. and Tan, C.S. "Induction of *in vitro* flowering in the orchid *Dendrobium* Sonia 17." Biologia Plantarum .52 (4) (2008): 723-726.
- Uthairatanakij, A., Teixeira da Silva, J. A. and Obsuwan, K. "Chitosan for Improving Orchid Production and Quality." Orchid Science and Biotechnology. 1(1) (2007): 1-5
- Vacin, E.F. and Went, F.W. "Some pH changes in nutrient solution." Botany Gazatte. 110 (1949): 605-613.
- Vaz, A.P. and Kerbuay, G.B. "Effects of mineral nutrients on *in vitro* growth and flower formation of *Psychmorchis pusilla* (Orchidaceae)." Acta Horticulturae. 520 (2000): 149-156.
- Wang, G.Y., Xu, Z.H., Chia, T.F. and Chua, N.H. " *In vitro* flowering of *Dendrobium candidum*." Science in China (Series C). 27 (1997): 229-234.
- Wikitkankosol, P. and Thammasiri, K. "Effects of chitosan on micropropagation of *Spathoglottis plicata*". 35th Congress on Science and Technology of Thailand, 1992.

ภาคผนวก
มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

คำอธิบายย่อ

คำย่อ	=	คำเต็ม
ABA	=	Abscisic acid
BA	=	6-Benzylaminopurine
cm	=	Centimetre
DMRT	=	Duncan's New Multiple Range Test
DZ	=	Dihydrozeatin
GA	=	Gibberellic acid
g	=	Gram
HPLC	=	High-performance liquid chromatography
IAA	=	Indoleacetic acid
iP	=	N ⁶ -(Δ^2 -isopentenyl)-adenine
iPA	=	N ⁶ -(Δ^2 -isopentenyl)-adenosine
KC	=	Knudson C
mg	=	Milligram
mg/L	=	Milligram/Litre
MS	=	Murashige and Skoog
MWUT	=	Mann -Whitney U Test
NAA	=	α -Naphthalene acetic acid
PBZ	=	Paclobutrazol
TDZ	=	Thidiazuron
VW	=	Vacin and Went
Z	=	Zeatin
ZR	=	Zeatin riboside
μ M	=	Micromolar

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสูตร Vacin and Went (1949) และสูตรดัดแปลงของ VW ที่ปรับลดปริมาณธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง

องค์ประกอบ	สูตรอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	VW	1/2VW
ธาตุอาหารหลัก		
Ca_3PO_4	200	100
KNO_3	525	262.5
KH_2PO_4	250	125
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250	125
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500	250
ธาตุอาหารรอง		
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	28	14
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7.5	3.75
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	73	36.5
สารอินทรีย์		
Sucrose	20,000 (20g/L)	20,000 (20g/L)
coconut water	150 ml/L	150 ml/L
phytagel	2,000 (2g/L)	2,000 (2g/L)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

การเตรียมสารละลายเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโต

1. BA (6-Benzylaminopurine) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
ละลาย BA 1,000 มิลลิกรัม ใน 0.1 เปอร์เซ็นต์ KOH (ค่อย ๆ หยดจนกว่าสารจะละลาย
หมด) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร
2. PBZ (Paclobutrazol) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
ละลาย PBZ 0.05 กรัม ใน absolute alcohol (ค่อย ๆ หยดจนกว่าสารจะละลายหมด)
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ประวัติผู้วิจัย

- ชื่อ-สกุล นางสาวกรกช สว่างศรี
- ที่อยู่ 467 หมู่ 3 ตำบลคอนเจดีย์ อำเภอคอนเจดีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี 72170
- ประวัติการศึกษา
- พ.ศ. 2546 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนนครณัฐศึกษาลัย
- พ.ศ. 2549 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา จากมหาวิทยาลัยศิลปากร
- พ.ศ. 2551 ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
- พ.ศ. 2551 ศึกษาระดับปริญญาเอก สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
- พ.ศ. 2551 วิทยานิพนธ์เรื่อง "ผลของโคโคซานต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย และการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกในหลอดทดลอง" เข้าร่วมสัมมนาประจำปีของคลัสเตอร์กล้วยไม้ครั้งที่ 4 ในหัวข้อ "ความก้าวหน้าของคลัสเตอร์กล้วยไม้" ณ ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
- พ.ศ. 2553 เสนอผลงานการวิจัยเรื่อง "Effects of chitosan concentration on *in vitro* growth of *Dendrobium* hybrid seedlings." The First International Orchid Symposium. National Museum of Natural Science Taichung, Taiwan.

ผลงานตีพิมพ์ที่เผยแพร่

Obsuwan, K., Sawangsri, K., Ukong, S. and Uthairatanakij, A. (2009) The effect of chitosan on growth and morphology of *Dendrobium* 'White Pansy Lip' seedling in tissue culture. *The 26th Annual Conference of The Microscopy Society of Thailand*, The Empress Hotel, Chaingmai, Thailand, 28-30 January, (Poster).

- Obsuwan, K., Sawangsri, K., Uthairatanakij, A. (2009) Effect of chitosan on seedling growth of *Phalaenopsis* and *Mokara*. *The 8th National Horticultural Congress*, The Empress Hotel, Chaingmai, Thailand, 6-9 May, (Abstract), P231, p402
- Obsuwan, K., Sawangsri, K., Ukong, S. and Uthairatanakij, A. "Effects of chitosan Concentration on *in vitro* growth of *Dendrobium* hybrid seedlings." *Acta Horticulturae*, 878(2010):289-294.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์