

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

คำนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย โดยมีมูลค่าการส่งออกมากกว่า 2 พันล้านบาทต่อปี โดยกล้วยไม้ที่ปลูกเพื่อตัดดอกและจำหน่ายต้นเป็นไม้กระถางในปัจจุบันนี้ ส่วนมากขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด และเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากสามารถเพิ่มจำนวนได้ในปริมาณที่มากและภายในเวลาที่รวดเร็ว เมื่อเทียบกับวิธีการขยายพันธุ์วิธีอื่นๆ

ดังนั้นการจัดทำเอกสารเผยแพร่ทางสื่ออิเล็กทรอนิกส์นี้ จึงจัดทำขึ้นเพื่อให้ผู้ที่สนใจได้ทราบวิธีการและขั้นตอนในการเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในเบื้องต้น

สารบัญ

คำนำ

ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สารเคมี เครื่องมือ และอุปกรณ์

สูตรอาหารสังเคราะห์

การเตรียมอาหารสังเคราะห์

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ

อายุผักกล้วยไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ด

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การพอกฆ่าเชื้อ

การชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม

การชักนำให้โปรโตคอร์มเกิดเป็นต้น

การถ่ายขวดกล้วยไม้

สภาพที่เหมาะสมในการวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ความหมายของการเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ คือการนำฝักกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมเกสรของกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ ซึ่งภายในฝักกล้วยไม้มีเมล็ดกล้วยไม้จำนวนมาก เมื่อกกล้วยไม้ถือฝักอยู่บนต้นได้ช่วงระยะเวลาหนึ่งที่เหมาะสม เมล็ดกล้วยไม้ที่อยู่ภายในฝักจะพัฒนาเจริญเติบโตเป็นคัพภะ ซึ่งเมื่อนำมาเพาะในอาหารวิทยาศาสตร์ที่เหมาะสมจะสามารถออกเป็นโปรโตคอร์ม (protocorm) ซึ่งต่อมาจะพัฒนาเป็นต้นอ่อนหรือต้นกล้าขนาดเล็ก (seedling) ซึ่งต้นกล้านี้จะสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยไม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างต้นพ่อ และต้นแม่พันธุ์ของกล้วยไม้ฝักดังกล่าว

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อนี้ นิยมใช้สำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมที่ผสมพันธุ์ขึ้นมาใหม่ หรือเพื่อการคงความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้พันธุ์พื้นบ้าน หรือพันธุ์ป่า

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ คือ การนำชิ้นส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ เช่น หน่ออ่อน ช่อดอกอ่อน ใบ และราก เป็นต้น โดยนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อ และนำไปชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากในอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื่อนิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้ตัดดอก และกล้วยไม้กระถาง เพื่อเพิ่มจำนวนต้นในปริมาณมากและได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนต้นเดิม ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ อาจมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นได้ โดยเปอร์เซ็นต์ของการกลายพันธุ์จะมากหรือน้อยขึ้นกับ วิธีการในการชักนำให้เกิด protocorm-like body ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ และลักษณะประจำพันธุ์ของกล้วยไม้ชนิดนั้นๆ

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรเป็นห้องที่มีเครื่องปรับอากาศ และมีความสะอาด โดยแบ่งห้องต่างๆ ได้ดังนี้

1. ห้องเตรียมอาหาร อุปกรณ์ต่างๆ และพื้นที่สำหรับล้างขวด
2. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและถ่ายขวดต้นกล้วยไม้
3. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์

สารเคมี

1. เอทิลแอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
2. โซเดียมหรือแคลเซียมไฮเปอร์คลอไรด์
3. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์
4. กรดไนตริก
5. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
6. สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารสังเคราะห์

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง
2. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
3. หม้อน้ำความดันไอน้ำ ใช้ความดัน 15-20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
4. เต้าไฟฟ้า และเต้าแก๊ส
5. ขวดแก้วทนความร้อนขนาดต่าง ๆ
6. แ่งแก้ว
7. กระบอกตวง
8. ปีกเกอร์
9. ขวดลูกขมฟู่
10. หลอดหยด
11. กรวย
12. สำลีและจุกยางทนไฟ
13. มีดผ่าตัดและใบมีด
14. ตะเกียงแอลกอฮอล์
15. ปากคืบ
16. ช้อนถ่ายขวด
17. ตู้อ่างเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สูตรอาหารสังเคราะห์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ไม่สามารถใช้อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ได้หลายสูตร เช่น สูตร Vacin - Went สูตร Murashige and skoog สูตร Thomale และสูตร Knudson C เป็นต้น โดยสูตรอาหารดังกล่าวข้างต้นมีความเหมาะสมต่อชนิดของกล้วยไม้แตกต่างกันไป สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้โดยทั่วไปนิยมใช้สูตร Vacin - Went ซึ่งสามารถเตรียมได้สะดวก เนื่องจากมีจำนวนชนิดของสารเคมีไม่มาก เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลอื่น ๆ อีกหลายสกุล โดยอาหารสังเคราะห์มีส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ 1) เกลือแร่ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ เช่น โบแทสเซียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต และแมกนีเซียมซัลเฟต เป็นต้น 2) สารให้พลังงาน ได้แก่ น้ำตาลซูโครส และกลูโคส เป็นต้น 3) สารช่วยการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วย มันฝรั่ง สารควบคุมการเจริญเติบโต และวิตามิน เป็นต้น

1. การเตรียมอาหาร

1.1 สูตรอาหารที่ใช้เพาะเมล็ดกล้วยไม้

สูตรอาหารสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ที่เตรียมได้ง่ายและใช้ได้ผลดีคืออาหารดัดแปลง

สูตร Vacin - Went (VW)

อาหารสูตร Vacin - Went (Vacin, E. and Went, F. 1949) มีส่วนประกอบต่าง ๆ ดังนี้

1. Tricalcium phosphate	0.20	กรัม
2. Potassium nitrate	0.525	กรัม
3. Ammonium sulfate	0.50	กรัม
4. Monopotassium acid phosphate	0.25	กรัม
5. Magnesium sulfate	0.25	กรัม
6. Manganese sulfate	0.0075	กรัม
7. Ferric tartrate	0.028	กรัม
8. น้ำตาลทราย	20	กรัม
9. กล้วย	8	กรัม
10. น้ำกลั่น เต็มให้ครบ	1000	มิลลิลิตร
ปรับ pH ให้ได้	4.8 - 5.2	

1.2 การเตรียมสารละลายเข้มข้น

สารเคมีที่ละลายน้ำได้ (หมายเลข 2-7) ให้แบ่งเตรียมเป็น 3 ขวด โดยไม่ใส่สารเคมีที่ทำปฏิกิริยาปนในขวดเดียวกัน เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น สำหรับรินมาใช้ครั้งละ 10 มิลลิลิตรต่อลิตร

สารละลายขวด A (ละลายในน้ำกลั่นที่เติมให้ครบ 500 มิลลิลิตร)

Potassium nitrate	26.25	กรัม
Monopotassium acid phosphate	12.50	กรัม
Ammonium sulfate	25.00	กรัม

สารละลายขวด B (ละลายในน้ำกลั่นที่เติมให้ครบ 500 มิลลิลิตร)

Magnesium sulfate	12.50	กรัม
Manganese sulfate	0.375	กรัม

สารละลายขวด C (ละลายในน้ำกลั่นที่เติมให้ครบ 500 มิลลิลิตร)

Ferric tartrate	1.40	กรัม
(ใช้ Ferrous sulfate แทน)		

1.3 การดัดแปลงสูตรอาหาร

สูตรอาหารเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใน 1 ลิตร

เพิ่มน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร และเติมกล้วยหอมบด 50 กรัม แทนที่น้ำ

สูตรอาหารถ่ายขวด ใน 1 ลิตร เพิ่ม 1-3 แทนที่น้ำ

1. น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร
2. กล้วยหอมบด 100 กรัม
3. มันฝรั่งบด 50 กรัม หรือน้ำสกัดมันฝรั่ง (มันฝรั่ง 100 กรัม ต้มแล้วกรองเอาแต่น้ำมาใช้)

การเตรียมอาหารสังเคราะห์

วิธีการเตรียมส่วนผสมอาหารเพาะเมล็ด 1 ลิตร

1. รินน้ำกลั่นใส่หม้อเคลือบ 600 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร
3. รินสารละลายเข้มข้น A, B และ C ขวดละ 10 มิลลิลิตร
4. ละลาย Tricalcium phosphate ในกรด HCL หรือ HNO₃ จนละลายหมด แล้วรินใส่หม้อ
5. เติมกล้วยหอมบด 50 กรัม

6. เติมน้ำตาลทราย 20 กรัม แล้วคนให้ละลาย
7. เติมน้ำให้ครบ 1000 มิลลิลิตร
8. วัดค่า pH ให้ได้ 5.0 โดยใช้สีเทียบจาก BromCresal Green ผสมกับ Methyl Red

โดย	pH	5	จะได้สีเทา	
	pH	ต่ำกว่า	5	จะได้สีแดง
	pH	สูงกว่า	5	จะได้สีน้ำเงิน
- ถ้า pH สูงกว่า 5 หยดกรด HNO₃ หรือ HCL ลงไปค่อย ๆ ปรับให้ได้เท่ากับ 5
- ถ้า pH ต่ำกว่า 5 ให้ปรับด้วย NaOH หรือ KOH
9. เติมน้ำมัน 8 กรัม คนให้เข้ากัน
10. เติมน้ำมัน ยกตั้งไฟ คนตลอดระวังอย่าให้ร้อนไหม้ติดกันหม้อ คนจนเดือดและอุ่น

ละลายหมด

วิธีการเตรียมส่วนผสมอาหารถ่ายขวด 1 ลิตร

1. รินน้ำกลั่นใส่หม้อเคลือบ 500 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร
3. รินสารละลายเข้มข้น A, B และ C ขวดละ 10 มิลลิลิตร
4. ละลาย Tricalcium phosphate ในกรด HCL หรือ HNO₃ จนละลายหมด แล้ว

รินใส่หม้อ

5. เติมหอยหอบ 100 กรัม และน้ำต้มมันฝรั่ง 100 กรัมต่อลิตร
6. เติมน้ำตาลทราย 20 กรัม แล้วคนให้ละลาย
7. เติมน้ำให้ครบ 1000 มิลลิลิตร
8. ปรับค่า pH ให้ได้ 5.0
9. ใส่ไขมัน 8 กรัม คนให้เข้ากัน
10. เติมน้ำมัน ยกตั้งไฟคนตลอดจนอาหารเดือดและอุ่นละลาย

การบรรจุขวดและการนึ่งฆ่าเชื้อ

ส่วนผสมอาหารที่เตรียมไว้ นำมากรอกใส่ขวด ขณะที่ยังเหลวโดยใช้กรวยกรอก ระวังอย่าให้อาหารเลอะปากขวด เพราะจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญลงไปในขวดอาหารได้ง่าย ปิดปากขวดด้วยฝาพลาสติกหรือจุกสำลีหุ้มกระดาษ และรัดด้วยหนังยาง

นำขวดอาหารเหล่านี้ พร้อมด้วยอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเมล็ดและถ่ายขวด ได้แก่ จุกยางเจาะรูด้วยสำลี ขวดใส่น้ำสำหรับเพาะเมล็ด หลอดหยด ปากคีบ มีด ฝาตัด ช้อนถ่ายขวด ลงนึ่งพร้อมกันในหม้อนึ่งความดัน ใช้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นึ่งนาน 30 นาที เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ

- การเพาะเมล็ดอ่อนหรือเมล็ดแก่จากฝักที่ยังไม่แตก

นำฝักกล้วยไม้ที่มีอายุประมาณ 2 ใน 3 ของอายุฝักแก่ มาทำความสะอาดโดยตัดส่วนของกลีบดอกแห้งและปลายเส้าเกสรที่ติดอยู่ออก ด้วยความระมัดระวังอย่าให้เกิดแผลเป็นช่องเปิดถึงภายในฝักกล้วยไม้ หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน แล้วนำมาเช็ดให้แห้ง ซีดฟันทันด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เพื่อทำความสะอาดอีกครั้งก่อนนำเข้าตู้ปลอดเชื้อ เพื่อฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวฝัก

- การฆ่าเชื้อที่ผิวฝัก ทำได้ 2 วิธี คือ

1) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยความร้อน โดยนำฝักกล้วยไม้จุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ รอจนไฟดับจึงนำฝักกล้วยไม้มาผ่าเพื่อนำเมล็ดมาเพาะในอาหารสูตรเพาะเมล็ด

2) การฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ โดยนำฝักกล้วยไม้มาแช่ในน้ำยาคลอโรกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 10-20 นาที แล้วล้างฝักด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง เมื่อเสร็จขั้นตอนดังกล่าวจึงนำฝักกล้วยไม้มาผ่าเพื่อนำเมล็ดมาเพาะในอาหารสูตรเพาะเมล็ด

- การผ่าฝักและการเพาะเมล็ด

เมื่อฟอกฆ่าเชื้อฝักกล้วยไม้เรียบร้อยแล้ว นำฝักกล้วยไม้มาผ่าเพื่อนำเมล็ดมาเพาะในอาหารสูตรเพาะเมล็ด ซึ่งการผ่าฝักสามารถทำได้ 2 วิธี คือผ่าฝักตามแนวขวาง หรือตามแนวยาวของฝัก ส่วนการเขี่ยเมล็ดออกใส่ในอาหารอาจใช้ปากคีบ คีบเมล็ดใส่ในอาหารโดยตรง หรือคีบเมล็ดใส่ในน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งจะช่วยให้เมล็ดสามารถกระจายตัวได้ดีขึ้น

- การเพาะเมล็ดแก่ที่ผนังฝักแตก

- นำเมล็ดกล้วยไม้มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีอัตราส่วนของน้ำกลั่นที่ผ่านการหนึ่งฆ่าเชื้อแล้วกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังนี้ น้ำ : ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อัตราส่วน 1:1 หรือ 2:1 เมื่อนำเมล็ดมาใส่ในสารละลายดังกล่าวแล้วให้เขย่าขวดเป็นเวลา 10 -15 นาที หลังจากนั้นใช้หลอดหยดดูดเมล็ดกล้วยไม้ใส่ลงในอาหารสูตรเพาะเมล็ด

อายุฝักกล้วยไม้ที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ด (จิตราพรพรรณ, 2550)

ชนิดกล้วยไม้	อายุฝักอ่อน (วัน)	อายุฝักแก่ (วัน)
Aerides	180-200	240-300
Ascocenda	150-180	180-210
Ascocentrum	180-210	240-270

Cattleya	280-360	360-380
Dendrobium	210-240	360-390
Den. hybrid	90-100	110-120
Doritis	90-120	150-180
Doritaenopsis	90-120	150-180
Oncidium	110-140	130-180
Onc. แคระ	45-60	60-70
Paphiopedilum	90-120	120-210
Paph. ไบเซีย	120-180	180-240
Phalaenopsis	90-120	120-180
Vanda hybrid	120-150	180-210
Vanda	210-240	330-360



ฝักกล้วยไม้ที่นำมาตัดส่วนของเส้าเกสรและกลีบ
ดอกแห้งออก เพื่อเตรียมนำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวฝัก



ฝักเอื้องผึ้ง



ฝักเอื้องผึ้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวฝักเรียบร้อยแล้ว
แล้ว นำมาผ่าฝักเพื่อนำเมล็ดมาเพาะในอาหาร



การงอกของเมล็ดกล้วยไม้เป็น protocorm สีเขียว
ขนาดเล็ดจำนวนมาก จากการเพาะโดยการหว่าน
เมล็ดลงบนอาหาร โดยตรง



การงอกของเมล็ดกล้วยไม้เป็น protocorm สีเขียว ขนาดเล็กจำนวนมาก จากการเพาะโดยละลายเมล็ดลงในน้ำที่นิ่งฆ่าเชื้อ และนำมาพ่นลงในขวดอาหาร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวาย เรานิยมใช้หน่ออ่อนของกล้วยไม้มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว แล้วตัดชิ้นส่วนของกล้วยไม้มาเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อชักนำให้เกิด PLBs เมื่อได้ PLBs จำนวนมากตามที่ต้องการแล้ว นำ PLBs เหล่านี้ไปชักนำให้เกิดเป็นต้นในอาหารสูตรถ่ายขวด

การฟอกฆ่าเชื้อ

การฟอกฆ่าเชื้อหน่ออ่อนสามารถทำได้โดย นำหน่อกล้วยไม้มาทำความสะอาดล้างชิ้นตอนต่อไป

- 1) นำหน่ออ่อนที่ได้มาตัดชิ้นส่วนของรากที่โคนหน่อออกให้สะอาด
- 2) ล้างหน่ออ่อนด้วยน้ำยาที่โพล
- 3) เช็ดหน่อกล้วยไม้ให้แห้ง แล้วฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70 %
- 4) นำหน่ออ่อนมาฟอกฆ่าเชื้อ ครั้งที่ 1 ด้วยน้ำยาคลอริกซ์ ความเข้มข้น 10 % โดยเขย่าขวดสารละลายที่มีหน่อกล้วยไม้อยู่ เป็นเวลา 10-15 นาที
- 5) นำหน่อกล้วยไม้ดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยน้ำยาคลอริกซ์ ความเข้มข้น 5 % โดยเขย่าขวดสารละลายที่มีหน่อกล้วยไม้อยู่ เป็นเวลา 5 นาที
- 6) นำหน่อกล้วยไม้ดังกล่าวมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง
- 7) นำหน่อกล้วยไม้มาตัดชิ้นส่วนของตา แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อชักนำให้เกิด PLBs

หมายเหตุ การทำงานในขั้นตอนที่ 4-7 ต้องทำในสภาพปลอดเชื้อ



หน่ออ่อนของกล้วยไม้



หน่ออ่อนของกล้วยไม้ที่นำมาลอกกาบใบออก



การตัดชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้โดยตัดเป็นรูปสามเหลี่ยมปิรามิด



ชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้ที่จะนำไปเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อชักนำให้เกิด PLBs



ตาข้างของกล้วยไม้ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ



การเกิด PLBs จากตาข้างของกล้วยไม้สกุลหวาย



การเพิ่มจำนวน PLBs ในอาหารเหลว

การชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลบอร์ดี (protocorm-like bodies, PLBs)

การชักนำให้เกิด PLBs สามารถทำได้โดยนำตาหรือชิ้นส่วนอื่นของกล้วยไม้ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2-6 เดือน โดยเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิด PLBs ซึ่ง PLBs นี้สามารถเพิ่มจำนวนทวีคูณได้

เป็นจำนวนมาก ซึ่งโดยทั่วไปสำหรับกล้วยไม้สกุลหวายเรานิยมผลิตต้นประมาณ 10,000 ต้น ต่อ
ตา 1 ตา

การชักนำให้ PLBs เกิดเป็นต้น

นำ PLBs มาเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรถ่ายขวด เพื่อให้ PLBs พัฒนาเกิดเป็นต้นขนาดเล็ก
การถ่ายขวดกล้วยไม้

เมื่อได้ต้นกล้วยไม้ขนาดเล็กจำนวนมากเพียงพอต่อความต้องการแล้ว ให้ถ่ายขวด
กล้วยไม้ โดยแยกต้นตามขนาดของต้น ต้นที่มีขนาดเดียวกันให้ปักดำลงในอาหารขวดเดียวกัน ทำ
การปักดำต้นกล้วยไม้ในอาหารสูตรถ่ายขวด โดยเว้นระยะห่างระหว่างต้นให้เหมาะสม ขวดที่นิยม
ใช้คือขวดรูปทรงสี่เหลี่ยม (ขวดเหล้าวิสกี้) ดังภาพด้านล่าง ซึ่งเราจะปักดำต้นกล้าจำนวน 40-45
ต้นต่อขวด แล้วนำขวดดังกล่าวไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ต้นเจริญเติบโตมีใบและราก
สมบูรณ์จนต้นเริ่มช่นขวดด้านบน จึงนำต้นกล้วยไม้ดังกล่าวออกปลูกเลี้ยงในโรงเรือนกันฝน

สภาพที่เหมาะสมในการวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เมื่อถ่ายขวดกล้วยไม้เรียบร้อยแล้ว นำขวดดังกล่าวมาวางในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นห้อง
ปรับอากาศที่มีอุณหภูมิประมาณ 22-25 องศาเซลเซียส บนชั้นวางขวดกล้วยไม้ ซึ่งมีหลอดไฟติด
อยู่ด้านบน เพื่อให้แสงสว่างกับกล้วยไม้ ทำให้กล้วยไม้สามารถสังเคราะห์แสงและเจริญเติบโตได้ดี
โดยใช้หลอดนีออน day light 38 watt 2 หลอด ติดห่างกัน 1 ฟุต และวางห่างจากขวดเนื้อเยื่อ 1
ฟุต ให้แสงนาน 8-12 ชั่วโมงต่อวัน (จิตราพรรณ, 2550)



เครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 120 รอบต่อนาที



ชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ต้นกล้าวัยไม้นขนาดเล็กที่ปักดำในร้านอาหาร เพื่อให้ต้นเจริญเติบโตมีใบและรากที่สมบูรณ์ พร้อมทั้งจะย้ายปลูกในโรงเรือน

สรุป

การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นวิธีการที่ใช้ในการผลิตต้นลูกผสมพันธุ์ใหม่ ๆ ที่ได้จากการผสมและปรับปรุงพันธุ์โดยเกษตรกรและผู้สนใจ และใช้ในการขยายพันธุ์ต้นกล้วยไม้ที่มีลักษณะดีที่มีคุณค่าทั้งทางเศรษฐกิจและทางการศึกษา ก่อให้เกิดอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้ตัดดอก และกล้วยไม้กระถาง นำรายได้เข้าสู่ประเทศ ซึ่งเทคนิคการเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ สามารถเรียนรู้และฝึกฝนให้เกิดความชำนาญจนสามารถนำไปประกอบเป็นอาชีพได้

7. เอกสารอ้างอิง

จิตราพรรณ พิ्लीก 2550. การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. เอกสารประกอบการฝึกอบรมประชาชนหลักสูตรการเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ ณ สวนกล้วยไม้ระพี สาคริก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.