ปัจจัยการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

อริสรา ติ๊บปะละวงศ์

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2566

ปัจจัยการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

อริสรา ติ๊บปะละวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปัจจัยการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

อริสรา ติ๊บปะละวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีกาญจนา คล้ายเรือง)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปารวี กาญจนประโชติ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง ปัจจัยการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว
ชื่อผู้เขียน นางสาวอริสรา ติ๊บปะละวงศ์
ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล

บทคัดย่อ

กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus*) จัดอยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อัญมณีที่มีความโดดเด่นสวยงามของใบ ยังมีความสำคัญด้านการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ แต่ในปัจจุบันปริมาณนกคุ้มไฟในธรรมชาติมีแนวโน้มลดลงเป็นอย่างมาก เนื่องจากถูกลักลอบเก็บออกมาจากป่าทำให้มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพของการขยายพันธุ์นกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อ โดยการศึกษาในระยะการเพิ่มปริมาณยอดได้นำชิ้นส่วนข้อเดี่ยวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ ได้แก่ สูตร ½ MS และ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร VW เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ 2.7 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งมากกว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร VW (2.2 และ 1.1 ยอดต่อชิ้นส่วน) ส่วนในการเปรียบเทียบผลของไซโตไคนิน คือ BAP หรือ TDZ 0.25, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมในอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า การเติม TDZ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ชิ้นส่วนข้อเดี่ยวมีการเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุด คือ 3.1 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนการเปรียบเทียบผลของระบบเพาะเลี้ยง คือ อาหารกึ่งแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (temporary immersion bioreactor: TIB) ที่มีสภาวะการให้อาหารทุก 6 และ 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 และ 10 นาที เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ระบบ TIB ให้ผลดีกว่าต่อการเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารกึ่งแข็ง โดยการให้อาหารเหลวทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ทำให้มีจำนวนยอดและความยาวยอดมากที่สุด คือ 4.8 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 4.73 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับการศึกษาในระยะการชักนำให้ออกรากได้นำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB เปรียบเทียบกับอาหารกึ่งแข็งและใช้อาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 0, 0.25, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ระบบ TIB สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตด้านต่าง ๆ ได้ดีกว่าอาหารกึ่งแข็ง โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB และใช้อาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีจำนวนราก ความยาวราก ความสูงต้น

จำนวนใบ พื้นที่ใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นสูงที่สุด คือ 3.1 รากต่อต้น, 5.70 เซนติเมตร, 5.58 เซนติเมตร, 2.9 ใบต่อต้น, 595.80 ตารางมิลลิเมตร, 1384.78 มิลลิกรัม และ 99.89 มิลลิกรัม ตามลำดับ เมื่อนำต้นที่ออกรากจากกรรมวิธีต่าง ๆ มาย้ายปลูกในพีทมอสเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีอัตราการรอดชีวิตสูงและไม่แตกต่างกันทางสถิติ อยู่ระหว่างร้อยละ 80-100 นอกจากนี้ได้ทดสอบการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดในระบบ TIB ด้วยอาหารสูตรชักนำการออกราก คือ ½ MS ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสง LED สีขาว และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 3:1 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตด้านต่าง ๆ (ยกเว้นจำนวนรากและจำนวนใบ) ได้ดีกว่าการให้แสง LED คุณภาพแสงอื่น ๆ โดยมีความยาวราก ความสูงต้น พื้นที่ใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นสูงที่สุด คือ 5.85 เซนติเมตร, 6.88 เซนติเมตร , 780.67 ตารางมิลลิเมตร, 1947.06 มิลลิกรัม และ 164.22 มิลลิกรัม ตามลำดับ ต่อมานำต้นที่ออกรากในแต่ละกรรมวิธีไปย้ายปลูกในพีทมอสเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 90-100 ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การเพาะเลี้ยงนกคุ้มไฟในระบบ TIB ทั้งในระยะการเพิ่มปริมาณยอดและระยะการชักให้ออกรากให้ผลที่ดีกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งแบบดั้งเดิม จึงสามารถใช้ระบบ TIB เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์นกคุ้มไฟให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

คำสำคัญ : นกคุ้มไฟ, สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช, ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว, การเพิ่มปริมาณยอด, การชักนำการออกราก

Title FACTORS AFFECTING MICROPROPAGATION OF *ANOECTOCHILUS BURMANICUS* IN TEMPORARY IMMERSION BIOREACTOR

Author Miss Arissara Tibpalawong

Degree Master of Science in Biotechnology

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Paweena Pumisutapon

ABSTRACT

Anoectochilus burmanicus is a terrestrial jewel orchid with outstandingly beautiful and marbled leaves. This orchid is also important for its medical applications. However, the amount of this *Anoectochillus* species in nature has dramatically declined, as the orchids are often smuggled out of the forest. As a result, *A. burmanicus* is considered as an endangered species. This research aimed to develop a method that increases the efficiency of *in vitro* propagation *A. burmanicus*. In the multiplication stage, single node explants were cultured on semi-solid media, i.e., ½ MS and MS with 0.25 mg/L TDZ and VW. After 12 weeks, it was found that ½ MS with 0.25 mg/L TDZ supplementation could induce shooting by an average of 2.7 shoots per explant. This number exceeded the MS with 0.25 mg/L TDZ and the VW media (2.2 and 1.1 shoots per explant, respectively). To examine the cytokinin effects, BAP or TDZ at the concentration of 0.25, 0.50, and 1.00 mg/L were added to ½ MS. After cultured for 12 weeks, it was shows that 0.50 mg/L of TDZ supplemented with ½ MS gave the greater shooting with an average of 3.1 shoots per explant. We also compared the influence of culture systems: semi-solid medium and temporary immersion bioreactor (TIB) with feeding every 6 and 12 h, for 5 and 10 min each time. At 12 weeks, the TIB system revealed more effective in shoot induction from single nodes than a semi-solid medium. The liquid feeding every 12 h for 5 min each time resulted in the highest number of shoots and shoot lengths (4.8 shoots per explant and 4.73 cm, respectively). To explore the conditions for the rooting stage, we compared the TIB system with semi-solid media using ½ MS containing 0,

0.25, 0.50, and 1.00 mg/L of IAA. At 12 weeks, we found that the TIB system is better enabled various growth aspects than the semi-solid media. In particular, the TIB-mediated cultivation with 1.00 mg/L IAA yielded the highest number of roots, root length, plant height, number of leaves, leaf area, fresh weight, and dry weight (3.1 roots per plant, 5.70 cm, 5.58 cm, 2.9 leaves per plant, 595.80 mm^2, 1384.78 mg, and 99.89 mg, respectively). We then acclimatized the rooted plants from different treatments by transplanting them into peat moss for 4 weeks. We found all treatments with high survival rates and were not statistically different between 80-100%. In addition, we explored the growth in the TIB system with a rooting medium, ½ MS added with 1.00 mg/L IAA, under different lighting. We compared the cultures under LED white light and the combinations of red and blue lighting with the ratios of 1:1, 1:3, and 3:1. The LED red and blue in a 3:1 ratio was best to stimulate all growth aspects (except root number and leaf number). The root length, plant height, leaf area, fresh weight, and dry weight were the highest at 5.85 cm, 6.88 cm, 780.67 mm^2, 1947.06 mg, and 164.22 mg, respectively. Subsequently, the rooted plants were transplanted into peat moss for 4 weeks. We found that all treatments were able to adapt well. The survival rates were as high as 90-100%, which were not statistically different. Our results have shown that *A. burmanicus* cultivation under the TIB system yielded better results than conventional semi-solid feed in both multiplication and rooting stages. Therefore, the TIB system can be developed as a guideline for more efficient propagation of *A. burmanicus*.

Keywords : Anoectochilus burmanicus, plant growth regulators, temporary immersion bioreactor (TIB), shoot multiplication, root induction

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ภูมิสุทธาผล และกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรีกาญจนา คล้ายเรือง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปารวี กาญจนประโชติ ที่ให้ความช่วยเหลือและคอยสนับสนุน พร้อมทั้งให้คำแนะนำต่าง ๆ ในระหว่างดำเนินการงานวิจัย จนวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ ทั้งนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัชณี แสงทอง ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์แก่ข้าพเจ้า และให้คำแนะนำในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุน “ทุนศิษย์ก้นกุฏิ” สำหรับการดำเนินงานวิจัยนี้

ขอบขอบพระคุณศูนย์กล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนต้นนกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อสำหรับใช้ในงานวิจัยนี้

นอกจากนี้ขอขอบพระคุณครอบครัวของข้าพเจ้า ที่ให้การอบรมสั่งสอน สนับสนุน และให้กำลังใจกันตลอดมา และขอบคุณพี่ ๆ น้อง ๆ ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกคนที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจกันตลอดการทำงานวิจัยนี้

ขอมอบความดีอันมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้แด่ บิดา มารดา ผู้อบรมเลี้ยงดูและให้การศึกษาตลอดจนครูอาจารย์ที่อบรมสั่งสอนประสิทธิ์ประสาทความรู้ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

อริสรา ติ๊บปะละวงศ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

ขอบเขตงานวิจัย 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจสอบเอกสาร 4

กล้วยไม้สกุลนกคุ้มและนกคุ้มไฟ (*Anocetochilus burmanicus*) 4

ฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้สกุลนกคุ้ม 5

การขยายพันธุ์พืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (micropropagation) 6

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 7

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลนกคุ้ม 8

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วย TIB แบบขวดแฝด 10

การใช้ไบโอรีแอคเตอร์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ 12

แสงกับการเจริญเติบโตของพืช 13

ไดโอดเปล่งแสง (light emitting diode, LED) 14

รายงานการวิจัยใช้หลอด LED ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 14

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 17
พืชทดลอง วัสดุ และอุปกรณ์ 17
การดำเนินการทดลอง 18
การเตรียมต้นนกคุ้มไฟสำหรับทำการทดลอง 18
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ 18
การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟบนอาหารกึ่งแข็ง 18
การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสภาวะการให้อาหารเหลวต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในระบบ TIB 19
การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของออกซินต่อการชักนำการออกรากของนกคุ้มไฟในระบบ TIB 19
การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟในระบบ TIB 20
การวิเคราะห์ทางสถิติ 21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 22
1. ผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ 22
2. ผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟบนอาหารกึ่งแข็ง 25
3. ผลของสภาวะการให้อาหารเหลวต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในระบบ TIB 28
4. ผลของออกซินต่อการชักนำการออกรากของนกคุ้มไฟในระบบ TIB 31
5. ผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟในระบบ TIB 41
วิจารณ์ผลการทดลอง 51
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 55
บรรณานุกรม 56
ภาคผนวก 62
ประวัติผู้วิจัย 87

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของนกคุ้มไฟ (A) ช่อดอกนกคุ้มไฟ (B)..... 5

ภาพที่ 2 หลักการทำงานของระบบ TIB แบบขวดแฝด โดยระบบจะมี 2 ภาชนะสำหรับบรรจุต้นพืชและอาหารเหลว (A) เมื่อระบบทำงานจะเปิดแรงดันลมผ่านตัวกรองอากาศฝั่งภาชนะที่บรรจุอาหารเหลวเพื่อดันอาหารไปยังภาชนะที่บรรจุต้นพืช (B) ทำให้ต้นพืชจะถูกแช่ชั่วคราวในอาหารเหลวตามระยะเวลาที่กำหนด (C) เมื่อครบเวลาจะเปิดแรงดันลมผ่านตัวกรองอากาศจะฝั่งภาชนะที่บรรจุต้นพืชทำให้อาหารถูกดันกลับไปยังภาชนะเดิม (D)..... 11

ภาพที่ 3 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)..... 22

ภาพที่ 4 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 23

ภาพที่ 5 ความยาวยอดของชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 24

ภาพที่ 6 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร).. 25

ภาพที่ 7 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 26

ภาพที่ 8 ความยาวยอดของชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและ

ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 27

ภาพที่ 9 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB ด้วยความถี่และระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)..... 28

ภาพที่ 10 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB ด้วยความถี่และระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 29

ภาพที่ 11 ความยาวยอดของชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB ด้วยความถี่และระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 30

ภาพที่ 12 การออกรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)..... 31

ภาพที่ 13 จำนวนรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 32

ภาพที่ 14 ความยาวรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 33

ภาพที่ 15 ความสูงของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 34

ภาพที่ 16 จำนวนใบต่อต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 35

ภาพที่ 17 พื้นที่ใบของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 36

ภาพที่ 18 น้ำหนักสดของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 37

ภาพที่ 19 น้ำหนักแห้งของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 38

ภาพที่ 20 การเจริญเติบโตของต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)..... 39

ภาพที่ 21 อัตราการรอดชีวิตของต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อนำมาย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%) 40

ภาพที่ 22 การเจริญเติบโตของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)..... 41

ภาพที่ 23 จำนวนรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 42

ภาพที่ 24 ความยาวรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 43

ภาพที่ 25 ความสูงของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 44

ภาพที่ 26 จำนวนใบของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 45

ภาพที่ 27 พื้นที่ใบของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 46

ภาพที่ 28 น้ำหนักสดของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 47

ภาพที่ 29 น้ำหนักแห้งของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 48

ภาพที่ 30 การเจริญเติบโตของต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 เมื่อนำมาย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร) 49

ภาพที่ 31 อัตราการรอดชีวิตของต้นนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เมื่อนำมาย้ายปลูก เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)..... 50

บทที่ 1
บทนำ

จากการที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ (อพ.สธ.) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ได้ตระหนักถึงความสำคัญของการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์กล้วยไม้ไทย จึงมีการสำรวจและจัดทำข้อมูลพื้นฐานกล้วยไม้ไทยพันธุ์แท้พระราชทานในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ ตรวจสอบสถานภาพข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้ พบว่า กล้วยไม้ไทยพันธุ์แท้หลายชนิดที่อยู่ในสถานะหายาก พบเฉพาะถิ่นและใกล้สูญพันธุ์ โดยที่กล้วยไม้หายากบางชนิดเป็นพืชสมุนไพรที่สร้างคุณประโยชน์ทางการแพทย์ ซึ่งกล้วยไม้สมุนไพรที่สนใจศึกษา คือ นกคุ้มไฟ (*Anoectochilus burmanicus*) เป็นกล้วยไม้ดินหายากที่จัดอยู่ในกลุ่มกล้วยไม้อัญมณี (jewel orchids) มีใบสวยงามเป็นเอกลักษณ์ เป็นกล้วยไม้ดิน 1 ใน 6 ชนิดที่พบเฉพาะถิ่นในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก เลย และกาญจนบุรี โดยในจังหวัดเชียงใหม่พบการกระจายตัวของนกคุ้มไฟในพื้นที่ป่าชุมชนหมู่บ้านปงไคร้ ซึ่งมีความสมบูรณ์ด้านทรัพยากรธรรมชาติ ตั้งอยู่ในเขตพื้นที่ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม สภาพพื้นที่มีหุบเขาล้อมรอบ ระดับความสูงจากน้ำทะเลปานกลาง 800-1100 เมตร ซึ่งชุมชนบ้านปงไคร้เน้นการเรียนรู้และอนุรักษ์กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพันธุ์ที่ได้รับจากสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เพื่อการขยายพันธุ์และเพื่อการจำหน่ายแก่ผู้สนใจ รวมถึงการศึกษาวิจัย และนำกลับเข้าไปปลูกเพิ่มจำนวนในสภาพธรรมชาติ ปัจจุบันนกคุ้มไฟในสภาพธรรมชาติของประเทศไทยมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการบุกรุกป่าเพื่อทำพื้นที่การเกษตร สภาพป่าที่เปลี่ยนแปลง ทำให้ปริมาณนกคุ้มไฟค่อย ๆ ลดลงอย่างต่อเนื่อง และเมื่อพิจารณาถึงความต้องการใช้พืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในปัจจุบันที่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในทุก ๆ ปี ส่งผลให้มีการเก็บพืชสมุนไพรจากป่าในปริมาณเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงส่งผลกระทบต่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในแหล่งธรรมชาติและเสี่ยงที่จะสูญพันธุ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคโนโลยีที่สามารถเพิ่มการผลิตต้นพันธุ์พืชให้เพียงพอต่อความต้องการ ในปัจจุบันมีเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ทันสมัย คือ ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (temporary immersion bioreactor: TIB) ที่สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้เป็นจำนวนมากและเร่งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม (อาหารกึ่งแข็ง) อีกทั้งใช้ต้นทุนด้านแรงงานน้อยกว่าการใช้อาหารกึ่งแข็งหลายเท่า อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้นกคุ้มต่าง ๆ รวมถึงนกคุ้มไฟยังมีไม่มากนัก แต่มีรายงานความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง และ

ผลิตกล้วยไม้ดินสกุล *Anoectochilus* บางสายพันธุ์ เช่น *Anoectochilus roxburghii* (Zhang et al., 2015) และ *Anoectochilus formosanus* (Ket, 2004) เป็นต้น ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นแนวทางที่สำคัญอีกแนวทางหนึ่งสำหรับการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟให้ได้ปริมาณมาก ซึ่งช่วยลดปัญหาการลักลอบนำพืชออกมาจากแหล่งในสภาพธรรมชาติ

นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาหลอดไดโอดเปล่งแสง (light emitting diode; LED) เพื่อมาทดแทนการใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) เนื่องจากหลอด LED มีประสิทธิภาพในการให้แสงสว่างสูงและมีอายุการใช้งานที่ยาวนานกว่า ซึ่งมีการนำหลอด LED มาใช้นำใช้ในการผลิตต้นพืชทั้งในเรือนโรงหรือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้หลอด LED ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้บางชนิด พบว่า คุณภาพแสงสีต่าง ๆ มีผลต่อการสังเคราะห์รงควัตถุและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ เช่น วานิลลา (Bello-bello, 2016) และกล้วยไม้ในสกุลแคทลียา (Cybularz-urban et al., 2015) เป็นต้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์นกคุ้มไฟภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยมุ่งเน้นศึกษาในระยะการเพิ่มปริมาณยอดซึ่งมีการเปรียบเทียบผลของสูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน และสภาวะการให้อาหารในระบบ TIB แบบขวดแฝด (twin-flasks) รวมทั้งศึกษาในระยะการตุ้นการออกรากในระบบ TIB ซึ่งเปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและการให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ ข้อมูลที่ได้จะสามารถใช้เป็นแนวทางในเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นพันธุ์นกคุ้มไฟด้วยกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนินที่เติมในอาหารกึ่งแข็งต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อ
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในระบบ TIB ที่มีสภาวะการให้อาหารแตกต่างกันและเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง
4. เพื่อทดสอบผลของระดับความเข้มข้นออกซินในการชักนำให้นกคุ้มไฟออกรากในระบบ TIB เปรียบเทียบกับเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง
5. เพื่อศึกษาผลของการให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ระยะการชักนำให้ออกราก

ขอบเขตงานวิจัย

1. พืชทดลอง คือ นกคุ้มไฟที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์กล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
2. การศึกษาการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในขั้นตอนต่าง ๆ ได้แก่ การเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้ออกราก จะดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
3. การทดสอบในระบบ TIB จะศึกษาเฉพาะขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้ออกราก โดยใช้ระบบ TIB แบบขวดแฝด (twin-flasks) ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์นกคุ้มไฟด้วยระบบ TIB

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจสอบเอกสาร

กล้วยไม้สกุลนกคุ้มและนกคุ้มไฟ (*Anocetochilus burmanicus*)

พืชในสกุลนกคุ้ม *Anoectochilus* เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปีที่จัดอยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (*Orchidaceae*) ประกอบด้วยสมาชิกมากกว่า 50 สายพันธุ์ กระจายพันธุ์ในเขตร้อนจากประเทศอินเดียผ่านทางเทือกเขาหิมาลัย จนถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ไปยังทางตะวันออกเฉียงเหนือของเกาะควีนแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย และทางตอนใต้ของหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก (The Plant List Version 1.0 & 1.1, 2013) จัดเป็นกล้วยไม้ขนาดเล็ก เจริญอยู่บนบก บริเวณที่ชื้นแฉะที่มีซากผุของหินหรือซากทับถมของใบไม้หรือใต้ร่มเงาต้นไม้ ส่วนใหญ่มีขนาดเล็กขึ้นอยู่รวมกัน กล้วยไม้สกุลนี้มีลักษณะเด่นเฉพาะ โดยมีใบที่แตกต่างจากกล้วยไม้กลุ่มอื่น ๆ ซึ่งใบมีความสวยงามลักษณะคล้ายกำมะหยี่เป็นประกายสะท้อนแสง มีหลากหลายเฉดสี เช่น สีชมพูหรือสีแดง และสีเขียวเข้ม นอกจากนี้มีเส้นใบหลากสีโดดเด่นคล้ายอัญมณี เช่น สีทอง สีเงิน หรือสีทองแดง ทำให้ถูกเรียกว่า jewel orchids หรือ กล้วยไม้อัญมณี (สลิล, 2551) โดยในประเทศไทยพบเพียง 6 ชนิด คือ *A. burmanicus*, *A. lylei*, *A. roxburghii*, *A. albolineatus*, *A. geniculatus* และ *A. reinwardtii*

A. burmanicus หรือนกคุ้มไฟ เป็นกล้วยไม้ดินขนาดเล็ก ลักษณะลำต้นทอดชูยอด ใบรูปรีแกมรูปไข่หรือรีกว้างจนเกือบกลม ขนาดของใบกว้าง 3 เซนติเมตร ยาว 5 เซนติเมตร ปลายใบแหลม สีม่วงคล้ำ มีลายร่างแหสีแดง (ภาพที่ 1A) ช่อดอกยาว 6-8 เซนติเมตร ช่อดอกมีลักษณะมีขนปกคลุม ดอกขนาด 1 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงบนรูปรี กลีบเลี้ยงคู่ข้างรูปขอบขนานและเบี้ยว ปลายกลีบมน ทั้งสามกลีบสีม่วงแดง ด้านหลังมีขนปกคลุม กลีบดอกเชื่อมกันกับกลีบเลี้ยงบน กลีบปากสีเหลืองสด กลางกลีบเป็นรูปแถบและมีครีบอยู่ด้านหลัง ปลายกลีบแผ่ออกเป็นสองแฉก มีเดือยดอกรูปกรวย (ภาพที่ 1B) พบในป่าดิบเขาริมลำธาร ที่ดินเป็นดินร่วนปนทรายและมีเศษซากพืชทับถม แสงแดดรำไร (อบฉันท์, 2549) เขตกระจายพันธุ์แถบประเทศพม่า ไทย และลาว โดยพบครั้งแรกในพม่า ส่วนประเทศไทยพบที่จังหวัดเชียงใหม่ ตาก และเลย ออกดอกช่วงเดือนตุลาคม–พฤศจิกายน ช่วงออกดอกจะไม่ทิ้งใบ (สลิล, 2558)

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของนกคุ้มไฟ (A) ช่อดอกนกคุ้มไฟ (B)
ที่มา: Khunchai (2015)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยไม้สกุลนกคุ้ม

กล้วยไม้สกุลนกคุ้มหลายชนิดมีสรรพคุณเป็นสมุนไพรใช้รักษาโรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคหัวใจโรคเกี่ยวกับตับและไต (Du et al., 2008; Zhang et al., 2010) และมีการนำมาแปรรูปอาหารเสริมสุขภาพ (functional food) อย่างแพร่หลาย (Takatsuki et al., 1992) ในต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศจีนและไต้หวัน มีการใช้กล้วยไม้สกุลนกคุ้มหลายชนิดทำเป็นชา โดยเชื่อกันว่าช่วยในการทำงานและแก้ปัญหาของตับและปอด สายพันธุ์ที่มีการศึกษากันมาก คือ *A. roxburghii* และ *A. formosanus* โดยใน *A. roxburghii* มีสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติรักษาโรคเบาหวาน ต้านการอักเสบ ต้านไวรัส ป้องกันตับและไตวาย ปรับระบบภูมิคุ้มกัน (Ye et al., 2017) และใน *A. formosanus* มีสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติรักษาโรคตับ รักษาโรคเบาหวาน ต้านการอักเสบ ยับยั้งเนื้องอก ปรับระบบภูมิคุ้มกัน (Nguyen et al., 2018)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของนกคุ้มไฟนั้นยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย ในประเทศไทยมีรายงานโดย Budluang et al. (2016) ได้นำต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาสกัดสารโดยใช้น้ำร้อน พบว่า สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ได้ และสารสกัดยังสามารถต้านการอักเสบและต้านการแปลงสภาพไขมันปกติเป็นไขมันอ้วน และยังเพิ่มการทำงานของอินซูลิน (insulin) ทำให้สามารถนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ไขมันเพิ่มขึ้นในเซลล์ไขมันที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการต้านอินซูลินแล้ว ซึ่งผู้วิจัยได้เสนอแนวทางการใช้ประโยชน์ของนกคุ้มไฟในการใช้เป็นสารต้านอักเสบ สารต้านการดื้ออินซูลินหรือใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันโรคเรื้อรังต่าง ๆ

การขยายพันธุ์พืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (micropropagation)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) เป็นวิธีการที่สามารถใช้ในการขยายพันธุ์พืชเพื่อให้ได้ต้นใหม่ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น ต้นใหม่ที่ได้จะมีลักษณะตรงตามต้นแม่พันธุ์ทุกประการ และปราศจากเชื้อจุลินทรีย์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะนำชิ้นส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อพืช หรือเซลล์พืช มาฟอกฆ่าเชื้อที่บริเวณพื้นผิว ทำการตัดแต่งที่ชิ้นส่วน แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย แร่ธาตุ วิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโต และน้ำตาลในสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงโดยควบคุมสภาพแสง ความชื้น และอุณหภูมิ ซึ่งในพืชแต่ละชนิดก็มีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นจะต้องมีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงพืชแต่ละชนิดด้วย เพื่อประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงพืชชนิดนั้น ๆ (นพมณี, 2545)

การขยายพันธุ์พืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบ่งออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่ (Debergh and Maene, 1981)

ระยะที่ 0 การเตรียมต้นแม่พันธุ์ ต้นแม่พันธุ์ที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชควรเป็นต้นที่สะอาด แข็งแรง และไม่เป็นโรค เพื่อเป็นการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่บริเวณพื้นผิวของชิ้นส่วนที่จะนำมากระตุ้น ในการเตรียมต้นแม่พันธุ์ควรรดน้ำให้น้ำสัมผัสกับบริเวณที่จะใช้ให้น้อยที่สุด หรือไม่ให้สัมผัสเลย เพื่อลดการกระจายของเชื้อจุลินทรีย์อีกทางหนึ่ง

ระยะที่ 1 การกระตุ้นการเกิดยอด เป็นการนำชิ้นส่วนพืชมาฟอกฆ่าเชื้อที่บริเวณพื้นผิว แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนพืชมีการเจริญเติบโตได้ ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวกับระยะนี้ เช่น สารฟอกฆ่าเชื้อ และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความสามารถในการชักนำให้เกิดต้นได้ เป็นต้น

ระยะที่ 2 การเพิ่มปริมาณยอด ในระยะนี้มีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณยอดให้ได้มากขึ้น พืชที่ได้ในระยะนี้ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นยอดที่มีไม่ราก โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของไซโตไคนิน (cytokinin) เช่น benzylaminopurine (BAP) และ thidiazuron (TDZ) เป็นต้น

ระยะที่ 3 การยืดยาวของลำต้นและการกระตุ้นการออกราก เนื่องจากไซโตไคนินส่งผลให้ต้นในระยะเพิ่มปริมาณยอดมีขนาดเล็ก ไม่สูง ระยะนี้จึงเป็นการนำยอดจากระยะเพิ่มปริมาณมาทำให้ยืดยาว พร้อมกับกระตุ้นให้ออกราก เพื่อที่จะได้ต้นสมบูรณ์สำหรับนำออกปลูกต่อไป โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในระยะนี้ คือ สารกลุ่มออกซิน เช่น indole acetic acid (IAA) เป็นต้น

ระยะที่ 4 การย้ายปลูกและปรับสภาพ ในระยะนี้ต้องให้ความสำคัญมาก เนื่องจากสภาพภายในขวดเพาะเลี้ยงแตกต่างจากสภาพแวดล้อมภายนอกอย่างมาก หากไม่มีการปรับสภาพต้นพืชก่อนอาจทำให้พืชเกิดการสูญเสียน้ำมาก จนทำให้พืชตายได้ ดังนั้นเมื่อมีการย้ายต้นออกปลูกควรมีการปรับสภาพต้นในโรงเรือนที่มีการควบคุมการให้แสง ความชื้น และอุณหภูมิก่อน เพื่อให้พืชมีการ

ปรับตัวและสามารถสังเคราะห์แสงเองได้ แล้วจึงค่อย ๆ เปลี่ยนสภาพแวดล้อม เช่น การลดความชื้นและเพิ่มความเข้มแสง จนพืชปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ นอกจากนี้วัสดุปลูกที่ใช้ก็ยังมีผลต่อการรอดชีวิตของพืชด้วยเช่นกัน

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นสารอินทรีย์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช และเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งการใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยอาจส่งผลเร่งหรือชะลอการเจริญเติบโต และเร่งการพัฒนาของอวัยวะต่าง ๆ ของพืชได้ (สุรวิช และคณะ, 2564) โดยแต่เดิมได้มีการแบ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตตามคุณสมบัติออกเป็น 5 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ ไซโตไคนิน (cytokinin), ออกซิน (auxin), จิบเบอเรลลิน (gibberellin) กรดแอบไซซิก (abscisic acid) และเอทิลีน (ethylene) โดยกลุ่มที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมี 2 กลุ่ม ได้แก่ ออกซิน (auxin) เช่น indoleacetic acid (IAA), indolebutyric acid (IBA), naphthalene acetic acid (NAA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และไซโตไคนิน (cytokinin) เช่น kinetin (Kn) และ benzyladenine (BA) (อรพิน, 2557)

ไซโตไคนิน (cytokinin) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ส่วนใหญ่ถูกผลิตบริเวณปลายราก แล้วเคลื่อนที่สู่ปลายยอด ไซโตไคนินมีบทบาทในการช่วยกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโต ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์ กระตุ้นการแตกตาข้าง และยังมีบทบาทในการยับยั้งให้เกิดรากอีกด้วย และเมื่อใช้ร่วมกับออกซินสามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชเกิดแคลลัสได้ (สุรวิช และคณะ, 2564) หากแบ่งไซโตไคนินตามโครงสร้างทางเคมีจะแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ กลุ่มสารประกอบ purine ซึ่ง purine ที่เป็นสารสังเคราะห์ ได้แก่ benzylaminopurine (BAP) หรือ benzyladenine (BA) และ 6-furfuryl aminopurine (kinetin) ส่วน purine ที่เป็นสารธรรมชาติ คือ N_6-isopentenyladenine (2-iP) และกลุ่มสาร phenylureas เช่น thidiazuron (TDZ) หรือ *N*-phenyl-*N*-(1,2,3-thidiazol-4-yl)urea โดยไซโตไคนินที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณยอด ได้แก่ BAP และ TDZ (Davies, 2004)

ออกซิน (auxin) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการขยายขนาดและการยืดตัวของเซลล์ และยังกระตุ้นให้เกิดรากด้วย นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของส่วนต่าง ๆ ในพืชอีกด้วย ออกซินที่ถูกพบเป็นชนิดแรกในพืช คือ IAA และได้มีการสังเคราะห์สารที่มีคุณสมบัติคล้ายออกซินเพื่อนำมาใช้ในการเกษตรอยู่หลายชนิด แต่ที่นิยมใช้กันทั่วไปมีอยู่เพียงไม่กี่ชนิด ได้แก่ NAA, IBA, 2,4-D และ 4-chlorophenoxyacetic acid (4-CPA) เป็นต้น (พันทวี, 2532; พีรเดช, 2529) รายงานการวิจัยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลายชนิดมีการใช้ IAA

ในการชักนำออกราก เช่น เลี้ยงฤๅษีผสม (Sharma et al., 1991), มะนาว (Al-Khayri and Al-Bahrany, 2001) และ *Citrus jambhiri* (Devi et al., 2021) เป็นต้น

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลนกคุ้ม

รายงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลนกคุ้มยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย ดังต่อไปนี้

Gangaprasad et al. (2000) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้นกคุ้ม 2 สปีชีส์ คือ *A. regalis* และ *A. sikkimensis* โดยแยกส่วนของข้อจากต้นที่ปลูกในกระถางมาฟอกฆ่าเชื้อเพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Woody Plant Medium (WPM) ที่เติมซูโครส 3% และ benzylaminopurine (BAP) ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์พบว่า เมื่อกระตุ้นด้วย BAP 2.2 ไมโครโมลาร์ *A. regalis* และ *A. sikkimensis* มีการเกิดยอดสูงที่สุด (95 และ 98% ตามลำดับ) และมีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อ (5.6 และ 4.5 ตามลำดับ) ซึ่งเมื่อใช้อาหารสูตรที่เหมาะสมนี้ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณยอดอีกรอบพบว่า *A. regalis* (21.4 ยอดต่อชิ้นส่วนข้อ และ 8.2 ยอดต่อชิ้นส่วนยอด) เกิดยอดได้สูงกว่า *A. sikkimensis* (12.3 ยอดต่อชิ้นส่วนข้อ และ 4.3 ยอดต่อชิ้นส่วนยอด) ต่อมาเมื่อนำยอดความยาว 4-6 เซนติเมตร ที่มี 3-5 ใบ อายุประมาณ 15 สัปดาห์ มาชักนำให้ออกรากบนอาหารกึ่งแข็งสูตร WPM ที่เติม NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่าน 0.2% หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์พบว่า ยอด *A. regalis* และ *A. sikkimensis* สามารถออกรากได้ดีที่สุดทั้งจำนวนรากและความยาวรากบนอาหารกึ่งแข็งสูตร WPM ที่เติม NAA 2.7 ไมโครโมลาร์ โดยยอดที่ออกรากสามารถรอดชีวิตได้สูงถึง 95-98% เมื่อนำออกปลูกในกระถาง

Ket et al. (2004) ศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ *A. formosanus* ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเปรียบเทียบอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ ได้แก่ Murashige and Skoog (1962) (MS), Knudson (1946) (KC) และ Hyponex (Kano, 1965) (H3) พบว่า อาหารสูตร MS และ H3 มีความเหมาะสมมากว่าอาหารสูตร KC โดยชิ้นส่วนปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS และ H3 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถเกิดยอดใหม่ได้ 2-3 ยอดภายในระยะเวลา 3 เดือน ผู้วิจัยได้ใช้อาหารสูตร H3 ในการทดลองต่อไปเนื่องจากมีราคาต่ำกว่าอาหารสูตร MS พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ (multiple shoots) ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดบนอาหารสูตร H3 ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร หรือ TDZ 1-2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร นอกจากนี้ การเสริมผงถ่าน 1 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ในอาหารที่เติม TDZ สามารถ

กระตุ้นให้เกิดยอดทวีคูณสูงถึง 11.1 ยอดต่อชิ้นส่วน อย่างไรก็ตามยอดที่พัฒนาขึ้นมาแสดงการเจริญเติบโตที่ช้าและไม่สามารถยืดยาวได้ ปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขโดยการย้ายกลุ่มยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร H3 ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เสริมด้วยซูโครส 2% และผงถ่าน 0.5 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร โดยอาหารนี้สามารถชักนำการออกรากได้สูงถึง 100% ภายในระยะเวลา 3 เดือน

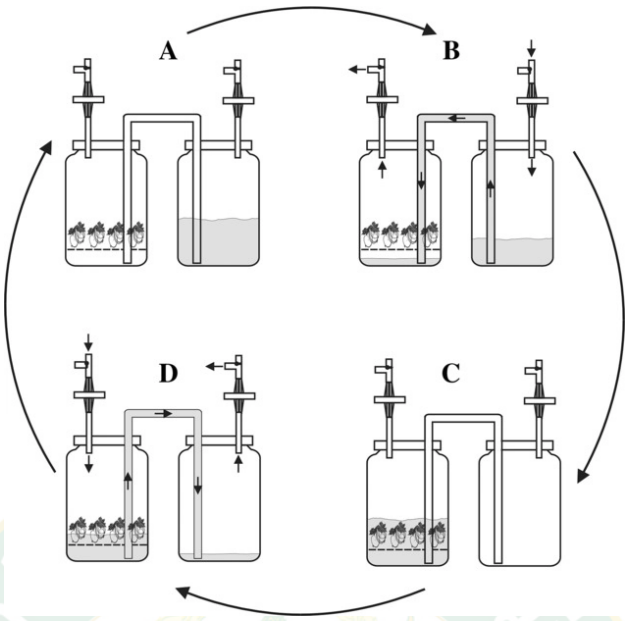
Zhang et al. (2015) ปรับปรุงวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ *A. ruxburghii* โดยนำข้อที่ได้จากต้นที่เจริญในสภาพธรรมชาติมาฟอกฆ่าเชื้อ เพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นและเพาะเลี้ยงลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติมผงวุ้น 7% ซูโครส 3% BA 0.5-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารเสริมประกอบด้วยกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดซิตริก (citric acid) 25 มิลลิกรัมต่อลิตร อะดีนีนซัลเฟต (adenine sulphate) 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอล-อาร์จินีน (L-arginine) 25 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับชักนำให้เกิดยอด หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอด โดยเกิดยอดสูงถึง 91.67% ต่อมาได้นำยอดที่เกิดขึ้นมาทดสอบการกระตุ้นการเพิ่มปริมาณและการเจริญเติบโต โดยใช้อาหาร 4 สูตร ได้แก่ ½ MS, MS, Vacin and Went (VW) และ Gamborg (B5) ที่เติมไซโตไคนิน ได้แก่ BAP 0.5-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับออกซิน NAA 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการกระตุ้นการเพิ่มปริมาณยอด และการเจริญเติบโต โดยมีอัตราการเพิ่มปริมาณยอดสูงถึง 4.33 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนในการทดสอบการชักนำให้ชิ้นส่วนยอดออกราก ใช้อาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม NAA 0.3-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.3-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และกล้วยบด 0-100 กรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม NAA 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วม IBA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และกล้วยบด 100 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำให้ยอดออกราก ซึ่งออกรากสูงถึง 93.33% ยอดที่ออกรากแล้วสามารถนำไปย้ายปลูกได้สำเร็จในถ้วยพลาสติกที่บรรจุทรายผสมดินพีท (อัตราส่วน 1:2) ที่ฆ่าเชื้อแล้วและผิวหน้าคลุมด้วยมอส โดยมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 90.20%

นิติพงศ์ (2558) ศึกษาผลของสารชะลอการเจริญเติบโต placobutrazol (PBZ) ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนกคุ้มไฟเพื่อยืดอายุการวางจำหน่ายต้นพืชที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิกรัมต่อลิตร กล้วยบด

100 กรัมต่อลิตร ผงมันฝรั่ง 4 กรัมต่อลิตร ซูโครส 10 กรัมต่อลิตร และ PBZ ความเข้มข้น 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 14 สัปดาห์พบว่า ระดับความเข้มข้นของ placobutrazol ที่สูงขึ้นมีผลทำให้ความยาวยอด ความยาวปล้อง และความยาวรากลดลง แต่จำนวนข้อ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางราก ความหนาของใบ และความเขียวของใบเพิ่มขึ้น โดย PBZ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลชะลอการเจริญเติบโตได้มากที่สุด

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วย TIB แบบขวดแฝด

ระบบ TIB แบบขวดแฝดเป็นระบบที่มีการทำงานอัตโนมัติ จึงสามารถลดขั้นตอนต่าง ๆ และระยะเวลาในการทำงาน เช่น การตัดถ่ายเนื้อเยื่อ การเปลี่ยนอาหาร และลดพื้นที่ของชั้นวางขวดในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้มากถึง 80% โดยมีการผสมผสานข้อดีของการเพาะเลี้ยงด้วยระบบอาหารแข็งและอาหารเหลวเข้าด้วยกัน ซึ่งระบบอาหารแข็งมีข้อดี คือ มีการแลกเปลี่ยนอากาศที่ดีและต้นที่ได้มีคุณภาพดี แต่มีข้อเสีย คือ เพิ่มปริมาณต้นได้น้อย ส่วนระบบอาหารเหลวมีข้อดี คือ เพิ่มจำนวนต้นได้มากขึ้น แต่มีข้อเสีย คือ มีโอกาสเกิดต้นที่มีการฉ่ำน้ำ (hyperhydricity) ซึ่งเป็นลักษณะผิดปกติ หลักการทำงานของระบบ TIB แบบขวดแฝด คือ ภาชนะที่ใช้จะแยกส่วนบรรจุอาหารกับส่วนบรรจุชิ้นส่วนพืชออกจากกัน ในแต่ละส่วนมีท่อเชื่อมเพื่อให้มีการดันอาหารไปและกลับด้วยแรงดันลมจากปั๊มลม อากาศที่เข้าไปภายในขวดจะถูกทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองอากาศ (air filter) ขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน (ภาพที่ 2) โดยมีการกำหนดความถี่และระยะเวลาในการให้อาหารเหลวที่เหมาะสมตามชนิดพืช (นพมณี และคณะ, 2550)



ภาพที่ 2 หลักการทำงานของระบบ TIB แบบขวดแฝด โดยระบบจะมี 2 ภาชนะสำหรับบรรจุต้นพืชและอาหารเหลว (A) เมื่อระบบทำงานจะเปิดแรงดันลมผ่านตัวกรองอากาศฝั่งภาชนะที่บรรจุอาหารเหลวเพื่อดันอาหารไปยังภาชนะที่บรรจุต้นพืช (B) ทำให้ต้นพืชจะถูกแช่ชั่วคราวในอาหารเหลวตามระยะเวลาที่กำหนด (C) เมื่อครบเวลาจะเปิดแรงดันลมผ่านตัวกรองอากาศจะฝั่งภาชนะที่บรรจุต้นพืชทำให้อาหารถูกดันกลับไปยังภาชนะเดิม (D)
ที่มา: Georgjev et al. (2014)

ระบบ TIB เป็นระบบที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ในกาแฟมีการศึกษาการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอในชุดภาชนะขนาด 1 ลิตร พบว่า การให้อาหารทุก ๆ 4 ชั่วโมง นานครั้งละ 1 นาที สามารถเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอมากที่สุดถึง 3,081 เอ็มบริโอ (Albarrán, 2005) ส่วนการศึกษาในประเทศไทยมีการพัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์ปทุมมาด้วยระบบ TIB แบบขวดแฝด โดยใช้อุปกรณ์ที่จัดหาได้ง่ายภายในประเทศมาดัดแปลง ทำให้ได้ระบบ TIB แบบขวดแฝดต้นทุนต่ำและมีราคาถูกกว่าแบบมาตรฐานถึง 3.11 เท่า นอกจากนี้ยังศึกษาการผลิตต้นจิ๋วปทุมมาในระยะเพิ่มปริมาณต้นในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวชุดภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตร พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนต้นจิ๋วได้ประมาณ 27 เท่าจากเริ่มต้น ซึ่งมากกว่าระบบอาหารแข็งและอาหารเหลว 10 เท่า (นพมณี และคณะ, 2547)

การใช้ไบโอรีแอคเตอร์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

ปัจจุบันยังมีรายงานเกี่ยวกับการใช้ไบโอรีแอคเตอร์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุล *Anoectochilus* ค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตามมีการศึกษาวิจัยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้กลุ่มอื่น ๆ ดังต่อไปนี้

Wu et al. (2007) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้ในสกุลนกคุ้ม *A. formosanus* โดยใช้ไบโอรีแอคเตอร์ ซึ่งแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ในขั้นตอนแรกเป็นการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อและปลายยอดบนอาหารวุ้นที่เติมไซโตไคนินเพื่อเพิ่มปริมาณยอด พบว่า อาหารที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากกว่า และยังได้ยอดที่มีน้ำหนักมากกว่าการกระตุ้นด้วย (2-iP) หรือ Kn นอกจากนี้ยังเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดใน balloon type bubble bioreactor (BTBB) ขนาด 3 ลิตร ที่มีอัตราการกวนอากาศแตกต่างกัน พบว่า ยอดมีการเพิ่มปริมาณและเจริญเติบโตดีเมื่อใช้อัตราการกวนอากาศที่ 0.06 vvm อย่างไรก็ตามยอดที่เพาะเลี้ยงในไบโอรีแอคเตอร์มีการเจริญเติบโตช้าและมีใบขนาดเล็ก ในขั้นตอนที่สองย้ายยอดไปเพาะเลี้ยงใน BTBB ขนาด 3 ลิตร ที่มีอาหารเหลวปริมาตร 0.75 ลิตร ประกอบด้วยส่วนผสมของ Hyponex (20-20-20) 1 กรัมต่อลิตร (6.5-4.5-19) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เปปโตน (peptone) 2 กรัมต่อลิตร ซูโครส 3% และผงถ่าน 0.5 กรัมต่อลิตร และทดสอบการใช้สภาวะเพาะเลี้ยงแตกต่างกันเพื่อกระตุ้นการยืดยาวและออกรากของยอด นั่นคือ อาหารวุ้น ไบโอรีแอคเตอร์จมต่อเนื่อง (มีและไม่มีตาข่าย) ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบ ebb and flood พบว่า ยอดมีความยาวมากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้น แต่ยอดมีการเจริญเติบโตมากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในไบโอรีแอคเตอร์จมต่อเนื่องที่มีตาข่าย

Esyanti et al. (2016) เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลแวนด้า *Vanda tricolor* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวด้วยระบบ TIB และ thin layer culture โดยนำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว และผันแปรสภาวะการให้อาหารเหลว คือ ทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 และ 10 นาที หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 21 วัน ผลปรากฏว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ชิ้นส่วนพืชมีการรอดชีวิตและพัฒนาเห็นได้ชัดเจน รวมทั้งมีการสะสมชีวมวลได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงด้วย thin layer culture

Moreiral et al. (2013) เปรียบเทียบระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันของกล้วยไม้สกุลแคทลียา *Cattleya walkeriana* คือ ระบบดั้งเดิมแบบอาหารแข็งและอาหารเหลว และระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมต่อเนื่องและ TIB พบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB สามารถกระตุ้น

การเจริญเติบโตของส่วนลำต้นและส่วนรากได้มากกว่า รวมทั้งกระตุ้นการสะสมชีวมวลแห้งและควบคุมการสูญเสียน้ำได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยระบบเพาะเลี้ยงแบบอื่น ๆ

Masnoddin et al. (2016) ศึกษาในกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี *Paphiopedilum rothschildianum* ในการชักนำให้เกิด protocorm like bodies (PLBs) จากแคลลัส และการพัฒนาของต้นจาก PLBs ในระบบ TIBแบบ RITA® โดยการชักนำแคลลัสจากเมล็ดและชิ้นส่วน protocorm บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0-22.6 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ 4.54 ไมโครโมลาร์ ต่อมานำแคลลัสน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม มาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB แบบ RITA® ที่บรรจุอาหารเหลว 150 มิลลิลิตร โดยให้อาหารเหลวทุก ๆ 125 นาที ครั้งละ 5 นาที และเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นซูโครสที่แตกต่างกัน (15 และ 58 มิลลิโมลาร์) พบว่า ชิ้นส่วนพืชเริ่มสร้างแคลลัสหลังเพาะเลี้ยงได้ 30 วัน โดยมีการเกิดแคลลัสที่ 90 วัน เท่ากับ 77.04 และ 94.41% ตามลำดับ แคลลัสที่เจริญเติบโตในระบบ TIB แบบ RITA® มีน้ำหนักสดสูงกว่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งกว่า 3 เท่า และเกิด PLBs ประมาณ 135 ชิ้นต่อกรัมของแคลลัส และเมื่อเพิ่มระดับซูโครสจาก 15 เป็น 58 มิลลิโมลาร์ ทำให้เกิด PLBs เพิ่มขึ้นเป็น 190 ชิ้นต่อกรัมของแคลลัส

แสงกับการเจริญเติบโตของพืช

แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการสังเคราะห์แสงของพืช ซึ่งมีความจำเป็นต่อการพัฒนาและเจริญเติบโต โดยมีคลอโรฟิลล์เป็นตัวรับแสงไปเป็นพลังงานในการเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำไปเป็นคาร์โบไฮเดรตและออกซิเจน แสงส่วนใหญ่ที่พืชใช้จะได้รับจากดวงอาทิตย์ ที่เป็นแสงขาวมีความยาวคลื่นแตกต่างกัน ประกอบด้วยแสงสีต่าง ๆ เรียกว่า สเปกตรัม (spectrum) ซึ่งแสงสีแต่ละสีจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของพืชที่ต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช แสงในช่วงพืชนำมาใช้ในการสังเคราะห์แสงเพื่อการเจริญเติบโต สร้างใบ ดอก และผล คือ แสงในช่วงที่มนุษย์มองเห็น (visible light) มีความยาวคลื่น 380-770 นาโนเมตร และจะมีช่วงแสงที่พืชในในการสังเคราะห์แสงโดยเฉพาะมีความยาวคลื่น 400–700 นาโนเมตร เรียกว่า photo synthetically active radiation (PAR) (นภัทร และไชยยันต์, 2560) พืชจะดูดแสงในระหว่างช่วงความยาวคลื่น 400–480 นาโนเมตร (แสงสีน้ำเงิน) และ 630–680 นาโนเมตร (แสงสีแดง) เพื่อนำมาใช้สร้างคลอโรฟิลล์ เอ และ บี ได้ดีที่สุด (Gacomelli, 1998)

ไดโอดเปล่งแสง (light emitting diode, LED)

ไดโอดเปล่งแสง LED มีชื่อย่อมาจาก light emitting diode เป็นอุปกรณ์สารกึ่งตัวนำชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในจำพวกไดโอดที่สามารถเปล่งแสงออกมาได้ แสงที่เปล่งออกมาจะอยู่ในช่วงใกล้กับอัตราไวโอเลต ช่วงแสงที่มองเห็นได้ และช่วงอินฟาเรด แสงที่เปล่งออกมาประกอบด้วยความถี่เดี่ยวและเฟสต่อเนื่อง ซึ่งแตกต่างจากแสงทั่วไปที่สายตาคนมองเห็น Nick Holonyak Jr. แห่งบริษัท เจเนรัล อิเล็กทริก (General Electric Company) เป็นคนแรกที่พัฒนา LED โดยได้พัฒนา LED ในช่วงแสงที่มองเห็น และสามารถใช้งานได้ครั้งแรก ปี ค.ศ. 1962 (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2545)

LED ประกอบด้วยสารกึ่งตัวนำ 2 ชนิด คือ สารกึ่งตัวนำ N (N–type semiconductor) และสารกึ่งตัวนำชนิด P (P–type semiconductor) ประกบเข้าด้วยกัน มีผิวข้างหนึ่งเรียบคล้ายกระจก เมื่อส่งไฟฟ้ากระแสตรงผ่าน LED โดยจ่ายไฟบวกให้ขาแอโนด (A) และจ่ายไฟลบให้ขาแคโทด (K) ทำให้อิเล็กตรอนที่สารกึ่งตัวนำชนิด N มีพลังงานสูงขึ้น จนสามารถวิ่งข้ามรอยต่อจากสารชนิด N ไปรวมกับโฮล (hole) ในสารกึ่งตัวนำชนิด P ได้ การที่อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ผ่านรอยต่อ PN จะทำให้เกิดกระแสไฟฟาไหล ส่งผลให้ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนเปลี่ยนไป และคายพลังงานออกมาในรูปคลื่นแสง (หทัยชนก, 2556)

ปัจจุบันเริ่มมีความนิยมนำหลอด LED มาใช้กับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพิ่มมากขึ้น มีการนำมาใช้ทดแทนแหล่งกำเนิดแสงแบบเดิม เช่น หลอดมีไส้ (incandescent lamp) หลอดฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent lamp) หรือหลอดฮาโลเจน (halogen lamp) เนื่องจากสามารถเลือกใช้งานหลอด LED ได้ทุกสีที่พืชต้องการ มีขนาดเล็กติดตั้งง่าย กำลังไฟฟ้าต่ำกว่าที่ค่าความส่องสว่างเท่ากัน มีอายุการใช้งานที่ยาวนานกว่า 50,000 ชั่วโมง และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (นภัทร และไชยยันต์, 2560)

รายงานการวิจัยใช้หลอด LED ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้หลอด LED ในการเพาะเลี้ยงพืชมีการศึกษาที่ประสบความสำเร็จแล้วพอสมควร ยกตัวอย่างดังนี้

de A. Silva et al. (2014) ได้ศึกษาผลของคุณภาพแสงที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของอ้อย โดยนำอ้อยมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP 1.3 ไมโครโมลาร์ เลี้ยงภายใต้คุณภาพแสง 5 กรรมวิธี ดังนี้ แสงจากหลอด LED สีน้ำเงินร่วมกับสีแดงในอัตราส่วน 70:30, 50:50 และ 30:70 หลอด LED สีขาว และหลอดฟลูออเรสเซนต์ ผลจากการ

ทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยแสง LED น้ำเงินร่วมกับสีแดงในอัตราส่วน 50:50 ให้ผลดีที่สุดสำหรับความสูงของต้น น้ำหนักสด จำนวนใบ และจำนวนยอดที่แตกใหม่ นอกจากนี้ยังพบว่าแสงจากหลอด LED สามารถเพิ่มปริมาณการสังเคราะห์แสงของต้นอ้อยได้ดีกว่าแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์

Matsumoto et al. (2016) ศึกษาผลของการให้แสงจากหลอด LED ต่อการเจริญเติบโตของมันฝรั่งและโสมบราซิล *(Phafia glomerata)* เพื่อการเก็บรักษาพันธุ์ โดยการนำชิ้นส่วนของพืชทั้ง 2 ชนิดมาเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีน้ำเงิน (18 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) LED สีน้ำเงินอ่อน (10 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) LED สีแดง (17 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) LED สีแดงอ่อน (8 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) และแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว (30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาทีในกลุ่มควบคุม) พบว่าแสงจากหลอด LED สีน้ำเงินให้ผลการเจริญเติบโตดีที่สุด ซึ่งใกล้เคียงกับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว อย่างไรก็ตามจำนวนรากที่เกิดยังน้อย และการเจริญเติบโตของต้นภายใต้แสง LED สีน้ำเงินอ่อน สีแดง และสีแดงอ่อน มีการเจริญลดลงเมื่อเทียบกับการเลี้ยงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์สีขาวโดยเฉพาะในมันฝรั่ง แสดงให้เห็นว่าหลอด LED สีน้ำเงินสามารถใช้ทดแทนแสงจากหลอดฟลูออเรส-เซนต์สีขาวได้ สำหรับมันฝรั่งและโสมบราซิล

Yuan et al. (2010) ศึกษาผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของ PLBs ของกล้วยไม้สกุลหวาย *Dendrobium officinale* โดยเพาะเลี้ยง PLBs ภายใต้คุณภาพแสงที่แตกต่างกัน 6 กรรมวิธี ได้แก่ สภาพมืด หลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว (Fw) หลอด LED สีแดง สีน้ำเงิน สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 1:1, 2:1 และ 1:2 หลังเพาะเลี้ยงระยะเวลา 90 วัน พบว่า หลอด LED สีน้ำเงินให้ผลดีสำหรับการเกิดยอดใหม่ เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงภายใต้สภาพมืด หลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว และหลอด LED สีแดง สีน้ำเงิน สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วน 1:1 และ 1:2 มีการเกิดจำนวนยอดต่อ PLBs สูง และยังมีปริมาณของคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการเลี้ยงภายใต้สภาพมืด หลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว และหลอด LED สีแดง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้หลอด LED สีน้ำเงิน หรือสีน้ำเงินร่วมกับสีแดงทำให้เกิดการพัฒนาจาก PLBs ไปเป็นยอดใหม่

Vanessa et al. (2017) ศึกษาแหล่งกำเนิดแสงและอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Microlaelia lundii* ซึ่งเป็นกล้วยไม้ขนาดเล็กของประเทศบราซิล โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร ½ MS และอาหารดัดแปลง ซึ่งประกอบด้วย Biofert Plus® NPK fertilizer (09-08-09) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และกล้วย 'Nanica' บด 60 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยง

ภายใต้สภาวะแสงที่ต่างกัน 7 กรรมวิธี ได้แก่ หลอด LED 4000K (L1), หลอด LED 6500K (L2), L1+L2 (L3), L1+L1 (L4), หลอด LED สีแดง (L5), หลอด LED สีน้ำเงิน (L6) และหลอดฟลูออเรส-เซนต์ (L7, ชุดควบคุม) หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 200 วัน พบว่า เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลงและให้แสง L6 มีจำนวนต้นกล้าสูงที่สุด ส่วนแสง L1, L2, L3 และ L4 ช่วยส่งเสริมการเพิ่มขึ้นของราก สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่า L4 และ L7 ทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบีสูงที่สุด สรุปได้ว่า การใช้อาหารสูตรดัดแปลงภายใต้แหล่งกำเนิดแสง L1, L2, L3 และ L4 มีความเหมาะสมในการขยายพันธุ์ของ *M. lundii* ในสภาพปลอดเชื้อ

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

พืชทดลอง วัสดุ และอุปกรณ์

1. ต้นนกคุ้มไฟที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์กล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
2. สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารสูตร MS และ VW (ภาคผนวก)
3. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ BAP, TDZ และ IAA
4. น้ำตาลซูโครส
5. เจลแลนกัม (gellan gum)
6. น้ำกลั่น
7. ขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 24 ออนซ์ พร้อมฝา
8. อุปกรณ์ระบบ TIB ขวดแฝด สำหรับชุดภาชนะขนาด 24 ออนซ์ เช่น ตัวกรองอากาศปลอดเชื้อ สายยางซิลิโคน และข้อต่อ
9. เครื่องแก้วสำหรับการตวงวัดสารเคมี ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง และปิเปต
10. เครื่องชั่งดิจิตอลทศนิยมสองและสี่ตำแหน่ง
11. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
12. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำแรงดันสูง (autoclave)
13. ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar-air flow cabinet)
14. อุปกรณ์ผ่าตัดเนื้อเยื่อพืช เช่น ใบมีด ด้ามมีด และปากคีบ
15. หลอดไฟ LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน
16. แก้วพลาสติกใส ขนาด 6 ออนซ์ พร้อมฝาโดม
17. พีทมอส
18. น้ำยากันรา เมทาแลกซิล (metalaxyl) 35% WP

การดำเนินการทดลอง

การเตรียมต้นนกคุ้มไฟสำหรับทำการทดลอง

ตัดแยกชิ้นส่วนยอดจากต้นนกคุ้มไฟอายุ 12 สัปดาห์ ที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ย้ายเปลี่ยนอาหารทุก 12 สัปดาห์ เพื่อใช้เป็นแหล่งเนื้อเยื่อสำหรับทำการทดลองต่าง ๆ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) เปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จำนวน 3 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตร ½ MS เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร MS เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร VW

ตัดแยกชิ้นส่วนข้อเดี่ยวจากต้นนกคุ้มไฟที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ ตามแผนการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ใช้ชิ้นส่วนข้อ 5 ชิ้นส่วนต่อซ้ำ ควบคุมสภาวะเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิที่ 25$\pm$2 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอด LED สีขาว (30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟบนอาหารกึ่งแข็ง

วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นไซโตไคนินที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยง จำนวน 7 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ไม่เติมไซโตไคนิน

กรรมวิธีที่ 2 เติม BAP 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เติม BAP 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เติม BAP 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 6 เติม TDZ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 7 เติม TDZ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตัดแยกชิ้นส่วนข้อเดี่ยวจากต้นนกคุ้มไฟที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 ซึ่งมีการเติมไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ ตามแผนการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ใช้ชิ้นส่วนข้อ 5 ชิ้นส่วนต่อซ้ำ ควบคุมสภาวะเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บันทึกจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสภาวะการให้อาหารเหลวต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในระบบ TIB

วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบระบบเพาะเลี้ยงและการสภาวะการให้อาหารเหลว จำนวน 5 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 อาหารกึ่งแข็ง

กรรมวิธีที่ 2 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที

กรรมวิธีที่ 3 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 10 นาที

กรรมวิธีที่ 4 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที

กรรมวิธีที่ 5 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 10 นาที

ตัดแยกชิ้นส่วนข้อเดี่ยวจากต้นนกคุ้มไฟที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 และมีการเติมไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 โดยเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งหรืออาหารเหลวในระบบ TIB แบบขวดแฝดตามแผนการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ใช้ชิ้นส่วนข้อ 5 ชิ้นส่วนต่อซ้ำ ควบคุมสภาวะเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บันทึกจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนและความยาวยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของออกซินต่อการชักนำการออกรากของนกคุ้มไฟในระบบ TIB

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 อาหารกึ่งแข็ง ไม่เติม IAA

กรรมวิธีที่ 2 อาหารกึ่งแข็ง เติม IAA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อาหารกึ่งแข็ง เติม IAA 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารกึ่งแข็ง เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อาหารเหลว ไม่เติม IAA

กรรมวิธีที่ 6 อาหารเหลว เติม IAA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 7 อาหารเหลว เติม IAA 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 8 อาหารเหลว เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตัดแยกชิ้นส่วนยอดความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร จากต้นนกคุ้มไฟที่เจริญในสภาพปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวใน TIB ตามสภาวะการให้อาหารที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 ซึ่งเติมออกซินตามแผนการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ใช้ชิ้นส่วนยอด 5 ชิ้นส่วนต่อซ้ำ ควบคุมสภาวะเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บันทึกจำนวนรากต่อต้น ความยาวราก ความสูงต้น จำนวนใบต่อต้น พื้นที่ใบ (วาดรูปใบที่ทาบลงบนกระดาษกราฟ และหาพื้นที่จากการนับจำนวนช่องตามขนาดใบ) น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ต่อจากนั้นนำต้นที่ออกรากในกรรมวิธีต่าง ๆ มาย้ายปลูกและปรับสภาพ จำนวน 10 ซ้ำ (ต้น) ต่อกรรมวิธี โดยล้างรากด้วยน้ำประปาเพื่อกำจัดเศษอาหารที่ติดอยู่ แล้วแช่น้ำยากันราเมทาแลกซิล 1.5 กรัมต่อลิตร 20 นาที ปลูกในถ้วยพลาสติกใสขนาด 6 ออนซ์ บรรจุพีทมอส รดน้ำพอชุ่ม ปิดฝาครอบให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28$\pm$2 เซลเซียส ให้แสงจากหลอด LED สีขาว (30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกอัตราการรอดชีวิต เมื่อย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟในระบบ TIB

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แสงสีขาว (30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที)

กรรมวิธีที่ 2 แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน อัตราส่วน 1:1 (30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที)

กรรมวิธีที่ 3 แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน อัตราส่วน 1:3 (28 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที)

กรรมวิธีที่ 4 แสงสีแดงร่วมกับสีน้ำเงิน อัตราส่วน 3:1 (22 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที)

ตัดแยกชิ้นส่วนยอดความสูงประมาณ 3-4 เซนติเมตรจากต้นนกคุ้มไฟที่เจริญในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวตามสภาวะการให้อาหารเหลวที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 ซึ่งเติมออกซินที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 4

จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ใช้ชิ้นส่วนยอด 5 ชิ้นส่วนต่อซ้ำ ควบคุมสภาวะเพาะเลี้ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอด LED คุณภาพแสงต่าง ๆ ตามแผนการทดลอง 14 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกจำนวนราก ความยาวราก ความสูงต้น จำนวนใบ พื้นที่ใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ต่อจากนั้นนำต้นที่ออกรากในกรรมวิธีต่าง ๆ มาย้ายปลูกและปรับสภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4

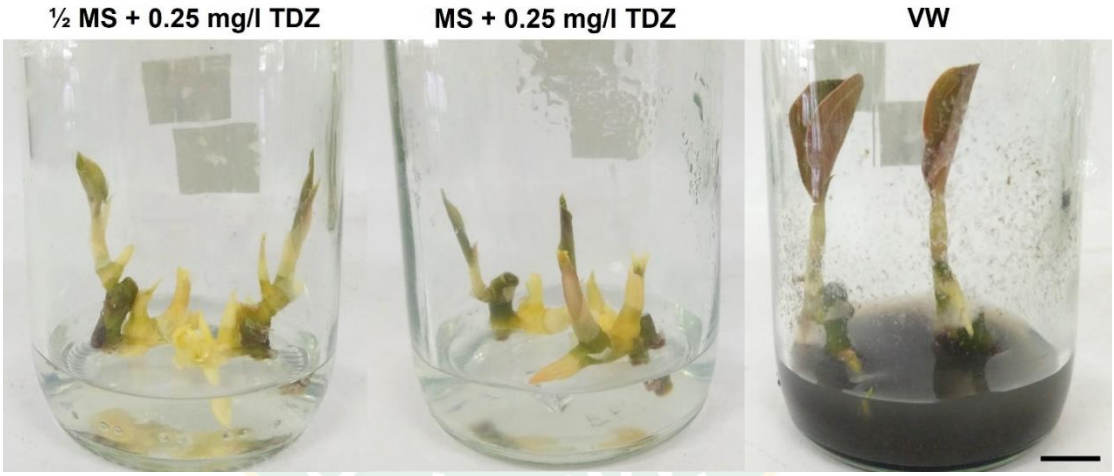
การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาหาค่าเฉลี่ย (mean) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ

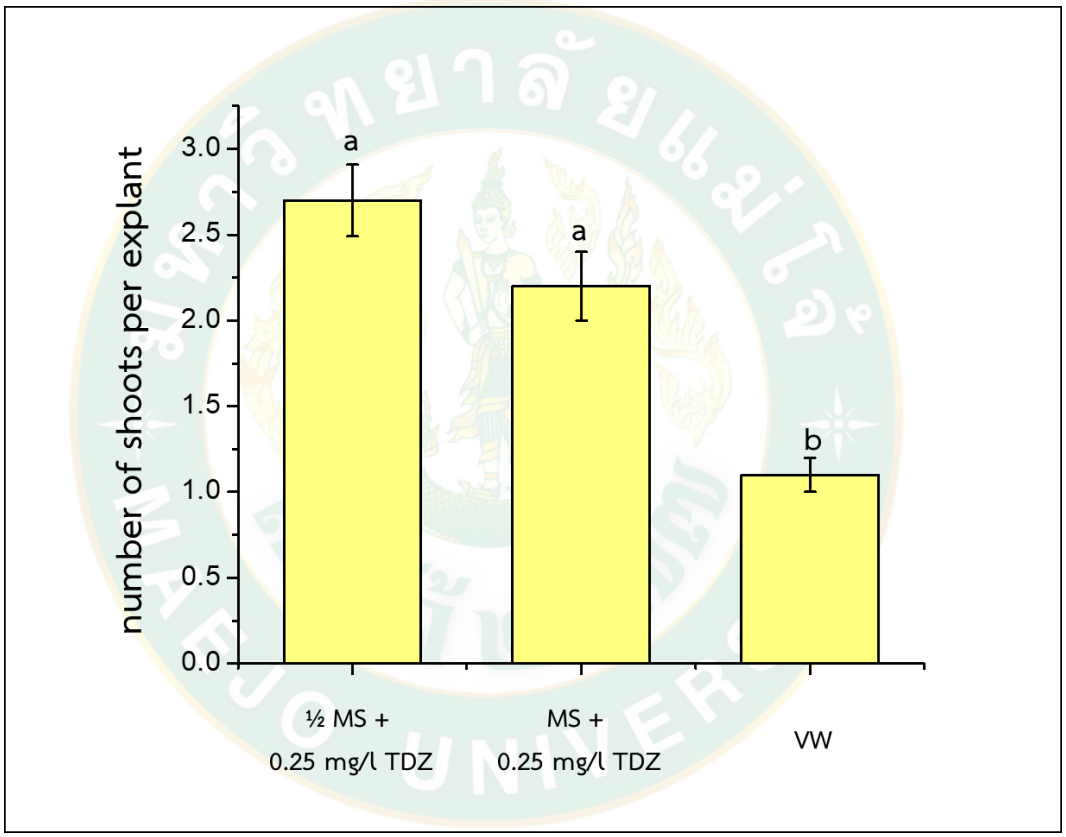
จากการนำชิ้นส่วนข้อเดี่ยวของนกคุ้มไฟมาเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ เป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS และ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการแตกยอดใหม่มากกว่าชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW โดยยอดที่เกิดจากชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS และ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะเป็นยอดแหลม ใบยังไม่คลี่ และไม่เกิดราก ส่วนยอดที่เกิดจากชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW มีลักษณะยอดที่ใบเริ่มคลี่ และแตกรากใหม่ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

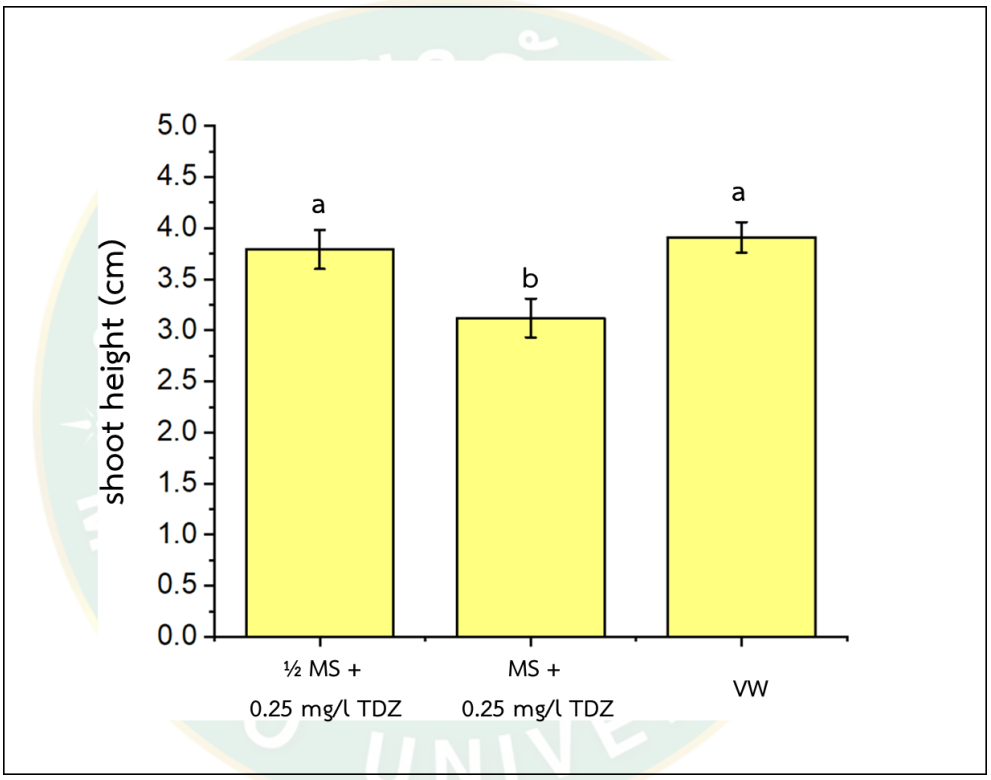
ชิ้นส่วนข้อเดี่ยวของนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW มีการแตกยอดน้อยที่สุด เพียง 1.1 ยอดต่อชิ้นส่วนเท่านั้น ในขณะที่ชิ้นส่วนข้อที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการแตกยอดมากที่สุด คือ 2.7 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการแตกยอดน้อยกว่า คือ 2.2 ยอดต่อชิ้นส่วน (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ความยาวยอด

การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW ให้ชิ้นส่วนยอดของนกคุ้มไฟมีความยาวมากที่สุด คือ 3.90 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวยอด คือ 3.79 เซนติเมตร ในขณะที่การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยอดน้อยที่สุด คือ 3.12 เซนติเมตร (ภาพที่ 5)

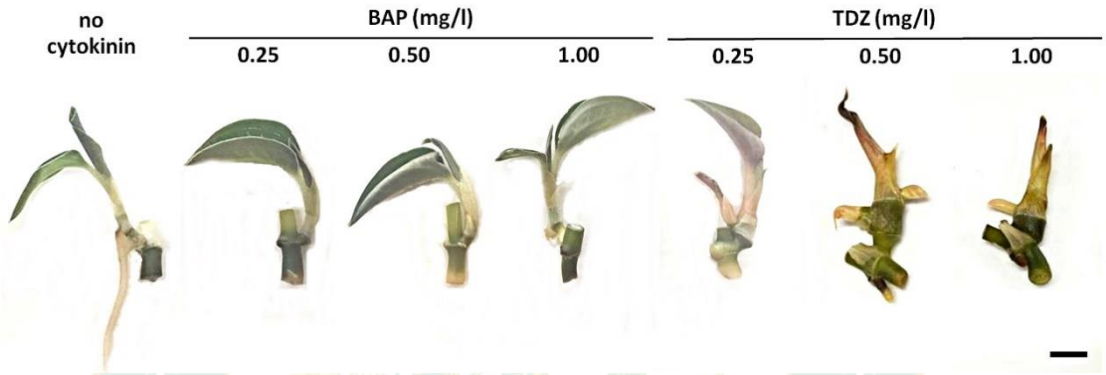


ภาพที่ 5 ความยาวยอดของชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จากการทดลองนี้ พบว่า อาหารสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดของนกคุ้มไฟได้ดีที่สุด จึงจะใช้อาหารสูตรดังกล่าวสำหรับการทดสอบในการทดลองถัดไป

2. ผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟบนอาหารกึ่งแข็ง

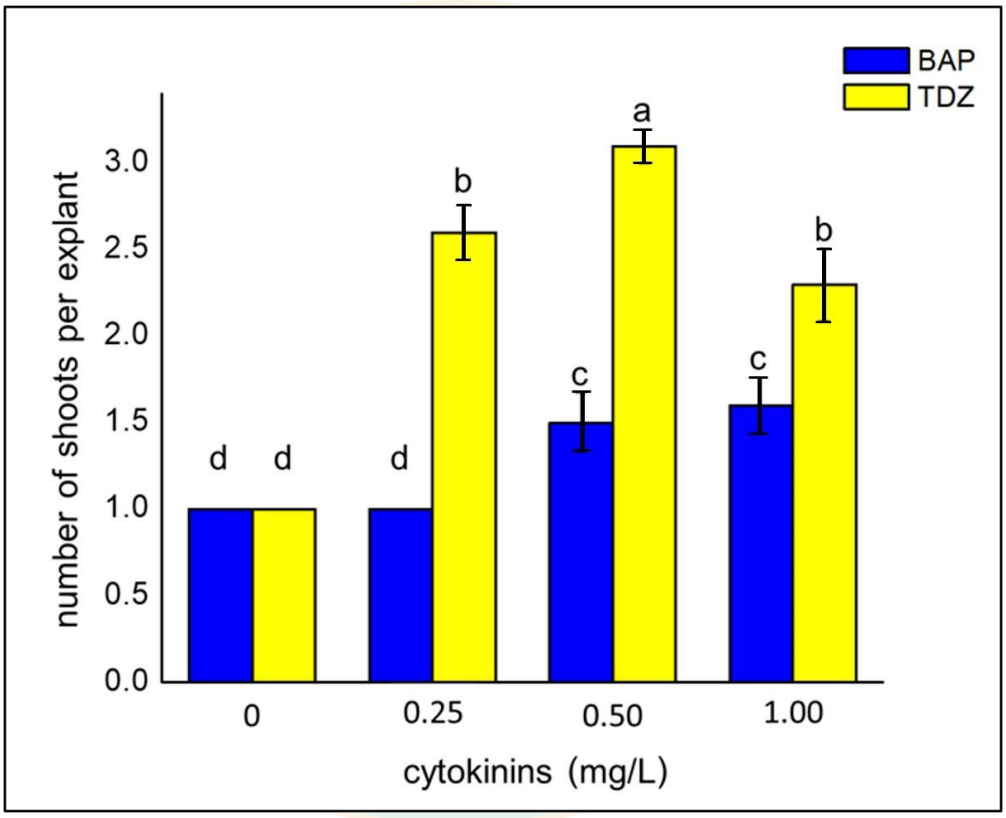
จากการนำชิ้นส่วนข้อเดี่ยวของนกคุ้มไฟมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม ไซโตไคนิน ได้แก่ BA และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อทั้งหมดมีการแตกยอดใหม่และไม่พบการฉ่ำน้ำในทุกกรรมวิธี ซึ่งการไม่เติมไซโตไคนินทำให้เกิดยอดใหม่เพียงยอดเดียว มีใบคลี่ชัดเจน และมีการ ออกรากด้วย ส่วนการเติมไซโตไคนินทั้งสองชนิดนั้นไม่มีการออกราก โดยชิ้นส่วนข้อที่ได้รับ BAP มีการแตกยอดใหม่ ใบคลี่ ส่วนชิ้นส่วนข้อที่ได้รับ TDZ แตกยอดใหม่ที่เป็นยอดแหลม ใบยังไม่คลี่ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

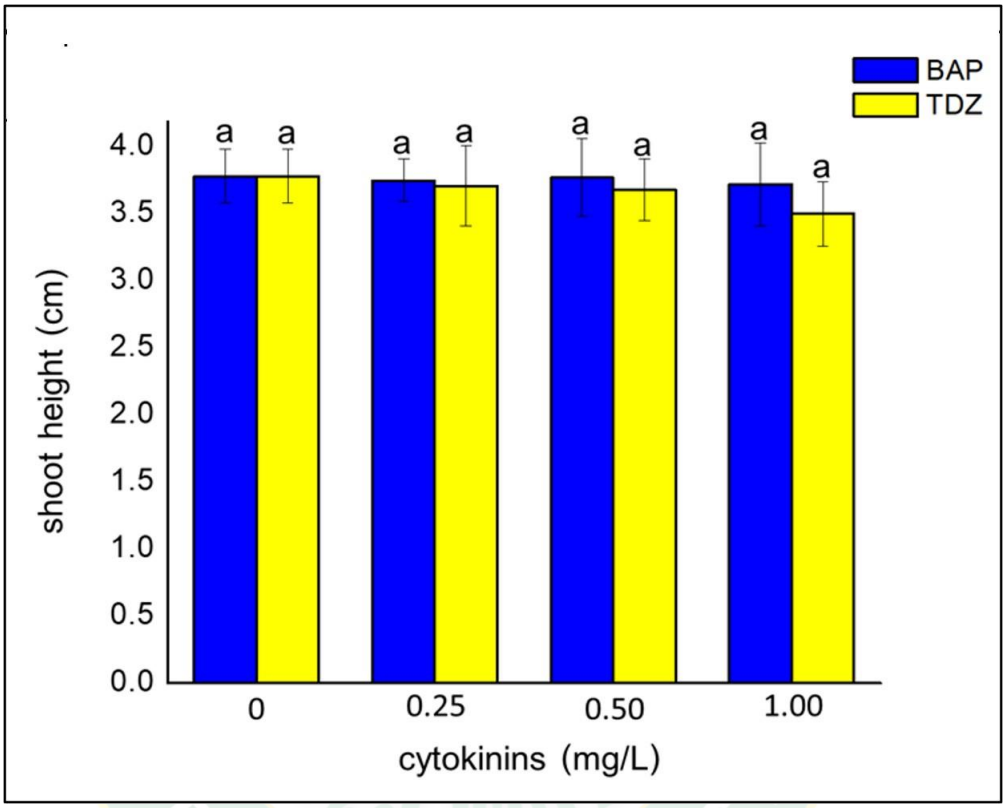
การเติม TDZ ทำให้ชิ้นส่วนข้อแตกยอดใหม่มีจำนวนยอดเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2.60-3.10 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อเปรียบเทียบกับการเติม BAP และการไม่เติมไซโตไคนิน ซึ่งชิ้นส่วนข้อแตกยอดใหม่มีจำนวนน้อยกว่า เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.00-1.60 และ 1.00 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ โดยการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีจำนวนยอดมากที่สุดเท่ากับ 3.1 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ความยาวยอด

ความยาวยอดของชิ้นส่วนข้อในแต่ละกรรมวิธีต่าง ๆ ใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3.50-3.78 เซนติเมตร (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ความยาวยอดของชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จากการทดลองนี้พบว่า การเติม TDZ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุดต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ จึงจะใช้อาหารที่เติม TDZ ระดับความเข้มข้นดังกล่าวสำหรับการทดสอบในการทดลองถัดไป

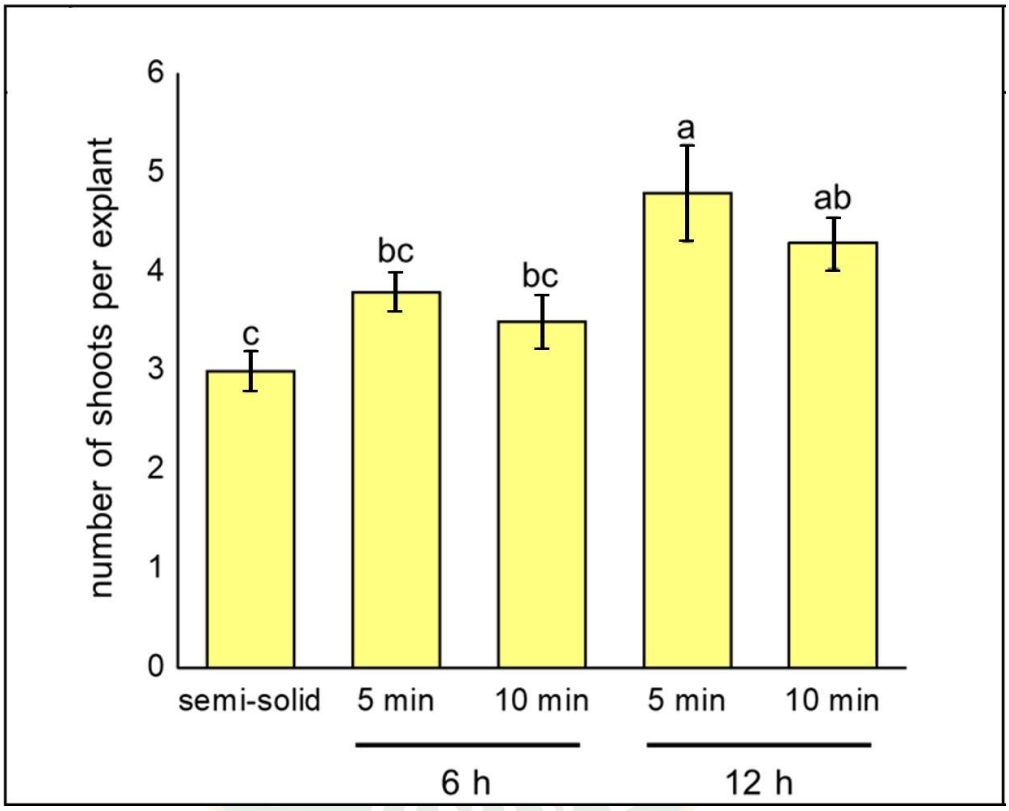
3. ผลของสภาวะการให้อาหารเหลวต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในระบบ TIB

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร แบบอาหารเหลวในระบบ TIB ด้วยความถี่และระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน และเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อทั้งหมดมีการแตกยอดใหม่และไม่พบการฉ่ำน้ำในทุกกรรมวิธี ซึ่งการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทำให้ชิ้นส่วนข้อแตกยอดแหลม ใบยังไม่คลี่ ส่วนการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ชิ้นส่วนข้อแตกยอดแหลมเช่นเดียวกัน แต่ยอดที่แตกออกมาก่อนใบเริ่มคลี่บ้างแล้ว (ภาพที่ 9)

ภาพที่ 9 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB ด้วยความถี่และระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

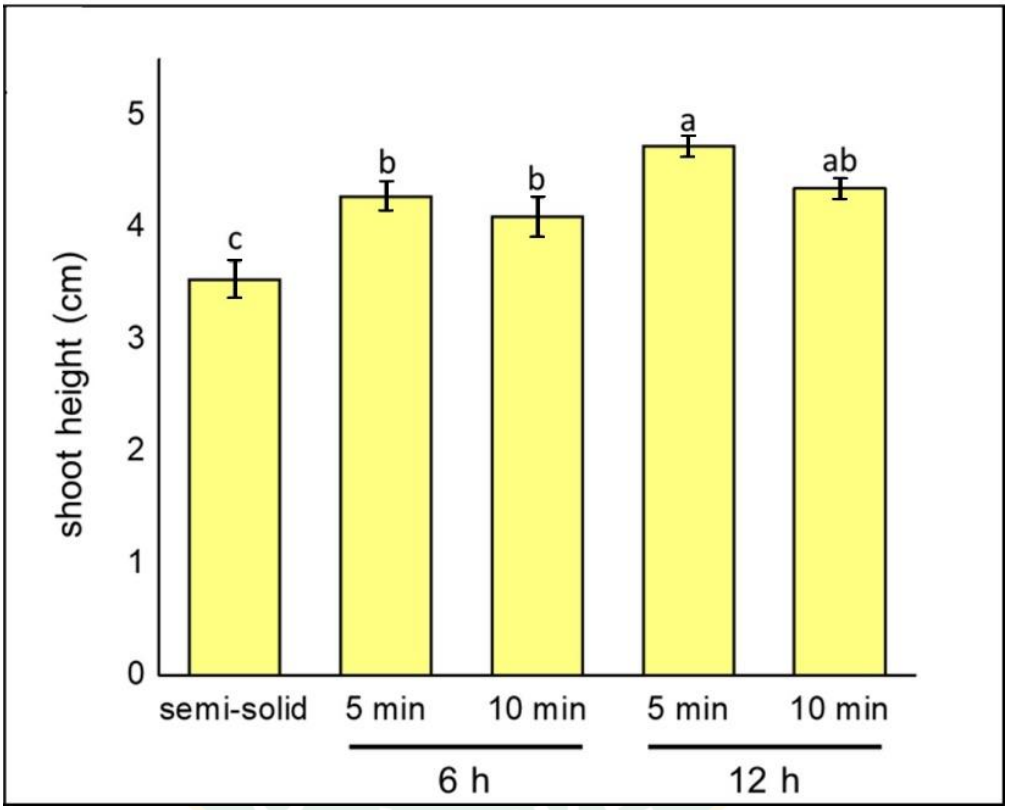
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทุกกรรมวิธีทำให้ชิ้นส่วนข้อมีจำนวนยอดมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยการให้อาหารทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ทำให้ชิ้นส่วนข้อมีจำนวนยอด เฉลี่ยคือ 4.8 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่มีจำนวนยอด เฉลี่ยคือ 3 ยอดต่อชิ้นส่วน (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB ด้วยความถี่และระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ความยาวยอด

การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทุกกรรมวิธีทำให้ชิ้นส่วนข้อความยาวยอดมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยการให้อาหารทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ทำให้ชิ้นส่วนข้อมีจำนวนยอด เฉลี่ยคือ 4.73 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่มีความยาวยอด เฉลี่ยคือ 3.54 เซนติเมตร (ภาพที่ 11)

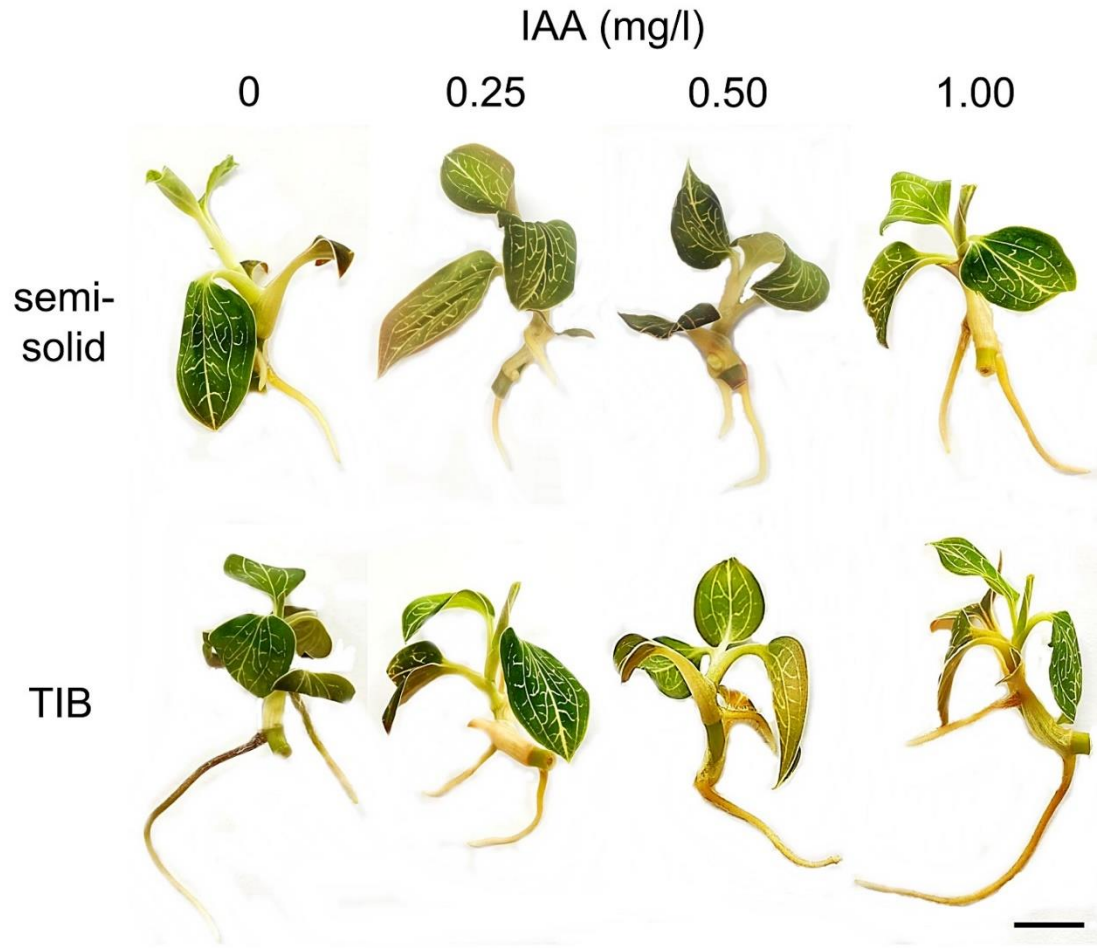


ภาพที่ 11 ความยาวยอดของชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB ด้วยความถี่และระยะเวลาการให้อาหารที่แตกต่างกัน (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จากผลการทดลองนี้พบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่ให้อาหารเหลวทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ให้ผลดีที่สุดต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ จึงจะใช้สภาวะการให้อาหารดังกล่าวสำหรับการทดสอบในการทดลองถัดไป

4. ผลของออกซินต่อการชักนำการออกรากของนกคุ้มไฟในระบบ TIB

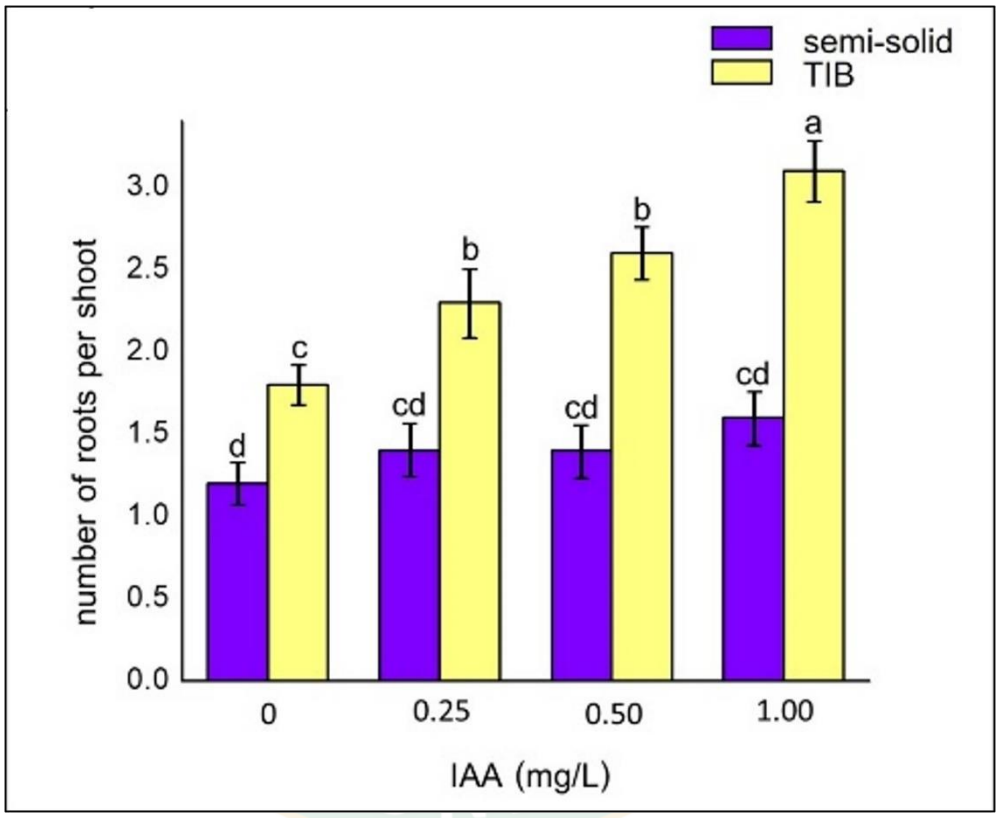
ในการนำชิ้นส่วนยอดนกคุ้มไฟมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB ที่ให้อาหารทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดสามารถออกรากได้และไม่พบการฉ่ำน้ำในทุกกรรมวิธี โดยการไม่เติม IAA หรือเติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการออกรากค่อนข้างยาวทั้งการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งหรือในระบบ TIB (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 การออกรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

จำนวนรากต่อต้น

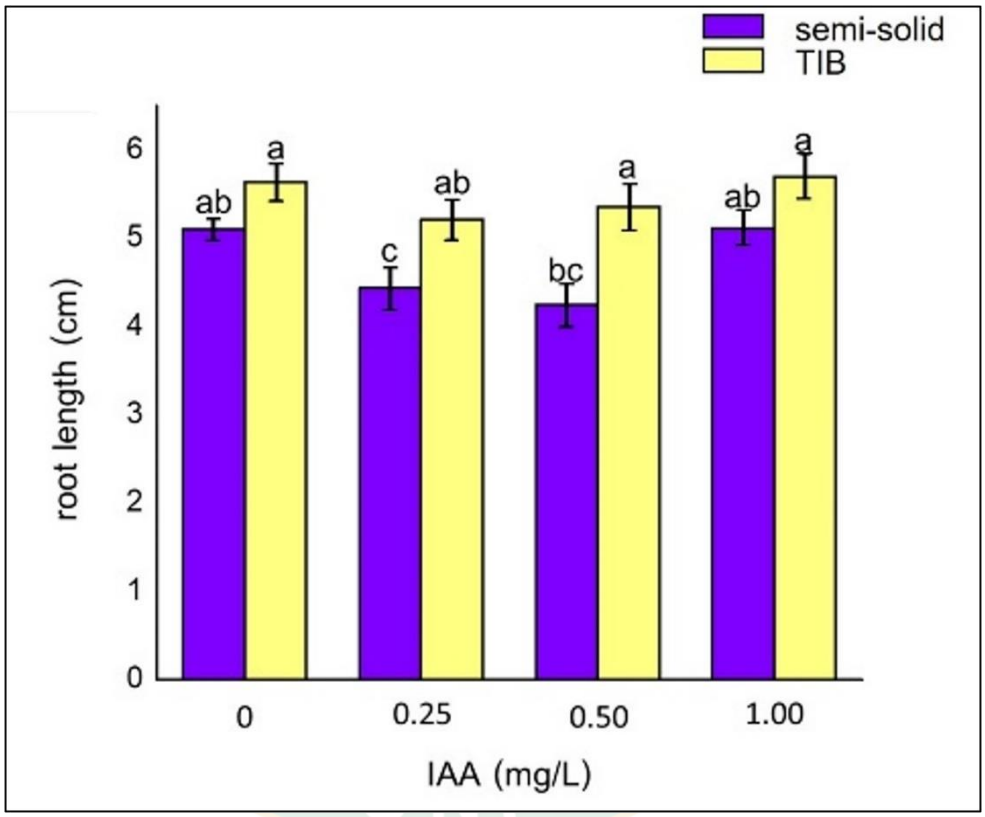
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีจำนวนรากสูงกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเมื่อเปรียบเทียบที่การเติม IAA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน การเติม IAA ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้จำนวนรากเพิ่มขึ้น โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 3.1 รากต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 จำนวนรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ความยาวราก

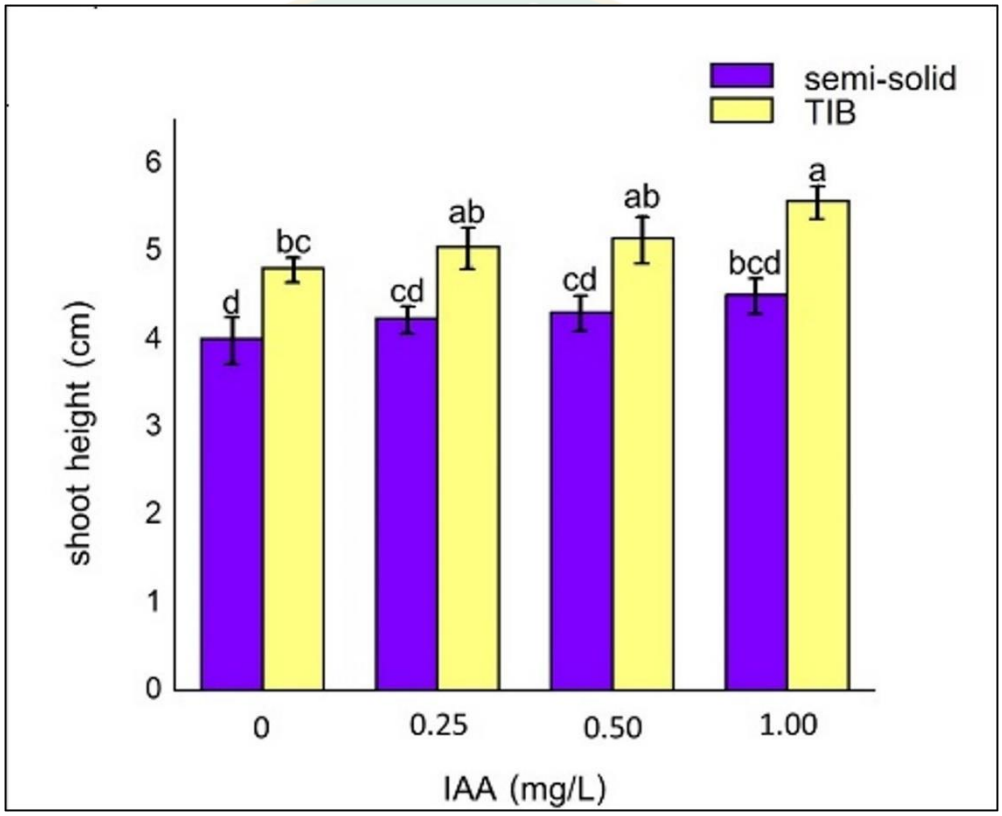
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีความยาวรากมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเมื่อเปรียบเทียบที่ IAA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า มีความยาวรากใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อยู่ระหว่าง 5.22-5.70 เซนติเมตร โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวรากมากที่สุด คือ 5.70 เซนติเมตร (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ความยาวรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ความสูงต้น

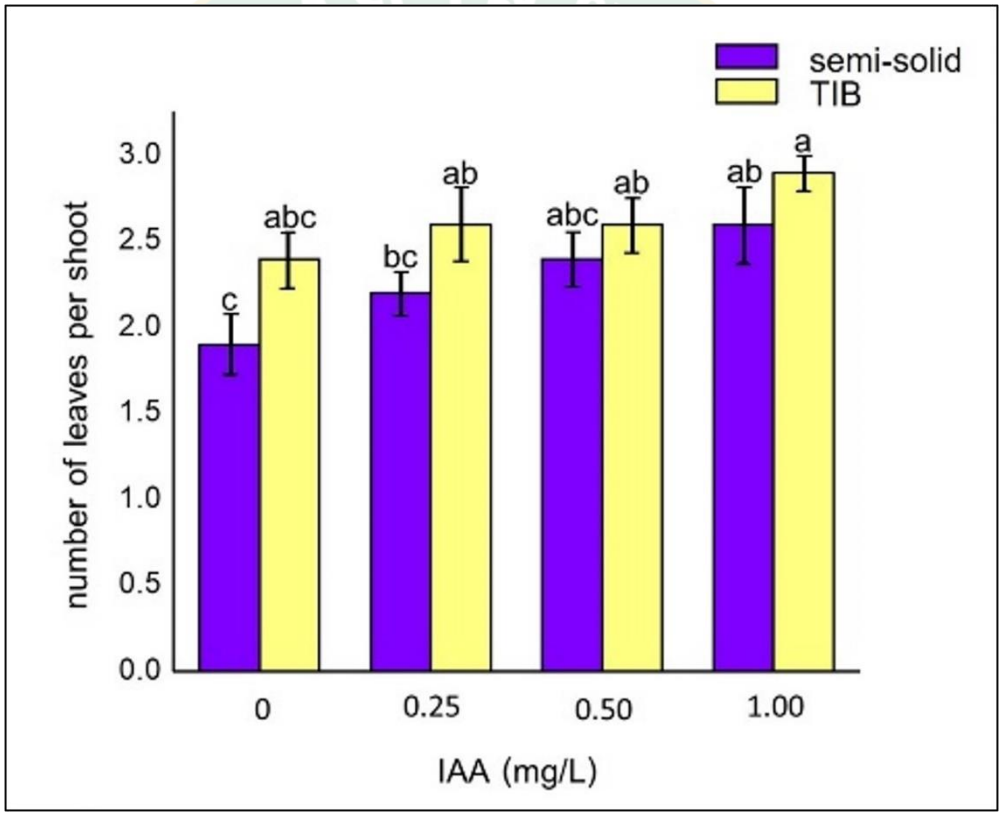
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีความสูงต้นมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเมื่อเปรียบเทียบที่ IAA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน การเติม IAA ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้ความสูงต้นเพิ่มขึ้น โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความสูงต้นมากที่สุด คือ 5.58 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 5.06 และ 5.15 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 ความสูงของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จำนวนใบต่อต้น

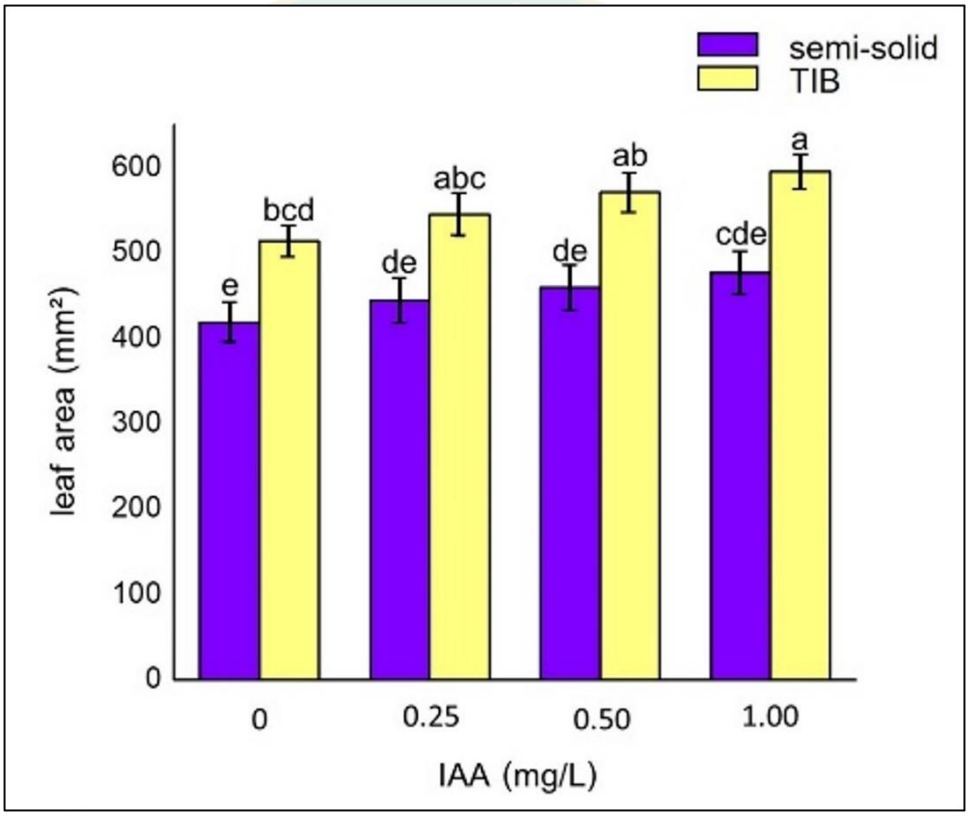
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีจำนวนใบมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเมื่อเปรียบเทียบที่ IAA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน การเติม IAA ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้จำนวนใบเพิ่มขึ้น โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 2.9 ใบต่อต้น แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่ไม่เติม IAA และเติม IAA 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 2.4, 2.6 และ 2.6 ใบต่อต้น ตามลำดับ และการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่เติม IAA 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 2.4 และ 2.6 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 16 จำนวนใบต่อต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

พื้นที่ใบ

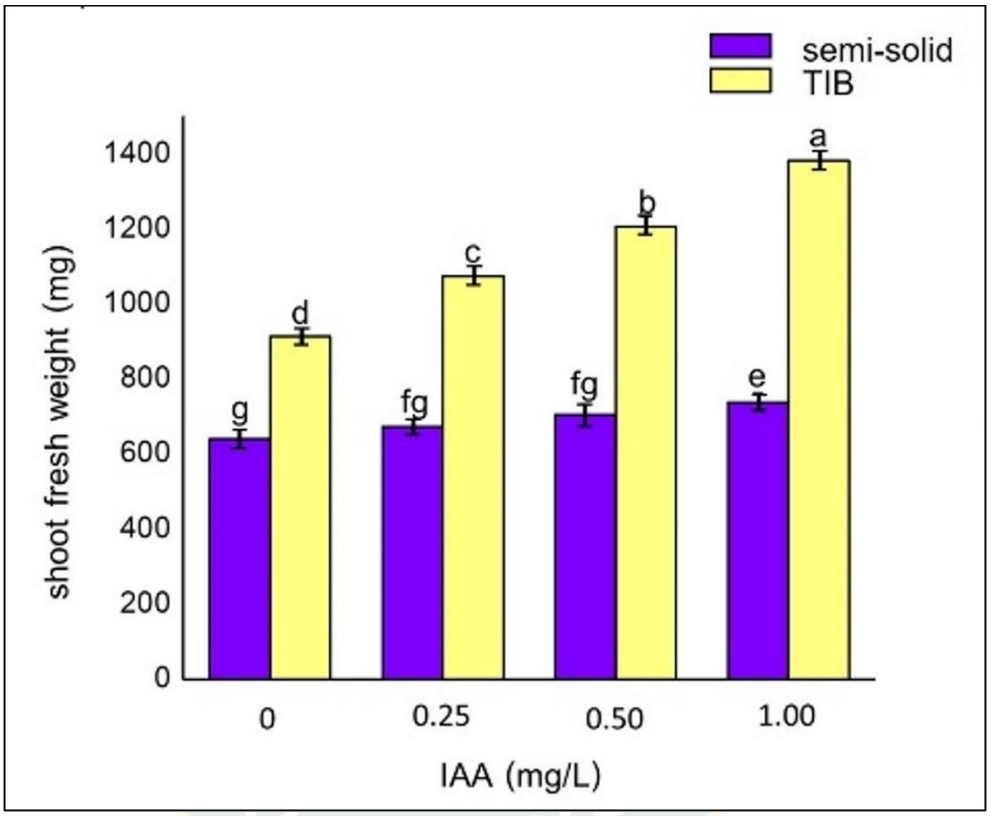
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีพื้นที่ใบมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเมื่อเปรียบเทียบที่ IAA ระดับความเข้มข้นเดียวกัน การเติม IAA ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้พื้นที่ใบเพิ่มขึ้น โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีพื้นที่มากที่สุด คือ 595.8 ตารางมิลลิเมตร แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 545.6 และ 571.7 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 พื้นที่ใบของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

น้ำหนักสดต่อต้น

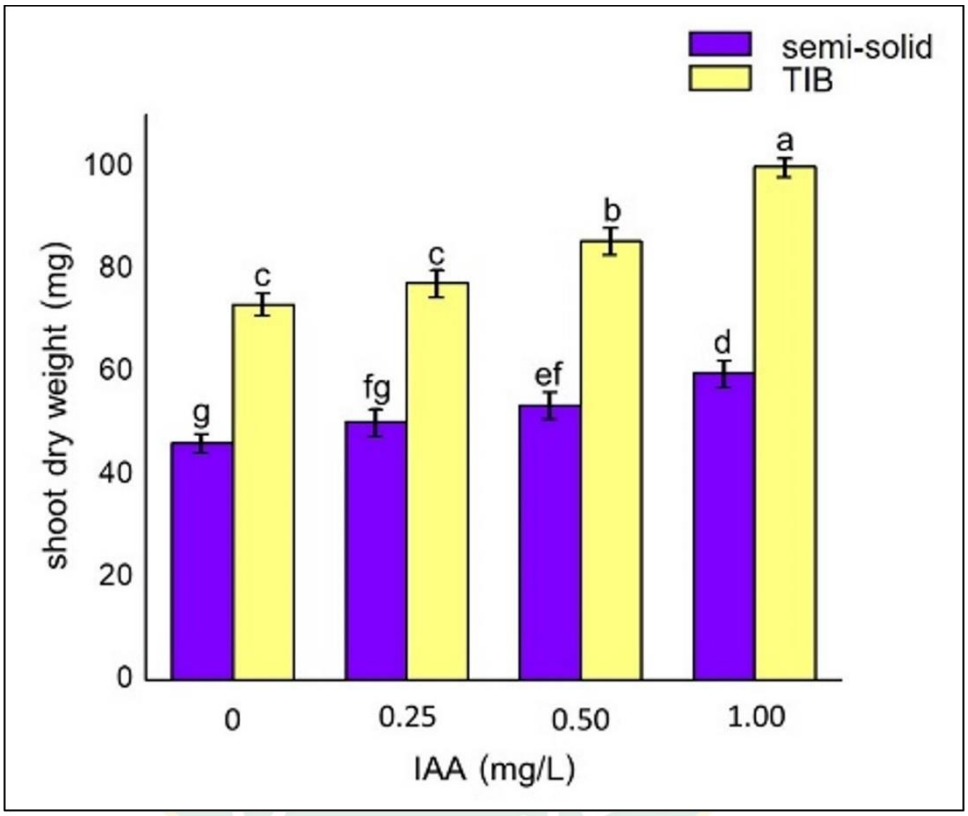
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีน้ำหนักสดมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งอย่างชัดเจน โดยต้นนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดมากที่สุด คือ 1384.78 มิลลิกรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 น้ำหนักสดของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

น้ำหนักแห้งต่อต้น

การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีน้ำหนักแห้งมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งอย่างชัดเจน โดยต้นนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 99.89 มิลลิกรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 19)

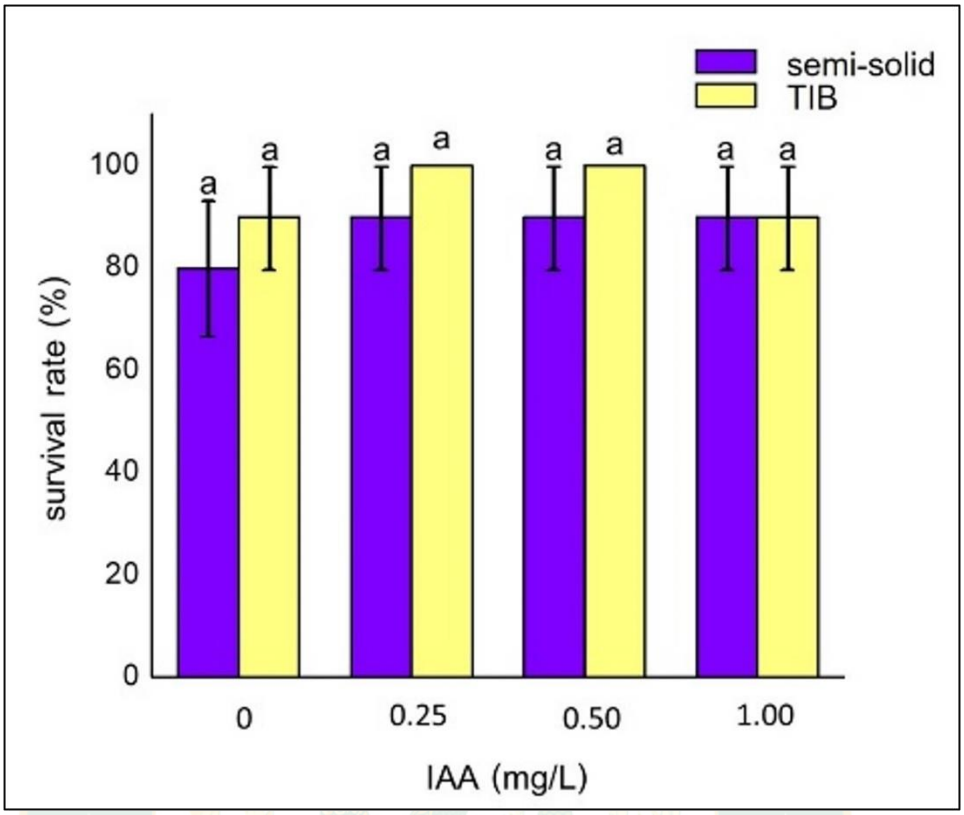


ภาพที่ 19 น้ำหนักแห้งของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แบบอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลวในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

อัตราการรอดชีวิตเมื่อย้ายปลูก

หลังการนำต้นนกคุ้มไฟที่ออกรากในสภาพปลอดเชื้อออกปลูกและปรับสภาพในถ้วยพลาสติกที่มีพีทมอสเป็นวัสดุปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นจากทุกกรรมวิธีมีการแตกใบใหม่และมีความสูงเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 20) ต้นที่ย้ายปลูกในทุกกรรมวิธีมีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติอยู่ระหว่าง 80-100% (ภาพที่ 21)

ภาพที่ 20 การเจริญเติบโตของต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)



ภาพที่ 21 อัตราการรอดชีวิตของต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อนำมาย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จากผลการทดลองนี้พบว่า การเพาะเลี้ยงต้นนกคุ้มไฟในระบบ TIB ด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุดต่อการชักนำให้เกิดราก จึงจะใช้สูตรอาหารดังกล่าวสำหรับการทดสอบในการทดลองถัดไป

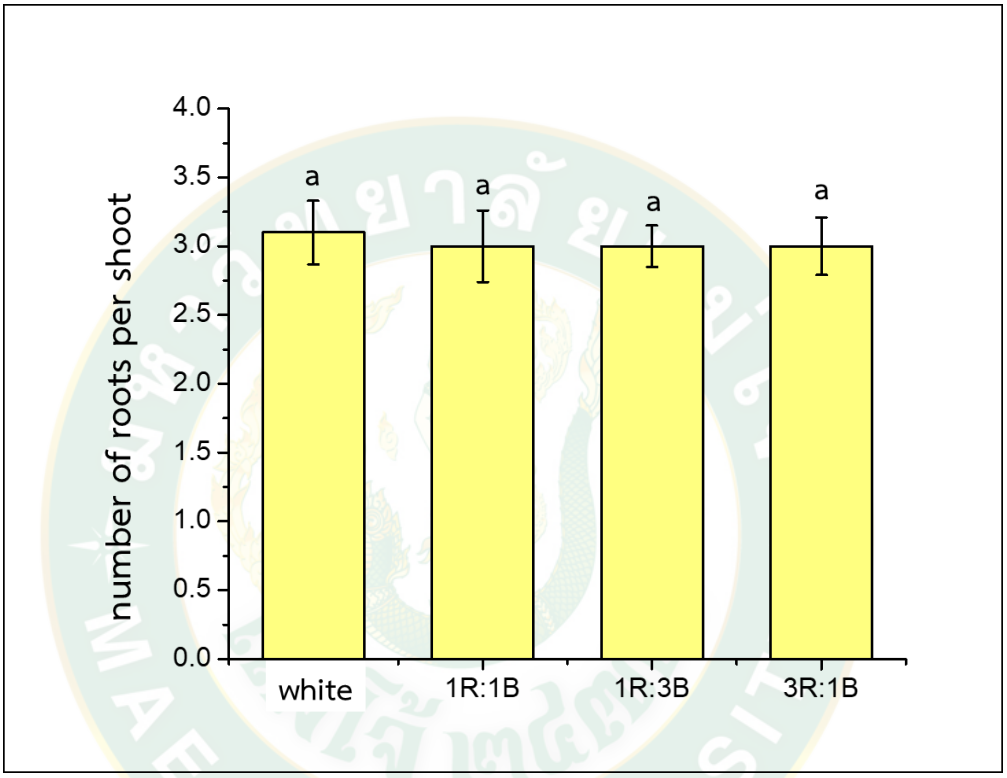
5. ผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟในระบบ TIB

จากการนำชิ้นส่วนยอดนกคุ้มไฟมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้การให้แสง LED ที่คุณภาพแสงต่าง ๆ นาน 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดของนกคุ้มไฟมีการเกิดราก และไม่พบการฉ่ำน้ำในทุกกรรมวิธี โดยต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสง LED สีขาวมีใบสีเขียวสดส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินใบมีสีเขียวแกมน้ำตาล (ภาพที่ 22)

ภาพที่ 22 การเจริญเติบโตของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

จำนวนรากต่อต้น

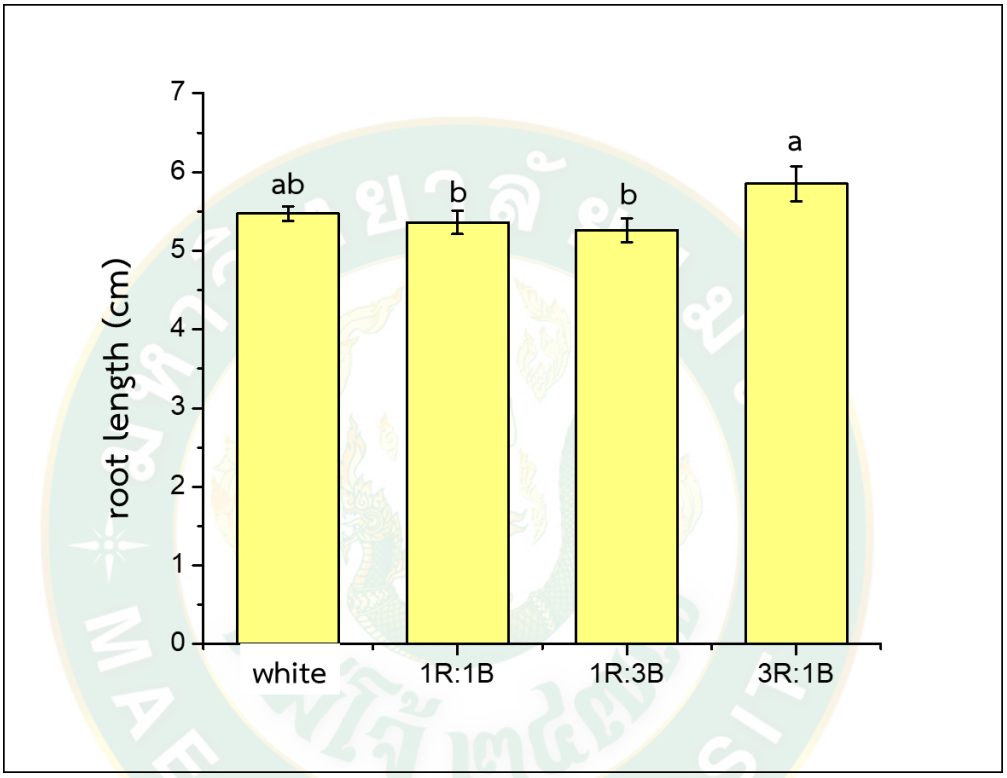
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED ทุกกรรมวิธีทำให้ต้นนกคุ้มไฟออกรากเป็นจำนวนใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อยู่ระหว่าง 3.0-3.1 รากต่อต้น (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 จำนวนรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ความยาวราก

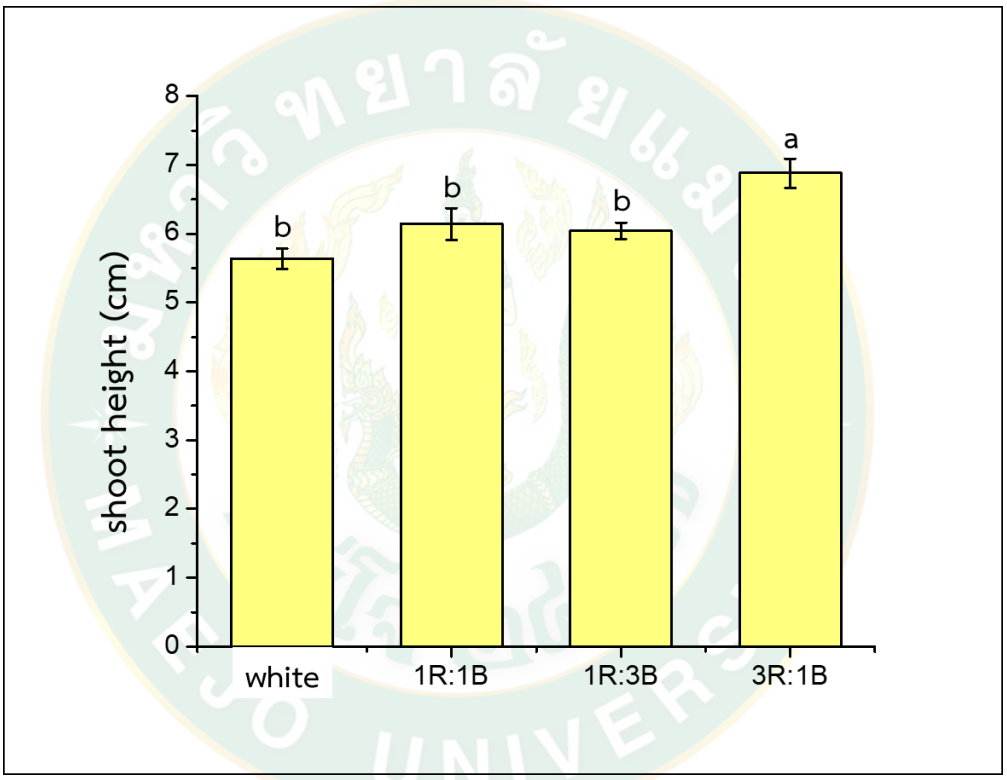
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีความยาวรากมากที่สุด คือ 5.85 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้แสง LED สีขาว คือ 5.47 เซนติเมตร (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ความยาวรากของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ความสูงต้น

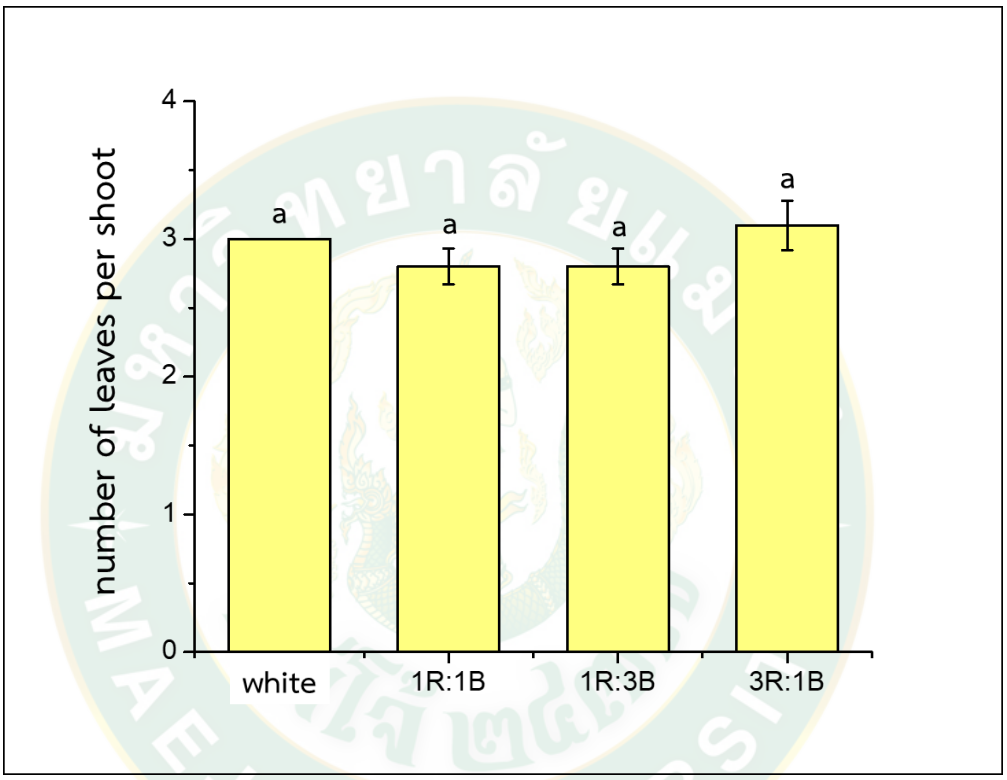
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีความสูงต้นมากที่สุด คือ 6.88 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้แสง LED คุณภาพแสงอื่น ๆ ในขณะที่การให้แสง LED สีขาว สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 ทำให้ความสูงต้นใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันทางสถิติ อยู่ระหว่าง 5.64-6.04 เซนติเมตร (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 ความสูงของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จำนวนใบต่อต้น

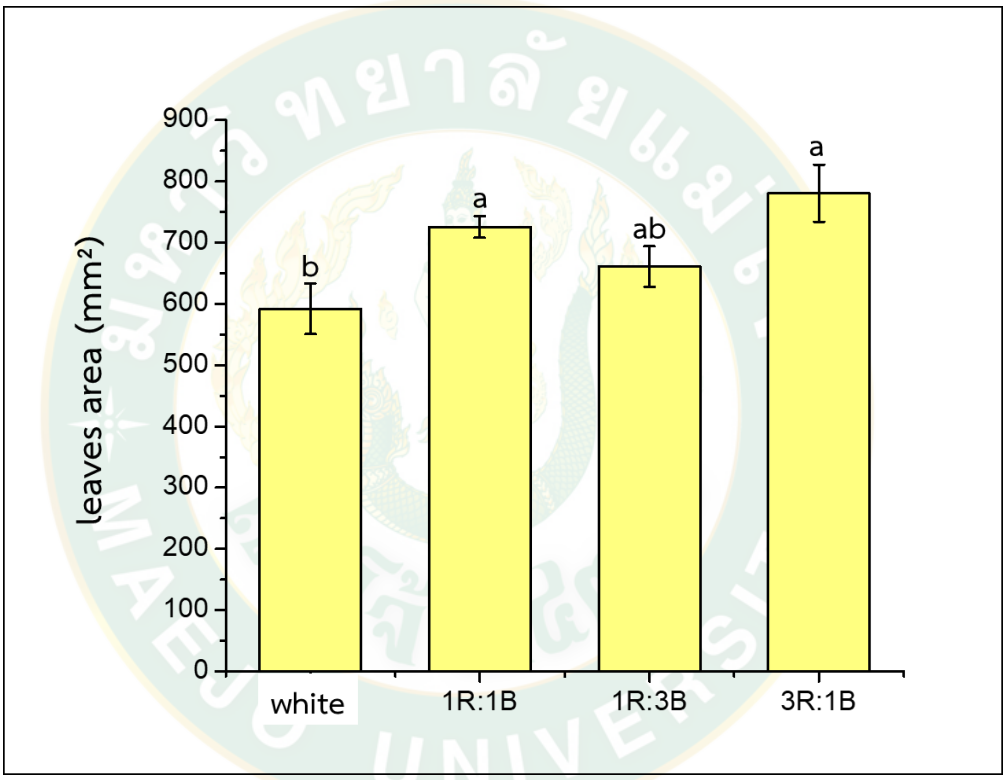
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีจำนวนใบมากที่สุด คือ 3.1 ใบต่อต้น แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้แสง LED คุณภาพแสงอื่น ๆ (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 จำนวนใบของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

พื้นที่ใบ

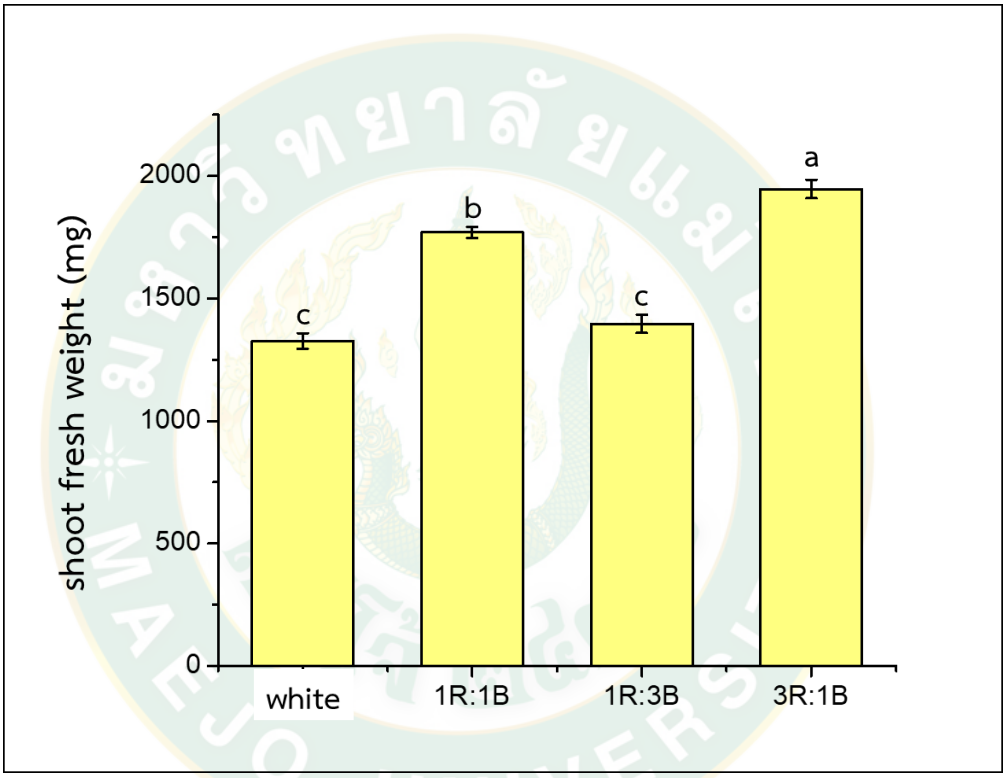
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีพื้นที่ใบมากที่สุด คือ 780.67 ตารางมิลลิเมตร แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 คือ 725.67 และ 661.00 ตารางมิลลิเมตร ส่วนการให้แสง LED สีขาวทำให้มีพื้นที่ใบน้อยที่สุด คือ 592.00 ตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 พื้นที่ใบของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

น้ำหนักสดต่อต้น

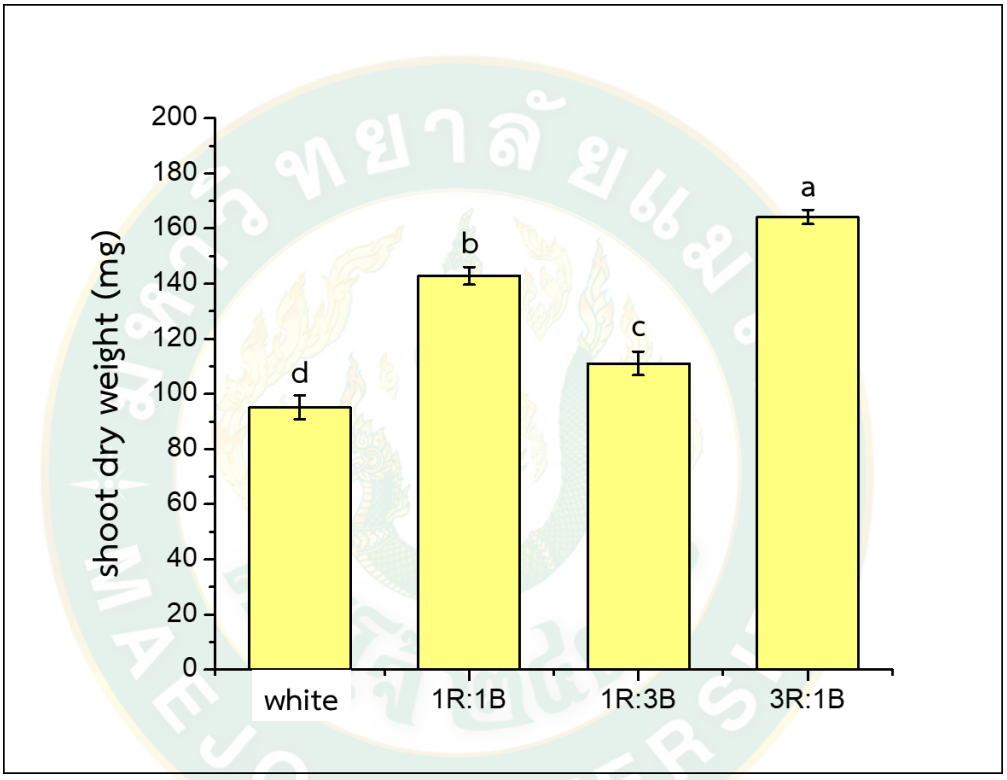
การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีน้ำหนักสดมากที่สุด คือ 1947.06 มิลลิกรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้แสง LED คุณภาพแสงอื่น ๆ ส่วนการให้แสง LED สีขาวทำให้มีน้ำหนักสดของต้นน้อยที่สุด คือ 1326.58 มิลลิกรัมต่อต้น (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 น้ำหนักสดของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

น้ำหนักแห้งต่อต้น

การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 ทำให้ต้นนกคุ้มไฟมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 164.22 มิลลิกรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการให้แสง LED คุณภาพแสงอื่น ๆ ส่วนการให้แสง LED สีขาวทำให้มีน้ำหนักสดของต้นน้อยที่สุด คือ 95.18 มิลลิกรัมต่อต้น (ภาพที่ 29)

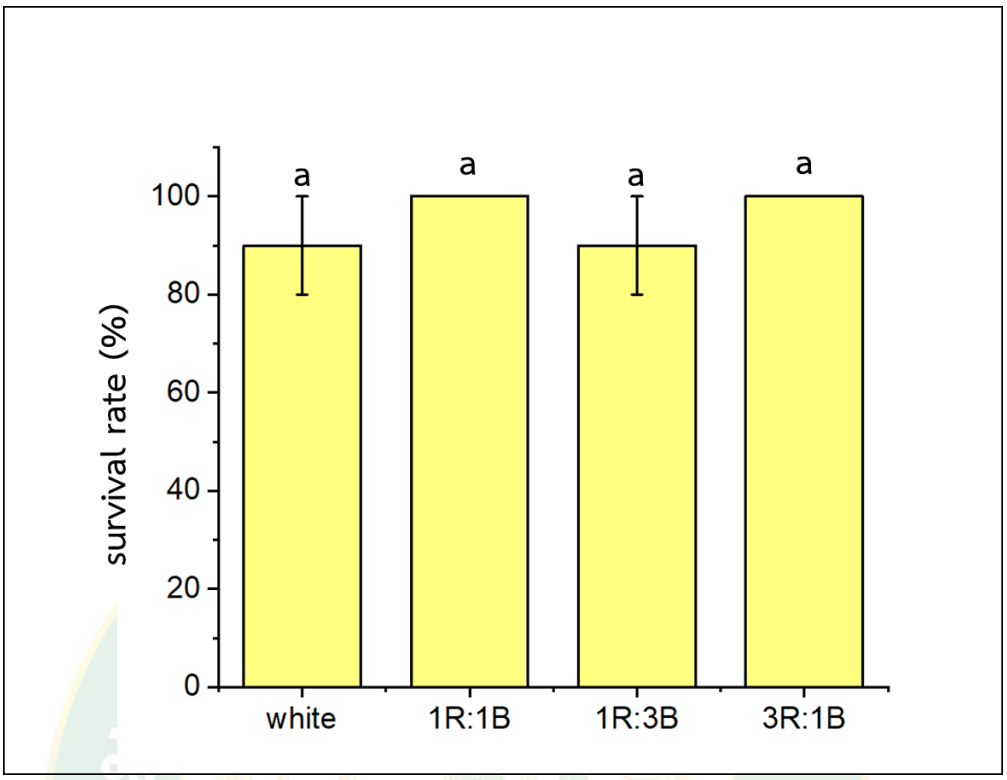


ภาพที่ 29 น้ำหนักแห้งของต้นนกคุ้มไฟเมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

อัตราการรอดชีวิตเมื่อย้ายปลูก

เมื่อนำต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการชักนำให้ออกรากจากระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพต่าง ๆ มาย้ายปลูกและปรับสภาพในถ้วยพลาสติก โดยมีวัสดุปลูก คือ พีทมอส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นจากทุกกรรมวิธีมีการแตกใบใหม่และมีความสูงเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 30) มีอัตราการรอดชีวิตสูงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อยู่ระหว่าง 90-100% (ภาพที่ 31)

ภาพที่ 30 การเจริญเติบโตของต้นนกคุ้มไฟที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 เมื่อนำมาย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)



ภาพที่ 31 อัตราการรอดชีวิตของต้นนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ เมื่อนำมาย้ายปลูก เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ (แสดงข้อมูลค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ในการขยายพันธุ์นกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อในระยะการเพิ่มปริมาณยอดและระยะการชักนำการออกราก ซึ่งมีการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยแต่ละปัจจัยส่งผลต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

การศึกษาในระยะการเพิ่มปริมาณยอดในงานวิจัยนี้เริ่มจากเปรียบเทียบผลของสูตรอาหารกึ่งแข็ง คือ สูตร ½ MS และ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร VW ซึ่งพบว่า อาหารสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟมีการเพิ่มปริมาณยอดได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร VW โดยการศึกษาเกี่ยวกับผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณยอดได้มีรายงานในพืชบางชนิด เช่น วงศ์องุ่น (Vitaceae) *Vitis vinifera* (Matsumoto and Sakai, 2003) และ *Vitis champinii* (Mukherjee et al., 2010) ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Zhang et al. (2015) ที่พบว่า อาหารสูตร ½ MS มีประสิทธิภาพมากที่สุดในกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณยอดของกล้วยไม้สกุลนกคุ้ม *A. roxburghii* เมื่อเปรียบเทียบอาหารสูตร MS, VW และ B5 ซึ่งสันนิษฐานว่าอาหารสูตร MS มีปริมาณของธาตุอาหารหลักโดยเฉพาะไนโตรเจนที่ค่อนข้างสูง นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างในองค์ประกอบของธาตุอาหารรองระหว่างอาหารสูตร MS และ VW ซึ่งอาจส่งผลให้มีการตอบสนองที่แตกต่างกันในการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณยอดของนกคุ้มไฟ (Mukherjee et al., 2010) ในกรณีของนกคุ้มไฟซึ่งเป็นพืชสกุลกล้วยไม้ที่มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า จึงอาจจะค่อย ๆ นำสารอาหารไปใช้ ดังนั้นในการทดลองต่าง ๆ ต่อจากนี้จึงได้ใช้อาหารสูตร ½ MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนกคุ้มไฟ

ในการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยเปรียบเทียบระหว่าง BAP และ TDZ ในความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่า ชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟสามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร การเติม TDZ สามารถกระตุ้นการเกิดแตกยอดของนกคุ้มไฟได้ดีกว่า BAP เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน สอดคล้องกับรายงานการศึกษาในพืชชนิดต่าง ๆ ที่พบว่า การเติม TDZ ส่งผลกระตุ้นให้เกิดยอดแบบทวีคูณ (multiple shoots) เป็นจำนวนมากกว่า BAP เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน เช่น กล้วย (Lee, 2005) มหาหงส์ (Klaharn et al., 2020) หญ้าหวาน (Singh and Dwivedi, 2014) และเผือก (Sama et al., 2012) เป็นต้น โดย TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีกลไกในการยับยั้ง

เอนไซม์ cytokinin oxidase ที่มีหน้าที่ทำลายไซโตไคนินธรรมชาติในพืช เพื่อรักษาสมดุลของฮอร์โมน ซึ่งเมื่อเอนไซม์ชนิดนี้ถูกทำลายจะทำให้มีการสะสมไซโตไคนินในต้นพืชมากขึ้น และส่งผลต้นพืชเกิดการแตกยอดมากขึ้นในที่สุด (Guo et al., 2011)

ในการศึกษาผลของระบบเพาะเลี้ยงต่อการเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟ โดยเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB ที่มีสภาวะการให้อาหารเหลวทุก 6 และ 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 และ 10 นาที พบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยให้อาหารทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุด ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของอริสราและคณะ (2563) ที่ศึกษาในนกคุ้มไฟและรายงานวิจัยในพืชชนิดอื่น ๆ ที่พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณยอดได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง เช่น กล้วยไม้สกุลนกคุ้ม *A. formonasus* (Wu et al., 2007) กล้วย (Uma et al., 2021) เบญจมาศ (ไอรดา และปวีณา, 2564) เผือก (Mancilla-Álvarez et al., 2021) และหน้าวัว (Martínez-Estrada et al., 2019) เป็นต้น ทั้งนี้เป็นเพราะชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB สามารถดูดซับสารอาหารได้ทั่วถึงเนื่องจากถูกแช่อยู่ในอาหารเหลว แต่ในอาหารกึ่งแข็งพืชจะดูดซับสารอาหารได้เพียงแค่บริเวณที่สัมผัสกับอาหารเท่านั้น (Teisson and Alvard, 1995) เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารทุก 6 และ 12 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลาให้อาหารเท่ากัน พบว่า ที่ความถี่ในการให้อาหารทุก 12 ชั่วโมงมีจำนวนยอดและความยาวยอดมากกว่าการให้อาหารทุก 6 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้อาหารจากครั้งละ 5 นาที เป็น 10 นาที ที่ความถี่การให้อาหารเท่ากัน พบว่า จำนวนยอดและความยาวยอดมีแนวโน้มที่ลดลง สันนิษฐานว่า ความถี่และระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้อาหารของระบบ TIB ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ โดยในการทดลองนี้พบว่า ระบบ TIB ที่ให้อาหารเหลวทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่สอดคล้องกับรายงานของ อริสรา และคณะ (2563) ที่พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดนกคุ้มไฟด้วยอาหารสูตร VW ในระบบ TIB ที่ให้อาหารทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 10 นาที มีความเหมาะสมมากที่สุดในการเพิ่มปริมาณยอด โดยอาจเป็นเพราะการใช้ชิ้นส่วนพืชและสูตรอาหารที่แตกต่างกัน

การศึกษาในระยะการชักนำการออกรากจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดนกคุ้มไฟได้เปรียบเทียบผลของระบบเพาะเลี้ยง คือ อาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB และเปรียบเทียบผลของการเติม IAA 0, 0.25, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร ½ MS พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงใน

ระบบ TIB และให้อาหารที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมที่สุด โดย IAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีบทบาทในการชักนำให้เกิดรากพิเศษ (adventitious roots) ของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยในพืชหลายชนิดที่พบว่าการเติม IAA ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมที่สุดในการชักนำให้ชิ้นส่วนยอดเกิดรากพิเศษในพืชชนิดต่าง ๆ เช่น ฤๅษีผสม (Sharma et al., 1991) มะนาว (Al-Khayri et al., 2001) และ *Citrus jambhiri* (Devi et al., 2021) เป็นต้น นอกจากนี้ต้นนกคุ้มไฟที่ถูกชักนำให้ออกรากในระบบ TIB มีการเจริญเติบโตทั้งในส่วนยอดและรากดีกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง ซึ่งเมื่อต้นมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ต้นมีจำนวนใบ และจำนวนรากเพิ่มขึ้นด้วย ทำให้ต้นมีอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตดีเมื่อนำไปย้ายออกปลูก

นอกจากนี้ในระยะการชักนำการออกรากยังได้ศึกษาผลของการให้แสง LED ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนยอดนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ด้วย โดยเปรียบเทียบการให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ ได้แก่ สีขาว และสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 3:1 พบว่า การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟได้ดีกว่าการให้แสงสีขาวเพียงอย่างเดียว โดยพืชจะมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงที่สุดในช่วงคลื่นแสงสีแดง (620 นาโนเมตร) และสีน้ำเงิน (440 นาโนเมตร) (Franklin and White, 2005) นอกจากนี้ผลจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ให้สูงขึ้น ซึ่งมีรายงานเกี่ยวกับการเพาะปลูกพืชหลายชนิดโดยการให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินในอัตราส่วนที่สูง พบว่าสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดี เช่น มะเขือเทศ (Deram et al., 2014) และเทียนแดง (*Lepidium sativum*) (Ajdanian et al., 2019) เป็นต้น นอกจากนี้จากผลการทดลอง พบว่า ต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสง LED คุณภาพต่าง ๆ มีสีของใบที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากแสงสีต่าง ๆ มีผลต่อการสังเคราะห์รงควัตถุในพืช เช่นในรายงานวิจัยของ Zhang et al. (2019) ได้ศึกษาการให้แสงเสริมในการปลูกผักกาดหอม พบว่า ใบของผักกาดหอมสีเข้มขึ้น 27% มีสีแดงเพิ่มขึ้นกว่า 76–82% และยังมีสีเหลืองน้อยลงกว่า 39–55% เมื่อให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินก่อนการเก็บเกี่ยว 7 วัน เปรียบเทียบกับการไม่ให้แสงเสริม และ Mizuno and Amaki (2011) ยังได้ศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบผลของการให้แสง LED คุณภาพแสงต่าง ๆ ต่อการตอบสนองของต้นกล้ากะหล่ำปลีพันธุ์ 'Kinshun' (ใบสีเขียว) และ 'Red Rookie' (ใบสีแดง) พบว่า การให้แสงสีแดงทำให้พันธุ์ ‘Red Rookie’ มีปริมาณของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ไม่แตกต่างกันในการให้

คุณภาพแสงต่าง ๆ ส่วนในพันธุ์ ‘Kinshun’ การให้แสงสีน้ำเงินและสีน้ำเงิน-เขียว มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าการให้แสงสีเขียวและสีแดง ในขณะที่แอนโทไซยานินมีปริมาณใกล้เคียงกันเมื่อให้คุณภาพแสงต่าง ๆ

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มประสิทธิภาพของการขยายพันธุ์นกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อโดยการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB สามารถสรุปได้ดังนี้

1. อาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร VW
2. การเปรียบเทียบผลของระดับความเข้มข้น TDZ ที่เติมในอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ต่อการเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟ พบว่า การเติม TDZ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมที่สุด
3. การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อเดี่ยวนกคุ้มไฟในระบบ TIB สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยการให้อาหารเหลวทุก 12 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที มีความเหมาะสมที่สุด
4. การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดนกคุ้มไฟในระบบ TIB ให้ผลดีกว่าต่อการชักนำการออกรากและการเจริญเติบโตของต้นเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยการใช้อาหารสูตร ½ MS ที่เติม IAA 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมที่สุด
5. การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภายใต้การให้แสง LED สีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 3:1 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นนกคุ้มไฟได้ดีกว่าการให้แสง LED สีขาว หรือสีแดงร่วมกับสีน้ำเงินอัตราส่วน 1:1 และ 1:3

บรรณานุกรม

Ajdanian L., Babaei, M. & Aroiee, H. 2019. The growth and development of cress (*Lepidium sativum*) affected by blue and red light. **Heliyon**, 5(7), e02109.

Al-Khayri, J.M. & Al-Bahrany, A. M. 2001. *In vitro* micropropagation of *Citrus aurantifolia* (lime). **Current Science**, 81(9), 1242-1246.

Albarrán, J., Bertrand, B., Lartaud, M. & Etienne, H. 2005. Cycle characteristics in a temporary immersion bioreactor affect regeneration, morphology, water and mineral status of coffee (*Coffea arabica L.*) somatic embryos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 81, 27-36.

Bello-Bello, J. J., Martínez-Estrada, E., Caamal-Velázquez, J. H. & Morales-Ramos V. 2016. Effect of LED light quality on *in vitro* shoot proliferation and growth of vanilla (*Vanilla planifolia Andrews*). **African Journal of Biotechnology**, 15(8), 272-277.

Budluang, P., Pitchakarn, P., Ting, P., Temviriyanukul, P., Wongnoppawich A. & Imsumran, A. 2016. Anti-inflammatory and anti-insulin resistance activities of aqueous extract from *Anoectochilus burmannicus*. **Food Science & Nutrition**, 5, 486–496.

Cybularz-urban, T., Hanus-Fajerska, E. & Bach, A. 2015. Callus induction and organogenesis *in vitro* of Cattleya from protocorm-like bodies (PLBs) under different light conditions. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, 14(6), 29-38.

Davies, P. J. 2004. **Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

de A. Silva, M. M., de Oliveira, A. L. B., Oliveira-Filho, R. A., Gouveia-Neto, A. S., Camara, T. & Willadino, L. 2014. Effect of blue/red LED light combination on growth and morphogenesis of *Saccharum officinarum* plantlets *in vitro*. In D. V. N. R. C. L. E. D. L. Farkas (Eds.). **Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XII** (Vol. 8947, pp. 373-380): SPIE.

Debergh, P. & Maene, L. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental

plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, 14(4), 335-345.

Deram P., Lefsrud, M. G. & Orsat, V. 2014. Supplemental lighting orientation and red-to-blue ratio of light-emitting diodes for greenhouse tomato production. **HortScience**, 49(4), 448-452.

Devi, T.R., Dasgupta, M., Sahoo, M. R., Kole, P. C. & Prakash, N. 2021. High efficient de novo root-to-shoot organogenesis in *Citrus jambhiri* Lush.: Gene expression, genetic stability and virus indexing. **PLOS ONE**, 16(2), e0246971.

Du, X. M., Irino, N., Furusho, N., Jun, H. S. & Shoyama, Y. H. 2008. Pharmacologically active compounds in the *Anoectochilus* and *Goodyera* species. **Journal of Natural Medicines**, 62(2), 132-148.

Esyanti, R. R., Adhitama, N. & Manurung, R. 2016. Efficiency evaluation of *Vanda tricolor* growth in temporary immerse system bioreactor and thin layer culture system. **Journal of Advanced Agricultural Technologies**, 3(1), 63-66.

Franklin, K. A. & Whitelam, G. C. 2005. Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. **Annals of Botany**, 96, 169-175.

Gacomelli, G. A. 1998. **Greenhouse Glazing & Solar Radiation Transmission Workshop**. New Jersey: Center for Controlled Environment Agriculture, Rutgers University Cook College.

Gangaprasad, A., Latha, P. G. & Sooriamuthu, S. 2000. Micropropagation of terrestrial orchids, *Anoectochilus sikkimensis* and *Anoectochilus regalis.* **Indian Journal of Experimental Biology**, 38(2), 149-154.

Georgjev, V., Schumann, A., Pavlov, A. & Bley, T. 2014. Temporary immersion systems in plant biotechnology. **Engineering in Life Sciences**, 14(607-621.

Guo, B., Abbasi, B. H., Zeb, A., Xu, L. L. & Wei, Y. H. 2011. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. **African Journal of Biotechnology**, 10(45), 8984-9000.

Ket, N. V., Hahn, E. J., Park, S. Y., Chakrabarty, D. & Peak, K. Y. 2004. Micropropagation of an endangered orchid *Anoectochilus formosanus.* **Biologia Plantarum**, 48(3), 339-344.

Khunchai Chang. 2015. ***Anoectochilus burmanicus***. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.orchidroots.com/detail/photos/10156/?role= (16 มีนาคม 2566)

Klaharn, P., Pumisutapon, P., Songnun, K. & Rodpradit, S. 2020. Effects of BA and TDZ for *in vitro* shoot multiplication of three *Hedychium* species. **Acta Horticulturae**, 1298, 353-358.

Lee, S. W. 2005. Thidiazuron in the improvement of banana micropropagation. **Acta Horticulturae**, 692, 67-74.

Mancilla-Álvarez, E., Pérez-Sato, J. A., Núñez-Pastrana, R., Spinoso-Castillo, J. L. & Bello-Bello J. J. 2021. Comparison of different semi-automated bioreactors for *in vitro* propagation of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). **Plants**, 10(5), 1010.

Martínez-Estrada, E., Islas-Luna, B., Pérez-Sato, J. A. & Bello-Bello, J. J. 2019. emporary immersion improves *in vitro* multiplication and acclimatization of *Anthurium andreanum* Lind. **Scientia Horticulturae**, 249, 95-99.

Masnoddin, M. Repin, R. & Aziz, Z. A. 2016. Micropropagation of an endangered Borneo Orchid, *Paphiopedilum rothschildianum* callus using temporary immersion bioreactor system. **Thai Agricultural Research Journal**, 34(2), 161-171.

Matsumoto, K., Albernaz, T. C. L. & Cardoso, L. D. 2016. Effect of light emitting diodes (LEDs) on the *in vitro* growth of potato and Brazilian ginseng germplasms. **Acta Horticuturae**, 1145, 93-96.

Matsumoto, T. & Sakai, A. 2003. Cryopreservation of axillary shoot tips of *in vitro*-grown grape (*Vitis*) by a two-step vitrification protocol. **Euphytica**, 131, 299-304.

Mizuno, T. & Amaki, W. 2011. Effects of monochromatic light irradiation by LED on the growth and anthocyanin contents in leaves of cabbage seedlings. **Acta horticulturae**, 907, 179-184.

Moreiral, A. L., da Silva, A. B., Santos, A., dos Reis, C. O. & Landgraf, P. R. C. 2013. *Cattleya walkeriana* growth in different micropropagation systems. **Ciência Rural**, 43(10), 1804-1810.

Mukherjee, P., Husain, N., Misra, S. C. & Rao, V. S. 2010. *In vitro* propagation of a grape rootstock, deGrasset (*Vitis champinii* Planch.): Effects of medium compositions and plant growth regulators. **Scientia Horticulturae**, 126(1), 13-19.

Sama, A. E., Hughes, H. G., Abbas, M. S. & Shahba, M. A. 2012. An efficient *in vitro* propagation protocol of cocoyam [*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott]. **The Scientific World Journal**, 2012(8), 1-10.

Sharma, N., Chandel, K. P. S. & Srivastava, V. K. 1991. *In vitro* propagation of *Coleus forskohlii* Briq., a threatened medicinal plant. **Plant Cell Reports**, 10(2), 67-70.

Singh, P. & Dwivedi, P. 2014. Two-stage culture procedure using thidiazuron for efficient micropropagation of *Stevia rebaudiana*, an anti-diabetic medicinal herb. **3 Biotech**, 4(4), 431-437.

Takatsuki, S., Wang, J. D., Narui, T. & Okuyama, T. 1992. Studies on the components of crude drug kim soan Lian. **Journal of Japanese Botany**, 67(2), 121-123.

Teisson, C. & Alvard, D. (1995). A new concept of plant *in vitro* cultivation liquid medium: temporary immersion. In M. Terzi, R. Cella &A. Falavigna (Eds.), **Current Issues in Plant Molecular and Cellular biology** (pp. 105-110). Dordrecht: /springer

The Plant List Version1.0 & 1.1. 2013. ***Anoectochilus***. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.theplantlist.org/ (10 กรกฎาคม 2562).

Uma, S., Karthic, R., Kalpana, S., Backiyarani, S. & Saraswathi, M. S. 2021. A novel temporary immersion bioreactor system for large scale multiplication of banana (Rasthali AAB-Silk). **Scientific Reports**, 11(1), 20371.

Vanessa, F., Ronan, C. C., José, F. M. Jr. & Ricardo, T. F. 2017. Light sources and culture media in the *in vitro* growth of the Brazilian orchid *Microlaelia lundii*. **Ciências Agrárias, Londrina**, 38(4), 1775-1784.

Wu, R. Z., Chakrabarty, D., Hahn E. J. & Peak, K. Y. 2007. Micropropagation of an endangered jewel orchid (*Anoectochilus formosanus*) using bioreactor system. **Horticulture, Environment and Biotechnology**, 48(6), 376-380.

Ye, S., Shao, Q. & Zhang, A. 2017. *Anoectochilus roxburghii*: A review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications. **Journal of Ethnopharmacology**, 209, 184-202.

Yuan, L., Jia, L., Bo, L., Tao, H. & Ze, Ch. 2010. Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 105, 329-335.

Zhang, A., Wang, H., Shao, Q., Xua, M., Zhang, W. & Li, M. 2015. Large scale *in vitro* propagation of *Anoectochilus roxburghii* for commercial application: Pharmaceutically important and ornamental plant. **Industrial Crops and**

Products, 70, 158-162.

Zhang, F., Yali, L. V., Dong, H. & Guo, S. 2010. Analysis of genetic stability through intersimple sequence repeats molecular markers in micropropagated plantlets of *Anoectochilus formosanus* HAYATA, a medicinal plant. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 33(3), 384-388.

Zhang, M., Catherine, M. W. and Erik, S. R. 2019. Manipulating growth, color, and taste attributes of fresh cut lettuce by greenhouse supplemental lighting. **Scientia Horticulturae**, 252, 274–282.

นพมณี โทปุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, สุปัน ไม้ดัดจันทร์, รังสิมา อัมพวัน, ทิพย์สุดา ปุกมณี และพรศักดิ์ บุญมณี. 2547. **รายงานการวิจัยการพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำด้วยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว**. รายงานการวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2553. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 201 น.

นพมณี โทปุญญานนท์, รังสิมา อัมพวัน และพรศักดิ์ บุญมณี. 2550. **การสร้างเครื่องไบโอรแอคเตอร์แบบพร้อมใช้**. หน้า 23-28. ใน รายงานสัมมนา วช: สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก วันที่ 11- 12 มกราคม พ.ศ. 2550 ณ โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่.

นพมณี โทปุญญานนท์. 2545. **การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่: IBeam Press studio.

นภัทร วัจนเทพินทร์ และไชยยันต์ บุญมี. 2560. ไดโอดเปล่งแสงสีอะไรเหมาะสมกับการปลูกพืช. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** ,25(1), 159-169.

นิติพงศ์ หอวัฒนพาณิชย์. 2558. **ผลของสารแพกโคลบิวทราซอลต่อการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้ดินนกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อ**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พันทวี มาไพโรจน์. 2532. **ฮอร์โมนและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช: บทแนะนำความรู้พื้นฐาน**. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พีรเดช ทองอำไพร. 2529. **ฮอร์โมนพืชและการสังเคราะห์.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์.

สลิล สิทธิสัจจธรรม. 2551. **กล้วยไม้ป่าเมืองไทย**. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

สลิล สิทธิสัจจธรรม. 2558. **คู่มือกล้วยไม้ (ปรับปรุง)**. กรุงเทพฯ: สารคดี.

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2545. **การผลิตท่อนพันธุ์อ้อยให้มีคุณภาพและปราศจาก**

โรคขาวโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www1a.biotec.or.th/rdereport/prjbiotec.asp?id=220 (16 เมษายน 2560).

สุรวิช วรรณไกรโรจน์, ยี่โถ ทัพภะทัต, เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี, เกวลิน คุณาศักดากุล, รมณีย์ เจริญทรัพย์, พนมพร วรรณประเสริฐ, เพชรรัตน์ จันทรทิณ และ Ong, R. L. 2564. **บาทฐานงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. กรุงเทพฯ: ศูนย์การพิมพ์แก่นจันทร์.

หทัยชนก หมื่นกล้า. 2556. พลังหลอดไฟ LED (Light emitting diode). **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 5(5), 36-39.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2549. **กล้วยไม้เมืองไทย**. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

อรพิน เสละคร. 2557. ผลของ BA และ IBA ต่อการเพิ่มปริมาณหน่อและการออกราก ของผักหวานป่าในสภาพปลอดเชื้อ. **ราชภัฏเพรชบูรณ์สาร**, 16(1), 86-93.

อริสรา ติ๊บปะละวงศ์, ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล, เยาวนิตย์ ธาราฉาย และปวีณา ภูมิสุทธาผล. 2563. การเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภายใต้การให้แสง LED. น. 113-120 ใน **การประชุมวิชาการระดับชาติ สาขาพืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ครั้งที่ 17 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน** นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

ไอรดา ถิ่นศรี และปวีณา ภูมิสุทธาผล. 2564. ผลของอาหารเพาะเลี้ยง benzylaminopurine และระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวต่อการเจริญเติบโตของเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารวิชาการ มทร.สุวรรณภูมิ**, 9(1), 14-23.

ภาคผนวก

องค์ประกอบสูตรอาหาร MS

สารเคมี	**ปริมาณที่ใช้เตรียมอาหาร 1 ลิตร**
KH_2PO_4	170 มิลลิกรัม
NH_4NO_3	1650 มิลลิกรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370 มิลลิกรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440 มิลลิกรัม
KNO_3	1900 มิลลิกรัม
H_3BO_3	6.2 มิลลิกรัม
$MnSO_4 \cdot H_2O$	16.9 มิลลิกรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6 มิลลิกรัม
KI	0.83 มิลลิกรัม
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25 มิลลิกรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025 มิลลิกรัม
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025 มิลลิกรัม
NaFeEDTA	35 มิลลิกรัม
thiamine-HCL	1 มิลลิกรัม
nicotinic acid	0.5 มิลลิกรัม
pyridoxine	0.5 มิลลิกรัม
myo-inositol	100 มิลลิกรัม
ซูโครส	30 กรัม
เจลแลนกัม	7.5 กรัม
pH 5.80	

องค์ประกอบสูตรอาหาร VW

สารเคมี	**ปริมาณที่ใช้เตรียมอาหาร 1 ลิตร**
$(NH_4)_2SO_4$	0.50 กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.25 กรัม
$MnSO_4 \cdot H_2O$	75 มิลลิกรัม
KH_2PO_4	0.25 กรัม
KNO_3	0.525 กรัม
$Ca_3(PO_4)_2$	0.20 กรัม
NaFeEDTA	35 มิลลิกรัม
กล้วยหอมสุกบดละเอียด	100 กรัม
น้ำต้มมันฝรั่ง (20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร)	100 มิลลิลิตร
น้ำมะพร้าว	150 มิลลิลิตร
ผงถ่าน	2 กรัม
ซูโครส	20 กรัม
เจลแลนกัม	7.5 กรัม
pH 5.0	

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 1 การศึกษาผลของสูตรอาหารกึ่งแข็งต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟ

1. จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Numberofshootsperexplant	Between Groups	(Combined)		13.400	2	6.700	21.035	.000
		Linear Term	Contrast	12.800	1	12.800	40.186	.000
			Deviation	.600	1	.600	1.884	.181
	Within Groups			8.600	27	.319		
	Total			22.000	29			

Numberofshootsperexplant

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
VW	10	1.1000	
MS + TDZ0.25	10		2.2000
1/2MS + TDZ0.25	10		2.7000
Sig.		1.000	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

2. ความยาวยอด

ANOVA

Shootheight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		3.565	2	1.782	6.716	.004
	Linear Term	Contrast	.060	1	.060	.228	.637
		Deviation	3.504	1	3.504	13.205	.001
Within Groups			7.165	27	.265		
Total			10.730	29			

Shootheight

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Treatment	N	1	2
MS + TDZ0.25	10	3.1200	
1/2MS + TDZ0.25	10		3.7900
VW	10		3.9000
Sig.		1.000	.637

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 2 การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟบนอาหารกึ่งแข็ง

1. จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

ANOVA

Numberofshootsperexplant

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		39.543	6	6.590	33.756	.000
	Linear Term	Contrast	30.229	1	30.229	154.829	.000
		Deviation	9.314	5	1.863	9.541	.000
Within Groups			12.300	63	.195		
Total			51.843	69			

Numberofshootsperexplant

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Treatment	N	1	2	3	4
HF	10	1.0000			
BA0.25	10	1.0000			
BA0.5	10		1.5000		
BA1	10		1.6000		
TDZ1	10			2.3000	
TDZ0.25	10			2.6000	
TDZ0.5	10				3.1000
Sig.		1.000	.615	.134	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

2. ความยาวยอด

ANOVA

Shoothieght

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		.547	6	.091	.143	.990
	Linear Term	Contrast	.386	1	.386	.607	.439
		Deviation	.161	5	.032	.050	.998
Within Groups			40.083	63	.636		
Total			40.630	69			

Shoothieght

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
TDZ1	10	3.5000
TDZ0.5	10	3.6800
TDZ0.25	10	3.7100
BA1	10	3.7200
BA0.25	10	3.7500
BA0.5	10	3.7700
HF	10	3.7800
Sig.		.507

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 3 การศึกษาผลของสภาวะการให้อาหารเหลวต่อการเพิ่มปริมาณยอดนกคุ้มไฟในระบบ TIB

1. จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

ANOVA

Numberofshootsperexplant

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		19.480	4	4.870	5.243	.001
	Linear Term	Contrast	12.960	1	12.960	13.952	.001
		Deviation	6.520	3	2.173	2.340	.086
Within Groups			41.800	45	.929		
Total			61.280	49			

Numberofshootsperexplant

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
Treatment	N	1	2	3
SL	10	3.0000		
6h, 10m	10	3.5000	3.5000	
6h, 5m	10	3.8000	3.8000	
12h, 10m	10		4.3000	4.3000
12h, 5m	10			4.8000
Sig.		.085	.085	.252

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

2. ความยาวยอด

ANOVA

Shoothieght

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		7.554	4	1.888	10.306	.000
	Linear Term	Contrast	4.285	1	4.285	23.384	.000
		Deviation	3.269	3	1.090	5.947	.002
Within Groups			8.246	45	.183		
Total			15.800	49			

Shoothieght

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
Treatment	N	1	2	3
SL	10	3.5400		
6h, 10m	10		4.1000	
6h, 5m	10		4.2800	
12h, 10m	10		4.3500	4.3500
12h, 5m	10			4.7300
Sig.		1.000	.225	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 4 การศึกษาผลของออกซินต่อการชักนำการออกรากของนกคุ้มไฟในระบบ TIB

1. จำนวนรากต่อต้น

ANOVA

Numberofrootspershoot

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		31.750	7	4.536	16.494	.000
	Linear Term	Contrast	29.336	1	29.336	106.675	.000
		Deviation	2.414	6	.402	1.463	.203
Within Groups			19.800	72	.275		
Total			51.550	79			

Numberofrootspershoot

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Treatment	N	1	2	3	4
SL-HF	10	1.2000			
SL-IAA0.25	10	1.4000	1.4000		
SL-IAA0.5	10	1.4000	1.4000		
SL-IAA1	10	1.6000	1.6000		
TIB-HF	10		1.8000		
TIB-IAA0.25	10			2.3000	
TIB-IAA0.5	10			2.6000	
TIB-IAA1	10				3.1000
Sig.		.124	.124	.205	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

2. ความยาวราก

ANOVA

Rootlength

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		13.480	7	1.926	4.021	.001
	Linear Term	Contrast	7.150	1	7.150	14.931	.000
		Deviation	6.330	6	1.055	2.203	.052
Within Groups			34.478	72	.479		
Total			47.958	79			

Rootlength

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SL-IAA0.25	10	4.4400		
SL-IAA0.5	10	4.6500	4.6500	
SL-HF	10		5.1100	5.1100
SL-IAA1	10		5.1200	5.1200
TIB-IAA0.25	10		5.2200	5.2200
TIB-IAA0.5	10			5.3600
TIB-HF	10			5.6400
TIB-IAA1	10			5.7000
Sig.		.500	.097	.099

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

3. ความสูงต้น

ANOVA

Shootheight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		19.939	7	2.848	5.480	.000
	Linear Term	Contrast	19.479	1	19.479	37.475	.000
		Deviation	.460	6	.077	.147	.989
Within Groups			37.425	72	.520		
Total			57.364	79			

Shootheight

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Treatment	N	1	2	3	4
SL-HF	10	4.0100			
SL-IAA0.25	10	4.2400	4.2400		
SL-IAA0.5	10	4.3100	4.3100		
SL-IAA1	10	4.5100	4.5100	4.5100	
TIB-HF	10		4.8100	4.8100	
TIB-IAA0.25	10			5.0600	5.0600
TIB-IAA0.5	10			5.1500	5.1500
TIB-IAA1	10				5.5800
Sig.		.163	.111	.073	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

4. จำนวนใบต่อต้น

ANOVA

Numberofleavespershoot

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		6.400	7	.914	3.076	.007
	Linear Term	Contrast	5.260	1	5.260	17.696	.000
		Deviation	1.140	6	.190	.640	.698
Within Groups			21.400	72	.297		
Total			27.800	79			

Numberofleavespershoot

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
Treatment	N	1	2	3
SL-HF	10	1.9000		
SL-IAA0.25	10	2.2000	2.2000	
SL-IAA0.5	10	2.4000	2.4000	2.4000
TIB-HF	10	2.4000	2.4000	2.4000
SL-IAA1	10		2.6000	2.6000
TIB-IAA0.25	10		2.6000	2.6000
TIB-IAA0.5	10		2.6000	2.6000
TIB-IAA1	10			2.9000
Sig.		.064	.157	.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

5. พื้นที่ใบ

ANOVA

leavesarea

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		281551.988	7	40221.713	6.826	.000
	Linear Term	Contrast	278512.001	1	278512.001	47.269	.000
		Deviation	3039.987	6	506.664	.086	.997
Within Groups			424226.500	72	5892.035		
Total			705778.488	79			

leavesarea

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
Treatment	N	1	2	3	4	5
SL-HF	10	419.3000				
SL-IAA0.25	10	444.9000	444.9000			
SL-IAA0.5	10	460.1000	460.1000			
SL-IAA1	10	477.3000	477.3000	477.3000		
TIB-HF	10		514.4000	514.4000	514.4000	
TIB-IAA0.25	10			545.6000	545.6000	545.6000
TIB-IAA0.5	10				571.7000	571.7000
TIB-IAA1	10					595.8000
Sig.		.128	.067	.063	.119	.172

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

6. น้ำหนักสดต่อต้น

ANOVA

Freshweight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		5412301.495	7	773185.928	129.156	.000
	Linear Term	Contrast	5007409.724	1	5007409.724	836.458	.000
		Deviation	404891.771	6	67481.962	11.272	.000
Within Groups			431024.020	72	5986.445		
Total			5843325.515	79			

Freshweight

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
Treatment	N	1	2	3	4	5	6
SL-HF	10	640.9600					
SL-IAA0.25	10	674.4700	674.4700				
SL-IAA0.5	10	705.7500	705.7500				
SL-IAA1	10		739.6500				
TIB-HF	10			914.5100			
TIB-IAA0.25	10				1077.0800		
TIB-IAA0.5	10					1209.7400	
TIB-IAA1	10						1384.7800
Sig.		.080	.078	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

7. น้ำหนักแห้งต่อต้น

ANOVA

Dryweight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		25107.673	7	3586.810	58.874	.000
	Linear Term	Contrast	24210.584	1	24210.584	397.396	.000
		Deviation	897.089	6	149.515	2.454	.032
Within Groups			4386.462	72	60.923		
Total			29494.135	79			

Dryweight

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
Treatment	N	1	2	3	4	5	6
SL-HF	10	46.0800					
SL-IAA0.25	10	50.2200	50.2200				
SL-IAA0.5	10		53.4800	53.4800			
SL-IAA1	10			59.7000			
TIB-HF	10				73.1300		
TIB-IAA0.25	10				77.3000		
TIB-IAA0.5	10					85.4600	
TIB-IAA1	10						99.8900
Sig.		.240	.353	.079	.236	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

8. อัตราการรอดชีวิตเมื่อย้ายปลูก

ANOVA

survivulrate

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		2875.000	7	410.714	.485	.843
	Linear Term	Contrast	1339.286	1	1339.286	1.581	.213
		Deviation	1535.714	6	255.952	.302	.934
Within Groups			61000.000	72	847.222		
Total			63875.000	79			

survivulrate

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
SL-HF	10	80.0000
SL-IAA0.25	10	90.0000
SL-IAA0.5	10	90.0000
SL-IAA1	10	90.0000
TIB-HF	10	90.0000
TIB-IAA1	10	90.0000
TIB-IAA0.25	10	100.0000
TIB-IAA0.5	10	100.0000
Sig.		.197

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 5 การศึกษาผลของคุณภาพแสงต่อการเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟในระบบ TIB

1. จำนวนรากต่อต้น

ANOVA

Numberofrootspershoot

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		.075	3	.025	.053	.984
	Linear Term	Contrast	.045	1	.045	.096	.759
		Deviation	.030	2	.015	.032	.969
Within Groups			16.900	36	.469		
Total			16.975	39			

Numberofrootspershoot

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1R:1B	10	3.0000
1R:3B	10	3.0000
3R:1B	10	3.0000
W	10	3.1000
Sig.		.770

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

2. ความยาวราก

ANOVA

Rootlength

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		1.997	3	.666	2.567	.070
	Linear Term	Contrast	.541	1	.541	2.086	.157
		Deviation	1.456	2	.728	2.808	.074
Within Groups			9.334	36	.259		
Total			11.331	39			

Rootlength

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Treatment	N	1	2
1R:3B	10	5.2600	
1R:1B	10	5.3600	
W	10	5.4700	5.4700
3R:1B	10		5.8500
Sig.		.392	.104

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

3. ความสูงต้น

ANOVA

Shootheight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		4.013	3	1.338	7.975	.002
	Linear Term	Contrast	3.276	1	3.276	19.530	.000
		Deviation	.737	2	.369	2.198	.143
Within Groups			2.684	16	.168		
Total			6.697	19			

Shootheight

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Treatment	N	1	2
W	5	5.6400	
1R:3B	5	6.0400	
1R:1B	5	6.1400	
3R:1B	5		6.8800
Sig.		.085	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

4. จำนวนใบต่อต้น

ANOVA

Numberofleavespershoot

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		.675	3	.225	1.328	.280
	Linear Term	Contrast	.045	1	.045	.266	.609
		Deviation	.630	2	.315	1.859	.170
Within Groups			6.100	36	.169		
Total			6.775	39			

Numberofleavespershoot

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1R:1B	10	2.8000
1R:3B	10	2.8000
W	10	3.0000
3R:1B	10	3.1000
Sig.		.145

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

5. พื้นที่ใบ

ANOVA

Leavesarea

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		59812.333	3	19937.444	5.008	.030
	Linear Term	Contrast	37700.267	1	37700.267	9.469	.015
		Deviation	22112.067	2	11056.033	2.777	.121
Within Groups			31851.333	8	3981.417		
Total			91663.667	11			

Leavesarea

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Treatment	N	1	2
W	3	592.0000	
1R:3B	3	661.0000	661.0000
1R:1B	3		725.6667
3R:1B	3		780.6667
Sig.		.217	.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

6. น้ำหนักสดต่อต้น

ANOVA

Freshweight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		1325998.540	3	441999.513	82.878	.000
	Linear Term	Contrast	553327.700	1	553327.700	103.753	.000
		Deviation	772670.840	2	386335.420	72.440	.000
Within Groups			85330.348	16	5333.147		
Total			1411328.888	19			

Freshweight

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
W	5	1326.5800		
1R:3B	5	1396.4000		
1R:1B	5		1770.1200	
3R:1B	5			1947.0600
Sig.		.150	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

7. น้ำหนักแห้งต่อต้น

ANOVA

Dryweight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		14475.586	3	4825.195	70.946	.000
	Linear Term	Contrast	7687.782	1	7687.782	113.035	.000
		Deviation	6787.804	2	3393.902	49.901	.000
Within Groups			1088.196	16	68.012		
Total			15563.782	19			

Dryweight

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Treatment	N	1	2	3	4
W	5	95.1800			
1R:3B	5		111.0800		
1R:1B	5			142.8400	
3R:1B	5				164.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

8. อัตราการรอดชีวิตเมื่อย้ายออกปลูก

ANOVA

Survivalrate

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		1000.000	3	333.333	.667	.578
	Linear Term	Contrast	200.000	1	200.000	.400	.531
		Deviation	800.000	2	400.000	.800	.457
Within Groups			18000.000	36	500.000		
Total			19000.000	39			

Survivalrate

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1R:1B	10	90.0000
3R:1B	10	90.0000
W	10	100.0000
1R:3B	10	100.0000
Sig.		.370

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาว อริสรา ติ๊บปะละวงศ์

เกิดเมื่อ 6 เมษายน 2538

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2555 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนแก่งคอย จังหวัดสระบุรี

พ.ศ. 2559 ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

ประวัติการทำงาน ผลงานทางวิชาการ

1. อริสรา ติ๊บปะละวงศ์, ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล, เยาวนิตย์ ธาราฉาย และ ปวีณา ภูมิสุทธาผล. 2563. การเจริญเติบโตของนกคุ้มไฟที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภายใต้การให้แสง LED. หน้า 113-120. ในงานประชุมวิชาการระดับชาติ สาขาพืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ครั้งที่ 17 เมื่อวันที่ 2-3 ธันวาคม พ.ศ.2563. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
2. อริสรา ติ๊บปะละวงศ์ และ ปวีณา ภูมิสุทธาผล. 2566. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้ออกรากของนกคุ้มไฟในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ, 6(3).