



ผลของการผสมพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อนต่อการติดฝักและการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ
Effect of hybridization of *Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda)
on capsule formation and in vitro seed germination

เชน จิน¹ และ นิภาวรรณ จิตโสภาคกุล^{1,*}

คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

Chhen Chin¹ and Nipawan Jitsopakul^{1,*}

Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan,
Surin Campus

บทคัดย่อ

กล้วยไม้เขากวางอ่อนเป็นกล้วยไม้กระถางขนาดเล็กในสกุลฟาแลนนอปซิส นิยมใช้เป็นพ่อพันธุ์ในการผลิตกล้วยไม้ลูกผสม การผสมพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อนโดยการผสมพันธุ์ตัวเอง และผสมข้ามระหว่างต้น โดยใช้ดอกที่มีสีและลายบนกลีบดอกแตกต่างกัน 4 แบบ ทั้งหมด 16 คู่ผสม พบว่า การผสมพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อนสามารถติดฝักได้ทั้งหมด 8 คู่ผสม คิดเป็นร้อยละ 50 โดยเป็นลูกผสมที่เกิดจากการผสมตัวเอง 1 คู่ผสม และผสมข้ามระหว่างต้น 7 คู่ผสม ความสามารถในการติดฝักได้สูงสุดร้อยละ 100 อายุฝักแก่ของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมเฉลี่ย 141 วัน และขนาดฝักแก่กว้างเฉลี่ย 1.0 เซนติเมตร และยาวเฉลี่ย 3.4 เซนติเมตร เมื่อนำเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมทั้งหมด 8 คู่ผสม เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ pH 5.2 เพาะเลี้ยงในที่มืด ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่า เมล็ดของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมสามารถงอกเป็นโปรโตคอร์ม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลาเฉลี่ย 16 วัน และโปรโตคอร์มสามารถเจริญเป็นต้นที่มีรากสมบูรณ์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอม 100 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร และ pH 5.2 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 วัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

คำสำคัญ: กล้วยไม้ โปรโตคอร์ม ลูกผสม น้ำมะพร้าว



Abstract

Phalaenopsis cornu-cervi (Breda), a beautiful small potted orchid is belonging to the genus *Phalaenopsis*. It is commonly used as a breeder in the production of hybrid orchids. Production of *Phalaenopsis cornu-cervi* hybrids using four types of flowers in different colors and pattern on the petals in total of sixteen cross combination by self-pollination and cross-pollination (interclonal) was investigated. Result showed that the production of *Phalaenopsis cornu-cervi* hybrids was observed with eight hybrids (50%) that one hybrid and seven hybrids were produced from self-pollination and cross-pollination, respectively. The highest capsule formation was about 100%. The age of the hybrid capsules was around 141 days and the size of capsules was approximately 3.4 cm in length x 1.0 cm in width after hand pollination. The seeds of the *Phalaenopsis cornu-cervi* hybrids were germinated into protocorms on Vacin and Went (1949) agar medium supplemented with 150 ml/L coconut water, 20 g/L sucrose and pH 5.2 around 16 days after sowing in the dark at 25 ± 2 °C. These protocorms of the *Phalaenopsis cornu-cervi* hybrids, which developed into plantlets with well-formed leaves and roots, were cultured on modified VW agar medium supplemented with 150 ml/L coconut water, 100 g/L banana, 1 g/L activated charcoal and 20 g/L sucrose at pH 5.2 for 120 d at 25 ± 2 °C under light condition for 16 h/day.

Keywords: Orchid, Protocorm, Hybrid, Coconut water

* ผู้ประสานงาน (Corresponding Author)
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิภาวรรณ จิตโสภาคกุล
e-mail: njitsopakul@hotmail.com



บทนำ

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ทำได้โดยการผสมพันธุ์ระหว่างดอกที่ใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ กับก้านเรณูของดอกที่ใช้เป็นพ่อพันธุ์ เพื่อให้ได้กล้วยไม้ที่มีลักษณะแตกต่างไปจากพันธุ์เดิม เช่น สีดอก ขนาดของดอก และขนาดของต้น นอกจากนี้ข้อดีของการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้จะได้พันธุ์ตรงตามที่ตลาดต้องการแล้ว ยังเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมของกล้วยไม้ โดยลดความเสี่ยงในการสูญพันธุ์ของกล้วยไม้พันธุ์เดิม จากการนำกล้วยไม้ป่าออกจากป่ามาเพื่อทำการค้า ส่งผลให้พันธุ์ และจำนวนของกล้วยไม้ป่าลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ปัญหาที่พบจากการผสมพันธุ์กล้วยไม้ชนิดเดียวกันข้ามชนิด หรือข้ามสกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ คือ การติดฝักน้อย หรือไม่ติดฝัก ทั้งนี้เนื่องมาจากระยะเวลาในการบานของดอกแม่พันธุ์ และพ่อพันธุ์ที่แตกต่างกัน สภาพภูมิอากาศระหว่างที่ดอกบาน และความสมบูรณ์ของดอกขณะที่ผสมพันธุ์ ยังขึ้นอยู่กับคุณภาพ ความมีชีวิต และอายุของก้านเรณูที่ใช้ในการผสมพันธุ์ (Zhang และคณะ, 1993; Parton และคณะ, 2002; Song และ Tachibana, 2007) ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้จากการผสมพันธุ์ถือเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อให้ได้มาซึ่งต้นกล้วยไม้ลูกผสม ซึ่งวิธีการขยายพันธุ์ในธรรมชาติโดยใช้เมล็ด พบปัญหา คือ เมล็ดมีโอกาสน้อยมาก เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก คล้ายผงฝุ่น และมีอาหารสะสมภายในเมล็ดน้อยมาก หรือไม่มีเลย (ณัฐา, 2548) จึงได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อมาใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ เนื่องจากสามารถขยายพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี และไม่ขึ้นอยู่กับฤดูกาล ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสิ่งที่สำคัญ คือ สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เมล็ดงอก และเจริญเป็นต้น สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส ได้แก่ สูตร Murashige and Skoog (1962) (Park et al., 2002; Rittirat และคณะ, 2012; Rittirat et al., 2014) และ Vacin and Went (1949) (Zahara et al., 2017) แต่ปัญหาที่พบระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส คือ การปล่อยสารฟีนอลิกที่มีสีดำจากเนื้อเยื่อลงในอาหารเพาะเลี้ยง ส่งผลในการยับยั้งการเจริญของกล้วยไม้ (Tanaka และ Sakanishi, 1977) จากปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ได้โดยการเติมผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งผงถ่านช่วยในการดูดสารฟีนอลิกที่พืชปล่อยออกมา ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช และช่วยในการรักษาระดับ pH ในอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยง (Eymar และคณะ, 2000) มีรายงานการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เขากวางอ่อนบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติมน้ำมะพร้าว และผงถ่าน ส่งผลให้โปรโตคอร์มของกล้วยไม้เขากวางอ่อนเจริญเติบโตได้ดี (วุฒิชัย และสมปอง, 2557; Rittirat และคณะ, 2012) และช่วยลดการเกิดอาการเนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาล (Te-chato และคณะ, 2010) คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาการผสมพันธุ์กล้วยไม้ โดยเลือกกล้วยไม้เขากวางอ่อน (*Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda) Blume & Rchb.f.) ในสกุลฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis*) ที่ดอกมีสีเหลืองลายแดง หรือบางดอกสีเหลืองมีลายจาง แตกต่างกันเพื่อผลิตลูกผสม เนื่องจากเขากวางอ่อนเป็นกล้วยไม้กระถางขนาดเล็ก ออกดอกง่าย และออกดอกตลอดทั้งปี (ณัฐา, 2548 และ ครรชิต, 2550) และทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมบนอาหารแข็งสูตร Vacin and Went (1949) ซึ่งไม่พบรายงานการใช้อาหารสูตร Vacin and Went (1949) ร่วมกับน้ำมะพร้าวในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนจากการผสมพันธุ์เพื่อผลิตลูกผสม

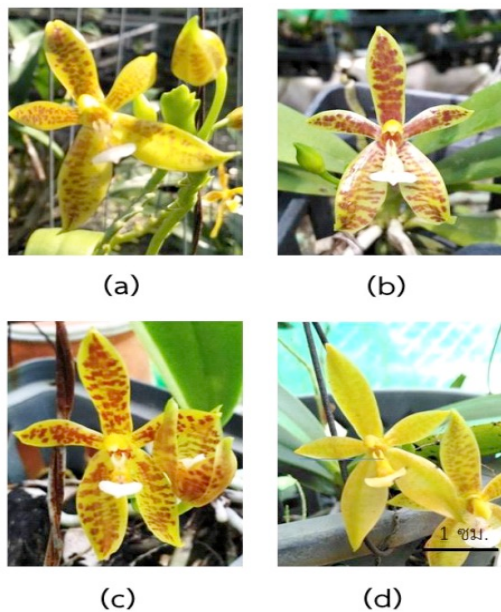
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการติดฝักของกล้วยไม้เขากวางอ่อนจากการผสมตัวเอง และการผสมพันธุ์ข้ามระหว่างต้น
2. เพื่อศึกษาอายุฝัก และขนาดของฝักแก่ของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม
3. เพื่อศึกษาจำนวนวันที่เมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมงอกเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีการวิจัย

1. การศึกษาการติดฝักของกล้วยไม้เขากวางอ่อนจากการผสมตัวเอง และการผสมพันธุ์ข้ามระหว่างต้นเพื่อผลิตลูกผสม

กล้วยไม้ที่ใช้ในการผสมพันธุ์เพื่อผลิตลูกผสม คือ เขากวางอ่อน (*Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda) Blume & Rchb.f.) ที่ดอกมีสี และลายบนกลีบดอกแตกต่างกัน 4 แบบ คือ เขากวางอ่อนเบอร์ 1 ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก เขากวางอ่อนเบอร์ 2 ดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเจนเต็มกลีบดอก เขากวางอ่อนเบอร์ 3 ดอกมีแถบสีแดง แต่ขนาดแถบสีแดงเล็ก และจาง และเขากวางอ่อนเบอร์ 4 ดอกมีจุด หรือแถบสีแดงจาง (ภาพที่ 1) จากโรงเรียนกล้วยไม้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์ โดยทำการเก็บก้านเรณูจากดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนทั้ง 4 แบบ หลังจากดอกบานเต็มที่เป็นเวลา 2 วัน ทำการผสมโดยนำก้านเรณูผสมกับเกสรตัวเมียในดอกเดียวกัน (ผสมตัวเอง) และทำการผสมข้ามระหว่างต้นด้วยมือ ทำการผสมทั้งหมด 16 คู่ผสม โดยจำนวนดอกที่ใช้ในแต่ละคู่ผสมไม่เท่ากัน เนื่องจากขึ้นอยู่กับจำนวนดอกที่บานในแต่ละแบบ (ตารางที่ 1) หลังจากผสมพันธุ์เป็นเวลา 90 วัน ทำการบันทึกการติดฝักจากการผสมตัวเอง และผสมข้ามระหว่างต้น



ภาพที่ 1 ดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนที่ใช้ในการผสมพันธุ์ (a) เขากวางอ่อนเบอร์ 1 (b) เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (c) เขากวางอ่อน เบอร์ 3 และ (d) เขากวางอ่อนเบอร์ 4

2. การศึกษาอายุของฝัก และขนาดของฝักแก่ของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม

ในการเก็บฝักแก่ของกล้วยไม้ลูกผสมเพื่อนำมาเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ สังเกตได้จากสีของฝัก เมื่อฝักแก่สีของฝักจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ทำการบันทึกอายุของฝักแก่ หลังจากวันที่ผสมพันธุ์ บันทึกขนาดของฝักแก่ (กว้าง x ยาว) ทำการผ่าฝักกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม แล้วนำเมล็ดส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อดูเอ็มบริโอภายในเมล็ด แล้วทำการบันทึกภาพ



3. การศึกษาจำนวนวันที่เมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมงอกเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

นำฝักแก่ของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม (ข้อ 2) มาตัดบริเวณที่ติดกลีบดอกออก ล้างฝักด้วยน้ำยาล้างจาน เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกบริเวณผิวของฝัก แล้วล้างฝักด้วยน้ำประปาจนฝักสะอาด จากนั้นนำฝักจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปผ่านไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์ภายในตู้ปลอดเชื้อ เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวฝัก รอจนไฟที่ติดฝักดับ จากนั้นใช้มีดตัดฝักตามยาว เพื่อนำเมล็ดเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ pH 5.2 เพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกจำนวนวันที่เมล็ดงอกเป็นโปรโตคอร์ม นำโปรโตคอร์มที่ได้เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลงของ Vacin and Went (1949) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอม 100 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ pH 5.2 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ เพื่อชักนำให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นยอด และต้นที่มีรากสมบูรณ์

นำข้อมูลที่ได้ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

1. ความสามารถในการติดฝักของกล้วยไม้เขากวางอ่อนจากการผสมตัวเอง และการผสมพันธุ์ข้ามระหว่างต้น

เมื่อนำก่อนเรือนุของกล้วยไม้เขากวางอ่อนที่ดอกมีสี และลายบนกลีบดอกแตกต่างกัน 4 แบบ ทำการผสมตัวเองในดอกเดียวกัน และทำการผสมข้ามระหว่างต้น ทั้งหมด 16 คู่ผสม เป็นเวลา 90 วัน พบว่ากล้วยไม้เขากวางอ่อนสามารถผสมพันธุ์ และติดฝักได้ทั้งหมด 8 คู่ผสม (ตารางที่ 1 ภาพที่ 2) คิดเป็นร้อยละ 50 โดยเป็นลูกผสมที่เกิดจากการผสมตัวเอง 1 คู่ผสม และผสมข้ามระหว่างต้น 7 คู่ผสม ความสามารถในการติดฝักสูงสุดร้อยละ 100 จากการผสมโดยใช้กล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 4 (ดอกมีจุด หรือแถบสีแดงจาง) เป็นแม่พันธุ์ ผสมกับก่อนเรือนุของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 (ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก) ก่อนเรือนุกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (ดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเจนเต็มกลีบดอก) และก่อนเรือนุกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 3 (ดอกมีแถบสีแดง แต่ขนาดแถบสีแดงเล็ก และจาง) ซึ่งใช้ดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนคู่ละ 1 ดอก เท่านั้น รองลงมาคือ การผสมระหว่างดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 (ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก) เป็นแม่พันธุ์ กับก่อนเรือนุของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (ดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเจนเต็มกลีบดอก) และก่อนเรือนุของดอกกล้วยไม้เบอร์ 3 (ดอกมีแถบสีแดง แต่ขนาดแถบสีแดงเล็ก และจาง) สามารถติดฝักร้อยละ 50 และ 28.6 ตามลำดับ แต่จากการทดลองไม่พบการติดฝักของกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 3 และ 4 เมื่อผสมตัวเอง จากผลการทดลองพบว่าการติดฝักจากการผสมตัวเอง และผสมข้ามระหว่างต้นของกล้วยไม้เขากวางอ่อนต่ำ ซึ่งปัญหาที่พบในการติดฝักของกล้วยไม้จากการผสมพันธุ์ขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการบานของดอกที่แตกต่างกัน คุณภาพ ความมีชีวิต อายุของก่อนเรือนุ สภาพภูมิอากาศระหว่างที่ติดดอกบาน และความสมบูรณ์ของดอกขณะที่ผสมพันธุ์ (Zhang และคณะ, 1993; Song และ Tachibana, 2007; Parton และคณะ, 2002) นอกจากนี้การติดฝักของกล้วยไม้เขากวางอ่อนจากการผสมพันธุ์อาจเนื่องมาจากความสมบูรณ์ และความแข็งแรงของต้นแม่พันธุ์ที่ใช้ในการผสมพันธุ์ ส่งผลให้ไม่สามารถติดฝักจนกระทั่งฝักแก่ได้

2. ศึกษาอายุของฝัก และขนาดของฝักแก่ของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม

การเก็บฝักแก่ของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์เพื่อทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ สังเกตได้จากสีของฝักเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 3) โดยอายุฝักแก่ของกล้วยไม้เขากวางอ่อน

ลูกผสมทั้ง 8 คู่ผสมที่สามารถติดฝักได้ อยู่ระหว่าง 131 – 147 วัน (ตารางที่ 2) อายุฝักแก่เฉลี่ย 141 วัน ซึ่งแต่ละลูกผสมมีอายุของฝักแก่เฉลี่ยแตกต่างกัน โดยฝักที่ได้จากการผสมตัวเองของกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 (ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก) มีอายุฝักแก่เฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 131 วัน รองลงมาคือ ฝักที่ได้จากการผสมระหว่างดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 (ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก) เป็นแม่พันธุ์ กับ ก้อนเรณูของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (ดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเห็นเต็มกลีบดอก) โดยมีอายุฝักแก่เฉลี่ย คือ 137 วัน เมื่อทำการวัดขนาดของฝักกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมทั้งหมด 8 คู่ผสม พบว่า ขนาดฝักกว้างเฉลี่ย 1.0 เซนติเมตร และยาวเฉลี่ย 3.4 เซนติเมตร โดยแต่ละลูกผสมมีขนาดของฝักแก่แตกต่างกัน ฝักกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมที่มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ ฝักที่ได้จากการผสมระหว่างดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 4 (ดอกมีจุด หรือแถบสีแดงจาง) กับก้อนเรณูของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (ดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเห็นเต็มกลีบดอก) มีขนาดฝักกว้างเฉลี่ย 1.1 เซนติเมตร และยาวเฉลี่ย 4.0 เซนติเมตร ทั้งนี้ขนาดของฝักกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมที่ขนาดแตกต่างกันอาจขึ้นอยู่กับขนาดของดอกที่เป็นตัวเมีย ความสมบูรณ์ของก้อนเรณูที่ใช้ในการผสม ความแข็งแรง ความสมบูรณ์ของต้นแม่พันธุ์ และสภาพภูมิอากาศ

ตารางที่ 1 ร้อยละการติดฝักของกล้วยไม้เขากวางอ่อนจากการผสมตัวเอง และการผสมพันธุ์ข้ามระหว่างต้น

คู่ผสมที่	แม่พันธุ์ (ดอก)	พ่อพันธุ์ (ก้อนเรณู)	จำนวนดอกที่ ผสมพันธุ์ (ดอก)	จำนวนดอก ที่ติดฝัก (ดอก)	ร้อยละ การติดฝัก
1	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	24	5	20.8±8.5 ^a
2	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	4	2	50.0±28.9 ^a
3	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	7	2	28.6±28.9 ^a
4	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	1	0	0.0
5	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	7	1	14.3±18.4 ^a
6	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	25	0	0.0
7	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	8	1	12.5±12.5 ^a
8	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	0	0	0.0
9	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	5	0	0.0
10	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	6	0	0.0
11	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	13	0	0.0
12	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	1	0	0.0
13	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	1	1	100.0
14	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	1	1	100.0
15	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	1	1	100.0
16	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	1	0	0.0

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±SD

: ตัวอักษรที่เหมือนกันที่อยู่ในสมมติเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05
วิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Duncan's Test



3. ศึกษาจำนวนวันที่เมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมงอกเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อนำเมล็ดจากฝักกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมทั้ง 8 คู่ผสม เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ pH 5.2 เพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่า เมล็ดของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมทั้งหมด 8 คู่ผสม สามารถงอกเป็น โปรโตคอร์มก่อนกลมสีเขียวเฉลี่ย 16 วัน โดย 1 เมล็ดงอกได้ 1 โปรโตคอร์ม (ตารางที่ 2) เมล็ดที่ได้จากฝักที่ผสม ตัวเองของกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 (ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก) งอกเป็นโปรโตคอร์มเร็วที่สุดเฉลี่ย 13 วัน รองลงมา คือ เมล็ดจากฝักที่ได้จากการผสมกลับสลับพ่อแม่ระหว่างดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อน เบอร์ 1 (ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก) กับดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (ดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเจนเต็มกลีบดอก) จำนวนวันที่งอกเฉลี่ย 14 และ 16 วัน ตามลำดับ ส่วนเมล็ดของกล้วยไม้เขากวางอ่อน ลูกผสมที่ได้จากการผสมระหว่างดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 4 (ดอกมีจุด หรือแถบสีแดงจาง) เป็นแม่พันธุ์ ผสมกับ ก้อนเรณูของกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 (ดอกมีลายเป็นจุด และแถบสีแดงกระจายบนกลีบดอก) ก้อนเรณูของ กล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (ดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเจนเต็มกลีบดอก) และก้อนเรณูของกล้วยไม้เขากวางอ่อน เบอร์ 3 (ดอกมีแถบสีแดง แต่ขนาดแถบสีแดงเล็ก และจาง) มีจำนวนวันที่งอกเท่ากันเฉลี่ยเท่ากัน คือ 17 วัน เท่ากัน จากการวิจัยพบว่าเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมงอกได้เร็วมาก อาจเนื่องมาจากในอาหารเพาะเลี้ยงมีการเติมน้ำมะพร้าว ซึ่งน้ำมะพร้าวช่วยในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เป็นโปรโตคอร์ม (Rittirat et al., 2012; 2014) เมื่อ โปรโตคอร์มของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมเจริญ จะมีการปล่อยสารสารฟีนอลิกสีน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งสารฟีนอลิกที่ปล่อยออกมาจะส่งผลในการยับยั้งการเจริญของกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส (Tanaka และ Sakanishi, 1977) จึงทำการย้ายโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอม 100 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และ pH 5.2 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 วัน พบว่า สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มของกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมพัฒนาเป็นยอด และเจริญเป็น ต้นที่มีรากสมบูรณ์ ซึ่งการเติมผงถ่านในอาหารเพาะเลี้ยงช่วยในการรักษาระดับ pH ในอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยง ช่วยในการดูดสารที่พืชปล่อยออกมา และส่งเสริมการเจริญของพืช (Eymar และคณะ, 2000) การเติมน้ำมะพร้าว และ ผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงส่งผลให้โปรโตคอร์มของกล้วยไม้เขากวางอ่อนเจริญเติบโตได้ดี (วุฒิชัย และสมปอง, 2557; Rittirat และคณะ, 2012) และช่วยลดการเกิดอาการเนื่อเยื่อเป็นสีน้ำตาล (Te-chato และคณะ, 2010)

ตารางที่ 2 อายุฝักแก่ ขนาดฝักแก่ และจำนวนวันที่ของเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมงอกเมื่อเพาะเลี้ยงบน
อาหารแข็งสูตร Vacin and Went (1949) ในที่มีด ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

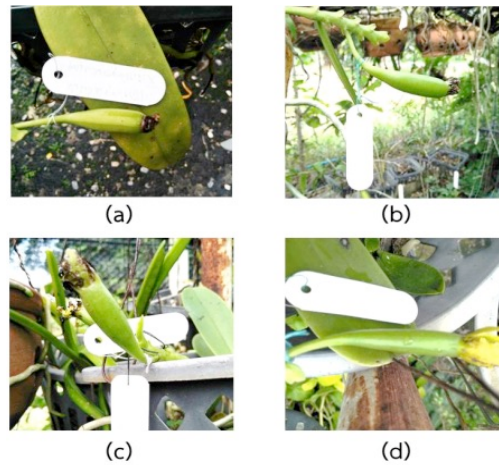
คู่ผสม ที่	แม่พันธุ์ (ดอก)	พ่อพันธุ์ (ก้อนเรณู)	อายุฝักเฉลี่ย (วัน)	ขนาดฝัก (กว้าง x ยาว: เซนติเมตร)	จำนวนวันที่ งอก (วัน)
1	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	131 ± 1.1^b	$1.0 \pm 0.1^a \times 3.2 \pm 0.1^{ab}$	13 ± 0.7^b
2	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	137 ± 1.0^a	$0.9 \pm 0.1^a \times 3.0 \pm 0.1^b$	14 ± 0.5^b
3	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	142 ± 1.5^a	$1.1 \pm 0.1^a \times 3.5 \pm 0.1^a$	17 ± 0.5^a
4	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	-	-	-
5	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	142	0.8x 2.6	16
6	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	-	-	-
7	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	147	1.0x 3.3	17
8	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	-	-	-
9	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	-	-	-
10	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	-	-	-
11	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	-	-	-
12	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	-	-	-
13	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 1	142	0.6x 2.2	17
14	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 2	147	1.1x 4.0	17
15	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 3	142	0.9x 2.5	17
16	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	เขากวางอ่อนเบอร์ 4	-	-	-

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD

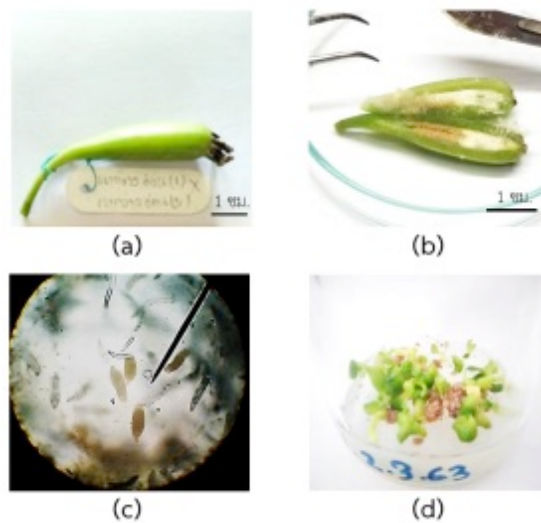
: ตัวอักษรที่เหมือนกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

วิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Duncan's Test

: คู่ผสมที่ 5 7 13 14 และ 15 มีจำนวน 1 ฝักเท่านั้น



ภาพที่ 2 ฝักกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม (a) ดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 ผสมกับก้านเรณูของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 2 (b) ดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 ผสมกับก้านเรณูของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 3 (c) ดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 4 ผสมกับก้านเรณูของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 และ (d) ดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 4 ผสมกับก้านเรณูของกล้วยไม้ดอกเขากวางอ่อนเบอร์ 2



ภาพที่ 3 ฝัก เมล็ด และการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม (a) ฝักที่เกิดจากดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 1 ผสมกับก้านเรณูของดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 3 (b) ฝัก และเมล็ด (c) เมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมเขากวางอ่อนส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า (d) การงอกของเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมในอาหารแข็งสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว เพาะเลี้ยงในที่มืด ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

สรุปผลวิจัย

การผสมพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อนสามารถผลิตกล้วยไม้ลูกผสมที่เกิดจากการผสมระหว่างดอกมีสีดอกและลายบนกลีบดอกต่างกัน จำนวน 8 ลูกผสม เกิดจากการผสมตัวเอง 1 คู่ผสม และผสมข้ามระหว่างต้น 7 คู่ผสม คิดเป็นร้อยละ 50 สามารถติดฝักได้สูงสุดร้อยละ 100 และเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสมสามารถงอกอย่างรวดเร็วเฉลี่ย 16 วัน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร จากผลการทดลองในการผลิตกล้วยไม้เขากวางอ่อนลูกผสม ควรใช้ดอกกล้วยไม้เขากวางอ่อนเบอร์ 4 ซึ่งดอกมีจุดหรือแถบสีแดงจาง เป็นต้นแม่พันธุ์ ผสมกับก้านเรณูของเขากวางอ่อนเบอร์ 2 ซึ่งดอกมีแถบสีแดงเข้มชัดเจน และผิวดอกมันวาว เนื่องจากจำนวนดอกที่ใช้ในการผสมพันธุ์เพียงดอกเดียวสามารถติดฝัก ได้ การวิจัยครั้งนี้ถือเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อนเพื่อให้ได้ดอกที่มีสี และลวดลายแตกต่างไปจากเดิม ซึ่งสามารถผลิตเป็นกล้วยไม้กระถางขนาดเล็กที่ให้ดอกตลอดปี และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตกล้วยไม้ลูกผสมชนิดอื่นต่อไปได้

ข้อเสนอแนะ

ปัจจัยที่ส่งผลในการติดฝัก และความสมบูรณ์ของเมล็ดของกล้วยไม้จากการผสมพันธุ์ นอกจากขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของต้นแม่พันธุ์กล้วยไม้ที่ใช้ในการผสม ระยะเวลาในการบานของดอกที่แตกต่างกัน คุณภาพ ความมีชีวิต และอายุของก้านเรณู และสภาพภูมิอากาศ ยังขึ้นอยู่กับ การดูแลรักษาต้นแม่พันธุ์หลังจากที่ผสมพันธุ์อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณทุนการศึกษาโครงการพระราชทานความช่วยเหลือแก่ราชอาณาจักรกัมพูชาตามพระราชดำริสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สำหรับการศึกษา และการวิจัยนี้

References

- ครุฑ, ธรรมศิริ. (2550). *เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อัมรินทร์พรินติ้งแอนด์ พับลิชชิ่ง.
- ณัฐา, ควรประเสริฐ. (2548). *กล้วยไม้วิทยา 1*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.
- วุฒิชัย, ศรีช่วย และ สมปอง เตชะโต. (2557). การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อน (*Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda) Blume & Rchb.f.) โดยการชักนำเป็นพืชต้นใหม่จากแคลลัส. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 1(2), 13–18.
- Eymar, E., Alegre, J., Toribio, M., López-vela, D. (2000). Effect of activated charcoal and 6-benzyladenine on In Vitro nitrogen uptake by *Lagerstroemia indica*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 63(1), 57–65.
- Murashige, T., and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
- Park, S.Y., Murthy, H.N., and Paek K. Y. (2002). Rapid propagation of *Phalaenopsis* from floral stalk-derived leaves. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 38(2): 168–172.



- Parton, E., Vervaeke, I., Delen, R., Vandenbussche, B., Deroose, R., and De Proft, M. (2002). Viability and storage of bromeliad Pollen. *Euphytica*, 125(2), 155–161.
- Rittirat, S., Kongruk, S., and Te-chato, S. (2012). Induction of Protocorm-like bodies (PLBs) and plantlet regeneration from wounded protocorms of *Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda) Blume & Rchb. f. *Journal of Agricultural Technology*, 8(7), 2397–2407.
- Rittirat, S., Klaocheed, s., Thammasiri K. (2014). Enhanced Efficiency for propagation of *Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda) Blume & Rchb. F. using trimmed leaf technique. *International Journal of Biological, Life and Agricultural Sciences*, 8(4), 358–361.
- Song, J. and Tachibana, S. (2007). Loss of viability of tomato pollen during long-term dry storage is associated with reduced capacity for translating polyamine biosynthetic enzyme genes after rehydration. *Journal of Experimental Botany*, 58(15–16), 4235–4244.
- Tanaka, M., and Sakanishi, Y. (1976). Clonal propagation of *Phalaenopsis* by leaf tissue culture. *American Orchid Society Bulletin*, 46(8), 733–737.
- Rittirat, S., Te-chato, S., Kongruk, S., and Khaimuk, W. (2010). Micropropagation of Chang Daeng (*Rhynchostylis rubrum*) by embryogenic callus. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 33(6), 659–663.
- Vacin, E. and Went, F. (1949). Some pH changes in nutrient solution. *Botanical Gazette*, 110(4), 605–613.
- Zahara, M., Datta, A., Boonkorkaew, Patchareeya., Mishra, A. (2017). The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis* hybrid 'Pink'. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, 1–15.
- Zhang, L.X., Chang, W.C., Wei, Y.J., Liu, L. and Wang, Y.P. (1993). Cryopreservation of *Ginseng* pollen. *HortScience*, 28(7), 742–743.



คณะผู้เขียน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิภาวรรณ จิตโสภาคกุล

สาขาพืชศาสตร์ สิ่งทอ และการออกแบบ

คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

ที่อยู่ 145 ม.15 ถ.สุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมืองสุรินทร์ จ.สุรินทร์ 32000

e-mail: njitsopakul@hotmail.com

นายเชน จีน

นักศึกษาหลักสูตรเทคโนโลยีเกษตร

คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

ที่อยู่ 145 ม.15 ถ.สุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมืองสุรินทร์ จ.สุรินทร์ 32000

e-mail: chhen.ch@rmuti.ac.th