**บทที่ 14**

# การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* และ *Pecteilis* ที่สำรวจพบในพื้นที่มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา

โดย อนุพันธ์ กงบังเกิด[1] คงศักดิ์ พร้อมเทพ[1] สุนันท์ โพธิ์น้อยยัง[1] ธนากร วงษศา[1] และนิรมล รังสยาธร[2]

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก[1]

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา[2]

---

## ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

กล้วยไม้จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Family Orchidaceae) ซึ่งนับว่าเป็นพืชวงศ์ใหญ่ที่สุดของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เนื่องจากมีอยู่ไม่ต่ำกว่า 600 สกุล (genus) ราว 25,000 ชนิด (species) กล้วยไม้มีรูปร่างลักษณะของราก ต้น ใบ และดอก แตกต่างกันไปหลายรูปแบบ พบกล้วยไม้ขึ้นอยู่ในที่หลายแห่ง ทั้งดิน โขดหินหรือบนต้นไม้ กล้วยไม้มีการกระจายพันธุ์ไปทั่วโลก ทั้งในแถบร้อน อบอุ่น และหนาวเย็นขนาดเป็นน้ำแข็งในบางฤดูก็ยังมีกล้วยไม้อาศัยอยู่ แหล่งที่พบกล้วยไม้มากที่สุดคือแถบทวีปเอเชีย ประเทศไทยนับว่าเป็นแหล่งที่มีกล้วยไม้ป่ามากแหล่งหนึ่ง (ไพบูลย์, 2521 ; ระพี, 2517) เนื่องจากกล้วยไม้มีมากมายหลายชนิดและมีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันมากมาย ส่วนสำคัญที่จะชี้บอกว่าพืชชนิดนั้น ๆ เป็นกล้วยไม้หรือไม่ นักพฤกษศาสตร์กำหนดให้พิจารณาที่ดอกเป็นสำคัญ เพราะว่าแม้ส่วนต่าง ๆ จะแตกต่างกันมากมายก็ตาม แต่ดอกจะมีลักษณะใกล้เคียงกัน กล้วยไม้บางชนิด มีขอบเขตการกระจายพันธุ์ที่จำกัด บางชนิดพบเฉพาะในประเทศไทยเท่านั้น และมักพบชนิดที่แตกต่างกันไปตามลักษณะของสภาพพื้นที่และสภาพป่าที่พบกล้วยไม้ชนิดนั้น ๆ (Schuiteman และ de Vogel 2000) กล้วยไม้เป็นพืชที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ทั้งที่เป็นกล้วยไม้ป่าและกล้วยไม้พันธุ์ผสมที่มีการเพาะเลี้ยงตามฟาร์มต่าง ๆ ปัจจุบันกล้วยไม้ป่าของไทยมีจำนวนลดน้อยลงทุกที เนื่องจากถิ่น อาศัยในธรรมชาติถูกรบกวนหรือทำลาย และเนื่องจากถูกลักลอบเก็บออกจากถิ่นอาศัยเพื่อวัตถุประสงค์ทางการค้า ดังนั้น การให้ความรู้เรื่องกล้วยไม้นับว่าเป็นสิ่งจำเป็น โดยเฉพาะอย่างยิ่งความรู้เรื่องกล้วยไม้ป่า ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการท่องเที่ยวและการอนุรักษ์

ในการศึกษาเกี่ยวกับกล้วยไม้ในประเทศไทยในปัจจุบันนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาเชิงสำรวจ เพื่อประเมินถึงความหลากหลายของชนิดพันธุ์ ส่วนการศึกษาทางชีววิทยาของกล้วยไม้ในแง่มุมอื่นๆ ที่น่าสนใจนั้น ยังมีรายงานการศึกษาไม่มากนัก โดยเฉพาะในกลุ่มของกล้วยไม้ดิน เนื่องจากกล้วยไม้ดิน เป็นกล้วยไม้ที่มีฤดูกาลและระยะเวลาในออกดอก รวมไปถึงสภาพพื้นที่ที่จำเพาะต่อการเจริญเติบโตและกระจายพันธุ์ และมีกล้วยไม้ดินอีกจำนวนมากที่มีระยะพักตัว และจะปรากฏส่วนของ

ใบ ดอก และผล ในเพียงบางช่วงฤดูกาลในรอบปีเท่านั้น รวมไปถึงมีศัตรูธรรมชาติบางประการ เช่น โรค และ/หรือแมลง ที่ทำให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาการเจริญทั้งระยะการเจริญเติบโตด้านลำต้น (Vegetative stage) และการเจริญเติบโตทางด้านระยะเจริญพันธุ์ (Reproductive stage) ผิดปกติไปจากธรรมชาติของการเจริญ จึงทำให้ขาดข้อมูลเพื่อจัดการเกี่ยวกับการอนุรักษ์อย่างถูกวิธี กอปรกับในปัจจุบันนี้ จำนวนของกล้วยไม้ในธรรมชาติมีจำนวนที่ลดลงอย่างรวดเร็วรวมไปถึงกล้วยไม้ดินด้วย เนื่องจากพื้นที่ป่าที่ลดลง การคุกคามจากมนุษย์ทั้งทางตรงและทางอ้อม และสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงจากสภาวะโลกร้อน (global warming)

มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา ตั้งอยู่ในพื้นที่ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา มีเนื้อที่ทั้งสิ้น 5,727 ไร่ อยู่สูงจากระดับน้ำทะเล 450-700 เมตร สภาพภูมิอากาศในฤดูหนาวมีอากาศหนาวเย็นและชื้น ในฤดูฝน มีไม้เต็งเป็นพันธุ์ไม้เด่น ดินส่วนใหญ่มีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (sandy clay loam) มีความจุความชื้นเฉลี่ยตลอดหน้าตัดดินอยู่ในช่วง พื้นที่ป่าบริเวณนี้มีความหลากหลายที่ค่อนข้างสูง ในอดีตพื้นที่บริเวณนี้มีสภาพเป็นป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรม เมื่อมีการเปิดการเรียนการสอนในปี 2542 ทำให้พื้นบางส่วนได้เปลี่ยนแปลงเป็นที่อยู่อาศัย ทำให้พื้นที่ป่าถูกรบกวน แต่อย่างไรก็ตาม พื้นที่ส่วนใหญ่มีสภาพเป็นป่าอยู่ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นป่าผลัดใบ ได้แก่ ป่าเต็งรังและป่าเบญจพรรณ ซึ่งพื้นที่เหล่านี้ได้จัดดำเนินงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ แต่ในระยะยาวสภาพผืนป่าดังกล่าวอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการขยายของพื้นที่ชุมชนโดยรอบ ส่งผลให้พื้นที่ป่าที่นั้นเสื่อมโทรมหรือลดจำนวนลง (เสวียน และคณะ, 2551) ความหลากหลายของกล้วยไม้ภายในมหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา โดยเฉพาะกล้วยไม้ดินมีรายงานการพบกล้วยไม้ดินในระยะเวลาประมาณ 1 ปี ในบริเวณนี้คือพบวงศ์ Orchidaceae จำนวน 2 สกุล 4 ชนิด ได้แก่ *Habenaria chlorina*, *Habenaria dentata*, *Habenaria hosseusii* และ *Pecteilis susannae* และวงศ์ Epidendroideae จำนวน 1 สกุล 1 ชนิด คือ *Spathoglottis eburnea* และจากการศึกษาเชิงนิเวศและสังคมป่า ทำให้คาดว่าน่าจะมีการสำรวจพบกล้วยไม้ดินเพิ่มขึ้นอีก (นิรมล, 2551)

เทคนิคการขยายพันธุ์พืชอย่างรวดเร็วโดยวิธีการที่เรียกว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น เข้ามามีบทบาทที่สำคัญยิ่งในการขยายพันธุ์พืชให้ได้เป็นจำนวนมาก อย่างรวดเร็ว ซึ่งประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด รวมทั้งกล้วยไม้ด้วย ปัจจุบันความก้าวหน้าในการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อการขยายพันธุ์พืชให้ได้เป็นจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็นระบบการเพาะเลี้ยงแบบต่างๆ เช่น solid culture system, liquid system, membrane raft system, temporary immersion system หรือแม้แต่ bioreactor system เพื่อการผลิตในระดับขยายส่วน (mass production) นั้น ถูกพัฒนาขึ้นมาโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะลดขั้นตอน ต้นทุนการผลิต และการใช้แรงงานในการผลิตลง อันจะเป็นปัจจัยสำคัญที่จะทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์ และขยายพันธุ์กล้วยไม้ชนิดต่างๆ ดังกล่าวประสบความสำเร็จได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งนอกจากจะเป็นการอนุรักษ์สายพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุลต่างๆ ให้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นใน

ธรรมชาติต่อไปแล้ว ยังอาจสามารถรองรับความต้องการของผู้นิยมเลี้ยงกล้วยไม้ดินที่มีแนวโน้มมากขึ้นได้อีกด้วย

ในการศึกษาความหลากหลายของกล้วยไม้ดิน เพื่อการวางแผนในการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน เป็นการศึกษาที่สอดคล้องกับเจตน์จำนงของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ณ พื้นที่มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา ที่จะยังคงความหลากหลายของกล้วยไม้ไว้ได้เป็นอย่างดี อีกทั้งการวางแผนการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินบางชนิดในสภาพปลอดเชื้อเพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์ไว้ให้คงอยู่ในธรรมชาตินั้น สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการดำเนินการจัดการอนุรักษ์ผืนป่าและกล้วยไม้ดินเอาไว้ให้เหมาะสมกับระบบนิเวศและสภาพภูมิประเทศ และใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาแง่มุมอื่นๆ ต่อไป

## วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาความหลากหลาย และลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดิน ที่พบในบริเวณมหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา และเพื่อศึกษาการพัฒนาการเกิดต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินสกุล *Pecteilis Habenaria* และ *Spathoglottis* ในสภาพปลอดเชื้อ รวมไปถึงศึกษาปัจจัยเบื้องต้นบางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของกล้วยไม้ดิน เพื่ออนุรักษ์และขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

## การทบทวนวรรณกรรมและเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การสำรวจและการรวบรวมตัวอย่างพรรณไม้ในประเทศไทย เพื่อการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องเท่าที่มีการบันทึกไว้ ได้เริ่มเมื่อนายแพทย์ A.F.G.Kerr (พ.ศ.2420-2485) ชาวไอริส เดินทาง เข้ามาในประเทศไทยในปี พ.ศ.2445 และได้เป็นผู้สำรวจพรรณพฤกษชาติในประเทศไทยอย่างต่อเนื่องและเป็นระบบ โดยเก็บพรรณไม้ตัวอย่างจากทั่วประเทศได้กว่า 25,000 ชิ้น ในจำนวนนี้นอกจากเป็นตัวอย่างพรรณไม้แห้งแล้ว ยังมีตัวอย่างกล้วยไม้ที่ปลูกในเรือนเพาะชำ และที่เก็บเป็นตัวอย่างดองแอลกอฮอล์ รวมอยู่ด้วยเป็นจำนวนมาก (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2543)

ศาสตราจารย์เต็ม สมิตินันท์ ผู้เชี่ยวชาญด้านพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กรมป่าไม้ ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญด้านพืชเขตร้อนระดับโลก ได้ร่วมงานกับ ศาสตราจารย์ ดร.Gunner Seidenfaden (พ.ศ. 2451- 2544) นักพฤกษศาสตร์ชาวเดนมาร์ก ได้ดำเนินการศึกษาสำรวจพรรณกล้วยไม้ทั่วประเทศอย่างต่อเนื่องในช่วงปี พ.ศ.2498-2516 และร่วมกันเขียนตำราอนุกรมวิธาน กล้วยไม้ไทย Orchids of Thailand ขึ้นเป็นเล่ม และได้ตีพิมพ์ ข้อมูลผลงานเพิ่มเติมลงในวารสารหลายเล่มอย่างสม่ำเสมอ อาทิ Dansk Botanisk Arkiv, Opera Botanica และ วารสาร Nordic Journal of Botany อันเป็นตำราแม่บทสำคัญของกล้วยไม้ไทยและของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่นักพฤกษศาสตร์ใช้อ้างอิงกันมาจนถึงปัจจุบัน

สำหรับตัวอย่างงานอนุกรมวิธาน เพื่อการจำแนกกล้วยไม้ในประเทศไทยนั้นมีการศึกษาและจัดทำไว้ตัวอย่างได้แก่ ชนินทร์ โถรัตน์ (2542) ได้จำแนกกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ ในประเทศไทย จัดระบบจัดหมวดหมู่ตามระบบของ Robert L. Dressler (1993). Szachetko (1995) ได้จำแนกเป็น 5 Subfamilies ได้แก่ Apostasioideae, Cypripediodeae, Spiranthoideae, Ochidoideae, Epidendrodeae และ มีทั้งหมด 174 สกุล 1,152 ชนิด อบฉันท์ ไทยทอง (2543) ได้จำแนกวงศ์กล้วยไม้ออกเป็นวงศ์ย่อย (Subfamily) ตามระบบของ R. L. Dressler (1981, 1990) เนื่องจากเข้าใจง่าย และชื่อวงศ์ย่อย ค่อนข้างเป็นที่คุ้นหูมานาน ซึ่งจำแนกเป็น 6 วงศ์ย่อย ได้แก่ Apostasioideae, Cypripedioideae, Neottioideae, Orchidoideae, Epidendroideae และ Vandoideae สลิล สิทธิสัจจธรรม และนฤมล กฤษณชาญดี (2545) ได้จำแนกกล้วยไม้ตามหลักทางพฤกษศาสตร์ และสามารถจัดแบ่งออกเป็น 6 วงศ์ย่อย ได้แก่ Apostasioideae, Cypripedioideae Neottioideae, Orchidoideae, Epidendroideae และ Vandoideae ครรชิต ธรรมศิริ (2547) ได้จำแนกกล้วยไม้ตาม Robert L. Dressler ในปี พ.ศ.2524 ซึ่งจำแนกเป็น 6 วงศ์ย่อย ได้แก่ Apostasioideae, Cypripedioideae, Neottioideae, Orchidoideae, Epidendroideae และ Vandoideae

สำหรับการขยายพันธุ์กล้วยไม้ โดยทั่วไปในธรรมชาตินั้น ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว เมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก คล้ายผงฝุ่นอยู่ในฝัก ซึ่งมีลักษณะกลมยาว หรือป่องกลาง ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อฝักแก่จะมีสีเหลืองและเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาล ต่อมาฝักจะแห้งและแตกตามยาวเป็น 3 แนว ทำให้เมล็ดร่วงจากฝัก เมล็ดกล้วยไม้แต่ละชนิดจะมีลักษณะแตกต่างกันตามสี และรูปร่าง เช่น ยาว รี แบน กลม หรือรูปกระสวย เป็นต้น ขนาดกว้างประมาณ 0.08-0.27 มิลลิเมตร ความยาว ประมาณ 0.4-1.25 มิลลิเมตร น้ำหนักประมาณ 3-14 ไมโครกรัม และมีจำนวนเมล็ดตั้งแต่ 1,300 - 4,000,000 เมล็ดต่อฝัก (จิตราพรรณ, 2536)

การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ต่างจากการงอกของเมล็ดพืชชนิดอื่น ตรงที่การงอกของเมล็ดกล้วยไม้จะคล้ายกับการพัฒนาของตา (bud) ที่พักตัวอยู่ เมื่อเมล็ดได้รับสภาพที่เหมาะสมจะมีการสะสมอาหาร เอ็มบริโอมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนมีขนาดใหญ่ขึ้น (Arditti, 1967)

เมล็ดกล้วยไม้ไม่สามารถงอกได้เองเนื่องจากภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยอาหารจากภายนอกมาช่วยในการพัฒนา การงอกของเมล็ดอาจเกิดได้ทั้งในสภาพธรรมชาติที่เรียกว่า symbiotic germination เป็นการงอกของเมล็ดตามธรรมชาติซึ่งต้องอาศัยเชื้อราบางชนิดที่อยู่บริเวณรากของกล้วยไม้ ที่อยู่บริเวณรากของกล้วยไม้ (mycorrhiza) ที่จะช่วยนำธาตุอาหารจากสิ่งแวดล้อมภายนอกเข้าไปในเซลล์ของราก โดยเชื้อราเหล่านี้จะงอกเส้นใยแทงเข้าไปในเมล็ดกล้วยไม้ ในเส้นใยจะมีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ด และเมล็ดจะย่อยสลายเส้นใยเพื่อนำธาตุอาหารไปใช้ประโยชน์ในการงอก และในอาหารสังเคราะห์ที่เรียกว่า asymbiotic germination ซึ่งเป็นการงอกของเมล็ดที่ไม่ต้องอาศัยเชื้อราประเภท mycorrhiza เมล็ดสามารถงอกได้ดีเมื่อเพาะบนอาหารสังเคราะห์ที่มีสภาพเหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด

เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ในสภาพปลอดเชื้อโดยไม่ต้องอาศัยเชื้อรา mycorrhiza มาช่วยในการงอก เพียงแต่สูตรอาหารที่ใช้เพาะต้องมีน้ำตาล และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการงอกและการเจริญของต้นอ่อน จึงทำให้มีการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้ (Knudson, 1922)

Pierik (1987) กล่าวถึง สาเหตุของการนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก อาหารสะสมภายในเมล็ดไม่มี หรืออาจมีแต่น้อยมาก ขนาดที่เล็กนี้อาจทำให้สูญหายได้ขณะแพร่กระจายในสภาพธรรมชาติและมีโอกาสรอดชีวิตยาก ดังนั้นการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อจึงประสบความสำเร็จอย่างมาก ส่วนการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพธรรมชาติต้องพึ่งพาอาศัยเชื้อรา mycorrhiza ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบ symbiotic germination ส่วนการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อนั้น เมล็ดต้องการเพียงแร่ธาตุและน้ำตาลในอาหารสังเคราะห์เท่านั้น (asymbiotic germination) แต่ถ้าหากจำนวนของเมล็ดต่อฝักมีจำนวนจำกัด ก็สามารถเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อได้ และยังสามารถเพาะเมล็ดที่เอ็มบริโอยังอ่อนอยู่ได้ เพื่อลด breeding cycle สำหรับการงอกของเมล็ดและระยะพัฒนาการของเมล็ดเป็นไปอย่างรวดเร็วในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและไม่มีการแข่งขันกับเชื้อราหรือแบคทีเรีย

ความก้าวหน้าของการขยายพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เริ่มต้นจากงานทางด้านการขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ที่เริ่มขึ้นโดยนักวิทยาศาสตร์ที่มีชื่อว่า Morel ในปี ค.ศ. 1964 เนื่องจากกล้วยไม้ที่ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันเป็นลูกผสมที่ซับซ้อน และบางชนิดเกิดจากการรวมยีโนมของพืชถึง 3-4 ยีนัส เช่น กล้วยไม้พวก *Sophrolaeliocatteya* sp. ซึ่งเป็นลูกผสมสามสายเลือด (triple hybrids) ของ *Sophronitis* sp., *Laelia* sp. และ *Cattleya* sp. การขยายพันธุ์โดยปกติอาจทำได้เพียงวิธีเดียวคือ การใช้เทคนิค back-bulb propagation โดยแยกเอาส่วนของ pseudobulbil ที่แก่ที่สุดออกจากช่อดอก เพื่อกระตุ้นให้ตาข้างที่พักตัวพัฒนาเป็นต้นอ่อน และต้องใช้เวลานานหลายปี อีกทั้งใช้ได้เฉพาะในกล้วยไม้ที่มีลักษณะเป็น sympodial เท่านั้น ไม่ใช่เป็น monopodial branching (ซึ่งจะไม่มีตาข้าง) สำหรับในทางปฏิบัติแล้ว การขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยทั่วไปนิยมขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด แต่มีข้อจำกัดคือต้นที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดนั้นมักมีอัตราความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง และมักได้ต้นที่ไม่ต้องการจำนวนมาก ทั้งยังใช้เวลานาน 3-5 ปี จึงจะออกดอกได้

และจากการสังเกตของ Morel ในปี ค.ศ. 1960 พบว่า เมื่อนำชิ้นส่วนปลายยอด (Shoot tips) ของกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* sp. มาทำการเพาะเลี้ยง จะเกิดการสร้างหน่อที่เรียกว่า spherule-like body ที่มีราก (rhizoids) เกิดขึ้นที่บริเวณฐาน ซึ่งหน่อที่เกิดขึ้นนี้ คือ protocorms ทดแทนการสร้างกลุ่มของยอดที่มีลักษณะเป็นพุ่มฝอยคล้ายใบ (leafy shoots) ซึ่งโปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายกับที่เกิดขึ้นจากคัพภะขณะที่เมล็ดงอก และมักเกิดจากเซลล์ epidermal หรือ sub-epidermal cells ของใบ ซึ่งอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ดังนั้นลักษณะการเกิดโปรโตคอร์มจึงสามารถขยายพันธุ์ได้ง่าย โดยเริ่มต้นจาก 1 เป็น 12 เซลล์ได้ภายในเวลาไม่ถึง 1 เดือน และเมื่อแยกแต่ละเซลล์ไปเลี้ยง ก็สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ใน

อาหารเดิมได้อย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อชักนำให้เกิดเป็นโปรโตคอร์ม ประสบความ สำเร็จในกล้วยไม้มากมายหลายชนิด ตัวอย่างเช่น *Cymbidium* (Hoque และคณะ 1994) *Doritaenopsis* (Park และคณะ 2002) และ *Cypripedium formosanum* (Lee และ Lee 2003) เป็นต้น

ความสำเร็จในการขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในสภาวะการเพาะเลี้ยง ตัวอย่างเช่น สัดส่วนของมหธาตุ จุลธาตุ (Churchill และคณะ 1972) สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งในกลุ่มของออกซิน (Wu และคณะ 2004, Chen และ Chang 2004) ไซโตไคนิน (Malabadi และคณะ 2004) และผลร่วมระหว่างออกซินกับ ไซโตไคนิน (Chang และ Chang 1998, Roy และ Banerjee 2003, Shimura และ Koda 2004) ปริมาณ น้ำตาล (Tokuhara และ Mii 2003) และปัจจัยสภาพแวดล้อมอื่นๆ ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อ เพาะเลี้ยงของกล้วยไม้ชนิดพันธุ์ต่างๆ เหล่านั้น พัฒนาเกิดเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ดี (da Silva และ คณะ 2005) รวมไปถึงการพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้รูปแบบต่างๆ ที่ประสบความสำเร็จ ทั้งบนอาหารแข็ง (Ishii และคณะ 1998) ในอาหารเหลวแบบเขย่าเลี้ยง (Chang และ Chang 2000) ใน อาหารเหลวแบบจุ่มแช่ชั่วคราว (Young และคณะ 2000) และในอาหารเหลวในถังหมักระดับขยายส่วน (Paek และคณะ 2005) เป็นต้น

สำหรับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในกล้วยไม้ดินสกุลต่างๆ นั้น พบว่ามีรายงานการศึกษา ทดลองมาบ้าง ตัวอย่างได้แก่งานวิจัยของ Teng และคณะ (1997) ที่ศึกษาถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กล้วยไม้ดิน *Spathoglottis plicata* และงานวิจัยของ Datta และคณะ (1999) ที่ศึกษาถึงการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อกล้วยไม้ดิน *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. ต่อมา Takahashi และคณะ (2000) ศึกษาถึง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ดิน *Habenaria* (*Pecteilis*) *radiata* รวมไปถึงงานวิจัยของ Soontornchainaksaeng และคณะ (2000) ที่ศึกษาถึงผลของแสงต่อการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อ กล้วยไม้ดินเอื้องพร้าว *Phaius tankervilliae* (Banks ex L' Herit.) Bl. and *Vanda coerulea* Griff. และยังมี งานวิจัยของ Sheelavantmath และคณะ (2000) ที่ประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดิน *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. จากชิ้นส่วนของเหง้า (Rhizome section) และจากงานวิจัยของ Shimada และคณะ (2001) ศึกษาถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์กล้วยไม้ดิน *Habenaria radiata* รวมไปถึงงานวิจัยของ Roy และ Banerjee (2002) ที่ประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดเหง้าและมี การพัฒนาเกิดเป็นต้นอ่อนขึ้นจากชิ้นส่วนของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ดิน *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. นอกจากนี้ Bhadra และ Hossain (2003) ยังได้เริ่มต้นศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการงอกของ เมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์กล้วยไม้ดิน *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. อีกด้วย สำหรับงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์กล้วยไม้ดินที่หายากต่างๆ นั้น พบว่ามีตัวอย่าง รายงานของ Vassa และ Rosenberg (2004) ที่ศึกษาถึงการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุล *Dactylorhiza* จาก ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อเจริญของโปรโตคอร์มที่เพาะจากเมล็ดของกล้วยไม้ดังกล่าว รวมไปถึงงานวิจัยของ

Chou และ Chang (2004) ที่ศึกษาถึงการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ *Anoectochilus formosanus* และ *Haemaria discolor* ต่อมา Kauth และคณะ (2006) ศึกษาถึงกระบวนการงอกและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ดินสกุล *Calopogon tubersus* ในสภาพปลอดเชื้อ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Stewart และ Kane (2006) ที่ศึกษาถึงกลไกการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินพวก *Habenaria macroceratitis* ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นต้น

## วิธีการศึกษาวิจัย

### อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

1. อุปกรณ์การศึกษาวิจัยการสำรวจและการจัดจำแนกกล้วยไม้ ได้แก่

1.1. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างพันธุ์ไม้ ประกอบไปด้วย แผงอัดพันธุ์ไม้พร้อมเชือกรัด กระดาษหนังสือพิมพ์ กระดาษลูกฟูก กรรไกรตัดกิ่งไม้ ถุงพลาสติกเก็บพันธุ์ไม้ ขวดแก้วขนาดเล็กสำหรับเก็บดอกดองมาศึกษาในกรณีที่พันธุ์ไม้มีจำนวนน้อยไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ สมุดบันทึกข้อมูลในภาคสนาม แว่นขยาย แผ่นป้ายหมายเลขพันธุ์ไม้ กล้องถ่ายรูป และเครื่องวัดระดับความสูง เป็นต้น

1.2. อุปกรณ์เตรียมตัวอย่างพันธุ์ไม้แห้ง ประกอบไปด้วย น้ำยาอาบพันธุ์ไม้เพื่อกันแมลงและเชื้อรา กระดาษแข็งสำหรับเย็บพันธุ์ไม้และกระดาษปกสีขาว กระดาษปกสีน้ำตาล แผ่นป้ายข้อมูล เข็มและด้ายเย็บพันธุ์ไม้

1.3. อุปกรณ์การทำตัวอย่างดอง ประกอบไปด้วย Ethyl Alcohol 70% ผสม glycerine เล็กน้อย ขวดแก้วสำหรับดองตัวอย่างดอกขนาดต่างๆ และแผ่นป้ายบันทึกข้อมูล

1.4. อุปกรณ์การตรวจชื่อวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ ประกอบไปด้วย dissecting microscope, dissecting needles ใบมีดโกน เอกสารต่างๆ ทางพฤกษอนุกรมวิธานของกล้วยไม้ และตัวอย่างพันธุ์ไม้เทียบเคียงในหอพรรณไม้ และสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์

2. อุปกรณ์การศึกษาวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่

2.1. วัสดุพืชได้แก่ ฝักกล้วยไม้ดินเอื้องตีนกบ (*Pecteilis susannae* (L.) Raf.) นางอั้วหูยาว (*Habenaria hosseusii* Schltr.) และบานดึก (*Spathoglottis eburnea* Gagnep.) อายุประมาณ 30-50 วัน

2.2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง Vacin and Went (VW), (1949), เช่น ปิเปต (pipette), ช้อนตักสาร (spatula), เครื่องชั่ง (balance), เครื่องปั่น (blender), แท่งแก้วคนสาร, บีกเกอร์ (beaker), เครื่องกวนสารแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer), เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter), เตาให้ความร้อน (hot plate), เตาอบไมโครเวฟ (microwave oven), กระบอกตวง (cylinder), ขวดรูปชมพู่ (flask), ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (bottle) พร้อมฝาเกลียว (screw cap) ขนาด 4 ออนซ์ และ 8 ออนซ์

2.3. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการย้ายเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet), จานแก้ว (Petri dish), มีดผ่าตัด (knives and scapel), ปากคีบขนาดต่างๆ (forceps), ตะแกรงวางเครื่องมือ,

ตะเกียงแอลกอฮอล์, ขวดแอลกอฮอล์สำหรับจุ่มเครื่องมือ และแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

2.4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง Vacin and Went (VW) 1949 และสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ ได้แก่ น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม มันฝรั่ง เป็นต้น รวมไปถึง สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ ตัวอย่างได้แก่ BA (6-benzylaminopurine) และ NAA (1-naphthaleneacetic acid) และสารเคมีที่ใช้สำหรับฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite, NaOCl)

2.5. อุปกรณ์ที่ใช้บันทึกภาพเมล็ดกล้วยไม้และต้นอ่อน ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ (Stereo microscope) และกล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล

**วิธีดำเนินการวิจัย**

1. รูปแบบการวิจัยเป็นการวางแผนการทดลองเพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางสถิติที่จะนำมาใช้วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

2. ขั้นตอนและวิธีการวิจัย แบ่งออกเป็น 2 ระยะ ดังนี้

2.1 ระยะที่ 1 ทำการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างต้นพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุลต่างๆ ในบริเวณพื้นที่มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา (ต่อยอดการสำรวจ) ดังนี้

2.1.1 กำหนดขอบเขตพื้นที่ที่ทำการศึกษาเพื่อเป็นตัวแทนของพื้นที่ทั้งหมดของมหาวิทยาลัย แบ่งออกได้เป็น 5 พื้นที่ดังนี้

<u>พื้นที่ศึกษาที่ 1</u> เส้นทางเดินสำรวจบริเวณอ่างเก็บน้ำที่ 1 ซึ่งเป็นสังคมป่าเต็งรัง สภาพป่าโปร่ง ลักษณะภูมิประเทศเป็นที่ลุ่ม

<u>พื้นที่ศึกษาที่ 2</u> เส้นทางเดินสำรวจบริเวณใต้อ่างเก็บน้ำที่ 2 ซึ่งเป็นสังคมป่าเต็งรัง ผสมกับป่าดิบแล้งสภาพป่าค่อนข้างทึบ ลักษณะภูมิประเทศเป็นหุบเขามีลำธาร

<u>พื้นที่ศึกษาที่ 3</u> เส้นทางเดินสำรวจบริเวณแปลงเพาะปลูกยางพารา ซึ่งเป็นสังคมป่าเต็งรังผสมกับป่าดิบแล้งสภาพป่าค่อนข้างทึบมีภูมิประเทศเป็นเนินลาดชัน

<u>พื้นที่ศึกษาที่ 4</u> เส้นทางเดินสำรวจบริเวณด้านหลังพระตำหนัก ซึ่งเป็นสังคมป่าเต็งรัง สภาพป่าค่อนข้างทึบ ลักษณะภูมิประเทศเป็นที่ราบสลับกับเนินเขา

<u>พื้นที่ศึกษาที่ 5</u> เส้นทางเดินสำรวจบริเวณห้วยทับช้าง ซึ่งมีสังคมป่าเป็นป่าเต็งรังผสมป่าดิบแล้ง สภาพป่าค่อนข้างทึบ ลักษณะภูมิประเทศเป็นเนินค่อนข้างลาดชัน

2.1.2. ออกสำรวจภาคสนามเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2551 จนถึงเดือนสิงหาคม 2552 ทำการเก็บตัวอย่างกล้วยไม้ที่พบ บันทึกภาพ ลักษณะของตัวอย่าง และสภาพแวดล้อมโดยรอบที่เก็บตัวอย่าง

2.1.3. นำตัวอย่างกล้วยไม้ดินที่เก็บมาจากการสำรวจภาคสนามมาทำการจัดจำแนกและระบุชนิดของกล้วยไม้ดิน โดยใช้เอกสารรูปวิธานทางพฤกษอนุกรมวิธาน และเขียนคำบรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.2 ระยะที่ 2 ทำการคัดเลือกเฉพาะกล้วยไม้ดินบางสกุลที่มีศักยภาพดี และ/หรืออาจอยู่ในสถานภาพที่เสี่ยงต่อการคุกคามหรือสูญพันธุ์ มาใช้เป็นพืชเริ่มต้นในการทดลอง โดยเลือกกล้วยไม้ *Habenaria* และ *Pecteilis* เป็นพืชทดลอง และดำเนินการดังนี้

2.2.1 เริ่มต้นการเลี้ยงชิ้นส่วนกล้วยไม้ดิน โดยการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็ง เพื่อขยายปริมาณโปรโตคอร์ม และต้นให้ได้เป็นจำนวนมากสำหรับใช้ในการทดลองต่าง ๆ 4 การทดลอง ดังนี้

**การทดลองที่ 1** ศึกษากระบวนการงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินเอื้องตีนกบ (*Pecteilis susannae* (L.) Raf.) นางอั้วหูยาว (*Habenaria hosseusii* Schltr.) และบานดึก (*Spathoglottis eburnea* Gagnep.) ในสภาพปลอดเชื้อแบบ asymbiotic germination

นำฝักกล้วยไม้ดิน *Pecteilis susannae* (L.) Raf., *Habenaria hosseusii* Schltr. และ *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ที่มีอายุฝักหลังการผสมประมาณ 30-50 วัน มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3-4 ครั้ง ผ่าฝักออกตามแนวขวาง เขี่ยเมล็ดกล้วยไม้ลงเพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัม น้ำต้มมันฝรั่ง 50 กรัม และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร pH ของอาหารประมาณ 5.2 เลี้ยงในห้องที่มีความเข้มแสง 40 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกกระบวนการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินทั้ง 3 ชนิด ตั้งแต่เริ่มงอกจนมีการพัฒนาเกิดเป็นต้นใหม่

**การทดลองที่ 2** ศึกษาผลของฮอร์โมนออกซินร่วมกับไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนกล้วยไม้ดินบานดึก *Spathoglottis eburnea* Gagnep.

นำต้นอ่อนกล้วยไม้ ความสูงประมาณ 2 เซนติเมตร มีใบ 2 ใบ และไม่มีราก เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัม กล้วยหอมบด 50 กรัม มันฝรั่งบด 50 กรัม ผงถ่าน 2 กรัม และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร และเติม BA ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง

**การทดลองที่ 3** ศึกษาผลของฮอร์โมน NAA ต่อการเกิดรากใหม่ของต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep.

นำต้นอ่อนกล้วยไม้ ที่มีความสูงตั้งแต่ 3-5 เซนติเมตร มีใบ 2 ใบ และไม่มีราก เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัม กล้วยหอมบด 50 กรัม มันฝรั่งบด 50 กรัม ผงถ่าน 2 กรัม และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร และเติม NAA ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิลิตรต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง

**การทดลองที่ 4** ศึกษาผลการย้ายปลูกและอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ในสภาพแวดล้อมปกติ

นำต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ที่มีขนาดความสูง ประมาณ 7-12 เซนติเมตร ในสภาพปลอดเชื้อ ออกปลูกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ทราย แกลบดำ และดินผสม อัตราส่วน 1:1:1 วางเลี้ยงในเรือนเพาะชำ รดน้ำวันละ 2 ครั้ง เช้า และเย็น บันทึกผลการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลง รวมไปถึงอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อน หลังจากเลี้ยงไปเป็นเวลา 10 สัปดาห์

3. ทำการวิเคราะห์ค่าข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

4. เขียนรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เพื่อเผยแพร่ต่อไป

## ผลการศึกษาวิจัย

จากการศึกษาความหลากหลายของกล้วยไม้ดิน (Terrestrial orchids) บริเวณมหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552 พบกล้วยไม้ดินจำนวน 2 วงศ์ย่อย 8 สกุล 21 ชนิด โดยจำแนกตามระบบของ Dressler (1993) ดังตารางที่ 14.1 และ 14.2

**ตารางที่ 14.1** แสดงจำนวนกล้วยไม้ดินที่สำรวจพบ จำแนกตามวงศ์ย่อย สกุล และชนิด

| วงศ์ย่อย | สกุล | ชนิด |
|---|---|---|
| Orchidoideae | 3 | 11 |
| Epidendroideae | 5 | 10 |
| รวม | 8 | 21 |

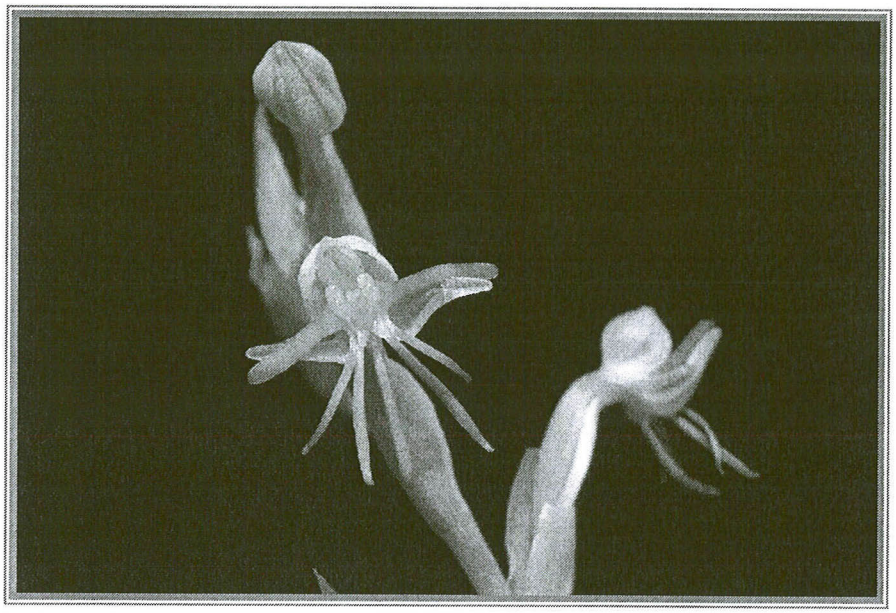
**ตารางที่ 14.2** แสดงชนิดต่างๆ ของกล้วยไม้ดินที่สำรวจพบในบริเวณมหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา

| วงศ์ย่อย | |
|---|---|
| Orchidoideae | Epidendroideae |
| *Habenaria amplexicaulis* Rolfe ex Downie | *Cymbidium ensifolium* (L.) Sw. |
| *Habenaria chlorina* C.S.P.Parish & Rchb.f. | *Eulophia pauciflora* Guill. |
| *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr. | *Eulophia siamensis* Rolfe ex Downie |
| *Habenaria hosseusii* Schltr. | *Eulophia spectabilis* (Dennst.) Suresh |
| *Habenaria humistrata* Rolfe ex Downie. | *Eulophia geniculata* King & Pantl. |
| *Habenaria lucida* Wall. ex Lindl. | *Liparis paradoxa* (Lindl.) Rchb.f. |
| *Habenaria lindleyana* Steud. | *Liparis wightiana* Thwaites |
| *Habenaria reniformis* (D.Don) Hook.f. | *Nervilia aragoana* Gaudich. |
| *Habenaria rostellifera* Rchb.f. | *Nervilia crociformis* (Zoll.& Moritzi) Seidenf. |
| *Pecteilis susannae* (L.) Raf. | *Spathoglottis eburnea* Gagnep. |
| *Peristylus affinis* (D.Don) Seidenf. | |

กล้วยไม้ดินที่สำรวจพบในบริเวณที่ทำการศึกษาในมหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา มีดังนี้

**วงศ์ย่อย Orchidoideae**

1. ***Habenaria amplexicaulis*** **Rolfe ex Downie**



**ภาพที่ 14.1** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria amplexicaulis* Rolfe ex Downie

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria amplexicaulis* Rolfe ex Downie

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ลำต้นเหนือดินตั้งตรง ใบเรียงเวียนรอบลำต้น รูปรี ขนาดกว้าง 2.0-2.5 ซม. ยาว 6.0-6.5 ซม. ปลายใบมน ขอบใบมน ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด ยาวประมาณ 7.5 ซม. กลีบประดับรูปหอกปลายแหลม ดอกขนาดประมาณ 1.5 ซม. กลีบเลี้ยงบนรูปรีกว้าง แผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูปหอก ปลายแหลม กลีบปากแยกเป็น 3 แฉก แฉกข้างแยกออกเป็น 2 แฉกรูป แฉกกลางรูปแถบ เส้าเกสรไม่มีฝาครอบ กลุ่มเรณูอยู่ด้านข้างเส้าเกสร ปลายมีแป้นเหนียว

**2. *Habenaria chlorina* C.S.P.Parish & Rchb.f.**

**ภาพที่ 14.2** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria chlorina* C.S.P.Parish & Rchb.f.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria chlorina* C.S.P.Parish & Rchb.f.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง รูปรี เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 – 4 ซม. ใบมี 3 - 5 ใบ รูปแถบปลายเรียวแหลม ขอบเรียบ ช่อดอกช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ยาว 3-10 ซม. ออกที่ปลายยอด กลีบเลี้ยงบนรูปรีแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก ยาวประมาณ 5 มม. ปลายมน กลีบเลี้ยงข้างรูปขอบขนาน ปลายมน กลีบดอกรูปรี ปลายแหลม กลีบปากแยกเป็น 3 แฉก เดือยดอกยาวประมาณ 5 มม. เส้าเกสรยาวประมาณ 3 มม.

**3. *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr.**

**ภาพที่ 14.3** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง รูปรี ใบ มี 3–6 ใบ รูปรีแกมรูปขอบขนาน ปลายแหลม ขอบใบเรียบ กลีบประดับรูปหอก ยาว 2 ซม. ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ยาว 5-8 ซม. ออกที่ปลายยอด ดอกสีขาว กลีบเลี้ยงบนรูปรีกว้างแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูปไข่แกมรูปใบหอก ปลายแหลม กลีบดอกรูปขอบขนาน ปลายแหลม กลีบปากแยกเป็น 3 แฉก แฉกกลางรูปแถบ แฉกข้างรูปขอบขนาน ปลายมน เดือยดอกรูปทรงกระบอก ยาวประมาณ 2 ซม.

**4. *Habenaria hosseusii* Schltr.**

**ภาพที่ 14.4** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria hosseusii* Schltr.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria hosseusii* Schltr.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ลำต้นเหนือดินตั้งตรง ใบเรียงเวียน รูปแถบ ปลายแหลม ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกบริเวณยอด ดอกขนาดประมาณ 1.5 ซม. สีขาว กลีบเลี้ยงบนรูปรีแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูกรีเบี้ยว กลีบปากรูปแถบ ไม่มีแฉกข้าง เดือยดอกยาวประมาณ 8 มม.

**5. *Habenaria humistrata* Rolfe ex Downie.**

**ภาพที่ 14.5** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria humistrata* Rolfe ex Downie

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria humistrata* Rolfe ex Downie

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ลำต้นเหนือดินตั้งตรง ใบมี 2 ใบ ปรกผิวดิน รูปไข่กว้างจนถึงรูปทรงกลม ขนาดกว้าง 1.5-3 ซม. ยาว 1.5-3 ซม. แผ่นใบเหนียวคล้ายหนัง ปลายใบมน ขอบใบเรียบ ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด ยาวประมาณ 15-20 ซม. ดอกขนาดประมาณ 5 ซม. กลีบเลี้ยงบนรูปรีกว้างแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูปหอก ปลายแหลม กลีบปากแยกเป็น 3 แฉก แฉกข้างรูปแถบบิดชี้ไปที่ด้านหลังดอก แฉกกลางรูปแถบ

**6. *Habenaria lucida* Wall. ex Lindl.**

**ภาพที่ 14.6** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria lucida* Wall. ex Lindl.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria lucida* Wall. ex Lindl.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ใบเรียงเวียนรอบลำต้น รูปไข่ ปลายแหลม ช่อดอกตั้งตรง ดอกสีเขียว กลีบเลี้ยงบนรูปรีแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูปขอบขนานยื่นไปทางด้านหลัง ปลายมน กลีบดอกรูปแถบ ปลายแหลม กลีบปากแยกเป็นสามแฉก

7. ***Habenaria lindleyana*** **Steud.**

**ภาพที่ 14.7** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria lindleyana* Steud.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria lindleyana* Steud.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ใบมี 2-5 ใบ รูปรีจนถึงรูปไข่ ปลายแหลม แผ่นใบปรกดิน ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด กลีบประดับรูปหอก ยาวประมาณ 15 มม. ดอกขนาดประมาณ 2.5 ซม. กลีบเลี้ยงบนรูปรีแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูปรีเบี้ยว ปลายมน กลีบดอกรูปไข่กลับ ปลายแหลม กลีบปากแยกเป็นสามแฉก

**8. *Habenaria reniformis* (D.Don) Hook.f.**

**ภาพที่ 14.8** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria reniformis* (D.Don) Hook.f.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria reniformis* (D.Don) Hook.f.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ลำต้นตั้งตรง ใบเรียงเวียนเป็นกระจุกที่โคนต้น รูปรี ปลายแหลม ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด ดอกขนาดประมาณ 1 ซม. สีเขียวปนสีขาว กลีบเลี้ยงบน รูปรีแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูปแถบ ปลายกลีบบิดชี้ไปด้านหลัง กลีบดอกรูปคล้ายเคียว ปลายมน กลีบปากแยกเป็น 3 แฉก รูปแถบ

**9. *Habenaria rostellifera* Rchb.f.**

**ภาพที่ 14.9** แสดงลักษณะดอกของ *Habenaria rostellifera* Rchb.f.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Habenaria rostellifera* Rchb.f.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ค่อนข้างกลม ใบรูปขอบขนาน ปลายแหลม ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด ดอกขนาดประมาณ 1.5 ซม. กลีบเลี้ยงบนรูปรีแผ่เป็นอุ้งคล้ายหมวก กลีบเลี้ยงข้างรูปรีเบี้ยวกลีบปากแยกเป็น 3 แฉก รูปแถบ

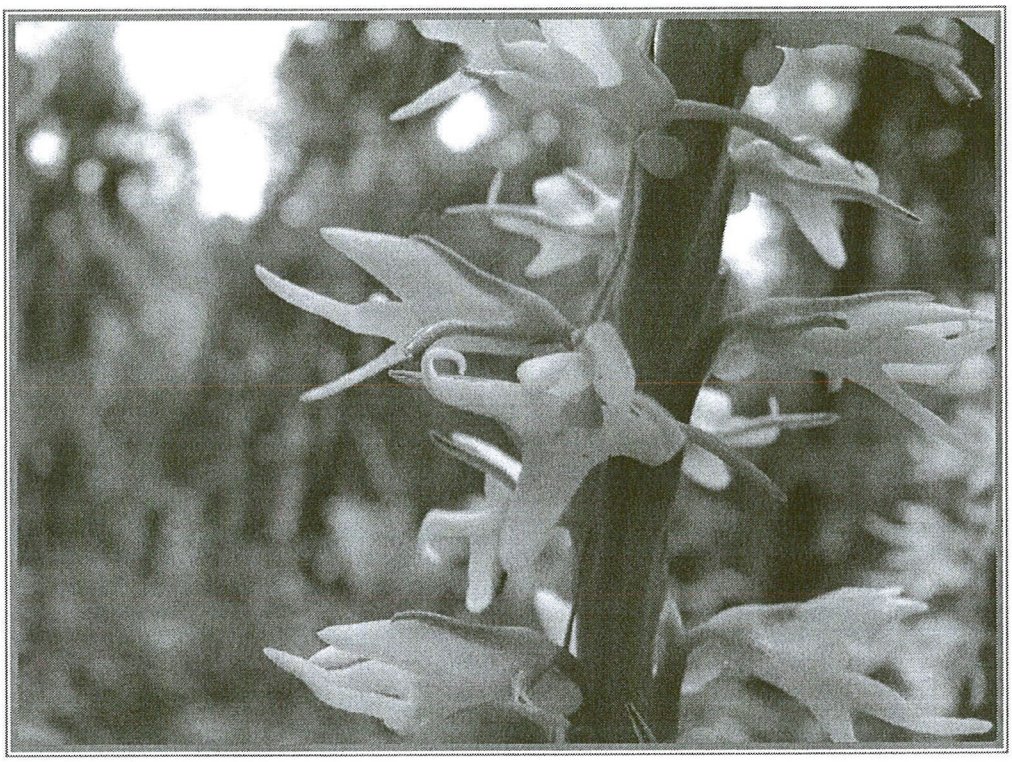
**10. *Pecteilis susannae* (L.) Raf.**

**ภาพที่ 14.10** แสดงลักษณะดอกของ *Pecteilis susannae* (L.) Raf.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Pecteilis susannae* (L.) Raf.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ใบรูปขอบขนานแกมรูปหอก ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด ดอกขนาดประมาณ 7 ซม. สีขาวอมเขียว กลีบเลี้ยงรูปไข่จนถึงเกือบกลม กลีบปากแยกเป็น 3 แฉก แฉกข้างแผ่ออก ขอบจักชายครุย แฉกกลางรูปแถบ

**11. *Peristylus affinis* (D.Don) Seidenf.**



**ภาพที่ 14.11** แสดงลักษณะดอกของ *Peristylus affinis* (D.Don) Seidenf.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Peristylus affinis* (D.Don) Seidenf.

หัวใต้ดินแบบหัวมันฝรั่ง ใบรูปรีจนถึงรูปกลม ปลายแหลม ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด ดอกสีขาว กลีบเลี้ยงบนรูปขอบขนานปลายมน กลีบเลี้ยงข้างและกลีบดอกรูปไข่กลับ ปลายมน กลีบปากรูปไข่กลับ ปลายกลีบแยกเป็น 3 แฉก เดือยดอกเป็นกระเปาะกลม

**วงศ์ย่อย Epidendroideae**

**12. *Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.**

**ภาพที่ 14.12** แสดงลักษณะดอกของ *Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.

ลำลูกกล้วยรูปรี ใบรูปแถบ ปลายแหลม ขอบใบเรียบ ช่อดอก แบบช่อกระจะ ตั้งตรง แทงออกจากด้านข้าง ยาว 30 – 50 ซม. กลีบเลี้ยงรูปแถบ ปลายแหลม กลีบดอกรูปขอบขนาน กลีบปากรูปขอบขนาน กลางกลีบมีสัน 2 สัน โคนกลีบปากตั้งเป็นสันปลายโค้ง กลีบปากส่วนปลาย โค้งงอลงด้านล่าง ขอบหยักไม่เป็นระเบียบ

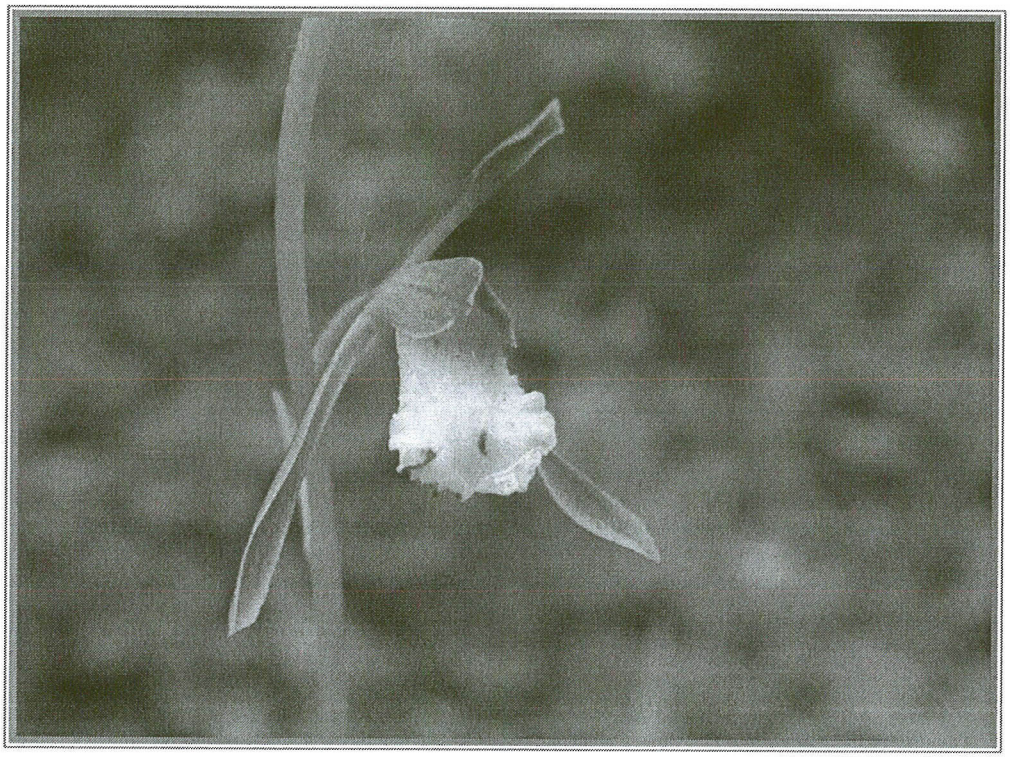
**13. *Eulophia pauciflora* Guill.**

**ภาพที่ 14.13** แสดงลักษณะดอกของ *Eulophia pauciflora* Guill.

ลักษณะโดยทั่วไป *Eulophia pauciflora* Guill.

ลำต้นเจริญทางด้านข้าง หัวอยู่ใต้ดินแบบเผือก ใบมี 3-4 ใบ รูปแถบ ปลายใบแหลม ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ดอกขนาดประมาณ 3 ซม. กลีบเลี้ยงรูปแถบ กลีบดอกรูปแถบ ตามแนวเส้นกลีบมีขนปกคลุม กลีบปากสีขาว กลางกลีบปากมีขนสีชมพูจำนวนมาก

**14. *Eulophia siamensis* Rolfe ex Downie**



**ภาพที่ 14.14** แสดงลักษณะดอกของ *Eulophia siamensis* Rolfe ex Downie

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Eulophia siamensis* Rolfe ex Downie

ลำต้นเจริญทางด้านข้าง หัวอยู่ใต้ดินแบบเผือก ใบรูปแถบ ปลายใบแหลม ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ดอกขนาดประมาณ 3 ซม. กลีบเลี้ยงรูปแถบ กลีบดอกรูปแถบ กลีบปากรูปขอบขนาน สีขาว ขอบกลีบบิดเป็นคลื่น

**15. *Eulophia spectabilis* (Dennst.) Suresh**

**ภาพที่ 14.15** แสดงลักษณะดอกของ *Eulophia spectabilis* (Dennst.) Suresh

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Eulophia spectabilis* (Dennst.) Suresh

ลำต้นเจริญทางด้านข้อง หัวใต้ดินแบบหัวเผือก ใบมี 2-4 ใบ รูปหอก แผ่นใบพับจีบ ปลายใบแหลม ช่อดอกแบบช่อกระจะตั้งตรง ดอกขนาดประมาณ 2 ซม. กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปขอบขนานปลายแหลม กลีบปากรูปรี ขอบกลีบบิดเป็นคลื่น โคนกลีบปากเชื่อมติดกับเส้าเกสร เดือยดอกรูปกรวย

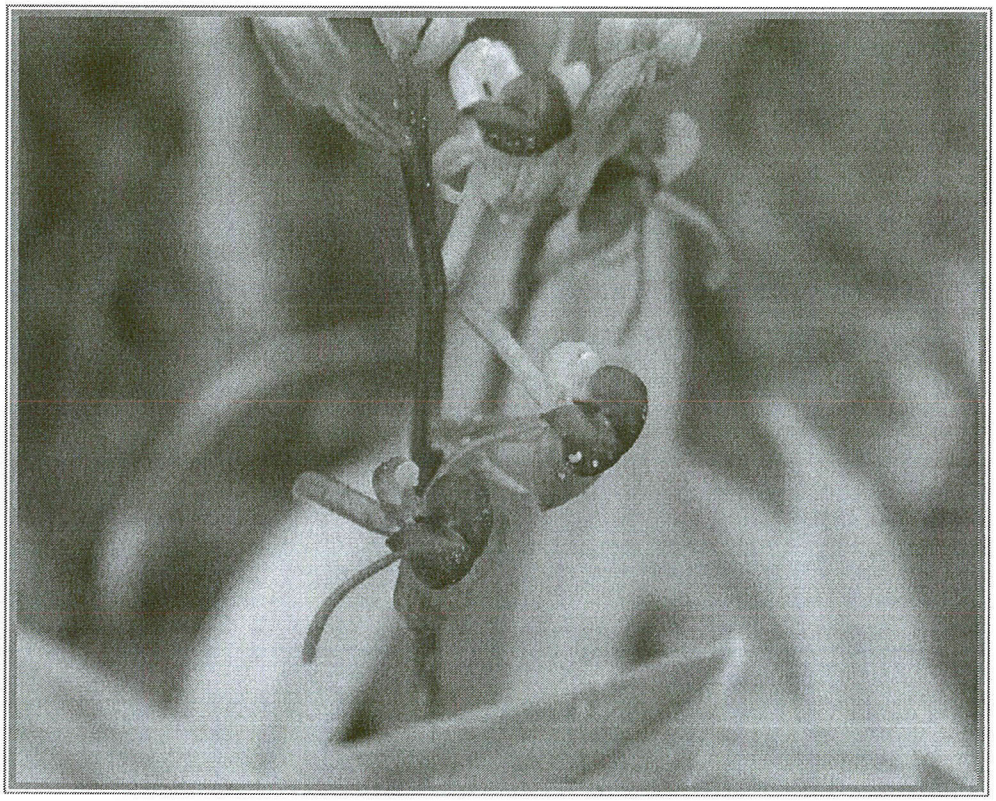
**16. *Eulophia geniculata* King & Pantl.**

**ภาพที่ 14.16** แสดงลักษณะดอกของ *Eulophia geniculata* King & Pantl.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Eulophia geniculata* King & Pantl.

หัวใต้ดินแบบหัวเผือก ใบรูปรีแกมขอบขนาน ปลายสอบ ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกบริเวณโคน จำนวน 8 -12 ดอก ดอกขนาดประมาณ 2 ซม. สีครีมจนถึงเหลืองอ่อน กลีบเลี้ยงรูปรี กลีบปากรูปขอบขนาน กลางกลีบปากมีปุ่มเนื้อเยื่อเรียงเป็นแถวตามยาว 5 แถว

**17. *Liparis paradoxa* (Lindl.) Rchb.f.**

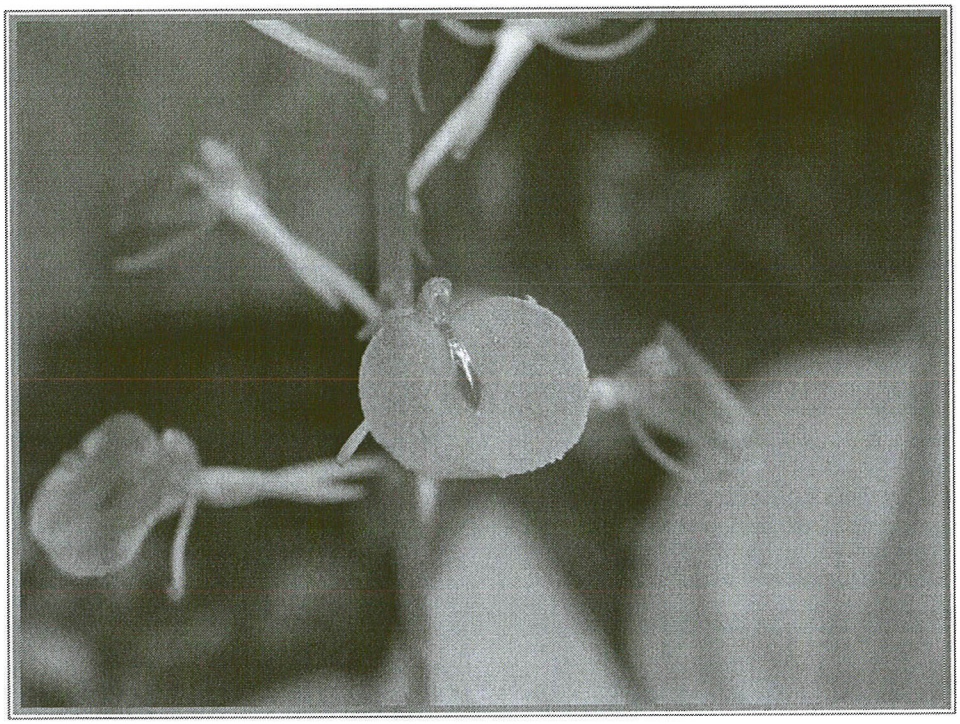


**ภาพที่ 14.17** แสดงลักษณะดอกของ *Liparis paradoxa* (Lindl.) Rchb.f.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Liparis paradoxa* (Lindl.) Rchb.f.

หัวใต้ดิน ใบรูปรี โคนใบแผ่เป็นกาบหุ้มต้น ปลายใบแหลม แผ่นใบพับจีบ ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ยอด ดอกขนาดประมาณ 1 ซม. กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปแถบ ปลายกลีบมน กลีบปากรูปพัด ปลายกลีบบิดไปด้านหลังดอก

**18. *Liparis wightiana* Thwaites ชื่อพ้อง *Liparis sutepensis* Rolfe ex Downie**



**ภาพที่ 14.18** แสดงลักษณะดอกของ *Liparis wightiana* Thwaites

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Liparis wightiana* Thwaites

หัวใต้ดิน ใบรูปรีจนถึงรูปใบหอก ปลายแหลม ช่อดอกดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง ออกที่ปลายยอด ดอกขนาดประมาณ 1 ซม. สีเขียว กลีบเลี้ยงบนรูปแถบ กลีบเลี้ยงข้างรูปขอบขนานเบี้ยว กลีบดอกรูปแถบ กลีบปากรูปเกือบกลม

**19. *Nervilia aragoana* Gaudich.**

**ภาพที่ 14.19** แสดงลักษณะดอกของ *Nervilia aragonite* Gaudich.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Nervilia aragoana* Gaudich.

หัวใต้ดินแบบหัวเผือก ใบรูปหัวใจจนถึงรูปกลม ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งตรง กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปแถบ ปลายกลีบแหลม กลีบปากรูปรี ปลายกลีบปากมน แผ่นกลีบปากด้านบนมีขนปกคลุม

**20. *Nervilia crociformis* (Zoll. & Moritzi) Seidenf.**

**ภาพที่ 14.20** แสดงลักษณะดอกของ *Nervilia crociformis* (Zoll. & Moritzi) Seidenf.

ลักษณะโดยทั่วไปของ *Nervilia crociformis* (Zoll. & Moritzi) Seidenf.

หัวใต้ดินแบบหัวเผือก ใบรูปไต มี 1 ใบ มีขนปกคลุม ดอกเดี่ยว กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปแถบ ปลายกลีบแหลม กลีบปากรูปแถบ แฉกข้างรูปสามเหลี่ยม กลีบปากรูปทรงกระบอก โคนกลีบปากม้วนเข้าหากันปลายกลีบปากหยักชายครุย

**21. *Spathoglottis eburnea* Gagnep.**

**ภาพที่ 14.21** แสดงลักษณะดอกของ *Spathoglottis eburnea* Gagnep.

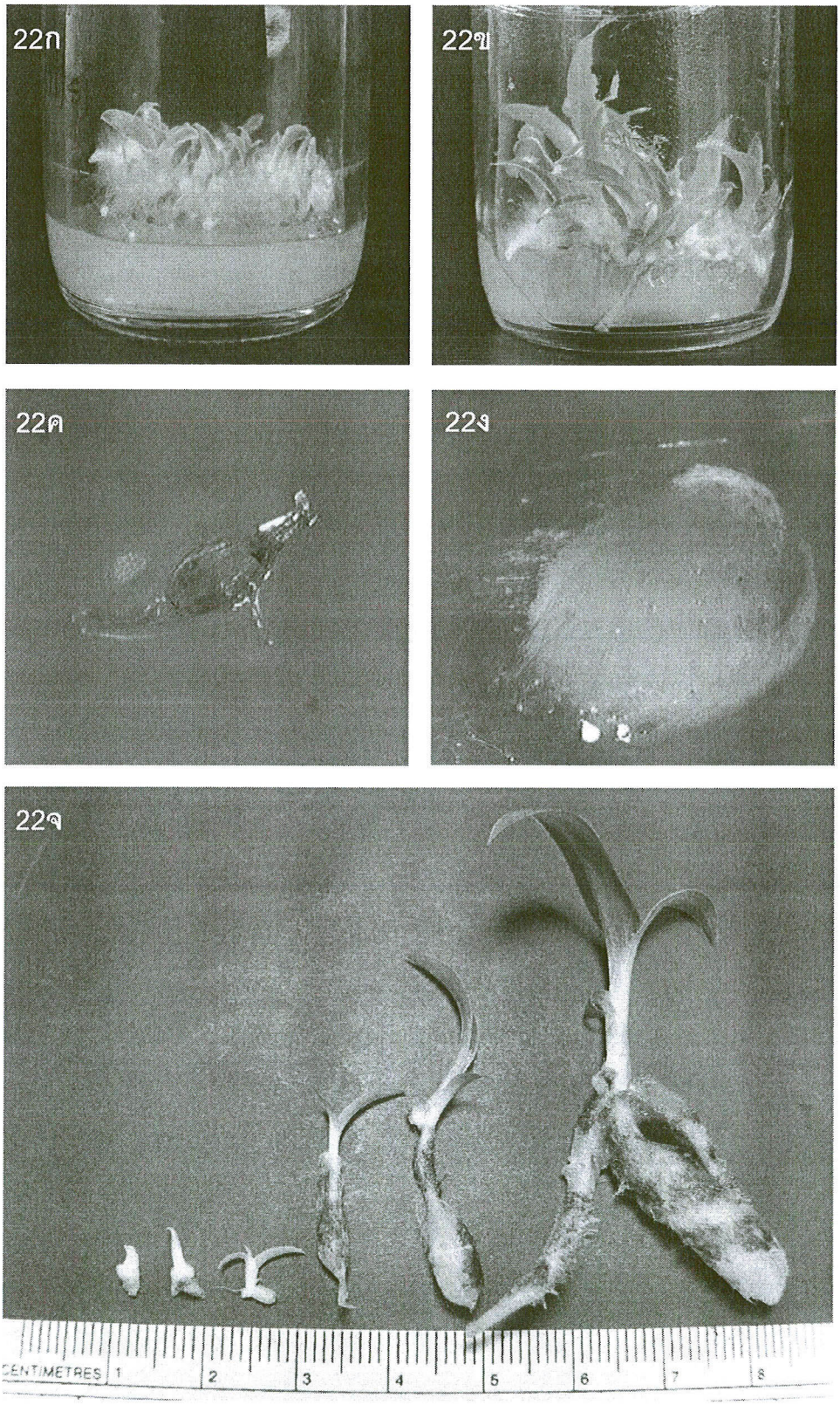
ลักษณะโดยทั่วไปของ *Spathoglottis eburnea* Gagnep.

หัวใต้ดินแบบหัวเผือก ใบรูปแถบ ช่อดอกแบบช่อกระจะ ตั้งขึ้น ดอกขนาดประมาณ 3 ซม. สีขาวอมเหลือง กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปรีจนถึงรูปไข่ กลีบปากส่วนโคนด้านข้างแผ่ตั้งขึ้น กลางกลีบปากมีตุ่มสีเหลืองสองอัน กลีบปากส่วนปลายมีสันนูนตามยาว ปลายกลีบเว้า

**ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ดิน**

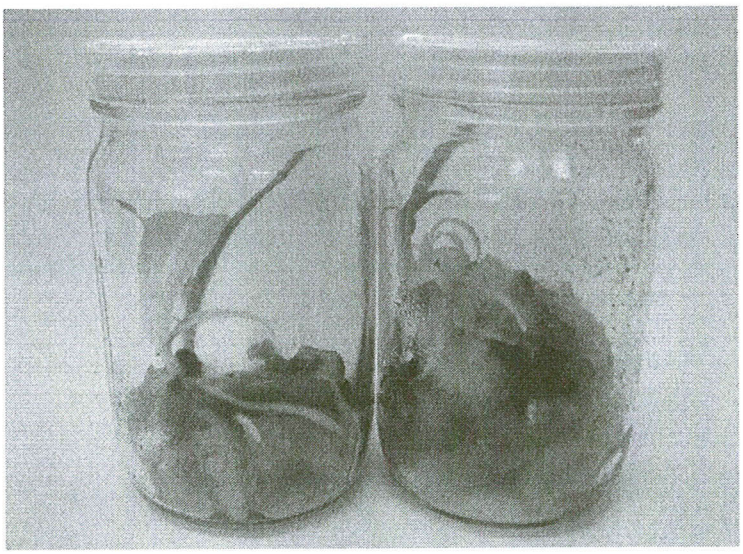
จากผลการศึกษากระบวนการงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินเอื้องตีนกบ (*Pecteilis susannae* (L.) Raf.) นางอั้วหูยาว (*Habenaria hosseusii* Schltr.) และบานดึก (*Spathoglottis eburnea* Gagnep.) โดยนำเมล็ดที่มีอายุหลังการผสมประมาณ 30-50 วัน มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin and Went (VW) 1949 ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 ml/l น้ำตาลซูโครส 20 g/l และมันฝรั่ง 50 g/l วางเลี้ยงในสภาวะที่ได้รับแสง 40 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ โดยได้รับแสงระยะเวลา 12 ชั่วโมงสลับกับช่วงมืด 12 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกกระบวนการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด ตั้งแต่เอมบริโอเริ่มพองบวมจนถึงพัฒนาเป็นต้นใหม่ พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดนาน 12 สัปดาห์ เอมบริโอภายในเมล็ดกล้วยไม้ดินเอื้องตีนกบ (*Pecteilis susannae* (L.) Raf.) นางอั้วหูยาว (*Habenaria hosseusii* Schltr.) เริ่มพองบวมขึ้นมีขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร สีขาว และในสัปดาห์ที่ 16 หลังการเพาะเลี้ยงเริ่มสังเกตเห็นขนรากสีขาวเกิดขึ้นรอบๆ เอ็มบริโอ หลังจากนั้นขนรากจะยาวขึ้นเรื่อยๆ ขนาดของเอมบริโอก็ขยายขึ้นตามไปด้วยจนกระทั่งพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มขนาดเล็ก หลังจากนั้น โปรโตคอร์มจะมีการขยายขนาดและพัฒนาต่อไปจนเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ที่มีใบ 1-2 ใบ และมีการสร้างรากเกิดขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป 20 สัปดาห์ ซึ่งกระบวนการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ในระยะต่างๆ มีระยะเวลาที่ใกล้เคียงกัน

หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 28 สัปดาห์ เมล็ดมีการพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ที่มีใบ 2-3 ใบ มีรากอย่างน้อย 1 ราก และมีความสูงเฉลี่ยประมาณ 1.5 เซนติเมตร หลังจากนั้นก็ทำการย้ายต้นอ่อนขนาดดังกล่าวไปเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ที่ดัดแปลงโดยการเติมน้ำมะพร้าว 150 ml/l กล้วยหอมบด 50 g/l มันฝรั่งบด 50 g/l และผงถ่าน 2 g/l ซึ่งหลังจากย้ายต้นอ่อนไปเลี้ยงบนอาหารสูตรใหม่นั้น ต้นอ่อนที่ย้ายใหม่มีการเจริญเติบโตที่ดี มีจำนวนใบเพิ่มมากขึ้น ใบมีขนาดใหญ่และยาวมากขึ้น ในกล้วยไม้ดินเอื้องตีนกบนั้น รากที่เกิดขึ้นจะมีขนรากปกคลุมรอบราก โดยจะมีรากประมาณต้นละ 1-3 ราก และจะมี 1 รากที่พัฒนาไปเป็นรากสะสมอาหารที่มีลักษณะรูปทรงกลมคล้ายไข่ ที่เรียกว่า microrhizome ส่วนกล้วยไม้อั้วหูยาวพบว่า มีการเกิดรากประมาณ 1-3 รากเช่นกัน โดยรากที่เกิดขึ้นจะคล้ายกับรากของเอื้องตีนกบ มีขนรากปกคลุมทั่วทั้งราก และจะมี 1 รากที่พัฒนาไปเป็นรากสะสมอาหารลักษณะเป็นแบบหัวมันฝรั่ง เรียกว่า minituber แต่ขนาดของหัวนั้นจะเล็กกว่าเอื้องตีนกบ จากการสังเกตพบว่า ต้นอ่อนของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญ สามารถเจริญเติบโตได้ดี และมีการเกิดยอดใหม่เพิ่มขึ้น ดังภาพที่ 14.22(ก-จ) และ 14.29(ก-ง)

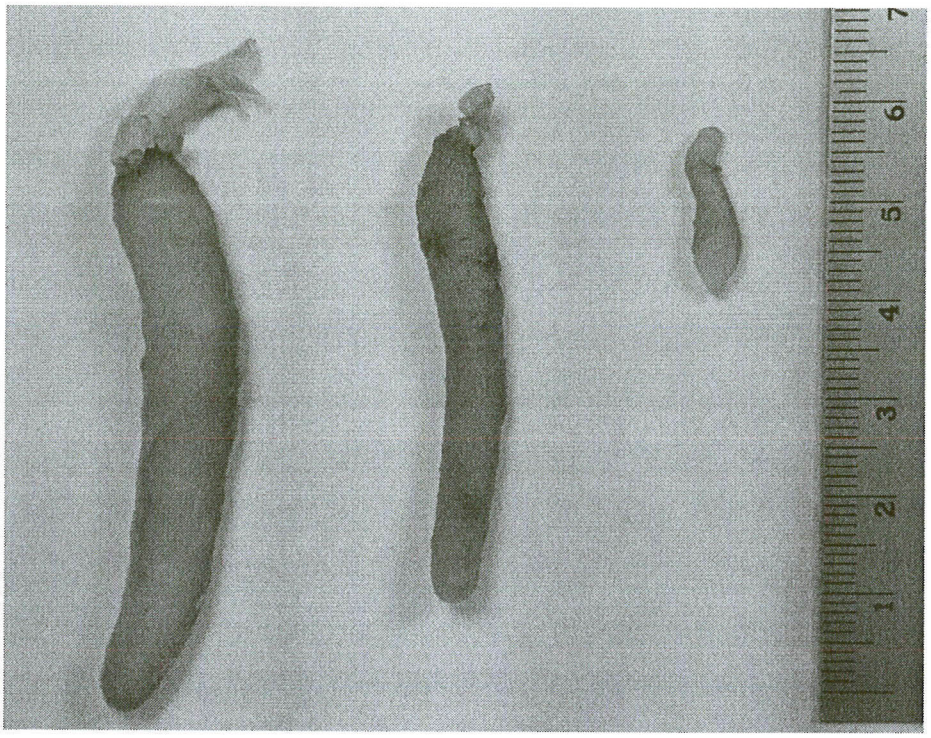



**ภาพที่ 14.22(ก-จ)** แสดงระยะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดิน *Pecteilis susannae* (L.) Raf. ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 20 สัปดาห์

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Pecteilis susannae* (L.) Raf. บนอาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่องกันไปเป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Pecteilis susannae* (L.) Raf. ขนาดต่างๆ จะมีการสร้างหัว หรือ minituber ที่มีขนาด และจำนวน ที่สร้างขึ้นต่อต้นแตกต่างกันออกไป ดังภาพที่ 14.23 โดยจากการสังเกตพบว่า ต้นอ่อนขนาดเล็ก มีแนวโน้มที่จะสร้าง minituber ขนาดใหญ่ เพียง 1 หัว ในขณะที่ต้นอ่อนขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ จะพบว่ามีการสร้างหัวหรือ minituber จำนวนหลายหัว และมีหลายขนาด และมีการสร้างรากเกิดขึ้นมากกว่าต้นอ่อนขนาดเล็กอีกด้วย ทั้งนี้จากการจำแนกขนาดของหัวที่สร้างขึ้นจากต้นอ่อนทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในสภาพปลอดเชื้อโดยการวัดความกว้างและความยาวของหัวที่สร้างขึ้น พบว่า สามารถจำแนกหัวออกเป็นขนาดที่แตกต่างกันกว้างๆ ได้ 3 ขนาด คือ หัวขนาดเล็ก (เป็นหัวที่มีความยาวของหัวน้อยกว่า 3.0 ซม หรือมีน้ำหนักของหัวโดยเฉลี่ยประมาณ 0.1-0.7 กรัม) หัวขนาดกลาง (เป็นหัวที่มีความยาวของหัวตั้งแต่ 3.0-5.0 ซม หรือมีน้ำหนักของหัวโดยเฉลี่ยประมาณ 0.7-1.5 กรัม) และหัวขนาดใหญ่ (เป็นหัวที่มีความยาวของหัวมากกว่า 5.0 ซม หรือมีน้ำหนักของหัวโดยเฉลี่ยมากกว่า 1.5 กรัม) (ภาพที่ 14.24) และเมื่อพิจารณาตามน้ำหนักสดของหัวที่สร้างขึ้นพบว่า ต้นอ่อนขนาดเล็ก จะมีการสร้างหัวจำนวนน้อยกว่าต้นอ่อนขนาดใหญ่ แต่น้ำหนักขนาดของหัวที่ใหญ่ที่สุดเฉลี่ย 1 หัว ที่วัดจากน้ำหนักสดพบว่ามีแนวโน้มหนักกว่าหัวของต้นอ่อนขนาดใหญ่ สำหรับค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของหัวที่แบ่งตามขนาดแสดงดังตารางที่ 14. 3 และเมื่อเปรียบเทียบพัฒนาการและการเจริญเติบโตของหัวใต้ดินที่สร้างขึ้นจากต้นอ่อนขนาดต่างๆ ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่ามีการเจริญและพัฒนาที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 14.25



**ภาพที่ 14.23** แสดงการพัฒนาของหัวที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินอั้วตีนกบบนอาหารสูตร VW (1949) ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 24 สัปดาห์

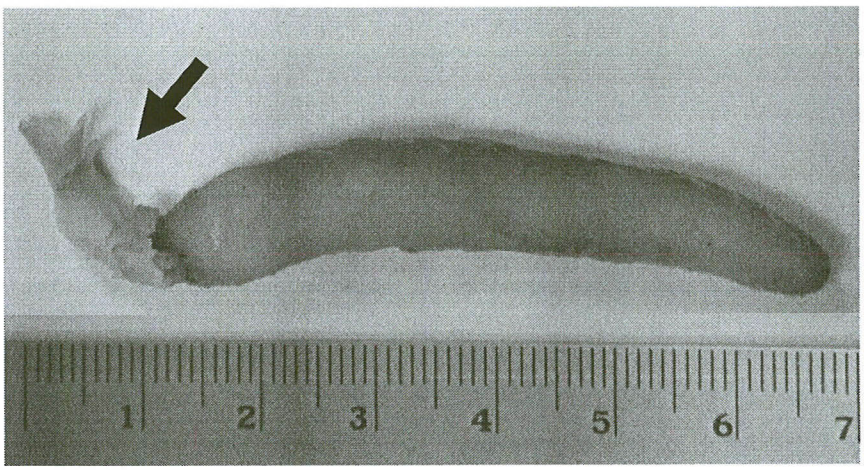


**ภาพที่ 14.24** แสดงหัวใต้ดินของกล้วยไม้อั้วตีนกบ ขนาดที่แตกต่างกัน 3 ขนาด จำแนกจากขนาดและน้ำหนักของหัว ที่สร้างขึ้นจากการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินอั้วตีนกบบนอาหารสูตร VW (1949) ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 24 สัปดาห์

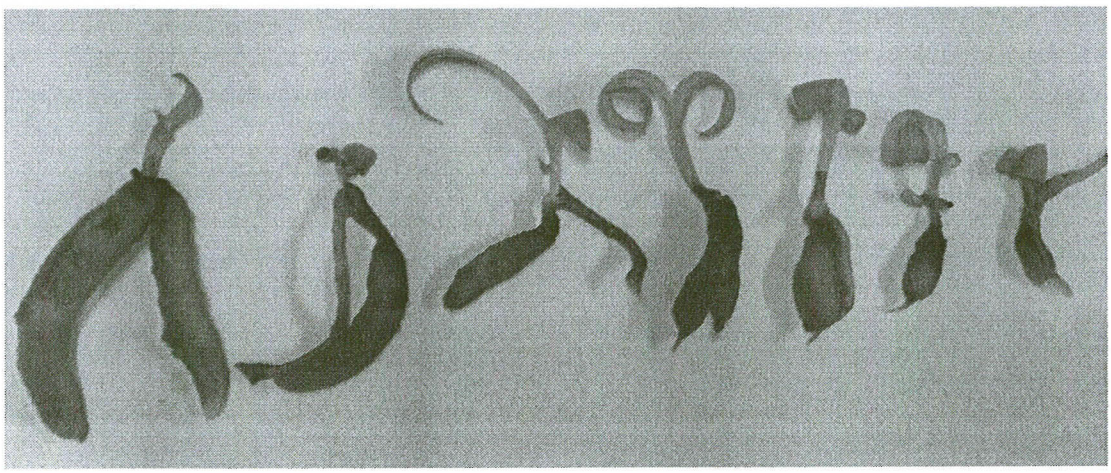
**ตารางที่ 14.3** แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหัวสดใต้ดินของกล้วยไม้อั้วตีนกบที่สร้างขึ้นจากการเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตร VW (1949) ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 24 สัปดาห์

| ขนาดของหัวสด | จำนวนหัวที่วัด | น้ำหนักหัวสด (กรัม) |
|---|---|---|
| **ขนาดเล็ก** (ความยาวของหัวน้อยกว่า 3.0 ซม หรือน้ำหนักประมาณ 0.1-0.7 กรัม) | 298 | $0.33 \pm 0.14$ |
| **ขนาดกลาง** (ความยาวของหัวตั้งแต่ 3.0-5.0 ซม หรือน้ำหนักประมาณ 0.7-1.5 กรัม) | 400 | $0.94 \pm 0.34$ |
| **ขนาดใหญ่** (ความยาวของหัวมากกว่า 5.0 ซม หรือน้ำหนักมากกว่า 1.5 กรัม) | 64 | $2.54 \pm 0.80$ |

ในการเจริญและพัฒนาการเกิดเป็นต้นใหม่ของหัวสดในต้นอ่อนขนาดต่างๆ นั้นพบว่า มีรูปแบบการเจริญและการพัฒนาโดยตาหน่อ หรือตายอด (apical buds) ตรงบริเวณส่วนปลายของหัวสะสมอาหารของต้นอ่อน สามารถงอกออกมาและจะเจริญเป็นหน่ออ่อน (shoot buds) ขนาดเล็ก มีสีขาว (ภาพที่ 14.25) ในตอนเริ่มต้น จากนั้น หน่ออ่อนจะพัฒนาเกิดเป็นต้นอ่อนที่มีใบจริงสีเขียวขนาดเล็กเกิดขึ้น โดยในช่วงแรกของการเจริญเติบโตต้นอ่อน และหัวของต้นอ่อน จะมีขนาดเล็ก จนเมื่อเวลาผ่านไป ต้นอ่อนที่พัฒนาจะเจริญเติบโตมากขึ้นพร้อมทั้งมีการสะสมอาหารในหัวจนทำให้หัวมีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ (ภาพที่ 14.26)




**ภาพที่ 14.25** แสดงการเจริญและพัฒนาโดยตาหน่อหรือตายอด (Apical buds) ตรงบริเวณส่วนปลายของหัวสะสมอาหารที่สามารถงอกออกมาและจะเจริญเป็นหน่ออ่อน (Shoot buds) ขนาดเล็กสีขาว (ลูกศรชี้)



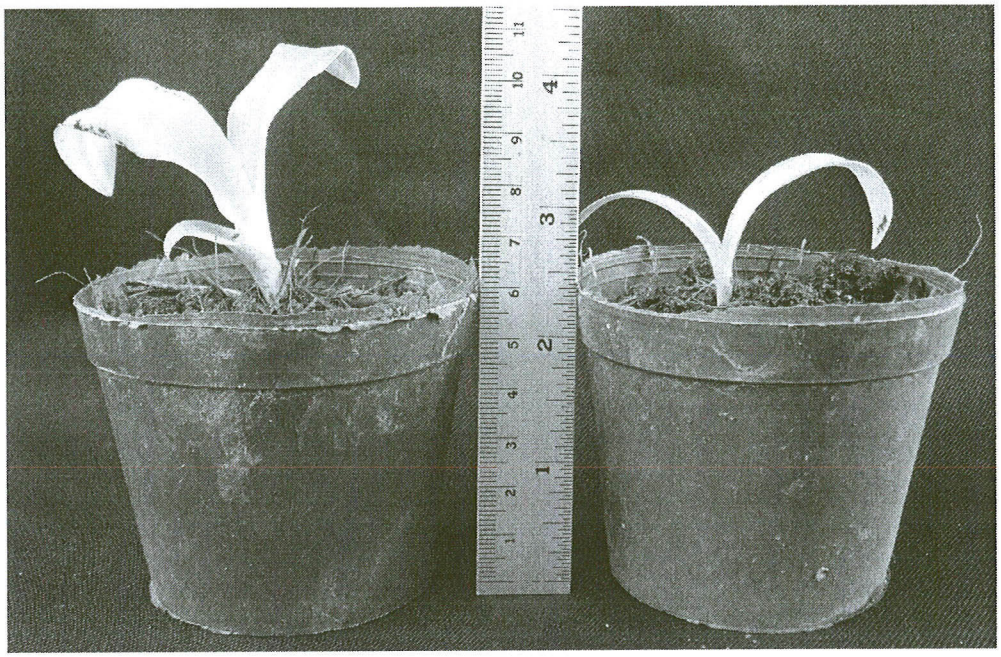
**ภาพที่ 14.26** แสดงต้นอ่อนที่พัฒนาจะเจริญเติบโตมากขึ้นพร้อมทั้งมีการสะสมอาหารในหัวจนทำให้หัวมีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ

จากการนำต้นอ่อนกล้วยไม้ดินอั้วตีนกบที่มีการสร้างหัวใต้ดิน ที่แตกต่างกัน 2 ขนาด ได้แก่ ต้นที่มีขนาดเล็ก (ต้นที่มีความสูงประมาณ 3-6 ซม และมีหัวใต้ดินขนาดเล็ก 1-2 หัว และมีหัวใต้ดินขนาดกลาง 1 หัว มีราก 2-3 ราก) และต้นขนาดใหญ่ (ต้นที่มีความสูงประมาณ 6-12 ซม และมีหัวใต้ดินขนาดกลาง 1-2 หัว หัวใต้ดินขนาดใหญ่ 1 หัว มีราก 2-3 ราก) ดังภาพที่ 14.27 ออกปลูกในดินปลูกผสมกันระหว่างทราย: ดินผสม อัตราส่วน 1:1 ทำการรดน้ำ เช้า-เย็น และปลูกเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนทั้ง 2 ขนาด ที่ย้ายออกปลูก มีการเจริญเติบโตและมีการพัฒนา และมีการสร้างใบ และราก เพิ่มมากขึ้น รวมทั้งต้นอ่อนมีความสูงเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 14.4 และภาพที่ 14.28)

**ภาพที่ 14.27** ต้นอ่อนกล้วยไม้อั้วตีนกบ ขนาดใหญ่ (ซ้ายมือ) และขนาดเล็ก (ขวามือ) ที่ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ

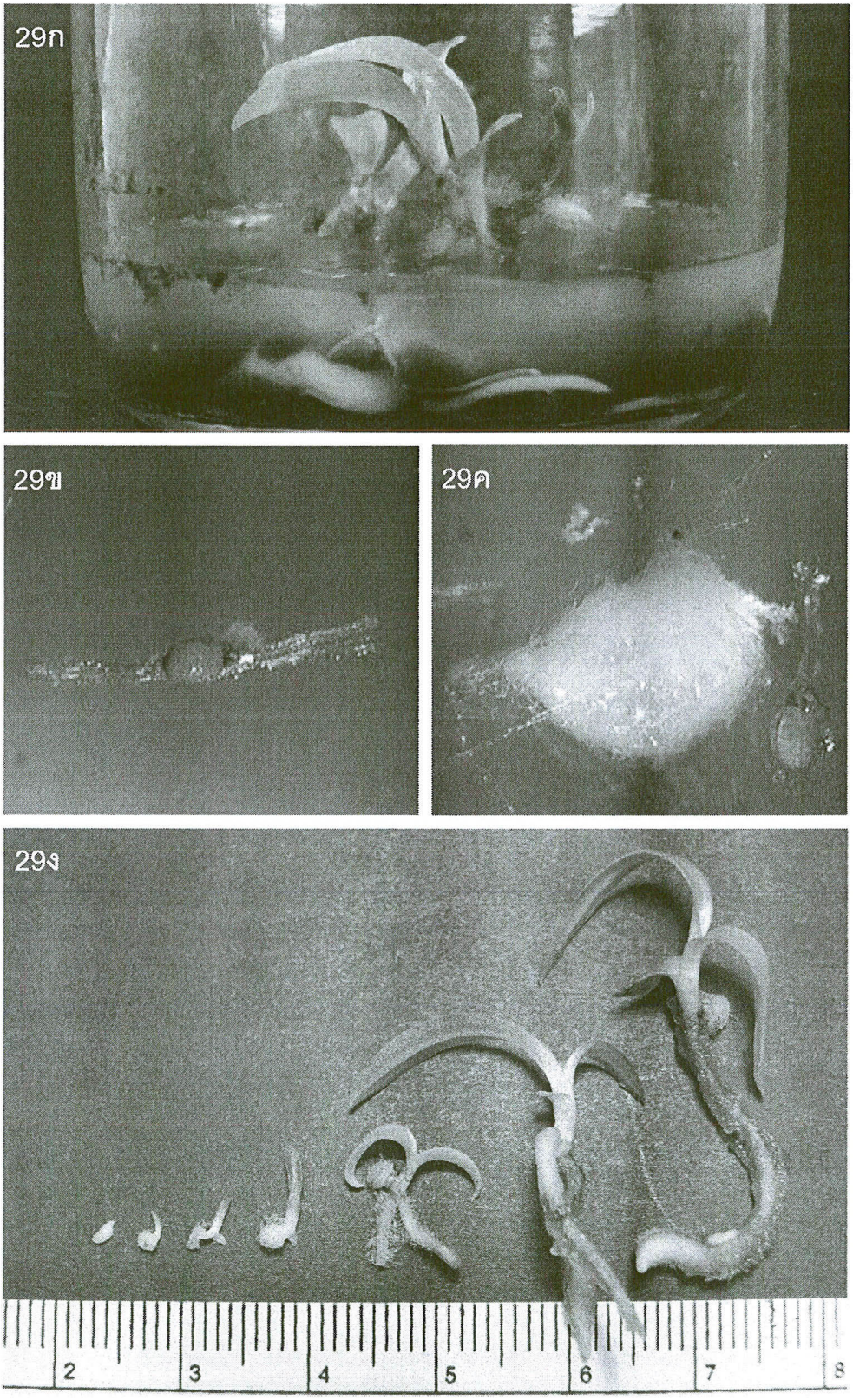
**ตารางที่ 14.4** แสดงค่าการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้อั้วตีนกบขนาดที่แตกต่างกัน 2 ขนาดที่ย้ายปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 6 สัปดาห์

| ขนาดของต้นอ่อนที่ย้ายปลูก | จำนวนหัวต่อต้น | จำนวนใบต่อต้น | จำนวนรากต่อต้น | ขนาดของหัวเฉลี่ย (ซม) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | กว้าง | ยาว |
| **ต้นขนาดเล็ก** (ความสูง~3-6 cm) | 2.1 ± 1.21 | 2.5 ± 0.74 | 6.1 ± 1.35 | 0.64 ± 0.16 | 2.72 ± 1.10 |
| **ต้นขนาดใหญ่** (ความสูง~6-12 cm) | 2.1 ± 1.70 | 2.9 ± 1.64 | 7.5 ± 3.53 | 0.71 ± 0.20 | 3.27 ± 1.59 |



**ภาพที่ 14.28** แสดงการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้ดินอั้วตีนกบที่ปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ซ้ายมือเป็นต้นอ่อนขนาดใหญ่ และขวามือเป็นต้นอ่อนขนาดเล็ก)

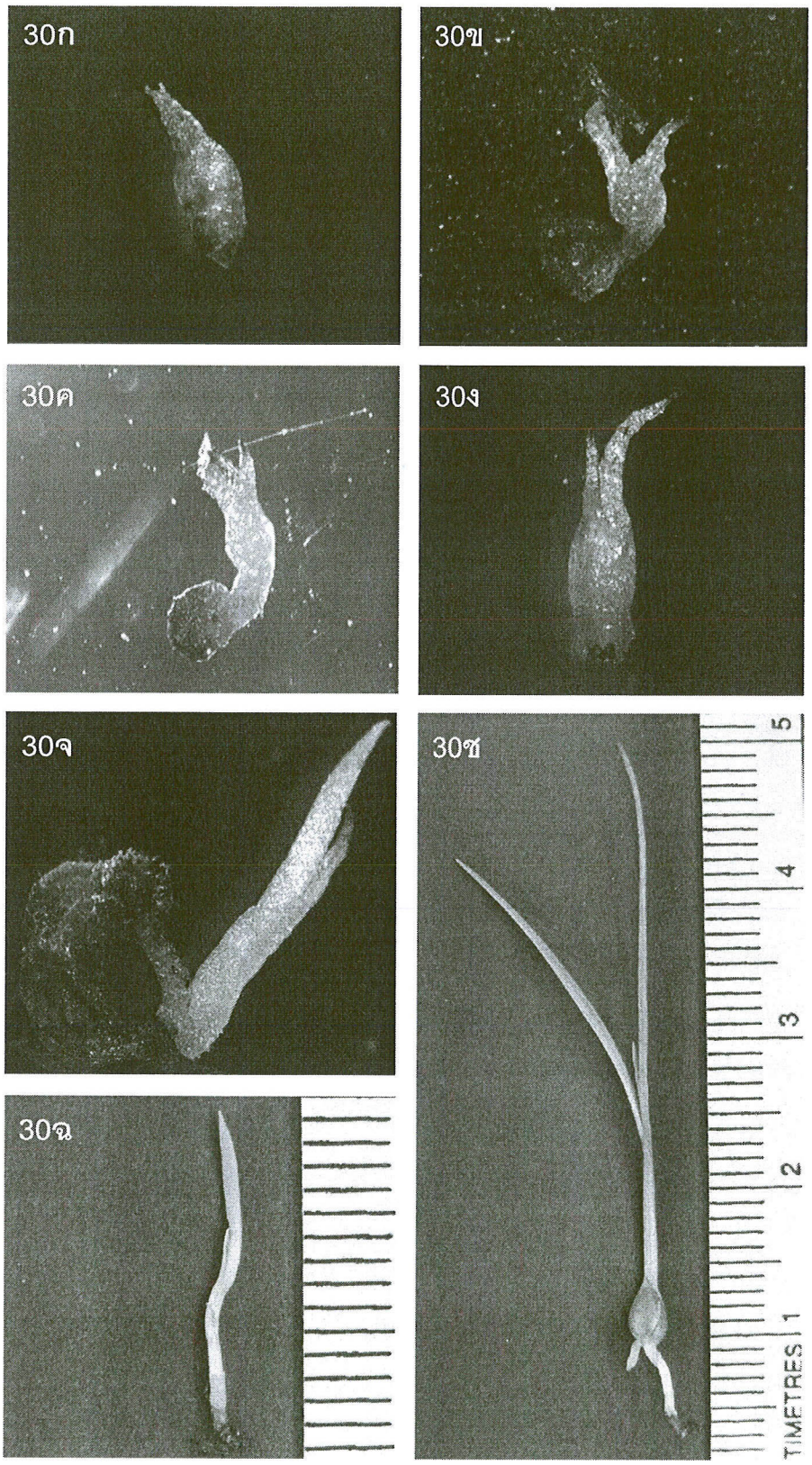
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



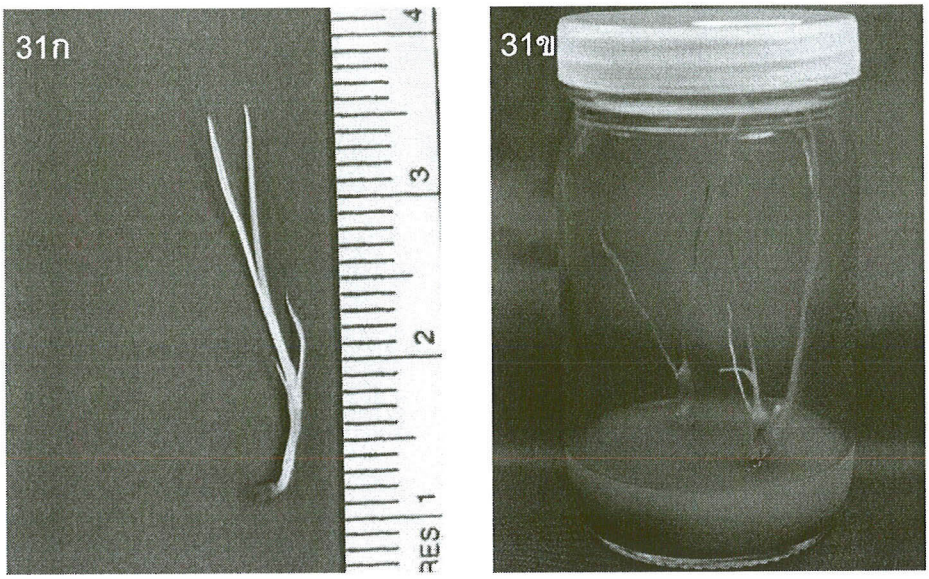

**ภาพที่ 14.29(ก-ง)** แสดงระยะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินอั้วหูยาว *Habenaria hosseusii* Schltr. ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 20 สัปดาห์

และเมื่อนำเมล็ดกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ที่ได้จากฝักที่มีอายุหลังการผสมประมาณ 30 วันมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 ml/l น้ำตาล 20 g/l น้ำต้มมันฝั่ง 50 g/l และผงวุ้น 7.5 g/l วางไว้ให้ได้รับแสงความเข้ม 40 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ โดยได้รับแสงระยะเวลา 12 ชั่วโมงสลับกับช่วงมืด 12 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ดมีอัตราการงอกคิดเป็น 100 % โดยลักษณะการพัฒนาของเมล็ดนั้น เอ็มบริโอจะพัฒนาเป็นก้อนกลมปลายแหลม ที่เรียกว่า โปรโตคอร์ม (protocorm) จากนั้นบริเวณปลายยอดจะยืดยาวออกเล็กน้อย (ประมาณ 0.5 มิลลิเมตร) ต่อมาปลายยอดจะมีการโค้งงอขึ้น และพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ มีใบเกิดขึ้น ซึ่งต่อมาบริเวณที่เกิดการโค้งงอนั้นจะพัฒนาเป็นจุดกำเนิดของหัวย่อยแบบหัวเผือก (cormlet) และบริเวณดังกล่าวจะเป็นจุดเกิดของรากด้วยเช่นกัน จากนั้นต้นอ่อนจะพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ต่อไป (ภาพที่ 14.30(ก-ช))

และจากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. โดยการนำชิ้นส่วนต้นอ่อนที่มีความสูงประมาณ 2 เซนติเมตร มีใบ 2 ใบ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ที่ดัดแปลงโดยเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5 1.0 และ 2.0 mg/l ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5 1.0 และ 2.0 mg/l วางไว้ให้ได้รับแสงความเข้ม 40 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ โดยได้รับแสงระยะเวลา 12 ชั่วโมงสลับกับช่วงมืด 12 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกผลการทดลอง พบว่า ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงมีการตอบสนองต่ออาหารสูตรต่างๆ ที่แตกต่างกันไป กล่าวคือ เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนต้นอ่อนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ต้นอ่อนเริ่มมีการเกิดใบใหม่ขึ้น ส่วนใบเก่านั้นจะเริ่มเหี่ยวแห้งจนกลายเป็นสีน้ำตาลอ่อน นอกจากนี้ต้นอ่อนยังมีการแตกรากใหม่ขึ้น หลังจากนั้นชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างๆ มีการเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ โดยมีความสูงต้นเพิ่มมากขึ้น มีการแตกใบใหม่เกิดขึ้นแทนเก่า มีรากเกิดขึ้น 1-4 รากต่อต้น และหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่ำ (0.1-0.5 mg/l) มีการเจริญเติบโตดี มีความยาวยอด จำนวนยอดใหม่ และลำต้นสมบูรณ์ดีกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นสูง (1.0-2.0 mg/l) และหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์ ชิ้นส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหาร VW ทุกสูตร บริเวณโคนต้นมีการพองบวมเกิดขึ้นลักษณะเป็นก้อนกลมคล้ายหัวเผือก เรียกว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.2-0.4 มิลลิเมตร โดยทุกสูตรอาหารขนาดของ cormlet ที่เกิดขึ้นมีขนาดใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 14.31(ก-ข))

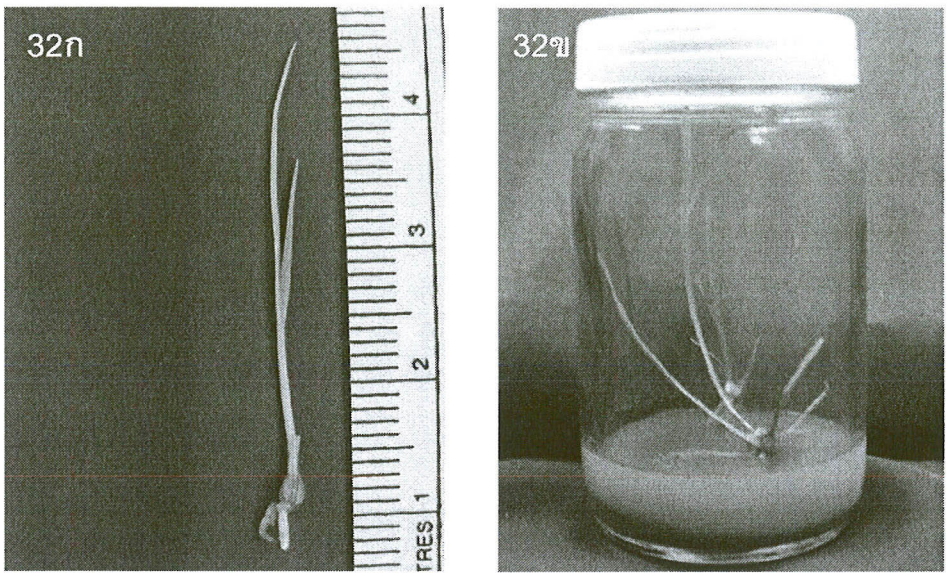



**ภาพที่ 14.30(ก-ช)** แสดงระยะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 12 สัปดาห์



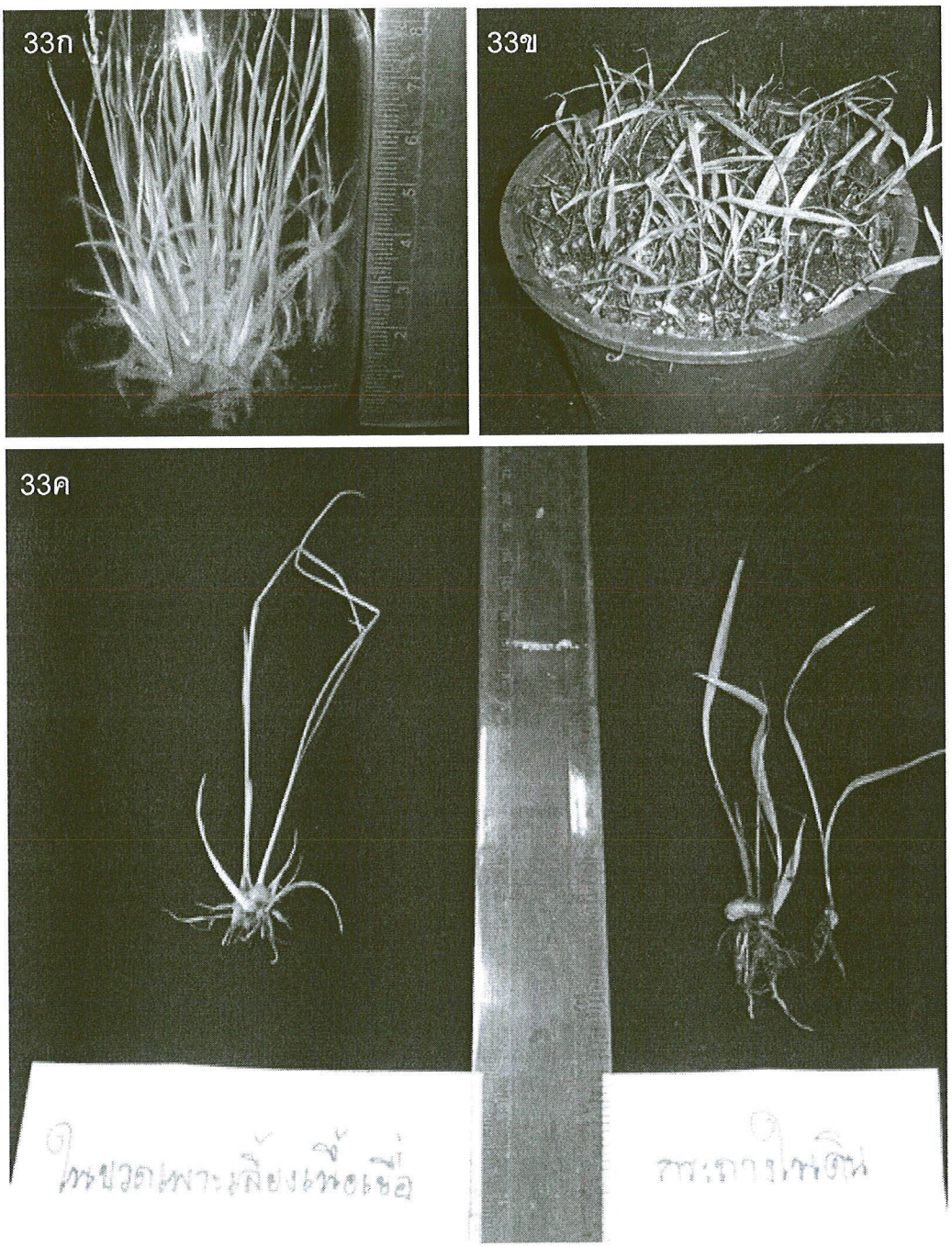

**ภาพที่ 14.31(ก-ข)** ลักษณะของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Spathoglottis eburnea* Gagnep. เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 12 สัปดาห์

และจากการทดลองนำชิ้นส่วนต้นอ่อนที่มีความสูงเฉลี่ยตั้งแต่ 3-5 เซนติเมตร และทำการตัดรากออกทั้งหมด แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน คือ NAA ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/l เพื่อศึกษาการตอบสนองของต้นอ่อนต่อการเกิดรากใหม่ พบว่า ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ มีการตอบสนองแตกต่างกัน คือ ชิ้นส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้นต่ำมีการเจริญเติบโตที่ดี ลำต้นสูง มีการเกิดยอดใหม่ขึ้น แต่ทั้งนี้อัตราการเกิดต้นใหม่ถือว่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ไม่เติมฮอร์โมน นอกจากนี้จากการสังเกตพบว่า อัตราการเกิดรากใหม่ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก จำนวนรากโดยประมาณ 2-3 รากต่อต้นเท่านั้น นอกจากนี้ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงที่บริเวณโคนต้นยังมีการเกิดของหัวกลม ลักษณะแบบหัวเผือกขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร) เรียกว่า หัวย่อย (cormlet) ซึ่งต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ จะมีหัวย่อยเกิดขึ้นเหมือนกัน (ภาพที่ 14.32(ก-ข))




**ภาพที่ 14.32(ก-ข)** ลักษณะของต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมฮอร์โมน NAA เป็นเวลา 12 สัปดาห์

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ที่มีความสูงเฉลี่ยประมาณ 3-5 เซนติเมตร บนอาหารสูตร VW ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 16 สัปดาห์ ได้ต้นที่มีความสูงเฉลี่ย 10-15 เซนติเมตร มีรากประมาณ 3-5 รากต่อต้น มีใบ 1-2 ใบ และที่โคนต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงมีหัวย่อย(cormlet) เกิดขึ้น ลักษณะหัวแบบหัวเผือก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร เมื่อนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก พบว่า ต้นอ่อนที่ปลูกในวัสดุปลูกดินในกระถางพลาสติกนั้น ในช่วงสัปดาห์แรกมีอาการเหี่ยวบ้างเล็กน้อย ปลายใบมีอาการเหี่ยวและแห้ง หลังจากนั้นต้นอ่อนเริ่มปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ดี ใบแผ่ขยายและยาวมากขึ้น สีเขียว และหลังจากนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนมีอัตราการรอดชีวิตที่ดี ลำต้นสมบูรณ์แข็งแรง มีการแตกรากใหม่มากขึ้น หัวย่อย (cormlet) บริเวณโคนต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีการพัฒนาต่อไปและมีขนาดใหญ่ขึ้น ลักษณะหัวแบบหัวเผือก (corm) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4-8 มิลลิเมตร ซึ่งหัวมีขนาดใหญ่กว่าเดิม 2 เท่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากต้นอ่อนที่นำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกนั้น จะต้องมีการสะสมอาหารไว้เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต เพราะสภาพแวดล้อมภายนอกมีการเปลี่ยนแปลงทั้งสภาพอากาศ แสง ความชื้น และสารอาหารในดิน จึงอาจเป็นเหตุให้ต้นกล้วยไม้บานดึกต้องมีการสะสมอาหารไว้ที่บริเวณหัวเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารสำรองเมื่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม ซึ่งแตกต่างจากหัวย่อย (cormlet) ที่เกิดขึ้นจากต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารในสภาพปลอดเชื้อ ที่ต้นอ่อนเจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่มีธาตุอาหารที่สมบูรณ์ ต้นอ่อนจึงไม่มีการสะสมอาหารไว้ที่หัว จึงทำให้หัวมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 14.33(ก-ค))




**ภาพที่ 14.33(ก-ค)** ลักษณะต้นและหัวแบบหัวเผือก (cormlet) ของกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis eburnea* Gagnep. ภายหลังออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก เป็นเวลา 10 สัปดาห์

## สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษาวิจัย

จากการสำรวจความหลากหลายของกล้วยไม้ดินบริเวณมหาวิทยาลัยนเรศวรพะเยา ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนสิงหาคม 2552 และทำการศึกษาจัดจำแนกตามระบบของ Dressler (1993) พบกล้วยไม้ทั้งสิ้น 8 สกุล 21 ชนิด เป็นวงศ์ย่อย Orchidaceae ทั้งสิ้น 3 สกุล 11 ชนิด และเป็นวงศ์ย่อย Epidendroideae ทั้งสิ้น 5 สกุล 10 ชนิด โดยในการศึกษาครั้งนี้พบกล้วยไม้ดินเพิ่มขึ้นอีกถึง 16 ชนิด ซึ่งในรายงานก่อนหน้านี้พบกล้วยไม้ดินจำนวน 3 สกุล 5 ชนิด แบ่งเป็นวงศ์ย่อย Orchidoideae จำนวน 2 สกุล 4 ชนิด ได้แก่ *Habenaria chlorina*, *Habenaria dentata*, *Habenaria hosseusii* และ *Pecteilis susannae* และวงศ์ Epidendroideae จำนวน 1 สกุล 1 ชนิด คือ *Spathoglottis eburnea* (นิรมล, 2551) ในการสำรวจครั้งนี้พบกล้วยไม้สกุล *Habenaria* มีจำนวนชนิดมากที่สุดคือ 9 ชนิด แสดงให้เห็นว่าพื้นที่ที่ทำการศึกษามีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต แต่อย่างไรก็ตามในการสำรวจพบว่ากล้วยไม้ดินสกุลนี้จะมีแนวโน้มที่มีปริมาณลดลงเนื่องจากดอกและใบของกล้วยไม้ดินเหล่านี้ถูกแมลงกัดกินเสียหายเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะ *Habenaria dentata* ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของพรวิวรรณ (2550) ที่ทำการสำรวจกล้วยไม้ดินบริเวณจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน กล้วยไม้ดิน *Habenaria humistrata* พบว่ามีจำนวนประชากรน้อยที่สุดในการสำรวจครั้งนี้พบประชากรไม่ถึง 10 ต้น ในการสำรวจพบ *Pecteilis susannae* ซึ่งเป็นกล้วยไม้ดินที่มีสถานะเป็นชนิดที่พบได้ยาก (rare species) (Santisuk และคณะ, 2006) และกล้วยไม้ชนิดส่วนใหญ่จะพบว่าส่วนของยอดที่จะพัฒนาไปเป็นช่อดอกนั้นกลับแห้งเหี่ยว กล้วยไม้ดินที่พบกระจายตัวในทุกพื้นที่คือ *Liparis wightiana* ซึ่งมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในทุกพื้นที่ และมีจำนวนประชากรที่ค่อนข้างมาก จากการสำรวจพบว่าประชากรกล้วยไม้ชนิดนี้ส่วนใหญ่จะติดผลลักษณะพื้นที่ที่พบกล้วยไม้ชนิดนี้จะมีชั้นหน้าดินที่บางและมีหินเป็นจำนวนมาก ในการสำรวจนี้มีระยะเวลาในการสำรวจเพียงฤดูเดียวเท่านั้น ซึ่งกล้วยไม้ดินบางชนิดอาจมีการพักตัวที่ยาวนาน และจะปรากฏให้เห็นเพียงระยะเวลาสั้นๆ เท่านั้น คาดว่าหากดำเนินการสำรวจอย่างต่อเนื่องอาจพบจำนวนชนิดของกล้วยไม้ดินเพิ่มขึ้นอีก

และจากการศึกษากระบวนการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินเอื้องตีนกบ (*Pecteilis susannae* (L.) Raf.) นางอั้วหูยาว (*Habenaria hosseusii* Schltr.) และบานดึก (*Spathoglottis eburnea* Gagnep.) ในสภาพปลอดเชื้อแบบ asymbiotic germination พบว่า เมล็ดกล้วยไม้เอื้องตีนกบ และอั้วหูยาวใช้เวลาในการงอกนาน จะเริ่มมีการงอกเมื่อเวลาผ่านไปอย่างน้อย 20 สัปดาห์ จึงจะมีการพัฒนาเกิดเป็นโปรโตคอร์ม จึงทำให้การเจริญเติบโตและพัฒนากลายเป็นต้นอ่อนช้าตามไปด้วย ในขณะที่กล้วยไม้ดินบานดึกนั้น ใช้ระยะเวลาในการงอกสั้นกว่าและมีการเกิดโปรโตคอร์มได้รวดเร็วกว่า อย่างไรก็ตาม จากการสังเกตพบว่าอัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาจากโปรโตคอร์มกลายเป็นต้นอ่อนของบานดึกนั้น กลับช้ากว่าเอื้องตีนกบ และอั้วหูยาว รวมไปถึงความสามารถในการแตกเป็นต้นใหม่ อีกด้วย และจากการทดลองเลี้ยงกล้วยไม้ดินบานดึกบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ NAA และเลี้ยงบนอาหารสูตร

ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียว พบว่า กล้วยไม้ดินบานดึก มีแนวโน้มไม่ค่อยตอบสนองต่อฮอร์โมนที่เติมลงในอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่เติมฮอร์โมนใดๆ แต่เมื่อย้ายกล้วยไม้ดินบานดึกปลูกในสภาพแวดล้อมปกติ กลับพบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ดินดังกล่าวมีการเจริญเติบโตและแตกกอดี รวมไปถึงมีการพัฒนาการสร้างส่วนของหัวที่เรียกว่า corm เพื่อสะสมอาหารได้ดี และมีขนาดโดยเฉลี่ยใหญ่กว่า cormlet ของต้นอ่อนอายุเท่ากัน แต่ยังคงเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เมื่อสามารถชักนำให้เมล็ดกล้วยไม้ดินบานดึกเจริญและพัฒนาเกิดเป็นต้นอ่อนได้จำนวนมากได้แล้ว สามารถย้ายต้นอ่อนที่มีขนาดเหมาะสม ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกได้โดยตรง โดยไม่ต้องรอให้มีการสร้างส่วนสะสมอาหารก่อนย้ายออกปลูก เนื่องจากต้นที่ย้ายออกปลูกนั้น สามารถสร้างส่วนสะสมอาหารที่เรียกว่า corm ได้ดีกว่าต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อนั่นเอง อันจะเป็นแนวทางในการขยายพันธุ์เพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์กล้วยไม้ดินบานดึกที่ปัจจุบัน อยู่ในสถานภาพที่มีแนวโน้มเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องมาจากถูกคุกคามจากการเปลี่ยนแปลงของนิเวศ วิทยาสังคมป่าในพื้นที่ที่ดำเนินการสำรวจ และการเข้าทำลายป่าเพื่อเปิดพื้นที่สร้างอาคาร และสิ่งปลูกสร้างต่างๆ สำหรับการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินเอื้องตีนกบ (*Pecteilis susannae* (L.) Raf.) และนางอั้วหูยาว (*Habenaria hosseusii* Schltr.) จนโปรโตคอร์มเจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนแล้วนั้น พบว่า ต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินทั้งสองดังกล่าว ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างนาน เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยไม้ดินบานดึก (*Spathoglottis eburnea* Gagnep.) อาจเป็นไปได้ที่ว่า เอื้องตีนกบ และอั้วหูยาว ที่พัฒนาขึ้นในสภาพปลอดเชื้อมีการสร้างส่วนสะสมอาหารน้อย และมีขนาดเล็ก และกลไกบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง สะสมอาหารโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์จำพวกเชื้อราไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza) ที่จำเพาะกับชนิดของกล้วยไม้ดินชนิดนั้นๆ ไม่เกิดขึ้นในต้นอ่อนในสภาพหลอดเชื้อจึงทำให้กระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนา รวมไปถึงการสร้างและสะสมอาหารเพื่อการเจริญเติบโตไม่สมบูรณ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับเอื้องตีนกบ และอั้วหูยาว ที่เจริญเติบโตในธรรมชาติ ซึ่งตามปกติจะเจริญขึ้นมาจากส่วนสะสมอาหารที่มีขนาดใหญ่ซึ่งมีอาหารสะสมที่สมบูรณ์ พร้อมที่จะถูกนำมาใช้เพื่อการเจริญในรอบฤดูกาลใหม่ จึงทำให้สามารถพัฒนาเกิดเป็นต้นปกติที่สมบูรณ์และมีขนาดใหญ่ได้ ใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ค่อนข้างนาน

## เอกสารอ้างอิง


ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: อัมรินทร์ พริ้นติ้งแอนพับลิชชิ่ง จำกัด มหาชน).

จิตราพรรณ พิลึก. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. กรุงเทพฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชนินท์ โถรัตน์. 2542. กล้วยไม้ไทยความหลากหลายที่ยังรอการค้นพบ. สารคดี (170) น. 109 – 112.

นิรมล รังสยาธร. 2551. การศึกษาความหลากหลาย การกระจายและนิเวศวิทยาของกล้วยไม้: ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พื้นที่มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พะเยา ปีที่ 1, รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. หน้า 333-345.

พรวิวรรณ โพธาสินธุ์. 2550. ความหลากหลายทางชีวภาพและนิเวศวิทยาของกล้วยไม้ดินบางชนิดในป่าเต็งรังและป่าเบญจพรรณของจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ไพบูลย์ ไพรีพ่ายฤทธิ์. 2521. ตำรากล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มอ่าน. อากรการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 432 น.

ระพี สาคริก. 2517. การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย. ชวนพิมพ์กรุงเทพฯ. 865 หน้า.

สลิล สิทธิสัจธรรม และนฤมล กฤษณชาญดี. 2545. กล้วยไม้. กรุงเทพฯ: บริษัทวิริยะธุรกิจ จำกัด.

สมราน สุดดี. 2538. การศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้ดอก บริเวณวนอุทยานป่าหินงาม จังหวัดชัยภูมิ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เสวียน เปรมประสิทธิ์ สุภาพร พงศ์ธรพฤกษ์ และเกศรา บางสารี. 2551. การศึกษาความหลากหลายและโครงสร้างของสังคมพืชป่าเต็งรัง : ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พื้นที่มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พะเยา ปีที่ 1, รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. หน้า 23-76.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้ไทย. กรุงเทพฯ: อัมรินทร์ พริ้นติ้งแอนพับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน).

องค์การสวนพฤกษศาสตร์. 2543. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 6 กล้วยไม้ไทย กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์.

Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. Botanical review 33(1): 1–97.

Bhadra, S.K. and Hossain, M.M. 2003. In vitro germination and micropropagation of *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr., an endangered orchid species. Plant Tissue Cult. 13(2): 165-171.

Chang, C. and Chang, W.C. 1998. Plant regeneration from callus culture of *Cymbidium ensifolium* var. misericors. Plant Cell rep. 17: 251-255.

Chang, C. and Chang, W.C. 2000. Micropropagation of *Cymbidium ensifolium* var. *misericors* through callus-derived rhizomes. In Vitro Cell. and Dev. Biol.-Plant. 36(6): 517-520.

Chen, J.T. and Chang, W.C. 2004. TIBA affects the induction of direct somatic embryogenesis from leaf explants of *Oncidium*. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 79: 315-320.

Chou, L.C. and Chang, D.C.N. 2004. Asymbiotic and symbiotic seed germination of *Anoectochilus formosanus* and *Haemaria discolor* and their F1 hybrids. Bot. Bull. Acad. Sin. 45: 143-147.

Churchill, M.E., Ball, E.A. and Arditti, J. 1972. Tissue culture of orchids-II. Methods for root tips – orchid notes from U.C.I. Amer. Orchid Soc. Bull. 41: 726-730.

da Silva, J.A.T., Giang D.T.T. and Tanaka, M. 2005. Effective acclimatization of *Epidendrum in vitro* using a novel micropropagation vessel. Biotechnol. 4(3): 214-220.

Datta, K.B. Kanjilal, B. and DeSarker, D. 1999. Artificial seed technology: development of a protocol in *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. an endangered orchid. Current Sci. 76: 1142-1145.

Dressler, R.L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Dioscorides Press. Portland-Oregon. 312 pp.

Hoque, M.I., Roy, A.R., Sarker, R.H. and M.M. Haque. 1994. Micropropagation of *Cymbidium bicolor* through in vitro culture. Plant Tissue Culture 4(1): 45 – 51.

Ishii, Y. Takamura, T. Goi, M. and Tanaka, M. 1998. Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis*. Plant Cell Rep. 17: 446-450.

Kauth, P.J. Vendrame, W.A. and Kane, M.E. 2006. In vitro seed culture and seedling development of *Calopogon tubersus*. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 85: 91-102.

Knudson, L. 1922. Nonsymbiosis germination of orchid seeds. *cited* by J. Arditti (ed.). Factors affecting the germination of orchid seeds. Botanical review 33(1): 1-97.

Lee, Y. and Lee, N. 2003. Plant regeneration from protocorm-derived callus of *Cypripedium formosanum*. In Vitro Cell. and Dev. Biol.-Plant. 39: 475-479.

Malabadi, R.B., Mulgund, G.S. and Nataraja, K. 2004. Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, and endangered orchid using thidiazuron. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 76: 289-293.

Morel, G.M. 1960. Producing virus-free Cymbidium. Amer.Orchid Soc. Bull. 29:495-497.

Paek, K.P., Chakrabarty, D. and Hahn, E.J. 2005. Application of bioreactor systems for large scale production of horticultural and medicinal plants. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 81: 287-300.

Park, S.Y., Yeung, E.C., Chakrabarty, D. and Paek, K.Y. 2002. An efficient direct induction of protocorm-like bodies from leaf subepidermal cells of *Doritaenopsis* hybrids using thin-section culture. Plant Cell Rep. 21: 46-51.

Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers.

Roy, J. and Banerjee, N. 2002. Rhizome and shoot development during in vitro propagation of *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. Sci. Hortic. 94: 181-192.

Roy, J. and Banergee, N. 2003. Induction of callus and plant regeneration from shoot-tip explants of *Dendrobium fimbriatum* Lindl. var. *oculatum* Hk.f. Scientia Hortic. 97: 333-340.

Santisuk, T., Chayamarit, K., Pooma, P. and Suddee, S. 2006. Thailand red data : plants. Office of natural resources and environmental policy and planning, Bangkok, Thailand. 256 p.

Schuiteman, A. and E.de Vogel. 2000. Orchid genera of Thailand, Laos, Cambodia, and Vietnam. Grafische Vormgeving Kanters, Sliedrecht. 118 p.

Sheelavantmath, S.S. Murthy, H.N. Pyati, A.N. Ashok Kumar, H.G. and Ravishankar, B.V. 2000. In vitro propagation of the endangered orchid, *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. through rhizome section culture. 2000. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 60: 151-154.

Shimada, T. Otani, M. and Morii, M. 2001, *In Vitro* Propagation and Recovery of a Habitat of *Habenaria radiata* (Orchidaceae). Acta Hortic. 560: 481-484.

Shimura, H. and Koda, Y. 2004. Micropropagation of *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* through protocorm-like bodies derived from mature seeds. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 78: 273-276.

Soontornchainaksaeng, P. Chaicharoen, S. Sirijuntarut, M. and Kruatrachue, M. 2001. In vitro Studies on the Effect of Light Intensity on Plant Growth of *Phaius tankervilliae* (Banks ex L' Herit.) Bl. and *Vanda coerulea* Griff. ScienceAsia 27: 233-237.

Stewart, S.L. and Kane, M.E. 2006. A symbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Habenaria macroceratitis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 86(2): 147-158.

Szlachetko, D.L. 1995. Systema Orchidalium. Fragmenta Floristica et Geobotanica Supplement 3: 1 – 137.

Takahashi, K. Ogiwara, I. and Hadoka, N. 2000. Seed germination of *Habenaria* (*Pecteilis*) *radiata* (Orchidaceae: Orchideae) in vitro. Lindleyana 15: 59-63.

Teng, W.L., Nicholson, L. and Teng, M.C. 1997. Micropropagation of *Spathoglottis plicata*. Plant Cell Rep. 16: 831-835.

Tokuhara, K. and Mii, M. 2003. Highly-efficient somatic embryogenesis from cell suspension cultures of *Phalaenopsis* orchids by adjusting carbohydrate sources. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 39: 635-639.

Vacin, E., and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Botanical Gazette 110: 605 – 613.

Vassa, A. and Rosenberg, V. 2004. Preservation of the rare terrestrial orchids *in vitro*. Acta Universitatis Latviensis, Biology. 676: 242-246.

Wu, I.F., Chen, J.T. and Chang, W.C. 2004. Effects of auxins and cytokinins on embryo formation from root-derived callus of *Oncidium* 'Gower Ramsey'. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 77: 107-109.

Young, P.S., Murthy, H.N. and Paek, K.P. 2000. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 63: 67-72.