ผลของผงถ่านและวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดชีวิตของต้นกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

Effects of Activated Charcoal and Growing Media on Seedling Growth and Survival Rate of *Aeridesodorata*

ธนวดี พรหมจันทร์[*] สุภาวดี รามสูตร[**] และ ปรีดา บุญเวศน์[***]
Thanawadee Promchan[*], Supawadee Ramasoot[**] and Preeda Bunwest[***]

บทคัดย่อ

เนื่องจากกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด (*Aeridesodorata*) เป็นกล้วยไม้ป่าที่หายากและมีความสวยงามเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว การศึกษานี้จึงทำการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำต้นกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด อายุ 3 เดือน ความสูง 1.5 - 2 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ใส่น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เติมและไม่เติมผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำการวางเลี้ยงในสภาพให้แสง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า อาหารทั้งสองสูตรให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากัน 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาถึงอัตราการเจริญเติบโต พบว่า อาหารสูตร MS ที่ปราศจากผงถ่านให้ความยาวใบเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยสูงกว่าสูตรอาหารที่เติมผงถ่านอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คือ เท่ากับ 2.79 ± 0.29 เซนติเมตรต่อชิ้นส่วน, 5.40 ± 0.10 ใบต่อต้นและ 1.97± 0.15 เซนติเมตรต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่ปลูกในสแฟกนัมมอสให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายปลูกลงดินเป็นเวลา 1 เดือนทั้งนี้ผลการศึกษาที่ได้จะนำไปส่งเสริมให้ผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องกระเป๋าปิดได้ปฏิบัติต่อไป

คำสำคัญ: อาหารสูตร MS, ผงถ่าน, การย้ายปลูก

[*] อาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร

[**] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช Corresponding author e-mail: supawadee.rs@gmail.com

[***] ผู้ช่วยวิจัยสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

Abstracts

Due to the Fragrant Aerides orchids (*Aeridesodorata*) is a rare wild orchids and unique beautiful. So, this study is the Fragrant Aerides propagation by tissue culture. *In vitro* 3-month young plantlet of Fragrant Aerides orchids, which have 1.5-2 cm height, cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented 15% coconut water (CW), 3 % sucrose, solidified with0.8 % agar,and with and without 0.2% activated charcoal (AC). The cultures were maintained at 25 ± 2 ℃ under 3,000 Lux illumination for16-h photoperiod. After culturing for 3 months, both culture medium revealed the highest percentage of survival rate of seedlings at 100 percentages. Considering the growth rate, MS medium without AC gave the better results in average leaf length, average leaf number, and average root length significant difference ($p < 0.05$) with AC containing medium at 2.79 ± 0.29 cm, 5.40 ± 0.10leaf/seedling and 1.97± 0.15cm/explant respectively. Moreover, after transferred complete plantlets to acclimatize in sphagnum moss gave the highest percentage of survival rateat 100 percentages for 1 month. The results of this study will be taken to encourage the growing in Fragrant Aerides orchids at the next practice.

Keywords: MS medium, Activated charcoal, Transplanting

1. บทนำ

เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด (*Aeridesodorata*Lour.) เป็นกล้วยไม้ในสกุลกุหลาบ (Aerides) ที่พบได้ทุกภาคในประเทศไทย เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดมีลักษณะของลำต้นที่ตั้งตรงหรือห้อยลง ยาว 20 เซนติเมตร ใบมีความยาว 15 เซนติเมตร กว้าง 2 เซนติเมตร มีลักษณะค่อนข้างหนาและเหนียว เส้นใบพับเป็นรางตามยาวเรียงตัวซ้อนถี่ ผิวใบแห้ง ส่วนดอกในช่อมีจำนวนค่อนข้างมาก ขนาดดอก 2 -2.5 เซนติเมตร กลีบค่อนข้างอวบ ช่อดอกเอนในแนวระนาบหรือห้อยลงเล็กน้อยและมีความยาวใกล้เคียงกับความยาวของใบ ดอกมีกลิ่นหอมเหมือนกลิ่นดอกกุหลาบ และบานนานประมาณ 1 -2 สัปดาห์ (อบฉันท์ ไทยทอง, 2547) ปัจจุบันกล้วยไม้ชนิดนี้ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากจัดเป็นกล้วยไม้หายากและมีความสวยงามที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว (สุภาวดี และคนอื่นๆ, 2558) การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดสามารถทำได้โดยเพาะเมล็ดและการแยกกอ แต่เมล็ดกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดมีความสามารถในการงอกตามธรรมชาติได้น้อยมากเนื่องจากเมล็ดได้รับความชื้นไม่เพียงพอหรือได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอื่นๆ เช่น อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป รวมถึงเมล็ดมีอาหารสะสมภายในน้อยมากไม่เพียงพอต่อการงอกของเมล็ด (ครรชิต ธรรมศิริ, 2541) ปัจจุบันมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการขยายพันธุ์ และอนุรักษ์พันธุกรรมกล้วยไม้ชนิดนี้ (สุภาวดี และคนอื่นๆ, 2558) โดยไม่ได้เติมผงถ่านและใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน (Pant & Gurung, 2005; Hongthongkham & Bunnag, 2014) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงาน

การศึกษาวัสดุปลูกที่ใช้ในการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด ดังนั้นในการศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของผงถ่านต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดในหลอดทดลอง และวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดหลังจากย้ายออกปลูกในโรงเรือนอนุบาลต้นกล้า ทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลผลิตของต้นที่ดีและสมบูรณ์ ปลูกง่าย ดูแลรักษาง่าย เหมาะแก่การนำไปให้เกษตรกรปลูกเพื่อเสริมรายได้ต่อไป

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีวิจัย

2.1 การเตรียมวัสดุพืช

ใช้ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด อายุ 3 เดือน ความสูง 1.5 - 2 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเท่ากับ 5.5 วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีแสง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

2.2 ศึกษาผลของผงถ่านต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด จาก 2.1 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการเติมผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ และไม่เติมผงถ่าน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเท่ากับ 5.5 ทำการวางเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเดียวกันกับ 2.1 สังเกต และบันทึก ความยาวใบ จำนวนใบ ความยาวราก และจำนวนราก ทุกเดือน เป็นเวลา 3 เดือน เปรียบเทียบกันระหว่างอาหารที่เติม และไม่เติมผงถ่านโดยใช้แต่ละสูตรอาหารทำ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ขวดๆ ละ 1 ต้น ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้สถิติทดสอบ T-test Independent

2.3 ศึกษาผลของวัสดุปลูกต่อการอัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

นำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่มีรากสมบูรณ์ อายุ 1 เดือน ที่ได้จาก 2.2 มาปรับสภาพธรรมชาติ โดยการนำมาวางไว้ในโรงเรือน 7 วัน ก่อนนำออกจากขวด ล้างต้นกล้าให้สะอาด จากนั้นเลือกต้นที่มีความสม่ำเสมอย้ายลงในวัสดุปลูกตามสิ่งทดลองที่จัดไว้จำนวน 7 สิ่งทดลอง คือ กระถางเปล่า, พีคมอส, สแฟกนัมมอส, กาบมะพร้าวสับ, ขุยมะพร้าว, เพอไลท์ และถ่านทุบ ทำการอนุบาลเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเปรียบเทียบกันในแต่ละวัสดุปลูกโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD)แต่ละสิ่งทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 15 ต้น เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลของผงถ่านต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดบนอาหารที่เติมและไม่เติมผงถ่าน 2 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า อาหารทั้งสองสูตร คือ ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากัน คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาอัตราการเจริญเติบโต พบว่ากล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมผงถ่านมีความยาวใบเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 2.79 ± 0.29 เซนติเมตร 5.40± 0.1

ใบต่อต้นและ 1.97± 0.15 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับอาหารที่เติมผงถ่าน (ตารางที่1) นอกจากนี้พบว่า กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่เพาะเลี้ยงในอาหารไม่เติมผงถ่าน มีใบหนา อวบ ใบมีสีเขียวสด มีการสร้างยอดและรากมากกว่าอาหารที่เติมผงถ่าน รากที่ชักนำได้มีความยาวและแข็งแรง ในขณะที่กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเติมผงถ่าน มีลักษณะยอดสีเหลือง รากสั้น และไม่มีการสร้างยอดเพิ่ม (ภาพที่ 1)

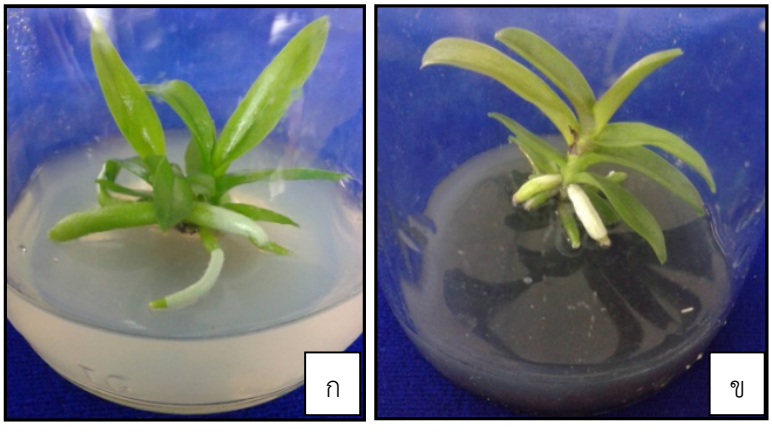
ตารางที่ 1 ผลของผงถ่านต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

สูตรอาหาร	ความยาวใบเฉลี่ย (เซนติเมตร)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบต่อต้น)	ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร)	จำนวนรากเฉลี่ย (รากต่อต้น)
MS + 15% CW + 3% sucrose + 0.2%AC	2.55±0.15[b]	3.93±0.21[b]	1.77±0.03[b]	2.97±0.47
MS + 15% CW + 3% sucrose	2.79±0.29[a]	5.4±0.1[a]	1.97±0.15[a]	3.33±1.07
C.V. (%)	**8.78**	**3.50**	**5.64**	**26.24**

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$

* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$

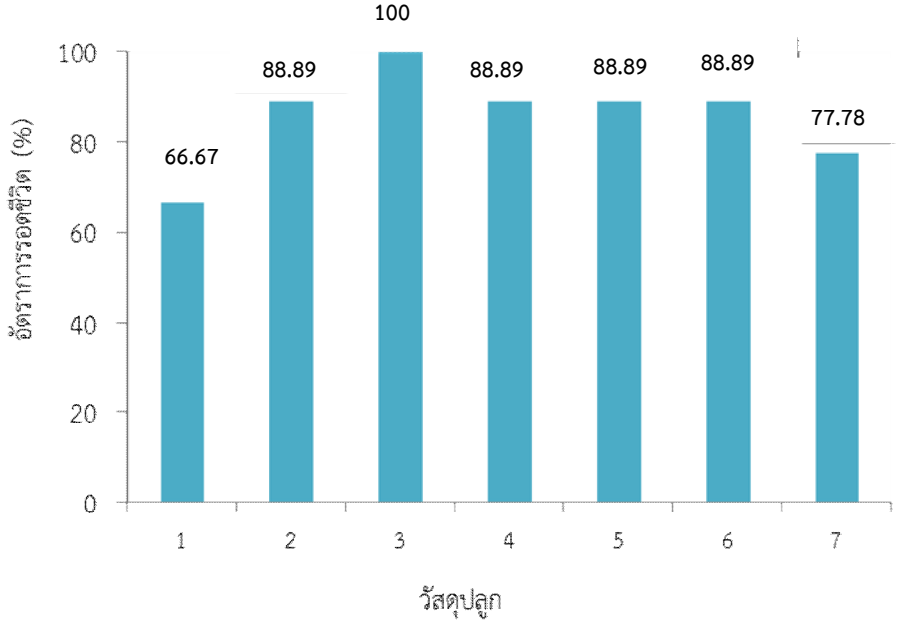
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ($p < 0.05$)



ภาพที่ 1 ต้นกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมและไม่เติมผงถ่านเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)
ก. MS+15%CW+ 2% sucrose + 0.8% Agar
ข. MS+15%CW+ 2% sucrose + 0.8% Agar + 0.2%AC

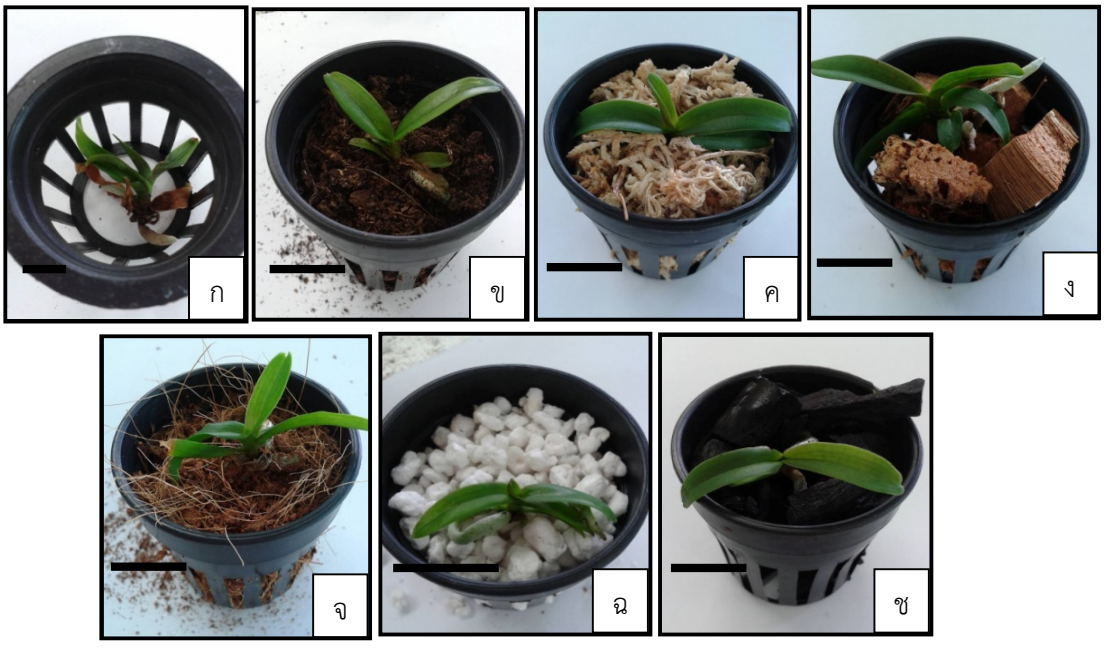
3.2 ผลของวัสดุปลูกอัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

หลังจากปลูกเลี้ยงต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดในวัสดุปลูกต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่ปลูกเลี้ยงในสแฟกนัมมอสให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ พีทมอส, กาบมะพร้าวสับ, ขุยมะพร้าว และ เพอร์ไลท์ มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากัน 88.89 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้วัสดุปลูกที่เป็นถ่านทุบให้อัตราการรอดชีวิต 77.78 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการปลูกด้วยกระถางเปล่าไม่เติมวัสดุปลูกให้อัตราการรอดชีวิตเพียง 66.67 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2) นอกจากนี้พบว่า กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่ปลูกในสแฟกนัมมอสมีการเจริญเติบโตของรากดีที่สุด ใบมีสีเขียวเข้ม อวบหนา มีการเจริญเติบโตของต้นดีกว่าวัสดุปลูกอื่น ๆ ในขณะที่การปลูกในกระถางเปล่าๆ ต้นกล้วยไม้จะเหี่ยวและเจริญเติบโตช้า ส่วนในวัสดุปลูกอื่น ๆ การเจริญเติบโตของใบและรากเกิดขึ้นอย่างช้าๆ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 2 อัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด หลังย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน

1 = ไม่ใส่ 2 = พีทมอส 3 = สแฟกนัมมอส 4 = กาบมะพร้าวสับ
5 = ขุยมะพร้าว 6 = เพอไลท์ 7 = ถ่านทุบ



ภาพที่ 3 ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่ปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกต่างๆ หลังออกปลูกเป็นเวลา 1 เดือน(บาร์ = 2 เซนติเมตร)
ก = กระถาง ข = พีทมอส ค = สแฟกนัมมอส ง = กาบมะพร้าวสับ
จ = ขุยมะพร้าว ฉ = เพอไลท์ ช = ถ่านทุบ

4. การวิจารณ์และสรุปผล

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการเติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมความยาวใบเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด สอดคล้องกับ Tivarekar และ Eapen (Tivarekar & Eapen, 2001) ที่พบว่า การเติมผงถ่าน 0.5 กรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร MS ยับยั้งการเจริญเติบโตของตายอด ของต้นถั่วเขียว การเติมผงถ่าน 0.01 กรัมต่อลิตรในอาหารสูตร MS ส่งผลให้น้ำหนักสดและปริมาณ rhizome ของ Cymbidium forrestii เพิ่มมากขึ้น แต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของยอด (Paek & Yeung, 1991) และผงถ่านยับยั้งการพัฒนาของแคลลัสของต้นกกธูปฤาษี (*Typha latifolia* L. (Broadleaf cattail)) (Nandakumar, Chen & Rogers, 2005) ในขณะที่ Tawaro, Suraninpong และChanpreme (Tawaro, Suraninpong & Chanpreme, 2008) พบว่า ผงถ่านส่งเสริมประสิทธิภาพการงอกของเมล็ดและการพัฒนา protocol ของกล้วยไม้กะเรกะร่อนปากเป็ด (*C. finlaysonianum*) ทั้งนี้เนื่องจากผงถ่านที่ใส่ในอาหารเพาะเนื้อเยื่อพืช อาจจะส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชได้ ขึ้นอยู่กับชนิดและเนื้อเยื่อที่ใช้ อย่างไรก็ตามผงถ่านนิยมใส่ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อสร้างสภาพมืด ดูดซับสารที่ไม่พึงประสงค์หรือสารยับยั้งต่างๆ รวมถึงสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือสารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Pan & J. van Staden, 1998)

สำหรับผลของวัสดุปลูกต่ออัตราการรอดชีวิตพบว่า ต้นกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่ปลูกเลี้ยงในสแฟกนัมมอสให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Kauth, Vendrame และ Kane (Kauth, Vendrame & Kane, 2006) ที่พบว่า ต้นกล้าของ *Calopogon tuberosus* ที่ปลูกในสแฟกนัมมอส ให้จำนวนใบเฉลี่ย ความยาวใบ ความยาวราก และน้ำหนักแห้งมากที่สุด เมื่อเทียบกับเวอร์มิคูไลต์ พีทมอสผสมทราย และ Fafard mix โดยกุลชลี บุญทา (กุลชลี บุญทา, 2548) รายงานว่า สแฟกนัมมอสมีสมบัติที่ดี คือ น้ำหนักเบา รากกล้วยไม้สามารถยึดเกาะได้ดีมีช่องว่างระบายน้ำ อากาศ ออกซิเจนหมุนเวียนได้ดี ไม่ดูดซับเกลือจากปุ๋ย มีความสามารถดูดน้ำได้ถึง 20 เท่าตัว การระบายน้ำสม่ำเสมอ รากพืชเจริญเติบโตแผ่กระจายได้ดี เช่นเดียวกับ Aubé, Quenum และ Ranasinghe (Aubé, Quenum & Ranasinghe, 2015) ได้ทดสอบการสลายตัวและการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของสแฟกนัมมอส หลังจาก 6 สัปดาห์ พบว่า สแฟกนัมมอสย่อยสลายได้ดี และมีประสิทธิภาพในการนำมาเป็นวัสดุปลูกได้ดีกว่าเพอไลท์และเวอร์มิคูไลต์ ซึ่งต้นอ่อนกล้วยไม้หลายชนิดมีการนำสแฟกนัมมอสมาใช้ในการปรับสภาพต้นกล้าก่อนออกปลูก เช่น *Calanthe tricarinata* Lindl. (Godo*, et al*., 2010) *Paphiopedilum* (Liao, *et al*., 2011) *Dendrobium huoshanense* (Lee & Chen, 2014) *Phalaenopsis* (Chen, Tang & Kao, 2009) และ *Cymbidium* (Norikane, *et al*., 2010) เป็นต้น หรือร่วมกับวัสดุอื่นๆ เช่น ฮิวมัสและเพอร์ไลต์ (Medina, *et al*., 2009) กาบมะพร้าวสับ (Winarto & da Silva, J.A.T., 2015) ถ่านทุบ เศษอิฐและเปลือกไม้ (Verma, Bhatti & Sembi, 2015) และเปลือกสน เพอร์ไลต์ และเวอร์มิคูไลต์ (Halloran & Adelberg, 2015) เป็นต้น

ดังนั้นก่อนย้ายกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดออกปลูกในสภาพธรรมชาติควรวางเลี้ยงต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพที่ปราศจากผงถ่านเป็นเวลา 3 เดือน ก่อนย้ายไปปลูกในสแฟกนัมมอส เป็นเวลา 1 เดือน ซึ่งจะทำให้ต้นกล้าที่ได้มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช (อพ.สธ.– มรภ.นครศรีธรรมราช)

6. เอกสารอ้างอิง

กุลชลี บุญทา. (2548). **ไม้กระถาง (Potted plants).** ลำปาง : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาจังหวัดลำปาง.

ครรชิต ธรรมศิริ. (2541). **เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้.** กรุงเทพมหานคร: อัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

สุภาวดี รามสูตร และคนอื่นๆ. (2558). ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดในหลอดทดลอง. **ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์,** 2(4), 11-14**.**

อบฉันท์ ไทยทอง. (2547). **กล้วยไม้เมืองไทย.** กรุงเทพมหานคร: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

Aubé, M.; Quenum,M. & Ranasinghe, L.L. (2015). Characteristics of Eastern Canadian cultivated sphagnum and potential use as a substitute for perlite and vermiculite in peat-based horticultural substrates. **Mires and Peat**, 16, 1–18.

Chen, W.H.; Tang, C.Y. & Kao, Y.L., (2009). Ploidy doubling by *in vitro* culture of excised protocorms or protocorm-like bodies in *Phalaenopsis* species. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, 98, 229–238.

Godo, T.; Komori, M.; Nakaoki, E.; Yukawa, T. & Miyoshi, K. (2010). Germination of mature seeds of *Calanthe tricarinata* Lindl., an endangered terrestrial orchid, by asymbiotic culture *in vitro*. ***In Vitro* Cell.Dev.Biol.—Plant**, 46, 323–328.

Halloran, S.M. & Adelberg, J. (2011). A macronutrient optimization platform for micropropagation and acclimatization: using turmeric (*Curcuma longa* L.) as a model plant**.** ***In Vitro* Cell. Dev. Biol.—Plant**, 47, 257–273.

Hongthongkham, J. & Bunnag, S., (2014). In vitro Propagation and Cryopreservation of Aerides odorata Lour. (Orchidaceae). **Pakistan Journal of Biological Science**, 17(5), 608-618.

Huong, L.T.L.; Baiocco, M.; Huy, B.P.; Mezzetti, B.; Santilocchi, R. & Rosati, P. (1999). Somatic embryogenesis in Canary Island date palm. **Plant Cell Tiss. Organ Cult,** 56, 1–7.

Kauth, P.J.; Vendrame, W.A. & Kane, M.E. (2006). *In vitro* seed culture and seedling development of *Calopogon tuberosus*. **Plant Cell Tiss. Organ Cult**, 85, 91–102.

Lee, P.L. & Chen, J.T., (2014). Plant regeneration via callus culture and subsequent *in vitro* flowering of *Dendrobium huoshanense*. **Acta Physiol Plant**, 36, 2619–2625.

Liao, Y.J.; Tsai, Y.C.; Sun, Y.W.; Lin, R.S. & Wu, F.S. (2011). *In vitro* shoot induction and plant regeneration from flower buds in *Paphiopedilum* orchids. **In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant**, 47, 702–709.

Medina, R.D.; Flachsland, E.A.; Gonzalez, A.M.; Terada, G.; Faloci, M.M. & Mroginski, L.A. (2009). In vitro tuberization and plant regeneration from multinodal segment culture of *Habenaria bractescens* Lindl., an Argentinean wetland orchid. **Plant Cell Tiss. Organ Cult,** 97, 91–101.

Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum,** 15, 45-47.

Nandakumar, R.; Chen, L. & Rogers, S.M.D. (2005). Factors affecting the agrobacterium-mediaed transient transformation of the wetland monocot, *Typha latifolia*. **Plant Cell Tissue culture,** 79, 31-38.

Norikane, A.; Takamura, T.; Morokuma, M. & Tanaka, M. (2010). *In vitro* growth and single-leaf photosynthetic response of *Cymbidium* plantlets to super-elevated CO_2 under cold cathode fluorescent lamps. **Plant Cell Rep**, 29, 273–283.

Paek, K.Y. & Yeung,E.C. (1991).The effects of 1-naphthaleneacetic acid and N^6-benzyladenine on the growth of Cymbidium forrestii rhizomes in vitro**. Plant Cell Tiss. Organ Cult.**, 24(2), 65–71.

Pan, M.J. & van Staden, J. (1998). The use of charcoal in *in vitro* culture – A review. **Plant Growth Regulation**, 26, 155–163.

Pant, B. & Gurung, R. (2005). *In vitro* seed germination and seedling development in *Aerides odorata* Lour. **The Journal of the Orchid Society of India,** 19(1-2), 51-55.

Tawaro, S.; Suraninpong, P. & Chanpreme, S. (2008). Germination and regeneration of *Cymbidium findlaysonianum* Lindl. on a medium supplemented with some organic sources. **Walailak J Sci & Tech**, 5(2), 125-135.

Tivarekar, S. & Eapen, S. (2001). High frequency plant regeneration from immature cotyledons of mungbean. **Plant Cell Tiss. Organ Cult**, 66, 227–230.

Van, O.J.; M.E. Conklin & A.F. Blakeslee. (1941). Factors in coconut milk essential for growth of development of very young *Datura*embryo. **Science**, 94, 350-351.

Verma, J.; Bhatti, S.K. & Sembi, J.K. (2015). Asymbiotic germination of immature seeds in an ornamentally important 'Fox-tail' orchid, *Aerides multiflora* Roxb. **Indian Jounal**, 28 (4), 162-168.

Winarto, B. & da Silva, J.A.T. (2015). Use of coconut water and fertilizer for in vitro proliferation and plantlet production of *Dendrobium* 'Gradita 31'. **In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant**, 51, 303–314.