ผลของไดโอดเปล่งแสงและสูตรอาหารต่อการพัฒนาของกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Light Emitting Diodes and Medium on *In Vitro* Development of *Phalaenopsis* Orchids

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชส่งออกที่สำคัญพืชหนึ่งของประเทศไทย กระทรวงเกษตรและสหกรณ์กำหนดให้กล้วยไม้เป็นหนึ่งในสี่ของพืช Product Champion เนื่องจากเป็นพืชที่ทำรายได้สูงและปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี จากข้อมูลการส่งออกกล้วยไม้ที่ขอใบรับรองปลอดศัตรูพืชของงานมาตรฐานและบริการตรวจพืช กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ในปี 2547 มีมูลค่า 2,481 ล้านบาท และในปี 2548 มีมูลค่าสูงขึ้นเป็น 2,984 ล้านบาท โดยแยกเป็นกล้วยไม้ตัดดอก มูลค่า 2,538 ล้านบาท และกล้วยไม้กระถาง มูลค่า 446 ล้านบาท ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ ญี่ปุ่น อิตาลี และอเมริกา สำหรับประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมในการปลูกกล้วยไม้เมืองร้อน สามารถส่งออกได้เป็นอันดับ 1 ของโลก

เนื่องจากกล้วยไม้ของไทยได้รับความนิยมอย่างต่อเนื่องทั้งในประเทศและนอกประเทศ ดังนั้นกล้วยไม้เป็นพืชที่มีอนาคตซึ่งมีตลาดรองรับที่แน่นอน จะเห็นได้จากราคาส่งออกดอกกล้วยไม้สดที่สูงขึ้นในแต่ละปี (กรมศุลกากร, 2548) กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิสเป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมอย่างสูงในตลาดต่างประเทศ เช่น ในปี 2545 ประเทศเนเธอร์แลนด์มีการผลิตไม้กระถาง 18 ล้านกระถาง โดยเป็นกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสมากถึงร้อยละ 33 ในประเทศไต้หวันมีการผลิตกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสถึง 36 ล้านต้นต่อปี โดยส่งไปยังประเทศต่างๆเช่น ญี่ปุ่น จีน และสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์ฟาแลนนอพซิสโดยการผสมข้ามชนิดหรือข้ามสกุล จนได้ต้นที่มีลักษณะ ต้น ขนาดดอก และสีของดอกเหมาะสมกับการเป็นกล้วยไม้กระถาง ดอกมีหลายสี เช่น สีขาว สีชมพู สีเหลือง อาจออกดอกได้พร้อมกันหลายช่อ

ปัจจุบันการขยายพันธุ์ของกล้วยไม้สกุล ฟาแลนนอพซิส นิยมขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากขยายพันธุ์ได้ในปริมาณที่มาก แต่มีปัญหาเนื่องจากการเลี้ยงต้นในสภาพปลอดเชื้อนั้น ต้องให้แสงไฟฟ้าที่ชั้นวางขวดตลอดเวลาในการชักนำในระยะต่างๆ โดยปกติจะเปิดไฟที่ชั้นนาน 16 ชั่วโมงต่อวัน ซึ่งมีผลทำให้เกิดมีต้นทุนเพิ่มขึ้น (Jao *et al*., 2003) โดยต้นทุนดังกล่าวได้แก่ ค่าไฟ ค่าหลอดในระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนั้นยังเกิดความร้อนที่หลอดไฟปล่อยออกมาทำให้อุณหภูมิห้องสูงขึ้น

ดังนั้นการทดลองหาแหล่งของแสงที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส เพื่อหาแนวทางการแก้ไขปัญหาประหยัดพลังงานซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการศึกษาในเรื่องดังกล่าว การศึกษาโดยนำหลอด LEDs (Light Emitting Diodes) มาใช้ทดแทนหลอดฟลูออเรสเซนส์ เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชและประหยัดพลังงานมากกว่า ผลที่ได้อาจเป็นทางเลือกใหม่เพื่อการประหยัดพลังงานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในเชิงธุรกิจต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของแสงจากหลอด LEDs ร่วมกับสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส

2. เพื่อศึกษาผลของแสงจากหลอด LEDs ต่อการชักนำ PLBs และการเจริญเติบโตของต้นฟาแลนนอพซิสที่ขยายพันธุ์โดยการปักชำตาที่ก้านช่อดอก

3. เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมของแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส (*Phalaenopsis*) เป็นกล้วยไม้ที่มีการเจริญเติบโตแบบ monopodial เป็นกล้วยไม้อากาศ (epiphytic) ขนาดกลาง ดอกมีขนาดใหญ่ กลีบกว้าง ต้นสั้น ราก ใหญ่ ใบกว้าง หนา และอวบน้ำ เรียงซ้อนเวียนรอบต้น ลู่ลงเล็กน้อย แผ่นใบแผ่แบนมักจะกว้างค่อน ไปทางปลายและแคบลงที่ใกล้โคน ช่อดอกเกิดจากซอกใบ ขนาดดอกค่อนข้างใหญ่ กลีบแผ่ออก เกือบอยู่ในระนาบเดียวกัน และมักจะอวบน้ำ บางชนิดมีใบขนาดเล็กมากหรือทิ้งใบเก่าในฤดูแล้ง รากสีเขียวมีคลอโรฟิลล์ (chiorophyll) ไว้ช่วยปรุงอาหารอีกทางหนึ่ง (ระพี, 2516 ; อบฉันท์, 2547) มีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เทือกเขาหิมาลายันไปจนถึงหมู่เกาะโพลิลโลและหมู่เกาะ พาลาวันในประเทศฟิลิปปินส์ถึงทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย ส่วนมากเป็นกล้วยไม้อิง อาศัยที่ชอบแสงน้อย มีไม่กี่ชนิดที่ขึ้นตามโขดหิน (Kim *et al*., 2003 ; Tom, 2004) ที่สำรวจพบทั่ว โลกมีประมาณ 50 ชนิด ปกติมีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 36 ส่วนลูกผสมมีโครโมโซม 2n เท่ากับ 114 ซึ่งเป็น hexaploid (Sagawa, 1961)

พันธุ์ที่นิยมปลูกเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นลูกผสมจาก *P. amabilis*, *P. aphodit*, *P. schillerana* *P. equestris, P. stuartiana* และ *P. lindenii* (Tanaka , 1992) โดยทั่วไปดอกสีขาวขนาดใหญ่จะเป็น ที่นิยมในตลาด แต่ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์ทำให้มีดอกหลากสี เช่น สีชมพูลายแถบ, สีชมพู, สี ชมพูจุดดำ, สีเขียว และสีเหลืองเพื่อให้มีความหลากหลายแก่ผู้ซื้อในการเลือกซื้อ

กล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสมีการเจริญเติบโตได้ดีตลอดปี แต่มีการเจริญเติบโตช้าในฤดู หนาวเนื่องจากอุณหภูมิที่ต่ำ และจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน สามารถ เจริญได้ดีในโรงเรือนกระจกที่มีอุณหภูมิอบอุ่นที่มีอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียสและต่ำสุดถึง 4-5 องศาเซลเซียส ส่วนในฤดูร้อนสามารถทนอุณหภูมิได้ถึง 30 องศาเซลเซียสโดยไม่ก่อให้เกิดความ เสียหายต่อต้นพืช กล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสเป็นพืชที่มีการสังเคราะห์แสงแบบ CAM (crasulacean acid metabolism) ซึ่งเจริญเติบโตได้ดีภายใต้อุณหภูมิกลางวัน 30 องศาเซลเซียส กลางคืน 25 องศา เซลเซียสสามารถตรึง CO_2 ได้ดีที่สุดเมื่อมีค่า PPF ในระหว่างวันมีค่าระหว่าง 100-200 $umol.m^{-2}.s^{-1}$ (Lee, 2005)

การขยายพันธุ์ฟาแลนนอพซิส

1.การขยายพันธุ์โดยอาศัยเพศ หรือการเพาะเมล็ด (sexual propagation or embryo culture) การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดนั้น เมล็ดกล้วยไม้นั้นสามารถงอกได้น้อยมากตามธรรมชาติเนื่องจากมีอาหารสะสมในเมล็ดน้อยและต้องอาศัยเชื้อราตามธรรมชาติสร้างสารประกอบพวกแป้ง และได้มาซึ่งน้ำตาล แต่ภายใต้สภาพในห้องปฏิบัติการนั้น การใช้อาหารที่มีน้ำตาลและธาตุอาหารอื่นๆในภาวะปลอดเชื้อทำให้เมล็ดงอกได้โดยปราศจากเชื้อราดังกล่าว นอกจากนี้ภายในขวดเพาะเมล็ดยังเปรียบเสมือนเกราะป้องกันเมล็ดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม การงอกและการพัฒนาของเมล็ดนั้นมี 2 ระยะดังนี้ (Kano, 1965)

1.1 ระยะโปรโตคอร์ม (protocorms) ลักษณะของเมล็ดที่แสดงว่ามีการงอกอย่างสมบูรณ์เมื่อเอมบริโอในเมล็ดกล้วยไม้เริ่มบวมโตขึ้นและมีสีเขียว การที่เอมบริโอโตขึ้นและมีลักษณะปลายแหลมแสดงว่ามีการเจริญเติบโตเกิดขึ้นและเรียกเมล็ดที่งอกในระยะนี้ว่า โปรโตคอร์ม

1.2 ระยะต้นกล้า (seedling) ต้นกล้ากล้วยไม้จะพร้อมออกจากขวดเมื่อรากและใบมีการพัฒนาเต็มที่แล้ว ในกล้วยไม้สกุลหวายจะสามารถนำออกปลูกได้หลังจากย้ายต้นกล้าลงอาหารใหม่แล้ว 4-6 เดือน แวนด้า, ฟาแลนนอพซิสและคัทลียา 6-8 เดือน

กระบวนการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นอ่อน

การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ต่างจากการงอกของเมล็ดพืชนิดอื่น โดยเมื่อเมล็ดได้รับน้ำตาลและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม จะนำธาตุอาหารเข้าไปใช้ในการงอกและการเจริญเติบโต ซึ่งมีลักษณะการงอกและการพัฒนาของต้นอ่อนแบ่งเป็นระยะต่างๆได้ดังนี้ 1. เมล็ดสมบูรณ์ แต่ยังไม่งอก 2. เมล็ดขยายขนาดจากเดิม 5 – 10 เท่า โดยเอ็มบริโอมีขนาดใหญ่ขึ้นอาจมีสีขาว (กล้วยไม้ดิน) หรือสีเขียว (กล้วยไม้อากาศ) และจะดันเปลือกเมล็ดแตกออก 3. เอ็มบริโอมีลักษณะเป็นก้อนกลมปลายแหลมและมีรากขนอ่อน หรือ rhizoid เกิดขึ้นโดยรอบ เรียกว่า โปรโตคอร์ม (protocorm) 4. โปรโตคอร์มผลิใบยอดแหลม 1 ใบ ทางด้านบนพัฒนาเป็นต้นอ่อน 5. ต้นอ่อนมีใบยอด 2 ใบ 6. ต้นอ่อนมีใบยอด 3 – 4 ใบ และมีรากอย่างน้อย 1 ราก 7. ต้นอ่อนสูงประมาณ 7 – 10 เซนติเมตร มีระบบรากที่แข็งแรงนำออกปลูกภายนอกได้ (จิตราพรรณ, 2548)

จุฑามาศ (2549) ได้ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ *Phalaenopsis* Minho Valentine 'Taisuco' พบว่า เมล็ดมีการงอกและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มมากที่สุด ในอาหารสูตร Vacin-Went ดัดแปลง ที่เติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบดและผงถ่าน และ โปรโตคอร์มมีการพัฒนาไปเป็นต้นกล้าได้ดีที่สุด ในอาหารสูตร Vacin-Went ดัดแปลง ที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตรร่วมกับกล้วยหอมบด 20 กรัมต่อลิตรและผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร

อิทธิพล (2523 ก) ได้ทำการเพาะเมล็ดฝักอ่อนอายุ 3 เดือนของกล้วยไม้ลูกผสม *Vanda* Roth-schildiana x *V. sanderana* ในวุ้นอาหารสูตร Vacin - Went ดัดแปลง ที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 20 เปอร์เซนต์ ใช้กล้วยหอมระดับความสุกต่างกันคือ ดิบ, ห่ามและสุก ร่วมกับระดับน้ำตาลต่างๆกัน คือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 กรัมต่อลิตร พบว่า สูตรที่ไม่ใส่น้ำตาลและใส่กล้วยดิบมีเปอร์เซนต์การงอกสูงสุด 87.7% การใส่กล้วยช่วยให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์การงอกสูงกว่าสูตรที่ไม่ใส่กล้วยและยังช่วยให้โปรโตคอร์มมีขนาดใหญ่กว่าและสีเขียวเข้มกว่า โดยการใช้กล้วยดิบมีเปอร์เซนต์การงอกสูงกว่าการใช้กล้วยห่ามและกล้วยสุก

Anderson (1967) พบว่าการใส่กล้วยลงในอาหารสูตร Knudson C สามารถเร่งการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Cattleya* ได้มากขึ้น และ Ernst (1974) เสนอว่าการใส่กล้วยลงในอาหารถ่ายขวด *Phalaenopsis* จะทำให้ต้นอ่อนเจริญได้ดีขึ้น และควรหลีกเลี่ยงการใส่กล้วยลงในอาหารที่ใช้เพาะ*Paphiopedilum* เพราะจะทำให้ต้นอ่อนที่งอกขึ้นมาหยุดการเจริญเติบโต (Ernst, 1967b, 1974) นอกจากนี้ Arditti (1968) ยังพบว่าการเติมกล้วย 150 กรัมต่อลิตรในอาหารสูตร Knudson C สามารถเร่งการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้ *Cymbidium aurantiaca* ได้ดีขึ้นอีกด้วย

Ernt (1967a) ทดลองเพาะเมล็ด *Phalaenopsis* ลูกผสม *Phalaenopsis* Elisa x *Phal.*Best Girl และ *Phal.* Ruby Lips x *Phal.* New Era จากฝักอายุ 5 เดือน บนอาหารแข็งสูตร Knudson C ที่เติมอินทรีย์สารชนิดต่างๆ ได้แก่ กล้วย สับปะรด มะละกอ มะเดื่อ มะม่วง มะเขือเทศ raspberries องุ่น กีวีฟรุต เห็ด (*Psaliota campestris*) และน้ำมะพร้าว พบว่าการเติมกล้วย 15 เปอร์เซนต์ มีผลการกระตุ้นการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นกล้ากล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส โดยมีน้ำหนักสด ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวรากและจำนวนรากมากกว่าการเติมอินทรียสารชนิดอื่นๆ

Knudson (1922) รายงานว่า เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ในสภาพปลอดเชื้อโดยไม่ต้องอาศัยเชื้อรา mycorrhiza มาช่วยในการงอก เพียงแต่ในสูตรอาหารที่ใช้เพาะต้องมีน้ำตาลและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการงอกและการเจริญของต้นอ่อนจึงทำให้มีการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้

Pierik (1997) รายงานว่า น้ำตาลเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เพราะในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด และการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้จำเป็นต้องใช้น้ำตาล โดยน้ำตาล sucrose จะมีการเปลี่ยนรูปไปเป็น glucose และ fructose เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราการเจริญเติบโตของต้นพืชจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเลยจุดสูงสุดที่เหมาะสมไป การเจริญเติบโตก็จะลดลง นอกจากนี้น้ำตาลยังเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ โดยพบว่าเมล็ดของ *Paphiopedilum ciliolare* และลูกผสมชนิดอื่น ๆ ในสกุลนี้จะไม่งอกเลยถ้าไม่มีน้ำตาล (Pierik *et al*, 1988) เพราะเมล็ดต้องการแหล่งคาร์โบไฮเดรตจากภายนอกเมล็ดเพื่อเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้สำหรับการงอก (Lucke, 1971) การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในปัจจุบันนิยมใช้น้ำตาลทรายหรือซูโครส (table sugar) เพราะหาได้ง่ายและราคาถูก (จิตราพรรณ, 2536)

<u>ผลของแสงต่อการงอกของเมล็ด</u>

พืชบางชนิดต้องการแสงในการงอก เรียกว่า photoblastic seed เมล็ดจะตอบสนองต่อแสง 2 แบบคือ เมล็ดที่แสงมีผลส่งเสริมการงอก และ เมล็ดที่แสงมีผลยับยั้งการงอก โดยจะมีไฟโตโครมเป็นตัวรับแสง ในสภาพมีแสง Pr จะเปลี่ยนเป็น Pfr ซึ่ง Pfr จะชักนำการงอกของเมล็ด โดยที่ไฟโตโครม Pr จะดูดกลืนแสงช่วงความยาว 667 นาโนเมตร (red) และไฟโตโครม Pfr ดูดกลืนแสงช่วงความยาว 725 นาโนเมตร (far-red) (ลิลลี่, 2546) การงอกของเมล็ดถูกควบคุมด้วยปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอก โดยแสงเป็นปัจจัยภายนอกที่สำคัญในการควบคุมการงอกของเมล็ด เช่นการงอกของ *Lettuce* และ *Arabidopsis* แสงจะเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการงอก โดยแสงสีแดง (red) จะชักนำให้เกิดการงอก ส่วนแสง far-red จะยับยั้งการงอก เนื่องจากไฟโตโครมจะควบคุมการสังเคราะห์ GA ภายในเมล็ด โดยเมล็ดจะมี GA เพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับแสง (red) แต่จะถูกยับยั้งเมื่อได้รับแสง (far-red) (Borthwick *et al.*, 1952)

Arditti (1984) รายงานว่า การงอกของเมล็ดกล้วยไม้จะแตกต่างกันตามความต้องการและการตอบสนองต่อแสง กล้วยไม้อากาศส่วนมากสามารถงอกได้ทั้งในสภาพที่มีแสงและในสภาพที่ไม่มีแสง โดยแสงจะเป็นปัจจัยในการพัฒนาส่วนยอดและราก แต่ในกล้วยไม้ดินเช่น สกุลรองเท้านารีหลังการเพาะเมล็ดแล้วต้องวางขวดในที่มืดนาน 20-30 วัน แล้วย้ายไปที่แสงสลัวประมาณ 20 วัตต์ นาน 3-5 เดือน (จิตราพรรณ, 2548)

2. การขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ (Asexual or Vegetative Propagation) ทำได้หลายวิธีเช่น การแยกกอ การเกิดต้นอ่อนจากตาที่ก้านช่อดอก การตัดปลายยอดให้มีรากติด และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่นิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากสามารถขยายพันธุ์ได้ปริมาณมาก (Tanaka, 1992; Bilton, 1998)

<u>การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้</u>

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชถูกนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการขยายพันธ์พืชให้ได้ต้นปลอดโรคเป็นจำนวนมากอย่างรวดเร็ว (rapid asexual propagation) สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปี ปกติจะผลิตต้นพันธุ์ขนาดเล็ก (miniplant หรือ plantlet) เช่น กล้วยไม้ (อรดี, 2541) สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้นั้นนิยมใช้สูตรของ Vacin - Went (1949) และเมื่อได้ต้นขนาดเล็กจำนวนมากพอจะถ่ายขวดลงอาหารวุ้นสูตรเดิม ซึ่งเพิ่มน้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม และมันฝรั่งเพื่อให้ได้ต้นขนาดใหญ่ มีระบบรากสมบูรณ์ สามารถนำออกปลูกได้โดยไม่ตาย (จิตราพรรณ, 2511) อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีหลายสถานะด้วยกันคือ มีทั้งอาหารแข็งและอาหารเหลวโดยอาหารเหลวจะเหมาะสำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนให้ได้อย่างรวดเร็วแต่ก็ขึ้นกับชนิดของพืชด้วย (Arditti, 1977)

<u>ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u>

การขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบด้วย 5 ขั้นตอน (อรดี, 2541; Debergh and Read, 1991) ได้แก่

1. ขั้นตอนการเตรียม (preparative stage) เป็นการฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนพืช (explant)

2. การเพาะเลี้ยงในระยะแรก (initiation of culture) เป็นการชักนำให้เกิดแคลลัส หรือ PLBs

3. การเพิ่มจำนวน (multiplication) โดยการเพิ่มจำนวนแคลลัสหรือ PLBs

4. การชักนำให้พัฒนาเป็นต้น (elongation and induction or development) คือการชักนำให้แคลลัสหรือ PLBs นั้นพัฒนาเป็นต้น

5. การย้ายไปปลูกในโรงเรือน

<u>การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis*</u>

เนื่องจากการขยายพันธุ์โดยแยกกอทำได้ยาก จึงเหมาะสมที่จะนำมาขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Arditti and Earnst, 1993) ต่อมา Tanaka and Sakaninishi ได้ทำการชักนำโปรโตคอร์มจากก้านช่อดอกซึ่งโปรโตคอร์ม ดังกล่าวสามารถพัฒนาไปเป็นพืชต้นใหม่ได้ที่ให้ดอกที่มีลักษณะเหมือนต้นเดิม (Tanaka and Sakaninishi, 1977, 1980; Tanaka, 1992)

ชิ้นส่วนต่างๆของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* ที่มีการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีดังนี้

อรดี (2521) ได้ทดลองนำเอาตาบนก้านช่อดอกมาเลี้ยง พบว่า ตาบนก้านช่อดอกมีการเจริญเติบโต 4 แบบ คือ 1.ตาบนก้านช่อดอกพักตัว 2. เจริญไปเป็นต้น 3. เจริญไปเป็นโปรโตคอร์ม 4. เจริญไปเป็นช่อดอก

Intuwong and Sagawa (1974) ได้รับผลสำเร็จในการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอด (shoot tip) ของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* ในอาหารสูตร Vacin-Went ดัดแปลง

Sagawa (1961) และ Tse *et al*. (1971) ได้ทดลองนำส่วนตาที่ข้อของลำต้นของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Tanaka *et al*. (1976) ทดลองใช้ปลายราก (root tip) ของต้นอ่อน *Phalaenopsis amabilis* ลูกผสม ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสูตรอาหาร MS สามารถชักนำให้เกิด PLBs ได้หลังเพาะเลี้ยง 260 วัน

Tanaka and Sakanishi (1980) ทดลองเลี้ยงใบอ่อนของหน่อ ที่เกิดจากการชำก้านช่อดอกของ *Phalaenopsis amabilis* บนอาหารสูตรเกียวโตดัดแปลง พบว่าสามารถชักนำให้เกิด PLBs ได้ดีและขยายปริมาณได้ดีในอาหารสูตร Vacin-Went ดัดแปลง

การเพิ่มปริมาณ PLBs

การเลี้ยงชิ้นส่วนพืชเพื่อให้เกิด PLBs ในระยะนี้นิยมเลี้ยงในอาหารเหลว เนื่องจากพบว่าถ้าเลี้ยงในอาหารเหลวทุกส่วนของเนื้อเยื่อจะได้รับอาหารเท่ากัน และช่วยเพิ่มพื้นที่รับอาหารของเนื้อเยื่อมากขึ้น (จิตราพรรณ, 2548 ; Kako, 1973) ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวต้องใช้เครื่องเขย่า (shaker) เพื่อช่วยให้เนื้อเยื่อได้รับอากาศนอกจากนั้นยังทำลาย polarity ของเนื้อเยื่อ ซึ่งจะไปยับยั้งการเกิดเป็นยอดและราก (Scully, 1967 ; street, 1969; Wimber, 1963) จากสาเหตุดังกล่าวการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวจะทำให้เกิด PLBs ได้ดีกว่าการเลี้ยงในอาหารแข็ง (Steward *et al*., 1958; White, 1963 ; Wimber, 1965) และการเพิ่มปริมาณ PLBs สามารถทำได้โดยเลี้ยงในอาหารเหลวและแข็ง สำหรับการชักนำ PLBs ให้เกิดเป็นต้น ซึ่งนิยมลี้ยงบนอาหารแข็ง เนื่องจาก PLBs ถูกชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ได้ดีในสภาพอาหารแข็งเนื่องจากชิ้นส่วนพืชอยู่ในสภาพ polarity

Park *et al.* (1996) ศึกษาประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณ PLBs ของกล้วยไม้สกุล *Doritanopsis* โดยเปรียบเทียบการใช้อาหารเหลวดัดแปลง 3 สูตร คือ สูตร MS ที่เติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร สูตร Hyponex ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 15 กรัมต่อลิตร และสูตร Vacin-Went ดัดแปลงโดยเติมน้ำมะพร้าว 20% น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร Vacin-Went ดัดแปลง ให้ผลดีที่สุด โดยเพิ่ม PLBs ได้ 30 เปอร์เซ็นต์ และถ้าวาง PLBs บน Cotton plate จะสามารถเพิ่ม PLBs ได้ 80-100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

Park *et al*. (2002) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการการเพิ่มปริมาณ PLBs พบว่า การเพิ่มปริมาณ PLBs ประสบความสำเร็จเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Hyponex ดัดแปลงสูตรที่มีการเติม peptone 2 กรัมต่อลิตร + 3 % (w/v) เนื้อมันฝรั่งบด และผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อลิตร จะได้ชิ้นส่วน PLBs จำนวน 13-18 ชิ้น จากชิ้นส่วน PLBs 1 ชิ้น

<u>แสงกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u>

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งในการเจริญเติบโตและคุณภาพของต้นพืช ชนิดของแสงที่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง คือ visible light ซึ่งเป็นแสงที่ตามองเห็น มีความยาวคลื่นระหว่าง 380-760 นาโนเมตรการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชนั้นขึ้นกับแสง ซึ่งมีผลในการสังเคราะห์แสง และมีผลต่อสัณฐานวิทยาของพืช (ศรีสม, 2546) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นก็ต้องการแสงเช่นเดียวกัน เพียงแต่ต้องการในปริมาณที่น้อยกว่า (Seibert and Kadkade, 1980)

เมื่อนำเนื้อเยื่อของพืชเหล่านี้มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ พืชหลายชนิดต้องการความมืดในการเกิดรากหรือยอด เช่น freesia เนื้อเยื่อต้องได้รับความมืดประมาณ 8 สัปดาห์เพื่อเกิดตายอด หากได้รับแสงตลอดตายอดจะไม่เกิด จึงเห็นได้ว่าแสงเป็นตัวจำกัด (limiting factor) ในการเกิดตายอด แต่มีพืชอีกหลายชนิดที่จะเกิดยอดหรือรากได้ก็ต่อเมื่อได้รับแสงเท่านั้น ดังนั้นการให้แสงแก่เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไม่ได้มีจุดประสงค์ในการสังเคราะห์แสงเท่านั้น แต่เพื่อช่วยในการเกิดสัณฐานวิทยาด้วย (Burstrom, 1965)

การให้แสงแก่เนื้อเยื่อนี้ควรพิจารณา ดังนี้

1. คุณภาพของแสง (light quality) จากการทดลองพบว่าแสงสีแดง (red light) และแสงสีน้ำเงิน (blue light) มีความสำคัญในการชักนำให้เกิดยอด จากเนื้อเยื่อหลายชนิดที่นำมาเลี้ยงในขณะที่แสง (far-red light) มักจะยับยั้งการเกิดยอด

2. ความเข้มแสง (intensity) โดยปกติในการเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืช เริ่มแรกจะให้ความเข้มแสงที่ต่ำ คือ ประมาณ 100 กำลังแรงเทียน หรือต่ำกว่าเพื่อให้เกิดตายอด (shoot primodia) จากนั้นจะให้ความเข้มแสงเพิ่มขึ้นเป็น 300-1,000 กำลังแรงเทียน เพื่อช่วยให้ตายอดเจริญได้ดี

3. ระยะเวลาให้แสง (light duration) โดยทั่วๆไปมักจะให้แสงแก่เนื้อเยื่อพืชประมาณ 16 ชั่วโมง/วัน และมีช่วงมืด 8 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลดีในการเกิดสัณฐานวิทยาในพืชหลายชนิด แต่มีพืชที่ต้องการแสงต่ำกว่า 16 ชั่วโมง (ไพบูลย์, 2525)

<u>คุณสมบัติและสีของหลอด LEDs</u>

(Jao *et al*., 2003; LEDstronics, 2005) ได้รายงานว่า Light Emitting Diodes (LEDs) คือ ไดโอดซึ่งสามารถเปล่งแสงออกมาได้ โดยที่แสงที่เปล่งออกมาประกอบด้วยคลื่นความถี่เดียวและเฟสต่อเนื่องกัน ซึ่งแตกต่างกับแสงธรรมดาที่ตาคนมองเห็น อันประกอบด้วยคลื่นซึ่งมีเฟสและความถี่ต่าง ๆ กันมารวมกัน จึงทำให้หลอด LEDs มีลักษณะที่ดีกว่าหลอดธรรมดาคือ

1. ประหยัดพลังงานมากกว่าหลอดฟลูออเรสเซนส์ (10-15 เท่า)
2. อายุหลอดนานกว่าหลอดธรรมดาเพราะไม่มีไส้หลอด (20,000 -100,000 ชม.)
3. ไม่ใช้บัลลาส
4. ไม่มีการหักเหของแสงจากหลอดได้รับแสงเต็มที่
5. ปลดปล่อยความร้อนออกมาน้อยกว่าหลอดธรรมดา
6. แสงตรงไปยังเป้า หมายที่ต้องการ สามารถกำหนดองศาของแสงได้
7. ใช้แรงดันไฟฟ้าต่ำ 3-9 โวลต์ (หลอดฟลูออเรสเซนส์ ใช้แรงดันไฟฟ้า 220 โวลต์)
8. เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมต่ำเพราะไม่มีโลหะหนัก
9. หลอดไม่มีส่วนผสมของแก้วจึงไม่มีการแตกหัก
10. ไม่มีแสงสีขาวจึงเหมาะกับการเจริญเติบโตของพืช
11. อุณหภูมิไม่เพิ่มขึ้นเพราะหลอดไม่ปลด ปล่อยความร้อนออกมา พืชมีการเจริญเติบโตดี
12. สามารถกำหนดช่วงแสงที่เหมาะกับพืชแต่ละชนิดได้

นอกจากคุณสมบัติดังกล่าวแล้วสีของหลอด LEDs มักจะกำหนดโดยความยาวคลื่นของแสง (นาโนเมตร) ซึ่งจะให้ช่วงความยาวคลื่นที่แคบ ตัวอย่างสีของหลอดและความยาวคลื่นของหลอด LEDs ในช่วงแสงที่ตามองเห็น (visible light) (Bula *et al*., 1991 ; LEDstronics, 2005)

สีหลอด	ตัวอย่างสี	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)
หลอดสีม่วง (violet)		395 – 430
หลอดสีคราม (indigo)		430 – 450
หลอดสีน้ำเงิน (blue)		450 - 480
หลอดสีน้ำเงิน-เขียว (blue-green)		480 - 520
หลอดสีเขียว (green)		520 - 555
หลอดสีเหลือง – เขียว (yellow – green)		555 – 585
หลอดสีเหลือง (yellow)		585 -600
หลอดสีเหลืองอำพัน (amber)		600 – 615
หลอดสีส้ม (orange)		615 - 625
หลอดสีส้ม-แดง (orange-red)		625 - 640
หลอดสีแดง (red)		640 – 700

ผลของแสงต่อการเจริญเติบโตของพืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Bula *et al*. (1991) พบว่าแสงทั่วไปที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์, เมทัลฮาไลด์ , ไฮด์ เพรสเชอร์โซเดียม และหลอดอินแคนเดสเซนส์ ถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่ม PPF แต่แสงเหล่านี้มีคลื่นความยาวแสงไม่เหมาะสม โดยมีคุณภาพในการกระตุ้นเจริญเติบโตของพืชต่ำ และหลอดฟลูออเรสเซนส์จะปลดปล่อยแสงที่มีคุณภาพแตกต่างกันออกมาหลายความยาวคลื่นตั้งแต่ 350-750 นาโนเมตร โดยหลอดชนิดนี้ยังมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปัจจุบันนี้หลอดไดโอดเปล่งแสงเป็นทางเลือกใหม่ในระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสมมากกว่าแสงชนิดอื่น มีขนาดเล็ก อายุหลอดนานและสามารถกำหนดความยาวคลื่นที่จำเพาะได้และช่วงความถี่แคบได้

Gavinlertvatana *et al*. (1980) ได้ทำการทดลองในการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนใบของพิทูเนีย พบว่า หากเนื้อเยื่อได้รับแสงสีแดงจะเกิดยอดบนเนื้อเยื่อมาก แต่ในทางตรงกันข้าม หากเนื้อเยื่อได้รับแสง ฟาร์-เรด จะเกิดยอดบนเนื้อเยื่อน้อย ผลของแสงสีแดง และแสง ฟาร์-เรด นั้นสามารถลบล้างกันได้ ขึ้นอยู่กับว่าเนื้อเยื่อได้รับแสงชนิดใดหลังสุด

Islam *et al*. (2001) ได้ทดลองศึกษาคุณภาพของแสงและความเข้มแสงในการชักนำให้เกิดแคลลัสและชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้น พบว่าคุณภาพของแสงมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัสเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส โดยการเจริญเติบโตของแคลลัสเกิดขึ้นได้ดีที่สุดเมื่ออยู่ภายใต้แสงสีแดงและแสงสีเหลือง ส่วนการชักนำให้เกิด PLBs เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมน้ำตาลมอลโทสหรือซอบิทอลภายใต้สภาพแสงสีแดงและแสงสีเหลือง ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับแสงสีขาว แต่การสร้าง PLBs จะถูกยับยั้งเมื่อเลี้ยงภายใต้สภาพแสงสีเขียวหรือแสงสีน้ำเงิน สำหรับการทดลองเรื่องความเข้มแสงพบว่า ความเข้มแสงที่ 50 μmol $m^{-2}s^{-1}$ จะส่งเสริมให้มีน้ำหนักสด , น้ำหนักแห้ง , ความยาวของยอด และความยาว ความกว้างของใบมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่มากหรือน้อยกว่านี้

Jao *et al*. (2003) ได้ทดลองใช้หลอด LEDsในการผลิตต้นกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าให้ผลไม่แตกต่างจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ในด้านของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งแต่ความยาวของใบพบว่าหลอด LEDs มีผลทำให้ใบยาวกว่าหลอดฟลูออเรสเซนส์

Kadkade and Jopson (1978) พบว่าการให้แสงนาน 16 ชั่วโมงต่อวันของช่วงแสงที่ใกล้ช่วงอุลตราไวโอเลต (371 นาโนเมตร) มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ ของพืช *Psuedotsuga menziesii*c และพบว่าในพืชตระกูลยาสูบก็มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัสเช่นกัน โดยแสงที่มีความเข้มแสงสูงกว่า 150 μ $W.cm^{-2}$ จะมีผลในการยับยั้ง แต่ถ้าความเข้มแสง 24 $\mu W.cm^{-2}$ จะมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแคลลัส

Kim *et al*. (2004) ได้ทดลองใช้หลอด LEDs เพื่อทดสอบอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าหลอด LEDs สีแดงและสีน้ำเงิน ทำให้พืชมีน้ำหนักสด, น้ำหนักแห้ง, พื้นที่ใบและปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด และมีอัตราการสังเคราะแสงสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดฟลูออเรสเซนส์

Lian *et al*. (2002) ได้ทดลองใช้หลอด LEDs ชักนำให้เกิดหัวในลิลลี่ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเปอร์เซนต์สูงสุดในการเกิดหัวต่อชิ้นส่วนพืชเมื่อเลี้ยงในแสงฟลูออเรสเซนส์และหลอด LEDs สีแดงกับสีน้ำเงิน โดยที่หัวที่เกิดภายใต้แสง LEDs มีขนาดใหญ่ที่สุดรวมทั้งมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด

Murashige (1974) พบว่า คุณภาพของแสง ,ปริมาณแสงและช่วงแสงมีความสำคัญในการชักนำให้เกิดสัณฐานวิทยาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งจะมีผลต่อไปในการชักนำให้เกิดอวัยวะจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Nhut *et al.* (1997) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้ากล้วยภายใต้สภาพแสง LEDs พบว่า ต้นกล้าขนาดเล็กจะมีน้ำหนักสดสูงสุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง 80%กับสีน้ำเงิน 20%ซึ่งให้ค่าเท่ากับที่เลี้ยงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์

Seibert *et al.* (1980) พบว่าแสงสีน้ำเงินมีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเกิดยอดในแคลลัสของยาสูบที่ช่วงความเข้มแสงที่ 100-500 μ W.cm^{-2} เมื่อให้แสงนาน 16 ชั่วโมง/วัน การเกิดยอดจากแคลลัสของยาสูบจะเกิดขึ้นเมื่อมีการให้แสงต่อเนื่องกันนาน 5 สัปดาห์ โดยให้แสงสีน้ำเงินความเข้มแสงสูง 1550 μ W.cm^{-2}

Tanaka *et al.* (2001) ได้ทดลองใช้หลอดไฟ LEDs ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสต้นขนาดเล็กมาทดลอง พบว่ามีน้ำหนักสดของยอดและรากมากที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง 80%กับสีน้ำเงิน 20% เมื่อเปรียบเทียบกับ control ที่เป็นหลอดฟลูออเรสเซนส์ และเมื่อนำส่วนของก้านช่อดอกมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์มพบว่า การเกิด PLBs จากก้านช่อดอกจะเกิดมากที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง 50% กับสีน้ำเงิน 50%และภายใต้สภาพแสงสีแดง 100% กับแสงสีน้ำเงิน 100% เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดฟลูออเรสเซนส์อย่างเดียว

Tripathy *et al.* (1995) ได้ศึกษาเกี่ยวกับ ความสัมพันธ์ของยอด-ราก ของต้นกล้าธัญพืชภายใต้สภาพแสงสีแดง พบว่า การงอกกับความสมบูรณ์ของรากขึ้นกับค่าแสงสีแดงที่มีค่าระหว่าง (300-500 μmol m^{-2}s^{-1}) การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์จะถูกกระตุ้นในแสงสีแดง ดังนั้นการให้แสงสีแดงแก่ต้นกล้าจะมีผลทำให้ต้นกล้ามีสีเขียวและรากมีความสมบูรณ์มากขึ้น

Weis and Jaffe (1969) พบว่าในแคลลัสของยาสูบการให้แสงสีแดงและแสง far - red ในความเข้มแสงสูงถึง 1700 μ W.cm^{-2} นาน 16 ชั่วโมงพบว่าไม่มีผลในการกระตุ้นการเกิดยอด แต่เมื่อให้แสงสีน้ำเงินในช่วงแรกที่ความเข้มแสง 1550 μ W.cm^{-2} นาน 2 สัปดาห์จากนั้นย้ายไปให้แสงสีแดงหรือแสงสีแดงไกล นาน 3 สัปดาห์ พบว่ามีการเกิดยอดแต่จะมีปริมาณน้อยกว่าการให้แสงสีน้ำเงินในช่วงแรกนาน 5 สัปดาห์

Yang *et al*. (2004) ได้ทำการศึกษาคุณภาพของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิสในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ให้ผลดีทีสุดคือ การทดลองที่ให้แสงสีแดง (red) กับแสงสีน้ำเงิน (blue) ซึ่งให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในการเพิ่มปริมาณมวลรวมของพืชรูปร่างใบ, และอัตราการสังเคราะห์แสง

<u>สารควบคุมการเจริญเติบโต พาโคลบิวทราโซล</u>

สารพาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) หรือ S-3307 [(2 R S ,3 R S) -1 – (4-chlorophynyl) – 4, 4-dimethyl-2-(1H-1,24-triazol-1-yl) pentan-3-ol] ชื่อทางการค้าว่า cultar หรือ PP 333 เป็นสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้แก่พืช ลดความยาวของปล้องและเร่งการเกิดดอก (สมบุญ, 2548) สารนี้ละลายได้ใน isopropanol 5 เปอร์เซ็นต์,methanol 15 เปอร์เซ็นต์ ,acetone 11 เปอร์เซ็นต์, dichloroethane 10 เปอร์เซ็นต์และ hexane 10 เปอร์เซ็นต์ มีความคงตัวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน มีระดับความเป็นพิษน้อย (LD_{50} 1300-2000 mg/kg) สารนี้มีผลการยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน (gibberellin) ยับยั้งการแบ่งเซลล์ในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญใต้ปลายยอด (subapical meristem) สารพาโคลบิวทาโซลเข้าสู่ทางราก เนื้อเยื่อของกิ่งและใบทางท่อน้ำ(xylem) เคลื่อนไปสู่ใบและตา ไม่เคลื่อนผ่านทางท่ออาหาร (phloem) (พีรเดช, 2529; Anonymous, 1984) ทำให้พืชมีข้อปล้องสั้นลง มีผลในการชะลอความสูง ลดน้ำหนักสด,นำหนักแห้ง, พื้นที่ใบและขนาดใบ แต่มีผลในการเพิ่มจำนวนคลอโรฟิลล์ต่อพื้นที่ใบ ทำให้ใบมีสีเขียวเข้ม (Wood, 1984)

วิลาวรรณ (2533) ทดลองให้สารพาโคลบิวทาโซลต่อการเจริญเติบโตของลูกกล้วยไม้ในวุ้นอาหารถ่ายขวด พบว่าสารพาโคลบิวทาโซลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ลูกกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตเมื่อนำออกปลูก ใกล้เคียงกับลูกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสาร แต่มีใบหนาและเขียวเข้มกว่า เล็กน้อย ลำต้นอาหารสะสมมากกว่า ซึ่งมีแนวโน้มว่าจะแข็งแรง เจิญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมภายนอกต่อไป

วีรวรรณ (2533) ทดลองใช้สารพาโคลบิวทาโซลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร กับลูกกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม เอกพล “แพนด้า” ในสูตรอาหาร Vacin - Went ร่วมกับการใส่กล้วยหอม น้ำมะพร้าวอ่อนและมันฝรั่งอย่างใดอย่างหนึ่งหรือมีทั้ง 3 อย่าง โดยไม่ใส่และใส่ถ่าน พบว่ากล้วยไม้มีน้ำหนักสด จำนวนรากต่อต้น ความยาวรากและความกว้างใบมากขึ้นแต่ความสูงของต้นและความยาวใบลดลง

วัลยา (2537) พบว่า สูตรอาหาร Vacin - Went ดัดแปลง ที่เพิ่มเห็ดหูหนูร่วมกับสารพาโคลบิวทาโซล 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ต้นกล้ากล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ขนาดเล็กและขนาดใหญ่ที่ใช้เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร มีน้ำหนักสด ความกว้างใบ ความยาวรากและจำนวนรากต่อต้นสูงสุด แต่ความยาวใบลดลง

อรัญญา (2533) ทดลองให้สารพาโคลบิวทาโซลความเข้มข้นต่ำในวุ้นอาหารถ่ายขวดกล้วยไม้ พบว่า การให้สารพาโคลบิวทาโซลเข้มข้น 0.0001- 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ลงในอาหารถ่ายขวดของแอสโคเซนดร้า แวว รวีโกลด์นาน 5 เดือน ไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มช่วยให้เปอร์เซนต์การรอดชีวิตเพิ่มขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วย มาตรวัดความเป็นกรดเป็นด่าง เครื่องชั่ง เตาแก๊ส เครื่องแก้วต่างๆ เช่น กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร หลอดหยด ขวดแก้ว

2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Vacin – Went ดัดแปลง (Vacin and Went, 1949) และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. อินทรีย์สารและสารที่ใช้ร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอมบด น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำตาลทราย ถ่านกัมมันต์ และวุ้นผง

4. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบด้วย ตู้ปลอดเชื้อ อุปกรณ์เครื่องแก้ว ที่ใช้ในตู้ปลอดเชื้อ เช่น จานแก้ว ปากคีบ ตะเกียงแอลกอฮอล์ ชั้นวางขวด และชั้นวางอุปกรณ์ ต่างๆ สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ ได้แก่ น้ำยาฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช (คลอรอกซ์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์) แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

5. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพร้อมชั้นวางขวดหลอดไฟ 5 ชนิด โดยใช้หลอดสีเดียวหรือ 2 สี เป็น 5 แบบ ดังนี้

5.1 หลอดฟลูออเรสเซนส์ หลอด PHILIPS TDL 36 วัตต์ ชนิด Day light ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$

5.2 หลอด LEDs สีแดง 100% ความเข้มแสง 11.42 μmol $m^{-2}s^{-1}$

5.3 หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ความเข้มแสง 8.33 μmol $m^{-2}s^{-1}$

5.4 หลอด LEDsสีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-}$

5.5 หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ความเข้มแสง 11.27 μmol $m^{-2}s^{-1}$

6. ฝักกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose ที่มีอายุฝัก 5 เดือน, ก้านช่อดอก และต้นอ่อนขนาดเล็กของกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสที่มีใบ 3 ใบ ราก 1 ราก

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของแสงร่วมกับสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส

การทดลองที่ 1.1 ผลของแสงร่วมกับสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของโปรโตคอร์ม

นำฝักกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose อายุ 5 เดือน ไปล้างให้สะอาดด้วยสบู่เหลว เช็ดให้แห้ง เช็ดฝักกล้วยไม้ด้วยแอลกอฮอล์ 70 % แล้วจุ่มฝักลงในแอลกอฮอล์ 95% เผาด้วยเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์ จากนั้นใช้มีดผ่าตัดผ่าแยกฝักออกเป็นสองส่วน แล้วนำเมล็ดที่ได้ผสมกับน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 200 มิลลิลิตร ใช้หลอดดูดเมล็ด 5 มิลลิลิตรพ่นลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin-Went ดัดแปลง ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร และ วุ้น 5 กรัมต่อลิตรเปรียบเทียบระหว่างการใช้ 3 ปัจจัยรวม 20 สูตร ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ชนิดของแสง 5 แบบ

1.หลอดฟลูออเรสเซนส์ ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$

2.หลอด LEDs สีแดง 100% ความเข้มแสง 11.42 μmol $m^{-2}s^{-1}$

3.หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ความเข้มแสง 8.33 μmol $m^{-2}s^{-1}$

4.หลอด LEDs สีแดง80% กับ สีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-}$

5.หลอดLEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ความเข้มแสง 11.27 μmol $m^{-2}s^{-}$

ปัจจัยที่ 2 สูตรอาหาร 4 แบบ โดยเปรียบเทียบระหว่าง การใช้น้ำตาลทราย 5 และ 10 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกล้วยหอมบด 0 และ 10 กรัมต่อลิตร

จากนั้นนำขวดที่เพาะเมล็ดไว้ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 ±2 องศาเซลเซียสให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกจำนวนที่พบในแต่ละระยะการพัฒนาแล้วให้เป็นระดับคะแนน ดังนี้

ระยะพัฒนาการของโปรโตคอร์มและต้นกล้า	ระดับคะแนน	จำนวนที่พบ (ร้อยละ)
<u>ระยะโปรโตคอร์ม</u>		
เมล็ดมีการขยายตัวของเอ็มบริโอ แต่ยังไม่หลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด	1	a
เมล็ดที่เอ็มบริโอหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด	2	b
เอ็มบริโอเจริญพัฒนาเป็นโปโตคอร์มขนาด 1-3 มิลลิเมตร	3	c
<u>ระยะต้นกล้า</u>		
โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้า มีใบยอด 1 ใบ ใบยาว 1 ซม.	4	d
ต้นกล้ามีใบ 2-4 ใบ ใบยาว 1.1-1.5 ซม. และมีรากอย่างน้อย 1 ราก	5	e
ต้นกล้ามีใบ 3-4 ใบ ใบยาว 1.51-3.0 ซม. และมีราก 2 ราก	6	f

นำตัวเลขที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการเจริญเติบโต (Pierik *et al*., 1988) ดังนี้

ดัชนีการเจริญเติบโต = (1a+2b+3c)

วางแผนการทดลองแบบ 5 x 4 Factorial in CRD มี 5 ซ้ำๆละ 2 ขวด

นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าความแตกต่างของสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 1.2 ผลของแสงร่วมกับสูตรอาหารต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มไปเป็นต้นกล้า

ย้ายโปรโตคอร์มที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตรที่มีอายุ 2 เดือน จากการทดลองที่ 1.1 ลงในอาหารใหม่สูตรเดิมทั้ง 4 สูตร จำนวน 10 ชิ้นต่อขวด หลังการเลี้ยงนาน 2 เดือน (รวมอายุ 4 เดือน หลังเพาะเมล็ด) บันทึกจำนวนโปรโตคอร์มที่มีการพัฒนาในแต่ละระดับการให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

นำตัวเลขที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกและดัชนีการเจริญเติบโต ดังนี้

ดัชนีการเจริญเติบโต = (4d + 5e + 6f)

วางแผนการทดลองแบบ 5 x 4 Factorial in CRD มี 5 ซ้ำๆละ 2 ขวด

นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าความแตกต่างของสูตรอาหารต่อการพัฒนาของต้นกล้าด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

<u>การทดลอง 2 ผลของแสงต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฟาแลนนอพซิสลูกผสม</u>

การทดลอง 2.1 การพัฒนาของตาบนก้านช่อดอก (flower stalk bud) ในระยะแรก

นำก้านช่อดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม มาล้างทำความสะอาดด้วยสบู่และเช็ดให้แห้ง จากนั้นใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ดก้านช่อดอก โดยเช็ดจากด้านบนลงด้านล่างจากนั้นใช้มีดลอกกาบหุ้มตาออกและเช็ดด้วยสำลีจุ่มคลอรอกซ์เข้มข้น 20 % เมื่อแห้งนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ เข้มข้น 10 % นาน 10 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วยคลอรอกซ์เข้มข้น 5 % นาน 10 นาที ผสมสารทีโพล 1-2 หยด แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดที่นึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง เลี้ยงตาบนก้านช่อดอกที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin-Went ดัดแปลงโดยเติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร. น้ำตาลทราย 5 กรัม ที่เติม BA 0.5 มิลิกรัม วุ้น 4.5 กรัม ในสูตรอาหารปริมาณ 1 ลิตร จากนั้นนำขวดไปวางไว้บนชั้นที่มีหลอดไฟ LEDs สีแดง 100%

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีชิ้นส่วนตา จำนวน 120 ชิ้นส่วน และเก็บขวดเพาะเลี้ยงไว้ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 ±2 องศาเซลเซียสให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 15 วัน นาน 60 วัน

บันทึกผลการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ การรอดชีวิต และการพัฒนาของตาบนก้านช่อดอก เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 30 และ 60 วัน

การทดลอง 2.2 ผลของแสงต่อการพัฒนาของตาบนก้านช่อดอกอ่อน (primary branch)

นำก้านช่อดอกอ่อนที่เกิดจากตาบนก้านช่อดอกหลังการปักชำในสภาพปลอดเชื้อ มาตัดเป็นท่อนยาวประมาณ 1 เซ็นติเมตร ให้มีตา 1 ตา ในแต่ละท่อน นำไปปักลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง Vacin-Went โดยใน 1 ลิตร เพิ่มน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร และผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัม จากนั้นนำขวดไปวางไว้บนชั้นที่มีหลอดไฟทั้ง 4 ชนิด คือ

1 .หลอดฟลูออเรสเซนส์ ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$

2 .หลอด LEDs สีแดง 100% ความเข้มแสง 11.42 μmol $m^{-2}s^{-1}$

3. หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ความเข้มแสง 8.33 μmol $m^{-2}s^{-1}$

4. หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-}$

วางแผนการทดลองแบบ CRD ที่มี 4 ทรีทเมนต์ๆละ 10 ตา จำนวน 2 ซ้ำ และเก็บขวดเพาะเลี้ยงไว้ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 ±2 องศาเซลเซียสให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

บันทึกการพัฒนาของตาที่เกิดใบยอด จำนวนยอดที่เกิดบนแต่ละตา และลักษณะของตาบนก้านช่อดอกนาน ทุก 30 วัน นาน 60 วัน

การทดลอง 2.3 ผลของแสงต่อการชักนำ PLBs จากต้นบนก้านช่อดอก

นำต้นกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสมที่ได้จากการปักชำก้านช่อดอกในสภาพปลอดเชื้อมาตัดใบออกให้เหลือแต่ตายอด แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin-Went ดัดแปลง ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร น้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำขวดไปวางไว้บนชั้นที่มีหลอดไฟทั้ง 5 ชนิด คือ

1 หลอดฟลูออเรสเซนส์ ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$

2 หลอด LEDs สีแดง 100% ความเข้มแสง 11.42 μmol $m^{-2}s^{-1}$

3 หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ความเข้มแสง 8.33 μmol $m^{-2}s^{-1}$

4 หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-}$

5 หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ความเข้มแสง 11.27 μmol $m^{-2}s^{-1}$

วางแผนการทดลองแบบ CRD ที่มี 5 ทรีทเมนต์ๆละ 10 ตายอด จำนวน 2 ซ้ำ และเก็บขวดเพาะเลี้ยงไว้ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 ±2 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 15 วัน โดยให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 30 วัน

บันทึกจำนวนยอดที่เกิด PLBs จำนวนยอดที่เกิด multiple shoot จำนวนยอดที่เกิดใบ จำนวนยอดที่ตาย แล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

การทดลอง 2.4 ผลของแสงต่อการเพิ่มจำนวน PLBs

นำกลุ่ม PLBs ที่ได้จากการทดลอง 2.3 ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 -1 เซนติเมตร จำนวน 4 กลุ่ม มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Vacin-Went ดัดแปลงโดยใน 1 ลิตร เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร TDZ 0.5 มิลลิกรัม จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงอาหารเหลวบนเครื่องเขย่าความเร็วประมาณ 120 รอบต่อนาที เปรียบเทียบแสงทั้ง 2 ชนิด คือ

1 .หลอดฟลูออเรสเซนส์ ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$

2.หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-}$

วางแผนการทดลองแบบ CRD ที่มี 2 ทรีทเมนต์ๆละ 4 กลุ่ม PLBs จำนวน 8 ซ้ำและเก็บขวดเพาะเลี้ยงไว้ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 ±2 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 15 วัน โดยให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 30 และ 60 วัน

บันทึกจำนวนและน้ำหนักสดของ PLBs

<u>การทดลองที่ 3 ผลของแสงร่วมกับสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตต้น</u>

ต้นกล้ากล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสที่มีอายุ 3 เดือน มีใบ 3 ใบ และมีรากอย่างน้อย 2 ราก มาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin-Went ดัดแปลงโดยทุกสูตรอาหาร เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 100 มิลลิลิตรต่อลิตร วุ้น 5 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบ 15 สูตร ระหว่างการใช้

ปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดแสงมี 5 ชนิด คือ

5.1 หลอดฟลูออเรสเซนส์ ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$

5.2 หลอด LEDs สีแดง 100% ความเข้มแสง 11.42 μmol $m^{-2}s^{-1}$

5.3 หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ความเข้มแสง 8.33 μmol $m^{-2}s^{-1}$

5.4 หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-}$

5.5 หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ความเข้มแสง 11.27 μmol $m^{-2}s^{-1}$

ปัจจัยที่ 2 คือ สารพาโคลบิวทราโซล 3 ระดับ คือ 0 , 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงไว้ภายในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 ±2 องศาเซลเซียสโดยให้แสง เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน นาน 4 เดือน

การบันทึกผล

น้ำหนักสด

ความสูงของต้น จากโคนต้นถึงปลายใบ

จำนวนใบ

ความกว้างและความยาวใบที่ 2 จากยอด

จำนวนและความยาวราก

วางแผนการทดลองแบบ 5 x 3 Factorial in CRD ที่มี 10 ซ้ำๆละ 3 ต้น

นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ผลโดยเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และแปลงทดลองพืชสวน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง กันยายน 2548

สิ้นสุดการทดลอง กรกฎาคม 2549

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเปรียบเทียบผลของแสงร่วมกับสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* ลูกผสม

การทดลองที่ 1.1 การเปรียบเทียบผลของแสงร่วมกับสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Phalaenopsis* ลูกผสม

หลังการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose ลงในสูตรอาหาร Vacin-Went ดัดแปลง โดยทุกสูตรอาหารปริมาตร 1 ลิตร ประกอบด้วย น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง (จากเนื้อมันฝรั่ง 100 กรัม) และวุ้น 5 กรัมโดยเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลทราย 5 และ 10 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 0 และ 10 กรัมต่อลิตร รวมเป็น 4 สูตร และเลี้ยงภายใต้สภาพแสงทั้ง 5 ชนิด คือ แสงจากหลอด ฟลูออเรสเซนส์ , แสงจากหลอด LEDs สีแดง 100% , LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%, LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และ LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% หลังการเพาะเลี้ยงเมล็ดนาน 2 เดือน เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกภายใต้แสง LEDs สีแดง 100% สูงสุด ร้อยละ 90.0 รองลงมา LEDs สีแดง80% กับ สีน้ำเงิน 20% ร้อยละ 86.0 ฟลูออเรสเซนส์ ร้อยละ 81.1 และต่ำสุดภายใต้สภาพแสง LEDs สีแดง 90% กับ สีแดง 10% ร้อยละ 33.3 (ตารางที่ 1)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของแสงต่อการงอกของเมล็ด พบว่า ที่ได้รับแสงฟลูออเรสเซนส์ LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และ LEDs สีแดง 100% มีค่าเปอร์เซ็นต์การงอกที่ใกล้เคียงกันตั้งแต่ร้อยละ 72.2-74.7 รองลงมาคือ แสงจาก LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ร้อยละ 62.5 และที่ได้รับแสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำสุดเท่ากับ 56.8 (ตารางที่ 1) สำหรับผลของสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดพบว่าสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุด ร้อยละ 74.8 รองลงมาสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลทราย 5 กรัมต่อลิตร ร้อยละ 71.1 ส่วนการเติมกล้วยหอมบด 10 กรัมต่อลิตร ทั้งการเติมน้ำตาลทราย 5 และ 10 กรัมต่อลิตร เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ใกล้เคียงกันคือ ร้อยละ 62.4-62.9 (ตารางที่ 1) โดยในเมล็ดที่มีการงอกนั้น พบมีการพัฒนา 3 ระดับคะแนนดังนี้

ระดับคะแนน 1 คือ เมล็ดที่เอ็มบริโอมีการขยายขนาด แต่ยังไม่หลุดจากเปลือกเมล็ด เป็นระยะที่เอ็มบริโอมีการขยายขนาดใหญ่และหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด สีของเอ็มบริโอเป็นสีเขียว พบเมล็ดในระยะนี้ร้อยละ 10.0- 66.7 โดยพบมากที่สุดร้อยละ 66.7 ในอาหารที่เติมน้ำตาล 10 กรัม

ต่อลิตร กล้วยหอมบด 10 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาพแสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% พบน้อยที่สุดร้อยละ 10.0 ในอาหารที่เติมน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 10 กรัมต่อลิตรภายใต้แสง LEDs สีแดง 100% (ตารางที่ 2)

ระดับคะแนน 2 คือ เมล็ดที่เอมบริโอขนาดใหญ่หลุดจากเปลือกเมล็ด มีสีเขียวเข้ม พบเมล็ดในระยะนี้ร้อยละ 2.6-51.5 โดยพบมากที่สุดร้อยละ 51.5 ในอาหารที่เติมน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด10 กรัมต่อลิตร ภายใต้แสง LEDs สีแดง 100% และพบน้อยที่สุดร้อยละ 2.6 ในอาหารที่เติมน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด10 กรัมต่อลิตรภายใต้สภาพแสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% (ตารางที่ 2)

ระดับคะแนน 3 คือ เอมบริโอพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3 มม. พบโปโตคอร์ม ในระยะนี้ร้อยละ 20.8- 62.20 โดยพบมากที่สุดร้อยละ 62.20 ในอาหารที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ และพบน้อยที่สุดร้อยละ 20.8 ในอาหารที่เติมน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด10 กรัมต่อลิตรภายใต้สภาพแสงจาก LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% (ตารางที่ 2)

เมื่อนำมาคำนวณหาค่าดัชนีการเจริญเติบโต พบว่าการพัฒนาของเมล็ดที่เลี้ยงภายใต้สภาพแสงฟลูออเรสเซนส์, LEDs สีแดง 100%, LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%, LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และLEDs สีแดง 90% กับ สีขาว 10% มีค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกับที่ได้รับแสง LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) และค่าดัชนีการเจริญเติบโตต่างกันในแต่ละสูตรอาหาร โดยการงอกของเมล็ดในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตรไม่เติมกล้วยหอมบด ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตสูงสุดคือ 221.9 ซึ่งให้ผลที่ใกล้เคียงกับกับการเติมน้ำตาลทราย 5 กรัมต่อลิตรไม่เติมกล้วยหอมบด ที่ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 210.8 (ตารางที่ 3) ส่วนในสูตรอาหารที่เติมกล้วยหอมบด ทั้งสูตรที่เติมน้ำตาลทราย 5 และ 10 กรัมต่อลิตรนั้น พบว่าให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกันคือ 196.1 และ 194.9 ซึ่งแตกต่างกับสูตรที่ไม่เติมกล้วยหอมบดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อนำค่าดัชนีการเจริญเติบโตมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน ปรากฏว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดแสงปริมาณน้ำตาลและปริมาณกล้วยหอมบดต่อค่าดัชนีการเจริญเติบโต (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอก ของเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose หลังการเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 5 แบบ บนอาหาร 4 สูตร นาน 2 เดือน

ชนิดแสง	น้ำตาล (กรัม/ลิตร)				เฉลี่ย
	5		10		
กล้วยหอมบด (กรัม/ลิตร)	0	10	0	10	
ฟลูออเรสเซนส์	80.4	70.2	81.1	67.0	74.7
LEDsสีแดง100%	72.2	90.0	52.8	73.9	72.2
LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%	64.5	52.6	76.9	33.3	56.8
LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%	82.1	44.8	86.0	79.1	73.0
LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50%	56.3	54.4	77.6	61.5	62.5
เฉลี่ย	71.1	62.4	74.8	62.9	

ตารางที่ 2 จำนวน (ร้อยละ) ของเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose ที่มีการพัฒนาใน 3 ระยะ หลังการเลี้ยงบนอาหาร 4 สูตร ในสภาพแสง 5 ชนิด นาน 2 เดือน

ชนิดแสง	น้ำตาล	กล้วยหอมบด	ระดับคะแนน			ค่าดัชนีการเจริญเติบโต
	(กรัมต่อลิตร)	(กรัมต่อลิตร)	1	2	3	
ฟลูออเรสเซนส์	5	0	19.60	25.40	55.00	235.4a
		10	29.80	34.70	35.50	205.7bc
	10	0	18.90	18.90	62.20	243.3a
		10	33.00	42.00	25.00	192.0c
LEDs สีแดง 100%	5	0	27.80	33.10	39.10	211.3b
		10	10.00	51.50	38.50	228.5a
	10	0	47.2	7.50	45.30	198.1c
		10	26.10	39.00	34.90	208.8b
LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%	5	0	35.50	25.80	38.70	203.2bc
		10	47.40	2.60	50.00	202.6bc
	10	0	20.10	40.20	39.70	219.6ab
		10	66.70	2.40	30.90	164.2d
LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%	5	0	17.90	42.10	40.00	224.1ab
		10	55.20	24.00	20.80	165.6d
	10	0	14.00	36.00	50.00	236.0a
		10	20.90	50.30	28.80	207.9b
LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50%	5	0	43.70	29.20	27.10	183.4cd
		10	45.60	25.40	29.00	183.4cd
	10	0	22.40	42.50	35.10	212.7b
		10	36.50	25.40	38.10	201.6bc
F-test						*
C.V.(%)						18.15

ตารางที่ 3 ผลของแสง น้ำตาล กล้วยหอมบด ต่อค่าดัชนีการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose หลังการงอกของเมล็ดนาน 2 เดือน

ชนิดแสง	น้ำตาล (กรัม/ลิตร)				เฉลี่ย
	5		10		
กล้วยหอมบด (กรัม/ลิตร)	0	10	0	10	
ฟลูออเรสเซนส์	235.4	205.7	243.3	192.0	215.39a[1/]
LEDs สีแดง100%	211.3	228.5	198.1	208.8	202.90ab
LEDs สีแดง90% กับ สีน้ำเงิน10%	203.2	202.6	219.6	164.2	206.66a
LEDs สีแดง80%กับสีน้ำเงิน20%	224.1	165.6	236.0	207.9	203.71ab
LEDs สีแดง50%กับสีขาว50%	183.4	183.4	212.7	201.6	200.60b
เฉลี่ย	210.8a	196.1b	221.9a	194.9b	

น้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร	203.89
น้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร	207.15
กล้วยหอมบด 0 กรัมต่อลิตร	216.26 a
กล้วยหอมบด 10 กรัมต่อลิตร	195.45 b

F-test

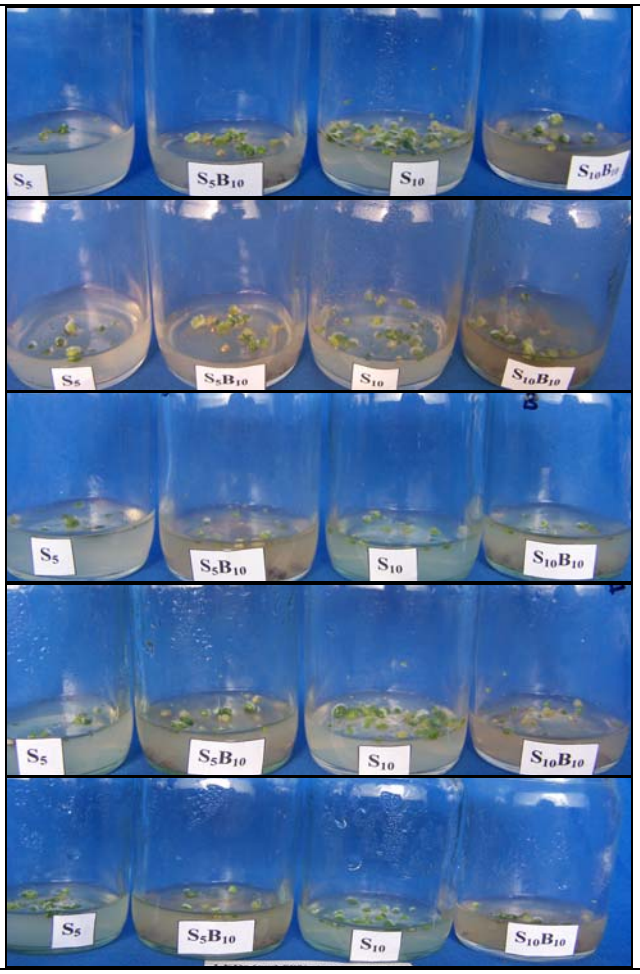
ชนิดแสง	*
น้ำตาล	ns
กล้วยหอมบด	*
ชนิดแสง x น้ำตาล	ns
ชนิดแสง x กล้วยหอมบด	ns
น้ำตาล x กล้วยหอมบด	ns
ชนิดแสง x น้ำตาล x กล้วยหอมบด	ns
C.V.(%)	18.15

ns : ไม่แตกต่างทางสถิติ

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ99 เปอร์เซ็นต์

ชนิดแสง	สูตรอาหาร น้ำตาล 5 กรัม/ลิตร	น้ำตาล5 กล้วย10 กรัม/ลิตร	น้ำตาล10 กรัม/ลิตร	น้ำตาล10 กล้วย10 กรัม/ลิตร
แสงฟลูออเรสเซนส์				
LEDs สีแดง 100%				
LEDs สีแดง90%กับสีน้ำเงิน10%				
LEDs สีแดง80%กับสีน้ำเงิน20%				
LEDs สีแดง50%กับสีขาว50%				

ภาพที่ 1 การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose ที่เพาะภายใต้สภาพแสงทั้ง 5 แบบ บนอาหารสูตรต่างๆทั้ง 4 สูตร หลังการเพาะนาน 2 เดือน

การทดลองที่ 1.2 การเปรียบเทียบผลของแสงร่วมกับสูตรอาหารต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มไปเป็นต้นกล้า

หลังจากการย้ายโปรโตคอร์มอายุ 2 เดือน ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตรลงในอาหารใหม่สูตรเดิมทั้ง 4 สูตร จำนวน 10 ชิ้นต่อขวด หลังการเลี้ยงต่ออีก 2 เดือน (รวมอายุ 4 เดือนหลังเพาะเมล็ด) พบว่าโปรโตคอร์มมีการพัฒนาไปเป็นต้นกล้า จึงได้ให้คะแนนในการพัฒนา 3 ระดับ (ภาพที่ 4) คือ

ระดับคะแนน 4 คือ ต้นกล้าที่มีใบยอด 1 ใบ ใบยาว 1 ซม. พบร้อยละ12.50-87.50 โดยพบมากที่สุด ในสภาพแสงจาก LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% บนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร และไม่เติมกล้วยหอมบด (ตารางที่ 4)

ระดับคะแนน 5 คือ ต้นกล้ามี 2-4ใบ ใบยาวประมาณ 1.1-1.5 เซนติเมตร มีรากอย่างน้อย 1 รากพบร้อยละ 12.50-75.00 โดยพบมากที่สุดเมื่อได้รับแสงจาก LEDs สีแดง 100% ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด (ตารางที่ 4)

ระดับคะแนน 6 คือ ต้นกล้ามี 2-4 ใบ ใบยาวประมาณ 1.51-3.0 เซนติเมตร มีราก 2 ราก พบร้อยละ 0-37.50โดยพบมากที่สุด เมื่อได้รับแสงจากหลอด ฟลูออเรสเซนส์ ในอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด (ตารางที่ 4)

เมื่อนำจำนวนต้นกล้าที่พบในระยะต่างๆมาคำนวณหาค่าดัชนีการเจริญเติบโต พบว่า ต้นกล้าที่ได้รับแสงจากทุกสภาพแสงให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตรไม่เติมกล้วยหอมบด โดยในแสง LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตสูงที่สุด คือ 487.5 รองลงมาคือ ได้รับแสงฟลูออเรสเซนส์, LEDs สีแดง 100%, LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% โดยแต่ละสภาพแสงให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่เท่ากัน คือ 475.0 (ตารางที่ 4)

สำหรับผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า การเติมน้ำตาลทราย 5 และ 10 กรัมต่อลิตร พบว่าการเติมน้ำตาลทรายที่ 10 กรัมต่อลิตร มีค่าดัชนีการเจริญเติบโต เท่ากับ 450.75 มากกว่าการเติมน้ำตาลทราย 5 กรัมต่อลิตร ที่ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโต เท่ากับ 416.50 และมีความ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนการเติมหรือไม่เติมกล้วยหอมบดนั้น พบว่า มีค่าดัชนีการเจริญ เติบโตที่ใกล้เคียงกันคือ การเติมกล้วยหอมบด 10 กรัมต่อลิตรมีค่าดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 448.06 และการไม่เติมกล้วยหอมบดมีค่าดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 440.75 (ตารางที่ 5) โดยใน 4 สูตรอาหารนั้น พบว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด โปรโตคอร์มมีการพัฒนาไปเป็นต้นกล้าได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารอื่น โดยมีค่าดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 472.5 ซึ่งมีค่าสูงที่สุดและแตกต่างกับสูตรอาหารอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 5)

เมื่อนำค่าดัชนีการเจริญเติบโตมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน ปรากฏว่า มีอิทธิพลร่วมกันทั้ง 3 ปัจจัย ระหว่าง ชนิดของแสง ปริมาณน้ำตาลและ กล้วยหอมบด เมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยของแสงเพียงอย่างเดียว พบว่า ค่าดัชนีการเจริญเติบโตในแต่ละสภาพแสงมีค่าที่แตกต่างกัน โดยภายใต้สภาพแสงฟลูออเรสเซนส์ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่มากที่สุด คือ 465.6 และแตกต่างกับแสงชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 5) แต่เมื่อมีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของแสงร่วมกับปริมาณน้ำตาลทรายและกล้วยหอมบด ส่งผลทำให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตในทุกสภาพแสงเพิ่มขึ้นอยู่ในระดับที่ใกล้เคียง กัน และไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 3) โดยมีผลทำให้ต้นกล้ากล้วยไม้ที่ได้รับแสง LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%, แสงฟลูออเรสเซนส์, LEDs สีแดง 100%, LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% และLEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% มีค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 487.25 486.75 474.25 และ 461.75 ตามลำดับ (ภาพที่ 3)

ระดับคะแนน 6

ระดับคะแนน 5

ระดับคะแนน 4

ภาพที่ 2 ลักษณะการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose ในแต่ละระดับการให้คะแนน

หมายเหตุ ระดับคะแนน 4 คือ ต้นกล้าที่มีใบ 1 ใบ ใบยาว 1 ซม.

ระดับคะแนน 5 คือ ต้นกล้ามีใบ 2-4ใบ ใบยาวประมาณ 1.1-1.5 เซนติเมตร มีรากอย่างน้อย1 ราก

ระดับคะแนน 6 คือ ต้นกล้ามีใบ 2-4 ใบ ใบยาวประมาณ 1.51-3.0 เซนติเมตร มีราก 2 ราก

ตารางที่ 4 จำนวน (ร้อยละ) ของต้นกล้ากล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose ที่มีการพัฒนาใน 3 ระยะ หลังการเลี้ยงในสภาพแสง 5 แบบ บนอาหาร 4 สูตร นาน 4 เดือน

ชนิดแสง	น้ำตาลทราย (กรัม/ลิตร)	กล้วยหอมบด (กรัม/ลิตร)	ระดับคะแนน 4	5	6	ดัชนีการเจริญเติบโต
ฟลูออเรสเซนส์	5	0	50.00	50.00	0.00	450.0b
		10	50.00	37.50	12.50	462.5b
	10	0	12.50	40.00	37.50	475.0a
		10	37.50	50.00	12.50	475.0a
LEDs สีแดง 100%	5	0	65.00	25.00	0.00	385.0e
		10	75.00	25.00	0.00	425.0cd
	10	0	25.00	75.00	0.00	475.0a
		10	50.00	50.00	0.00	450.0b
LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%	5	0	87.50	12.50	0.00	412.5de
		10	50.00	37.50	12.50	462.5b
	10	0	62.50	25.00	12.50	450.0b
		10	62.50	37.50	0.00	437.5c
LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน20%	5	0	65.00	25.00	0.00	385.0e
		10	65.00	25.00	0.00	385.0e
	10	0	37.50	37.50	25.00	487.5a
		10	65.00	12.50	12.50	397.5e
LEDs สีแดง50%กับ สีขาว 50%	5	0	87.50	12.50	0.00	412.5de
		10	65.00	25.00	0.00	385.0e
	10	0	37.50	50.00	12.50	475.0a
		10	65.00	25.00	0.00	385.0e
F-test						**
C.V.(%)						22.5

ตารางที่ 5 ผลของแสง น้ำตาล กล้วยหอมบด ต่อค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose หลังการเลี้ยงในอาหาร 4 สูตร นาน 4 เดือน

ชนิดแสง	น้ำตาล (กรัม/ลิตร)					เฉลี่ย
		5		10		
	กล้วยหอมบด (กรัม/ลิตร)	0	10	0	10	
ฟลูออเรสเซนส์		450.0	462.5	475.0	475.0	465.6a[1/]
LEDs สีแดง100%		385.0	425.0	475.0	450.0	433.7b
LEDs สีแดง90%กับสีน้ำเงิน10%		412.5	462.5	450.0	437.5	440.6b
LEDs สีแดง80%กับสีน้ำเงิน20%		385.0	385.0	487.5	397.5	413.7c
LEDs สีแดง50%กับสีขาว50%		412.5	385.0	475.0	385.0	414.3c
	เฉลี่ย	409.0c	424.0b	472.5a	429.b	

น้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร	416.50 b
น้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร	450.75 a
กล้วยหอมบด 0 กรัมต่อลิตร	440.75
กล้วยหอมบด 10 กรัมต่อลิตร	448.06

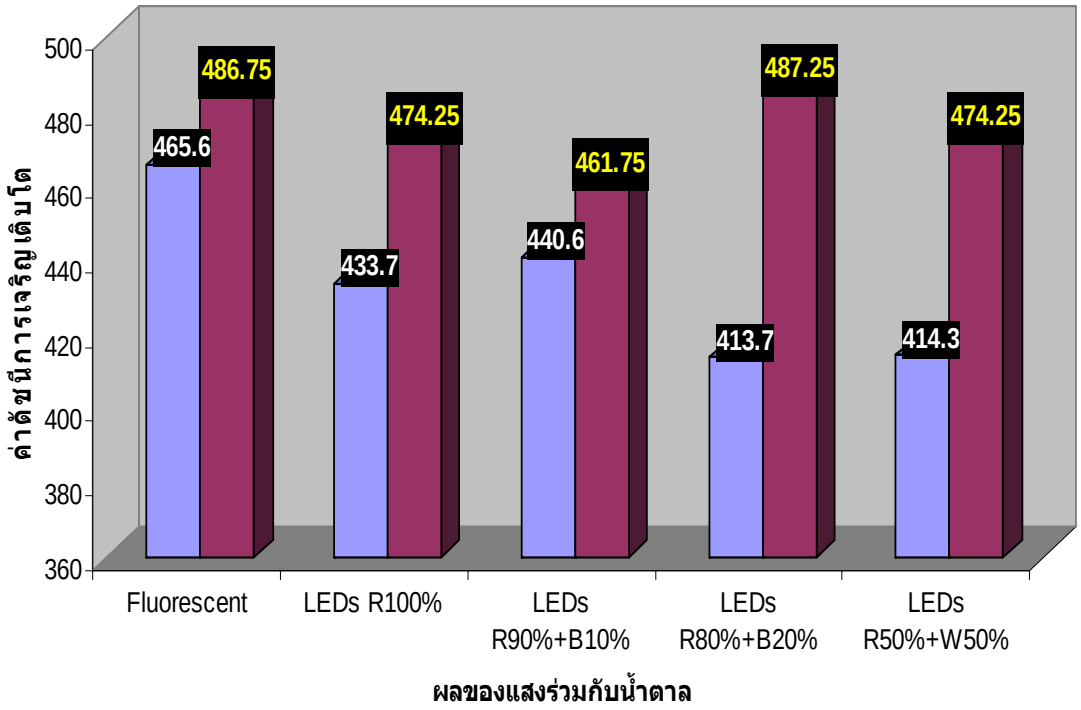
F-test	
ชนิดแสง	**
น้ำตาล	**
กล้วยหอมบด	ns
ชนิดแสง x น้ำตาล	**
ชนิดแสง x กล้วยหอมบด	**
น้ำตาล x กล้วยหอมบด	**
ชนิดแสง x น้ำตาล x กล้วยหอมบด	**
C.V.(%)	22.5

ns : ไม่แตกต่างทางสถิติ

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ99 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3 ผลของแสงร่วมกับน้ำตาล ต่อค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose หลังการเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 5 แบบ นาน 4 เดือน

หมายเหตุ

คือ ค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่มาจากผลของแสง

คือ ค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่มาจากผลของแสงร่วมกับปริมาณน้ำตาล

การทดลองที่ 2 ผลของแสงต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฟาแลนนอพซิสลูกผสม

การทดลองที่ 2.1 การพัฒนาของตาบนก้านช่อดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม ในระยะแรก

หลังการฟอกฆ่าเชื้อตาที่ก้านช่อดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม โดยตัดก้านช่อดอกให้มีความยาวประมาณ 1 นิ้ว ที่มีตาอยู่ตรงกลางไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin-Went ดัดแปลง นาน 4 วัน สังเกตพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนอาหารบางส่วนและมีบางส่วนที่เกิดบนก้านช่อดอก นอกจากนี้ยังมีก้านช่อดอกบางส่วนที่เกิดอาการเหลืองจากนั้นนาน 7 วัน ก้านช่อดอกจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด เมื่อเลี้ยงนาน 30 วัน พบว่า ตาบนก้านช่อดอกที่ฟอกฆ่าเชื้อสำเร็จคิดเป็นร้อยละ 69.42 เมื่อเลี้ยงนาน 60 วัน พบการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยเหลือชิ้นส่วนที่ไม่ปนเปื้อนคิดเป็นร้อยละ 64.46 ตาบนก้านช่อดอกมีการพัฒนา 6 ลักษณะ (ตารางที่ 6) ดังนี้คือ

ตารางที่ 6 การพัฒนาของตาบนก้านช่อดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม หลังการเลี้ยงนาน 60 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

ลักษณะการพัฒนา	ร้อยละ
เป็นยอดยาว 1-2 ซม.	19.3
เป็นยอดยาว 3-5 ซม.	21.7
เป็นก้านช่อดอกยาว 3-5 ซม.	5.0
เป็นก้านช่อดอกยาวมากกว่า 5 ซม.	15.0
พักตัว ไม่พัฒนา	20.0
เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด	19.0

พัฒนาเป็นยอดยาว 1-2 ซม.

พัฒนาเป็นยอดยาว 3-5 ซม.

พัฒนาเป็น ก้านช่อดอก
ยาว 3-5 ซม.

พัฒนาเป็นก้านช่อดอกที่ยาว
มากกว่า 5 ซม.

ตาบนก้านช่อดอกไม่พัฒนา
และตาย

ภาพที่ 4 ลักษณะการพัฒนาของตาบนก้านช่อดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม หลังการเลี้ยงนาน 60 วัน

การทดลอง 2.2 ผลของแสงต่อการพัฒนาของตาบนก้านช่อดอกอ่อน (primary branch)

ตัดช่อดอกอ่อน (primary branch) ที่ได้ในสภาพปลอดเชื้อจากการทดลองที่ 2.1 ไปปักชำบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin-Went ดัดแปลง ที่เติมน้ำตาลทราย 5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในสภาพแสง 4 แบบ คือ แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ แสงจากหลอด LEDs สีแดง 100% แสงจากหลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% แสงจากหลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%

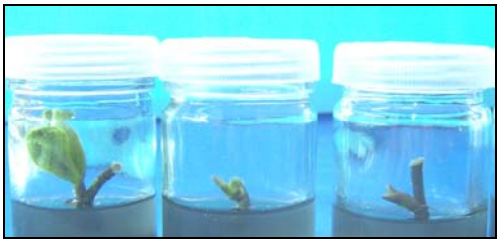
หลังการเลี้ยงนาน 7 วัน พบว่าตาบนก้านช่อดอกบางส่วนมีการขยายขนาดขึ้น และพัฒนาเป็นยอดที่มีใบอ่อน หลังการเลี้ยงนาน 15 วัน โดยการพัฒนาเป็นยอดนั้นพัฒนาได้เร็วที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% โดยเกิดภายหลังการเลี้ยงนาน 15 วัน รองลงมาคือแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ โดยเกิดหลังการเลี้ยง 30 วัน

เมื่อเลี้ยงนาน 60 วันพบว่ามีการพัฒนาเป็นยอดมากที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ร้อยละ 63.6 รองลง มา คือ LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ร้อยละ 57.2 แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ ร้อยละ 57.2 และแสง LEDs สีแดง 100% ร้อยละ 57.1 (ตารางที่ 7) และพบว่าการพัฒนาเป็นยอดของตาบนก้านช่อดอกอ่อน ตาที่อยู่ด้านล่างจะมีการพัฒนาไปเป็นยอดได้เร็วกว่าตาที่อยู่ด้านบนของก้านช่อดอกอ่อน โดยตาบนก้านช่อดอกที่อยู่ด้านบนนั้นจะมีการพัฒนาเป็นก้านช่อดอกโดยเฉพาะตาที่นับจากด้านบนลงมา 2 ตาแรก (ภาพที่ 5)

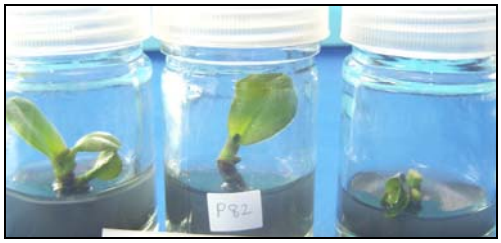
ตารางที่ 7 ผลของแสงต่อจำนวน (ร้อยละ) ของการพัฒนาของตาบนก้านช่อดอกอ่อนกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม หลังเพาะเลี้ยงนาน 60 วัน

ชนิดของแสง	ลักษณะการพัฒนา (ร้อยละ)	
	ยอด	ช่อดอก
หลอดฟลูออเรสเซนส์	57.2[1/]	42.8
หลอด LEDs สีแดง 100%	57.1	42.9
หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%	63.6	36.4
หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%	57.2	42.8
เฉลี่ย	57.8	41.2

1/ ร้อยละที่ได้จากจำนวนตาบนก้านช่อดอกอ่อนที่รอดชีวิต



แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์



แสงจากหลอด LEDs สีแดง 100%

แสงจาก LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน10%

แสงจาก LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%

ภาพที่ 5 การพัฒนาของตาบนก้านช่อดอกอ่อนกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม ที่เลี้ยงในสภาพแสง 4 แบบ หลังการเลี้ยงนาน 60 วัน

การทดลอง 2.3 ผลของแสงต่อการชักนำ PLBs จากปลายยอด

ตัดแยกยอดที่เกิดบนตาของก้านช่อดอกอ่อน ในการทดลองที่ 2.3 ไปลอกใบออกให้เหลือแต่ตายอด แล้วนำไปชักนำให้เกิด PLBs โดยเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin-Went ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 200 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม glycine 2 มิลลิกรัมต่อลิตร adeninine 10 มิลลิกรัมต่อลิตรและ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงนาน 7 วัน พบว่าบริเวณรอยตัดของปลายยอดเริ่มมีสีน้ำตาล และมีการปล่อยสารสีน้ำตาลลงบนอาหารทำให้อาหารบริเวณที่วางชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 25 วัน พบว่า เริ่มเกิดเป็น PLBs ก้อนกลมขึ้นบริเวณรอยแผลของชิ้นส่วน หลังจากการเลี้ยงนาน 45 วัน PLBs มีการขยายขนาดและเพิ่มปริมาณมากขึ้น เมื่อครบ 60 วัน พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดมีการเปลี่ยนแปลง 3 ลักษณะ คือ เกิดPLBs, PLBsร่วมกับยอด และเกิดเป็นยอด (ภาพที่ 6)

เมื่อเปรียบเทียบผลของชนิดแสงต่อการชักนำ PLBs พบว่า แสงจากหลอด LEDsสีแดง 80%และสีน้ำเงิน20% ชักนำให้เกิด PLBs ได้เร็วที่สุด โดยเกิดหลังการเพาะเลี้ยงนาน 25 วัน รองลงมาคือ แสง LEDs สีแดง 100%, แสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%, แสง LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ ตามลำดับ เมื่อสังเกตการพัฒนาของ PLBs ของแต่ละชนิดแสงเมื่อเลี้ยงนาน 60 วัน พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดได้พัฒนาเป็น PLBs มากที่สุด ร้อยละ 42.8 ในแสง LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และแสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% รองลงมาร้อยละ 28.6 16.6 12.5 ในแสง LEDs สีแดง 100%, แสง LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ ตามลำดับ ส่วนการพัฒนาเป็น PLBs ร่วมกับยอดนั้นเกิดมากที่สุดร้อยละ 50.00 ในแสง LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% รองลงมาร้อยละ 14.3 ในแสง LEDs สีแดง 100% ส่วนแสงชนิดอื่นปลายยอดไม่มีการพัฒนาเป็น PLBs ร่วมกับยอด ส่วนการพัฒนาเป็นยอดนั้น พบว่าพบร้อยละ 14.3 โดยพบในแสง LEDs สีแดง 100% และ LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% (ตารางที่ 8)

สำหรับชิ้นส่วนปลายยอดที่ไม่พัฒนานั้นพบมากที่สุดร้อยละ 50.00 ในแสงฟลูออเรสเซนส์ รองลงมาคือร้อยละ 28.6 16.8 14.3 14.2 จากแสง LEDsสีแดง90%กับสีน้ำเงิน10%, LEDs สีแดง 50%กับสีขาว50%, แสง LEDsสีแดง80%กับสีน้ำเงิน20% และ แสงLEDsสีแดง100% ตามลำดับโดยชิ้นส่วนตายมากที่สุด ร้อยละ 37.5 ในแสงฟลูออเรสเซนส์ และรอดชีวิตมากที่สุด ร้อยละ 66.60 ภายใต้แสง LEDs สีแดง50%กับสีขาว50%

ตารางที่ 8 ผลของแสงต่อจำนวน (ร้อยละ) ของชิ้นส่วนปลายยอดที่พัฒนาเป็น PLBs และยอด หลังการเลี้ยงนาน 60 วัน

ชนิดแสง	การพัฒนาของปลายยอดจากก้านช่อดอกอ่อน(ร้อยละ)					
	มีการพัฒนา				ไม่พัฒนาและตาย	
	PLBs	PLBs +ยอด	ยอด	รวมมีการพัฒนา	ไม่พัฒนา	ตาย
หลอดฟลูออเรสเซนส์	12.50	--	--	12.50	50.00	37.50
หลอด LEDsสีแดง100%	28.60	14.30	14.30	57.20	14.20	28.60
หลอด LEDs สีแดง90%กับสีน้ำเงิน10%	42.80	--	--	42.80	28.60	28.60
หลอด LEDs สีแดง80%กับสีน้ำเงิน20%	42.80	--	14.30	57.10	14.30	28.60
หลอด LEDs สีแดง50%กับสีขาว50%	16.60	50.00	--	66.60	16.80	16.80

ปลายยอดพัฒนาเป็น PLBs ปลายยอดพัฒนาเป็น PLBs + ยอด ปลายยอดพัฒนาเป็น ยอด

ภาพที่ 6 ลักษณะของ PLBs ที่ชักนำจากปลายยอด ที่ได้จากตาบนก้านช่อดอกอ่อนกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม หลังการเพาะเลี้ยงนาน 60 วัน

การทดลอง 2.4 ผลของแสงต่อการเพิ่มจำนวน PLBs

นำ PLBs ที่ได้จากการทดลอง ที่ 2.3 มาเพิ่มจำนวน โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Vacin-Went ดัดแปลง ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเลี้ยงในสภาพแสง 2 แบบ คือ แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ และแสงจากหลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% หลังการเลี้ยงลงอาหารนาน 5 วัน พบว่า PLBs ในทุกสภาพแสง จะมีสีซีดลง และมีการปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาเล็กน้อยทำให้อาหารมีสีเทา หลังการเลี้ยงในอาหารเหลวนาน 30 วัน พบว่า น้ำหนักของ PLBs ที่เพิ่มขึ้นหลังจากการเลี้ยงในสภาพแสงทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยในแสง LEDs มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 0.16 กรัม ซึ่งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 4.00 เท่า ส่วนที่เลี้ยงในแสงฟลูออเรสเซนส์ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อกลุ่ม 0.13 กรัม เมื่อเลี้ยงนาน 60 วัน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของ PLBs ภายใต้ แสง LEDs มีน้ำหนักเฉลี่ย คือ 0.49 กรัม ซึ่งมากกว่าน้ำหนักเฉลี่ย 0.20 กรัม ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 9) โดย PLBs ที่ได้รับแสง LEDs และแสงจากฟลูออเรสเซนส์มีจำนวนเท่าของน้ำหนักเฉลี่ยของ PLBs เพิ่มขึ้นจากน้ำหนักเริ่มต้นเป็น 12.25 และ 5.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) (ภาพที่ 7)

เมื่อเปรียบเทียบผลของแสงต่อจำนวน PLBs ที่เพิ่มขึ้นนั้นพบว่า ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเลี้ยงนาน 30 วัน จำนวน PLBs ที่ได้รับแสง LEDs และแสงฟลูออเรสเซนส์ มีจำนวน PLBs เฉลี่ย 29.8 และ 31.6 ก้อน และมีจำนวน PLBs เท่ากับ 62.8 54.6 หลังจากเลี้ยงนาน 60 วัน โดยสามารถเพิ่มจำนวน PLBs ได้สูงสุดเท่ากับ 15.7 เท่า เมื่อได้รับแสง LEDs รองลงมาคือ 13.65 เท่า ในแสงฟลูออเรสเซนส์ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 น้ำหนัก PLBs เฉลี่ยต่อกลุ่ม (กรัม) เมื่อเลี้ยงในสภาพแสงต่างๆนาน 30 และ 60 วัน

ชนิดแสง	น้ำหนักเริ่มต้น	30		60	
		น้ำหนัก	จำนวนเท่า	น้ำหนัก	จำนวนเท่า
แสงฟลูออเรสเซนส์	0.04	0.13	3.25	0.20b[1/]	5.00
LEDs	0.04	0.16	4.00	0.49a	12.25
F-test		ns		**	
C.V.%		11.28			

ns : ไม่แตกต่างทางสถิติ

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 10 จำนวน PLBs เฉลี่ยต่อกลุ่ม (กรัม) เมื่อเลี้ยงในสภาพแสงต่างๆนาน 30 และ 60 วัน

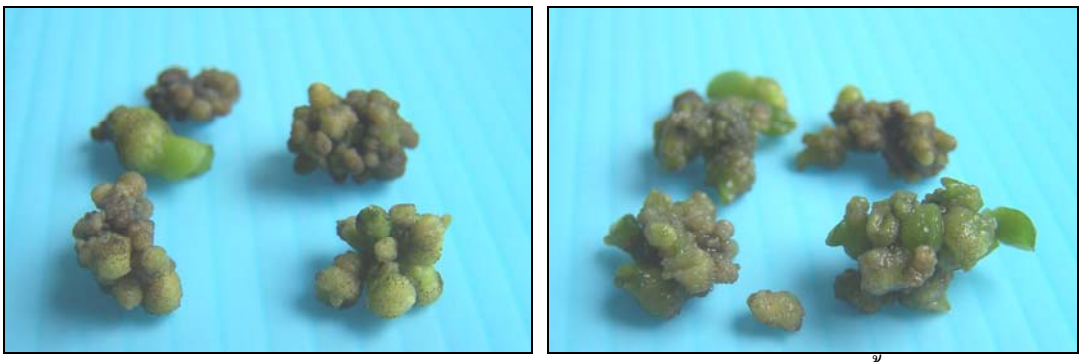
ชนิดแสง	เริ่มต้น	30		60	
		จำนวนกลุ่ม	จำนวนเท่า	จำนวนกลุ่ม	จำนวนเท่า
แสงฟลูออเรสเซนส์	4	29.8	7.45	54.6	13.65
LEDs	4	31.6	7.9	62.8	15.70
F-test		ns		ns	
C.V.%		7.73			

ns : ไม่แตกต่างทางสถิติ

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ99 เปอร์เซนต์



แสงฟลูออเรสเซนส์ LEDs สีแดง80%กับสีน้ำเงิน20%

ภาพที่ 7 ลักษณะของ PLBs ของกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณจากแสง 2 แบบ นาน 60 วัน

การทดลองที่ 3 ผลของแสงร่วมกับสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อนกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม

นำต้นอ่อนของกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสที่ได้จากการชักนำ PLBs ที่มีอายุ 3 เดือน ที่มีใบ 3 ใบ และมีรากอย่างน้อย 2 ราก มาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin-Went ดัดแปลง โดยทุกสูตรอาหาร เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร ต่อลิตร น้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัมต่อลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 100 มิลลิลิตรต่อลิตร วุ้น 5 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมสารพาโคลบิวทราโซล ความเข้มข้น 0 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 5 แบบ คือ หลอดฟลูออเรสเซนส์ ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลอด LEDs สีแดง 100% ความเข้มแสง 11.42 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ความเข้มแสง 8.33 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลอด LEDs สีแดง 80% กับสีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ความเข้มแสง 11.27 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน สังเกตเห็นว่าในสภาพแสง LEDs ทุกแบบ ใบเริ่มยืดยาวมากกว่าในสภาพแสง ฟลูออเรสเซนส์ เมื่อเลี้ยงนาน 4 เดือน นำต้นกล้าออกวัดการเจริญเติบโต พบว่า การให้แสงทั้ง 5 แบบ นั้น ให้ค่าเฉลี่ยความสูงลำต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด จำนวนใบ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นค่าเฉลี่ย จำนวนราก ความยาวรากที่ให้ค่าไม่แตกต่างกัน

น้ำหนักสด พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสงจากหลอด LEDsสีแดง90%กับสีน้ำเงิน10%, หลอด LEDs สีแดง100% และหลอด LEDsสีแดง50%กับสีขาว50% นาน 4 เดือน ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงที่สุดและไม่แตกต่างกันคือ 2.99 2.89 และ 2.74 กรัม ตามลำดับ แต่ให้ค่าที่แตกต่างกับต้นอ่อนที่ได้รับแสง จากหลอดฟลูออเรสเซนส์ และ หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมระหว่างชนิดแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วม โดยการให้สารพาโคลบิวทราโซลในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ความสูงทรงต้น พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสงจากหลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50%, หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%, หลอด LEDs สีแดง 100% นาน 4 เดือน ให้ค่าความสูงทรงต้นสูงสุดและไม่แตกต่างกัน คือ 7.05 7.02 และ 7.00 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่แตกต่างกับต้นอ่อนที่ได้รับแสงจาก หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนต้นอ่อนที่ได้รับแสงจาก หลอดฟลูออเรสเซนส์ พบว่า ให้ความสูงต้นต่ำสุด คือ 4.97 (ตารางที่ 11)

ซึ่งแตกต่างกับต้นอ่อนที่ได้รับแสง LEDs ทุกแบบ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมระหว่างชนิดแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลพบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการให้สารพาโคลบิวทราโซลในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

<u>จำนวนใบ</u> พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสงจาก หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%, หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50%, หลอดฟลูออเรสเซนส์ และ หลอด LEDs สีแดง 100% นาน 4 เดือน ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนใบมากที่สุดและไม่แตกต่างกันคือ 6.24 6.18 6.12 และ 5.92 ใบ ตามลำดับ ส่วนต้นอ่อนที่ได้รับแสง จากหลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่ำสุดคือ 5.78 ใบ (ตารางที่ 11) ซึ่งแตกต่างกับค่าเฉลี่ยจำนวนใบที่ได้รับแสงจาก หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และ หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมระหว่างชนิดแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการให้สารพาโคลบิวทราโซลในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

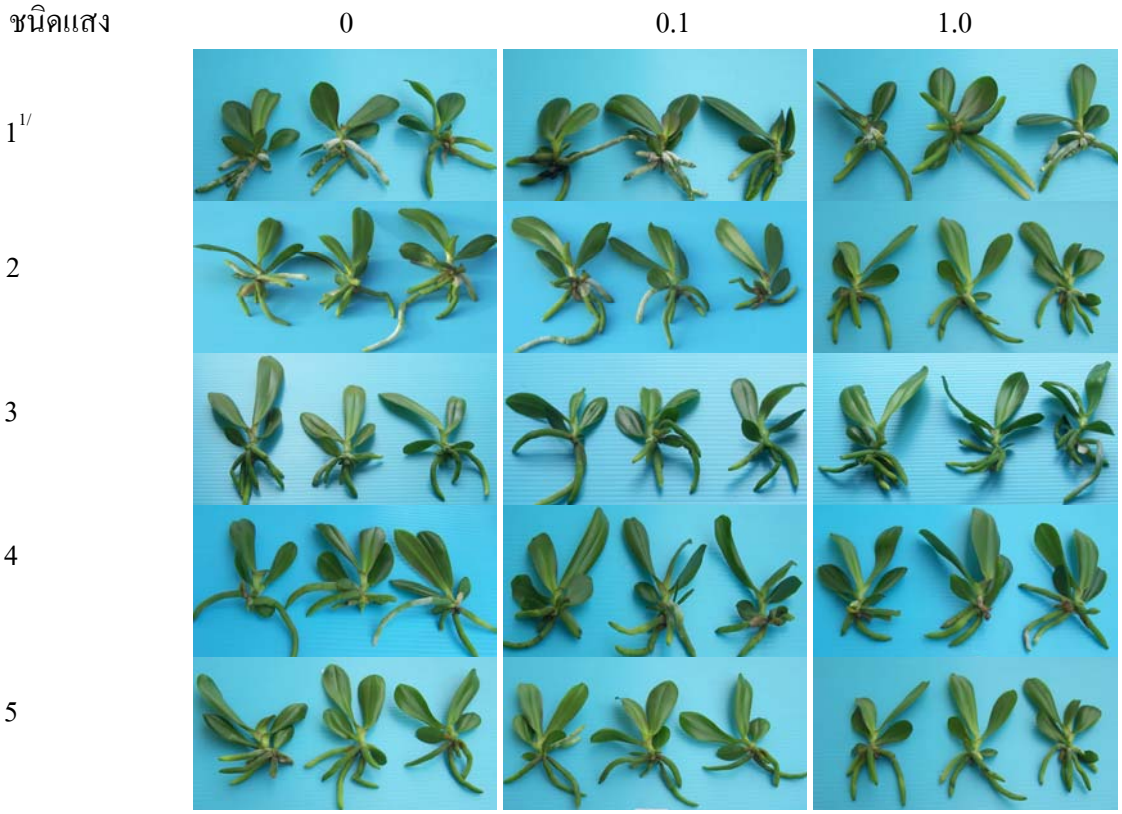
<u>ความกว้างใบที่ 2 จากยอด</u> พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสง หลอด LEDs สีแดง 100%, หลอดฟลูออเรสเซนส์ และ หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% นาน 4 เดือน ให้ค่าเฉลี่ยความกว้างใบมากที่สุดและไม่แตกต่างกันคือ 1.82 1.79 และ 1.74 ตามลำดับ แต่แตกต่างจากต้นที่ได้รับแสงหลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และ หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 11) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมระหว่างชนิดแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการให้สารพาโคลบิวทราโซลในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

<u>ความยาวใบที่ 2 จากยอด</u> พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสงจาก หลอด LEDs สีแดง 100%, หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% และ หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% นาน 4 เดือน ให้ค่าเฉลี่ยความยาวใบมากที่สุดและไม่แตกต่างกันคือ 5.10 5.08 และ 4.77 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่แตกต่างจากต้นที่ได้รับแสงจาก หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และหลอดฟลูออเรสเซนส์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 11) โดยต้นอ่อนที่ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ ให้ค่าเฉลี่ยความยาวใบน้อยที่สุด คือ 3.57 เซนติเมตร เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมระหว่างชนิดแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการให้สารพาโคลบิวทราโซลในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

<u>จำนวนราก</u> พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสงทุกชนิด ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นอ่อนที่ได้รับแสงจาก หลอด LEDs สีแดง 100%, หลอดฟลูออเรสเซนส์, หลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50%, หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% และ หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนราก 5.58 5.55 5.53 5.44 และ 4.93 ตามลำดับ (ตารางที่ 12) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมระหว่างชนิดแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการให้สารพาโคลบิวทราโซลในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

<u>ความยาวราก</u> พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสงทุกชนิด ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นอ่อนที่ได้รับแสงจาก หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%, หลอด LEDs สีแดง 100%, หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%, หลอดฟลูออเรสเซนส์ และหลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ให้ค่าเฉลี่ยความยาวราก 3.42 3.42 3.36 3.28 และ 3.23 ตามลำดับ (ตารางที่ 12) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมระหว่างชนิดแสงกับความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการให้สารพาโคลบิวทราโซลในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซล (มิลลิกรัมต่อลิตร)



<u>ภาพที่ 8</u> การเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม ที่ได้รับแสงชนิดต่างๆ ร่วมกับการเลี้ยงในอาหารที่เติมสารพาโคลบิวทราโซลในระดับต่างๆ หลังการเลี้ยงนาน 4 เดือน

<u>หมายเหตุ</u> 1/ คือ ชนิดแสง

1 คือ แสงฟลูออเรสเซนส์

2 คือ แสง LEDs สีแดง 100%

3 คือ แสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%

4 คือ แสง LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%

5 คือ แสง LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50%

ตารางที่ 11 ผลของแสงและความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลต่อน้ำหนักสด จำนวนใบ ความสูงทรงต้น ความกว้าง ความยาวใบ ของต้นต้นกล้ากล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส ลูกผสม หลังการเลี้ยงนาน 4 เดือน

ปัจจัย	น้ำหนักสด (กรัม)	จำนวนใบ	ความสูงทรงต้น (ซม.)	ขนาดใบที่ 2 จากยอด	
				กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)
ชนิดแสง					
หลอดฟลูออเรสเซนส์	2.60 bc[1/]	6.12ab	4.97c	1.79a	3.58c
หลอด LEDs สีแดง100%	2.89 ab	5.92ab	7.00a	1.82a	5.10a
หลอด LEDs สีแดง90%กับสีน้ำเงิน10%	2.99 a	5.78b	7.02a	1.62b	4.77ab
หลอด LEDs สีแดง80%กับสีน้ำเงิน20%	2.53 c	6.24a	6.54b	1.64b	4.61b
หลอด LEDs สีแดง50%กับสีขาว50%	2.75 abc	6.18a	7.05a	1.74a	5.08a
พาโคลบิวทราโซล					
ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัม	2.74	6.16	6.41	1.72	4.54
ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม	2.70	5.93	6.47	1.72	4.61
ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม	2.82	6.06a	6.68	1.73	4.74
F-test					
ชนิดแสง	*	*	**	**	**
พาโคลบิวทราโซล	ns	ns	ns	ns	ns
ชนิดแสง x พาโคลบิวทราโซล	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)	20.42	9.94	10.97	9.55	12.77

ns : ไม่แตกต่างทางสถิติ

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1/ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 12 ผลของแสงและความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลต่อจำนวนราก ความยาวราก ของต้นกล้ากล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส ลูกผสม หลังการเลี้ยงนาน 4 เดือน

ปัจจัย	จำนวนราก	ความยาวราก (ซม.)
ชนิดแสง		
หลอดฟลูออเรสเซนส์	5.55	3.28
หลอด LEDsสีแดง100%	5.58	3.42
หลอด LEDsสีแดง90%กับสีน้ำเงิน10%	5.44	3.42
หลอด LEDsสีแดง80%กับสีน้ำเงิน20%	4.93	3.40
หลอด LEDsสีแดง50%กับสีขาว50%	5.53	3.23
พาโคลบิวทราโซล		
ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัม	5.28	3.31
ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม	5.34	3.43
ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม	5.59	3.31
F-test		
ชนิดแสง	ns	ns
พาโคลบิวทราโซล	ns	ns
ชนิดแสง x พาโคลบิวทราโซล	ns	ns
C.V.(%)	22.98	15.49

วิจารณ์

<u>การทดลองที่ 1. การเปรียบเทียบผลของแสงร่วมกับสูตรอาหารต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ด</u>

<u>การงอกของเมล็ด</u>

หลังการเพาะเมล็ดนาน 2 เดือน พบว่าเมล็ดที่เพาะภายใต้สภาพแสงฟลูออเรสเซนส์มีค่าดัชนีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างทางสถิติกับแสงจาก LEDs สีแดง 100% หลอด LEDs สีแดง 90% กับสีน้ำเงิน 10%, LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และ LEDs สีแดง 50% กับสีขาว 50% ทั้งนี้เนื่องจาก การงอกของเมล็ดภายใต้สภาพมีแสง ไฟโตโครม Pr จะเปลี่ยนเป็น Pfr ซึ่ง Pfr จะชักนำการงอกของเมล็ด โดยที่ไฟโตโครม Pr จะดูดกลืนแสงช่วงความยาว 667 นาโนเมตร (Borthwick *et al.*1952) ซึ่งช่วงแสงดังกล่าวจะพบทั้งแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์และจากหลอด LEDs จึงทำให้มีค่าดัชนีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันถึงแม้ว่าหลอด LEDs จะมีความเข้มแสงที่ต่ำกว่าหลอดฟลูออเรสเซนส์ แต่มีคุณภาพของแสงที่เหมาะกว่า คือมีความยาวคลื่นช่วง 670-700 นาโนเมตร (Bula *et al* ;1991 ; Islam *et al*. 2001) จึงทำให้การพัฒนาของเอมบริโอไม่แตกต่างกันในทุกสภาพแสง

สำหรับผลของสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดนั้น ในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด โปรโตคอร์มมีการพัฒนาดีที่สุด โดยน้ำตาลมีผลต่อการงอกเนื่องจากเอมบริโอของกล้วยไม้ไม่มีอาหารสะสม และในกระบวนการงอกของเมล็ดจะมีการใช้พลังงานจากการหายใจในอัตราสูง ดังนั้นน้ำตาลจึงมีความสำคัญในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส โปรโตคอร์มจึงพัฒนาได้ดีในอาหารที่เติมน้ำตาล เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ โดยพบว่าเมล็ดของ *Paphiopedilum ciliolare* และลูกผสมชนิดอื่น ๆ ในสกุลนี้จะไม่งอกเลยถ้าไม่มีน้ำตาล (Pierik *et.al* , 1988) เพราะเมล็ดต้องการแหล่งคาร์โบไฮเดรตจากภายนอกเมล็ดเพื่อเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้สำหรับการงอก (Lucke, 1971) เช่นเดียวกับ จุฑามาศ (2549) ที่ได้พบว่า การเติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด โปรโตคอร์มของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Minho Valentine ‘Taisuco’ มีการพัฒนาได้ดีที่สุด

หลังการย้ายโปรโตคอร์มลงในอาหารใหม่สูตรเดิม หลังการย้ายลงอาหาร 2 เดือน (4 เดือนหลังการเพาะ) โดยเปรียบเทียบระหว่างชนิดของแสง พบว่า โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นกล้า ได้ดีที่สุดภายใต้สภาพแสง ฟลูออเรสเซนส์ แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับสูตรอาหาร พบว่า โปรโตคอร์มพัฒนาไปเป็นต้นกล้าได้ดีที่สุด และไม่แตกต่างกัน ภายใต้สภาพแสง LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน

20%, แสงฟลูออเรสเซนส์, LEDs สีแดง 100%, LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% และ LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตร ที่เป็นเช่นนี้เพราะ ในการพัฒนาของต้นกล้า นั้น นอกจากคุณภาพของแสง ความเข้มแสงและระยะเวลาในการได้รับแสงจะมีส่วนสำคัญในการเจริญเติบโตของพืชแล้วนั้น (ไพบูลย์, 2525) น้ำตาลยังเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เพราะในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด (Pierik, 1997) จากอิทธิพลร่วมของแสงกับน้ำตาลจึงส่งผลให้ในทุกสภาพแสงที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ไม่เติมกล้วยหอมบด โปรโตคอร์มมีการพัฒนาไปเป็นต้นกล้าได้ดีไม่ต่างกัน

สำหรับปริมาณน้ำตาลพบว่า การเติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้ โปรโตคอร์มกล้วยไม้พัฒนาดีกว่าการเติมน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับ Pierik (1997) ที่พบว่าน้ำตาล sucrose จะมีการเปลี่ยนรูปไปเป็น glucose และ fructose เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราการเจริญเติบโตของต้นพืชจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นส่วนผลของกล้วยหอมบดต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์ม พบว่าการเติมและไม่เติมกล้วยหอมบดนั้นโปรโตคอร์มกล้วยไม้พัฒนาไปเป็นต้นกล้าได้ไม่แตกต่างกัน ซึ่งตรงกันข้ามกับ จุฑามาศ (2549) ที่พบว่า การเติมกล้วยหอมบด 20 กรัมต่อลิตร โปรโตคอร์มมีการพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่ดีกว่าการไม่เติมกล้วยหอมบด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าระยะของกล้วยหอมบดที่นำมาใช้อาจสุกเกินไป โปรโตคอร์มจึงมีการพัฒนาที่ไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับ อิทธิพล (2523 ก) ได้ทำการเพาะเมล็ดฝักอ่อนอายุ 3 เดือนของกล้วยไม้ลูกผสม *Vanda* Roth-schildiana x *V. sanderana* ที่ใช้กล้วยหอมระดับความสุกต่างกันคือ ดิบ, ห่ามและสุก ร่วมกับระดับน้ำตาลต่างๆกัน คือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 กรัมต่อลิตร พบว่า การใช้กล้วยดิบมีเปอร์เซนต์การงอกสูงกว่าการใช้กล้วยห่ามและกล้วยสุก

จากการทดลองนี้ พบว่า การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose สามารถนำเอาหลอดไฟ LEDs ทุกแบบมาใช้ในการเพาะเมล็ดได้ เนื่องจากมีผลต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอและการพัฒนาของโปรโตคอร์มที่ใกล้เคียงกับที่ได้รับแสงจากฟลูออเรสเซนส์ เมื่อคำนึงถึง คุณภาพของแสง อายุการใช้งาน และ การประหยัดพลังงานในระยะยาว หลอด LEDs จึงมีคุณสมบัติที่ดีกว่า หลอดฟลูออเรสเซนส์

การทดลองที่ 2 ผลของแสงต่อการพัฒนาของตาที่ก้านช่อดอกหลังการปักชำในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากตัดตาบนก้านช่อดอกของ *Phalaenopsis* ลูกผสม มาฟอกฆ่าเชื้อ หลังการเลี้ยงนาน60 วัน พบว่า ตาบนก้านช่อดอกอ่อนพัฒนาเป็น 3 แบบ คือ 1.ตาบนก้านช่อดอกมีการพักตัว 2. พัฒนาเป็นก้านช่อดอก 3.พัฒนาเป็นยอด ตรงกับการทดลองของ อรดี (2521) โดยตาจะมีการเจริญเติบโตไปเป็นแบบใดนั้น ขึ้นอยู่กับ พันธุ์ ตำแหน่งของตาบนก้านช่อดอก และสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยในตำแหน่งที่อยู่ส่วนโคนของก้านช่อดอกมีโอกาสที่พัฒนาไปเป็นต้นมาก ส่วนบริเวณที่อยู่ปลายๆก้านช่อดอก มีโอกาสที่จะพัฒนาไปเป็นช่อดอก เนื่อง จากมีระดับ flowering hormone มากกว่าแถวโคนของก้านช่อดอก

หลังจากที่ปักชำตาบนก้านช่อดอกในสภาพปลอดเชื้อ ตาร้อยละ 20.0 พัฒนาเป็นก้านช่อดอกอ่อน จากนั้นตัดตาจากก้านช่อดอกอ่อนนี้ไปเลี้ยงต่อเพื่อชักนำให้เกิด ยอด หรือ PLBs โดยเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 4 แบบ คือ แสงจากฟลูออเรสเซนส์, LEDs สีแดง 100%, LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% และ LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% พบว่า ตาบนก้านช่อดอกอ่อนมีการพัฒนาไปเป็นยอดเร็วที่สุดหลังการปักชำ 15 วัน ในสภาพแสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% หลังการเลี้ยงนาน 60 วันพบว่ามีการพัฒนาเป็นยอดมากที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% รองลง มา คือแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ แสง LEDs สีแดง 100% และLEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ซึ่งสอดคล้องกับ Gavinlertvatana *et al*. (1980) ที่พบว่าในการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนใบของพิทูเนีย หากเนื้อเยื่อได้รับแสงสีแดงจะเกิดยอดบนเนื้อเยื่อมาก แต่ใน ทางตรงกันข้าม หากเนื้อเยื่อได้รับแสง ฟาร์-เรด จะเกิดยอดบนเนื้อเยื่อน้อย เช่นเดียวกับ Seibert *et al*. (1980) พบว่าแสงสีน้ำเงินมีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเกิดยอดในแคลลัสของยาสูบเมื่อให้แสงนาน 16 ชั่วโมง/วัน เนื่องจากแสง LEDs ประกอบด้วยแสงสีน้ำเงินและแสงสีแดง จึงมีผลในการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนตาบนก้านช่อดอกอ่อนได้ดีกว่าที่ได้รับแสงฟลูออเรสเซนส์

หลังจากที่ได้ยอดจากก้านช่อดอกอ่อน (ร้อยละ 57.8) นำยอดที่ได้ไปชักนำให้เกิด PLBs ภายใต้ แสง 5 แบบ คือ คือ แสงจากฟลูออเรสเซนส์, LEDs สีแดง 100%, LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%, LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% และ LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดได้พัฒนาเป็น PLBs มากที่สุด ใน LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20%, LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10%, LEDs สีแดง 100%, LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Tanaka *et al*. (2001) ที่พบว่าเมื่อนำส่วนของ

ก้านช่อดอกมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์มพบว่า การเกิด PLBs จากก้านช่อดอกจะเกิดมากที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง 50% กับ สีน้ำเงิน50% และภายใต้สภาพแสงสีแดง 100% กับ สีน้ำเงิน 100% เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดฟลูออเรสเซนส์อย่างเดียว ซึ่งการให้แสงแก่เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อนั้นไม่ได้มีจุดประสงค์ในการสังเคราะห์แสงเท่านั้น แต่เพื่อช่วยในการเกิดสัณฐานวิทยาของชิ้นส่วนพืช (Burstrom, 1965) โดยคุณภาพของแสง ปริมาณแสงและช่วงแสงมีความสำคัญในการชักนำให้เกิดอวัยวะจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Murashige , 1974) และในแสง LEDs สีแดง 50% กับสีขาว 50% ชิ้นส่วนปลายยอดได้พัฒนาเป็น PLBs มากกว่าในแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ ถึงแม้ว่าจะมีแสงสีขาวเช่นเดียวกับหลอดฟลูออเรสเซนส์ แต่เนื่องจากแสงสีขาวของ LEDs มาจากการนำสารฟอสเฟตมาเคลือบที่หลอด LEDs สีน้ำเงิน ดังนั้น LEDs สีขาวจึงมีช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกับแสงสีขาวที่ได้จากหลอดฟลูออเรสเซนส์

หลังจากที่ได้ PLBs ที่ชักนำจากชิ้นส่วนปลายยอด มาเพิ่มปริมาณโดยเลี้ยงในอาหารเหลว เนื่องจากเพิ่มปริมาณได้มากกว่าในอาหารแข็ง (จิตราพรรณ, 2548; Kako, 1973) ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวต้องใช้เครื่องเขย่า (shaker) เพื่อช่วยให้เนื้อเยื่อได้รับอากาศนอกจากนั้นยังทำลาย polarity ของเนื้อเยื่อ ซึ่งจะไปยับยั้งการเกิดเป็นยอดและราก (Scully, 1967; street, 1969 ; Wimber, 1963) โดยทำการเปรียบเทียบในสภาพแสง 2 แบบ คือ แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์และแสง LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% พบว่า PLBs ในสภาพแสง LEDs มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อกลุ่มมากกว่าในสภาพแสงฟลูออเรสเซนส์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนจำนวน PLBs ต่อกลุ่มไม่แตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับ Islam *et al* (2001) ที่พบว่าการเจริญเติบโตของแคลลัสจะเกิดขึ้นได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้สภาพแสงสีแดงและแสงสีเหลือง เช่นเดียวกับ Kadkade and Jopson (1978) ที่พบว่าช่วงแสงที่ใกล้ช่วงอุลตราไวโอเลต (371 นาโนเมตร) มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัสและความเข้มแสงที่สูงกว่า 150 μ W.cm^{-2} จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัสเช่นกัน แต่ถ้าความเข้มแสง 24 μW.cm^{-2} จะมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแคลลัส โดยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์จะมีความยาวคลื่นช่วง 350-750 นาโนเมตร ซึ่งมีช่วงแสงในช่วงอุลตราไวโอเลตและมีคุณภาพแสงในการกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของพืชต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับหลอด LEDs (Bula *et al* , 1991)

การทดลองที่ 3 ผลของแสงร่วมกับสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตต้นอ่อน

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งในการเจริญเติบโตและคุณภาพของต้นพืช แสงทั่วไปที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ซึ่งปลดปล่อยแสงที่มีคุณภาพแตกต่างกันออกมาหลายความยาวคลื่นตั้งแต่ 350-750 นาโนเมตร โดยหลอดชนิดนี้ยังมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่เนื่องจากมีความไม่เหมาะสมหลายประการ เช่น อายุการใช้งานต่ำ คุณภาพของแสงต่ำ Bula *et al*., 1991) ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบผลของแสง 5 แบบ คือหลอด ฟลูออเรสเซนส์ ความเข้มแสง 37 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลอด LEDs สีแดง 100% ความเข้มแสง 11.42 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ความเข้มแสง 8.33 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลอด LEDs สีแดง 80% กับ สีน้ำเงิน 20% ความเข้มแสง 7.3 μmol $m^{-2}s^{-1}$ และหลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% ความเข้มแสง 11.27 μmol $m^{-2}s^{-1}$ หลังการเพาะเลี้ยงนาน 4 เดือน พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับแสงจากหลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% หลอด LEDs สีแดง 100% และหลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% นาน 4 เดือน ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด ความสูงทรงต้น ความยาวใบ สูงที่สุด และให้ค่าที่แตกต่างกับต้นอ่อนที่ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ แต่ให้ค่าเฉลี่ย จำนวนใบ ความกว้างใบ จำนวนราก ความยาวราก ที่ไม่ต่างกันกับต้นอ่อนที่ได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Yang *et al*. (2004) ที่ได้ทำการศึกษาคุณภาพของแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิสในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การให้แสงสีแดงและสีน้ำเงิน มีผลในการเพิ่มปริมาณมวลรวมของพืชรูปร่างใบ, และเพิ่มอัตราการอัตราการสังเคราะห์แสง เช่นเดียวกับ Kim *et al.* (2004) ที่พบว่าหลอด LEDs ที่มีแสงสีแดงและแสงสีน้ำเงินนั้นจะส่งเสริมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช โดยจะทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น เนื่องจากแสงสีแดงและแสงสีน้ำเงินจากหลอด LEDs มีความยาวคลื่น 650 และ 440 nm ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นแสงที่พืชสามารถดูดซับไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ เช่นเดียวกับ Lian *et al*. (200) ที่ศึกษาการใช้หลอด LEDs ในการชักนำให้เกิด bulblet ในลิลลี่ในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งพบว่า bulblet ที่เกิดขึ้นภายใต้สภาพแสง LEDs มีขนาดใหญ่ที่สุดรวมทั้งมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด

เนื่องจากแสงจากฟลูออเรสเซนส์ ถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่ม PPF ทำให้มีความเข้มแสงที่สูงกว่าหลอด LEDs โดยหลอด LEDs ที่นำมาใช้ในการทดลองจะมีความเข้มแสงในระดับที่ต่ำกว่าหลอดฟลูออเรสเซนส์ถึง 3 เท่า แต่คุณภาพของแสง LEDs ดีกว่า จึงทำให้มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าแสงฟลูออเรสเซนส์

ส่วนผลของสารพาโคลบิวทราโซลที่ระดับต่างๆพบว่า ให้ผลการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับ วิลาวรรณ (2533) ที่พบว่าสารพาโคลบิวทาโซลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ลูกกล้วยไม้มีการเจริญเติบโตเมื่อนำออกปลูก ใกล้เคียงกับลูกกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารการที่ต้นอ่อนกล้วยไม้ให้ค่าการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากต้นอ่อนกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอพซิส ได้รับความเข้มแสงที่เพียงพอ จึงทำให้มีการเจริญเติบโตและตอบสนองต่อสารพาโคลบิวทราโซลไม่แตกต่างกันในทุกระดับความเข้มข้น เพราะถ้าหากความเข้มแสงไม่เพียงพอแล้วจะมีผลทำให้ พืชมีข้อปล้องสั้นลง มีผลในการชะลอความสูง ลดน้ำหนักสด, นำหนักแห้ง, พื้นที่ใบและขนาดใบ และมีผลในการเพิ่มจำนวนคลอโรฟิลล์ต่อพื้นที่ใบ ทำให้ใบมีสีเขียวเข้ม โดยจะเกิดในระดับการใช้สารที่ความเข้มข้นสูงๆ (พีรเดช, 2529; Anonymous, 1984; Wood, 1984)

สรุป

1. จากการศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ *Phalaenopsis* Cassandra Rose ในสภาพปลอดเชื้อ สรุปได้ดังนี้

1.1 หลังเพาะนาน 2 เดือน เมล็ดมีการงอกในทุกสภาพแสง ระหว่าง 56.8-74.7 โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด ร้อยละ 90 ภายใต้แสง LEDs สีแดง 100% เมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ดีในทุกสภาพแสง ยกเว้นภายใต้แสง LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% โดยการใช้น้ำตาลทราย 5 และ10 กรัมต่อลิตร ให้ผลไม่ต่างกัน และสูตรอาหารที่ไม่เติมกล้วยหอมบด โปรโตคอร์มมีการพัฒนามากกว่าสูตรที่เติมกล้วยหอมบด

1.2 หลังเพาะนาน 4 เดือน โปรโตคอร์มมีการพัฒนาไปเป็นต้นกล้าได้ดีในทุกสภาพแสง ยกเว้นภายใต้แสง LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% ในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตรไม่เติมกล้วยหอมบด

2. สำหรับการปักชำตาที่ก้านช่อดอก การชักนำและการเพิ่ม PLBs ในสภาพปลอดเชื้อ สรุปได้ดังนี้

2.1 ตาบนก้านช่อดอกอ่อน (primary branch) พัฒนาไปเป็นยอดได้ดีและเร็วที่สุด ร้อยละ 63.6 ภายใต้แสงLEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% เมื่อเปรียบกับหลอดฟลูออเรสเซนส์ ที่พัฒนาไปเป็นยอดเพียงร้อยละ 57.2

2.2 ปลายยอดที่เกิดจากตาบนก้านช่อดอก รอดตายมากที่สุดและสามารถชักนำให้เกิด PLBs ภายใต้สภาพแสง LEDs ทุกแบบ โดยในแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์เกิด PLBs เพียงร้อยละ 12.50 และชิ้นส่วนปลายยอดมีการพักตัวและตายสูงถึงร้อยละ 87.50

2.3 PLB s สามารถเพิ่มปริมาณได้ดีทั้งในแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์และแสง LEDs โดยมีจำนวน PLBs ไม่แตกต่างกัน แต่ภายใต้แสง LEDs PLBs มีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงกว่าที่เลี้ยงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์

3. การศึกษาผลของแสงร่วมกับสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า

ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่ได้รับแสงจากหลอด LEDs สีแดง 90% กับ สีน้ำเงิน 10% หลอด LEDs สีแดง 100% และหลอด LEDs สีแดง 50% กับ สีขาว 50% มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด ความสูงทรงต้นและความยาวใบมากกว่าที่ได้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ การเติมสารพาโคลบิวทราโซลที่ทุกระดับความเข้มข้นให้ผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้ที่ไม่แตกต่างกัน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมศุลกากร. 2548. **ข้อมูลการส่งออกกล้วยไม้**. กระทรวงพานิชย์. กรุงเทพฯ

จิตราพรรณ แสงสว่าง. 2511. **การเปรียบเทียบสูตรวุ้นที่ใช้ในการถ่ายขวดเลี้ยงลูกกล้วยไม้ Aranthera Anne Black**. ปัญหาพิเศษเพื่อประกอบการทำปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

จิตราพรรณ พิลึก. 2536. **การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้.** ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

_____. 2548. **เอกสารประกอบการฝึกอบรมวิชา การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้.** ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

จุฑามาศ ศรีสำราญ . 2549. **การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสในสภาพปลอดเชื้อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท**.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

พีระเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. วิชัยการพิมพ์, กรุงเทพฯ

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2525. **หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. กรุงเทพฯ

ระพี สาคริก. 2516. **การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย.** โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, กรุงเทพฯ

วัลยา ทวีสมบูรณ์. 2537. **ผลของเห็ดหูหนู NAA และ Paclobutrazol ในวุ้นอาหารถ่ายขวดที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์**. ปัญหาพิเศษเพื่อประกอบการทำปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

วิลาวรรณ ศิริพูนวิวัฒน์. 2533. **ผลของสารพาโคลบิวทราโซลที่มีต่อการเจริญเติบโตของลูกกล้วยไม้ในวุ้นอาหารถ่ายขวด.** ปัญหาพิเศษเพื่อประกอบการทำปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

วีรวรรณ ตัญญพงศ์ปรัชญ์. 2533. **ผลของสารพาโคลบิวทราโซลร่วมกับกล้วยหอม น้ำมะพร้าว มันฝรั่ง ต่อการเจริญเติบโตของลูกกล้วยไม้สกุลหวายในวุ้นอาหาร.** ปัญหาพิเศษเพื่อประกอบการทำปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2546. **สรีรวิทยาพืช**. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ลิลลี่ กาวีต๊ะ . 2546. **การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช.** ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548.**สรีรวิทยาของพืช.** ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

อบฉันท์ ไทยทอง. 2547. **กล้วยไม้เมืองไทย.** สำนักพิมพ์บ้านและสวน, กรุงเทพฯ

อรดี สหวัชรินทร์. 2541. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

อรดี สหวัชรินทร์. 2521. **การขยายพันธุ์กล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสจากก้านช่อดอก**. วิทยาสารสโมสรกล้วยไม้ บางเขน, กรุงเทพฯ .6: 69-80.

อรัญญา บุญใส. 2533. **การใช้สารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่ำในวุ้นอาหารถ่ายขวดกล้วยไม้.** ปัญหาพิเศษเพื่อประกอบการทำปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

อิทธิพล พรหมรส. 2523 ก. **การงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในวุ้นอาหารที่ใส่กล้วยซึ่งมีความสุกและปริมาณน้ำตาลต่างๆกัน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Anderson, L. 1967. Literture review of orchid seed germination. **Amer. Orch. Soc. Bull**. 36: 304-308

Anonymous. 1984. Paclobutrazol Plant Growth Regulator for fruit. **Technical Data Sheet ICI Plant Protection Division. England.** 41p.

Arditti, J. 1968. Germination and growth of orchid on banana fruit tissue and som of its extract. **Amer. Orch. Soc. Bull**. 37: 112-116

.

_____. 1977. **Orchid Biology Reviews and Perspectives**. Vol. I. Cornell University Press, London. 310 p.

_____. 1984. **Orchid Biology Reviews and Perspectives. Vol. 3.** Cornell University Press, London.

Arditti, J. and R. Ernst. 1993. **Micropropagation of Orchids.** Jonh Wiley & Sons, Inc., New York.

Bilton, R. 1998. Truly tropical but easy to grow. **Orchid Rev**. 106: 303-309

Borthwick, H. A, S. B. Hendricks, M. W. Parker, E.H.Toole and V. K. Toole. 1952. A reversible photoreaction controlling seed germination. **Proc Natl Acad Sci USA**. 38: 662-666

Bula, R. J, R. C. Morrow, T. W.Tibbitts, D. J. Barta, R. W. Ingnatius, T. S.Martin. 1991. Light-emitting diodes as a radiation source for plants. **HortScience** 22, 751-754.

Burstrom, H. G. 1965. Light in regulation of root growth. **In:Proc . Int. Conf . on plant tissue culture**. P. R. White. ed. McCutchan Publishing Corporation. Bekeley, Califonia. pp. 45-67.

Debergh, P. C. and P. E. Read. 1991. Micropropagation. pp. 1-13. *In* P. C. Debergh and R. H. Zimmerman, (eds.). **Micropropagation**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Ernst, R. 1967a. Effect of select organic nutrient additives on growth in vitro of *Phalaenopsis* seedlings. **Amer. Orch. Soc. Bull**. 36: 694 -704.

Ernst, R. 1967b. **Effect of carbohydrate selection on the growth rate of freshy germinated *Phalaenopsis* and *Dendrobium* seed**, pp. 178-222. *In* Arditti, J. Orchid Biology Reviews and Perspectives III. Cornell University Press. London.

_____. 1974. The Use of Activated Charcoal in Asymbiotic Seedling Culture of *Paphiopedilum*. **Amer. Orch. Soc. Bull.** 43: 35-38.

Gavinlertvatana, P., Paul E. Read and H. F. Wilkins. 1980. Control of ethylene synthesis and Action by silver nitrate and rhizobioxine in Peyunia leaf sections culture *in vitro*. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 105 (3) : 304-307.

Intuwong, O. and Y. Sagawa. 1974. Clonal propagation of of *Phalaenopsis* by shoot tip culture. **Amer. Orch. Soc. Bull.** 43: 893-895.

Ishii, Y.,T. Takamura, M.Goi and M. Tanaka. 1998. Cullus induction and Somatic Embryogenesis of Phalaenopsis. **Plant Cell Reports**. 17:446-450.

Islam, M. O. Matsui, S. Iwao, K. and S. Ichihashi. 001. Effect of light intensity and quality on the growth of callus and callus derived plantlet in Phalaenopsis. **Proceedings of APOC7**, Nagoya, Japan.

Jao, R. C. Fang, W. Tsai, T. L. 2003. Using super-bright red and blue LEDS in the production of Phalaenopsis plantlets in vitro. **Graduate Institute of Bio-Industrial Mechatronics Engineering**, National Taiwan University

Kadkade. P. G.and H. Jopson. 1978. Influence of light quality on organogenesis from the embryo-derived callus of Douglas fir (*Psuedotsuga menziesii*c). **Plant Sci**. Lett. 13: 67-73.

Kako, S. 1973. Clonal propagation of *Cattleya* through shoot meristem culture. **Japan Agric Res. Quart.** 7: 109-115.

Kano, K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. **Mem. Fac. Agri**. Kagawa Univ. 20: 1- 68

Kim, S. J. Hahn, E. J. Heo, J. W. Paek, K. Y. 2004. Effect of LEDSs on net photosynthetic rate,growth and leaf stomata of Chrysanthemum plantlets in vitro. **Scienctia Horticulture**. 101: 143-151.

Kim, S. C. W. Morden, Y. Sagawa and J. Y. Kim. 2003. The phylogeny of Phalaenopsis Species . **Proceedings of NIOC2003**, Nagoya, Japan.

Knudson, L. 1992. Non symbiosis germination of orchid seed. **Bot. Goz**. 73 (1):1-25

LEDs tronics. 2001. **The future of light**. 23105 Kashiwa Ct, Torrance, Califlonia, USA.

Lian, M. L., Murthy, H. N., Paek, K. Y. 2002. Effect of light emitting diodes (LEDSs) on the in vitro induction and growth of bulblets of Lilium oriental hybrid 'Pesaro'. **Scientia Horticulture.** 94: 365-370.

Lucke, E. 1971. The effect of biotin on sowings of *Paphiopedilum*. **Amer. Orchid Soc. Bull.** 40 :24-26.

Murashige, T. 1974. Plant Propagation through tissue culture . **Annu.Rev.Plant Physio**. 25: 135-166.

Nean Lee.2005. Phalaenopsis Orchid Light Requirements. **Orchid Symposium**: Potted Orchid Production in the New Millennium TECHMS 2159.

Nhut, D. T, L. T. A. Hong, H. Watanabe, M.Goi and M. Tanaka. 1997. Growth of banana plantlets culture in vitro under red and blue Light Emitting Diode (LEDS) irradiation source. **ISHS Acta Horticultureae 575**: International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits.

Park, S., S. Kakuta, A. Kano and M. Okabe. 1996. Efficent propagation of protocom-like bodies of *Phalaenopsis* in liquid medium**. Plant Cell**, **Tissue and Organ Culture** 45: 79-85.

Park, S., H. Murthy, K. Paek. 2002. Rapid Propagation of Phalaenopsis From Floral Stalk – Devived Leaves. In Vitro cell. Dev. **Biol-Plant** 38: 168-172, March-April 2002

Peirik, R. L. M. 1997. ***In vitro*** **culture of higher plants.** 4th ed. Kluwer Acadamic Publishers. Netherlands.

Peirik, R. L. M., P. A. Sprankels., B.Van Der Harst. and Q. G.Van der Meys. 1988. Seed germination and further development of plantlets of *Paphiopedilum ciliolare* Pfitz. ***In vitro*** **Sci Hort**. 34:139-153.

Sagawa, Y. 1961. Vegetative Propagation of Phalaenopsis by stem cutting. Amer. **Orch. Soc. Bull.** 30: 808-809

Scully, R. M. 1967. Stem propagation of *Phalaenopsis*. **Amer. Orch. Soc. Bull**.35: 40-42.

Seibert, M. and P. G. Kadkade. 1980. Environmental factors. **A Light.** p. 123-141. In: E. J Staba (ed.). Plant tissue culture as a source of biochemicals. CRC Press. Boca Raton. Fla.

Steward, F. C.; M.O.Mapers and K. Mears. 1958. Growth and organized development of cultured. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells. **Amer. J. Botany**. 45: 705-708

Street, H. E. 1969. Growth in organizsed and un organizsed system.Know LEDsge gained by Culture of agar and tissue explants. **Plant Physiology A Treatise**. New York:Academic Press. p. 3-224.

Tanaka, M. 1992**.** Micropropagation of *Phalaenopsis* spp. pp. 246-268. *In* Y.P.S. Bajaj (ed.) **Bitechnology in Agriculture and Foresty, Vol 20**. High-Tech and Micropropagation IV. Spinger-Verlag, Berlin.

_____. 1980. Clonal propagation of *Phalaenopsis* through tissue culture pp. 215-214. *In* M.R.S Kashemsanta (ed.). **Proceeding of the 12th World Orchid Conference**. Amarin Press, Bangkok.

Tanaka, M., Nhut, D. T., Takamura, T., Watanabe, H. 2001. Micropropagation of Phalaenopsis by using Light Emitting Diodes (LEDSs) as a light source. **ISHS Acta Horticultureae 575**

Tanaka, M. and Y. Sakanishi. 1977. Clonal Propagation of *Phalaenopsis* by leaf tissue culture. **Amer. Orch. Soc.Bull**. 46: 733-734

Tom, H. 2004. *Phalaenopsis* Culture: Advice for Growing 20 Species. **Orchids Magazine** 73 (2). Delray Beach, FL: American Society

Tripathy, B. C. and C. S. Brown. 1995. Root-Shoot Interaction in the Greening of Wheat Seedling Grown under Red Light. **Plant Physio**. 107: 407-411.

Tse, A. T., R. T. Smith and W. P. Hackelt. 1971. Adventitous shoot formation on *Phalaenopsis* nodes. **Amer. Orch. Soc. Bull**. 40: 807-810.

Vince, D. 1964. Photomorphogenesis in plant stem. **Biol.** 39: 506-536.

Weis, J. s. and M. J. Jaffe. 1969. Photoenhancement by blue light of organogenesis in tobacco pith culture. **Physio.Plant** 22: 171-176.

White, P. R. 1963. **The cultivation of Animal and Plant Cells. New York**: Ronald Press.

Wimber, D. D. 1963. Clonal multiplication of Cymbidium through tissue culture of shoot meristems. **Cymbidium Soc.Bull**. 32: 105-107.

Wimber, D. D. 1965. Additional observations on clonal multiplication of Cymbidium through culture of shoot meristems. **Cymbidium Soc. New.** 20: 7-10.

Wood, B. W. 1984. Influence of paclobutrazol on selected growth and chemical characteristic of Young Pecan Seedling. **HortScience** 19(6): 837-839.

Yang, I. C, C. T Chen, C. F. Lee. 2004. Light environment simulation and control using LEDS as a light source for plantlets *in vitro*. **Proceedings of The 2nd Internatinal Symposium on Machinery and Machatronics for Agriculture and Bio systems Enginerring.** September 21-23,2004 Kobe,Japan.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่1 ผลของแสง น้ำตาล กล้วยหอมบด ต่อค่าดัชนีการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม หลังการงอกของเมล็ดที่เลี้ยงในอาหาร 4 สูตร นาน 4 เดือน

ปัจจัย	ค่าดัชนีการเจริญเติบโต
ชนิดแสง x น้ำตาล	
แสงฟลูออเรสเซนส์ x น้ำตาลทราย 5 กรัม	463.25a
แสงฟลูออเรสเซนส์ x น้ำตาลทราย 10 กรัม	474.50a
แสง LEDs (red 100%) x น้ำตาลทราย 5 กรัม	404.50c
แสง LEDs (red 100%) x น้ำตาลทราย 10 กรัม	462.00a
แสง LEDs (red 90%+blue 10%) x น้ำตาลทราย 5 กรัม	436.87b
แสง LEDs (red 90%+blue 10%) x น้ำตาลทราย 10 กรัม	443.25b
แสง LEDs (red 80%+blue 20%) x น้ำตาลทราย 5 กรัม	384.37d
แสง LEDs (red 80%+blue 20%) x น้ำตาลทราย 10 กรัม	441.87b
แสง LEDs (red 50%+white 50%) น้ำตาลทราย 5 กรัม	397.87d
แสงLEDs (red 50%+white 50%) น้ำตาลทราย 10 กรัม	429.37b
ชนิดแสง x กล้วยหอมบด	
แสงฟลูออเรสเซนส์ x กล้วยหอมบด 0 กรัม	469.75a
แสงฟลูออเรสเซนส์ x กล้วยหอมบด 10 กรัม	468.00a
แสง LEDs (red 100%) x กล้วยหอมบด 0 กรัม	429.25c
แสง LEDs (red 100%) x กล้วยหอมบด 10 กรัม	437.25c
แสง LEDs (red 90%+blue 10%) x กล้วยหอมบด 0 กรัม	430.75c
แสง LEDs (red 90%+blue 10%) x กล้วยหอมบด 10 กรัม	449.37b
แสง LEDs (red 80%+blue 20%) x กล้วยหอมบด10 กรัม	435.75b
แสง LEDs (red 80%+blue 20%) x กล้วยหอมบด 10 กรัม	390.50d
แสง LEDs (red 50%+white 50%) xกล้วยหอมบด 10 กรัม	442.87b
แสงLEDs (red 50%+white 50%) x กล้วยหอมบด10 กรัม	384.37d
C.V (%)	22.5

ตารางผนวกที่ 2 ผลของแสง น้ำตาล กล้วยหอมบด ต่อค่าดัชนีการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม หลังการงอกของเมล็ดที่เลี้ยงในอาหาร 4 สูตร นาน 4 เดือน

ปัจจัย	ค่าดัชนีการเจริญเติบโต
น้ำตาล x กล้วยหอมบด	
น้ำตาลทราย 5 กรัม x กล้วยหอมบด 0 กรัม	411.35c
น้ำตาลทราย 5 กรัม x กล้วยหอมบด10 กรัม	423.40b
น้ำตาลทราย 10 กรัม x กล้วยหอมบด 0 กรัม	472.00a
น้ำตาลทราย 10 กรัม x กล้วยหอมบด 10 กรัม	424.80b
ชนิดแสง x น้ำตาลชนิดแสง x กล้วยหอมบด	
แสงฟลูออเรสเซนส์ x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	474.75a
แสงฟลูออเรสเซนส์ x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 10 กรัม	449.50b
แสงฟลูออเรสเซนส์ x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	486.75a
แสงฟลูออเรสเซนส์ x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด1 0 กรัม	474.25a
แสง LEDs red 100% x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	384.25d
แสง LEDs red 100% x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 10 กรัม	424.75c
แสง LEDs red 100% x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	474.25a
แสง LEDs red 100% x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 10 กรัม	449.75b
แสง LEDs red 90%+blue 10% x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	412.00c
แสง LEDs red 90%+blue 10% x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 10 กรัม	461.75ab
แสง LEDs red 90%+blue 10% x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	449.50b
แสง LEDs red 90%+blue 10% x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 10 กรัม	437.00b
แสง LEDs red 80%+blue 20%) x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	384.20d
แสง LEDs red 80%+blue 20%) x น้ำตาลทราย 5 กรัมx กล้วยหอมบด 10 กรัม	384.50d
แสง LEDs red 80%+blue 20% x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	487.25a
แสง LEDs red 80%+blue 20% x น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด10 กรัม	396.50d
แสง LEDs red 50%+white 50% น้ำตาลทราย 5 กรัม x กล้วยหอมบด 0 กรัม	411.50c
แสง LEDs red 50%+white 50% น้ำตาลทราย 5 กรัม x กล้วยหอมบด 10 กรัม	384.25d
แสงLEDs red 50%+white 50% น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 0 กรัม	474.25a
แสงLEDs red 50%+white 50% น้ำตาลทราย 10 กรัมx กล้วยหอมบด 10 กรัม	384.50d
C.V (%)	22.5