ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการขยายพันธุ์เอื้องทองในหลอดทดลอง

Effect of Plant Growth Regulators on *In Vitro* Propagation of *Dendrobium ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang

วุฒิชัย ฤทธิ* บุญสนอง ช่วยแก้ว ณัฐวดี มาลัย และ รัตนาภรณ์ แย้มนิล

Wuttichai Ritti*, Boonsanong Chourykaew, Nattawadee Malai and Rattanaporn Yeamnin

หน่วยวิจัยชีววิทยาพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

Plant Biology Research Unit, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University

Received : 11 June 2017

Accepted : 26 June 2017

Published online : 6 July 2017

บทคัดย่อ

การศึกษาเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทอง (*Dendrobium ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang) บนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ BA kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.1 mg/L ส่งเสริมการเกิดยอดสูงที่สุด 47.5% มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.85 ยอดต่อต้น และมีจำนวนใบเฉลี่ย 4.45 ใบต่อต้น ขณะที่การเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA IAA และ IBA ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 mg/L ชักนำการเกิดยอดสูงสุด 42.5% มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.73 ยอดต่อต้น รวมถึงมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 4.40 รากต่อต้น และเกิดราก 100% นอกจากนี้การเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองบนอาหาร MS ที่เติม NAA 0.5 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.0 mg/L ชักนำให้เกิดยอดสูงที่สุด 50% มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.90 ยอดต่อต้น และมีจำนวนใบเฉลี่ย 5.68 ใบต่อต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

คำสำคัญ: เอื้องทอง สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช หลอดทดลอง

Abstract

In vitro seedlings of *Dendrobium ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang were cultured on MS medium supplemented with cytokinin (BA, kinetin, TDZ) at 0 0.1 0.5 1.0 or 2.0 mg/L for 12 weeks. The result showed that the highest percentage of shoot formation (47.5%), shoot numbers (1.85 shoots/plant) and leaf numbers (4.45 leaves/plant) were obtained when cultured on the medium with 0.1 mg/L TDZ. *D. ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang seedling on medium was supplemented with auxin (NAA, IAA, IBA) at 0 0.1 0.5 1.0 or 2.0 mg/L for 12 weeks. The result showed that the highest percentage of shoot formation (42.5%), shoot numbers (1.73 shoots/plant) including highest of root numbers (4.40 roots/plant) (100%) was observed on the medium supplemented with 2.0 mg/L NAA. Moreover, the seedling of *D. ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang on MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA and 1.0 mg/L TDZ for 12 weeks. The results showed the highest percentage of shoot formation (50%), the highest average of shoot numbers (1.90 shoots/plant) and leaf numbers (5.68 leaves/plant).

Keyword: *Dendrobium ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang, plant growth regulators, *in vitro*

***Corresponding author; E-mail:** Ritti59@gmail.com

บทนำ

เอื้องทอง (*Dendrobium ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยตามป่าดิบแล้งที่โล่งแดดจัดถึงรำไร กระจายพันธุ์ในประเทศพม่า จีน ไทย ลาว กัมพูชา และเวียดนาม (Thaithong, 2008) ประเทศไทยรายงานพบหลายจังหวัด เช่น ตาก เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี ตราด นครราชศรีมา เลย และชัยภูมิ ออกดอกเดือนมิถุนายนถึงกันยายน ลำลูกกล้วยแข็งทรงกระบอกปล้องสั้นขึ้นชิดเป็นกอ (Tokaew *et al*., 2015; Marknoi, 2013) ใบหนาโคนใบเป็นกาบเรียงสลับซ้ายขวา ดอกเดี่ยวเกิดจากซอกใบขนาด 1.5 เซนติเมตร ดอกบานทนหลายวัน กลีบดอกรูปขอบขนานสีขาวทั้ง 5 กลีบ กลีบปากรูปพัดขนาดใหญ่สีเหลืองหม่นมีสันสีเข้ม 3 สัน ขอบกลีบลู่ลงเมื่อบานเต็มที่ (Sittisujjatham, 2006) กล้วยไม้ถูกลักลอบเก็บออกจากป่ามากขึ้นโดยเฉพาะรอยต่อชุมชนและพื้นที่ป่าซึ่งยากต่อการป้องกัน ประกอบกับการขยายพันธุ์ในธรรมชาติประสบความสำเร็จในการงอกของเมล็ดต่ำเพราะไม่มีเอนโดสเปิร์ม (Sangchanjiradet and Thangthong, 2015; Choopeng, 2015; Chen *et al*., 2015) ส่งผลให้กล้วยไม้หลายชนิดรวมถึงเอื้องทองเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสามารถเพิ่มจำนวนได้ปริมาณมากในเวลาสั้น มีรายงานประสบความสำเร็จในกล้วยไม้ เช่น *Panisea uniflora* (Lindl.) Lindl. (Ritti *et al*., 2016) และ *Pholidota imbricata* Lindl. (Mary and Divakar, 2015) อย่างไรก็ตามพบว่ามีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ โดยเฉพาะสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเพิ่มจำนวนเอื้องทองให้ได้ปริมาณมากและคืนสู่ธรรมชาติต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง

ย้ายเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 5 เดือน ความสูง 1.5 เซนติเมตร บนอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม myo-inositol 0.1 g/L น้ำตาล 30 g/L ผงวุ้น 7.5 g/L และเติมไซโทไคนิน ได้แก่ BA (6-Benzyladenine) kinetin (N6-furfuryladenine) และ TDZ (Thidiazuron) ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ปรับ pH 5.7 เลี้ยงทั้งหมด 40 ต้นต่อสูตรอาหารในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2°C ใต้แสงไฟฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 40 µmol/m^2/s เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกข้อมูลและเปรียบเทียบการเติบโตโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) รวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan, 1995) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA (1-Naphthaleneacetic acid) IAA (Indole-3-acetic acid) และ IBA (Indole-3-butyric acid) ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ตามลำดับ

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่ย้ายเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองบนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง

จากการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองพบว่าสามารถเจริญและพัฒนาการได้เหมือนกัน กล่าวคือเกิดยอดใหม่จากโคนชิ้นส่วนเริ่มต้นและยืดยาวได้ดี รวมถึงมีลำต้นขนาดใหญ่และเกิดใบเป็นกาบหุ้มลำต้นเรียงสลับซ้ายขวา แผ่นใบสีเขียวยืดยาวและแผ่ขยายได้ดี รวมถึงเกิดรากจากโคนของต้นอ่อนเรียวยาวสีเขียว รากที่เจริญเหนือผิวอาหารสร้างนวม (velamen) สีขาวห่อหุ้ม (ภาพที่ 1ค) เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.1 mg/L ส่งเสริมการเกิดยอดได้สูงที่สุด 47.5% มียอดเฉลี่ยสูงถึง 1.85 ยอดต่อต้น และใบเฉลี่ย 4.45 ใบต่อต้น เนื่องจาก TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มไซโทไคนินที่มีคุณสมบัติช่วยให้เกิดการแบ่งเซลล์ เพิ่มขนาดเซลล์ กระตุ้นการแตกตาข้าง ส่งเสริมการสร้างยอดและเกิดต้นใหม่ รวมถึงกระตุ้นการทำงานของโปรตีนและเอนไซม์ในเนื้อเยื่อพืช (Kijwijan, 2004; Prasertsongskun, 2006) จึงส่งเสริมการเจริญได้ดี อย่างไรก็ตามกล้วยไม้แต่ละชนิดตอบสนองต่อความเข้มข้นและชนิดของไซโทไคนินแตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานการเลี้ยงกล้วยไม้ *D. formosum* Roxb. ex Lindl. บนอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.1 mg/L เกิดยอดและใบได้สูง (Ritti *et al*., 2015) และรายงานการเลี้ยงกล้วยไม้ *D. nobile* Lindl. บนอาหาร ½MS ที่เติม TDZ 0.1 mg/L ชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด 34.8% (Wang *et al*., 2009) นอกจากนี้ยังพบรายงานการเลี้ยงชิ้นส่วนข้อกล้วยไม้ *D. nobile* Lindl. บนอาหาร MS ที่เติม TDZ 2.0 mg/L เกิดยอดสูงถึง 66% (Bhattacharyya *et al*., 2016) และรายงานของ Visittavanit and Tantiwiwat (2009) พบว่า *D. cariniferum* Rchb.f. เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม TDZ 10 µM เกิดต้นใหม่และใบมากสุด รวมถึงรายงานของ Chen *et al*. (2004) เลี้ยงกล้วยไม้ *P. philippinense* hybrids (PH59) บนอาหาร ½MS ที่เติม TDZ 0.45 µM เกิดยอดดีที่สุด อย่างไรก็ตามยังพบว่าการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองไม่ชักนำให้เกิดแคลลัสในทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 1) (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องทอง อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

*PGR	ความเข้มข้น (mg/L)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย	ความสูงเฉลี่ย (cm)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย
	control	25	1.38±0.12^{bc}	5.71±0.30^{a}	1.64±0.09^{bc}	85	2.48±0.26^{ab}
BA	0.1	20	1.30±0.11^{c}	5.73±0.32^{a}	1.89±0.11^{a}	55	2.05±0.40^{bc}
	0.5	15	1.20±0.08^{c}	5.80±0.24^{a}	1.57±0.07^{bc}	25	0.45±0.14^{ef}
	1.0	40	1.88±0.21^{a}	5.02±0.33^{a-d}	1.65±0.07^{abc}	37.5	0.70±0.17^{ef}
	2.0	32.5	1.45±0.12^{abc}	4.08±0.35^{d}	1.49±0.07^{c}	42.5	1.00±0.21^{def}
kinetin	0.1	15	1.30±0.14^{c}	5.40±0.32^{abc}	1.71±0.09^{abc}	75	2.43±0.33^{abc}
	0.5	10	1.23±0.11^{c}	4.60±0.36^{bcd}	1.46±0.09^{c}	60	1.70±0.28^{cd}
	1.0	17.5	1.45±0.17^{abc}	5.59±0.36^{ab}	1.77±0.11^{ab}	85	3.13±0.31^{a}
	2.0	32.5	1.83±0.21^{ab}	4.62±0.42^{bcd}	1.55±0.09^{bc}	62.5	2.05±0.34^{bc}
TDZ	0.1	47.5	1.85±0.18^{ab}	4.45±0.30^{cd}	1.59±0.06^{bc}	50	1.05±0.21^{de}
	0.5	37.5	1.85±0.22^{ab}	4.45±0.32^{cd}	1.54±0.06^{bc}	12.5	0.25±0.11^{f}
	1.0	27.5	1.28±0.09^{c}	2.07±0.30^{e}	1.20±0.06^{d}	45	0.85±0.16^{ef}
	2.0	35	1.63±0.16^{abc}	2.74±0.27^{e}	1.10±0.07^{d}	27.5	1.47±0.11^{ef}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT, *plant growth regulators

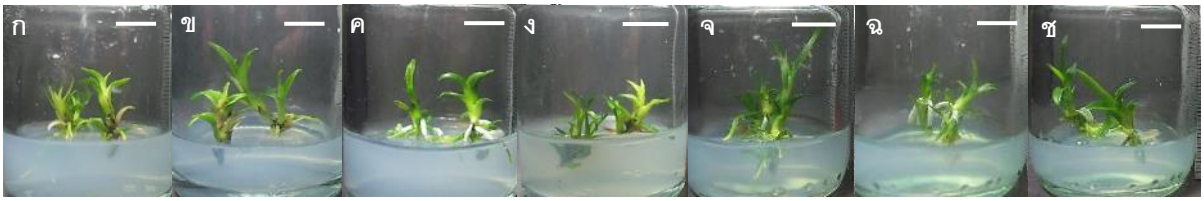
ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง

จากการศึกษาพบว่าต้นอ่อนเอื้องทองมีพัฒนาการเกิดยอด ใบและรากได้เหมือนผลของไซโทไคนิน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม NAA 2.0 mg/L เกิดยอดสูงสุด 42.5% มียอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.73 ยอดต่อต้น รวมถึงชักนำให้มีรากเฉลี่ยสูงสุด 4.40 รากต่อต้น เกิดรากสูง 100% สอดคล้องกับรายงานการเลี้ยงกล้วยไม้ *Dendrobium* บนอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 mg/L เกิดยอดเฉลี่ยสูงถึง 8.83 ยอดต่อต้น (Parvin *et al*., 2009) และรายงานการศึกษาเลี้ยงกล้วยไม้ *Oncidium* 'Gower Ramsey' บนอาหาร ½MS ที่เติม NAA 1.0 mg/L เกิดเอ็มบริออยด์ได้สูง (Chen and Chang, 2000) รวมถึงรายงานการเลี้ยงกล้วยไม้ *Cymbidium insigne* Rolfe บนอาหาร MS ที่เติม NAA 0.1 mg/L เกิดยอดได้ 27% (Nahar *et al*., 2012) นอกจากนี้พบว่ากล้วยไม้ *Bletilla striata* (Thunb.) Rchb.f. ที่เลี้ยงบนอาหาร Knudson C (Knudson, 1946) ที่เติม NAA 0.2 mg/L เกิดรากเฉลี่ยได้สูง (Kulpa and Katron, 2012) และการศึกษาเลี้ยงกล้วยไม้ *Satyrium nepalense* D.Don บนอาหาร MS ที่เติม NAA 16.11 µM ชักนำให้เกิดรากสูง 3.6 รากต่อยอด (Mahendran and Bai, 2009) ขณะที่รายงานของ Hajong *et al*. (2013) พบว่ากล้วยไม้ *D. chrysanthum* Wall. ex Lindl. ที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA 10 mg/L เกิดรากสูงสุด 100% และรายงานเลี้ยงกล้วยไม้ *D. nobile* var. Emma White บนอาหาร phytotechnology (0753) ที่เติม NAA 1.0 mg/L เกิดรากได้สูง 65% (Asghar *et al*., 2011) เนื่องจากออกซินที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงมีคุณสมบัติกระตุ้นให้เซลล์ยืดตัว กระตุ้นการแบ่งเซลล์ กระตุ้นให้เกิด somatic embryo โดยเฉพาะกระตุ้นการเกิดราก (Prasertsongskun, 2006) อย่างไรก็ตามความเข้มข้นและชนิดของออกซินมีผลต่อการแสดงกิจกรรมทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้แต่ละชนิดต่างกัน (Kijwijan, 2004) (ตารางที่ 2) (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 2 ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องทอง อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

*PGR	ความเข้มข้น (mg/L)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย	ความสูงเฉลี่ย (cm)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย
	control	25	1.40±0.13^{a-d}	5.25±0.26^{bc}	1.53±0.06^{d}	92.5	3.00±0.26^{bcd}
NAA	0.1	10	1.10±0.05^{d}	5.88±0.26^{b}	1.71±0.08^{a-d}	75	2.30±0.30^{d}
	0.5	12.5	1.13±0.05^{cd}	6.06±0.28^{ab}	1.84±0.07^{ab}	97.5	3.00±0.21^{bcd}
	1.0	27.5	1.35±0.10^{bcd}	5.80±0.24^{b}	1.63±0.06^{bcd}	100	3.55±0.25^{b}
	2.0	42.5	1.73±0.16^{a}	5.83±0.30^{b}	1.84±0.08^{ab}	100	4.40±0.26^{a}
IAA	0.1	10	1.10±0.05^{d}	6.88±0.27^{a}	1.80±0.06^{abc}	95	3.35±0.28^{b}
	0.5	35	1.58±0.15^{ab}	4.56±0.27^{c}	1.59±0.06^{cd}	100	3.43±0.21^{b}
	1.0	25	1.30±0.09^{bcd}	5.83±0.37^{b}	1.53±0.05^{d}	92.5	2.48±0.21^{cd}
	2.0	27.5	1.50±0.16^{abc}	5.35±0.34b^{bc}	1.66±0.07^{bcd}	90	2.40±0.25^{cd}
IBA	0.1	27.5	1.40±0.12^{a-d}	5.86±0.27^{b}	1.54±0.06^{d}	97.5	3.43±0.22^{b}
	0.5	12.5	1.18±0.08^{cd}	6.15±0.28^{ab}	1.63±0.07^{bcd}	100	3.55±0.26^{b}
	1.0	10	1.13±0.06^{cd}	6.14±0.19^{ab}	1.92±0.08^{a}	97.5	3.18±0.25^{bc}
	2.0	15	1.30±0.18^{bcd}	6.09±0.27^{ab}	1.90±0.10^{a}	97.5	3.75±0.28^{ab}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT, *plant growth regulators



ภาพที่ 1 อาหาร MS ที่เติมไซโทไคนินและออกซินต่อการเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง (ก) สูตรควบคุม, (ข) BA 1.0 mg/L, (ค) kinetin 1.0 mg/L, (ง) TDZ 0.1 mg/L, (จ) NAA 2.0 mg/L, (ฉ) IAA 0.1 mg/L และ (ช) IBA 2.0 mg/L อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์ (scale bar = 1 cm)

ภาพที่ 2 อาหาร MS ที่เติม TDZ ร่วมกับ NAA ต่อการเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง (ก) สูตรควบคุม, (ข) NAA 0.1+TDZ 0.5 mg/L, (ค) NAA 0.5+TDZ 0.5 mg/L และ (ง) NAA 0.5+TDZ 1.0 mg/L อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องทอง

ต้นอ่อนเอื้องทองที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA 0.5 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.0 mg/L ส่งเสริมให้เกิดยอดได้สูงที่สุด 50% มียอดเฉลี่ยดีที่สุด 1.90 ยอดต่อต้น และใบเฉลี่ยสูง 5.68 ใบต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับอาหาร MS ที่เติม NAA 0.5 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.5 mg/L มียอดเฉลี่ยสูงถึง 1.80 ยอดต่อต้น และเกิดยอดสูง 43.33% สอดคล้องกับรายงานของ Tao *et al*. (2011) รายงานว่ากล้วยไม้ *C. faberi* Rolfe ที่เลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม NAA 0.5 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.0 mg/L เกิดยอดสูง 56.8% ขณะที่ Bhattacharyya *et al*. (2016) พบว่ากล้วยไม้ *D. nobile* Lindl. ที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA 0.5 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L เกิดยอดสูง 69% มียอดเฉลี่ยสูง 2.2 ยอดต่อต้น รวมถึงรายงานของ Chen and Chang (2000) เลี้ยงกล้วยไม้ *Oncidium* 'Gower Ramsey' บนอาหาร ½MS ที่เติม NAA 0.1 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.0 mg/L เกิดยอดได้ 18.8% ขณะที่รายงานการเลี้ยงกล้วยไม้ *C. insigne* Rolfe บนอาหาร MS ที่เติม NAA 1.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L เกิดยอดสูง 60% (Nahar *et al*., 2012) และรายงานของ Santarunai (2015) เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *D. friedericksianum* Rchb.f. บนอาหาร MS ที่เติม NAA 5 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.5 µM เกิดยอดเฉลี่ยได้ดี อย่างไรก็ตามพบว่าการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองบนอาหาร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ในความเข้มข้นต่ำเกิดยอดและรากได้ดี ลำต้นอวบใหญ่ เมื่อความเข้มข้น NAA สูงมากขึ้น มีแนวโน้มการเกิดยอดและรากลดลง เนื่องจากออกซินความเข้มข้นสูงมากเกินไปอาจมีผลยับยั้งกระบวนการเจริญด้านสัณฐานวิทยา (George and Sherrington, 1984; Naing *et al*., 2010) ขณะที่การเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองบนอาหารสูตรควบคุม มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุด 6.32 ใบต่อต้น และมีความสูงต้นเฉลี่ยมากที่สุด 2.43 เซนติเมตรต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับสูตรอื่นๆ รวมถึงทุกสูตรอาหารไม่เกิดแคลลัสและโปรโทคอร์ม (ตารางที่ 3) (ภาพที่ 2) อย่างไรก็ตามอัตราส่วนความเข้มข้นของออกซินและไซโทไคนินในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน

วิทยาและการเกิดอวัยวะของพืชต่างกัน กล่าวคือเมื่ออัตราส่วนของออกซินต่อไซโทไคนินสูงจะกระตุ้นให้เกิดราก เกิดคัพภะ ขณะที่การเกิดตาและยอดจะเกิดเมื่ออัตราส่วนต่ำ (Kijwijan, 2004; Razdan, 2002; Evans *et al*., 2003) รวมถึงการตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของออกซินกับไซโทไคนินจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนและชนิดของกล้วยไม้ (Chawla, 2002)

ตารางที่ 3 ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องทอง อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

NAA (mg/L)	TDZ (mg/L)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย	ความสูงเฉลี่ย (cm)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย
control		26.66	1.30±0.14^{bcd}	6.32±0.40^{a}	2.43±0.19^{a}	50	1.23±0.29^{a}
0.1	0.1	26.66	1.57±0.21^{a-d}	5.50±0.43^{a-d}	1.84±0.10^{b-e}	40	0.60±0.16^{b-e}
0.1	0.5	43.33	1.70±0.21^{abc}	4.29±0.26^{de}	1.85±0.09^{b-e}	70	0.93±0.14^{ab}
0.1	1.0	43.33	1.77±0.18^{ab}	5.06±0.42^{b-e}	1.72±0.07^{c-g}	43.33	0.67±0.16^{bcd}
0.1	2.0	43.33	1.70±0.17^{abc}	4.61±0.29^{cde}	1.76±0.07^{b-f}	43.33	0.73±0.19^{bc}
0.5	0.1	36.66	1.67±0.19^{abc}	6.00±0.53^{ab}	1.72±0.11^{c-g}	46.66	0.80±0.19^{b}
0.5	0.5	43.33	1.80±0.22^{ab}	4.60±0.35^{cde}	1.59±0.06^{efg}	40	0.70±0.20^{bc}
0.5	1.0	50	1.90±0.23^{a}	5.68±0.42^{abc}	1.99±0.09^{bc}	13.33	0.13±0.06^{f}
0.5	2.0	13.33	1.17±0.08^{cd}	4.89±0.28^{b-e}	1.50±0.06^{fg}	23.33	0.23±0.08^{def}
1.0	0.1	36.66	1.63±0.18^{abc}	6.01±0.41^{ab}	1.91±0.12^{b-e}	6.66	0.10±0.7^{f}
1.0	0.5	13.33	1.13±0.08^{cd}	4.91±0.31^{b-e}	1.63±0.10^{d-g}	10	0.20±0.11^{ef}
1.0	1.0	16.66	1.23±0.11^{bcd}	5.57±0.46^{abc}	1.96±0.10^{bcd}	10	0.20±0.12^{ef}
1.0	2.0	36.66	1.47±0.13^{a-d}	4.49±0.31^{cde}	1.62±0.09^{efg}	23.33	0.30±0.11^{c-f}
2.0	0.1	43.33	1.67±0.18^{abc}	4.79±0.41^{cde}	1.87±0.12^{b-e}	10	0.17±0.10^{ef}
2.0	0.5	6.66	1.07±0.05^{d}	4.15±0.21^{e}	1.40±0.07^{g}	10	0.10±0.06^{f}
2.0	1.0	36.66	1.57±0.16^{a-d}	4.29±0.24^{de}	1.76±0.09^{b-f}	0	0^{f}
2.0	2.0	30	1.70±0.24^{abc}	4.26±0.31^{e}	2.09±0.12^{b}	10	0.20±0.11^{ef}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

สรุปผลการวิจัย

การเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองในหลอดทดลองบนอาหาร MS ที่เติมไซโทไคนิน พบว่า TDZ ความเข้มข้นต่ำส่งเสริมการเกิดยอดได้ดีกว่าความเข้มข้นสูงซึ่งมีแนวโน้มลดลง ขณะที่การเติมออกซิน พบว่า NAA ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มการเกิดยอดได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ และการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องทองบนอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ในความเข้มข้นต่ำส่งเสริมการเจริญเติบโตโดยเกิดยอดและรากสูงและมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้น NAA เพิ่มสูงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยชีววิทยาพืช และโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

เอกสารอ้างอิง

Asghar, S., Ahmad, T., Hafiz, I.A. and Yaseen, M. (2011). *In vitro* propagation of orchid (*Dendrobium nobile*) var. Emma White. *African Journal of Biotechnology*, *10*(16), 3097 – 3103.

Bhattacharyya, P., Kmaria, S. and Tandon, P. (2016). High frequency regeneration protocol for *Dendrobium nobile* a model tissue culture approach for propagation of medicinally important orchid species. *South African Journal of Botany*, *104*, 232 – 243.

Chawla, H.S. (2002). *Introduction to plant biotechnology*. (2nd ed.) USA: Science Publishers.

Chen, J.T. and Chang, W.C. (2000). Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus cultures of *Oncidium* (Orchidaceae). *Plant Science, 160*, 87– 93.

Chen, Y., Goodale, U.M., Fan, X.L. and Gao, J.Y. (2015). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Paphiopedilum spicerianum* an orchid with an extremely small population in China. *Global Ecology and Conservation, 3,* 367 – 378.

Choopeng, S. (2015). Effect of plant growth regulators on growth and development of *in vitro Phaius tankervilleae* (Banks ex L' Hér.) Blume. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, *2*(2), 32 – 35. (in Thai)

Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, *11*, 1 – 42.

Evans, D.E., Coleman, J.O.D. and Kearns, A. (2003). *Plant cell culture*. London: Bios Scientific Publishers.

George, E.F. and Sherrington, P.D. (1984). *Plant propagation by tissue culture*: *Handbook and directory of commercial laboratories*. Basingstoke, England: Exegetics.

Hajong, S., Kumaria S. and Tandon P. (2013). Effect of plant growth regulators on regeneration potential of axenic nodal segments of *Dendrobium chrysanthum* Wall. ex Lindl. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *15*, 1425 – 1435.

Kijwijan, B. (2004). *Technology Introduction of Plant Tissue Culture for Plant Breeding*. Khon Kaen: Klangnanavittaya Press. (in Thai)

Knudson, L. (1946). A new nutrient for the germination of orchid seeds. *American Orchid Society Bulletin*, *15*, 214 – 217.

Kulpa, D. and Katron, J. (2012). Seed germination and plant development of *Bletilla striata in vitro*. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis, 293*(21), 51 – 60.

Mahendran, G. and Bai, V.N. (2015). Mass propagation of *Satyrium nepalense* D.Don. a medicinal orchid via seed culture. *Scientia Horticulturae*, *119*, 203 – 207.

Mary, S.S and Divakar, K.M. (2015). *In vitro* propagation of epiphytic orchid *Pholidota imbricata* Hook. of Western Ghats. *International Journal of Engineering Research & Technology, 4*(10), 107 – 112.

Marknoi, C. (2013). *Flora at Phu Suan Sai .* Chiang Mai: The Botanical Garden Organization, Ministry of Natural Resources and Environment. (in Thai)

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology, 15*, 473 – 497.

Nahar, S.J., Kazuhiko, S. and Haque, S.M. (2012). Effect of polysaccharides including elicitors on organogenesis in protocorm-like body (PLB) of *Cymbidium insigne in vitro*. *Journal of Agricultural Science and Technology, 2,* 1029 – 1033.

Naing, A.H., Park, I.S., Hwang, Y.J., Chung, J.D. and Lim, K.B. (2010). *In vitro* micropropagation and conservation of *Rhynchostylis retusa* BL. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *51*(5), 440 – 444.

Parvin, M.S., Haque, M.E., Akhter, F., Moniruzzaman. and Khaldun, A.B.M. (2009). Effect of different levels of NAA on *in vitro* growth and development of shoots of *Dendrobium* orchid. *Bangladesh Journal of Agricultural Research, 34*(3), 411 – 416.

Prasertsongskun, S. (2006). *Plant Tissue Culture for Plant Breeding*. Bangkok: Forepace Publishing House. (in Thai)

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

Ritti, W., Chourykaew, B., Kitcharoen, T. and Nontarak, K. (2015). Effects of auxins and cytokinins on growth and development of *in vitro* seedling culture of *Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl. In *Proceedings of the 9th Botanical Conference of Thailand*. (pp. 128 – 138). Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University. (in Thai)

Ritti, W., Chourykaew, B., Phrombangyuan, P. and Thaksin, S. (2016). Effect of chitosan on growth and development of *in vitro* seedling of *Panisea uniflora* (Lindl.) Lindl. *Songklanakarin Journal of Plant Science, 3*(4), 8 – 13. (in Thai)

Sangchanjiradet, S and Thangthong, J. (2015). *In vitro* seed culture of *Dendrobium delacourii* Guillaumin. *SDU Research Journal*, *8*(1), 109 – 118. (in Thai)

Santarunai, N. (2015). Effect of medium and plant growth regulator on development and flowering (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.) of orchid *in vitro*. In *The National Conference & Research Presentation 2015 "Create and Development to Approach ASEAN Community II".* (pp. 155 – 162). Nakhon Ratchasima College. (in Thai)

Sittisujjatham, S. (2006). *Wild Orchid of Thailand* (6th ed). Bangkok: Baan Lae Suan Printing. (in Thai)

Tao, J., Yu, L., Kong, F and Zhao, D. (2011). Effects of plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Cymbidium faberi* Rolfe. *African Journal of Biotechnology*, *10*(69), 15639 – 15646.

Thaithong, O. (2008). *Thai orchids.* (15th.) Bangkok: Baan Lae Suan Printing. (in Thai)

Tokaew, W., Chantaranothai, P. and Phonsena, P. (2015). *Orchids in Nam Nao National Park*. Khon Kaen: Klangnanavittaya Press. (in Thai)

Visittavanit, A. and Tantiwiwat, S. (2009). Effect of cytokinins and banana on growth and development of *Dendrobium cariniferum* Rchb.f. *in vitro* culture. In *Proceedings of 47th Kasetsart University Annual Conference: Plants*. (pp. 1 - 7). Kasetsart University. (in Thai)