

การขยายพันธุ์กล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำ ด้วยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

Micropropagation of *Vanda lilacina* Teijsm. & Binn. and *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. via *in vitro* Seed Germination

วริศา พิลาโฮม (Warisa Pilahome)*

ดร. สุมณฑิพย์ บุนนาค (Dr. Sumontip Bunnag)**

บทคัดย่อ

อาหารสังเคราะห์สูตร New Dogashima Medium (NDM) ดัดแปลงที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง 1% เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ดเข็มขาวและเอื้องคำ และสามารถเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์มเข็มขาวและเอื้องคำโดยการย้ายลงในอาหารเหลวสูตร NDM ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1% เมื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้น พบว่า โปรโตคอร์มเข็มขาวสามารถชักนำให้เกิดต้นได้สูงสุด 6 ต้นต่อโปรโตคอร์ม ในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติม naphthaleneacetic acid 1 มก./ล. สามารถชักนำโปรโตคอร์มเอื้องคำให้เกิดต้นสูงสุดในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติม benzylaminopurine 0.1 มก./ล. มีจำนวนต้นเฉลี่ย 7 ต้นต่อโปรโตคอร์ม หลังจาก 4 เดือน นำต้นอ่อนไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดราก

ABSTRACT

The New Dogashima Medium (NDM) supplemented with 1% potato extract was suitable for germination of seeds of *Vanda lilacina* and *Dendrobium chrysotoxum*. The protocorm-like bodies (PLBs) of *V. lilacina* and *D. chrysotoxum* were successfully proliferated on the NDM liquid medium containing 1% sucrose. Experiments were performed to determine the effect of plant growth regulators on the number of shoots per PLB. It was found that the highest shoot number per PLB in *V. lilacina* was 6 when cultured on NDM medium supplemented with 1 mg/l naphthaleneacetic acid. The highest number of shoots per PLB in *D. chrysotoxum* was successfully regenerated on NDM medium enriched with 1 mg/l benzylaminopurine. The number of shoots per PLB was 6. After 4 months, the regenerated shoots of two orchid species were transferred to NDM without hormone for root induction.

คำสำคัญ : การขยายพันธุ์ กล้วยไม้ สารควบคุมการเจริญเติบโต

Key Words : micropropagation, orchids, plant growth regeulators

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

กล้วยไม้ เป็นไม้ตัดดอกที่สำคัญที่สุดทางเศรษฐกิจ ในอุตสาหกรรมไม้ตัดดอกที่ส่งออกทั้งหมดของประเทศไทย ทำรายได้สู่ประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 1,000 ล้านบาท และมีมูลค่าการส่งออกที่เพิ่มสูงขึ้นในแต่ละปี โดยในปี พ.ศ. 2546 มีการส่งออกดอกกล้วยไม้ 17,420 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,985 ล้านบาท และในปี พ.ศ. 2547 มีการส่งออกดอกกล้วยไม้เพิ่มขึ้นเป็น 18,626 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,136 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร โดยความร่วมมือของกรมศุลกากร, 2548) และในปี พ.ศ. 2541 มีการส่งออกต้นกล้วยไม้ที่เป็นชนิดพันธุ์แท้ที่ได้จากการขยายพันธุ์เทียมจำนวน 101,306 ต้น และต้นกล้วยไม้ลูกผสม (hybrids) 19,020,412 ต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2543) ในบรรดากล้วยไม้ที่ส่งออกทั้งหมด ร้อยละ 92 เป็นกล้วยไม้สกุลหวาย ส่วนที่เหลือเป็นกล้วยไม้สกุลอื่นๆ เช่น แวนด้า ออนซิเดียม แลงปอ คัทลียา เป็นต้น (วิจิต, 2537) สาเหตุที่ประเทศไทยผลิตดอกกล้วยไม้ส่งออกได้มาก เนื่องจากมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการผลิต ทำให้มีการส่งออกดอกกล้วยไม้ไปจำหน่ายยังต่างประเทศมากถึง ร้อยละ 52 ของที่ผลิตได้ในประเทศ ในขณะที่เดียวกันประเทศอื่นๆ เช่น สิงคโปร์ กำลังพยายามอย่างยิ่งที่จะปรับปรุงการผลิตเพื่อเป็นคู่แข่งที่สำคัญของไทย (อดิสร, 2536) ปัจจุบันได้มีการนำความรู้ในด้านต่างๆ เกี่ยวกับกล้วยไม้ ทั้งเรื่องของการรวบรวมพันธุ์ ศึกษาพันธุ์ ผสมพันธุ์ และขยายพันธุ์ โดยผสมผสานความรู้ทางด้านอนุกรมวิธาน พันธุศาสตร์ เทคโนโลยีชีวภาพและทางด้านการเกษตร เข้ามาใช้ในการพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้พื้นเมืองและกล้วยไม้ตัดดอก เพื่อปรับปรุงคัดเลือกพันธุ์และผสมพันธุ์กล้วยไม้ระหว่างพันธุ์แท้และพันธุ์ผสม ทำให้ได้ลูกผสมใหม่ๆ ที่มีคุณลักษณะที่ดียิ่งขึ้นเหมาะที่จะทำกล้วยไม้ตัดดอกและพัฒนาให้มีหลายรูปแบบ เพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการ

ของตลาดและขยายการแข่งขันในตลาดระหว่างประเทศ (จิตรพรพรณ, 2538)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) เป็นวิธีขยายพันธุ์ที่กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้เป็นจำนวนมาก ในระยะเวลาสั้นๆ ต้นมีความสมบูรณ์ ปราศจากปัญหาต่างๆ และสามารถลดข้อจำกัดในการขยายพันธุ์ในธรรมชาติของกล้วยไม้บางชนิดที่ขยายพันธุ์ยาก และสามารถก่อให้เกิดกล้วยไม้พันธุ์ใหม่ๆ ได้อีก เช่น ไบลาเยียวสลับขาว สีดอกเปลี่ยนไป ดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น จึงมีประโยชน์อย่างมากในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อทำเป็นไม้ตัดดอก นอกจากนี้แล้ว เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังมีประโยชน์ในด้านของการอนุรักษ์พันธุ์ ทั้งในแง่ของการเพิ่มปริมาณกล้วยไม้พันธุ์แท้ที่ใกล้สูญพันธุ์หรือขยายพันธุ์ยากในสภาพธรรมชาติ และในแง่ของการเพาะพันธุ์หรือการขยายพันธุ์เทียมของกล้วยไม้ชนิดพันธุ์แท้ที่กำหนดจำแนกเพื่อลดการลักลอบนำกล้วยไม้ป่าออกมาจำหน่าย ตามอนุสัญญาว่าด้วยการค้าสัตว์ป่าและพืชป่าที่กำลังจะสูญพันธุ์ระหว่างประเทศ (CITES) (กรมวิชาการเกษตร, 2543) แต่เนื่องจากกล้วยไม้แต่ละชนิดมีวิธีการขยายพันธุ์ การเจริญเติบโต สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโต และความต้องการปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกันไป ดังนั้น การศึกษากระบวนการต่างๆ ในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงเป็นพื้นฐานสำคัญในการเก็บรักษาเพิ่มปริมาณและปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ต่อไป การศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นถึงการศึกษาเทคนิคในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำ ซึ่งเป็นกล้วยไม้ในสกุล *Vanda* และ *Dendrobium* โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้ชนิดอื่นๆ ในทั้งสองสกุลโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อให้เกิดประโยชน์ทางเศรษฐกิจต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชที่ใช้ในการวิจัยคือ เข็มขาว (*Vanda lilacina* Teijsm. & Binn.) และเอื้องคำ (*Dendrobium chrysotoxum* Lindl.)

1. การเพาะเมล็ดเข็มขาวและเอื้องคำ

นำฝักกล้วยไม้เข็มขาว และเอื้องคำอายุประมาณ 4 - 8 เดือน มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของฝักโดยแช่ในสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 1% ที่เติม Tween 20 เช้าเป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นนำมาผ่าตามแนวยาว แล้วใช้ปากคีบค่อย ๆ เชียเมล็ดกล้วยไม้ลงบนอาหารสังเคราะห์ที่มีวุ้น 8 ก./ล. ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการออกของเมล็ดกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดในอาหารสังเคราะห์ 2 สูตร ได้แก่ อาหารสังเคราะห์สูตร NDM ดัดแปลงที่มีเฉพาะธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง (NH_4NO_3 480 มก./ล., KNO_3 200 มก./ล., $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 470 มก./ล., KCl 150 มก./ล., $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 250 มก./ล., KH_2PO_4 550 มก./ล., $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 3 มก./ล., $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 มก./ล., H_3BO_3 0.5 มก./ล., $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.025 มก./ล., $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.025 มก./ล., $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.025 มก./ล., conc. H_2SO_4 0.5 มล./ล.) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1% (w/v) และน้ำตาลมันฝรั่ง 1% (w/v) และอาหารสังเคราะห์สูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2% (w/v) และน้ำตาลมันฝรั่ง 1% (w/v) เมื่อเมล็ดเริ่มงอกจะสังเกตเห็นเมล็ดมีสีเขียว เพาะเลี้ยงต่อไปจนกระทั่งเมล็ดเจริญเป็นโพรโทคอร์ม

2. การเพิ่มจำนวนโพรโทคอร์ม

ย้ายโพรโทคอร์มขนาด 0.2-0.3 มม. ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เพิ่มวิตามินและกรดอะมิโนต่าง ๆ ลงไป (Nicotinic acid 1 มก./ล., Pyridoxine hydrochloride 1 มก./ล., Thiamine hydrochloride 1 มก./ล., Calcium pantothenate 1 มก./ล., Adenine 1 มก./ล., L-Cystein 1 มก./ล.) โดยเปรียบเทียบระหว่างอาหาร

แข็งที่เติมผงวุ้น 8 ก./ล. และอาหารเหลวเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงทั้งหมด 5 ชั่วโมง 50 โพรโทคอร์ม เก็บผลโดยนับจำนวนโพรโทคอร์มที่เพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์ม กล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดในอาหารเหลวที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1% และ 2% เพื่อเปรียบเทียบผลความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเพิ่มจำนวนของโพรโทคอร์ม เพาะเลี้ยงทั้งหมด 2 ชั่วโมง 50 โพรโทคอร์ม เก็บผลโดยนับจำนวนโพรโทคอร์มที่เพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

3. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นและราก

เพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดขนาด 0.2-0.3 มม. บนอาหารสังเคราะห์สูตรเดิมที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 0, 0.1, 1 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 1 มก./ล. ตามลำดับ รวมทั้งหมด 12 สูตร โดยทำการทดลองสูตรละ 3 ชั่วโมง 20 โพรโทคอร์ม ทำการบันทึกผลเปรียบเทียบผลการทดลอง โดยสังเกตการเจริญเติบโต วัดความสูงของต้น และนับจำนวนต้นใหม่ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 เดือน จากนั้นย้ายต้นกล้วยไม้ที่ชักนำได้ไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและเติมผงถ่าน 1 มก./ล. เพื่อให้ต้นอ่อนกล้วยไม้เจริญต่อไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ ก่อนย้ายปลูกในกระถางที่มีเปลือกมะพร้าวขนาด 1 นิ้ว

ทุกการทดลองเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงประมาณ $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

สถิติที่ใช้ในการทดลอง

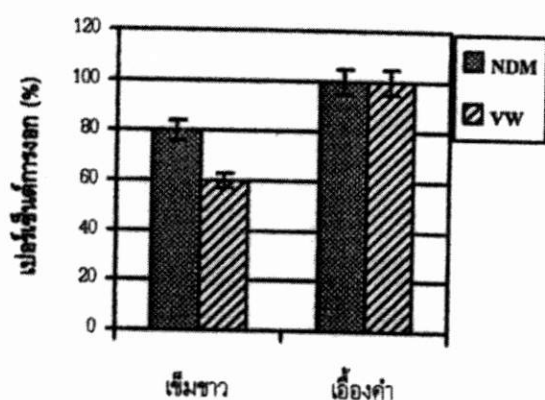
การศึกษาในครั้งนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) ชนิดอิทธิพลแบบกำหนด (fixes effect model) สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ สถิติพื้นฐาน (ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ร้อยละ) สถิติในการวิเคราะห์

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย 2 ชุด (T-test) และสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์หาความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 9.0

ผลการทดลอง

1. การเพาะเมล็ดกล้วยไม้

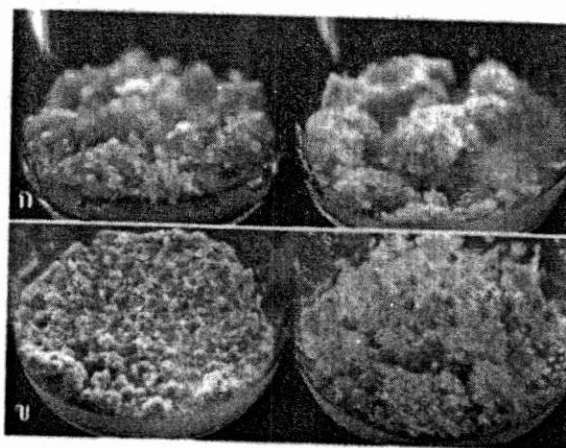
จากการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดสามารถงอกได้ในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1% (w/v) และน้ำต้มมันฝรั่ง 1% (w/v) และอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2% (w/v) และน้ำต้มมันฝรั่ง 1% (w/v) ซึ่งเมล็ดกล้วยไม้ที่เริ่มงอกจะมีสีเขียว โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกแตกต่างกันไป



ภาพที่ 1 ผลของสูตรอาหารต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเข็มขาวและเอื้องคำเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์

เมล็ดกล้วยไม้เข็มขาว สามารถงอกได้ดีในอาหารสูตร NDM โดยมีอัตราการงอกเป็น 80% ขณะที่เมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำ มีอัตราการงอกเป็น 100% ในอาหารสังเคราะห์ทั้งสองสูตร (ภาพที่ 1) โดยเมล็ดกล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำ ที่เพาะในอาหารสังเคราะห์สูตร VW จะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไปประมาณ 3-4 สัปดาห์ ภายหลังการงอก หากไม่ย้ายลงอาหารใหม่ก็จะกลายเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด ขณะที่เมล็ดของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดนี้ ยังคงมีสีเขียว และสามารถ

เจริญไปเป็นโพโทคอร์มซึ่งมีรูปร่างค่อนข้างกลมได้ในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 เมล็ดเข็มขาว (ก) และเอื้องคำ (ข) ที่งอกและเจริญเป็นโพโทคอร์มบนอาหารสังเคราะห์สูตร NDM (ซ้าย) และ VW (ขวา) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์

2. การเพิ่มจำนวนโพโทคอร์ม

เมื่อนำโพโทคอร์มของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว และอาหารแข็งสูตร NDM ที่เพิ่มวิตามินและกรดอะมิโนต่างๆ ลงไป เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้สามารถเพิ่มจำนวนโพโทคอร์มได้ 3-5 เท่า จากจำนวนโพโทคอร์มเริ่มต้น โดยเข็มขาวและเอื้องคำ มีการเพิ่มจำนวนโพโทคอร์มในอาหารเหลวได้ดีกว่าอาหารแข็งอย่างมีนัยสำคัญ ($t_8 = 8.085$ $p = 0.000$, $t_8 = 5.804$ $p = 0.000$) คือ มีจำนวนโพโทคอร์มที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 471 และ 362 โพโทคอร์ม ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว (ตารางที่ 1, ภาพที่ 3ก, ข) ซึ่งโพโทคอร์มของเอื้องคำที่เพาะเลี้ยงมาเป็นเวลา 4 สัปดาห์บนอาหารแข็งจะเริ่มมีขนาดเล็กๆ เกิดขึ้น และสามารถเจริญไปเป็นต้นได้ภายในระยะเวลา 1-2 สัปดาห์หากไม่ย้ายลงอาหารใหม่ และเมื่อศึกษาผลของน้ำตาลต่อการเพิ่มจำนวนของโพโทคอร์ม พบว่า ในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1% เข็มขาวมีการเพิ่มจำนวนโพโทคอร์ม ได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($t_2 = 5.161$ $p = 0.036$) ขณะที่ เอื้องคำมีจำนวน

โพโทคอร์มที่เพิ่มขึ้นไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในอาหารที่เติมน้ำตาลทั้ง 2 ความเข้มข้น ($t_2 = 3.967$ $p = 0.058$) (ตารางที่ 2) โดยโพโทคอร์มของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด จะเริ่มมีสีเหลืองอมเขียวเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้น ในขณะที่ยังคงมีสีเขียวเข้มในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 1% (ภาพที่ 3 ค, ง)

ตารางที่ 1 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนโพโทคอร์มเข็มขาวและเอื้องคำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชนิดอาหาร	จำนวนโพโทคอร์มเริ่มต้น	จำนวนโพโทคอร์มเฉลี่ย $\pm$ SE (โพโทคอร์ม)	
		เข็มขาว*	เอื้องคำ*
อาหารเหลว	50	471.0 $\pm$ 16.1 ^a	382.4 $\pm$ 20.6 ^a
อาหารแข็ง	50	188.0 $\pm$ 31.1 ^b	235.8 $\pm$ 14.7 ^b

*ตัวเลขในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (t -test, $p < 0.05$)

3. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นและการเกิดราก

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้โพโทคอร์มเจริญเป็นต้นและการเกิดรากของกล้วยไม้ 2 ชนิด ระหว่างอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติม NAA ร่วมกับ BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่า เข็มขาวและเอื้องคำ สามารถเจริญเป็นต้นได้ในอาหารทุกสูตร

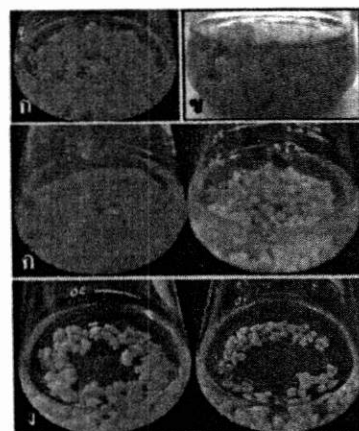
เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าโพโทคอร์มเข็มขาว สามารถเจริญเป็นต้นได้ในอาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA และ BAP ในทุกระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{11, 35} = 2.099$ $p = 0.062$) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน และเมื่อสังเกตจากอัตราการเจริญ พบว่า สามารถเจริญเป็นต้นได้ดีที่สุดในอาหารสูตร NDM ที่เติม NAA 1 มก./ล. (ภาพที่ 4 ก) คือ มีจำนวนต้นเฉลี่ย

114.7 ต้น มีอัตราการเจริญประมาณ 6 ต้นต่อโพโทคอร์ม แต่เมื่อสังเกตความสูงของต้นและความยาวรากเฉลี่ย พบว่า อาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิด มีความสูงของต้นและความยาวรากสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{11, 359} = 2.858$ $p = 0.001$, $F_{11, 359} = 5.919$ $p = 0.000$) โดยต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงได้มีความสูงเฉลี่ย 12.3 มม. และมีความยาวรากเฉลี่ย 2.3 มม. (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการเพิ่มจำนวนโพโทคอร์มเข็มขาวและเอื้องคำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส (%)	จำนวนโพโทคอร์มเริ่มต้น	จำนวนโพโทคอร์มเฉลี่ย $\pm$ SE (โพโทคอร์ม)	
		เข็มขาว*	เอื้องคำ*
1	50	415.0 $\pm$ 7.5 ^a	243.0 $\pm$ 5.0 ^a
2	50	367.5 $\pm$ 5.5 ^b	213.5 $\pm$ 5.5 ^a

*ตัวเลขในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (t -test, $p < 0.05$)



ภาพที่ 3 การเพิ่มปริมาณโพโทคอร์มเข็มขาว (ก) และเอื้องคำ (ข) ในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และโพโทคอร์มเข็มขาว (ค) และเอื้องคำ (ง) ที่เจริญในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติมน้ำตาล 1% (ช่าย) และ 2% (ขาว) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเป็นต้นและเกิดรากของโพรโทคอร์มเข็มขาวเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน

สิ่งทดลอง ที่	NAA	BAP	จำนวนต้นเฉลี่ย±SE (ต้น)	ความสูงเฉลี่ย±SE (มม.)*	จำนวนต้นที่เกิดราก เฉลี่ย±SE (ต้น)	ความยาวราก* เฉลี่ย±SE (มม.)
1	0	0	53.0±4.0	6.0±0.3 ^a	12.3±2.6	2.3±0.3 ^a
2	0	0.1	33.7±11.4	5.8±0.3 ^a	13.7±6.1	1.2±0.3 ^b
3	0	1.0	37.0±5.0	4.7±0.3 ^b	11.7±1.8	1.6±0.2 ^b
4	0	5.0	61.0±18.6	5.6±0.3 ^{ac}	22.7±3.5	1.7±0.2 ^{ab}
5	0.1	0	40.0±13.7	5.6±0.3 ^{ac}	16.0±12.0	2.3±0.3 ^{ab}
6	0.1	0.1	87.7±27.6	4.8±0.2 ^{bd}	39.3±15.6	2.1±0.3 ^{ab}
7	0.1	1.0	49.7±9.6	5.2±0.2 ^{abcd}	22.7±3.0	2.1±0.2 ^{ab}
8	0.1	5.0	71.7±32.9	5.3±0.2 ^{acd}	18.3±3.2	1.7±0.3 ^{ab}
9	1.0	0	114.7±23.0	5.4±0.3 ^{acd}	26.7±8.7	0.6±0.2 ^{bc}
10	1.0	0.1	72.3±10.4	5.4±0.3 ^{acd}	6.0±1.7	0.6±0.2 ^{bc}
11	1.0	1.0	47.7±6.2	5.1±0.2 ^{bcd}	10.3±3.2	1.1±0.3 ^{bc}
12	1.0	5.0	38.3±5.8	4.9±0.2 ^{bd}	14.0±2.1	1.3±0.2 ^{bc}

* ตัวเลขในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (LSD, $p < 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเป็นต้นและเกิดรากของโพรโทคอร์มเอื้องคำเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน

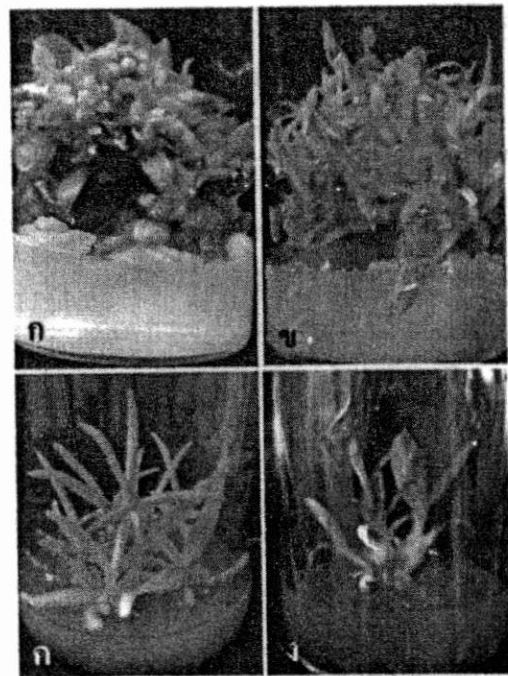
สิ่งทดลอง ที่	NAA	BAP	จำนวนต้นเฉลี่ย±SE (ต้น)*	ความสูงเฉลี่ย±SE (มม.)*	จำนวนต้นที่เกิดราก เฉลี่ย±SE (ต้น)*	ความยาวราก* เฉลี่ย±SE (มม.)
1	0	0	106.0±3.5 ^a	8.5±0.3 ^a	48.3±28.0 ^a	3.3±0.3 ^a
2	0	0.1	128.0±7.2 ^a	9.5±0.5 ^a	64.7±32.2 ^a	2.8±0.3 ^a
3	0	1.0	65.7±10.2 ^b	9.7±0.4 ^a	15.3±8.7 ^{ab}	0.8±0.3 ^b
4	0	5.0	23.7±6.4 ^c	7.53±0.3 ^{ab}	0±0 ^b	0.1±7.9 ^b
5	0.1	0	96.0±11.0 ^{ad}	10.0±0.4 ^{ac}	76.3±6.2 ^{ac}	3.4±0.6 ^{ac}
6	0.1	0.1	108.3±10.1 ^{ad}	8.9±0.3 ^{ad}	88.3±10.6 ^{ac}	1.3±0.3 ^{bd}
7	0.1	1.0	56.0±13.6 ^{bc}	8.2±0.4 ^{abd}	19.0±6.8 ^{abd}	0.6±0.4 ^{bd}
8	0.1	5.0	18.7±0.7 ^{cf}	6.8±0.3 ^{bc}	0.7±0.7 ^{bd}	0±0 ^{bd}
9	1.0	0	78.3±11.4 ^{abdeg}	11.6±0.5 ^f	50.0±25.5 ^{abcde}	6.4±0.7 ^c
10	1.0	0.1	97.3±15.1 ^{adg}	9.2±0.3 ^{acd}	81.7±11.7 ^{ace}	3.1±0.4 ^{acf}
11	1.0	1.0	65.3±13.4 ^{begh}	10.5±0.4 ^{ach}	27.0±10.5 ^{abdef}	0.3±0.2 ^{bdg}
12	1.0	5.0	23.3±1.9 ^{cfi}	8.3±0.3 ^{abdg}	3.7±1.9 ^{abf}	0±0 ^{bdg}

* ตัวเลขในแนวตั้งตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (LSD, $p < 0.05$)

เอื้องคำ สามารถเจริญเป็นต้นได้ดีที่สุด อย่างมีนัยสำคัญ ($F_{11, 35} = 13.926$ $p = 0.001$) ในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติม BAP 0.1 มก./ล. เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน (ภาพที่ 4 ข) มีจำนวน ต้นเฉลี่ย 128 ต้น มีอัตราการเจริญประมาณ 6.4 ต้น ต่อโพโทคอร์ม ในขณะที่มีการเจริญเป็นต้นที่มีราก ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{11, 35} = 4.299$ $p = 0.001$) ในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ร่วมกับ BAP 0.1 มก./ล. และสูตรอาหารที่มีผลให้เอื้องคำมีความ สูงและความยาวรากสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{11, 359} = 12.977$ $p = 0.001$, $F_{11, 359} = 30.554$ $p = 0.001$) คือ อาหารที่เติม NAA 1 มก./ล. โดยต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงได้มีความสูงเฉลี่ย 11.6 มม. และมีความยาวรากเฉลี่ย 6.4 มม. (ตารางที่ 4) และ เมื่อย้ายต้นอ่อนของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ชักนำได้ไป เลี้ยงบนอาหารที่เติมผงถ่าน 1 มก./ล. ต้นกล้วยไม้ สามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 4 ค, ง) จาก นั้นย้ายต้นที่มีใบประมาณ 3-4 ใบ (อายุ 9-12 เดือน) ไปปลูกในกระถางที่มีกาบมะพร้าวขนาด 1 นิ้ว พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 80-100%

สรุปและวิจารณ์

จากผลการเปรียบเทียบการงอกของเมล็ด เช็มขาวและเอื้องคำในอาหารสูตร NDM และสูตร VW ดัดแปลง พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ทั้งสองชนิด สามารถงอกได้ในอาหารสังเคราะห์ทั้ง 2 สูตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอก 80-100% ในอาหาร สังเคราะห์สูตร NDM ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์การงอกที่สูง กว่าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW ที่มีเปอร์เซ็นต์การ งอกเพียง 60-100% และโพโทคอร์มส่วนใหญ่ของ กล้วยไม้ที่เพาะได้ในอาหารสังเคราะห์สูตร VW เหลือง และตายภายในระยะเวลา 1 เดือน หลังการงอก ใน ขณะที่โพโทคอร์ม ในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ยังคงเขียวอยู่และมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งผลที่ได้นี้ อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของธาตุอาหารบางชนิด และระดับน้ำตาลในอาหารทั้งสองสูตร ส่งผลให้เมล็ด



ภาพที่ 4 โพโทคอร์มเช็มขาว (ก) และเอื้องคำ (ข) ที่เจริญเป็นต้นบนอาหารสูตร NDM ที่เติม สารควบคุมการเจริญเติบโต อายุ 4 เดือน และต้นของเช็มขาว (ค) และ เอื้องคำ (ง) ที่เจริญในอาหารสูตร NDM ที่เติมผงถ่าน 1 มก./ล อายุ 10 เดือน

ที่ได้จากฝักเดียวกันมีอัตราการงอกที่แตกต่างกัน ในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM จะมีธาตุอาหารสูง กว่าในอาหารสังเคราะห์สูตร VW โดยจะมีความ แตกต่างทั้งในรูปแบบและปริมาณของธาตุอาหาร

อาหารสังเคราะห์สูตร NDM จะมีปริมาณ ไนโตรเจน แคลเซียม และซัลเฟอร์สูงกว่าอาหารสูตร VW ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเป็น โพโทคอร์มของเมล็ดกล้วยไม้ และในอาหารสูตร NDM ยังใช้ Fe.EDTA ในขณะที่อาหารสูตร VW ใช้ $Fe(SO_4)$ ซึ่งเมล็ดกล้วยไม้สามารถดูด Fe.EDTA มาใช้ได้ดีกว่า นอกจากนี้อาหารสูตร NDM ยังมีโบรอน และโมลิบดีนัมที่มีผลต่อการแบ่งตัวและการยืดตัว ของเซลล์อีกด้วย แสดงให้เห็นว่าอาหารที่มีระดับ ของธาตุอาหารที่เหมาะสม จะส่งผลต่ออัตราการ เจริญของ โพโทคอร์ม (Tokuhara and Mii, 1993)

การออกของเมล็ดกล้วยไม้ต้องการธาตุอาหารจากภายนอกเพื่อใช้ในกระบวนการงอก เนื่องจากเมล็ดและ เอ็มบริโอมีขนาดเล็กมากอาหารสะสมจึงไม่เพียงพอต่อการงอก กล้วยไม้ต้องอาศัยเชื้อราพวก mycorrhiza เป็นตัวให้น้ำตาลและสารอินทรีย์บางชนิดที่จำเป็นต่อกระบวนการงอก (ครุฑ, 2541) การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในอาหารสังเคราะห์เป็นการเพาะเมล็ดภายใต้สภาวะปลอดเชื้อจะส่งผลให้อัตราการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สูงกว่าในสภาพธรรมชาติ ซึ่งเป็นผลดีต่อการอนุรักษ์พันธุ์กรรมกล้วยไม้และการเพาะเลี้ยงเพื่อการค้า ดังนั้นการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อสามารถใช้น้ำตาลซูโครสทดแทนน้ำตาลที่ได้จากเชื้อราและทำให้เมล็ดงอกได้ โดยกล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการน้ำตาลในปริมาณและชนิดที่แตกต่างกัน (Arditti and Ernst, 1993) ดังนั้น การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ อาจศึกษาโดยใช้สูตรอื่นเพิ่มเติม เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมกับกล้วยไม้แต่ละชนิด

จากการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวน โพรโทคอร์มของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด พบว่า เมื่อย้ายโพรโทคอร์มที่ได้จากการเพาะเมล็ดลงในอาหารสูตร NDM ที่เติมน้ำต้มมันฝรั่ง กรดอะมิโนและวิตามินต่าง ๆ โพรโทคอร์ม ของกล้วยไม้สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว การเติมกรดอะมิโนและวิตามินลงไปเพื่อเพิ่มสารอาหารให้กับโพรโทคอร์มจะทำให้โพรโทคอร์มมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (George, 1996) และในการเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์มควรย้ายโพรโทคอร์มลงอาหารใหม่ทุกๆ 2-4 สัปดาห์ และการตัดโพรโทคอร์มก่อนย้ายลงอาหารใหม่จะทำให้สามารถเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์ม ได้มากขึ้น และป้องกันการเจริญเติบโตเป็นต้น (Tokuhara and Mii, 1993; Park et al, 2002) เมื่อศึกษาผลของการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสจาก 1% เป็น 2% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้นโพรโทคอร์มของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

และการเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์ม ลดลงในเข็มขาว แต่ไม่มีผลต่อปริมาณ โพรโทคอร์มเอื้องคำ ซึ่งขึ้นส่วนพืชแต่ละชนิด มีความต้องการน้ำตาลในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน และความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นอาจมีผลยับยั้งการเจริญของพืช (Sunitibala et al., 2001) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส มีผลต่ออัตราเมแทบอลิซึม และการขนส่งออกซิน (คำณู, 2542, Chen et al., 2003) แม้ว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เพิ่มขึ้นอาจมีผลยับยั้งการเจริญของพืชบางชนิดได้ แต่ก็มีรายงานว่าในพืชบางชนิด ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเพิ่มความยาวยอดได้เช่นกัน (Nobre et al., 2000) ทั้งนี้ขึ้นกับความต้องการปริมาณน้ำตาลที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช นอกจากนี้ การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหาร ในระดับที่เหมาะสมก็สามารถเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์มได้ (Arditti and Ernst, 1993; Tokuhara and Mii, 1993; Park et al., 2002)

จากการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BAP ต่อการเจริญเป็นต้นและการเกิดรากของโพรโทคอร์ม กล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด พบว่า กล้วยไม้แต่ละชนิดมีการเจริญในอาหารแต่ละสูตรต่างกัน โดยโพรโทคอร์มเข็มขาวสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ดีในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติม NAA 1 มก./ล. มีจำนวนต้นเฉลี่ย 6 ต้นต่อโพรโทคอร์ม และต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงได้มีความสูงเฉลี่ย 5.4 มม. โพรโทคอร์มเอื้องคำ สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ดีในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติม BAP 0.1 มก./ล. มีจำนวนต้นเฉลี่ย 7 ต้นต่อโพรโทคอร์ม และต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงได้มีความสูงเฉลี่ย 9.5 มม. เมื่อเปรียบเทียบความสูงและความยาวของราก พบว่า ต้นอ่อนเข็มขาวที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตมีความสูงและความยาวรากสูงสุด คือ 6 และ 2.3 มม. ตามลำดับ และต้นอ่อนเอื้องคำที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA และ BAP ชนิดละ 0.1 มก./ล. มีความสูงและความยาวรากสูงสุด คือ 11.6

และ 6.4 มม. ตามลำดับ โดยจะสังเกตเห็นว่า กล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำมีการเจริญเป็นต้นที่ผิดปกติในอาหารสังเคราะห์ที่มีระดับความเข้มข้นของ BAP สูง โดยต้นที่ได้จะมีลักษณะแคระ ไม่มีราก หรือเกิดเป็นโพโทคอร์มที่มียอดเล็กๆ มากมาย ในขณะที่ โพโทคอร์ม กล้วยไม้สามารถเจริญได้ดี และเกิดเป็นต้นได้ดีในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ NAA สูง หรืออาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับรายงานของ Roy and Banerjee (2002) ที่พบว่า BAP สามารถยับยั้งการเจริญของเหง้าและราก ของกล้วยไม้ แต่จะมีผลไปกระตุ้นการเกิดยอด และการเติม BAP ในระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปจะมีผลทำให้ต้นไม่เจริญ หรือมีการเจริญที่ผิดปกติ ในขณะที่กล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA สามารถเจริญเป็นต้นได้ดีและมีขนาดใหญ่ แสดงให้เห็นว่า BAP มีผลในการยับยั้งเจริญของปลายยอด แต่มีผลในการชักนำการเจริญของยอดจากตาข้าง และมีรายงานว่า การเติม BAP 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. สามารถชักนำโพโทคอร์มจากตาของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ได้ (George, 1996) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับ การเจริญเป็นต้นของกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต โพโทคอร์ม ของกล้วยไม้สามารถเจริญเป็นต้นได้ แต่มีอัตราที่น้อยกว่าโพโทคอร์มกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และจะสังเกตเห็นว่า ในระยะแรกของการเพาะเลี้ยงโพโทคอร์มกล้วยไม้ในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น โพโทคอร์มของกล้วยไม้ยังคงมีการเพิ่มจำนวนขึ้นได้ และในกล้วยไม้บางชนิด เช่น เข็มขาว มีการพัฒนาไปเป็นต้นได้น้อยมาก และต้นที่ได้มีขนาดเล็ก สอดคล้องกับรายงานของ Vajrahaya (1970 อ้างถึงใน Arditto and Ernst, 1993) ที่กล่าวว่ากล้วยไม้ประเภท monopodium มีความสามารถเจริญเป็นต้นได้น้อยกว่ากล้วยไม้ประเภท sympodium ซึ่งเข็มขาวจัดอยู่ในกล้วยไม้ประเภท monopodium ส่วนเอื้องคำ จัดอยู่ในประเภท

sympodium ทำให้เข็มขาวมีการเจริญเป็นต้นได้น้อยกว่า เอื้องคำ แต่สามารถเพิ่มปริมาณโพโทคอร์มเป็นจำนวนมาก

ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ อาจใช้ส่วนอื่นๆ ของพืชในการศึกษาได้ เช่น ตาข้าง ยอดตาของช่อดอก ใบอ่อน หรือราก แล้วแต่ชนิดพันธุ์และชิ้นส่วนพืชที่นำมาศึกษา สำหรับข้อดีของการเพาะเมล็ดกล้วยไม้จากฝัก จะช่วยลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงในขั้นตอนต่างๆ ได้ ทำให้ได้โพโทคอร์มปริมาณมากและมีประสิทธิภาพในการเจริญเป็นต้นสูง แต่ลักษณะของต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดจะมีความแตกต่างกันไป ตามลักษณะทางพันธุกรรมของต้นพ่อและต้นแม่ การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นในการขยายพันธุ์เข็มขาวและเอื้องคำ ซึ่งผลจากการศึกษาที่ได้นี้จะนำไปใช้ในการศึกษาการส่งถ่ายยีนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุน การทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร สำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ. 2543. คู่มือการจำแนกกล้วยไม้ไทย เล่ม 2. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- ครรชิต ธรรมศิริ. 2541. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน).
- คำณูณ กาญจนภูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- จิตราพรรณ พิสิก. 2538. กล้วยไม้. ใน: กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. ไม้ตัดดอกเขตร้อน. พิมพ์ครั้งที่ 2. [ม.ป.ท.: ม.ป.พ.]. หน้า 10-14.

- วิจิต สุวรรณปรีชา. 2537. การปลูกไม้ตัดดอก เล่ม 2. กรุงเทพฯ: ทิพย์วิสุทธิการพิมพ์.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร โดยความร่วมมือของ กรมศุลกากร. 2548. กล้วยไม้สด: ปริมาณ และมูลค่าการส่งออกรายเดือน. สถิติการ ส่งออกดอกกล้วยไม้ จาก <http://www.oae.go.th/statistic/export/1301OC.xls>. 29 มีนาคม 2548.
- อดิสร กระแสชัย. 2536. อุตสาหกรรมไม้ตัดดอก ของประเทศไทย. ใน: รายงานการสัมมนา การพัฒนาอุตสาหกรรมไม้ดอกไม้ประดับ ของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: คณะ อนุกรรมการประสานงานวิจัยและพัฒนา ไม้ดอกไม้ประดับ สำนักงานคณะกรรมการ การวิจัยแห่งชาติ.
- Arditti, J. and Ernst, R. 1993. Micropropagation of orchid. New York: John Wiley&Sons Inc.
- Chen, Y Lin, S., Duguid, S., Dribnenki, P. and Kenaschuk, E. 2003. Effect of sucrose concentration on elongation of shoots from flax anther culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 72: 181-183.
- George, E.F. 1996. Plant Propagation by Tissue Culture. Part 2: In Practice. 2nd rev.ed. England: Exegetics Limited.
- Nobre, J., Santos, C. and Romano, A. 2000. Micropropagation of the mediterranean species *Viburnum tinus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 60: 75-78.
- Park, S.Y., Yeung, E.C., Chakrabarty, D. and Paek, K.Y. 2002. An efficient direct induction of protocorm-like bodies from leaf subepidermal cells of *Doritaenopsis* hybrid using thin-section culture. *Plant Cell Reports*. 21: 46-51.
- Reinert, J. and Bajaj, Y.P.S. 1995. Applied and fudanemental aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 4th reprint. New Delhi: Narosa Publishing House.
- Roy, J. and Barnerjee, N. 2002. Rhizome and shoot development during *in vitro* propagation of *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. *Scientia Horticulture*. 94: 181-192.
- Sunitibala, H., Damayanti, M. and Sharma, G.J. 2001. *In vitro* propagation and rhizome formation in *Curcuma longa* Linn. *Cytobios*. 105: 71-82.
- Tokuhara, K. and Mii, M. 1993. Micropropagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* by culturing shoot tips of flower stalks buds. *Plant Cell Reports*. 13: 7-11.