

## เทคโนโลยีการขยายพันธุ์รองเท้านารีฟาหอย *Paphiopedilum bellatulum* (Rchb.f.)

### Propagation Technology of *Paphiopedilum bellatulum*

สุปัน	ไม้ตัดจันทร์ <sup>1/</sup>	วิภาดา	ทองทักษิณ <sup>2/</sup>
สุภาภรณ์	สาขาติ <sup>2/</sup>	อำนาจ	อรรดลิ่งรอง <sup>2/</sup>
Supan	Maidatchan <sup>1/</sup>	Wipada	Tongthaksin <sup>2/</sup>
Supaporn	Sachart <sup>2/</sup>	Amnuai	Adthalungrong <sup>2/</sup>

#### ABSTRACT

Propagation Technology of *Paphiopedilum bellatulum* with 2 experiments were studied at Chiangrai Horticultural Research Centre during 2005 – 2009. The first experiment was aimed to find out the suitable media for seed germination and development of *Paphiopedilum bellatulum*. The second experiment was studied on the suitable media for seedling development. It was found that the best media for seed germination was 1/2 MS added with 2 mg/l of BA , 0.5 mg/l of NAA and 2 g of peptone while 1/2 Jittrapan II media gave the second rank. Round-white protocorms sized 1.0 mm were exposed to 1,000 lux of light for 2-3 weeks. The white protocorms then enlarged and changed to green colour and developed meristem. The green protocorms were transferred to the same media and after 3 - 4 weeks rearing 1-2 leaves were developed. Those protocorms were transferred to 2 media to find fit in well with the suitable media for seedling development. It was found that 2 modified media gave the same results for *Paphiopedilum bellatulum* development in terms of fresh weight, number of roots and root lengths after 6 months rearing.

**Key-words :** *Paphiopedilum*, propagation technology

#### บทคัดย่อ

วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีฟาหอย ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายระหว่างปี พ.ศ. 2548-2552 ประกอบด้วย 2 การทดลอง โดยการทดลองแรกมี

<sup>1/</sup>ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ. เมือง จ. เชียงราย 57000

Chiangrai Horticultural Research Centre, Mueang district, Chiang Rai province 57000

<sup>2/</sup> สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม. 10900

Horticulture Institute, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

วัตถุประสงค์ในการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกและพัฒนาของเมล็ดรองเท้านารีฝ้าย การทดลองที่สองศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาเป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ ผลการศึกษาพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เมล็ดงอกได้ดีที่สุดคือ สูตร 1/2 MS ที่เติม BA 2 มก./ล. NAA 0.5 มก./ล. และ peptone 2ก./ล. รองลงมาคือสูตร 1/2 จิตราพรรณ II ต่อจากนั้น ย้ายเมล็ดที่งอกเป็น โปรโตคอร์มซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนกลมสีขาวขนาด ประมาณ 1.0 มม. ให้ได้รับแสง 1,000 lux เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ โปรโตคอร์มมีการพัฒนาโดยเปลี่ยนเป็นสีเขียว พองตัวเป็นก้อนกลมใหญ่ขึ้น และเริ่มมียอดเจริญ ย้ายเนื้อเยื่อที่มียอดลงสู่อาหารสูตรเดิม หลังย้ายเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ เนื้อเยื่อเริ่มมีการพัฒนาต่อโดยมีใบจำนวน 1-2 ใบ ทำการย้ายเนื้อเยื่อเลี้ยงในอาหาร 2 สูตร คืออาหารสูตรดัดแปลงสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 พบว่าอาหารสูตรดัดแปลงทั้ง 2 สูตร มีผลทำให้ ต้นเนื้อเยื่อรองเท้านารีฝ้าย มีน้ำหนักสด จำนวนราก และความยาวรากไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**คำหลัก :** รองเท้านารี การขยายพันธุ์

### คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งกล้วยไม้เขตร้อนที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก มีกล้วยไม้สกุลต่างๆ ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทยมากกว่า 1,000 ชนิด รวมทั้งสกุลรองเท้านารีด้วย และพบกล้วยไม้รองเท้านารีพื้นเมืองเพียงสกุลเดียว คือสกุล

*Paphiopedilum* เท่าที่พบแล้วมี 17 ชนิด (อุไร, 2549) ในปัจจุบันมีการตัดไม้ทำลายป่าซึ่งเป็นแหล่งพันธุกรรมพืช รวมทั้งมีการเก็บกล้วยไม้ป่าออกมาจำหน่ายมากขึ้นทำให้กล้วยไม้มีคุณค่าหลายชนิดมีจำนวนลดลง รองเท้านารีฝ้ายเป็นรองเท้านารีที่มีการกระจายพันธุ์ในภาคเหนือของไทย ในธรรมชาติมีจำนวนน้อยมากจนใกล้สูญพันธุ์ (สลิล, 2550) วิธีขยายพันธุ์รองเท้านารีมี 2 วิธี คือการแยกหน่อโดยแยกจากต้นที่มีการเจริญเติบโตเป็นกอ แล้วนำมาแยกเป็นต้นย่อย แต่วิธีนี้ได้จำนวนต้นน้อย อีกวิธีหนึ่งคือการเพาะเมล็ด ซึ่งเมล็ดกล้วยไม้ไม่สามารถงอกได้เองเนื่องจากไม่มีอาหารสะสม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยอาหารจากภายนอกมาช่วยในการพัฒนา โดยต้องอาศัยเชื้อราตามธรรมชาติที่อยู่บริเวณรากกล้วยไม้ ซึ่งเชื้อราเหล่านี้จะงอกเส้นใยเข้าไปในเมล็ดกล้วยไม้ ในเส้นใยจะมีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ด เมล็ดจะย่อยสลายเส้นใยนำธาตุอาหารไปใช้ทำให้เมล็ดงอก แต่เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก เมื่อฝักแก่เมล็ดบางส่วนจะปลิวไปตามลม มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่ตกค้างอยู่บริเวณโคนต้นและงอกได้ (จิตราพรรณ, 2536) ทำให้ปริมาณการเพิ่มจำนวนตามธรรมชาติมีน้อย บางชนิดสูญพันธุ์เนื่องจากสภาพที่เหมาะสมต่อการงอกตามธรรมชาติเปลี่ยนแปลง ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเพิ่มปริมาณกล้วยไม้หลายชนิดที่ใกล้สูญพันธุ์ รวมทั้งกล้วยไม้รองเท้านารี แต่ยังมีประสิทธิภาพต่ำ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ ให้ความงอกไม่สม่ำเสมอ

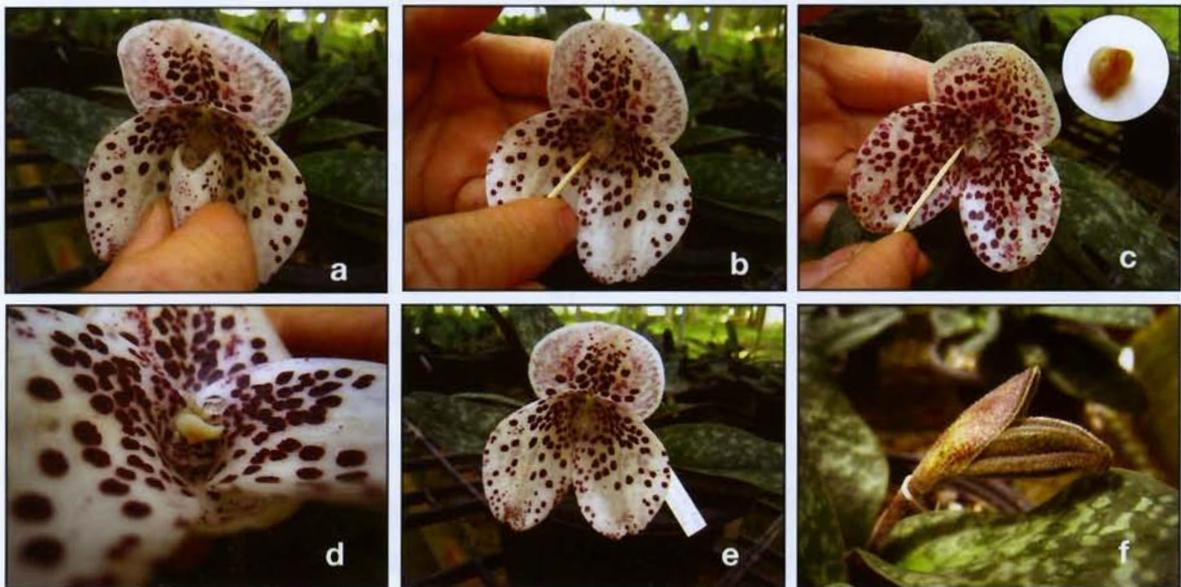
และสูตรอาหารที่ใช้ยังไม่มีที่เหมาะสมเพียงพอ จึงทำให้เมล็ดที่งอกไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตช้าหรือตายในเวลาต่อมา (วิวัฒน์, 2529) ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้โดยทั่วไปสามารถเพาะเมล็ดได้ทั้งเมล็ดอ่อนและเมล็ดแก่ ฝักอ่อนที่นำมาเพาะได้นั้นควรมีอายุฝักไม่ต่ำกว่า 1 ใน 3 ของฝักแก่ การงอกของเมล็ดจากฝักอ่อนที่อ่อนมากๆ เช่น หลังปฏิสนธิ 15 -30 วัน เมล็ดอ่อนจะงอกได้น้อยกว่าเมล็ดจากฝักที่มีอายุ 3 ใน 4 ของฝักแก่ (จิตราพรรณ, 2536) Northen (1962) รายงานว่ากล้วยไม้รองเท้านารีมีอายุฝักแก่อยู่ในช่วง 36 - 44 สัปดาห์ และเกษนันท์ (2538) พบว่าอายุฝักที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดรองเท้านารีฟาทอยคือ อายุตั้งแต่ 18- 28 สัปดาห์ ซึ่งเป็นช่วงที่มีอายุฝักประมาณ 3 ใน 4 ของฝักแก่ นอกจากนี้ถ้ารอจนกระทั่งฝักแก่ ฝักจะแห้ง

และอาจปริแตกซึ่งเป็นอุปสรรคในการฆ่าเชื้อที่ฝักก่อนเพาะในสภาพปลอดเชื้อ ในการทดลองนี้ได้ทำการทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ดรองเท้านารีฟาทอย เพื่อใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์ อนุรักษ์พันธุ์หรือนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่น เช่น การปรับปรุงพันธุ์ เป็นต้น

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### 1. รวบรวมต้นพันธุ์รองเท้านารีฟาทอยจากแหล่งปลูกต่างๆ ในเขตภาคเหนือ

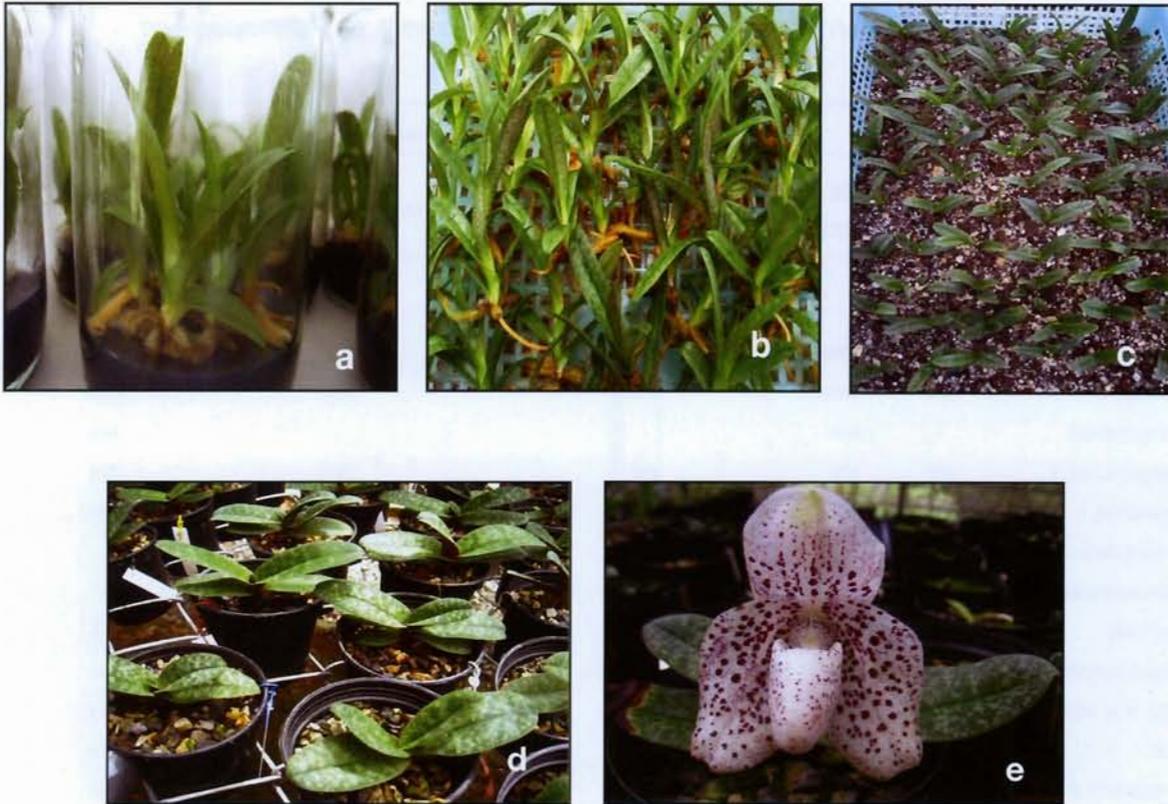
นำมาปลูกในสภาพโรงเรือน เมื่อต้นออกดอกทำการผสมเกสร (ผสมตัวเอง) โดยเด็ดกระเปาะของต้นแม่พันธุ์ออก ใช้ไม้จิ้มฟันเชี้ยก้อนเกสรตัวผู้วางลงบนยอดเกสรตัวเมีย กดเบาๆ เพื่อให้ก้อนเกสรตัวผู้ติดสนิท ติดป้ายระบุวัน เดือน ปี ที่ผสมเกสรไว้ที่ก้านดอก (Figure 1)



- a) Remove labellum (lip) of parental female
- c) Collect anther from parental male
- e) Label parental crossing data and date

- b) Remove anther from parental female
- d) Deposit pollen mass on the stigma
- f) Capsule of *Paphiopedilum*

**Figure 1.** Pollination process of *Paphiopedilum*



- a) Seedlings ready for rearing
- b) Agar washing and setting on basket
- c) Rearing on basket for 6 months
- d) Growing on 2 inches pots for 6 months
- e) Transferring to 4 inches pots

**Figure 2.** Rearing procedures of *Paphiopedilum* seedlings from tissue culture

## 2. เพาะเมล็ดรองเท้านารีฟาหอยโดยการนำฝัก ที่ผสมได้จากข้อ 1

มาทดสอบสูตรอาหาร (อายุฝักประมาณ 28 สัปดาห์หลังการผสมเกสร) แบ่งเป็น 2 การทดลอง

2.1 เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ด

วางแผนการทดลองแบบ CRD 15 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ประกอบด้วยอาหารสำหรับเพาะเมล็ดจำนวน 3 สูตรได้แก่ 1/2 จิตราพรรณ II 1/2 Murashige และ Skoog(1962) และ MS ที่เติม BA 2 มก./ล. NAA 0.5 มก./ล. และ peptone 2 ก./ล.

**Table 1.** Media for seed germination and seedling development of *Paphiopedilum*

Component	Amount per litre of culture media (mg/l)				
	VW (1949)	MS (1962)	Jittrapan II	Modified media 1	Modified media 2
<b>Macronutrients</b>					
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	200	-	200	200	-
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	-	1,650	-	-	1,650
KNO <sub>3</sub>	525	1,900	525	525	1,900
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	-	440	-	-	440
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	250	370	250	250	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	250	170	250	250	170
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	500	-	500	500	-
<b>Micronutrients</b>					
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	-	6.2	-	6.2	6.2
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	5.7	6.9	5.7	6.9	6.9
Zn SO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	-	6.14	-	6.14	6.14
KI	-	0.83	-	0.83	0.83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	-	0.25	-	0.25	0.25
Cu SO <sub>4</sub> ·5 H <sub>2</sub> O	-	0.025	-	0.025	0.025
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	-	0.025	-	0.025	0.025
<b>Iron</b>					
Fe <sub>2</sub> (C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	28	-	28	-	-
Sodium EDTA	-	37.25	-	37.25	37.25
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	-	27.85	-	27.85	27.85
<b>Organic components</b>					
Glycine	-	2	-	2	2
Nicotinic acid	-	0.5	-	0.5	0.5
Pyridoxine	-	0.5	-	0.5	0.5
Thiamin	-	0.1	-	0.1	0.1
Myo-inositol	-	100	-	100	100
Sugar	20 g/l	30 g/l	20 g/l	20 g/l	30 g/l
Agar	8 g/l	8 g/l	8 g/l	8 g/l	8 g/l
pH	4.8-5.0	5.6	5.4	5.4	5.4
			Coconut juice 150 ml/l	Coconut juice 150 ml/l	Peptone 2 mg/l
			blended flesh tomato 100 g/l	blended flesh tomato 100 g/l	NAA 0.5 /mg/l
			blended jew's ear mushroom 25	blended jew's ear mushroom 25	
			carbon powder 1 g/l	blended banana 50 g/l	
				carbon powder 1 g/l	

VW (1949) = Vacin and Went (1949)

MS (1962) = Murashige and Skook (1962)

นำฝักรองเท่านั้นที่ฝักรองที่ได้จากการผสมตัวเอง ทำความสะอาดเบื้องต้นโดยใช้มีดที่สะอาดชุบน้ำที่อยู่นบนฝักรอง เช็ดผิวฝักรองด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70% นำเข้าตู้กรองอากาศ จุ่มฝักรองในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % ลนไฟ 2 ครั้ง ใช้มีดตัดโคนและปลายฝักรองเล็กน้อย ฝักรองตามรอยตะเข็บเขี่ยเมล็ดลงบนอาหาร 3 สูตร ได้แก่ 1/2 จิตรารพรรณ II 1/2 MS และ 1/2 MS ที่เติม BA 2 มก./ล. NAA 0.5 มก./ล. และ peptone 2 ก./ล. ตามกรรมวิธี เกลี่ยเมล็ดให้มีความสม่ำเสมอเต็มผิวหน้าอาหาร เพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำการประเมินความงอกของเมล็ดจากปริมาณการงอกของเมล็ดต่อพื้นที่ที่เพาะเมล็ดการทดลองมีการบันทึกข้อมูลประเมินความงอกของเมล็ดจากปริมาณการงอกของเมล็ดต่อพื้นที่ที่เพาะเมล็ด เปรียบเทียบความแตกต่างกันของสูตรอาหาร โดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์จากจำนวนขวดที่มีระดับความงอกต่างกัน และให้ระดับคะแนนความงอก (germination scale) ดังนี้

- 0 = เมล็ดไม่งอก
- 1 = เมล็ดงอก 1- 25% ของพื้นที่
- 2 = เมล็ดงอก 26-50% ของพื้นที่
- 3 = เมล็ดงอก 51-75% ของพื้นที่
- 4 = เมล็ดงอกมากกว่า 75% ของพื้นที่
- การพัฒนาของเมล็ดตั้งแต่เริ่มงอกถึงเริ่มมีใบ

2.2 เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตเป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ โดยการวางแผนการทดลองแบบ CRD 15 ซ้ำ 2 กรรมวิธีคือ กรรมวิธีที่ 1) อาหารดัดแปลงสูตรที่ 1

(Table 1) กรรมวิธีที่ 2) อาหารดัดแปลงสูตรที่ 2 (Table 1) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกรรมวิธีโดย t- test นำต้นอ่อนของร่อนเท่านั้นที่ฝักรองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระยะที่ต้นมีใบเล็กๆ 1-2 ใบ ย้ายลงในอาหารสูตรดัดแปลง 2 สูตร (Table 1) เพาะเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิ 25± 2°ซ. ภายใต้ความเข้มของแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 12 ชม./วันเป็นเวลา 6 เดือน และมีการบันทึกข้อมูลของต้นเนื้อเยื่อหลังเพาะเลี้ยงได้แก่น้ำหนักสด จำนวนใบ จำนวนรากและความยาวรากโดยทำการทดลองเริ่มเดือนตุลาคม พ.ศ. 2548 - กันยายน พ.ศ. 2552 ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ด

สูตรอาหารที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดร่อนเท่านั้นที่ฝักรอง ในอาหารจำนวน 3 สูตร โดยอาหารสูตร 1/2 จิตรารพรรณ II เป็นอาหารสูตรที่ดีที่สุดที่ใช้เพาะเมล็ดร่อนเท่านั้นในการทดลองเรื่องการขยายพันธุ์ร่อนเท่านั้นโดยการเพาะเมล็ดในเขตภาคเหนือ (นिरนาม, 2550) ส่วนอาหารสูตร 1/2 MS ที่เติม BA 2 มก./ล. NAA 0.5 มก./ล. และ peptone 2 ก./ล. เป็นอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มีการเติม BA และ NAA รวมทั้ง peptone ซึ่งธีรพล (2535) รายงานว่าการเติม peptone 0.5- 2.0 ก./ล. ช่วยส่งเสริมให้เมล็ดงอกได้ดีกว่าสูตรอาหารที่ไม่เติม peptone เลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดร่อนเท่านั้นที่มีการงอกในอาหารแต่ละสูตรแตกต่างกัน ทั้งนี้

จากการศึกษาของ Kano (1968) พบว่าเมล็ด รongเท้าনারিต้องการความมืดในการงอก ซึ่ง สอดคล้องกับงานทดลองของ Tay และคณะ (1988) ที่รายงานว่าเมล็ดรongเท้าনারิสุขะกุลมี การงอกดีที่สุดบนอาหารสูตร Norstog และ เพาะในที่มืดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ขึ้นไป จากการ ศึกษาครั้งนี้พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำให้เมล็ดของ

รongเท้าনারิฟาทยองงอกได้ดีคือ สูตร 1/2 MS ที่ เต็ม BA 2 มก./ล. NAA 0.5 มก./ล และ peptone 2 ก./ล. มีคะแนนความงอกที่ระดับ 3 มากที่สุดคือ 80% รongลงมาคือสูตร 1/2 จิตราพรรณ II มีคะแนนความงอกที่ระดับ 3 เท่ากับ 20% ส่วนสูตร 1/2 MS มีคะแนนความ งอกที่ระดับ 3 เท่ากับ 0% (Table 2)

**Table 2.** Germination percentage of *Paphiopedilum bellatulum* after 8 weeks growing on 3 different medias

Germination scale <sup>1/</sup>	Germination percentage <sup>2/</sup>		
	1/2 Jittapan II	1/2 MS	1/2 MS + BA 2 mg/l NAA 0.5mg/l peptone 2 g/l
0	0	33.3	0
1	46.7	66.7	0
2	33.3	0	20
3	20	0	80
4	0	0	0

<sup>1/</sup> = Germination scale

0 = No germination

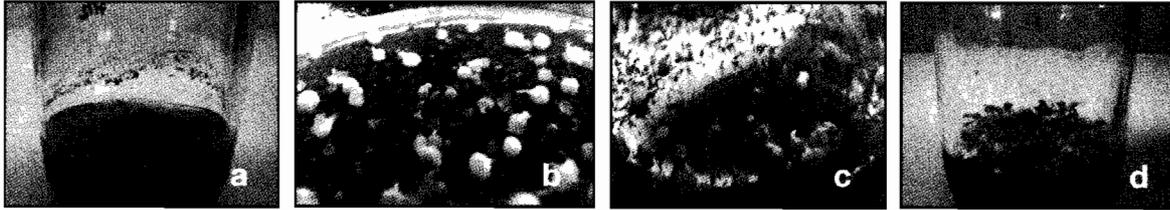
1 = Germinated cover 1- 25% of surface area, 2 = germinated cover 26-50% of surface area

3 = Germinated cover 51-75% of surface area, 4 = germinated cover >75% of surface area

<sup>2/</sup> Calculate based on 15 replications

ย้ายเมล็ดที่งอกเป็นโปรโตคอร์ัม ซึ่งมี ลักษณะเป็นก้อนกลมสีขาวขนาดประมาณ 1.0 มม. ให้ได้รับแสงเป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ โปรโตคอร์ัม มีการพัฒนาโดยเปลี่ยนเป็นสีเขียว พองตัวเป็น

ก้อนกลมใหญ่ขึ้นและเริ่มมียอด ย้ายเนื้อเยื่อที่มี ยอดลงสู่อาหารสูตรเดิม หลังย้ายเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ เนื้อเยื่อเริ่มมีการพัฒนาต่อโดยมีใบ จำนวน 1-2 ใบ



**Figure 3.** Development of *Paphiopedilum* seeds on media

- a. *Paphiopedilum* seeds                      b. Protocorm development  
 c. Green-enlarged protocorms              d. 1-2 leaves development

**2. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต  
 เป็นต้นและรากที่สมบูรณ์**

การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของต้นเนื้อเยื่อของเห็รอนงเท้านารีฟาหอย โดยเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ในสภาพอุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . ให้แสงที่ความเข้ม 1,000 ลักซ์ นาน 12 ชม./วัน

เป็นเวลา 6 เดือน พบว่ารอนงเท้านารีฟาหอยมีการเจริญเติบโตให้น้ำหนักสด จำนวนใบ จำนวนราก และความยาวรากในอาหารดัดแปลงสูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 2, Table 3) แต่ในทางปฏิบัติพบว่าสูตรที่ 2 มีความสะดวกในการเตรียมมากกว่าสูตรที่ 1

**Table 3.** Fresh weight, root lengths, number of leaves and number of roots of *Paphiopedilum bellatulum* after 6 months growing at  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  on different modified medias

Media	Fresh wt (g)	Root lengths (cm)	No of leaves	No of roots
Modified media 1	0.57	1.69	3.87	4.80
Modified media 2	0.56	1.61	3.67	4.80
t- test	NS	NS	NS	NS

NS = Non significant



**Figure 4.** *Paphiopedilum* seedling development after 6 months growing on modified media 1 (a) and modified media 2 (b)

ต้นรองเท้านารีฟาหอยที่ได้จากการเพาะเมล็ด (มีใบและรากสมบูรณ์) นำมาปรับสภาพต้น โดยวางขวดเนื้อเยื่อไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 สัปดาห์ ทำการอนุบาลโดยล้างรากออกจากต้นเนื้อเยื่อให้หมด แช่ในสารป้องกันกำจัดโรคพืช (เบนโนมิล) อัตรา 3 ก./น้ำ 20 ล. เป็นเวลา 10 นาที วางในตะกร้าพลาสติกผึ่งไว้ในที่ร่มประมาณ 2-3 วัน (ดูแลอย่าให้รากแห้งมาก) แล้วจึงปลูกลงเนื้อเยื่อในตะกร้าโดยมีทรายหยาบและขุยมะพร้าว อัตรา 1:1 โดยปริมาตรเป็นวัสดุปลูก ปลูกเฉียงเป็นเวลา 6 เดือน แล้วจึงย้ายต้นลงปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม. ปลูกเฉียงต่อเป็นเวลา 6 เดือน แล้วจึงย้ายปลูกลงในกระถางเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ซม. ดูแลรักษาโดยการให้ปุ๋ยละลายช้าสูตร 14-14-14 ( $N-P_2O_5-K_2O$ ) ประมาณ 2 ก./ต้น และพ่นปุ๋ยทางใบสูตร 21-21-21 อัตรา 50 ก./น้ำ 20 ล. 2 สัปดาห์/ครั้ง จนกระทั่งออกดอก ซึ่งโดยทั่วไปต้นจะออกดอก

หลังอนุบาล 2-5 ปี (Table 2)

### สรุปผลการทดลอง

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เมล็ดของรองเท้านารี ฟาหอยงอกได้ดีคือ สูตร  $1/2$  MS ที่เติม BA 2 มก./ล. NAA 0.5 มก./ล. และ peptone 2 ก./ล. รองลงมาคือ สูตร  $1/2$  จิตรราพรรณ II และสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาต้นเนื้อเยื่อรองเท้านารี ฟาหอยให้เจริญเป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ คืออาหารสูตรดัดแปลงซึ่งประกอบด้วย macronutrients ของ Vacin และ Went (1949) และ micronutrients ของ Murashige และ Skoog (1962) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. เนื้อมะเขือเทศสดบด 100 ก./ล. เห็ดหูหนูบดละเอียด 25 ก./ล. และกล้วยหอมบด 50 ก./ล. และอาหารสูตร MS ที่เติม peptone 2 ก./ล. และ NAA 0.5 มก./ล.

## เอกสารอ้างอิง

- เกษนันท์ ศรีเกษม. 2538. *ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการงอกของเมล็ด และการพัฒนาโปรโตคอร์มของรองเท้านารีฟาทอย*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่. 222 หน้า.
- จิตราพรรณ พิสิท. 2536. *การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 82 หน้า.
- ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย. 2535. *ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการงอกและการพัฒนาโปรโตคอร์มของรองเท้านารีเหลืองปราจีน*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่. 160 หน้า.
- นิรนาม. 2550. รายงานผลการขยายพันธุ์รองเท้านารีโดยการเพาะเมล็ดในเขตภาคเหนือ ภายใต้โครงการวิจัยที่ 88 การพัฒนาพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. หน้า 1594-1606. ใน : รายงานผลงานโครงการพัฒนาด้านพืชและเทคโนโลยีการเกษตรรอบ 12 เดือน ปี 2550. กรมวิชาการเกษตร เล่มที่ 3.
- วิวัฒน์ วุฒิพันธุ์ไชย. 2529. *ผลของอายุผัก เติมน้ำมันฝรั่ง น้ำมะพร้าวและถ่านในอาหารสำหรับเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 58 หน้า.
- สลิล สิทธิจักรธรรม. 2550. *กล้วยไม้ป่าเมืองไทย*. สำนักพิมพ์บ้านและสวน กรุงเทพฯ. 495 หน้า.
- อุไร จิรมงคลการ. 2549. *กล้วยไม้รองเท้านารี*. สำนักพิมพ์บ้านและสวน กรุงเทพฯ. 224 หน้า.
- Kano, K. 1968. Acceleration of the germination of so-called "hard-to-germinate orchid seeds. *Amer.Orchid Soc. Bull.* 38: 690-698.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and biosassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia. Pl.* 15:473-497.
- Northen, S. 1962. *McGraw-Hill Encyclopedia Technology*. McGraw-Hill Book Company, New York. 468 p.
- Tay, L.J., Takeno K. and Y. Hori. 1988. Culture conditions suitable for *in vitro* seed germination and development of seedlings in *Paphiopedilum*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 57 : 243-249.
- Vacin, E. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrients solutions. *Bot. Gaz.* 110:605- 613.