

ผลของ NAA และ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องคำปอน (*Dendrobium dixanthun* Lchb.f.) เอื้องคำกิว (*Dendrobium signatum* Rchb. f.) และเอื้องเก้ากิวแม่สะเรียง (*Dendrobium tortile* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ
Effect of NAA and BA on Micropropagation of *Dendrobium dixanthun* Lchb.f., *Dendrobium signatum* Rchb. f., and *Dendrobium tortile* Lindl.

นพวรรณ พูลพิพัฒน์^{1*} พุทธพงษ์ สร้อยเพชรเกษม¹ และ พีระศักดิ์ ฉายประสาธ¹
Noppawan Poonpipat^{1*} Puttaponng Soipetkasem¹ and Peerasak Chaiprasart¹

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม 65000

¹Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Muang District, Phitsanulok 65000

*Corresponding author: larizha1@outlook.com

บทคัดย่อ

การสำรวจกล้วยไม้เอื้องคำปอน (*Dendrobium dixanthun* Lchb.f.) เอื้องคำกิว (*Dendrobium signatum* Rchb. f.) และเอื้องเก้ากิวแม่สะเรียง (*Dendrobium tortile* Lindl.) พบกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิดในเขตป่าทางภาคเหนือของประเทศไทย กล้วยไม้เหล่านี้เป็นกล้วยไม้ที่ค่อนข้างหายากและการอนุรักษ์โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถเพิ่มจำนวนกล้วยไม้จำนวนมากคืนสู่ป่า การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ลงบนสูตรอาหารดัดแปลง MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg L^{-1}) ร่วมกับ Benzyladenine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg L^{-1} เป็นระยะเวลา 4 เดือน ในห้องปลอดเชื้ออุณหภูมิ 25 ± 2 °C ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่ากล้วยไม้เอื้องคำปอนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติม NAA 3.0 mg L^{-1} , BA 0.5 mg L^{-1} มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด โดยมีจำนวนต้น 3.40 ต้น จำนวนใบ 7.46 ใบ จำนวนราก 2.46 ราก ความสูง 1.06 เซนติเมตร และความยาวราก 0.34 เซนติเมตร กล้วยไม้เอื้องคำกิวที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติม NAA 3.0 mg L^{-1} , BA 0.1 mg L^{-1} มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด โดยมีจำนวนต้น 4.60 ต้น จำนวนใบ 16.80 ใบ จำนวนราก 3.13 ราก ความสูง 2.28 เซนติเมตรและความยาวราก 0.42 เซนติเมตร เอื้องเก้ากิวแม่สะเรียงที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีการเติม NAA 0 mg L^{-1} , BA 1.0 mg L^{-1} มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุด โดยมีจำนวนต้น 2.53 ต้น จำนวนใบ 9.46 ใบ จำนวนราก 3.00 ราก ความสูง 2.44 เซนติเมตรและความยาวราก 0.76 เซนติเมตร ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรได้รับการพัฒนาอย่างเฉพาะเจาะจงกับกล้วยไม้แต่ละชนิด

คำสำคัญ: กล้วยไม้เอื้องคำปอน, กล้วยไม้เอื้องคำกิว, กล้วยไม้เอื้องเก้ากิวแม่สะเรียง, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

ABSTRACT

Exploration for *Dendrobium dixanthun* Lchb.f., *Dendrobium signatum* Rchb. f., and *Dendrobium tortile* Lindl. led to the discovery of these orchids in northern Thailand. These species are relatively rare and conservation practices for their survival require the identification of propagation methods that could be used to increase the number of plants for re-introduction to the wild. *Dendrobium* orchids were propagated on modified MS medium. The effects of various plant growth regulators on the growth of these orchids were then studied. Treatments included the following: α -naphthaleneacetic acid (NAA) at concentrations of 0, 1, 2, and 3 mg l^{-1} combined with N6-Benzyladenine (BA) at concentrations of 0, 0.1, 0.5, 1.0, and 2.0 mg l^{-1} for 4 months at 25 ± 2 °C, 16 h photoperiod. MS medium combined with 3.0 mg l^{-1}

NAA and 0.5 mg L⁻¹ BA produced the greatest growth for *D. dioxanthum* as shown by shoot number (3.40), leaf number (7.46), root number (2.46), shoot length (1.06 cm.), and root length (0.34 cm.). With *D. signatum*, MS medium combined with 3.0 mg L⁻¹ NAA and 0.1 mg L⁻¹ BA had the highest shoot number (4.60), leaf number (16.80), root number (3.13), shoot length (2.28 cm.), and root length (0.42 cm.). In contrast, MS medium combined with 0 mg L⁻¹ NAA and 1.0 mg L⁻¹ BA produced the highest growth for *D. tortile* as determined by shoot number (2.53), leaf number (9.46), root number (3.00), shoot length (2.44 cm.), and root length (0.76 cm.). These results indicate that the tissue culture medium should be developed specifically for each of these species.

Keywords: *Dendrobium dioxanthum* Lchb.f., *Dendrobium signatum* Rchb. f., *Dendrobium tortile* Lindl., tissue culture, plant growth regulator

บทนำ

กล้วยไม้จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae กล้วยไม้ทั่วโลกมีประมาณ 25,000 ชนิด (species) ในประเทศไทยมีกล้วยไม้ประมาณ 1,100 ชนิด Thammasiri (2004) กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) เป็นสกุลที่พบมากที่สุดในประเทศไทย เนื่องจากสภาพป่าของประเทศไทยเป็นป่าเขตร้อนชื้นที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เป็นอย่างดี Kanchanakun (2009) กล้วยไม้เอื้องคำปอน (*Dendrobium dioxanthum* Lchb.f.) เอื้องคำกิว (*Dendrobium signatum* Rchb. f.) และเอื้องเกือกแม่สะเรียง (*Dendrobium tortile* Lindl.) เป็นกล้วยไม้ที่หาได้ยากในธรรมชาติ มีการกระจายพันธุ์ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย ในปัจจุบันกล้วยไม้ในธรรมชาติของประเทศไทยลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) เป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาอันสั้น ได้ต้นที่แข็งแรงและปลอดโรค สามารถคัดเลือกต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถูกนำมาใช้กับพืชที่มีความสำคัญหลายชนิด รวมถึงกล้วยไม้สกุลหวาย อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่นิยมใช้มากที่สุด คืออาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators, PGRs) ที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากที่สุด ได้แก่ N6-Benzyladenine (BA) เป็นสารกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) และ α -naphthaleneacetic acid (NAA) เป็นสารกลุ่มออกซิน (auxins) Jaime *et al.* (2015) กล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณที่ต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์หายากในธรรมชาติได้

อุปกรณ์และวิธีการ

สำรวจกล้วยไม้ป่าสกุลหวาย 3 ชนิด ได้แก่ เอื้องคำปอน (*Dendrobium dioxanthum* Lchb.f.) เอื้องคำกิว (*Dendrobium signatum* Rchb. f.) และเอื้องเกือกแม่สะเรียง (*Dendrobium tortile* Lindl.) ในธรรมชาติ และนำมาขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการนำฝักกล้วยไม้มาฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox 10% และจุ่มฟลิกในแอลกอฮอล์ 95% เผาไฟ จากนั้นเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ลงบนสูตรอาหารดัดแปลง Murashige and Skoog (1962) เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน แล้วนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog, 1962 ที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร (g/L) ผงวุ้น 8 g/L และสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg L⁻¹ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 mg L⁻¹ จำนวน 20 สูตร ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด ขวดละ 1 ต้น ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด โดยนับจำนวนต้น จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวของรากและความสูงของลำต้น เดือนละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 4 เดือน จากนั้นนำข้อมูลที่ได้บันทึกไว้วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลอง พบว่า กล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 ชนิดเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ดังนี้ เอื้องคำปอนมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยทางด้านจำนวนต้น จำนวนใบ จำนวนราก ความสูงและความยาวราก บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 3.0 mg L⁻¹ และ BA 0.5 mg L⁻¹ (Table 1) เอื้องคำกิวมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยทางด้านจำนวนต้น จำนวนใบ จำนวนราก ความสูงและความยาวราก บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 3.0 mg L⁻¹ และ BA 0.1 mg L⁻¹ (Table 1) การเจริญเติบโตทางด้านความสูงและความยาวรากน้อยกว่างานของ Chiratsiripong *et al.* (2007) ที่รายงานเฉพาะเอื้องคำกิวบนอาหาร Vacin and Went (VW) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1.0 mg L⁻¹ และ BA 0.5 mg L⁻¹ มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ดังนี้ ความสูงต้น 5.47 เซนติเมตร จำนวนใบ 16.50 ใบและความยาวราก 6.05 เซนติเมตร เอื้องแก้วแก้วแม่สะเรียงมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยทางด้าน จำนวนต้น จำนวนใบ จำนวนราก ความสูงและความยาวราก บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0 mg L⁻¹ และ BA 1.0 mg L⁻¹ (Table 1) สอดคล้องกับงานของ Martin and Madassery (2006) ที่รายงานเฉพาะเอื้องกล้วยไม้หวาย sonia17 และ sonia18 บนอาหารสูตร half-strength MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0 mg L⁻¹ และ BA 1.0 mg L⁻¹ ทำให้กล้วยไม้มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น จำนวนต้น 8.30 และ 8.10 ต้น ตามลำดับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BA เป็นสารกลุ่มไซโตไคนิน มีคุณสมบัติกระตุ้นการเจริญเติบโตและ NAA เป็นสารกลุ่มออกซิน มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มขนาดของเซลล์ เมื่อใช้ร่วมกันจะมีกลไกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลังจากนำกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิดออกปลูกในสแฟกนัมมอส พบว่า กล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 3 ชนิด เอื้องคำปอน เอื้องคำกิวและเอื้องแก้วแก้วแม่สะเรียง มีการรอดชีวิตสูงสุดใน อัตราการรอดชีวิต 90%, 85%, และ 65% ตามลำดับ (Figure 1) สอดคล้องกับงานของ Radom and Inchonbot (2012) ที่รายงานว่ามีอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตสูงที่สุด และ Supinrach *et al.* (2013) รายงานว่า สแฟกนัมมอสทำให้เอื้องสายหลวงมีแนวโน้มการเจริญเติบโตสูงที่สุด

สรุป

กล้วยไม้เอื้องคำปอนมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดบนสูตรอาหาร MS ที่มีการเติม NAA 3.0 mg L⁻¹, BA 0.5 mg L⁻¹ กล้วยไม้เอื้องคำกิวมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดบนสูตรอาหาร MS ที่มีการเติม NAA 3.0 mg L⁻¹, BA 0.1 mg L⁻¹ และกล้วยไม้เอื้องแก้วแก้วแม่สะเรียงมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดบนสูตรอาหาร MS ที่มีการเติม NAA 0 mg L⁻¹, BA 1.0 mg L⁻¹

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สำหรับการสนับสนุนงบประมาณการวิจัย ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร ในการอนุรักษ์เครื่องมือ

เอกสารอ้างอิง

- Chiratsiripong Katanchalee, Soipetkasem Puttapong, Hunsawat Chanida, and Chaiprasat Peerasak. 2007. In vitro conservation and propagation of *Dendrobium signatum* Rchb.f. collected from Chattrakarn national park, Phitsanulok. NU Science Journal. 3(2): 201-214. (in Thai)
- Jaime A, T. d. S., Jean Carlos Cardoso, Judit Dobranszki and Songjun Zeng. (2015). *Dendrobium* micropropagation: a review. Plant Cell Rep. 34: 671-704.
- Kanchanakun Setthaman. 2009. Beautiful Orchids. Setthasil, Bangkok, Thailand. 112 pp. (in Thai)
- Martin K.P. and Madassery Joseph. (2006). Rapid in vitro propagation of *Dendrobium* hybrids through direct shoot formation from foliar explants and protocorm-like bodies. Scientia Horticulturae. 108: 95-99.
- Murashige T and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. 15: 473-497.
- Radom Somboon and Inchonbot Sangduen. 2012. Effect of different growing media on some types orchids, herbs. Research report of Maejo University, Chiang Mai, Thailand. 69 pp. (in Thai)

Supinrach Iss, Banchongsiri Sujja, and Boonta Koonchalee. 2013. Effect of growing media and irrigation frequencies on survival and growth of *Dendrobium anosmum*. The 3rd STOU Graduate Research Conference, 3-4 September 2013. (in Thai)

Thammasari Kanchit. 2004. Technology of Orchid production. Amarin printing & publishing, Bangkok, Thailand. 283 pp. (in Thai)

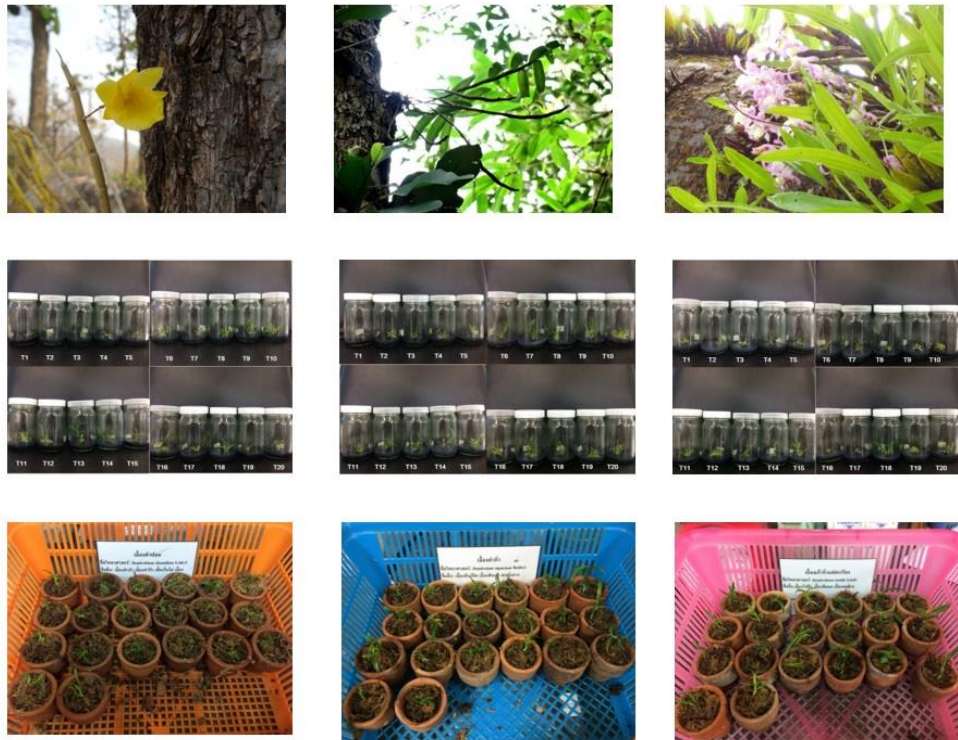


Figure 1 *D. dioxanthum* Lchb.f. on the left column, *D. signatum* Rchb. f. in the middle column, and *D. tortile* Lindl on the right column.

Table 1 The highest growing of orchids on MS medium combined with different concentration of NAA and BA

Orchids	Plant growth regulators		Mean number of shoots	Mean number of leaves	Mean number of roots	Mean length of shoot (in cm.)	Mean root length (in cm.)
	NAA (mg L ⁻¹)	BA (mg L ⁻¹)					
<i>D. dioxanthum</i> Lchb.f.	3.0	0.5	3.40±0.70 ^{ab}	7.46±1.15 ^{ab}	2.46±0.27 ^{ab}	1.06±0.08 ^a	0.34±0.03 ^{ab}
<i>D. signatum</i> Rchb. f.	3.0	0.1	4.60±0.51 ^{ab}	16.80±1.40 ^{abc}	3.13±0.42 ^{abcdef}	2.28±0.14 ^{abcd}	0.42±0.04 ^{cd}
<i>D. tortile</i> Lindl.	0	0.1	2.53±0.29 ^{NS}	9.46±1.19 ^{bcde}	3.00±0.38 ^a	2.44±0.19 ^a	0.76±0.10 ^{ab}

The values followed by different letters within columns are significantly different from each other at 5% level. Data represent mean±S.E.