

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องนางลมในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Seed Culture of *Dendrobium peguanum* Lindl.

อรรถพร จันทรดี* วิณัน บัณฑิตย์ และ นัฐา โพธาภรณ์
Attaporn Jandee*, Weenun Bundithya and Nuttha Potapohn

ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200
Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand
*Corresponding author: Email: attaporn_jan@learning.cmu.ac.th

(Received: 14 December 2020; Accepted: 9 April 2021)

Abstract: *Dendrobium peguanum* Lindl. is a small orchid that distributes in India, Nepal, Myanmar, and Thailand. This research aimed to use tissue culture technique with some plant growth regulators for *in vitro* propagation. After pollination, seed pods of *D. peguanum* Lindl. were harvested at 6, 8, 10 and 12 week. Seeds viability were evaluated by lacto - propionic orcein staining, and then they were culture on Murashige and Skoog medium (MS) without plant growth regulator. It was found that 6 - week - old seed pods could not germinate while those at 12 - week - old could germinate well. After that, seedlings were subcultured onto ½ MS medium containing some plant growth regulators i.e. α - naphthalene acetic acid (NAA), 6 - benzylaminopurine (BA), kinetin, and coconut water. It was found that plants grown on media with NAA 0.5 and 1.0 ppm at 120 days had better growth in term of height than other treatments, but number of shoot per plant was not differ.

Keywords: Seed germination, Murashige and Skoog medium, α - naphthalene acetic acid, 6 - benzylaminopurine, kinetin, coconut water

บทคัดย่อ: กล้วยไม้เอื้องนางลมเป็นกล้วยไม้ขนาดเล็ก มีการกระจายพันธุ์ที่ประเทศอินเดีย เนปาล พม่า และไทย โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดมาขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องนางลมในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการผสมเกสรกล้วยไม้เอื้องนางลมเป็นเวลา 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ แล้วนำเมล็ดมาหมักด้วยสี lacto - propionic orcein เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ด เมื่อเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า ผักที่มีอายุ 6 สัปดาห์ไม่มีการงอกของเมล็ด ส่วนผักที่มีอายุ 12 สัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่สูงที่สุด จากนั้นทำการย้ายต้นกล้วยไม้เอื้องนางลมลงในอาหารสูตร ½ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิด ได้แก่ NAA BA Kinetin และน้ำมะพร้าว พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.5 และ 1.0 ppm เป็นเวลา 120 วัน กล้วยไม้เอื้องนางลมมีความสูงของลำลูกกล้วยที่มากที่สุด ในขณะที่จำนวนยอดของกล้วยไม้เอื้องนางลมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ: การงอกของเมล็ด Murashige and Skoog medium α - naphthalene acetic acid 6-benzylaminopurine ไคเนติน น้ำมะพร้าว

คำนำ

กล้วยไม้เอื้องนางลมเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยในสกุลหวาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dendrobium peguanum* Lindl. ลำลูกกล้วยมีขนาดเล็ก รูปร่างค่อนข้างกลม สูงประมาณ 3 ถึง 3.5 เซนติเมตร ออกดอกบริเวณปลายยอดลำลูกกล้วย มีขนาดดอกประมาณ 1 ถึง 1.5 เซนติเมตร มีกลิ่นหอม กลีบดอกและกลีบเลี้ยงมีสีขาว กลีบปากมีสีแดงแต้มน้ำตาลเข้มไปจนถึงสีม่วง ออกดอกช่วงเดือนธันวาคมไปจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ พบการกระจายตัวที่ประเทศอินเดีย เนปาล พม่า และไทย (Kumar *et al.*, 2011)

สถานการณ์ในปัจจุบันของกล้วยไม้มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ จากการที่ดอกของกล้วยไม้มีสีส้มที่สวยงามซึ่งได้รับความนิยมจากผู้เพาะเลี้ยง จึงมีการลักลอบนำกล้วยไม้ออกจากป่าเป็นจำนวนมาก ทำให้การขยายพันธุ์ในธรรมชาติไม่เพียงพอ (Prasertsongsun and Ma, 2009) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการที่ช่วยขยายพันธุ์ได้ในปริมาณที่มากและใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่าการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีอาหารสะสมภายในเมล็ดน้อยมาก ไม่เพียงพอต่อการงอกของเมล็ด (Subthira *et al.*, 2013) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีหลายปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญเติบโต แต่หนึ่งในปัจจัยสำคัญที่นิยมใช้คือ การเติมสารควบคุม

การเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators; PGRs) ในกลุ่มของออกซินและไซโทไคนินลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในระยะโพรโตคอร์มไปจนกระทั่งเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ (Tipchote and Kongbangkerd, 2010)

ตัวอย่างการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวาย เช่น ในการทดลองของ Pradhan and Pant (2009) ได้เพาะเมล็ดเอื้องมอนไซล์เลียม (*Dendrobium densiflorum* Lindl.) โดยการใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ร่วมกับ 6-benzylaminopurine (BA) และ α - naphthalene acetic acid (NAA) พบว่าในแต่ละระยะการเติบโตมีการตอบสนองต่อการให้สารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยระยะแรกการได้รับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ผลดีที่สุดที่สุด ระยะการเกิดโพรโตคอร์มการได้รับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ผลดีที่สุด และระยะที่เริ่มมีการสร้างใบแรกการได้รับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ผลดีที่สุด และการทดลองของ Subthira *et al.* (2013) ได้ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชักนำให้เอื้องสายล่องแล่ง (*Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fischer) เจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ โดยพบว่า การได้รับ BA ความเข้มข้นที่ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2.0

มิลลิกรัมต่อลิตรส่งผลให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด และการได้รับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรส่งผลให้ความยาวของลำลูกกล้วยเอื้องสายล่องแล่งมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในกล้วยไม้เอื้องนางลม การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องนางลม

อุปกรณ์และวิธีการ

การผสมเกสรและการเพาะเมล็ด

กล้วยไม้เอื้องนางลมเป็นกล้วยไม้ที่มีดอกขนาดเล็ก การผสมเกสรต้องใช้ความประณีตเป็นอย่างมาก การผสมเกสรต้องผสมหลังจากดอกบานเต็มที่ ดอกที่ผสมต้องไม่มีเกสรเพศผู้เข้าไปผสมปนเปื้อนก่อน การผสมเกสรควรผสมในช่วงเวลาที่อากาศไม่ร้อนจัด โดยช่วงเวลาที่เหมาะสมคือเวลาประมาณ 8:00 - 10:00 น. (Inwong, 2010) โดยเริ่มต้นจากการเด็ดกลีบปากของกล้วยไม้ดอก แล้วใช้ไม้จิ้มฟันสะอาดเปิดฝาดรอปแล้วเกสรเพศผู้ นำเกสรเพศผู้ออกมา นำมาแตะบริเวณแองเกสรเพศเมีย บันทึกวันที่ผสม และติดป้ายที่ระบุ วัน เดือน ปี ที่ผสมไว้บริเวณก้านดอก ย้ายปลูกในโรงเรือนที่มีตาข่ายพรางแสง 50 % รดน้ำวันละ 1 ครั้ง เก็บผักที่มีอายุ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์หลังจากการผสมเกสรมาต้มย้อมสีเมล็ดโดยวิธีการจาก Wongnan (2010) โดยเขียนเมล็ดจากฝักลงบนแผ่นสไลด์ตามด้วยสีย้อม lacto-propionic orcein จำนวน 1 หยด ทิ้งไว้ 10 นาที ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ บันทึกการย้อมติดสีและขนาดของเมล็ด นับจำนวนเมล็ดที่ย้อมติดสี โดยทดลองจำนวน 3 ฝัก ฝักละ 5 ชั่ว จากนั้นนำเมล็ดมาเพาะในอาหารสูตร Murashige and Skoog (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 25 °C ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 30 วัน แล้วนำเมล็ดมาสังเกตภายใต้

กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบเพื่อนับจำนวนเมล็ดที่งอก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย Tukey's test (honestly significant difference; HSD)

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเจริญ

ย้ายกล้วยไม้เอื้องนางลมที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อความยาวของลำลูกกล้วยประมาณ 2 - 3 มิลลิเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร half strength Murashige and Skoog medium ($\frac{1}{2}$ MS) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตแบ่งเป็น 11 กรรมวิธีดังต่อไปนี้ กรรมวิธีที่ 1, 2 และ 3 เติมน้ำ ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 ppm ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 4, 5 และ 6 เติมน้ำ BA ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 ppm ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 7, 8 และ 9 เติมน้ำ kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 ppm ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 10 เติมน้ำมะพร้าวอ่อนความเข้มข้น 10 % และกรรมวิธีที่ 11 ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 25 °C ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 120 วัน บันทึกความสูงของลำลูกกล้วย และจำนวนยอดที่เกิด ทุก 30 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย Tukey's test

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเพาะเมล็ด และเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด

จากการผสมเกสรกล้วยไม้เอื้องนางลมภายในดอกเดียวกัน พบว่า ไม่สามารถผสมตัวเองแล้วให้ฝักได้ แต่การผสมเกสรข้ามต้นสามารถผสมแล้วให้ฝักได้ การไม่สามารถผสมตัวเองได้ในกล้วยไม้สกุลหวาย พบได้ในการทดลองของ Johansen (1990) ที่ได้ผสมเกสรกล้วยไม้ในสกุลหวายจำนวน 61 ชนิด มากกว่า 1,700 ดอกภายในดอกเดียวกัน พบว่า 72 % ในจำนวนดอกทั้งหมดไม่สามารถผสมตัวเองติด และการทดลองของ Pinheiro *et al.* (2015) ที่ได้ผสมเกสรกล้วยไม้ในสกุลหวายจำนวน 103 ชนิด ประมาณ 2,500

ดอกภายในดอกเดียวกัน พบว่า 76 ชนิด ไม่สามารถผสมตัวเองได้

เมื่อผสมเกสรแล้วเกิดการติดฝักของกล้วยไม้ ฝักของกล้วยไม้มีการขยายขนาดขึ้นตามลำดับ โดยในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 เมล็ดมีการพัฒนาการแต่เมล็ดยังไม่สามารถแยกออกมาเป็นเมล็ดเดี่ยว ดังภาพที่ 1A - B พัฒนาการของเมล็ดเห็นได้ชัดเจนและสามารถวัดขนาดของเมล็ดได้ ในสัปดาห์ที่ 6 เมล็ดมีขนาดโดยเฉลี่ยที่ $71.5 \mu\text{m}$ สัปดาห์ที่ 8 เมล็ดมีขนาดโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น $97.0 \mu\text{m}$ ดังภาพที่ 1C - D และในสัปดาห์ที่ 10 และ 12 เมล็ดมีขนาดเพิ่มขึ้น โดยขนาดเมล็ดเฉลี่ยเท่ากับ 227.8 และ $230.4 \mu\text{m}$ ตามลำดับ ดังภาพที่ 1E - F และตารางที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Udomdee *et al.* (2014) ที่ผสมเกสรกล้วยไม้หวายในบิเลอูผสม แล้วนำฝักที่มีอายุ 2 ถึง 5 เดือนมาตรวจดูเมล็ดภายใน พบว่า เมล็ดมีขนาด

ใหญ่ขึ้นตามอายุฝักหลังจากการผสมเกสร และแทบไม่เพิ่มขนาดขึ้นหลังจากอายุ 4 เดือน

หลังจากนำเมล็ดที่ได้จากฝักที่มีอายุ 6 ถึง 12 สัปดาห์มาเพาะในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน พบว่า เมล็ดจากฝักที่มีอายุ 12 สัปดาห์หลังจากการผสมเกสร มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 98.4% รองลงมาเมล็ดจากฝักที่มีอายุ 10 สัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 96.0% ในขณะที่เมล็ดจากฝักที่มีอายุ 8 สัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเพียง 15.2% และเมล็ดจากฝักที่มีอายุ 6 สัปดาห์ไม่พบการงอกของเมล็ด (Table 1) เนื่องมาจากกระบวนการพัฒนาของเมล็ดต้องเกิดขึ้นจนกระทั่งถึงจุดหนึ่งที่เมล็ดพร้อมที่จะงอกเมื่อนำเมล็ดอ่อนมาเพาะเลี้ยงต้องใช้เวลาในการพัฒนาคัพภะจนถึงจุดที่พร้อมงอก (Piyatrakul and Apavatjirut, 2004) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ramesh *et al.*

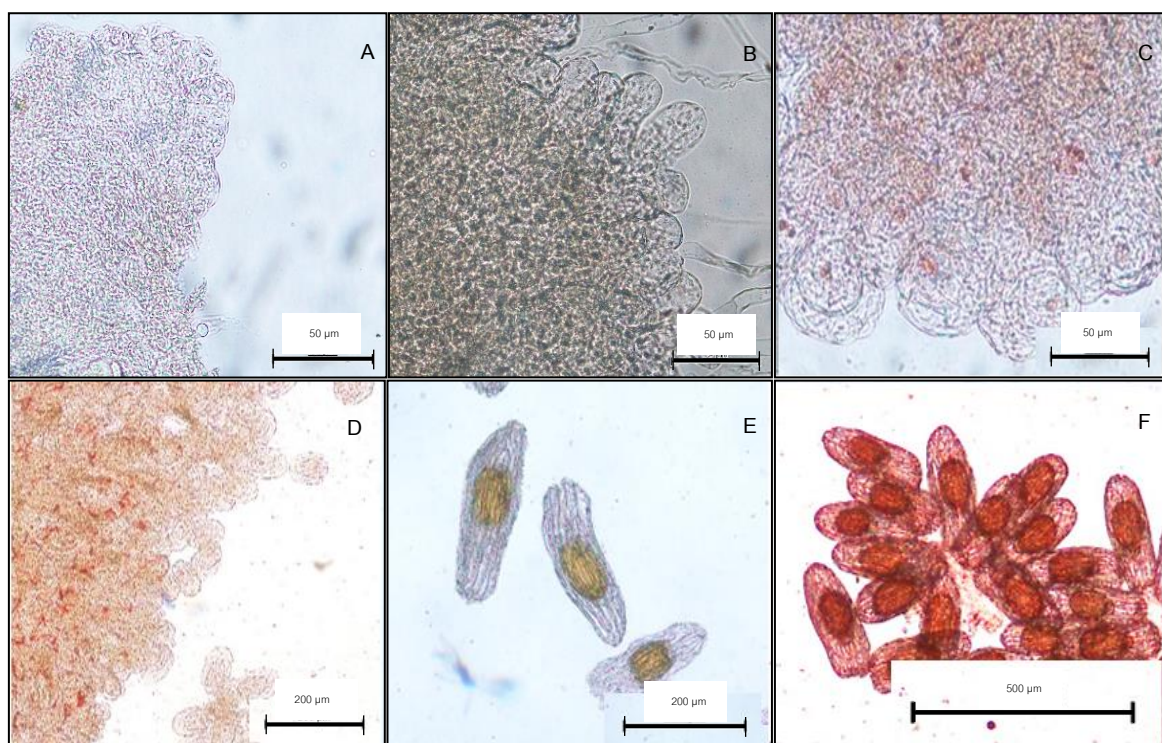


Figure 1. *Dendrobium peguanum* seeds at different seed pod age (A) 2 - weeks, (B) 4 - weeks, (C) 6 - weeks, (D) 8 - weeks, (E) 10 - weeks, and (F) 12 - weeks after pollination

Table 1. Seed size and germination at different *D. peguanum* seed pod age

Seed after pollination (weeks)	Seed size (μm)	Germination (%)
6	71.5 ± 8.9^c	0^d
8	97.0 ± 14.4^b	15.2 ± 1.0^c
10	227.8 ± 23.8^a	96.0 ± 0.4^b
12	230.4 ± 20.3^a	98.4 ± 0.2^a
F - test	*	*

Remarks: Values with different letters in columns are significantly different ($P \leq 0.05$) by Tukey's test

(2019) ที่ได้เพาะเมล็ดเอื้องแววมยุรา (*Dendrobium fimbriatum* Hook.) พบว่า เมล็ดจากฝักที่มีอายุ 280 วัน มีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุดเมื่อเทียบกับเมล็ดจากฝักที่มีอายุน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสอดคล้องกับการทดลองของ Udomdee *et al.* (2014) ที่ได้ทดลองในกล้วยไม้หวายโนบิเลอผสม พบว่า เมล็ดจากฝักที่มีอายุ 4 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุดเมื่อเทียบกับเมล็ดจากฝักที่มีอายุน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ถ้าฝักมีอายุมากกว่า 4 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ลดลงแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และลูกผสมบางรหัสไม่สามารถนำมาเพาะเมล็ดได้ เนื่องจากฝักแตก

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการเจริญ

หลังจากย้ายต้นกล้วยไม้เอื้องนางลมลงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เมื่อผ่านไป 120 วัน พบว่า ต้นที่ปลูกในอาหารที่มี NAA 0.5 และ 1.0 ppm มีความสูงของลำลูกกล้วยมากกว่าการใช้ BA, kinetin และน้ำมะพร้าว อย่างมีนัยสำคัญที่ 8.8 และ 12.1 มิลลิเมตรตามลำดับ (Figure 2, Table 2) ในขณะที่การใช้ NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 ppm ไม่ส่งผลทำให้ความสูงแตกต่างจากการใช้ plant growth regulators อื่น ๆ และ น้ำมะพร้าว สอดคล้องกับการทดลองของ Subthira *et al.* (2013) ที่ทำการทดลองใช้ BA และ NAA ในเอื้องสายล่องแล่ง พบว่า ลำลูกกล้วยที่ปลูกในอาหารที่เติม NAA มีความสูงมากกว่าที่เติม BA อย่างมีนัยสำคัญ และการทดลองของ Basker

and Narmatha Bai (2010) ที่ทำการทดลองใน *Eria bambusifolia* โดยพบว่า ต้นที่ปลูกใน NAA 2.0 ppm มีความสูงของลำลูกกล้วยมากที่สุด และต้นที่ปลูกใน BA 0.5 ppm และ kinetin 0.5 ppm มีความสูงของลำลูกกล้วยน้อยที่สุดเนื่องจาก NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน หากใช้ในปริมาณที่เหมาะสม มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน ช่วยเพิ่มขนาดของเซลล์ และมีบทบาทในการเพิ่มความยาวของเซลล์ (Surapha *et al.*, 2017; Supinrach and Supinrach, 2017) ในส่วนจำนวนยอดของกล้วยไม้เอื้องนางลมเมื่อผ่านไป 120 วัน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Das *et al.* (2008) ที่ทำการทดลองในเอื้องสายม่วง (*Dendrobium lituiflorum*) โดยใช้ NAA และ BA พบว่า จำนวนยอดที่เกิดจากกรรมวิธีที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่มีความแตกต่างกัน และสอดคล้องกับการทดลองของ Parthibhan *et al.* (2015) ที่ได้กระตุ้นการเกิดยอดใน *Dendrobium aqueum* โดยใช้ BA และ Kinetin พบว่า จำนวนยอดที่เกิดจากกรรมวิธีที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดย BA kinetin และน้ำมะพร้าว เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินมีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเจริญเติบโตด้านข้างของพืช แต่ความเข้มข้นของไซโทไคนินที่สูงจะส่งผลต่อการยับยั้งการเกิดยอดใหม่ของกล้วยไม้ (Kuichuchee, 2011; Santarunai, 2015)

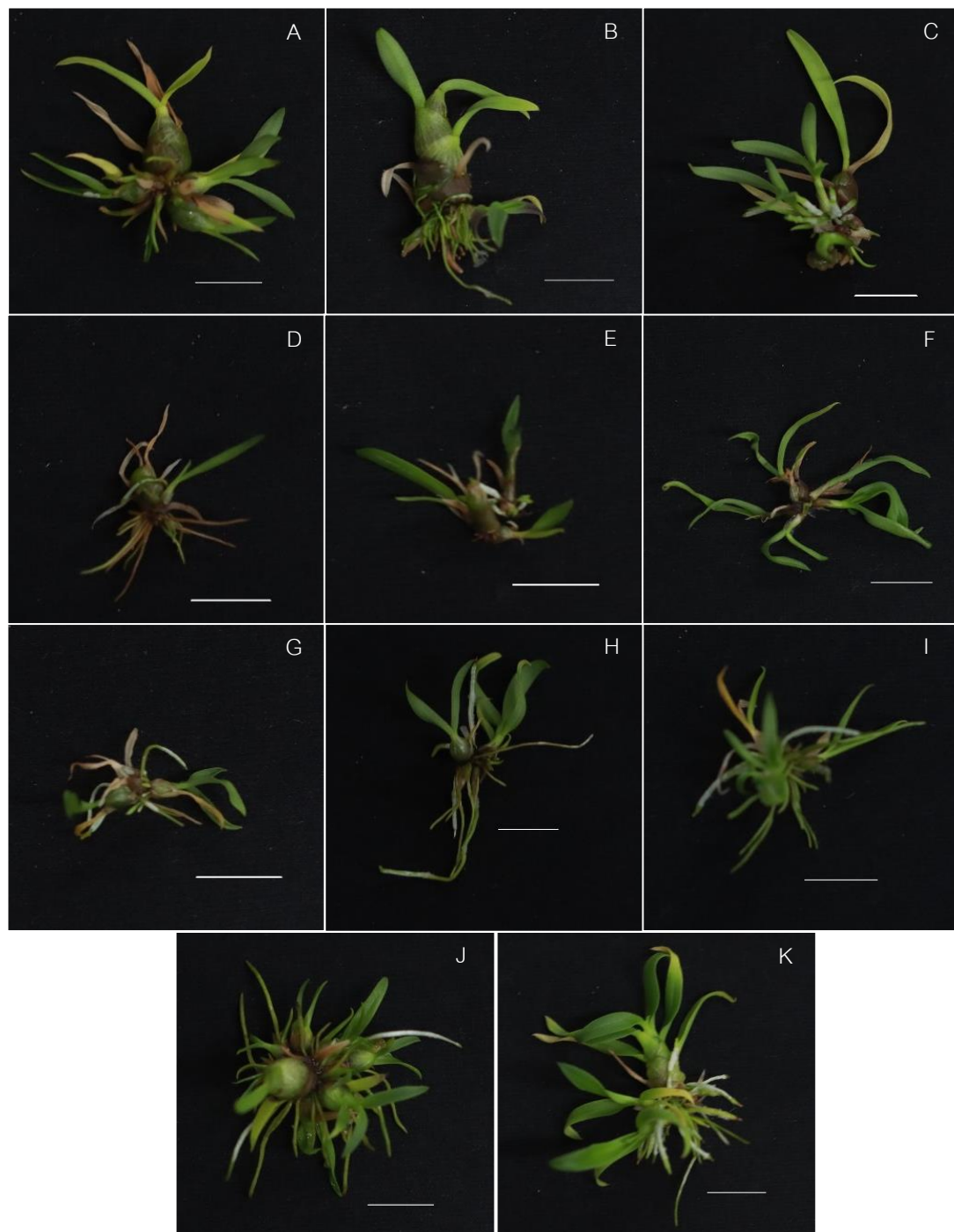


Figure 2. Growth of *Dendrobium peguanum* *in vitro* at 120 day after culture (A - C) NAA at 0.5, 1.0 and 1.5 ppm, (D - F) BA at 0.5, 1.0 and 1.5 ppm, (G - I) kinetin at 0.5, 1.0 and 1.5 ppm, (J) coconut water at 10 % and (K) free hormone; bar = 1 cm

Table 2. Effect of plant growth regulators on *Dendrobium peguanum* plant height and number of shoot per plant at 120 - day after culture

PGRs	Concentration	Height (mm)	Number of shoots per plant
NAA	0.5 ppm	8.8 ± 0.8 ^{ab}	2.2 ± 0.4
NAA	1.0 ppm	12.1 ± 1.4 ^a	2.7 ± 0.4
NAA	1.5 ppm	7.8 ± 1.4 ^b	2.8 ± 0.7
BA	0.5 ppm	6.0 ± 0.8 ^b	1.8 ± 0.3
BA	1.0 ppm	6.3 ± 0.3 ^b	3.2 ± 0.4
BA	1.5 ppm	6.2 ± 0.3 ^b	3.5 ± 0.5
Kinetin	0.5 ppm	5.8 ± 0.5 ^b	2.4 ± 0.3
Kinetin	1.0 ppm	5.5 ± 0.4 ^b	3.1 ± 0.5
Kinetin	1.5 ppm	6.3 ± 0.4 ^b	2.5 ± 0.3
CW	10 %	7.6 ± 0.5 ^b	3.6 ± 0.8
FH	-	8.3 ± 0.7 ^b	2.9 ± 0.6
F - test		*	ns

Remarks: Values with different letters in columns are significantly different ($P \leq 0.05$) by Tukey's test; CW = coconut water, FH = free hormone, ns = not significant

สรุป

กล้วยไม้เอื้องนางลม เป็นกล้วยไม้ที่ต้องผสมเกสรข้ามต้นจึงสามารถติดฝักได้ดี และอายุฝักที่เหมาะสมต่อการนำมาเพาะเมล็ดคือ 12 สัปดาห์ หลังจากการผสมเกสร และฝักที่มีอายุ 6 สัปดาห์หลังการผสมเกสรไม่มีการงอกของเมล็ด หลังจากที่ตั้งงอกจากเมล็ดแล้ว การย้ายปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องนางลมให้ต้นมีความสมบูรณ์ ควรย้ายต้นอ่อนลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร ½ MS ที่มีการเติม NAA ความเข้มข้น 1.0 ppm ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องนางลมมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

Basker, S. and V. Narmatha Bai. 2010. *In vitro* propagation of an epiphytic and rare orchid *Eria bambusifolia* Lindl. Research in Biotechnology 1: 15-20.

Das, M.C., S. Kumaria and P. Tandon. 2008. *In vitro* Propagation and Conservation of *Dendrobium lituiflorum* Lindl Through Protocorm-like Bodies. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 17(2): 177-180.

Inwong, M. 2010. Intersectional crossability of Thai and commercial *Dendrobium* cultivar. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 66 p. (in Thai)

Johansen, B. 1990. Incompatibility of *Dendrobium* (Orchidaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 103(2): 165-196.

Kuichuchee, A. 2011. Utilizing coconut water mixed bio - extracted water as plant supplements for soybean production. M.S. (Environmental Management) Thesis. National Institute of Development Administration, Bangkok. 170 p. (in Thai)

- Kumar, P., G.S. Rawat and H.P. Wood. 2011. Diversity and Ecology of *Dendrobiums* (Orchidaceae) in Chotanagpur Plateau, India. *Taiwania* 56(1): 23-36
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Parthibhan, S., M.V. Rao and T.S. Kumar. 2015. *In vitro* regeneration from protocorms in *Dendrobium aqueum* Lindley - An imperiled orchid. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 13(2): 227-233.
- Pinheiro, F., D. Cafasso, S. Cozzolino and G. Scopece. 2015. Transitions between self-compatibility and self-incompatibility and the evolution of reproductive isolation in the large and diverse tropical genus *Dendrobium* (Orchidaceae). *Annals of Botany* 116(3): 457-467.
- Piyatrakul, P. and P. Apavatjirut. 2004. Affect of Pod Age on Seed Germination of *Habenaria rhodocheila* Hance in Aseptic Conditions. *Journal of Agriculture* 20(3): 230-235. (in Thai)
- Pradhan, S. and B. Pant. 2009. *In vitro* seed germination in *Cymbidium elegans* Lindl. and *Dendrobium densiflorum* Lindl. ex Wall. (Orchidaceae). *Journal of Plant Science* 6: 100-102.
- Prasertsongsun, S. and S. Ma. 2009. Effect of plant growth regulator on plant tissue culture of *Dendrobium hercoglossum* Rchb.f. *Journal of Yala Rajabhat University* 4(2): 85-91. (in Thai)
- Ramesh, T., P. Renganathan and M. Prabhakaran. 2019. *In vitro* studies on *Dendrobium fimbriatum* Hk.F - An endangered orchid. *Journal of Applied and Advanced Research* 4(4): 100-103.
- Santarunai, N. 2015. Effect of Medium and Plant Growth Regulator on Development and (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) of Orchid *In vitro*. The National Conference and Research Presentation 2: 155-162. (in Thai)
- Subthira, T., S. Suntaranond and S. Bunnag. 2013. Effects of plant growth regulator on *in vitro* culture of *Dendrobium aphyllum* (Roxb.). *KKU Research Journal (Graduate Studies)* 13(1): 1-13. (in Thai)
- Supinrach, S. and I. Supinrach. 2014. Effects of IBA and NAA on Rooting for the Orchid Plantlet *Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl. 'Cartoon'. *Thai Science and Technology Journal* 22(4): 507-514. (in Thai)
- Surapha, K., K. Sareetid, M. Srinongnooch, T. Sri-in and K. Tangjitman. 2017. Effect of NAA (Naphthalene Acetic Acid) and IBA (Indolebutyric Acid) concentration on rooting of *Grammatophyllum specinocum* BL. shoot *in Vitro*. *KRU National Academic Conference* 5: 166-173. (in Thai)
- Tipchote, A. and A. Kongbangkerd. 2010. Effect of sericin on growth and development of protocorm of *Grammatophyllum speciosum* Bl. *NU International Journal of Science* 6(2): 221-229. (in Thai)
- Udomdee, W., P.J. Wen, C.Y. Lee, S.W. Chin and F.C. Chen. 2014. Effect of sucrose concentration and seed maturity on *in vitro* germination of *Dendrobium nobile* hybrids. *Plant Growth Regulation* 72(3): 249-255.

Wongnan, O. 2010. Intersectional crossability of some *Cymbidium* species. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 85 p. (in Thai)
