บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata* Blume) กับกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ (*Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr.) และลูกผสมที่ได้จากการถ่ายฝาก สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเอื้องดินใบไผ่และเอื้องดินหมากจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน โดยที่เอื้องดินใบไผ่มีจำนวนต้น 10.33 ต้นต่อกอ และเอื้องดินใบหมากจะมีจำนวนต้น 7 ต้นต่อกอ ในขณะที่เอื้องดินใบหมากจะมีจำนวนดอกต่อช่อมากกว่าเอื้องดินใบไผ่ และเมื่อมีการติดฝักเกิดขึ้น ฝักของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่จะมีระยะเวลาการติดฝักนานกว่าฝักของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก 2 สัปดาห์

2. ผลการศึกษาการผสมเกสรสรุปได้ว่า การผสมตัวเองของกล้วยไม้ทั้งสองชนิดประสบความสำเร็จสูงถึง 90 - 100 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดของฝักอยู่ระหว่างกล้วยไม้ทั้งสองชนิด

3. เมล็ดกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ และเอื้องดินใบหมากที่ได้จากการผสมในรูปแบบที่แตกต่างกันทั้ง 5 รูปแบบ พบว่า เมื่อนำเมล็ดมาเลี้ยงไว้ในสภาวะที่ได้รับแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ เมล็ดจะมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ เมื่อเลี้ยงไว้ในที่มืด 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายออกมาเลี้ยงที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 8 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอก 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. ผลของน้ำมะพร้าวและน้ำต้มมันฝรั่งต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาต้นของอ่อนที่ได้จากการผสมทั้ง 4 รูปแบบ พบว่าต้นอ่อนที่ได้จากการผสมตัวเองของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 75 กรัมต่อลิตร และต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้มีจำนวนต้นที่แตกใหม่ได้ดี ในขณะที่ต้นอ่อนที่ได้จากการผสมตัวเองของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก และต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้มีจำนวน

ต้นที่แตกใหม่ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่และต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่

5. ผลของฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินได้แก่ BA Kinetin และ TDZ ต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนทั้ง 4 รูปแบบ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนที่ได้จากการผสมตัวเองของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นที่แตกใหม่สูงสุดเฉลี่ย 4.90 ต้น และมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย 3.95 ใบ มีจำนวนราก 3.35 ราก โดยมีความยาวรากสูงสุดเฉลี่ย 4.48 เซนติเมตร และมีความสูงต้นเฉลี่ย 7.00 เซนติเมตร และต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนแตกเป็นต้นใหม่สูงสุดเฉลี่ย 5.0 ต้น และมีความสูงของต้นที่แตกใหม่เฉลี่ย 1.37 เซนติเมตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย 0.15 ยอด และมีจำนวนใบที่แตกใหม่เฉลี่ย 3.00 ใบ ในขณะที่สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดรากได้สูงสุดเฉลี่ย 4.50 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 4.00 เซนติเมตร ส่วนสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโปรโตคอร์มสูงสุด 0.95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นอ่อนที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบหมากที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน Kinetin 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนต้นที่แตกใหม่สูงสุดเฉลี่ย 0.9 ต้น มีจำนวนยอดสูงสุด 1.1 ยอด รวมถึงมีจำนวนรากที่แตกใหม่เฉลี่ย 2.5 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 8.21 เซนติเมตร และยังมีความสูงต้นเฉลี่ย 5.54 เซนติเมตร ตามลำดับโดยจะมีแนวโน้มการเจริญและการพัฒนาของต้นอ่อนได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นที่สูง ส่วนต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนแตกเป็นต้นใหม่สูงสุดเฉลี่ย 1.15 ต้น และมีความสูงต้นที่แตกใหม่เฉลี่ย 1.13 เซนติเมตร และสามารถชักนำให้เกิดใบเฉลี่ย 4.10 ใบต่อต้น

6. ผลของฮอร์โมนในกลุ่มออกซินได้แก่ NAA IAA IBA และ 2, 4-D ต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนทั้ง 4 รูปแบบ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ

น้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นที่แตกใหม่สูงสุดเฉลี่ย 3.95 ต้น และมีความสูงของต้นที่แตกใหม่เฉลี่ย 1.61 เซนติเมตร และยังสามารถชักนำให้เกิดยอดที่แตกใหม่สูงสุดเฉลี่ย 0.30 ยอด และมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย 3.55 ใบ ในขณะที่สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 4.35 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 3.43 เซนติเมตร โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนเอื้องดินใบไผ่ที่เติมฮอร์โมน NAA ที่ความเข้มข้นต่ำจะมีการเจริญและมีการพัฒนาของต้นอ่อนได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนต่างๆ ในความเข้มข้นที่สูง และต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน 2, 4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้ต้นอ่อนแตกเป็นต้นใหม่ได้สูงสุดเฉลี่ย 4.45 ต้น และมีความสูงต้นที่แตกใหม่สูงสุดเฉลี่ย 2.24 เซนติเมตร และยังมีความสูงต้นเฉลี่ย 6.29 เซนติเมตร และยังช่วยส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการเจริญและพัฒนาเกิดใบใหม่ต่อต้นได้สูงสุดเฉลี่ย 3.65 ใบ ส่วนสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้ต้นอ่อนแตกรากได้สูงสุดเฉลี่ย 4.00 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 1.38 เซนติเมตร และยังช่วยส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการเจริญและการพัฒนาเกิดเป็นโปรโตคอร์มสูงสุดเฉลี่ย 4.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นอ่อนที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบหมากที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดเป็นต้นที่แตกใหม่เฉลี่ยสูงสุด 1.40 ต้น และมีความสูงต้นที่แตกใหม่เฉลี่ย 1.06 เซนติเมตร มีความสูงลำต้นเฉลี่ย 5.60 เซนติเมตร และมีจำนวนยอดที่แตกใหม่เฉลี่ยสูงสุด 0.35 ยอด โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำต้นจะมีความสมบูรณ์มากกว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนที่แตกต่างกัน ในขณะที่สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดรากได้สูงสุดเฉลี่ย 4.75 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 5.74 เซนติเมตร ส่วนต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน 2, 4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนต้นที่แตกใหม่สูงสุดเฉลี่ย 1.05 ต้น โดยต้นที่แตกใหม่จะมีความสูงเฉลี่ย 1.18 เซนติเมตร และมีความสูงของลำต้นเฉลี่ย 6.62 เซนติเมตร รวมถึงมีจำนวนใบเฉลี่ย 3.30 ใบ และยังส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนรากที่แตกใหม่สูงสุดเฉลี่ย 4.85 ราก โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 3.38 เซนติเมตร และมีแนวโน้มการเจริญและการพัฒนาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนที่แตกต่างกัน ในความเข้มข้นต่างๆ

7. ผลของวัสดุปลูกต่ออัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมในรูปแบบต่างๆ ทั้ง 4 รูปแบบ ที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อทำการย้ายปลูกผ่านไป 2 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนของเอื้องดินใบหมากที่เลี้ยงในวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ พีทมอส และทรายในอัตราส่วน 1:1:1 จะมีเปอร์เซ็นต์การรอดสูงสุด 82 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากผสมเกสรต้นเดิมไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่เมื่อปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของเปลือกถั่ว ดินร่วน แกลบดิบอัตราส่วน 1:1:1 จะมีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 28 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ ต้นอ่อนที่เลี้ยงในวัสดุปลูกทั้ง 3 สูตรจะมีอัตราการรอดต่ำสุด 0 เปอร์เซ็นต์

8. ผลการตรวจสอบรูปแบบของดีเอ็นเอด้วยเอ็มไซม์ตัดจำเพาะ จากเทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพีโดยใช้บริเวณ nrITS สามารถระบุความเป็นลูกผสมข้ามสกุลที่เกิดจากการถ่ายฝากและสามารถคาดคะเนได้ว่าเป็นลูกผสมที่เกิดจากพ่อและแม่ต้นใดโอกาสที่จะเกิดลูกผสมข้ามสกุลจากการถ่ายฝากโดยมีเอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ คือ 8.33 เปอร์เซ็นต์ และเอื้องดินใบหมากเป็นแม่ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับนอกจากนี้ยังพบว่าเอื้องดินใบหมากเป็นกล้วยไม้ดินที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมบริเวณ nrITS สูงกว่ามากกว่าเอื้องดินใบไผ่

อภิปรายผล

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่

กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่เป็นกล้วยไม้พันธุ์แท้ของประเทศไทย ในประเทศไทยพบเพียง 1 ชนิดคือ *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr. (อบฉันท์ไทยทอง, 2543) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ เป็นกล้วยไม้ดินที่ไม่มีการพักตัว และสามารถที่จะเจริญเติบโตในพื้นที่ที่มีความแห้งแล้งได้สูง โดยลำต้น ส่วนที่เป็นลำต้นที่แท้จริงคือส่วนที่เรียกว่า หัว ซึ่งมีลักษณะหัวแบบคอร์ม และส่วนที่เป็นลำต้นคือ ลำต้นเทียม (pseudobulb) มีลักษณะเรียวยาวคล้ายดินสอ ซึ่งมีลักษณะการเจริญคล้ายกับกล้วยไม้ดินชนิดอื่นๆ เช่น กล้วยไม้ดิน *Habenaria amplexcaulis* Rolf ex Dowine ที่มีหัว (corm) อยู่ใต้ดิน และมีลำต้นเทียมงอกขึ้นมาบนพื้นดินเพื่อทำหน้าที่ในการหาอาหาร ออกดอก และติดฝักเพื่อการขยายพันธุ์ (วิทยา ผาคำ, คงศักดิ์ พร้อมเทพ และอนุพันธ์ กงบังเกิด, 2553) ใบเป็นใบเดี่ยว รูปหอก ปลายใบแหลมคม เส้นใบเรียงตัวขนานตามความยาวใบ ผิวใบด้านบนเป็นร่องตามแนวเส้นกลางใบ มีจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น 17.33 ใบต่อต้น มีความยาวใบเฉลี่ย 21.33 เซนติเมตร และมีความกว้างใบเฉลี่ย 1.47 เซนติเมตร กาบใบสีเขียว เมื่อเจริญเต็มที่มีสีน้ำตาลติดกับส่วนของลำต้น ใบจะเรียงสลับตามข้อของลำลูกกล้วย ดอกออกที่ปลายยอด มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบ ขนาด 3.61 เซนติเมตร ลักษณะเรียวรูปหอก ดอกจะมีสีขาวอมชมพู

กลีบเลี้ยงด้านบนมีลักษณะปลายกลีบบิดโค้งมาทางด้านหน้าดอก กลีบเลี้ยงด้านล่างจะแนบติดกับกลีบปาก กลีบดอกมี 3 กลีบ มีขนาดเฉลี่ย 3.53 เซนติเมตร ส่วนฝักมีลักษณะมีสันบนฝัก 6 สัน ตามแนวตะเข็บฝัก มีความยาวฝักเฉลี่ย 2.92 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางฝักเฉลี่ย 0.29 เซนติเมตร ฝักที่เจริญเต็มที่มีสีเขียวฝักแก่มีสีน้ำตาล เป็นผลแบบแห้งแล้วแตกออกตามแนวตะเข็บ เมล็ดมีสีเหลืองอ่อน มีลักษณะเป็นฝุ่นผงคล้ายแป้ง สอดคล้องกับการศึกษาของ ทรงชัย แซ่ตั้ง (2551) ที่ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ (*Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr.)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินใบหมาก กล้วยไม้เอื้องดินใบหมากมีการเจริญเติบโตแบบ Sympodial โดยมีการเจริญทางด้านข้าง และแตกหน่อใหม่เพื่อขยายพันธุ์จะมีจำนวนต้นต่อกอเฉลี่ย 7 ต้นต่อกอ ช่อดอกจะออกบริเวณโคนต้น ลำต้นจะมีลักษณะหัวแบบคอร์ม มีข้อปล้องชัดเจน ผิวลำลูกกล้วยมีลักษณะเรียบ ใบเป็นใบเดี่ยว ใบจะมีลักษณะรูปแถบ ปลายแหลม ขอบใบและผิวใบเรียบ เส้นใบจะมีลักษณะพับจีบขนานกันจากโคนใบถึงปลายใบ มีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย 4 ใบต่อต้น และมีความยาวใบเฉลี่ย 29.33 เซนติเมตร มีความกว้างใบเฉลี่ย 2.86 เซนติเมตร ช่อดอกเป็นช่อดอกแบบกระจะ และมีก้านช่อดอกหลักมียาวช่อดอกเฉลี่ย 39 เซนติเมตร โดยช่อดอกจะมีลักษณะตั้งตรง แข็งกลมผิวเรียบ และจะมีก้านดอกย่อยอยู่บนก้านช่อดอกหลัก ดอกเป็นสมบรูณ์เพศ มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบดอก 3 กลีบ กลีบดอกสีม่วงวงเกสรตัวเมียเริ่มพร้อมผสมในวันที่ 3 หลังจากดอกบาน และพร้อมผสมต่อเนื่องจนกระทั่งดอกเหี่ยว เป็นไปตามรายงานการวิจัยของ กิ่งกาญจน์ พิชญกุล สมทรง โชติชื่น และปาริฉัตร สังข์สะอาด(2548) ฝักและเมล็ดเป็นผลแบบแห้งแล้วแตก เป็นรูปขอบขนาน ปลายและโคนผลสอบเรียว โดยมีอายุฝักประมาณ 30 วัน หลังจากที่ทำการผสมเกสร เมื่อติดฝักจะมีความยาวฝักเฉลี่ย 2.57 เซนติเมตร และมีความกว้างฝักเฉลี่ย 0.82 เซนติเมตร

การศึกษาการผสมเกสรระหว่างกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมาก

ในการศึกษาการผสมเกสรกล้วยไม้เพื่อพัฒนาและสร้างลูกผสมสิ่งที่ควรคำนึง คือ ต้นแม่ที่ใช้ควรเลือกต้นแม่ที่มีความสมบูรณ์ ดอกบานแล้ว 2 – 3 วัน ตรวจดูว่าดอกพร้อมที่จะรับกลุ่มเรณูหรือไม่ โดยดูจากแอ่งเกสรเพศเมีย (stigma) ควรมีน้ำเหนียวๆ (stigmatic fluid) และตรวจดูแอ่งเกสรเพศเมียที่ใช้ผสมเกสรให้แน่ใจว่าไม่มีกลุ่มเรณูที่ไม่ต้องการเข้าไปปนเปื้อนอยู่ภายในดอก และที่สำคัญกลุ่มเรณูที่นำมาใช้ในการผสมเกสรไม่ควรที่จะแก่เกินไป ซึ่งระยะเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเรณูควรผสมในช่วงเช้า 08.00 – 09.00 และที่สำคัญควรผสมในช่วงที่อากาศไม่ร้อนมากจนเกินไป เพราะอากาศร้อนมากจะทำให้กลุ่มเรณูเพศเมียแห้งได้ (ครรชิต ธรรมศิริ, 2547)

กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ และกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากเป็นกล้วยไม้พันธุ์แท้ของประเทศไทย ที่มีลักษณะที่มีความโดดเด่น ไม่ว่าจะเป็นลักษณะของลำต้น ใบ และลักษณะของดอก รวมถึงสีของกลีบเลี้ยง กลีบดอก และกลีบปาก ที่โดนเด่นจึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาทำการพัฒนาเป็นกล้วยไม้ดินลูกผสมข้ามสกุล ซึ่งรายงานการศึกษาการพัฒนาสร้างกล้วยไม้ดินลูกผสมข้ามสกุล (intergeneric hybridization) นั้นพบว่า มีรายงานการศึกษาที่ค่อนข้างน้อยและน้อยมาก เช่น การศึกษาของชิดชนก ก่อเจดีย์ และคณะ (2555) ที่ได้ทำการศึกษาการผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ในสกุล *Habenaria* กับ *Pecteilis* และรายงานการศึกษาของ Kishor, et al. (2006) ที่ศึกษาการผสมข้ามสกุลในกล้วยไม้อิงอาศัยระหว่างกล้วยไม้ *Ascocentrum auranticum* (Roxb.) Schltr. var. *auranticum* กับ *Vanda coerulea* Griff. จนทำให้ได้ลูกผสมชนิดใหม่เกิดขึ้นคือ Kangla เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ Kishor and Sharma (2008) ที่ศึกษาการพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์และการสร้างกล้วยไม้ลูกผสมข้ามสกุลในกล้วยไม้อิงอาศัย โดยทำการผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ *Renanthera imschootiana* Rolf กับ *Vanda coerulea* Griff. เป็นต้น สำหรับตัวอย่างรายงานการผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) เช่น การสร้างกล้วยไม้ดินลูกผสมข้ามชนิดโดยใช้กล้วยไม้ดินใบหมากในการผสม 3 ชนิด คือ *Spathoglottis plicata* var. *alba*, *Spathoglottis kimballina* และ *Spathoglottis plicata* โดยนำมาผสมแบบพบกันหมด จนทำให้ได้ลูกผสมชนิดใหม่ที่มีลักษณะแตกต่างจากต้นพันธุ์ต้นเดิมที่นำมาศึกษา เป็นต้น (จุฑาธิป เขียววงจันทร์ และครรชิต ธรรมศิริ, 2552)

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่กับกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก ทั้งหมด 6 รูปแบบ พบว่า กล้วยไม้ทั้ง 2 สกุล ที่เกิดจากการผสมตัวเอง (Self pollination) จะมีเปอร์เซ็นต์การติดฝักสูงสุด100 เปอร์เซ็นต์ เป็นไปตามรายงานการศึกษาของ Kauth, et al. (2008) ที่ศึกษาการผสมเกสรของกล้วยไม้ดิน *Spathoglottis parsonii* ด้วยวิธีการผสมตัวเอง (Self pollination) พบว่า หลังจากที่ทำการผสมเกสรผ่านไป 3 วัน ดอกจะเริ่มเหี่ยวจากส่วนของก้านดอกที่เป็นรังไข่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว และมีการขยายขนาดจากนั้นก็จะเจริญเป็นฝักที่สมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีอายุฝักประมาณ 30 – 40 วันหลังจากที่ทำการผสมเกสร

แต่เมื่อทำการผสมข้ามสกุลโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ (Cross *S. plicata* เป็นแม่) จะมีเปอร์เซ็นต์การติดฝักเพียง 67 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อผสมข้ามสกุลโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ (Cross *A. graminifolia* เป็นแม่) พบว่า หลังจากที่ทำการผสมเกสรผ่านไป 1 - 2 วัน ดอกจะมีลักษณะเหี่ยวแห้งโดยก้านดอกจะเริ่มเน่าและแห้ง จากนั้นดอกก็จะหลุดร่วงในที่สุด ซึ่งทำให้เกิดการผสมไม่ติดและไม่สามารถติดฝักได้ ถึงแม้จะทำการผสมซ้ำอีก 2 – 3 ครั้งก็ตาม ก็ยังคงให้ผล

เช่นเดิม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะทางพันธุกรรมที่มีความห่างไกลกันในสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ จึงทำให้เกิดลักษณะความเข้ากันไม่ได้ของกล้วยไม้ทั้งสองชนิดนี้ถึงแม้จะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ประกอบกับอาจมีปัจจัยหลายประการที่ทำให้เอื้องดินใบไผ่ และกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากเกิดการผสมไม่ติด โดยเฉพาะกรณีที่เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่สำหรับการผสมนั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพัฒนาการในระบบสืบพันธุ์ของเอื้องดินใบหมากจะมีการพัฒนาและเกิดขึ้นได้ช้ากว่าเอื้องดินใบไผ่ และพัฒนาการเกิดโครงสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของเอื้องดินใบไผ่นั้นมีการพัฒนาที่ช้ากว่าเอื้องดินใบหมาก ซึ่งสังเกตได้จากอายุการสุกแก่ของเมล็ดเอื้องดินใบไผ่ที่ผสมตัวเองนั้นใช้เวลานานกว่าเอื้องดินใบหมาก จึงเป็นสาเหตุให้การผสมข้ามโดยใช้เกสรจากต้นเอื้องดินใบหมากผสมลงบนยอดเกสรตัวเมียของเอื้องดินใบไผ่ที่มีพัฒนาการช้ากว่านั้น ไม่สามารถผสมกันได้ เนื่องจากความพร้อมของเซลล์สืบพันธุ์ในการเข้าผสมกันนั้นไม่ตรงกัน ในกรณีกลับกัน เมื่อใช้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ และใช้เกสรจากเอื้องดินใบไผ่เป็นพ่อ พบว่า จะสามารถผสมติดฝักได้บางส่วน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือละอองเกสรของเอื้องดินใบไผ่นั้นมีความพร้อมในการเข้าผสมพันธุ์กับเอื้องดินใบหมาก และเอื้องดินใบหมากนั้นสร้างโครงสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียพร้อมรองรับการผสมเกสรจากเอื้องดินใบไผ่ในช่วงระยะเวลาเดียวกัน จึงทำให้สามารถผสมกันได้และมีเปอร์เซ็นต์การติดฝักบางส่วนเกิดขึ้นได้ ซึ่งในกรณีนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งกรณีที่เป็นการผสมข้ามสกุล และการผสมข้ามชนิด ดังตัวอย่างรายงานการศึกษาของ มาลินี อินทร์ และณัฐา โพธาภรณ์ (2553) ที่ได้ศึกษาการผสมข้ามหมู่ของกล้วยไม้สกุลหวายไทยที่ทำการผสมข้ามหมู่ และพบว่าการผสมข้ามหมู่บางหมู่ เช่น *Dendrobium* x *Formosae* นั้นไม่สามารถผสมติดและเกิดการติดฝักได้ เนื่องจากพันธุกรรมของกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุลมีความห่างไกลกันในสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจึงทำให้เกิดการผสมไม่ติด

ในขณะที่การศึกษาการผสมเกสรด้วยวิธีการถ่ายฝากนั้นจะช่วยให้การผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมากนั้นเกิดการติดฝักเกิดขึ้นได้ เพื่อช่วยแก้ปัญหาการผสมไม่ติดในกรณีที่มีการผสมข้ามโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ และจะช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์หรือโอกาสที่จะได้ลูกผสมเกิดขึ้นอาจจะมาก หรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ที่ได้นำมาทำการศึกษา ดังนั้นการผสมโดยใช้เทคนิคการถ่ายฝากจึงเป็นวิธีที่นำมาใช้ในการผสมข้ามในกล้วยไม้ดินหลายชนิดในกรณีที่การผสมข้ามโดยปกติไม่ประสบผลสำเร็จ ซึ่งจากการศึกษาการผสมเกสรด้วยเทคนิคการถ่ายฝาก พบว่า เมื่อผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมากโดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ (Cross *A. graminifolia* เป็นแม่ ฝาก) จะมีเปอร์เซ็นต์การติดฝักเฉลี่ย 93.33 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่โดยมี

การฝากการผสมเกสรต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ (Cross *S. plicata* เป็นแม่ฝาก) จะมีเปอร์เซ็นต์การติดฝักเฉลี่ย 80 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝักกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่และกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากที่ได้จากการผสมในรูปแบบต่าง ๆ ทั้ง 5 รูปแบบ

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝักกล้วยไม้ในแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน เช่น ขนาดฝัก เส้นผ่านศูนย์กลางฝัก รวมไปถึงลักษณะภายนอก เป็นต้น

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝักกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากที่ได้จากการศึกษาการผสมเกสรในรูปแบบ (Self pollination) หรือการศึกษาการผสมตัวเอง ลักษณะการพัฒนาของเอ็มบริโอหลังจากที่ทำการผสมเกสรผ่านไป 15 วัน การพัฒนาของฝักกล้วยไม้ดินใบหมากจะมีเอ็มบริโอที่มีรูปแบบ onagrad type จะมีแกนยึดเอ็มบริโอมี 1 เซลล์ และจะเจริญไปทางด้านไมโครไฟล์ ผลหรือฝักที่พัฒนาไปเต็มที่จะแตกภายหลังจากที่มีการถ่ายเรณู 30 วัน นราศักดิ์ ศรียศ ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์ และอัจฉรา ธรรมถาวร (2556) ซึ่งจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝักกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก พบว่า หลังจากที่ทำการผสมเกสรผ่านไป 3 – 4 วัน เส้าเกสรจะมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นจากเดิม และต่อมาส่วนของรังไข่ (ก้านดอกย่อย หรือ pedicel) จะบวมและขยายขนาดเพิ่มขึ้น และมีการเปลี่ยนสีจากสีขาว เป็นสีเขียวอมน้ำตาลเมื่อฝักแก่เต็มที่อายุ 4 สัปดาห์โดยมีความยาวฝักเฉลี่ย 4.23 เซนติเมตร มีความกว้างฝักเฉลี่ย 0.54 เซนติเมตร และมีน้ำหนักฝักเฉลี่ย 0.36 กรัม สอดคล้องกับการศึกษาของ กิ่งกาญจน์ พิชญกุล สมทรง โชติชื่น และปาริฉัตร สังข์สะอาด (2548) ที่ได้ทำการศึกษาการผสมเกสรในกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก *Spathoglottis plicata* มีเปอร์เซ็นต์การติดฝัก 40 เปอร์เซ็นต์ ฝักจะแตกหลังจากผสมเกสรเป็นเวลา 24 วัน ฝักจะมีขนาด (กว้าง x ยาว) เท่ากับ 0.7 x 3.1 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์ที่มีเอ็มบริโอเท่ากับ 88.33 เปอร์เซ็นต์

ส่วนการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝักกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ที่ได้จากการผสมตัวเอง หลังจากที่ผสมเกสรผ่านไป 3 – 4 วัน ดอกจะมีลักษณะเหี่ยวแห้งโดยลักษณะของกลีบเลี้ยงและกลับดอกจะมีลักษณะแห้ง และจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ส่วนของก้านดอกที่เป็นรังไข่เริ่มขยายขนาดเพิ่มขึ้น พอง และจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว เมื่อครบ 4 สัปดาห์ รังไข่จะขยายเพิ่มขึ้นจากเดิมจนพัฒนาเป็นฝักที่มีเมล็ดสมบูรณ์ ลักษณะฝักจะเป็นร่องเห็นได้อย่างชัดเจน 4 – 5 ร่อง และฝักจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวตรงกลางร่องจะมีสีน้ำตาล ซึ่งจะสามารถถือฝักนานได้ถึง 5 – 6 สัปดาห์ จากนั้นฝักจะแตกออก โดยจะมีความยาวฝักเฉลี่ย 5.23 เซนติเมตร มีความกว้างฝัก 0.82 เซนติเมตร และมีน้ำหนักฝักเฉลี่ย 1.67 กรัม

ฝักกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่ โดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ (Cross *S. plicata* เป็นแม่) นั้นหลังจากที่ทำการผสมเกสรโดยการถ่ายเรณูลงบนยอดเกสรเพศเมีย ลักษณะของก้านดอกหลังจากที่ผสมเกสรผ่านไป 2 – 3 วัน ก้านดอกหรือส่วนของรังไข่จะเริ่มมีลักษณะพองออก กลีบเลี้ยงและกลีบดอกจะเริ่มเหี่ยว และแห้งจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อผ่านไป 2 สัปดาห์ รังไข่จะบวมพอง และจะพัฒนาเป็นฝักที่มีเมล็ดเกิดขึ้น เมล็ดที่อยู่ภายในฝักจะมีสีขาวซีดเอ็มบริโอที่อยู่ภายในเมล็ดจะยังคงพัฒนาได้ไม่เต็มที่โดยฝักที่ได้จากการผสมข้ามจะมีอายุฝักอยู่ในช่วง 3 – 4 สัปดาห์ จากนั้นฝักจึงจะแตกออก ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลทำให้ฝักที่ได้จากการผสมสุกหรือแก่เร็วนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อมภายนอก ถ้าอากาศร้อนมากจะมีผลทำให้ฝักที่ได้จากการผสมเกิดแตกได้เร็วกว่ากำหนด โดยฝักที่ได้จากการศึกษาจะความยาวฝักเฉลี่ย 4.8 เซนติเมตร มีความกว้างฝัก 0.68 เซนติเมตร และมีน้ำหนักฝักเฉลี่ย 0.35 กรัม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chalaparmal, et al. (2011) ที่ได้ศึกษาการผสมข้ามในกล้วยไม้สกุล *Aerides* โดยศึกษาการผสมข้ามระหว่าง *Aerides odorata* var. 'Yello' x *A. odorata* และ *A. flabellata* x *A. quinquevulnera* var. *calayana*. จากการศึกษาพบว่าคู่ผสมระหว่าง *A. odorata* var. 'Yellow' x *A. quinquevulnera* var. *calayana* มีเปอร์เซ็นต์การติดฝักสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวฝัก และความกว้างฝักสูงสุด ตามลำดับ

ในขณะที่การศึกษาการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมากโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ (Cross *A. graminifolia* เป็นแม่) นั้นไม่สามารถผสมติด และเกิดฝักได้ เนื่องจากความพร้อมของระบบสืบพันธุ์ของเอื้องดินใบหมากเกิดขึ้นได้ช้ากว่าเอื้องดินใบไผ่ และพัฒนาการเกิดโครงสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของเอื้องดินใบไผ่นั้น ช้ากว่าเอื้องดินใบหมาก

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝักกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามโดยใช้เทคนิคการถ่ายฝากระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่โดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ (Cross *S. plicata* เป็นแม่ ฝาก) ระยะการพัฒนาของฝักที่ได้จากการผสมโดยใช้เทคนิคการถ่ายฝาก จะไม่แตกต่างจากการผสมข้ามโดยปกติคือหลังจากที่ทำการผสมเกสรผ่านไป 2 – 3 วัน ดอกจะเริ่มเหี่ยว กลีบเลี้ยง และกลีบดอกจะเริ่มแห้ง ก้านดอกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว เมื่อผ่านไป 3 – 4 สัปดาห์ รังไข่ก็จะพองเกิดเป็นฝักที่มีความสมบูรณ์ โดยมีเมล็ดที่มีเอ็มบริโออยู่ภายในฝักที่สมบูรณ์ โดยมีความยาวฝักเฉลี่ย 4.21 เซนติเมตร มีความกว้างฝักเฉลี่ย 0.62 เซนติเมตร และมีน้ำหนักฝักเฉลี่ย 0.44 กรัม เช่นเดียวกับฝักของกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามโดยใช้เทคนิคการถ่ายฝากระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมากโดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ (Cross *A. graminifolia* เป็นแม่

ฝาก) จะมีระยะการพัฒนาของฝักที่ใกล้เคียงกับฝักที่ได้การผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่ (Self *A. graminifolia*) โดยมีความยาวฝักเฉลี่ย 4.34 เซนติเมตร มีความกว้างฝัก 0.89 เซนติเมตร และมีน้ำหนักฝักเฉลี่ย 1.49 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างจากฝักที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Chung, Nason and Chung (2005) ที่ศึกษาการผสมข้ามในรูปแบบ (interspecific hybridization) ระหว่างกล้วยไม้ *Liparis kumokiri* กับ *Liparis makinoana* จนทำให้ได้ลูกผสมชนิดใหม่ที่เกิดขึ้นที่มีลักษณะแตกต่างจากต้นพันธุ์ต้นเดิมที่นำมาศึกษา ฝักที่ได้จากการผสมข้ามจะมีขนาดใกล้เคียงกับฝักต้นพ่อต้นแม่ที่นำมาศึกษา

ศึกษากระบวนการงอก และการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมในรูปแบบต่าง ๆทั้ง 5 รูปแบบ

กล้วยไม้ดิน (terrestrial orchid) จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีการติดฝักในฤดูฝน และฝักจะแตกออกเมล็ดที่อยู่ภายในฝักจะร่วงลงบนพื้นดินและจะงอกในช่วงฤดูฝนเพื่อขยายพันธุ์ แต่พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ดินหลายๆ ชนิด จะมีเมล็ดจำนวนมาก และมีโอกาสที่จะประสบความสำเร็จในการงอกตามธรรมชาติที่ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสม (endosperm) จึงทำให้โอกาสในการงอกในธรรมชาตินั้นมีน้อย (Arditti, 1992) ซึ่งในธรรมชาติกล้วยไม้จำเป็นต้องอาศัยลมเป็นตัวช่วยในการกระจายของเมล็ดให้ไปตกตามบริเวณพื้นดินที่มีแหล่งของธาตุอาหารที่แตกต่างกัน เพื่อเป็นการขยายพันธุ์ ซึ่งเมล็ดของกล้วยไม้ดินหลายๆ ชนิดจำเป็นต้องอาศัยเชื้อราบางชนิดที่อยู่บริเวณรากของกล้วยไม้ (mycorrhiza) มาช่วยในส่งเสริมให้เกิดการงอก และการพัฒนาของเมล็ด (Pierik, 1987) อย่างไรก็ตามกล้วยไม้จะเจริญอยู่รอดในสภาพธรรมชาติได้นั้นจำเป็นต้องอาศัยเชื้อราไมคอร์ไรซาโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการงอก และการพัฒนาของเมล็ด และต้นอ่อนกล้วยไม้ที่โตแล้วส่วนใหญ่สามารถสร้างอาหารได้เองจากการสังเคราะห์ด้วยแสง ในขณะที่กล้วยไม้บางชนิดเป็นกลุ่มที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ซึ่งจะต้องอาศัยเชื้อราไมคอร์ไรซาไปตลอดชีวิต (myco-heterotrophic holomycotrophic) (สาวิตรี สระศรีรัตน์ และอัญชิกา สวัสดิ์วนิช, 2013) ทั้งนี้ในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อจำเป็นต้องอาศัยอาหารสังเคราะห์เพื่อช่วยในกระบวนการงอก และการพัฒนาของเมล็ดและต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ (Arditti, 1967) ในขณะที่รายงานการศึกษาของ Knudson (1922) ได้ทำการศึกษาการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้สามารถงอก และพัฒนาได้ในสภาพปลอดเชื้อโดยที่ไม่จำเป็นต้องอาศัยเชื้อราไมคอร์ไรซามาช่วยในกระบวนการงอก และการพัฒนาของเมล็ด แต่จะขึ้นอยู่กับสูตรอาหารที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงต้องมีน้ำตาลธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดและต้นอ่อน และพบว่าน้ำตาลยังเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญที่นำมาใช้ในการงอกและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ ในส่วนรายงานการศึกษาของ Harrison (1973) ได้ศึกษาเมล็ด

กล้วยไม้ *Cattleya aurantiaca* ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร Knudson C (KC) ที่ไม่เติมน้ำตาลลงในอาหารจะช่วยส่งเสริมให้เมล็ดสามารถพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มที่ไม่มีใบ และรากเกิดขึ้นได้ ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญต่อการงอก และการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ (Arditti and Ernst, 1982) นอกจากนี้ยังพบว่าสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมที่นำมาใช้ในการเพาะเมล็ด และการย้ายขวดของกล้วยไม้ โดยการเพิ่มอินทรีย์สาร ได้แก่ วิตามินที่มีผลต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ด รวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น น้ำมะพร้าว มันฝรั่งบด กล้วยหอมบดและผงถ่าน เป็นต้น (จิตราพรรณ พิลึก, 2536)

จากการศึกษากระบวนการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบหมาก (Self *S. plicata*) ที่อายุ 4 สัปดาห์ เพาะลงในสูตรอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และมันฝรั่งต้มที่เอาแต่น้ำ 50 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร ที่มี pH 5.2 จากการศึกษาพบว่า เมล็ดกล้วยไม้ที่ได้จากการศึกษาการผสมตัวเองของเอื้องดินใบหมากสามารถงอก และจะพัฒนาได้ค่อนข้างเร็ว เช่นเดียวกับกล้วยไม้ดินชนิดต่างๆ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ Mao, et al. (2004) ที่ได้ศึกษาการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากในสภาพปลอดเชื้อ *Spathoglottis plicata* เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 14 วัน เมล็ดจะมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น และจะดันเปลือกหุ้มเมล็ดแตกออกเอมบริโอจะมีสีเขียว โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกถึง 67.72 เปอร์เซ็นต์ รวมไปถึงรายงานการศึกษาของวุฒิชัย ฤทธิ และอนุพันธ์ กงบังเกิด (2555) ที่ได้ศึกษาการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ดินเหลืองประไพ *Eulophia promesis* Lindl. มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 81.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มืด 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แล้วย้ายออกมาเลี้ยงในที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 12 สัปดาห์ และสอดคล้องกับรายงานของ อรรณพ เทียมแก้ว เชิดศักดิ์ ทัพใหญ่ และอนุพันธ์ กงบังเกิด (2555) ที่รายงานไว้ว่าเมล็ดกล้วยไม้นางกรายที่ได้จากการผสมตัวเองสามารถงอก และพัฒนาการได้ดีเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

จากการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่ (Self *A. graminifolia*) ที่มีอายุเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 – 14 วัน เมล็ดมีการพัฒนา และจะมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นเอมบริโอจะมีลักษณะเป็นสีเขียว จากนั้นเอมบริโอจะมีขนาดเพิ่มขึ้น ซึ่งระยะนี้เอมบริโอจะไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง (heterotroph) จึงจำเป็นที่จะต้องอาศัยน้ำตาล และธาตุอาหารที่ได้จากอาหารสังเคราะห์ที่นำมาใช้ในการเพาะเมล็ด (Arditti, 1992) และเมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 – 5 สัปดาห์ เอมบริโอจะมีขนาดเพิ่มขึ้นมีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ และจะดันเปลือกหุ้มเมล็ดแตกออก (เป็นระยะที่นับว่ามีการงอก

ของเมล็ดเกิดขึ้น) จากนั้นเอมบริโอจะพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มปลายแหลม และมีไรซอยด์เกิดขึ้น ซึ่งลักษณะการพัฒนาของเอมบริโอที่อยู่ภายในเปลือกหุ้มเมล็ดจนกระทั่งดันเปลือกหุ้มเมล็ดแตกออก เนื่องมาจากเมื่อเอมบริโอดูดน้ำจะส่งผลให้เซลล์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วจนทำให้เอมบริโอที่อยู่ภายในเปลือกหุ้มเมล็ดแตกออก (Arditti, 1992) จากนั้นจะมีการพัฒนาเกิดใบ 1 – 2 ใบ งอกขึ้นมาด้านบนของโปรโตคอร์ม เกิดราก 1 ราก และพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีความสมบูรณ์เมื่อเลี้ยงจนครบ 16 สัปดาห์ เช่นเดียวกับรายงานของ Bhadra and Bhowmik (2005) ที่นำเมล็ดของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ *Arundina graminifolia* มาเพาะลงในสูตรอาหารดัดแปลง VW (1949) พบว่าเมื่อเมล็ดพัฒนาเข้าสู่ระยะโปรโตคอร์ม จากนั้นจะพัฒนาเกิดใบเกิดขึ้น 1 – 2 ใบ งอกขึ้นมาด้านบนของโปรโตคอร์ม และจะมีรากเกิดขึ้น 1 – 2 ราก ซึ่งระยะการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบไผ่จะใช้เวลาในการงอกเพียง 2 – 3 สัปดาห์เท่านั้น และจะพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีความสมบูรณ์เมื่อเลี้ยงจนครบ 16 สัปดาห์ ซึ่งใกล้เคียงกับระยะการพัฒนาของเมล็ดและต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินทั่วไป (Arditti, 1992)

ขณะที่การทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่โดยมีเอื้องดินใบหมากเป็นแม่ (Cross *S. plicata* เป็นแม่) จะมีระยะการพัฒนาของเมล็ดที่ค่อนข้างช้า เนื่องจากเมล็ดที่ได้จะไม่สมบูรณ์โดยส่วนใหญ่จะมีแต่เปลือกหุ้มเมล็ด (testa) ไม่มีเอมบริโออยู่ภายในเมื่อนำมาเพาะลงในอาหารสังเคราะห์จึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ค่อนข้างต่ำมาก และจะพัฒนาเป็นต้นที่มีความสมบูรณ์น้อยมาก ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่น้อยนั้นอาจเนื่องมาจากเมล็ดจะมีการพักตัวเกิดขึ้น ซึ่งมีหลายแบบทั้งภายนอกและภายในเมล็ด (Rasmussen, 1995) และการศึกษาของ Van der Kinderen (1987) ได้รายงานไว้ว่าสารยับยั้งการงอกจะมีอยู่ภายในเมล็ดกล้วยไม้ โดยพบว่าสารยับยั้งการงอกที่เกี่ยวข้องกับการพักตัวของเมล็ดกล้วยไม้โดยทั่วไปคือสาร abscisic acid (ABA) เมื่อเปลือกหุ้มเมล็ดได้รับอิทธิพลจากสาร ABA ที่มีความเข้มข้นสูงมากๆ จะส่งผลให้เกิดการยับยั้งจากงอกของเมล็ดเกิดขึ้นทำให้กล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้ามสกุลมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ลดลงและสามารถงอกได้น้อย และมีความสมบูรณ์ของเมล็ดที่น้อยตามลำดับ และได้มีรายงานการศึกษาของ ศุภสวัสดิ์ เรืองไพศาล (2548) ที่ได้ศึกษาการผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) ในกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* ระหว่างคู่ผสมดอกสีม่วงปนเหลือง (YP-Yellow Purple) กับ ดอกสีม่วงครามก้านยาว (LPP-Long Peduncle Purple) พบว่า ลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่าง (YP x LPP) ฝักที่ได้จากการผสมจะมีเอมบริโอเพียง 16.0 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำ จากการศึกษายังพบว่าระยะการพัฒนาของเมล็ดจะแตกต่างจากเมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเอง โดย

เมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามที่มีเอมบริโอที่สมบูรณ์แต่ไม่งอกพบว่ามีเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ และจะพัฒนาเข้าสู่ระยะที่นับว่าเป็นการงอกของเมล็ด คือเอมบริโอมีขนาดเพิ่มขึ้น มีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ และจะดันเปลือกหุ้มเมล็ดแตกออกจะใช้เวลานานถึง 42 วัน และจะพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ใช้เวลา 16 สัปดาห์ ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Johnson and Kane (2007) โดยศึกษาการงอก และการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมในสกุล *Vanda* จะใช้เวลาในการงอกและการพัฒนาของต้นอ่อนที่ระยะเวลา 12 สัปดาห์ ส่วนรายงานการศึกษาของ Mao, et al. (2004) ที่ได้ศึกษาการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ดินลูกผสมในสกุล *Spathoglottis* ระหว่าง *Spathoglottis plicata* กับ *Spathoglottis kimballiana* พบว่า เมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามจะใช้ระยะเวลาในการงอกและการพัฒนาที่ 16 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการผสมข้ามสกุลในกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ และเอื้องดินใบหมาก

ส่วนการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ (Cross *S. plicata* เป็นแม่ ฝาก) เมล็ดกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้ามโดยใช้เทคนิคการถ่ายฝากนี้ จะมีระยะการงอก และการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ไม่แตกต่างจากเมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบหมาก โดยเอมบริโอจะมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นจากเดิม 5 – 10 เท่า ใช้ระยะเวลาที่ใกล้เคียงกันประมาณ 7 วัน หลังจากนั้นเอมบริโอจะมีขนาดเพิ่มขึ้น มีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ และจะดันเปลือกหุ้มเมล็ดแตกออกใช้เวลา 14 วัน จากนั้นเอมบริโอจะเจริญเป็นลูกกลมปลายแหลมที่แรกว่าโปรโตคอร์ม และมีใบและยอดเกิดขึ้น หลังจากนั้นจะพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ใช้เวลา 15 สัปดาห์ ซึ่งจะไม่แตกต่างจากเมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเอง ซึ่งในรายงานการศึกษาการเพาะเมล็ดที่ได้จากการถ่ายฝากนั้นยังคงไม่มีรายงานการศึกษา แต่ยังคงมีรายงานการศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินในสกุลต่างๆ อยู่บ้าง เช่น การศึกษาของ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และฉันทนา สุวรรณธาดา (2551) ที่ได้รายงานไว้ว่าเมล็ดกล้วยไม้ดินในสกุล *Eulophia graminea* จะใช้เวลาในการพัฒนาจนเป็นต้นอ่อนที่มีความสมบูรณ์ที่ 12 สัปดาห์

และการทดลองการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามโดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ (Cross *A. graminifolia* เป็นแม่ ฝาก) จากการศึกษาพบว่า เมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามโดยใช้เทคนิคการถ่ายฝากสามารถงอก และพัฒนาได้ค่อนข้างเร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ค่อนข้างสูง และจะให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาการงอกของเมล็ดที่ได้จากการศึกษาการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่หลังจากที่เพาะเมล็ดผ่านไป 7 – 10 วัน เมล็ดเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยที่เมล็ดมีการขยายขนาดเพิ่มจากเดิม 5 – 10 เท่า และจะดันเปลือก

หุ้มเมล็ดแตกออก (Arditti, 1992) และมีการรวมตัวของเซลล์กลุ่ม (clump cell) และพัฒนาเป็นโครงสร้างที่เรียกว่าโปรโตคอร์ม (Protocrom) (Pierik, 1987) ซึ่งบริเวณด้านปลายจะมีลักษณะแหลม และจะมีไรซอยด์ (rhizoid) เกิดขึ้นโดยรอบชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม จากนั้นจะพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มียอดเกิดขึ้นและมีใบ 1 – 2 ใบ งอกขึ้นมาด้านบนของโปรโตคอร์ม โดยจะใช้ระยะเวลาในการงอก และการพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีความสมบูรณ์ 14 สัปดาห์ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Bhadra and Bhowmik (2005) ที่ได้ศึกษาการงอกและการพัฒนาของเมล็ดจนเป็นต้นที่สมบูรณ์ของกล้วยเอื้องดินใบไผ่ *Arundina graminifolia* ซึ่งใช้ระยะเวลาในการพัฒนาจากเมล็ดจนเป็นต้นที่สมบูรณ์ 14 สัปดาห์

ในการศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินที่ได้จากการศึกษาการผสมเกสรทั้ง 5 รูปแบบบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และมันฝรั่งต้มที่เอาแต่น้ำ 50 กรัมต่อลิตร มีค่า pH 5.2 โดยเลี้ยงไว้ในสภาวะที่ได้รับแสงแตกต่างกัน 5 สภาพคือ 1). เลี้ยงในที่มืดตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 16 สัปดาห์ 2). เลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ย้ายออกที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 12 สัปดาห์ 3). เลี้ยงในที่มืด 8 สัปดาห์ ย้ายออกที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 8 สัปดาห์ 4). เลี้ยงในที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ และ 5). เลี้ยงที่มีแสงตลอด 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 16 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบหมาก เมื่อเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน และที่มีแสงตลอด 24 ชั่วโมงต่อวัน เมล็ดจะพัฒนาเกิดการงอกได้ดีที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของวุฒิชัย ฤทธิ และอนุพันธ์ กงบังเกิด (2556) ที่ศึกษาผลของแสงต่อการงอก และการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ดินว่านอึ่งสยามในสภาพปลอดเชื้อ *Eulophiasianensis* Rolfe ex Downie พบว่าเมล็ดที่เลี้ยงไว้ในที่มืดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แล้วย้ายออกในสภาวะที่ได้รับแสงอีก 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 12 สัปดาห์ จะสามารถชักนำให้เมล็ดมีการงอกและการพัฒนาได้ดีที่สุด (นับจากระยะการพัฒนาที่ 3 – 7) มีเปอร์เซ็นต์การงอก 37.5 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่เลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 10 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายออกมาเลี้ยงในสภาวะที่ได้รับแสงอีก 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 14 สัปดาห์ จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกรองลงมา คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแสงจะมีผลต่อการงอก และการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ในบางช่วง ดังรายงานของ Larry & Mcdonald (1995) ที่ได้รายงานไว้ว่า อาจเป็นไปได้ที่ในสภาวะที่มืดหรือการที่ได้รับแสงสลับช่วงมืดสามารถที่จะกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ และรายงานของ Burgeff (1936) พบว่า แสงจะมีอิทธิพลต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงหลายชนิด ในช่วงเวลาที่ได้รับแสง รวมถึงคุณภาพของแสง ซึ่งแสงจะทำหน้าที่ให้พลังงานต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

และ พบว่ากล้วยไม้สามารถที่จะเจริญเติบโตได้โดยการใช้แสงเทียม แต่ต้องกำหนดความเข้มแสงและคุณภาพของแสงให้ถูกต้อง และยังสามารถส่งเสริมให้เมล็ดงอก และเจริญเติบโตได้เร็วกว่าปกติ 1 – 2 ปี

ส่วนเมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่ ที่เลี้ยงไว้ในที่มืด 24 ชั่วโมงต่อวัน มีอัตราการงอก และการพัฒนาของเมล็ดสูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ อนุพันธ์ กงบังเกิด และแสงเดือน วรรณชาติ (2550) พบว่า เมล็ดที่ได้รับความมืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน อีก 12 สัปดาห์ จะส่งผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดถึง 92.64 เปอร์เซ็นต์ และรายงานการศึกษาของ Kauth (2006) ที่ศึกษาผลของแสงต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ *Calopogon tuberosus* ที่เลี้ยงไว้ในสภาวะที่มืด 24 ชั่วโมงต่อวัน ส่งผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกและการพัฒนาดีที่สุด 45 เปอร์เซ็นต์

ขณะที่เมล็ดของกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้าม โดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ จะมีเปอร์เซ็นต์การงอก และการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ต่ำมาก เมื่อเลี้ยงในที่มืด 8 สัปดาห์ ย้ายออกมาเลี้ยงที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 8 สัปดาห์ เป็นเวลา 16 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกและการพัฒนาของเมล็ดสูงสุด 12.34 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Stancato, Mazzafera and Buckeridge (2002) ที่ทดลองเลี้ยงกล้วยไม้ลูกผสมข้ามสกุลระหว่าง *Catteya forbesii* Lindl. X *Laelia tenebrosa* Rolfe โดยเลี้ยงไว้ในสภาวะที่ได้รับแสงในแต่ละวันที่แตกต่างกัน คือ 1 ชั่วโมงต่อวัน 6 ชั่วโมงต่อวัน และ 14 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า เมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามจะมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ไม่แตกต่างกัน

ซึ่งการทดลองในครั้งนี้ เมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่ โดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ ที่เลี้ยงในที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ มีอัตราการงอกสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมาก โดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ เมื่อเพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มืดและที่มีแสงที่แตกต่างกัน ที่อายุ 16 สัปดาห์ จะให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ทุกสภาวะที่ได้รับแสง เช่นกัน และรายงานการศึกษาผลของแสงต่อการงอก และการพัฒนาของเมล็ดบางฉบับที่แสดงให้เห็นว่า แสงนั้นมีผลทำให้เมล็ดเมล็ดกล้วยไม้เกิดการงอกได้ดี (Whitlow, 1996; Henrich, et al., 1981; Myere and Ascher, 1982) โดยพบว่ากระบวนการงอกของเมล็ดจะเกี่ยวข้องกับ phytochrome ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ตอบสนองต่อแสงและความมืด ซึ่งจะมีอยู่ 2 รูปแบบคือ P_R เป็นรูปที่ไม่แอลทีฟ (inactive from) และ P_{FR} เป็นรูปแอลทีฟ (active from) phytochrome ทั้งสองรูปนี้

สามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้โดยแสงสีแดง (red light) ที่มีความยาวคลื่นแสงในช่วง 660 นาโนเมตร ซึ่งจะเปลี่ยนจาก P_R ไปเป็น P_R สามารถกระตุ้นให้เมล็ดเกิดการงอกได้ ส่วนแสงแดงไกล (far red light) ที่มีความยาวของช่วงคลื่นแสงอยู่ที่ 730 นาโนเมตร โดยจะเปลี่ยนจาก P_{FR} ให้เป็น P_R ซึ่งจะทำให้เมล็ดเกิดการพักตัวเกิดขึ้น โดยที่ความมืดและอุณหภูมิสามารถที่จะทดแทนแสงแดงไกลได้ (Larry and Mcdonaldo, 1995) จากรายงานของ Rasmussen and Rasmussen (1991) พบว่า เมล็ดที่เลี้ยงไว้ในสภาวะที่มืดแล้วได้รับแสงสีแดง (red light) จะสามารถกระตุ้นให้เมล็ดเกิดการงอก และมีการพัฒนาของเมล็ด *Dactylorhiza majalis* ได้ดีกว่าเมล็ดที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มืดอย่างต่อเนื่อง ส่วนรายงานของ (Illyes, et al., 2005) ที่ศึกษาการงอกและการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ดิน *Liparis loeselii* ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Fast medium (Fast, 1974) Debergh medium (Van Weas and Debergh, 1986) และสูตร ½ MS โดยเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มืด พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกได้ดีกว่าเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงทุกสูตรอาหาร ที่อายุเพาะเลี้ยง 16 สัปดาห์ ซึ่ง Smith (1982) สรุปว่า แสงเป็นแหล่งพลังงานจำเป็นที่พืชต้องนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม เพื่อนำมาใช้ในการสร้างอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของพืชเป็นต้นที่สมบูรณ์ เช่นเดียวกับวงจันทร์ วงศ์แก้ว (2535) ที่กล่าวว่า ปัจจัยใดที่มีผลต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ก็จะมีผลต่อการสังเคราะห์แสงด้วย

จากการศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยเอื้องดินใบหมาก กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ และลูกผสมที่ได้จากการผสมข้าม รวมถึงลูกผสมที่ได้จากการถ่ายฝาก ในสภาพปลอดเชื้อพบว่า เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบการพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้ที่ได้จากการศึกษาการผสมเกสรทั้ง 5 รูปแบบ โดยมีรูปแบบการพัฒนาของเมล็ดที่ไม่แตกต่างกัน โดยเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่โดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่นั้น จะมีระยะเวลาในการพัฒนาของเมล็ดที่ช้ากว่าเมล็ดที่ได้จากการผสมในรูปแบบอื่นๆ ส่วนเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามจะมีความสมบูรณ์ของเมล็ดที่น้อย โดยจะมีแต่เปลือกหุ้มเมล็ด ภายในเปลือกหุ้มเมล็ดจะไม่มีเอมบริโอเกิดขึ้น และมีระยะเวลาในการงอกที่ช้ากว่าเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามในรูปแบบต่างๆ ถึง 2 เท่า

ผลของน้ำมะพร้าว และน้ำต้มมันฝรั่งต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนกล้วยไม้ดินในรูปแบบต่างๆ

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก บนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 20 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 0 50 100 150 และ 200 มิลลิลิตรต่อลิตร และน้ำต้มมันฝรั่งที่เอาแต่น้ำ 0 25 75 และ 100 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อ

ลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนต้นที่แตกใหม่สูงสุด มีจำนวนยอดที่แตกใหม่ และมีจำนวนใบต่อต้นที่ดี รวมไปถึงมีการพัฒนาความสูงต้นที่ดี โดยจะส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดีกว่าสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้นสูง และน้ำต้มมันฝรั่งในปริมาณที่สูงอีกด้วย เมื่อปริมาณของน้ำมะพร้าวในอาหารเพาะเลี้ยงเพิ่มมากขึ้นจะมีผลทำให้การเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้ มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากในน้ำมะพร้าวจะประกอบไปด้วยสารอินทรีย์ต่างๆ และมีสารอนินทรีย์หลายชนิดที่ประกอบไปด้วยสารสำคัญคือสารในกลุ่มไซโตไคนิน เช่น zeatin และ zeatin riboside ซึ่งจะเป็นสารที่มีบทบาทในการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และยังช่วยส่งเสริมให้เซลล์มีการขยายขนาดเพิ่มมากขึ้น (Letham, 1973) และยังพบว่าในน้ำมะพร้าวยังมี 2-(3-methyl-but-2-enylamino) purine-6-one ซึ่งจะเป็นไซโตไคนินที่ช่วยกระตุ้นให้เซลล์มีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นได้ดีอีกด้วย แต่จะไม่มีผลในการแบ่งเซลล์ (Letham, 1973) ในการศึกษาของ White, et al. (1989) ยังพบ oligosaccharides ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่อยู่ในน้ำมะพร้าว เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการเร่งการเจริญเติบโต ในขณะที่ถ้าได้รับสาร oligosaccharides ในปริมาณที่มากจนเกินไป จะมีผลทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่นำมาเพาะเลี้ยงได้ และน้ำต้มมันฝรั่งที่เติมลงไปในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจะช่วยส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดีกว่าสูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง ซึ่งในมันฝรั่งจะมีสาร niacin ที่เป็นส่วนประกอบของวิตามินบีชนิดหนึ่ง โดยจะเข้าไปทำหน้าที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของต้นอ่อน และยังช่วยเพิ่มกระบวนการสังเคราะห์ NAD และ NADP ที่เป็น enzyme ที่มีผลช่วยให้เกิดพลังงานแก่กล้วยไม้โดยจะทำให้สามารถนำไปใช้ในการเร่งผลิตได้ นอกจากนี้การใช้สารประกอบต่างๆ ยังทำให้กล้วยไม้มีการเจริญและการพัฒนาของต้นอ่อนที่ดีขึ้น โดยเฉพาะในระยะที่เป็นต้นอ่อนจะสามารถเจริญและมีการพัฒนาได้เป็นอย่างดี (Arditti, 1967) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Suwannasri, et al. (2013) ที่ได้ทำการศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินในสกุล *Spathoglottis* sp พบว่า ในอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนให้ต้นอ่อนมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดี และมีการเจริญเติบโตดีที่สุด เช่นเดียวกับรายงานของ วีรชัย ศุกุลพงศ์ (2517) พบว่า เมื่อใช้น้ำต้มมันฝรั่งในปริมาณที่ต่ำคือ 50 กรัมต่อลิตร เติมลงในสูตรอาหาร VW โดยจะสามารถชักนำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ในสกุล *Vanda rothschildiana* มีการเจริญและการพัฒนาที่ดีขึ้น ส่วนการศึกษาของ Murdad, et al. (2010) ที่เติมน้ำต้มมันฝรั่งความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Phalenopsis gigantea* มีการเจริญเติบโตที่ดี เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 150 วัน ซึ่งจะเห็น

ได้ว่ามันฝรั่งยังมีความสำคัญในการชักนำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ดินมีการเจริญเติบโต และมีการพัฒนาลักษณะของสัณฐานวิทยาที่ดี โดยมันฝรั่งยังประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด เช่น ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส เป็นต้น ซึ่งน้ำตาลดังกล่าวยังเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีความสำคัญในการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยไม้ (Schwimmer, 1953)

จากการทดลองเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ พบว่า สูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 75 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดยอดที่แตกใหม่สูงสุด เกิดต้นที่แตกใหม่สูงสุด และยังส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดใบต่อต้นสูงที่สุด เกิดโปรโตคอร์มได้ดี ซึ่งการทดลองการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่จะใกล้เคียงกับการศึกษาของ (Martin, 2007) ที่ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ และชิ้นส่วนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ *Arundina graminifolia* บนสูตรอาหาร ½ MS ที่เติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้ให้ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงเกิดการพัฒนาได้ดีที่สุด 89 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ พรสุดา ศิริรักวงษา (2554) พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ *Arundina graminifolia* ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดจำนวนใบ และมีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงที่สุด และรายงานการศึกษาของบุญยืน กิจวิจารณ์ และไพบูลย์ มงคลถาวรชัย (2527) ที่ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ในหลอดทดลอง โดยเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร VW (1949) ดัดแปลงโดยเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเนื้อเยื่อของลำต้นสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ได้จำนวนมาก ซึ่งการใช้น้ำมะพร้าวและน้ำต้มมันฝรั่งที่มีความเข้มข้นที่ไม่สูงมากจะช่วยส่งเสริมให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่มีการเจริญ และการพัฒนาได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวและน้ำต้มมันฝรั่งในปริมาณที่สูง สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Kotomori and Murashige (1965) ได้กล่าวไว้ว่าไซโคไคนินที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวอาจมีผลเข้าไปยับยั้งการเจริญเติบโตและการพัฒนาทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ในระยะแรก หากได้รับน้ำมะพร้าวในปริมาณที่สูงมากจนเกินไป ซึ่งในน้ำมะพร้าวที่แก่จะมีสารบางอย่างที่มีผลในการยับยั้งการเจริญและการพัฒนาของเนื้อเยื่อได้ (Cutter and Kattherine, 1954)

ส่วนต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่ โดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่นั้น พบว่า ต้นอ่อนมีการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ค่อนข้างช้า จึงไม่สามารถที่จะนำมาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการทดลองผลของน้ำมะพร้าวและน้ำต้มมันฝรั่งได้

ขณะที่การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่ โดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่

เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดี โดยต้นอ่อนจะมีจำนวนต้นที่แตกใหม่ จำนวนใบ ความสูงต้น และสามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มได้ดีที่สุด และมีแนวโน้มในการเจริญเติบโตดีกว่าสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว และน้ำต้มมันฝรั่งในปริมาณที่สูง ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ กิ่งกาญจน์ พิชญกุล สมทรง โชติชื่น และปาริฉัตร สังข์สะอาด (2548) ที่ได้ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กล้วยลูกผสมในสกุล *Spathoglottis* 4 ชนิด พบว่า อาหารสังเคราะห์สูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 70 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่งบด 70 กรัมต่อลิตร และผงถ่านกัมมันต์ (AC) สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาดีที่สุด และเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

และการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมาก โดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต้นอ่อนจะสามารถพัฒนา และมีจำนวนยอดที่แตกใหม่สูงที่สุด มีจำนวนใบที่แตกใหม่สูงที่สุด มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด และยังสามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มได้สูงที่สุด ในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร

จากการทดลองการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้ามโดยวิธีการถ่ายฝาก ทั้งเอื้องดินใบหมาก และเอื้องดินใบไผ่เป็นแม่นั้น จะมีการตอบสนองต่อน้ำมะพร้าว และน้ำต้มมันฝรั่งในปริมาณที่แตกต่างกันซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ อัญชลี จาละ (2553) ที่ได้ทำการศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้นางอั้วสาคริก *Pecteilis sagarikii* Seidenf. โดยนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 4 เดือน ย้ายเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร Vacin and Went (1949) โดยเติมน้ำมะพร้าว และน้ำต้มมันฝรั่งที่ความเข้มข้น 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่า ในสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวและน้ำต้มมันฝรั่งที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดเป็นโปรโตคอร์มได้สูงสุด และส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และการศึกษาของ พชระ บุตรโคตร (2546) โดยศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินลูกผสมในสกุล *Spathoglottis* พันธุ์ดอกสีม่วงเหลือง และพันธุ์ดอกสีเหลืองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง VW (1949) พบว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 75 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

ในขณะที่สูตรอาหารที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง 75 กรัมต่อลิตร จะส่งผลให้ต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามมีการพัฒนา และการเจริญเติบโตช้าที่สุดในขณะที่รายงานการศึกษาของ สุจรรยา เรืองวีรยุทธ (2539) เมื่อพิจารณาการพัฒนาเป็นต้นของโปรโตคอร์ม พบว่าการเติมน้ำต้มมันฝรั่งลง

ไปในสูตรอาหารที่นำมาเพาะเลี้ยงจะช่วยส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดยอดได้ดี โดยการเติมน้ำต้มมันฝรั่งลงในสูตรอาหารที่เพาะเลี้ยง มันฝรั่งจะทำให้โปรโตคอร์มมีการพัฒนาเกิดการแตกยอดใหม่ได้ดีกว่าสูตรอาหารที่ไม่มีการเติมมันฝรั่ง ส่วนรายงานการศึกษาของ วสันต์ แซ่ตัน และ ครรชิต ธรรมศิริ (2010) ที่ได้ทำการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่งต่อการเจริญเติบโตของว่านเพชรหึง *Grammatophyllum speciosum* Blume ซึ่งจากการศึกษาพบว่าอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้โปรโตคอร์มมีการพัฒนาเกิดเป็นต้นอ่อนได้สูงที่สุด และการศึกษาของ อนุพันธ์ และคณะ (2555) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องจำปาน่าน *Dendrobium sulcatum* Lindl. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) จากการศึกษาพบว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร ทำให้หน่อใหม่มีใบเฉลี่ยสูงที่สุด ส่วนสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดหน่อใหม่สูงที่สุด และยังพบว่าอาหารที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ *Phalaenopsis* เจริญเป็นต้นอ่อนที่ดี อาจเนื่องมาจากในน้ำต้มมันฝรั่งจะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน รวมถึงสารประกอบฟีนอลิก กรดอะมิโน และกรดอินทรีย์ต่างๆ (Islam, et al., 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าในมันฝรั่งยังพบสารพวกโพลีเอมีน ที่มีผลต่อการเจริญและการพัฒนาของเซลล์ และทำให้เนื้อเยื่อพืชมีการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสมากขึ้น (Kaur-Sawhney, et al., 1982)

ผลของฮอร์โมนไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินในแต่ละรูปแบบ

จากการศึกษาผลของฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในแต่ละรูปแบบ ทั้ง 4 รูปแบบ บนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร และฮอร์โมน BA Kinetin และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนเอื้องดินใบหมากที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนต้นที่แตกใหม่สูงสุด และจำนวนยอดที่แตกใหม่สูงสุด และต้นอ่อนจะมีการเจริญเติบได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kinetin ในความเข้มข้นที่สูงทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน มีส่วนช่วยกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินมีการเจริญเติบโตได้ดี (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546) ซึ่งจากการทดลองเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยเอื้องดินใบหมากจะให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ (Sinha, et al., 2009) ที่พบว่าชิ้นส่วนข้อของ

กล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก *S. plicata* ที่เติมฮอร์โมน TDZ สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อพัฒนาเกิดเป็นต้นที่แตกใหม่ได้ดี และยังส่งเสริมให้เกิดยอดใหม่ได้ดีอีกด้วย

ซึ่งจากการทดลองเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากบนสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะช่วยส่งเสริมให้ต้นอ่อนเกิดการแตกรากเฉลี่ยได้สูงสุด ส่วนรายงานการศึกษาของ Suwannasri, et al. (2013) พบว่า สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก *Spathoglottis plicata* เกิดการแตกรากได้ดีที่สุด 5.8 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 2.75 เซนติเมตร และการศึกษาของ Sinha, et al. (2009) พบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมกล้วยบด 50 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 6.3 ราก และสูตรอาหารที่เติมมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนแตกรากได้ดีที่สุดเฉลี่ย 4.2 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด จากการทดลองเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากในสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าต้นอ่อนไม่สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มเกิดขึ้นได้ แตกต่างจากรายงานการศึกษาของ Teng, et al. (1997) ที่ได้ศึกษาการผลของฮอร์โมน NAA และ BA ต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนข้อของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มได้สูงที่สุด และรายงานการศึกษาของ วีรภัทรา ทิพย์วารี และณัฐา โพธาภรณ์ (2553) ที่ศึกษาผลของโคลชิซินต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มเอื้องดินใบหมาก พบว่า สารละลายโคชิซินความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ทำให้โปรโตคอร์มมีอัตราการรอดชีวิตต่ำที่สุด 51.67 เปอร์เซ็นต์ และมีผลทำให้ความสูงต้น ความยาวใบ ความยาวราก และจำนวนรากลดลง แต่ความกว้างใบเพิ่มขึ้น ตามลำดับวิทยาพร พรชุติ และครรชิต ธรรมศิริ (2552) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม อายุ 4 สัปดาห์ บนอาหารวุ้นสูตร ½ MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาไปเป็นยอดมากที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และโปรโตคอร์มสามารถเจริญไปเป็น Protocorm-like bodies (PLBs) ได้มากที่สุด และเมื่อเลี้ยงต่อเป็นเวลา 3 เดือน ต้นอ่อนและPLBs ที่ได้นั้นสามารถพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาวิจัยของ Kunthonluxsamee, et al. (2005) พบว่า เมล็ดสามารถงอกและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ดีในสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน จากนั้นโปรโตคอร์มจะพัฒนาเกิดเป็นไรโซมขึ้นที่บริเวณข้อ และตาข้างแล้วจึงพัฒนาเป็นยอดได้

และการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ ที่อายุเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโต และสามารถพัฒนาเป็นโครงสร้างอวัยวะต่างๆ ได้ดี เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นที่แตกใหม่ได้สูงสุด และมี

แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดีกว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ที่ความเข้มข้นสูง รวมถึงสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน Kinetin และ TDZ ตามลำดับ และยังส่งเสริมให้ต้นอ่อนพัฒนาเกิดใบใหม่ ชักนำให้เกิดราก และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Martin (2007) ที่ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ (*A. graminifolia*) โดยใช้ชิ้นส่วนข้อและชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร ½ MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับฮอร์โมน Kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนข้อ และโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเกิดเป็นรากใหม่ได้สูงสุด และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดเช่นเดียวกับการศึกษาของ สุจรรยา เรืองวีรยุทธ และคณะ (2548) จากการศึกษาพบว่า กล้วยไม้เข็มขาว (*Vanda lilacina* Teijsm. & Binn.)ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ในระดับความเข้มข้น 5 µM สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ เกิดใบใหม่ และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Yan, et al. (2006) ที่เลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ *Cypripedium flavum* เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เติม Kinetin 2.32 µM ร่วมกับมันฝรั่งบด 20 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดต่อต้นสูงสุด

ในขณะที่สูตรอาหารที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับรายงานของ Naing, et al. (2011) ที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดเป็นโปรโตคอร์ม ของกล้วยไม้ *Coelogyne cristata* ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มได้สูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ส่วยรายงานการศึกษาของ Huan and Tanaka (2004) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกล้วยไม้ในสกุล *Cymbidium* พบว่า แคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มได้สูงสุด 92.5 เปอร์เซ็นต์

ส่วนการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่โดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่เติม Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนแตกเป็นต้นใหม่ได้ดี มีความสูงต้นที่แตกใหม่สูงสุด และสามารถชักนำให้เกิดใบต่อต้นสูงสุด อีกทั้งยังมีแนวโน้มที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติม Kinetin ความเข้มข้นสูง และสูตรอาหารที่เติม BA และ TDZ อีกด้วยโดยเฉพาะสูตรอาหารที่ได้รับ TDZ ความเข้มข้นสูงจะทำให้ต้นอ่อนมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่น้อยและมีการเจริญเติบโตที่ต่ำ เช่นเดียวกับรายงานของ Sankhla, et al. (1996) ที่รายงานไว้ว่าสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำ (น้อยกว่า 1 µM) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง และยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สมบูรณ์

จากการศึกษาลักษณะของต้นอ่อนที่ได้รับ Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นจะมีความสมบูรณ์มีสีเขียว แผ่นใบมีรอยพับจีบ และมีจำนวนใบที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Kishor, et al., (2006) พบว่า อาหารสูตรที่เติม Kinetin 2.3 ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสม *Ascocenda* 'Kangla' มีความยาวยอด จำนวนใบที่แตกใหม่ ความยาวใบที่แตกใหม่ และจำนวนรากสูงที่สุด และรายงานของ Hongthongkham and Bunnag (2014) พบว่าสูตรอาหารที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.05 ยอด ซึ่งจากการศึกษายอดที่แตกใหม่จะเกิดขึ้นบริเวณส่วนข้อ (Nod) โดยมีใบเกิดขึ้น 1 - 2 ใบ นอกจากนี้สูตรอาหารที่เติม Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด และมีความยาวรากที่แตกใหม่สูงสุด โดยลักษณะของรากที่แตกใหม่จะมีลักษณะสีเขียวบริเวณปลายราก และมีขนรากสีขาวขึ้นปกคลุมทั่วทั้งรากในบริเวณที่อยู่เหนือผิวของอาหารที่นำมาเพาะเลี้ยง ให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ Hongthongkham and Bunnag (2014) ที่เพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ *Aerides odorata* Lour. เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สูตรอาหารที่เติม Kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดโปรโตคอร์มได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม Kinetin ความเข้มข้นสูง แตกต่างจากรายงานการศึกษาของ Huan, et al., (2004) ที่พบว่า เมื่อใช้ TDZ ความเข้มข้นต่ำ (0.01 - 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพียงอย่างเดียว โดยจะสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ลูกผสมในสกุล *Cymbidium* Twilight Moon 'Day Light' เกิดเป็นโปรโตคอร์มได้ดีมากกว่าอาหารสูตรที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สมบูรณ์

ในขณะที่การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบไผ่โดยมีการฝากการผสมตัวเองลงไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ จากการศึกษาพบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ สามารถชักนำให้ต้นอ่อนแตกเป็นต้นใหม่ได้สูงสุด และมีความสูงของต้นที่แตกใหม่สูงสุด จากการศึกษาการใช้ TDZ ที่ความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้ต้นอ่อนมีพัฒนาการที่ช้าลง และต้นอ่อนจะมีความสมบูรณ์ที่ลดลง ซึ่ง TDZ มีผลในการยับยั้งการยืดยาวยอดและลำต้น (Huetteman and Preece, 1993) สอดคล้องกับการศึกษาของอนุพันธ์ กงบังเกิด และแสงเดือน วรรณชาติ (2550) ที่ได้ศึกษาเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ ที่เติม TDZ ร่วมกับ 2, 4-D พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตดีที่สุด และมีแนวโน้มการเจริญและพัฒนาเป็นอวัยวะต่างๆได้ดีกว่าสูตร

อาหารที่เติม TDZ และ 2, 4-D ความเข้มข้นสูง ส่วนการศึกษาของ (Nayak, et al., 1997) โดยศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนใบของกล้วยไม้ *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and Mc Cann บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ Wattanawikkit, et al. (2011) พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Paphiopedilum callosum* ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.5 µM สามารถส่งเสริมให้เกิดจำนวนยอดต่อต้นสูงสุด และมีความยาวยอดสูงสุด ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของโสภา ชูเพ็ง(2555) ที่ได้ศึกษาผลของ TDZ ต่อการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Eulophia andamanensis* Rchb.f. พบว่า สูตรอาหารที่เติม TDZ 0.22 µM สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 2.54 ยอด และมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 6.73 ใบ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สูตรอาหารที่เติม Kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนเกิดรากได้สูงสุด และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด และมีแนวโน้มการเกิดรากได้น้อยลงเมื่อเติม Kinetin ความเข้มข้นที่สูงขึ้น แตกต่างจากรายงานการศึกษาของ วรางคณา กาฆัม และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์ (2552) โดยศึกษาผลของ Kinetin และ IAA ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไส้ปลาไหล *Barclaya longifollia* บนอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS (1962) พบว่าอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนและใบใหม่ได้มากสุด และสูตรอาหารที่เติม TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโปรโตคอร์มสูงสุด สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Pierik and Steegmans (1972) ที่ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้เพชรหึงในอาหารสูตรที่เติม TDZ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มใหม่สูงสุด ได้ดีกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง เมื่อต้นอ่อนได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณที่สูงมากจะมีผลทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา และนอกจากนี้ยังพบว่า ชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงถึงแม้ว่าจะเป็นชนิดเดียวกันหรือแตกต่างสายพันธุ์ที่มีระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน จะให้ผลตอบสนองต่อสัดส่วน และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน และในระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นสูงเกินไป จะมีผลต่อการเจริญเติบโต การพัฒนาของอวัยวะ และอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วย (Pierik, 1997)

ผลของฮอร์โมนออกซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินในแต่ละรูปแบบ

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน (seedling) ของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก บนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำต้มมันฝรั่ง 25 กรัมต่อ

ลิตร และเติมฮอร์โมน NAA IAA IBA และ 2, 4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมตัวของเอื้องดินใบหมาก ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนพัฒนาเป็นต้นที่แตกใหม่สูงสุด และมีความสูงต้นที่แตกใหม่สูงสุด รวมไปถึงสามารถชักนำให้เกิดยอดที่แตกใหม่สูงสุด ซึ่ง IBA ที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงความเข้มข้นต่ำมีผลทำให้เกิดการพัฒนาทางสัณฐานวิทยาที่ดีกว่าการเติม IBA ที่ระดับความเข้มข้นสูง เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม NAA IAA และ 2, 4-D ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สอดคล้องกับการศึกษาของ (Maridass, et al., 2012) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Eulophia eipidendraea* (Retz) พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 43.75 ยอด และมีความยาวยอดสูงสุด 20.25 มิลลิเมตร ส่วนรายงานการศึกษาของอนุพันธ์ กงบังเกิด และพันธิตา กมล (2549) ที่ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กระเจียวขาว (*Curcuma parviflora* Wall.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมนในกลุ่มออกซินได้แก่ IAA IBA และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สูตรอาหารที่เติม IAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีจำนวนยอดสูงที่สุด ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม IBA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2ip 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Cymbidium* ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงที่สุด 4.4 ยอด มีความยาวยอดเฉลี่ย 8.20 มิลลิเมตร และยังส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Shadparvar, 2012) รวมไปถึงรายงานการศึกษาของ Bhadra and Hossain (2003) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน rhizome ของกล้วยไม้ *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. บนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำให้มีตายอดสูงสุดและมียอดสูงสุด ลักษณะของต้นที่แตกใหม่ที่ได้จากการทดลอง จะมีใบและยอดเกิดขึ้น 1 - 2 ใบ มียอดเกิดขึ้น 1 ยอด ลำต้นมีลักษณะสีเขียวสมบูรณ์ ส่วนสูตรอาหารที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาเกิดรากได้สูงสุด และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด รากที่แตกใหม่จะมีลักษณะสีเขียวบริเวณปลายราก และมีขนรากขึ้นปกคลุมทั่วทั้งรากบริเวณเหนือผิวอาหารที่เพาะเลี้ยง สอดคล้องกับรายของ Leng, et al. (1981) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสกุล *Aranda barbara* Bush. พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1996) ที่เติม IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาของใบ และรากได้ดีที่สุด

และการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมตัวเองของกล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ เพาะเลี้ยงจนครบอายุ 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นที่แตกใหม่สูงสุด มีความสูงต้นที่แตกใหม่สูงสุด และมีแนวโน้มการเกิดต้นใหม่ได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้นสูง โดยต้นที่แตกใหม่จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สมบูรณ์มีใบ 1 - 2 ใบ มียอด 1 ยอด และเกิดราก 1 ราก ใกล้เคียงกับการศึกษาของ (Brissette, et al., 1990) พบว่า การใช้ IAA ปริมาณความเข้มข้นต่ำ เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้เกิดการเจริญและการเปลี่ยนแปลงเป็นตาหน่อของ lowbrush blueberry และยอดสูงสุด

ขณะที่สูตรอาหารที่เติม NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุด และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด รากมีลักษณะสีเขียว และมีขนรากขึ้นปกคลุมบริเวณรากที่อยู่เหนือผิวอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้นต่ำ จะส่งเสริมให้ต้นอ่อนสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้นสูง เมื่อเทียบกับฮอร์โมนออกซินชนิดต่างๆ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ (Parvin, et al., 2009) ที่ได้ศึกษาการเจริญและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ในสกุลหวาย *Dendrobium* ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดเฉลี่ย 5.15 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 2.67 เซนติเมตร ได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้นสูง ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ (Khatun, et al., 2010) ที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดรากและการศึกษาการพัฒนาของต้นอ่อนในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พบว่าต้นอ่อนสามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อีกทั้งรายงานการศึกษาของ Koirala, Pradhan and Pant (2013) โดยศึกษาการงอก และการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Coelogyne fuscescens* Lindl. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนเกิดรากได้สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วันและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้ *A. graminifolia* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม น้ำตาลซูโครช 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด รากที่เกิดขึ้นมีสีเขียว และมีความยาวรากสูงสุด (Bhadra and Bhowmik, 2005) และจากการศึกษาพบว่าสูตรอาหารที่เติม NAA 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มได้สูงสุด 3.80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โปรโตคอร์มจะพัฒนาเป็นยอดและรากเกิดขึ้น และพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีความสมบูรณ์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ David, Gansau and Abdullah (2008) ที่ศึกษาผลของ NAA และ BAP ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Vanda helvola* ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Knudson C ที่เติม BAP

2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มใหม่ได้สูงสุด 65 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังส่งเสริมให้มีการพัฒนาเกิดยอดใหม่ และใบใหม่ได้ดี หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 180 วัน ส่วนการศึกษาการพัฒนาของโปรโตคอร์ม และการชักนำให้เกิดยอดและแคลลัสในกล้วยไม้สกุล *Paphiopedilum* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2.69 µM ร่วมกับ TDZ 0.45 µM สามารถชักนำให้เกิดการพัฒนาเป็นชิ้นส่วนโปรโตคอร์มใหม่เกิดขึ้นเฉลี่ยสูงสุด 30 เปอร์เซ็นต์ และสามารถชักนำให้เกิดยอด และรากเฉลี่ยสูงสุดตามลำดับ โดยต้นอ่อนที่ได้จากการพัฒนาของโปรโตคอร์มสามารถแตกยอด และรากได้อย่างสมบูรณ์ต้นอ่อนมียอดเกิดขึ้น 1 ยอด มีใบ 1 – 2 ใบ และมีราก 2 – 3 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน (Hong, Chen and Chang, 2008)

ในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่ โดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบหมากเป็นแม่ เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เติม 2, 4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนต้นที่แตกใหม่สูงสุด และมีจำนวนรากที่แตกใหม่สูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สอดคล้องกับรายงานของ Hajong, Kumaria and Tandon (2013) ที่ได้ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนข้อกล้วยไม้ *Dendrobium chrysanthum* Wall. ex Lindl. จากการศึกษาพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D 5 µM สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีเฉลี่ย 2.00 ต้นต่อชิ้นส่วน และมีความสูงต้นใหม่ 0.70 เซนติเมตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน รวมไปถึงรายงานการศึกษาของ Mondal, Aditya and Banerjee (2013) ที่ศึกษาการพัฒนาการเกิดยอด และโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Doritis pulcherrima* Lind. ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Knudson's C พบว่าสูตรอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนสามารถส่งเสริมให้เกิดรากได้สูงสุด รองลงมาคือสูตรอาหารที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้เฉลี่ย 1.67 ราก เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ (Aktar, et al., 2007) ที่ศึกษาการชักนำให้เกิดจากต้นกล้วยไม้ในสกุล *Dendrobium* เพาะเลี้ยงบนอาหาดัดแปลงสูตร VW ที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดรากได้สูงสุด มีความยาวราก และน้ำหนักรากดีที่สุด ที่อายุเพาะเลี้ยง 30 วัน รวมถึงรายงานการศึกษาของ Khatun, et al. (2010) โดยศึกษาการเจริญและการพัฒนาของกล้วยไม้หวายลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมนที่แตกต่างกันคือ BAP+NAA BAP+IAA BAP+IBA และ IAA+IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาพบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม IAA ร่วมกับ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชัก

นำให้มีจำนวนรากสูงสุดเฉลี่ย 6.30 ราก และมีความรากเฉลี่ยสูงสุด 2.34 เซนติเมตร ที่อายุเพาะเลี้ยง 60 วัน

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีจำนวนยอดที่แตกใหม่ มีจำนวนใบต่อต้นสูงที่สุด และสามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโปรโตคอร์มสูงสุด 0.35 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Das, Kumaria and Tando (2007) ที่ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Cymbidium devonianum* Paxt. พบว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถส่งเสริมให้โปรโตคอร์มแตกเป็นโปรโตคอร์มใหม่ได้สูงสุด 63.7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้สูงสุด โดยเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.2 ยอด และเกิดรากเฉลี่ย 3.4 ราก พัฒนาจากชิ้นส่วนโปรโตคอร์มที่ใช้เพาะเลี้ยง ส่วนรายงานการศึกษาของวิชาญ แฟงเมือง และอนุพันธ์ กงบังเกิด (2555) พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium lamellatum* Lindl. มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 2.3 ใบ

ส่วนการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมากโดยฝากการผสมเกสรต้นเดิมไปด้วยโดยให้เอื้องดินใบไผ่เป็นแม่ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่า สูตรอาหารที่เติม 2, 4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนแตกเป็นต้นใหม่ได้สูงสุด มีความสูงต้นที่แตกใหม่เฉลี่ยสูงสุด และส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาแตกใบใหม่และยอดใหม่ได้สูงสุด และมีแนวโน้มการพัฒนาได้ดีกว่า 2, 4-D ที่ความเข้มข้นสูง เมื่อเปรียบเทียบกับฮอร์โมน NAA IAA และ IBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกับการศึกษาของ (Wattanawikkit, et al., 2011) ที่ศึกษาผลของฮอร์โมนออกซินและไซโตไคนินต่อการเจริญและการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Paphiopedilum callosum* จากการศึกษาพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในสูตรอาหาร ½ MS ที่เติม TDZ 0.5 µM สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้สูงสุด รองลงมาคือสูตรอาหารที่เติม 2, 4-D 5 µM เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน และรายงานการศึกษาของ บวร คุณากรนุรักษ์ และคณะ (2555) ที่พบว่ากล้วยไม้ *Bulbophyllumlepidum* (Bl.) J.J. Sm. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ที่เติม 2, 4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดหน่อใหม่เฉลี่ยสูงสุด และมีความสูงของหน่อที่แตกใหม่สูงสุด ส่วนรายงานการศึกษาของ Chen, Chen and Chang (2004) ที่ศึกษาการเจริญ และการชักนำให้เกิดตายอดของกล้วยไม้ลูกผสม *Paphiopedilum philippinense* (hybrid PH59 และ PH60) พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 2, 4-D 45.25 µM สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดที่แตกใหม่สูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ ในลูกผสม PH59

และจากกาทดลองสูตรอาหารที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดรากเฉลี่ยได้สูงสุด และสามารถส่งเสริมให้ต้นอ่อนมีการเจริญและการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มเฉลี่ยสูงสุด เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ Nhut, et al. (2001) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Lilium longgiflorum* พบว่า สูตรอาหารที่เติม IBA 4.9 µM ร่วมกับ BAP 0.9 µM สามารถชักนำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด และรายงานของ Kabir, et al. (2013) โดยศึกษาการชักนำให้เกิดยอดและรากในกล้วยไม้ *Dendrobium fimbriatum* พบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน ส่วนรายงานการศึกษาของ Shroti and Upadhyay (2013) ที่เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ดิน *Eulophia nuda* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มสูงถึง 56 เปอร์เซ็นต์ และโปรโตคอร์มจะพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่รายงานการศึกษาของ Zuraida, Fatin and Ayu (2014) ที่ศึกษาการขยายพันธุ์ *Melicope lunu-ankenda* ในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาผลของฮอร์โมน BAP IAA KIA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 3.0 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวรากเฉลี่ย 4.5 เซนติเมตร ลักษณะของรากที่เกิดขึ้นมีความสมบูรณ์โดยมีสีเขียวเข้มทั่วทั้งราก นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการชักนำให้เกิดรากในกล้วยไม้ *Dendrobium aqueum* Lindl. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร HMS ที่เติม IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนพัฒนาเกิดรากได้สูงสุด 5.2 ราก (Robinson, Balakrishnan and Britto, 2009)

ผลของวัสดุปลูกที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมในรูปแบบต่าง ๆ ทั้ง 4 รูปแบบ

การศึกษาการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ที่ได้จากการผสมตัวเอง และกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่โดยวิธีการถ่ายฝาก จากสภาพปลอดเชื้อต้นอ่อนที่อยู่ในขวดจะมีความชื้นสูง และมีอาหารที่สมบูรณ์สามารถที่จะนำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้เต็มที่ ซึ่งการย้ายออกปลูกในสภาพแวดล้อมนั้นจำเป็นที่จะต้องให้กล้วยไม้ที่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกสามารถปรับตัวได้ดีก่อนย้ายปลูกในสภาพตามธรรมชาติ เนื่องจากกล้วยไม้ที่อยู่ภายในขวดนั้นมีความเปราะบางสูง และอยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิเฉลี่ย 25 องศาเซลเซียส เมื่อย้ายออกปลูกในสภาพแวดล้อมในธรรมชาตินั้นส่งผลให้มีการปรับตัวที่ไม่ดี เนื่องจากใบของต้นอ่อนกล้วยไม้ที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อจะมีลักษณะอ่อนหนุ่ม และมีความสามารถในการสังเคราะห์แสงต่ำ ทำให้การปรับตัวสู่สภาพแวดล้อมภายนอกไม่ดีเท่าที่ควร Pierik (1987) โดยนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก และเอื้องดินใบไผ่ที่ได้จากการผสมตัวเอง

และต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้าม ทั้ง 4 รูปแบบ นำออกมาไว้ในสภาวะอุณหภูมิห้องปกติ เป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นนำต้นอ่อนออกจากขวด และแช่ในสารป้องกันกำจัดโรคพืชผสมเพื่อป้องกันโรคพืชที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอาการเน่าหลังจากที่ย้ายออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก โดยเฉพาะในสภาวะที่มีความชื้นสูง และบริเวณพื้นที่ที่มีความสามารถในการระบายน้ำที่ค่อนข้างต่ำมาก จำเป็นต้องเติมสารป้องกันเพื่อทำให้ต้นอ่อนที่ย้ายปลูกไม่เน่า และสามารถปรับตัวในสภาวะแวดล้อมภายนอกได้ ซึ่งประกอบด้วยสารต่างๆ ดังนี้ คาร์เบนดาซิม (methyl benzimidazol-2-ylcarbamate 50% WP) ความเข้มข้น 10 – 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมทาแลกซิล (methyl-N-(methoxyacetyl)-N-(2,6-xylyl)-DL-alaninate 25% WP) สัดส่วนที่ใช้ประมาณ 20 – 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และเคปแทน (N-(trichloromethylthio)cyclohex-4-ene-1, 2-dicarboximide 50% WP) สัดส่วนที่ใช้โดยประมาณ 40 – 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และปลูกลงในถาดหลุมที่มีความกว้างขนาด 2 นิ้ว ลึกประมาณ 2 นิ้ว และคลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น โดยช่วง 1 สัปดาห์แรกของการปลูกรดน้ำวันละ 2 ครั้ง คือช่วงเช้าเวลา 09.00 น. ช่วงบ่ายเวลา 15.00 น. เพื่อรักษาความชื้น และป้องกันการเน่าของต้นอ่อนที่ย้ายปลูก

หลังจากนำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ และลูกผสมที่ได้จากการถ่ายฝาก ปลูกในวัสดุปลูก 3 สูตร ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ+พีทมอส+ทราย อัตราส่วน 1:1:1 กาบมะพร้าวสับ+ดินร่วน+แกลบดิบ อัตราส่วน 1:1:1 และเปลือกถั่ว+ดินร่วน+แกลบดิบ อัตราส่วน 1:1:1 โดยวัสดุปลูกที่เลือกใช้ควรเป็นวัสดุปลูกที่สามารถระบายน้ำได้ดี ไม่อุ้มน้ำมากเกินไป และเป็นวัสดุที่ทำให้รากกล้วยไม้สามารถเจริญ และแตกรากใหม่ได้ดี ซึ่งเป็นวัสดุที่หาง่ายในท้องถิ่น และมีราคาที่ไม่สูงมากเกินไป (ฉัตรนภา ข่มอาวุธ และคณะ, 2552)

เมื่อปลูกเลี้ยงต้นอ่อนในสภาพแวดล้อมภายนอกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ากล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก กล้วยไม้เอื้องดินใบไผ่ และกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมระหว่างเอื้องดินใบหมากกับเอื้องดินใบไผ่โดยมีการฝากการผสมเกสรต้นเดิมไปด้วย เมื่อปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกทั้ง 3 สูตร ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ต้นอ่อนกล้วยไม้ทั้ง 4 รูปแบบ สามารถปรับตัวได้ดี และเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 2 ต้นอ่อนเริ่มมีลักษณะเหี่ยวแห้ง ใบเริ่มมีลักษณะเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เมื่อเพาะเลี้ยงจนครบ 4 สัปดาห์ ต้นอ่อนของกล้วยไม้ทั้ง 4 รูปแบบไม่สามารถที่จะเจริญเติบโตและพัฒนาต่อไปได้ และมีอัตราการรอดชีวิต 0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ สุจรรยา เรืองวีรยุทธ (2540) ที่ได้ศึกษาผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ดินใบหมาก ที่เลี้ยงในวัสดุปลูก 4 สูตร คือ ทรายและถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:2 1:3 2:1 และ 3:1 พบว่าในช่วงเดือนแรกต้นกล้าบางต้นมีสภาพแห้งเฉา ปลายยอดมีสีเหลืองบางต้นเหี่ยว และตายในที่สุด ต่อมาในเดือนถัดไปต้นกล้า

ค่อยๆ ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม และวัสดุปลูกได้ดีขึ้น หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า วัสดุปลูกทั้ง 4 สูตร มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ดินใบหมากไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นกล้าที่ปลูกในวัสดุปลูกทรายและถ่านแกลบอัตราส่วน 1:3 มีอัตราการรอดสูงสุด 96 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของศุภสวัสดิ์ เรืองไพศาล (2548) พบว่า การย้ายปลูกกล้วยไม้ลูกผสมในสกุล *Spathoglottis* พันธุ์ดอกเหลืองปนม่วงผสมตัวเอง พันธุ์ม่วงครามก้านยาวผสมตัวเอง เหลืองพื้นเมืองผสมกับม่วงอ่อน และม่วงครามก้านยาวผสมกับเหลืองปนม่วง โดยใช้ดินต่อขี้เถ้าแกลบในอัตรา 1:1 และลดการคายน้ำด้วยการนำไปใส่ในถุงพลาสติกใสรัดปากถุงให้แน่นแล้วนำไปเลี้ยงไว้ในโรงเรือนเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เป็นเวลา 45 วัน มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การศึกษาของ อภิวัฒน์ หาญธนพงศ์ และพิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ (2548) ที่ได้ศึกษาผลของเครื่องปลูกต่อการเติบโตและการออกดอกของเอื้องดินใบหมาก พบว่า ส่วนผสมของเครื่องปลูก ทราย+ดิน+เปลือกถั่ว+ใบไม้ผุ อัตรา 1:1:1 และทราย+กาบมะพร้าวสับ+ดิน อัตรา 1:1:1 เป็นเครื่องปลูกที่เหมาะสมต่อการปลูกต้นอายุ 2 ปี โดยทำให้ต้นมีการเติบโตทางลำต้นดีที่สุด และออกดอกเร็วขึ้น

ในการศึกษาการย้ายปลูกกล้วยไม้ดินลูกผสมระหว่างเอื้องดินใบหมาก และเอื้องดินใบไผ่ในสภาพแวดล้อมภายนอกเมื่อปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ เปลือกถั่ว ดินร่วน และแกลบดิบอัตราส่วน 1:1:1 จะมีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 28 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ ต้นอ่อนที่เลี้ยงในวัสดุปลูกทั้ง 3 สูตร จะมีอัตราการรอดชีวิต 0 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากต้นอ่อนไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะภายนอกได้ จึงทำให้มีอัตราการรอดชีวิตที่ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 4 ของการย้ายปลูกในสภาวะภายนอก สอดคล้องกับการศึกษาการย้ายปลูกกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากลูกผสมดอกสีม่วงอ่อนฮอลแลนด์ ที่เลี้ยงในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อย้ายวัสดุปลูกและเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 16 พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การรอดลดลงเหลือเพียง 9.33 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มที่จะลดลงเมื่อเลี้ยงในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (สมิทธิ์ โพธิสวัสดิ์, 2547)

ซึ่งการศึกษาการย้ายต้นอ่อนที่อยู่ในขวดออกปลูกในสภาวะภายนอกนั้น จำเป็นต้องปรับสภาพกล้วยไม้ที่อยู่ในขวดก่อนย้ายต้นอ่อนออกปลูก เพื่อให้ต้นอ่อนสามารถปรับตัวเข้ากับสภาวะภายนอกได้ดี และมีเปอร์เซ็นต์การรอดที่เพิ่มขึ้น (Pierik, 1987)

ผลการศึกษาการตรวจสอบลูกผสมข้ามสกุลระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมากด้วยเทคนิคพีซีอาร์-อาร์แอฟแอลพี

การสกัดดีเอ็นเอจากใบกล้วยไม้ดินที่เป็นพ่อแม่พันธุ์จากในธรรมชาติ และลูกผสมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสุ่มตัวอย่างมา โดยใช้วิธี CTAB ที่ดัดแปลงจาก Doyle and Doyle

(1987) สารละลายดีเอ็นเอที่ได้ใสไม่มีสี เมื่อนำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบขนาดด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน 0.8 เปอร์เซ็นต์อะกาโรสเจล พบว่าบางตัวอย่างเกิดรอย smear อาจเป็นที่ขั้นตอนการใส่สารคลอโรฟอร์มมีการกลับหลอดไปมาหลายรอบ และรุนแรง จึงทำให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอมีการแตกหักมากหรือระหว่างขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอเกิดสารประกอบฟีนอลทำให้ดีเอ็นเอมีการปนเปื้อน (Weir, 2010)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์นั้นควรใช้ความเข้มข้นของสารเคมีต่างๆ อย่างเหมาะสม สารละลายดีเอ็นเอที่เกิดรอย smear สามารถนำมาเพิ่มปริมาณได้เนื่องจากชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณมีขนาดสั้นเพียง 900 คู่เบส เท่านั้น แต่พบว่าบางตัวอย่างไม่ทำให้เกิดผลผลิตพีซีอาร์ เนื่องจากมีการปนเปื้อนสารจำพวกโปรตีนหรืออาร์เอ็นเอมากเกินไป จึงต้องทำการเจือจางสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้ก่อนนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ทำให้การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนบริเวณที่ต้องการนั้นมีประสิทธิภาพลดลง (Wilson, 1997) และบางตัวอย่างมีแถบดีเอ็นเอที่ไม่เฉพาะเจาะจง (non-specific band) และรอย smear เกิดขึ้น จึงทำการเพิ่มอุณหภูมิในขั้น Annealing ให้สูงขึ้น ปรากฏว่าได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีแถบชัดเจนเพียงแถบเดียวแสดงให้เห็นว่าถ้าอุณหภูมิในช่วง Annealing สูงนั้นจะช่วยลด non-specific ได้ และเมื่อทำให้สารละลายดีเอ็นเอบริสุทธิ์โดยการตัดเจลสามารถให้แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนเพียงแถบเดียว และมีปริมาณมากพอที่จะนำไปใช้ในการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะด้วยเทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพีต่อไปได้

ผลการตรวจสอบลูกผสมที่เกิดจากการถ่ายฝากที่พบว่ามีโอกาสเป็นลูกผสมข้ามสกุลที่แท้จริงนั้น จากทั้งการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิด *AluI* และ *TaqI* โดยให้ผลที่สอดคล้องกันโดยเมื่อมีเอื้องดินใบหมากเป็นต้นแม่ ทั้งสิ้น 5 ตัวอย่าง แต่เมื่อใช้เอื้องดินใบไผ่เป็นต้นแม่นั้นไม่สามารถระบุความเป็นลูกผสมได้ เมื่อใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะชนิด *TaqI* ดังนั้นจาก 24 ตัวอย่างจึงมีเพียง 4 ตัวอย่างที่ตรวจสอบได้ว่าเป็นลูกผสมข้ามสกุล เนื่องจากมีแถบดีเอ็นเอของต้นพ่อที่ชัดเจนและเห็นง่ายกว่ารวมถึงแตกต่างจากต้นแม่ชัดเจน เพราะสามารถระบุได้ว่าเกิดจากการผสมข้ามสกุลจริงระหว่างต้นพ่อ และต้นแม่

จากรายงานการศึกษาของ Mao, et al. (2004) ที่ศึกษาการงอกของเมล็ด และการพัฒนาเป็นต้นอ่อนโดยเปรียบเทียบระหว่างการผสมตัวเอง และการผสมข้ามชนิดของกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* Bl. พบว่ามีอัตราการงอกของเมล็ดและการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่ต่างกัน ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบว่าลูกผสมทั้ง 5 ตัวอย่างที่เกิดจากการถ่ายฝากเมื่อมีเอื้องดินใบหมากเป็นต้นแม่นั้น น่าจะไม่ใช่ลูกผสมข้ามสกุลที่แท้จริง เนื่องจากมีระยะเวลาในการงอกของเมล็ด และการเจริญของต้นกล้าที่เท่ากับต้นที่เกิดจากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบหมาก แต่แตกต่างจากลูกผสมข้าม

สกุลที่เกิดจากการผสมข้ามด้วยมือที่ใช้เอื้องดินใบหมากเป็นต้นแม่ กล่าวคือลูกผสมข้ามสกุลจะงอก และพัฒนาช้ากว่าต้นที่เกิดจากการผสมตัวเอง โดยมีระยะเวลาในการงอกของเมล็ด 35 วัน และใช้ระยะเวลาการเจริญของต้นอ่อน 24 สัปดาห์ ในตัวอย่างที่ 20 21 28 29 และ 74 เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากที่ได้จากการผสมตัวเองจะใช้ระยะเวลาในการงอกที่เร็วกว่ากล้วยไม้ที่ได้จากการผสมข้าม โดยใช้ระยะในการงอกของเมล็ด 14 วัน และใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ 16 สัปดาห์

ในขณะที่ลูกผสมข้ามสกุลอีก 4 ตัวอย่าง คือตัวอย่างที่ 15 25 26 27 ที่เกิดจากเอื้องดินใบไผ่เป็นต้นแม่นั้นมีระยะเวลาในการงอกของเมล็ดที่ช้ากว่าต้นที่เกิดจากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่ โดยมีระยะเวลาในการงอกของเมล็ด 21 วัน และใช้ระยะเวลาในการเจริญเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ 16 สัปดาห์ ในขณะที่เมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเองของเอื้องดินใบไผ่ใช้ระยะเวลาในการงอก 14 วัน และพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ 16 สัปดาห์ จึงอาจจะเป็นไปได้อย่างมากที่จะเป็นลูกผสมข้ามสกุลที่แท้จริง สอดคล้องกับการศึกษาของ Kishor and Sharma (2006) ที่ศึกษาการผสมข้ามสกุลในกล้วยไม้ *Renanthera imschootiana* กับ *Vanda coerulea* Griff. ex L. โดยใช้ระยะเวลาในการงอกของเมล็ดจนเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์พบว่าจะใช้ระยะเวลา 150 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการผสมตัวเองจะใช้ระยะเวลาที่นานกว่า

ซึ่งการตรวจสอบลูกผสมที่ได้จากการถ่ายฝากในครั้งนี้จึงพบว่ามีโอกาสที่จะได้ลูกผสมข้ามสกุลจากการถ่ายฝากโดยมีเอื้องดินใบไผ่เป็นต้นแม่ 4 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 48 หรือคิดเป็น 8.33 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการผสมข้ามที่เกิดจากการผสมแบบปกติเมื่อใช้เอื้องดินใบหมากเป็นต้นแม่ สามารถทำให้เกิดการติดฝักให้ลูกผสมได้ นั่นหมายความว่าเอื้องดินใบหมากมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นแม่พันธุ์ในการสร้างลูกผสมข้ามสกุลอาจจะเนื่องมาจากในสภาพธรรมชาติมีความผันแปรสูง จึงง่ายที่จะได้รับการผสมข้าม แต่เมื่อใช้การผสมข้ามโดยใช้เทคนิคการถ่ายฝากนั้นไม่สามารถให้ลูกผสมข้ามสกุลได้ อาจเนื่องจากเอื้องดินใบหมากมีความสามารถที่จะรับละอองเรณูของพืชชนิดเดียวกันได้ดีกว่าจะรับละอองเรณูจากพืชต่างชนิด ถ้ามีละอองเรณูของพืชชนิดเดียวกัน และพืชต่างชนิดเข้ามาพร้อมกัน ขณะที่การผสมข้ามที่เกิดจากการผสมแบบปกติเมื่อใช้เอื้องดินใบไผ่เป็นต้นแม่นั้นไม่ทำให้เกิดการติดฝักได้เลย จึงเห็นได้ว่าเอื้องดินใบไผ่นั้นไม่เหมาะที่จะนำมาเป็นแม่พันธุ์ในการผสมข้ามสกุลแบบปกติ แต่เมื่อใช้เทคนิคการถ่ายฝากเข้ามาช่วยนั้นสามารถให้ลูกผสมข้ามสกุลได้ แม้มีโอกาสประสบความสำเร็จน้อย แต่ก็สามารถนำไปขยายเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ปริมาณมากได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า

เอื้องดินใบไผ่สามารถรับละอองเรณูของกล้วยไม้ชนิดอื่นได้เมื่อมีละอองเรณูของตนเองร่วมอยู่ด้วย โดยวิธีการถ่ายฝาก แต่เมื่อใช้วิธีการผสมแบบปกติ (Self pollination) ไม่สามารถผสมติดฝักได้ซึ่งสอดคล้องกับที่ว่าเอื้องดินใบไผ่ไม่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมหรือมีน้อยมากในธรรมชาติ ซึ่งถือว่าการผสมข้ามสกุลของกล้วยไม้ดินสองสกุลนี้ประสบความสำเร็จในระดับหนึ่ง เช่นเดียวกับการศึกษาของ (Kishor, et al., 2008) ที่ประสบความสำเร็จในการผสมข้ามสกุลระหว่าง *Aerides vandarum* กับ *Vanda stangeana*

จากการตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของพ่อแม่พันธุ์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Alu*I และ *Taq*I พบความหลากหลายของรูปแบบที่เกิดขึ้นโดยเอื้องดินใบหมากมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่าเอื้องดินใบไผ่ โดยความแตกต่างที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ใน rDNA ที่มีทั้งแบบการแทนที่ การเพิ่มขึ้นหรือการขาดหายไปของลำดับเบส (Venkateswarlu and Nazar, 1991)

ดังนั้นในการตรวจสอบลูกผสมในบริเวณ ITS จึงอาจไม่เหมาะสมกับพืชที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของบริเวณ ITS สูง อย่างเช่นกรณีของเอื้องดินใบหมากนี้ พบว่าภายในต้นเดียวกันก็มีความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณนี้เช่นกัน ซึ่งพบรายงานว่าพืชบางชนิดนั้นมีชุดยีน rDNA หลายซ้ำ ดังนั้นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์อาจทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณบริเวณ ITS จากคนละชุดยีนกัน (Bailey, et al., 2003) ดังนั้นจึงควรใช้การตรวจสอบโดยนำส่วนของยีนซึ่งเป็นบริเวณที่ความจำเพาะสูง (specific gene) มาใช้ โดยในรายงานของ กนกวรรณ แดงสวัสดิ์ (2551) ได้ทำการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และการตรวจสอบพันธุ์ลูกผสมบัวหลวงโดยใช้ชิ้นส่วนของยีนที่มีความจำเพาะ คือ chalcone synthase, storage protein และ fruitfull protein ร่วมกับบริเวณ ITS พบว่าสามารถตรวจสอบลูกผสมบัวหลวงที่เกิดขึ้นได้ และการนำเทคนิคที่สามารถใช้ในการตรวจสอบได้อย่างแม่นยำสูง เช่น เทคนิค SSCP (Single Strand Conformational Polymorphisms) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถเห็นความแตกต่างแม้มีความแตกต่างในลำดับเบสของดีเอ็นเอเพียงเล็กน้อยก็ตามซึ่งในรายงานของ จีรภาดาทอง และวิภาหงส์ตระกูล (2555) ได้ศึกษาการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อตรวจสอบพันธุ์ลูกผสมในบัวประดับและบัวหลวง โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณยีนที่จำเพาะร่วมกับบริเวณ ITS พบว่าเมื่อตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ใน 1 เปอร์เซ็นต์ agarose gel พบรูปแบบแถบดีเอ็นเอเพียงรูปแบบเดียวในทุกตัวอย่างที่ศึกษา แต่เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอบน non-denaturing polyacrylamide gel พบความแตกต่างของรูปแบบแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้น และสามารถระบุลูกผสมได้