

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด  
บนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ

Study on Seed Germination and Seedling Development of Some Wild *Vanda* sp. on nata de  
coco agar *In Vitro*

อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ และวัชรีย์ หาญเมืองใจ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

E mail address : akharasit\_bun@cmru.ac.th, watcharee\_han@cmru.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด โดยในที่นี้สำรวจพบกล้วยไม้ฟ้ามุย (*Vanda coerulea* Lindl.) จึงนำมาทำการทดลองเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าว ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดกล้วยไม้ฟ้ามุย มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร Vacin and Went (1949) เปรียบเทียบกับสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 270 วัน เก็บข้อมูลทุก ๆ 30 วัน พบว่าการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ฟ้ามุยบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีการงอกของเมล็ดมากกว่าอาหารสูตร Vacin and Went (1949) โดยมีค่าเฉลี่ย 86.51 % สำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ฟ้ามุย พบว่า ต้นกล้ากล้วยไม้ฟ้ามุย ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ ในช่วง ระยะเวลา 60-240 วัน มีการเจริญเติบโตมากกว่าอาหารสูตร Vacin and Went (1949) โดยมีค่าเฉลี่ย 1.46 ซม. และ 1.20 ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่า การงอกของเมล็ดมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเจริญเติบโตเมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

Abstract

Study on Seed Germination and Seedling Development of Some Wild *Vanda* sp.. This study was aimed to determine the suitable media for seed germination and to examine the effect of modified Vacin and Went (VW) media additional with nata de coco agar to compare with VW, 1949 on plantlet regeneration in *Vanda coerulea* Lindl.. The germination of immature seed were compare on Vacin and Went (1949) and modified VW with nata de coco agar in 270 days. The results showed that an average germination ratio modified VW were 86.51±9.94 % and VW were 62.82±8.35%, respectively. In seedling development the result showed that, in 60-240 days the an average height of stems and length of roots the modified VW with coco agar were 1.46 cm, VW were 1.20 cm, respectively. The data analysis showed that no statistically significant difference in seedling development.

**Keyword:** Seed Germination, Seedling Development, *Vanda*, nata de coco

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ

## บทนำ

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Monocotyledonous plant) อยู่ในวงศ์ออร์คิดเซอี (Orchidaceae) เป็นกลุ่มพืชวงศ์ใหญ่ที่มีจำนวนชนิดพันธุ์มากที่สุดในโลก วงศ์หนึ่งประมาณ กันว่ามีมากกว่า 30,000 ชนิด นอกจากนี้ยังมีกล้วยไม้ถูกผสมมากกว่า 100,000 ชนิด ในประเทศไทยพบกล้วยไม้พื้นเมือง (Native orchids) ประมาณ 167 สกุลมากกว่า 1,200 ชนิด (QSBG, 2003) กล้วยไม้มีการกระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางทั่วโลก สามารถพบได้ทั้ง คบไม้ กิ่งไม้ บนพื้นดิน และหิน พบได้ตั้งแต่ชายฝั่งจนถึงยอดภูเขาสูง ป่าดิบเขตร้อน จนถึงพื้นที่กึ่งทะเลทราย เนื่องจากกล้วยไม้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ปัจจุบันกล้วยไม้พื้นเมืองของประเทศไทย กำลังลดจำนวนลงอย่างมาก จนกระทั่งบางชนิดใกล้จะสูญพันธุ์ หากดูได้ยาก ทั้งนี้เป็นผลมาจากการตัดไม้ทำลายป่า การบุกรุกพื้นที่เพื่อทำการเกษตร และ ไฟป่า ซึ่งไม่เพียงทำลายกล้วยไม้ หรือแหล่งที่อยู่อาศัยของกล้วยไม้เท่านั้น ยังทำลายสภาพแวดล้อม ทำให้ระบบนิเวศบริเวณนั้นเปลี่ยนแปลงไป เช่น มีอุณหภูมิสูงขึ้น ความชื้นลดลง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ นอกจากนี้พฤติกรรมของมนุษย์ เช่น การนำกล้วยไม้ป่าออกขายเป็นจำนวนมากสืบเนื่องมาจากปริมาณ และมูลค่าการค้ากล้วยไม้ป่าทั่วโลกมีปริมาณ และมูลค่ามหาศาล ส่งผลให้กล้วยไม้ป่าในสภาพธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว

กล้วยไม้ในสกุลแวนด้าส่วนใหญ่จัดอยู่ในบัญชีที่ 2 ของอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้จะสูญพันธุ์ หรือ CITES (The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) ซึ่งพืชบัญชีนี้เป็น ชนิดพันธุ์พืชป่าที่ยังไม่ถึงกับใกล้สูญพันธุ์ จึงยังอนุญาตให้ค้าได้ โดยประเทศที่ส่งออก จะต้องออกใบอนุญาตให้ส่งออก และรับรองว่าการส่งออกแต่ละครั้ง จะไม่กระทบ กระเทือนต่อการดำรงอยู่ของชนิดพันธุ์นั้นๆในธรรมชาติ

กล้วยไม้ในสกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าเป็นกล้วยไม้ที่มีลักษณะ และสีสันทนของดอกสวยงามพบมากในป่าดิบเขาทางภาคเหนือ ของประเทศไทย ปัจจุบันในสภาพธรรมชาติ สามารถพบน้อยมากแต่เป็นที่ต้องการของตลาด เนื่องจากเป็นสายพันธุ์พื้นเมือง ที่หาได้ยาก และมักถูกนำไปเป็นพืชต้นแบบในการปรับปรุงพันธุ์ กล้วยไม้ในสกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่านี้ไม่เพียง แต่มีคุณค่าทางพฤกษศาสตร์ หรือทางเศรษฐกิจเท่านั้น ยังมีคุณค่าในด้านสุนทรียภาพ วัฒนธรรม และการพักผ่อนหย่อนใจอีกด้วย ดังนั้นการศึกษาการงอกของ เมล็ด และการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แวนด้าสายพันธุ์ป่าบนอาหารรูนน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อการอนุรักษ์คุ้มครองกล้วยไม้แวนด้าสายพันธุ์ป่า จึงเป็นทางออก สำหรับการอนุรักษ์กล้วยไม้แวนด้าสายพันธุ์ป่าให้คงอยู่ต่อไปโดยใช้อาหารรูนน้ำมะพร้าว เพื่อทดแทนอาหารรูนสำเร็จเป็นการลดต้นทุนในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

## วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาสูตรอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในสกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิดบนอาหาร รูนน้ำมะพร้าวเพื่อทดแทนอาหารรูนสำเร็จในสภาพปลอดเชื้อ
2. ศึกษาการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ในสกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิดบนอาหาร รูนน้ำมะพร้าวเพื่อทดแทนอาหารรูนสำเร็จในสภาพปลอดเชื้อ

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารรูนน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ

## วิธีการศึกษา

1. พืชที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ คือ ก้ามไม้ฟ้ามุย (*Vanda coerulea* Lindl.) อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน
2. วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

### 2.1 วัสดุ อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- 1) เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างหยาบ (Balance; ความละเอียด 2 ตำแหน่ง) เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (Balance; ความละเอียด 4 ตำแหน่ง)
- 2) หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
- 3) เตาอบความร้อน (Hot air oven)
- 4) เตาไฟฟ้า (Hot plate)
- 5) เครื่องวัดความเป็นกรดและด่าง (pH meter)
- 6) เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ ขวดใส่สารละลายเข้มข้น (ขวดสีชา) หลอดหยด (Dropper) บีกเกอร์ (Beakers) ปิเปต (Pipette) แท่งแก้วคนสาร ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขวดอาหาร ขนาด 8 ออนซ์ และขวดรูปชมพู่ (flask) เป็นต้น
- 7) อุปกรณ์อื่นๆ ช้อนตักสาร (Spatula) กระจกอลูมิเนียมฟอยล์ กระจกยทึบ และป้ายสติกเกอร์ เป็นต้น

### 2.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการตัด และย้ายเนื้อเยื่อ

- 1) ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar air – flow cabinet)
- 2) ไขมีดผ่าตัด เบอร์ 11
- 3) ค้อนมีดผ่าตัด เบอร์ 3
- 4) ปากคีบ (Forcep)
- 5) ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 6) ชั้นวางหลอดทดสอบ (Test tube rack)
- 7) กระจกบอโลหะหลอดทดสอบ
- 8) เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ จานแก้ว (Petridish) หลอดทดสอบ (test tube) และขวดรูปชมพู่ (flask) เป็นต้น
- 9) อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ ไม้ขีดไฟ ขางรัด ล้าลี และแผ่นพลาสติก เป็นต้น

### 2.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

- 1) ชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture shelf) ที่มีหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง ประมาณ 3,000 ลักซ์
- 2) เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller)



## 2.4 อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการจดบันทึกข้อมูล

- 1) กล้องถ่ายภาพดิจิทัล
- 2) อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ ไม้บรรทัด ปากกา และ กระดาษ เป็นต้น

## 2.5 ห้องเพาะเลี้ยงที่มีการควบคุม อุณหภูมิ $25 \pm 2$ องศาเซลเซียส

## 2.6 สารเคมี

สารที่ใช้ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

- 1) แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์
- 2) กลอโรกซ์ (Sodium hypochlorite)

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

- 1) ธาตุอาหารกลุ่มที่ 1 ของสูตร Vacin and Went ได้แก่  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{KH}_2\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 2) ธาตุอาหารกลุ่มที่ 2 ของสูตร Vacin and Went ได้แก่  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   
สารในกลุ่มเหล็ก (Fe - EDTA) ของสูตร Vacin and Went ได้แก่  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  และ  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 3) ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) ของสูตร Vacin and Went
- 4) ผงวุ้นสำเร็จรูป (Agar)
- 5) น้ำตาลซูโครส (Sucrose)
- 6) น้ำกลั่น
- 7) น้ำมะพร้าว (Coconut water)
- 8) กล้วยหอม
- 9) มันฝรั่ง
- 10) ผงถ่าน (Activated charcoal)

สารเคมีที่ใช้ปรับ ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

- 1) Hydrochloric acid (HCl) 1.0 N
- 2) Potassium hydroxide (KOH) 1.0 N

สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

- 1) กลอโรกซ์ 15 %
- 2) tween 20 %
- 3) แอลกอฮอล์ 70 %
- 4) แอลกอฮอล์ 95 %

### 3. วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมวุ้นน้ำมะพร้าว

- 1) น้ำมะพร้าวคั้นจากผลที่แก่จัด
- 2) น้ำตาลซูโครส
- 3) กรดน้ำส้มเข้มข้น
- 4) เชื้อ *Acetobacter xylinum*
- 5) ถังแก๊ส หรือเตาแก๊ส
- 6) หนั่งยาง
- 7) หม้อต้มน้ำมะพร้าว
- 8) ผ้าขาวบาง
- 9) กระดาษหนังสือพิมพ์
- 10) ถาด ขนาดแก้ว
- 11) กระบอกตวง
- 12) ชันวาง
- 13) ตะเกียงแอลกอฮอล์

### 4. การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว

4.1. การเลี้ยงเชื้อ ใช้เชื้อ *Acetobacter xylinum* ต้องใช้ความรู้และเทคโนโลยีในการทำเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยมีขั้นตอนดังนี้

- 1) เตรียมอาหารแข็งสำหรับเลี้ยงเชื้อ ปริมาณ 1 ลิตร โดยนำน้ำมะพร้าวแฉะ 700 มิลลิลิตร มากรองให้สะอาดด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัม
- 2) นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 4.5 ด้วยกรดน้ำส้มเข้มข้น โดยใช้ปริมาณ กรดน้ำส้มเข้มข้น ประมาณ 1 มิลลิลิตร เติมน้ำมะพร้าวที่กรองแล้วให้ได้ปริมาตรรวม 1 ลิตร
- 3) เติมน้ำ 15 กรัม นำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยนึ่งในหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 4) เทในหลอดทดลอง (tube) หรือจานเพาะเลี้ยง (Petridish)
- 5) นำหัวเชื้อหมักมาเลี้ยงในอาหารแข็งที่บรรจุในหลอดทดลอง หรือจานเพาะเลี้ยง โดยเทคนิคการขีดเชื้อ (streak plate)
- 6) เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน เชื้อจะเจริญเติบโต
- 7) นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 8) เมื่อจะทำการผลิตวุ้น นำเชื้อจากหลอดทดลองมาเพิ่มปริมาณ โดยการเขี่ยเชื้อที่เจริญมา 1 โคลนีนี้นำไปเลี้ยงในอาหารเหลว ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าด้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ

4.2 การขยายหัวเชื้อ เป็นขั้นตอนการเพิ่มปริมาณเชื้อหมัก โดยเตรียมอาหารเหลวสำหรับเลี้ยงเชื้อปริมาณ 1 ลิตร ดังนี้

- 1) นำขวดไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำหรือต้มฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้สำลีสะอาดปิดปากขวดและปิดกระดาษหนังสือพิมพ์ ใช้ยางรัดปากขวด
- 2) นำน้ำมะพร้าวแก่ 1 ลิตร มากรองให้สะอาดด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำ หรือต้มให้เดือด
- 3) เติมน้ำตาลทราย 30 กรัม แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัม
- 4) นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 4.5 ด้วยกรดน้ำส้มเข้มข้น โดยจะใช้ปริมาณกรดน้ำส้มเข้มข้นประมาณ 1 มิลลิลิตร
- 5) เทใส่ขวดที่เตรียมไว้ โดยเทอาหารเหลวปริมาณ 2 ใน 3 ส่วนของขวด ประมาณ 100 มิลลิลิตร (ขวดขนาด 125 มิลลิลิตร) ปิดปากขวดด้วยสำลีและปิดกระดาษหนังสือพิมพ์ ใช้ยางรัดปากขวด
- 6) รอให้อาหารในขวดเย็น เติมเชื้อหมักขวดละ 5 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยสำลีและปิดกระดาษหนังสือพิมพ์ ใช้ยางรัดปากขวดเหมือนเดิม
- 7) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 วัน จะเกิดเป็นชั้นของวุ้นบางๆ ผิวหน้าอาหาร ดังภาพที่ 1

4.3 การหมักวุ้น เป็นขั้นตอนการผลิตแผ่นวุ้น โดยในการหมักวุ้นควรเตรียมในวันที่เชื้อหมักสร้างแผ่นวุ้นแล้ว สำหรับอาหารที่ใช้เป็นสูตรเดียวกับที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียมน้ำหมัก มีวิธีการหมักวุ้นดังนี้

- 1) เช็ดภาชนะที่จะใช้หมักวุ้นด้วยแอลกอฮอล์ให้สะอาด หรือลวกด้วยน้ำร้อน
- 2) เทอาหารเหลวใส่ถาด ให้สูงจากก้นถาดประมาณ 1-2.5 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับความหนาของวุ้นที่ต้องการ ใช้ปริมาณอาหารเหลวประมาณ 1.5-2 ลิตร
- 3) เติมหั้วเชื้อประมาณ 100 มิลลิลิตร (ใช้หัวเชื้อจากข้อ 2 ปริมาณ 1 ขวด ต่ออาหารเหลว 1 ถาด) ลงในแต่ละถาด
- 4) ปิดถาดด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ให้มิดชิด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 7-9 วันจะเกิดแผ่นวุ้นหนาประมาณ 1-2.5 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) ข้อควรระวังคือ อย่าให้ถาดกระทบกระเทือนมิฉะนั้นแล้วแผ่นวุ้นที่เกิดขึ้นจะจมลงและเกิดแผ่นวุ้นแผ่นใหม่ ทำให้ได้แผ่นวุ้นไม่หนา
- 5) การเก็บแผ่นวุ้นจะต้องระมัดระวังในเรื่องของความสะอาดและวัสดุที่ใช้เก็บเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อรา น้ำที่เหลือจากการหมักอาจใช้เป็นเชื้อหมักในครั้งต่อไป





ภาพที่ 1 แสดงหัวเชื้อรื้อนน้ำมะพร้าว

ภาพที่ 2 แสดงแผ่นรื้อนน้ำมะพร้าว

## 5. การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้

### 5.1 อาหารสูตร Vacin and Went

นำส่วนประกอบอาหารพื้นฐานสูตร Vacin and Went จากสารละลายเข้มข้น ที่เตรียมไว้ มาผสมรวมกัน โดยใช้สายละลายเข้มข้นแต่ละชนิดดังแสดงไว้ใน ซึ่งขั้นตอนการเตรียมอาหาร Vacin and Went ดังนี้ ขั้นตอนการเตรียมอาหารสูตร Vacin and Went ปริมาณ 1 ลิตร

- 1) ใส่น้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร
- 2) ใส่อัตราละลายเข้มข้น ที่เตรียมไว้ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณของสารละลายเข้มข้นแต่ละชนิดในอาหารสูตร Vacin and Went

ชนิดของสารละลาย	ปริมาณของสารละลายเข้มข้นในอาหาร 1 ลิตร (มิลลิลิตร)
ธาตุอาหารกลุ่มที่ 1 ความเข้มข้น 10 เท่า	100
ธาตุอาหารกลุ่มที่ 2 ความเข้มข้น 10 เท่า	100
ธาตุอาหารกลุ่ม Fe-EDTA ความเข้มข้น 200 เท่า	10
ธาตุอาหารกลุ่ม $(Ca_3(PO_4)_2)$	0.2 กรัม

\*\*หมายเหตุ\*\* ธาตุอาหารกลุ่ม  $(Ca_3(PO_4)_2)$  ปริมาณ 200 มิลลิกรัม ละลายด้วยกรดเกลือ 1 N

- 3) ใส่น้ำตาลซูโครส 20 กรัม ใช้แท่งแก้วคน ให้น้ำตาลละลายจนหมด
- 4) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน นำไปปรับระดับความเป็นกรด - ด่าง ให้เป็น 5.8
- 5) เติมผงถ่าน (Activated charcoal) 0.6 กรัม นำไปละลายลงในสารละลายเข้มข้นที่ปรับระดับความเป็นกรด - ด่าง ให้เป็น 5.8 คนให้เข้ากัน
- 6) นำมันฝรั่งต้มสุก 50 กรัม บดรวมกับกล้วยหอมสุกห่าม 100 กรัม ให้ละเอียด นำไปผสมกับสารอาหารที่ได้คนให้เข้ากัน
- 7) ทำการหลอมวุ้น 7 กรัม ในน้ำประมาณ 250 มิลลิลิตร บนเตาไฟฟ้า (Hot plate) คนเบาๆ ตลอดเวลาจนวุ้นละลาย

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารรื้อนน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ

- 8) นำวุ้นที่ต้มแล้ว เทลงใน สารอาหารที่เตรียมไว้ ปรับปริมาณด้วยน้ำร้อนให้เป็น 1000 มิลลิลิตร
  - 9) เทอาหารลงในบีกเกอร์พลาสติกที่มีหู แล้วทำการกรอกอาหารลงขวด 8 ออนซ์ อย่าให้อาหารเป็นปากขวด ปิดฝา และหุ้มด้วยพลาสติก และรัดด้วยยางรัด
  - 10) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที
  - 11) นำขวดอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ในตู้ที่สะอาด
- 5.2 อาหารสูตร Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ
- 1) นำแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้จากการเตรียมมาแช่น้ำประมาณ 1 ถัง
  - 2) นำแผ่นวุ้นที่แช่น้ำไปต้มในน้ำเดือด 2 ครั้ง ๆ ละประมาณ 10 นาทีเพื่อไล่อากาศออกจากแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าว
  - 3) นำแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวที่ผ่านการต้ม ไล่อากาศแล้ว ไปปั่นในเครื่องปั่น จนได้วุ้นที่ละเอียด และ บีบเพื่อเอาน้ำออกจากวุ้นน้ำมะพร้าว
  - 4) ใส่น้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร
  - 5) ดูดสารละลายเข้มข้น ที่เตรียมไว้ดังนี้
    - ธาตุอาหารกลุ่มที่ 1 100 มิลลิลิตร
    - ธาตุอาหารกลุ่มที่ 2 100 มิลลิลิตร
    - ธาตุอาหารกลุ่ม Fe-EDTA 10 มิลลิลิตร
    - ธาตุอาหารกลุ่ม  $(Ca_3(PO_4)_2)$  ปริมาณ 200 มิลลิกรัม ละลายด้วยกรดเกลือ 1 N
    - ใส่น้ำตาลซูโครส 20 กรัม ใช้แท่งแก้วคน ให้น้ำตาลละลายจนหมด
  - 6) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน นำไปปรับค่าความเป็นกรด – ด่าง ให้เท่ากับ 5.8
  - 7) เติมผงถ่าน (Activated charcoal) 0.6 กรัม คนให้เข้ากัน
  - 8) น้ำมันฝรั่งต้มสุก 50 กรัม บดรวมกับกล้วยหอมสุกห่าม 100 กรัม ให้ละเอียด นำไปผสมกับสารอาหารที่ได้ คนให้เข้ากัน
  - 9) เทอาหารลงในบีกเกอร์พลาสติกที่มีหู แล้วทำการกรอกอาหารลงขวด 8 ออนซ์
  - 10) เติมน้ำมะพร้าว โดยชั่งน้ำหนักสด ขวดละ 8 กรัม ปิดฝาขวด
  - 11) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที
  - 12) นำขวดอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อ ดังภาพที่ 3 เก็บไว้ในตู้ที่สะอาด





ภาพที่ 3 แสดงอาหารสูตร Vaccin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

#### 6. ขั้นตอนทำการเพาะเนื้อเยื่อ มีขั้นตอนดังนี้

- 1) คัดเลือกผักกล้วยไม้ที่แก่ แต่ยังไม่แตกนำมาล้างด้วยสบู่เหลว แล้วล้างออกด้วยน้ำให้สบู่หมด
- 2) ตัดแต่งโดยเกลาส่วนผักออกให้เรียบ วางบนจานเพาะเชื้อ หลังจากนั้นพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ให้ทั่วผักกล้วยไม้ นำเข้าสู่ตู้ย่ำเนื้อเยื่อ
- 3) นำอุปกรณ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ พ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ก่อนนำเข้าตู้ย่ำเนื้อเยื่อ
- 4) จัดอุปกรณ์ภายในตู้ย่ำเนื้อเยื่อ ตามความถนัดของผู้กระทำการตัดเนื้อเยื่อ
- 5) ทำฟอกฆ่าเชื้อผักกล้วยไม้โดยการแช่ลงในคลอโรกซ์ 15 % ที่มีฟีนอล 20 อยู่ 1-2 หยด เขย่าตลอดเวลานานประมาณ 15 - 20 นาที
- 6) นำผักกล้วยไม้ ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 นาที เพื่อล้างเอา คลอโรกซ์ออก
- 7) ย่ำผักกล้วยไม้ลงบนจานเพาะเชื้อ ใช้มีดผ่าผักเปิดออก ถ่ายเมล็ดในผักลงเพาะเลี้ยงในขวดอาหารสูตร Vaccin and Went (1949) และ Vaccin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ อย่างละ 30 ขวด
- 8) นำขวดเพาะเลี้ยงไปเก็บไว้ในที่มืด เป็นเวลา 15 วัน จึงย้ายมาเลี้ยงในที่ที่มีแสงสว่างจนเป็นต้นกล้า ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส ภายใต้แสง fluorescent ประมาณ 3,000 ลักซ์ เป็นเวลานาน 16 ชั่วโมง/วัน จนกว่าจะเป็นต้นกล้า
- 9) เมื่อเมล็ดกล้วยไม้เจริญเป็นต้นกล้า ทำการ Subculture tissue ลงในขวดอาหารสูตร Vaccin and Went (1949) และ Vaccin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ
- 10) วัดความยาวของใบ ความยาวราก และความสูงของต้นอ่อนกล้วยไม้

#### 7. วิธีการบันทึกข้อมูล

แบ่งหน่วยการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม (Treatment) โดยทำการทดลองกลุ่มละ 30 ขวด

รวมทั้งหมด 60 ขวด ดังนี้

Treatment ที่ 1 เลี้ยงในอาหารสูตร Vaccin and Went (1949)

Treatment ที่ 2 เลี้ยงในอาหารสูตร Vaccin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าว แทนวุ้นสำเร็จ

ในการเก็บรวบรวมและบันทึกข้อมูล ได้ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลโดยการบันทึกข้อมูล การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ เริ่มตั้งแต่ทำการย้ายเนื้อเยื่อ Subculture tissue ลงในขวดอาหารสูตร Vacin and Went (1949) และ สูตร Vacin and Went ดัดแปลง โดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

จนกระทั่งกล้วยไม้ที่ทำการเพาะเจริญเป็นต้นอ่อน มี ใบ และ ราก ซึ่งจะบันทึกข้อมูล ทุก ๆ 1 สัปดาห์

- 1) การวัดการงอกของเมล็ด วัดเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกล้วยไม้
- 2) การวัดความยาวของลำต้นทั้งหมด โดยการวัดจากบริเวณปลายรากที่ยาวที่สุดไป จนถึง

ปลายใบของต้นอ่อนที่มีความยาวที่สุด โดยสุ่มตัวอย่างการวัดความยาวของลำต้นทั้งหมด โดยการนำต้นกล้าของกล้วยไม้ออกมาจากขวดของ สูตรอาหารทั้ง 2 สูตร คือ Vacin and Went (1949) และ สูตร Vacin and Went ดัดแปลง โดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ บันทึกความยาวของลำต้นทั้งหมด ในแบบบันทึกข้อมูลแล้วหาค่าเฉลี่ย

### 8. การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการวิเคราะห์ข้อมูลผู้วิจัย ได้นำข้อมูลมาตรวจและวิเคราะห์ค่าสถิติต่างๆ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Mean) และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

8.1 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ โดยใช้วิธีหาค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) คำนวณจากสูตร

ค่าเฉลี่ย (Mean)	$\bar{x} = \frac{\sum Xi}{n}$	
เมื่อ	$\bar{x} =$	ค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตของกล้วยไม้
	$\sum Xi =$	ผลรวมของการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในอาหารแต่ละสูตร
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) คำนวณได้จากสูตร		
	$S.D = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{(n-1)}}$	
เมื่อ S.D	$=$	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	$n =$	จำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด
	$\sum Xi =$	ผลรวมของการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในอาหารแต่ละสูตร
	$\bar{x} =$	ค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตของกล้วยไม้
	$f =$	ความถี่
	$n =$	จำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด

8.2 วิเคราะห์ความแตกต่างของสูตรอาหารทั้ง 2 ชนิด โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0

### ผลการศึกษา

การเพาะเลี้ยงเมล็ดของกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) และ สูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ พบว่า

การศึกษารงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ

## ด้านการงอก

ตารางที่ 2 แสดงการงอกโดยเฉลี่ยของกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามูยเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) และ Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

Treatment	การงอกโดยเฉลี่ย (%)
T1 Vacin and Went (1949)	62.82±8.35
T2 Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ	86.51±9.94

หลังจากเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามูยบนอาหาร สูตร Vacin and Went (1949) และ Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ เป็นเวลา 270 วัน โดยเก็บข้อมูลทุก ๆ 30 วัน พบว่า

ช่วงอายุ 60 วันแรก กล้วยไม้มีลักษณะเป็นโปรโตคอร์ัม เมื่อทำการวัดการงอกพบว่า กล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามูยมีการงอกสูงที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีการงอกเฉลี่ยเท่ากับ 86.51 % ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีการงอกเฉลี่ยเท่ากับ 62.82 %

เมื่อเปรียบเทียบผลทางสถิติผลทางสถิติโดยวิธี Independent Samples Test ระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 4 แสดงการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามูยบนอาหารสูตร VW (1949)

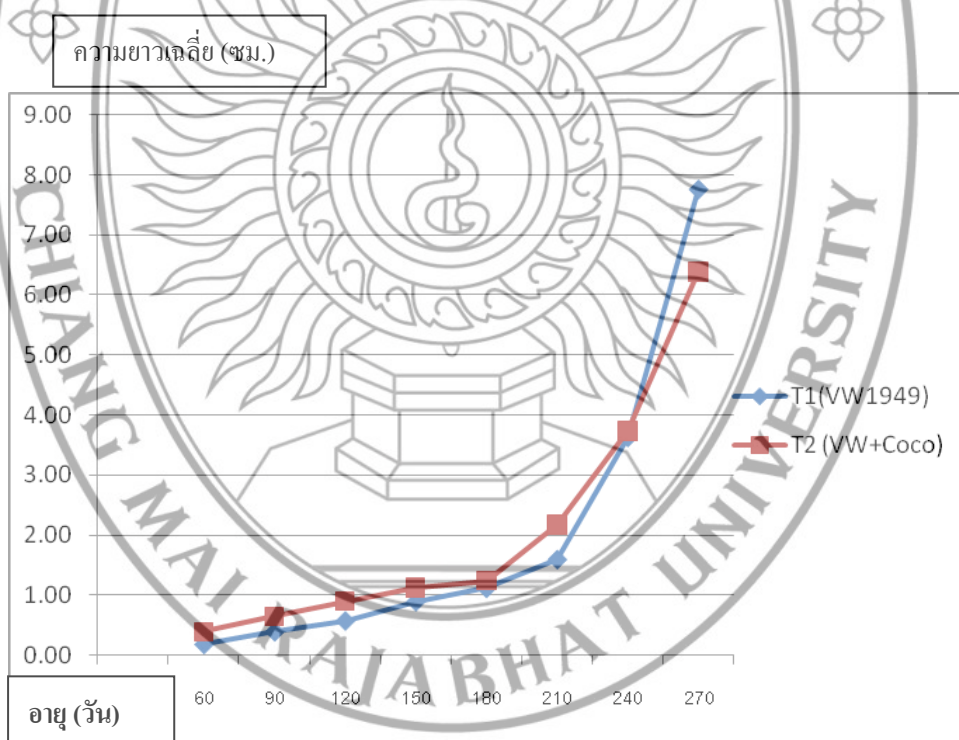
ภาพที่ 5 แสดงการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามูยบนอาหารสูตร VW ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ



ด้านการเจริญเติบโต

ตารางที่ 3 แสดงความสูงโดยเฉลี่ยของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) และ Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

Treatment	การเจริญเติบโตเฉลี่ย (ซม.) เมื่ออายุ (วัน)							
	60	90	120	150	180	210	240	270
T1 Vacin and Went (1949)	0.19 ±0.07	0.40 ±0.11	0.58 ±0.16	0.90 ±0.28	1.12 ±0.18	1.60 ±0.39	3.63 ±0.96	7.75 ±1.39
T2 Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ	0.39 ±0.14	0.65 ±0.14	0.90 ±0.2	1.13 ±0.35	1.24 ±0.25	2.18 ±0.35	3.73 ±1.14	6.38 ±1.67



ภาพที่ 6 แสดงกราฟความสูงเฉลี่ยของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) และ Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

หลังจากเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยบนอาหาร สูตร Vacin and Went (1949) และ Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ เป็นเวลา 150 วัน โดยเก็บข้อมูลทุก ๆ 15 วัน พบว่า

เมื่ออายุ 60 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 0.39 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 0.19 ซม.

เมื่ออายุ 90 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 0.65 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 0.40 ซม.

เมื่ออายุ 120 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 0.90 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 0.58 ซม.

เมื่ออายุ 150 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 1.13 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 0.90 ซม.

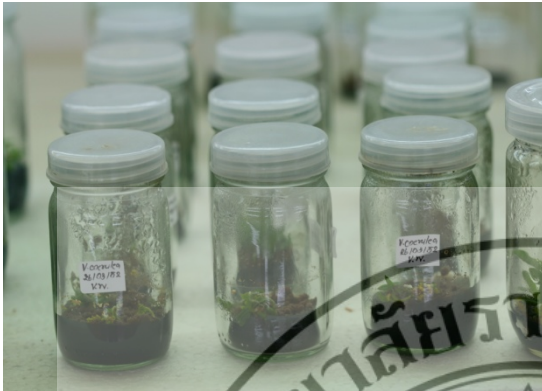
เมื่ออายุ 180 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 1.24 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 1.12 ซม.

เมื่ออายุ 210 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 2.18 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 1.60 ซม.

เมื่ออายุ 240 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 3.73 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 3.63 ซม.

เมื่ออายุ 270 วัน ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยมีความสูงมากที่สุดบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 6.38 ซม. ส่วนบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 7.75 ซม. และ

เมื่อเปรียบเทียบผลทางสถิติโดยวิธี Independent Samples Test ระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



(ก)

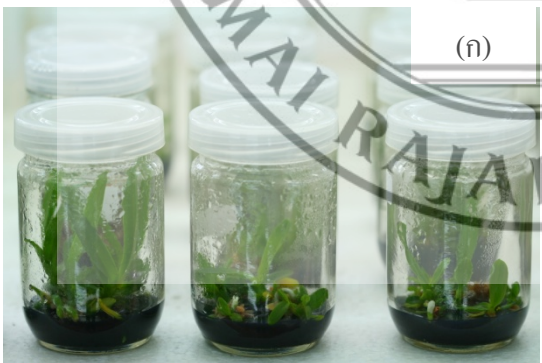
(ข)

ภาพที่ 7 แสดงการเจริญของต้นกล้ากล้วยไม้ในห้องปฏิบัติการ ในระยะ 150 วัน (ก) T1:Vacin and Went (1949) (ข) T2 : Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ



ภาพที่ 8 แสดงการเจริญของต้นกล้ากล้วยไม้ ในระยะ 150 วัน (ก) T1:Vacin and Went (1949) (ข)T2 : Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

ภาพที่ 9 แสดงการเจริญของต้นกล้ากล้วยไม้ ในระยะ 270 วัน (ก) T1:Vacin and Went (1949) (ข)T2 : Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ



(ก)

(ข)

ภาพที่ 10 แสดงการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยเมื่ออายุ 270 วัน

(ก) บนอาหารสูตร VW (1949) (ข) บนอาหารสูตร VW คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ





ภาพที่ 11 แสดงต้นกล้ากล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง จากสูตร Vacin and Went และ Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ

(ก) บนอาหารสูตร Vacin and Went (1949)

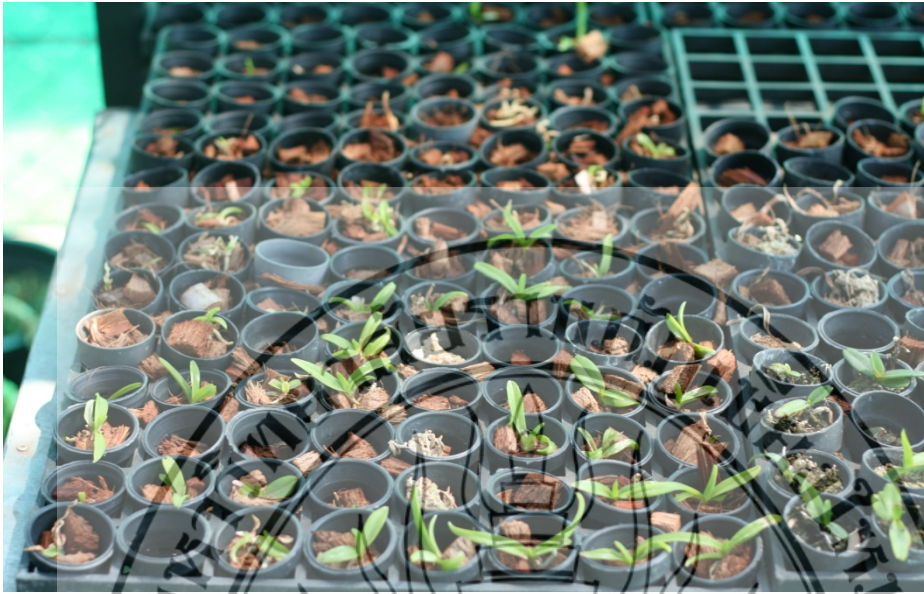
(ข) บนอาหารสูตร Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ



ภาพที่ 12 แสดงต้นกล้ากล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

ภาพที่ 13 แสดงต้นกล้ากล้วยไม้ที่

ได้จากการเพาะเลี้ยงก่อนนำลงวัสดุปลูก



ภาพที่ 14 แสดงต้นกล้ากล้วยไม้ที่ในวัสดุปลูก

#### อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการวิจัย พบว่า การงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ย ที่เลี้ยง บนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) และ Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ โดยทำการบันทึกข้อมูลเป็นเวลา 270 วัน เก็บข้อมูลทุก ๆ 30 วัน เมื่อดูจากค่าเฉลี่ยของการงอก และการเจริญเติบโต อาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีค่าเฉลี่ยมากกว่าอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ซึ่งสอดคล้องกับสมมติฐาน ของการทำวิจัยครั้งนี้ คือ อาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีความเหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด ซึ่งมีความสอดคล้องกับ พิจารีย์ วิจิตรการโกศล และ กรรชิต ธรรมศิริ (2552) ที่พบว่าไคโตซานมีผลทำให้โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโตพัฒนาเป็นยอดและรากได้ โดยที่ความเข้มข้น 40 ppm และ 60 ppm พบว่าโปรโตคอร์มมีการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่มีความยาวสูงสุด อาจเนื่องมาจากการที่วุ้นน้ำมะพร้าวซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส (cellulose) ซึ่งมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับ ไคโตซาน ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์เหมือนกัน โดยไคโตซานประกอบด้วย D-glucosamine และ N-Acetylglucosamine ส่วนผลการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ย ทั้งสองสูตร ไม่แตกต่างกัน จึงสามารถใส่สูตรอาหารดัดแปลงแทนวุ้นสำเร็จได้

#### สรุปผลการศึกษา

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเมล็ดของกล้วยไม้ฟ้ามุ่ย โดยทำการบันทึกข้อมูล เป็นเวลา 150 วัน เก็บข้อมูลทุก ๆ 15 วัน พบว่า การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ฟ้ามุ่ย บนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีการงอกของเมล็ดมากกว่าอาหารสูตร Vacin and Went (1949) โดยมีค่าเฉลี่ย 86.51% สำหรับการเจริญเติบโต ของต้นกล้ากล้วยไม้ฟ้ามุ่ย พบว่า เมื่ออายุ 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 และ 270 วัน ต้นกล้า

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ



กล้วยไม้พ้ามุ่ย ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีการเจริญเติบโตมากกว่าอาหารสูตร Vacin and Went (1949) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.075 ซม. เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่า การงอกของเมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเจริญเติบโต เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

อาหารสูตร Vacin and Went คัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวสามารถใช้ทดแทนสูตรอาหาร Vacin and Went ที่ใช้วุ้นสำเร็จ ได้ และมีความเหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้พ้ามุ่ยอย่างมีนัยสำคัญ

#### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสถาบันวิจัยและพัฒนาที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์

#### เอกสารอ้างอิง

เกษมรัตน์ ศรีเกษม.(2538). ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาโปรโตคอร์มของรองเท้านารีผีผาย (*Paphiopedilum beilatulatum* RChb.f.Plitz). เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จิราวรรณ ฉายาวัฒน์.(2550). การสร้างเส้นใยเซลลูโลสเพื่อเป็นวัสดุติดสำหรับผลิตกระดาษ. วิทยานิพนธ์ : มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี.

ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย.(2539). ปัจจัยที่มีผลต่อการงอก และการพัฒนาโปรโตคอร์มของรองเท้านารีเหลืองปราจีน. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ประกาศิต เกี่ยมณี.(2548). เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์.

ผาณิต นิตินันท์ประกาศิต และคณะ.(2548). กล้วยไม้ไทย. กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์.

พิจารี วิจิตรการโกศล และครรชิต ชรรณศิริ. (2552). ผลของไคโตซานต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata*). เอกสารรวมบทคัดย่อ การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 35 (วทท.35). 15-17 ตุลาคม 2552. ชลบุรี หน้า 1-5.

ภูมรินทร์ คงมณี. (2544). การศึกษาการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้า เอื้องแซะหลวงในสภาพปลอดเชื้อ. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมคิด ชรรณรัตน์ (2529). วุ้นน้ำมะพร้าว. กรุงเทพฯ : กรมเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร.

อิทธิพล พรหมรส. (2522). การงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในวุ้นอาหารที่ใส่กล้วยซึ่งมีความสูงและปริมาณน้ำตาลต่างๆ กัน. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าสายพันธุ์ป่าบางชนิด บนอาหารวุ้นน้ำมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ