Agricultural Sci. J. 49 : 1 (Suppl.) : 277-279 (2018) ว. วิทย. กษ. 49 : 1 (พิเศษ) : 277-279 (2561)

ผลของชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนินต่อการชักนำการเกิดโพรโทคอร์มไลค์บอดี้จากชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

Effect of Type and Concentration of Cytokinin on protocorm-like Bodies Induction from young leaves of *Aerides ordorata* Lour.

มุสลีนา สาแม[1] อรอุมา นิถารมย์[1] อุสนา ปานาวา[1] และ ปานจันทน์ สุจริตธุรการ[2]*

Musalina Samae[1], Onauma Nitharom[1], Aussana Panawa[1] and Panjan Sujjaritthurakarn[2]*

[1]คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ. ปัตตานี 94000

[2]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ. ปัตตานี 94000

[1]Faculty of Education, Prince of SongKla University, Pattani, 94000, Thailand

[2]Faculty of Science and Technology, Prince of SongKla University, Pattani, 94000, Thailand

*Corresponding author: panjan.s@psu.ac.th

บทคัดย่อ

กล้วยไม้สกุลกุหลาบเป็นกล้วยไม้ที่มีกลิ่นหอมเหมือนกลิ่นดอกกุหลาบ และมีบทบาทสำคัญในการผสมพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้นกล้วยไม้สกุลนี้จึงเป็นที่นิยมในไม้ประดับและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ การขยายพันธุ์ในธรรมชาติทำให้เกิดยอดได้น้อย งานวิจัยนี้ศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เพื่อเพิ่มปริมาณยอดอย่างรวดเร็วโดยการชักนำให้เกิดโพรโทคอร์มไลค์บอดี้จากชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด เริ่มจากนำชิ้นส่วนใบอ่อนในสภาพปลอดเชื้อมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and skoog (MS) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต benzyladenine (BA) และ kinetin ความเข้มข้น 0 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทุกระดับสามารถชักนำให้เกิดโพรโทคอร์มไลค์บอดี้ได้ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโพรโทคอร์มไลค์บอดี้ ได้มากที่สุด 48.3 เปอร์เซ็นต์ จำนวนโพรโทคอร์มไลค์บอดี้เฉลี่ยเกิดได้ดีที่สุด 8.23 โพรโทคอร์มไลค์บอดี้ต่อชิ้นส่วน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับอาหารสูตรอื่น ๆ โพรโทคอร์มไลค์บอดี้สามารถเจริญเป็นต้นที่สมบรูณ์เมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 3 สัปดาห์

คำสำคัญ: กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด, โพรโทคอร์มไลค์บอดี้, ชิ้นส่วนใบอ่อน

ABSTRACT

Aerides odorata Lour. has fragrance like a rose and important role in cross breeding. Therefore, this orchid is a popular ornamental plant and has economical value. Naturally, the propagation rate is low. Therefore in this study, micropropagation by protocorm-like bodies (PLBs) induction from young leaves of *Aerides odorata* Lour was studied. The sterilized young leaves were cultured on MS medium supplemented with BA and Kinetin (0, 2, 3, 4 and 5 mg/l). After 8 weeks of culture, it was found that all concentrations of both BA and Kinetin could induce PLBs formation. MS medium supplemented with 2 mg/l BA gave the highest PLBs induction (48.3%). The best average number of PLBs (8.23 PLBs/explants) was obtained on MS medium containing 4 mg/l BA and no significant difference ($p \leq 0.05$) with other concentrations. PLBs developed into complete plantlets on MS medium without plant growth regulator supplemented after 3 weeks of culture.

Keywords: *Aerides odorata* Lour., Protocorm-like bodies (PLBs), Young leaf explants

บทนำ

เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด (*Aerides odorata* Lour.) เป็นกล้วยไม้ที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากปลูกเลี้ยงง่าย มีความสวยงามที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว และจัดเป็นกล้วยไม้หายาก การขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดทำได้โดยการแยกกอ และเพาะเมล็ด แต่เมล็ดกล้วยไม้มีความสามารถในการงอกตามธรรมชาติได้น้อย เพราะอาหารสะสมภายในเมล็ดมีน้อยมากไม่เพียงพอต่อการงอก (Ramasoot *et al*., 2015) ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น การศึกษาก่อนหน้านี้กล่าวว่า BA และ Kinetin สามารถชักนำให้เกิด PLBs จากชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้ในสกุลกุหลาบได้ (Murthy and Pyati, 2001; Sheelaventhmath *et al*., 2005) งานวิจัยนี้จึงศึกษาชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนิน ได้แก่ BA และ Kinetin ต่อการชักนำให้เกิด PLBs จากชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

อุปกรณ์และวิธีการ

นำชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดขนาด 0.5 เซนติเมตรที่ปลอดเชื้อมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ kinetin ความเข้มข้น 0 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพมีแสงที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิด PLBs จำนวน PLBs ต่อชิ้นส่วน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) แต่ละสูตรอาหารทำการทดลอง 2 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ขวด เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) จากนั้นนำ PLBs ที่ได้มาชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่โดยย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ผลการทดลองและวิจารณ์

การชักนำให้เกิด PLBs จากชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ไซโตไคนินทั้ง 2 ชนิด และทุกความเข้มข้นสามารถชักนำการเกิด PLBs ได้ โดยที่อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิด PLBs ได้มากที่สุด 48.3% แต่จำนวน PLBs ต่อชิ้นส่วนได้เพียง 4.72 PLBs เท่านั้น (Table 1) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Murthy and Pyati (2001) ที่ชักนำให้เกิด PLBs มากที่สุด 90.2% จากชิ้นส่วนใบของกล้วยไม้ *Aerides maculosum* Lindl. ส่วนจำนวน PLBs เฉลี่ยเกิดได้มากที่สุด 8.23 PLBs ต่อชิ้นส่วน เมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (Figure 1A) จากนั้น PLBs ที่ได้จะพัฒนาเป็นยอด (Figure 1B) และเมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตจะพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (Figure 1C) เช่นเดียวกับการรายงานว่า อาหารสูตร MS สามารถพัฒนา PLBs เป็นพืชต้นใหม่ได้ในกล้วยไม้ *Aerides maculosum* Lindl. (Murthy and Pyati, 2001) และกล้วยไม้ *Aerides crispum* (Sheelaventhmath *et al*., 2005)

สรุป

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิด PLBs ได้มากที่สุด 48.3% ในขณะที่จำนวน PLBs เฉลี่ยสูงสุด 8.23 PLBs ต่อชิ้นส่วน เมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร PLBs ที่ได้พัฒนาเป็นต้นใหม่เมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่สนับสนุนสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Devi, H.S., S.I. Devi and T.D. Singh. 2013. High frequency plant regeneration system of *Aerides odorata* Lour. through foliar and shoot tip culture. Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca. 41(1): 169-176.

Murthy, H.N. and A.N. Pyati. 2001. Micropropagation of *Aerides maculosum* Lindl. (Orchidaceae). *In Vitro* Cell Dev Biol Plant. 37: 223-226.

Ramasoot, S., P. Bunwest and W. Nuannut. 2015. Effect of culture media on growth of *Aerides odorata in vitro*. Songklanakarin J. Pl. Sci. 2(4): 11-14. (in Thai)

Sheelavanthmath, S.S., H.N. Murthy, B.P. Hema, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2005. High frequentcy of protocorm like bodies (PLBs) induction and plant regeneration from protocorm and leaf sections of *Aerides crispum*. Sci. Hortic. 106: 395-401.

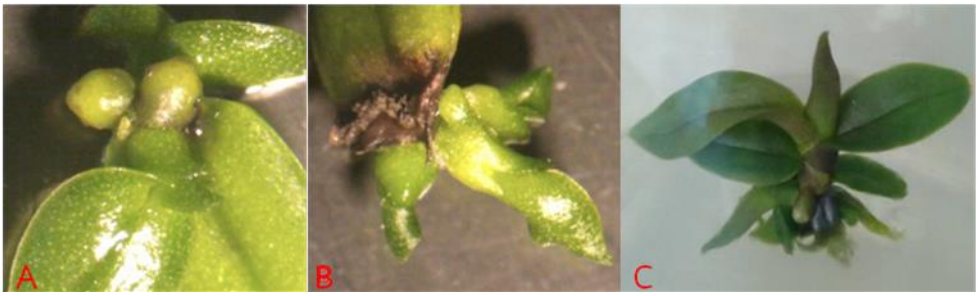

Figure 1 (A) PLBs induction from young leaf on MS medium supplemented with 4 mg/l BA after 5 weeks of culture (B) Shoots development from PLBs (C) Plant regeneration on MS medium after 3 weeks of culture

Table 1 Effect of BA and Kinetin on PLBs induction from young leaves of *Aerides odorata* Lour. After 8 weeks of culture

Treatments	Concentration (mg/l)	PLBs formation (%) (Mean±SE)	PLBs/explant (Mean±SE)
Control	0	5.00±0.03[d]	1.67±0.05[a]
BA	2	48.30±0.07[a]	4.72±0.44[a]
	3	21.60±0.05[c]	7.00±0.42[a]
	4	36.60±0.06[ab]	8.23±0.69[a]
	5	31.60±0.06[bc]	5.16±0.44[a]
Kinetin	2	5.00±0.03[d]	6.00±0.18[a]
	3	6.66±0.03[d]	5.25±0.18[a]
	4	3.33±0.02[d]	4.50±0.11[a]
	5	8.33±0.04[d]	6.60±0.41[a]