ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Culture Media and Plant Growth Regulators on *In Vitro* Growth of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl

นุชจรี สิงห์พันธ์[1*] และแพรวพรรณ จันเงิน[1]
Nootjaree Singphan[1*] and Praewpan Jannguan[1]

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการขยายพันธุ์และเพิ่มจำนวนในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้ การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตร ได้แก่ 1) MS 2) ½MS 3) VW 4) ½VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 75 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับกล้วยหอมสุก 25 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร และ 5) VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร การทดลองที่ 2 ผลของชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนินที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าว และการทดลองที่ 3 ผลของความเข้มข้นของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จากการทดลองพบว่า ต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งทั้ง 5 สูตร ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงต้น ทั้งนี้ต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 46.67 เปอร์เซ็นต์ และ 2.40 ราก ตามลำดับ และการเพาะเลี้ยงเอื้องช้างน้าวบนอาหารแข็ง VW ร่วมกับการเติม kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 14.07 ราก อย่างไรก็ตามสำหรับการเติม NAA มีผลต่อการเกิดรากไม่แตกต่างกัน

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เอื้องช้างน้าว สภาพปลอดเชื้อ

Abstract

The effects of culture media and plant growth regulators on *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl were studied with micropropagation and culturing for 84 days. There were three experiments in this study as follows; 1) To study the effects of 5 culture media (1: MS, 2: ½MS, 3: VW, 4: ½VW + 75 mg/L coconut water + 25 g/L banana + 25 g/L potato, and 5: VW + 150 mg/L coconut water + 50 g/L banana + 50 g/L potato) on *in vitro* growth, 2) To study the effects of different types and concentration of cytokinins on *in vitro* growth and 3) To study the effects of different concentrations of auxin on *in vitro* growth. The experimental design was Completely Randomized Design (CRD). The results showed that seedlings of *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl that were cultured on five culture media showed no significant differences in the percentages of shoot formation, number of shoots, number of leaves, and height. VW medium supplemented with 150 mg/L coconut water, 50 g/L banana and 50 g/L potato gave the highest percentage of root formation and number of roots (46.67% and 2.40 roots, respectively). VW medium supplemented with 0.5 mg/L kinetin had the highest number of roots (14.07 roots). The study of NAA on the root induction of *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl showed that NAA had no significant effect.

Keywords: plant tissue culture, *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl, *in vitro*

[1] สาขาวิชาเอกพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ. เมือง จ. เพชรบูรณ์ 67000
[1] Department of Plant Science, Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology, Phetchabun Rajabhat University, Muang, Phetchabun 67000
*Corresponding author, Email: nootjareetudses@gmail.com

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

เอื้องช้างน้าว (*Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl) มีชื่อเรียกท้องถิ่น ได้แก่ เอื้องคำตาควาย เอื้องตาควาย สบควาย และสบเป็ด จัดอยู่ในกลุ่มกล้วยไม้สกุลหวาย (Dendrobium) เป็นกล้วยไม้เขตร้อนประเภทอิงอาศัย (epiphytic orchid) พบในแถบอินเดีย เนปาล และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับประเทศไทยพบกระจายทั่วประเทศ ตามป่าผลัดใบ หรือป่าดิบแล้ง ที่ระดับความสูงจากน้ำทะเล 200-1,500 เมตร (วีระชัย ณ นคร และสุรางค์รัชต์ อินทะมุสิก, 2543) ลำต้นมีลักษณะลำตรงหรือโค้งเล็กน้อย ต้นแข็ง ปลายเรียว ขึ้นเป็นกลุ่มไม่มีทิศทางแน่นอน ยาวประมาณ 1 เมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้น 1-1.5 เซนติเมตร ใบมีรูปขอบขนานแกมรูปใบหอก แผ่นใบค่อนข้างหนาและเหนียว สีเขียวอมน้ำตาลหรืออมม่วงแดง เรียงตัวเกือบตลอดต้น มีดอกสวยงามทั้งกลีบเลี้ยงและกลีบดอก ผิวกลีบด้านในค่อนข้างมันวาว ก้านสีครีมขอบกลีบสีชมพู กลีบปากมีแต้มสีแดงแกมเลือดหมูที่โคนด้านในทั้งสองข้าง กลีบปากมีขนนุ่ม ดอกบานเต็มที่กว้างประมาณ 7 เซนติเมตร ช่อดอกเกิดใกล้ปลายต้นเป็นพวงห้อยลง ดอกในช่อมี 5-10 ดอก ดอกยาว 5-6 เซนติเมตร ดอกบานทนประมาณ 5 วัน ออกดอกช่วงเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน (อบฉันท์ ไทยทอง, 2552)

ผลจากการร่วงหล่นจากต้นไม้ในฤดูแล้งหรือการเก็บกล้วยไม้ป่าเพื่อการค้าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้จำนวนประชากรกล้วยไม้ลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วจนมีความเสี่ยงที่จะสูญพันธุ์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดกล้วยไม้ที่มีการกระจายพันธุ์น้อย มีประชากรขนาดเล็ก และอยู่เจาะจงเฉพาะพื้นที่นั้นจะมีโอกาสสูญพันธุ์ได้มาก อีกทั้งเมล็ดกล้วยไม้ตามธรรมชาติมีอัตราการงอกต่ำ เนื่องจากอาหารสะสมในเมล็ดมีน้อยมาก ไม่เพียงพอต่อการงอก หรือได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป นอกจากนี้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า (Gupta, 2016) ดังนั้นการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อจึงเป็นแนวทางในการฟื้นฟูความหลากหลายและประชากรของกล้วยไม้แล้วนำไปคืนสู่ถิ่นอาศัยเดิม ซึ่งเป็นวิธีสำคัญวิธีหนึ่งในการเพิ่มจำนวนประชากรกล้วยไม้ในพื้นที่ สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้แต่ละชนิดสามารถเจริญได้แตกต่างกันในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ ซึ่งมีส่วนประกอบของอาหารที่แตกต่างกันตามความเหมาะสม (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2537) วุฒิชัย ฤทธิ และคณะ (2560) ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก (*Pholidota imbricata* Lindl) ในหลอดทดลอง พบว่าต้นอ่อนเอื้องกาบดอกเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร macronutrient และ micronutrient ต่ำ เช่น อาหารแข็งสูตร ½VW ทั้งนี้การเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องกาบดอกจะเจริญเติบโตดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร ½VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนิน (kinetin และ TDZ) และออกซิน (IAA และ IBA) ความเข้มข้นต่ำ ในขณะที่การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินและออกซินความเข้มข้นสูงส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในสกุล *Dendrobium* นั้น ธวัชชัย ทรัพย์ถิระ และคณะ (2556) ได้ศึกษาอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องสายล่องแล่ง (*Dendrobium aphyllum* Roxb.) ในสภาพปลอดเชื้อนั้นส่งผลต่อการชักนำการเกิดยอด ความสูงต้น และความยาวรากได้

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้ได้ปริมาณมาก และนำคืนกลับสู่ธรรมชาติต่อไป

วิธีการศึกษา

ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 240 วัน มีความสูง 1 เซนติเมตร มีใบจริง 2 ใบ เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่แตกต่างกัน จำนวน 5 สูตร ดังนี้ สูตรที่ 1: MS (Murashige and Skoog, 1962) เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร สูตรที่ 2: ½MS เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร อาหารสูตรที่ 1-2 ปรับ pH เท่ากับ 5.7 สูตรที่ 3: VW (Vacin and Went, 1949) สูตรที่ 4: ½VW เติมน้ำมะพร้าว 75 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 25 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 25 กรัมต่อลิตร สูตรที่ 5: VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร อาหารแข็งสูตรที่ 3-5 เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.2 อาหารทุกสูตรเติมผงถ่าน (activated charcoal) 1 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 10 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ วางแผนการทดลองการสุ่มแบบสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 5 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 240 วัน มีความสูง 1 เซนติเมตร มีใบจริง 2 ใบ เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.2 ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (6-benzyladenine) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0 (control), 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ วางแผนการทดลองการสุ่มแบบสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) รวมการทดลองทั้งสิ้น จำนวน 9 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น เปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนราก

ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 240 วัน มีความสูง 1 เซนติเมตร มีใบจริง 2 ใบ เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0 (control), 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ วางแผนการทดลองการสุ่มแบบสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 5 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนราก

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของสูตรอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งมีองค์ประกอบของธาตุอาหารแตกต่างกัน จำนวน 5 สูตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน พบว่า อาหารแข็งทั้ง 5 สูตรให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่อาหารสูตรที่ 4 และสูตรที่ 5 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดและจำนวนรากต่อต้นมากกว่าอาหารสูตรที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table 1, Figure 1) ทั้งนี้เนื่องจากอาหารสูตรที่ 4 และสูตรที่ 5 มีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบคล้ายกับสารในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยให้การพัฒนาของต้นอ่อนดีขึ้น (วิวัฒน์ วุฒิพันธ์ชัย, 2529) ส่วนในมันฝรั่งมีคาร์โบไฮเดรต และสารพวกโพลีเอมีน (polyamine) ซึ่งมีคุณสมบัติป้องกันการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ ทำให้เพิ่มการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนในพืช (สกุณา พาแก้ว, 2538) และในกล้วยหอมมีส่วนประกอบของสารไบโอติน วิตามิน และธาตุอาหารหลายตัวที่สำคัญที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ในการพัฒนาราก และการเจริญเติบโตของต้น (จิตราพรรณ พิลึก, 2536) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วุฒิชัย ฤทธิ และคณะ (2560) ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก พบว่า อาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่าอาหาร MS

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวบนอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งมีองค์ประกอบและระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารแตกต่างกัน 5 สูตร พบว่า อาหารแข็งสูตร MS มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงต้นเพิ่มขึ้น ในขณะที่การทดลองของ อารยา อาจเจริญ เทียนหอม และคณะ (2558) ทำการศึกษาการขยายพันธุ์เอื้องช้างน้าวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า สูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย ความสูงต้น และการแตกหน่อได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุภาวดี รามสูตร และคณะ (2558) ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดในหลอดทดลอง ในอาหารแข็งสูตร MS ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากสูตรอาหารเพาะเลี้ยงดังกล่าวมีแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดกล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารที่ใช้สำหรับการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 1 Percentage of shoot formation, number of shoots, number of leaves, height, percentage of root formation, and number of roots of *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl *in vitro* at 84 days.

Treatment	Percentage of shoot formation (%)	No. of shoots	No. of leaves	Height (mm)	Percentage of root formation (%)	No. of roots
1	62.67±15.14	3.13±0.76	1.93±0.57	15.10±3.90	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
2	46.67±33.55	2.33±1.68	1.17±1.02	12.13±8.06	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
3	46.67±30.29	2.20±1.44	1.27±0.25	14.23±6.10	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
4	18.67±18.04	0.93±0.90	0.40±0.36	9.93±9.40	26.67±30.55^{ab}	2.33±2.14^{a}
5	22.67±22.74	1.13±1.14	1.60±0.72	11.73±6.50	46.67±30.55^{a}	2.40±1.11^{a}
F-test	ns	ns	ns	ns	*	*
CV (%)	63.23	63.22	50.79	55.78	131.71	113.52

1: MS (Murashige and Skoog, 1962), 2: ½MS, 3: VW (Vacin and Went, 1949), 4: ½VW + 75 mg/L coconut water + 25 g/L banana 25 g/L potato, and 5: VW + 150 mg/L coconut water + 50 g/L banana + 50 g/L potato.
Means within the same column followed by the same letters are not significantly different at 95%. Each value is expressed as mean±standard deviation (SD), n=3.
ns and * indicate non-significant and significantly different analyzed by Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) at P<0.05, respectively.

Figure 1 The *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl were cultured for 84 days *in vitro*; A) MS (Murashige and Skoog, 1962), B) ½MS, C) VW (Vacin and Went, 1949), D) ½VW + 75 mg/L coconut water + 25 g/L banana + 25 g/L potato, and E) VW + 150 mg/L coconut water + 50 g/L banana + 50 g/L potato.

ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากนำต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่า ต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวเพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ในขณะที่อาหารแข็งสูตร VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรส่งผลให้จำนวนรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเทียบกับอาหารแข็งสูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ ซึ่ง kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ส่งผลให้จำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 14.07 ราก ส่วนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ความสูงต้นสูงสุด เท่ากับ 32.77 มิลลิเมตร (Table 2, Figure 2)

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด ส่วนอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด ความสูงต้น จำนวนราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ยงศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ (2558) ศึกษาอิทธิพลของ BA IAA 2,4-D และ kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากส่วนของไฮโพคอทิลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า kinetin มีผลต่อการเจริญเติบโตคือมีการเพิ่มขึ้นของราก ลำต้น และยอดมากกว่า BA จากรายงานของ Richard and Gonzales (1994) กล่าวว่าสารในกลุ่มไซโตไคนินมีผลในการส่งเสริมหรือยับยั้งการพัฒนาของรากได้ คือ เมื่อเลี้ยงต้นพืชบนอาหารที่เติมไซโตไคนินในปริมาณต่ำ จะส่งผลให้เกิดการพัฒนาราก แต่เมื่อเลี้ยงต้นพืชบนอาหารที่เติมไซโตไคนินในปริมาณสูงจะส่งผลในการยับยั้งการพัฒนาราก และอาหารแข็งสูตร VW ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดลำลูกกล้วยมากที่สุด

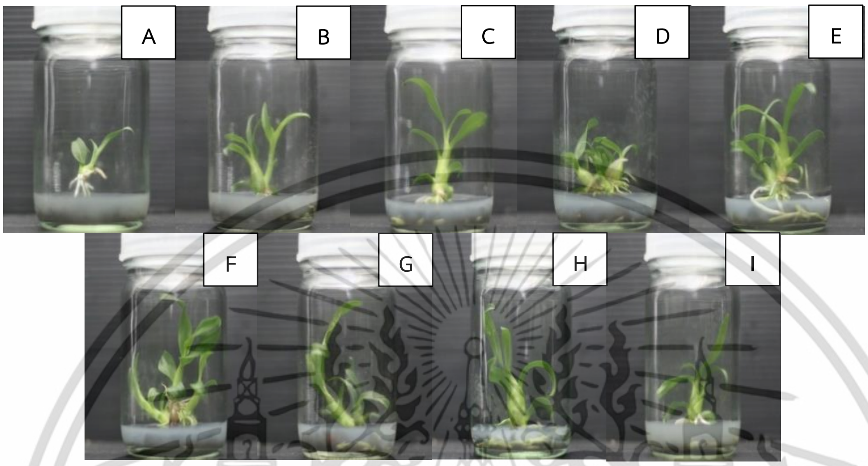

Figure 2 *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl were cultured on VW supplemented with different concentrations of BA and kinetin cultured for 84 days. A) VW, B) 0.5 mg/l BA, C) 1.0 mg/l BA, D) 1.5 mg/l BA, E) 2.0 mg/l BA, F) 0.5 mg/l kinetin, G) 1.0 mg/l kinetin H) 1.5 mg/l kinetin, and I) 2.0 mg/l kinetin.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 2 Effects of different concentration of BA and kinetin on growth of *Dendrobium pulchellum* Roxb. ex Lindl *in vitro* at 84 days.

Concentration (mg/L)		Percentage of shoots formation (%)	No. of shoots	No. of leaves	Height (mm)	Percentage of roots formation (%)	No. of roots
BA	0 (control)	40.00±18.33	1.80±0.87	3.10±0.72	23.70±4.07	80.00±0.00	6.73±3.74[bc]
	0.5	38.67±25.72	1.20±0.53	1.70±0.17	14.50±3.63	53.33±11.55	5.20±2.08[c]
	1.0	69.33±15.14	2.60±0.40	2.67±1.27	24.07±6.06	66.67±11.55	8.47±1.22[abc]
	1.5	41.33±6.11	1.93±0.12	2.60±1.25	20.00±8.40	60.00±20.00	9.47±1.03[abc]
	2.0	66.67±43.14	2.87±1.36	3.33±0.55	29.53±7.58	86.67±11.55	11.87±5.27[ab]
Kinetin	0.5	57.33±10.07	2.67±0.70	3.20±0.70	36.47±8.06	86.67±11.55	14.07±2.42[a]
	1.0	41.33±20.13	2.00±1.00	3.03±0.91	27.83±11.92	80.00±20.00	9.60±5.17[abc]
	1.5	25.33±12.86	1.27±0.64	3.53±0.32	32.77±9.05	80.00±20.00	12.93±1.60[a]
	2.0	42.67±19.73	1.93±0.90	2.93±0.60	24.30±3.60	80.00±20.00	11.00±1.11[abc]
F-test		ns	ns	ns	ns	ns	*
CV (%)		45.93	39.50	27.67	28.66	32.20	30.96

Means within the same column followed by the same letters are not significantly different at 95%. Each value is expressed as mean±standard deviation (SD), n=3.
ns and * indicate non-significant and significantly different analyzed by Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) at P<0.05, respectively.

ผลของออกซินต่อการชักนำการเกิดรากของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาผลของออกซินต่อการชักนำการเกิดรากของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าว โดยการนำต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยนำต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ระดับ พบว่า อาหารแข็งสูตร VW ที่เติม NAA มีจำนวนรากและเปอร์เซ็นต์การเกิดรากให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (Table 3, Figure 3) สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน มีคุณสมบัติกระตุ้นการเกิดราก การแบ่งเซลล์และยืดตัวของเซลล์ แต่การใช้ในปริมาณที่สูงมากเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (Hossain et al., 2010; Razdan, 2002)

Table 3 Effect of NAA concentration on the number of root and percentage of root formation of *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl *in vitro* at 84 days.

Concentration (mg/l)	No. of roots	Percentage of root formation
0	14.93±7.76	80.00±20.00
0.5	8.67±3.91	66.67±30.55
1.0	13.93±4.47	66.67±11.55
1.5	18.00±2.62	86.67±23.09
2.0	13.07±5.28	73.33±11.55
F-test	ns	ns
CV (%)	37.20	27.66

Means within the same column followed by the same letters are not significantly different at 95%. Each value is expressed as mean±standard deviation (SD), n=3.
ns and * indicate non-significant and significantly different analyzed by Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) at P<0.05, respectively.

Figure 3 Effect of VW supplemented with NAA concentrations on the root induction of *D. pulchellum* Roxb. ex Lindl *in vitro* at 84 days. A) 0 mg/L NAA (control), B) 0.5 mg/l NAA, C) 1.0 mg/l NAA, D) 1.5 mg/l NAA, and E) 2.0 mg/l NAA.

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร กล้วยหอมสุก 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากสูงที่สุด ในขณะที่การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าว พบว่า อาหารแข็งสูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้น จำนวนราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด ส่วนการชักนำการเกิดของต้นอ่อนเอื้องช้างน้าวบนอาหารแข็งสูตร VW ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อการเกิดรากไม่แตกต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 84 วัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2562 ประเภทสนับสนุนขอผลงานทางวิชาการ (PCRU_2562_AC009)

เอกสารอ้างอิง

จิตราพรรณ พิลึก. 2536. *การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัชชัย ทรัพย์ถิระ, สุภาพ สุนทรนนท์ และสุมนทิพย์ บุนนาค. 2556. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องสายล่องแล่ง (*Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fischer) ในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารวิจัย มข. (ฉบับบัณฑิตศึกษา)* 13(1): 1-13.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2537. *เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. 2558. อิทธิพลของ BA, IAA, 2,4-D และ kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากไฮโพคอทิลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ. *Thai Journal of Science and Technology* 4(2): 147-154.

วิวัฒน์ วุฒิพันธ์ไชย. 2529. ผลของอายุฝัก การเติมมันฝรั่ง น้ำมะพร้าวอ่อน และถ่านในอาหารสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้เหลืองปราจีน. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีระชัย ณ นคร และสุรางค์รัชต์ อินทะมุสิก. 2543. *สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 6 กล้วยไม้ไทย*. กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

วุฒิชัย ฤทธิ, บุญสนอง ช่วยแก้ว และจารุวรรณ สุวรรณวงศ์. 2560. ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญของต้นอ่อนเอื้องกาบดอกในหลอดทดลอง. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา (ฉบับพิเศษ) การประชุมวิชาการระดับชาติ "วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 9* 22: 55-63.

สกุณา พาแก้ว. 2538. การศึกษาอายุฝักและสูตรอาหารสำหรับเพาะเมล็ดรองเท้านารีเหลืองปราจีน. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาวดี รามสูตร, ปรีดา บุญเวศน์ และวริยา นวลนุช. 2558. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดในหลอดทดลอง. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์* 2(4): 11-14.

อารยา อาจเจริญ เทียนหอม, ธีรภรณ์ ตุ้มน้อย, ปรัชญา เตวิยะ และวิทยา แก้วศรี. 2558. การขยายพันธุ์เอื้องช้างน้าวด้วยการเพาะเลี้ยง*เนื้อเยื่อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 46(3) (พิเศษ): 101-104.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2552. *กล้วยไม้เมืองไทย*. พิมพ์ครั้งที่ 16. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

Gupta, A. 2016. Asymbiotic seed germination in orchids: role of organic additives. International *Advanced Research Journal in Science, Engineering and Technology* 3(5): 143-147.

Hossain, M. M., Sharma, M., da Silva, J. A. T., and Pathak, P. 2010. Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. *Scientia Horticulturae* 123: 479-487.

Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.

Razdan, M. K. 2002. *Introduction to plant tissue culture*. (2^{nd} ed.) USA: Science Publishers.

Richard, A. D., and Gonzales, R. A. 1994. *Plant Cell Culture*. USA: IRL Press at Oxford University Press.

Vacin, E. F., and Went, F. W. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette* 110: 605-613.

วันรับบทความ (Received date) : 31 มี.ค. 62

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 12 ต.ค. 62

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 9 มี.ค. 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้