

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
 กล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราช (*Aerides houlletiana* Rchb.f.)
 Effects of Plant Growth Regulator on Tissue culture of
Aerides houlletiana Rchb.f.

นัทฐา นิตยวัฒน์กุล^{1*} นิภาวัลย์ แหมไรสง² และอารักษ์ ธีรอำพน¹
 Nattha Nitwatthanakul^{1*}, Nipawan Hamtison² and Arak Tira-umphon¹

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000

²ฟาร์มมหาวิทยาลัย สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000

¹School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 30000 Nakhon Ratchasima

²SUT Farm, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 30000

Nakhon Ratchasima

*Corresponding author: nitwatthanakul@gmail.com

บทคัดย่อ

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ถูกนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราช โดยศึกษาผลของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in Completely Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ ปัจจัยที่ 1 คือ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อ ได้แก่ ใบ ช่อ และปลายราก ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ปัจจัยที่ 2 คือ อาหารสังเคราะห์ Vacin and Went ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ N⁶ benzyl adenine (BA) 1 และ 5 มก./ล. และ BA 5 มก./ล. ร่วมกับ 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1.5 มก./ล. ทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 20 ก./ล. และผงวุ้น 8 ก./ล. เพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ และความเข้มแสง 40 โมล/ตรม./วินาที เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนที่สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุด คือ ชิ้นส่วนช่อ โดยมีค่าเฉลี่ย 48.22% และอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 35.28% มีจำนวนยอด 6-10 ยอดต่อช่อ และอาหารที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D 1.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 90.05% มีจำนวนยอด 1 ยอดต่อช่อ ซึ่งสูตรอาหารนี้สามารถนำไปปรับใช้กับการขยายพันธุ์กล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราชเพื่อต่อยอดเชิงพาณิชย์ต่อไป

คำสำคัญ: กล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราช, การชักนำยอด, สารควบคุมการเจริญเติบโต

ABSTRACT

Tissue culture technique was used to increase the *Aerides houlletiana*. The effects of combinations with explants type and growth regulator were evaluated on the percentage of shoots induction. The 3x3 factorial experiments in Completely Randomized Design with 3 replications were done, First factor; explants type including young leaves, nodal segment and root tip from *in vitro* culture. Second factor; Vacin and Went (VW) medium supplemented with growth regulator include that 1 and 5 mg/L N⁶ benzyl adenine (BA) and combinations of 5 mg/L BA and 1.5 mg/L 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). All culture mediums were added with 20 g/L sucrose and 8 g/L agar. The cultures were maintained at 25±2 °C under a 16-h photoperiod with photosynthetic photon flux density of 40 mole/m².s. After culturing for 3 months nodal segment showed highest shoot regeneration percentage (48.22%). The node explant cultured on VW medium supplemented with BA 1 mg/L gave shoot regeneration 35.28% with 6-10 shoots per explants. Node explant, cultured on medium supplemented

with combinations of 5 mg/L BA and 1.5 mg/L 2, 4-D gave 90.05% shoot regeneration with 1 shoots per explants. This results will be applied to increase the *Aerides houlletiana* propagation for commercial scale.

Keywords: *Aerides houlletiana*, shoot induction, growth regulator

บทนำ

กล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราช *Aerides houlletiana* Rchb.f. จัดอยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) สกุลกุหลาบ (*Aerides*) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ประเทศไทยพบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ออกดอกช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม ดอกมีลักษณะเป็นช่อห้อยลง ยาวประมาณ 20-30 เซนติเมตร ขนาด 2.0-2.5 เซนติเมตร พันธ์กล้วยไม้เหลืองซีดถึงสีเหลืองสดเข้ม ปลายดอกมีสีม่วง กลิ่นหอมคล้ายกลิ่นตะไคร้ เจริญเติบโตทางยอด ลำต้นตั้งตรงหรือห้อยลงเมื่อแตกกอมากขึ้น ใบมีขนาดกว้าง 2.5-3.0 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10-16 เซนติเมตร ใบค่อนข้างอวบแข็งและหนา แผ่นแบน ปลายใบมีหยักเล็กน้อยด้านซ้ายขวาจะเหลื่อมไม่เสมอกัน เป็นจุดเด่นที่แตกต่างจากใบเอื้องกุหลาบชนิดอื่น (Thailand-WEN, 2013) ด้วยลักษณะเด่นหลายประการ กล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราชได้รับความนิยมในหมู่นักเลี้ยงขยายวงมากขึ้นจนได้รับการพัฒนาสายพันธุ์ให้สวยงามโดดเด่นกว่ากล้วยไม้ป่าและถูกยกระดับให้เป็นกล้วยไม้ที่สำคัญของถิ่นโคราช การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดหรือแยกต้นให้เป็นต้นสมบูรณ์ใช้เวลาาน การนำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาช่วยในการขยายพันธุ์สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว แต่การเพาะเลี้ยงให้ประสบความสำเร็จต้องมีการคัดเลือกสูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตที่จำเป็นต่อการงอกและการเจริญเติบโต งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้กุหลาบเหลืองโคราช

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in Complete Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ ให้ปัจจัยที่ 1 คือ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อ ได้แก่ ใบ ช่อ และปลายราก ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ปัจจัยที่ 2 คืออาหารสังเคราะห์ Vacin and Went (1949) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ N^o benzyl adenine (BA) 1 และ 5 มก./ล. และ BA 5 มก./ล. ร่วมกับ 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1.5 มก./ล. ทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 20 ก./ล. และผงวุ้น 8 ก./ล. เพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ และความชื้นแสง 40 mole/m².s เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองพบอิทธิพลของชิ้นส่วนต่อการชักนำให้เกิดยอดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับชิ้นส่วนอื่นๆ โดยชิ้นส่วนที่สามารถชักนำให้มีการเกิดยอดสูงสุดคือ ชิ้นส่วนช่อ โดยมีค่าเฉลี่ย 48.22% เนื่องจากส่วนช่อมีการพัฒนาของตาเจริญต่างๆ ซึ่งคล้ายกับการพัฒนาของคัพภะ (embryo) ในระหว่างการงอกของเมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มและเจริญเป็นต้นขนาดเล็ก (Thanutong, 1985) และชิ้นส่วนช่อที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D 1.5 มก./ล. สามารถให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเฉลี่ย 90.05% (Figure 1) โดยยอดมีสภาพสมบูรณ์ ขนาดใหญ่ ใบและยอดมีสีเขียว จำนวน 1 ยอดต่อช่อ เมื่อชักนำให้เกิดรากแล้วจะได้ต้นสมบูรณ์เพียง 1 ต้นต่อช่อ และการเติม BA ที่ 1 มก./ล. ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเฉลี่ย 35.28% โดยยอดมีสภาพสมบูรณ์ ขนาดเล็ก เกาะกันหลวมๆ ใบและยอดมีสีเขียว เมื่อชักนำให้เกิดรากแล้วจะได้ต้นสมบูรณ์ 6-10 ต้นต่อช่อ และการเติม BA 5 มก./ล. ให้ผลเช่นเดียวกัน แต่ไม่สามารถพัฒนาให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ (Figure 2) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sheelavantmath *at al.*, (2006) ทำการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Geodorum densiflorum* (Lam.) บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 1.125 มก./ล. สามารถชักนำการเกิดยอดรวมได้สูงสุด 8.20 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้น ของ BA ให้สูงขึ้นจะยับยั้งการเกิดยอดใหม่

สรุป

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร vw ที่เติม BA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และเมื่อชักนำให้เกิดรากแล้วจะได้ต้นสมบูรณ์ 6-10 ต้นต่อช่อ จึงเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการขยายพันธุ์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจาก กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปีงบประมาณ 2558 และงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในการให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ

เอกสารอ้างอิง

- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15(3):473–497.
- Sheelavantmath, S. S., Murthy, H. N., Pyati, A. N., Kumar, H. G., & Ravisha, B. V. 2006. In vitro propagation of the endangered orchid, *Geodrorum densiflauerum* (Lam) Schltr. Through rhizome section culture. *Plant cell Tissue Organ Culture.* 60:151-154.
- Thailand wildlife enforcement network: thailand-wen. 2013. CITES: Wild Orchids in the Eastern Forest part one. Department of national parks, wildlife and plant conservation. Printing Agriculture Cooperatives of Thailand Co. Ltd. p. 146. (in Thai)
- Thanutong P. 1985. Plant cell and tissue culture methods. Khon Kaen. Agricultural printed material project Khon Kaen University. p. 114. (in Thai)
- Vacine, E.F. and Went, F.W. 1949. Some pH change in nutrient solutions. *Bot. Gaz.* 110: 605-613.

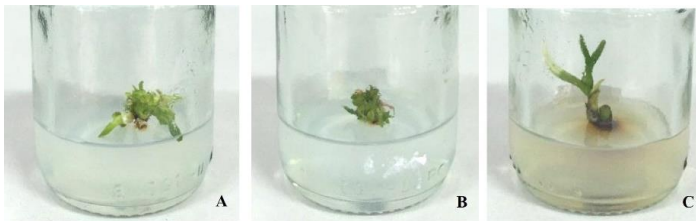


Figure 1 The nodal segment of *Aerides houlletiana* culture in VW medium supplemented with growth regulator include that A: 1 mg/L BA B: 5 mg/L BA and C: combinations of 5 mg/L BA and 1.5 mg/L 2,4-D at 3 months.



Figure 2 Plantlet after root induction with VW medium and culturing for 2 months in greenhouse. A: combinations of 5 mg/L BA and 1.5 mg/L 2, 4-D and B: 1 mg/L BA