



## บทที่ 2

### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

#### วัสดุ

#### 1. วัสดุที่ใช้ในการศึกษาการงอกและการเจริญของกล้วยไม้

##### 1.1 พืชทดลอง

##### 1.1.1 เมล็ดกล้วยไม้เพื่อใช้ศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ได้แก่

*Dendrobium Merritt Island*

*Dendrobium Montakan*

*Dendrobium unicum Seido*

*Acriopsis indica*

เมล็ดพืชทั้งหมดนี้ได้รับความกรุณาจาก ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชรภักย์

##### 1.1.2 ต้นกล้วยไม้เพื่อใช้ศึกษาการเจริญ ได้แก่

*Dendrobium Merritt Island*

*Dendrobium Montakan*

ลูกผสม *Brassolaeliocattleya* Mem. Pamelament 'Yellow Eye'

x *Blc.Warchant* 'Siam Ruby'

*Doritis pulcherima*

*Rhynchostylis gigantea*

ต้นกล้าลูกผสม *Brassolaeliocattleya* และ *Doritis pulcherima* ได้รับความกรุณาจากคุณแมตัง ผึ้งประเสริฐ (PD Orchids Lab.) และต้นกล้าสกุล *Rhynchostylis* ได้รับความเมล็ดจากความกรุณาของ รศ. อรุณี จันทร์สนิท

1.2 สารเคมี (reagent grade) ที่ใช้ในสูตรอาหาร ซึ่งประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง วิตามิน และกรดอะมิโน ตามสูตรในตารางที่ 1

1.3 สารอินทรีย์ ได้แก่

ลำต้นไต้ดิน (หัว) มันฝรั่ง พันธุ์ Spunta

น้ำตาลทราย (บริษัทมิตรผล)

ฟูนผง (เกรดทำยา)

2. วัสดุที่ใช้ในการศึกษาการออกดอกของกล้วยไม้

2.1 พืชทดลอง ได้แก่ ต้นกล้วยไม้

ลูกผสม *Dendrobium bigibbum* x *Den. Pinky Sem 'Sabin'*

ลูกผสม *Cattleya walkeriana* x *Cattleya Warut Gold*

*Oncidium passionata*

ลูกผสมลูกผสม *Ascocenda* (*Ascocenda Yip Sum Wah* x *Vanda Mali*)

2.2 สารเคมี (reagent grade) ได้แก่

2.2.1 สารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหาร ซึ่งประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง วิตามิน และกรดอะมิโน ตามสูตรในตารางที่ 3 และ 4

2.2.2 สารควบคุมการเจริญ ได้แก่ BA (6 - benzylaminopurine) และ IAA (indole-3-acetic acid)

2.3 สารอินทรีย์ ได้แก่

น้ำตาลทราย (บริษัทมิตรผล)

ฟูนผง (เกรดทำยา)

มันฝรั่ง พันธุ์ Spunta

น้ำมะพร้าวอ่อน

## อุปกรณ์

### 1. เครื่องแก้ว

1.1 ขวดแก้วรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 200 มล. สำหรับเพาะเมล็ด ขนาด 250 มล. สำหรับเลี้ยงต้นอ่อน

1.2 หลอดหยดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มม. สำหรับเพาะเมล็ด

1.3 ขวดแก้วฝาเกลียว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 ซม. สูง 13.0 ซม. และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.0 ซม. สูง 16.0 ซม. สำหรับเลี้ยงต้นกล้วยไม้เพื่อการออกดอก

2. เครื่องวัดพื้นที่ใบ Portable Area Meter รุ่น LI-3000 A ของบริษัท LI-COR, inc.

3. เครื่องชั่งน้ำหนัก บอกความละเอียด ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

4. วัสดุและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้เลี้ยงพืชในสภาพปลอดเชื้อ ตามวิธีมาตรฐานสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อทั่วไป

5. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ชั้นสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ Phillips TL 40 W/33 (cool white) ความเข้มแสง 1400 - 2000 ลักซ์ ความยาวช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิห้อง  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## วิธีดำเนินงานวิจัย

การวิจัยนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนแรกเป็นการศึกษาการงอกและการเจริญของกล้ากล้วยไม้ในอาหารสูตรทดลอง ส่วนที่สองเป็นการศึกษาการชักนำให้กล้วยไม้ออกดอกในหลอดแก้ว

### 1. การงอกและการเจริญของต้นกล้ากล้วยไม้

1.1 ศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* และ *Acropsis* ในอาหารสูตรต่างๆ รวม 5 สูตร ซึ่งมีส่วนประกอบตามสูตรในตารางที่ 1 โดยเฉพาะเมล็ดในอาหารสูตรต่างๆ สูตรละ 5 ขวด ขวดละ 300 - 400 เมล็ด บันทึกผลเมื่อกล้ากล้วยไม้เจริญครบ 3 เดือน สำหรับสกุล *Dendrobium* และ 4 เดือน สำหรับสกุล *Acropsis*

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบปลอดเชื้อ มีขั้นตอนดังนี้

1) ใช้ฝักกล้วยไม้อายุประมาณ 60% ซึ่งฝักยังไม่แตก นำฝักมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอรีน 10% นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง จากนั้นจุ่มในอัลกอฮอล์ 95% แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ นำฝักกล้วยไม้เก็บไว้ในภาชนะปลอดเชื้อ

2) นำฝักกล้วยไม้ที่เตรียมได้จากข้อ 1) มาผ่าเอาเมล็ดออก ใส่ลงในน้ำสะอาดหนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 20 มิลลิลิตร คนเมล็ดให้กระจายแล้วใช้หลอดหยดดูดเมล็ดประมาณ 300 - 400 เมล็ด ใส่ลงบนอาหารสูตรทดลองที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วรูปชมพูนขนาด 200 มิลลิลิตร ที่มีอาหารขวดละ 50 มิลลิลิตร

1.2 ศึกษาการเจริญของต้นกล้ากล้วยไม้สกุล *Dendrobium*, *Brassolaeliocattleya*, *Doritis* และ *Rhynchostylis* โดยใช้ต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 3 เดือน ยกเว้นในสกุล *Brassolaeliocattleya* ใช้ต้นกล้าอายุ 4 เดือน ซึ่งต้นกล้าที่มีอายุดังกล่าวทุกสกุลมีขนาดความสูงประมาณ 0.7 - 1.0 เซนติเมตร มีใบเล็กๆ เกิดขึ้นแล้ว 3 ใบ และเริ่มมีรากเกิดขึ้น โดยใช้อาหารสูตรต่างๆ 5 สูตร ซึ่งมีส่วนประกอบตามตารางที่ 1 ทำการทดลองสูตรละ 5 ขวด ขวดละ 10 ต้น เลี้ยงบนอาหารสูตรทดลองที่บรรจุในขวดแก้วรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารขวดละ 50 มิลลิลิตร บันทึกผลการศึกษาทดลองเมื่อต้นกล้าเจริญครบ 4 เดือน

### การเตรียมอาหารทดลอง

การเตรียมสารอินทรีย์เสริมที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ มันฝรั่ง พันธุ์ Spunta โดยนำเนื้อมันฝรั่งปอกเปลือก แล้วหั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าเล็กๆ 150 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร นำไปต้มกับน้ำประมาณ 150 - 200 มิลลิลิตร ให้เนื้อมันฝรั่งสุกนุ่ม จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นจนละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปผสมกับสารอาหารอื่นและน้ำ

### สูตรอาหารทดลองสำหรับเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นกล้า

ก. อาหารสูตร Mod.SH ซึ่งเป็นสูตรที่มีธาตุอาหารหลักปานกลาง โดยดัดแปลงจากสูตรของ Schenk and Hildebrandt (1972) คือมีปริมาณธาตุอาหารหลักเป็นครึ่งส่วนของสูตร SH ซึ่งดัดแปลงโดย ถาวร และมนทกานติ (2519) ดังตารางที่ 1

ข. อาหารสูตร Mod.SH ที่เติมมันฝรั่ง 150 กรัมต่อลิตร (Mod.SH + Po) ซึ่งมีองค์ประกอบของสารอาหารต่างๆ ดังตารางที่ 1

ค. อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) เป็นสูตรที่มีธาตุอาหารหลักสูง (high salt medium) เหมาะสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไป (ตารางที่ 1)

ง. อาหารสูตร Knudson C (1946) เป็นอาหารสูตรดั้งเดิมที่มีปริมาณธาตุอาหารหลักต่ำ (low salt medium) เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ (ตารางที่ 1)

จ. อาหารสูตร CU-1 ที่ได้จากการทดลองของ Vajrabhaya, Supaokit, and Vajrabhaya (1994) ซึ่งเป็นสูตรอาหารอินทรีย์อย่างง่าย (simplified organic medium) และเหมาะสมอย่างมากสำหรับการเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* (ตารางที่ 1)

สูตรอาหารทั้งหมดนี้ทุกสูตรใช้ธาตุอาหารรองตามสูตรของ MS (1962) ยกเว้นสูตร CU-1

อาหารสูตรทดลองทั้งหมดนี้ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน 1.1 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของสูตรอาหารทดลองสำหรับเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นกล้า

องค์ประกอบ	สูตรอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
	Mod. SH (1976)*	Mod. SH+ Po.	MS (1962)	Knudson C (1946)	CU-1 (1994)
<b>ธาตุอาหารหลัก</b>					
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	-	-	1,650.00	-	-
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	150.00	150.00	-	-	-
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	-	-	500.00	-
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	100.00	100.00	440.00	-	-
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	1,000.00	-
$\text{KNO}_3$	1,250.00	1,250.00	1,900.00	-	1,250.00
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	-	-	170.00	250.00	-
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200.00	200.00	370.00	250.00	-
<b>ธาตุอาหารรอง(MS)</b>					
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.20	6.20	6.20	6.20	-
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	22.30	22.30	22.30	22.30	-
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60	8.60	8.60	8.60	-
KI	0.83	0.83	0.83	0.83	-
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	0.025	0.025	-
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.25	0.25	0.25	-
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	0.025	0.025	-
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.80	27.80	27.80	27.80	-
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.30	37.30	37.30	37.30	-
<b>วิตามิน</b>					
Nicotinic acid	0.50	0.50	0.50	0.50	-
Pyridoxine HCl	0.50	0.50	0.50	0.50	-
Thiamine HCl	0.10	0.10	0.10	0.10	-
<b>กรดอะมิโน</b>					

ตารางที่ 1 (ต่อ)

องค์ประกอบ	สูตรอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
	Mod. SH (1976)*	Mod. SH+ Po.	MS (1962)	Knudson C (1946)	CU-1 (1994)
Glycine	2.00	2.00	2.00	2.00	-
สารอินทรีย์					
มันฝรั่ง(กรัมต่อลิตร)	-	150.00	-	-	150.00
อื่นๆ					
Sucrose(กรัมต่อลิตร)					
- เพาะเมล็ด	20.00	20.00	20.00	20.00	40.00
- เลี้ยงต้นอ่อน	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
Agar (กรัมต่อลิตร)	8.00	4.00	8.00	8.00	4.00

pH = 5.6 (ปรับด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl)

\* สูตร Mod. SH มีส่วนประกอบเป็นครึ่งส่วนของสูตร Schenk and Hildebrandt ซึ่งดัดแปลงโดย ถาวร และมนทกานติ ในปี 2519 (1976)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารหลักในอาหารสูตรทดลอง

ธาตุอาหารหลัก	สูตรอาหาร (มิลลิโมลาร์)			
	Mod.SH	MS	Knudson C	CU-1*
ไนโตรเจน	13.704	60.06	16.05	12.4
ฟอสฟอรัส	1.304	1.25	1.84	?
โพแทสเซียม	12.40	20.06	1.84	12.4
แคลเซียม	0.68	3.00	4.24	?
แมกนีเซียม	0.813	1.504	1.16	?
ซัลเฟอร์	0.813	1.73	4.95	?

\* องค์ประกอบของมันฝรั่ง 100 กรัม แสดงในภาคผนวก ข

\* ? ไม่ทราบองค์ประกอบที่แน่ชัดเนื่องจากมีมันฝรั่งเป็นส่วนประกอบ



## 2. การชักนำกล้ากล้วยไม้ให้ออกดอกในหลอดแก้ว

การศึกษานี้ยังมีผู้สนใจศึกษากันน้อยมาก การวางแผนเพื่อดำเนินการทดลอง จึงยังไม่สมบูรณ์เท่าที่ควรประกอบด้วยมีข้อจำกัดในการหากล้ากล้วยไม้ที่มีขนาดและอายุเท่าๆ กันมาดำเนินการทดลอง เนื่องจากกล้วยไม้เป็นพืชที่เจริญช้า จากวันผสมเกสรจนถึงวันที่เมล็ดเจริญเต็มที่อาจใช้เวลา 3 - 12 เดือน ขั้นตอนการวางแผนการทดลองในส่วนนี้เป็นดังนี้

### 2.1 การเลือกพืชทดลอง

ในส่วนนี้เลือกใช้กล้วยไม้ 4 สกุลคือ

สกุล *Dendrobium* ใช้ต้นกล้าของลูกผสม *Den. bigibbum* กับ *Den. Pinky Sem 'Sabin'* ที่มีอายุ 6 เดือน (นับจากวันเพาะเมล็ด) ต้นมีความสูงประมาณ 5 - 6 เซนติเมตร มีหน่อใหม่เกิดขึ้นแล้ว 1 หน่อ และมีใบประมาณ 4 - 5 ใบต่อต้น

สกุล *Cattleya* ใช้ต้นกล้าของลูกผสม *C. walkeriana* กับ *C. Warut Gold* ที่มีอายุ 6 เดือน (นับจากวันเพาะเมล็ด) ต้นมีความสูงประมาณ 4 - 5 เซนติเมตร มีใบ 3 - 4 ใบต่อต้น และยังไม่มีหน่อใหม่เกิดขึ้น

สกุล *Oncidium* ใช้ต้นกล้าของ *Oncidium passionata* ที่มีอายุ 4 เดือน (นับจากวันเพาะเมล็ด) ต้นมีขนาดความสูงประมาณ 1.5 - 2.0 เซนติเมตร มีใบเล็ก ๆ ประมาณ 3 - 4 ใบต่อต้น และยังไม่มีหน่อใหม่

สกุล *Ascocenda* ใช้ต้นกล้าของ *Ascocenda Yip Sum Wah* กับ *Vanda Mali* ที่มีอายุ 6 เดือน (นับจากวันเพาะเมล็ด) ต้นมีความสูงประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร มีใบ 3 - 4 ใบต่อต้น เนื่องจาก *Ascocenda* เป็นพวกที่มีการเจริญแบบกิ่งโดด (monopodial) จึงไม่มีหน่อ

### 2.2 สูตรอาหารหลักที่ใช้สำหรับการชักนำการศึกษากล้ากล้วยไม้ให้ออกดอก

เลือกใช้สูตรอาหารของธาตุอาหารหลัก 3 สูตรสำหรับการทดลอง ได้แก่ สูตร Modified Vacin and Went (Mod.VW) ซึ่งการเลือกสูตรอาหารนี้เนื่องจากผลการสำรวจเอกสารพบว่ามีผู้ที่สามารถชักนำให้กล้วยไม้บางชนิดออกดอกในหลอดแก้วได้ในอาหารสูตร Vacin and Went แต่ที่ต้องดัดแปลงโดยเลือกใช้  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  และ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  แทนการใช้  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  โดยให้มีความเข้มข้นของธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสเท่าเดิม เนื่องจาก  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  มักจะตกตะกอนและอาจมีผลให้ธาตุอื่นตกตะกอนด้วย ทำให้พืชไม่สามารถดูดธาตุที่จำเป็นไปใช้



ได้ ต้นกล้าจะเกิดอาการ chlorosis (Knudson, 1951) ส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลองเป็นไปตามตารางที่ 3

นอกจากนั้นยังได้ดัดแปลงสูตร Mod.VW โดยลดปริมาณของ  $KNO_3$  ลงครึ่งหนึ่ง เพื่อให้ปริมาณของ  $NO_3^-$  ในอาหารต่ำลง เป็นการปรับอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนให้เอื้อต่อการสร้างตาออกมากขึ้น และใช้ KCl ทดแทน  $K^+$  ที่ขาดหายไป เรียกสูตรทดลองนี้ว่า Mod.VW. A

สำหรับสูตรที่เลือกใช้อีกหนึ่งสูตรคือ สูตรดัดแปลงของ Schenk and Hildebrandt ที่ถาวร และมนทกานติ (2519) ประสบความสำเร็จมาแล้วในการเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้หลายชนิด เรียกสูตรนี้ว่า Mod.SH

ทั้งสามสูตรทดลองเป็นสูตรที่มีธาตุอาหารหลักในปริมาณปานกลาง เพียงแต่ในสูตร Mod.SH มี  $KNO_3$  ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง ทุกสูตรทดลองใช้ธาตุอาหารรอง และวิตามิน ตามสูตร MS (1962) เติม glycine 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัม และฟอสฟอรัส 10 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3)

### 2.3 การทดลองเปรียบเทียบการเจริญของกล้วยไม้ในอาหารสูตรทดลอง 3 สูตร

การทดลองใช้กล้วยไม้ลูกผสมของ *Dendrobium* และ *Cattleya* โดยเปรียบเทียบการเจริญและน้ำหนักสดของต้นกล้าหลังจากเลี้ยงในอาหารดังกล่าวเป็นเวลา 3 เดือน และในสกุล *Oncidium* บันทึกผลการเจริญเมื่อเลี้ยงกล้าเป็นเวลา 12 เดือน

### 2.4 ศึกษาผลของ BA ต่อการชักนำการออกดอก

จากการสำรวจเอกสาร พบว่าการชักนำให้กล้วยไม้ออกดอกในหลอดแก้ว พบว่า BA มีผลต่อการออกดอกมาก งานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงผลของ BA ต่อการชักนำให้กล้วยไม้ ออกดอก โดยการเติม BA ความเข้มข้นดังนี้ 0, 1, 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสูตรอาหาร Mod. VW. A คือสูตรที่ 3, 4, 5, 6 และ 7 (ตารางที่ 6) สำหรับกล้วยไม้ที่ใช้ทดลองคือสกุล *Dendrobium* *Cattleya* และ *Oncidium*

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของอาหารสูตรดัดแปลง Vacin and Went (Mod.VW) สูตร Mod.VW.  
A และสูตรอาหาร Mod.SH

องค์ประกอบ	สูตรอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	Mod.VW	Mod.VW. A	Mod.SH
<b>ธาตุอาหารหลัก</b>			
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	-	-	150.00
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500.00	500.00	-
$\text{KNO}_3$	525.00	262.50	1250.00
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	250.00	250.00	-
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	286.00	286.00	100.00
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	177.00	177.00	-
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250.00	250.00	200.00
KCl	-	194.50	-
<b>ธาตุอาหารรอง(MS)</b>			
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.20	6.20	6.20
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	22.30	22.30	22.30
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60	8.60	8.60
KI	0.83	0.83	0.83
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	0.025
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.25	0.25
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	0.025
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.80	27.80	27.80
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.30	37.30	37.30
<b>วิตามิน</b>			
Nicotinic acid	0.50	0.50	0.50
Pyridoxine HCl	0.50	0.50	0.50
Thiamine HCl	0.10	0.10	0.10
<b>กรดอะมิโน</b>			

ตารางที่ 3 (ต่อ)

องค์ประกอบ	สูตรอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	Mod.VW	Mod.VW: A	Mod.SH
Glycine	2.0	2.0	2.0
<b>อื่นๆ</b>			
Sucrose(กรัมต่อลิตร)	30	30	30
Agar (กรัมต่อลิตร)	10	10	10

pH = 5.6 (ปรับด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl)

2.5 ศึกษาผลของ  $\text{NH}_4^+$  ต่อ  $\text{NO}_3^-$  ร่วมกับ BA ต่อการชักนำกลไกช่วยไม่ให้ออกดอกในหลอดแก้ว

การทดลองนี้วางแผนการทดลองโดยเลือกใช้ BA ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใช้ได้ผลมาแล้วจากงานวิจัยอื่น (Duan and Yazawa, 1994) โดยใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน 6 สูตร คือ Mod.VW Mod.VW. A Mod.SH Mod.SH. A Mod.SH B และ Mod.SH C โดยมีปริมาณไนโตรเจนรวมและ  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  ต่างๆ กัน (ตารางที่ 5) และมีปริมาณธาตุอาหารหลักที่ต่างกันด้วย (ตารางที่ 3 และ 4) พืชทดลองในส่วนนี้เหมือนกับข้อ 2.4

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของอาหารสูตรทดลอง Mod.SH และสูตรดัดแปลง

องค์ประกอบ	สูตรอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)**				
	SH	Mod.SH	Mod.SH A	Mod.SH B	Mod.SH C
<b>ธาตุอาหารหลัก</b>					
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	300.00	150.00	30.00	150.00	150.00
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	200.00	100.00	20.00	100.00	100.00
$\text{KNO}_3$	2,500.00	1,250.00	250.00	125.00	125.00
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	400.00	200.00	40.00	200.00	200.00
KCl	-	-	-	830.00	830.00
$\text{NH}_4\text{Cl}$	-	-	-	593.00	129.00
ธาตุอาหารรอง วิตามิน กรดอะมิโน และอื่น ๆ ตามตารางที่ 3					

pH = 5.6 (ปรับด้วย 1N NaOH หรือ 1N HCl)

\*\*อาหารสูตรทดลอง Mod.SH A ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักตามสูตร SH โดยมีปริมาณธาตุอาหารหลัก เท่ากับ 1/10 SH อัตราส่วนระหว่างเกลือ  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  เท่ากับ 1.0 : 10.0

\*\*อาหารสูตรทดลอง Mod.SH B ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักตามสูตร Mod.SH และลดปริมาณ  $\text{KNO}_3$  ลง 10 เท่า โดยเติม KCl ทดแทนปริมาณ  $\text{K}^+$  และปรับอัตราส่วนระหว่างเกลือ  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  เท่ากับ 10.0 : 1.0 โดยใช้  $\text{NH}_4\text{Cl}$

\*\*อาหารสูตรทดลอง Mod.SH C ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักตามสูตร Mod.SH และลดปริมาณ  $\text{KNO}_3$  ลง 10 เท่า โดยเติม KCl เพื่อทดแทนปริมาณ  $\text{K}^+$  และปรับอัตราส่วนระหว่างเกลือ  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  เท่ากับ 3.0 : 1.0 โดยใช้  $\text{NH}_4\text{Cl}$

## 2.6 การศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนในการชักนำการออกดอก

พืชหลายชนิดพบว่าในการออกดอกนั้น อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนในตัวพืชมีผลต่อการชักนำการเจริญของตาดอกและการพัฒนาของตาดอก การทดลองนี้ต้องการทราบว่าในกล้วยไม้ ความแตกต่างของสองธาตุนี้ในอาหารจะมีผลต่อการเกิดและการเจริญของตาดอกได้หรือไม่ โดยการทดลองร่วมกับ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ ถ้าเพิ่มปริมาณน้ำตาลลงในอาหารจะมีผลต่อการเกิดช่อดอกมากขึ้นหรือไม่ โดยศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของน้ำตาลที่ระดับ 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร Mod. VW. A คือสูตรที่ 6 และ 8 (ตารางที่ 6) โดยใช้พืชทดลอง 3 สกุล *Dendrobium* *Cattleya* และ *Oncidium*

## 2.7 วัสดุสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการชักนำกล้วยไม้ให้ออกดอกในหลอดแก้ว

สูตรทดลองที่ใช้มีทั้งหมด 13 สูตร โดยชักนำการออกดอกของกล้วยไม้ในสกุล *Dendrobium* *Cattleya* และ *Oncidium* ตามตารางที่ 6 โดยมีความแตกต่างของธาตุอาหารหลัก ส่วนธาตุอาหารรองใช้ตามสูตร MS (1962)

ตารางที่ 5 ปริมาณไนโตรเจนรวมและอัตราส่วนระหว่างเกลือ  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  ในอาหารสูตรทดลอง

สูตรอาหาร	ไนโตรเจนรวม (มิลลิโมลาร์)	$\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$
Mod.VW.	12.76	1.5 : 1.0
Mod.VW. A	10.17	3 : 1
Mod.SH	13.60	1 : 10
Mod.SH A	2.76	1 : 10
Mod.SH B	13.53	10 : 1
Mod.SH C	5.00	3 : 1

การคำนวณปริมาณไนโตรเจนรวม และ  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  แสดงตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ค

ตารางที่ 6 สูตรอาหารสูตรทดลองสำหรับชักนำการออกดอกของต้นกล้วยไม้

สูตรที่	สูตรทดลอง***	BA (มก/ล)	$\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$	น้ำตาล (ก/ล)	C : N
1	Mod.VW. <sub>B(0)</sub>	0	1.5 : 1	30	1050 : 12
2	Mod.VW. <sub>B(5)</sub>	5	1.5 : 1	30	1050 : 12
3	Mod.VW. A <sub>B(0)</sub>	0	3 : 1	30	1050 : 10
4	Mod.VW. A <sub>B(1)</sub>	1	3 : 1	30	1050 : 10
5	Mod.VW. A <sub>B(3)</sub>	3	3 : 1	30	1050 : 10
6	Mod.VW. A <sub>B(5)</sub>	5	3 : 1	30	1050 : 10
7	Mod.VW. A <sub>B(7)</sub>	7	3 : 1	30	1050 : 10
8	Mod.VW. A <sub>B(5)+Su60</sub>	5	3 : 1	60	1050 : 5
9	Mod.SH <sub>B(0)</sub>	0	1 : 10	30	1050 : 13
10	Mod.SH <sub>B(5)</sub>	5	1 : 10	30	1050 : 13
11	Mod.SH A <sub>B(5)</sub>	5	1 : 10	30	1050 : 2.5
12	Mod.SH B <sub>B(5)</sub>	5	10 : 1	30	1050 : 13.5
13	Mod.SH C <sub>B(5)</sub>	5	3 : 1	30	1050 : 5

- \*\*\*สูตรอาหาร Mod.VW. และ Mod.VW. A มีองค์ประกอบของธาตุอาหารต่างๆ ตามตารางที่ 3
- \*\*\*สูตรอาหาร Mod.SH , Mod.SH A, Mod.SH B, และ Mod.SH C มีองค์ประกอบของธาตุอาหารต่างๆ ตามตารางที่ 4
- \*\*\*B ( \_ ) หมายถึง ปริมาณ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เติมในอาหารสูตรทดลอง
- \*\*\* C/N ratio แสดงตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ค

## 2.8 ศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการออกดอก

เป็นที่ทราบกันดีว่าในน้ำมะพร้าวโดยเฉพาะในน้ำมะพร้าวอ่อนมีส่วนของไซโตโคนินมากพอสมควร จึงทดลองใช้น้ำมะพร้าว 100 มิลลิกรัมต่อลิตร แทนการใช้ BA รวมทั้งทดลองใช้มันฝรั่งซึ่งคาดว่าอาจจะมีผลต่ออัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนในอาหาร ซึ่งอาจมีผลต่อการออกดอกได้ โดยใช้มันฝรั่ง 150 กรัมต่อลิตร แทนการเพิ่มปริมาณน้ำตาล การเพิ่มสารอินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดนี้ เลือกใช้สูตรอาหาร Mod.VW และ Mod.VW. A (ตารางที่ 7 สูตรที่ 1 - 6) และใช้กล้าของ *Ascocenda* ที่เป็นลูกผสมของ *Ascocenda Yip Sum Wah x Vanda Mali* อายุ 6 เดือน ต้นมีความสูง 3 - 4 เซนติเมตร มีใบจริง 3 - 4 ใบ เป็นพืชทดลอง

## 2.9 ศึกษาผลของออกซินและไซโตโคนินต่อการออกดอก

วางแผนการทดลองโดยใช้ IAA 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมลงในอาหารสูตร Mod.VW. A ตลอดจนการใช้ IAA ร่วมกับ BA (ตารางที่ 7 สูตรที่ 7 - 11) และใช้ลูกผสมของ *Ascocenda* เป็นพืชทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.8

ตารางที่ 7 อาหารสูตรทดลองสำหรับกล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Ascocenda*

สูตรที่	สูตรอาหาร	สารอินทรีย์		สารควบคุมการเจริญ (มก/ล)	
		มันฝรั่ง (ก/ล)	น้ำมะพร้าว(มล/ล)	IAA	BA
1	Mod.VW.	-	-	-	-
2	Mod.VW.	150	-	-	-
3	Mod V.W.	-	100	-	-
4	Mod V.W.A	-	-	-	-

## ตารางที่ 7 (ต่อ)

สูตรที่	สูตรอาหาร	สารอินทรีย์		สารควบคุมการเจริญ (มก/ล)	
		มันฝรั่ง (ก/ล)	น้ำมะพร้าว(มล)	IAA	BA
5	Mod V.W.A	-	100	-	-
6	Mod V.W.A	150	-	-	-
7	Mod V.W.A	-	-	0.1	-
8	Mod V.W.A	-	-	1.0	-
9	Mod V.W.A	-	-	-	5.0
10	Mod V.W.A	-	-	0.1	5.0
11	Mod V.W.A	-	-	1.0	5.0

อาหารสูตรทดลองทั้งหมดนี้ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดความดัน 1.1 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## การบันทึกผล

การบันทึกผลการทดลองแบ่งได้เป็น

### 1. การรอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้ากล้วยไม้

#### 1.1 การรอกของเมล็ดกล้วยไม้

บันทึกผลการรอกของเมล็ดกล้วยไม้โดยการให้เป็นคะแนน หลังจากเพาะเมล็ดแล้ว 3 เดือน ต้นกล้ามีขนาดสูงประมาณ 0.3 - 0.5 เซนติเมตร โดยให้เป็นคะแนนโดยรวมแต่ละ flask ดังนี้

- 0 คือ เอมบริโอตายหรือเจริญในช่วงแรก และตายในเวลาต่อมา
- 1 คือ เอมบริโอตายและมีบางส่วนเจริญบ้างเล็กน้อย
- 2 คือ เอมบริโอเจริญช้า สีเขียว เริ่มเกิดใบ
- 3 คือ เอมบริโอเจริญช้า สีเขียว เกิดใบเล็กๆ
- 4 คือ เอมบริโอเจริญดี สีเขียว มีใบเล็กๆ โกล่เกิดราก
- 6 คือ เอมบริโอเจริญดี พัฒนาเป็นต้นกล้า มีใบและบางต้นเกิดราก
- 8 คือ เอมบริโอเจริญดี อยู่ระหว่าง 6 และ 10
- 10 คือ เอมบริโอเจริญดีมาก พัฒนาเป็นต้นกล้า มีใบและรากสมบูรณ์

#### 1.2 การเจริญของต้นกล้า

บันทึกการเจริญของต้นกล้า เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน โดยเก็บผลดังนี้

1.2.1 ชั่งน้ำหนักสดรวมต่อ flask โดยนำต้นกล้าซึ่งบนเครื่องชั่งน้ำหนักบอกความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง

1.2.2 ศึกษาการเจริญของต้นกล้วยไม้ที่เจริญดีที่สุด 3 flask แต่ละ flask เลือกต้นที่ดีที่สุด 5 ต้น โดยการตรวจนับและวัด

ก. จำนวนหน่อใหม่ต่อต้น

ข. จำนวนรากทั้งหมดต่อต้น

ค. ความยาวราก (วัดรากที่ยาวที่สุดจากโคนต้นถึงปลายราก ต้นละ

1 ราก

ง. จำนวนใบทั้งหมดต่อต้น

จ. ความสูง (วัดจากโคนต้นถึงปลายใบ)

ฉ. วัดพื้นที่ใบจากต้นที่นำมาศึกษาการเจริญ โดยใช้ใบที่ 2 จากยอดตัดที่ abscission zone นำมาติดบนแผ่นพลาสติกด้วยเทปใส จากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบ (Portable Area Meter รุ่น LI-3000A ของ บริษัท LI-COR, inc.)

## 2. การออกดอกของต้นกล้วยไม้

บันทึกผลการเจริญและการออกดอกของต้นกล้วยไม้ โดยวัดการเจริญและนับจำนวนช่อดอกที่เกิดขึ้น โดยแบ่งการบันทึกผลได้เป็น

2.1 การเจริญและการเกิดดอกของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* บันทึกผลเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรทดลองเป็นเวลา 1.5 เดือน (ต้นกล้ามีอายุ 7.5 เดือน) และ 3 เดือน (ต้นกล้ามีอายุ 9 เดือน) โดยบันทึกผลดังนี้

2.1.1 น้ำหนักสด

2.1.2 จำนวนหน่อใหม่ต่อต้น

2.1.3 จำนวนราก

2.1.4 จำนวนใบ

2.1.5 ความสูงของต้น

2.1.6 จำนวนช่อดอกที่เกิดขึ้นเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย

2.2 การเจริญและการเกิดดอกของกล้วยไม้สกุล *Cattleya* บันทึกผลเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรทดลอง เป็นเวลา 3 เดือน (ต้นมีอายุ 9 เดือน) และ 12 เดือน (ต้นกล้ามีอายุ 18 เดือน) โดยบันทึกเช่นเดียวกับกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

2.3 การเจริญและการเกิดดอกของกล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Oncidium* บันทึกผลเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรทดลอง เป็นเวลา 12 เดือน (ต้นกล้ามีอายุ 16 เดือน) โดยบันทึกผลได้เป็น

2.3.1 น้ำหนักสดต่อต้น

2.3.2 การแตกกอต่อต้น โดยแบ่งเป็น แตกกอมากกว่า 10 ต้น แตกกอบ้าง และไม่แตกกอ

2.3.3 การเจริญของราก โดยการเจริญแบ่งได้เป็น เจริญดี ปานกลาง และเจริญไม่ดี

2.3.4 การให้คะแนนการเจริญโดยให้คะแนนเป็น

5 คือ การเจริญของต้นและรากไม่ดี แทบจะไม่เจริญเลย

6 คือ การเจริญของต้นและรากไม่ดี มีการแตกกอเป็นกอเล็ก กอน้อยไม่สมบูรณ์

7 คือ การเจริญของต้นและรากพอใช้ แตกกออย่างน้อย 1 กอต่อต้น ความสูงประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร

8 คือ การเจริญของต้นและรากดีพอใช้ แต่มีการแตกกอต่อต้นจำนวนมาก

9 คือ การเจริญของต้นและรากดีมาก แต่ไม่มีการแตกกอ ความสูงของต้นประมาณ 3 - 5 เซนติเมตร

10 คือ การเจริญของต้นและรากดีมาก มีการแตกกออย่างน้อย 1 กอต่อต้น ความสูงของต้นประมาณ 3 - 5 เซนติเมตร

2.3.5 การเกิดดอกเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย

2.4 การเจริญและการเกิดดอกของกล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Ascocenda* บันทึกผลเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรทดลอง เป็นเวลา 12 เดือน ขณะที่ต้นมีอายุ 12 เดือน โดยบันทึกผลได้เป็น

#### 2.4.1 น้ำหนักสดต่อต้น

2.4.2 การเจริญของราก โดยแบ่งการเจริญได้เป็น เจริญดี ปานกลาง และเจริญไม่ดี

#### 2.4.3 การให้คะแนนการเจริญ โดยให้คะแนนเป็น

5 คือ การเจริญของต้นและรากไม่ค่อยดี ต้นสูงประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร มีใบ 4 - 5 ใบ

6 คือ การเจริญของต้นและรากดีพอใช้ ต้นสูงประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร มีใบ 6 - 7 ใบ

7 คือ การเจริญของต้นและรากดีพอใช้ ต้นสูงประมาณ 4 - 5 เซนติเมตร มีใบ 7 - 8 ใบ

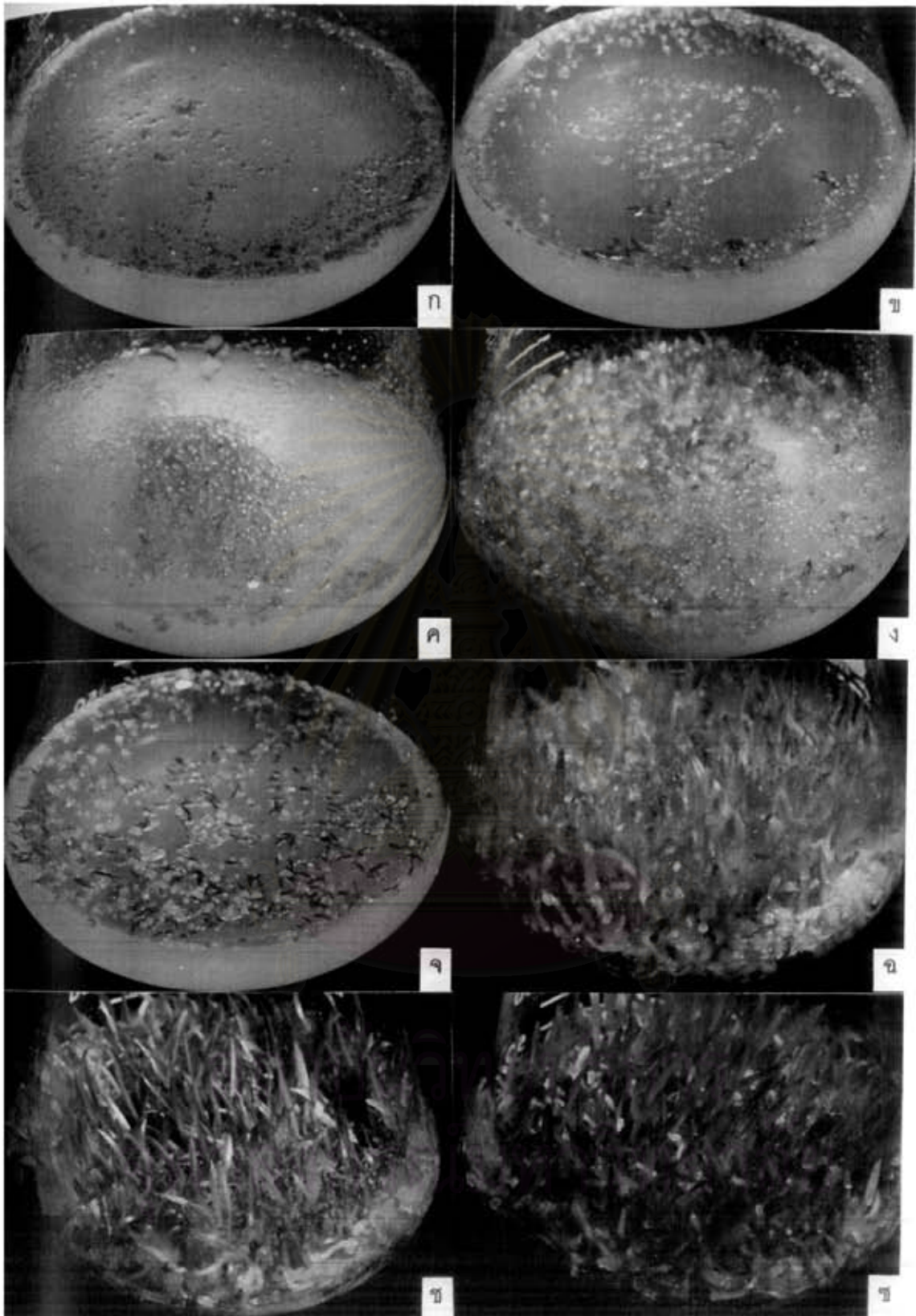
8 คือ การเจริญของต้นและรากดี ต้นสูงประมาณ 5 - 6 เซนติเมตร มีใบ 7 - 8 ใบ

9 คือ การเจริญของต้นและรากดี ต้นสูงประมาณ 6 - 7 เซนติเมตร มีใบ 8 - 9 ใบ

10 คือ การเจริญของต้นและรากดีมาก ต้นสูงประมาณ 9 - 10 เซนติเมตร มีใบ 8 - 9 ใบ

#### การหาค่าทางสถิติ

การวางแผนการทดลอง ใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Design) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างอาหารสูตรทดลอง ด้วยวิธีการเปรียบเทียบแบบ DMRT (Duncan 's Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 1 คະแนนการเจริญระดับต่างๆ ของเมล็ดกล้วยไม้หลังจากเพาะเป็นเวลา 3 เดือน

ก = 0 คະแนน

ข = 1 คະแนน

ค = 2 คະแนน

ง = 3 คະแนน

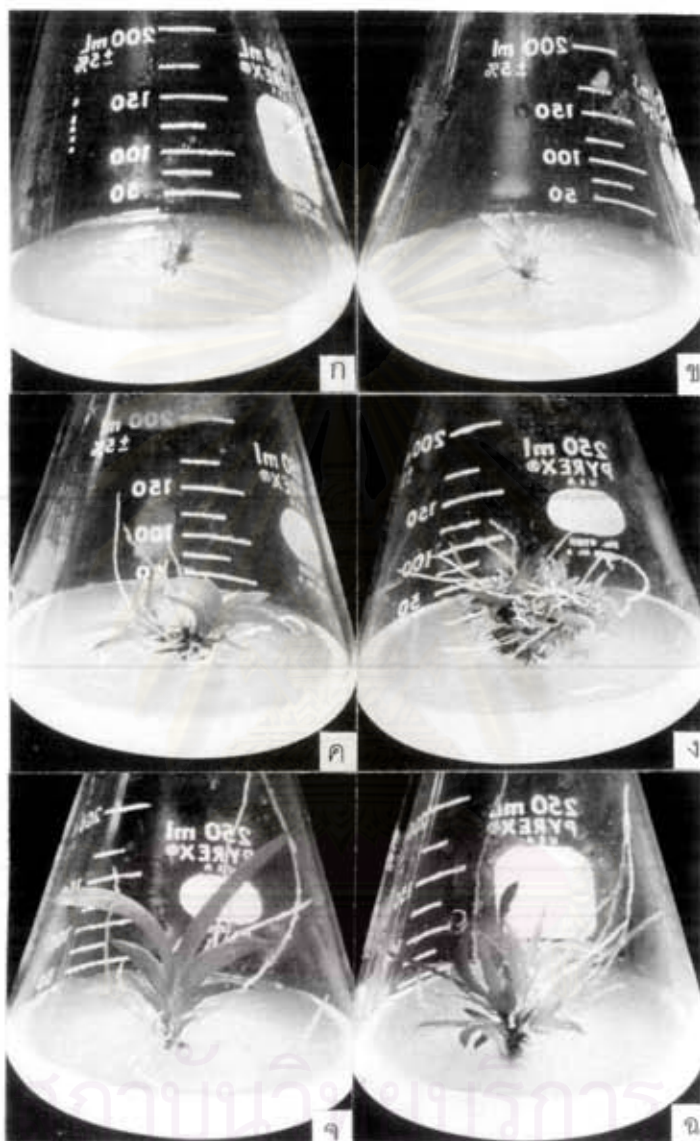
จ = 4 คະแนน

ฉ = 6 คະแนน

ช = 8 คະแนน

ซ = 10 คະแนน





ภาพที่ 2

คะแนนการเจริญของ *Oncidium passionata* อายุ 16 เดือน ในอาหารสูตรทดลอง

ก = 5 คะแนน

ข = 6 คะแนน

ค = 7 คะแนน

ง = 8 คะแนน

จ = 9 คะแนน

ฉ = 10 คะแนน