การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Seed Culture of *Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.

เหมวรรณ ยกฉวี

Hamwan Yokchawee

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

Master of Science Thesis in Science and Technology

Phetchaburi Rajabhat University

2556

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ

ผู้วิจัย นางสาวเหมวรรณ ยกฉวี

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

คณะกรรมการที่ปรึกษา

……...ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร.บุญสนอง ช่วยแก้ว)

คณะกรรมการสอบ

……..ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร.บุษราคัม สิงห์ชัย)

……กรรมการ
(อาจารย์ ดร.บุญสนอง ช่วยแก้ว)

……กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ
(อาจารย์ ดร.อุษา กองธรรม)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

…… ……..

(ดร.พูนศิริ ทิพย์เนตร)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิวัต กลิ่นงาม)
อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง (Dendrobium formosum Roxb. ex Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ **ผู้วิจัย** นางสาวเหมวรรณ ยกฉวี **สาขาวิชา** วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี **พ.ศ.** 2556 **อาจารย์ที่ปรึกษา** อาจารย์ ดร. บุญสนอง ช่วยแก้ว

บทคัดย่อ

เอื้องเงินหลวง (*D. formosum*) เป็นกล้วยไม้ป่าที่พบในหลายพื้นที่ของประเทศไทย แต่มีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่อง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดเอื้องเงินหลวงจากฝักอายุ 12 เดือน มาเพาะบนอาหารวุ้นดัดแปลงสูตร VW (1949) เมื่อได้โพรโทคอร์มนำไปพัฒนาบนอาหารวุ้นดัดแปลงสูตร VW (1949) (SM) และในอาหารเหลวดัดแปลงสูตร VW (1949) (LM1 และ LM2) เมื่อได้ต้นอ่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นดัดแปลงสูตร VW (1949) เพื่อทดสอบผลของน้ำตาลซูโครส คือ 10 และ 20 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมกล้วยหอม (100 กรัมต่อลิตร) กล้วยหอม (50 กรัมต่อลิตร) ร่วมกับมันฝรั่ง (50 กรัมต่อลิตร) หรือมันฝรั่งอย่างเดียว (100 กรัมต่อลิตร) และการเติมสารอินทรีย์จากอาหารสูตร MS (1962) วิเคราะห์ความแปรปรวน ขนาดของต้นกล้าและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษาพบว่าเกิดโพรโทคอร์มดีมาก เมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร SM โพรโทคอร์มพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ง่าย ในอาหารสูตร LM1 โพรโทคอร์มบางส่วนบวมและตาย และในอาหารสูตร LM2 โพรโทคอร์มเพิ่มขึ้น แต่เกิดต้นอ่อนน้อยกว่าในอาหารสูตร SM เมื่อนำต้นอ่อนจากอาหารสูตร SM เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาลซูโครส (10 กรัมต่อลิตร) กล้วยหอมผสมมันฝรั่ง (อย่างละ 50 กรัมต่อลิตร) ร่วมกับสารอินทรีย์จากสูตร MS (1962) ต้นอ่อนเจริญเติบโตดีที่สุด ต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ในด้านจำนวนใบ (4.60 ± 0.16 ใบต่อต้น) ความยาวใบ (6.90 ± 0.27 เซนติเมตร) ความกว้างใบ (0.53 ± 0.03 เซนติเมตร) จำนวนราก (11.00 ± 0.42 รากต่อต้น) และความยาวราก (4.83 ± 0.43 เซนติเมตร)

การวิจัยนี้ได้พัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงในสภาพปลอดเชื้อได้โดยไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

Thesis Title : *In Vitro* Seed Culture of *Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl. **Researcher :** Miss. Hamwan Yokchawee **Major :** Science and Technology **Year :** 2013 **Adviser :** Dr. Boonsanong Chourykaew

Abstract

Dendrobium formosum Roxb. ex Lindl., a wild orchid, can be found throughout Thailand, but decreases in number continuously. The purpose of this study was to develop *in vitro* seed culture medium for *D. formosum*. Seeds from 12 month old pod were cultured on modified VW (1949) agar medium. Protocorms induced from the seeds were then transplanted to the modified VW (1949) agar medium (SM), modified VW (1949) liquid medium I (LM1) and modified VW (1949) liquid medium II (LM2). Seedlings developed from protocorms were then transplanted to the modified VW (1949) agar medium supplemented with 10 or 20 g/L sucrose. The banana at the concentration of 100 g/L, (50 g/L) with potato (50 g/L), potato (100 g/L) and organic compounds of MS (1962) medium were tested. Seedlings size was subjected to Analysis of Variance (ANOVA) and the means were compared using Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at 95 percent confidence level.

The results showed that seed planted developed very well to become protocorms, When transplanted to the SM medium, seedling developed easily. In LM1 medium, some protocorms were swollen and dead, and there were a number of developed protocorms in LM2 medium but less then those in SM medium. Seedlings from SM medium cultured on the medium supplemented with sucrose (10 g/L), banana (50 g/L) potato (50 g/L), and and organic compounds of MS (1962) medium gave the best growth significantly different from the orher medium at 0.05 level for a number of leaves (4.60 ± 0.16 leaves per plantlet), leaf length (6.90 ± 0.27 cm), leaf width (0.53 ± 0.03 cm), a number of roots (11.00 ± 0.42 roots per plantlet) and root length (4.83 ± 0.43 cm).

The research could develop the *In Vitro* Seed Culture medium for D. *formosum* without using the plant growth regulators.

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.บุญสนอง ช่วยแก้ว อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความรู้ คำแนะนำในการเรียน ชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ ตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ และอบรมสั่งสอนข้าพเจ้าด้วยความหวังดีมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.บุษราคัม สิงห์ชัย ประธานกรรมการสอบ และอาจารย์ ดร.กรอุษา กองธรรม กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้ความรู้ ให้คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนประสิทธิ์ประสาทวิชาการ จนสำเร็จการศึกษา และเจ้าของผลงานวิจัยที่ข้าพเจ้านำมาอ้างอิงประกอบการเขียนวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ชาย และพี่สาว ที่สนับสนุนในการศึกษา ห่วงใย และให้กำลังใจตลอดเวลาที่ทำการศึกษา ตลอดจนผู้ที่มิได้เอ่ยนาม ซึ่งมีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เหมวรรณ ยกฉวี

มิถุนายน 2555

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ..... (1)

Abstract..... (2)

กิตติกรรมประกาศ..... (3)

สารบัญ..... (4)

สารบัญตาราง..... (5)

สารบัญภาพ..... (7)

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์การวิจัย..... 2

สมมติฐานของการวิจัย..... 2

ขอบเขตของการวิจัย..... 2

กรอบแนวคิดในการวิจัย..... 3

ประโยชน์ของการวิจัย..... 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

แนวความคิดทางทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง..... 4

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 17

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 20

อุปกรณ์..... 20

วิธีการทดลอง..... 21

4 ผลการวิจัย..... 25

ผลการทดลองที่ 1 การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงและการพัฒนาโพรโทคอร์ม..... 25

ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง..... 29

หน้า

5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 44
สรุปผลการทดลองที่ 1 การเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวงและการพัฒนาโพรโทคอร์ม.. 44
สรุปผลการทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง..... 44
ข้อค้นพบจากการวิจัย..... 44
การอภิปรายผล..... 45
ข้อเสนอแนะ..... 50
บรรณานุกรม..... 50
ภาคผนวก..... 53
ตารางภาคผนวกที่ 1 จำนวนใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 54
ตารางภาคผนวกที่ 2 จำนวนใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 54
ตารางภาคผนวกที่ 3 จำนวนใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 55
ตารางภาคผนวกที่ 4 ความยาวใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 55
ตารางภาคผนวกที่ 5 ความยาวใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM1 ที่เพาะเลี้ยง บนอาหาร 12 สูตร..... 56
ตารางภาคผนวกที่ 6 ความยาวใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 56
ตารางภาคผนวกที่ 7 ความกว้างใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM ที่เพาะเลี้ยง บนอาหาร 12 สูตร..... 57
ตารางภาคผนวกที่ 8 ความกว้างใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM1 ที่เพาะเลี้ยง บนอาหาร 12 สูตร..... 57

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ 9 ความกว้างใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM2 ที่เพาะเลี้ยง บนอาหาร 12 สูตร..... 58
ตารางภาคผนวกที่ 10 จำนวนรากของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 58
ตารางภาคผนวกที่ 11 จำนวนรากของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 59
ตารางภาคผนวกที่ 12 จำนวนรากของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 59
ตารางภาคผนวกที่ 13 ความยาวรากของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 60
ตารางภาคผนวกที่ 14 ความยาวรากของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 60
ตารางภาคผนวกที่ 15 ความยาวรากของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 61
ตารางภาคผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) จำนวนใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 62
ตารางภาคผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของจำนวนใบของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 63
ตารางภาคผนวกที่ 18 เปรียบเทียบความแตกต่าง (DMRT) จำนวนใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 64
ตารางภาคผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) ความยาวใบของเอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 65
ตารางภาคผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความยาวใบของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 66

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ 21 เปรียบเทียบความแตกต่าง (DMRT) ความยาวใบของเอื้อง เงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 67
ตารางภาคผนวกที่ 22 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) ความกว้างใบของ เอื้องเงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร.. 68
ตารางภาคผนวกที่ 23 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความกว้างใบ ของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 69
ตารางภาคผนวกที่ 24 เปรียบเทียบความแตกต่าง (DMRT) ความกว้างใบของเอื้อง เงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 70
ตารางภาคผนวกที่ 25 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) จำนวนรากของเอื้อง เงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 71
ตารางภาคผนวกที่ 26 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของจำนวนรากของ เอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 72
ตารางภาคผนวกที่ 27 เปรียบเทียบความแตกต่าง (DMRT) จำนวนรากของเอื้อง เงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 73
ตารางภาคผนวกที่ 28 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) ความยาวรากของเอื้อง เงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 74
ตารางภาคผนวกที่ 29 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความยาวราก ของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 75
ตารางภาคผนวกที่ 30 เปรียบเทียบความแตกต่าง (DMRT) ความยาวรากของเอื้อง เงินหลวงจากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร 12 สูตร..... 76
ตารางภาคผนวกที่ 31 อาหารสูตร Vacin and Went (1949) และสูตร Murashige and Skoog (1962)..... 77
การเตรียมสารละลายเข้มข้น อาหารสูตร Vacin and Went (1949)..... 79

หน้า

การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง สูตร Vacin and Went (1949) ปริมาตร 1 ลิตร..... 80
การเตรียมสูตรอาหารสำหรับย้ายต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง สูตร Vacin and Went (1949) ปริมาตร 1 ลิตร..... 81
การเตรียมสารปรับ pH..... 81
ตารางภาคผนวกที่ 32 การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution) อาหารสูตร Murashige and Skoog..... 82
ประวัติผู้วิจัย..... 83

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 อาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) 12 สูตร ที่ใช้ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงจากการพัฒนาด้วยอาหารสูตร SM LM1 และ LM2..... 24

4.1 จำนวนใบ ความยาวใบ และความกว้างใบเอื้องเงินหลวงที่ใช้ต้นอ่อนอายุ 5 เดือน จากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 เพาะเลี้ยงต่อบนอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน.... 30

4.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของจำนวนใบของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 34

4.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความยาวใบของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 34

4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความกว้างใบของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 35

4.5 จำนวนราก และความยาวรากของต้นเอื้องเงินหลวงที่ใช้ต้นอ่อน อายุ 5 เดือน จากอาหารสูตร SM LM1 และ LM2 เพาะเลี้ยงต่อบนอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 36

4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของจำนวนรากของเอื้องเงินหลวง จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 39

4.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของความยาวรากของเอื้องเงินหลวงจากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 12 สูตร เป็นเวลา 11 เดือน..... 40

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 สัณฐานวิทยาของเอื้องเงินหลวง (*D. formosum*) 9

4.1 โพรโทคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ดเอื้องเงินหลวง 3 เดือน บนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949)..... 25

4.2 โพรโทคอร์มเอื้องเงินหลวงอายุ 4 เดือนบนอาหารสูตร SM..... 26

4.3 โพรโทคอร์มเอื้องเงินหลวงอายุ 4 เดือน ในอาหารสูตร LM1..... 27

4.4 โพรโทคอร์มเอื้องเงินหลวงอายุ 4 เดือน ในอาหารสูตร LM2..... 28

4.5 ต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงอายุ 5 เดือน จากการพัฒนาในอาหารสูตร SM LM1 และ LM2..... 28

4.6 เอื้องเงินหลวงที่พัฒนาต้นอ่อนบนอาหารสูตร SM แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 1 2 3 4 5 และ 6 อายุ 11 เดือน..... 41

4.7 เอื้องเงินหลวงที่พัฒนาต้นอ่อนบนอาหารสูตร SM แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 7 8 9 10 11 และ 12 อายุ 11 เดือน..... 41

4.8 เอื้องเงินหลวงที่พัฒนาต้นอ่อนบนอาหารสูตร LM1 แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 13 14 15 16 17 และ 18 อายุ 11 เดือน..... 42

4.9 เอื้องเงินหลวงที่พัฒนาต้นอ่อนบนอาหารสูตร LM1 แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 19 20 21 22 23 และ 24 อายุ 11 เดือน..... 42

4.10 เอื้องเงินหลวงที่พัฒนาต้นอ่อนบนอาหารสูตร LM2 แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 25 26 27 28 29 และ 30 อายุ 11 เดือน..... 43

4.11 เอื้องเงินหลวงที่พัฒนาต้นอ่อนบนอาหารสูตร LM2 แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 31 32 33 34 35 และ 36 อายุ 11 เดือน..... 43