บทที่ 5

บทสรุป

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

สำรวจและรวบรวมข้อมูลบางประการทางชีววิทยาของกล้วยไม้น้ำ

1. ชีพลักษณ์ และวัฏจักรชีวิต

จากการศึกษาและรวบรวมข้อมูลบางประการทางชีววิทยาของกล้วยไม้น้ำ พบว่า ชีพลักษณ์และวัฏจักรชีวิตของกล้วยไม้น้ำมีการเจริญเติบโตและการกระจายพันธุ์ในระบบนิเวศที่จำเพาะเจาะจง (Pedersen, et al., 2013) รวมไปถึงลักษณะทางกายภาพและทางสรีรวิทยาที่แสดงออกตามการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม แสดงให้เห็นถึงวิวัฒนาการและการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดของกล้วยไม้น้ำในแหล่งที่อยู่อาศัย

เมื่อปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในพื้นที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำในลำธารมีปริมาณมากขึ้นตามไปด้วย กระแสน้ำที่ไหลผ่านกอกล้วยไม้น้ำที่เจริญเติบโตอยู่บนโขดหินกลางลำธาร ทำให้ส่วนของลำต้นและใบถูกพัดพังเสียหายและเน่าเปื่อยไป คงเหลือแต่เพียงเหง้า (Rhizome) และราก ที่ยังคงเกาะตามโขดหินใต้กระแสน้ำ ช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงเวลาที่กล้วยไม้น้ำเกิดการพักตัว (Dormancy) เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เมื่อถึงช่วงฤดูหนาว ปริมาณน้ำในลำธารเริ่มลดลง ทำให้ต้นกล้วยไม้น้ำเกิดการเจริญเติบโตและการพัฒนาทางด้านลำต้นเริ่มขึ้น ซึ่งเหมือนกับกล้วยไม้บางชนิดที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้เช่นกัน อาทิเช่น *E. gigantea* ที่ปกติจะพักตัวในฤดูหนาว เหลือเพียงแต่เหง้าอยู่ใต้ดิน (Rocchio, et al., 2006) หรือกล้วยไม้ดินเหลืองพิศมร (วรชาติ โตแก้ว, 2549) เอื้องดินบานดึก (วิทยา ผาคำ, 2554) และว่านจูงนาง ที่จะพักตัวในช่วงฤดูแล้ง เมื่อมีปริมาณน้ำฝนน้อย คงเหลือเพียงแต่หัวสะสมอาหารอยู่ใต้พื้นดิน โดยไม่มีการเจริญเติบโตหรือ แตกหน่อใหม่เพิ่มขึ้นเป็นเวลานานหลายเดือน จนกระทั่งเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ปริมาณความชื้น และอุณหภูมิที่พอเหมาะ จะสามารถกระตุ้นให้กระบวนการเจริญเติบโตและการพัฒนากลับขึ้นมาใหม่ได้อีกครั้ง (วาริษา รอดน้อย และคณะ, 2553) นอกจากนี้ อุณหภูมิของบรรยากาศ และสภาพแห้งแล้งของฤดูกาลยังมีผลต่อระยะเวลาการพักตัวของกล้วยไม้ดินด้วยเช่นกัน (ลมรัก จิรวัฒน์จรรยา และคณะ, 2553)

เมื่อพิจารณาถึงแหล่งที่อยู่อาศัยของกล้วยไม้น้ำในธรรมชาติ พบว่า ส่วนใหญ่รากจะเกาะติดอยู่กับโขดหินปูนในลำธาร เมื่อจำแนกตามลักษณะสิ่งอาศัยจะถูกจัดให้เป็นกล้วยไม้อิง

อาศัยบนพื้นหิน (Lithophytic orchid) (สลิล สิทธิสัจจธรรม, 2549) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงวัฏจักรชีวิตและชีพลักษณ์การเจริญเติบโต พบว่า ในช่วงฤดูฝนแต่ละปี ส่วนของเหง้า และราก จะจมอยู่ใต้กระแสน้ำเป็นเวลานานหลายเดือน กล้วยไม้ที่มีวิถีการดำรงชีวิตแบบนี้จัดเป็นพวกที่ดำรงชีพได้ในแหล่งที่มีกระแสน้ำท่วมถึง (Rheophytic orchid) ซึ่งพบได้น้อยมากในพืชวงศ์กล้วยไม้ นอกจากกล้วยไม้น้ำแล้วกล้วยไม้ชนิดอื่นๆ ที่มีลักษณะการดำรงชีวิตที่คล้ายคลึงกัน เช่น *Bulbophyllum rheophyton*, *Epipactis atromaginata*, *Agrostophyllum laterale*, *Arundina caespitosa*, *Eria spirodela*, *Porpax elwesii*, *Poaephyllum selebicum* และ *Appendicula rupestris* เป็นต้น (Vermeulen and Tsukaya, 2011; Pedersen, et al., 2013)

2. การเจริญเติบโตทางลำต้นและพัฒนาการสืบพันธุ์

แสงสว่างจากดวงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงานในการสร้างอาหารของพืช โดยอาศัยกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเจริญเติบโต นอกจากนี้แสงยังมีอิทธิพลต่อกระบวนการสืบพันธุ์ของพืช ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอดเปลี่ยนแปลงไปเป็นตาดอก เมื่อลำต้นมีพัฒนาการเจริญเติบโตเต็มที่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (นิตย์ ศกุลรักษ์, 2542) จากผลการศึกษา พบว่า กล้วยไม้น้ำที่เจริญเติบโตบริเวณพื้นที่ร่มเงาที่พรางแสงแดดด้วยต้นไม้ใหญ่ริมลำธาร มีการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางด้านความสูงลำต้นรวมไปถึงขนาดพื้นที่ของแผ่นใบมากกว่าต้นที่เจริญเติบโตบนโขดหินในที่กลางแจ้ง ทั้งนี้เป็นเพราะว่ากลไกการหลีกหนีจากพื้นที่ที่ไม่ได้รับแสงของต้นพืชเอง (Bellare, 1999) และยังเกี่ยวข้องกับกลไกการแสดงออกของออกซินภายในเซลล์พืชที่ยับยั้งการยืดตัวออกของข้อปล้อง (Jeon, et al., 2005) จึงส่งผลให้ลำต้นของกอในพื้นที่กลางแจ้งมีความสูงรวมไปถึงพื้นที่แผ่นใบน้อยกว่าต้นที่เจริญอยู่ในที่ร่มเงา

Devkota and Jha (2010) พบว่า ปริมาณความเข้มของแสงแดดมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาทางด้านลำต้นของ *Centella asiatica* เมื่อลำต้นได้รับความเข้มแสงลดน้อยลง ส่งผลทำให้ความยาวของก้านใบและข้อปล้องเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่จำนวนตาดอกกลับลดน้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับความเข้มแสงสูง

Jeon, et al. (2005) ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของกล้วยไม้ดิน *Doritaenopsis* ที่เพาะเลี้ยงในเรือนเพาะชำซึ่งได้รับความเข้มแสงต่ำ (150-200 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$) ความเข้มแสงปานกลาง (250-350 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$) และความเข้มแสงสูง (400-500 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$) แตกต่างกัน พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเข้มแสงต่ำ และความเข้มแสงปานกลาง สามารถชักนำให้น้ำหนักสดน้ำหนักแห้งของยอด และราก รวมไปถึงพื้นที่ของแผ่นใบจะเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นที่ได้รับความเข้มแสงสูงอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ความเข้มแสงยังมีอิทธิพลต่อการพัฒนาส่วนสืบพันธุ์ของกล้วยไม้น้ำ ซึ่งพบว่ากอกล้วยไม้น้ำที่เจริญอยู่ในที่ความเข้มแสงสูงมีอัตราการสร้างช่อดอกมากกว่ากอที่เจริญอยู่ในที่ ร่มเงา ซึ่งจากการศึกษาของ Min Lin (2011) พบว่า ในพื้นที่ที่ได้รับความเข้มแสงสูง จะสามารถกระตุ้นให้ต้นกล้วยไม้ *Dendrobium* Love Memory "Fizz" สร้างดอกได้เพิ่มขึ้นมากกว่าต้นที่ได้รับความเข้มแสงต่ำ และมีแนวโน้มลดลงเมื่อได้รับแสงสว่างที่มีความเข้มแสงต่ำลง อย่างไรก็ตาม ความเข้มของแสงไม่มีผลต่อระยะเวลาการสร้างดอกหรือคุณภาพของดอกกล้วยไม้ชนิดดังกล่าว หรืออีกกรณีหนึ่ง คือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเข้มแสงสูงสามารถชักนำให้ตาดอกสร้างดอกได้เร็วขึ้นกว่าต้นที่ได้รับความเข้มแสงต่ำ (Ying-Tung Wang, 1995)

3. รูปแบบการผสมเกสรต่อพัฒนาการของฝัก

สำหรับการศึกษารูปแบบการผสมเกสรที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการสืบพันธุ์ของกล้วยไม้น้ำ พบว่า พัฒนาการทางด้านสัณฐานของฝักกล้วยไม้น้ำเกิดการเปลี่ยนแปลงขยายขนาดเพิ่มขึ้น หลังจากดอกกล้วยไม้น้ำได้รับการถ่ายละอองเรณู ทั้งที่ได้รับการผสมเกสรภายในดอกตัวเอง (Self pollination) หรือข้ามดอก (Cross pollination) ซึ่งขนาดของฝักที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรกเกิดจากการพองตัวของผนังรังไข่ เพื่อรองรับเมล็ดที่จะขยายขนาดเพิ่มขึ้นตามมาภายหลัง (Duncan and Curtis, 1942) โดยฝักกล้วยไม้น้ำในช่วง 3 สัปดาห์แรก หลังจากได้รับการถ่ายละอองเกสรข้ามดอกหรือภายในดอก ผนังของรังไข่เกิดการขยายขนาดเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณารูปแบบของการผสมเกสรต่อลักษณะทางสัณฐานของฝักกล้วยไม้น้ำที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่า ภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ฝักที่เกิดจากการผสมเกสรภายในดอกตัวเอง จะมีขนาดความกว้างและความยาวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง หลังจากนั้นขนาดจะเปลี่ยนแปลงไปไม่มากนัก ในขณะที่การผสมเกสรข้ามดอกจะทำให้ฝักกล้วยไม้น้ำขยายขนาดเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด หลังจากระยะเวลาผ่านไป 5-6 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม เมื่อฝักมีอายุ 7-8 สัปดาห์ ผนังฝักจะเริ่มเกิดการแตกออก ขนาดของความกว้างและความยาวของฝักที่ได้รับการผสมเกสรภายในดอกตัวเอง หรือที่ได้รับการผสมเกสรข้ามดอก จะมีขนาดที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยในเอื้องดินบานดึก (*Spathoglottis eburnean* Gagnep.) (วิทยา ผาคำ, 2554) และ *Broughtonia lindenii* (Lindl.) Dressler (Vale, et al., 2011) ซึ่งเมล็ดกล้วยไม้น้ำที่อยู่ภายในฝักจะใช้ระยะเวลาในการพัฒนา และเจริญเติบโตเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์เต็มที่ (Mature seed) หลังจากได้รับการผสมเกสร ค่อนข้างรวดเร็วกว่าเมล็ดในสกุลเดียวกัน เช่น *Epipactis atrorubens* ที่ฝักแก่เต็มที่มีอายุมากกว่า 13 สัปดาห์ (Guignard, 1886) หรือในกล้วยไม้ดินสกุลอื่นๆ อาทิเช่น สกุล *Cypripedium* ที่มีอายุฝักแก่ประมาณ 12-16 สัปดาห์

สกุล *Orchis* ที่อายุประมาณ 11-12 สัปดาห์ สกุล *Ophrys* ที่มีอายุประมาณ 7-10 สัปดาห์ (Rasmussen, 1995) สกุล *Phragmipedium* ฝักสมบูรณ์จะมีอายุประมาณ 10-32 สัปดาห์ (Munoz and Jimenez, 2008) และในบางสกุลอาจมีอายุได้นานถึง 47-48 สัปดาห์ ก่อนเกิดการแตกออกตามธรรมชาติ เช่น กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีบางชนิด (Ardiiti, 1992) ดังนั้น เป็นไปได้ว่ากล้วยไม้น้ำ (*Epipactis flava* Seidenf.) มีการปรับตัวให้เมล็ดมีพัฒนาการไปเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์เต็มที่ภายในระยะเวลาอันสั้น ตามวงจรชีวิตที่ต้องมีการพักตัว เพื่อสามารถกระจายพันธุ์ไปในธรรมชาติได้ก่อนสภาพแวดล้อมของแหล่งที่อยู่อาศัยเกิดการเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาล และเป็นอุปสรรคต่อการงอกและการเจริญเติบโตในบริเวณที่เหมาะสม

กายวิภาค

จากการศึกษากายวิภาคส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้น้ำ (*Epipactis flava* Seidenf.) พบว่าโครงสร้างภายในมีความแตกต่างกันออกไปซึ่งแสดงให้เห็นถึงลักษณะที่สำคัญ สามารถนำไปใช้ในการจัดจำแนกโครงสร้างส่วนต่างๆ และบ่งบอกถึงลักษณะจำเพาะนั้นได้ จากการศึกษาโครงสร้างกายวิภาคของรากกล้วยไม้น้ำ พบว่า เซลล์ผิวเรียงตัวเพียงชั้นเดียว ผนังหนา บางเซลล์เปลี่ยนแปลงเป็นขนรากขนาดสั้น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับรากกล้วยไม้ที่อาศัยบนพื้นดิน (Terrestrial) ในสกุลเดียวกัน พบว่า เซลล์ผิวจะมีผนังหนากว่า อาทิเช่น *Epipactis pontica* แต่อย่างไรก็ตาม ชั้นเนื้อเยื่อคอร์เทกซ์ด้านนอก (Exodermis) ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก เรียงตัว 1-2 ชั้นเซลล์ และจะไม่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ (Intercellular space) เหมือนกัน (Jurcak, et al., 2005) นอกจากนี้ เนื้อเยื่อบริเวณตรงกลางราก ประกอบด้วยกลุ่มของมัดท่อลำเลียงน้ำ (Xylem) และลำเลียงอาหาร (Phloem) ลักษณะเป็นแบบ 5 แฉก (Pentarch) ในขณะที่ ภายในเซลล์พาเรนไคมาของเนื้อเยื่อชั้นคอร์เทกซ์มีการสะสมเม็ดแป้ง (Starch grains) เช่นเดียวกับ *E. pontica* (Jurcak, et al., 2006) โดยเซลล์พาเรนไคมาที่อยู่ใกล้กับมัดท่อลำเลียงจะมีปริมาณเม็ดแป้งสะสมไว้ภายในเพิ่มมากขึ้นเหมือนกับโครงสร้างภายในของเหง้า (Rhizome) กล้วยไม้น้ำ ที่เซลล์พาเรนไคมาจะมีขนาดแตกต่างกัน แตกต่างจากโครงสร้างภายในของลำต้น ที่มีจำนวนชั้นเนื้อเยื่อคอร์เทกซ์น้อยกว่าในโครงสร้างของเหง้า และที่สำคัญไม่ปรากฏเม็ดแป้งสะสมอยู่ภายในเซลล์พาเรนไคมา กลุ่มของมัดท่อลำเลียงกระจัดกระจายอยู่ภายในจำนวนมาก แผ่นใบของกล้วยไม้น้ำมีความหนาเพียง 6-7 ชั้นเซลล์ เซลล์ผิวมีลักษณะเป็นปุ่มนูน (Papillae) พบเฉพาะบริเวณเส้นใบ ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษที่พบเฉพาะกล้วยไม้สกุล *Epipactis* ซึ่งสามารถใช้จัดจำแนกได้ (Jakubska-Busse and Gola, 2010) ส่วนโครงสร้างภายในของก้านช่อดอก พบว่า มีลักษณะคล้ายกับลำต้น แต่จะมีจำนวนเซลล์ไฟเบอร์ (Fiber) มากกว่า เพื่อสร้างความแข็งแรงให้กับก้านช่อดอก และที่สำคัญชั้น

เซลล์ผิวสามารถพัฒนาไปเป็นปากใบ (Stomata) ได้อีกด้วย สำหรับโครงสร้างภายในของผลหรือฝัก พบว่า ภายในฝักไม่มีผนังกั้น ผนังของฝักกล้วยไม้น้ำแบ่งออกเป็น 3 ส่วน แต่ละส่วนประกอบด้วยผนังที่สามารถขยายขนาดเพิ่มขึ้นได้ (Fertile valve) ซึ่งเป็นผนังส่วนที่สร้างเมล็ด และผนังส่วนที่กั้นกลางระหว่างผนังดังกล่าว (Sterile valve) เมล็ดที่อยู่ภายในฝัก (Mature capsule) จะมีขนาดความกว้างประมาณ 254.2 ไมโครเมตร และยาว 715.9 ไมโครเมตร

จากผลการศึกษาโครงสร้างภายในของกล้วยไม้น้ำ (*Epipactis flava* Seidenf.) แสดงให้เห็นว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับ *Epipactis* ชนิดอื่นๆ อาทิเช่น *E. pseudopurpurata* และ *E. purpurata* (Jakubska-Busse, et al., 2012), *E. pontica* (Jurcak, et al., 2005; 2006), *E. helleborine* (Jakubska, 2007) ที่เคยมีการศึกษามาก่อนหน้านี้ จากการศึกษากายวิภาคครั้งนี้ พบว่าลักษณะโครงสร้างภายในของกล้วยไม้น้ำไม่มีความแตกต่างจากกล้วยไม้ชนิดอื่นๆ ในสกุลเดียวกันอย่างเห็นได้ชัดเจน ดังนั้น จึงไม่สามารถใช้เป็นลักษณะในการจัดจำแนกได้

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้น้ำในสภาพปลอดเชื้อ (*In vitro* propagation)

1. การงอกและการพัฒนาของเมล็ด

จากผลการศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้น้ำในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร Vacin and Went (1949) จากฝักที่มีอายุหลังการผสมเกสร 2 4 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดจากฝักอายุ 4 6 และ 8 สัปดาห์ สามารถเกิดกระบวนการงอกและเกิดการพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มขึ้นได้ ทั้งเมล็ดที่เกิดจากการผสมเกสรภายในตัวเอง (Self pollination) หรือที่ผสมเกสรข้ามดอก (Cross pollination) ซึ่งแตกต่างจากเมล็ดของฝักอายุ 2 สัปดาห์ ที่ไม่พบกระบวนการงอกของเมล็ด เนื่องมาจากพัฒนาการของเอมบริโอภายในเมล็ดจากฝักขนาดเล็กหรือฝักที่อายุน้อย กระบวนการปฏิสนธิเพื่อให้ไซโกต (Zygote) พัฒนาเป็นเอมบริโอนั้นยังอยู่ในช่วงเริ่มต้น รวมไปถึงกลไกทางสรีรวิทยาบางประการที่เกี่ยวข้องกับการงอกยังไม่เกิดขึ้น เนื่องจากเอมบริโอมีอายุอ่อนเกินไป จึงทำให้เมล็ดจากฝักอายุน้อยไม่เกิดกระบวนการงอกขึ้น (Minea, et al., 2004; Deb and Temjensangba, 2006)

อย่างไรก็ตาม เมล็ดของกล้วยไม้น้ำจากฝักที่เริ่มเจริญเต็มที่ (Immature capsule) (อายุประมาณ 4-6 สัปดาห์ หลังการผสมเกสร) มีแนวโน้มที่ทำให้อัตราการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของโปรโตคอร์มเกิดขึ้นเร็วกว่าเมล็ดจากฝักแก่เต็มที่ (Mature capsule) (ประมาณ 8 สัปดาห์ หลังผสมเกสร) ที่อายุเพาะเลี้ยง 10 สัปดาห์ ในสภาพปลอดเชื้อ ทั้งนี้เป็นเพราะกลไกทางสรีรวิทยาบางประการที่เกี่ยวข้องกับการพักตัวของเมล็ด (Seed dormancy) เพื่อเตรียมพร้อมในการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ โดยลักษณะของเปลือกหุ้มเมล็ด (Testa) เกิดการเปลี่ยนแปลง

ไปโดยเฉพาะในกล้วยไม้สกุล *Cephalanthera* และ *Epipactis* (Rasmussen, 1995) จึงทำให้อัตราการงอกของเมล็ดจากฝักที่แก่เต็มที่มีแนวโน้มน้อยกว่าเมล็ดจากฝักอายุน้อยกว่า นอกจากนี้การเพาะเมล็ดกล้วยไม้จากฝักอายุน้อยกว่ายังช่วยประหยัดระยะเวลาในการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อได้อีกด้วย (Arditti, 1982) ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวยังสอดคล้องกับงานรายงานการวิจัยกล้วยไม้ดิน *Malaxis khasiana* ที่พบว่า อายุของเมล็ดจากฝักที่มีอายุ 8-9 สัปดาห์หลังการผสมเกสร (Immature capsule) สามารถงอกและพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเมล็ดจากฝักที่มีอายุน้อยกว่าหรือมากกว่า (Deb and Temjensangba, 2006)

เมื่อพิจารณาถึงรูปแบบของการผสมเกสรในดอกกล้วยไม้น้ำ พบว่า การผสมเกสรข้ามดอกสามารถชักนำให้เมล็ดเกิดการงอกและการพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มได้ดีกว่าเมล็ดที่เกิดจากการผสมเกสรภายในดอก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Minea, et al. (2004) ที่พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis* ที่เกิดจากการผสมเกสรข้ามดอก สามารถทำให้กระบวนการงอกได้ดีกว่าเมล็ด ที่เกิดจากการผสมเกสรภายในดอกตัวเอง รวมไปถึง เมล็ดกล้วยไม้ในสกุล *Serapias* ที่เกิดจากการผสมเกสรข้ามดอกก็สามารถชักนำให้กระบวนการงอกเกิดขึ้นได้ดีกว่าเมล็ดที่เกิดจากการผสมเกสรภายในดอกเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ (Bellusci, et al., 2009) ซึ่งเกิดจาก Inbreeding depression เป็นสาเหตุสำคัญ ที่ช่วยส่งเสริมให้เมล็ดกล้วยไม้ที่เกิดจากการผสมเกสรข้ามดอกเกิดการงอกและการพัฒนาได้มากกว่าเมล็ดที่เกิดจากการผสมตัวเอง (Charlesworth and Charlesworth, 1987)

จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ารูปแบบการผสมเกสรของดอกกล้วยไม้เพื่อให้ได้มาซึ่งเมล็ดพันธุ์เพื่อเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ก็มีความสำคัญเช่นเดียวกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์หรือสายพันธุ์ของกล้วยไม้นั้นด้วย

2. ปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการทวีจำนวนของต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำในหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำ เพื่อศึกษาผลของปัจจัยบางประการ ได้แก่ อัตราส่วนของสารประกอบอนินทรีย์บางชนิด ระยะเวลาการได้รับแสงสว่างในรอบวัน ความเป็นกรดด่างของอาหารเพาะเลี้ยง สารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อน รวมไปถึงสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยง และสถานะของอาหารเพาะเลี้ยง ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาทางด้านสัณฐานในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า

2.1 อัตราส่วนของสารประกอบอนินทรีย์บางชนิด

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนของสารประกอบอนินทรีย์ หรือสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่ สูตร VW (1949), MS (1962), MM (1996), BM-1 และสูตรดังกล่าวที่ลดปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำ พบว่า อัตราส่วนของสารประกอบอนินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรจะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไปทั้งวิตามินและแร่ธาตุอาหาร โดยเฉพาะสารประกอบที่แตกตัวให้ธาตุไนโตรเจน ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นพืช อีกทั้ง แหล่งที่มาของธาตุอาหารต่างชนิดกันสามารถส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้แตกต่างกันออกไป (Van Waes and Debergh, 1986; Anderson, 1996; Stewart and Kane, 2006) ซึ่งกล้วยไม้โดยทั่วไปในระยะที่เมล็ดเริ่มเกิดกระบวนการงอกจนพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนจะสามารถดูดซึมธาตุไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมไอออน (NH_4) ได้ดีกว่าไนเตรทไอออน (NO_3) (Wynd, 1933; Parthibhan, et al., 2012) จากผลการทดลอง พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำมีการสร้างหน่อใหม่บนอาหารสูตร VW (1949) ได้มากกว่าอาหารสูตรอื่นๆ เป็นเพราะว่า สัดส่วนระหว่างไนเตรทกับแอมโมเนียมที่เป็นองค์ประกอบหลักในสูตรอาหารมีปริมาณแตกต่างกัน จึงทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW (1949) มีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่า เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ไนเตรทรีดักเตรส (Nitrate reductase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปไนเตรท (NO_3) ไปเป็นไนไตรท์ (NO_2) และเปลี่ยนไนไตรท์ให้เป็นแอมโมเนียม (NH_4) ที่พืชสามารถนำไปสังเคราะห์เป็นสารประกอบไนโตรเจนชนิดอื่นๆ ต่อไป (ประทุม ฤทธิสุนทร, 2547) ซึ่งการดูดซึมไนโตรเจนในรูปของไนเตรทจะเกิดขึ้นน้อยในช่วงระยะต้นอ่อน (Van Waes and Debergh, 1986; Malmgren, 1992) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานการศึกษากระบวนการงอกของเมล็ดกล้วยไม้น้ำ *Epipactis flava* Seidenf. ในสภาพปลอดเชื้อ ที่มีมาก่อนหน้านี้ ซึ่งเมล็ดกล้วยไม้น้ำที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Vacin and Went, 1949 สามารถชักนำให้เมล็ดเกิดการงอกและพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์ม

ที่สมบูรณ์ได้ดีที่สุด (บวร คุณากรนุรักษ์, 2553) รวมไปถึง การศึกษาของอุษณีย์ วงศ์ปัตน์ษา และครรชิต ธรรมศิริ (2555) ที่สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องครั่งแสด (*Dendrobium unicum* Seidenf.) มีอัตราการรอดชีวิต และสามารถสร้างยอดใหม่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) อีกทั้งสูตรอาหารดังกล่าวสามารถทำให้กล้วยไม้เพชรหึง (*Grammatophyllum speciosum*) เพิ่มจำนวนยอดใหม่ได้สูงที่สุดภายในระยะเวลา 2 เดือน (นันทิดา โยทานันท์ และวิไลลักษณ์ ชินะจิตร, 2555) และจากรายงานการศึกษาของแสงเดือน วรรณชาติ (2554) พบว่า ชิ้นส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ทำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตดีที่สุด อย่างไรก็ตาม อัตราการตายของต้นอ่อนที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตร 1/2MS หรือ MS (1962) เนื่องมาจากมีปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่สูงกว่าสูตรอาหารชนิดอื่นๆ (แสงเดือน วรรณชาติ, 2554)

2.2 ระยะเวลาการได้รับแสงในรอบวัน

โดยทั่วไป แสงสว่างจะมีอิทธิพลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ 2 กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการงอกของเมล็ด (Arditti, 1967; Rasmussen, 1995; Stewart and Kane, 2006) และกระบวนการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นอ่อน (Dutra, et al., 2008, 2009) อย่างไรก็ตาม อิทธิพลของแสงสว่าง คุณภาพแสง และระยะเวลาการได้รับแสง มีความจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงเพียงเล็กน้อย แต่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของชิ้นส่วน (Photomorphogenesis) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ (George, et al., 2008)

จากผลการศึกษา พบว่า การให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำสร้างหน่ออ่อนเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่า ตาข้างของต้นอ่อนตอบสนองได้ดีที่สุดเมื่อได้รับแสงสว่างเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนหน่ออ่อนจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการได้รับแสงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Dutra, et al. (2008) ที่พบว่า จำนวนยอดของต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Bletia purpurea* มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการรับแสงเพิ่มขึ้น แต่ในทางตรงข้าม ต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Cyrtopodium punctatum* มีแนวโน้มสร้างจำนวนยอดได้เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาได้รับแสงเพิ่มมากขึ้น (Dutra, et al., 2009) อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาการได้รับแสงสว่างแตกต่างกันไม่สามารถชักนำให้จำนวนรากกล้วยไม้น้ำเกิดขึ้นได้ต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาถึงจำนวนใบของกล้วยไม้น้ำ พบว่า มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการได้รับแสง

มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ แสงเดือน วรรณชาติ (2549) พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบจะมีพัฒนาการเกิดใบได้ดีเมื่อมีระยะเวลาในการได้รับแสงน้อย และมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการได้รับแสง ทั้งนี้เนื่องจากในสภาพที่ต้นพืชได้รับแสงน้อยจำเป็นต้องมีการปรับตัวเพื่อการเจริญเติบโตในพืช (Wilkins, 1984) ซึ่งแตกต่างไปจากงานวิจัยของ Stewart and Kane (2006) ที่พบว่า จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นอ่อนของกล้วยไม้ *Habenaria macroceratitis* จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการให้แสงที่เพิ่มมากขึ้น

2.3 ความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหารเพาะเลี้ยง

โดยทั่วไปความเป็นกรดด่างของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะมีผลโดยตรงต่อสภาพทางกายภาพของอาหาร รวมไปถึงประสิทธิภาพการดูดซึมแร่ธาตุต่างๆ ของรากพืช (Lang, et al., 1994) และยังมีผลกระทบต่อปฏิกิริยาเคมีต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเร่งปฏิกิริยาจากการทำงานของเอนไซม์ ทั้งนี้ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเพาะเลี้ยง ยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบภายในอาหารเพาะเลี้ยงอีกด้วย (Arditti, 1967) ซึ่งค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของอาหารเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปจะมีค่าอยู่ที่ 5.5-6.0 (George, et al., 2008)

จากผลการศึกษาสภาพความเป็นกรดด่างของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไปเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต้นอ่อนในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดด่างแตกต่างกัน 5.0-5.6 มีผลกระตุ้นให้ต้นอ่อนสร้างหน่อ และรากใหม่เพิ่มขึ้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ จำนวนใบและน้ำหนักสดของต้นอ่อนเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ที่มีค่าความเป็นกรดด่างเป็น 5.2 และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 16 สัปดาห์ พบว่า จำนวนหน่อของต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำสามารถชักนำให้เพิ่มขึ้นสูงที่สุด บนอาหารสูตรที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.2 ทั้งนี้เป็นเพราะว่าค่าความเป็นกรดด่างภายในอาหารดังกล่าวทำให้ธาตุอาหารต่างๆ ละลายอยู่ในรูปที่รากพืชสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด (Arditti and Ernst, 1984; Sharma and Tandon, 1991) ในขณะที่จำนวนรากของต้นอ่อนมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เมื่อค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากสภาพกรดด่างที่มีค่าใกล้เคียงกับสภาพตามธรรมชาติของแหล่งกำเนิดกล้วยไม้นั้นๆ ที่ช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น (ระพี สาคลิก, 2530) และจากรายงานการศึกษาของ ฐกฤต อิ่มสมบูรณ์ และคณะ (2554) พบว่าเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีคางกบที่สามารถงอกได้ดีบนอาหารที่มีสภาพเป็นกรดอ่อนๆ (pH 6) เนื่องจากในธรรมชาติมีการกระจายพันธุ์อยู่ในเขตบริเวณภูเขาหินปูน แต่อย่างไรก็ตาม ค่าความเป็นกรดด่างที่สูงเกินไปจะยับยั้งการงอกได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม ค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่าง

กัน สามารถส่งเสริมการเจริญและการพัฒนาได้แตกต่างกัน อาทิเช่น โปรโตคอร์ม *Dendrobium* "Snowfire" สามารถเจริญและพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้ดีบนอาหารที่ปรับค่ากรดด่างเป็น 5.1 (Madhuri, et al., 1992) และระดับความเป็นกรดด่างที่ 5.5 สามารถกระตุ้นให้โปรโตคอร์ม *Aerides japonicum* เจริญเติบโตได้ดีเช่นกัน (Kim, 1990)

2.4 สารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อน (น้ำมะพร้าวอ่อน และน้ำต้มมันฝรั่ง)

จากรายงานการศึกษาของ Yong, et al. (2009) พบว่า องค์ประกอบส่วนใหญ่ของน้ำมะพร้าวอ่อนประกอบไปด้วยน้ำตาล วิตามิน เกลือแร่ กรดอะมิโน และฮอร์โมนพืชอีกหลายชนิด ที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับกระบวนการเจริญเติบโตและการพัฒนาของชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยง จากผลการศึกษาปริมาณของน้ำมะพร้าวอ่อน (Coconut water) และน้ำต้มมันฝรั่ง (Potato extract) ที่เติมร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยงกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร 1/2VW (1949) พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 75 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้นมันฝรั่ง 12.5 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีการสร้างหน่อใหม่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด ในขณะที่จำนวนใบของต้นอ่อนเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้นมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร หรือสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 75 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม อาหารสูตรที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมน้ำมะพร้าวอ่อนปริมาณต่างๆ สามารถชักนำให้จำนวนรากและน้ำหนักสดของต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำต้มมันฝรั่งปริมาณอื่นๆ ซึ่งจากรายงานของ Baque, et al. (2011) พบว่า น้ำมะพร้าวอ่อนปริมาณแตกต่างกันที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงไม่สามารถชักนำให้ยอดและรากของต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Calanthe* hybrids (Chunkwang x Hyesung) มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง รวมไปถึงจำนวนรากเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้แต่ละชนิดสามารถตอบสนองต่อปริมาณของน้ำมะพร้าวอ่อนได้ดีแตกต่างกันออกไป อาทิเช่น อาหารเพาะเลี้ยงที่เติมเติม 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าวอ่อนร่วมด้วยสามารถชักนำให้จำนวนโปรโตคอร์มและพัฒนาการของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Cymbidium pendulum* เพิ่มมากขึ้น (Kaur and Bhutani, 2012) ในขณะที่โปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Phalaenopsis* สามารถเพิ่มจำนวนได้มากขึ้นในอาหารเหลวสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 200 มิลลิลิตรต่อลิตร (Tanaka and Sakanishi, 1980) ในทางตรงข้าม กลับไม่สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มที่ถูกผ่าครึ่งเพิ่มจำนวนขึ้นได้แตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงลงในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวปริมาณแตกต่างกัน 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ (Murdad, et al., 2006) และจากผลการทดลอง พบว่า จำนวนหน่อใหม่ของกล้วยไม้น้ำที่เกิดขึ้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณของน้ำต้มมันฝรั่งเพิ่มมากขึ้น เป็นเพราะว่า

ปริมาณของมันสกัดที่เพิ่มมากขึ้นในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลยับยั้งการสร้างหน่ออ่อนและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้น้ำ เนื่องจากในมันฝรั่ง 100 กรัม จะประกอบได้ไปด้วยน้ำ 70-80 เปอร์เซ็นต์ และส่วนสารประกอบที่เหลือจะประกอบด้วยแป้งหรือน้ำตาล 60-70 เปอร์เซ็นต์ (Prokop and Albert, 2008) นอกจากนี้จากผลการศึกษายังสอดคล้องกับรายงานของ Murdad, et al. (2010) ที่พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงที่เติมมันฝรั่งบดเพิ่มสูงขึ้น กลับทำให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นอ่อน *Phalaenopsis gigantea* ลดลง ในขณะที่การเติมน้ำตาล Fructose หรือ Sucrose ร่วมกับการเติมสารสกัดจากมันฝรั่งปริมาณเพิ่มมากขึ้นมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มในกล้วยไม้ *Vanda* Kasem's Delight ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) (Gnasekaran, et al., 2012) ในทางตรงข้าม จากรายงานการศึกษาของ อาภาภรณ์ วัฒนวิเชียร (2534) และสุจรรยา เรืองวีรยุทธ (2539) กลับพบว่าการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม หรือต้นอ่อนกล้วยไม้ช้างกระและเอื้องบุษราคัม จะมีการเจริญและพัฒนาเกิดยอดใหม่มากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติมน้ำต้มมันฝรั่งเพิ่มมากขึ้น

ถึงแม้ว่าการเติมสารสกัดจากน้ำต้มมันฝรั่งที่ 25 หรือ 12.5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 75 หรือ 125 มิลลิลิตรต่อลิตร จะสามารถชักนำต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำให้สร้างหน่ออ่อนเพิ่มขึ้นมากที่สุด แต่ลักษณะของหน่ออ่อนที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก ไม่สมบูรณ์เท่าที่ควร ในขณะที่ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมสารสกัดจากน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน 100 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้สร้างใบ ราก รวมไปถึงน้ำหนักสดให้เพิ่มสูงมากขึ้นและยังมีลักษณะที่สมบูรณ์แข็งแรงมากกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวและน้ำต้มมันฝรั่งปริมาณอื่นๆ

2.5 สารควบคุมการเจริญเติบโต

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการการพัฒนาทางสัณฐานต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½VW (1949) ที่เติม BA, Zeatin, Kinetin, TDZ, NAA, IAA, IBA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า เมื่อเวลาเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ ต้นอ่อนของกล้วยไม้น้ำที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม IAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีการสร้างหน่อใหม่เฉลี่ยมากที่สุด ในขณะที่การเติม Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนสร้างใบและรากเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินสามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนสร้างหน่ออ่อนได้เพิ่มขึ้นสูงที่สุด บนอาหารสูตรที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำที่เลี้ยงลงบนอาหารสูตรที่เติม IBA มีแนวโน้มชักนำ

ให้จำนวนรากเพิ่มสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ IBA เพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตาม อาหารสูตรที่เติม Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนสร้างใบใหม่ได้มากที่สุด ในขณะที่ความสูงของลำต้นเพิ่มขึ้นมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนลงบนอาหารสูตรที่เติม IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากตัวอย่างรายงานการศึกษาการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน โดยเฉพาะ TDZ ที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้เป็นจำนวนมาก (Nayak, et al., 1997; Chen and Chang, 2001; Park, et al., 2002) และนอกจากนี้ การเติม TDZ ร่วมกับ 2,4-D สามารถกระตุ้นให้แคลลัสเกิดพัฒนาการเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดใหม่เพิ่มมากขึ้นในกล้วยไม้ *Cymbidium ensifolium* var. misericors (Chen and Chang, 1998) จากการศึกษาของ Fan, et al. (2010) พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชบางชนิด สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่บนอาหารสูตรที่เติม TDZ ได้ดีกว่าการเติม BA ภายใต้สภาวะเพาะเลี้ยงเดียวกัน นอกจากนี้ Chen, et al. (2004) สามารถเพิ่มจำนวนของยอดใหม่ได้โดยตรงจากชิ้นส่วนใบของกล้วยไม้ดิน *Paphiopedilum* เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม TDZ 0.45 µM รวมถึงการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดอ่อนของกล้วยไม้ *Paphiopedilum callosum* บนอาหารเพาะเลี้ยงร่วมกับการเติม TDZ 0.5 µM สามารถเพิ่มจำนวนหน่อใหม่ได้มากที่สุดเช่นกัน (Wattanawikkit, et al., 2011) ซึ่งโดยทั่วไปโครงสร้างของ TDZ ประกอบด้วยอนุพันธุ์ของฟีนิลยูเรีย (Phenylurea derivative) ที่มีผลกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชเกิดการพัฒนาไปเป็นยอดได้มากกว่าการพัฒนาไปเป็นเอมบริโอจากเซลล์ร่างกาย (Somatic embryogenesis) (Huetteman and Preece, 1993) โดยการกระตุ้นดังกล่าวจะเกิดได้ดีขึ้นเมื่อใช้ปริมาณความเข้มข้นต่ำๆ และนอกจากนี้ TDZ ยังมีความสามารถในการกระตุ้นให้เซลล์พืชสังเคราะห์ไซโคไคนินในกลุ่มอะดีนีน (Adenine-type cytokinins) เช่น Kinetin และ Zeatin ได้เพิ่มมากขึ้นด้วย (Thomas and Katterman, 1986) นอกจากไซโตไคนินแล้ว ออกซินบางชนิดยังออกฤทธิ์ชักนำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดพัฒนาการไปเป็นยอดใหม่ได้ด้วยเช่นกัน Hong, et al. (2008) สามารถกระตุ้นให้แคลลัสกล้วยไม้ *Paphiopedilum* Alma Gavaert. เกิดการพัฒนาเปลี่ยนแปลงไปเป็นโปรโตคอร์มได้มากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติม NAA 26.85 µM รวมไปถึง การเติม 2,4-D ลงในอาหารเหลว เพื่อกระตุ้นให้ชิ้นส่วนใบของพรุน (*Prunus* sp.) สามารถกระตุ้นให้เกิดการแตกหน่อใหม่ได้ดีกว่าการเติมออกซินชนิดอื่นๆ (Pascual and Marin, 2005) ในทำนองเดียวกัน การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบลิลลี่บนอาหารสูตรที่เติม 2,4-D สามารถทวีจำนวนยอดใหม่ให้เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าออกซินชนิดอื่นๆ เช่นกัน (Kanchanapoom, et al., 2011)

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าออกซินที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้ต้นอ่อนสร้างรากใหม่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Asghar, et al. (2011) พบว่ายอดอ่อนของเอื้องคำกิ่ว (*Dendrobium nobile* var. Emma white) ที่เพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากเพิ่มขึ้นมากที่สุด และนอกจากนี้ ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันยังสามารถส่งเสริมให้ชิ้นส่วนยอดอ่อนกล้วยไม้ช้าง (*Rhynchostylis retusa* Blume) สามารถสร้างรากใหม่ได้เพิ่มขึ้นมากที่สุดเช่นกัน (Thomas and Michael, 2007) จากรายงานการศึกษาของ Tao, et al. (2011) พบว่า การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Cymbidium faberi* บนอาหารสูตร 1/2MS (1962) ร่วมกับการเติม IBA 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดเกิดการสร้างรากได้เพิ่มขึ้น 4-5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรที่ไม่เติม IBA อย่างไรก็ตาม จากรายงานการศึกษาของ Yakimova, et al. (2000) พบว่า ชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบ (*Rosa hybrida* L.) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มีพัฒนาการด้านความสูงลดลงเมื่อจำนวนตายอดหรือหน่อใหม่เพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม ชนิดของพืชและลักษณะของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน สามารถตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้แตกต่างกันออกไป อาทิเช่น ต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Dactylorhiza* และ *Liparis* ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมไซโตไคนินร่วมกับออกซิน สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและการพัฒนาทางสัณฐานของต้นอ่อนให้เพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพียงกลุ่มเดียว (Hana, 2006) ซึ่งการชักนำให้ต้นพืชหรือชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อให้สามารถเกิดการสร้างรากใหม่ได้เพิ่มขึ้นนั้น ในอาหารเพาะเลี้ยงนิยมเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน โดยเฉพาะ IBA ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด สำหรับชักนำให้เกิดรากขึ้น เนื่องจากมีความเป็นพิษน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับออกซินชนิดอื่นๆ และยังมีเสถียรภาพมากที่สุดในการเหนี่ยวนำให้เกิดราก (Han, et al., 2009) รวมไปถึง การออกฤทธิ์ของ IBA ยังส่งผลต่อกลไกทางสรีรวิทยาภายในเซลล์พืชมากกว่า NAA และ IAA อีกด้วย (Liu, et al., 2002)

2.6 สถานะของอาหารเพาะเลี้ยง

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์พืชในปัจจุบันมีการพัฒนาปรับปรุงรูปแบบให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุดในการขยายพันธุ์ ซึ่งรูปแบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านมามักเป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารกึ่งแข็ง (Semi-solid) ที่มีต้นทุนในการดูแลรักษาและใช้แรงงานรวมไปถึงมีอุปสรรคทางเทคนิคอยู่หลายประการ (Yesil-Celiktas, et al., 2010) ดังนั้นในเวลาต่อมาจึงมีการพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่หลากหลาย เช่น การเพาะเลี้ยงในระบบอาหารเหลวซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งที่ถูกพัฒนาขึ้นมา เพื่อแก้ไขปัญหาและจัดการให้ระบบ

การเพาะเลี้ยงมีประสิทธิภาพ สามารถขยายพันธุ์พืชได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง (Takayama and Misawa, 1983; Tsai and Chu, 2008) อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงในระบบอาหารเหลวยังคงมีข้อจำกัดในเรื่องความผิดปกติของต้นอ่อนที่พัฒนาขึ้น เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าว จึงมีการพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์ในระบบอาหารสองสถานะ (Kadota, et al., 2000)

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำบนสถานะอาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลว และอาหารที่ผสมสถานะทั้งสองเข้าด้วยกัน พบว่า ต้นอ่อนของกล้วยไม้น้ำที่เลี้ยงในระบบอาหารเหลว (Liquid medium) แบบเขย่าเลี้ยงมีแนวโน้มชักนำให้ยอดหรือหน่อใหม่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารสองสถานะ (Two-phase culture medium) หรือในอาหารกึ่งแข็ง (Semi-solid medium) ทั้งนี้เนื่องมาจากต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวแบบเขย่าเลี้ยง ได้รับอาหารทั่วถึงทุกส่วน และในขณะเดียวกันยังได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอจากการเขย่า จึงทำให้เกิดการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นได้อย่างรวดเร็ว จากรายงานการศึกษาของ Tsai and Chu (2008) พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Doritaenopsis* มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว นอกจากนี้ ยังมีรายงานการศึกษาวิจัยอีกหลายฉบับที่ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์ในระบบอาหารเหลว อาทิเช่น Chinese citrus (*Poncirus trifoliata*) (Harada and Murai, 1996), Asiatic lily hybrids (*Lilium* sp.) (Varshney, et al., 2000), *Stevia rebaudiana* (Akita, et al., 1994), *Gentiana triflora* X *G. scabra* (Hosokawa, et al., 1998), *Corchorus capsularis* L. (Saha, et al., 1999), *Isoplexis canariensis* (Arrebola, et al., 1997), Purple shamrock (*Oxalis triangularis* ssp. Triangularis) (Teng and Ngai, 1999), หม่อน (*Morus indica*) (Tewary and Oka, 1999) และชา (*Camellia sinensis*) (Sandal, et al., 2001)

อย่างไรก็ตาม ลักษณะของยอดหรือหน่อใหม่ที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงไว้ในอาหารเหลว จะมีทิศทางไม่แน่นอน กล่าวคือ หน่อใหม่ที่เพิ่มจำนวนขึ้นจะเกิดบริเวณรอบตาข้อ โดยมีลักษณะยอดไม่ตั้งตรง นอกจากนี้ แผ่นใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะผิดปกติไม่สมบูรณ์ แตกต่างจากต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารสถานะกึ่งแข็ง และแบบสองสถานะ อีกทั้งอาหารเพาะเลี้ยงที่มีสถานะกึ่งแข็งหรือแบบสองสถานะ สามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำสร้างรากใหม่ได้เพิ่มขึ้นมากกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องมาจากวุ้นที่ทำให้อาหารเพาะเลี้ยงมีสถานะคงรูปร่างมากยิ่งขึ้น สามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำกำหนดทิศทางการสร้างรากออกมา เพื่อช่วยยึดเกาะและค้ำจุนให้ลำต้นตั้งตรงบนผิวของอาหาร จากรายงานการศึกษาของ Thompson, et al.

(2007) ที่เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Disa* จากเมล็ดโดยใช้อาหารสองสถานะ (Dual-phase culture) สามารถชักนำให้กระบวนการงอกเกิดได้ดีขึ้น และหลังจากเมล็ดเริ่มงอกจึงย้ายเลี้ยงลงบนอาหารกึ่งแข็งเพื่อกระตุ้นให้ต้นอ่อนเกิดการสร้างรากขึ้น ซึ่งจากผลการศึกษา พบว่า การเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้น้ำในระบบอาหารสองสถานะ (Dual-phase culture) ที่เป็นการเพาะเลี้ยงเพื่อเลียนแบบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้น้ำตามธรรมชาติ ไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโตของต้นอ่อนเพิ่มขึ้นดีกว่าการเลี้ยงในระบบอาหารเหลว หรือในอาหารสถานะกึ่งแข็ง เนื่องมาจากการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของกล้วยไม้น้ำในระยะต้นอ่อนจะมีพัฒนาการที่ค่อนข้างช้า จึงแสดงให้เห็นลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในช่วงแรกค่อนข้างไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวสามารถสร้างยอดหรือหน่อใหม่ได้มากที่สุด ซึ่งสามารถนำไปชิ้นส่วนดังกล่าวตัดแยกไปเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างต่อเนื่องได้

3. การออกปลูกในสภาวะแวดล้อมภายนอกหลอดทดลอง

การนำต้นกล้วยไม้น้ำจากในสภาพปลอดเชื้อ ออกปลูกสู่สภาวะแวดล้อมภายนอกจำเป็นต้องปลูกภายในภาชนะปิดที่รักษาปริมาณความชื้น และอุณหภูมิ เพื่อให้กล้วยไม้น้ำที่เคยเจริญเติบโตได้ดีในสภาพปลอดเชื้อได้รับการปรับสภาพให้ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมภายนอกที่มีปริมาณความชื้นรวมไปถึงแร่ธาตุอาหารที่ต่ำกว่าภายในหลอดทดลอง ซึ่งการปรับสภาพจะส่งผลโดยตรงต่อการรอดชีวิต รวมไปถึงการเจริญเติบโตต่อไปในสภาพแวดล้อมภายนอก (แสงเดือน วรรณชาติ, 2549)

จากการนำกล้วยไม้น้ำจากในสภาพปลอดเชื้อที่มีขนาดกอแตกต่างกัน ออกปลูกในวัสดุปลูกแตกต่างกัน ได้แก่ เม็ดดินเผา (Hydroton) เม็ดหินภูเขาไฟ (Pumice) และวัสดุปลูกเม็ดดินเผาผสมกับเม็ดหินภูเขาไฟ (1: 1) (Mix) พบว่า เมื่อระยะเวลาผ่านไป 9 สัปดาห์ กล้วยไม้น้ำกอขนาดใหญ่ สามารถมีอัตรารอดชีวิตสูงที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) ในวัสดุปลูกทั้งสามชนิด แต่มีเพียงวัสดุปลูกผสมที่ชักนำให้กล้วยไม้น้ำสามารถสร้างหน่อใหม่เพิ่มขึ้นมากที่สุด ในขณะที่กล้วยไม้น้ำกอขนาดกลางและขนาดเล็กรอดชีวิตได้สูงที่สุดในวัสดุปลูกผสม อย่างไรก็ตาม หลังจากย้ายกล้วยไม้น้ำไปเพาะเลี้ยงไว้ในโรงเรือนเพาะชำจนมีอายุครบ 14 สัปดาห์ พบว่า วัสดุปลูกทั้งสามชนิด ยังคงสามารถทำให้กล้วยไม้น้ำกอขนาดใหญ่มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) รวมไปถึงกล้วยไม้น้ำกอขนาดกลางที่ปลูกลงในวัสดุเม็ดดินเผาผสมกับเม็ดหินภูเขาไฟ (1: 1) มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดเช่นเดียวกัน และเมื่อพิจารณาถึงวัสดุปลูกที่สามารถทำให้กล้วยไม้น้ำสร้างยอดใหม่ได้มากขึ้น พบว่า มีเพียงวัสดุเม็ดดินเผาผสมกับเม็ดหินภูเขาไฟ

(1: 1) ที่สามารถชักนำให้กล้วยไม้น้ำสร้างหน่อใหม่ให้เพิ่มขึ้นได้สูงที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้น้ำ ที่ปลูกลงในวัสดุทั้งสามชนิด สามารถเจริญเติบโตและเกิดพัฒนาการสร้างหน่อใหม่ได้เพิ่มมากขึ้นจากเดิม แต่มีเพียงกล้วยไม้น้ำกอขนาดกลาง และขนาดเล็ก ในวัสดุเม็ดดินเผาที่ทำให้อัตราการรอดชีวิตมีแนวโน้มลดลงจากเดิมเล็กน้อย ซึ่งเป็นเพราะว่าคุณสมบัติของเม็ดดินเผาสามารถดูดซับน้ำและแร่ธาตุไว้ภายในตัวเองได้น้อยกว่าวัสดุปลูกชนิดอื่น (เรวัตร จินดาเจี่ย, 2546) เมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยงผ่านไปเป็นเวลานาน ทำให้ต้นกล้วยไม้น้ำมีอัตราการรอดชีวิตและ การเจริญเติบโตลดน้อยลงจากเดิม จากรายงานการศึกษาของ สมบูรณ์ ระดม และแสงเดือน อินชนบท (2555) กล่าวว่า วัสดุปลูกแต่ละชนิดมีความเหมาะสมต่อการนำไปปลูกต้นกล้วยไม้ให้เจริญเติบโตได้ดีแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับระบบรากของกล้วยไม้นั้นๆ ซึ่งกล้วยไม้ที่มีระบบรากกึ่งอากาศ สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดโดยใช้ถ่านทุบ กาบมะพร้าว หรือมอส ในขณะที่กล้วยไม้เอื้องมะลิสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในวัสดุปลูกเม็ดหินภูเขาไฟ และในกล้วยไม้ที่มีระบบรากดินสามารถเจริญเติบโตได้ดีในวัสดุปลูกที่ผสมดินร่วน กาบมะพร้าว แกลบดิบหรือเปลือกถั่ว และถ่าน ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันออกไป ในขณะที่กล้วยไม้แคทลียาลูกผสม (*Brassolaeliocattleya* Chia lin) ที่มีระบบรากกึ่งอากาศ และฟาแลนนอปซิสพริ้นเซสจุฬาภรณ์ (*Phalaenopsis* Princess Chulabhorn) ที่มีระบบรากอากาศ สามารถเจริญเติบโตและเกิดพัฒนาการด้านลำต้นต่างๆ รวมไปถึงอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน เมื่อปลูกลงในวัสดุที่แตกต่างกัน ได้แก่ สแฟกนัมมอส กาบมะพร้าว ถ่าน เม็ดดินเผา หรือเม็ดหินภูเขาไฟ (สุมิตรา สุปินราช และ อิศร์ สุปินราช, 2554) จากรายงานของ Basker and Bai (2010) พบว่า การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ *Eria bambusifolia* ที่เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลงในวัสดุปลูกผสมระหว่างกาบมะพร้าว ถ่านทุบ อิฐหัก เศษกระเบื้องแตก และเพอร์ไลท์ อัตราส่วน 2: 1: 1: 1: 1 สามารถทำให้ต้นกล้วยไม้ดังกล่าวมีอัตรารอดชีวิตสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Hajong, et al. (2010) ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องสายมรกต (*Dendrobium chrysanthum*) ในสภาพปลอดเชื้อ และย้ายออกปลูกลงในวัสดุเศษอิฐหัก ถ่านทุบ และเศษซากพืช อัตราส่วน 1: 1: 1 โดยมีการโรยด้วยมอสด้านบนผิวหน้า สามารถทำให้ต้นอ่อนมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น และส่งผลให้มีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 71 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาเบื้องต้นทางชีววิทยาบางประการของกล้วยไม้น้ำ ทำให้ผู้วิจัยสามารถสรุปข้อมูลเป็นเบื้องต้นได้ว่า สถานภาพของกล้วยไม้น้ำในพื้นที่ทำการศึกษาดังกล่าว กำลังถูกคุกคามและเสี่ยงต่อภาวการณ์สูญพันธุ์ไปจากพื้นที่ อันเนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ตลอดแนวลำธารเพื่อใช้เป็นพื้นที่การเกษตร การเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำในช่วงฤดูกาล ความผันแปรของสภาพภูมิอากาศ ตลอดจนการเกิดภัยพิบัติทางธรรมชาติ ซึ่งในระยะเวลาที่ทำการศึกษา ช่วงฤดูน้ำหลากได้มีการพัดพาเอาตะกอนดินมาทับถมกอกล้วยไม้น้ำบางกอ เป็นสาเหตุให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยไม้น้ำตามธรรมชาติไม่เป็นไปตามวงจรการเจริญเติบโตตามปกติ เกิดการสร้างดอกและติดฝักน้อยลง จึงทำให้โอกาสของการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดตามธรรมชาติยิ่งน้อยลง หรือส่งผลทำให้กอดังกล่าวตายไปทั้งกอ ดังนั้น แนวทางการแก้ไขปัญหาดังกล่าว ยังคงต้องมีการศึกษาต่อไป ถึงแม้ว่าการนำเมล็ดกล้วยไม้น้ำมาเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ จะประสบความสำเร็จได้กลุ่มของต้นอ่อนใหม่เกิดขึ้นแล้วก็ตาม แต่กระบวนการดังกล่าวใช้ระยะเวลานาน

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า คณะผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้น้ำโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการย้ายปลูกจากในสภาพหลอดทดลองออกสู่สภาพแวดล้อมในเรือนเพาะชำ ซึ่งเป็นแนวทางในการช่วยอนุรักษ์พันธุกรรมกล้วยไม้น้ำชนิดดังกล่าวในรูปแบบของการอนุรักษ์นอกถิ่น (*Ex situ* conservation)

อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาทดลองนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนอกถิ่นอาศัย ไปปล่อยปลูกในถิ่นอาศัยตามธรรมชาติเพิ่มเติม รวมไปถึงศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และติดตามการเจริญเติบโตต่อเนื่อง เพื่อเป็นการฟื้นฟูประชากรในธรรมชาติ (Reintroduction) โดยความสำเร็จของการฟื้นฟูประชากรนั้น ประเมินได้จากความสามารถในการสืบพันธุ์ และแพร่กระจายพันธุ์ลูกหลานรุ่นต่อไปได้เองตามธรรมชาติ แต่อาจมีการจัดการบางประการ เพื่อลดผลกระทบต่อการดำรงชีวิตตามธรรมชาติ โดยเฉพาะผลกระทบที่มาจากกิจกรรมของมนุษย์ เพื่อให้ประชากรคงอยู่ตามธรรมชาติต่อไป