

## การขยายพันธุ์เอื้องชะในหลอดทดลอง

### *In Vitro* Propagation of *Dendrobium scabrilingue* Lindl.

กุหลาบทอง บัวสะหวัน<sup>1</sup> วุฒิพงษ์ ทองใบ<sup>1</sup> และรัชชก โคนโต<sup>1</sup>  
Koulabthong Bouasavanh<sup>1</sup>, Wutipong Tongbai<sup>1</sup> and Rakchanok Koto<sup>1</sup>

#### บทคัดย่อ

*Dendrobium scabrilingue* Lindl. หรือเอื้องชะ เป็นกล้วยไม้ป่าที่มีการกระจายพันธุ์อยู่ทางภาคเหนือของไทย แต่ในปัจจุบันมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็ว งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์เอื้องชะในหลอดทดลอง โดยเฉพาะเมล็ดบนอาหารแข็งสูตร Vacin และ Went (VW) เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ ส่วนการชักนำให้เป็นโปรโตคอร์มไลค์บอดีโดยนำโปรโตคอร์มมาเลี้ยงในอาหารเหลว VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzyladenine (BA) ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารเหลว VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดีได้ 12.4 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วน จากนั้นนำโปรโตคอร์มไลค์บอดีมาเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลความเข้มข้นต่างกันคือ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว พบว่าในอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ ชักนำให้เกิดต้นอ่อนดีที่สุดคิดเป็น 1.68 ยอดต่อชิ้นส่วน มีความยาวยอดเฉลี่ย 1.18 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 1.85 ใบต่อชิ้นส่วน และเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมสารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำมะพร้าว น้ำมะเขือเทศ มันฝรั่งบด กล้วยหอมบด และผสมรวมกัน เพราะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบดชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย 11.36 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาวยอด 0.81 เซนติเมตร จากนั้นจึงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์อีก 17 สัปดาห์เพื่อชักนำให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ และเมื่อย้ายต้นกล้าออกปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าวัสดุปลูกที่สเฟกนัมมอสทำให้ต้นอ่อนมีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดคิดเป็น 87 เปอร์เซ็นต์

**คำสำคัญ:** การขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง เอื้องชะ สารประกอบอินทรีย์

#### Abstract

*Dendrobium scabrilingue* Lindl. is a species of wild orchid that is found in the northern part of Thailand. However, its numbers in the wild are rapidly decreasing. This study focuses on *in vitro* propagation of *Dendrobium scabrilingue* Lindl. Seeds were treated with Vacin and Went medium (VW) for 9 weeks to induce protocorms. They were then cultured on VW liquid medium supplemented with 6-benzyladenine (BA) at 1, 2, and 3 mg/L for 6 weeks to produce protocorm-like bodies (PLBs). The results showed that the highest number of PLBs (12.4 PLBs per protocorm) formed on VW medium supplemented with 2 mg/L BA. The PLBs were then cultured on VW liquid medium supplemented with 1, 2, and 3% sucrose. After 6 weeks of culturing, the most productive result was found to be VW with 1% sucrose medium, which produced a ratio of shoots per explant of 1.68, a shoot length of 1.18 cm, and a leaf number of 1.85. The seedlings were cultured on VW medium supplemented with organic additives, namely coconut water, potato mash, tomato juice, banana mash and a mix of these substances. After culturing for 12 weeks, it was found that seedlings cultured on VW medium supplemented with potato mash has the highest growth characteristics at 11.36 shoots per explant and with a length of 0.81 cm. In order to produce mature seedlings, the orchids were transferred to a different VW medium containing mashed potato and activated charcoal and cultivated for a further 17 weeks. Finally, three different planting materials were chosen to test the survival, growth and development of seedlings after being transferred to greenhouse for 4 weeks. The results indicated that the highest percentage of survival (87%) was obtained when sphagnum moss was used as the planting material.

**Keywords:** *in vitro* propagation, *D. scabrilingue* Lindl, organic additive

<sup>1</sup>ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Watthana, Bangkok 10110

\*Corresponding author, Email: rakchanok@g.swu.ac.th

## คำนำ

เอื้องแซะ (*D. scabrilingue* Lindl.) เป็นพืชในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) มีถิ่นกำเนิดในประเทศเมียนมา ลาว และไทย โดยในประเทศไทยพบบนเทือกเขาสูงของจังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ตาก พิษณุโลก นครราชสีมา และกาญจนบุรี (Seidenfaden and Simtinand, 1959) ถิ่นอาศัยพบในป่าดิบเขาทั้งในที่ร่มแสงแดดรำไรถึงแสงแดดจัด ที่ความสูง 600-1,200 เมตรจากระดับน้ำทะเล ฤดูออกดอกเริ่มในเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ (เศรษฐกิจ กัญญาภรณ์, 2552) เอื้องแซะมีดอกที่สวยงาม มีกลิ่นหอมคล้ายดอกพิกุล ส่งกลิ่นหอมได้ตลอดทั้งวัน (จิตราพรรณ พิสิทธ์, 2539) จากการทดลองสกัดกลิ่นหอมจากดอกเอื้องแซะเพื่อหาส่วนประกอบทางเคมีพบว่าสารหอมในดอกมี n-Butanol สูงถึง 96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถนำสารหอมดังกล่าวไปปรับปรุงสูตรผลิตน้ำหอมได้ (ประเทืองศรี สีนชัยศรี และคณะ, 2538) สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ พระบรมราชชนนีพันปีหลวง ทรงโปรดกลิ่นหอมของดอกเอื้องแซะมากจึงทรงมีพระราชเสาวนีย์ให้ดำเนินการรักษาพันธุ์เอื้องแซะ และให้เพิ่มจำนวนเอื้องแซะคืนสู่ป่าให้มาก นอกจากนี้ยังทรงให้ศึกษาแนวทางการพัฒนาการปลูกเลี้ยงเอื้องแซะเพื่อนำมาใช้สกัดเป็นน้ำหอม เอื้องแซะจึงเป็นกล้วยไม้ไทยที่มีศักยภาพทั้งในเชิงนิเวศวิทยาอนุรักษ์และเชิงเศรษฐกิจ โดยสามารถผลิตเป็นกล้วยไม้กระถางดอกหอม และการปลูกเลี้ยงเพื่อผลิตดอกสำหรับนำไปสกัดเป็นน้ำหอมหรือเครื่องหอมได้ (ประพันธ์ โอสถาพันธุ์ และคณะ, 2554) แต่เนื่องจากปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ เกิดภัยแล้ง เกิดมลภาวะทั้งในดิน แห้งน้ำ และ บรรยากาศ สภาพการณ์เหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมและแหล่งที่อยู่อาศัยของกล้วยไม้ นอกจากนี้สิ่งที่สำคัญคือการคุกคามจากมนุษย์ด้วยการบุกรุกป่า และการเก็บออกจากป่า (อาภรณ์ อุดมศิลป์, 2556) โดยในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา มีการลักลอบจำหน่ายต้นกล้วยไม้ป่าทุกชนิดเป็นจำนวนมากรวมทั้งเอื้องแซะด้วย โดยนำเอื้องแซะออกมาจำหน่ายในท้องถิ่นและส่งให้พ่อค้าจากต่างประเทศมารับซื้อเพื่อนำลำต้นไปเป็นสมุนไพรรักษาโรคมาปรุงสูตรผลิตน้ำหอมทำยาแก้ไข้ และยังใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง (ณัชชา วิสุทธิเทพกุล, 2548) ซึ่งเป็นปัจจัยส่งผลให้เอื้องแซะมีจำนวนลดลงไปเรื่อย ๆ เนื่องจากมีอัตราการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติต่ำ และอาจจะสูญพันธุ์ได้ในระยะเวลาอันใกล้นี้ จึงควรมีการอนุรักษ์ให้มีปริมาณและความหลากหลายเพิ่มขึ้น ซึ่งหนึ่งในวิธีการอนุรักษ์คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถเพิ่มจำนวนพืชได้รวดเร็วและจำนวนมาก มีลักษณะเหมือนพันธุ์เดิม (วราภรณ์ ภูตะสุน, 2557) และเมื่อพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะขยายพันธุ์และการปลูกเลี้ยงเอื้องแซะในสภาพธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ แล้วนำไปส่งเสริมให้ประชาชนในพื้นที่ได้ปลูกเลี้ยงจึงเป็นวิธีที่สามารถอนุรักษ์และพัฒนาเอื้องแซะอย่างยั่งยืนได้ ปัจจัยสำคัญที่ทำให้การขยายพันธุ์เอื้องแซะในหลอดทดลองมีประสิทธิภาพคือการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลด์บอดี การใช้ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมช่วยส่งเสริมให้โปรโตคอร์มไลด์บอดีพัฒนาเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว การใช้สารประกอบอินทรีย์ร่วมกับสูตรอาหาร VW ชักนำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์แข็งแรงพร้อมนำออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติ และการใช้วัสดุปลูกที่เหมาะสมในการย้ายปลูกเพื่อให้เอื้องแซะมีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด ซึ่งปัจจัยเหล่านี้กล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการที่แตกต่างกัน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องแซะนั้นได้มีรายงานมาก่อนหน้านี้ โดย ภูรินทร์ คงมณี (2544) ได้ศึกษาการออกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องแซะในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าเมล็ดงอกได้ดีในอาหารดัดแปลงสูตร VW เมื่อย้ายต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เพิ่มวิตามินรวม 500 มิลลิกรัม พบว่าต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีที่สุด จากนั้นศึกษาผลของความเข้มข้นของสูตรอาหาร VW กับสภาพความเหลวและแข็งของอาหารสูตร VW พบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารเหลวสูตร VW และเมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนในห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง 30-32 องศาเซลเซียส พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน เมื่อย้ายต้นอ่อนออกปลูกพบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะมีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุดเมื่อใช้ใยมะพร้าวเป็นวัสดุปลูก ส่วนณัชชา วิสุทธิเทพกุล (2548) ได้เพาะเลี้ยงเมล็ดเอื้องแซะมาบนอาหาร VW เป็นเวลา 9 เดือน แล้วจึงชักนำให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร Knudson (Knudson, 1946) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร มันบด 50 กรัมต่อลิตร และ BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้จำนวน 263 ต้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องแซะยังอยู่ในวงจำกัด ใช้ระยะเวลานานในการเพาะเลี้ยงให้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์เอื้องแซะจากเมล็ดในหลอดทดลองให้ได้ปริมาณมากและรวดเร็ว เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์หายากในธรรมชาติสำหรับการอนุรักษ์และการใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

## วิธีการศึกษา

### การเพาะเมล็ดเอื้องแซะ

นำเมล็ดเอื้องแซะจากฝักอายุ 4-6 เดือน มาเพาะบนอาหารแข็งสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ และผงปูน 0.8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 9 สัปดาห์ จากนั้นนำไปไรโตคอร์มที่ในระยะ leaf primodia มาใช้ในการทดลองต่อไป

### ผลของ BA ต่อการชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี

นำโปรโตคอร์มเอื้องแซะในระยะ leaf primodia ที่มีขนาด 0.2 เซนติเมตร นำมาตัดส่วนบนและล่างออก (thin cell layers, TLCs) จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความยาวต้น นับจำนวนยอด จำนวนใบ และจำนวนโปรโตคอร์ม ทำการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 4 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 10 ชิ้นส่วน

### ผลของน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

นำโปรโตคอร์มไลค์บอดีเอื้องแซะที่มีขนาด 0.5 เซนติเมตร มีใบ 2 ใบ มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 1, 2 และ 3 กรัมต่อลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความยาวยอดและความยาวราก นับจำนวนต้นอ่อน จำนวนยอด จำนวนใบ จำนวนราก และจำนวนโปรโตคอร์ม ทำการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 3 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 10 ชิ้นส่วน

### ผลของสารประกอบอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

นำต้นอ่อนของเอื้องแซะที่มีใบอย่างน้อย 3-4 ใบ และมีรากมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 150 กรัมต่อลิตร น้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร หรือผสมสารอินทรีย์ทั้งหมดอย่างละปริมาตร 25 มิลลิลิตร (กรัม) ต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แล้วบันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความยาวยอด ความยาวราก นับจำนวนยอด จำนวนใบ และจำนวนราก ทำการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 5 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วน

### ผลของวัสดุปลูกต่อการอนุบาลเอื้องแซะ

คัดเลือกต้นกล้าเอื้องแซะจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ขนาด 3 เซนติเมตร มีใบ 3 ใบ ราก 3 ราก ไปอนุบาลในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ (CBH) ไฮโดรตรอน (HD) สแฟกนัมมอส (SM) กาบมะพร้าวสับร่วมกับไฮโดรตรอน (CBH+HD; 1:1) ไฮโดรตรอนร่วมกับสแฟกนัมมอส (HD+SM; 1:1) และกาบมะพร้าวสับ ไฮโดรตรอน และสแฟกนัมมอส (CBH+HD+SM; 1:1:1) ในกระถางพลาสติกขนาด 3 นิ้ว เลี้ยงในโรงเรือนที่พรางแสง 60 เปอร์เซ็นต์ รดน้ำวันละ 2 ครั้ง เวลา 8:00 และ 16:00 น. วัดการเจริญเติบโตโดยการบันทึกความสูงต้น นับจำนวนยอด นับจำนวนใบต่อต้น และนับจำนวนหน่อที่แตกใหม่ หลังการอนุบาลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น และทำการทดลอง 3 ครั้งในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2562 มกราคม และมีนาคม 2563

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

### ผลของ BA ต่อการชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี

เพื่อเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มไลค์บอดีให้ได้ปริมาณมาก จึงนำโปรโตคอร์มของเอื้องแซะอายุ 9 สัปดาห์ มาตัดให้ได้ TLCs ขนาด 0.2 เซนติเมตร แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง VW ที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร เขย่าให้ได้รับอากาศด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มไลค์บอดีได้ดีที่สุดคือ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Table 1) ซึ่งชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดีได้ 12.4 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น มีสีเขียวแตกเป็นก้อนเล็ก ๆ เกาะกันจำนวนมาก ขนาดของก้อนเฉลี่ย 0.34 เซนติเมตร โดยโปรโตคอร์มไลค์บอดีไม่พัฒนาเป็นต้นอ่อน (Figure 1) ส่วนอาหารที่ไม่เติม BA ชักนำให้เกิด PLBs เฉลี่ย 11.2

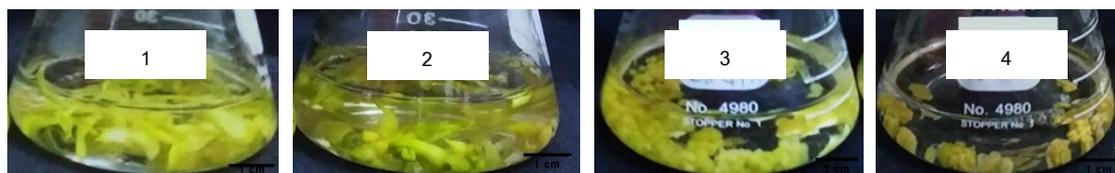
โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โปรโตคอร์มไลค์บอดีมีสีเขียวอมเหลืองและส่วนใหญ่พัฒนาเป็นยอดอ่อนร่วมด้วย โดยมีจำนวนยอด 1.28 ยอดต่อชิ้นส่วน ความยาวยอดเฉลี่ย 0.62 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 0.92 ใบต่อชิ้นส่วน ส่วนอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี 10.0 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วน และมีบางส่วนพัฒนาเป็นยอดอ่อน ส่วนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี 7.2 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนพืช โดยมีโปรโตคอร์มไลค์บอดีบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและก็ตายในที่สุด สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ ทำให้เซลล์มีการขยายตัวช่วยการเจริญเติบโตของตาข้าง (Huettelman and Preece, 1993) โดย BA ช่วยชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดีได้ในกล้วยไม้หลายชนิดโดยเฉพาะกล้วยไม้สกุลหวาย (Zhao et al., 2008; Cardoso et al., 2020) แต่กล้วยไม้แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองเห็นได้ว่าความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมสามารถชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดีได้ เห็นได้ว่าอาหารที่ไม่เติม BA หรือเติม BA ความเข้มข้นน้อยเกินไปนั้น โปรโตคอร์มไลค์บอดีส่วนใหญ่พัฒนาเป็นยอดอ่อน ซึ่งไม่สามารถเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มไลค์บอดีเพื่อใช้ในวัตถุประสงค์อื่นตามต้องการในอนาคตได้ ในขณะที่อาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นมีแนวโน้มพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มไลค์บอดีต่อไปเรื่อย ๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการขยายพันธุ์เอื้องแซะให้ได้ปริมาณมาก หรือนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เอื้องแซะโดยวิธีอื่นต่อไป และเห็นได้ว่าการใช้ BA ในปริมาณมากเกินไปส่งผลทางลบต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืช และยังทำให้จำนวน PLBs ลดลง (Sagaya and Divakar, 2015)

**Table 1** Effect of BA concentration on protocorm-like bodies induction of *D. scabrilingue* Lindl protocorm after cultured for 6 weeks.

Media	PLBs no.	Length (cm)	Shoot no.	Leave no.
VW (control)	11.2±1.20 <sup>a</sup>	0.62±0.11	1.28±0.23 <sup>ab</sup>	0.92±0.18 <sup>ab</sup>
VW + BA1 mg/L	10.0±0.00 <sup>ab</sup>	0.69±0.09	1.67±0.26 <sup>a</sup>	1.61±0.33 <sup>a</sup>
VW + BA 2 mg/L	12.4±1.03 <sup>a</sup>	0.34±0.13	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>
VW + BA 3 mg/L	7.2±1.71 <sup>b</sup>	0.67±0.62	0.06±0.04 <sup>bc</sup>	1.00±0.63 <sup>ab</sup>
F-test	*	ns	**	**
CV (%)	6.80	13.64	21.42	24.32

\* = significantly difference at 0.05, \*\* = Significantly difference at 0.01, ns = non significantly difference.

Means within a column with a no common superscripts are significantly difference.



**Figure 1** Effect of BA concentration on protocorm-like bodies induction of *D. scabrilingue* Lindl protocorm after cultured for 6 weeks. (1) VW, (2) VW + 1 mg/L BA, (3) VW + 2 mg/L BA and (4) VW + 3 mg/L BA.

### ผลของน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

หลังจากการเลี้ยงโปรโตคอร์มไลค์บอดีในอาหารเหลวสูตร VW ที่มีน้ำตาลความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่าอาหาร VW ที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้โปรโตคอร์มไลค์บอดีพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดโดยสามารถชักนำได้ 12.9 ต้นต่อขวด และต้นอ่อนสามารถชักนำยอดใหม่ได้โดยมีจำนวนยอด 1.68 ยอดต่อต้น ความสูง 1.18 เซนติเมตร และจำนวนใบ 1.85 ใบต่อต้น ต้นอ่อนมีลำอ้วน ใบกว้างมีสีเขียว ส่วนผลของน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ชักนำต้นอ่อนและจำนวนยอดต่อต้นได้น้อยกว่าอาหาร VW ที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความยาวยอด จำนวนใบ และจำนวนรากไม่แตกต่างทางสถิติ โดยต้นอ่อนที่เจริญเติบโตในอาหาร VW ที่เติมน้ำตาล 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเหมือนกันคือ ลำต้นผอม ใบมีลักษณะยาว (Table 2 และ Figure 2) น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญให้แก่พืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพที่ปลอดเชื้อ เพราะภายในขวดเพาะเลี้ยงมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด ปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมจึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

และขนาดของใบที่ใหญ่ขึ้น (Arditti and Pridgeon, 2013) แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงเกินจุดจำเพาะก็จะทำให้การเจริญเติบโตลดลงและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ ทั้งยังส่งผลให้เกิดการสะสมแป้งในคลอโรพลาสต์มาก รวมทั้งเกิดการสร้างเอนไซม์ ribulose biphosphate carboxylase ขึ้นใหม่ได้ช้า (Arditti, 2008) เป็นผลให้การดูดซึมน้ำคาร์บอนต่ำลงทำให้อัตราสังเคราะห์แสงต่ำลงไปด้วย ทำให้ใบมีขนาดเล็กและใบมีความกว้างน้อยลง (Hdider and Dejardins, 1994) สอดคล้องกับงานวิจัยของ อีรพล พรสวรรค์ชัย และพิมพ์ใจ อากาวัชรูตม์ (2550) ที่ได้ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตและการสร้างหัวในสภาพหลอดแก้วของกล้วยไม้ดินนางอ้วสาคริก โดยได้เลี้ยงโปรโตคอร์มไลค์บอดีจากการเพาะเมล็ดบนอาหารตัดแปลงสูตร CMU1 ที่เติมน้ำตาลซูโครส 0, 1, 2, 3, 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าอาหารที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ส่งผลให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตและการกางออกของใบเร็วกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้น

Table 2 Effect of sucrose concentration on plantlet induction of *D. scabrilingue* Lindl after cultured for 6 weeks.

Media	Plantlet number	PLBs no.	Shoot length (cm)	Shoot no. /plantlet	Leave no. /plantlet	Roots no. /plantlet
VW + sucrose 1%	12.90±0.90 <sup>a</sup>	2.1±0.06 <sup>a</sup>	1.18±0.11	1.68±0.12	1.85±0.14	0.14±0.07
VW + sucrose 2%	9.78±0.24 <sup>b</sup>	0.4±0.01 <sup>b</sup>	0.93±0.04	1.30±0.07	1.91±0.14	0.24±0.07
VW + sucrose 3%	10.30±0.39 <sup>b</sup>	0.5±0.02 <sup>b</sup>	0.94±0.10	1.43±0.16	2.28±0.29	0.31±0.10
F-test	**	**	ns	ns	ns	ns
CV (%)	20.30	25.53	31.18	27.77	32.41	19.31

\*\* = Significantly difference at 0.01, ns = non significantly difference.

Means within a column with a no common superscripts are significantly difference.

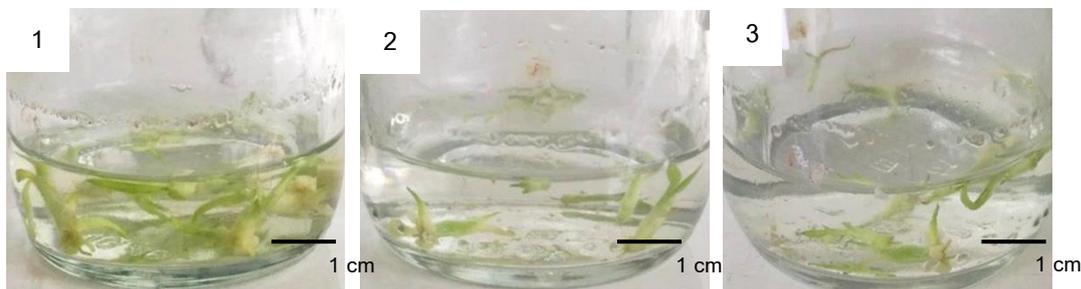


Figure 2 Effect of sucrose concentration on plantlet induction of *D. scabrilingue* Lindl after cultured for 6 weeks.

(1) VW + sucrose 1%, (2) VW + sucrose 2% and (3) VW + sucrose 3%.

### ผลของสารประกอบอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

เมื่อนำต้นอ่อนเอื้องแซะที่มีขนาด 0.5 เซนติเมตร มีใบ 2 ใบ มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ที่เติมสารประกอบอินทรีย์ทั้ง 5 สูตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อาหาร VW ที่เติมมันฝรั่งบด 150 กรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 11.36 ยอดต่อต้น ความยาวยอด 0.81 เซนติเมตร จำนวนใบ 7.87 ใบต่อต้น จำนวนราก 5.76 รากต่อต้น ความยาวราก 0.36±0.05 เซนติเมตร ใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้นแข็งแรงกว่าอาหารสูตรอื่น ๆ อาหาร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหาร VW ที่เติมสารอินทรีย์ผสมอย่างละเท่ากัน ให้ผลการชักนำยอดและการเจริญเติบโตไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหาร VW ที่เติมมันฝรั่งบด โดยพบว่าอาหาร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศทำให้อ่อนเกิดยอดได้ 10.25 ยอดต่อต้น ความยาวยอด 0.85 เซนติเมตร จำนวนใบ 6.18 ใบต่อต้น จำนวนราก 6.55 รากต่อต้น ความยาวราก 0.53±0.05 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียว รากมีสีเขียว ปลายอ่อนสีขาว ส่วนอาหาร VW ที่เติมสารอินทรีย์ผสมทำให้อ่อนเกิดยอดได้ 6.86 ยอดต่อต้น ความยาวยอด 0.89 เซนติเมตร จำนวนใบ 4.56 ใบต่อต้น และอาหารสูตรนี้ให้จำนวนรากมากที่สุดคือ 8.93 รากต่อต้น โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 0.51 เซนติเมตร ลำต้นมีสีเขียวมีขนสีดำติดตามข้อของลำต้นจนถึงโคนใบ รากสีขาวขนาดเล็ก กลม อ้วน และสั้น ส่วนอาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าวและกล้วยหอมบด ชักนำให้เกิดยอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีจำนวนยอด 3.03 และ 2.82 ยอดต่อต้นตามลำดับ อาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าวชักนำให้อ่อนเอื้องแซะมีลำต้นสีเขียวปนเหลือง กลม อ้วน ใบมีสีเขียว แผ่นใบกว้าง รากมีสีขาว

ขนาดเล็ก ส่วนอาหาร VW ที่เติมกล้วยบดชักร้าให้ลำต้นมีลักษณะเป็นลำลูกกล้วย มีข้ออ่อน ขนาดใหญ่ มีสีเขียว ใบยาว มีสีเขียว (Table 3 และ Figure 3) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Kunakhonnuruk et al. (2018) ที่พบว่าอาหารสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งทำให้กล้วยไม้ (Epipactis flava) มีการเจริญเติบโตมากที่สุด และการศึกษาของ บัวสอน โบราสี และอารยา อาจเจริญ เทียนหอม (2557) ที่พบว่าสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งบดทำให้เชื้อเขาแคะมีความยาวยอดและการเจริญของใบมากที่สุด แต่ส่งเสริมการเจริญของรากได้น้อย มันฝรั่งช่วยส่งเสริมการงอก การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ และช่วยสร้าง ความแข็งแรงให้ต้นอ่อนมากขึ้น (Arditti, 2008) เพราะในมันฝรั่งมีโพลีมีน (polyamine) และ biosynthetic enzyme ซึ่งมีผลต่อการเจริญและพัฒนาเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีผลต่อการเพิ่มกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ในเนื้อเยื่อมากขึ้น (วิวัฒน์ วุฒิพันธ์ไชย, 2529; Kaur-Sawhney et al., 1980) นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศ ส่งเสริมการเจริญของยอดและรากได้ดี สอดคล้องกับการรายงานของ อาทิตยา ชายศิริ และวารวรณ์ คุญฉาย (2560) พบว่าในอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะเขือเทศ 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ทำให้ความยาวรากและจำนวนใบของต้นอ่อน กระแจะอ่อนปากเปิดดีกว่าเมื่อเทียบกับอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และกล้วยหอมบด 150 กรัมต่อลิตร เพราะในน้ำมะเขือเทศมีส่วนผสมของวิตามิน เช่น วิตามินบี วิตามินเอ วิตามินซี ในปริมาณสูง และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม เป็นต้น (Arditti, 2008) เมื่อพิจารณาต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมสารประกอบอินทรีย์ทั้ง 5 สูตร พบว่าต้นอ่อนมีขนาดเล็กและยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ ดังนั้นเพื่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ จึงนำต้นอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่ง ที่ไม่ใส่ผงถ่านเป็นเวลา 9 สัปดาห์ ได้จำนวนต้นที่แข็งแรง แต่ยังไม่มีราก จึงย้ายต้นอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมมันฝรั่งและผงถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร ต่ออีกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จึงทำให้ได้ต้นอ่อนที่เหมาะสมในการย้ายออกปลูกต่อไป (Figure 4) ผงถ่านกัมมันต์ทำให้อาหารมีสีดำ ให้ความมืด ช่วยดูดซับสารที่ไม่พึงประสงค์หรือสารยับยั้งต่าง ๆ เช่น สารประกอบพวกฟีนอลิก รวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือสารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Pan and van Staden, 1998) สามารถชักนำให้พืชเกิดรากและรากมีการเจริญเติบโตดีขึ้น (ภาวิณี ศิริสม, 2557) ทั้งยังช่วยรักษาความเป็นกรดต่างของอาหารไม่ให้เปลี่ยนแปลงไปมากนัก นอกจากนี้ผงถ่านที่เติมในอาหารยังช่วยเพิ่มการระบายอากาศในอาหารได้ดีขึ้นด้วย (นาคยา มนตรี และนิเวศ แซ่ซัง, 2557)

Table 3 Effect of organic additive media on plantlet growth of *D. scabrilingue* Lindl after cultured for 12 weeks.

Types of organic additive media	Shoot no.	Shoot length (cm)	Leave no.	Roots no.	Root length (cm)
VW + coconut	3.03±0.54 <sup>b</sup>	0.73±0.07 <sup>b</sup>	2.61±0.31 <sup>b</sup>	1.44±0.42 <sup>c</sup>	0.13±0.04 <sup>c</sup>
VW + potato mash	11.36±3.14 <sup>a</sup>	0.81±0.07 <sup>b</sup>	7.87±2.09 <sup>a</sup>	5.76±0.42 <sup>b</sup>	0.36±0.05 <sup>b</sup>
VW + tomato juice	10.25±4.04 <sup>a</sup>	0.85±0.09 <sup>b</sup>	6.18±1.34 <sup>ab</sup>	6.55±1.09 <sup>b</sup>	0.53±0.05 <sup>a</sup>
VW + banana mash	2.82±0.34 <sup>b</sup>	1.10±0.07 <sup>a</sup>	3.02±0.49 <sup>b</sup>	6.13±0.65 <sup>b</sup>	0.49±0.05 <sup>a</sup>
VW + mix	6.86±1.32 <sup>ab</sup>	0.89±0.07 <sup>ab</sup>	4.56±0.86 <sup>ab</sup>	8.93±1.31 <sup>a</sup>	0.51±0.05 <sup>a</sup>
F-test	*	*	*	**	**
CV (%)	15.26	4.05	11.84	7.48	6.32

\* = significantly difference at 0.05, \*\* = Significantly difference at 0.01.

Means within a column with a no common superscripts are significantly difference.

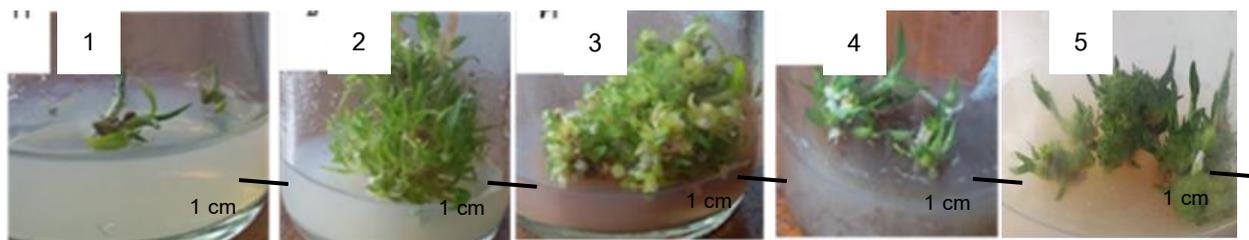


Figure 3 Effect of organic additive media on plantlet growth of *D. scabrilingue* Lindl after cultured for 12 weeks.

- (1) VW + coconut water, (2) VW + potato mash (3) VW + tomato juice, (4) VW + banana mash and (5) VW + mix.

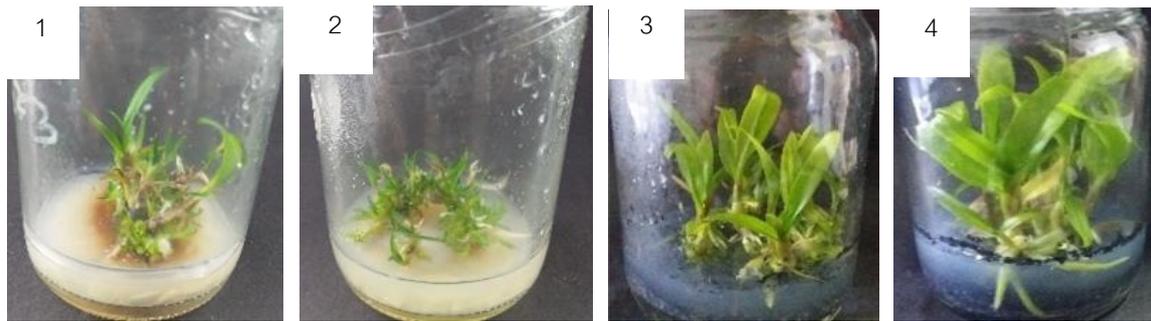


Figure 4 Growth and development of *D. scabriligae* Lindl plant cultured on VW medium, supplemented with potato mash at 21 weeks (1-2) and potato mash plus charcoal at 29 weeks (3-4).

### ผลของวัสดุปลูกต่อการอนุบาลเอื้องแซะ

จากการศึกษาย้ายต้นอ่อนเอื้องแซะ ขนาด 3 เซนติเมตร มีใบ 3 ใบ ราก 3 ราก ออกมาปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะที่ย้ายออกมาปลูกในสแฟกนัมมอส (sphagnum moss) มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด 87 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนปลูกในสแฟกนัมมอสร่วมกับไฮโดรตรอน (1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 83 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนปลูกในกาบมะพร้าวสับพบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ ต้นอ่อนปลูกในวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับร่วมกับไฮโดรตรอน (1:1) และกาบมะพร้าวสับกับไฮโดรตรอนและสแฟกนัมมอส (1:1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตเท่ากันคือ 73 เปอร์เซ็นต์ และต้นอ่อนปลูกในวัสดุปลูกไฮโดรตรอน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 63 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ต้นอ่อนเอื้องแซะที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกทุกชนิดมีจำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ ลำต้นมีสีเขียวปนเขียว ใบสีเขียว (Figure 5) การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้หวายพันธุ์นี้จะต้องคำนึงถึงสภาพที่ขึ้นอยู่กับธรรมชาติ โดยเฉพาะเอื้องแซะมักขึ้นตามเทือกเขาสูง ชอบอากาศเย็น และมักขึ้นเกาะตามกิ่งไม้ตอต้นไม้เป็นทางยาว มีมอสหรือไลเคนขึ้นเกาะตามกิ่งไม้เหล่านั้น (ระพีสาคริก, 2546) ผลการทดลองพบว่าต้นอ่อนเอื้องแซะที่ย้ายปลูกในสแฟกนัมมอส มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ ธนวัตี พรหมจันทร์ และคณะ (2559) ที่ได้ปลูกเลี้ยงเอื้องกุหลาบกระเป๋าดิบในสแฟกนัมมอส พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสแฟกนัมมอสมีคุณสมบัติที่ดีคือ น้ำหนักเบา รากกล้วยไม้ยึดเกาะได้ดี มีช่องว่าง น้ำ อากาศ ออกซิเจนหมุนเวียนได้สะดวก ไม่ดูดซับเกลือจากปุ๋ย สามารถดูดน้ำได้ถึง 20 เท่าตัว การระบายน้ำสม่ำเสมอ รากพืชเจริญเติบโตและแผ่กระจายได้ดี อุ้มน้ำได้ดีขึ้น ทำให้มีความชื้นเหมาะสมกับการเจริญเติบโต และในปัจจุบันสแฟกนัมมอสหาซื้อได้ง่าย และถึงแม้จะมีราคาสูงกว่ากาบมะพร้าวสับ แต่ก็มีคุณภาพทนทาน สามารถใช้ซ้ำได้ นอกจากนี้ช่วงเวลากการออกปลูกของกล้วยไม้ก็มีความสำคัญเช่นกัน ดังงานวิจัยของ มณฑิยา แสงตะหมิง และคณะ (2555) ที่ได้ทดสอบช่วงเวลา วิธีการ และวัสดุปลูกที่เหมาะสมสำหรับการย้ายปลูกเอื้องแซะ พบว่าการปลูกเลี้ยงโดยใช้วัสดุปลูกเป็นใยมะพร้าวในช่วงที่มีอากาศร้อนและชื้น เอื้องแซะจะมีอัตราการรอดชีวิตลดลงอย่างมาก ส่วนวิธีการที่เหมาะสมในการย้ายปลูกคือการปลูกเลี้ยงในกระโถมพลาสติก เมื่อทดสอบการออกปลูกในวัสดุปลูกที่ต่างกันพบว่าเมื่อปลูกเลี้ยงในสแฟกนัมมอสเป็นเวลา 30 วัน เอื้องแซะมีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 90 วัน มีอัตราการรอดชีวิตลดลงเหลือ 72 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการทดลองนี้ได้ทดลองย้ายปลูกโดยไม่ได้อุ้มน้ำและความชื้น ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2562 มกราคม และมีนาคม 2563 ในพื้นที่กรุงเทพฯ ซึ่งมีอากาศร้อน จึงทำให้ผลการทดลองแตกต่างจากการทดลองที่ได้กล่าวมา ดังนั้นการย้ายปลูกกล้วยไม้ที่มีถิ่นกำเนิดจากพื้นที่สูงต้องคำนึงถึงปัจจัยในเรื่องของอุณหภูมิและความชื้นด้วย

**Table 4** Effect of various materials on survival percentage and plantlet growth of *D. scabrilingue* Lindl after cultured for 4 weeks in greenhouse.

Types of material	Survival percentage	Shoot no.	Shoot length (cm)	Leave no.
CBH	80	1.00±0.00	3.44±0.22	2.91±0.29
HD	63	1.05±0.05	3.88±0.31	2.94±0.34
SP	87	1.00±0.00	3.80±0.26	2.50±0.21
CBH + HD (1:1)	73	1.00±0.00	3.45±0.29	2.68±0.23
HD + SP (1:1)	83	1.00±0.00	3.36±0.18	2.44±0.23
CBH + HD + SP (1:1:1)	73	1.00±0.00	3.58±0.29	2.54±0.26
F-test	-	ns	ns	ns
CV (%)	-	14.29	34.40	46.85

ns = non significantly difference.

Means within a column with a no common superscripts are significantly difference.



**Figure 5** Growth and development of 4-week-old *D. scabrilingue* Lindl plant transplanted to various materials in greenhouse. (1) Coconut bark hack, (2) hydroton, (3) sphagnum moss, (4) chopped coconut and hydroton (5) hydroton and sphagnum moss and (6) chopped coconut, hydroton and sphagnum moss.

### สรุปผลการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าเมล็ดเอื้องชะสามารถงอกและพัฒนาการเจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์มได้บนอาหารสูตร VW ส่วนการชักนำโปรโตคอร์มไลคอบอดี พบว่าในอาหารเหลว VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำเกิดโปรโตคอร์มไลคอบอดีได้ดีที่สุด และเพื่อให้โปรโตคอร์มไลคอบอดีพัฒนาเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็วให้เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการชักนำให้ต้นอ่อนเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ และเพื่อชักนำให้เกิดต้นและรากที่สมบูรณ์พร้อมนำออกปลูกจึงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ที่เติมน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ 2 กรัมต่อลิตร ส่วนการย้ายปลูก พบว่าการใช้สแฟกนัมมอสทำให้ต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด แต่การเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันในวัสดุปลูกแต่ละชนิด

### เอกสารอ้างอิง

- จิตราพรรณ พิติก. 2539. เอื้องชะหลวง. นิตยสารไม้ดอก 1(6): 74-77.
- ณัชชา วิสุทธิเทพกุล. 2548. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่หายากและใกล้จะสูญพันธุ์. ใน รายงานการประชุมความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้และสัตว์ป่า. กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. น. 368-374. โรงแรมริเจนท์, เพชรบุรี.
- ธนวิ พนมจันทร์, สุภาวดี รามสูตร และปรีดา บุญเทศน์. 2559. ผลของผงถ่านและวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป่าปัด. วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช 35(2): 53-61.
- ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย และพิมพ์ใจ อาภาวิชรุตม์. 2550. ผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตและการสร้างหัวในสภาพปลอดแก้วของกล้วยไม้ดินนางอ้วกสาคริก. วารสารเกษตร 23(3): 197-205.
- นาดยา มนต์รี และนิเวศ แซ่ซ่ง. 2557. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ช้างผสมโคลงในสภาพปลอดเชื้อ. เกษตร 42(ฉบับพิเศษ 1): 159-601.

- บัวสอน โบราสี และอารยา อาจเจริญ เวียนหอม. 2557. การงอกของเมล็ดและการพัฒนาด้านอ่อนเนื้อเยื่อของเหง้าและในสภาพปลอดเชื้อ. *แก่นเกษตร* 42 (ฉบับพิเศษ 3): 524-528.
- ประเทืองศรี สีนชัยศรี, ธวัชชัย ศศิณลิน, ชูเกียรติ เทพสาร และนงเยาว์ ทองตัน. 2538. การวิจัยและพัฒนาสกัดกลิ่นหอมจากดอกกล้วยไม้ป่าเอื้องแซะ. *วารสารวิชาการเกษตร* 13(2): 136-141.
- ประพันธ์ โอสถาปนบุรี, ลักขณา เพ็ชรประดับ, นันทฤทธิ โชคถาวร, เบญจวรรณ สมบูรณ์, ชิต อินปรา และสมยศ มีสุข. 2554. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง การผลิตเอื้องแซะหอมเชิงพาณิชย์เพื่ออุตสาหกรรมเครื่องหอม. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ภาวิณี ศิริสม. 2557. การปรับปรุงวิธีการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มและการพัฒนาเป็นต้นใหม่ของกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย. วิทยาลัยเกษตรศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวลัยรุกชเวช, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- ภูมรินทร์ คงมณี. 2544. การศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องแซะหลวงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยาลัยเกษตรศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มณฑิยา แสงคะหมื่น, สุริยนต์ ดีดเหล็ก และสุทัศน์ ปินตาเสน. 2555. การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องแซะ. ใน รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา 2551-2560. น. 1-11. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- ระพี สาคริก. 2546. การปลูกกล้วยไม้เป็นการค้าและการพัฒนาบนพื้นฐานความมั่นคง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วารภรณ์ ภูตะลุง. 2557. เทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์ใช้ทางเภสัชศาสตร์. ขอนแก่น: บริษัท ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา จำกัด.
- วิวัฒน์ วุฒิพันธุ์ไชย. 2529. ผลของอายุผัก การเติมมันฝรั่ง น้ำมะพร้าว และถ่านในอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor*). วิทยาลัยเกษตรศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล. 2552. *กล้วยไม้ไทย*. กรุงเทพฯ: เศรษฐศิลป์.
- อาทิตยา ชายศิริ และวารภรณ์ อุชฉาย. 2560. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกะเรกะร้อนปากเบ็ดในสภาพปลอดเชื้อและผลของปุ๋ยในการอนุบาลหลังออกปลูก. *แก่นเกษตร* 45 (ฉบับพิเศษ): 1197-1202.
- อาภรณ์ อุดมศิลป์. 2556. พืชอนุรักษ์ในบัญชีไซเตส (CITES) กล้วยไม้ป่าในผืนป่าตะวันออก ตอนที่ 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- Arditti, J. 2008. *Micropropagation of orchids*. Australia: Blackwell Publishing.
- Arditti, J., and Pridgeon, A. 2013. *Orchid biology: reviews and perspectives, VII*. Netherlands: Springer Science & Business Media.
- Cardoso, J. C., Zanello, C. A., and Chen, J. T. 2020. An overview of orchid protocorm-like bodies: mass propagation, biotechnology, molecular aspects, and breeding. *International Journal of Molecular Sciences* 21(3): 985.
- Hdider, C., and Desjardins, Y. 1994. Effects of sucrose on photosynthesis and phosphoenolpyruvate carboxylase activity of in vitro cultured strawberry plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 36(1): 27-33.
- Huetteman, C. A., and Preece, J. E. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 33: 105-119.
- Kaur-Sawhney, R., Flores, H. E., and Galston, A. W. 1980. Polyamine-induced DNA synthesis and mitosis in oat leaf protoplasts. *Plant Physiology* 65(2): 368-371.
- Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. *American Orchid Society Bulletin* 15: 214-217.
- Kunakhonnuruk, B., Inthima, P., and Kongbangkerd, A. 2018. In vitro propagation of *Epipactis flava* Seidenf., an endangered rheophytic orchid: a first study on factors affecting asymbiotic seed germination, seedling development and greenhouse acclimatization. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 135(3): 419-432.
- Pan, M. J., and Van Staden, J. 1998. The use of charcoal in in vitro culture – A review. *Plant Growth Regulation* 26: 155-163.
- Seidenfaden, G., and Smitinand, T. 1959. *The orchid of Thailand: A preliminary list*. Bangkok: The Siam Society.
- Sagaya, M. B., and Divakar, K. M. 2015. In vitro micropropagation of *Dendrobium crepidatum* Lindl. using fruit capsule. *International Journal of Engineering Development and Research* 3(4): 212-216.
- Vacin, E., and Went, F. W. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette* 110: 605-613.
- Zhao, P., Wu, F., and Feng, F. 2008. Protocorm-like body (PLB) formation and plant regeneration from the callus culture of *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl.. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 44: 178-185.

---

วันรับบทความ (Received date) : 27 ม.ค. 63

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 7 ส.ค. 63

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 14 ส.ค. 63