



รายงานการวิจัย

ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้ำว
ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Culture Media on Growth of *Dendrobium pulchellum*
Roxb. ex Lindl

นุชจรี สิงห์พันธ์
สาขาวิชาเกษตรศาสตร์
คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้ำว
ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Culture Media on Growth of *Dendrobium pulchellum*
Roxb. ex Lindl

นุชจรี สิงห์พันธ์

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม

ทุนอุดหนุนโดย มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณรายได้
ประเภทโครงการวิจัยสนับสนุนการขอผลงานทางวิชาการ
ประจำปีงบประมาณ 2562

ชื่องานวิจัย ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ
Effects of Culture Media on Growth of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex
Lindl
ผู้วิจัย ดร. นุชจรี สิงห์พันธ์
สาขาวิชา เกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสรีจวิชัย 2562

บทคัดย่อ

ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน หลังจากเมล็ดงอก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จากผลการทดลองพบว่า ต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งทั้ง 5 สูตรให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและจำนวนยอดสูงสุด ส่วนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้น จำนวนราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด จากนั้นศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ต่อการชักนำการเกิดรากพบว่า ต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากและเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เอื้องช้างน้ำ สภาพปลอดเชื้อ

Research Title Effects of Culture Media on Growth of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex
Lindl
Researcher Dr. Nootjaree Singphan
Department Agriculture
Phetchabun Rajabhat University Year 2019

Abstract

Effects of culture media and plant growth regulators on growth of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl in vitro were studied for 84 days after seed germination. The experimental design was Completely Randomized Design (CRD). The results showed that seedling of *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl cultured on 5 culture media which gave percentage of shoot formation, Number of shoots, Number of leave, and height were not significant. While, VW medium supplemented with 2 mg/L BA gave the highest percentage of shoot formation, and Number of shoots. While, VW medium supplemented with 0.5 mg/L Kinetin gave the highest of height of stem, Number of roots, and percentage of root formation, respectively.

Keywords: Plant tissue culture, *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl, *In vitro*

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำแนะนำต่างๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่าย ที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านเป็นอย่างสูง ที่ให้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำให้แก่ผู้วิจัย และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2562 ประเภทโครงการวิจัยสนับสนุนการขอผลงานทางวิชาการ (PCRU_2562_AC009) มา ณ ที่นี้ด้วย

นุชจรี สิงห์พันธ์

มิถุนายน 2562

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	2
1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ลักษณะทั่วไปของเอื้องช้างน้ำว.....	4
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.....	4
2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.....	5
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	10
3.1 วัสดุ อุปกรณ์.....	10
3.2 วิธีการทดลอง.....	11
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	13
3.4 สถานที่ดำเนินงาน.....	13
3.5 ระยะเวลาดำเนินงาน.....	14
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	15
4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้อง ช้างน้ำวในสภาพปลอดเชื้อ.....	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนนต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างนำวในสภาพปลอดเชื้อ.....	18
4.3 ศึกษาผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างนำวในสภาพปลอดเชื้อ.....	22
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	25
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	25
5.2 อภิปรายผล.....	25
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	29
บรรณานุกรม.....	30
ภาคผนวก.....	33
ประวัติผู้วิจัย.....	36

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่แตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน.....	17
4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำว เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เป็นระยะเวลา 84 วัน.....	21
4.3 จำนวนรากและเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เต็มสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA แตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน.....	23
ภาคผนวกที่ 1 องค์ประกอบของสูตรอาหาร (Murashige and Skoog, 1962).....	30
ภาคผนวกที่ 2 สูตรอาหารของ Vacin & Went (VW).....	35

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เอื้องช้างน้ำหรือเอื้องคำตาควายเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย (epiphytic orchid) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl. สีดอกสวยงามทั้งกลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีครีมขอบกลีบสีชมพู กลีบปากมีแต้มสีแดงแกมเลือดหมูที่โคนด้านในทั้งสองข้าง ดอกบานเต็มที่ กว้าง 7 เซนติเมตร พบในแถบอินเดีย เนปาล เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และไทย ตามป่าผลัดใบ หรือป่าดิบแล้ง ที่ระดับ ความสูง 200-1,500 เมตร (Avila-Daz et al, 2009, Kananont, 2009)

ปัจจุบันพบว่าเอื้องช้างน้ำมีปริมาณลดน้อยลงและเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เป็นอย่างมาก เนื่องจากการลักลอบนำเอื้องช้างน้ำออกมาจากป่าเพื่อการจำหน่าย นอกจากนี้สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการตัดไม้ทำลายป่าทำให้สูญเสียระบบนิเวศที่เหมาะสม สำหรับการออกของเมล็ดโดยธรรมชาติเมล็ดไม่มีอาหารสะสมและอัตราการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติเกิดขึ้นได้น้อยและมีความเสี่ยงสูงจากไฟป่าหรือร่วงหล่นจากต้นไม้ในฤดูแล้ง ดังนั้นการอนุรักษ์หรือเก็บรักษาพันธุ์เอื้องช้างน้ำไว้ไม่ให้สูญพันธุ์จึงจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต ทั้งทางด้านการปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์ การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์หรือการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชสามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน แต่วิธีการที่มีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีอื่นคือการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้แต่ละชนิดสามารถเพาะเลี้ยงให้เจริญได้แตกต่างกันในอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ในสภาพปลอดเชื้อ (ประศาสตร์ เกี่ยมณี, 2538) ซึ่งมีส่วนประกอบของอาหารที่แตกต่างกันตามความเหมาะสมและจำเป็นต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) หรือฮอร์โมนร่วมด้วย (บุษราภรณ์ งามปัญญา, 2548) ซึ่งกลุ่มที่นิยมใช้ได้แก่ กลุ่มออกซินและไซโตไคนิน เพิ่มกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชเกิดการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน เจริญพัฒนาเป็นรากและต้น ออกซินที่นำมาใช้ในกล้วยไม้ ได้แก่ naphthalene acetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxy acetic (2,4-D), indole-3-acetic acid (IAA) และ indole-3-butyric acid (IBA) ฯลฯ ส่วนในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ Benzyladenine (BA) หรือ Benzylaminopurine (BAP) และ 6-furfurylaminopurine (kinetin, KN) เป็นต้น อย่างไรก็ตามสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนในหลอดทดลอง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ทดสอบสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการขยายพันธุ์ต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ

เอื้องช้างน้ำ *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl ชื่อสามัญ : ช้างน้ำ เอื้องช้างน้ำ เอื้องคำตาควายเป็นกล้วยไม้ อิงอาศัย

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulating chemical : PGRC) เป็นสารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น และถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) คือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ เฉพาะบางส่วนของพืชเพื่อให้ได้พืชชนิดนั้นทั้งต้น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของเอื้องช้างน้ำ

เอื้องช้างน้ำ ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl.

ชื่อวงศ์ / วงศ์ย่อย : ORCHIDACEAE

ชื่อสามัญ : ช้างน้ำ เอื้องช้างน้ำ เอื้องคำตาควาย

ข้อมูลทั่วไป : เอื้องช้างน้ำเป็นกล้วยไม้ อิงอาศัย มีการเจริญทางช้าง เอื้องช้างน้ำมีลำลูกกล้วยทรงกระบอก ยาวเรียว ต้นอ่อนมีประสีม่วง เส้นสีม่วงตามความยาวของลำลูกกล้วย ลำลูกกล้วยยาว 1-2 เมตร แตกกอใหญ่มาก ลำแก่จะทิ้งใบ

ขนาดลำ : กล้วยไม้ลำลูกกล้วยยาวเรียว ขนาดลำยาวได้ 1.5 เมตร

ลักษณะใบ : ใบ เดี่ยว เรียงสลับ ใบรูปไข่ ยาวรี ยาว 10-15 เซนติเมตร กาบใบมีเส้นสีม่วง

ลักษณะดอก : ดอกช่อ แบบช่อกระจุก ช่อดอกเกิดที่ปลายลูกกล้วยที่แก่ แตกที่ข้อปลายสุด ช่อดอกห้อยลง ดอกแต่ละช่อมี 7-10 ดอก ขนาดดอก 7-12 เซนติเมตร ดอกนวลอมเหลืองอ่อน และมีเส้นสีชมพูเรื่อๆ กระจาย กลีบเลี้ยงรูปใบหอก กลีบในรูปไข่ ขอบกลีบดอกเรียบ กลีบปากรูปไข่แผ่ออก มีขนด้านบนของกลีบปาก มีแต้มสีเลือดหมูเข้มหรือม่วงดำ 2 แต้มด้านในของกลีบปาก ผิวกลีบทุกกลีบเป็นมัน

ระยะออกดอกและผล : ดอกบานเดือนมกราคม ถึงเดือน มีนาคม

ถิ่นกำเนิด : ภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ เลย ขอนแก่น ภาคตะวันตกได้แก่ ตาก กาญจนบุรี ภาคกลาง ได้แก่ สระบุรี อุทัยธานี ภาคใต้ ได้แก่ ตรัง กระจายพันธุ์ ที่ เนปาล ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย อัสนัม เมียนมาร์ ไทย ลาว เวียดนาม มาเลเซีย ชอบแสงแดดจัด พบอยู่บนกิ่งไม้ คบไม้ในป่าดิบแล้งหรือป่าผลัดใบ

การกระจายพันธุ์ : แยกต้น เพาะเมล็ด

ประโยชน์การใช้งาน : เป็นไม้ประดับ

วิธีปลูกเลี้ยง ช้างน้ำ

1. นำกาบมะพร้าวที่ผ่านการแช่น้ำไว้แล้วอย่างน้อย 2-3 คืน มาเตรียมไว้ ต้องแช่น้ำก่อน ถ้าไม่แช่ กล้วยไม้จะโตช้า

2. ถ้าเป็นไม้ดิบ ให้นำกาบมะพร้าวหุบให้เป็นแผ่น วางรองระหว่างขอนไม้กับ ช้างน้าวที่เตรียมปลูก กาบมะพร้าวที่ขึ้นได้ที่จะช่วยให้รากของช้างน้าวเดินไวขึ้น
3. นำไปแขวนไว้ในที่มีแสงส่องถึงอย่าร่มรำไรมากเกินไปเพราะอาจจะเน่าตายได้
4. หากปลูกในกระถาง ให้นำถ่านกลบพื้นกระถางสักครึ่งหนึ่งก่อน แล้วค่อยนำมะพร้าวสับกลบทับลงไป หลังจากนั้นใช้กาบมะพร้าววางล้อมรอบขอบกระถาง นำดินช้างน้าวที่เตรียมไว้ตั้งไว้ตรงกลาง แล้วค่อยๆ กลบรากด้วยมะพร้าวสับชั้นเล็ก
5. หากเป็นไม้เพาะเลี้ยงจากฟาร์ม ให้ใช้มะพร้าวตุ้มหุ้มราก แล้วใส่กระเช้ากลมได้เลยเมื่อรากช้างน้าวเริ่มเดินดี ควรเริ่มขยับช้างน้าวให้ได้แสงมากขึ้น แสงจะเป็นปัจจัยช่วยให้ช้างน้าวมีดอกตามฤดูกาล และเพื่อที่จะได้เห็นดอกของช้างน้าวอย่างสมบูรณ์ที่สุด เราควรหมั่นพ่นปุ๋ยเกล็ดอย่างสม่ำเสมอ เรามักใช้สูตรปุ๋ยเสมอเช่น 21-21-21 เป็นต้น ระวังอย่ารดน้ำตอนสายมากเพราะน้ำที่ไปขังตามกาบใบอาจทำให้ ช้างน้าวเน่าได้ ยอดใหม่ของช้างน้าวค่อนข้างบอบบาง ให้พึงระวังเป็นอย่างยิ่ง หากรดน้ำสายและน้ำไปขังในยอดใหม่ เมื่อแสงแดดจัดๆ อาจทำให้ยอดเน่าได้

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหมายถึง การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชที่ยังมีชีวิตอยู่ ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือ โปรโทพลาสต์มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ พร้อมทั้งมีการควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง และระยะเวลารับแสงต่อวัน ให้เหมาะสมต่อการพัฒนาไปเป็นต้นพืชในอนาคต โดยมีหลักการในการเพาะเลี้ยงคือ ต้องปฏิบัติในสภาวะที่ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิด ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงต้องทำความสะอาดมาเรียบร้อยแล้ว เมื่อชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชถูกนำมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ที่มีการเติมแร่ธาตุ วิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโต และน้ำตาล ชิ้นส่วนเหล่านั้นจะมีการพัฒนาไปเป็นต้นพืชโดยตรง หรืออาจพัฒนาไปเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เรียกว่า “แคลลัส” หรืออาจเกิดเป็นคัพภะที่เรียกว่า “somatic embryo” และหากมีการตัดแบ่งเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วเพาะเลี้ยงต่อไป ก็สามารถเพิ่มปริมาณได้มาก โดยเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องได้ต้นพืชที่สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ตามปกติ (อรดี สหวัชรินทร์, 2542)

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators)

ปกติเนื้อเยื่อพืชจะสร้างฮอร์โมนขึ้นมาเองตามธรรมชาติแม้ว่า จะมีในปริมาณเล็กน้อยแต่ก็สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตจนพัฒนาเป็นส่วนต่างๆ ของพืชได้ต่อมาได้มีการสังเคราะห์สารที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืชขึ้นมา เรียกว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulator) และสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ สารในกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน (แสงจันทร์ เตียมธรรมชาติ, 2547)

1. ออกซิน (Auxin) ในธรรมชาติฮอร์โมนกลุ่มนี้เกี่ยวข้องกับการยืดของลำต้นและปล้อง การโค้งเข้าหาสิ่งเร้า (tropism) การยับยั้งการเจริญของตาข้าง (apical dominance) การหลุดร่วงของใบ ดอกละผลการเกิดรากเป็นต้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้นำเอาออกซินไปใช้ในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดรากออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีดังต่อไปนี้

IAA	indole-3 acetic acid
IBA	indole-3 butyric acid
NAA	naphthalene acetic acid
NOA	naphthoxy acetic acid
p-CPA	para-chlorophenoxy acetic acid
2,4-D	2,4-dichlorophenoxy acetic acid
2,4,5-T	2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid

อย่างไรก็ตาม ออกซินที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ IAA IBA และ NAA เพื่อกระตุ้น ให้เกิดราก (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีการใช้ IAA และ NAA ในความเข้มข้นที่ต่ำ โดยการใช้ ออกซิน ความเข้มข้นสูงมักจะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช เช่น ใบร่วงและต้นชะงักการเจริญเติบโตจนอาจตายได้ ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

2. ไซโตไคนิน (Cytokinin) ฮอร์โมนกลุ่มนี้มีผลกระตุ้น ให้พืชเจริญเติบโต ส่งเสริมการแบ่งเซลล์กระตุ้นการเกิดยอดขณะที่ยับยั้งการเกิดรากและกระตุ้น ให้เกิดแคลลัส ไซโตไคนินชนิดที่นิยมส่วนใหญ่ใช้มีดังต่อไปนี้

BA	6-benzyladenin
----	----------------

BAP	6-benzylaminopurine
Kinetin	6-furfurylaminopurine
TDZ	N-phenyl-N'-1,2,3-thiadiazol-5-yl urea (thidiazuron)

สูตรอาหารสังเคราะห์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สามารถใช้อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ได้หลายสูตร เช่น สูตร Vacin – Went (VW) สูตร Murashige and skoog (MS) สูตร Thomale และสูตร Knudson C เป็นต้น โดยสูตรอาหารดังกล่าวข้างต้นมีความเหมาะสมต่อชนิดของกล้วยไม้แตกต่างกันไป

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และคณะ (2557) การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำยอดพรมมิโดยการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อส่วนข้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA (0 0.1 0.2 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีจำนวนยอด พรมมิได้สูงสุด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA (0 0.1 0.2 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิด รากสูงสุด คือ 7.9 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนพรมมิบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด ส่วนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของยอด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากสูงสุดอยู่ที่ 18.3-24.3 ราก

สุมิตร สุป็นราช และคณะ (2557) เอื้องผึ้ง (*D. lindleyi* Steud.) เป็นกล้วยไม้สกุลหวายที่ออกดอกในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนเมษายน มีดอกสีเหลืองสดใส มีความสวยงามเหมาะสำหรับเป็นไม้กระถาง การทดลองนี้ทำการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร Vacin and Went (VW) อายุ 8 สัปดาห์ มาเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติมสารควบคุมการเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส

ความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนราก จำนวนใบ จำนวนหน่อ และน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นสูงสุดคือ 20.4 ราก 20.7 ใบ 1.37 หน่อ และ 1 กรัม ตามลำดับ ขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงหน่อเฉลี่ยมากที่สุด คือ 2.11 เซนติเมตร ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวใบเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.45 เซนติเมตร และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดต่อรากคือ 2.08 เซนติเมตร

ยงศักดิ์ ขจรนดุงกิตติ และคณะ (2558) ใบจริงของต้นอ่อนแก้วมังกรที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้ออายุ 8 สัปดาห์ ตัดแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนปลายใบทั้งส่วนกลางใบแท้และส่วนโคนใบทั้งรวมทั้งส่วนไฮโปคอติล โดยนำแต่ละส่วนมา เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA หรือ IAA เข้มข้น 0-5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิด ยอดและราก และ 2,4-D ความเข้มข้น 0-5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส จากการศึกษพบว่า IAA ความเข้มข้น 0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีกว่า BA และส่วนไฮโปคอติลมียอดโผล่อก ออกมามากที่สุด เฉลี่ย 1.2 และ 1.06 ยอด ความยาวยอดเฉลี่ย 0.8 และ 0.6 เซนติเมตร ตามลำดับ และสามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 3.6 และ 2.8 ราก ความยาวรากเฉลี่ย 5.2 และ 3.2 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วน 2,4-D เข้มข้นต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนกลางใบแท้ได้

สุภาวดี รามสูตร และคณะ (2558) เมล็ดกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋ापิด (*Aerides odorata*) อายุ 6 - 7 เดือน มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962), อาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง ($\frac{1}{2}$ MS) และ อาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ภายใต้สภาพให้แสง อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า อาหารสูตร MS ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS (46.67 เปอร์เซ็นต์) และ อาหารสูตร VW (30 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับการชักนำการสร้างโปรโตคอร์ม พบว่า อาหารสูตร MS ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างโปรโตคอร์มสูงสุด 25.33 ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 8.70 มิลลิเมตร แตกต่าง ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และให้

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 25.57 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.03 ยอดต่อโปรโตคอร์ม สำหรับการชักนำราก พบว่า อาหารสูตร VW ให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5.17 รากต่อโปรโตคอร์ม ความยาวรากเฉลี่ย 5.80 มิลลิเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังนั้น การศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์กรรมของกล้วยไม้กุหลาบกระเป๋า ปิดต่อไป

อารยา อาจเจริญเทียนหอม และคณะ (2558) เอื้องช้างน้ำว เดิมเคยพบในพื้นที่ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี แต่ปัจจุบันมีจำนวนลดลง จึงเลือกใช้ วิธีการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนต้นกล้วยไม้สายพันธุ์นี้ให้มากขึ้นโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทั้งหมด 5 ทรีตเมนต์ๆ ละ 10 ขั้ว บันทึกผลการทดลองทุกๆ 14 วัน รวมเป็นเวลา 42 วัน และจากการศึกษาพบว่า สูตรอาหาร MS มีการเจริญเติบโตของยอดดีที่สุดโดยมีจำนวนใบของต้น อ่อนมากที่สุด (6 ใบ) ขนาดความสูงเฉลี่ยของต้นสูง ที่สุด (2.51 เซนติเมตร) อีกทั้งยังทำให้ช้างน้ำว แตกหน่อได้มากที่สุด นอกจากนี้ยังศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก พบว่าสูตร อาหาร 1/2 MS มีการเจริญเติบโตของรากดีที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 13 ราก และความ ยาว รากมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 1.20 เซนติเมตร

ฐิติพร พิทยาอุธวิจิ และคณะ (2559) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ กล้วยไม้ป่าที่พบในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพ รัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จำนวน 4 ชนิด คือ เขาแพะ (*Cleisostoma arietinum* (Rchb.f.) Garay) เอื้องศรีสมร (*Cleisostoma simondii* (Gagnep.) Seidenf.) เอื้องดอกมะขาม ลำสั่น (*D. delacourii* Guillemin) และหนดพราหมณ์ (*Seidenfadenia mitrata* (Rchb.f.) Garay) พบว่า อาหารสูตร 1/2 VM (VW+MS) ที่เติมมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร กล้วยหอม 50 กรัมต่อ ลิตร และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลดีกว่าอาหารอีก 3 สูตรที่ทำการทดลอง ในระยะโปรโต คอร์มของเอื้องศรีสมร และต่อการเจริญเติบโตของลำต้นกล้วยไม้ทั้ง 4 ชนิด

วุฒิชัย ฤทธิ และคณะ (2560) การศึกษาเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องกาบดอก (*Pholidota imbricata* Lindl.) บนอาหารที่แตกต่างกัน ได้แก่ MS, 1/2MS, VW และ 1/2VW เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร 1/2VW ชักนำการเกิดยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.68 ยอดต่อต้น เกิดยอดสูงสุด 47.5 เปอร์เซ็นต์ มีใบเฉลี่ยมากที่สุด 5.18 ใบต่อต้น และมีจำนวนรากเฉลี่ยดีที่สุด 7.60 รากต่อต้น เกิด รากสูง 100 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงมีความสูงต้นเฉลี่ยมากที่สุด 3.81 เซนติเมตร และการเลี้ยงต้นอ่อน เอื้องกาบดอกบนอาหาร 1/2VW ที่เติมไซโทไคนิน ได้แก่ BA kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร 1/2VW ที่เติม TDZ ความ

เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดลำลูกกล้วยสูงที่สุด 30 เปอร์เซ็นต์ มียอดเฉลี่ยสูง 1.68 ยอดต่อดัน เกิดยอดสูง 60 เปอร์เซ็นต์ และมีใบเฉลี่ยสูง 4.25 ใบต่อดัน ขณะที่การเลี้ยงต้นอ่อนเนื่องกาบดกบนอาหาร $\frac{1}{2}$ VW ที่เติมออกซิน ได้แก่ NAA IAA และ IBA ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร $\frac{1}{2}$ VW ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มียอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.63 ยอดต่อดัน เกิดยอดสูงสุด 32.5 เปอร์เซ็นต์ และมีใบเฉลี่ยมากที่สุด 6.55 ใบต่อดัน

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์การทดลอง

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

- ขวดขนาด 4 ออนซ์พร้อมฝาปิด
- บีกเกอร์ขนาด 25 500 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร
- ปีเปตขนาด 10 มิลลิลิตร
- ลูกยางสามทาง
- เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (micropipette) ขนาด P100 (10-100 ไมโครลิตร)
พร้อม tip นึ่งฆ่าเชื้อ
- ช้อนตักสาร
- แท่งแก้วคนสาร
- กระดาษหิซชู
- เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เครื่องกวนสาร
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
- ตู้อบไมโครเวฟ (Microwave)
- ตู้เย็น
- เวอร์เนียร์คาลิเปอร์
- ไม้บรรทัด
- กล้องถ่ายรูป
- ฟิวเจอร์บอร์ด

3.1.2. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ตู้ย้ายเนื้อเยื่อพืช
- คีมมีดใบมีดผ่าตัดและปากคีบ (Forceps)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ขวดสำหรับใส่แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
- จานเพาะเลี้ยง
- ตะแกรงสแตนเลส (Test Tube Rack)
- ผ้าสำหรับทำความสะอาด
- ไฟแช็ค
- กระบอกฉีดน้ำ สำหรับใส่แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

3.1.3. สารเคมีและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

- สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารสังเคราะห์สูตร MS VW
- น้ำตาลซูโครส
- ผงวุ้น (agar) - น้ำกลั่น
- สารเคมีใช้ในการปรับความเป็นกรด-ด่าง(pH) ได้แก่ NaOH และ HCl ที่ความเข้มข้น 0.5 N และ 1 N
- สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BAP (6-benzyl amino purine), Kinetin และกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA (Naphthalene acetic acid)

3.2 วิธีการทดลอง

การทดลองที่1 ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 8 เดือน ความสูง 1 เซนติเมตร มีใบ 2 ใบ ตัดรากออกทุกต้น ย้ายเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่แตกต่างกัน ดังนี้

สูตรที่ 1 MS (Murashige and Skoog, 1962) เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.7

สูตรที่ 2 ½MS (ลดสัดส่วนสารลงครึ่งหนึ่ง) เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตรปรับ pH 5.7

สูตรที่ 3 VW (Vacin and Went, 1949) น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.2

สูตรที่ 4 ½VW (Vacin and Went, 1949) (ลดสัดส่วนลงครึ่งหนึ่ง) เติมน้ำมะพร้าว 75 มิลลิลิตรต่อลิตร กลัวยหอมสุก 25 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.2

สูตรที่ 5 VW+ (Vacin and Went, 1949) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กลัวยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.2

อาหารทุกสูตรเติมผงถ่าน(activated charcoal) 1 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 10 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มแบบสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) ทั้งหมด 5 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำๆ ละ 5 ขวด บันทึกผลการทดลองทุกๆ 14 วัน เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน

การบันทึกข้อมูล โดยเก็บข้อมูลดังต่อไปนี้ คือ

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด : $\frac{\text{จำนวนเนื้อเยื่อที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนเนื้อเยื่อทั้งหมด}} \times 100$
2. จำนวนยอด : มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตรนับเป็น 1 ยอด
3. จำนวนใบ : มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตรนับเป็น 1 ใบ
4. ความสูง : วัดจากโคนต้นถึงปลายยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน
5. การเกิดราก : เมื่อรากมีการเจริญออกมาจากลำต้นประมาณ 1 เซนติเมตรนับเป็น 1 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน
6. เปอร์เซ็นต์การเกิดราก : $\frac{\text{จำนวนเนื้อเยื่อที่เกิดราก}}{\text{จำนวนเนื้อเยื่อทั้งหมด}} \times 100$

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีการเตรียมต้นอ่อน การเติมผงถ่าน การเติมผงวุ้น วิธีการเพาะเลี้ยง การวางแผนการทดลอง ระยะเวลาบันทึกข้อมูล ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่ย้ายต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำลงในอาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went, 1949) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กลัวยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.2 ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ได้แก่ BA (6-benzyladenine) ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อ

การบันทึกข้อมูล ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดลำลูกกล้วยเพิ่มเติมมา จำนวนลำลูกกล้วยที่งอกใน 1 ช้า มาคูณ 100 แล้วหารด้วยจำนวนต้นทั้งหมดในช้านั้น

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีการเตรียมต้น การเติมผงถ่าน การเติมผงวุ้น วิธีการเพาะเลี้ยง การวางแผนการทดลอง ระยะเวลาบันทึกข้อมูล และการบันทึกข้อมูล ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 แต่ย้ายต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำลงในอาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went, 1949) ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ได้แก่ NAA (1-Naphthaleneacetic acid) ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนสถิติ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3.4 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง 21 มกราคม 2561 และเสร็จสิ้นการทดลองเมื่อ 25 เมษายน 2561

3.5 สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาคารปฏิบัติการทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำที่ได้จากการเพาะเมล็ด มีความสูง 1 เซนติเมตร มีใบจริง 2 ใบ ไม่มีราก เพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งมีองค์ประกอบของธาตุอาหารแตกต่างกัน จำนวน 5 สูตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน พบว่า อาหารแข็งทั้ง 5 สูตรให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่อาหารแข็งสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากต่อต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 46.67 ± 30.55 เปอร์เซ็นต์ และ 2.40 ± 1.11 รากต่อต้นตามลำดับ รองลงมาคืออาหารสูตร $\frac{1}{2}$ VW เติมน้ำมะพร้าว 75 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 25 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากต่อต้นเท่ากับ 26.67 ± 30.55 เปอร์เซ็นต์ และ 2.33 ± 2.14 รากต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1, ภาพที่ 4.1)

การศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำ โดยนำต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งมีองค์ประกอบและระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารแตกต่างกัน 5 สูตร ให้ผลการทดลองดังนี้ การเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 84 วัน พบว่าอาหารสูตรอาหาร MS มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงต้นสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุภาวดี รามสูตร และคณะ (2558) ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋ापิดในหลอดทดลอง ในอาหารสูตร MS ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากสูตรอาหารเพาะเลี้ยงดังกล่าวมีแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้ สำหรับ อารยา อาจเจริญเทียนหอม และคณะ (2558) ศึกษาการขยายพันธุ์เอื้องช้างน้ำด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย ความสูงต้น การแตกหน่อได้ดีที่สุด คาดว่าเป็นผลมาจากพืชที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีปริมาณออกซิน และไซโตไคนิน ที่เกิดจากพืชสร้างเองในสัดส่วนที่เหมาะสมมากกว่าอาหารที่มีการเติมสารในกลุ่มไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว ซึ่งสารทั้งสองกลุ่มนี้มีผลส่งเสริมซึ่งกันและกัน ในเรื่องการแบ่งเซลล์ และการ

พัฒนาของเนื้อเยื่อ ดังนั้นจึงมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน ในการชักนำและพัฒนาของกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำว

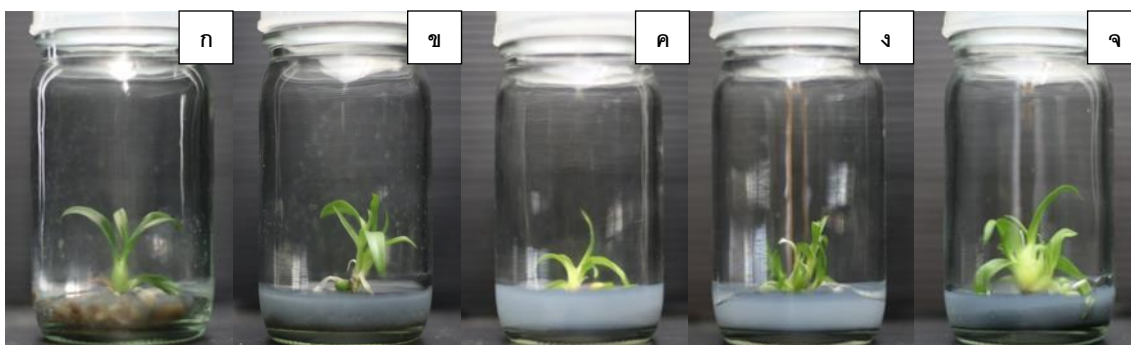
ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวเมื่อเพาะเลี้ยงบน
สูตรอาหารที่แตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์ การเกิดยอด (%)	จำนวนยอด (ยอด)	จำนวนใบ (ใบ)	ความสูงต้น (มม.)	เปอร์เซ็นต์ การเกิดราก (%)	จำนวนราก (ราก)
1	62.67±15.14	3.13±0.76	1.93±0.57	15.10±3.90	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
2	46.67±33.55	2.33±1.68	1.17±1.02	12.13±8.06	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
3	46.67±30.29	2.20±1.44	1.27±0.25	14.23±6.10	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
4	18.67±18.04	0.93±0.90	0.40±0.36	9.93±9.40	26.67±30.55 ^{ab}	2.33±2.14 ^a
5	22.67±22.74	1.13±1.14	1.60±0.72	11.73±6.50	46.67±30.55 ^a	2.40±1.11 ^a
	ns	ns	ns	ns	*	*

หมายเหตุ

สูตรอาหาร 1: MS (Murashige and Skoog, 1962), 2: ½MS, 3: VW (Vacin and Went, 1949), 4: ½VW+75 mg/L coconut water+25 g/L banana+25 g/L potato, 5: VW+ 150 mg/L coconut water+ 50 g/L banana+ 50 g/L potato

ค่าเฉลี่ย±SD ในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ DMRT (n=3)



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะต้นของเอื้องช้างน้ำวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 84 วัน ก : อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962), ข : อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS, ค : อาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ง : อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ VW เติมน้ำมะพร้าว 75 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 25 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร จ : อาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

4.2 ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่า ต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวเพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุดเท่ากับ 69.33 ± 15.14 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารแข็งสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอด จำนวนใบ และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด คือ 2.87 ± 1.36 ยอด 3.33 ± 0.55 ใบ และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 86.67 ± 11.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้จำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 14.07 ± 2.42 ส่วนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ความสูงต้นสูงสุด เท่ากับ 32.77 ± 9.05 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2, ภาพที่ 4.2)

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องช้างน้ำวในอาหารสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร มีการเกิดราก เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

มากที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากในน้ำมะพร้าวมีส่วนประกอบคล้ายกับสารในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยให้การพัฒนาของต้นอ่อนดีขึ้น (วิวัฒน์ วุฒพันธ์ไชย, 2538) ส่วนในมันฝรั่งมีคาร์โบไฮเดรต และสารพอลิเอมีน (polyamine) ซึ่งมีคุณสมบัติป้องกันการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ ทำให้เพิ่มการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนในพืช (สกุณา พาแก้ว, 2538) และในกล้วยหอมมีส่วนประกอบของสารไบโอติน วิตามิน และธาตุอาหารหลายตัวที่สำคัญที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ในการพัฒนาราก และการเจริญเติบโตของต้น (จิตรภาพรณ พิลิก, 2536) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วุฒิชัย ฤทธิ และคณะ (2560) ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก พบว่า อาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่าอาหาร MS

สำหรับการศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ อาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด มีจำนวนยอดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พันธิตรา กลม และคณะ (2012) ได้ทดลองการเพาะเลี้ยงขมิ้นขาวในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด แตกต่างกับ อาชีเยาะห์ คาเร และคณะ (2557) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้หางช้างในสภาพปลอดเชื้อ ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร VW ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด อาหารสูตร VW ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสูงต้น จำนวนราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และคณะ (2558) ศึกษาอิทธิพลของ BA IAA 2,4-D และ Kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากส่วนของไฮโปคอติลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า Kinetin มีผลต่อการเจริญเติบโตคือมีการเพิ่มขึ้นของราก ลำต้นและยอดมากกว่า BA จากรายงานของ Richard and Gonzales (1994) กล่าวว่าสารในกลุ่มไซโตไคนินมีผลในการส่งเสริมหรือยับยั้งการพัฒนาของรากได้ คือ เมื่อเลี้ยงต้นพืชบนอาหารที่เติมไซโตไคนินในปริมาณต่ำ จะส่งผลให้เกิดการพัฒนาของราก แต่เมื่อเลี้ยงต้นพืชบนอาหารที่เติมไซโตไคนินในปริมาณสูงจะ

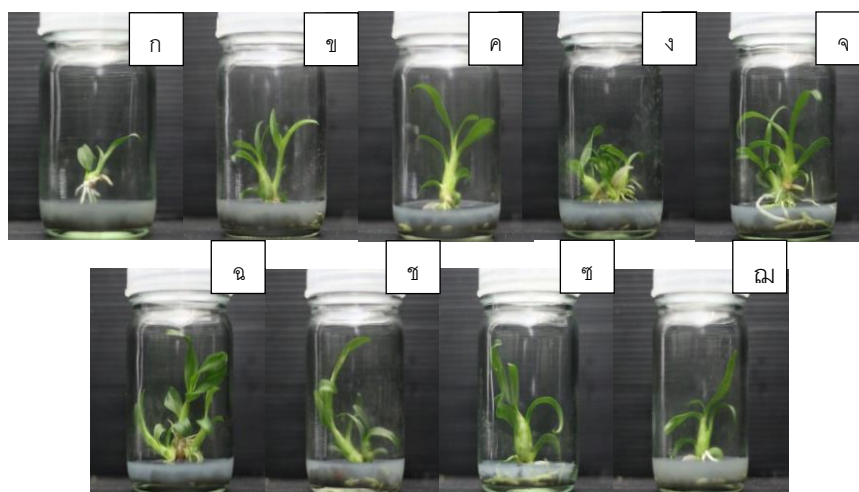
ส่งผลในการยับยั้งการพัฒนาราก และอาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อ
ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดลำลูกกล้วยมากที่สุด

ตารางที่ 4.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำว เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เป็นระยะเวลา 84 วัน

ระดับความเข้มข้น (mg/L)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด (%)	จำนวนยอด (ยอด)	จำนวนใบ (ใบ)	ความสูงต้น (มม.)	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (%)	จำนวนราก (ราก)
BA 0 (control)	40.00±18.33	1.80±0.87	3.10±0.72	23.70±4.07	80.00±0.00	6.73±3.74 ^{bc}
0.5	38.67±25.72	1.20±0.53	1.70±0.17	14.50±3.63	53.33±11.55	5.20±2.08 ^c
1.0	69.33±15.14	2.60±0.40	2.67±1.27	24.07±6.06	66.67±11.55	8.47±1.22 ^{abc}
1.5	41.33±6.11	1.93±0.12	2.60±1.25	20.00±8.40	60.00±20.00	9.47±1.03 ^{abc}
2.0	66.67±43.14	2.87±1.36	3.33±0.55	29.53±7.58	86.67±11.55	11.87±5.27 ^{ab}
kinetin 0.5	57.33±10.07	2.67±0.70	3.20±0.70	36.47±8.06	86.67±11.55	14.07±2.42 ^a
1.0	41.33±20.13	2.00±1.00	3.03±0.91	27.83±11.92	80.00±20.00	9.60±5.17 ^{abc}
1.5	25.33±12.86	1.27±0.64	3.53±0.32	32.77±9.05	80.00±20.00	12.93±1.60 ^a
2.0	42.67±19.73	1.93±0.90	2.93±0.60	24.30±3.60	80.00±20.00	11.00±1.11 ^{abc}
	ns	ns	ns	ns	ns	*

หมายเหตุ

ค่าเฉลี่ย±SD ในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ DMRT (n=3)



ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะต้นเอื้องช้างน้ำว เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 84 วัน
 ก. VW0(ชุดควบคุม) ข. เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ค. เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
 ฉ. เติม BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จ. เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ฉ. เติม Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
 ช. เติม Kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซ. เติม Kinetin 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ฅ. เติม Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.3 ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวในสภาพปลอดเชื้อ

ต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went, 1949) ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (1-Naphthaleneacetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ พบว่า อาหารแข็งสูตร VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 18.00 ± 2.62 ราก ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จากการทดลองพบว่า อาหารแข็งสูตร VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด คือ 86.67 ± 23.09 ราก ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 4.3, ภาพที่ 4.3)

การศึกษาผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำว โดยการนำต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 จากการทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำว ในอาหารสูตร VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดราก และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด ทั้งนี้พบว่าเมื่อความเข้มข้น

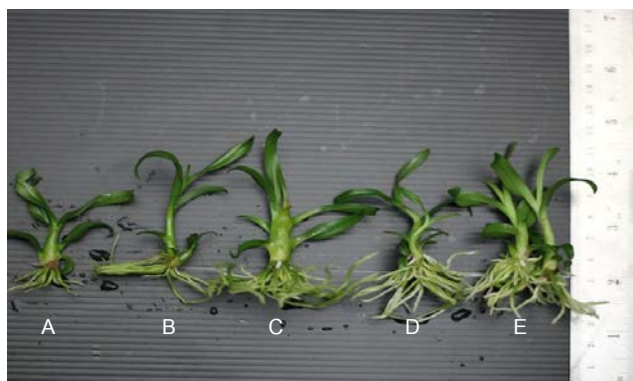
ของออกซิน เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเกิดยอดและจำนวนรากลดลง เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน มีคุณสมบัติกระตุ้นการเกิดราก การแบ่งเซลล์และยืดตัวของเซลล์ แต่การใช้ในปริมาณที่สูงมากเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (Hossain et al, 2010; Razdan, 2002) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และคณะ (2557) ศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด

ตารางที่ 4.3 จำนวนรากและเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA แตกต่างกันในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน

ความเข้มข้น (mg/l)	จำนวนราก (ราก)	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (ราก)
0	14.93±7.76	80.00±20.00
0.5	8.67±3.91	66.67±30.55
1.0	13.93±4.47	66.67±11.55
1.5	18.00±2.62	86.67±23.09
2.0	13.07±5.28	73.33±11.55

หมายเหตุ

-ns = ไม่มีความแตกต่างกัน * ค่าเฉลี่ย ± SD ในแนวตั้งกับอักษรเหมือนกันให้ผลแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดย DMRT (n=3)



ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะการเกิดรากของเชื้อข้านาวเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้นต่างกันเป็นระยะเวลา 84 วัน



ภาพที่ 4.4 การนำต้นเชื้อข้านาวเพาะเลี้ยง เป็นระยะเวลา 84 วัน ออกปลูก

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตร MS เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำเพื่ออนุรักษ์พันธุ์กรรมในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งให้จำนวนเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงสูงสุด ที่ระยะเวลา 84 วัน

จากการศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและจำนวนยอดสูงสุด และอาหารสูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูง จำนวนราก เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด ที่ระยะเวลา 84 วัน

จากการศึกษาผลของ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตของรากต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำ ที่ระยะเวลา 84 วัน โดยไม่มีการย้ายหรือเปลี่ยนอาหารใหม่

5.2 อภิปรายผล

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร ซึ่งมีองค์ประกอบและระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารแตกต่างกัน 5 สูตรคือ สูตรที่ 1 : MS (Murashige and Skoog, 1962) สูตรที่ 2 : $\frac{1}{2}$ MS สูตรที่ 3 : VW (Vacin and Went, 1949) สูตรที่ 4 : $\frac{1}{2}$ VW เติมน้ำมะพร้าว 75 มิลลิกรัมต่อลิตร กล้วยหอมสุก 25 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร สูตรที่ 5 : VW (Vacin and Went, 1949) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำเป็นระยะเวลา 84 วัน สูตรอาหารที่ 1 : MS มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุดคือ 62.67 ± 15.14

รองลงมาคือ สูตรอาหารที่ 3 2 5 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุภาวดี รามสูตร และคณะ (2558) ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกัลวี่ไม้เอื้องกุหลาบ กระเป๋าดัดในหลอดทดลอง พบว่าอาหารสูตร MS ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุด ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จำนวนยอด จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน สูตรอาหารที่ 1: MS มีจำนวนยอดสูงที่สุดคือ 3.13 ± 0.76 รองลงมาคือ สูตรอาหารที่ 3 2 5 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อารยา อาจเจริญเทียนหอม และคณะ (2558) ศึกษาการขยายพันธุ์เอื้องช้างน้ำวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าสูตรอาหาร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จำนวนใบ จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน สูตรอาหารที่ 1: MS มีจำนวนใบมากที่สุดคือ 1.93 ± 0.57 รองลงมาคือ สูตรอาหารที่ 5 3 2 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ความสูง จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน สูตรอาหารที่ 1: MS มีความสูงสูงที่สุดคือ 15.10 ± 3.90 มิลลิเมตร รองลงมาคือ สูตรอาหารที่ 3 2 5 และ 4 ตามลำดับ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

การเกิดราก จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน สูตรอาหารที่ 5 : VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร มีการเกิดรากมากที่สุดคือ 2.40 ± 1.11 ราก รองลงมาคือ สูตรอาหารที่ 4 3 2 และ 1 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วุฒิชัย ฤทธิ และคณะ (2560) ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก พบว่าอาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่าอาหาร MS มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน สูตรอาหารที่ 5 : VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุดคือ 46.67 ± 30.55 ราก รองลงมาคือ สูตรอาหารที่ 4 3 2 และ 1 ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำวในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนเอื้องช้างน้ำที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (6-benzyladenine) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุดคือ 66.67 ± 43.14 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อาหารสูตร VW ที่เติม Kn ความเข้มข้น 0.5 Kn 2.0 Kn 1.0 BA 1.5 VW0 (ชุดควบคุม) BA 0.5 และ Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

การเกิดยอด จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุดคือ 2.87 ± 1.36 ยอด รองลงมาคือ อาหารสูตร VW ที่เติม Kn ความเข้มข้น 0.5 BA 1.0 Kn 1.0 Kn 2.0 BA 1.5 VW0 (ชุดควบคุม) Kn 1.5 และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิฑิตมา และคณะ (2551) ซึ่งได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้อใบเลี้ยงของสร้อยสยาม และพบว่า BA สามารถกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณยอดได้ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จำนวนใบ จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุดคือ 3.53 ± 0.32 ใบ รองลงมาคือ อาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 Kn 0.5 VW0 (ชุดควบคุม) Kn 1.0 Kn 2.0 BA 1.0 BA 1.5 และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ความสูง จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงสูงที่สุดคือ 36.47 ± 8.06 มิลลิเมตร รองลงมาคือ อาหารสูตร VW ที่เติม Kn ความเข้มข้น 1.5 BA 2.0 Kn 1.0 Kn 2.0 BA 1.0 VW0 (ชุดควบคุม) BA 1.5 และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

การเกิดราก จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้ำเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากมากที่สุดคือ 14.07 ± 2.42 ราก รองลงมาคือ อาหารสูตร VW ที่เติม Kn ความเข้มข้น 1.5 BA 2.0 Kn 2.0 Kn 1.0

BA 1.5 BA 1.0 VW0(ชุดควบคุม) และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และคณะ (2558) ศึกษาอิทธิพลของ BA, IAA, 2,4-D และ Kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากไฮโปคอติลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า Kinetin มีผลต่อการเจริญเติบโตคือมีการเพิ่มขึ้นของราก ลำต้นและยอดมากกว่า BA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุดคือ 86.67 ± 11.55 ราก รองลงมาคือ อาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 Kn 2.0 Kn 1.5 Kn 1.0 VW0(ชุดควบคุม) BA 1.0 BA 1.5 และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

เปอร์เซ็นต์การเกิดลำลูกกล้วย จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดลำลูกกล้วยมากที่สุดคือ 56.00 ± 14.42 ราก รองลงมาคือ อาหารสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 Kn 0.5 BA 1.5 BA 0.5 Kn 2.0 Kn 1.0 VW0(ชุดควบคุม) และ Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเนื้อเยื่อข้างน้ำวในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนเนื้อเยื่อข้างน้ำวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went, 1949) ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (1-Naphthaleneacetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเกิดราก จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วัน อาหารสูตร : VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากมากที่สุดคือ 18.00 ± 2.62 ราก รองลงมาคือ อาหารสูตร VW0(ชุดควบคุม) VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และคณะ (2557) ศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จากการทดลองพบว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อข้างน้ำวเป็นระยะเวลา 84 วันอาหารสูตร : VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุดคือ 86.67 ± 23.09 ราก รองลงมาคือ อาหารสูตร VW0 (ชุดควบคุม) VW ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 1.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ในการศึกษาครั้งต่อไปควรศึกษาที่ละการทดลอง

5.3.2 ในการศึกษาครั้งต่อไปควรเพิ่มระยะเวลาเพื่อทดลองการทดลองต่อไป

บรรณานุกรม

- จิตรพรพรรณ พิลึก. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 82 น.
- ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์. 2554. เชื้อช้างน้ำว. แหล่งที่มา: http://www.qsbg.org/Database/Botanic_Book, 10 พฤศจิกายน 2561.
- ฐิติพร พิทยาวิจิตร และ วิไลลักษณ์ ชินะจิต. 2559. ผลของสูตรอาหารต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้ป่าบางชนิดในสภาพปลอดเชื้อ. แหล่งที่มา: <http://www.ag2.kku.ac.th>, 8 พฤศจิกายน 2561.
- ประศาสตร์ เกี่ยมณี. 2558. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. แหล่งที่มา: <http://www.aopdtos.doae.go.th>, 6 พฤศจิกายน 2561.
- พนิตรา กมล อรุณยานี บุญประมุข และ อนุพันธุ์ กงบังเกิด. 2012. ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงขมิ้นขาว (*Curcuma manga* Valetton & Zijp.). วารสารพฤกษศาสตร์ไทย. 4 (ฉบับพิเศษ): 87-92.
- ยงค์ศักดิ์ ขจรดวงกิตติ และ อัญชลี จาละ. 2557. อิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. แหล่งที่มา: <http://www.tci-thaijo.org/index.php>, 8 พฤศจิกายน 2561.
- ยงค์ศักดิ์ ขจรดวงกิตติ และ อัญชลี จาละ. 2558. อิทธิพลของ BA, IAA, 2,4-D และ Kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากไฮโปคอติลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ. แหล่งที่มา: <http://www.tci-thaijo.org/index.php>, 8 พฤศจิกายน 2561.
- ลลิตา อุดธา. 2560. อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำการเกิดยอดและรากของกล้วยหินในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- วิวัฒน์ วุฒพันธ์ไชย. 2529. ผลของอายุผัก การเติมมันฝรั่ง น้ำมะพร้าวอ่อน และถ่านในอาหารสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้เหลืองปรีดิ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วุฒิชัย ฤทธิ, บุญสนอง ช่วยแก้ว และ จารุวรรณ สุวรรณวงศ์. 2560. ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 22: 55-63.

- ศรธรรม พงษ์สีดา. 2558. เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันมือเสือ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- สกุณา พาแก้ว. 2538. การศึกษาอายุผักและสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดรองเท้านารีเหลืองปราจีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สายพิณ วงตาดี. 2560. สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แคทลียาในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- สุภาวดี รามสูตร, ปรีดา บุญเวศน์ และ วรียา นวลนุช. 2558. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป่าปิดในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2(4): 11-14.
- สุมิตร สุป็นราช และ อิศร์ สุป็นราช. 2557. ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ. แหล่งที่มา: <http://www.science.buu.ac.th>, 8 พฤศจิกายน 2561.
- แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ. 2547. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. แหล่งที่มา: <http://www.tujournals.tu.ac.th>, 6 พฤศจิกายน 2561.
- อาชีเยาะห์ คาแรง นูรียานี ยามา และสุภาวดี รามสูตร. 2557. ประสิทธิภาพของ BA และ NAA ต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้หางช้างในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 1(2), X1-X4 In press.
- อารยา อาจเจริญ เทียนหอม ชีรภรณ์ ตุ่มน้อย ปรัชญา เติวยะ และ วิทยา แก้วศรี. 2558. การขยายพันธุ์เอื้องช้างน้ำด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. แหล่งที่มา: <http://www.crdc.kmutt.ac.th>, 6 พฤศจิกายน 2561.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2542. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. แหล่งที่มา: <http://www.kukr.lib.ku.ac.th>, 6 พฤศจิกายน 2561.
- ออร์คิดทropical.คอม. 2544. เอื้องช้างน้ำ *Dendrobium pulchellum*. แหล่งที่มา: <http://www.orchidtropical.com>. 10 พฤศจิกายน 2561.
- Euwans, C. J. 1976. Mineral requirement for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palm (*Cocos nucifera* Linn.) and cultured *in vitro*. *Physiol. Plant.* 36 : 23-28.

- Hossain, M.M., Sharma, M, da Silva, J.A.T., Pathak, P. 2010. Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. Scientia Horticulturae, 123, 479-487.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
- Razdan, M.K. 2002. Introduction to plant tissue culture. (2nd ed.) USA: Science Publishers.
- Richard, A.D. and R.A. Gonzales. 1994. Plant Cell Culture. IRL University Press. USA.
- Vacin, E. F. and F. W. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Bot. Gaz. 110 : 605-613.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบของสูตรอาหาร (Murashige and Skoog, 1962)

Stock	สารเคมี	มิลลิกรัมต่อลิตร
Stock 1	NH_4NO_3	1,650
	KNO_3	1,900
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
	KH_2PO_4	170
Stock 2	H_3BO_3	6.2
	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	22.3
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10.93
	KI	0.83
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
Stock 3	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.25
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
Stock 4	Glycine	2.0
	Nicotinc acid	0.5
	Pyridoxine-HCl	0.5
	Thiamine-HCl	0.1
	Myo-Inositol	100

น้ำตาลทราย 30 กรัมต่อลิตร

ผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร

ผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์

ค่า pH 5.6-5.8

ตารางภาคผนวกที่ 2 สูตรอาหารของ Vacin & Went (VW)

Stock	สารเคมี	1x(g/l)	10x(g/l)	100x(g/l)
A	KNO_3	0.525	5.25	52.5
	KH_2PO_4	0.250	2.50	25.0
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.500	5.00	50.0
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.250	2.50	25.0
B	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.0057	0.057	0.57
C/Stock 3	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	0.03725	0.3725	3.725
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02785	0.2785	2.785

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางนุชจรี สิงห์พันธ์
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Nootjaree Singphan
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-4207-00010-96-4
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรศัพท์มือถือ โทรสาร และ e-mail

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 83 หมู่ 11 ตำบลสะเดียง
อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ 056-717-151 ต่อ 1444 โทรสาร 056-717-151
โทรศัพท์มือถือ 081-3494274 E-mail : nootjaree_tudses@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

วุฒิ	ปี พ.ศ.	ชื่อสถานศึกษา
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การเกษตร)	2559	มหาวิทยาลัยนเรศวร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)	2552	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 1	2548	มหาวิทยาลัยนเรศวร

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เทคโนโลยีโพรโตพลาสติก การถ่ายยีน

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุ
สถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วม
วิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

Article

นุชจรี ทัดเศษ อาทิตย์ ทูลพุทธา ศิวดล แจ่มจรัส การ์รันต์ ผึ้งบรรหาร พิพัฒน์ ชนาเทพพร
จันทร์จิรา ไต่ขวัญแก้ว ธนากร วงษ์ศา และสุมนา เหลืองจิตติกาญจนา. (2561). ผล
ของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อคุณภาพเห็ดฟางโดยการเพาะแบบกองเตี้ย. วารสารเกษตร
พระจอมเกล้า; 36(3): 81-90.

นุชจรี ทัดเศษ และชุติมา หงษ์ศรี. (2560). ปริมาณมูลไส้เดือนดินสายพันธุ์แอฟริกันไนท์

คลอเลอ์ (*Eudrilus eugeniae*) ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า (*Brassica alboglabra*) ในสภาพโรงเรือน. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ “พะเยาวิจัย” ครั้งที่ 6 ระหว่างวันที่ 26-27 มกราคม 2560. 1490-1494 น.

นุชจรี ทัดเศษ และ อนุกุล คมแก้ว. 2559. ปริมาณปุ๋ยมูลไส้เดือนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของแตงกวาในสภาพโรงเรือน. ใน รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ (Proceedings) “วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 8” ในระหว่างวันที่ 30-31 พฤษภาคม 2559 ณ หอประชุมพญางำเมือง มหาวิทยาลัยพะเยา.

นุชจรี ทัดเศษ จันทรจิรา ไช้ขวัญแก้ว พิพัฒน์ ชนาเทพาพร และมนตรี สิงห์พันธ์. 2559.

ประสิทธิภาพปุ๋ยมูลไส้เดือนต่อการผลิตพริกจินดาในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง. ใน การประชุมสัมมนาวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 16 และ การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 3 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น”. 1597-1605.

Tudses, N. 2016. Isolation and Mycelial Growth of Mushrooms on Different Yam-based Culture Media. Journal of Applied Biology and Biotechnology. 4(5): 033-036.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2015. Establishment of Method for Protoplast Fusion with PEG-mediated between *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis* L. International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research. 4(1): 50-56.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2014. Optimal Conditions for High-Yield Protoplast Isolations of *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis* L. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 14(3): 221-230.

Oral presentations

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2015. Establishment of Method for Protoplast Fusion with PEG-mediated between *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis* L. International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research. 4(1): 50-56.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2013. Efficient method for protoplast isolation of

Jatropha curcas L. The 4th Regional AFOB Symposium 2013 'bioenergy, biorefinery

and beyond'. Pramjet, D., Tudses, N., Pramjet, S. 2012. Isolation of protoplasts of *Jatropha curcas* L. The International Symposium on Human Development and Sustainable Utilization of Natural Resources in Asian Countries and The 6th Korea-Thailand-Indonesia Joint Symposium on Biomass Utilization and Renewable Energy.

Poster presentation

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2013. Effects of Applying Plant Growth Regulators onto Stigma on Fruit Set and Seed Set in Intergeneric Hybrids between *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis* L. The 7th Korea-Thailand-Indonesia Joint Symposium on Biomass Utilization and Renewable Energy Integration of Agriculture and Biotechnology'.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2014. Protoplast isolation, culture, and fusion between *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis* L. The 8th Korea-ASEAN Joint Symposium on Biomass Utilization and Renewable Energy Integration of Agriculture and Biotechnology'.