

ระดับแผนงานวิจัยย่อย



รายงานแผนงานวิจัยย่อย

การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้

Research and Development Project of Orchids

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

นายอำนาจ อรรถลิ่งรอง

Mr. Amnuai Adthalungrong

ปี พ.ศ. (2564)



รายงานแผนงานวิจัยย่อย

การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้

Research and Development Project of Orchids

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

นายอำนาจ อรรถลั้งรอง

Mr. Amnuai Adthalungrong

ปี พ.ศ. (2564)

## คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

กล้วยไม้เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรและมีการส่งออกจำนวนมากจนเป็นผู้นำการส่งออกในตลาดโลกในกลุ่มกล้วยไม้เขตร้อน โดยบางส่วนมีการผลิตในเชิงอุตสาหกรรม เช่น กล้วยไม้ตัดดอก หรือมีแนวโน้มการเติบโตมุ่งไปสู่ภาคอุตสาหกรรม เช่น กล้วยไม้สมุนไพรมีการผลิตส่วนขยายพันธุ์ต่างๆ จึงมีความต้องการเทคโนโลยีและนวัตกรรม ด้านต่างๆที่สามารถเพิ่มปริมาณและมูลค่าของผลผลิต ซึ่งสอดคล้องกับยุทธศาสตร์ชาติด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน ซึ่งให้ความสำคัญกับการผลิตในเชิงคุณภาพและมูลค่า ตลอดจนความหลากหลายของสินค้าเกษตร เพื่อรักษาฐานรายได้เดิมและสร้างฐานอนาคตใหม่

ในปี 2560 ตลาดส่งออกดอกกล้วยไม้ของไทยมีมูลค่า 2,228.29 ล้านบาท ตลาดที่สำคัญ คือ ญี่ปุ่น อเมริกา อิตาลี และ จีน นอกจากนี้ยังมีการส่งออกต้นกล้วยไม้ ส่วนขยายพันธุ์ และอื่นๆมูลค่ารวมประมาณ 500-600 ล้านบาทต่อปี (กรมศุลกากร, 2561) การส่งออกมุ่งเน้นไปที่กล้วยไม้ในสกุลหวายเพียงชนิดเดียวและขาดความหลากหลายของพันธุ์ และไม่มีการพัฒนากล้วยไม้ตัดดอกชนิดอื่นๆเพื่อสร้างตลาดใหม่อย่างเป็นระบบ ตลอดจนปัญหาด้านคุณภาพของดอกกล้วยไม้ การกีดกันด้วยมาตรฐานสุขอนามัยผู้บริโภคและสุขอนามัยพืช ทำให้มีอัตราการเติบโตลดลง ในระยะที่ผ่านมา ภาครัฐให้ความสำคัญจัดทำยุทธศาสตร์เฉพาะพืชเพื่อผลักดันให้เพิ่มปริมาณและมูลค่าในการส่งออก

สถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์วิจัยเครือข่ายมีการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้หลายสกุล เช่น สกุลหวาย สกุลแวนด้า สกุลสแปโทกลอททิส สกุลรองเท้านารี สกุลซิมบิเดียม สกุลลิ้นมังกร และสกุลอื่นๆ โดยวิจัยในด้านการปรับปรุงพันธุ์ การขยายพันธุ์ และเทคโนโลยีการผลิตอย่างเป็นระบบ เพื่อรองรับการพัฒนาคุณภาพและมูลค่าของกล้วยไม้ในตลาดเดิม ตลอดจนการพัฒนากล้วยไม้ตัดดอกและกล้วยไม้ประดับชนิดใหม่ เพื่อขยายฐานตลาดการส่งออกและสร้างตลาดใหม่ หรือทดแทนการนำเข้ากล้วยไม้ชนิดต่างๆของตลาดภายในประเทศ ตลอดจนการเพิ่มมูลค่าผลผลิตด้วยการกระตุ้นให้กล้วยไม้บางชนิด/พันธุ์สร้างसारออกฤทธิ์ที่สำคัญทางเภสัชวิทยา ทั้งหมดดังกล่าวจำเป็นต้องวิจัยพัฒนาอย่างต่อเนื่องภายใต้ แผนงานย่อยการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ ซึ่งสอดคล้องกับยุทธศาสตร์ชาติด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน และแผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ พ.ศ. 2560-2564

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
คณะผู้วิจัย	2
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	4
บทนำ	5
บทคัดย่อ	7
1. โครงการที่ 1 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2	9
2. โครงการที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า	20
3. โครงการที่ 3 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2	40
4. โครงการที่ 4 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้คัทยภาพอื่นๆ	58
5. โครงการที่ 5 วิจัยและพัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลด ความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมเพื่อการส่งออก	71
6. โครงการที่ 6 การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญทางสมุนไพรในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย	87
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	102
เอกสารอ้างอิง	104

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะผู้ร่วมงานและเจ้าหน้าที่ของสถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์เครือข่ายต่างจังหวัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรมและศูนย์เครือข่าย ศูนย์วิจัยพืชไร่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัย และหน่วยงานอื่นๆ ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี และขอขอบคุณเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ สำหรับการอำนวยความสะดวกในเรื่องของสถานที่ทดสอบและข้อเสนอแนะต่างๆ ตลอดจนความสนใจในการนำไปใช้งานจริงต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

## คณะผู้วิจัย

- โครงการที่ 1 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2**
- |                              |                                     |
|------------------------------|-------------------------------------|
| อำนาจ อรรถถังรอง             | สถาบันวิจัยพืชสวน                   |
| สุภาภรณ์ สาชาติ              | สถาบันวิจัยพืชสวน                   |
| ยุพิน กสินเกษมพงษ์           | สถาบันวิจัยพืชสวน                   |
| อัมพิกา ปุณนจิต              | สถาบันวิจัยพืชสวน                   |
| ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล     | ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น             |
| ศรีจันทรรจ ศรีจันทร์         | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช        |
| พฤทธิชาติ ปุญวัฒน์           | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช        |
| สุชาดา สุพรศิลป์             | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช        |
| สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช        |
| ยรรยง พันธุ์พุกภัย           | ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร |
- โครงการที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า**
- |                          |                                  |
|--------------------------|----------------------------------|
| สุปัน ไม้ตัดจันทร์       | ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย         |
| ฉัตรันภา ช่มอาวุธ        | ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่     |
| วาสนา สุภาพรหม           | ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร |
| ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล | ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น          |
- โครงการที่ 3 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2**
- |                    |                                     |
|--------------------|-------------------------------------|
| สุภาภรณ์ สาชาติ    | สถาบันวิจัยพืชสวน                   |
| อำนาจ อรรถถังรอง   | สถาบันวิจัยพืชสวน                   |
| อรุณี ใจเถิง       | ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย            |
| สุปัน ไม้ตัดจันทร์ | ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย            |
| ปิยะนุช มุสิกพงศ์  | ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง                |
| นาราณ์ โชติอิมอุดม | ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่        |
| เพ็ญลักษณ์ ชูดี    | ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี |

#### โครงการที่ 4 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ

อำนาจ อรรถถาวร	สถาบันวิจัยพืชสวน
สุภาภรณ์ สาชาติ	สถาบันวิจัยพืชสวน
พรอนันต์ แข็งขันธ์	ศูนย์วิจัยพืชสวนเลย
ศิรากานต์ ขยันการ	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
สุปิ่น ไม้ตัดจันทร์	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
วัชรพล บำเพ็ญอยู่	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
วาสนา สุภาพรหม	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
มะนิต สารุณา	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม
ชำนาญ กสิบาล	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม
มณฑิรา ภูติวรรณ	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
รณรงค์ คนชม	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
สุทธินี เจริญคิด	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
ยรรยง พันธุ์พฤษชัย	ศูนย์สารสนเทศ
พัฒน์ ทวีโชค	มหาวิทยาลัยมหิดล

#### โครงการที่ 5 วิจัยและพัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมเพื่อการส่งออก

พุทธอินันท์ จารูวัฒน์	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี
ศุภวรรณ ภามมาตย์	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี
บัณฑิต จิตรจำนงค์	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี
อนุสรณ์ สุวรรณเวียง	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี
ธนาวัฒน์ ทิพย์ชิต	ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี
ตฤณสิษฐ์ ไกรสินบุรศักดิ์	สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม
อนุชา เชาวโชติ	สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม
อาธร พรบุญ	สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม
นิรุต บุญญา	สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม
อุทัย ธานี	สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม
วัชรวิทย์ วิทยวรรณกุล	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## โครงการที่ 6 การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญทางสมุนไพรในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย

ภุมรินทร์ วณิชชานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
อัจฉราพรรณ ใจเจริญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
อรุณทัย ชาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ศศิมา เมืองแก้ว	สถาบันวิจัยพืชสวน
ไพฑูรย์ บุปผาดา	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอำนาจเจริญ
ดวงพร บุญชัย	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
กฤตยา เพชรผึ้ง	ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
	สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม	ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
	สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
วิภาดา ศิริอนุสรณ์ศักดิ์	ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
	สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
ศรีเมฆ ขาวโพพงพาง	สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

### คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

PPM	= Plant Preservation Mixture <sup>TM</sup> (Biognuix)
BRT	= Biodiversity Research and Training Program
LED	= Light Emitting Diode
BA	= 6-Benzylaminopurine
VW	= Vacin and Went
SSR	= Simple Sequence Repeat
SNP	= Single Nucleotide Polymorphism
In/Del	= Insertion/Deletion



## บทนำ

### ความสำคัญและที่มาของแผนงานวิจัยย่อย

กล้วยไม้เป็นไม้พืชมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ ในปี 2556 ประเทศไทยมีการส่งออกดอกกล้วยไม้สดปริมาณ 22,605 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 2,008 ล้านบาท ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน สหภาพยุโรปและสหรัฐอเมริกา เป็นต้น (กล้วยไม้จึงเป็นพืชยุทธศาสตร์ที่เป็นนโยบายของภาครัฐ ในการผลักดันให้มีการเพิ่มปริมาณ และมูลค่าในการส่งออก กล้วยไม้ชนิดต่างๆที่มีความสำคัญและมีการปลูกเป็นการค้าของประเทศไทยมีหลากหลายชนิด เช่นกล้วยไม้สกุลหวาย รองเท้านารี สปาโตกรอสติส ซิมปีเดียม แวนด้า เป็นต้น

กล้วยไม้สกุลหวายเป็นไม้ตัดดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แต่ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกลดลงจากปัญหาอุทกภัยในช่วงปี 2554 ทำให้มูลค่าการส่งออกลดลง จาก 2,305 ล้านบาท และ 2,094 ล้านบาท และ ในปี 2552 และ 2554 ด้านการปรับปรุงพันธุ์ บุญมีและคณะ (2541) คัดเลือกพันธุ์ลูกผสมสกุลหวายชุด DA ได้ดีเด่น 10 สายต้นเป็นกล้วยไม้ลูกผสมของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมกับกล้วยไม้สกุลหวายแท้ต่างประเทศ มีลักษณะการเจริญเติบโตและการออกดอกที่ดีกว่าพ่อแม่พันธุ์ ส่วนสุภาพและคณะ(2556) ได้ถ่ายยีน ACC oxidase เข้าไปในโปรโตคอร์มและต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องสกุลเพื่อยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้ ขณะนี้ได้ต้นที่มียีนดังกล่าวและอยู่ในระหว่างการศึกษาพัฒนา นอกจากนี้กล้วยไม้สกุลหวายยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สามารถนำไปต่อยอดและสร้างมูลค่าให้สูงขึ้น

กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*) ได้รับความนิยมและมีแนวโน้มความต้องการที่เพิ่มมากขึ้นในวงการอุตสาหกรรมกล้วยไม้ เนื่องจากความหลากหลายของรูปร่าง ขนาด และสีสัน (Cribb, 1998; Hong และคณะ, 2008; Huang และคณะ, 2001; Ng และ Saleh, 2011) เช่น รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (*P. gratixianum* (Mast.) Guilloum.) มีการกระจายพันธุ์ในไทย ลาว และเวียดนาม เจริญเติบโตแบบพืชอาศัยบนดิน เจริญเป็นกลุ่ม ชอบอากาศเย็น ปลูกเลี้ยงและออกดอกง่ายในภาคเหนือ ถ้าเจริญเติบโตภายใต้แสงรำไรดอกจะบานได้นานหลายวัน (สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์, 2543; อุไร, 2549)

ตำแน่งสำคัญทางสมุนไพรของกล้วยไม้ ชาวจีนนำกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) มากกว่า 50 ชนิด (species) มาใช้เป็นส่วนประกอบในตำรายาสมุนไพร เช่น *D. officinale*, *D. loddigesii*, *D. fimbriatum*, *D. chrysanthum*, *D. candidum* และ *D. nobile* เป็นต้น (Teoh, 2016) ซึ่งสรรพคุณมีหลากหลาย เช่น การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย ต้านทานมะเร็ง เสริมสร้างการมองเห็น ลดระดับน้ำตาลในเลือด ส่งเสริมการหลั่งอินซูลินและเพิ่มความไวของอินซูลินใน ลดความเครียด เป็นยาชูกำลัง ถูกนำมาเป็นยาเพื่อบรรเทาโรคกระเพาะอาหาร, ไข้, อักเสบ, ปวดและโรคลมชัก นอกจากนี้ยังใช้ในการรักษา โรคไขข้อ, เหนือที่มากเกินไป, ความอ่อนแอทางร่างกายที่นำมา เกี่ยวกับความกระหาย การตกขาวช่องคลอดและอาการปวดประจำเดือน (Hew and Yong, 2006) โดยส่วนใหญ่ใช้ลำต้นแห้งที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ชงน้ำร้อนแบบชา (Bulpitt et al., 2007) จากการศึกษาของ Chen et al. (2012) พบสาร naringenin, DDB-2, gigantol และ moscatilin มากในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* เช่นเดียวกับ Kowitdamrong et al. (2013) ที่พบ moscatilin ในเอื้องช้างน้ำ (*Dendrobium pulchellum*) ซึ่งเป็นสารที่สามารถยับยั้งการย้ายถิ่นและการบุกรุกของเซลล์ H23 ของเซลล์ปอดได้ โดยการชักนำให้กล้วยไม้ผลิตสารสำคัญเกิดจากปัจจัยภายนอกได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำ และธาตุอาหาร (Akula et al., 2011)

### วัตถุประสงค์

1. ปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ให้ได้กล้วยไม้ที่ตอบสนองต่อตลาดและผู้บริโภค หรือมีคุณสมบัติเฉพาะด้าน เช่น ยืดอายุการบานของดอก มีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญทางเภสัชวิทยาสูง เป็นต้น
2. พัฒนาเทคโนโลยีการผลิต การขยายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในเชิงพาณิชย์ เช่น การเขตกรรม การผลิตนอกฤดูการผลิต ให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพ
3. อนุรักษ์และจัดการเชื้อพันธุกรรมพืช เพื่อความยั่งยืนและใช้ประโยชน์ในอนาคต

กรมวิชาการเกษตร

## บทคัดย่อ

แผนงานวิจัยย่อยกล้วยไม้ ดำเนินการวิจัยในกล้วยไม้ 8 สกุล ได้แก่ หวาย แวนด้า รองเท้านารี ลีนมังกร ชิมปีเดียม สปาโทกลอสทิส สิงโตกลอกตา ม็อคคาร่า ระหว่างปี 2559-2564 ในด้านปรับปรุงพันธุ์พืชหรือเทคโนโลยีการผลิต โดยมีความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์แตกต่างกัน เกือบทั้งหมดอยู่ในขั้นตอนการสร้างลูกผสมหรือปลูกเลี้ยงลูกผสม เพื่อรอการประเมินคัดเลือกต่อไป รวมทั้งการศึกษาข้อมูลพื้นฐานด้านการปรับปรุงพันธุ์ แต่สกุลสปาโทกลอสทิสคัดเลือกสายต้นดีเด่นที่จะเสนอเป็นพันธุ์แนะนำได้น้อย 2 สายต้น ส่วนสกุลม็อคคาร่าพบว่า ม็อคคาร่าหมูทอง (พันธุ์การค้า) เหมาะสำหรับปลูกเป็นการค้าในเขตภาคเหนือตอนบน การขยายพันธุ์พืชและการผลิตพืช พบว่า กล้วยไม้แต่ละพันธุ์/ชนิด ตอบสนองต่ออาหารสังเคราะห์ ฮอร์โมน และสารเคมีบางชนิด สำหรับการเพาะเมล็ด เพิ่มจำนวนหน่อ ชักนาราก กระตุ้นให้เกิดสารสำคัญแตกต่างกัน เช่น การขยายพันธุ์กล้วยไม้หวายเหลือง จันบูรและหวายตะมอยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้อาหาร MS ร่วมกับ BA 5 มก./ล. และ NAA 0.5 มก./ล. ในการเพิ่มจำนวนหน่อและชักนำให้เกิดรากตามลำดับ ขณะที่การกระตุ้นให้กล้วยไม้หวายพันธุ์ขาว 5N สร้างสาร moscatilin ควรเลี้ยงในแสง LED สีน้ำเงิน โดยใช้อาหาร VW ที่เพิ่ม BA 2 มก./ล. หรือ PEG 10% ส่วนการควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์สามารถใช้ PPM ในอาหารเพาะเลี้ยง และพอกฆ่าเชื้อฝัก/ชิ้นส่วนของพืชด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์หรือแอลกอฮอล์ เป็นต้น สำหรับวัสดุปลูกและการจัดการที่เหมาะสมมีความแตกต่างกันตามชนิดของกล้วยไม้ เช่น ลีนมังกรใช้วัสดุผสมพีทมอส : กรวดหยาบ อัตรา 2:1 และให้ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 1 ก./น้ำ 1 ลิตร ทุกสัปดาห์ สปาโทกลอสทิสใช้วัสดุกระบะพร้าวสับ:ปุ๋ยคอก อัตรา 2 : 1 ส่วน และให้ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 0.1 ก./น้ำ 1 ลิตร ปริมาณ 300 มล./กระถางทุกสัปดาห์ ส่วนสิงโตกลอกตาใช้ถ่านปูหน้าด้วยสแฟกนัมมอส เป็นต้น ขณะที่เครื่องลดความชื้นและชุดตรวจสอบชอกกล้วยไม้ที่พัฒนาขึ้นทำงานเป็นที่พึงพอใจของบริษัทที่ร่วมทดสอบ ลดความชื้นชอกกล้วยไม้ได้ 800-1,600 ช่อ/ชม. โดยผ่านมาตรฐานมากถึง 94-96 % ด้วยค่าใช้จ่ายเพียง 0.23 บาท/ช่อ ลดต้นทุนลง 56 % มีการพัฒนาต้นแบบชุดตรวจสอบตรวจสอบสาร moscatilin ด้วยดีเอ็นเอแอปตาเมอร์โคลน MosH4 และ MosH8 รวมทั้งวิธีการคัดเลือก/จำแนกพันธุ์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ขณะที่การบริหารจัดการศัตรูบัวและเพลี้ยไฟในกล้วยไม้หวาย พบว่าการเกิดฝนตก ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับการระบาดของบัวกล้วยไม้ สร้างแบบจำลองการระบาดที่มีความแม่นยำในการทำนาย 72.34-82.97 % ได้ 3 รูปแบบ การใช้เครื่องพ่นหมอกมีประสิทธิภาพและลดต้นทุนมากกว่าเครื่องพ่นน้ำแรงดันสูง สำหรับการใส่สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ตามคำแนะนำในฉลาก โดยสามารถใช้ได้ทั้งสารเดี่ยว สารผสมสำเร็จรูป หรือสารผสมจากสารเดี่ยว 2 ชนิดที่มีคุณสมบัติเหมือนหรือต่างกัน เช่น บัวใช้ thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7 %EC อัตรา 30 มล. หรือ imidacloprid 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC อัตรา 5 ก.+40 มล. เพลี้ยไฟใช้ spinetoram 12% SC อัตรา 10 มล. emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มล. หรือ fipronil 5% SC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. หรือใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอื่น ๆ พร้อมกัน โดยยังคงประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ดี และควรใช้สารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟสลับหมุนเวียนเป็น spinetoram 12 % SC 1 ครั้ง ตามด้วย abamectin 1.8 % EC 3 ครั้ง และ fipronil 5% SC 2 ครั้ง เป็นต้น

## Abstract

Research and Development Project of Orchids was conducted on eight genera of orchids: *Dendrobium*, *Vanda*, *Paphiopedilum*, *Habenaria*, *Cymbidium*, *Spathoglottis*, *Bulbophyllum*, and *Mokara* in terms of plant breeding or production technology during 2016-2021. There were different progress in breeding programs; almost all were in the process of creating the selection population or growing the progenies for further selection assessment, as well as the study of basic information on breeding. The genus of *Spathoglottis* had success in two outstanding promising clones. They will be resisted as a recommended variety. The genus of *Mokara* found that Moue Thong commercial varieties was suitable for growing in the Upper North Region. For plant propagation and crops production found, orchid varieties/species responded to specific growing media, hormones and some chemicals for seed sowing, shoots/root multiplication, and induced some substances. In *Den. Friedericksianum* and *Den. Crumenatum* used MS media added with BA 5 mg/l and NAA 0.5 mg/l for multiply shoot and root respectively. While the blue LED lighting, VW media added with BA 2 mg/l or PEG 10% was suitable for induce moscatilin in *Dendrobium* Kaow 5N variety. To avoid the microbial contamination could be use PPM or sterilization of seed capsule/plant tissue with sodium hypochlorite or alcohol. The suitable planting materials and management also depended on species of orchids. Peat moss : small gravel ratio 1:1 and apply 20 : 10 : 25 fertilize (1 g/1 l) once a week was suitability for *Habenaria*. Small pieces of coconut shell : manure ratio 2:1 and apply 20 : 10 : 25 fertilize (0.1 g/1 l) 300 ml/pot once a week was suitability for *Spathoglottis*. Charcoal covered with sphagnum moss was suitability for *Bulbophyllum*. While the wind tunnel type moisture removal machine and detecting set had been satisfactorily by testing company. The machine had capacity 800-1,600 inflorescence/hr., which meted 94-96% export standard. Its cost was only 0.23 baht/ inflorescence, reduction of 56%. A prototype of moscatilin testing kit was developed by MOSH4 and MosH8 DNA aptamers, as well as a method of selection/classification with SSR molecular markers. The *Dendrobium* orchid protection found rainfall, relative humidity and temperature relative to the spread of orchid midge, which had use to develop the three models for outbreak prediction (accuracy 72.34-82.97 %). The fog sprayer was effectively and reducing costs more than high-pressure water sprayers. The pesticides should use according to the label instructions and some pesticides could be mix together. Orchid midge had been control with thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7 %EC at the rate of 30 ml or imidacloprid 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC rate 5 g+40 ml. Thrips had been control with spinetoram 12% SC rate 10 ml emamectin benzoate 1.92% EC rate 20 ml or fipronil 5% SC rate 30 ml/20 ml water or mix some pesticides, which remained the chemecal efficiency. The suitability of insecticide rotation for control thrips was spinetoram 12 % SC 1 time, followed by abamectin 1.8 % EC 3 times and fipronil 5% SC twice.

## โครงการวิจัยที่ 1

### โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2

#### Research and Development Project of Dendrobium for Export Phase 2

อำนวยการ วรรณรัตน์<sup>1/</sup> สุภาภรณ์ สาขาชาติ<sup>1/</sup> ยูพิน กสินเกษมพงษ์<sup>1/</sup> อัมพิกา ปูนนจิต<sup>1/</sup> ศุจิรัตน์ สวงนรังศิริกุล<sup>2/</sup>  
 ศรีจันทร์ศรีจันทร์ ศรีจันทร์<sup>3/</sup> พฤทธิชาติ ปุณยวัฒน์<sup>3/</sup> สุชาดา สุพรศิลา<sup>3/</sup> สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง<sup>3/</sup> ยรรยง พันธุ์พฤกษ์<sup>4/</sup>  
 Amnuai Adthlungrong<sup>1/</sup> Supaporn Sachati<sup>1/</sup> Yupin Kasinkasempong<sup>1/</sup>  
 Ampika Punonchit<sup>1/</sup> Suchirat Sakuanrungrasirikul<sup>2/</sup> Srijumnun Srijuntra<sup>3/</sup>  
 Pruetichart Punyawatto<sup>3/</sup> Suchada Supomsilp<sup>3/</sup> Suprada Sukonthabhirom na Pattalung<sup>3/</sup> Yanyong Phanpruek<sup>4/</sup>

**คำสำคัญ :** กล้วยไม้สกุลหวาย การปรับปรุงพันธุ์พืช การจัดการศัตรูพืช สารออกฤทธิ์ทางสมุนไพร การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

**Keywords :** *Dendrobium*, plant breeding, pest management, secondary metabolites compound, tissue culture.

#### บทคัดย่อ

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2 ประกอบด้วย 4 กิจกรรม 13 การทดลอง มีรายละเอียดผลวิจัยดังนี้ การยืดอายุการบานของดอกโดยถ่ายยีน antisense-ACO ให้กล้วยไม้หวายเอื้องสกุล พบว่า ต้นที่ได้รับการถ่ายยีนมีกลีบดอกหนาและแข็งกว่าปกติ และตรวจพบการยับยั้งการแสดงออกของยีน ACO ส่วนการทดสอบสายพันธุ์ต้นดีเด่นของกล้วยไม้หวายชุดต่าง ๆ ในแปลงเกษตร พบว่า ไม่เป็นที่ยอมรับของเกษตรกร ด้านการจัดการศัตรูพืช พบว่า การเกิดฝนตก ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการระบาดของบักกล้วยไม้ และสร้างแบบจำลองการระบาดได้ 3 รูปแบบ ซึ่งมีความแม่นยำ 72.34-82.97 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การใช้สารผสมสำเร็จรูป thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. สารผสม imidacloprid 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC อัตรา 5 ก.+40 มล./น้ำ 20 ล. และสารผสม imidacloprid 70% WG + cypermethrin 35% EC อัตรา 5 ก. +30 มล./น้ำ 20ล. มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดบักกล้วยไม้ 80-98 75-90 และ 70-90 % ตามลำดับ มีต้นทุนการพ่นสาร 194.40 118.20 และ 114.00 บาท/ครั้ง/ไร่ ตามลำดับ โดยต้องพ่นติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้งทุก 5 วัน ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นหมอกใช้น้ำน้อยกว่าการพ่นด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูง 10-20 เท่า แต่กำจัดบักกล้วยไม้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ด้านสภาพของน้ำที่ใช้ผสมสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พบว่า pH 4-9 ความเค็มที่ระดับ 0.2-3 ก./ล. การนำไฟฟ้าของเกลือในน้ำที่ระดับ 250-2,500  $\mu\text{mhos}/\text{cm}$ . และความกระด้างที่ระดับ 75-600 มก/ล. ไม่ส่งผลให้กำจัดบักแตกต่างกันและกระทบต่ออายุการใช้งานของหัวฉีด นอกจากนี้การใช้สารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ spinetoram 12% SC อัตรา 10 มล. emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มล. หรือ fipronil 5% SC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. สามารถใช้ผสมกับ acetamiprid 20% SP อัตรา 5 ก. imidacloprid 10% SL อัตรา 8 ก. pyridaben 13.5% EC อัตรา 20 มล. amitraz 20% EC อัตรา 30 มล. carbendazim 50% SC อัตรา 30 มล. หรือ mancozeb 80% WP อัตรา 30 ก./ต่อน้ำ 20 ล. โดยยังคงประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกัน โดยสาร spinetoram มีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยไฟแตกต่างกันตามสถานที่ปลูก 23-100 % ส่วนรูปแบบการพ่นสารแบบหมุนเวียนที่เหมาะสม ได้แก่ การพ่นสาร spinetoram 12 % SC 1 ครั้ง ตามด้วย abamectin 1.8 % EC 3 ครั้ง และ fipronil 5% SC 2 ครั้ง ซึ่งมีต้นทุนการพ่นสาร 466 บาท/ไร่ ทุกรอบวงชีวิตเพลี้ยไฟ 14 วัน ด้านกล้วยไม้สมุนไพร พบว่า ชนิดของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรและหวายตะมอย แหล่งรวบรวม และพื้นที่ปลูก มีผลการเจริญเติบโต ชนิดและปริมาณ

สารสำคัญ โดยการนำมาปลูกเลี้ยงมีแนวโน้มให้สารสำคัญลดลง ขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหวายเหลืองจันทบูร และหวายตะมอย พบว่า การใช้อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA 5 มก./ล. สามารถเพิ่มจำนวนหน่อได้ 3.4 และ 3.6 หน่อตามลำดับหลังเพาะเลี้ยงนาน 60 วัน ขณะที่ MS ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ชักน้ำให้เกิดรากมากที่สุด 10.4 และ 4.5 รากตามลำดับหลังเพาะเลี้ยงนาน 90 วัน

---

<sup>1/</sup> สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนลาดยาว แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

<sup>2/</sup> ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น 180 ถนนมิตรภาพ อำเภอเมือง ขอนแก่น 40000

<sup>3/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ถนนลาดยาว แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

<sup>4/</sup> ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร ถนนลาดยาว แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

กรมวิชาการเกษตร

## Abstract

The Research and Development Project of Dendrobium for Export Phase 2 consists of 4 activities, 13 trials. Details of the research results included: Prolonging the flower bloom by transfusing the antisense-ACO gene to the rattan orchid, found that the transfused plant had thicker and harder petals than usual, and detected an inhibition of gene expression. The ACO, the outstanding early line test of various orchids in agricultural plots, found that it was not acceptable to farmers for pest management. Relative humidity and temperature influenced the orchid lotus outbreak and modeled three forms of outbreaks with an accuracy of 72.34-82.97 percent, while the use of ready-made mixtures thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7 %EC at the rate of 30 ml/20 l of water. Imidacloprid mixture 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC rate 5g+40ml/water 20l and imidacloprid mixture 70% WG + cypermethrin 35% EC rate 5g +30ml/water 20l Effective in preventing the removal of orchid lotus 80-98 75-90 and 70-90 %, respectively. Spraying costs 194.40 118.20 and 114.00 baht/rai, respectively, with at least 2 consecutive sprays every 5 days, while spraying with a fog machine uses 10-20 times less water than spraying with a high-pressure washer. But getting rid of orchid lotuses is no different statistically. On the condition of the water used to mix cotton thrips removal agents, pH 4-9 was found to be salinity at 0.2-3 g/l. Conductivity of salt in water at 250-2,500  $\mu$ mhos/cm and hardness at 75-600 mg/l This does not result in the removal of different lotuses and affects the service life of the nozzle. In addition, the use of anti-thrips cotton spinetoram 12% SC rate 10 ml emamectin benzoate 1.92% EC rate 20 ml or fipronil 5% SC rate 30 ml/water 20 l. Can be mixed with acetamiprid 20% SP rate 5g imidacloprid 10% SL rate 8g . pyridaben 13.5% EC rate 20 ml amitraz 20% EC rate 30 ml carbendazim 50% SC rate 30 ml. Or mancozeb 80% WP rate 30 g/20 ml. water, with no difference in anti-performance against cotton thrips. Spinetoram is 23-100% effective at removing thrips by planting location, while suitable renewable spraying patterns include 12 % SC spinetoram spraying, followed by abamectin 1.8 % EC 3 times and fipronil 5% SC twice, which has a spraying cost of 466 baht/rai for every thrips life cycle for 14 days. On the herb orchid side, the types of chanthabur and rattan orchids, gathering sites and planting areas had an effect on growth, type and quantity of important substances, with the cultivation tending to reduce important substances, while the cultivation of chanthabur yellow rattan and rattan tamoui tissue. It was found that using MS solid foods in conjunction with BA was 5 mg/l. The number of shoots can be increased by 3.4 and 3.6 shoots after cultivation for 60 days, while MS together with NAA 0.5 mg/l induces as many as 10.4 and 4.5 roots in order after 90 days of cultivation

## บทนำ

ประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตดอกกล้วยไม้เขตร้อนและยังคงเป็นผู้นำการส่งออกในตลาดโลก มีตลาดหลักอยู่ในประเทศญี่ปุ่น อเมริกา อิตาลี และ จีน ปี 2560 มีการส่งออกดอกกล้วยไม้มูลค่า 2,228.29 ล้านบาท นอกจากนี้ยังมีการส่งออกต้นกล้วยไม้ ส่วนขยายพันธุ์ และอื่นๆมูลค่ารวมประมาณ 500-600 ล้านบาทต่อปี (กรมศุลกากร, 2561) แต่ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมามีอัตราการเติบโตลดลง เนื่องจากขาดความแปลกใหม่ในตลาด นอกจากนี้ยังมีปัญหาเรื่องคุณภาพของดอกกล้วยไม้ การกีดกันด้วยมาตรฐานสุขอนามัยผู้บริโภคและสุขอนามัยพืช ภาครัฐจึงให้ความสำคัญจัดทำยุทธศาสตร์เฉพาะพืชเพื่อผลักดันให้เพิ่มปริมาณและมูลค่าในการส่งออก

พันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายที่มีการผลิตเป็นการค้ามีราว 20 พันธุ์ เช่น โจ้แดง เอียสกุล ขาวสนาม ขาว5 เอ็นแอนนา และซากุระ เป็นต้น แม้ว่ามีผู้ขอรับการคุ้มครองพันธุ์พืชใหม่มากกว่า 30 พันธุ์ต่อปี ส่วนหนึ่งเกิดจากการหวงแหนพันธุ์ใหม่และพ่อแม่พันธุ์ดี ตลอดจนความลับทางการค้าต่างๆ ทำให้เกษตรกรรุ่นใหม่เข้าถึงข้อมูลและแหล่งพันธุ์ดียาก ภาครัฐจึงควรเป็นหน่วยงานกลางในการเชื่อมโยงข้อมูลและเป็นแหล่งอนุรักษ์พันธุ์กรรมดี สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ของเกษตรกรหรือกลุ่มเกษตรกรรายย่อย

สถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์วิจัยเครือข่ายจึงได้ผสมและคัดเลือกพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายตลอดจนได้อนุรักษ์พันธุ์ดีสำหรับเผยแพร่ต่อเกษตรกร เช่น DA 427 ศก003, BN 064 ศก.068ม BN067 ศก.231 และ BN067ศก 167 เป็นต้น หรือการยัดอายุการบานของดอกกล้วยไม้สกุลหวายเอียสกุลด้วยการถ่ายยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) oxidase ซึ่งยังคงมีการวิจัยและพัฒนาพันธุ์อย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน ในด้านการผลิตและการอารักขาพืช มีศัตรูที่เป็นปัญหาสำคัญหลายชนิด เช่น บั่ว เพลี้ยไฟ หอยชนิดต่างๆ เป็นต้น จำเป็นต้องมีการศึกษาจัดการอย่างเป็นระบบทั้งระหว่างการผลิตและหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากเป็นปัญหาหลักในการส่งออกกล้วยไม้หวายของประเทศไทย หรือเพิ่มมูลค่าของผลผลิตเป็นกล้วยไม้สมุนไพรที่มีมูลค่าสูงในตลาด เป็นต้น

## ระเบียบวิธีการวิจัย

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 1.1 ศึกษาการแสดงออกของยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) oxidase ในการยัดอายุการบานของดอกกล้วยไม้สกุลหวายเอียสกุล ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2564	ไม่มี	การตรวจยีน	-
การทดลอง 2.1 ทดสอบพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายการค้าชุดบางกอกน้อยในแปลงเกษตรกร ดำเนินการที่ แปลงเกษตรกร จ.นครปฐม ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และสถาบันวิจัยพืชสวน ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	ไม่มี	ทดสอบพันธุ์ 4 สายต้น	-
การทดลอง 2.2 เปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายการค้าชุดศรีสะเกษในแปลงเกษตรกร ดำเนินการที่ แปลงเกษตรกร จ.นครปฐม ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และสถาบันวิจัยพืชสวน ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	CRD <sup>1</sup>	เปรียบเทียบพันธุ์ 10 สายต้น	4
การทดลอง 2.3 เปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายกระถางชุดศรีสะเกษในแปลงเกษตรกร ดำเนินการที่ แปลงเกษตรกร จ.นครปฐม ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และสถาบันวิจัยพืชสวน ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	CRD	เปรียบเทียบพันธุ์ 10 สายต้น	4
การทดลอง 3.1 ผลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่มีต่อความเสียหายจากการทำลายของบั่วกล้วยไม้ <i>Contarinia maculipennis</i> Felt ในกล้วยไม้สกุลหวาย ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2560	ไม่มี	วิเคราะห์ สทสัมพัทธ์ และ พัฒนารูปแบบ	-
การทดลอง 3.2 ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในกาป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ <i>Contarinia maculipennis</i> Felt ในกล้วยไม้สกุลหวาย ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	RCB <sup>2</sup>	สคม.เดี่ยว/ผสม /ผสมสำเร็จรูป 9 ชนิด	4



โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 3.3 เทคนิคการพ่นสารด้วยเครื่องพ่นหมอกในการป้องกันกำจัดปลวกกล้วยไม้ ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2560	RCB	7 ปริมาณน้ำ และสคม. + ชนิดเครื่องพ่น	4
การทดลอง 3.4 ศึกษาผลของสภาพน้ำที่มีต่อประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงและอายุการใช้งานของหัวฉีดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ( <i>Thrips palmi</i> Karny) ในกล้วยไม้ ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2560	RCB	คุณภาพน้ำ 4 ด้าน + สคม.	4
การทดลอง 3.5 ประสิทธิภาพของการใช้สารฆ่าแมลงแบบเดี่ยวและแบบผสม (Tank mixtures) ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ( <i>Thrips palmi</i> Karny) และผลกระทบต่ออายุการใช้งานของหัวฉีด ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2562	RCB และ CRD	สคม. กำจัดเพลี้ยไฟ 3 ชนิด บั่ว 2 ชนิด ไโร 2 ชนิด เชื้อรา 2 ชนิด	4
การทดลอง 3.6 ความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงชนิดใหม่ต่อเพลี้ยไฟ ( <i>Thrips palmi</i> Karny) ในกล้วยไม้สกุลหวาย ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี พ.ศ. 2561-2562	ไม่มี	ความเป็นพิษของสารฆ่าแมลง	-
การทดลอง 3.7 พัฒนารูปแบบการใช้สารฆ่าแมลงโดยการหมุนเวียนกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เพื่อ ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ <i>Thrips palmi</i> Karny ในกล้วยไม้สกุลหวาย ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี พ.ศ. 2561-2563	RCB	รูปแบบการใช้สคม. 4 รูปแบบ + 2 กรรมวิธี เปรียบเทียบ	3
การทดลอง 4.1 ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตทางการเกษตรของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทร์ และหวายตะมอยในแต่ละสายพันธุ์ที่มีผลต่อสารสำคัญ ดำเนินการที่ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทร์ ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา และสถาบันวิจัยพืชสวน ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2564	RCB	ชนิดละ 5 พันธุ์ (กลุ่มประชากร)	4
การทดลอง 4.2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์หวายเหลืองจันทร์ และหวายตะมอยโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการที่ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร และศูนย์วิจัยพืชสวนจันทร์ ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2564	CRD	สูตรอาหาร+ ฮอริโมน 8 กรรมวิธี	10

<sup>1</sup>แผนแบบสุ่มสมบูรณ์ <sup>2</sup>แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การถ่ายยีนและศึกษาการแสดงออกของยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1- carboxylase) oxidase เพื่อยืดอายุการบานของดอกในกล้วยไม้หวายพันธุ์เอี้ยสกุล โดยถ่ายยีน antisense-ACO เข้าสู่โปรโตคอร์มของกล้วยไม้ ด้วย *Agrobacterium* ที่มียีนเป้าหมายบรรจุอยู่ในพลาสมิด pCAMBIA1304 และใช้ยีนต้านทานยาปฏิชีวนะ hygromycin (hpt) ในการคัดเลือกต้นที่ได้รับการถ่ายยีน ร่วมกับการตรวจการแสดงออกของยีน ACO ด้วยวิธี relative quantification พบว่า ต้นเพาะเลี้ยงที่ได้รับการถ่ายยีนหลังปลูกเลี้ยง 6 และ 12 เดือน มีค่าการแสดงออกต่ำเพียง 0.2 และ 0.5 เท่าของต้นควบคุม ส่วนต้นที่ออกปลูก 5-9 เดือน มีค่าการแสดงออก 0.1-0.7 ต่ำกว่าต้นควบคุมมีค่าการแสดงออกถึง 1.1-3.3 โดยต้นที่ออกปลูกมีกลีบดอกหนาและแข็งกว่าต้นปกติ ไม่มีแมลงปากดูดรบกวน (ภาพที่ 1.1) โดยพืชหลายชนิดที่ได้รับการถ่ายยีนดังกล่าวจะมีอายุการหลุดร่วงของดอกและใบ นานกว่าพืชปกติ (Jones and Woodson, 1997; Sugiyama and Satoh, 2015; Kosugi et al., 2000) เนื่องจากมีการ ผลิตก๊าซเอทิลีนลดลง (Kende, 1993) ส่วนการทดสอบสายต้นดีเด่นกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกชุด บางกอกน้อย (4 สายต้น) ชุดศรีสะเกษ (10) และหวายกระถางชุดศรีสะเกษ (10) โดยทดสอบในแหล่งปลูกที่ นครปฐม วางแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ พบว่า เกษตรกรไม่ยอมรับพันธุ์ที่นำไปปลูกทดสอบ เนื่องจากเจริญเติบโตช้า ลักษณะดอก/ช่อดอกไม่ตรงตามความต้องการของตลาด และเกิดโรคระบาดในบางส่วน สาเหตุ

ส่วนนี้อาจเกิดจากการไม่ตอบสนองสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกภาคกลางและไม่ตอบสนองต่อปุ๋ย เนื่องจากคัดเลือกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และลักษณะดอก/ช่อดอกหมดความนิยมในตลาด

ด้านอารักขาพืช การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยไม่มีชีวิตกับการระบาดของบั่วกล้วยไม้ด้วยสหสัมพันธ์พบว่า การเกิดฝนตก ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิ มีความสัมพันธ์ต่อการระบาดของบั่วกล้วยไม้แตกต่างกัน โดยปัจจัยที่มีความสำคัญ ได้แก่ 1. การเกิดฝนอย่างน้อย 2-3 วัน/สัปดาห์ 2. ความชื้นสัมพัทธ์ในเวลา 18.00 น. มากกว่า 60% อย่างน้อย 2-3 วัน/สัปดาห์ และ 3. อุณหภูมิ 24-27 °C ที่ 7.00 น. อย่างน้อย 2-3 วัน/สัปดาห์ การสร้างแบบจำลอง 1+2+3 1+2 และ 2+3 มีความแม่นยำ 83.0 83.0 และ 72.3 ตามลำดับ (ตารางที่ 1.1) ซึ่งสอดคล้องวงจรชีวิตของบั่วกล้วยไม้ที่จะวางไข่แล้วพัฒนาเป็นหนอนภายใน 2-4 วัน (สมรวยและคณะ (2544) แต่การนำแบบจำลองไปพยากรณ์จำเป็นต้องทดสอบในแปลงผลิตและปรับปรุงให้เหมาะสมต่อไป

ส่วนศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ มี 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ประกอบด้วยสารเดี่ยว สารผสมสำเร็จรูป และ สารผสม พบว่า สารผสมสำเร็จรูป thiamethoxam/ lambda-cyhalothrin 24.7 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 80-98 % มีต้นทุนการพ่นสาร 194.4 บาท/ครั้ง/ไร่ รองลงมา คือ สารผสม imidacloprid 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC อัตรา 5 ก.+40 มล./น้ำ 20 ล. มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 75-90 % 3. สารผสม imidacloprid 70% WG + cypermethrin 35% EC อัตรา 5 ก.+30 มล./น้ำ 20ล. มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 70-90 % โดยมีต้นทุนการพ่นสาร 118.2, 114.0 บาท/ครั้ง/ไร่ (ตารางที่ 1.2) โดยต้องทำการพ่นติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้งทุก 5 วัน โดยไม่พบความเป็นพิษกับกล้วยไม้

ด้านเทคนิคการพ่นสารด้วยเครื่องพ่นหมอกในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ มี 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี พบว่า การพ่นด้วยเครื่องพ่นหมอกอัตรา 6-12 ล./ไร่ และเครื่องพ่นแรงดันน้ำสูงอัตรา 120 และ 160 ล./ไร่ มีการเข้าทำลายของบั่วหลังพ่น 5 และ 7 วัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่าง 6.0-9.8 และ 4.2-5.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าการไม่พ่นสารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีการทำลาย 14.5 และ 12.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 1.3) ช่วยลดปริมาณการใช้น้ำผสม 10-20 เท่าและระยะเวลาในการทำงาน เนื่องจากเครื่องพ่นหมอกสามารถควบคุมขนาดละอองสารให้มีขนาดเล็กสม่ำเสมอ ละอองสามารถแทรกซึมสู่เป้าหมายได้ดี จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลง (Manninen et al., 1996; Matthews, 2000 และ Olivet et al., 2011)

ส่วนคุณภาพของน้ำที่มีต่อประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง 4 ชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และอายุการใช้งานของหัวฉีด พบว่า คุณภาพของน้ำในด้านต่างๆ ได้แก่ pH 4-9 ความเค็มที่ระดับ 0.2-3 ก./ล. การนำไฟฟ้าของเกลือในน้ำที่ระดับ 250-2,500  $\mu\text{mhos}/\text{cm}$ . และความกระด้างที่ระดับ 75-600 มก./ล. ไม่ทำให้มีประสิทธิผลในการกำจัดเพลี้ยไฟแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1.4) ไม่กระทบต่ออายุการใช้งานของหัวฉีด และการทดสอบในสภาพแปลงทดลองให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่คุณภาพของน้ำอาจกระทบต่อการป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิด (Pasian, 2004) ประสิทธิภาพของปุ๋ยที่ใช้ได้ (FAO, 1994) หรือการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (นิรนาม, 2557)

ขณะที่สารฆ่าแมลงแบบเดี่ยวและแบบผสม (Tank mixtures) ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พบว่า สารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ spinetoram 12% SC อัตรา 10 มล. emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มล. หรือ fipronil 5% SC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. สามารถใช้ผสมกับ acetamiprid 20% SP อัตรา 5 ก. imidacloprid 10% SL อัตรา 8 ก. pyridaben 13.5% EC อัตรา 20 มล. amitraz 20% EC อัตรา 30 มล. carbendazim 50% SC อัตรา 30 มล. หรือ mancozeb 80% WP อัตรา 30 ก./ต่อน้ำ 20 ล.

นอกจากนี้การใช้สารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ spinetoram 12% SC อัตรา 10 มล. emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มล. หรือ fipronil 5% SC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. สามารถใช้ผสมกับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช acetamiprid 20% SP อัตรา 5 ก. imidacloprid 10% SL อัตรา 8 ก. สารฆ่าไร pyridaben 13.5% EC อัตรา 20 มล. amitraz 20% EC อัตรา 30 มล. และสารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim 50% SC อัตรา 30 มล. หรือ mancozeb 80% WP อัตรา 30 ก./ต่อน้ำ 20 ล. โดยสารผสมไม่มีการแยกชั้นและเป็นพิษต่อพืช โดยมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างสารเดี่ยวและสารผสม ซึ่งทั้งหมดมีอัตราการตายของเพลี้ยไฟหลังใช้ 72 ชั่วโมงมากกว่า 75 % แตกต่างทางสถิติจากการไม่ใช้สารที่ตายเพียง 4.8-8.5 % แต่การใช้สารในสภาพแปลงทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยไม่สามารถคาดการณ์แนวโน้มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด

ด้านความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงชนิดใหม่ต่อเพลี้ยไฟ พบว่า spinetoram มีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยไฟ ที่ อ.พุทธมณฑล เพียง 23 % และเพลี้ยไฟจาก อ.สามพราน ตาย 48-50% และสถานที่อื่น 73-100% (ภาพที่ 1.2) ส่วนสาร cyantraniliprole และ sulfoxaflor ทำให้เพลี้ยไฟจากทุกอำเภอ ตายอยู่ในช่วง 15-50% และ 8-40% ตามลำดับ แตกต่างจาก Jacobson and Kennedy (2011) ที่พบว่าสาร cyantraniliprole ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟได้ดี และสาร sulfoxaflor มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดปากดูดที่ต้านทานต่อสาร imidacloprid (Zhu et al., 2011)

ส่วนรูปแบบการพ่นสารแบบหมุนเวียนที่เหมาะสม วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธีตามตารางที่ 1.5 พบว่า การพ่นสารแบบหมุนเวียนแบบต่างๆทั้งสี่แบบและการพ่นสารแบบวิธีของเกษตรกรมีจำนวนเพลี้ยไฟ 0.4-0.9 0.4-0.7 0.2-0.4 0.7-1.1 0.2-0.3 ตัว/ช่อดอก หลังการพ่นสาร 10 20 30 40 และ 50 วันตามลำดับโดยส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่วิธีพ่นสารทั้งหมดแตกต่างจากการไม่พ่นสารที่มีจำนวน 2.7-5.1 ตัว/ช่อดอกในช่วงเวลาดังกล่าว โดยวิธีพ่นสารหมุนเวียนแบบที่ 1-4 และ เกษตรกร มีต้นทุน 933 636 624 466 และ 462 บาท/ไร่ ดังนั้นวิธีการพ่นสารที่เหมาะสม ได้แก่ การพ่นสาร spinetoram 12 % SC 1 ครั้ง ตามด้วย abamectin 1.8 % EC 3 ครั้ง และ fipronil 5% SC 2 ครั้ง สอดคล้องกับรายงานของ Srijuntra et al. (2016) แต่การทดลองนี้มีต้นทุนการพ่นสาร 466 บาท/ไร่ถูกรอบวงชีวิตเพลี้ยไฟ 14 วันใกล้เคียงของเกษตรกร (ตารางที่ 1.5)

การศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายเหลืองจันทบุรี (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) และหวายตะมอย (*D. crumenatum* Sw.) และปริมาณสารสำคัญที่มีประโยชน์ทางเภสัชกรรมสมุนไพร โดยการรวบรวมประชากรกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบุรีและหวายตะมอยจากสถานที่ต่างๆรวม 5 แห่ง (กรรมวิธี) แล้วนำไปปลูกตามสถานที่ต่างๆ 4 แห่ง ได้แก่ เชียงใหม่ (ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่) ยะลา (ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา) จันทบุรี (ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี) และ ปทุมธานี (สวนเกษตรกร) วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ มี 4 ซ้ำ พบว่า กล้วยไม้แต่ละชนิดที่รวบรวม ให้ชนิดของสารสำคัญแตกต่างกัน โดยหวายเหลืองจันทบุรีให้สารสำคัญ Eridictyol Homoeridictyol และ Chrysotoxine ส่วนหวายตะมอยให้สารสำคัญ Moscatilin Gigantol และ Crepidatin และปริมาณสารสำคัญแต่ละชนิดแตกต่างกันตามแหล่งรวบรวม เมื่อนำมาปลูกเลี้ยงพบว่า มีการเจริญเติบโตในแต่ละสถานที่แตกต่างกัน มีแนวโน้มให้สารสำคัญลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับที่รวบรวมในสภาพธรรมชาติ ซึ่งสอดคล้องกับ Jan et al.(2021) ได้กล่าวไว้ถึงการตอบสนองกับสภาพแวดล้อมเป็นการตอบสนองที่เป็นผลมาจาก (gene) ซึ่งในแต่ละพืชหรือพืชชนิดเดียวกันที่มาจากต่างแหล่งกันจะมีการตอบสนองที่แตกต่างกัน

ขณะที่การขยายพันธุ์หวายเหลืองจันทบุรีและหวายตะมอย วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 10 ซ้ำ (ขวด) มีสองขั้นตอน ได้แก่ การชักนำให้เกิดต้นและการเพิ่มปริมาณ ใช้อาหารสูตร MS และ VW ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0 5 10 และ 15 ppm และการชักนำให้เกิดรากและการย้ายอนุบาล

ใช้อาหารแข็งสูตร MS และ VW ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.5 0.1 และ 1.5 ppm พบว่า จำนวนหน่อมีการเพิ่มขึ้นแตกต่างกันทางสถิติ โดยอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA 5 มก./ล. สามารถเพิ่มจำนวนหน่อหวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอยได้ดีที่สุด 3.4 และ 3.6 หน่อตามลำดับหลังเพาะเลี้ยงนาน 60 วัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ นายิกา (2558) พบว่า อาหารสูตร ที่เติม BA 5 มก./ล. ส่งเสริมการเกิดยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 4.75 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังการเพาะเลี้ยงนาน 90 วัน และเมื่อเติมความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้นอัตราการเกิดยอดรวมลดลง ขณะที่ MS ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดรากมากที่สุด 10.4 และ 4.5 รากตามลำดับหลังเพาะเลี้ยงนาน 90 วัน การเปรียบเทียบระหว่างอาหารสูตรสังเคราะห์ MS และ VW พบว่า กล้วยไม้หวายทั้ง 2 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม NAA ส่งเสริมการเกิดรากเฉลี่ยได้สูงกว่าอาหารสูตร VW เมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน แตกต่างจากนายิกา (2558) และ ปรัชพรรณ (2550)

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2 ประกอบด้วย 4 กิจกรรม 13 การทดลอง จำแนกเป็นการวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์ ขยายพันธุ์ และการอารักขาพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย โดยงานวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์มีการถ่ายทอดยีน antisense-ACO เพื่อยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้หวายเอื้องสกุล และประสบความสำเร็จได้ต้นที่ยับยั้งการแสดงออกของยีนดังกล่าวจำนวนหนึ่ง แต่ต้องมีการพัฒนาและใช้ประโยชน์จากต้นที่ได้รับการถ่ายทอดยีนดังกล่าว ขณะที่การทดสอบพันธุ์กล้วยไม้ชุดต่างๆในแปลงเกษตรกร ไม่เป็นที่ยอมรับของเกษตรกร และประสบปัญหาการเจริญเติบโตเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ส่วนหนึ่งอาจเกิดจากการคัดเลือกพันธุ์ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากภาคกลาง ซึ่งเป็นแหล่งผลิตหลักของกล้วยไม้สกุลนี้ ด้านการรวบรวมพันธุ์กล้วยไม้เหลืองจันทบูรและหวายตะมอยจากแหล่งต่าง ๆ และนำมาปลูกเลี้ยง เพื่อพัฒนาเป็นกล้วยไม้สมุนไพรรอบว่า กล้วยไม้แต่ละชนิดให้สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางสมุนไพรรอบแตกต่างกัน และมีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันตามแหล่งที่ทำการรวบรวม เมื่อนำมาปลูกเลี้ยง พบว่า มีการเจริญเติบโตและให้สารสำคัญแตกต่างกันไปในแต่ละสถานที่ปลูก โดยมีแนวโน้มให้สารสำคัญลดลงเมื่อเทียบกับประชากรเริ่มต้น ส่วนการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า สูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและอัตราต่างๆ มีผลต่อการเกิดหน่อและรากของกล้วยไม้ทั้งสองชนิดดังกล่าว อาหารสูตร MS ร่วมกับ BA 5 มก./ล. เหมาะสำหรับเพิ่มจำนวนหน่อและ MS ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. เหมาะสำหรับชักนำให้เกิดราก

งานวิจัยด้านอารักขาพืช พบว่า การเกิดฝนตก อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ มีอิทธิพลต่อการระบาดของบั่วกล้วยไม้ และสร้างแบบจำลองการระบาดของ 3 รูปแบบ แต่จำเป็นต้องนำแบบจำลองไปทดสอบในแปลงผลิตและปรับปรุงให้เหมาะสมต่อไป ส่วนคุณภาพของน้ำที่ใช้ผสมไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดศัตรูพืชรวมทั้งวิธีการพ่นสารด้วยเครื่องพ่นหมอก ใช้ น้ำและประหยัดแรงงานมากกว่าการพ่นด้วยเครื่องพ่นแรงดันน้ำสูง ทำให้ต้นทุนการผลิตลดลง ขณะที่การใช้สารป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้และเพลี้ยไฟ มีชนิดของสาร ปริมาณ การผสมสาร และรูปแบบหมุนเวียนการใช้สารที่เหมาะสมแตกต่างกัน การป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้สามารถใช้สารผสมสำเร็จรูป thiamethoxam/ lambda-cyhalothrin 24.7 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. หรือสารผสม imidacloprid 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC อัตรา 5 ก.+40 มล./น้ำ 20 ล. หรือสารผสม imidacloprid 70% WG + cypermethrin 35% EC อัตรา 5 ก. +30 มล./น้ำ 20ล. ส่วนการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟและศัตรูพืชอื่นๆ สามารถใช้ spinetoram 12% SC อัตรา 10 มล. หรือ emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มล. หรือ fipronil 5% SC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. ผสมกับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอื่นๆ ได้แก่ acetamiprid 20% SP อัตรา 5 ก. imidacloprid 10% SL อัตรา 8 ก. pyridaben 13.5% EC อัตรา 20 มล. amitraz 20% EC อัตรา 30 มล. carbendazim 50% SC อัตรา 30 มล. หรือ mancozeb 80% WP อัตรา 30 ก./ต่อน้ำ 20 ล. เป็นต้น

นอกจากนี้รูปแบบการพ่นสารแบบหมุนเวียนที่เหมาะสมสำหรับการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ได้แก่ การพ่นสาร spinetoram 12 % SC 1 ครั้ง ตามด้วย abamectin 1.8 % EC 3 ครั้ง และ fipronil 5% SC 2 ครั้ง แม้ว่างานวิจัยในโครงการจะประสบความสำเร็จแล้วบางส่วน แต่งานวิจัยส่วนใหญ่ยังจำเป็นต้องการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการขยายผลงานวิจัยให้เกษตรกรนำไปใช้อย่างกว้างขวาง และเกิดประโยชน์ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

## ตารางและภาพ

ตารางที่ 1.1 สหสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆ ที่สำคัญกับการระบาดของบัวกล้วยไม้ และความแม่นยำของแบบจำลอง

ปัจจัย	% R	แบบจำลอง	ความแม่นยำ
1. การเกิดฝนอย่างน้อย 2-3 วัน/สัปดาห์	0.597(**)	ปัจจัย 1+2+3	83.0
2. ความชื้นสัมพัทธ์ในเวลา 18.00 น. มากกว่า 60% อย่างน้อย 2-3 วัน/สัปดาห์	0.451(**)	ปัจจัย 1+2	83.0
3. อุณหภูมิ 24-27 °C ที่ 7.00 น. อย่างน้อย 2-3 วัน/สัปดาห์	0.605(**)	ปัจจัย 2+3	72.3

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

ตารางที่ 1.2 สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพของในการป้องกันกำจัดบัวกล้วยไม้สามลำดับแรก และต้นทุน

สารฆ่าแมลง	อัตราสารเคมี (มล., ก.) / น้ำ 20 ล.	ประสิทธิภาพ (%)	ต้นทุน (บาท/ครั้ง/ไร่)
1. thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7 %EC	30	80-98	194.4
2. imidacloprid 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC	5+40	75-90	118.2
3. imidacloprid 70% WG + cypermethrin 35% EC	5+30	70-90	114.0

ตารางที่ 1.3 การเข้าทำลายของบัวกล้วยไม้เมื่อพ่นด้วยเครื่องพ่นหมอกและเครื่องพ่นแบบแรงดันสูง โดยใช้ปริมาณน้ำและสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7 % EC อัตราต่างๆ

กรรมวิธี	อัตราสารเคมี (มล./ไร่)	การเข้าทำลาย (เปอร์เซ็นต์)				
		ก่อนใช้	หลังพ่น 3 วัน <sup>1/</sup>	หลังพ่น 5 วัน	หลังพ่น 7 วัน	
ชนิดเครื่องพ่น	อัตราน้ำ (ล./ไร่)					
เครื่องพ่นหมอก	6	120	21.92	12.47ab <sup>2/</sup>	9.80a	5.52a
เครื่องพ่นหมอก	8	120	17.05	12.52ab	8.85a	5.17a
เครื่องพ่นหมอก	10	120	17.67	11.12ab	7.40a	4.95a
เครื่องพ่นหมอก	12	120	19.10	9.45a	6.65a	4.22a
เครื่องพ่นแรงดันน้ำสูง	120	120	19.55	9.77a	7.85a	5.55a
เครื่องพ่นแรงดันน้ำสูง	160	160	18.80	9.50a	5.97a	4.02a
ไม่พ่นสาร	-	-	21.15	16.15b	14.52b	12.57b
CV%			28.70	28.74	29.61	38.77

<sup>1/</sup> จำนวนวันหลังพ่นสารฆ่าแมลง <sup>2/</sup> ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น  $\alpha < 0.05$  โดยวิธี Duncan

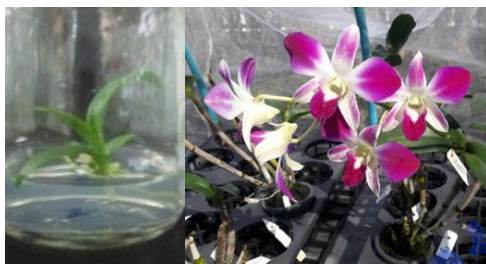
ตารางที่ 1.4 การตายของเพลี้ยไฟหลังการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่าง ๆ 24 ชั่วโมง โดยผสมด้วยน้ำที่มีคุณภาพแตกต่างกันภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ

คุณภาพของน้ำในด้านต่างๆ		spinetoram 12% SC	carbosulfan 20% EC	benzoate 1.92% EC	fipronil 5% SC
ความเป็นกรด-ด่าง	pH 4-9	75.0-82.5 a	65.0-67.5 a	72.5-77.5 a	67.5-72.5 a
ความเค็ม	0.2-3.0 ก/ล.	80.0-82.5 a	62.5-70.0 a	77.5-80.0 a	67.5-72.5 a
การนำไฟฟ้าของเกลือในน้ำ	250-2,500 $\mu\text{mhos}/\text{cm}$ .	77.5-82.5 a	62.5-65.0 a	75.0-77.5 a	65.0-67.5 a
ความกระด้าง	75-600 มก/ล. ของ CaCO <sub>3</sub>	80.0-85.0 a	62.5-70.0 a	72.5-80.0 a	65.0-72.5 a
ไม่ใช้สาร		2.5-7.5 b	5.0-10.0 b	5.0-10.0 b	2.5-10.0 b

**ตารางที่ 1.5** ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่แปลงกล้วยไม้สกุลหวาย

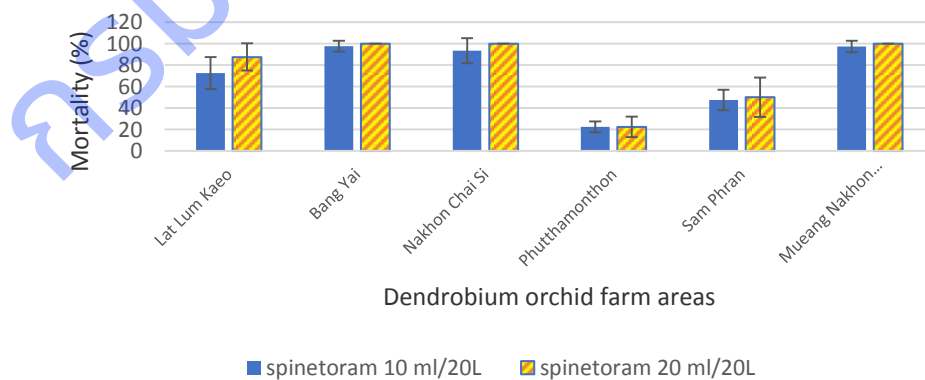
กรรมวิธี	ก่อนพ่น	จำนวนเพลี้ยไฟ (ตัว/ช่อดอก) หลังการพ่นสาร (วัน)					ต้นทุน
		10	20	30	40	50	
แบบที่ I. spine /cyan -cyan /chlorfe - ema benz / fipro-fipro อัตรา 20/40-40/30-20/50-50	4.60	0.40 a <sup>1/</sup>	0.45 ab	0.23 a	0.73 a	0.20 a	933.00
แบบที่ II. spine / fipro-fipro/ chlorfe- ema benz อัตรา 20/50-50/30-20	4.67	0.55 a	0.70 c	0.33 a	1.08 a	0.28 a	636.00
แบบที่ III. spine/chlorfe - ema benz/ fipro- fipro- fipro อัตรา 20/30-20/30-30-30	4.70	0.65 a	0.35 a	0.38 a	0.63 a	0.28 a	624.00
แบบที่ IV. spine/aba-aba-aba/fipro-fipro-fipro อัตรา 20/50-50-50/30-30-30	4.42	0.60 a	0.45 ab	0.40 a	1.25 a	0.20 a	466.00
วิธีพ่นสารของเกษตรกร	4.88	0.88 a	0.58 bc	0.43 a	0.88 a	0.30 a	462.66
ไม่พ่นสาร	5.03	2.70 b	3.95 d	3.33 b	5.08 b	3.50b	0
C.V. (%)	13.1	43.2	12.6	30.5	58.0	20.8	-
R.E.(%) <sup>2/</sup>	-	45.8	15.3	9.8	26.3	49.7	-

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในวิธี DMRT <sup>2/</sup> ประสิทธิภาพเชิงสัมพัทธ์ spine = spinetoram, cyan = cyantraniliprole, ema benz = emamectin benzoate, fipro = fipronil, chlorfe = chlorfenapyr, aba = abamectin, chlorpy = chlorpyrifos, metho = methomyl



กล้วยไม้ที่ได้รับยีน Antisense ACO	การแสดงออกของยีน ACO
ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 6 เดือน	0.2
ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 12 เดือน	0.5
ต้นปลูกลีง 5-9 เดือน จำนวน 15 ต้น	0.1-0.7
ต้นควบคุม จำนวน 5 ต้น	1.1-3.3

**ภาพที่ 1.1** ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับการถ่ายยีน Antisense ACO ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ลักษณะดอกของต้นปลูกลีง และการแสดงออกของยีน ACO เมื่อตรวจด้วยวิธี Relative quantification



**ภาพที่ 1.2** การตายของเพลี้ยไฟในแปลงปลูกลกล้วยไม้สกุลหวายตามสถานที่ต่างๆ เมื่อใช้สาร Spinetoram อัตรา 10 และ 20 มล.ต่อน้ำ 20 ล.

## โครงการวิจัยที่ 2

### โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า

#### Research and Development of *Vanda* spp. for Commercial Purpose

สุปัน ไม้ดัดจันทร์<sup>1/</sup> ฉัตรนภา ข่มอาวุธ<sup>2/</sup> วาสนา สุภาพรหม<sup>3/</sup> ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล<sup>4/</sup>

Supan Maidatchan<sup>1/</sup> Chatnapa Khomarwut<sup>2/</sup> Watsana Supaprom<sup>3/</sup> Suchirat Sakuanrungrsirikul<sup>4/</sup>

**คำสำคัญ :** แวนด้า การผสมพันธุ์ ลูกผสม พันธุ์วิศวกรรม การถ่ายยีน แอนติเซ็นส์

**Keywords :** *Vanda*, Hybridization, Hybrid, Genetic engineering, Gene transformation, Antisense

#### บทคัดย่อ

โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์สกุลแวนด้าเพื่อการค้า ภายใต้ชุดโครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ประกอบด้วย 2 กิจกรรม 3 การทดลอง เป็นการพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อใช้เป็นฐานพันธุ์กรรมในการปรับปรุงพันธุ์ และศึกษาการส่งถ่ายยีนเพื่อแก้ปัญหาการเหี่ยวและดอกร่วงเร็วของกล้วยไม้สกุลแวนด้าในระหว่างการขนส่ง การวางจำหน่ายและการปักแจกัน **กิจกรรมที่ 1 การปรับปรุงพันธุ์ : การประเมินศักยภาพแวนด้าท่ามุย** ดำเนินงานที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายระหว่างปี 2559 - 2563 ได้ต้นลูกผสมท่ามุยออกปลูก 23 คู่ผสมจำนวน 1,107 ต้น รอดชีวิต 822 ต้น มีต้นที่ออกดอกจำนวน 456 ต้น โดยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 4 ปีหลังออกปลูก ในช่วงเดือนสิงหาคม - กุมภาพันธ์ คัดเลือกต้นลูกผสมที่มีลักษณะดีได้ 17 สายต้นจาก 7 คู่ผสม ส่วนลูกผสมท่ามุยน้อยออกปลูก 28 คู่ผสม จำนวน 1,203 ต้น รอดชีวิตและออกดอกจำนวน 794 ต้น โดยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 3 ปีหลังออกปลูกในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม คัดเลือกต้นลูกผสมที่มีลักษณะดีได้ 169 สายต้น จาก 24 คู่ผสม **การประเมินศักยภาพลูกผสมแวนด้าสามปอย** ดำเนินการระหว่างปี 2559 - 2563 ใน 2 สถานที่ คือ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ศึกษาลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ในปี 2554-2558 จากจำนวน 5 คู่ผสม 402 ต้น พบต้นรอดชีวิตจำนวน 4 คู่ผสม 213 ต้น มีการออกดอกจำนวน 3 คู่ผสม 35 ต้น ได้แก่ คู่ผสมที่ 1 จำนวน 10 ต้น คู่ผสมที่ 2 จำนวน 11 ต้น และคู่ผสมที่ 3 จำนวน 14 ต้น ซึ่งคู่ผสมที่ 3 มีการออกดอกมากที่สุด ได้ต้นคัดเลือกว่าผ่านเกณฑ์ที่กำหนดได้แก่ พอรัมดอกกลม ดอกมีขนาดใหญ่ กลีบหนา มีกลิ่นหอม ช่อดอกไม่ยาวมาก มี 5-7 ดอกต่อช่อ และออกดอกง่าย ไปไม่ร่วง ทั้งหมด 3 คู่ผสม 7 ต้น ส่วนศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ได้ลูกผสมจำนวน 3 คู่ผสม ได้แก่ สามปอยดง สามปอยนก และสามปอยขุนตาน จำนวน 818 ต้น รอดชีวิต 310 ต้น ซึ่งต้นลูกผสมที่ได้มีการเจริญเติบโตช้า และไม่ออกดอก จึงไม่สามารถประเมินศักยภาพลูกผสมได้เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม **กิจกรรมที่ 2 การส่งถ่ายยีน : ศึกษาการแสดงออกของยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) oxidase** ในการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้า ดำเนินงานที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ระหว่างปี 2559 - 2561 ผลการศึกษาการแสดงออกของยีน ด้วยเทคนิค Cocultivation กับ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAMBIA1304 ซึ่งมียีน antisense-ACO เชื่อมอยู่ภายในพลาสมิดนี้ พบว่าไม่ประสบความสำเร็จ โปรโตคอร์มไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ และตายทั้งหมดในเวลาต่อมา ซึ่งอาจเกิดจากลักษณะของพืชชนิดนี้ที่ไวต่อการเคลื่อนย้ายอาหาร รวมถึงขั้นตอนและขบวนการถ่ายยีนไม่เหมาะสม ทำให้ไม่สามารถคัดเลือต้นที่ได้รับการถ่ายยีนเพื่อเพาะเลี้ยงให้เป็นต้นได้

<sup>1/</sup> ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย 72 หมู่ 6 ถนนเด่นห้า-ดงมะตะ ตำบลป่าอ้อดอนชัย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

<sup>2/</sup> ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ 112 หมู่ที่ 12 ตำบลแม้ว อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

<sup>3/</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร 13 หมู่ที่ 6 ตำบลโรงช้าง อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร

<sup>4/</sup> ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น 180 ถนนมิตรภาพ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น



## Abstract

Research and development of Vanda for commercial purpose project was carried out during 2016 – 2020. This project consisted of 3 experiments within 2 activities including varieties's improvement of Vanda aimed to use as genetic resources for breeding and gene transferring to prolong shelf life. Results were as follow : **Plant breeding : Evaluation of potential Vanda hybrids** (*Vanda coerulea* and *V. coerulescens*) was carried out at Chiangrai horticulture research center during 2016-2020. There are two objectives of this study firstly, to select hybrids with good characteristics to substitute the current varieties, secondly, to use as genetic resources for breeding program. Planting 1,107 of *V. coerulea* hybrids from 23 crosses, 822 plants survived and 456 plants gave flowers. First flower was observed after 4 years of planting. Flowering time was during August – February. 17 clones with good characteristics were selected from 7 crosses according to needed criteria. At the same time, 1,203 plants of *V. coerulescens*'s hybrids from 28 crosses were planted. 794 plants survived and started flowering after 3 years of planting during February – March. 169 clones from 24 crosses with good characteristics were selected. **Evaluation of potential Vanda hybrids** (*V. liouvillei* *V. brunnea* and *V. denisoniana*) was carried out at Chiang Mai Royal Agriculture Research Center By studying in 5 parental of 402 hybrids which obtained in 2011-2015 and could survived 4 parental of 213 hybrids. The criteria for selection were round flowers, large flowers, thick petals, fragrant, inflorescences about 5 to 7 flowers per branch, easy to bloom and leaves did not fall. According to the selection criteria, 3 parental of 7 hybrid as follow VL2VL1B4 VL2VL1B8 VL2VL1B10 VL3VL2B6 VL3VL2B7 VL3VL4B9 and VL3VL4S3. All hybrids bloom during February to April. The second location is Phichit Agricultural Research and Development Center which assessment of 3 parental of 818 hybrids potential obtained self-pollination and in vitro seeding in 2011-2015. The result showed that they could survived 3 parental of 310 hybrids and could not induce inflorescence and bloom because the environment was unsuitable for growth and flowering. **Gene transfer** : Transformation of Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) to Vanda orchids and the effect on inflorescence duration and vase life. The transformation of plasmid pCAMBIA1304 harvested antisense-ACO into 3 Vanda orchids were not success. All transformants turned browning and died eventually. This could caused by sensitivity nature of this plant type as well as improper culturing and transforming techniques.

## บทนำ

กล้วยไม้สกุลแวนด้า โดยเฉพาะแวนด้าฟ้ามูยเป็นกล้วยไม้สัญลักษณ์ของประเทศไทย ลักษณะดอกสีฟ้าที่สดใสและลายสมุก (tessellation) มีการนำไปเป็นพ่อแม่เพื่อผลิตลูกผสม สร้างพันธุ์การค้าที่มีชื่อเสียงในปัจจุบันหลายร้อยคู่ผสม นอกจากนี้ยังมีแวนด้าสามปอยที่มีถิ่นกำเนิดเฉพาะทางภาคเหนือของประเทศไทย มีการนำมาเป็นพ่อแม่เพื่อการพัฒนาพันธุ์ เนื่องจากมีเอกลักษณ์โดดเด่นในเรื่องความหอม ซึ่งต่างจากกล้วยไม้สกุลแวนด้าอื่นๆ

นโยบายของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์มีการผลักดันให้มีการส่งออกกล้วยไม้ไปยังต่างประเทศเพิ่มขึ้นทุกๆ ปี ณ ปัจจุบันกล้วยไม้สกุลหวายมีการปลูกเลี้ยงเป็นการค้า และมีการส่งออกมากที่สุด แต่กล้วยไม้สกุลแวนด้าเป็นกล้วยไม้ที่สร้างชื่อเสียงให้กับประเทศจนเป็นที่ยอมรับว่าไทยมีความเชี่ยวชาญอันดับหนึ่ง ของโลก แนวทางในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้กลุ่มแวนด้า ยังมีอีกมากมายโดยการผสมภายในกลุ่ม ข้ามกลุ่ม ข้ามสกุล เพื่อสร้างความหลากหลาย แปลกใหม่ โดยมียังคงลักษณะดีเด่นของแวนด้าไทยชนิดต่างๆไว้ และเพิ่มลักษณะที่เหมาะสมในการผลิตเชิงการค้าเข้าไปให้แวนด้าลูกผสมใหม่ปลูกเลี้ยงง่าย ขยายพันธุ์ง่าย ออกดอกเร็ว ออกดอกหลายครั้งต่อปี ให้จำนวนดอกมากบานทน และทนทานโรค

ประเทศไทยส่งออกดอกกล้วยไม้เป็นอันดับ 2 ของโลก ส่วนใหญ่ส่งออกในรูปกล้วยไม้ตัดดอก ปัญหาที่สำคัญของการจัดส่งกล้วยไม้ตัดดอกคือ ดอกเหี่ยว ช้ำ และร่วง ระหว่างการขนส่ง กลไกการทางชีวภาพที่สำคัญในการส่งผลให้ดอกเหี่ยวและร่วงนั้น เกิดจากการผลิตเอทิลีนในพืชโดยยีน 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACO) เป็นหนึ่งในยีนที่ควบคุมการเกิดกระบวนการดังกล่าวจากกระบวนการ biosynthetic pathway โดยมี methionine เป็นสารตั้งต้น และเปลี่ยน ACC synthase และในสถานะที่มีออกซิเจนจะเปลี่ยนเป็น ACC Oxidase และกระตุ้นให้เกิดการสร้างเอทิลีน ในที่สุด (Yang and Hoffman, 1984) โดยเอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่ง ที่พืชสามารถสร้างเองได้ในธรรมชาติ จัดอยู่ในรูปก๊าซ จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ดอกเสื่อมสภาพและเหี่ยวเร็วขึ้น (Nadeau et al., 1993) ในกล้วยไม้แม่เพียงได้รับเอทิลีนในระดับความเข้มข้นต่ำก็สามารถทำให้เกิดการหลุดร่วงของดอกได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกล้วยไม้สกุลแวนด้าจะตอบสนองต่อก๊าซนี้มากที่สุด (ครรชิตธรรมศิริ, 2541) การชะลอการเหี่ยว และร่วงของพืช ปัจจุบันมีเทคโนโลยีเข้ามาเกี่ยวข้องมากมาย เช่น การแช่หรือรมด้วยสาร 1-methylcyclopropane (1-MCP) และ silverthiosulfate ซึ่งจะสามารถยืดอายุได้ในระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น และมีปัญหาเรื่องความเป็นพิษของสารเคมีที่ใช้การตัดแปลงพันธุกรรมโดยการยับยั้งการสร้างเอทิลีนในพืชจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหานี้ ที่อาจจะนำมาพัฒนาให้ได้กล้วยไม้ที่มีระยะเวลาบานของดอกยาวนาน เป็นการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้ได้อีกวิธีหนึ่ง ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการ สร้างฐานพันธุกรรมกล้วยไม้สกุลแวนด้าสำหรับการปรับปรุงพันธุ์และ 1 เพื่อสร้างฐานพันธุกรรมกล้วยไม้สกุลแวนด้าสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ศึกษาการแสดงออกของยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) oxidase ในการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้า

## ระเบียบวิธีการวิจัย

โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 1.1 การประเมินศักยภาพลูกผสมแวนด้าฟ้ามูย ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	คัดเลือกสายต้น	เปรียบเทียบลักษณะดีเด่น	-
การทดลอง 1.2 การประเมินศักยภาพการลูกผสมแวนด้าสามปอย ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร และศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	คัดเลือกสายต้น	เปรียบเทียบลักษณะดีเด่น	-
การทดลอง 2.1 ศึกษาการแสดงออกของยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) oxidase ในการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้า ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	ไม่มี	การตรวจยีน	-

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า ดำเนินการในปี 2559 – 2563 เป็นการพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่มีการกระจายพันธุ์ทางภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะฟ้ามุยและสามปอยเนื่องจากมีเอกลักษณ์ที่โดดเด่นต่างจากกล้วยไม้สกุลแวนด้าอื่นๆ และศึกษาการส่งถ่ายยีนเพื่อแก้ปัญหาการเหี่ยวและดอกร่วงเร็วของกล้วยไม้สกุลแวนด้าในระหว่างการขนส่ง การวางจำหน่ายและการปักแจกัน ประกอบด้วย 2 กิจกรรม ได้แก่ การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้า และการส่งถ่ายยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) ต่อการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้ มีทั้งหมด 3 การทดลอง ดังนี้

1. การประเมินศักยภาพลูกผสมแวนด้าฟ้ามุย ดำเนินงานที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงใหม่ระหว่างปี 2559 - 2563 เป็นการคัดเลือกลูกผสมฟ้ามุยและฟ้ามุยน้อยที่มีลักษณะดีเพื่อใช้ปลูกทดแทนพันธุ์เดิม หรือใช้เป็นฐานพันธุ์กรรมในการปรับปรุงพันธุ์ ได้ต้นลูกผสมฟ้ามุยออกปลูก 23 คู่ผสม จำนวน 1,107 ต้น รอดชีวิต 822 ต้น มีต้นที่ออกดอกจำนวน 456 ต้น โดยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 4 ปีหลังออกปลูก ในช่วงเดือนสิงหาคม - กุมภาพันธ์ คัดเลือกต้นลูกผสมที่มีลักษณะดีได้ 17 สายต้นจาก 7 คู่ผสม ตัวอย่างได้แก่สายต้น VC 55-02-25 มีฟอร์มดอกกลม ดอกขนาดใหญ่ (ความกว้างดอก > 6 ซม.) ลายตาสมุกและกลีบปากสีฟ้าอมม่วง จำนวนดอกต่อช่อมาก (7 ดอกต่อช่อ) ส่วนลูกผสมฟ้ามุยน้อยออกปลูก 28 คู่ผสม จำนวน 1,203 ต้น รอดชีวิตและออกดอกจำนวน 794 ต้น โดยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 3 ปีหลังออกปลูกในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม คัดเลือกต้นลูกผสมที่มีลักษณะดีได้ 169 สายต้น จาก 24 คู่ผสม ลูกผสมที่คัดเลือกได้มีความหลากหลายของสีและลักษณะของกลีบดอก และขนาดดอก โดยกลีบดอกมีลักษณะแคบ กว้าง บิดและไม่บิด ขนาดดอกมีหลายขนาด โดยดอกขนาดเล็กมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก < 2 ซม. ดอกขนาดกลางมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก 2 - 3.5 ซม. และดอกขนาดใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก > 3.5 ซม. ส่วนสีกลีบมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสีม่วง และม่วงอมแดง สีกลีบปากเข้มกว่าสีกลีบดอก มีจำนวนดอกภายในช่อมากกว่า 10 ดอกขึ้นไปและดอกมีกลิ่นหอม

ลูกผสมฟ้ามุยและฟ้ามุยน้อยที่ได้จากการผสมข้ามต้นภายในชนิดเดียวกันระหว่างปี 2554-2556 ได้ลูกผสมฟ้ามุยออกปลูก 23 คู่ผสม โดยแบ่งเป็นลูกผสมฟ้ามุยที่ผสมพันธุ์ในปี 2554 จำนวน 8 คู่ผสม ปี 2555 จำนวน 12 คู่ผสม และปี 2556 จำนวน 3 คู่ผสม รวม 1,107 ต้น มีต้นที่รอดชีวิต 822 ต้น โดยลูกผสมฟ้ามุยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 4 ปีหลังออกปลูกในช่วงเดือนสิงหาคม - กุมภาพันธ์ มีต้นที่ออกดอกทั้งหมด 456 ต้น ได้คัดเลือกต้นลูกผสมที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 17 สายต้นจาก 7 คู่ผสม ต้นลูกผสมที่ทำการคัดเลือกเป็นต้นที่ออกดอกช่อแรก ซึ่งอาจจะไม่มีลักษณะตรงตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ทั้งหมด แต่ได้คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีเบื้องต้น เช่น ฟอร์มดอกกลม ดอกมีขนาดใหญ่ (ความกว้างดอก > 5 ซม.) และมีลายตาสมุกชัดเจนแลมีความหลากหลายของสี เช่น สีฟ้าอมม่วง ม่วง และ จำนวนดอกต่อช่อมาก ซึ่งต้นที่คัดเลือกดังกล่าวจะต้องมีการประเมินลักษณะต่อเมื่อต้นมีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้นในปีถัดไป

ลูกผสมฟ้ามุยน้อยได้ต้นออกปลูก 28 คู่ผสม โดยแบ่งเป็นลูกผสมที่ผสมพันธุ์ในปี 2554 จำนวน 6 คู่ผสม ปี 2555 จำนวน 11 คู่ผสม และปี 2556 จำนวน 11 คู่ผสม รวม 1,203 ต้น มีต้นรอดชีวิตและออกดอกจำนวน 794 ต้น โดยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 3 ปีหลังออกปลูกในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม คัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะดีตามเกณฑ์ที่กำหนดได้ 169 สายต้น จาก 24 คู่ผสม ต้นที่คัดเลือกได้มีความหลากหลายของลักษณะกลีบดอก สีดอก และขนาดดอก โดยกลีบดอกมีลักษณะแคบ กว้าง บิดและไม่บิด ขนาดดอกแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ดอกขนาดเล็กมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก < 2 ซม. ดอกขนาดกลางมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก 2 - 3.5 ซม. และดอกขนาดใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก > 3.5 ซม. ส่วนสีของกลีบดอกแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มสีม่วง และม่วงอมแดง ส่วนของกลีบปากเข้มกว่าสีกลีบดอก และดอกมีกลิ่นหอม

จากการเพิ่มปริมาณต้นพ่อแม่พันธุ์ฟ้ามุ่ยและฟ้ามุ่ยน้อยโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่าอาหารสูตร NDM สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อส่วนตายอดและตาข้างเกิดโปรโตคอร์มและพัฒนาเป็นต้นขนาดเล็ก จากนั้นย้ายต้นลงสูตรอาหาร V&W ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มก./ล. กล้วยหอมบด 100 กรัม/ลิตร มันฝรั่ง 50 กรัม/ลิตร และผงถ่าน 20 กรัม/ลิตร เพื่อให้พัฒนาเป็นต้นที่มีใบและรากสมบูรณ์ก่อนออกปลูก ซึ่งสูตรอาหารดังกล่าวสามารถนำไปปรับใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นลูกผสมฟ้ามุ่ยและฟ้ามุ่ยน้อยต้นคัดเลือกที่มีลักษณะดีต่อไป

2. การประเมินศักยภาพลูกผสมแวนด้าสามปอย มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกลูกผสมแวนด้าสามปอยที่มีลักษณะดีใช้ปลูกทดแทนพันธุ์เดิมหรือใช้เป็นฐานพันธุ์กรรมในการปรับปรุงพันธุ์ ดำเนินการ ต.ค. 2559 - ก.ย. 2563 ใน 2 สถานที่ คือ 1) ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่เหิยะ : 400 เมตรจากระดับน้ำทะเล) อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ ศึกษาในลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ในปี 2554-2558 จากจำนวน 5 คู่ผสม 402 ต้น ผลการดำเนินงานคือ พบต้นรอดตายจำนวน 4 คู่ผสม 213 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์รอดตาย 52.99 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ คู่ผสมที่ 1 สามปอยหางปลา 2 X สามปอยหางปลา 1 (VL2VL1) คู่ผสมที่ 2 สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 2 (VL3VL2) คู่ผสมที่ 3 สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 4 (VL3VL4) และคู่ผสมที่ 4 สามปอยชมพู 2 X สามปอยหลวง 5 (VB2VD5) พบว่า กลุ่มต้นลูกผสมที่ 1 มีความกว้างทรงพุ่มและความกว้างใบ มากที่สุด กลุ่มต้นลูกผสมที่ 2 มีความสูงทรงพุ่ม จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวรากและเส้นผ่าศูนย์กลางรากมากที่สุด ความต้านทานโรคใบเน่ารากเน่าพบว่า มีความต้านทานโรคเฉลี่ย 77.6-100 % โดยคู่ผสมที่ 1 มีความต้านทานโรคใบเน่ารากเน่ามากที่สุดคือ 92.37 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือคู่ผสมที่ 2 และ 3 ตามลำดับที่มีความต้านทานต่อโรคใบเน่ารากเน่า 81.7 และ 77.6 เปอร์เซ็นต์ มีการออกดอกจำนวน 3 คู่ผสม 35 ต้น ได้แก่ คู่ผสมที่ 1 จำนวน 10 ต้น คู่ผสมที่ 2 จำนวน 11 ต้น และคู่ผสมที่ 3 จำนวน 14 ต้น ซึ่งคู่ผสมที่ 3 มีการออกดอกมากที่สุด ได้ต้นคัดเลือกที่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดได้แก่ พอร์มดอกกลม ดอกมีขนาดใหญ่ กลีบหนามีกลิ่นหอม ซ่อดอกไม่ยาวมาก มี 5-7 ดอกต่อซ่อ และออกดอกง่าย ใบไม่ร่วง ทั้งหมด 3 คู่ผสม 7 ต้นคือ คู่ผสมที่ 1 จำนวน 3 ต้น ได้แก่ VL2VL1B4, VL2VL1B8 และ VL2VL1B10 คู่ผสมที่ 2 จำนวน 2 ต้น ได้แก่ VL3VL2B6 และ VL3VL2B7 และคู่ผสมที่ 3 จำนวน 2 ต้น ได้แก่ VL3VL4B9 และ VL3VL4S3 ที่มีการแทงซ่อดอก ดอกบานและร่วงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน 2) ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร ศึกษาลูกผสมตัวเองและเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในปี 2554-2558 จำนวน 3 คู่ผสม ได้แก่ สามปอยดง สามปอยนก และสามปอยขุนตาน จำนวน 818 ต้น พบว่า ลูกผสมกล้วยไม้สกุลแวนด้าสามปอยมีจำนวนต้นรอดตาย 310 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์รอดตาย 38 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตช้า ต้นลูกผสมไม่สมบูรณ์ ทำให้ไม่สามารถเกิดซ่อดอกและออกดอกได้ เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการออกดอก จึงไม่สามารถประเมินศักยภาพลูกผสมได้

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร ลูกผสมกล้วยไม้สกุลแวนด้าสามปอย มีอัตราการรอดชีวิตน้อยและมีการเจริญเติบโตช้า ต้นลูกผสมไม่สมบูรณ์ ทำให้ไม่สามารถเกิดซ่อดอกและออกดอกได้ เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการออกดอก จึงไม่สามารถประเมินศักยภาพลูกผสมได้ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลูกผสมกล้วยไม้สกุลแวนด้าสามปอยจากชิ้นส่วนใบอ่อนและปลายรากบนอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ดัดแปลง ไม่สามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ บางชิ้นส่วนเกิดสีน้ำตาลและทำให้ชิ้นส่วนตาย

ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ ดูแลรักษาลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ในปี 2554-2558 จากจำนวน 5 คู่ผสม 402 ต้น พบต้นรอดตายจำนวน 4 คู่ผสม 213 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์รอดตาย 52.99 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า กลุ่มต้นลูกผสมที่ 1 ซึ่งเป็นคู่ผสมระหว่าง สามปอยหางปลา 2 X สามปอยหางปลา 1 มีความกว้างทรงพุ่มและความกว้างใบ มากที่สุด กลุ่มต้นลูกผสมที่ 2 ซึ่งเป็นคู่ผสมระหว่าง สามปอยหางปลา 3 X

สามปอยหางปลา 2 มีความสูงทรงพุ่ม จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวรากและเส้นผ่าศูนย์กลางรากมากที่สุด ความต้านทานโรคใบเน่ารากเน่าพบว่า มีความต้านทานโรคเฉื่อย 77.6-100% โดยกลุ่มที่ 1 สามปอยหางปลา 2 X สามปอยหางปลา 1 รหัส (VL2VL1) มีความต้านทานโรคใบเน่ารากเน่ามากที่สุดคือ 92.37 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกลุ่มที่ 2 และ 3 ตามลำดับที่มีความต้านทานต่อโรคใบเน่ารากเน่า 81.7 และ 77.6 เปอร์เซ็นต์ มีการออกดอกจำนวน 3 กลุ่ม 35 ต้น ได้แก่ กลุ่มที่ 1 สามปอยหางปลา 2 X สามปอยหางปลา 1 (VL2VL1) มีจำนวนต้นที่ออกดอกทั้งหมด 10 ต้น กลุ่มที่ 2 สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 2 (VL3VL2) มีจำนวนต้นที่ออกดอกทั้งหมด 11 ต้น และกลุ่มที่ 3 สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 4 (VL3VL4) มีจำนวนต้นที่ออกดอกทั้งหมด 14 ต้น ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ 3 มีการออกดอกมากที่สุด คัดเลือกต้นลูกผสมตามหลักเกณฑ์การคัดเลือก เพื่อนำไปขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณต้นคัดเลือกโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้ต้นที่ผ่านเกณฑ์ทั้งหมด 3 กลุ่ม 7 ต้นคือ กลุ่มที่ 1 สามปอยหางปลา 2 X สามปอยหางปลา 1 (VL2VL1) ได้ต้นที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือก 3 ต้น ได้แก่ VL2VL1B4, VL2VL1B8 และ VL2VL1B10 กลุ่มที่ 2 สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 2 (VL3VL2) ได้ต้นที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือก 2 ต้น ได้แก่ VL3VL2B6 และ VL3VL2B7 และกลุ่มที่ 3 สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 4 รหัส (VL3VL4) ได้ต้นที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือก 2 ต้น ได้แก่ VL3VL4B9 และ VL3VL4S3 ที่มีการแทงช่อดอก ดอกบานและร่วงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน ต้นลูกผสมแวนด้าสามปอยที่ผ่านการประเมินคุณลักษณะ จำนวน 7 ต้น สามารถนำไปขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณต้นคัดเลือกโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อผลิตต้นพันธุ์ที่ดีสำหรับปลูกทดแทนพันธุ์เดิมหรือใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์

3. ศึกษาการแสดงออกของยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) oxidase ในการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้า กล้วยไม้แวนด้ามีปัญหาที่สำคัญคือการเหี่ยวและดอกร่วงเร็วในระหว่างการขนส่ง การวางจำหน่ายและการปักแจกัน การเหี่ยวและหลุดร่วงของดอกเกิดเนื่องจากก๊าซเอทิลีนที่พืชสร้างขึ้นโดยยีน 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACO) เป็นหนึ่งในยีนที่ควบคุมกระบวนการผลิตก๊าซดังกล่าว การยับยั้งการทำงานของยีนนี้โดยการส่งถ่ายยีนต้านการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค antisense มีรายงานว่าสามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนนี้ได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) oxidase ในการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้แวนด้าการทดลองส่งถ่ายยีนดังกล่าวเข้าสู่โปรโตคอร์มกล้วยไม้แวนด้า 3 พันธุ์ ได้แก่ จักรกฤษณ์ (JK) เหลืองสุริช (YS) และลุมพินีเรด (LR) ด้วยเทคนิค Cocultivation กับ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAMBIA1304 ซึ่งมียีน antisense-ACO เชื่อมอยู่ภายในพลาสมิดนี้ พบว่าไม่ประสบความสำเร็จ โปรโตคอร์มไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ และตายทั้งหมดในเวลาต่อมา ซึ่งอาจเกิดจากลักษณะของพืชชนิดนี้ที่ไวต่อการเคลื่อนย้ายอาหาร รวมถึงขั้นตอนและขบวนการถ่ายยีนไม่เหมาะสม ทำให้ไม่สามารถคัดเลือกต้นที่ได้รับการถ่ายยีนเพื่อเพาะเลี้ยงให้เป็นต้นได้

การขยายพันธุ์โปรโตคอร์มของแวนด้าทั้ง 3 พันธุ์ พบว่ามีปัญหาขยายได้ช้า ต้นตายหลังจากการถ่ายอาหารทั้งในสภาพอาหารแข็งและอาหารเหลว การย้ายอาหารมักทำให้เกิดการหยุดชะงักการเจริญเติบโตระยะหนึ่งก่อนจะเริ่มฟื้นตัว การทดลองส่งถ่ายยีนเข้าสู่โปรโตคอร์มแวนด้าทั้ง 3 พันธุ์ ยังไม่ประสบความสำเร็จ พบว่า โปรโตคอร์มตายหลังการเพาะเลี้ยงในที่มืด การทดลองปรับสูตรอาหารเหลวใหม่เพื่อการขยายพันธุ์โปรโตคอร์ม พบว่ามีการเจริญเติบโตโดยสังเกตจากมีสีเขียวเพิ่มขึ้น แต่ประสบปัญหาการตัดไฟ 2 ครั้งในระหว่างสัปดาห์ ในช่วงที่มีการเพาะเลี้ยงทำให้ต้นที่ได้ตาย

การขยายโปรโตคอร์มกล้วยไม้แวนด้าเหลืองสุริชในอาหารเหลวสูตร NDM ที่ไม่เติมฮอร์โมนพืชและไขมัน ผังพบว่าโปรโตคอร์มมีขนาดเล็กและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหลังแช่ได้ 1 สัปดาห์การทดสอบ *A. Tumefaciens* ที่

ได้รับการส่งถ่ายยีนแล้ว ทำการเพาะในอาหาร LB ที่มียาปฏิชีวนะ Kanamycin เพื่อทดสอบความมีชีวิตและมียีนในพลาสมิดที่พร้อมส่งถ่ายยีนได้พบว่า เชื้อยังมีชีวิตและสามารถตรวจพบยีน 35S, NOS terminator, และ NOS-ACO ได้ แต่การทดลองส่งถ่ายยีนเข้าสู่แนวตั้งหลอดสุรค์ต้นที่เจริญแล้ว พบว่าไม่ประสบความสำเร็จ โปรโตคอร์มที่รับการส่งถ่ายยีนแล้ว ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ ทุกตัวอย่างเกิด browning และ necrosis ตามมาในที่สุด แนวทางแก้ไขต้องทำการปรับสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยง รวมทั้งปรับขบวนการถ่ายยีนทั้งหมด ให้เหมาะสมกับพืชชนิดนี้ ผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปปรับใช้ในการถ่ายยีน ACO เข้าสู่กล้วยไม้สกุลหวาย

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า ดำเนินการในปี 2559 – 2563 เป็นการพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่มีการกระจายพันธุ์ทางภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะฟ้ามุยและสามปอยเนื่องจากมีเอกลักษณ์ที่โดดเด่นต่างจากกล้วยไม้สกุลแวนด้าอื่นๆ และศึกษาการส่งถ่ายยีนเพื่อแก้ปัญหาการเหี่ยวและดอกร่วงเร็วของกล้วยไม้สกุลแวนด้าในระหว่างการขนส่ง การวางจำหน่ายและการปักแจกันการปรับปรุงพันธุ์และพัฒนากล้วยไม้สกุลแวนด้าพันธุ์แท้ ทำได้โดยการผสมพันธุ์ข้ามต้นจากแวนด้าชนิดเดียวกัน (Interclonal) ลูกที่ได้ยังคงเป็นพันธุ์แท้เหมือนเดิมแต่จะมีลักษณะที่หลากหลายมากขึ้น ถ้าต้นที่นำมาผสมมีลักษณะดีโอกาสที่จะได้ลูกที่มีลักษณะดีก็มีมากขึ้นด้วย

1.1 การประเมินศักยภาพลูกผสมแวนด้าฟ้ามุย จากการปลูกลูกผสมฟ้ามุยและฟ้ามุยน้อยที่ได้จากการผสมข้ามต้นภายในชนิดเดียวกันระหว่างปี 2554-2556 ได้ลูกผสมฟ้ามุยออกปลูก 23 คู่ผสม โดยแบ่งเป็นลูกผสมฟ้ามุยที่ผสมพันธุ์ในปี 2554 จำนวน 8 คู่ผสม ปี 2555 จำนวน 12 คู่ผสม และปี 2556 จำนวน 3 คู่ผสม รวม 1,107 ต้น มีต้นที่รอดชีวิต 822 ต้น โดยลูกผสมฟ้ามุยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 4 ปีหลังออกปลูกในช่วงเดือนสิงหาคม - กุมภาพันธ์ มีต้นที่ออกดอกทั้งหมด 456 ต้น ได้คัดเลือกต้นลูกผสมที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 17 สายต้นจาก 7 คู่ผสม ต้นลูกผสมที่ทำการคัดเลือกเป็นต้นที่ออกดอกช่อแรก ซึ่งอาจจะไม่มีลักษณะตรงตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ทั้งหมด แต่ได้คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีเบื้องต้น เช่น พอร์มดอกกลม ดอกมีขนาดใหญ่ (ความกว้างดอก >5 ซม.) และมีลายตาสมุกชัดเจนแลมีความหลากหลายของสี เช่น สีฟ้าอมม่วง ม่วง และ จำนวนดอกต่อช่อมาก ซึ่งต้นที่คัดเลือกดังกล่าวจะต้องมีการประเมินลักษณะต่อเมื่อต้นมีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้นในปีถัดไป ส่วนลูกผสมฟ้ามุยน้อยได้ต้นออกปลูก 28 คู่ผสม โดยแบ่งเป็นลูกผสมที่ผสมพันธุ์ในปี 2554 จำนวน 6 คู่ผสม ปี 2555 จำนวน 11 คู่ผสม และปี 2556 จำนวน 11 คู่ผสม รวม 1,203 ต้น มีต้นรอดชีวิตและออกดอกจำนวน 794 ต้น โดยเริ่มออกดอกช่อแรกเมื่ออายุ 3 ปีหลังออกปลูกในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม คัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะดีตามเกณฑ์ที่กำหนดได้ 169 สายต้น จาก 24 คู่ผสม ต้นที่คัดเลือกได้มีความหลากหลายของลักษณะกลีบดอก สีดอก และขนาดดอก โดยกลีบดอกมีลักษณะแคบ กว้าง บิดและไม่บิด ขนาดดอกแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ดอกขนาดเล็กมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก <2 ซม. ดอกขนาดกลางมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก 2 - 3.5 ซม. และดอกขนาดใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก >3.5 ซม. ส่วนสีช่อกลิบบอกแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มสีม่วง และม่วงอมแดง ส่วนของกลีบปากเข้มกว่าสีกลีบดอก และดอกมีกลิ่นหอม

1.2 การประเมินศักยภาพลูกผสมแวนด้าสามปอย ดำเนินการ ระหว่างปี 2 สถานที่ คือ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ศึกษาในลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ในปี 2554-2558 จากจำนวน 5 คู่ผสม 402 ต้น มีต้นรอดชีวิตจำนวน 4 คู่ผสม 213 ต้น ได้แก่ VL2VL1 VL3VL2 VL3VL4 และ VB2VD5 มีการออกดอกจำนวน 3 คู่ผสม 35 ต้น ได้แก่ VL2VL1 จำนวน 10 ต้น VL3VL2 จำนวน 11 ต้น และ VL3VL4 จำนวน 14 ต้น ซึ่งมีการออกดอกมากที่สุด ได้ต้นคัดเลือกที่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดได้แก่ พอร์มดอกกลม ดอกมีขนาดใหญ่ กลีบหนา มีกลิ่นหอม ช่อดอกไม่ยาวมาก มี 5-7 ดอกต่อช่อ และออกดอกง่าย ใบไม่ร่วง ทั้งหมด 3 คู่ผสม 7 ต้น ได้แก่ VL2VL1B4

VL2VL1B8 VL2VL1B10 VL3VL2B6 VL3VL2B7 VL3VL4B9 และ VL3VL4S3 ที่มีการแทงช่อดอก ดอกบาน และร่วงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน ส่วนศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ศึกษาลูกผสมตัวเอง และเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในปี 2554-2558 จำนวน 3 คู่ผสม ได้แก่ สามปอยดง สามปอยนง และสามปอยขุนตาน จำนวน 818 ต้น พบว่า ลูกผสมกล้วยไม้สกุลแวนด้าสามปอยมีจำนวนต้นรอดตาย 310 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์รอดตาย 38 เปอร์เซ็นต์ ต้นลูกผสมไม่สมบูรณ์มีการเจริญเติบโตช้า ไม่สามารถเกิดช่อดอกได้ เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการออกดอก จึงไม่สามารถประเมินศักยภาพลูกผสมได้ต้นพ่อแม่พันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตต้นลูกที่มีลักษณะดีรวมทั้งลูกผสมฟ้ามุ่ย ฟ้ามุ่ยน้อยและสามปอยที่ผ่านการประเมินลักษณะสามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์เพื่อปลูกทดแทนพันธุ์เดิมหรือใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุ์ ฟ้ามุ่ยและฟ้ามุ่ยน้อยเพิ่มปริมาณได้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนตายอดและตาข้าง ในอาหารสูตร NDM ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มและพัฒนาเป็นต้นขนาดเล็ก จากนั้นย้ายต้นลงสูตรอาหาร V&W ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มก./ล. กล้วยหอมบด 100 กรัม/ลิตร มันฝรั่ง 50 กรัม/ลิตร และผงถ่าน 20 กรัม/ลิตร เพื่อให้พัฒนาเป็นต้นที่มีใบและรากสมบูรณ์ก่อนออกปลูก ซึ่งสูตรอาหารดังกล่าวสามารถนำไปปรับใช้ในการเพิ่มปริมาณกล้วยไม้สกุลแวนด้าชนิดอื่นๆ ได้

1.3 การส่งถ่ายยีน Antisense ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylase) ต่อการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้ โดยศึกษาการแสดงออกของยีนในการยืดอายุการบานของดอกกล้วยไม้สกุลแวนด้าด้วยเทคนิค Cocultivation กับ *Agrobacterium tumefaciens* พบว่าไม่ประสบความสำเร็จ โปรโตคอร์มไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ และตายทั้งหมดในเวลาต่อมา ซึ่งอาจเกิดจากลักษณะของพืชชนิดนี้ที่ไวต่อการเคลื่อนย้ายอาหารรวมถึงขั้นตอนและขบวนการถ่ายยีนไม่เหมาะสม ทำให้ไม่สามารถคัดเลือกต้นที่ได้รับการถ่ายยีนเพื่อเพาะเลี้ยงให้เป็นต้นได้

## ตารางและภาพ

ตารางที่ 2.1 จำนวนต้นลูกผสมฟ้ามุ่ยที่ออกดอกและจำนวนต้นที่ผ่านการคัดเลือก

ปีที่ผสมพันธุ์	รหัสคู่ผสม	จำนวนต้นออกปลูก	จำนวนต้นรอดชีวิต	จำนวนต้นออกดอก	จำนวนต้นคัดเลือก
ปี 2554	VC54-02	192	160	84	3
	VC54-05	22	14	10	-
	VC54-06	32	28	15	-
	VC54-11	16	15	13	-
	VC54-12	38	32	23	2
	VC54-14	34	26	24	-
	VC54-17	69	60	40	1
	VC54-19	31	26	20	3
ปี 2555	VC55-01	109	65	20	-
	VC55-02	236	168	92	5
	VC55-03	60	60	20	-
	VC55-04	8	8	6	-
	VC55-08	25	21	5	-
	VC55-13	14	12	8	-
	VC55-15	32	18	14	-
	VC55-24	27	23	10	-
	VC55-25	27	20	16	1
	VC55-28	10	9	5	-
	VC55-30	30	24	12	-
	VC55-31	14	12	7	2
ปี 2556	VC 56-07	50	50	5	-
	VC 56-13	5	5	1	-
	VC 56-14	26	26	6	-
รวม		1,107	822	456	17



ตารางที่ 2.2 จำนวนต้นลูกผสมที่ม่วยน้อยที่ออกดอกและผ่านการคัดเลือก

ปีที่ผสมพันธุ์	รหัสคู่ผสม	จำนวนต้นออกปลูก	จำนวนต้นรอดชีวิต	จำนวนต้นออกดอก	จำนวนต้นคัดเลือก	
ปี 2554	VCL54-08	65	40	40	15	
	VCL54-09	90	49	49	7	
	VCL54-10	34	29	29	11	
	VCL54-14	89	38	38	12	
	VCL54-17	258	150	150	19	
	VCL54-18	26	14	14	7	
ปี 2555	VCL 55-03	20	15	15	-	
	VCL 55-04	23	23	23	1	
	VCL 55-05	72	48	48	1	
	VCL 55-07	20	14	14	1	
	VCL 55-09	105	50	50	3	
	VCL 55-11	11	11	11	3	
	VCL 55-14	19	17	17	1	
	VCL 55-39	20	16	16	11	
	VCL 55-41	35	33	33	11	
	VCL 55-45	48	39	39	19	
	VCL 55-47	18	11	11	-	
	ปี 2556	VCL 56-03	3	3	3	-
VCL 56-04		2	2	2	1	
VCL 56-05		27	19	19	-	
VCL 56-06		2	2	2	2	
VCL 56-09		2	2	2	1	
VCL 56-12		17	13	13	8	
VCL 56-13		149	120	120	13	
VCL 56-19		10	8	8	4	
VCL 56-20		12	11	11	8	
VCL 56-22		20	12	12	5	
VCL 56-23		6	5	5	5	
รวม			1,203	794	794	169

**ตารางที่ 2.3** เปรอ์เซ็นต์การรอดชีวิต และจำนวนต้นรอดตายของลูกผสมแวนด้าสามปอยดง สามปอยนงและสามปอยขุนตานอายุ 2 ปี ถึง 7 ปี หลังออกปลูก

อายุต้น	อัตราการรอดชีวิต (%)		
	สามปอยดง X สามปอยดง	สามปอยนง X สามปอยนง	สามปอยขุนตาน X สามปอยขุนตาน
2 ปี	100	100	100
2 ปี 6 เดือน	84.0	88.8	100
3 ปี	68.6	72.0	54.7
3 ปี 6 เดือน	62.0	64.0	47.3
4 ปี	61.5	62.4	44.0
4 ปี 6 เดือน	59.3	55.2	37.0
5 ปี	59.0	55.2	37.0
5 ปี 6 เดือน	59.0	55.2	37.0
6 ปี	55.8	42.4	32.1
6 ปี 6 เดือน	50.6	31.2	27.2
อายุต้น	จำนวนต้นรอดตาย (ต้น)		
	สามปอยดง X สามปอยดง	สามปอยนง X สามปอยนง	สามปอยขุนตาน X สามปอยขุนตาน
2 ปี	450	125	243
2 ปี 6 เดือน	340	111	243
3 ปี	278	90	133
3 ปี 6 เดือน	251	80	115
4 ปี	249	78	107
4 ปี 6 เดือน	240	69	90
5 ปี	239	69	90
5 ปี 6 เดือน	239	69	90
6 ปี	226	53	78
6 ปี 6 เดือน	223	40	72
7 ปี	205	39	66
รวมทั้งหมด		310	

**ตารางที่ 2.4** จำนวนต้นของลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามต้นภายในชนิดเดียวกัน ผสมข้ามชนิด และผสมตัวเอง จำนวน 5 คู่ผสม

คู่ผสมที่	รหัสคู่ผสม	แม่Xพ่อ	จำนวนต้น ปลูก	จำนวนต้น รอดตาย	ขนาดต้น		
					ใหญ่	กลาง	เล็ก
1	VL2VL1	สามปอยหางปลา 2 X สามปอยหางปลา 1	116	100	13	37	50
2	VL3VL2	สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 2	101	60	15	11	34
3	VL3VL4	สามปอยหางปลา 3 X สามปอยหางปลา 4	95	52	10	20	22
4	VB2VD5	สามปอยชมพู 2 X สามปอยหลวง 5	1	1	1	-	-
5	VD4	สามปอยดง 4 (ผสมตัวเอง)	3	-	-	-	-
รวม			316	213			

**ตารางที่ 2.5** ความต้านทานโรคใบเน่ารากเน่า หน่วย : เปอร์เซ็นต์

รหัสคู่ผสม	จำนวนต้นรอดตาย	กลุ่มต้นขนาดใหญ่	กลุ่มต้นขนาดกลาง	กลุ่มต้นขนาดเล็ก	เฉลี่ย
VL2VL1	100	88.2	100	88.9	92.37
VL3VL2	60	75	100	70.1	81.70
VL3VL4	52	100	50	82.8	77.60
VB2VD5	1	100	-	-	100.00

**ตารางที่ 2.6** สรุปผลอิทธิพลของสารปฏิชีวนะ Cefotaxime ต่อการเจริญของ *A. tumefaciens* (pCAMBIA1305)

ความเข้มข้นของสาร Cefotaxime (มก./ล.)	ผลของสาร Cefotaxime ต่อ <i>A. tumefaciens</i>										รวม	เฉลี่ย	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5			
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	5.5	5	5	5.5	5	5	5.6	5.5	5	5.4	52.5	5.25	
200	6.4	6	5.5	7	6.1	6.8	5.5	5.7	6.6	6	61.6	6.16	
300	6	5.5	6.2	7.3	6.7	7.5	6.4	5.8	5.7	7.8	64.9	6.49	
400	8	7.6	7.8	6.9	5.9	7.4	8.9	4.8	8.7	6.7	72.7	7.27	
500	8	9.5	9.8	10	7.9	8	8.1	7.4	8	8.9	85.6	8.56	



VC 54-02-01



VC 54-02-13



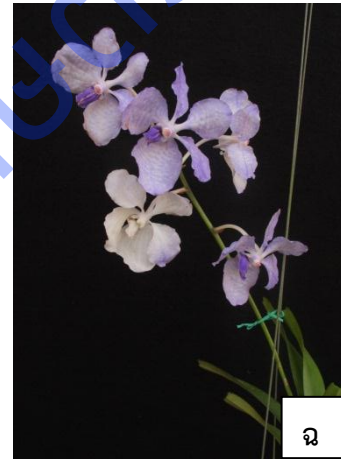
VC 54-02-32



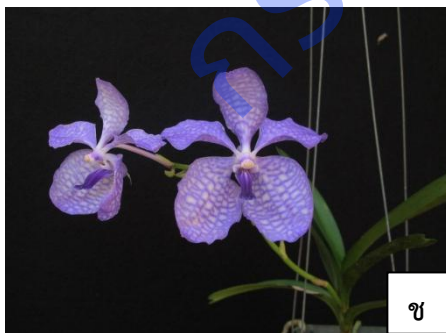
VC 54-12-06



VC 54-12-17



VC 54-17-15



VC 54-19-01



VC 54-19-09



VC 54-19-15

ภาพที่ 2.1 ลักษณะดอกของลูกผสมพ้ามุ่ยที่ผ่านการคัดเลือก VC 54-02-01(ก) VC 54-02-13(ข)  
 VC 54-02-32 (ค) VC 54-12-06 (ง) VC 54-12-17 (จ) VC 54-17-15 (ฉ)  
 VC 54-19-01 (ช) VC 54-19-09 (ซ) VC 54-19-15 (ณ)



VC 55-02-24



VC 55-02-25



VC 55-02-26



VC 55-02-27



VC 55-02-34



VC 55-25-07



VC 55-31-05



VC 55-31-08

ภาพที่ 2.2 ลักษณะดอกของต้นลูกผสมแวนด้าฟ้ามูยี่ที่ผ่านการคัดเลือก VC 55-02-24 (ก) VC 55-02-25 (ข) VC 55-02-26 (ค) VC 55-02-27 (ง) VC 55-02-34 (จ) VC 55-25-07 (ฉ) VC 55-31-05 (ช) VC 55-31-08 (ซ)



VCL 54-08-15



VCL 54-10-01



VCL 54-17-09



VCL 55-39-08



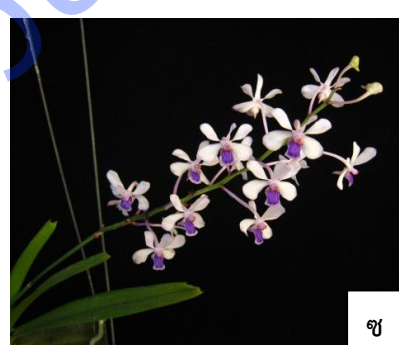
VCL 55-41-13



VCL 55-45-36



VCL 56-19-09

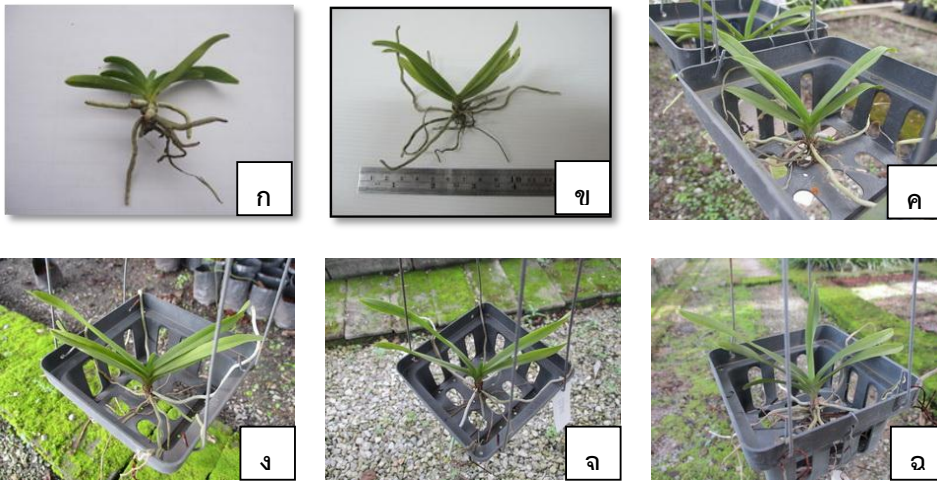


VCL 56-22-12

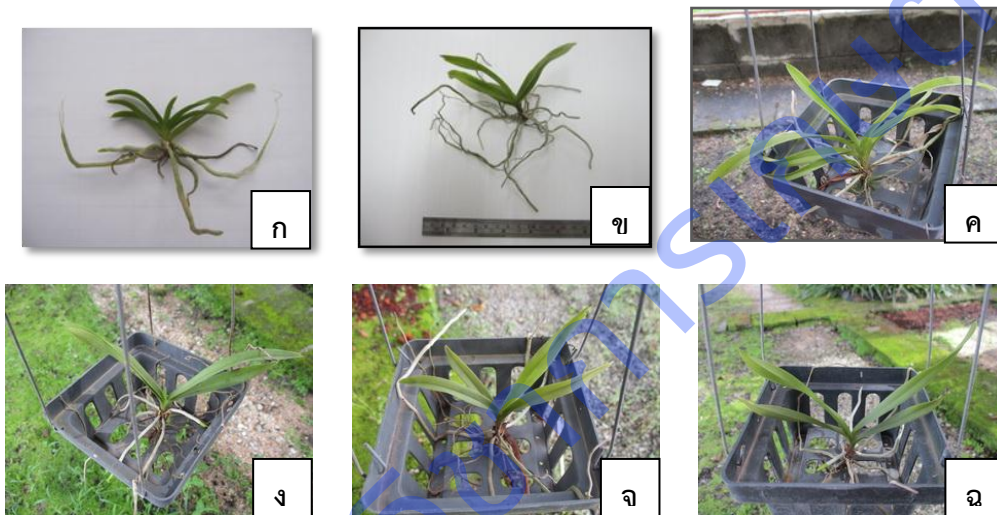


VCL 56-23-02

ภาพที่ 2.3 ตัวอย่างลักษณะช่อดอกของต้นลูกผสมพ้ามุ่ยน้อยที่ผ่านการคัดเลือก VCL 54-08-15 (ก)  
 VCL 54-10-01 (ข) VCL 54-17-09 (ค) VCL 55-39-08 (ง) VCL 55-41-13 (จ)  
 VCL 55-45-36 (ฉ) VCL 56-19-09 (ช) VCL 56-22-12 (ซ) VCL 56-23-02 (ณ)



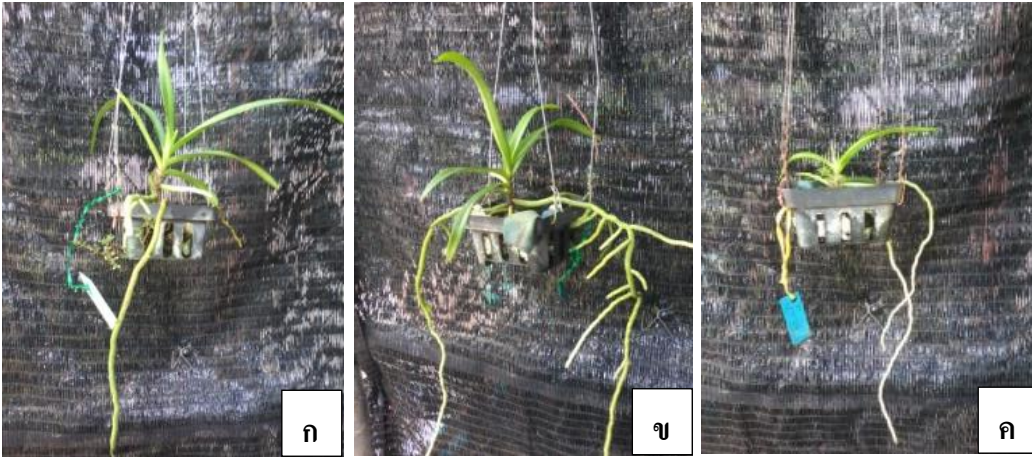
ภาพที่ 2.4 ลักษณะของลูกผสมกล้วยไม้แวนด้าสามปอยดง อายุ 2 ปี (ก) 3 ปี (ข) 4 ปี (ค) 5 ปี (ง) 6 ปี (จ) และ 7 ปี (ฉ) หลังออกปลูก



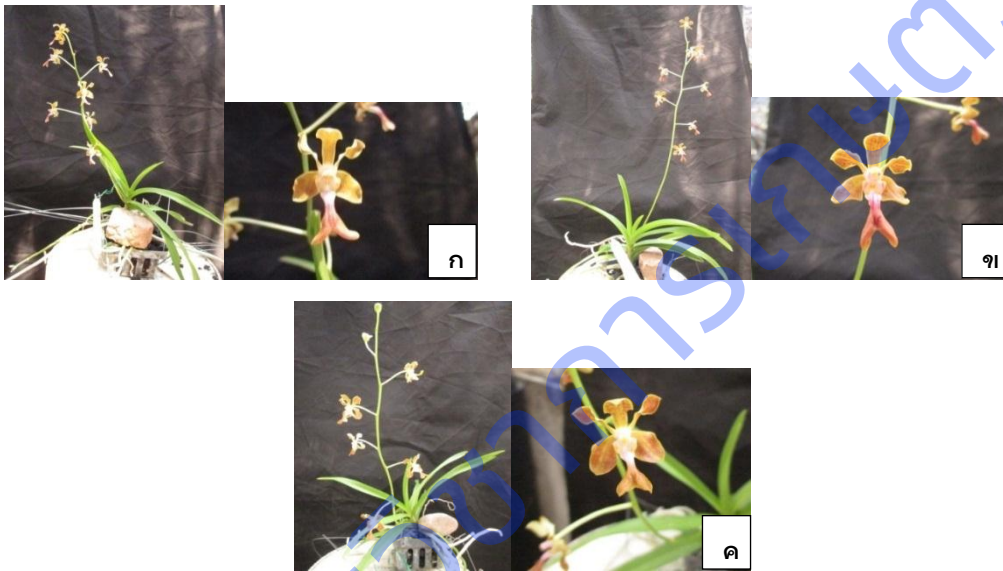
ภาพที่ 2.5 ลักษณะของลูกผสมกล้วยไม้แวนด้าสามปอยนง อายุ 2 ปี (ก) 3 ปี (ข) 4 ปี (ค) 5 ปี (ง) 6 ปี (จ) และ ฉ 7 ปี หลังออกปลูก



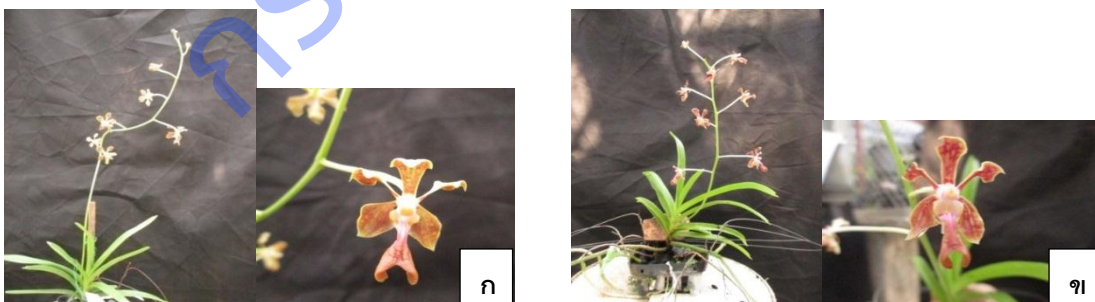
ภาพที่ 2.6 ลักษณะของลูกผสมกล้วยไม้แวนด้าสามปอยขุนตาน อายุ 2 ปี (ก) 3 ปี (ข) 4 ปี (ค) 5 ปี (ง) 6 ปี (จ) และ ฉ 7 ปี หลังออกปลูก



ภาพที่ 2.7 การแบ่งกลุ่มต้นของแวนด้าสามปอยลูกผสม กลุ่มขนาดใหญ่ (ก) กลุ่มขนาดกลาง (ข) และกลุ่มขนาดเล็ก (ค) ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่

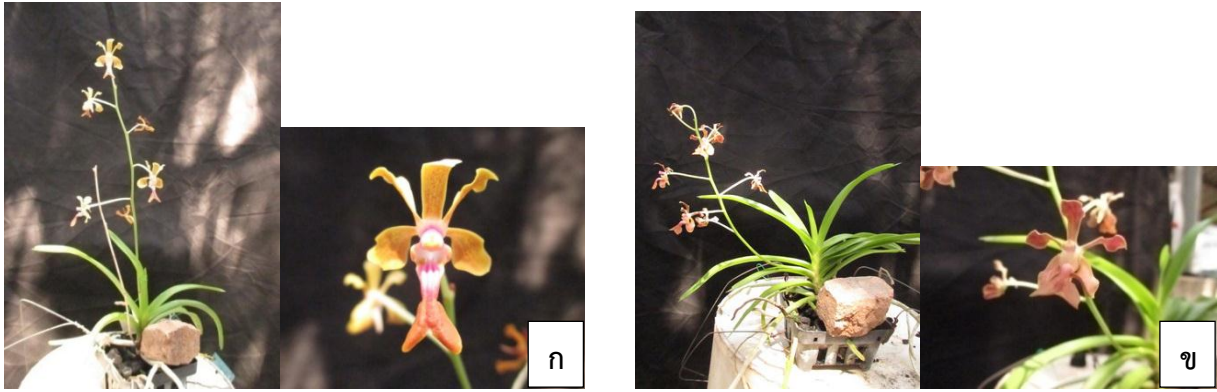


ภาพที่ 2.8 ลูกผสมต้นคัดเลือกจากคู่ผสมที่ 1 VL2VL1B4 (ก) VL2VL1B8 (ข) VL2VL1B10 (ค) ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่

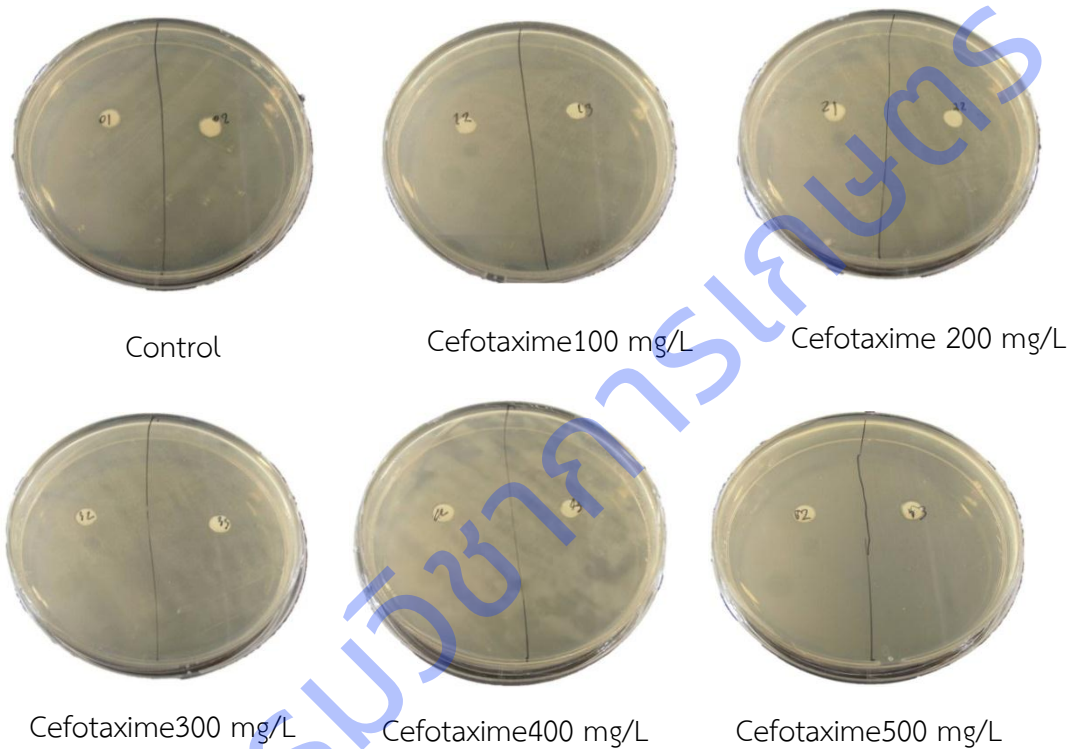


ภาพที่ 2.9 ลูกผสมต้นคัดเลือกจากคู่ผสมที่ 2 VL3VL2B6 (ก) VL3VL2B7 (ข) ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่





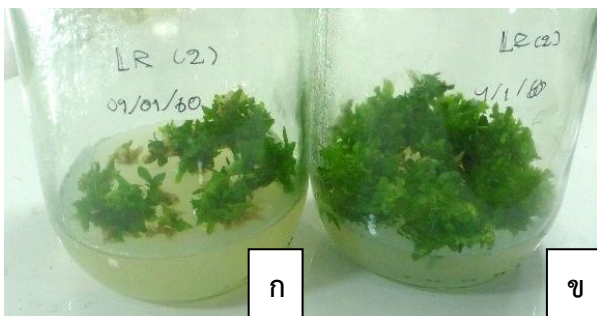
ภาพที่ 2.10 ลูกผสมต้นคัดเลือกจากคู่ผสมที่ 3 VL3VL4B9 (ก) VL3VL4S3 (ข) ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวง เชียงใหม่ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่



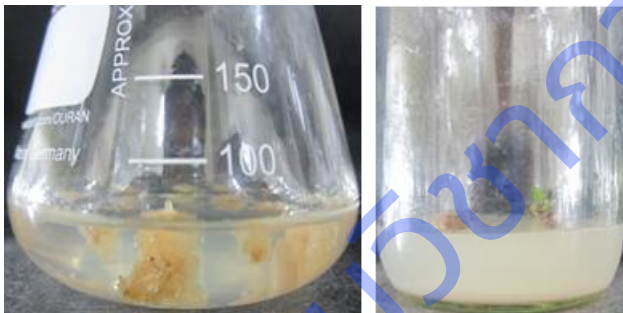
ภาพที่ 2.11 การเกิดบริเวณวงใส (Clear zone) จากการถูกยับยั้งการเจริญของ *A. tumefaciens* จาก Cefotaxime ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 2.12 ลักษณะการเจริญของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์ JK เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง ลักษณะเมื่อเริ่มย้ายอาหาร (ก) การเจริญของโปรโตคอร์มหลังการฟื้นตัวเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (ข) การเจริญของโปรโตคอร์มหลังการฟื้นตัวเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง 6 เดือน (ค)



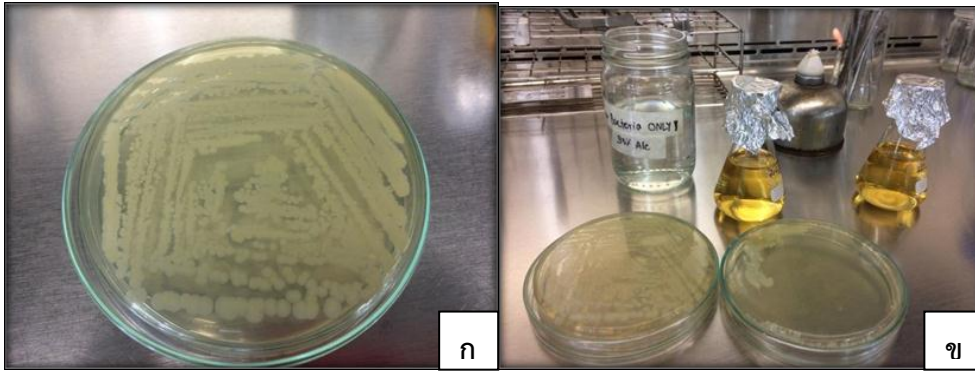
ภาพที่ 2.13 ลักษณะการเจริญของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์ LR เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง การเจริญของโปรโตคอร์มที่วางกลุ่มห่างกัน (ก) การเจริญของโปรโตคอร์มที่วางกลุ่มใกล้ชิดกัน (ข)



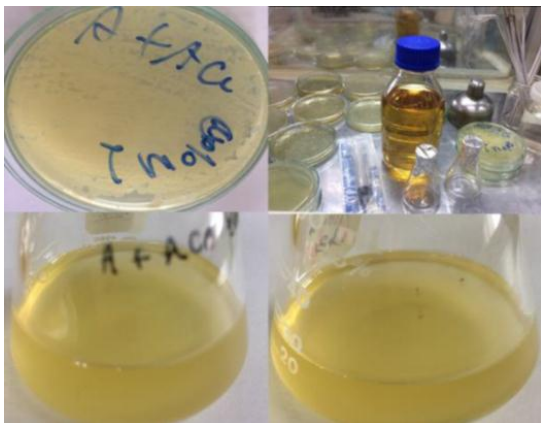
ภาพที่ 2.14 การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้แวนดาพันธุ์ YS เพาะเลี้ยงในอาหาร 2 ลักษณะ การเจริญของโปรโตคอร์มหลังในอาหารเหลว (ก) การเจริญของโปรโตคอร์มเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง 6 เดือน (ข)



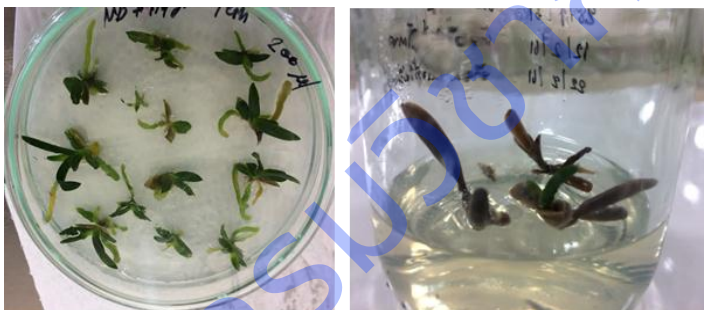
ภาพที่ 2.15 การเปลี่ยนแปลงของโปรโตคอร์มกล้วยไม้แวนดา JK หลังการถ่ายยีน ACO และเพาะเลี้ยงในที่มืด 3 วัน



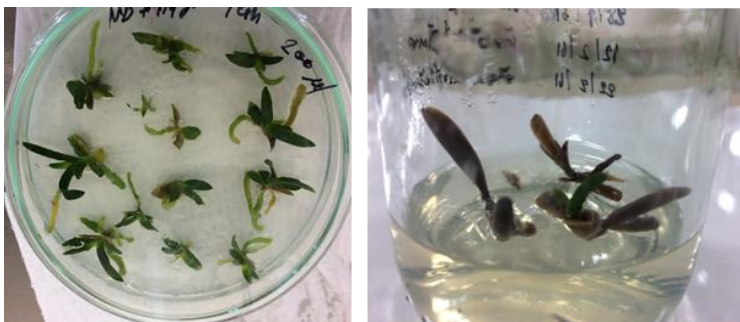
ภาพที่ 2.16 การเตรียมเชื้อ *A. tumefaciens* ที่มียีน *ACC oxidase* โคโลนีเชื้อ *A. tumefaciens* ที่มีดีเอ็นเอ(ก) เลี้ยงเชื้อ *A. tumefaciens* ในอาหารเหลว LB+ kanamycin 50 มก./ล.(ข)



ภาพที่ 2.17 การเลี้ยงเชื้อ *A. tumefaciens* EHA105 ที่มียีน *ACO* ในอาหารเหลว LB ที่เติม Kanamycin



ภาพที่ 2.18 กล้วยไม้แวนด้าเหลืองสุรขที่ได้รับการถ่ายยีน ในอาหาร NDM ที่เติมสารปฏิชีวนะ hygromycin 20 มก./ล. ระยะ 1 สัปดาห์



ภาพที่ 2.19 กล้วยไม้แวนด้าเหลืองสุรขที่ได้รับการถ่ายยีน ในอาหาร NDM ที่เติมสารปฏิชีวนะ hygromycin 20 มก./ล. ระยะ 1 สัปดาห์

### โครงการวิจัยที่ 3

#### โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2

#### Research and Development Project of Paphiopedilum for Export Phase 2

สุภาภรณ์ สาชาติ<sup>1/</sup> อำนวย อรรถธังรอง<sup>1/</sup> อรุณี ใจเถิง<sup>2/</sup> สุป็น ไม้ตัดจันทร์<sup>2/</sup> ปิยะนุช มุสิกพงษ์<sup>3/</sup>

นารามย์ โชติอิมุดม<sup>4/</sup> เพ็ญลักษณ์ ชูดี<sup>5/</sup>

Supaporn Sachati<sup>1/</sup> Amnuai Adthalungrong<sup>1/</sup> Arunee Jaiterng<sup>2/</sup> Supan Maidatchan<sup>2/</sup>

Piyanut Musigapong<sup>3/</sup> Nara Chotiimudom<sup>4/</sup> Penlak Choodee<sup>5/</sup>

**คำสำคัญ :** การปรับปรุงพันธุ์พืช, การคัดเลือก, กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี, ละอองเรณู, การผสมเกสร, การขยายพันธุ์, GA

**Keywords :** plant breeding, selection, Paphiopedilum, pollen, pollination, propagation, GA

#### บทคัดย่อ

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2 ประกอบด้วย 2 กิจกรรม คือ การพัฒนาพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี และการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี ดำเนินการระหว่างปี 2558-2564 พบว่า การปรับปรุงพันธุ์รองเท้านารีอินทนนท์ลาว ได้ลูกผสมที่ผสมข้ามต้นในกลุ่มเดียวกันผ่านเกณฑ์การประเมินจำนวน 10 ต้น คือ CR 01 A13-6, CR 02 A95-1, CR 02 A95-12, CR 03 A51-1, CR 03 A51-30, CR 04 A79-15, CR 07 A10-2, CR 07 A10-5, CR 07 A10-9, CR 09 A108-1 และได้แม่พันธุ์ที่เหมาะสมในการสร้างกล้วยไม้ลูกผสมที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นการค้า คือ CR 02-64, CR 02-29, CR 02-21, CR 02-49, CR 03-16, CR 03-13, CR 04-80, CR 04-7, CR 07-25, CR 07-17, CR 08-5 และ CR 08-17 การเปรียบเทียบพันธุ์ลูกผสมและคัดเลือกพ่อแม่รองเท้านารีฝายหอย ได้ต้นที่ผ่านการประเมินลักษณะตามเกณฑ์ที่กำหนด มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ PBH-07 PBH-09 PBH-12 PBH-13 PBH-19 และ PBH-31 ต้นพ่อแม่จากคู่ผสมดังกล่าว มีแนวโน้มจะได้ลูกที่มีลักษณะดี มีศักยภาพในการใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์จำนวน 10 ต้น ได้แก่ PBS-06 PBS-07 PBS-10 PBS-11 PBS-13 PBS-14 PBS-16 PBS-19 PBS-24 และ PBS-26 การพัฒนาลูกผสมรองเท้านารีเหลืองกระบี่ เหลืองตรัง ขาวสตูลและเหลืองปราจีน ได้ต้นลูกผสมจำนวน 3 สายต้น คือ เหลืองกระบี่ KB.65xKB.24 (N10) เหลืองปราจีน K.039xK.056 (Q59) ขาวสตูลxเหลืองปราจีน A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>-11xK.056 (U08) การคัดเลือกพันธุ์รองเท้านารีเหลืองกระบี่ เหลืองตรัง ขาวสตูลและเหลืองปราจีน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด ได้ 5 ต้น คือ B06 B19 B57 F06 และ LBII6 การเก็บรักษาละอองเรณูของกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ลาวเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ เก็บรักษาละอองเรณูหลังดอกบาน 1-3 วัน ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส นาน 6 เดือน พบความมีชีวิตของละอองเรณู 61.8-68.7 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรรองเท้านารีรองเท้านารีอินทนนท์ลาว คือ ผสมเกสรในวันที่ 3 หลังดอกบาน ช่วงเวลา 8.00-12.00 นาฬิกา ติดฝัก 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ ผลของ GA และการจัดการสภาพโรงเรือนในการเตรียมต้นรองเท้านารีเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้นที่เลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำปกติ ที่หยด GA 500 ppm และโรงเรือนพลาสติกที่หยด GA 400 ppm จำนวนต้นที่มีข้อยึดมากที่สุด คือ 65.0 เปอร์เซ็นต์

<sup>1/</sup> สถาบันวิจัยพืชสวน (Horticultural Research Institute)

<sup>2/</sup> ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย (Chiangrai Horticultural Research Center)

<sup>3/</sup> ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง (Chiangrai Horticultural Research Center)

<sup>4/</sup> ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (Chiang Mai Royal Agricultural Research Center)

<sup>5/</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี (Kanchanaburi Agricultural Research and Development Center)

## Abstract

Research and Development Project of *Paphiopedilum* for Export Phase 2 consists of 2 activities: Development of hybrids and enhancement of *Paphiopedilum*'s propagation, between 2016 and 2020. It was found that **breeding in *Paphiopedilum gratrixianum* (Mast.) Guillaumin**, ten hybrids of *P. gratrixianum* from interclonal breeding program were selected according to selection criteria. They were CR 01 A13-6, CR 02 A95-1, CR 02 A95-12, CR 03 A51-1, CR 03 A51-30, CR 04 A79-15, CR 07 A10-2, CR 07 A10-5, CR 07 A10-9, CR 09 A108-1 and twelve hybrids including CR 02-64, CR 02-29, CR 02-21, CR 02-49, CR 03-16, CR 03-13, CR 04-80, CR 04. -7, CR 07-25, CR 07-17, CR 08-5 and CR 08-17 were found to be suitable as mother plants to produce hybrids commercially.

**Comparison of *Paphiopedilum bellatulum*'s hybrids and selection of parents**, More than 30 percent of the plants that have passed the trait assessment according to the specified criteria: PBH-07 PBH-09 PHB-12 PBH-13 PBH-19 PBH-31. Parents of selected hybrids such as PBS-06 PBS-07 PBS-10 PBS-11 PBS-13 PBS-14 PBS-16 PBS-19 PBS-24 and PBS-26 were found to give hybrids with good characteristics and can be used as genetic resources for breeding.

**Development of lady's slipper (*Paphiopedilum* sp.)** there are 3 types of hybrid plants which are N10 (Lueang-krabi (KB.65)xLueang-krabi (KB.24)), Q59 (Lueang-prajeen (K.0.39)xLueang-prajeen (K.056)) and U08 (Khao-Satun (A3B2-11)xLueang-prajeen (K.056)).

**Selection of lady's slipper (*Paphiopedilum* sp.) from seed propagation** had 5 plants which are B06 B19 B57 F06 and LB116.

**Pollen preservation of lady's slipper orchid (*Paphiopedilum gratrixianum* (Mast.) Guillaumin) for breeding**, after flowering 1 - 3 days at -4, 0 and 25 degrees Celsius and storage for 6 months, the pollen viability was 61.8 – 68.7 percent. And **Appropriate period for pollination of lady's slipper orchid (*Paphiopedilum gratrixianum* (Mast.) Guillaumin)**, It was found that pollination after blooming on the first day to the third day at 8:00 am to 12:00 pm can be poded approximate 62.50 - 100 percent. For **effects of GA and greenhouse condition management in the preparation of lady's slipper plants for tissue culture**, Plants were grown in normal greenhouse at a concentration of 500 milligrams per liter gibberellic acid and in plastic houses at a concentration of gibberellic acid of 400 milligrams per liter showed the highest number of plants with longitudinal characteristics, at 65.0 percent.

## บทนำ

กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*) เป็นกล้วยไม้ที่ได้รับความนิยมและมีแนวโน้มความต้องการที่เพิ่มมากขึ้นในวงการอุตสาหกรรมไม้ดอกไม้ประดับ เนื่องจากมีความหลากหลายของรูปร่าง ขนาด และสีสัน (Cribb, 1998; Hong และคณะ, 2008; Huang และคณะ, 2001; Ng และ Saleh, 2011) รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (*P. gratrixianum* (Mast.) Guillaum.) กระจายพันธุ์ในไทย ลาว และเวียดนาม มีการเจริญเติบโตแบบพืชอาศัยบนดิน เจริญเป็นกลุ่ม มีพุ่มใบขนาด 30-35 ซม. ใบเป็นรูปแถบ กว้าง 2-2.5 ซม. ยาว 25-28 ซม. แผ่นใบสีเขียว โคนกาบใบมีจุดสีม่วงแดงหนาแน่น ดอกเป็นดอกเดี่ยว ก้านดอกตั้งตรงยาว 20-22 ซม. กลีบเลี้ยงกลีบบนแผ่กว้างสีขาว กลางกลีบมีประสีม่วงแดง โคนกลีบสีน้ำตาลอมแดง กลีบดอกรูปขอบขนานบิดโค้ง แถบบนสีน้ำตาลอ่อน แถบล่างสีเหลือง กลีบกระเป๋าสีเหลือง อดน้ำตาล โล่สีเหลือง รูปทรงคล้ายรูปหัวใจกลับ ผิวขรุขระกึ่งกลางมีติ่งสีเหลืองเข้ม ด้านบนและด้านล่างหยักเพียงเล็กน้อย ดอกบานเต็มที่กว้าง 7-8 ซม. จำนวนโครโมโซม  $2n=26$  ชอบอากาศเย็น ปลูกเลี้ยงและออกดอกง่ายในภาคเหนือ ถ้าเจริญเติบโตภายใต้แสงรำไรดอกจะบานได้นานหลายวัน (สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์, 2543; อุไร, 2553)

สถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์วิจัยเครือข่ายได้ร่วมวิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารี เพื่อพัฒนาเป็นกล้วยไม้ประดับชนิดใหม่ที่มีศักยภาพของไทย ในปี 2547-2553 สามารถคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีได้มากกว่า 13 ชนิด และมีแหล่งพันธุกรรมของกรมวิชาการเกษตร 4-5 สถานที่ และได้ลูกผสมกล้วยไม้รองเท้านารีที่มีลักษณะดีตามเกณฑ์มากกว่า 9 ต้น รวมทั้งได้พันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีคัดเลือกที่สามารถนำมาขยายพันธุ์ต่อเพื่อผลิตเป็นไม้กระถางและใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการสร้างลูกผสมใหม่มากกว่า 62 สายต้น ปัญหา/อุปสรรคที่สำคัญที่ทำให้ไม่สามารถดำเนินการต่อได้ คือ ยังไม่มีวิธีการขยายพันธุ์ดี/พันธุ์คัดเลือกเพื่อเพิ่มปริมาณ ให้นำไปสู่ขั้นตอนต่อไปของการปรับปรุงพันธุ์ได้

จึงได้เปลี่ยนแนวทางใหม่ในการพัฒนาพันธุ์ในปี 2554-2557 เพื่อหาพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสมในการสร้างกล้วยไม้ลูกผสมรองเท้านารีในท้องถิ่นต่างๆ ที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นการค้า และการคัดเลือกและสร้างสายพันธุ์แท้กล้วยไม้รองเท้านารีในท้องถิ่นต่างๆ สำหรับการพัฒนาพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 มีรองเท้านารีบางชนิดที่มีความก้าวหน้าและจำเป็นต้องมีการประเมินทดสอบลูกผสมเพื่อการแนะนำพันธุ์ต่อไป ดังนี้

การคัดเลือกลูกผสมรองเท้านารีอินทนนท์ลาว *Paphiopedilum gratrixianum* (Mast.) Guillaum ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี 2555-2558 ได้คัดเลือกและแบ่งกลุ่มลูกผสมที่มีลักษณะดีออกเป็นกลุ่มได้ 12 ประชากร ได้แก่ CR01-CR12 โดยพิจารณาจากลักษณะการจัดเรียงของจุดบนกลีบดอก ขนาด สี เป็นต้น โดยในแต่ละประชากรมีต้นคัดเลือกอยู่ระหว่าง 1-6 กระถาง ประชากรที่มีต้นอย่างน้อย 4 กระถาง ได้แก่ CR02 CR03 CR05 CR07 CR10 CR11 และ CR12 ซึ่งการสร้างลูกผสมข้ามต้นภายในประชากรเดียวกัน (interclonal) เพื่อรักษาค่าเฉลี่ยของประชากร ลูกผสมตัวเอง ซึ่งลูกผสมเหล่านี้จำเป็นต้องปลูกเปรียบเทียบพันธุ์เพื่อการแนะนำพันธุ์ต่อไป

การพัฒนาพันธุ์ลูกผสมรองเท้านารีฝ้ายและดอยตุง ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี 2554-2558 ได้รวบรวมพันธุ์รองเท้านารีฝ้ายและดอยตุง คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีเด่นอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายลักษณะที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ 33 และ 34 ต้นตามลำดับ และผสมพันธุ์ระหว่างต้นคัดเลือกภายในชนิดเดียวกัน เก็บเกี่ยวฝักเมื่อมีอายุ 6-7 เดือน นำมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อ ปลูกเลี้ยงต้นกล้าจนกระทั่งออกดอก ได้ลูกผสมรองเท้านารีฝ้ายที่ออกปลูก 33 คู่ผสม ประมาณ 800 ต้น และลูกผสมดอยตุง 3-5 คู่ผสม ประมาณ 100 ต้น ซึ่งลูกผสมเหล่านี้จะเริ่มออกดอกและสามารถประเมินลักษณะของต้นลูกผสมที่ได้จากคู่ผสมที่ได้จากการใช้ต้นพ่อแม่ที่มีลักษณะต่างๆ ในปี 2559 - 2563 เพื่อหาพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสมในการสร้างกล้วยไม้ลูกผสมรองเท้านารีในท้องถิ่นต่างๆ ที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นการค้า

นอกจากนี้ในช่วงปีดังกล่าว ศูนย์วิจัยพืชสวนตรังได้ต้นกล้าที่เพาะจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่ เหลืองตรัง และขาวสตูลที่ผสมตัวเอง 754 288 และ 17 ต้น และต้นกล้าเหลืองกระบี่ที่ผสมข้ามต้น 292 ต้น ต้นกล้าขาวสตูลผสมข้ามต้น 33 ต้น ต้นกล้าเหลืองตรังผสมข้ามต้น 200 ต้น ซึ่งต้นกล้วยไม้รองเท้านารีจากงานทดลองดังกล่าวยังไม่ออกดอก และมีฝักที่ผสมพันธุ์เมื่อปี 2557 จำนวน 80 ฝัก ที่ยังไม่แก่เพาะเมล็ดไม่ได้ จึงควรที่จะทำการคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดี เพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ หรือใช้ในการขยายพันธุ์เป็นต้นพันธุ์ต่อไป

การศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีพื้นเมือง กล้วยไม้รองเท้านารีหมวดฤาษี ซึ่งกล้วยไม้ชนิดนี้เป็นกล้วยไม้รองเท้านารีที่มีลักษณะสวยงามชนิดหนึ่ง เป็นที่ต้องการของชาวสวนกล้วยไม้และผู้ปลูกเลี้ยงทั้งในประเทศและต่างประเทศ ทำให้มีการลักลอบนำออกมาขายในตลาดนัดต้นไม้เป็นจำนวนมาก แต่เนื่องจากในสภาพธรรมชาติของกล้วยไม้ชนิดนี้มีการขยายพันธุ์ได้ช้ามาก ทำให้มีแนวโน้มในการลดจำนวนลงมากในสภาพธรรมชาติเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ต่อไปในอนาคต ปัจจุบันมีการประยุกต์สูตรอาหารเพื่อการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเพาะเมล็ด โดยเฉพาะกล้วยไม้ Yaemrakchat, J. and Thammasiri, K. (2009) และได้มีการศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีหลายชนิด ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองปราจีน เหลืองตรัง อินทนนท์ อินทนนท์ลาว ผาหอย และดอยตุง เป็นต้น (เกษนันท (2538) จิตราพรธณ, 2533, ธาธิพิย์, 2548, วิวัฒน์, 2529 และ สุปิ่น และคณะ, 2551) แต่ยังไม่มียานวิจัยที่ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการนำมาเพาะเมล็ด การชักนำให้เป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ของต้นกล้วยไม้รองเท้านารีหมวดฤาษี นอกจากนี้ในกล้วยไม้รองเท้านารีกลุ่มซึ่งลักษณะลำต้นสั้นมาก ทำให้ตายอดและตาข้างอยู่ชิดกันมาก ใบแผ่ขนานไปกับพื้นดิน ได้แก่ รองเท้านารีเหลืองปราจีน เหลืองตรัง เป็นต้น เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้การฟอกฆ่าเชื้อไม่ประสบผลสำเร็จ จึงน่าจะหาวิธีการยัดข้อต้นโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต GA7 ร่วมกับการปรับเปลี่ยนเครื่องปลูก การปฏิบัติดูแล การเตรียมต้นให้แข็งแรงและปลอดเชื้อในโรงเรือนที่ควบคุมได้ เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อในขั้นตอนการฟอกชิ้นส่วน ทำให้การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความเป็นไปได้มากขึ้น

การพัฒนากล้วยไม้ไทยในเชิงการค้านั้นจะต้องเป็นการนำทรัพยากรพันธุ์พืชที่มีอยู่ในธรรมชาติมาพัฒนาให้มีคุณสมบัติที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ที่อาจต่างไปจากถิ่นกำเนิดเดิม อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้รองเท้านารีเป็นพืชที่มีการกระจายตัวอย่างกว้างขวางและมีหลายชนิด กรมวิชาการเกษตรมีฐานพันธุ์กรรมดังกล่าวตั้งแต่อดีตที่ผ่านมา และมีเทคนิคการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ การปลูกเลี้ยงที่ระดับหนึ่ง หากสามารถวิจัยและพัฒนาพันธุ์จนได้ต้นที่มีลักษณะดี เพื่อเป็นพันธุ์แนะนำได้ ตลอดจนศึกษาการขยายพันธุ์/การเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีในสภาพปลอดเชื้อให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น จะนำไปสู่แนวทางการผลิตเป็นการค้าได้ ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางพันธุกรรมมาพัฒนาเชิงการค้าโดยไม่ทำลายฐานพันธุกรรม และเป็น การช่วยสนับสนุนการปฏิบัติตามอนุสัญญาไซเตส (CITES) ที่ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิก นอกจากนี้การพัฒนากล้วยไม้พันธุ์แท้ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทยจะสามารถสร้างเอกลักษณ์และมูลค่าเพิ่มทางการค้าในอนาคต

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2 ประกอบด้วย 2 กิจกรรม คือ กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี มี 4 การทดลอง และกิจกรรมที่ 2 การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี มี 2 การทดลอง ตามแผนผังดังนี้

## ระเบียบวิธีการวิจัย

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 1.1 การปรับปรุงพันธุ์รองเท้านารีอินทนนท์ลาว ( <i>Paphiopedilum granixianum</i> (Mast.) Guillaum) (พ.ศ. 2559-2563)	RCB	8 (พันธุ์)	4
การทดลอง 1.2 การเปรียบเทียบพันธุ์ลูกผสมและคัดเลือกพ่อแม่รองเท้านารีฟาฮอย (พ.ศ. 2559-2563)	RCB	9 (พันธุ์)	4
การทดลอง 1.3 การพัฒนาลูกผสมรองเท้านารีเหลืองกระบี่ เหลืองตรัง ขาวสตูล และเหลืองปราจีน (พ.ศ. 2559-2564)	คัดเลือกสายต้น	เปรียบเทียบลักษณะดีเด่น	-
การทดลอง 1.4 การคัดเลือกพันธุ์รองเท้านารีเหลืองกระบี่ เหลืองตรัง ขาวสตูลและเหลืองปราจีน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด (พ.ศ. 2559-2564)	คัดเลือกสายต้น	เปรียบเทียบลักษณะดีเด่น	-

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

## กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี

การทดลองที่ 1.1 การปรับปรุงพันธุ์รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (*Paphiopedilum granixianum* (Mast.) Guillaum)

จากการประเมินต้นลูกผสมรุ่นที่ 1 ที่มีดอกครั้งแรกช่วงเดือนมกราคม - เมษายน 2563 ต้นลูกผสมที่ได้จากการผสมข้าม อายุ 25 เดือน นับจากย้ายกล้างลงในกระถาง 3 นิ้ว โดยเริ่มต้นปลูก 1 ต้นต่อกระถาง พบว่าจำนวนต้นเท่าเดิมไม่มีการแตกหน่อเพิ่ม และมีการแตกหน่อใหม่เพิ่ม 1 - 6 ต้นต่อกระถางมีลูกผสม 6 คู่ (จำนวน 7 ต้น) ออกดอกในเดือนที่ 17- 20 นับจากย้ายต้นปลูกในกระถาง 3 นิ้ว มีรหัส ดังนี้ CR 07 A10-1, CR 03 A51-1, CR 02 A95-1, CR 09 A108-1, CR 09 A108-2 และต้นผสมข้ามกลุ่ม 2 กระถาง ดังนี้ CR 02 CR 05 A6-2 (ลูกผสมกลุ่ม 2 และกลุ่ม 5) และ CR02 CR01 A115-1 (ลูกผสมกลุ่ม 2 และกลุ่ม 1) ได้ทำการประเมินต้นลูกผสมดังกล่าว พบลักษณะดีตามเกณฑ์การคัดเลือก คือ CR 02 A95-1, CR 09 A108-1 และต้นผสมข้ามกลุ่ม 1 ต้น คือ CR 02 CR 05 A6-2 (ลูกผสมกลุ่ม 2 และกลุ่ม 5) (ตารางที่ 3.3.1) และพบว่าต้นลูกผสมที่เริ่มบานในฤดูหนาวมีแนวโน้มบานบนต้นนานกว่าดอกที่เริ่มบานในฤดูร้อน กล่าวคือ ดอกบานในเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ มีนาคม และเมษายน มีอายุการบานอยู่บนต้น 40-44, 22-41, 19-35 และ 13-27 วันตามลำดับ และทุกดอกติดฝักเกือบแห้งฟ่อทั้งหมด

ได้ประเมินต้นลูกผสมที่ออกดอกในเดือน มกราคม - เมษายน 2564 เพิ่มเติม ได้ต้นลูกผสมที่ผ่านการประเมินมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (ตารางที่ 3.2 ผนวกที่ 1 และภาพที่ 3.1) ซึ่งต้นพ่อแม่จากคู่ผสมดังกล่าวมีแนวโน้มที่จะได้ลูกผสมที่ผสมในกลุ่มเดียวกันที่มีลักษณะผ่านการประเมิน มีจำนวน 10 สายต้น และลูกผสมที่มาจากข้ามกลุ่ม 1 สายต้น ได้แก่ CR 01 A13-6, CR 02 A95-1, CR 02 A95-12, CR 03 A51-1, CR 03 A51-30, CR 04 A79-15, CR 07 A10-2, CR 07 A10-5, CR 07 A10-9, CR 09 A108-1 และ CR 02 05 A6-2

## การทดลองที่ 1.2 การเปรียบเทียบพันธุ์ลูกผสมและคัดเลือกพ่อแม่รองเท้านารีฟาฮอย

การปลูกเปรียบเทียบลูกผสมจากต้นพ่อแม่คู่ต่างๆ เพื่อประเมินและคัดเลือกพ่อแม่ที่ให้ต้นลูกที่มีลักษณะดีปลูกเปรียบเทียบจาก 24 คู่ผสม มีคู่ผสมที่มีต้นออกดอกและได้ต้นที่ผ่านการประเมินลักษณะตามเกณฑ์ที่กำหนด ได้แก่ พ่อแม่ดอกกลม กลีบดอกกว้าง จุดแต้มสีม่วงแดงกระจายสม่ำเสมอทั่วกลีบ มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ PBH-07 PBH-09 PBH-12 PBH-13 PBH-19 และ PBH-31 ซึ่งต้นพ่อแม่จากคู่ผสมดังกล่าว มีแนวโน้มที่จะได้ลูกที่มีลักษณะดี มีศักยภาพในการใช้เป็นฐานพันธุ์กรรมในการปรับปรุงพันธุ์จำนวน 10 ต้น ได้แก่ PBS-06 PBS-07 PBS-10 PBS-11 PBS-13 PBS-14 PBS-16 PBS-19 PBS-24 และ PBS-26 (ภาพที่ 3.2-7) ส่วนการสร้างลูกผสมใหม่โดยใช้ต้นพ่อแม่จากลูกผสมรุ่นที่ 1 ทำได้ยากเนื่องจาก มีเปอร์เซ็นต์การติดฝักและเมล็ดมีการงอกและมีการพัฒนาเป็นต้นน้อย อาจเนื่องมาจากความเป็นหมันของต้นพ่อแม่ หรือปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการงอกของละอองเรณู รวมทั้งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการงอกและการพัฒนาของเมล็ดหลังเพาะในสภาพปลอดเชื้อ



### การทดลองที่ 1.3 การพัฒนาลูกผสมรองเท่านั้นหรือเลือกรุ่นปี เหลืองตรัง ขาวสตูล และเหลืองปราจีน

คัดเลือกกลุ่มผสมที่มีการเจริญเติบโตดี ออกดอกทุกปี และดอกใหญ่ จากจำนวน 21 คู่ผสม (231 สายต้น) คัดเลือกกลุ่มผสมที่มีศักยภาพได้ 3 คู่ผสม คือ 1) เหลืองกระบี่ (KB.65)×เหลืองกระบี่ (KB.24) N10 มีการเจริญเติบโตดี มีจำนวนต้น 11 ต้น/กระถาง ออกดอกทุกปี ซึ่งออกดอกก่อนฤดู โดยเริ่มออกดอกช่วงพฤศจิกายน-ธันวาคม (ฤดูปลูกเดือนมีนาคม-มิถุนายน) ดอกมีขนาดใหญ่ 4.9×6.9 ซม. 2) เหลืองปราจีน (K.039)×เหลืองปราจีน (K.056) Q59 มีการเจริญเติบโตดี มีจำนวนต้น 3 ต้น/กระถาง ออกดอกทุกปี ซึ่งดอกจะทยอยออกดอกตั้งแต่เดือนธันวาคม-สิงหาคม ดอกมีขนาดใหญ่ เมื่อดอกบานเต็มที่มีขนาด 6.2×5.5 ซม. กลีบดอกสีขาว มีจุดประขนาดใหญ่กระจายบริเวณกลีบดอก และ 3) ขาวสตูล (A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>-11)×เหลืองปราจีน (K.056) U08 มีการเจริญเติบโตดี มีจำนวนต้น 2.0 ต้น/กระถาง ออกดอกทุกปี ดอกมีขนาดใหญ่ เมื่อดอกบานเต็มที่มีขนาด 6.3×4.9 ซม. กลีบดอกหนา รูปร่างคล้ายเหลืองปราจีน มีจุดประใหญ่กว่าดอกของขาวสตูลเล็กน้อย (ตารางที่ 3.1 และภาพที่ 3.8)

### การทดลองที่ 1.4 การคัดเลือกพันธุ์รองเท่านั้นหรือเลือกรุ่นปี เหลืองตรัง ขาวสตูลและเหลืองปราจีน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด

การคัดเลือกพันธุ์รองเท่านั้น ที่ได้จากการเพาะเมล็ด เพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่มีศักยภาพเชิงการค้า โดยประเมินจากการเจริญเติบโตดี ออกดอกทุกปี และดอกใหญ่ โดยคัดเลือกจากพันธุ์ที่ออกดอก จำนวน 10 พันธุ์ (44 ต้น) สามารถคัดเลือกได้ 3 พันธุ์ คือ 1) เหลืองกระบี่ (KB.9) จำนวน 3 ต้น คือ B06 มีการเจริญเติบโตดี มีจำนวนต้น 11 ต้นต่อกระถาง สีดอกโดดเด่นโดยเฉพาะบริเวณกระเป่าเป็นสีแดงสด แล้วจางลงบริเวณริมปาก ส่วน B19 มีกระเป่าที่มีขนาดใหญ่ เท่ากับ 1.6×2.4×1.5 ซม. ดอกบริเวณเป่ามีสีแดงอมส้ม แล้วค่อยๆจางลงบริเวณริมปาก และ B57 มีจำนวนต้นมากที่สุด 12 ต้นต่อกระถาง ก้านดอกมีความแข็งแรง ดอกตั้งตรง แล้วดอกมีสีส้มสม่ำเสมอทั้งกระเป่า 2) เหลืองกระบี่ (KB.62) จำนวน 1 ต้น คือ F06 ดอกมีสีส้มอ่อนบริเวณกระเป่า ก้านดอกมีความยาวปานกลาง และ 3) เหลืองกระบี่ (LBII6) จำนวน 1 ต้น คือ K03 ดอกมีสีเหลืองสม่ำเสมอทั้งดอก ดอกมีขนาดใหญ่ ก้านดอกสั้น กลีบดอกหนา รังไข่มีขนาดใหญ่ เท่ากับ 0.9×3.5 ซม. (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3.9)รองเท่านั้นหรือเลือกรุ่นปีออกดอกทุกปี ซึ่งสามารถออกดอกก่อนฤดู โดยเริ่มออกดอกช่วงพฤศจิกายน-ธันวาคม (ฤดูปลูกเดือนมีนาคม - มิถุนายน)

### การทดลองที่ 1.5 การเก็บรักษาละอองเรณูของกล้วยไม้รองเท่านั้นหรืออินทนนท์ลาวเพื่อการปรับปรุงพันธุ์

ทดสอบความมีชีวิตของละอองเรณูของกล้วยไม้รองเท่านั้นหรืออินทนนท์ลาวที่เก็บไว้ในเบื้องต้น ด้วยวิธี tetrazolium test ในละอองเรณูที่มีอายุหลังดอกบาน 1 2 และ 3 วัน เก็บรักษานาน 1-7 วัน ที่อุณหภูมิ -4 0 และ 25 องศาเซลเซียส จากการทดสอบพบว่าทุกช่วงเวลาที่เกิดขึ้น ละอองเรณูมีชีวิต 81.4- 88.6 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.4) เมื่อทดสอบความมีชีวิตของละอองเรณู หลังจากเก็บรักษาไว้ 1- 6 เดือน ในอุณหภูมิ -4 และ 0 องศาเซลเซียส พบความมีชีวิตของละอองเรณู เท่ากับ 61.8 – 68.7 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น อุณหภูมิ -4 และ 0 องศาเซลเซียส จึงเหมาะสำหรับการเก็บรักษาละอองเรณูในเบื้องต้น (ตารางที่ 3.5)

### การทดลองที่ 1.6 ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรรองเท่านั้นหรืออินทนนท์ลาว

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรรองเท่านั้นหรืออินทนนท์ลาว เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรให้ติดฝักและเกิดเมล็ดกล้วยไม้ สามารถสร้างประชากรกล้วยไม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ จากการทดลองนี้พบว่า การผสมเกสรรองเท่านั้นหรืออินทนนท์ลาวหลังดอกบานวันแรกถึงวันที่สาม ในเวลา 8.00 น. ถึง 12.00 น. สามารถติดฝักจำนวน 62.50 – 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.6) โดยระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรรองเท่านั้นหรืออินทนนท์ลาว คือวันที่สามหลังดอกบาน ช่วงเวลา 8 นาฬิกาถึง 12 นาฬิกา ในช่วงเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน มีอุณหภูมิต่ำสุด 13.1 องศาเซลเซียส สูงสุด 23.6 องศาเซลเซียส ความชื้น 86.1-87.8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.7)

## กิจกรรมที่ 2 การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี

### การทดลองที่ 2.1 เทคนิคการขยายพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีหวดฤกษ์โดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

ศึกษาอายุฝักของกล้วยไม้รองเท้านารีหวดฤกษ์ที่เหมาะสม สำหรับนำมาใช้ขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เดือนกรกฎาคม 2562 ต้นกล้วยไม้รองเท้านารีหวดฤกษ์เริ่มแทงช่อดอก และดอกเริ่มบานเดือนสิงหาคม จึงทำการผสมเกสรจำนวน 2 ครั้ง คือ วันที่ 20 สิงหาคม 2562 และวันที่ 24 กันยายน 2562 ได้ฝักกล้วยไม้ จำนวน 8 ฝัก

### การทดลองที่ 2.2 ผลของ GA และการจัดการสภาพโรงเรือนในการเตรียมต้นรองเท้านารีเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ศึกษาหาวิธีการยึดข้อต้นกล้วยไม้รองเท้านารี ร่วมกับการเตรียมต้นให้แข็งแรงและปลอดเชื้อในโรงเรือนที่ควบคุมได้ เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อในขั้นตอนการฟอกชิ้นส่วนของกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน โดยคัดเลือกต้นพันธุ์ เลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำปกติ โรงเรือนพลาสติก และโรงเรือนกางมุ้ง ร่วมกับการหยด GA ที่ความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 200, 300, 400 และ 500 มก./ล. พบว่า เปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นรองเท้านารีที่มีลักษณะข้อยึดยาวที่เลี้ยงในโรงเรือนสภาพต่างๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ต้นรองเท้านารีที่เลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำปกติและหยด GA ความเข้มข้น 500 มก./ล. และที่เลี้ยงในโรงเรือนพลาสติกและหยด GA ความเข้มข้น 400 มก./ล. มีจำนวนต้นรองเท้านารีที่มีลักษณะของข้อยึดยาวมากที่สุด คือ 65.0 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 11) และเปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นรองเท้านารีที่เลี้ยงในโรงเรือนปกติ โรงเรือนพลาสติก และโรงเรือนมุ้ง หลังจากการฟอกฆ่าเชื้อนาน 1 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นรองเท้านารีที่หยด GA ความเข้มข้น 100 ppm ในโรงเรือนพลาสติก มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายหลังการฟอกฆ่าเชื้อมากที่สุด คือ 68.8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.8)

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2 ดำเนินการระหว่างปี 2559-2564 มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้พันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีที่ใช้ส่งเสริมทดแทนพันธุ์ดั้งเดิม และ/หรือพันธุ์กรรมกล้วยไม้สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ และเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการปลูกขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุ์ โดยการพัฒนาพันธุ์ลูกผสมกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี

#### การทดลองที่ 1.1 การปรับปรุงพันธุ์รองเท้านารีอินทนนท์ลาว (*Paphiopedilum grarixianum* (Mast.) Guillam)

1. ลูกผสมรองเท้านารีอินทนนท์ลาวที่ผสมข้ามต้นในกลุ่มเดียวกันที่มีลักษณะดีผ่านการประเมิน มีจำนวน 10 ต้น ดังนี้ CR 01 A13-6, CR 02 A95-1, CR 02 A95-12, CR 03 A51-1, CR 03 A51-30, CR 04 A79-15, CR 07 A10-2, CR 07 A10-5, CR 07 A10-9, CR 09 A108-1 และพบลูกผสมที่มาจากการผสมต้นข้ามกลุ่ม และมีลักษณะผ่านเกณฑ์การคัดเลือกจำนวน 1 ต้น คือ CR 02 05 A6-2

2. ได้แม่พันธุ์ที่เหมาะสมในการสร้างกล้วยไม้ลูกผสมรองเท้านารีอินทนนท์ลาวที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นการค้า ดังนี้ CR 02-64, CR 02-29, CR 02-21, CR 02-49, CR 03-16, CR 03-13, CR 04-80, CR 04-7, CR 07-25, CR 07-17, CR 08-5 และ CR 08-17

#### การปลูกเปรียบเทียบต้นลูกผสมรองเท้านารีฝายหอย

ที่ได้จากการผสมข้ามต้นภายในชนิดเดียวกันจำนวน 24 คู่ผสม มีคู่ผสมที่มีต้นออกดอกและได้ต้นที่ผ่านการประเมินลักษณะตามเกณฑ์ที่กำหนด ได้แก่ พอร์มดอกกลม กลีบดอกกว้าง จุดแต้มสีม่วงแดงกระจายสม่ำเสมอทั่วกลีบ มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ PBH-07 PBH-09 PBH-12 PBH-13 PBH-19 และ PBH-31 ซึ่งต้นพ่อแม่จากคู่ผสมดังกล่าวมีแนวโน้มที่จะได้ลูกที่มีลักษณะดี มีศักยภาพในการใช้เป็นฐานพันธุ์กรรมในการปรับปรุงพันธุ์จำนวน 10 ต้น ได้แก่ PBS-06 PBS-07 PBS-10 PBS-11 PBS-13 PBS-14 PBS-16 PBS-19 PBS-24 และ PBS-26 พร้อมข้อมูลการปรับปรุงพันธุ์ ตามเป้าหมายที่วางไว้ ถึงแม้ว่าในการสร้างลูกผสมใหม่ของรองเท้านารี

ฝ้ายหอย มีปัจจัยอื่นที่ควรมีการศึกษาต่ออีก ที่เกี่ยวข้องกับการงอกของละอองเรณู ได้แก่ อายุของละอองเกสร และสภาพแวดล้อมอื่นๆ เช่น แสง และอุณหภูมิ ประกอบกับการเพาะเมล็ดเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำและมีความไม่สม่ำเสมอ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อายุฝัก สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร สูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดและการพัฒนาของโปรโตคอร์ม

#### **การพัฒนาคุณภาพสมรรถนะพันธุ์เหลืองกระบี่ เหลืองตรัง ขาวสตูล และเหลืองปราจีน**

การพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีให้ได้ต้นพันธุ์คุณภาพดี มีการเจริญเติบโตที่ดี เพื่อให้ได้ลักษณะที่เหมาะสมที่มีศักยภาพในการผลิตเชิงการค้า โดยประเมินจากการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ลักษณะดอกขนาดใหญ่ และสามารถออกดอกทุกปี สามารถสรุปได้ว่าต้นที่มีคุณสมบัติครบตามหลักเกณฑ์ที่กำหนดมีจำนวน 3 สายต้น คือ

- 1) เหลืองกระบี่ KB.65xKB.24 (N10) มีจำนวนต้น 11 ต้น/กระถาง ดอกมีขนาด 5.2x9.2 ซม. ออกดอกเร็วกว่าปกติ
- 2) เหลืองปราจีน K.039xK.056 (Q59) มีจำนวนต้น 3 ต้น/กระถาง ดอกมีขนาด 5.7x5.1 ซม. ดอกจะทยอยออกตั้งแต่เดือนธันวาคมถึงสิงหาคม ต้นมีลักษณะทนต่อโรคน้ำ
- 3) ขาวสตูลxเหลืองปราจีน A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>-11xK.056 (U08) มีจำนวนต้น 2.0 ต้น/กระถาง ดอกมีขนาด 5.1x4.8 ซม. ดอกมีลักษณะสีขาว รูปร่างคล้ายเหลืองปราจีน มีจุดประใหญ่กว่าดอกของขาวสตูลเล็กน้อย และต้นมีลักษณะทนต่อโรคน้ำ

#### **การคัดเลือกพันธุ์รองเท้านารีเหลืองกระบี่ เหลืองตรัง ขาวสตูลและเหลืองปราจีน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด**

การคัดเลือกพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองกระบี่ เหลืองตรัง ขาวสตูลและเหลืองปราจีน ที่ได้จากการเพาะเมล็ดให้ได้ต้นพันธุ์ที่มีลักษณะดี มีการเจริญเติบโตที่ดี เพื่อให้ได้ลักษณะที่เหมาะสมที่มีศักยภาพในการผลิตเชิงการค้า โดยประเมินจากการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ลักษณะดอกขนาดใหญ่ และสามารถออกดอกทุกปี สามารถสรุปได้ว่าต้นที่มีคุณสมบัติครบตามหลักเกณฑ์ที่กำหนด จำนวน 5 ต้น คือ

- 1) เหลืองกระบี่ KB.9 จำนวน 3 ต้น ได้แก่
  - KB.9 (B06) ลักษณะดอกมีความสมมาตรกัน รังไข่มีขนาดใหญ่ เท่ากับ 0.6x5.2 ซม. ต้นสามารถแตกหน่อเก่ง จำนวน 11 ต้น/กระถาง สีดอกมีลักษณะที่โดดเด่น มีสีแดงสดจากบริเวณกระเปาะ แล้วค่อยๆ ไล่สีจางลงบริเวณริมปาก กลีบดอกหนา มีความมันแวว เป็นมิติทำให้ดอกคมเข้มที่ทำให้มีความน่าสนใจมากขึ้น
  - KB.9 (B19) มีกระเปาะที่มีขนาดใหญ่ เท่ากับ 1.6x2.4x1.5 ซม. สีดอกมีสีแดงอมส้ม จากบริเวณกระเปาะ แล้วค่อยๆ ไล่สีจางลงเป็นสีเหลืองอมเขียวบริเวณริมปาก กลีบดอกหนา มันแวว
  - KB.9 (B57) ก้านดอกมีความแข็งแรง ดอกตั้งตรง ก้านดอกมีขนาด 0.4x26.1 ซม. ดอกมีขนาดใหญ่ และสมมาตร เท่ากับ 5.3x8.6 ซม. รังไข่มีขนาดใหญ่ เท่ากับ 0.7x4.6 ซม. ต้นภายในกระถางมากที่สุด จำนวน 12 ต้น/กระถาง สีดอกบริเวณกระเปาะเป็นสีส้มทั้งกระเปาะ
- 2) เหลืองกระบี่ KB.62 จำนวน 1 ต้น คือ F06 ดอกมีสีส้มอ่อนบริเวณกระเปาะ ก้านดอกมีความยาวปานกลาง ซึ่งมีขนาด 17.6 ซม. ดอกมีขนาดปานกลาง 3.8x6.7 ซม. ลักษณะดอกมีความสมมาตรกัน ออกดอกเก่ง ต้นแตกหน่อได้ จำนวน 9 ต้น/กระถาง
- 3) เหลืองกระบี่ LBII6 จำนวน 1 ต้น คือ K03 ดอกมีสีเหลืองทั้งดอก ดอกมีขนาดใหญ่ ก้านดอกสั้น ลักษณะดอกมีความสมมาตรกัน รังไข่มีขนาดใหญ่ เท่ากับ 0.9x3.5 ซม. ต้นสามารถแตกหน่อเก่ง จำนวน 11 ต้น/กระถาง

### การเก็บรักษาละอองเรณูของกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ลาวเพื่อการปรับปรุงพันธุ์

การเก็บรักษาละอองเรณูของกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ลาวในเบื้องต้นเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ สามารถเก็บละอองเรณูอายุหลังดอกบาน 1 - 3 วัน ใวนาน 1 - 7 วัน ที่อุณหภูมิ 0 และ -4 องศาเซลเซียส ตัวอย่าง ในขณะที่การเก็บรักษาละอองเรณูที่อุณหภูมิ 0 และ -4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บไว้ได้นาน 6 เดือน จึงเหมาะ สำหรับการเก็บรักษาละอองเรณูในเบื้องต้น ในการทดลองนี้ควรทดสอบความมีชีวิตของละอองเรณูที่เก็บรักษาไว้ เบื้องต้นนี้ ด้วยการนำไปผสมเกสรเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การติดฝักกล้วยไม้ เพื่อประเมินความสามารถในการเก็บรักษา ได้อีกทางหนึ่ง

### ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรรองเท้านารีอินทนนท์ลาว

การผสมเกสรรองเท้านารีอินทนนท์ลาวหลังดอกบานวันแรกถึงวันที่สาม ในเวลา 8.00 น. ถึง 12.00 น. สามารถติดฝักจำนวน 62.50 - 100 เปอร์เซ็นต์ โดยระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรรองเท้านารี รองเท้านารีอินทนนท์ลาว คือวันที่สามหลังดอกบาน ช่วงเวลา 8 นาฬิกาถึง 12 นาฬิกา ซึ่งพบว่าสามารถติดฝัก 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผู้ปรับปรุงพันธุ์สามารถเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสร เพื่อเพิ่มปริมาณการติด ฝักกล้วยไม้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ลาว และเป็นข้อมูลเปรียบเทียบเพื่อ ประกอบการวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดต่างๆต่อไป

สำหรับการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี เทคนิคการขยายพันธุ์กล้วยไม้ รองเท้านารีหมวดฤาษีโดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ กล้วยไม้รองเท้านารีที่นำมาปลูกเลี้ยงในสภาพ โรงเรือนที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี จำนวน 20 กระถาง ไม่สามารถแทงช่อดอกได้เนื่องจากสภาพ ภูมิอากาศไม่เหมาะสมในการกระตุ้นให้ต้นกล้วยไม้แทงช่อดอก เนื่องจากในปี 2560 และ 2561 ฤดูหนาวสั้นและ อุณหภูมิระหว่างกลางวันและกลางคืนแตกต่างกันน้อยมาก ประมาณ 5 องศาเซลเซียส ซึ่งความแตกต่างของ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการกระตุ้นการแทงช่อดอกของกล้วยไม้รองเท้านารีหมวดฤาษี คือประมาณ 10 องศา เซลเซียส อย่างน้อยประมาณ 2 อาทิตย์ ดังนั้น ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี จึงทำการรวบรวมต้น กล้วยไม้ที่กำลังแทงช่อดอกหรือที่แทงช่อดอกแล้วจากสวนกล้วยไม้ จำนวน 6 กระถาง เพื่อนำมาผสมเกสร พบว่า ติดฝักได้ทั้งหมดจำนวน 8 ฝัก และได้ตั้งงานวิจัยนี้ในปี 2562

### ผลของ GA และการจัดการสภาพโรงเรือนในการเตรียมต้นรองเท้านารีเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ต้นพันธุ์รองเท้านารีเหลืองปราจีน ที่เลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำปกติ โรงเรือนพลาสติก และโรงเรือนกางมุ้ง โดยหยดกรดจิบเบอเรลลิกที่ความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 200, 300, 400 และ 500 มก./ล. พบว่า เปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นรองเท้านารีที่มีลักษณะช่อยืดยาวที่เลี้ยงในโรงเรือนสภาพต่างๆ มีความแตกต่างกันทาง สถิติ และเปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นรองเท้านารีที่เลี้ยงในโรงเรือนปกติ โรงเรือนพลาสติก และโรงเรือนมุ้ง หลังจากการฟอกฆ่าเชื้อนาน 1 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกๆความเข้มข้นของ กรดจิบเบอเรลลิก

หลังจากทำการปรับเปลี่ยนกรรมวิธี โดยนำต้นรองเท้านารีเพาะเลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำตามปกติ โรงเรือนพลาสติกใส โรงเรือนมุ้ง และโรงเรือนพลาสติกสีดำ รดน้ำทุกวัน วันละ 1 ครั้ง รดยากันราสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 1 เดือน โดยไม่รดกรดจิบเบอเรลลิก วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design พบว่า ในแต่ละโรงเรือนมีลักษณะของช่อยืดยาวที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเปอร์เซ็นต์การรอดตายของ รองเท้านารีในโรงเรือนทุกสภาพ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

## ตารางและภาพ

ตารางที่ 3.1 จำนวนต้นลูกผสมในกระถาง จำนวนต้นที่พร้อมประเมิน และเปอร์เซ็นต์ต้นที่ผ่านการประเมิน ของต้นลูกผสมอายุ 25 เดือน นับจากย้ายกล้าลงในกระถาง 3 นิ้ว

กลุ่ม	รหัสลูกผสม	คู่ผสม	จำนวน กระถาง	จำนวนต้น/ กระถาง	จำนวนต้น ทั้งหมด	จำนวนต้นที่ พร้อม ประเมิน	จำนวนต้นที่ ผ่านการ ประเมิน	ต้นที่ผ่านการ ประเมิน(%)
T1	CR 01 A39	CR 01-4 x CR 01-35	2	2-3	5	-	-	-
	CR 01 A13, CR 01 A113	CR 01-64 x CR 01-29	21	1-7	51	3	1	33.33
	CR 01 A71	CR 01-4 x CR 01-6	1	1	1	-	-	-
	CR 01 B41	CR 01-29 ⊗	1	1	1	-	-	-
	CR 01 B58	CR 01-4 x CR 01-29	2	1-2	3	2	-	-
T2	CR 02 A85	CR 02-48 x CR 02-21	1	1	1	-	-	-
	CR 02 A117	CR 02-49 x CR 02-21	2	2-4	6	-	-	-
	CR 02 A122	CR 02-49 x CR 02-64	1	4	4	-	-	-
	CR 02 A104, CR 02 B43	CR 02-64 ⊗	5	1-2	6	-	-	-
	CR 02 B42	CR 02-64 x CR 02-49	4	1	4	-	-	-
	CR 02 B48	CR 02-74 ⊗	1	1	1	-	-	-
	CR 02 A95	CR 02-21 x CR 02-49	12	1-7	38	8	2	25
	CR 03 A31, CR 03 A51	CR 03-16 x CR 03-13	33	1-5	63	10	1	10
T3	CR 03 A75, CR 03 B53	CR 03-55 x CR 03-13	6	1-5	13	1	-	-
	CR 03 A83	CR 03-92 x CR 03-32	3	1-2	5	-	-	-
	CR 03 B51	CR 03-13 x CR 03-92	1	2	2	-	-	-
	CR 03 B54	CR 03-55 x CR 03-92	1	1	1	-	-	-
	CR 03 A54	CR 03-16 ใหม่ ⊗	3	1-3	6	-	-	-
	CR 03 A120	CR 03-55 ⊗	7	1-7	19	3	-	-
	CR 04 A15	CR 04-61 x CR 04-7	3	1	3	-	-	-
	CR 04 A34	CR 04-10 x CR 04-61	2	4-6	10	-	-	-
T4	CR 04 A77, CR 04 A79	CR 04-80 x CR 04-7	11	1	11	1	1	100
	CR 04 A80	CR 04-80 x CR 04-10	1	5	5	-	-	-
	CR 04 A5	CR 04-7 ⊗	2	1	2	-	-	-
	CR 04 A43, CR 04 A46	CR 04-10 ⊗	3	1-3	5	1	-	-
	CR 04 B3	CR 04-61 x CR 04-10	2	1	2	-	-	-
	CR 05 A19	CR 05-34 x CR 05-16	7	1-7	19	-	-	-
	CR 05 A38, CR 05 A39	CR 05-1 x CR 05-16	8	1-2	9	-	-	-
	CR 05 A68	CR 05-24 x CR 05-1	3	1-5	11	3	-	-
T5	CR 05 A4	CR 05-24 ⊗	5	1-2	6	-	-	-
	CR 05 A23	CR 05-16 ⊗	1	3	3	3	-	-
	CR 05 A74	CR 05-58 ⊗	1	2	2	-	-	-
	CR 06 A37	CR 06-7 x CR 06-24	16	1-5	37	-	-	-
T6	CR 06 B25	CR 06-32 x CR 06-7	3	1-2	4	-	-	-
	CR 07 A10	CR 07-25 x CR 07-17	23	1-5	56	6	3	50

กลุ่ม	รหัสลูกผสม	คู่ผสม	จำนวน กระถาง	จำนวนต้น/ กระถาง	จำนวนต้น ทั้งหมด	จำนวนต้นที่ พร้อม ประเมิน	จำนวนต้นที่ ผ่านการ ประเมิน	ต้นที่ผ่านการ ประเมิน(%)
	CR 07 B33	CR 07-17 x CR 07-29	1	3	3	-	-	-
	CR 07 B34	CR 07-11 x CR 07-25	7	1-3	14	-	-	-
	CR 07 B40	CR 07-29 x CR 07-17	1	1	1	-	-	-
	CR 07 A118	CR 07-12 ⊗	1	1	1	-	-	-
T8		ไม่มีต้นลูกผสม : ออก ดอกน้อยและผสมไม่ติด						
T9	CR 09 A108	CR 08-5 x CR 08-17	29	1-5	74	1	1	100
	CR 09 A124	CR 08-5 ⊗	4	2-7	16	-	-	-
	ข้ามกลุ่ม							
T2xT5	CR 02 CR 05 A6	CR 02-64 x CR 05-16	13	1-5	19	1	1	100

ตารางที่ 3.2 ลักษณะดอกของลูกผสมรองเท้านารีอินทนนท์ลาวที่ผ่านการประเมิน

รหัสลูกผสม	ลักษณะดอก
CR 01 A13-6	ดอกสมมาตร สีเหลือง กลีบนอกด้านบนสีขาวบิดเป็นลอน ไม่พบโรค
CR 02 A95-1	ดอกสมมาตร ขนาดใหญ่ สีเข้ม กลีบนอกด้านบนมีจุดขนาดใหญ่และจุ่มลงเล็กน้อย กลีบนอกด้านข้างมีจุดประ
CR 02 A95-12	ดอกสมมาตร เป็นต้นขนาดเล็ก เหมาะกับการเป็นไม้กระถางประดับโต๊ะดอกตด(5 ต้น มี 3 ดอก/กระถาง)
CR 03 A51-1	ดอกสมมาตร ขนาดใหญ่ กลีบนอกด้านบนจุ่มลงเล็กน้อย และมีจุดขนาดปานกลาง กลีบนอกด้านข้างมีจุดประ และกลางกลีบดอกสีเข้มเป็นเส้นตามทางยาว
CR 03 A51-30	ดอกสมมาตร จุดประเรียงเป็นระเบียบ 4 แถว ก้านดอกแข็งแรงไม่ใช่ไม้ค้ำ
CR 04 A79-15	ดอกสมมาตร ขนาดใหญ่ สีเหลือง ก้านดอกแข็งแรงไม่ใช่ไม้ค้ำ ไม่พบโรค
CR 07 A10-2	ดอกสมมาตร สีเลือดหมูเข้ม กลีบนอกด้านบนสีขาวบิดเป็นลอน มีจุดประที่โคนก้านดอก
CR 07 A10-5	ดอกสมมาตร กลีบดอกกว้าง สีเหลือง กลีบนอกด้านบนสีขาวบิดเป็นลอน
CR 07 A10-9	ดอกสีเหลืองปนสีเลือดหมูอ่อน ดอกสมมาตร มีจุดประขนาดใหญ่ กลีบนอกด้านบนสีขาวบิดเป็นลอน ไม่พบโรค
CR 09 A108-1	ดอกสีเหลืองปนส้ม ดอกสมมาตร ขนาดใหญ่ กลีบนอกด้านบน มีจุดประขนาดเล็กกระจายทั้งกลีบดอก กลีบนอก ด้านข้างไม่มีจุดประ
CR 02 CR05 A6-2	ดอกสมมาตร ขนาดใหญ่ สีเข้ม กลีบนอกด้านบนมีจุดประขนาดใหญ่ กลีบนอกด้านข้างไม่มีจุดประ

ตารางที่ 3.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของลูกผสมกล้วยไม้รองเท้านารีที่ผ่านการคัดเลือก

คู่ผสม	สายต้น	ใบ	ก้านดอก	ขนาดดอก	กลีบบน	กลีบล่าง	กลีบข้าง (ซ้าย)	กลีบข้าง (ขวา)	กระเปาะ	โล่ห์	รังไข่	กลีบเลี้ยง	จำนวนยอด
KB.65xKB.24	N10	19x300	0.3x165	4.9x6.9	3.1x4.8	3.1x5.1	1.1x4.7	1.1x4.8	1.8x2.1x2.0	0.3x0.9	0.7x4.8	0.9x3.3	8
K.039xK.056	O59	2.7x8.5	0.3x2.7	6.2x5.5	3.4x2.9	1.5x1.9	2.4x4.1	2.5x4.2	1.4x2.1x1.1	0.6x0.9	0.04x3.1	0.6x1.3	4
AB <sub>2</sub> -11xK056	U08	2.0x2.5	0.2x4.5	6.3x4.8	2.8x2.5	1.9x2.2	2.1x2.6	2.0x3.5	1.4x1.8x0.9	0.9x0.9	0.3x3.7	0.5x0.8	3

ตารางที่ 3.4 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพันธุ์รองเท้านารีที่ผ่านการคัดเลือก

พันธุ์	ต้นที่	ใบ	ก้านดอก	ขนาดดอก	กลีบบน	กลีบล่าง	กลีบข้าง (ซ้าย)	กลีบข้าง (ขวา)	กระเปาะ	โล่ห์	รังไข่	กลีบเลี้ยง	จำนวนยอด
KB.9	B06	1.9x28.0	0.4x21.5	4.4x8.0	3.3x4.7	3.2x4.5	1.3x4.5	1.2x4.6	1.5x1.9x1.5	0.7x0.8	0.6x4.0	0.6x5.2	11
	B19	1.9x20.5	0.3x20.8	4.9x7.3	3.0x3.9	2.5x4.4	1.1x4.2	1.0x4.2	1.6x2.4x1.5	0.9x1.3	0.5x4.6	0.9x3.5	10
	B57	1.1x30.1	0.4x26.1	5.3x8.6	3.2x4.5	2.9x4.7	0.9x5.1	1.2x4.9	1.5x2.4x1.6	0.9x1.5	0.7x4.6	1.5x4.9	12
LBII 6	K03	1.6x16.0	0.2x10.0	4.9x5.2	3.1x3.4	2.8x3.9	1.4x3.7	1.4x3.8	1.5x2.1x1.7	0.6x0.5	0.9x3.5	1.6x3.2	11
KB 62	F06	1.3x19.5	0.4x17.6	3.8x6.7	2.2x4.3	2.6x4.3	0.9x4.2	0.8x4.2	1.3x1.6x1.4	1.1x0.9	0.5x4.4	0.8x4.0	9

ตารางที่ 3.5 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ลาว ซึ่งเก็บละอองเรณูกล้วยไม้หลังดอกบาน 1-3 วัน เก็บรักษานาน 1- 7 วัน ที่อุณหภูมิ -4 0 และ 25 องศาเซลเซียส

ละอองเรณูวันที่ดอกบาน	อุณหภูมิ	จำนวนวันที่เก็บรักษา						
		1	2	3	4	5	6	7
1	-4 °C	81.3	78.4	82.0	87.3	80.7	79.8	85.6
	0 °C	80.1	83.3	77.6	82.4	88.2	84.4	81.4
	25 °C	85.7	81.3	82.7	84.8	80.3	79.1	80.8
2	-4 °C	87.4	82.3	80.5	85.1	84.1	82.4	81.8
	0 °C	84.9	82.1	85.7	81.5	90.4	83.7	81.9
	25 °C	86.8	84.2	81.1	79.4	83.5	88.6	85.3
3	-4 °C	81.9	80.4	83.9	87.3	86.4	81.8	82.9
	0 °C	87.2	93.0	85.7	86.1	81.7	82.3	84.2
	25 °C	84.9	87.5	80.4	80.6	80.0	81.7	88.6

ตารางที่ 3.6 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ลาว ซึ่งเก็บละอองเรณูกล้วยไม้หลังดอกบาน 1-3 วัน เก็บรักษานาน 1- 6 เดือน ที่อุณหภูมิ -4 0 และ 25 องศาเซลเซียส โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเก็บได้นานเพียง 1 เดือน

ละอองเรณูวันที่ดอกบาน	อุณหภูมิ	จำนวนเดือนที่เก็บรักษา					
		1	2	3	4	5	6
1	-4 °C	80.6	78.2	79.7	71.4	66.5	63.6
	0 °C	81.7	77	75	73	72.1	64
	25 °C	79.2					
2	-4 °C	82.4	80.5	78.3	74.8	68.3	61.8
	0 °C	83.5	78.4	75.4	74.2	70	63
	25 °C	82.3					
3	-4 °C	83.9	84.9	80.2	73.7	65.2	62.1
	0 °C	84.6	80.1	72	75	74	68.7
	25 °C	81.8					

**ตารางที่ 3.7** เปอร์เซ็นต์การผสมติดของดอกกล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ลาวในช่วงเวลา 8.00-12.00 น. หลังจากดอกบาน 0-2 วัน ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง)

วันที่ผสมหลังดอกบาน	เวลาผสมเกสร		
	8.00-9.00	9.30-10.30	11.00-12.00
1	75	92.86	75.00
2	100	62.50	88.89
3	100	100	100

**ตารางที่ 3.8** ข้อมูลอุตุนิยมวิทยาในช่วงทำการทดลอง เดือนตุลาคม 2561-มีนาคม ปี 2562 ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง)

เดือน	อุณหภูมิ		อุณหภูมิเฉลี่ย		ปริมาณน้ำฝน (มม.)	ความชื้น (%)
	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด		
ตุลาคม	27.5	12.6	23.6	15.0	318.3	87.8
พฤศจิกายน	25.5	10.0	23.1	14.5	52.8	86.1
ธันวาคม	24.2	9.3	22.1	13.1	25.6	86.1
มกราคม	23.9	8.0	22.2	10.8	52.7	89.8
กุมภาพันธ์	27.1	11.0	24.8	15.0	0	72.4
มีนาคม	30.3	15.1	25.7	16.6	0	72.9

**ตารางที่ 3.9** เปอร์เซ็นต์การรอดตายของรองเท้านารีที่เลี้ยงในโรงเรือนสภาพต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดจิบเบอเรลลิก หลังพอกฆ่าเชื้อนาน 1 เดือน

ความเข้มข้นของ GA (มก./ล)	โรงเรือนชนิดต่างๆ			ค่าเฉลี่ย
	ปกติ	พลาสติก	มุ้ง	
0 (Control)	50.0 a	12.5 b	45.0 a	35.8 ab
100	11.1 ab	<b>68.8 a</b>	35.0 a	38.3 a
200	13.4 ab	43.4 ab	5.6 a	20.8 ab
300	12.5 ab	17.2 b	16.7 a	15.4 ab
400	30.0 ab	12.5 b	11.8 a	18.1 ab
500	5.0 b	5.6 b	26.8 a	12.5 b
ค่าเฉลี่ย	20.3 a	26.63 a	23.47 a	
F-test	ความเข้มข้นของ GA			ns
	โรงเรือน			ns
	ความเข้มข้นของ GA x โรงเรือน			ns
C.V.				79.7

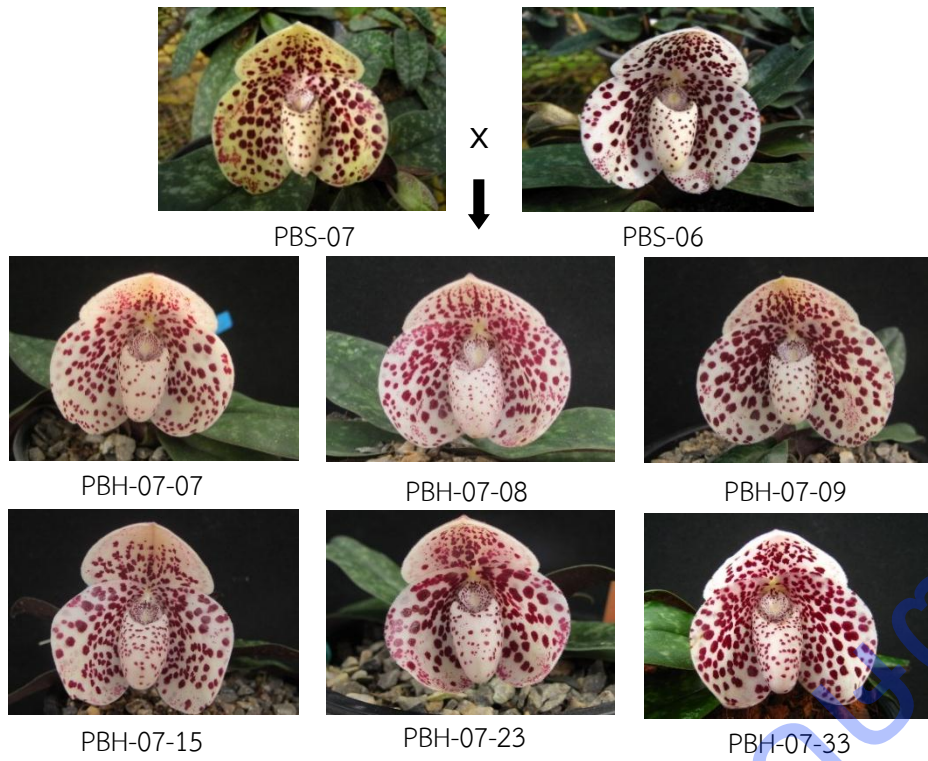
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

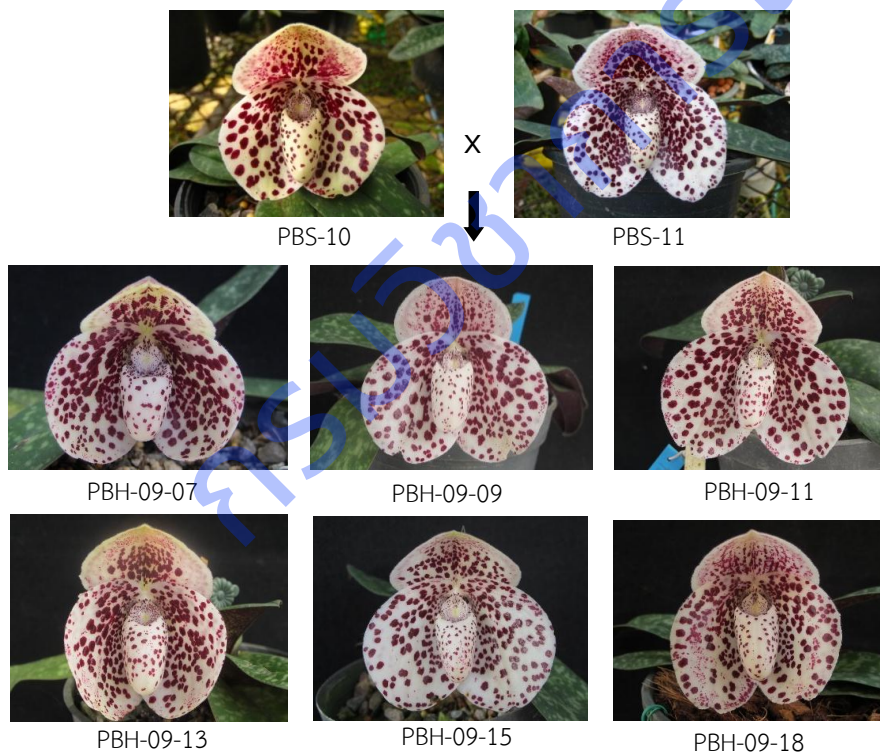




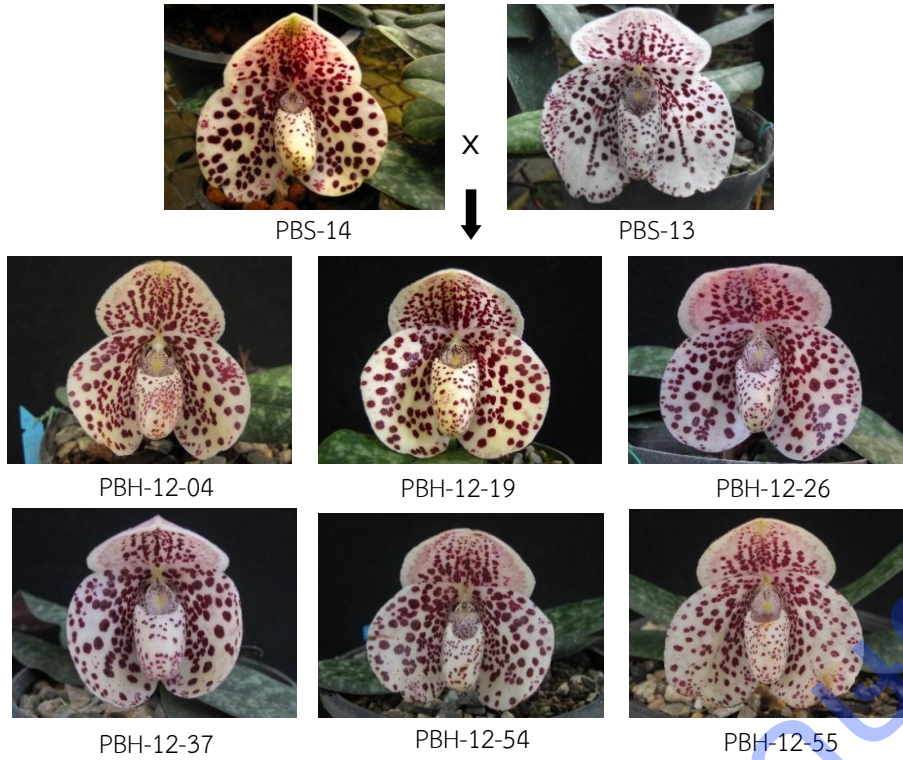
ภาพที่ 3.1 ลูกผสมที่ผสมในกลุ่มเดียวกันที่มีลักษณะผ่านการประเมิน มีจำนวน 10 สายต้น และลูกผสมที่มาจากข้ามกลุ่ม 1 สายต้น ได้แก่ CR 01 A13-6(ก) CR 02 A95-1(ข) CR 02 A95-12(ค) CR 03 A51-1(ง) CR 03 A51-30(จ) CR 04 A79-15(ฉ) CR 07 A10-2(ช) CR 07 A10-5(ซ) CR 07 A10-9(ฅ) CR 09 A108-1(ญ) และ CR 02 05 A6-2(ฎ)



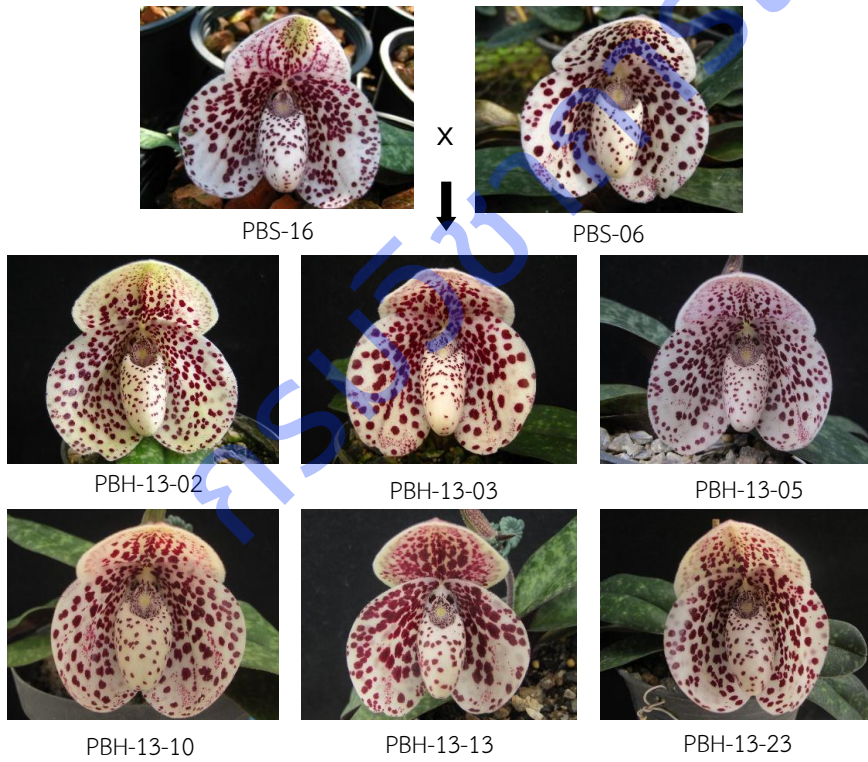
ภาพที่ 3.2 ลักษณะดอกต้นแม่และต้นพ่อของคู่ผสม PBH-07 และตัวอย่างต้นลูกที่ผ่านการประเมิน



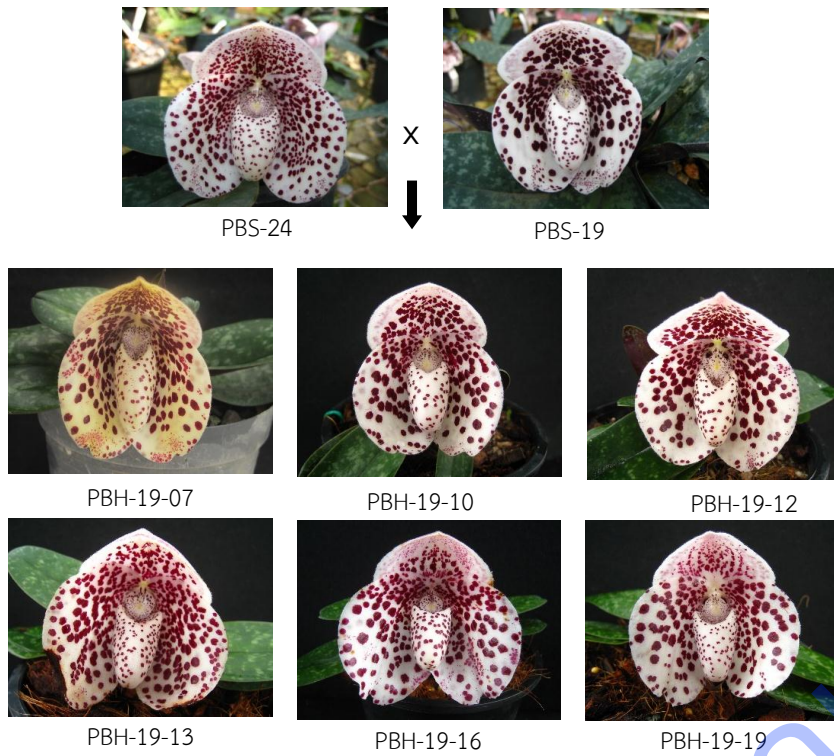
ภาพที่ 3.3 ลักษณะดอกต้นพ่อแม่ของคู่ผสม PBH-09 และตัวอย่างต้นลูกที่ผ่านการประเมิน



ภาพที่ 3.4 ลักษณะดอกต้นพ่อแม่ของคู่ผสม PBH-12 และตัวอย่างต้นลูกที่ผ่านการประเมิน



ภาพที่ 3.5 ลักษณะดอกต้นพ่อแม่ของคู่ผสม PBH-13 และตัวอย่างต้นลูกที่ผ่านการประเมิน



ภาพที่ 3.6 ลักษณะดอกต้นพ่อแม่ของคู่ผสม PBH-19 และตัวอย่างต้นลูกที่ผ่านการประเมิน



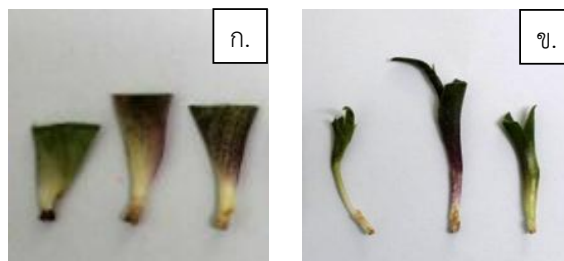
ภาพที่ 3.7 ลักษณะดอกต้นพ่อแม่ของคู่ผสม PBH- 31 และตัวอย่างต้นลูกที่ผ่านการประเมิน



ภาพที่ 3.8 ลักษณะดอกกล้วยไม้รองเท้านารีที่ผ่านการคัดเลือก



ภาพที่ 3.9 ลักษณะดอกกล้วยไม้รองเท้านารีที่ผ่านการคัดเลือก



ภาพที่ 3.10 ลักษณะของชิ้นส่วนพืชที่มีความปกติ(ก.) และชิ้นส่วนพืชที่มีลักษณะข้อยืดยาว(ข.) หลังจากรดกรดจิบเบอเรลลิก นาน 10 สัปดาห์ก่อนนำไปพอกฆ่าเชื้อ

## โครงการวิจัยที่ 4

### โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ

#### Research and Development Project for Potential Orchid Species

อำนวยการ อรรถลึงรอง<sup>1/</sup> มานิต สารุณา<sup>2/</sup> วัชรพล บำเพ็ญอยู่<sup>3/</sup> สุปัน ไม้ตัดจันทร์<sup>3/</sup> พรอนันต์ แข็งขันธ<sup>4/</sup>  
มณฑิรา ภูติวรนาถ<sup>5/</sup> วาสนา สุภาพรหม<sup>6/</sup> ยรรยง พันธุ์พฤษ<sup>7/</sup>

Amnuai Adthlungrong<sup>1/</sup> Manit Saruna<sup>2/</sup> Watcharaphon Bumphenyoo<sup>3/</sup> Supan Maidatchan<sup>3/</sup>  
Phornanan Khaengkhan<sup>4/</sup> Montira Putiworanart<sup>5/</sup> Watsana Supaprom<sup>6/</sup> Yanyong Punpreuk<sup>7/</sup>

**คำสำคัญ :** การปรับปรุงพันธุ์พืช, การคัดเลือก, กล้วยไม้สกุลลิ้นมังกร, กล้วยไม้สกุลสปาโทกลอสทิส  
กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา, กล้วยไม้สกุลมือคคร่า, กล้วยไม้สกุลซิมบีเดียม

**Keywords :** plant breeding, selection, *Habenaria rhodocheila* Hance, *Spathoglottis*,  
*Bulbophyllum lobbii*, Mokara Species, *Cymbidium*

#### บทคัดย่อ

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ ประกอบด้วย กล้วยไม้ทั้งหมด 5 สกุล ได้แก่ ลิ้นมังกร สปาโทกลอสทิส สิงโตกลอกตา มือคคร่า และซิมบีเดียม ดำเนินการระหว่างปี 2558-2563 โดยในกล้วยไม้สกุล ลิ้นมังกร พบว่า หัวพันธุ์เริ่มงอกเมื่อได้รับน้ำ/น้ำฝนหลังพักตัวในฤดูแล้ง เริ่มแทงช่อดอกหลังปลูก ประมาณ 120 วัน และดอกบานหลังจากแทงช่อดอก 30 วัน จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ หลังจากดอกบาน 2 วัน พบว่า มีความงอก สูงสุด 58.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการผสมเกสรควรปล่อยให้ติด 2 ผักต่อช่อ ซึ่งจะให้เมล็ดดีมากถึง 2,800 เมล็ด/ผัก การผสมข้ามในสกุลลิ้นมังกร พบว่า ลิ้นมังกรสีชมพู (*Habenaria rhodocheila*) ใช้เป็นแม่ในการผสมพันธุ์ได้ดี และมีการสร้างประชากรสำหรับการคัดเลือกจากลูกผสมต่างๆ ไร่จำนวนหนึ่ง ด้านการเพิ่มชุดโครโมโซม พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน และระยะเวลาที่ศึกษาไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ส่วนการผลิตเป็นไม้กระถางควรใช้กระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูก พีทมอส:สเปกนัมมอส:แกลบดำ:ดิน+ปุ๋ยคอก อัตรา 1:1:1:1 เมื่อเข้าระยะพักตัวให้เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์เมื่อต้นแห้งสนิท ร่วมกับการฝังไว้ในที่ร่ม 2-8 วัน (แตกต่างกันตามขนาดหัว) จากนั้นบรรจุในถุงซิปลาสติกและเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถเก็บรักษาหัวพันธุ์ได้นาน 8 เดือน ส่วนการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การแช่ผักด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaClO<sub>2</sub>) ความเข้มข้น 10% และ 5% ความเข้มข้นละ 10 นาที แล้วนำเมล็ดไปเพาะบนอาหารแข็งสูตร ½ VW เติมน้ำ 150 มล./ล. ได้ต้นอ่อนที่มีปริมาณและคุณภาพดีที่สุด ส่วนการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนให้นำไปเลี้ยงบนอาหาร VW เติมน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัม/ลิตร ให้จำนวนยอดใหม่มากถึง 8.02 ยอด กล้วยไม้สกุลสปาโทกลอสทิส การทดสอบพันธุ์ พบว่า Spa-Hy-02-13 Spa-Hy-03-50 Spa-Hy-06-24 Spa-Hy-13-09 Spa-Hy-17-21 Spa-Hy-18-24 และ Spa-Hy-23-01 เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งจะได้เสนอเป็นพันธุ์แนะนำต่อไป มีการผสมพันธุ์และคัดเลือกเพิ่มเติมใหม่จำนวน 30 และ 14 คู่ผสม ตามลำดับ ส่วนการผลิตไม้กระถาง ใช้วัสดุ กาบมะพร้าวสับ:ปุ๋ยคอก อัตรา 2 : 1 ส่วน และให้ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 100 ppm ปริมาณ 300 มล. 1 ครั้งต่อสัปดาห์ กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา กลุ่มลอบบีโอ (*lobbii* complex) การผสมข้ามชนิด (5 ชนิด) มีความสำเร็จแตกต่างกัน แต่มีเพียงลูกผสม สิงโตสยาม (*Bulb. Siamese*) x สิงโตสยามปราจีน (*Bulb. orectopetalum*) ที่สามารถออกลูกและปรับตัวเจริญเติบโตได้ปานกลาง วัสดุที่เหมาะสมสำหรับปลูก

ได้แก่ ถ่านปูลูกกล้วยสแฟคนั้มมอส อาหารสูตร Orchid seed sowing medium (P723) เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ด มีการงอกและพัฒนาของต้นอ่อนดีที่สุด 43.63 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ให้ฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนให้ ลอกกาบใบออกและตัดใบยอดอ่อนให้สั้น แช่ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างน้ำกลั่นและแช่ด้วย สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10% นาน 20 นาที ก่อนนำไปเพาะบนอาหาร P668 เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. ที่ระดับน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ **กล้วยไม้สกุลมือคคร่า** การทดสอบพันธุ์ พบว่า มือคคร่าหมูทอง ให้จำนวนช่อดอกมากที่สุด 119 ช่อ มีคุณภาพของดอกได้ตามมาตรฐาน และอายุการปักแจแนมากที่สุด 28.75 วัน **กล้วยไม้สกุลเข็มบีเดียม** มีผสมข้ามชนิดและข้ามสกุล หรือข้ามพันธุ์ ได้ลูกผสมมากกว่า 100 คู่ผสม โดยมีบางคู่ผสมเริ่มให้ดอก วิธีที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ดกระรอนในสภาพควบคุม ใช้อาหารแข็ง BRT เติม PPM (สารควบคุมจูลินทรีย์) อัตรา 0.6-1.2 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ เพาะเมล็ดโดยโรยเมล็ดลงไปบนอาหารแล้ว หยอด PPM บนผิวหน้าจำนวน 8 หยด มีการพัฒนาของเมล็ดดีและเกิดการปนเปื้อนน้อย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้ ชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW เติม Kinetin 0.5 หรือ 1.0 มล./ล. ร่วมกับ NAA 1.0 มล./ล. เป็นเวลา 5-7 เดือน สามารถเจริญและพัฒนาเกิดยอดและรากได้ดี มียอด 1.00 ยอด 2.00-3.50 ใบ

<sup>1/</sup> สถาบันวิจัยพืชสวน (Horticultural Research Institute)

<sup>2/</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม (Nakornpanom Agricultural Research and Development Center)

<sup>3/</sup> ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย (Chiangrai Horticultural Research Center)

<sup>4/</sup> ศูนย์วิจัยพืชสวนเลย (Loei Horticultural Research Center)

<sup>5/</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ (Phare Agricultural Research and Development Center)

<sup>6/</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร (Phichit Agricultural Research and Development Center)

<sup>7/</sup> ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร (Information and Communication Technology Center)

### Abstract

Other potential orchid research and development projects consist of 5 genera of orchids, namely dragon tongue, spatoglostis, lion's eye, mocca, and cymbidium. Conducted during 2015-2020, in the orchid genus *Linguang*, it was found that tubers began to germinate when receiving water/rain after dormant in the dry season. Start stabbing inflorescences about 120 days after planting and blooming after 30 days after stabbing inflorescences are classified as perfect flowers. After 2 days of flowering, the maximum germination was 58.5 percent, and pollination should be 2 pods per bunch, which yielded 2,800 seeds/pod. In crossbreeding in the genus Dragon tongue, it was found that the pink dragon tongue (*Habenaria rhodocheila*) was used as a mother for mating. and populations were created for selection from various hybrids. a certain amount Regarding the addition of chromosome sets, it was found that the concentration of the colchicine solution and the study period did not cause any changes in the characteristics. As for the production of a potted plant, it is best to use a 4-inch pot using planting material. Peat moss:Spectrum moss:Black husk:Soil + manure ratio 1:1:1:1 When entering the dormancy period, harvest the tubers when the plant is completely dry. Together with drying in the shade for 2-8 days (different from bulb size), then packed in a plastic zipper bag and stored at 15 ° C, which can keep the bulbs for 8 months. Aseptic, it was found that the pods were soaked with 10% and 5% sodium hypochlorite (NaClO<sub>2</sub>) solutions at 10 min each concentration, and then the seeds were planted on solid medium ½ VW, adding 150 ml/l of water. The best quality and quantity sapling For increasing the number of young sprouts to be fed on VW medium, 100 g/liter of potato extract was added to yield up to 8.02 new shoots. Breed testing found that Spa-Hy-02-13 Spa-Hy-03-50 Spa-Hy-06-24 Spa-Hy-13-09 Spa-Hy-17-21 Spa-Hy-18-24 and Spa-Hy-23-01 are accepted by consumers. which will be proposed as the next recommended breed. The new breeding and selection were 30 and 14 cross pairs, respectively. For the production of potted plants, materials were used. Shredded coconut husks: manure at the rate of 2 :1 parts and granulated fertilizer at the rate of 20 : 10 : 25 at the rate of 100 ppm, the amount of 300 ml 1 time per week. Orchid genus Lion rolls its eyes, *lobbii* complex, crossbreeding. (5 types) have different achievements. But there are only hybrids, Siamese lions (Bulb. Siamese) x Siamese lions. (Bulb. *orectopetalum*) that can grow and grow moderately. The ideal material for planting is sphagnum moss charcoal. Orchid seed sowing medium (P723) is suitable for seeding. The best germination and development of seedlings was 43.63 percent. To bleach and disinfect young shoots, peel off the leaf sheaths and shorten the young shoots. Soak in 95 percent alcohol for 5 minutes, rinse with distilled water and soak with 10% sodium hypochlorite solution for 20 minutes before inoculation on P668 medium. Coconut water 150 ml/l at 1% sugar level Breed testing found that Mocarar Golden Pig Give the maximum number of inflorescences, 119 bouquets, the quality of the flowers is standard. and the longest planting period was 28.75 days. Cymbidium orchids There are cross-species and cross-genus. or cross



breed more than 100 hybrids with some hybrids begin to flower. Appropriate method for germination under controlled conditions is to use BRT solid medium with 0.6-1.2 percent PPM (microbial control agent) without autoclaving. Seeds were planted by sprinkling seeds onto food and applying 8 drops of PPM on the surface. Good seed development and low contamination were observed. Tissue culture using lateral bud segments of young shoots cultured on synthetic medium VW added 0.5 or 1.0 ml/l Kinetin plus 1.0 ml/l NAA for 5-7 months. and good roots with 1.00 shoots 2.00-3.50 leaves.

กรมวิชาการเกษตร

## บทนำ

ปี 2554-2558 สถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์วิจัยเครือข่ายได้ผสมพันธุ์และคัดเลือกกล้วยไม้ท้องถิ่นของไทยไว้หลายสกุล ได้แก่ สกุลช้าง ชิมบิเดียม ม้าวิ่ง ลิ่นมังกร สแปโทกลอททิส เอื้องพร้าว และคาเลนธ เพื่อพัฒนาเป็นกล้วยไม้ประดับชนิดใหม่ที่มีศักยภาพของไทย โดยส่งเสริมให้มีการผลิต การใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวางมากขึ้น กล้วยไม้เหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้ป่าและมีบางสกุลที่เริ่มมีการพัฒนาเป็นไม้การค้า ลักษณะต้นและดอกเป็นเอกลักษณ์ สวยแปลกตา มีความต้องการในหมู่นักสะสมกล้วยไม้แปลกและหายากทั้งในและต่างประเทศ ทำให้เกิดการเก็บกล้วยไม้ป่าเหล่านี้ออกมาจำหน่ายเป็นจำนวนมาก จึงเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตามกล้วยไม้ 2 ชนิดที่ประสบความสำเร็จและแนวโน้มในการพัฒนาเป็นกล้วยไม้การค้าชนิดใหม่ ได้แก่ ลิ่นมังกร และสแปโทกลอททิส เนื่องจากสามารถพัฒนาพันธุ์ได้โดยใช้ระยะเวลาไม่นาน เพิ่มปริมาณพันธุ์ได้ไม่ยุ่งยาก และสามารถจัดการการผลิตได้ โดยในช่วงที่ผ่านมาได้กล้วยไม้ทั้งสองชนิดได้มีการผสมและคัดเลือกพันธุ์อย่างต่อเนื่อง จึงมีคู่ผสมที่จำเป็นต้องประเมินทดสอบก่อนการเผยแพร่ต่อไป ตลอดจนศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเป็นไม้ประดับและผลิตหัว/หน่อพันธุ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ/เพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อและการปรับปรุงพันธุ์อย่างต่อเนื่อง เพื่อสร้างความแปลกใหม่รองรับการขยายตัวของตลาดในอนาคต

ส่วนกล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตาจัดเป็นกล้วยไม้อีกสกุลหนึ่งที่มีความโดดเด่นน่าสนใจ เนื่องจากมีความหลากหลายของลักษณะต้นและดอก ตลอดจนอุปนิสัยการปลูกเลี้ยง และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ยังเป็นศูนย์กลางที่สำคัญการกระจายตัวของกล้วยไม้สกุลสิงโตที่สำคัญของโลก จึงเริ่มมีการนำกล้วยไม้พันธุ์แท้ไปพัฒนาพันธุ์เป็นกล้วยไม้ลูกผสม และเริ่มมีบทบาทในตลาดกล้วยไม้ทั้งในและต่างประเทศ ขณะที่กล้วยไม้มีอคคาร่าในธุรกิจการจัดดอกไม้ของตลาดภาคเหนือมีความต้องการเพิ่มมากขึ้น แต่ผลผลิตส่วนใหญ่นำมาจากแหล่งผลิตภาคกลาง ทำให้กล้วยไม้ดังกล่าวมีต้นทุนสูง จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกมากในเขตภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง แพร่ และจำเป็นต้องทดสอบพันธุ์กล้วยไม้สกุลมีอคคาร่าที่มีศักยภาพสำหรับปลูกในภาคเหนือ เพื่อให้ข้อมูลและทางเลือกให้เกษตรกรที่สนใจในการผลิตมีอคคาร่าตัดดอกต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยจัดทำขึ้นเพื่อวิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้ไทยที่มีศักยภาพสกุลลิ่นมังกร สแปโทกลอททิส สิงโตกลอกตา มีอคคาร่า และชิมบิเดียม สำหรับการผลิตเชิงการค้าด้วยการสร้างพันธุ์แท้หรือลูกผสมที่เหมาะสม ในแต่ละท้องถิ่น และคัดเลือกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและขยายพันธุ์กล้วยไม้ที่มีศักยภาพด้วยวิธีต่างๆ และป้องกันกำจัดศัตรูกล้วยไม้ที่มีศักยภาพ ในประเด็นที่เป็นปัญหาสำคัญในการผลิตและขยายพันธุ์ ซึ่งมีแผนผังดำเนินงาน ดังนี้

## ระเบียบวิธีการวิจัย

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 1.1 การศึกษาชีวจักรของกล้วยไม้ลิ่นมังกร ( <i>Habenaria rhodocheila</i> ) ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2560	ไม่มี	-	-
การทดลอง 1.2 การศึกษาชีววิทยาของดอกลิ่นมังกร ( <i>Habenaria rhodocheila</i> ) ดำเนินการที่ สถาบันวิจัยพืชสวน ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	ไม่มี	-	-
การทดลอง 1.3 การทดสอบพันธุ์ลิ่นมังกรชุดที่ 1 ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	RCB	10 (พันธุ์)	3
การทดลอง 1.4 การผสมและคัดเลือกพันธุ์ลูกผสมลิ่นมังกรชุดที่ 2 ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	คัดเลือก สี่บประวัต	ผสมพันธุ์แบบ พบกันหมด	-

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 1.6 ศึกษาการผสมข้ามชนิดในกล้วยไม้สกุลลิ้นมังกร ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2563	คัดเลือก สี่บประสิทธิภาพ	ไม่กำหนด แผนผสมพันธุ์	-
การทดลอง 1.7 ศึกษาการเพิ่มชุดโครโมโซมของกล้วยไม้ลิ้นมังกรด้วยโคลชิซิน ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	Factorial in CRD	10 (สคม. x เวลา)	3
การทดลอง 1.8 การจัดการผลิตกล้วยไม้ลิ้นมังกรเพื่อเป็นไม้กระถางและผลิตหัวพันธุ์ ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	Factorial in RCB	10 (เครื่องปลูก x ปุ๋ย)	3
การทดลอง 1.9 การศึกษาการผลิตกล้วยไม้ประดับลิ้นมังกรนอกฤดู ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	RCB <sup>1</sup>	9 (สคม.)	-
การทดลอง 1.10 เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ลิ้นมังกร ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	RCB	6 (การจัดการ)	4
การทดลอง 1.11 การปรับปรุงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ดพันธุ์ลิ้นมังกรในสภาพ ปลอดภัย ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2563	CRD <sup>2</sup>	6 (สูตรอาหาร)	10
การทดลอง 1.12 การศึกษาการขยายพันธุ์ลิ้นมังกรจากต้นเพาะเมล็ดในสภาพปลอดภัย ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2563	CRD	6 (สูตรอาหาร)	10
การทดลอง 2.1 การทดสอบพันธุ์กล้วยไม้สกุลสแบโทกลอททิสลูกผสม ชุดที่ 3 ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2560	RCB	12 (พันธุ์)	4
การทดลอง 2.2 การผสมและคัดเลือกพันธุ์กล้วยไม้สกุลสแบโทกลอททิสลูกผสม ชุดที่ 4 ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	คัดเลือก สี่บประสิทธิภาพ	ผสมพันธุ์แบบ พบกันหมด	-
การทดลอง 2.3 วิธีการจัดการกล้วยไม้สแบโทกลอททิสที่เหมาะสม ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	RCB	4 (วัสดุปลูก)	5
การทดลอง 3.1 การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา กลุ่มลอบบีโอ (lobbii complex) ดำเนินการที่ ศูนย์สารสนเทศ ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563	ไม่มี	รวบรวม คัดเลือก และผสมพันธุ์	-
การทดลอง 3.2 ศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการใช้เป็นกล้วยไม้กระถาง ประดับของสิงโตกลอกตา ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	RCB	5 (วัสดุปลูก)	-
การทดลอง 3.3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์สิงโตกลอกตา 2 ชนิด ด้วยเมล็ด ดำเนินการที่ ศูนย์สารสนเทศ ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2561	CRD	4 (สูตรอาหาร)	-
การทดลอง 3.4 ศึกษาวิธีการพอกฆ่าเชื้อและขยายพันธุ์สิงโตกลอกตา lobbii complex ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการที่ ศูนย์สารสนเทศ ระหว่างปี พ.ศ. 2561-2563	CRD	6 (ความเข้มข้น+ เวลาการพอก)	-
การทดลอง 4.1 ทดสอบพันธุ์กล้วยไม้สกุลมือคคาร่าที่มีศักยภาพสำหรับปลูกใน ภาคน้ำตอนบน ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2562	RCB	5 (พันธุ์)	4
การทดลอง 5.1 การปรับปรุงพันธุ์กะระร้อนเผือก (alba) และกึ่งเผือก (semi alba) ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2563	ไม่มี	รวบรวม คัดเลือก และผสมพันธุ์	-
การทดลอง 5.2 การพัฒนาพันธุ์ลูกผสมข้ามสกุลระหว่าง <i>Cymbidium</i> และ <i>Eulophia</i> ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2563	ไม่มี	รวบรวม คัดเลือก และผสมพันธุ์	-
การทดลอง 5.3 การศึกษาวัสดุและวิธีการเพาะเมล็ดกะระร้อนในสภาพควบคุม ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2561	CRD	7 (สคม.)	3
การทดลอง 5.4 การศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมโดยการเพาะเมล็ดใน สภาพปลอดภัย ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2561	CRD	4 (สูตรอาหาร)	4

<sup>1</sup>แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ <sup>2</sup>แผนแบบสุ่มสมบูรณ์

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศัพทภาพอื่นๆ ประกอบด้วย กล้วยไม้ทั้งหมด 5 สกุล ได้แก่ ลีนมังกร สปาโทกลอสทิส สิงโตกลอกตา ม็อคคาร่า และซิมบิเดียม ดำเนินการระหว่างปี 2559-2563 โดยในกล้วยไม้สกุลลีนมังกร การศึกษาชีวจักรของลีนมังกร พบว่า หัวพันธุ์เริ่มงอกเมื่อได้รับน้ำ/น้ำฝนหลังพักตัวในฤดูแล้ง เริ่มแทงช่อดอกหลังปลูก ประมาณ 120 วัน และดอกบานหลังจากแทงช่อดอก 30 วัน จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (ภาพที่ 4.1) หลังจากดอกบาน 2 วัน พบว่า มีความงอกสูงสุด 58.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชีววิทยาของดอกลีนมังกร พบว่า เส้าเกสรประกอบด้วย กลุ่มเรณู (pollinia) ช้างละ 1 ชุด รูปร่างคล้ายไขปลาแต่ละกลุ่มเรณูประกอบด้วยกลุ่มเรณูย่อย (massula) 300-600 อันรูปร่างแบนหนา ลูกแพร์ และไม้แน่นอน แต่ละกลุ่มเรณูย่อยประกอบด้วยเรณู (pollen grain/pollen unit) ประมาณ 100-200 อัน ยึดติดกันเป็นก้อน ขนาด 15-20 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.2) และการผสมเกสรควรปล่อยให้ติด 2 ฝักต่อช่อ ซึ่งจะให้เมล็ดตึ่มากถึง 2,800 เมล็ด/ฝัก

การทดสอบพันธุ์ลีนมังกรชุดที่ 1 เนื่องจากลีนมังกร 10 พันธุ์ที่ปลูกทดสอบ มีปัญหาไม่พัฒนาหัวพันธุ์ จึงปรับเปลี่ยนวิธีขยายพันธุ์เป็นการเพาะเมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเอง โดยสามารถเพาะกล้าพันธุ์ต่าง ๆ ได้จำนวนหนึ่ง แต่ประเมินความดีเด่นของพันธุ์ไม่ได้ตามวัตถุประสงค์ ส่วนการผสมและคัดเลือกกล้วยไม้ในสกุลลีนมังกร มีรวบรวมพันธุ์กล้วยไม้ในสกุลนี้และคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการผสมพันธุ์ โดยมีการผสมพันธุ์ กล้วยไม้ลีนมังกรภายในประชากรเดียวกันและต่างประชากร ผสมข้ามชนิด และผสมข้ามสกุล พบว่า กล้วยไม้ลีนมังกรแต่ละคู่ผสม มีการติดฝักและเพาะงอกแตกต่างกัน และได้ปลูกต้นกล้าลูกผสมจำนวนหนึ่ง แต่ไม่สามารถประเมินความดีเด่นของลูกผสมคู่ต่างๆ (ภาพที่ 4.3) ด้านการเพิ่มชุดโครโมโซม พบว่า ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการแช่สารโคลชิซินไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ

ด้านเทคโนโลยีการผลิตและขยายพันธุ์ ควรใช้กระถางขนาด 4 นิ้ว จำนวน 1 หัวพันธุ์/กระถาง วัสดุปลูกผสมพีทมอส : กรวดหยาบ อัตรา 2:1 และให้ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 1 ก./น้ำ 1 ลิตรทุกสัปดาห์ มีการเจริญเติบโตทางต้น การออกดอก และให้จำนวนหัวพันธุ์ดีที่สุด ส่วนการผลิตกล้วยไม้ลีนมังกรนอกฤดู กระตุ้นให้หัวงอกนอกฤดูด้วยการแช่ 40 ppm นาน 10 นาทีแล้วนำไปเพาะในที่มืด เมื่อต้นงอกแล้วจึงย้ายไปเลี้ยงในที่ที่มีแสง 2,000-3,000 ลักซ์ นาน 10-14 ชั่วโมง เมื่อย้ายต้นลงปลูกในกระถางจะแทงช่อดอกก่อนฤดูกาล 30-45 วัน ซึ่งตรงกับฤดูแล้งทำให้ช่อฝ่อเกือบทั้งหมด จำเป็นต้องมีการศึกษาสภาพแวดล้อมเพิ่มเติม นอกจากนี้การให้ฮอร์โมน GA 5 ppm และ NAA 5 ppm รวมกับการให้ปุ๋ย ช่วยให้มีการเจริญเติบโตและออกดอกดีกว่าการให้ปุ๋ยเพียงอย่างเดียว

ส่วนการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ ให้เก็บเกี่ยวเมื่อต้นแห้งสนิท ร่วมกับการฝังไว้ในที่ร่ม 2-8 วัน (แตกต่างกันตามขนาดหัว) จนหัวพันธุ์มีน้ำหนักคงที่ จากนั้นบรรจุในถุงซิปลาสติกและเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถเก็บรักษาหัวพันธุ์ได้นาน 8 เดือน ส่วนการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การแช่ฝักด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaClO<sub>2</sub>) ความเข้มข้น 10% และ 5% ความเข้มข้นละ 10 นาที แล้วนำเมล็ดไปเพาะบนอาหารแข็งสูตร ½ VW เติมน้ำ 150 มล./ล. ได้ต้นอ่อนที่มีปริมาณและคุณภาพดีที่สุด ส่วนการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนให้นำไปเลี้ยงบนอาหาร VW เติมน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัม/ลิตร ให้จำนวนยอดใหม่มากถึง 8.02 ยอด

**กล้วยไม้สกุลสปาโทกลอสทิส** การเปรียบเทียบพันธุ์คัดเลือกสายต้นดีเด่นที่จะเสนอเป็นพันธุ์แนะนำ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ Spa-Hy-03-50 และ Spa-Hy-17-12 ซึ่งเหมาะสำหรับปลูกเป็นไม้กระถาง มีดอกออกเป็นกระจุกอยู่ที่ปลายช่อ จำนวน 40-44 ดอก/ช่อ และมีจำนวน 1-2 ช่อต่อต้น (ตารางที่ 4.1) ส่วนการผสมและคัดเลือกพันธุ์มีการผสมพันธุ์ใหม่จำนวน 30 คู่ผสมและมีการออกปลูกแล้ว 14 คู่ผสม ลูกผสมเริ่มมีการออกดอกและคัดเลือกเบื้องต้นไว้ 33 สายต้น (ภาพที่ 4.4) และนำทั้งหมดไปขยายพันธุ์พร้อมประเมินศึกษาศัพทภาพในการขยายพันธุ์ และคัดเลือกซ้ำจากผลผลิตและคุณภาพดอกต่อไป

ส่วนการผลิตไม้กระถาง วางแผนแบบสุ่มในบล็อคมุมบูรณ ทดสอบหาวัสดุปลูก ปริมาณปุ๋ย ขนาดกระถางและจำนวนหน่อพันธุ์ที่เหมาะสม พบว่า ควรใช้วัสดุปลูกเป็นกาบมะพร้าวสับ:ปุ๋ยคอก อัตรา 2 :1 ส่วน ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 100 ppm ปริมาณ 300 มล. 1 ครั้งต่อสัปดาห์ และปลูกในกระถาง 6-8 นิ้ว จำนวน 1-3 หน่อ เมื่อปลูกทดสอบด้วยสายต้นดีเด่น Spa Hy06-15 และ Spa Hy03-50 ในกระถาง 6 นิ้วจำนวน 1 หน่อ พบว่า การใช้วัสดุปลูกและการจัดการปุ๋ยดังกล่าวข้างต้น มีการเจริญเติบโตดี ให้จำนวนหน่อ 2.2 และ 3.4 หน่อ/กระถางตามลำดับ และจำนวนช่อดอก 1.5 และ 2.3 ช่อ/กระถางตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

**กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตากลุ่มลอบบีไอ (lobbii complex)** การสร้างลูกผสมข้ามจากสิงโตกลอกตา 5 ชนิด ได้แก่ สิงโตสยามปราจีน (*Bulbophyllum oretopetallum*) สิงโตอาจารย์เต็ม (*Bulb. smithianum*) พญาสิงโต (*Bulb. polystictum*) สิงโตสยามปากม่วง (*Bulb. coweniorum*) และ สิงโตสยาม (*Bulb. siamense*) พบว่า การผสมข้ามมีความสำเร็จแตกต่างกันและสามารถออกปลูกได้เพียง 6 คู่ผสม โดยลูกผสมที่สามารถปรับตัวเจริญเติบโตได้ดี คือ สิงโตสยาม x สิงโตสยามปราจีน ส่วนวัสดุที่เหมาะสมในการปลูก วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคมุมบูรณ มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี พบว่า สิงโตสยามปราจีน สิงโตสยามปากม่วง และสิงโตสยาม มีการเจริญเติบโตบนวัสดุปลูกแต่ละชนิดไม่แตกต่างกันมีจำนวนลำหลังปลูก 28 เดือน 11.4-14.8 5.0-6.4 5.5-9.6 ลำตามลำดับ ส่วนสิงโตอาจารย์เต็มมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างทางสถิติ โดยเจริญเติบโตบนลูกอ้อมมะพร้าวดีที่สุด 10.9 ลำ ขณะที่พญาสิงโตตายบนวัสดุทั้งหมดยกเว้น ถ่านปูหน้าด้วยสแฟกนัมมอส ที่มีจำนวน 9.1 ลำ วัสดุที่มีแนวโน้มปลูกสิงโตกลอกตาได้ทุกชนิด ได้แก่ ถ่านปูหน้าด้วยสแฟกนัมมอส (ตารางที่ 4.3)

สำหรับการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด วางแผนการทดลองแบบสุ่มมุมบูรณ พบว่า อาหารสำเร็จรูปสูตร Orchid seed sowing medium (P723) มีการงอกของสิงโตสยามและสิงโตอาจารย์เต็ม 43.6 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและมีการพัฒนาการของต้นอ่อนดีที่สุด เมื่อนำต้นอ่อนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin & Went ที่มีเติมกล้วย 50 ก./ล. และมันฝรั่ง 50 ก./ล. พบว่า มีความสูง 4.0 และ 1.7 ซม.ตามลำดับ และจำนวนยอด 2.9 และ 1.3 ยอดตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) และรอดมีชีวิตทั้งหมดเมื่อย้ายออกปลูกบนสแฟกนัมมอส ส่วนฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนให้ลอกกาบใบออกและตัดใบยอดอ่อนให้สั้น แชนแนลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างน้ำกลั่น และแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10% นาน 20 นาที ก่อนนำไปเพาะบนอาหาร P668 เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. ที่ระดับน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์

**ส่วนการทดสอบพันธุ์กล้วยไม้สกุลม็อคคาร่าที่มีศักยภาพสำหรับปลูกในภาคเหนือตอนบน** วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคมุมบูรณ มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี (พันธุ์) พบว่า ม็อคคาร่าหมอง ให้จำนวนช่อดอกมากที่สุด 119 ช่อ มีคุณภาพของดอกได้ตามมาตรฐาน และอายุการปักแจนนานมากที่สุด 28.75 วัน

**สำหรับกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียม** การผสมข้ามซิมบิเดียมพันธุ์ต่างๆ ทั้งพันธุ์แท้ (species) และลูกผสม พบว่า มีความสำเร็จแตกต่างกัน การผสมข้ามระหว่างพันธุ์แท้ด้วยกันมีโอกาสผสมติดมากกว่า การผสมข้ามกับลูกผสม หรือระหว่างลูกผสมด้วยกัน นอกจากนี้ความสามารถในการผสมติดฝักยังแตกต่างกันในแต่ละต้นที่ผสมข้าม แม้ว่าจะเป็นพันธุ์แท้หรือลูกผสมที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการไม่อาศัยเพศ ซึ่งโอกาสในการผสมติดอยู่ระหว่าง 23.7-52.4 เปอร์เซ็นต์ โดยฝักที่จะผสมติดในระยะแรกมีจำนวนมาก และทยอยร่วงไปในภายหลัง บางคู่ผสมฝักร่วงไปเมื่อมีอายุฝักนาน 4-6 เดือน สำหรับฝักที่สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่อนำไปเพาะจะมีความสามารถในการงอกแตกต่างด้วยเช่นกัน เพาะงอระหว่าง 15.4-39.0 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมเหล่านี้อยู่ระหว่างการงอก รวมทั้งต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อระยะต่างๆ และต้นกล้าที่ออกปลูกแล้ว สำหรับคู่ผสมที่ออกปลูกแล้วมี 3 คู่ผสม ได้แก่ ลูกผสมเผือกพัทลุง x ปากเป็ดศักดิ์กระปี กะเรกะรอนแดง x สองสีเบตง และกะเรกะรอนแดง 2 x ไถยน้ำแดง มีจำนวน 220 638 และ 370 ต้นตามลำดับ ซึ่งมีบางส่วนที่เริ่มให้ดอก

ส่วนการผสมข้ามสกุลระหว่าง *Cymbidium* และ *Eulophia* ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกันกับการผสมชิมบิเดียม โดยมีการออกปลูกแล้ว 3 คู่ผสม ได้แก่ *Eul. andamanensis* x *Cym. finlaysonianum* (yellow alba) *Eul. andamanensis* x *Cym. atropurpureum* (red) และ *Eul. Spectabilis* x *Cym. finlaysonianum* (yellow alba) ซึ่งมีบางส่วนที่เริ่มให้ดอก สำหรับลูกผสมข้ามสกุลที่ผสมติดและมีความน่าสนใจ ได้แก่ *Eul. flava* ซึ่งช่อดอกตั้งยาว 70-1.5 ม. ขนาดดอกใหญ่ กับชิมบิเดียมต่างๆ เช่น *Cym. ensifolium* *Cym. tracyanum* *Cym. lowianum* และชิมบิเดียมลูกผสม

การศึกษาวีสดุและวิธีการเพาะเมล็ดที่กระร่อนในสภาพควบคุม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทดสอบปริมาณสารควบคุมจุลินทรีย์ (PPM) ที่เหมาะสมในอาหารแข็งและอาหาร BRT และวีสดุเพาะธรรมชาติ พบว่า ควรเติม PPM ในอาหารแข็ง/เหลว ปริมาณ 0.6-1.2 % เมื่อนำเมล็ดไปเพาะให้หยุด PPM บนผิวหน้าอาหารและเมล็ดรวม 8 หยุด ส่วนการเพาะเมล็ดที่กระร่อนบนกาบมะพร้าวและให้อาหารเหลว BRT เมล็ดมีการงอกดีและพัฒนาเป็นต้นกล้าที่มีความสมบูรณ์ สำหรับการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลชิมบิเดียมด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสม ได้แก่ การใช้ชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW เติม Kinetin 0.5 หรือ 1.0 มล./ล. ร่วมกับ NAA 1.0 มล./ล. เป็นเวลา 5-7 เดือน สามารถเจริญและพัฒนาเกิดยอดและรากได้ดี มียอด 1.00 ยอด 2.00-3.50 ใบ ความสูงยอด 4.70-11.0 ซม. มี 2.00-7.00 ราก ความยาวราก 6.50-9.50 ซม.

การผสมพันธุ์พืชเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญในกระบวนการวิวัฒนาการและการปรับปรุงพันธุ์พืช ทำให้รหัสพันธุกรรมมีการแลกเปลี่ยนและรวมตัวกันใหม่ เกิดลักษณะที่ปรากฏ (phenotype) ซึ่งเป็นประโยชน์รวมทั้งการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ (Orton, 2019; Beddows and Rose, 2018; Benjamin et al, 2017; Hayward, et al, 1993) แต่ความสำเร็จของการผสมพันธุ์มีความแตกต่างกัน ทั้งเกิดจากปัจจัยภายในของตนเอง เช่น การยับยั้งการงอกของเกสร ในพืชผสมตัวเองไม่ติด (self-incompatibility) และปัจจัยภายนอก ที่สำคัญได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ลม แสงพาหะ เป็นต้น (Abrol, 2011; Frankel and Galun, 1977) นอกจากการผสมภายในชนิดเดียวกันแล้วธรรมชาติและมนุษย์ยังสร้างความแปลกใหม่หรือพืชชนิดใหม่ให้เกิดขึ้นด้วยการผสมข้ามชนิด (species) และข้ามสกุล (genus) (Orton, 2019; Al-Khayri et al, 2015; Brown et al, 2014)

ในการผสมพันธุ์กล้วยไม้ลันมังกรมีการผสมพันธุ์หลายวิธี ได้แก่ การผสมตัวเอง การผสมภายในชนิดเดียวกันทั้งภายในประชากรเดียวกันและการผสมข้ามประชากร การผสมข้ามชนิด และการผสมข้ามสกุล มีความสำเร็จแตกต่างกันและไม่สามารถคาดการณ์ได้ ยกเว้นการผสมตัวเองที่มีแนวโน้มประสบความสำเร็จได้มากกว่า นอกจากผสมติดฝักแล้วความสมบูรณ์ของเมล็ดและความสามารถในการงอกยังมีความแตกต่างกันด้วยเช่นกัน (ชญาพร และคณะ, 2563; ชิตชนก, 2555; Sinumporn et al, 2020; Adthalungrong et al, 2015) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันในกล้วยไม้สิ่งโตกลอกตาและชิมบิเดียม ความแตกต่างของความสำเร็จในการผสมข้ามชนิดหรือสกุล เกิดจากความเหมือนหรือแตกต่างกันทางพันธุกรรมของพ่อและแม่ พันธุกรรมของพืชชนิดเดียวกันจะมีความคล้ายคลึงกันมากกว่าต่างชนิด หรือต่างสกุล เช่นเดียวกันในลูกผสมทางการค้าของกล้วยไม้ชิมบิเดียมส่วนใหญ่จะมีความซับซ้อนทางพันธุกรรม (genetic complexity) จากการผสมกล้วยไม้ต่างชนิดเข้าด้วยกัน

กล้วยไม้แต่ละชนิดจะมีวงชีวิตหรือการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ซึ่งเกิดจากวิวัฒนาการของกล้วยไม้แต่ละชนิดหรือการปลูกเลี้ยง ในกล้วยไม้ลันมังกรจะมีการเจริญเติบโต ออกดอกติดฝัก การพัฒนารากสะสมอาหารในช่วงฤดูฝน เมื่อเข้าสู่ฤดูแล้งต้นจะแห้งตายเหลือเพียงหัวพันธุ์อยู่ใต้ดิน ซึ่งจะงอกใหม่เมื่อได้รับน้ำเมื่อเกิดฝนตก (วิมล และคณะ, 2560) ส่วนกล้วยไม้สิ่งโตกลอกตาพบส่วนใหญ่ในป่าที่ที่มีความชื้นสูง (Seigerist, 2001) มีการเจริญเติบโตแบบเจริญเติบโตทางด้านข้างของลำต้น (sympodial) ในประเทศไทยพบการกระจายตัวของกล้วยไม้สิ่งโตกลอกตาตั้งแต่ภาคเหนือถึงใต้ การนำกล้วยไม้แต่ละชนิดมาปลูกเลี้ยงจึงต้องการวีสดุปลูกเลี้ยงและการจัดการปลูกที่เหมาะสมแตกต่างกัน

ในสภาพธรรมชาติกล้วยไม้มีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เช่น การแบ่งกอหรือหน่อหรือตะเกียง การตัดชำ หัวพันธุ์ เป็นต้น และขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศจากเมล็ด ซึ่งเมล็ดต้องการเชื้อราบางชนิดในการช่วยให้งอกและเจริญเติบโต (Lee and Yeung, 2018; Yam and Arditti, 2009) เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็กและไม่มีส่วนสะสมอาหารให้ต้นกล้าเจริญเติบโต เมื่อนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะเลี้ยงจึงต้องการอาหารเพาะเมล็ด/เลี้ยงต้นกล้าที่มีธาตุอาหาร ฮอโรโมน วิตามิน และอื่นๆ แตกต่างกันไป (Anis and Ahmad, 2018; Edwin et al., 2007; Greisen 2002) สอดคล้องกับการทดลองในโครงการ และส่วนใหญ่ต้องทำในสภาพปลอดเชื้อ โดยต้องนั่งฆ่าเชื้อและควบคุมความสะอาดระหว่างการเพาะเลี้ยง เนื่องจากอาหารที่ใช้เพาะเมล็ด/เลี้ยงต้นกล้าปนเปื้อนจุลินทรีย์ได้ง่าย แต่การใช้สารสำเร็จรูปทางการค้า PPM สามารถควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เนื่องจากสามารถทะลุผ่านผนังเซลล์ของเชื้อราหรือแบคทีเรียและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลักที่จำเป็นต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ (metabolic cycles) หรือยับยั้งการเคลื่อนย้ายของมอโนแซ็กคาไรด์ (monosaccharide) และกรดอะมิโนจากอาหารเข้าสู่เชื้อราหรือเซลล์แบคทีเรีย (Biogrnuix, 2015)

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลภาพอื่นๆ ประกอบด้วย 5 กิจกรรม ดำเนินการในกล้วยไม้สกุลลิ้นมังกร สกุลสปีทกลอสทิส สกุลสิงโตกลอกตา สกุลม็อคคาร่า และสกุลซิมปีเดียม โดยทั้งห้าสกุลมีการปรับปรุงพันธุ์โดยการสร้างประชากรสำหรับการคัดเลือก จากการผสมข้ามพันธุ์ ข้ามชนิด หรือข้ามสกุล ซึ่งบางส่วนของโครงการเริ่มให้ดอกและสามารถคัดเลือกพันธุ์ได้จำนวนหนึ่ง เช่น สกุลสปีทกลอสทิส และสกุลซิมปีเดียม แต่ต้นลูกผสมส่วนใหญ่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตก่อนให้ดอก ส่วนการทดสอบพันธุ์มีการดำเนินงานในสกุลสปีทกลอสทิส จนได้พันธุ์ซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค 7 พันธุ์ ได้แก่ Spa-Hy-02-13 Spa-Hy-03-50 Spa-Hy-06-24 Spa-Hy-13-09 Spa-Hy-17-21 Spa-Hy-18-24 และ Spa-Hy-23-01 และจะได้เสนอเป็นพันธุ์แนะนำต่อไป เช่นเดียวกับกล้วยไม้สกุลม็อคคาร่า ม็อคคาร่าหมูทองเหมาะสมในการแนะนำให้เกษตรกรปลูก

ด้านเทคโนโลยีการผลิตและการขยายพันธุ์ กล้วยไม้สกุลลิ้นมังกรควรปลูกในกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูก พีทมอส:สเปกนัมมอส:แกลบดำ:ดิน+ปุ๋ยคอก อัตรา 1:1:1:1 เมื่อเข้าระยะพักตัวให้เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ที่แห้งสนิทในถุงซิปลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาหัวพันธุ์ได้นาน 8 เดือน ส่วนสกุลสปีทกลอสทิสใช้วัสดุ กาบมะพร้าวสับ:ปุ๋ยคอก อัตรา 2 :1 ส่วน และให้ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 100 ppm ปริมาณ 300 มล. 1 ครั้งต่อสัปดาห์ ส่วนถ่านปูหน้าด้วยสแฟกนัมมอสเหมาะสำหรับการปลูกสิงโตกลอกตา

การเพาะเมล็ด/เนื้อเยื่อกล้วยไม้แต่ละสกุลมีความแตกต่างกัน ในลิ้นมังกรการแช่ฝักด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaClO<sub>2</sub>) ความเข้มข้น 10% และ 5% นานความเข้มข้นละ 10 นาที แล้วนำเมล็ดไปเพาะบนอาหารแข็งสูตร ½ VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. ได้ต้นอ่อนที่มีปริมาณและคุณภาพดีที่สุด ส่วนการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนให้นำไปเลี้ยงบนอาหาร VW เติมน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 กรัม/ลิตร ให้จำนวนยอดใหม่มากถึง 8.02 ยอด ส่วนสกุลสิงโตกลอกตา อาหาร Orchid seed sowing medium (P723) เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ให้พอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนให้ลอกกาบใบออกและตัดใบยอดอ่อนให้สั้น แช่ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างน้ำกลั่นและแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10% นาน 20 นาที ก่อนนำไปเพาะบนอาหาร P668 เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. ที่ระดับน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ ในสกุลซิมปีเดียมอาหารแข็ง BRT เติม PPM อัตรา 0.6-1.2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ดโดยไม่ต้องนั่งฆ่าเชื้ออาหาร และควรหยุด PPM บนผิวหน้าจำนวน 8 หยด เมื่อเพาะเมล็ด (ไม่ต้องพอกฝัก) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้ชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ VW เติม Kinetin 0.5 หรือ 1.0 มล./ล. ร่วมกับ NAA 1.0 มล./ล. เป็นเวลา 5-7 เดือน

**อาหารสูตร BRT** (Biodiversity Research and Trining Program) ปริมาตร 1 ล. ประกอบด้วย

1. น้ำตาล 20 ก.
2. ปุ๋ยกล้วยไม้ทวินเฟอต์ (21-21-21) 2 ก.
3. วิตามินรวม 1 เม็ด (Centrum A-Zinc)
4. กล้วยน้ำว้าสุก 50 ก.
5. ถ่าน 2 ก.
6. รุ้น 5 ก.

#### **วิธีทำ**

ละลายวิตามิน B รวม ในน้ำอุ่น จนเป็นสารละลาย เติมน้ำ 500 มล. จากนั้นเติมน้ำตาล และปุ๋ย แล้วนำไปผสมกับกล้วยน้ำว้าที่ปั่นกับน้ำเปล่า 100 มล. จากนั้นเติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร นำไปต้มให้เดือด แล้วใส่ ถ่านและรุ้น ต้มนาน 15 นาที

กรมวิชาการเกษตร



## ตารางและภาพ

ตารางที่ 4.1 สายต้นดีเด่นกล้วยไม้สปีดไฮโดรลอสที่คาดว่าจะรับรองพันธุ์



### Spa-Hy-03-50

เหมาะสำหรับไม้กระถาง แดกกอดี ก้านช่อดอกแข็งแรงยาว 22 ซม. ออกดอกเป็นกระจุก อยู่ปลายช่อ จำนวน 44 ดอกต่อช่อ ขนาดดอก 3.48 ซม. อายุออกดอกแรกบาน 90 วัน จำนวน 1-2 ช่อต่อต้น

### Spa-Hy-17-12

เหมาะสำหรับไม้กระถาง ช่อดอกอยู่เหนือพุ่ม ก้านช่อดอกแข็งแรงยาว 36 ซม. ออกดอกเป็นกระจุกอยู่ปลายช่อ จำนวน 40 ดอกต่อช่อ ขนาดดอก 5.26 ซม. อายุออกดอกแรกบาน 110 วัน จำนวน 1-2 ช่อต่อต้น

ตารางที่ 4.2 จำนวนหน่อและช่อดอกต่อกระถางของกล้วยไม้สปีดไฮโดรลอสที่ปลูกผสม 2 สายต้นที่ปลูกในวัสดุต่างๆ

กรรมวิธี	จำนวนหน่อ/กระถาง		จำนวนช่อดอก/กระถาง	
	Spa Hy06-15	Spa Hy03-50	Spa Hy06-15	Spa Hy03-50
1. วัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ	2.0 b <sup>1/</sup>	3.0 a	1.3 b	1.7 c
2. วัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ: ดินขุยไผ่ (3:1)	2.1 a	3.3 a	1.5 a	2.8 a
3. วัสดุดิน :ทราย :ขุยมะพร้าว (1:1:1)	1.9 b	1.7 b	1.1 b	1.3 c
4. วัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ:ปุ๋ยคอก (2:1)	2.2 a	3.4 a	1.5 a	2.3 b
CV (%)	9.1	10.1	8.8	10.2

กรรมวิธี 1-3 ให้ปุ๋ยละลายช้าอัตรา 10 ก./กระถาง กรรมวิธี 4 ให้ปุ๋ย 20 : 10 : 25 อัตรา 100 ppm ปริมาณ 300 มล. 1 ครั้งต่อสัปดาห์

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4.3 จำนวนลำของกล้วยไม้สิงโตกลอกตา 5 ชนิดหลังปลูกบนวัสดุต่างๆ 28 เดือน

ชนิดของวัสดุปลูก	เริ่มต้น	สิงโตสยามปราจีน	สิงโตสยามปากม้วง	สิงโตสยาม	สิงโตอาจารย์เต็ม	พญาสิงโต
ถ่านปูหน้าด้วยสเฟกนัมมอส	4	14.3	5.8	9.6	6.2 abc <sup>1/</sup>	9.1
มะพร้าวสับ	4	11.3	5.0	7.2	7.1 ab	0.0
ลูกอัดมะพร้าว	4	14.1	5.5	5.5	10.9 a	0.0
ถ่านปูหน้าด้วยเปลือกสน	4	14.8	5.6	7.4	2.3 bc	1.0
ถ่านไม้	4	11.4	6.4	5.6	0.5 c	0.0
% cv		23.8	44.2	36.7	73.5	ไม่มีวิเคราะห์สถิติ

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

**ตารางที่ 4.4** ความงอกและการเจริญเติบโตของสิ่งโตสยามและสิ่งโตอาจารย์เต็มบนอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม

สูตรอาหาร	พารามิเตอร์	สิ่งโตสยาม	สิ่งโตอาจารย์เต็ม
P723	การงอก (%)	43.6 a	20.0 a
Vacin & Went เต็มกล้วย 50 ก./ล. และมันฝรั่ง 50 ก./ล.	ความสูง (ซม.)	4.0 a	1.7 a
Vacin & Went เต็มกล้วย 50 ก./ล. และมันฝรั่ง 50 ก./ล.	จำนวนยอด	2.9 a	1.3 a



หัวพันธุ์เริ่มงอกเมื่อได้รับ น้ำ/น้ำฝนหลังพักตัวในฤดูแล้ง



เริ่มแทงช่อดอกหลังปลูก ประมาณ 120 วัน



ดอกบานหลังจากแทงช่อดอก 30 วัน ดอกสมบูรณ์เพศ

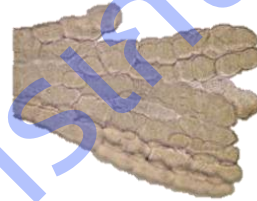
**ภาพที่ 4.1** ลักษณะซีพจักรของกล้วยไม้ลิ้นมังกร



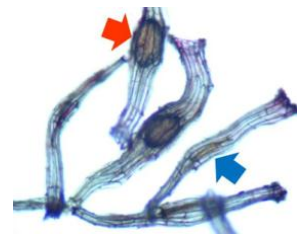
ลักษณะเกสรเพศผู้



กลุ่มเรณูย่อย



เรณู

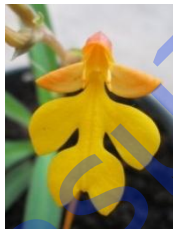


ลักษณะเมื่อดัดดี (ลูกศรสีแดง)

**ภาพที่ 4.2** สันฐานวิทยาของดอกและเรณูของกล้วยไม้ลิ้นมังกร



*H. rhochoeila*



*H. xanthocheila*



*H. comea*



*H. medusa*



*Pecteilis susannae*



*P. hawkesiana*

**ภาพที่ 4.3** กล้วยไม้ในสกุลลิ้นมังกร (*Habenaria*) และสกุลใกล้เคียงบางส่วนที่ใช้ในการผสมพันธุ์



Spa-Hy-25-06



Spa-Hy-27-01



Spa-Hy-36-30



Spa-Hy-36-04

**ภาพที่ 4.4** ลูกผสมกล้วยไม้สปาโทกลอสที่สุดุดที่ 4 บางส่วนที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้น

## โครงการวิจัยที่ 5

โครงการวิจัยและพัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลดความชื้น  
ด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมเพื่อการส่งออก

Research and Development on Cutting Orchid Detecting Set of Wind  
Tunnel Type Orchid Moisture Removal Machine for Export

พุทธินันท์ จารุวัฒน์<sup>1/</sup> คุรุวรรณ ภามัตย์<sup>1/</sup> ตฤณสิษฐ์ ไกรสินบุรศักดิ์<sup>2/</sup> อนุชา เชาว์โชติ<sup>2/</sup> อาธร พรบุญ<sup>2/</sup>  
นิรุต บุญญา<sup>2/</sup> อุทัย ธาณี<sup>2/</sup>  
Puttinun Jarruwat<sup>1/</sup> Kuruwan Pamart<sup>1/</sup> Tinnasit Kaisinburasak<sup>2/</sup> Anucha Chaochot<sup>2/</sup>  
Nirut Boonya<sup>2/</sup> Uthai Thani<sup>2/</sup>

**คำสำคัญ :** ชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้ตัดดอก, เครื่องลดความชื้นแบบอุโมงค์ลม, การส่งออก

**Keywords :** Cutting orchid detecting set; Wind tunnel type moisture removal machine; export

### บทคัดย่อ

พัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้ตัดดอก หลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม เป็นการรับประกันคุณภาพสินค้ากล้วยไม้ที่ผ่านกระบวนการลดความชื้นที่แห่งได้มาตรฐานก่อนทำการบรรจุหีบห่อและขนส่งสู่ผู้บริโภค ชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ประกอบด้วยชุดอุปกรณ์ 3 ส่วนคือ ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้เริ่มต้น ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้หลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลมแล้ว และชุดระบบควบคุมการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้เริ่มต้นและชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้หลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลมแล้ว ใช้อุปกรณ์ไหลดเซลล์ขนาด 5 ก.ก. ทำหน้าที่วัดน้ำหนัก ซึ่งติดตั้งที่ด้านล่างของแผ่นรองรับน้ำหนักกล้วยไม้ทำจากแผ่นอะคริลิกใส ชุดระบบควบคุมการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ใช้อุปกรณ์ไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino MEGA 2560 R3 16 bit เป็นหน่วยประมวลผล ใช้อุปกรณ์ส่งสัญญาณค่าน้ำหนักกล้วยไม้เป็น Bluetooth แบบไร้สาย (wireless) และใช้หน่วยแสดงผลเป็นจอ LCD สำหรับแสดงผลค่าน้ำหนักกล้วยไม้ ผลค่าวิเคราะห์แสดงในรูปแบบหลอด LED และอุปกรณ์ออกสัญญาณ บันทึกข้อมูลต่างๆและผลการวิเคราะห์ไปยังอุปกรณ์บันทึกข้อมูล (SD Data logger) ซึ่งติดตั้งอยู่ในกล่องควบคุม ผลการทดสอบช่วงนอกฤดูฝนพบว่าชุดเครื่องมือต้นแบบมีความสามารถในการทำงาน 1,600 ช่อ/ชั่วโมง ใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 3.39 กิโลวัตต์ และผลการตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้หลังลดความชื้นพบว่ากล้วยไม้ที่แห่งได้มาตรฐานเฉลี่ย 96% กล้วยไม้ที่ต้องนำกลับไปลดความชื้นใหม่ 2% และกล้วยไม้ที่ถูกคัดออก 2% ในขณะที่ผลการทดสอบช่วงในฤดูฝนพบว่าชุดเครื่องมือต้นแบบมีความสามารถในการทำงาน 800 ช่อ/ชั่วโมง ใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 6.39 กิโลวัตต์ ผลการตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้หลังลดความชื้นพบว่า กล้วยไม้ที่แห่งได้มาตรฐานเฉลี่ย 94% กล้วยไม้ที่ต้องนำกลับไปลดความชื้นใหม่ 3% และกล้วยไม้ที่ถูกคัดออก 3% ผลการวิเคราะห์ด้านเศรษฐศาสตร์วิศวกรรมพบว่า การลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยวิธีเดิมใช้พัฒลมอุตสาหกรรมมีต้นทุนค่าใช้จ่าย 0.53 บาทต่อช่อ ในขณะที่การใช้เครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมและชุดตรวจสอบกล้วยไม้ต้นแบบมีต้นทุนค่าใช้จ่ายต่ำกว่า 0.23 บาทต่อช่อ คือ 0.30 บาทต่อช่อ ชุดเครื่องต้นแบบมีจุดคุ้มทุนเมื่อทำการลดความชื้นกล้วยไม้ 207,360 ช่อต่อปี และระยะเวลาคืนทุนประมาณ 0.26 ปี

1/ ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี (Chanthaburi Agricultural Engineering Research Center)

2/ สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม (Agricultural Engineering Research Institute)

## Abstract

Developed on cutting orchid quality detecting set after wind tunnel type orchid moisture removal machine for guarantee the products before packaging and transporting to consumers. The prototype set consists of 3 parts: the initial orchid weighing scale, the orchid weighing scale after orchids moisture removal with wind tunnel type machine and the cutting dendrobium orchid detecting control system. The couple orchid weighing scale were used 5 kg load cell device to measure the weight which was installed at the bottom of orchid support acrylic plate. The detecting control system set was used the Arduino Mega 2560 R3 16 bit microcontroller device as a processor and used signal transmit device of the orchid weight as bluetooth wireless and used the LCD screen display to show the orchid weight. The analysis results were showed in LED lamps and buzzer and saved all data to SD data logger installed in the control box. The test results in off rainy season were showed 1,600 orchid bunches/hour capacity and 3.39 kw of total electric power consumption. The results of orchid quality inspection after water removing showed average 96% quality pass, 2% need to be brought back to same process and 2% were brought to eliminate. While the test results in rainy season found that the prototype had capacity 800 orchid bunches/hour and using 6.39 kw of total electric power. The results of orchid quality inspection after water removing showed average 94% quality pass, 3% need to be brought back to same process and 3% were brought to eliminate. The result of economically analysis engineering of conventional method was cost 0.53 bath/ orchid bunch while the prototype method was lower cost than 0.30 bath/ orchid bunch at 0.30 bath/ orchid bunch. The machine set had the break even point when remove water out of orchid 207,360 bunches/year and the payback period was approximately 0.26 years.

## บทนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญ โดยเฉพาะกล้วยไม้สกุลหวายและแวนดา มีประเทศมาเลเซียและสิงคโปร์เป็นประเทศผู้ผลิตอันดับรองลงมา ปัจจุบันสามารถนำรายได้เข้าประเทศมูลค่าไม่น้อยกว่าปีละ 2,000 ล้านบาท โดยเป็นการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อตัดดอกประมาณร้อยละ 90 ของกล้วยไม้ทั้งหมดประเทศคู่ค้าที่สำคัญได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีนญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา เวียดนามอินเดียและประเทศในสหภาพยุโรป เช่น อิตาลี เนเธอร์แลนด์ เป็นต้นกล้วยไม้จึงจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ (สุภา, 2547) โดยในปี พ.ศ.2557 ประเทศไทยมีการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกเป็นปริมาณ 23,471 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,954 ล้านบาท (มารศรี, 2558) ปัจจุบันหลังจากเก็บเกี่ยวกล้วยไม้ตัดดอกจากแปลงผลิตแล้ว เกษตรกรจะล้างทำความสะอาดและจุ่มกล้วยไม้ลงในสารละลายเคมีเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรู หลังจากนั้นจะนำกล้วยไม้ตัดดอกวางผึ่งลมบนโต๊ะให้แห้งหรือใช้พัดลมอุตสาหกรรมเป่าลมเพื่อลดความชื้นกล้วยไม้โดยเป็นการนำความชื้นที่บริเวณผิวของกล้วยไม้ออก แต่ไม่ได้เป็นการดึงความชื้นที่อยู่ภายในกล้วยไม้ซึ่งใช้เวลานานและเกิดปัญหาไม่สามารถลดความชื้นกล้วยไม้ได้หมดโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพ เน่าเสียจากเชื้อราและโรคพืชอื่น ๆ อันเกิดระหว่างการขนส่ง รวมถึงพื้นที่ตั้งโต๊ะสำหรับวางกล้วยไม้และปริมาณพัดลมที่ใช้จำเป็นต้องมีเพิ่มมากขึ้น ตามปริมาณกล้วยไม้ที่ผลิตได้และส่งออก จึงมีความจำเป็นต้องทำการศึกษาวิธีการเพื่อลดความชื้นที่ติดมากับกล้วยไม้ออกไปให้ได้หมด สะดวกและรวดเร็ว โดยกล้วยไม้ไม่สูญเสียคุณภาพ พุทธอินทร์และคณะ (2553) ได้ทำการวิจัยและพัฒนาเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมสำหรับนำมาทดแทนการใช้พัดลม เพื่อแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น ศึกษาปริมาณลมที่เหมาะสมและระยะเวลาในการลดความชื้นกล้วยไม้ โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน ซึ่งสภาพอากาศมีความชื้นสูง เพื่อให้ได้กล้วยไม้ที่สะอาด ไม่มี ความชื้น พร้อมทำการบรรจุและขนส่งสู่ผู้บริโภค โดยสามารถลดระยะเวลาการไล่ความชื้นออกจากกล้วยไม้ตัดดอกได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้พัดลมอุตสาหกรรม โดยคุณภาพของกล้วยไม้ตัดดอกหลังการลดความชื้นไม่แตกต่างกัน มีอายุการปักแจกันได้นาน 12-14 วัน คณะผู้วิจัยได้มีแนวคิดในการพัฒนาเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมต้นแบบให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นโดยวิจัยและพัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบคุณภาพด้านความชื้นของกล้วยไม้ตัดดอกหลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องต้นแบบ เพื่อเป็นการรับประกันคุณภาพของกล้วยไม้ตัดดอกที่ผ่านการลดความชื้นทุกข้อ ก่อนทำการบรรจุหีบห่อและขนส่งสู่ผู้บริโภค

## ระเบียบวิธีการวิจัย

โครงการวิจัยและพัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมเพื่อการส่งออก	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 1 วิจัยและพัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมเพื่อการส่งออก ดำเนินการที่ ศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี และสถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรมระหว่างปี พ.ศ. 2561-2563	ไม่มี	การลดความชื้นกล้วยไม้ตัดดอก	-

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ออกแบบชุดเครื่องมือตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้ตัดดอก หลังการลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม (ภาพที่ 5.1) ซึ่งจะเป็นส่วนต่อขยายของเครื่องโดยใช้ปัจจัยด้านน้ำหนักของช่อกล้วยไม้ตัดดอกเป็นเกณฑ์การพิจารณา โดยมีสถานีวัดน้ำหนักของช่อดอกกล้วยไม้แห้งก่อนเข้าเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม และสถานีวัดน้ำหนักช่อดอกกล้วยไม้หลังลดความชื้นด้วยเครื่อง ข้อมูลด้านน้ำหนักก่อนและหลังการลดความชื้นจะถูกนำไปบันทึกและเปรียบเทียบ เพื่อตรวจสอบด้วยระบบตรวจสอบคุณภาพต่อไป โดยเริ่มจาก

การสร้างชุดวัดน้ำหนักและประมวลผล ซึ่งใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino MEGA 2560 R3 16 bit เป็นหน่วยประมวลผล การวัดน้ำหนักใช้ Loadcell ขนาดพิกัดน้ำหนัก 5 ก.ก.และหน่วยแสดงผลเป็น จอ LCD และหลอด LED สำหรับแสดงผลน้ำหนักและแสดงผลค่าวิเคราะห์พร้อมทั้งส่งสัญญาณ (Digital Output) เพื่อควบคุมอุปกรณ์ต่อพ่วงเช่น มอเตอร์ หรือออดสัญญาณ ดังภาพที่ 5.2 และ ภาพที่ 5.3 จากผลการทดสอบเบื้องต้นพบว่า ชุดควบคุมการตรวจสอบกล้วยไม้มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายหลังการลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลม โดยมีค่าความผิดพลาดไม่เกิน 3 กรัม (ค่าที่ใช้เป็นเกณฑ์การยอมรับ จากการทดสอบร่วมกับผู้ประกอบการส่งออกกล้วยไม้) โดยมีหลักการทำงานคือ เมื่อทำการป้อนน้ำหนักเริ่มต้นของวัตถุและน้ำหนักวัตถุหลังการลดความชื้นแล้ว ระบบจะทำการประมวลผลเปรียบเทียบน้ำหนักก่อนและหลัง และแสดงผลในรูปแบบหลอด LED สีต่างๆ โดยสีเขียว แสดงว่าน้ำหนักหลังลดความชื้นเท่ากับหรือแตกต่างไม่เกินค่าความผิดพลาดที่อนุญาตตั้งไว้ 3 กรัม ซึ่งแสดงผลว่าวัตถุนั้นผ่านการตรวจสอบสามารถนำไปเข้าสู่กระบวนการต่อไปได้ ถ้าน้ำหนักของวัตถุหลังลดความชื้นมากกว่าน้ำหนักก่อนลดความชื้นเกิน 3 กรัม ระบบจะแสดงผลในรูปแบบหลอด LED สีน้ำเงิน ซึ่งแสดงผลว่าต้องนำวัตถุนั้นไปทำการลดความชื้นอีกครั้ง ถ้าน้ำหนักของวัตถุหลังลดความชื้นน้อยกว่าน้ำหนักก่อนลดความชื้นเกิน 3 กรัม ระบบจะแสดงผลในรูปแบบหลอด LED สีแดง ซึ่งแสดงผลว่าวัตถุนั้นถูกดึงความชื้นที่มากเกินไป และเป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมสภาพก่อนกำหนด จำเป็นต้องคัดออก โดยชุดต้นแบบตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกประกอบด้วยชุดอุปกรณ์ในการทำงาน 3 ส่วน ดังนี้

1. ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้เริ่มต้น ก่อนจุ่มน้ำยาป้องกันโรคแมลงและเข้าเครื่องลดความชื้นแบบอุโมงค์ลม
2. ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้หลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลมแล้ว
3. ชุดระบบควบคุมการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก

จากนั้นทำการทดสอบชุดต้นแบบในการตรวจสอบการลดความชื้นช่อดอกกล้วยไม้เบื้องต้นที่โรงปฏิบัติการของศูนย์วิจัยเกษตรวิศวกรรมจันทบุรี (ภาพที่ 5.4) ผลการทดสอบเบื้องต้นพบว่าสามารถใช้งานและตรวจสอบการลดความชื้นกล้วยไม้ได้ดี โดยมีความแม่นยำในการตรวจสอบ 95% ซึ่งค่าความผิดพลาด 5% ที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการบันทึกค่าของชุดระบบควบคุมที่รับสัญญาณมาจากอุปกรณ์วัดน้ำหนัก Loadcell ซึ่งได้รับสัญญาณรบกวนจากสิ่งแวดล้อม ของการปฏิบัติงานสร้างต้นแบบภายในโรงปฏิบัติการ ดังนั้นได้ทำการปรับปรุงแก้ไขชุดต้นแบบให้สมบูรณ์ โดยทำการติดตั้งอุปกรณ์กรองสัญญาณเพิ่มเติมภายในตู้ควบคุมเพื่อลดสัญญาณรบกวนจากสิ่งแวดล้อมดังแสดงในภาพที่ 5.5 จากนั้นทำการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้เบื้องต้นอีกครั้ง ผลการทดสอบพบว่าชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกมีความแม่นยำ 100% สามารถนำไปใช้งานร่วมกับเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ที่โรงคัดบรรจุของผู้ประกอบการส่งออกกล้วยไม้ได้ (ภาพที่ 5.6)

ทำการปรับปรุงชุดให้ความร้อนของเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม จากเดิมที่ใช้ชุดให้ความร้อนแบบรังสีอินฟราเรดผ่านแหล่งพลังงานความร้อนจากแก๊ส LPG (ภาพที่ 5.7) เปลี่ยนเป็นแหล่งความร้อนจากฮีตเตอร์ไฟฟ้าขนาด 3000 วัตต์ (ภาพที่ 5.8 และภาพที่ 5.9) ซึ่งมีความสะดวกในการทำงานมากกว่า โดยทำงานผ่านอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งสามารถปรับตั้งอุณหภูมิได้ตามต้องการ ภายในตู้ควบคุมการทำงานของเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม (ภาพที่ 5.10) โดยอุปกรณ์ให้ความร้อนจะทำหน้าที่เพิ่มอุณหภูมิให้กับอากาศที่ถูกพัดลมของเครื่องเป่าผ่านช่อดอกกล้วยไม้ภายในตัวเครื่องเพื่อดึงความชื้นออกในฤดูฝน ซึ่งสภาพอากาศแวดล้อมมีความชื้นสัมพัทธ์สูง ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการลดความชื้นกล้วยไม้ได้ โดยจากทดสอบพบว่าอุณหภูมิความร้อนที่เหมาะสมในการลดความชื้นกล้วยไม้คือ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่ทำให้กล้วยไม้เสื่อมคุณภาพ ยังคงมีสภาพความสด ไม่แตกต่างจากวิธีการเดิมที่ผู้ประกอบการใช้อยู่คือการเป่าลดความชื้นกล้วยไม้บนโต๊ะด้วยพัดลมอุตสาหกรรม

จากนั้นได้นำเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม และชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกไปติดตั้งและทดสอบใช้งานที่โรงคัดบรรจุ บริษัทกล้วยไม้ไทย จำกัด อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ดังแสดงในภาพที่ 5.11-5.14 และดำเนินการทดสอบเก็บข้อมูลการลดความชื้นกล้วยไม้ตัดดอกด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม และตรวจสอบกล้วยไม้หลังการลดความชื้นด้วยชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก โดยทำการทดสอบในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2563 ซึ่งเป็นช่วงนอกฤดูฝน อุณหภูมิแวดล้อม 33 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์อากาศ 58% และเปรียบเทียบกับวิธีการเดิมคือการเป่าลดความชื้นกล้วยไม้บนโต๊ะด้วยพัดลมอุตสาหกรรม ผลการทดสอบพบว่า เครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมและชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้มีความสามารถในการทำงาน 1,600 ช่อ/ชั่วโมง ความเร็วลมในการลดความชื้น 3 เมตร/วินาที โดยมีการใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 3.39 กิโลวัตต์ ใช้แรงงานในการปฏิบัติงาน 4 คน และชุดตรวจสอบมีความแม่นยำในการตรวจสอบกล้วยไม้หลังลดความชื้น 100% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ตาชั่งดิจิตอลความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ในการตรวจสอบ และจากการตรวจสอบกล้วยไม้หลังการลดความชื้นด้วยชุดเครื่องมือตรวจสอบต้นแบบ พบกล้วยไม้ที่ผ่านการลดความชื้นและแห้งได้มาตรฐานเฉลี่ย 96% กล้วยไม้ที่ต้องนำกลับไปลดความชื้นใหม่ 2% และกล้วยไม้ที่ถูกคัดออก 2% (ตั้งค่าความผิดพลาดน้ำหนักล้วยไม้หลังการลดความชื้นที่ยอมรับได้ไม่เกิน 3 กรัม) ผลการทดสอบทั้งหมดแสดงไว้ในตารางที่ 5.1, ตารางที่ 5.2, ภาพที่ 5.15 และ 16 ผลการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยวิธีการเดิม พบว่ามีความสามารถในการลดความชื้นกล้วยไม้ นอกฤดูฝน 240 ช่อ/ชั่วโมง ความเร็วและอุณหภูมิลมในการลดความชื้น 3-7 เมตร/วินาที ขึ้นอยู่กับระยะห่างของกล้วยไม้ที่วางบนโต๊ะกับพัดลมอุตสาหกรรม และ 33 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 0.73 กิโลวัตต์ และใช้แรงงานในการปฏิบัติงาน 2 คน ผลการทดสอบแสดงไว้ในตารางที่ 5.1 และภาพที่ 5.17

ทำการปรับปรุงต้นแบบชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกเพิ่มเติมให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นหลังจากทดสอบการใช้งานจริงที่โรงคัดบรรจุของผู้ประกอบการในช่วงนอกฤดูฝน โดยปรับปรุงในส่วนของชุดสายไฟ สัญญาณการส่งข้อมูลจากชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้หลังการลดความชื้นด้วยเครื่องอุโมงค์ลม ไปยังระบบประมวลผลวิเคราะห์ข้อมูลการตรวจสอบกล้วยไม้ ซึ่งติดตั้งอยู่ภายในกล่องควบคุมของชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้ก่อนการลดความชื้นด้วยเครื่องอุโมงค์ลม โดยปรับปรุงให้เป็นการส่งสัญญาณแบบไร้สาย (wireless) เพื่อความปลอดภัยจากการถูกผู้ปฏิบัติงานเดินมาเตะสายสัญญาณให้เสียหาย, แก้ไขปัญหาระดับแรงดันไฟฟ้าตกคร่อมในสาย กรณีมีสายสัญญาณที่ยาว และแก้ไขปัญหาสัญญาณรบกวนที่เข้ามาในสาย รบกวนชุดขยายสัญญาณโพลเดสเซิล (Strain Amplifier HX-711) โดยการรับ-ส่งสัญญาณ ใช้สัญญาณ Bluetooth มีการเข้ารหัสป้องกันการเชื่อมต่อ และตรวจสอบความผิดพลาดของการส่งสัญญาณ โดยมีระยะทางการเชื่อมต่อสัญญาณได้ไกลถึง 30 เมตร นอกจากนี้ ได้ทำการติดตั้งอุปกรณ์วัดอุณหภูมิและความชื้นอากาศแวดล้อม และอุปกรณ์บันทึกข้อมูลไปยังแผ่นบันทึกข้อมูล (SD Data logger) เพื่อนำข้อมูลไปใช้ประกอบในการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบ จากนั้นทำการทดสอบใช้งานซึ่งพบว่า ข้อมูลน้ำหนักกล้วยไม้หลังการลดความชื้นสามารถส่งไปที่ระบบประมวลผลเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลการตรวจสอบกล้วยไม้ได้ดี ไม่แตกต่างจากการใช้ชุดสายไฟสัญญาณเดิม ดังแสดงในภาพที่ 5.18-21

จากนั้นทำการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมและตรวจสอบกล้วยไม้หลังการลดความชื้นด้วยชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ในช่วงฤดูฝน อุณหภูมิอากาศแวดล้อม 29 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85% และเปรียบเทียบกับวิธีการเดิม ผลการทดสอบพบว่า เครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมและชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้มีความสามารถในการทำงาน 800 ช่อ/ชั่วโมง ความเร็วและอุณหภูมิลมในการลดความชื้น 3 เมตร/วินาที และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยมีการใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 6.39 กิโลวัตต์ (รวมชุดฮีตเตอร์ไฟฟ้า) ใช้แรงงานในการปฏิบัติงาน 4 คน และชุดตรวจสอบมีความแม่นยำในการตรวจสอบกล้วยไม้หลังลดความชื้น 100% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ตาชั่งดิจิตอลความ

ละเอียดทศนิยม 1 ตำแหน่ง ในการตรวจสอบ และจากการตรวจสอบกล้วยไม้หลังการลดความชื้นด้วยชุดเครื่องมือตรวจสอบต้นแบบ พบกล้วยไม้ที่ผ่านการลดความชื้นและแห้งได้มาตรฐานเฉลี่ย 94% กล้วยไม้ที่ต้องนำกลับไปลดความชื้นใหม่ 3% และกล้วยไม้ที่ถูกคัดออก 3% (ตั้งค่าความผิดพลาดน้ำหนักกล้วยไม้หลังการลดความชื้นที่ยอมรับได้ไม่เกิน 3 กรัม) ผลการทดสอบทั้งหมดแสดงไว้ในตารางที่ 5.3 และ ตารางที่ 5.4 สำหรับวิธีการเดิม ผลการทดสอบพบว่ามีความสามารถในการลดความชื้นกล้วยไม้ในฤดูฝน 80 ช่อ/ชั่วโมง ความเร็วและอุณหภูมิในการลดความชื้น 3-7 เมตร/วินาที ขึ้นอยู่กับระยะห่างของกล้วยไม้ที่วางบนโต๊ะกับพัดลมอุตสาหกรรม ใช้ และ 29 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 0.73 กิโลวัตต์ และใช้แรงงานในการปฏิบัติงาน 2 คน ผลการทดสอบแสดงไว้ในตารางที่ 5.3

ทำการวิเคราะห์ผลการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ทั้งในช่วงนอกฤดูฝนและในฤดูฝน ซึ่งผลการวิเคราะห์สรุปได้ว่าการใช้ชุดตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกพร้อมกับเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมสามารถลดระยะเวลาการลดความชื้นกล้วยไม้ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้พัดลมอุตสาหกรรม ทำให้มีความสามารถในการลดความชื้นกล้วยไม้มากกว่า จากนั้นทำการศึกษเปรียบเทียบคุณภาพและอายุการใช้งานกล้วยไม้ โดยนำกล้วยไม้จากการลดความชื้นทั้งสองวิธี มาผ่านกระบวนการอื่นๆเช่นเดียวกัน และบรรจุลงในกล่องบรรจุภัณฑ์สำหรับการส่งออก โดยเก็บรักษาที่สภาพเดียวกันที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะเวลาสำหรับการขนส่งสินค้ากล้วยไม้สู่ผู้บริโภคปลายทาง (ภาพที่ 5.22) จากนั้นนำกล้วยไม้มาปักในขวดที่บรรจุน้ำสะอาด เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 31 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5.23) ผลการศึกษาพบว่ากล้วยไม้ที่ผ่านการลดความชื้นด้วยวิธีการใช้พัดลมและเครื่องต้นแบบมีสภาพความสดไม่แตกต่างกัน มีอายุการปักแจกันได้นาน 14 วัน

ผลการวิเคราะห์ด้านเศรษฐศาสตร์วิศวกรรมพบว่า การลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยวิธีใช้พัดลมอุตสาหกรรมมีต้นทุนค่าใช้จ่าย 0.53 บาทต่อช่อ ในขณะที่การใช้เครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมและชุดตรวจสอบกล้วยไม้ต้นแบบมีต้นทุนค่าใช้จ่ายต่ำกว่า 0.23 บาทต่อช่อ คือ 0.30 บาทต่อช่อ ชุดเครื่องต้นแบบมีจุดคุ้มทุนเมื่อทำการลดความชื้นกล้วยไม้ 207,360 ช่อต่อปี และระยะเวลาคืนทุนประมาณ 0.26 ปี

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ประกอบด้วยชุดอุปกรณ์ 3 ส่วนคือ ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้เริ่มต้น ก่อนจุ่มน้ำยาป้องกันโรคแมลงและเข้าเครื่องลดความชื้นแบบอุโมงค์ลม ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้หลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลมแล้ว และชุดระบบควบคุมการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก

ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้เริ่มต้นมีจำนวน 2 ชุด แต่ละชุดมีขนาด 0.45x0.45x0.72 เมตร (กว้างxยาวxสูง) มีอุปกรณ์ไหลตเซลล์ขนาด 5 ก.ก. สำหรับวัดน้ำหนักกล้วยไม้ ซึ่งติดตั้งที่ด้านล่างของแผ่นรองรับน้ำหนักกล้วยไม้ทำจากแผ่นอะคริลิกใส ชุดชั่งน้ำหนักกล้วยไม้หลังจากลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลมแล้วมีจำนวน 2 ชุด แต่ละชุดมีขนาด 0.45x0.45x0.60 เมตร (กว้างxยาวxสูง) ประกอบด้วยอุปกรณ์ไหลตเซลล์ขนาด 5 ก.ก. ติดตั้งที่ด้านล่างของแผ่นรองรับน้ำหนักกล้วยไม้ทำจากแผ่นอะคริลิกใสเช่นกัน ชุดระบบควบคุมการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก ใช้อุปกรณ์ไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino MEGA 2560 R3 16 bit เป็นหน่วยประมวลผล และใช้หน่วยแสดงผลเป็นจอ LCD สำหรับแสดงผลค่าน้ำหนักกล้วยไม้และผลค่าวิเคราะห์ พร้อมทั้งส่งสัญญาณ (Digital Output) เพื่อแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบหลอด LED และอุปกรณ์ออกสัญญาณ ใช้อุปกรณ์ส่งสัญญาณ Bluetooth แบบไร้สาย (wireless) สำหรับการส่งข้อมูลน้ำหนักกล้วยไม้เริ่มต้น และน้ำหนักกล้วยไม้หลังลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลม เข้าสู่หน่วยประมวลผล บันทึกข้อมูลต่างๆและผลการวิเคราะห์ไปยังอุปกรณ์บันทึกข้อมูล (SD Data logger) ซึ่งติดตั้งอยู่ภายในกล่องควบคุม



ผลการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องลดความชื้นแบบอุโมงค์ลม และตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้ด้วยชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก นอกฤดูฝนพบว่า ชุดเครื่องมือต้นแบบมีความสามารถในการทำงาน 1,600 ชั่วโมง ความเร็วและอุณหภูมิในการลดความชื้น 3 เมตร/วินาที และ 33 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศแวดล้อม 58% โดยมีการใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 3.39 กิโลวัตต์ และผลการตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้หลังลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลมพบว่ากล้วยไม้ที่ผ่านการลดความชื้นและแห้งได้มาตรฐานเฉลี่ย 96% กล้วยไม้ที่ต้องนำกลับไปลดความชื้นใหม่ 2% และกล้วยไม้ที่ถูกคัดออก 2% (ตั้งค่าความผิดพลาดน้ำหนักกล้วยไม้หลังการลดความชื้นที่ยอมรับได้ไม่เกิน 3 กรัม) ในขณะที่ผลการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยวิธีการเดิมใช้พัดลมอุตสาหกรรมเป่าลดความชื้นกล้วยไม้บนโต๊ะ พบว่ามีความสามารถในการลดความชื้นกล้วยไม้ นอกฤดูฝน 240 ชั่วโมง ความเร็วและอุณหภูมิในการลดความชื้น 3-7 เมตร/วินาที ขึ้นอยู่กับระยะห่างของกล้วยไม้ที่วางบนโต๊ะกับพัดลมอุตสาหกรรม และ 33 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศแวดล้อม 58% ใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 0.73 กิโลวัตต์

ผลการทดสอบในช่วงฤดูฝนพบว่า ชุดเครื่องมือต้นแบบมีความสามารถในการทำงาน 800 ชั่วโมง ความเร็วและอุณหภูมิในการลดความชื้น 3 เมตร/วินาที และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความชื้นสัมพัทธ์อากาศแวดล้อม 85% โดยมีการใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 6.39 กิโลวัตต์ และผลการตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้หลังลดความชื้นด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลมพบว่ากล้วยไม้ที่ผ่านการลดความชื้นและแห้งได้มาตรฐานเฉลี่ย 94% กล้วยไม้ที่ต้องนำกลับไปลดความชื้นใหม่ 3% และกล้วยไม้ที่ถูกคัดออก 3% (ตั้งค่าความผิดพลาดน้ำหนักกล้วยไม้หลังการลดความชื้นที่ยอมรับได้ไม่เกิน 3 กรัม) ในขณะที่ผลการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยวิธีการเดิมใช้พัดลมอุตสาหกรรมเป่าลดความชื้นกล้วยไม้บนโต๊ะ พบว่ามีความสามารถในการลดความชื้นกล้วยไม้ นอกฤดูฝน 80 ชั่วโมง ความเร็วและอุณหภูมิในการลดความชื้น 3-7 เมตร/วินาที ขึ้นอยู่กับระยะห่างของกล้วยไม้ที่วางบนโต๊ะกับพัดลมอุตสาหกรรม และ 29 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ใช้พลังงานไฟฟ้ารวม 0.73 กิโลวัตต์

ผลการวิเคราะห์ด้านเศรษฐศาสตร์วิศวกรรมพบว่า การลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยวิธีใช้พัดลมอุตสาหกรรมมีต้นทุนค่าใช้จ่าย 0.53 บาทต่อช่อ ในขณะที่การใช้เครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมและชุดตรวจสอบกล้วยไม้ต้นแบบมีต้นทุนค่าใช้จ่ายต่ำกว่า 0.23 บาทต่อช่อ คือ 0.30 บาทต่อช่อ ชุดเครื่องต้นแบบมีจุดคุ้มทุนเมื่อทำการลดความชื้นกล้วยไม้ 207,360 ช่อต่อปี และระยะเวลาคืนทุนประมาณ 0.26 ปี

## ตารางและภาพ

ตารางที่ 5.1 ผลการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ในฤดูฝนที่โรงคัดบรรจุของผู้ประกอบการส่งออกกล้วยไม้

หัวข้อ		ผลการทดสอบนอกฤดูฝน			
		พัดลม		เครื่องอุโมงค์ลม+ชุดตรวจสอบ	
อุณหภูมิแวดล้อม (°ซ)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	33	58	33	58
อุณหภูมิที่ใช้ในการลดความชื้นกล้วยไม้ (องศาเซลเซียส)		33		33	
ความเร็วลมที่ใช้ในการลดความชื้นกล้วยไม้ (เมตร/นาที่)		3-7		3	
ระยะเวลาในการลดความชื้นกล้วยไม้ (นาที่)		30		7.50	
ความสามารถในการลดความชื้นกล้วยไม้ (ช่อ/ชั่วโมง)		240		1,600	
ปริมาณการใช้พลังงานไฟฟ้ารวม (กิโลวัตต์)		0.73		3.39	
ระยะเวลาในการทำงาน (ชั่วโมง/วัน)		8		8	
การใช้แรงงาน (คน)		2		4	

ตารางที่ 5.2 ผลการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมนอกฤดูฝน

หัวข้อ	ผลการทดสอบนอกฤดูฝน
กล้วยไม้ที่ผ่านการลดความชื้นได้มาตรฐาน	96%
กล้วยไม้ที่นำกลับไปลดความชื้นใหม่	2%
กล้วยไม้ที่ถูกคัดออก	2%

ตารางที่ 5.3 ผลการทดสอบลดความชื้นกล้วยไม้ในฤดูฝนที่โรงคัดบรรจุของผู้ประกอบการส่งออกกล้วยไม้

หัวข้อ		ผลการทดสอบนอกฤดูฝน			
		พัดลม		เครื่องอุโมงค์ลม+ชุดตรวจสอบ	
อุณหภูมิแวดล้อม (°ซ)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	29	85	29	85
อุณหภูมิที่ใช้ในการลดความชื้นกล้วยไม้ (องศาเซลเซียส)		29		40	
ความเร็วลมที่ใช้ในการลดความชื้นกล้วยไม้ (เมตร/นาที่)		3-7		3	
ระยะเวลาในการลดความชื้นกล้วยไม้ (นาที่)		90		15	
ความสามารถในการลดความชื้นกล้วยไม้ (ช่อ/ชั่วโมง)		80		800	
ปริมาณการใช้พลังงานไฟฟ้ารวม (กิโลวัตต์)		0.73		6.39	
ระยะเวลาในการทำงาน (ชั่วโมง/วัน)		8		8	
การใช้แรงงาน (คน)		2		4	

ตารางที่ 5.4 ผลการตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมในฤดูฝน

หัวข้อ	ผลการทดสอบในฤดูฝน
กล้วยไม้ที่ผ่านการลดความชื้นได้มาตรฐาน	94%
กล้วยไม้ที่นำกลับไปลดความชื้นใหม่	3%
กล้วยไม้ที่ถูกคัดออก	3%



ภาพที่ 5.1 เครื่องลดความชื้นก๊วยไม้แบบอูโมงค์ลม



ภาพที่ 5.2 ชุดอุปกรณ์ควบคุมการตรวจสอบก๊วยไม้



ภาพที่ 5.3 ทดสอบความเป็นไปได้ในการทำงานของระบบชุดควบคุมตรวจสอบก๊วยไม้



ภาพที่ 5.4 ทำการทดสอบชุดตรวจสอบกล้วยไม้เบื้องต้น



ภาพที่ 5.5 อุปกรณ์กรองสัญญาณลดสัญญาณรบกวนจากสิ่งแวดล้อม



ภาพที่ 5.6 ชุดตรวจสอบกล้วยไม้ตัดดอกที่ได้รับการปรับปรุงแล้ว



ภาพที่ 5.7 อุปกรณ์ให้ความร้อนแบบรังสีอินฟราเรดผ่านแหล่งความร้อนจากแก๊ส LPG



ภาพที่ 5.8 อุปกรณ์ให้ความร้อนแบบฮีเตอร์ไฟฟ้า



ภาพที่ 5.9 ติดตั้งอุปกรณ์ให้ความร้อนแบบฮีเตอร์ไฟฟ้าภายในตัวเครื่อง



ภาพที่ 5.10 ตู้ควบคุมการทำงานของเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอูโมงค์ลม



ภาพที่ 5.11 ขนย้ายเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอูโมงค์ลมและชุดตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้ไปที่โรงคัดบรรจุของผู้ประกอบการส่งออก



ภาพที่ 5.12 ติดตั้งประกอบเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอูโมงค์ลม



ภาพที่ 5.13 เครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมพร้อมสำหรับการทดสอบใช้งานจริง



ภาพที่ 5.14 ติดตั้งชุดตรวจสอบคุณภาพกล้วยไม้ร่วมกับเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้อุโมงค์ลม



ภาพที่ 5.15 กล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกที่ใช้ในการทดสอบ



ภาพที่ 5.16 ทดสอบการลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องแบบอูโมงค์ลมและชุดตรวจสอบกล้วยไม้



ภาพที่ 5.17 ทดสอบการลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยวิธีการเดิม



ภาพที่ 5.18 ชุดซังน้ำหนักหลังลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องแบบอูโมงค์ลม



อุปกรณ์ส่งสัญญาณ wireless



ภาพที่ 5.19 อุปกรณ์ส่งสัญญาณ wireless ในชุดชั่งน้ำหนักหลังลดความชื้นกล้วยไม้



ภาพที่ 5.20 ชุดชั่งน้ำหนักก่อนลดความชื้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องแบบอุโมงค์ลม

อุปกรณ์รับสัญญาณ wireless

อุปกรณ์วัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์อากาศแวดล้อม



อุปกรณ์บันทึกข้อมูล SD card

ภาพที่ 5.21 อุปกรณ์รับสัญญาณ wireless, วัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์อากาศแวดล้อม และบันทึกข้อมูล SD card ในชุดชั่งน้ำหนักก่อนลดความชื้นกล้วยไม้



ภาพที่ 5.22 บรรจุกล้วยไม้ลงกล่องและเก็บรักษา



ภาพที่ 5.23 ศึกษาอายุการใช้งานกล้วยไม้

## โครงการที่ 6

การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญทางสมุนไพรในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย  
Development of Technology to Increase Herbal Compound in *Dendrobium sp.*

ภุมรินทร์ วณิชชานันท์<sup>1/</sup> อัจฉราพรรณ ใจเจริญ<sup>1/</sup> อรุโณทัย ชาววา<sup>1/</sup>  
ศศิมา เมืองแก้ว<sup>2/</sup> ไพฑูรย์ บุปผาดา<sup>3/</sup> ดวงพร บุญชัย<sup>4/</sup> กฤตยา เพชรผึ้ง<sup>5/</sup>  
ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม<sup>5/</sup> วิภาดา ศิริอนุสรณ์ศักดิ์<sup>5/</sup> ศรีเมฆ ชาวโพงพาง<sup>6/</sup>

Phummarin Wanichananan<sup>1/</sup> Adcharapun Chaicharoen<sup>1/</sup> Aroonothai Saowa<sup>1/</sup>  
Sasima Muangkaew<sup>2/</sup> Phaitun Bupphada<sup>3/</sup> Duangporn Boonchai<sup>4/</sup> Krittaya Petchpoung<sup>5/</sup>  
Siriwan Soiklom<sup>5/</sup> Wipada Siri-anusornsak<sup>5/</sup> Srimek Chowpongpan<sup>6/</sup>

**คำสำคัญ :** สารสำคัญ กล้วยไม้หวาย สิ่งกระตุ้น ต้านอนุมูลอิสระ ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ ทรานสคริปโตมิกส์  
เครื่องหมายโมเลกุล

**Keyword :** Secondary metabolite, *Dendrobium sp.*, Elicitor, antioxidant, DNA aptamer,  
Transcriptomics, Molecular markers

### บทคัดย่อ

สารออกฤทธิ์ moscatilin จากกล้วยไม้สกุลหวาย อยู่ในกลุ่ม bibenzyl มีหมู่ phenol ในโครงสร้างมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการเจริญเซลล์มะเร็ง มีศักยภาพในการใช้เป็นสมุนไพรแต่ยังขาดแคลนข้อมูลทางพันธุกรรม การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ช่วยกับการใช้ปัจจัยจากภายนอกเป็นตัวกระตุ้นปริมาณสารสำคัญให้สูงขึ้น การผลิตชุดตรวจสอบปริมาณสารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้ เพื่อใช้ประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของกล้วยไม้ การศึกษาและพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลของกล้วยไม้สกุลหวายด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์ เพื่อเข้าใจหน้าที่ของยีนต่อการสร้างสาร moscatilin โดยการศึกษาแสง LED ร่วมกับสูตรอาหารที่มี 6-benzylaminopurine (BA) พบว่าพันธุ์เอ็ยสกุลปริมาณสารสำคัญ moscatilin จะตอบสนองต่อแสง LED สีขาว ร่วมกับ BA 1 มก./ล. พันธุ์ขาว 5N จะพบได้มากในแสง LED สีน้ำเงิน ร่วมกับ BA 2 มก./ล. การทดสอบสาร PEG ร่วมกับ LED พบว่า พันธุ์เอ็ยสกุลสูตรอาหารที่มี PEG 5% ในแสงสีน้ำเงินจะมีปริมาณสาร moscatilin สูงสุด 2.30 g/ 100 g sample พันธุ์ขาว 5N พบว่าในแสง LED สีน้ำเงิน ร่วมกับสูตรอาหารที่มี PEG 10% จะมีปริมาณสารสำคัญ Moscatilin สูงสุด การผลิตชุดตรวจสอบสารมาตรฐาน moscatilin ถูกนำมาใช้เป็นแอปตาเจนในการคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ด้วยวิธี Systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) การทดสอบปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน moscatilin คัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ ได้ 7 โคลน คือ MosA6 MosH4 MosH8 MosE6 MosB6 MosA3 และ MosA7 เมื่อนำไปทดสอบด้วยวิธี indirect enzyme-linked aptamer assay (ELAA) พบว่า ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ทั้ง 7 โคลน ให้ค่า S/N ratio อยู่ในช่วง 1.03-5.4 เมื่อนำไปพัฒนาวิธี electrochemical aptasensor พบว่า ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์โคลน MosH4 และ MosH8 สามารถตรวจจับสาร moscatilin ในกล้วยไม้สกุลหวายได้ จากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นต้นแบบในการตรวจสอบสาร moscatilin ในกล้วยไม้สกุลหวายของไทย ด้วยวิธี electrochemical impedimetric aptasensor ได้ และนำไปใช้ยังภาคสนามได้อีกด้วย การทดลองหาลำดับนิวคลีโอไทด์จากกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย 3 ชนิด ได้แก่ ขาว 5N ขาวสนาน และเอ็ยสกุลมีลักษณะพันธุกรรมใกล้เคียงกับ *Dendrobium catenatum* ที่ค่าความเหมือน 80.6 เมื่อทำการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนทั้งหมดพบการ

แสดงออกของยีนจำนวน 45,012 44,849 และ 29,209 ยีน ตามลำดับ และมีการแสดงออกของกลุ่มยีนมากที่สุด ได้แก่ กลุ่มยีนเกี่ยวกับ Cell wall organization (หรือ biogenesis) response to stress และ lipid binding สำหรับการทดสอบและประเมินความใช้ได้ของเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ในรูปแบบ di-repeat และ tri-repeat ที่ให้ความแตกต่างระหว่าง ขาว5N, ขาวสนาน และเอี้ยสกุล จำนวน 30 คู่ไพรเมอร์ พบมีเพียง 10 คู่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ นอกจากนี้ผลการแสดงออกของยีนภายหลังการกระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวร่วมกับสาร BA 1 มก./ล. พบสามารถเพิ่มปริมาณสาร moscatilin มากขึ้น เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยการแสดงออกของยีนหลังการกระตุ้นด้วย BA พบว่ากล้วยไม้สกุลหวายเอี้ยสกุลมีการแสดงออกของยีนมากกว่าขาว5N ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสาร moscatilin ที่พบในกล้วยไม้สกุลผสมเอี้ยสกุลมากกว่าขาว5N

<sup>1/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (Biotechnology Research and Development Office)

<sup>2/</sup> ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี (Chanthaburi Horticultural Research Center)

<sup>3/</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอำนาจเจริญ (Amnat Charoen Agricultural Research and Development Center)

<sup>4/</sup> คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Faculty of Agriculture, Kasetsart University)

<sup>5/</sup> ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Scientific Equipment and Research Division, Kasetsart University)

<sup>6/</sup> สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (National Science and Technology Development Agency)

## Abstract

An active substance Moscatilin belongs to the bibenzyl group, a structural phenol group, which has results in pharmacological studies showing a wide range of biological activities such as anti-inflammatory, antioxidant and anti-cancer cell proliferation. It has potential for medicinal uses but lacks genetic information. The objectives of this study are (1) to apply plant tissue culture biotechnology in combination with the use of external factors as catalysts to increase the content of Moscatilin substances, (2) to produce of Moscatilin amount test kits in orchids, which is essential and useful in orchid quality control, (3) to study and development of molecular marker of *Dendrobium* orchids using transcriptomics technology. Besides, to understand the function of genes involving in the production of Moscatilin. The study of LED light together with the medium containing various 6-benzylaminopurine (BA) concentration found that in Eia sakun cultivar, the amount of moscatilin was most responsive to white LED in combination with BA 1 มก./ล., Khaow-5N cultivar moscatilin were produced most in blue LED in combination with BA 2 มก./ล.. Testing of PEG compounds with different color LED to activate the production of moscatilin found that in Eia sakun the blue LED in combination with 5% PEG in medium had a maximum moscatilin content of 2.3 g/ 100 g sample. In Khaow-5N, the moscatilin content was the highest in the blue LED combined with the 10% PEG in medium. In the production of Moscatilin amount test kits, Moscatilin was used as an aptagen to select specific DNA aptamers by systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) method. Seven DNA aptamers designated MosA6 MosH4 MosH8 MosE6 MosB6 MosA3 and MosA7 were selected from the binding affinity test with moscatilin. By using seven DNA aptamers in indirect ELISA, the result showed the binding activity between an S/N ratio of 1.03-5.48. When DNA aptamer clone MosH4 and MosH8 were tested in electrochemical impedimetric aptasensor, the result showed that both clone of DNA aptamers can detect moscatilin in orchid sample. The result from this research can be a model for the detection of moscatilin in Thai orchid *Dendrobium* species based on electrochemical impedimetric aptasensor. Besides, analysis can perform onsite with pre- constructed electrodes and modified aptamer employing a portable EIS set up. The nucleotide sequences from three *Dendrobium* hybrids, Khaow-Sanan, Khaow-5N and Eia-sakul were closely related to *Dendrobium catenatum* at 80.6 homology. The analysis of whole genes expression in these three hybrids showed 45,012 44,849 and 29,209 genes, respectively. In addition, the gene groups with highest expression were cell wall organization (biogenesis), stress response, and lipid binding. In testing and evaluating the validity of 30 primer pairs of SSR markers in di-repeat and tri-repeat patterns that differentiates between species of three *Dendrobium* hybrids, it was found that 10 primer pairs could be amplified. Furthermore, the results of genes expression after stimulation by white LED light in combination with BA 1 mg/L revealed the increase of the amount of Moscatilin compared to the control. Earsakul have higher gene expression than Khaow-5N. consistent with the amount of Moscatilin found more in Earsakul than in Khaow-5N.

## บทนำ

ประเทศไทยนับเป็นประเทศหนึ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งยังคงอุดมสมบูรณ์ไปด้วยทรัพยากรธรรมชาติและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) เป็นแหล่งแพร่กระจายพันธุ์และมีความหลากหลายทางด้านชนิดพันธุ์ของพืชในวงศ์กล้วยไม้จำนวนมากมาย กล้วยไม้สกุลหวายหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสมุนไพรในตำรายาจีน (Traditional Chinese Medicine (TCM) กล้วยไม้ป่าที่ถูกนำมาใช้เป็นสมุนไพรทางยาของจีนมีชื่อเรียกว่า “Shihu” ประกอบด้วย กล้วยไม้ 30 ชนิด ตัวอย่างเช่น *D. nobile*, *D. chysotoxum* และ *D. frimbriatum* เป็นต้น โดยจะนำมาใช้ในตำรับยาเพื่อเป็นยาบำรุง ยาสมานแผล ยาแก้ปวด ยาลดไข้ ยาลดอาการอักเสบ เป็นต้น ในหลายประเทศ เช่น อินโดนีเซีย มาเลเซีย ใต้หวัน เวียดนาม พม่า ศรีลังกา ฯลฯ ต่างก็มีการนำกล้วยไม้มาใช้ประโยชน์เป็นสมุนไพรรักษาโรคและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หลากหลายประเภท ยกตัวอย่างเช่น ยาสมุนไพร อัดแคปซูล ชา อาหารเสริม ในประเทศไทยเองก็มีรายงานภูมิปัญญาพื้นบ้านเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากพืชวงศ์กล้วยไม้เพื่อรักษา อาการเจ็บป่วยกว่า 42 ชนิด (species) จาก 25 สกุล (genera) (Chuakul, 2002) ทำให้พ่อค้าชาวจีนมีความต้องการต้นกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อไปสกัดสารและผลิตเป็นชาสมุนไพร

ปัจจุบันมีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางยาในกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อประโยชน์ในการต้านมะเร็ง ยารักษาโรคเบาหวาน ป้องกันสมองขาดเลือด และเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย สารออกฤทธิ์ Moscatilin จากกล้วยไม้สกุลหวาย พบใน *D. moscatum*, *D. pulchellum* และ *D. loddigesii* สาร Moscatilin อยู่ในกลุ่ม bibenzyl ซึ่งเป็นสารที่มีหมู่ phenol ในโครงสร้าง ซึ่งมีผลการศึกษาทางเภสัชวิทยาแสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammation), ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant), ฤทธิ์ต้านการเจริญของหลอดเลือดเลี้ยงเซลล์มะเร็ง (anti-angiogenesis) (Tsai *et al.*, 2010) นอกจากนี้สาร Moscatilin ยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์ NCI-H187 (มะเร็งปอด) และ KB (มะเร็งเยื่อช่องปาก และยังสามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งปอด และมะเร็งเต้านม โดย Moscatilin ถูกพบในกล้วยไม้สกุล Dendrobium หลายชนิด เช่นรายงานของ Chen *et al.* (2012) ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากกล้วยไม้ Dendrobium species จำนวน 24 สายพันธุ์ พบสาร naringenin, DDB-2, gigantol และ moscatilin ซึ่งเป็นสารที่พบมากในกล้วยไม้สกุล Dendrobium และรายงานของ Kowitdamrong *et al.* (2013) พบว่าสารสำคัญ moscatilin ซึ่งสกัดได้จาก เอื้องช้างน้าว (*Dendrobium pulchellum*) สามารถยับยั้งการย้ายถิ่นและการบุกรุกของเซลล์ H23 ของเซลล์ปอดได้ นอกจากนี้ปัจจัยภายนอกได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำ และธาตุอาหาร มีผลต่อการชักนำให้กล้วยไม้ผลิตสารสำคัญ moscatilin อีกด้วย สารสำคัญ moscatilin ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในกล้วยไม้ มักมีความแปรปรวน ซึ่งอาจมีสาเหตุจาก อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำ และธาตุอาหาร ซึ่งมีผลต่อการชักนำให้กล้วยไม้ผลิตสารสำคัญ moscatilin (Akula *et al.*, 2011) ส่งผลให้สารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้มีปริมาณไม่สม่ำเสมอในแต่ละครั้งของการผลิต เมื่อนำกล้วยไม้ดังกล่าวไปใช้เป็นยา จะทำให้การรักษาล้มเหลวได้

สำหรับกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายที่มีการปลูกเป็นการค้าในประเทศไทยได้มีการศึกษาปริมาณสารสำคัญ Moscatilin พบสารดังกล่าวในกล้วยไม้หวายลูกผสมสีขาวได้แก่ ขาว 5N 0.04547 %W/W ขาวสนาน 0.00323 %W/W และ เอื้องสกุล 0.0300 %W/W (พรชัย และคณะ, 2560) ซึ่งสามารถพัฒนานำมาใช้ประโยชน์เพื่อการรักษาโรค เพิ่มทางเลือกของการใช้กล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายให้มีคุณค่าและมูลค่าของกล้วยไม้ได้มากกว่าการเป็นไม้ตัดดอก จากแนวโน้มการส่งออกสินค้ากล้วยไม้ของไทยเดือนมกราคม-มิถุนายน 2561 เพิ่มขึ้น 6.69% เมื่อเทียบกับช่วงเวลาเดียวกันของปี 2560 แต่เนื่องจากเศรษฐกิจโลกยังอยู่ในช่วงชะลอตัว ส่งผลให้ความต้องการของตลาดต่างประเทศส่วนใหญ่ยังอยู่ที่ตลาดเดิม และพฤติกรรมกรรมการบริโภคของตลาดต่างประเทศ

ค่อนข้างหลากหลาย ผู้บริโภคมีความต้องการดอกกล้วยไม้ที่มีคุณภาพ กล้วยไม้สายพันธุ์ใหม่ๆ ทำให้ผู้ประกอบการต้องรักษามาตรฐานการผลิต รวมทั้งการพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ๆ (ปรานงูช,2561) จึงควรเพิ่มทางเลือกการใช้ประโยชน์ของกล้วยไม้เพื่อการตัดดอกของไทย โดยการนำเทคโนโลยีชีวภาพการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชร่วมกับการใช้ปัจจัยจากภายนอกซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้มีผลต่อปริมาณสารสำคัญให้สูงขึ้นได้นั้น จึงเป็นแนวทางเพื่อการศึกษาวิจัย และการตรวจสอบปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้นั้นมีความจำเป็น และมีประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของกล้วยไม้ การนำกล้วยไม้ซึ่งทราบปริมาณสารออกฤทธิ์ที่แน่นอนไปใช้ จะสามารถลดปัญหาความไม่แน่นอนของการออกฤทธิ์ นอกจากนี้การตรวจหาปริมาณสารสำคัญในกล้วยไม้ก่อน การซื้อขาย ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กล้วยไม้ ทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นด้วย จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิจัย พัฒนาชุดตรวจสอบสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย ด้วยเทคนิค Enzyme-linked aptamer assay (ELAA) เพื่อเป็นชุดตรวจสอบที่เกษตรกรสามารถใช้งานได้ง่าย สะดวก รวดเร็วและค่าใช้จ่ายไม่สูง และในด้านการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพในการใช้เป็นสมุนไพรหรือใช้ประโยชน์ในทางเภสัชยศาสตร์ ข้อมูลทางพันธุกรรมที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ และมีความต้องการเครื่องหมายโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ จำแนกพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ เพื่อประโยชน์ทางด้านสิทธิบัตร ป้องกันการแอบอ้างและปลอมปนวัตถุดิบที่ได้จากกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร เป็นต้น

ดังนั้นโครงการนี้จึงมีแนวทางเพื่อการพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายของไทย โดยการศึกษาการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชร่วมกับการใช้ปัจจัยจากภายนอกซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ให้สูงขึ้น ร่วมกับการผลิตชุดตรวจสอบปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้ ซึ่งมีความจำเป็นและมีประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของกล้วยไม้ และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลของกล้วยไม้สกุลหวายด้วยเทคโนโลยี ทรานสคริปโตมิกส์ เป็นการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมในระดับเอ็มอาร์เอ็นเอในภาพรวมทั้งหมด ให้เข้าใจหน้าที่ของยีนต่อการสร้างสาร Moscatilin และช่วยในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกและปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายได้แม่นยำและรวดเร็วยิ่งขึ้น

#### ระเบียบวิธีการวิจัย

โครงการวิจัยการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญทางสมุนไพรในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย	แผนทดลอง	กรรมวิธี	จน.ซ้ำ
การทดลอง 1 เทคนิคการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างปี พ.ศ. 2563-2564	CRD	แสง+ฮอร์โมน/ สคม.	5 ซ้ำ
การทดลอง 2 การพัฒนาชุดตรวจสอบสารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายของไทย ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างปี พ.ศ. 2563-2564	ไม่มี	ผลิตดีเอ็นเอ แอมป์ตาเมอร์ต่อ สารสำคัญ moscatilin	-
การทดลอง 3 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลและการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสาร Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์ ดำเนินการที่ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ระหว่างปี พ.ศ. 2563-2564	ไม่มี	เทคโนโลยี ทรานสคริปโต มิกส์	-

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### การทดลองที่ 1 เทคนิคการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

#### 1. ศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ร่วมกับชนิดแสง LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ในกล้วยไม้หวายลูกผสมพันธุ์ขาว 5N และ เอียสกุล

การทดสอบปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และชนิดของแสง LED ต่อการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้หวายลูกผสมพันธุ์เอียสกุล เมื่อเลี้ยงทดสอบในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มก./ล. และแสง LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ระยะเวลาการทดสอบ 4 เดือน พบว่า ปัจจัยด้านแสงมีผลต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล โดยสีแสง LED สีขาวมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงสุด 18.79 กรัม โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในส่วนปัจจัยด้านสูตรอาหารที่มี BA ความเข้มข้นต่างๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน พบว่า กล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์เอียสกุลที่เพาะเลี้ยงทดสอบในสูตรอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ภายใต้สภาพแสง LED สีขาว จะทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นสูงสุด 20.60 กรัม

การทดสอบปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ร่วมกับชนิดแสง LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ในกล้วยไม้หวายลูกผสมพันธุ์ขาว 5N เมื่อเลี้ยงทดสอบในอาหารที่มี BA ความเข้มข้นต่างๆ และแสง LED ทั้ง 3 สี ระยะเวลา 4 เดือน พบว่า ต้นกล้วยไม้หวายลูกผสมพันธุ์ขาว 5N ที่เพาะเลี้ยงในแสง LED สีขาวจะมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงสุดเท่ากับ 16.87 กรัม การเลี้ยงในแสง LED สีน้ำเงินจะมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดน้อยที่สุดเท่ากับ 11.17 กรัม โดยปัจจัยด้านแสงจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในขณะที่ปัจจัยด้านสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อพิจารณาปัจจัยร่วมกัน พบว่า การเลี้ยงต้นกล้วยไม้พันธุ์ขาว 5N ในสูตรอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ภายใต้แสง LED สีขาวจะทำให้มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงสุดเท่ากับ 19.97 กรัม การวิเคราะห์หาปริมาณสาร Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายพันธุ์เอียสกุลและขาว 5N ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA ปริมาณ 0, 1, 2 และ 3 มก./ล. ร่วมกับการเลี้ยงในสภาพแสง LED จำนวน 3 สี คือ ขาว (control) สีแดง และสีน้ำเงิน ด้วยวิธีการ HPLC พบว่า การเลี้ยงต้นกล้วยไม้ในสภาพแสง LED สีขาวของสูตรอาหารที่มีปริมาณ BA 1 มก./ล. จะทำให้ต้นกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายพันธุ์เอียสกุลมีปริมาณสารสำคัญ moscatilin สูงสุดมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.0902 g/100 g sample ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างแสง LED กับสูตรอาหารที่มีปริมาณ BA ต่างๆ จะให้ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าปัจจัยของสภาพแสง LED จำนวน 3 สี คือ ขาว แดงและน้ำเงินเป็นปัจจัยหลักที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญยิ่งต่อปริมาณสารสำคัญ moscatilin กล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์ขาว 5N พบปริมาณสารสำคัญ moscatilin มีค่าเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 0.0092 g/100 g sample ในอาหารที่มี BA 2 มก./ล. ในสภาพแสงสีน้ำเงิน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติทั้งในด้านของปัจจัยหลักของสภาพแสง LED ทั้ง 3 สี และ ปัจจัยรอง คือ สูตรอาหารที่มีปริมาณ BA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญ moscatilin ของกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายพันธุ์เอียสกุลและพันธุ์ขาว 5N พบว่า ในพันธุ์เอียสกุลจะมีปริมาณสารสำคัญ moscatilin ที่สูงกว่าพันธุ์ขาว 5N อย่างชัดเจน เมื่อเลี้ยงในสภาพแสง LED สีขาวและสีแดง แต่ในแสง LED สีน้ำเงิน จะพบว่าพันธุ์ขาว 5N มีปริมาณสาร moscatilin สูงกว่าพันธุ์เอียสกุล (ภาพที่ 6.6.1) สอดคล้องกับทฤษฎีรัตนและคณะ (2563) รายงานการกระตุ้นสาร curcumin ในขมิ้นชัน โดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. มีผลให้ปริมาณสารสำคัญ curcumin สูงสุด เท่ากับ 3.0639 มก./ล. (หรือ 0.306% ของปริมาณน้ำหนักแห้ง 10 มก.) ในการศึกษาการใช้แสง LED สีต่างๆ มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมปริมาณสารสำคัญ curcumin ของ ขมิ้นชัน พบว่าแสง LED สีน้ำเงินมีผลต่อสารสำคัญ curcumin จะให้ค่าปริมาณสารสูงสุด เท่ากับ 2.4487 มก./ล. (หรือ 0.2448% ของปริมาณน้ำหนัก



แห้ง 10 มก.) Adisa *et al.*, (2017) รายงานว่าการใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต BA มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นเปปเปอร์มินต์ (*Mentha piprita*) และการใส่ BA ที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้มีการผลิตสารประกอบกลุ่ม Phenolic เพิ่มขึ้นด้วย เช่นเดียวกับซึ่งสารสำคัญ Moscatilin อยู่ในกลุ่ม bibenzyl ซึ่งเป็นสารที่มีหมู่ phenol ในโครงสร้าง (Tsai *et al.*, 2010)

## 2. ศึกษาสภาพเครียด ต่อการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ร่วมกับชนิดแสง LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน ในกล้วยไม้หวายลูกผสมพันธุ์ชาวสวน ชาว 5N และ เอียสกุล

การทดสอบปริมาณสาร Polyethylene glycol (PEG 6000) ความเข้มข้น 0 5% และ 10% ในอาหารเพื่อสร้างสภาพเครียดให้กับกล้วยไม้ ร่วมกับการเลี้ยงในแสง LED สีขาว สีแดง และ สีน้ำเงิน ในกล้วยไม้หวายลูกผสมพันธุ์เอียสกุล และพันธุ์ชาว 5N พบว่า กล้วยไม้พันธุ์เอียสกุลเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร VW (control) แสง LED สีขาว มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงสุด 11.02 กรัม โดยปัจจัยด้านแสงจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และปัจจัยด้านสูตรอาหารจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อนำต้นกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุลที่ได้รับการกระตุ้นในอาหารสูตรต่างๆ ร่วมกับการให้แสง 3 ชนิด ไปตรวจสอบปริมาณสารสำคัญ moscatilin ด้วยเทคนิค HPLC พบว่า ในสูตรอาหาร VW ร่วมกับ PEG 5% ในแสง LED สีน้ำเงินมีค่าเฉลี่ยสารสำคัญสูงสุด 2.30 g/100 sample ซึ่งปัจจัยด้านสูตรอาหารที่มีการเติม PEG เพื่อสร้างความเครียดให้แก่กล้วยไม้มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ moscatilin อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ สำหรับปัจจัยด้านแสง LED สีแดงและสีน้ำเงินมีผลต่อปริมาณสารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายพันธุ์เอียสกุลมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับบทวิทยุรัตนและคณะ (2563) รายงานการใช้สาร Polyethyleneglycol (PEG) ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของขมิ้นชัน และทำให้เฉลี่ยปริมาณสาร curcumin สูงสุด 3.825 มก./ล. (0.3825% ของปริมาณน้ำหนักแห้ง 10 มก.) ในการกระตุ้นสาร curcumin แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

การทดสอบกระตุ้นสารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายพันธุ์ชาว 5N พบว่า การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ในสูตรอาหาร VW ร่วมกับ LED สีขาว ซึ่งใช้เป็นสิ่งเปรียบเทียบกับ (control) มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงสุด 8.75 กรัม ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งสูงสุด 0.75 กรัม โดยปัจจัยที่มีผลต่อค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือปัจจัยของสูตรอาหาร การตรวจสอบปริมาณสารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายพันธุ์ชาว 5N พบว่า แสง LED สีน้ำเงินร่วมกับการเลี้ยงในสูตรอาหาร VW ที่มี PEG 10% จะมีค่าเฉลี่ยสารสำคัญ moscatilin สูงสุด 0.50 ก./ 100 sample การเติม PEG เพื่อสร้างสภาพเครียดให้กล้วยไม้พันธุ์ชาว 5N มีผลให้ปริมาณสารสำคัญ moscatilin สูงขึ้นได้ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ moscatilin ของกล้วยไม้ทั้ง 2 พันธุ์ พบว่า พันธุ์เอียสกุลจะตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย PEG ร่วมกับการใช้แสง LED สีแดงและสีน้ำเงิน ได้มากกว่าพันธุ์ชาว 5N (ภาพที่ 6.2) ปัจจัยหลักของสูตรอาหารควรคำนึงถึงการเลือกใช้ความเข้มข้นของสาร PEG ซึ่งสามารถกระตุ้นปริมาณสารสำคัญได้แต่หากมีการใช้ความเข้มข้นที่สูงจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้น ปัจจัยด้านแสงเป็นปัจจัยรองแต่พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้เช่น และพันธุ์กล้วยไม้ยังคงเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่ง ดังนั้นในการกระตุ้นปริมาณสารสำคัญ moscatilin จึงควรทำการศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมในกล้วยไม้แต่ละพันธุ์

### การทดลองที่ 2 การพัฒนาชุดตรวจสอบสารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายของไทย

#### 1. การวิเคราะห์ปริมาณสาร moscatilin จากกล้วยไม้สกุลหวาย

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร moscatilin ด้วยเทคนิค UHPLC พบว่ากล้วยไม้ ชาวสวน เอียสกุล และชาว 5N มีค่า retention time เท่ากับ 12.37 12.12 และ 12.24 ซึ่งมีค่า retention time ตรงกับสารมาตรฐาน moscatilin และเมื่อวิเคราะห์สาร moscatilin ในส่วนของลำต้นและส่วนใบของกล้วยไม้ พบสาร moscatilin ใน

ส่วนของใบในชาวสนานและเย็บสุก เท่ากับ 0.013 และ 0.062 กรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร moscatilin ในส่วนของใบกล้วยไม้ ที่พบการสะสมของสาร moscatilin ในปริมาณที่สูง เทียบเคียงกับส่วนของลำต้น จะทำให้การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร moscatilin ด้วยชุดตรวจสอบที่จะพัฒนาขึ้น สามารถใช้ใบกล้วยไม้มาตรวจวิเคราะห์ได้โดยตรง ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในการตรวจวิเคราะห์สาร moscatilin ในแปลงปลูกได้

## 2. การเตรียมดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อสาร moscatilin

2.1 การเตรียมคลังดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ ขนาด 86 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งสามารถคำนวณความหลากหลายของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ได้ (Pan and Clawson, 2009) เท่ากับ  $4^{40} = 1.2 \times 10^{24}$

2.2 การคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จับกับสารสำคัญ moscatilin ด้วยเทคนิค ELAA นำดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่คัดเลือกได้จากเทคนิค SELEX เชื่อมต่อกับ pGEM-T Vector คัดเลือกโคลนีเดี่ยวได้ 282 โคลนีนำไปพ่วงกับ Biotin ด้วยปฏิกิริยา PCR จากนั้นนำไปทดสอบความสามารถในการจับกับสารมาตรฐาน moscatilin ด้วยเทคนิค ELAA พบดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ 7 โคลน สามารถจับกับสารมาตรฐาน moscatilin ได้ โดยมีค่า S/N ration อยู่ในช่วง 1.03-5.48

2.3 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ต่อ moscatilin ด้วยเทคนิค ELAA โดยทำ checker board titration โดยเลือกใช้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์จำนวน 4 โคลน ได้แก่ MosA6 MosH4 MosH8 พบว่าดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ทุกโคลนที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมล. สามารถทำปฏิกิริยากับ moscatilin โดยให้ค่า S/N ratio อยู่ในช่วง 0.96 – 1.50 และพบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณส้อมของแต่ละโคลนมีความแตกต่างกัน จึงทำให้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์มีโครงสร้างตติยภูมิ (ภาพที่ 6.3) ที่ประกอบด้วย loop และ hairpin ที่แตกต่างกัน ซึ่งโครงสร้างเหล่านี้มีส่วนสำคัญในการจับกับสารเป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจง (Michaud *et al.*, 2003)

## 3. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ด้วยตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า

นำดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ ทั้ง 4 โคลน มาใช้ตรวจสอบสาร moscatilin ด้วยวิธีการวิเคราะห์ค่าสเปคตรัมของอิมพีแดนซ์ทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Impedance Spectroscopy; EIS) จากผลการวิจัยพบว่า ในแต่ละขั้นตอนเริ่มด้วยการปรับสภาพ SPCE ด้วย sulfuric และ KCl จะมีค่า EIS ต่ำที่สุด เมื่อหลังจากเคลือบขั้วไฟฟ้าด้วย 4-carboxyphenyl diazonium salt และตรึงดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บนขั้วไฟฟ้า SPCE จะมีค่า EIS สูงขึ้นตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mishra *et al.* (2015) ที่ใช้วิธีการตรึงดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บนขั้วไฟฟ้า SPCE วิธีเดียวกัน แสดงว่าการตรึงดีเอ็นเอแอปตาเมอร์บน ขั้วไฟฟ้า SPCE ประสบความสำเร็จ

เมื่อทำการตรึงดีเอ็นเอแอปตาเมอร์แต่ละโคลนบนขั้วไฟฟ้า SPCE แล้ว จึงนำมาตรวจวิเคราะห์การจับกับสารมาตรฐาน moscatilin โดยเปรียบเทียบกับบัพเฟอร์ที่ใช้ละลายสารมาตรฐาน พบว่า ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ โคลน MosH4 และ MosH8 มีค่าสัญญาณ EIS ของการตรวจจับสารมาตรฐาน moscatilin สูงกว่าค่าสัญญาณ EIS ของบัพเฟอร์ แสดงว่า ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ โคลน MosH4 และ MosH8 ที่ถูกตรึงไว้บนขั้วไฟฟ้า SPCE ยังคงสามารถจับกับสารมาตรฐาน moscatilin ได้ ส่วนดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ โคลน MosA6 และ MosE6 มีค่าสัญญาณ EIS ของการตรวจจับสารมาตรฐาน moscatilin ต่ำกว่าค่าสัญญาณ EIS ของบัพเฟอร์ แสดงว่าดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ทั้งสองโคลน ไม่สามารถจับกับสารมาตรฐาน moscatilin

#### 4. ทดสอบประสิทธิภาพของตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าในการวิเคราะห์สาร moscatilin ในกล้วยไม้

ทดสอบการจับกับสาร moscatilin ในกล้วยไม้สกุลหวาย เอียสกุล ซึ่งจากการวิเคราะห์สาร moscatilin ด้วยเทคนิค UHPLC มีค่าเท่ากับ 0.062 กรัมต่อตัวอย่าง 100 ก. เป็นตัวอย่างควบคุมบวก โดยเปรียบเทียบกับกล้วยไม้สกุลหวาย ขาว 5N เป็นตัวอย่างควบคุมลบ โดยอ่านผลจากค่าสัญญาณ EIS ของการตรวจจับสาร moscatilin ในกล้วยไม้สกุลหวาย เอียสกุล พบว่า ดีเอ็นเอแอสตาเมอร์ โคลน MosH4 และ MosH8 บนแผ่น SPCE สามารถจับกับสาร moscatilin ในกล้วยไม้ได้ ส่วนดีเอ็นเอแอสตาเมอร์ โคลน MosA6 และ MosE6 ไม่สามารถจับกับสาร moscatilin ในกล้วยไม้ (ภาพที่ 6.4) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ ที่มีเพียง ดีเอ็นเอแอสตาเมอร์ โคลน MosH4 และ MosH8 เท่านั้นที่จับกับสารมาตรฐาน moscatilin ได้

การพัฒนาชุดตรวจสอบสารสำคัญ moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายด้วยเครื่องตรวจสอบปริมาณสารสำคัญทางการเกษตรภาคสนามนั้น ยังต้องศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นของดีเอ็นเอแอสตาเมอร์ที่ใช้ตรึงบนขั้วไฟฟ้า SPCE ที่เหมาะสมในการตรวจสอบสาร moscatilin ในกล้วยไม้ จากงานวิจัยนี้ จะเห็นว่าค่าสัญญาณ EIS ที่ตรวจสอบสาร moscatilin ค่อนข้างต่ำ ซึ่งเกิดจากการใช้ดีเอ็นเอแอสตาเมอร์ความเข้มข้นเพียง 100 พิโคโมล ซึ่งไม่เพียงพอสำหรับการตรวจสอบสาร moscatilin ที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Mishra *et al.* (2015) ซึ่งใช้ดีเอ็นเอแอสตาเมอร์ ความเข้มข้นถึง 0.35 ไมโครโมล นอกจากนี้ยังต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร เพื่อปรับให้มีความเหมาะสมในการตรวจสอบสาร moscatilin ในกล้วยไม้ที่ตีขึ้น โดยต้องปรับค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ ชนิดของบัฟเฟอร์ วิธีการเก็บรักษาแผ่น SPCE ที่ตรึงดีเอ็นเอแอสตาเมอร์และเทคนิคที่ใช้วัด เป็นต้น

#### การทดลองที่ 3 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลและการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสาร Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์

##### 1. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีนจากกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายด้วยเทคโนโลยี ทรานสคริปโตมิกส์

เทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์เป็นการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์องค์รวมของอาร์เอ็นเอทั้งหมดที่ได้ การวิเคราะห์ผลในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย ได้แก่ ขาว 5N ขาวสนาน และเอียสกุล พบลำดับนิวคลีโอไทด์ของกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด มีความเหมือน (identity) กับ *Dendrobium catenatum Phalaenopsis equestris Quercus suber Apostasia shenzhenica* และ *Vitis vinifera* ที่ 80.6 7.1 1.8 1.6 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 6.5) การแสดงออกของยีนในสภาพแวดล้อมเดียวกันพบกล้วยไม้สกุลหวาย ขาว 5N เอียสกุล และขาวสนาน มีการแสดงออกของยีนจำนวน 45,012 44,849 และ 29,209 ยีน ตามลำดับ โดยมียีนที่แสดงออกเหมือนกันในกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 ชนิด อยู่ที่ 23,158 ยีน

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และปริมาณการแสดงออกของยีนทั้งหมดจากกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม 2 ชนิด ได้แก่ ขาว 5 N ที่มีสาร moscatilin สูง และขาวสนานที่มีสาร moscatilin ต่ำ กับแหล่งข้อมูลยีนอ้างอิง Gene Ontology (GO) พบมีการแสดงออกของกลุ่มยีนมากที่สุด ได้แก่ กลุ่มยีนเกี่ยวกับ Cell wall organization (หรือ biogenesis) response to stress และ lipid binding ตามลำดับ โดยมีอัตราส่วนของยีนในกลุ่ม oxidoreductase activity และ response to stress มากที่สุด ซึ่งยีนในกลุ่มดังกล่าวพบเกี่ยวข้องกับการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในพืช มีทั้งลักษณะไปกระตุ้นให้เกิดการสร้างหรือลดระดับการสร้างสารทุติยภูมิได้ (Zhang *et al.*, 2013) เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลจากฐานข้อมูล KEGG หรือ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes พบมีการทำงานภายในเซลล์ของกลุ่มยีน Tryptophan metabolism Glyoxylate and dicarboxylate metabolism และ limonene and pinene degradation สูงสุดตามลำดับ และมีอัตราส่วนของกลุ่มยีน Carbon metabolism Glyoxylate and dicarboxylate metabolism และ Tryptophan metabolism มากที่สุด มีการรายงานกลุ่มยีน Carbon metabolism Glyoxylate and

dicarboxylate metabolism ว่าช่วยกระตุ้นการสร้างสารทุติยภูมิในพืชโดยผลจากสถานะเครียดของพืชต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น แสง อุณหภูมิ เป็นต้น (Zandalinas *et al.*, 2017) สำหรับกลุ่มยีน Tryptophan metabolism มีรายงานว่ามีการเคลื่อนย้ายสาร Tryptophan ส่งผลให้กระบวนการสร้างสารอะโรมาติก (aromatic) ในข้าวซึ่งเป็นอีกหนึ่งกลไกในการสร้างสารสำคัญสำหรับพืช (Ishihara *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมว่าหน้าที่ของ Tryptophan เป็นอีกกลไกในการสร้างสารทุติยภูมิซึ่งเกิดจากการตอบสนองความต้านทานต่อเชื้อโรคในข้าว (Ishihara *et al.*, 2011) การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SNP (Single Nucleotide Polymorphism) และ In/Del (Insertion/Deletion) พบตำแหน่งเครื่องหมาย SNP จำนวน 518,051 ตำแหน่ง และเครื่องหมาย In/del จำนวน 49,159 ตำแหน่ง

## 2. การทดสอบและประเมินความใช้ได้ของเครื่องหมายโมเลกุล

ทำการทดสอบและประเมินความใช้ได้ของเครื่องหมายโมเลกุลกับกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย จำนวน 5 ชนิดๆ ละ 2 ต้น ได้แก่ ขาว5N, ขาวสนาน, ขาวเลอเวีย, เอียสกุล และ *D. officinale* โดยสุ่มคัดเลือกตำแหน่งเครื่องหมายชนิด SSR (Simple Sequence Repeat) จากการวิเคราะห์ด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์พบตำแหน่ง SSR ในรูปแบบ di-repeat tri-repeat tetra-repeat และ penta-repeat ทั้งสิ้น 9,064 ตำแหน่ง ที่ให้ความแตกต่างระหว่าง ขาว5N, ขาวสนาน และเอียสกุล จึงทำการคัดเลือกมาทดสอบจำนวน 30 คู่ไพรเมอร์ เพื่อใช้ทดสอบและประเมินเครื่องหมายดังกล่าวด้วยวิธีพีซีอาร์ พบคู่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์เพียง 10 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 2 5 8 12 13 14 18 25 27 และ 29 (ภาพที่ 6) ซึ่งผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มีจำนวนซ้ำของตำแหน่ง Repeat ชนิด di-repeat และ tri-repeat ให้ความแตกต่างของจำนวนเบสต่ำกว่า 20 เบส จึงทำให้การแสดงผลบนเจลอะกาโรสยังมองไม่เห็นความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ ทั้งนี้การทดสอบเครื่องหมายชนิด SSR มีเทคโนโลยีและเครื่องมือที่สามารถตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ต่ำกว่า 20 เบส แต่มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง เนื่องด้วยในการวิจัยในปี 2563 มีการปรับลดงบประมาณลง จึงได้เลือกการทดสอบด้วยวิธีพีซีอาร์ที่มีค่าใช้จ่ายน้อย อย่างไรก็ตามข้อมูลไพรเมอร์ที่ได้จากเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์สามารถนำมาเป็นฐานข้อมูลเพื่อนำไปศึกษาลักษณะพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวายได้ในอนาคต

## 3. การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์ ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายที่กระตุ้นให้เพิ่มปริมาณสาร moscatilin

ทำการกระตุ้นการสร้างสาร moscatilin ได้ด้วยแสง LED สีขาว ร่วมกับสาร BA 1 มล./ล. ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Vacin and Went นาน 4 เดือน แล้ววิเคราะห์การแสดงออกของยีนและกลุ่มยีนด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์ ร่วมกับการวิเคราะห์ปริมาณสาร moscatilin พบสาร BA สามารถกระตุ้นให้สาร moscatilin เพิ่มขึ้นในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายขาว 5 N และเอียสกุล ซึ่งใน ขาว5N มีปริมาณสาร moscatilin เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุมจาก 0.0518 ก./100 ก.ตัวอย่าง เป็น 0.1129 ก./100 ก.ตัวอย่าง สำหรับเอียสกุล เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุมจาก 0.1078 ก./100 ก.ตัวอย่าง เป็น 0.1577 ก./100 ก.ตัวอย่าง (ภาพที่ 6.7) จะเห็นได้ว่าสาร BA ในสถานะแสง LED สีขาวสามารถกระตุ้นให้กล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายผลิตสาร moscatilin เพิ่มขึ้นได้

เมื่อศึกษาองค์รวมของอาร์เอ็นเอทั้งหมดด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์ พบว่าการแสดงออกของยีนในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย ขาว5N มีการแสดงออกของยีนสูงสุดแบบ up-regulation ในกลุ่มยีน Quorum sensing มากที่สุด การวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ในกล้วยไม้ลูกผสมขาว5N พบเมื่อกระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวร่วมกับสาร BA 1 มล./ล. มีการแสดงออกของยีนจำนวน 9 ยีน และหายไปจำนวน 7 ยีน สำหรับเอียสกุล พบการแสดงออกของยีนสูงสุดแบบ up-regulation ในกลุ่มยีน

Phenylpropanoid biosynthesis (ภาพที่ 6.8) การวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ในกล้วยไม้ลูกผสมเอียสกุล พบเมื่อกระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวร่วมกับสาร BA 1 มล./ล. มีการแสดงออกของยีนจำนวน 79 ยีน และหายไปจำนวน 18 ยีน จะเห็นได้ว่าการแสดงออกของยีนในกล้วยไม้ลูกผสมเอียสกุลมีการแสดงออกและหายไปมากกว่าในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายขาว 5N ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสาร moscatilin ที่ได้ในกล้วยไม้ลูกผสมเอียสกุลที่มีมากกว่ากล้วยไม้ลูกผสมขาว 5N นอกจากนี้การแสดงออกของยีนที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดในกล้วยไม้ลูกผสมเอียสกุล คือ hypothetical protein ซึ่งมีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างสารทุติยภูมิภายใต้สภาวะเครียดจากความเป็นพิษของแมงกานีสในพืชตระกูลกล้วย (Jia *et al.*, 2020) อย่างไรก็ตามสาร BA อยู่ในกลุ่มฮอร์โมนไซโตไคนินที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เมื่อทำงานร่วมกับสารเสริม (elicitor) ระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะส่งผลต่อการสังเคราะห์สารทุติยภูมิโดยไม่จำเป็นต้องดัดแปลงพันธุกรรมของพืชได้ (Govindaraju และ Indra Arulselvi, 2018)

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. การทดสอบแสง LED สีขาว แดง และน้ำเงิน ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำนวน 2 พันธุ์ คือ เอียสกุล และขาว 5N พบว่า แสงเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้น และสูตรอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA เป็นปัจจัยร่วม ซึ่งจะมีผลต่อปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ที่เกิดขึ้น พันธุ์เอียสกุลจะตอบสนองต่อแสง LED สีขาว ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ส่วนพันธุ์ขาว 5N จะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในแสง LED สีขาว ร่วมกับสูตรอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. แต่ปริมาณสารสำคัญ Moscatilin จะพบได้มากเมื่อเลี้ยงในแสง LED สีน้ำเงิน ร่วมกับสูตรอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ดังนั้นการเลือกใช้หลอด LED สีขาวซึ่งหาซื้อได้ง่ายและมีราคาถูกในปัจจุบันจึงเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้วยทั้ง 2 พันธุ์ และเหมาะสำหรับการเพิ่มปริมาณสารสำคัญในกล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์เอียสกุล ส่วนพันธุ์ขาว 5N ควรเลือกใช้หลอด LED สีน้ำเงินเพื่อการกระตุ้นปริมาณสารสำคัญ

2. การทดสอบสาร PEG ร่วมกับ LED สีต่างๆ ในการกระตุ้นสารสำคัญ Moscatilin ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายพันธุ์เอียสกุล และพันธุ์ขาว 5N พบว่า สูตรอาหารที่มี PEG มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้และปริมาณสารสำคัญ Moscatilin ที่เกิดขึ้น จะเป็นปัจจัยรองในการเพิ่มปริมาณสารสำคัญในกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล ส่วนในพันธุ์ขาว 5N พบว่า ปัจจัยของสูตรอาหารและแสงไม่มีความแตกต่างทางสถิติต่อการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ Moscatilin โดยพบว่าในแสง LED สีน้ำเงิน ร่วมกับสูตรอาหารที่มี PEG 10% จะมีปริมาณสารสำคัญ Moscatilin สูงสุด การเลือกใช้สาร PEG ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้จึงควรเลือกใช้ความเข้มข้นให้เหมาะสมในแต่ละพันธุ์

3. จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร moscatilin ในส่วนต่างๆของกล้วยไม้นั้น โดยเฉพาะในส่วนของใบกล้วยไม้ ที่พบการสะสมของสาร moscatilin ในปริมาณที่สูงเทียบเคียงกับส่วนของลำต้น จะทำให้การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร moscatilin ด้วยชุดตรวจสอบที่จะพัฒนาขึ้น สามารถใช้ใบกล้วยไม้มาตรวจวิเคราะห์ได้โดยตรง ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในการตรวจวิเคราะห์สาร moscatilin ในแปลงปลูกได้

4. ได้คลั่งของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ขนาด  $1.2 \times 10^{24}$  รูปแบบ ซึ่งคลั่งดีเอ็นเอแอปตาเมอร์นี้ เป็นแหล่งของแอปตาเมอร์ ที่มีความหลากหลาย ดังนั้นเมื่อต้องการตรวจสอบสารสำคัญชนิดอื่นๆ ในอนาคต จึงสามารถนำคลั่งของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์นี้มาใช้ได้ทันที เป็นการสะดวกและประหยัดกว่าวิธีการผลิตแอนติบอดีแบบเดิม ๆ

5. คัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ ที่สามารถจับกับสารมาตรฐาน moscatilin ด้วยวิธี SELEX จำนวน 14 รอบ คัดเลือกโคลนเดี่ยวได้ 282 โคลนนี้ นำไปทดสอบความสามารถในการจับกับสารมาตรฐาน moscatilin ด้วยเทคนิค

ELAA พบดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ 7 โคลน สามารถจับกับสารมาตรฐาน moscatilin ได้ โดยมีค่า S/N ration อยู่ในช่วง 1.03-5.48 และคัดเลือกดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ จำนวน 4 โคลน ได้แก่ MosA6 MosH4 MosH8 และ MosE6 ทำ checker board titration ด้วยเทคนิค ELAA พบว่าดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ทุกโคลนที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมล. สามารถทำปฏิกิริยากับ moscatilin ได้โดยให้ค่า S/N ratio อยู่ในช่วง 0.96 – 1.50

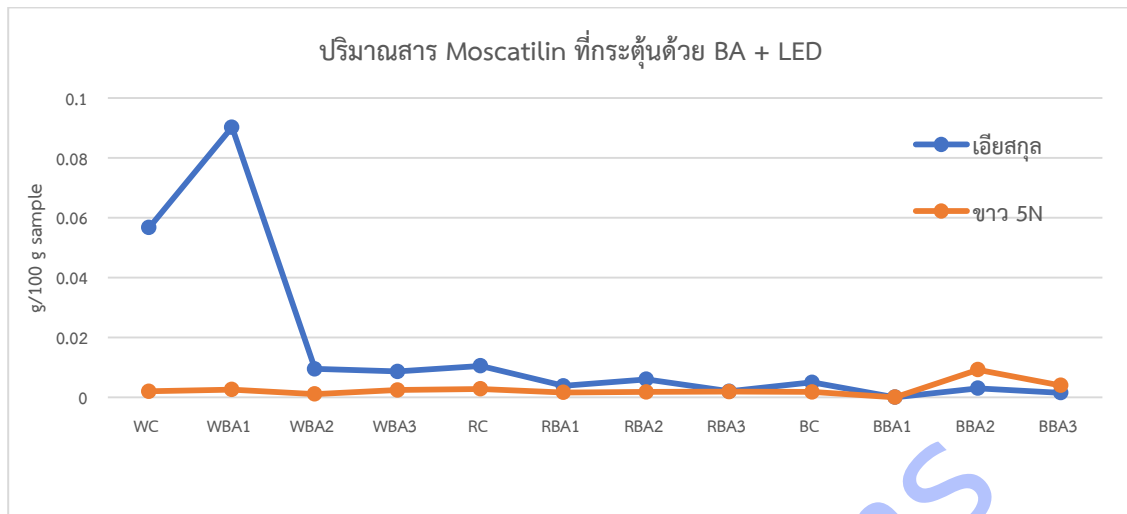
6. การตรวจสอบสาร moscatilin ด้วยเครื่องตรวจสอบปริมาณสารสำคัญทางการเกษตรภาคสนาม (Zensor Simulator AC Impedance รุ่น ACIP100) โดยใช้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ จำนวน 4 โคลน ได้แก่ MosA6 MosH4 MosH8 และ MosE6 ตรึงบนขั้วไฟฟ้า SPCE พบว่า มีเพียงดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ โคลน MosH4 และ MosH8 ที่สามารถจับกับสาร moscatilin ได้ อย่างไรก็ตาม ค่าสัญญาณ EIS จากการตรวจสอบสารค่อนข้างต่ำ อาจเกิดจากความเข้มข้นของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่ใช้ตรึงบนขั้วไฟฟ้า SPCE ต่ำ จึงไม่เพียงพอในการตรวจจับสาร moscatilin ซึ่งจะดำเนินการพัฒนาการตรวจสอบโดยการเพิ่มความเข้มข้นของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์และชนิดของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ เพื่อให้การตรวจสอบสาร moscatilin ในกล้วยไม้สกุลหวายมีประสิทธิภาพในอนาคตต่อไป

7. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีนจากกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายด้วยเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์ ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย 3 ชนิด ได้แก่ ขาว 5N ขาวสนาน และเอียสกุล มีการแสดงออกของยีนจำนวน 45,012 44,849 และ 29,209 ยีน ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์หาเครื่องหมายโมเลกุล พบตำแหน่งเครื่องหมายชนิด SNP จำนวน 518,051 ตำแหน่ง เครื่องหมายแบบ In/del จำนวน 49,159 ตำแหน่ง ซึ่งข้อมูลตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุลที่พบสามารถนำไปใช้เป็นฐานข้อมูลตำแหน่งเครื่องหมายเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ประเมินลักษณะทางพันธุกรรม ระบุ หรือจำแนกกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายได้ มหาวิทยาลัยนักวิชาการ นักวิจัย สามารถนำข้อมูลและองค์ความรู้ลำดับนิวคลีโอไทด์จากกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย 3 ชนิด ได้แก่ ขาว 5N ขาวสนาน และเอียสกุล ข้อมูลตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs และ SNPs ที่เฉพาะเจาะจงต่อชนิดของกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย เป็นฐานข้อมูลเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ประเมินลักษณะทางพันธุกรรม ระบุ หรือจำแนกกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย สามารถนำไปต่อยอดงานวิจัยกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวายเพื่อวิเคราะห์หาเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับลักษณะประจำพันธุ์ของกล้วยไม้สกุลหวาย หรือช่วยในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายต่อไป รวมถึงข้อมูลการแสดงออกของยีนแบบองค์รวมทั้งหมดที่ได้จากเทคโนโลยีทรานสคริปโตมิกส์สามารถนำไปคาดการณ์การใช้สารกระตุ้นให้กล้วยไม้สกุลหวายเพื่อสร้างสาร moscatilin ต่อไป

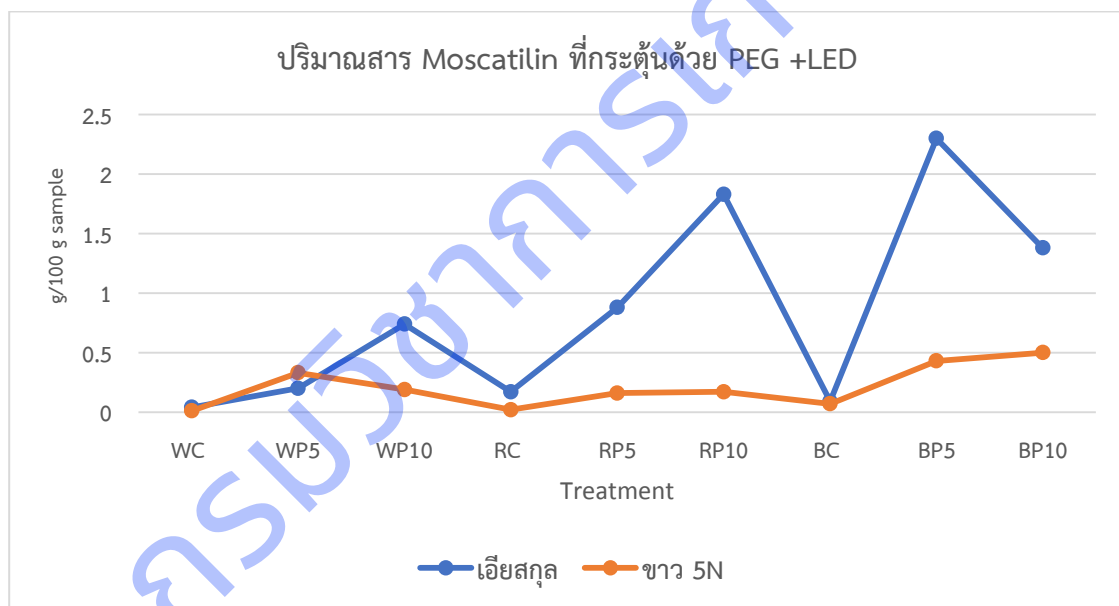
8. การทดสอบและประเมินความใช้ได้ของเครื่องหมายโมเลกุล ได้ออกแบบไพรเมอร์จากเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความจำเพาะต่อชนิดของกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย สามารถนำไปต่อยอดงานวิจัยในอนาคตได้ต่อไป

9. กล้วยไม้ลูกผสมขาว5N และเอียสกุล สามารถกระตุ้นให้เพิ่มสาร moscatilin ได้โดยใช้แสง LED สีขาว ร่วมกับสาร BA 1 มล./ล. ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นาน 4 เดือน เมื่อศึกษาองค์รวมของอาร์เอ็นเอทั้งหมด พบปริมาณแสดงออกของยีนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) สอดคล้องกับปริมาณสาร moscatilin ที่วิเคราะห์ได้ ซึ่งพบในกล้วยไม้ลูกผสมเอียสกุลมากกว่ากล้วยไม้ลูกผสมขาว5N

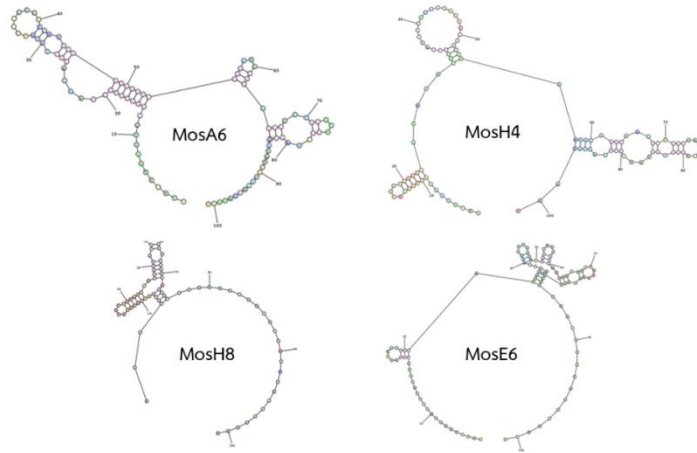
## ตารางและภาพ



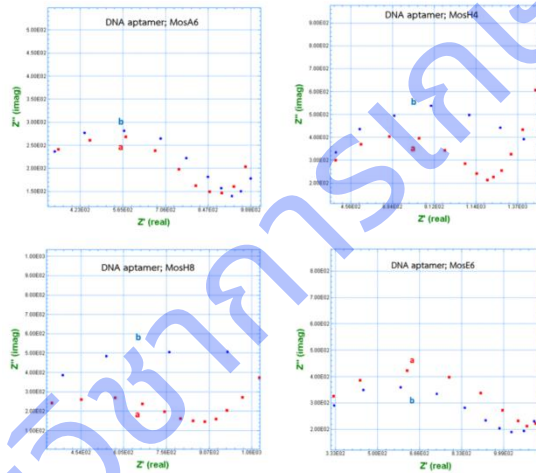
ภาพที่ 6.1 ปริมาณสารสำคัญ moscatilin ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ของกล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์เอียสกุล และชาว 5N ในการทดสอบสูตรอาหารที่มี BA 0, 1, 2 และ 3 มก./ล. ร่วมกับแสง LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน



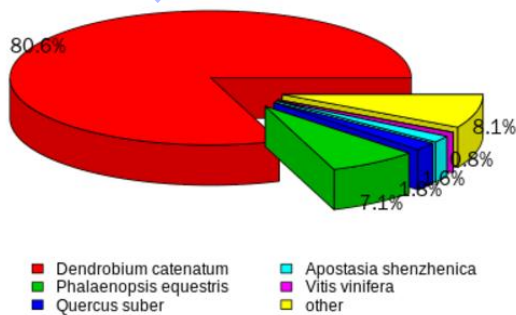
ภาพที่ 6.2 ปริมาณสารสำคัญ moscatilin ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ของกล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์เอียสกุล และชาว 5N ในการทดสอบสูตรอาหารที่มี PEG 0, 5% และ 10% ร่วมกับแสง LED สีขาว สีแดง และสีน้ำเงิน



ภาพที่ 6.3 โครงสร้างทุติยภูมิของดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ที่จับกับสาร moscatilin โคลน MosA6 MosH4 MosH8 และ MosE6 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม RNA structure Web server (<http://RNAstructureWeb/Servers/Predict1/>)

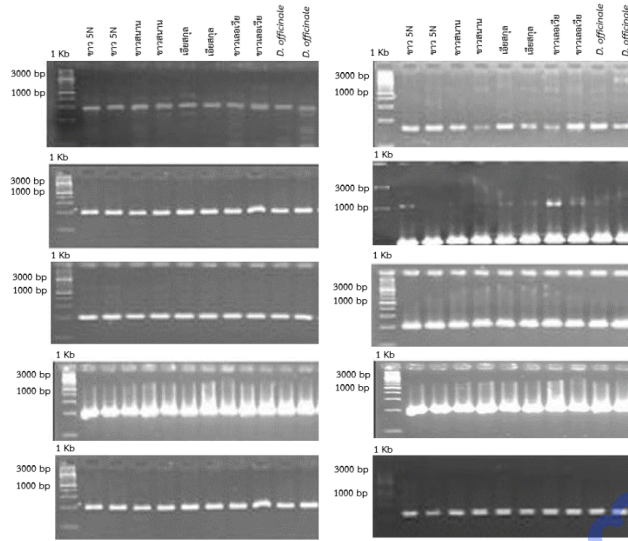


ภาพที่ 6.4 ค่าสเปตตรัมของอิมพีแดนซ์ทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Impedance Spectroscopy; EIS) ของการทำปฏิกิริยาระหว่างดีเอ็นเอแอปตาเมอร์ MosA6 MosH4 MosH8 และ MosE6 กับน้ำคั้นจากกล้วยไม้สกุลหวาย ขาว 5N (a) และน้ำคั้นจากกล้วยไม้สกุลหวาย เอียสกุล ซึ่งมีสาร moscatilin (b)

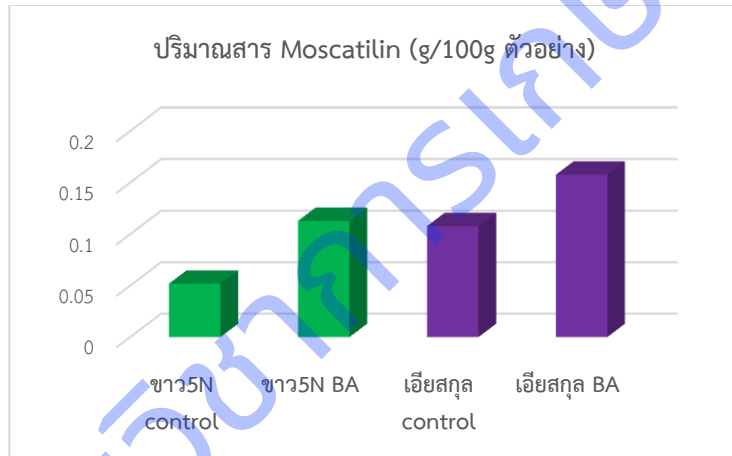


ภาพที่ 6.5 ชนิดของพืชที่พบความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับกล้วยไม้สกุลหวายจากฐานข้อมูล BLAST

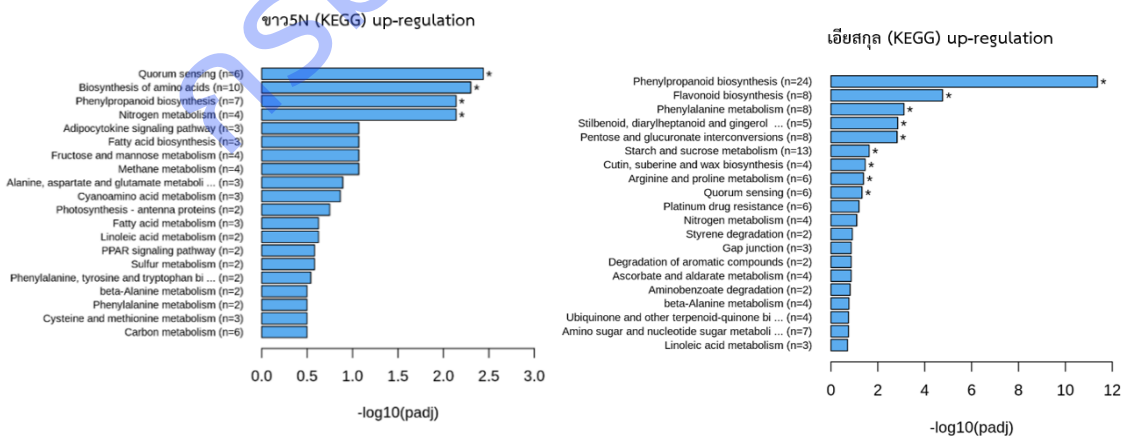




ภาพที่ 6.6 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรมอร์ คู่ที่ 2 5 8 12 13 14 18 25 27 และ 29 ตามลำดับ



ภาพที่ 6.7 ปริมาณสาร moscatilin ที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างกล้วยไม้ 5N และ 5N BA



ภาพที่ 6.8 การแสดงออกของยีนแบบ up-regulation ในกล้วยไม้ 5N และ 5N BA

## บทสรุปและข้อเสนอแนะ

แผนงานวิจัยย่อยกล้วยไม้ ดำเนินการวิจัยในกล้วยไม้ 8 สกุล ได้แก่ หวาย แวนด้า รองเท้านารี ลีนมังกร ชิมปีเดียม สปาโทกลอสติส สิงโตกลอกตา ม็อคคาร่า ระหว่างปี 2559-2564 ในด้านปรับปรุงพันธุ์พืชหรือเทคโนโลยีการผลิต โดยมีความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์แตกต่างกัน เกือบทั้งหมดอยู่ในขั้นตอนการสร้างลูกผสมหรือปลูกเลี้ยงลูกผสม เพื่อรอการประเมินคัดเลือกต่อไป รวมทั้งการศึกษาข้อมูลพื้นฐานด้านการปรับปรุงพันธุ์ โดยการถ่ายยีน antisense-ACO ให้กับกล้วยไม้หวายเอียสกุลและสกุลแวนด้า ประสบความสำเร็จเฉพาะกล้วยไม้หวายเอียสกุล มีแนวโน้มยืดอายุการบานของดอก ส่วนสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางสมุนไพรรองของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรและหวายตะมอย พบว่า มีชนิดสารและปริมาณแตกต่างกัน เมื่อนำมาปลูกเลี้ยง พบว่า มีการเจริญเติบโตและให้สารสำคัญลดลง

สกุลแวนด้า มีลูกผสมออกปลูก 51 คู่ผสม จำนวน 1,463 ต้น คัดเลือกเบื้องต้นไว้ 186 สายต้น สกุลรองเท้านารีคัดเลือก สายต้นดี/สายต้นที่ใช้เป็นพ่อแม่ในการสร้างลูกผสมได้จำนวน 37 สายต้น สกุลลีนมังกร และสกุลชิมปีเดียมสร้างลูกผสมภายในชนิดเดียวกัน ข้ามชนิด และข้ามสกุล จากพ่อแม่ที่มีลักษณะเด่นได้ลูกผสมอยู่ระหว่างการเพาะเลี้ยงเมล็ดและต้นกล้า บางคู่ผสมมีต้นออกปลูกและเริ่มให้ดอกแล้ว สกุลสปาโทกลอสติส ทดสอบพันธุ์และเป็นที่ยอมรับของเกษตรกรมากกว่า 2 สายต้น ซึ่งจะได้เสนอเป็นพันธุ์แนะนำต่อไป รวมทั้งมีการผสมและคัดเลือกใหม่

สกุลสิงโตกลอกตา การผสมข้ามชนิด มีความสำเร็จต่างกัน มีเฉพาะลูกผสมระหว่าง *Bulb. siamense* x *Bulb. orectopetalum* ที่สามารถออกปลูกและปรับตัวเจริญเติบโตได้ปานกลาง ส่วนการทดสอบพันธุ์กล้วยไม้ในสกุลม็อคคาร่า พบว่า ม็อคคาร่าหมู่ทอง เหมาะสำหรับปลูกเป็นค้าในเขตภาคเหนือตอนบน ส่วนข้อมูลพื้นฐานด้านการผสมพันธุ์กล้วยไม้ พบว่า เก็บรักษาเกสรรองเท้านารีอินทนนท์ลาวหลังดอกบาน 1-3 วัน ที่อุณหภูมิ -4 ถึง 0 °ซ. ได้นาน 6 เดือน และควรผสมพันธุ์ในช่วงเวลา 8-12 น. ส่วนในกล้วยไม้ลีนมังกร พบว่า เกสรมีความงอกสูงสุดหลังดอกบาน 2 วัน หลังการผสมเกสรควรปล่อยให้ติด 2 ฝักต่อช่อ

ด้านการขยายพันธุ์และการผลิตพืช พบว่า กล้วยไม้แต่ละพันธุ์/ชนิด ตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงฮอร์โมน และสารเคมีบางชนิด สำหรับการเพาะเมล็ด เพิ่มจำนวนหน่อ ชักนาราก กระตุ้นให้เกิดสารสำคัญแตกต่างกัน โดยกล้วยไม้หวายเหลืองจันทร์บูรและหวายตะมอย พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA 5 มก./ล. และ NAA 0.5 มก./ล. เหมาะสำหรับการเพิ่มจำนวนหน่อและรากตามลำดับ ส่วนสกุลลีนมังกรการเพาะเมล็ดใช้อาหารแข็งสูตร BRT หรือ ½ VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. การเพิ่มจำนวนหน่อใช้อาหารแข็งสูตร VW เติมน้ำสกัดมันฝรั่ง 100 ก./ล.

ขณะที่สกุลสิงโตกลอกตา อาหารสำเร็จรูป P723 (Orchid seed sowing medium) เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ด และอาหารสำเร็จรูป P668 เติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. ที่ระดับน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนชิมปีเดียมใช้อาหารสูตร BRT ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดและต้นอ่อน ด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้ชิ้นส่วนตาข้างของหน่ออ่อน เลี้ยงบนอาหาร VW เติมน้ำ Kinetin 0.5 หรือ 1.0 มล./ล. ร่วมกับ NAA 1.0 มล./ล.

สำหรับการกระตุ้นให้กล้วยไม้หวายพันธุ์ ขาว 5N สร้างสาร moscatilin ควรเลี้ยงในแสง LED สีน้ำเงิน โดยใช้อาหาร VW ที่เพิ่ม BA 2 มก./ล. หรือ PEG 10% ส่วนพันธุ์ เอียสกุล ควรเลี้ยงในแสง LED สีขาว โดยใช้อาหาร VW ที่เพิ่ม BA 1 มก./ล. หรือเลี้ยงในแสง LED สีน้ำเงิน โดยใช้อาหาร VW ที่เพิ่ม PEG 5% ในแสงสีน้ำเงิน

ส่วนการควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์สามารถใช้ PPM ในอาหารเพาะเลี้ยง และควรพอกฆ่าเชื้อฝักลีนมังกรด้วยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaClO<sub>2</sub>) ความเข้มข้น 10% และ 5% นานความเข้มข้นละ 10 นาที สกุลสิงโตกลอกตาพอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อน โดยลอกกาบใบออกและตัดใบยอดอ่อนให้สั้น แช่ในแอลกอฮอล์ 95 % นาน 5 นาที ล้างน้ำกลั่นและแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10% นาน 20 นาที

สำหรับวัสดุปลูกและการจัดการที่เหมาะสมมีความแตกต่างกันตามชนิดของกล้วยไม้ ลีนมังกรใช้วัสดุผสมพีทมอส : กรวดหยาบ อัตรา 2:1 และให้ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 1 ก./น้ำ 1 ลิตรทุกสัปดาห์ การเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ ให้เก็บเมื่อต้นแห้งสนิท ร่วมกับการฝังไว้ในที่ร่ม 2-8 วัน (แตกต่างกันตามขนาดหัว) จากนั้นบรรจุในถุงซิปลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 °ซ ได้นาน 8 เดือน สป่าโตกลอสทิส ใช้วัสดุกาบมะพร้าวสับ:ปุ๋ยคอก อัตรา 2 :1 ส่วน และให้ปุ๋ยเกล็ดสูตร 20 : 10 : 25 อัตรา 0.1 ก./น้ำ 1 ลิตร ปริมาณ 300 มล./กระถางทุกสัปดาห์ ส่วนสิ่งโตกรอกใช้ ถ่านปูลหน้าด้วยสแฟกนัมมอส

ด้านการพัฒนาเครื่องลดความชื้นและชุดตรวจสอบช็อกกล้วยไม้ที่ พบว่า เครื่องต้นลดความชื้นแบบโอโมงลมและชุดตรวจสอบช็อกกล้วยไม้ที่พัฒนาขึ้นทำงานเป็นที่พึงพอใจของบริษัทที่ร่วมทดสอบ สามารถลดความชื้นช็อกกล้วยไม้ได้ 800-1,600 ช่อ/ชม. โดยผ่านมาตรฐานมากถึง 94-96 % ด้วยค่าใช้จ่ายเพียง 0.23 บาท/ช่อ ทำให้ลดต้นทุนได้มากถึง 56 % การตรวจสอบสาร moscatilin ใช้ใบเป็นตัวอย่างในการตรวจสอบ และสามารถใช้ดีเอ็นเอแอปตาเมอร์โคลน MosH4 และ MosH8 ในพัฒนาต้นแบบชุดตรวจสอบอย่างง่าย (test kit) ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs และ SNPs ที่เฉพาะเจาะจงสามารถใช้ในการคัดเลือก ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และจำแนกพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย

การจัดการศัตรูกล้วยไม้หวาย พบว่า การเกิดฝนตก ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิ มีอิทธิพลต่อการระบาดของบั่วกล้วยไม้ และสร้างแบบจำลองการระบาดที่มีความแม่นยำ 72.34-82.97 เปอร์เซ็นต์ได้ 3 รูปแบบ ขณะที่การใช้สารผสมสำเร็จรูป thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. สารผสม imidacloprid 70% WG + chlorpyrifos 40 %EC อัตรา 5 ก.+40 มล./น้ำ 20 ล. และสารผสม imidacloprid 70% WG + cypermethrin 35% EC อัตรา 5 ก. +30 มล./น้ำ 20ล. มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ 80-98 75-90 และ 70-90 % ตามลำดับ มีต้นทุนการพ่นสาร 194.40 118.20 และ 114.00 บาท/ครั้ง/ไร่ ตามลำดับ โดยต้องพ่นติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้งทุก 5 วัน

ขณะที่การพ่นสารด้วยเครื่องพ่นหมอกใช้น้ำน้อยกว่าการพ่นด้วยเครื่องฉีดน้ำแรงดันสูง 10-20 เท่า แต่กำจัดบั่วกล้วยไม้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ด้านสภาพของน้ำที่ใช้ผสมสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พบว่า pH 4-9 ความเค็มที่ระดับ 0.2-3 ก./ล. การนำไฟฟ้าของเกลือในน้ำที่ระดับ 250-2,500  $\mu\text{mhos}/\text{cm}$ . และความกระด้างที่ระดับ 75-600 มก/ล. ไม่ส่งผลให้กำจัดบั่วแตกต่างกันและกระทบต่ออายุการใช้งานของหัวฉีด

การใช้สารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ spinetoram 12% SC อัตรา 10 มล. emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มล. หรือ fipronil 5% SC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ล. สามารถผสมกับ acetamiprid 20% SP อัตรา 5 ก. imidacloprid 10% SL อัตรา 8 ก. pyridaben 13.5% EC อัตรา 20 มล. amitraz 20% EC อัตรา 30 มล. carbendazim 50% SC อัตรา 30 มล. หรือ mancozeb 80% WP อัตรา 30 ก./ต่อน้ำ 20 ล. โดยยังคงประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกัน โดยสาร spinetoram มีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยไฟแตกต่างกันตามสถานที่ปลูก 23-100 % ส่วนรูปแบบการพ่นสารแบบหมุนเวียนที่เหมาะสม ได้แก่ การพ่นสาร spinetoram 12 % SC 1 ครั้ง ตามด้วย abamectin 1.8 % EC 3 ครั้ง และ fipronil 5% SC 2 ครั้ง ซึ่งมีต้นทุนการพ่นสาร 466 บาท/ไร่/ทอรอบวงชีวิตเพลี้ยไฟ 14 วัน ด้าน

**ข้อเสนอแนะ** งานวิจัยส่วนใหญ่อยู่ในระยะเริ่มต้นมีความก้าวหน้าและให้ผลผลิตสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของแผนงานย่อยๆตามที่กำหนดไว้ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการวิจัยอย่างต่อเนื่อง/นำไปสู่ขั้นตอนนำผลงานวิจัยไปขยายผลสู่ผู้ใช้งานต่อไป ซึ่งมีโครงการเพียงส่วนหนึ่งที่ได้ดำเนินการต่อเนื่องในปี 2565 จากปัญหาด้านงบประมาณทำให้สูญเสียโอกาสหรือเกิดความเสียหายต่อผลผลิตที่เกิดขึ้นจากการวิจัยในครั้งนี้ นอกจากนี้ควรมีแผนการพัฒนานักวิจัยในทุกระดับ เพื่อสืบทอดและต่อยอดงานวิจัยในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง (References)

### โครงการที่ 1 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้าระยะที่ 2

กรมศุลกากร. 2561. รายงานสถิติ. สืบค้นจาก:

[https://www.customs.go.th/statistic\\_report.php?ini\\_content=statistics\\_report&ini\\_menu=nmenu\\_eservice&left\\_menu=nmenu\\_eservice\\_007&lang=th&left\\_menu=nmenu\\_eservice\\_007](https://www.customs.go.th/statistic_report.php?ini_content=statistics_report&ini_menu=nmenu_eservice&left_menu=nmenu_eservice_007&lang=th&left_menu=nmenu_eservice_007) [มี.ค. 2565].

นายิกา สันทาร์นัย. 2558. การศึกษาสูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) ในหลอดทดลอง. การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ “สร้างสรรค์และพัฒนา เพื่อก้าวหน้าสู่ประชาคมอาเซียน” ครั้งที่ 2 18-19 มิถุนายน 2558 ณ วิทยาลัยนครราชสีมา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา : 155-162

นิรนาม. 2557. การให้น้ำกล้วยไม้. สืบค้นจาก: <http://www.orchidsiam.com/> [มี.ค.2565].

ปรัชพรรณ หนูจิ้น. 2550. ปัจจัยที่มีผลการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร. วิทยานิพนธ์ของการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร. สาขาวิชาพืชศาสตร์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปรัชพรรณ หนูจิ้น. 2550. ปัจจัยที่มีผลการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร. วิทยานิพนธ์ของการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร. สาขาวิชาพืชศาสตร์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมรวาย รวมชัยอภิกุล ปิยรัตน์ เขียนมีสุข ศรีสุดา ไททอง ศรีจรรย์ พิชิตสุวรรณชัย ประภัสสร สกุลหรั่ง. 2544. การศึกษาชีวประวัติ และรูปแบบการแพร่กระจายของบัวกล้วยไม้. รายงานวิจัยฉบับเต็ม ปี 2544. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

FAO. 1994. Water quality for agriculture (Online). Available.

<http://www.fao.org/docrep/003/t0234e/t0234e00.HTM> (February 14, 2014).

Jan. R, Sajjad Asaf, Muhammad Numan, Lubna and Kyung-Min Kim. 2021. Review Plant Secondary Metabolite Biosynthesis and Transcriptional Regulation in Response to Biotic and Abiotic Stress Conditions. *Agronomy*, 11, 968. 31 p. Available Source: <https://www.mdpi.com/2073-4395/11/5/968>. Dec 24, 2021.

Jones ML, Woodson, WR. 1997. Pollination-induced ethylene in carnation (role of stylar ethylene in corolla senescence). *Plant Physiol* 115:205-212

Kende, H. 1993. Ethylene Biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 44:1, 283-307

Kosugi, Y., Shibuya, K., Tsuruno, N., Iwazaki, Y., Mochizuki, A., Yoshioka, T., Hashiba, T. And Satoh, S. 2000. Expression of genes responsible for ethylene production and wilting are differently regulated in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) petals. *Plant Sci*. 158 139-145

Manninen, A., J. Kangas, A. Tuomainen and R. Tahvonen. 1996. Exposure to insecticides in the use of cold fog generators in greenhouses. *Toxicol. Environ. Chem*. 57 : 213-224.

- Matthews, G.A. 2000. Pesticide Application methods 3rd edition. Blackwell Science. 432 pp.
- Ministry of Public Health. 2011. Pesticide poisoning. Annual epidemiological surveillance report, Bangkok, Thailand.
- Olivet, J.J., L. Val and G. Usera. 2011. Distribution and effectiveness of pesticide application with a cold fogger on pepper plants cultured in a greenhouse. Crop prot. 30 : 977-985.
- Pasian, C. 2004. Spray Solution pH. The Ohio State University Extension, Ohio Floriculture. (Online). Available. [http://floriculture.osu.edu/archive/apr04/Spray\\_SolutionPH.html](http://floriculture.osu.edu/archive/apr04/Spray_SolutionPH.html). (March 5, 2013).
- Srijuntra, S., S. Sukonthabhirom na Pattalung, W. Chotwong, W. Wongnikong and W. Sudjaritthammajariyangkool. 2016. Evaluation of insecticide rotation patterns for controlling *Thrips palmi* Karny population in Dendrobium orchid farms in Thailand. p.221-228. In : Proceedings The 12<sup>th</sup> Asia Pacific Orchid Conference, 19<sup>th</sup>-27<sup>nd</sup> March 2016, Impact forum Exhibition and convention center, Muang thong thani, Bangkok, Thailand.
- Sugiyama, S. and Satoh, S. 2015. Pyridinedicarboxylic Acids Prolong the Vase Life of Cut Flowers of Spray-type 'Light Pink barbara' Carnation by Accelerating Flower Opening in Addition to an Already-known Action of Retarding Senescence. Hort. J. 84 (2): 172-177.

## โครงการที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า

- จิตราพรรณ พิสิทธิ์. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 82 หน้า.
- ฉัตรนภา ช่มอาวุธ สมคิด รัตนบุรี สุบัน ไม้ตัดจันทร์ ไพรินทร์ วงศ์กันทะ และสาคร ยังผ่อง. 2558. การปรับปรุงพันธุ์แวนด้าสามปอยเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์. ผลงานวิจัยโครงการสิ้นสุด ปี 2558. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ทัศนพร ทศกร ปียรรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และสุรภี กิรติยะอังกูร. 2553. กล้วยไม้. หน้า 3 - 44. ใน : โรคไม้ดอกไม้ประดับ. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการ เกษตร.
- วัชรชัย ทรัพย์ถิระ สุภาพ สุนทรนนท์ และสมนทิพย์ บุณนาค. 2556. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องสายล่องแล่ง (*Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fischer) ในสภาพปลอดเชื้อ วารสารวิจัย มช. 13 หน้า.
- นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ ดอกไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 90 หน้า.
- ประสาทร สมิตะมาน. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: เทคนิคและการประยุกต์ใช้. นพบุรีการพิมพ์, เชียงใหม่. 141 หน้า.
- วีระชัย ณ นคร. 2551. กล้วยไม้ไทย 2. สวนพฤกษศาสตร์พระนางเจ้าสิริกิติ์. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 324 หน้า.
- สลิล สิทธิสังจธรรม. 2552. กล้วยไม้ป่าเมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 7. บ้านและสวน, กรุงเทพฯ. 495 หน้า.
- สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. 2551. กล้วยไม้ไทย 1. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. ISBN 9789742863845.

- สุदारวรรณ มีเจริญ สุป็น ไม้ตัดจันทน์ และจวงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2558. การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลแวนดาสามปอยเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์. รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองสิ้นสุดปี 2558 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร กรมวิชาการเกษตร.
- สุป็น ไม้ตัดจันทน์. 2558. การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า. รายงานโครงการวิจัย กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 61 หน้า.
- สุมนทิพย์ บุณนาค. 2541. การเจริญเติบโตและฮอร์โมนพืช. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น. 354 หน้า.
- อบฉันท์ ไทยทอง. 2546. กล้วยไม้เมืองไทย. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ. 461 หน้า.
- Aida, R., T. Yoshida, K. Inchimura, R. Goto and M. Shibata. 1998. Extension of flower longevity in transgenic *Torenia* plant in cooperating ACC oxidase transgene. *Plant Science* 138:91-101.
- Glick, B.R. and J.J. Pasternak. 1998. *Molecular biotechnology: principle and application of Recombinant DNA*. 2nd ed. Washington: ASM Press.
- Mol, J.N.M., T.A. Holton and R.E. Kose. 1995. Floriculture: Genetic engineering of commercial Strains. *Tibtech Sep*; 13:31-39.
- Tokumura K. and M. Mii. 2001. Induction of embryogenesis callus and cell suspension culture from shoot tips excised from flower buds of *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *In Vitro Cell. Biol.-Plant* 37:457-461.
- Zacrias L., C. Withelaw, D. Grierson, J.A. Roberth. 1999. Physiological analysis of flower and leaf abscission in antisense ACC oxidase tomato plants. In *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene II* 1999.pp381-386
- โครงการที่ 3 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า ระยะที่ 2**
- กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2534. พืชป่าในบัญชีแนบท้าย หมายเลข 1 (กล้วยไม้) ตามอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่กำลังจะสูญพันธุ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด: กรุงเทพฯ. 27 หน้า.
- กระทรวงพาณิชย์. 2563. ‘กรมเจรจา’ หนุนกล้วยไม้ไทย ใช้โอกาสจาก FTA ขยายตลาดต่างประเทศ. สืบค้นได้จาก <https://dtn.go.th/th/news> (สืบค้นเมื่อ 27 กันยายน 2564).
- เกษนันท ศรีเกษม. 2538. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการงอกของเมล็ด และการพัฒนาโปรโตคอร์มของรองเท้านารีฟาหอย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 222 น.
- จิตราพรรณ พิสิท. 2536. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 82 น.
- ทัศนาวร ทศคร ปียรรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และสุรภี กิรติยะอังกูร. 2553. กล้วยไม้. หน้า 3 - 44. ใน : ไร่ม้าดอกไม้ประดับ. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 163หน้า.
- ธีรพล พรสวัสดิ์ชัย. 2535. ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและการพัฒนาโปรโตคอร์มเหลืองปราจีน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่. 160 หน้า.
- มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. มปป. การผสมพันธุ์กล้วยไม้. สาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. สืบค้นได้จาก <https://web.agri.cmu.ac.th/hort/course/359405/ferti.html> (สืบค้นเมื่อ 27 กันยายน 2564).
- ลาวัลย์ รักสัตย์. 2539. ละอองเกสร. โอเดียนสโตร์: กรุงเทพฯ. 145 หน้า.

- เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล. 2551. ร้อยพรรณพฤกษา กล้วยไม้รอนงเท้านารี. กรุงเทพฯ : เศรษฐศิลป์. 112 หน้า.
- ศิริพร วรกุลดำรงชัย และสุภาภรณ์ สาชาติ. 2549. ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้รอนงเท้านารี โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อการผลิตต้นพันธุ์. รายงานผลงานวิจัยที่สิ้นสุดปี 2550 ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี กรมวิชาการเกษตร จำนวน 15 หน้า. (เอกสารอัดสำเนา)
- สุป็น ไม้ดัดจันทร์ สุธามาต ณ น่าน สุภาภรณ์ สาชาติ และอานวย อรรถล้งรอง. 2558. การพัฒนาพันธุ์ลูกผสมรอนงเท้านารีในท้องถิ่นต่างๆ. ใน รายงานประจำปี 2558 (เรื่องเต็ม). ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. หน้า 187-199.
- สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. 2543. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 6 กล้วยไม้ไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ.เอส. พรินต์ติ้ง เฮ้าส์. 300 น.
- อภิรดี กอ์ปไปบูลย์, ชมพู จันท์ และศิริพร วรกุลดำรงชัย. 2552. การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์กล้วยไม้รอนงเท้านารีในเชิงพาณิชย์โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์. รายงานผลงานวิจัยที่สิ้นสุดปี 2551 ในเอกสารประกอบการประชุม แผนงานวิจัยไม้ดอกไม้ประดับ สถาบันวิจัยพืชสวน วันที่ 20-22 พฤษภาคม 2552 สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- อุไร จิรมงคลการ. 2553. กล้วยไม้รอนงเท้านารี ฉบับปรับปรุงข้อมูลใหม่. กรุงเทพฯ : บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. 224 หน้า.
- Cribb, P. 1998. The Genus *Paphiopedilum*. 2nd ed., National History Publishing, Borneo, Malaysia.
- Giovannini A, Macovei A, Caser M, Mansuino A, Ghione GG, Savona M, Carbonera D, Scariot V & Balestrazzi A (2017) Pollen grain preservation and fertility in valuable commercial rose cultivars. *Plants*, 6:01-08.
- Hong, P. I., J. T. Chen, and W. C. Chang. 2008. Plant regeneration via protocorm-like body formation and shoot multiplication from seed-derived callus of a *Maudia* type slipper orchid. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 755-759.
- Huang, L. C., C. J. Jin, C. I. Kuo, B. L. Huang, and T. Murashige. 2001. *Paphiopedilum* cloning in vitro. *Science Horticulturae* 91: 111-121.
- Lee, Y.-I. 2007. The asymbiotic seed germination of six *Paphiopedilum* species in relation to the time of seed collection and seed pretreatment. *Acta Hort.* 755, 381-386
- Sedgley, M. and J. Harbard. 1993. Pollen storage and breeding system in relation to controlled pollination of four species of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Aust. J. Bot.* 41: 601-609.
- Shijun, C. 1984. The study of keeping freshness of orchid pollinia. *Acta Hort Sin.* 11: 279-280.
- Shivanna, K.R. and Rangaswamy, N.S., 1992, *Pollen Biology: A Laboratory Manual*, Springer-Verlag, Berlin, 119 p.
- Shih-Chang, Y., Shih-Wen, C., Chen-Yu, L., & Chen, F. (2018). *Phalaenopsis* pollinia storage at sub-zero temperature and its pollen viability assessment. *Botanical Studies (Online)*, 59(1), 1-8.

#### โครงการที่ 4 วิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ

- ชฎาพร ทราชคำ เกวลิณ คุณาศักดากุล และ ญัฐา โพธารณณ์. 2563. ความสามารถในการผสมข้ามและการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้ดินบางชนิดในสกุล *Habenaria* และ *Pecteilis*. วารสารเกษตร 36(1): 47-58
- ชิดชนก ก่อเจตีย์. 2555. สันฐานวิทยาและความสามารถในการผสมข้ามของกล้วยไม้ดินสกุลฮาเบนาเรียและสกุลเพคเทิลิส บางชนิด. วิทยานิพนธ์ มหาบัณฑิต คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 99 น.
- วิมล พรหมทา สุขุม สุดโกทา และ กัญญา มิชะมา. 2560. การรวบรวมและขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลลิ้นมังกรในจังหวัดนครพนม. แหล่งข้อมูล : <https://dric.nrct.go.th/index.php?/Search/SearchDetail/292620>  
สืบค้นเมื่อ : 11 กุมภาพันธ์ 2565
- Abrol, D. P. 2011. *Pollination Biology: Biodiversity Conservation and Agricultural Production*. Springer, Dordrecht.
- Adthlungrong, A., S. Sachati, and M. Saruna. 2015. Hybridization between *Habenaria rhodocheila* and *H. xanthocheila* and Inheritance of Flower Color. The XXV International Eucarpia Symposium Section Ornamentals - Crossing Borders held June 28 - July 2, 2015 Melle, Belgium", *Acta Hort.* 1087. 351-356.
- Al-Khayri, J. M., S. M. Jain, D. V. Johnson. 2015. *Advances in Plant Breeding Strategies: Breeding, Biotechnology and Molecular Tools*. Springer, Cham.
- Anis, M. and N. Ahmad. 2018. *Plant Tissue Culture: Propagation, Conservation and Crop Improvement*. Springer Singapore.
- Beddows I, and Rose L. 2018. Factors determining hybridization rate in plants: A case study in Michigan. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, Vol 34, 51-60 pp.
- Benjamin E. G., F. Roda and R. Hopkins. 2017. Hybridization in Plants: Old Ideas, New Techniques. *Plant Physiology*, Vol. 173, 65–78 pp.
- Biogrnuix. 2015. Is contamination in your Plant Tissue Cultures still worrying you???. Retrieved February 2022, from <https://biogenuix.com/wp-content/uploads/2015/11/PPM.pdf>.
- Brown, J., P. Caligari, and H. Campos. 2014. *Plant Breeding*. John Wiley & Sons, West Sussex.
- Edwin, F. G., A. H. Michael and J. D. K. Geert. 2007. The Components of Plant Tissue Culture Media II: Organic Additions, Osmotic and pH Effects, and Support Systems. *In* : *Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background: Originally published by Exegetics, Basingstoke*. pp. 115-173.
- Frankel, R. and E. Galun. 1977. *Pollination Mechanisms, Reproduction and Plant Breeding*. Springer-Verlag Berlin/Heidelberg/New York.
- Greisen, K. S. 2002. *Commercial Propagation of Orchids in Tissue Culture: Seed-Flasking Methods*. Kay S. Greisen Specialties, Oakland.
- Hayward., M. D., N.O. Bosemark, and I. Romagosa. 1993. *Plant breeding: principles and prospects*. Springer Science+Business Media Dordrecht, London.
- Lee, Yung-I., and E. Chee-Tak. Yeung. 2018. *Orchid Propagation: From Laboratories to Greenhouses Methods and Protocols*. Humana Press, New York, NY.



- Orton, T. J. 2019. Horticultural Plant Breeding. Horticultural Plant Breeding. Academic Press, London.
- Seigerist, E.S. 2001. Bulbophyllums and Their Allies. Timber Press. Portland, Oregon.
- Sinumporn, P., T. Narumi-Kawasaki, and S. Fukai. 2020. Development of interspecific hybrids between *Habenaria radiata* and *Habenaria rhodocheila* complex. *Adv. Hort. Sci.*, 34(1): 3-10
- Yam, T.W., and J. Arditti. 2009. History of orchid propagation: A mirror of the history of biotechnology. *Plant Biotechnol. Rep.* 2009, 3, 1-56

#### **โครงการที่ 5 วิจัยและพัฒนาชุดเครื่องมือตรวจสอบกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกหลังการลดความชื้นด้วยเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลมเพื่อการส่งออก**

- พุทธอินทร์ จารุวัฒน์, ชูศักดิ์ ขวประดิษฐ์, คุรุวรรณ ภามาตย์, ยงยุทธ คงชาน, สากล วีรียนันท์และ วัชรวิทย์ วิทยวรรณกุล. 2553. การวิจัยและพัฒนาเครื่องลดความชื้นกล้วยไม้แบบอุโมงค์ลม. เอกสารเรื่องเต็มโครงการวิจัยประจำปี 2553 สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม กรมวิชาการเกษตร. 32 หน้า.
- มารศรี วงศ์อนันทรัพย์. 2558. กล้วยไม้ตัดดอก. แหล่งที่มา: [http://www.agriman.doae.go.th/home/news/year%202015/023\\_orchid.pdf](http://www.agriman.doae.go.th/home/news/year%202015/023_orchid.pdf). (สืบค้นเมื่อ 12 เมษายน 2560).
- สุภา สุขเกษม. 2547. เอกสารวิชาการกล้วยไม้. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 152 หน้า.

#### **โครงการที่ 6 การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญทางสมุนไพรในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย**

- พรชัย โรจน์สิทธิศักดิ์, บุญชู ศรีตุลารักษ์, วิชชุดา ธนกิจเจริญวัฒน์ และ บุญศรี องค์กรพัฒน์กุล. 2560. รายงานการวิจัย “การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลในกล้วยไม้สกุลเดนโดรเบียมยี่สิบชนิดโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง”. โครงการความร่วมมือด้านการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร ประจำปีงบประมาณ 2560. 23 หน้า.
- ปรานนุช เลิศหิรัญย์. 2561. สินค้ากล้วยไม้. กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม. [http://www.ditp.go.th/ditp\\_pdf.php?filename=contents\\_attach/244615/244615](http://www.ditp.go.th/ditp_pdf.php?filename=contents_attach/244615/244615).
- หทัยรัตน์ อุไรรงค์ ภาณี สว่างศรี ภูรินทร์ วณิชชานันท์ กัญฐุติ บุญมี และกฤตพร รำจวนเกียรติ. 2563. การเพิ่มประสิทธิภาพการสะสมสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน. ใน รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์ รหัสโครงการ CRP6105020620. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), กรุงเทพฯ. 79 หน้า
- Adisa, P., E. Karalija and J. Cakar. 2017. Growth, secondary metabolites production, antioxidative and antimicrobial activity of mint under the influence of plant growth regulators. *Acta Biologica Szegediensis*. 61(2): 189-195.
- Akula R., and G.A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* 6(11) : 1720-1731.
- Chen X., F. Wang, Y. Wang, X. Li, A. Wang, C. Wang and S. Guo. 2012. Discrimination of the rare medicinal plant *Dendrobium officinale* based on naringenin, bibenzyl, and polysaccharides. *Sci China Life Sci.* 55(12): 1092-1099.

- Govindaraju, S. and P. Indra Arulselvi. 2018. Effect of cytokinin combined elicitors (l-phenylalanine, salicylic acid and chitosan) on in vitro propagation, secondary metabolites and molecular characterization of medicinal herb – *Coleus aromaticus* Benth (L). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, Volume 17, Issue 4, Pages 435-444, <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.11.001>.
- Ishihara A, T. Nakao, Y. Mashimo, M. Murai, N. Ichimaru, C. Tanaka, H. Nakajima, K. Wakasa and H. Miyagawa. 2011. Probing the role of tryptophan-derived secondary metabolism in defense responses against *Bipolaris oryzae* infection in rice leaves by a suicide substrate of tryptophan decarboxylase. *Phytochemistry*. Jan;72(1):7-13. doi: 10.1016/j.phytochem.2010.11.001.
- Ishihara, A., F. Matsuda and H. Miyagawa. 2007. Metabolomics for metabolically manipulated plants: effects of tryptophan overproduction. *Metabolomics* 3, 319–334. <https://doi.org/10.1007/s11306-007-0072-4>
- Jia, Y., X. Li and Q. Liu. 2020. Physiological and transcriptomic analyses reveal the roles of secondary metabolism in the adaptive responses of *Stylosanthes* to manganese toxicity. *BMC Genomics* 21, 861. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07279-2>
- Kowitdamrong, A., P. Chanvorachote, B. Sritularak and V. Pongrakhananon. 2013. Moscatilin Inhibits Lung Cancer Cell Motility and Invasion via Suppression of Endogenous Reactive Oxygen Species. *BioMed Research International*. 765894.
- Mashra, R. K., A. Hayat, C. Gaëlle, C. Ocaña, and J. L. Marty. 2015. A label free aptasensor for Ochratoxin A detection in cocoa beans: An application to chocolate industries. *Analytica Chimica Acta*, 889: 106–112.
- Michaud, M., E. Jourdan, A. Villet, A. Ravel, C. Grosset and E. Peyrin. 2003. A DNA Aptamer as a New Target-Specific Chiral Selector for HPLC. *J. Am. Chem. Soc.* 125 (28): 8672–8679.
- Tsai A.C., S. L. Pan, C. H. Liao, J. H. Guh, S. W. Wang, H. L. Sun, Y. N. Liu, C. C. Chen, C. C. Shen, Y. L. Chang and C. M. Teng. 2010. Moscatilin, a bibenzyl derivative from the India orchid *Dendrobium loddigesii*, suppresses tumor angiogenesis and growth in vitro and in vivo. *Cancer Lett.* 292:163–170.
- Zandalinas S.I., S. Carlos, B. Joaquim, G. Aurelio and A. Vicent. 2017. Activation of Secondary Metabolism in Citrus Plants Is Associated to Sensitivity to Combined Drought and High Temperatures. *Frontiers in Plant Science*, Vol.7, Pages 1954, DOI=10.3389/fpls.2016.01954.
- Zhang M., T. Fang, G. Pu, X. Sun, X. Zhou and Q. Cai. 2013. Xenobiotic metabolism of plant secondary compounds in the English grain aphid, *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera: Aphididae). *Pestic Biochem Physiol*;107(1):44-9. doi: 10.1016/j.pestbp.2013.05.002. Epub 2013 May 17. PMID: 25149234.