บทความวิจัย

ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium* Green Lantern)

อนุพันธ์ กงบังเกิด* และ ธนากร วงษศา

บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงชิ้นส่วนต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium* Green lantern) อายุ 9 เดือน ความสูงประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร บนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง Vacin and Went (VW) (1949) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินชนิดต่างๆ ได้แก่ N^6-furfuryladenine (Kinetin) N^6-benzylaminopurine (BA) Thidiazuron (TDZ) N^6–isopentenyladenine (2iP) และ Zeatin ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่เติม Zeatin 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่มากที่สุด 3.6 ยอดต่อชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง ในขณะที่สูตรอาหารที่เติม Zeatin 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะชักนำให้มีความสูงยอด และความยาวรากมากที่สุด 3.5 และ 2.8 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สูตรอาหารที่เติม 2iP เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Zeatin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งเสริมให้มีการเพิ่มของจำนวนใบได้ดีที่สุดแต่ไม่แตกต่างกัน 4.1 ใบต่อยอด และการเติม 2iP เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะชักนำการสร้างรากมากที่สุด 6.8 รากต่อยอด ต้นอ่อนกล้วยไม้ใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง สามารถย้ายปลูกในสภาพแวดล้อมปกติภายนอกได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดถึง 89.6% ที่เวลา 8 สัปดาห์

คำสำคัญ: ไซโตไคนิน กล้วยไม้ลูกผสม การเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง การย้ายปลูก

หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: anupank73@hotmail.com

SWU Sci. J. Vol. 23 No. 2 (2007)

Effect of Cytokinins on Growth and Development of Young Shoots of *Dendrobium* Hybrid (*Dendrobium* Green Lantern)

Anupan Kongbangkerd* and Thanakorn Wongsa

ABSTRACT

In vitro shoot culture of *Dendrobium* hybrid (*Dendrobium* Green Lantern) was investigated. Nine month olds of young shoots with 1.5-2 cm. in length were used as starting explants. Explants were cultured on semi-solid Vacin and Went (VW) (1949) medium supplemented with various types and concentrations of cytokinins; N^6-furfuryladenine (Kinetin), N^6-benzylaminopurine (BA), Thidiazuron (TDZ), N^6–isopentenyladenine (2iP) and Zeatin at 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 and 5.0 mg/l for 10 weeks. The results shown that highest number of shoot regeneration (3.6 shoot per explants) was observed on the medium with 5.0 mg/l Zeatin whereas highest shoot length (3.54 cm in length) and root length (2.81 cm in length) were obtained when cultured on medium with 2.5 mg/l Zeatin. Adding either 0.1 mg/l of 2iP or 0.5 mg/l of Zeatin to the medium could promote better leaf formation (4.1 leaves per new shoot) whereas the medium with 0.1 mg/l of 2iP induced highest root formation (6.8 roots per shoot). New regenerated plantlets were succeeded to acclimatize in the greenhouse with 89.6% of survival.

Keywords: cytokinins, *Dendrobium* hybrids, *in vitro* culture, acclimatize in the greenhouse

Plant Tissue Culture Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University
*Corresponding author, e-mail: anupank73@hotmail.com

บทนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของไทย และประเทศไทยยังได้รับการยกย่องให้เป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญที่สุดของโลก ทำให้การผลิตกล้วยไม้ในประเทศไทยในปัจจุบันเป็นการผลิตเพื่อการค้าและการส่งออกเป็นส่วนใหญ่ จึงมีการศึกษาหาวิธีเพื่อลดต้นทุนการผลิต เพิ่มผลผลิต และปรับปรุงคุณภาพ โดยการสร้างพันธุ์ใหม่จากการผสมพันธุ์ข้ามสายพันธุ์ ในปัจจุบันนี้พบว่ามีกล้วยไม้ลูกผสมจากการผสมพันธุ์ข้ามชนิดและข้ามสกุลมากกว่า 30,000 คู่ผสม กล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี x เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium* Green Lantern) นั้นเป็นกล้วยไม้ที่มาจากการปรับปรุงพันธุ์เอื้องปากนกแก้ว เนื่องจากเอื้องปากนกแก้วเป็นกล้วยไม้ป่าไม่กี่ชนิดของโลกที่สามารถให้ดอกได้ตลอดทั้งปีประกอบกับลำต้นที่มีขนาดเล็กจึงมักมีศักยภาพสูงในการผลิตเป็นไม้กระถางหรือใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อผลิตลูกผสมที่มีคุณภาพ และความสวยงาม [1] เมื่อนำมาผสมกับเอื้องเงินหลวง จะได้กล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี (*Dendrobium* Dawn Maree) จากนั้นนำไปผสมกลับเอื้องปากนกแก้วก็จะได้กล้วยไม้ลูกผสม *Dendrobium* Green Lantern ซึ่งเป็นกล้วยไม้ลูกผสมที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่เป็นที่ต้องการของผู้ซื้อในตลาดต่างประเทศ และมีมูลค่าเพิ่มขึ้นขึ้นทุกปี

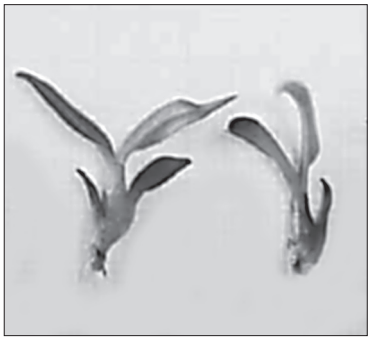
โดยทั่วไปแล้ว การขยายพันธุ์กล้วยไม้ด้วยเมล็ดในธรรมชาตินั้นทำได้ยาก เพราะเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากและมีอาหารสะสมอยู่น้อย การงอกของเมล็ดจึงต้องอาศัยอาหารจากเชื้อราไมคอร์ไรซา (mycorrhiza) ดังนั้นการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เป็นวิธีการที่ทำได้สำเร็จน้อยมาก [2] ผู้ปลูกเลี้ยงจึงใช้วิธีการขยายพันธุ์โดยการตัดแยกกอ ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ได้กับกล้วยไม้ประเภทแตกกอ เช่น กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลแคทลียา เป็นต้น แต่ปัญหาในการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้คือ สามารถเพิ่มปริมาณต้นทำได้ช้ามาก และในขั้นตอนการตัดแยกลำ อาจเกิดการระบาดของโรคทางบาดแผล ดังนั้นในการเพิ่มจำนวนให้ได้ปริมาณมากนั้นจำเป็นต้องใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว ทำให้ได้ต้นที่ปลอดโรคหลายชนิดที่ติดมากับต้น หรือหน่อ และถ้าใช้เทคนิคที่เหมาะสมจะสามารถผลิตต้นที่ปลอดจากเชื้อไวรัสได้อีกด้วย [3-5]

สารควบคุมการเจริญเติบโตจัดเป็นองค์ประกอบอาหารที่สำคัญอย่างหนึ่งซึ่งมีผลต่อการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะสารในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งจัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีบทบาทชักนำการแบ่งเซลล์และเกิดยอด แต่ยับยั้งการเกิดราก [6] โดยทั่วไปแล้ว ไซโตไคนินที่สามารถพบได้ในพืช ได้แก่ Zeatin และ 6-isopentenyladenine (2iP) และยังมีสารที่เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์ทางเคมีและมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับไซโตไคนิน ซึ่งเรียกว่าไซโตไคนินสังเคราะห์ ได้แก่ benzyladenine (BA), 6-furfurylaminopurine (Kinetin) และ phenylureas เช่น Thidiazuron (TDZ) [7-8] สำหรับไซโตไคนินที่นิยมใช้กับกล้วยไม้ประเภทแตกกอ นั้นสามารถส่งเสริมให้เกิดการสร้าง protocorm-like bodies (PLBs) ในกล้วยไม้หลายสกุล [9] การใช้ไซโตไคนินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีส่วนสำคัญในการชักนำให้เนื้อเยื่อพืชเกิดต้นเล็กๆ จำนวนมาก เช่น ในกล้วยไม้สกุล *Cattleya* [10-11] ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการทดลองเพื่อศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี x เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium* Green Lantern) อันจะเป็นแนวทางสำหรับการขยายพันธุ์ให้ได้ต้นจำนวนมาก ในเวลาอันรวดเร็วต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

นำต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern ที่มีความสูงเฉลี่ยประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร มีใบ 3-4 ใบ (รูปที่ 1) ซึ่งเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้ออายุ 9 เดือน มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW (1949) [12] ที่เติมกล้วยหอมบด 5 เปอร์เซ็นต์ ผงถ่านกัมมันต์ 0.02 เปอร์เซ็นต์ และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน 5 ชนิด ได้แก่ Kinetin BA TDZ 2iP และ Zeatin ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงไว้ในห้องที่ควบคุมให้มีที่มีความเข้มแสง 40 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ ได้รับแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลโดยวางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) จำนวน 30 ซ้ำ บันทึกข้อมูลโดยนับจำนวนใบ จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนราก และวัดความสูงของยอดใหม่และความยาวราก พร้อมกับบันทึกภาพ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง แล้วนำข้อมูลที่บันทึกได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากนั้นแยกต้นอ่อนที่ได้จากการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นต้นที่มีความสูงน้อยกว่า 2.5 เซนติเมตร และกลุ่มที่ 2 เป็นต้นที่มีความสูงมากกว่า 2.5 เซนติเมตร เพื่อศึกษาถึงขนาดของต้นอ่อนที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโต โดยนำมาปลูกในเรือนเพาะชำ ในกระถางดินเผาโดยใช้ถ่านเป็นวัสดุปลูก และวางเลี้ยงในตะกร้าที่คลุมด้วยถุงพลาสติก รดน้ำเวลาเช้าและเย็น สังเกตการเปลี่ยนแปลงของกล้วยไม้และอัตราการรอดชีวิตทุกสัปดาห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์



รูปที่ 1 แสดงชิ้นส่วนต้นอ่อนเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ Kinetin, BA, TDZ, 2iP และ Zeatin ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าไซโตไคนินแต่ละชนิดและต่างความเข้มข้นให้ผลต่อการเจริญและพัฒนาของกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern ที่แตกต่างกัน [ดังแสดงในตาราง 1 และรูป 2 (ก-ง)] กล่าวคือ เมื่อพิจารณาจำนวนใบ พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA และ 2iP มากขึ้น จะมีแนวโน้มต้นอ่อนสามารถ

สร้างใบได้ลดลง ในขณะที่ความเข้มข้นของ Zeatin, Kinetin และ TDZ ที่เพิ่มขึ้นนั้น สามารถชักนำให้สร้างใบได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามอาหารสูตรที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลให้ต้นอ่อนสามารถสร้างใบได้มากที่สุดที่ 4.1 ใบต่อต้น

จากการทดลองศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนินต่อการสร้างยอดใหม่ พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง VW ที่เติม Zeatin ความเข้มข้นสูงๆ ที่ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.6 ยอดต่อต้น แตกต่างจากอาหารสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกับการทดลองของ Nayak และคณะ (2002) [13] ที่ทำการศึกษาผลของ Zeatin และสามารถชักนำให้เกิด PLBs จากชิ้นส่วนของ *Cymbidium aloifolium* ได้ถึง 89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม Zeatin ความเข้มข้นที่สูงถึง 14.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่การเพิ่มความเข้มข้นของไซโตไคนินที่ใช้ในการทดลองดังกล่าวมีแนวโน้มที่จะทำให้จำนวนยอดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

และเมื่อพิจารณาถึงความยาวยอดของต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ พบว่า อาหารสูตรที่เติมไซโตไคนินทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มยับยั้งการเจริญของยอด แต่สูตรอาหารที่มีแนวโน้มชักนำให้ยอดเจริญได้ดีที่สุดคือสูตรอาหารที่เติม Zeatin ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ความสูงยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.5 เซนติเมตร ซึ่งให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Coleman และ Ernst (1990) [14] ที่รายงานว่า การเจริญของปลายยอดของต้น *Populus deltoides* นั้น จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของ Zeatin ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการทดลองที่กล่าวมาจะให้ผลในทางตรงกันข้ามกับผลการทดลองของ Nayak และคณะ (1997) [15] ที่แสดงให้เห็นว่า การเติม TDZ ความเข้มข้นในช่วง 2.2-4.5 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 5.4 ไมโครโมลาร์ จะมีผลชักนำให้เกิดการเจริญของชิ้นส่วนปลายยอดของกล้วยไม้ *Cymbidium aloifolium* (L.) *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch. และ *Dendrobium moschatum* (Buch-Ham) Sw. ดีกว่าการเติม Zeatin แต่จะไม่ช่วยให้มีการแตกหน่อเพิ่มมากขึ้น รวมไปถึงรายงานการทดลองของ Park และคณะ (2002, 2003) [16, 17] ที่แสดงให้เห็นว่า TDZ มีอิทธิพลต่อการชักนำการเกิดกระบวนการเกิดเป็นยอดใหม่ได้เป็นจำนวนมากผ่านสัณฐานวิทยาการเปลี่ยนแปลงแบบ organogenesis และแบบ embryogenesis ดีกว่าการใช้ Zeatin โดยในรายงานผลการทดลองของ Park ในปี 2002 [16] แสดงให้เห็นว่า TDZ นั้น ให้ผลการเกิดยอดใหม่มากกว่า Zeatin เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนแบบบางที่ได้จากการตัดตามขวาง (thin cross section) ของใบ *Doritaenopsis* hybrid บนอาหารดัดแปลงสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ที่เติม TDZ 9.0 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการชักนำการเกิด PLBs และเกิดยอดใหม่ได้เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ รายงานผลการทดลองของ Park และคณะ ในปี 2003 [17] ยังพบว่า ชิ้นส่วนปลายรากของ *Doritaenopsis* ที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม TDZ 2.3 ไมโครโมลาร์ จะชักนำให้เกิด PLBs ได้มากที่สุดถึง 47.2 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าการใช้ Zeatin และไซโตไคนินชนิดอื่นๆ ซึ่งผลการทดลองที่แตกต่างกันนี้ อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของชิ้นส่วนที่ใช้หรือชนิดและสายพันธุ์ของกล้วยไม้ จึงทำให้กล้วยไม้มีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกันออกไปด้วย [13]

นอกจากนี้ยังพบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการสร้างรากได้จำนวนเฉลี่ยมากที่สุด 6.8 รากต่อต้น ซึ่งจำนวนรากเฉลี่ยที่เกิดขึ้นนั้น ให้ผลการทดลองสอดคล้องกับโกวิท (2542) [18] ที่พบว่า ยอดที่พัฒนาจาก PLBs ของเอื้องปากนกแก้ว ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม BA และ/หรือ 2iP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีขึ้นอีกด้วย จากผลการทดลองพบว่า การที่ต้นอ่อนกล้วยไม้สามารถสร้างรากได้นั้น อาจเนื่องมาจากในอาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่ใช้ในการทดลองมีการเติมกล้วยหอม และผงถ่าน ซึ่งกล้วยหอมมีฮอร์โมนจำพวกออกซิน [19, 20] ส่วนถ่านทำให้กล้วยไม้สกุล *Dendrobium* มีการพัฒนาของรากได้ดี [21] ซึ่งอาจเป็นเพราะผงถ่านทำให้เกิดสภาพที่มืดในอาหาร และการทำงานของออกซินเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพจึงชักนำให้เกิดรากและมีการพัฒนาของรากดีขึ้น [22] และจากผลของไซโตไคนินต่อการยืดยาวของราก พบว่า อาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม Zeatin ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่นอกจากจะมีผลช่วยให้มีจำนวนยอดเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของยอดมากที่สุดแล้ว ยังสามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนสร้างรากได้ยาวที่สุด 2.9 เซนติเมตร อีกด้วย

ตารางที่ 1 แสดงผลของฮอร์โมนไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern ที่เวลา 10 สัปดาห์

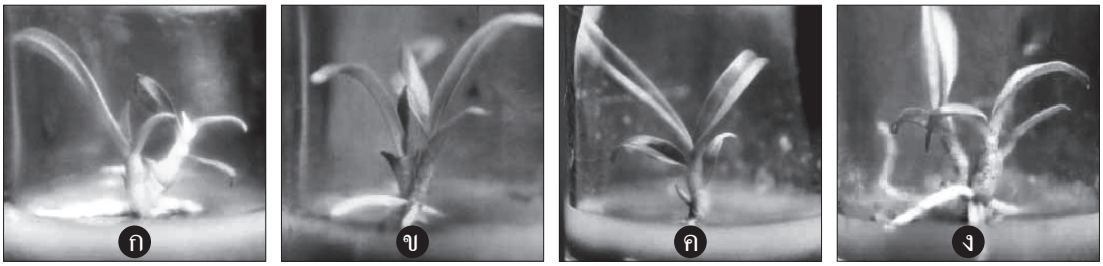
ฮอร์โมน	ปริมาณ (mg/l)	จำนวนใบ (Mean ± SE)	จำนวนยอด (Mean ± SE)	ความยาวยอดเฉลี่ย (Mean ± SE)**	จำนวนรากเฉลี่ย (Mean ± SE)	ความยาวรากเฉลี่ย (Mean ± SE)**
No hormone	0.0	$3.0\pm0.27^{bc*}$	1.8 ± 0.21^{b}	2.3 ± 0.25^{def}	3.0 ± 0.34^{g}	1.5 ± 0.16^{def}
Kinetin	0.1	3.6 ± 0.14^{abc}	1.6 ± 0.15^{b}	2.6 ± 0.20^{bcdef}	4.3 ± 0.38^{cdefg}	1.5 ± 0.10^{def}
	0.5	3.5 ± 0.29^{abc}	1.4 ± 0.12^{b}	3.0 ± 0.28^{abcde}	5.0 ± 0.54^{abcdefg}	1.6 ± 0.01^{cdef}
	1.0	3.2 ± 0.22^{abc}	1.5 ± 0.19^{b}	3.0 ± 0.29^{abcde}	5.2 ± 0.61^{abcdef}	1.5 ± 0.11^{def}
	2.5	3.5 ± 0.27^{abc}	1.8 ± 0.24^{b}	3.0 ± 0.24^{abcde}	4.4 ± 0.41^{bcdefg}	1.8 ± 0.16^{bcdef}
	5.0	3.3 ± 0.22^{abc}	1.6 ± 0.22^{b}	2.2 ± 0.25^{ef}	3.6 ± 0.47^{fg}	1.3 ± 0.12^{efg}
BA	0.1	3.5 ± 0.20^{abc}	1.8 ± 0.20^{b}	2.2 ± 0.22^{ef}	4.0 ± 0.54^{efg}	1.4 ± 0.15^{defg}
	0.5	3.3 ± 0.24^{abc}	1.9 ± 0.25^{b}	2.7 ± 0.25^{bcdef}	4.4 ± 0.57^{cdefg}	1.3 ± 0.11^{efg}
	1.0	3.3 ± 0.25^{abc}	1.9 ± 0.19^{b}	2.6 ± 0.24^{bcdef}	4.9 ± 0.59^{cdefg}	1.4 ± 0.01^{defg}
	2.5	3.3 ± 0.20^{abc}	1.9 ± 0.22^{b}	2.1 ± 0.25^{cdef}	4.3 ± 0.72^{abcdefg}	1.7 ± 0.12^{bcdef}
	5.0	2.9 ± 0.23^{c}	2.3 ± 0.31^{b}	2.6 ± 0.27^{bcdef}	4.0 ± 0.57^{efg}	1.8 ± 0.14^{bcdef}

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ฮอร์โมน	ปริมาณ (mg/l)	จำนวนใบ (Mean ± SE)	จำนวนยอด (Mean ± SE)	ความยาวยอดเฉลี่ย (Mean ± SE)**	จำนวนรากเฉลี่ย (Mean ± SE)	ความยาวรากเฉลี่ย (Mean ± SE)**
TDZ	0.1	3.2±0.21^{bc}	2.0±0.21^{b}	2.5±0.22^{bcdef}	3.7±0.38^{fg}	1.6±0.15^{cdef}
	0.5	3.5±0.27^{abc}	1.7±0.18^{b}	2.6±0.26^{bcdef}	3.8±0.39^{fg}	1.6±0.01^{cdef}
	1.0	3.3±0.20^{abc}	1.9±0.18^{b}	2.4±0.25^{cdef}	4.1±0.45^{defg}	1.7±0.19^{bcdef}
	2.5	3.3±0.30^{abc}	2.2±0.43^{b}	2.4±0.27^{cdef}	4.1±0.49^{defg}	1.5±0.14^{def}
	5.0	3.2±0.26^{abc}	1.5±0.23^{b}	2.2±0.18^{ef}	3.8±0.33^{efg}	1.4±0.14^{defg}
2iP	0.1	4.1±0.19^{a}	2.1±0.46^{b}	3.3±0.31^{ab}	6.8±0.78^{a}	2.2±0.13^{bc}
	0.5	3.8±0.25^{ab}	1.7±0.26^{b}	3.0±0.27^{abcde}	4.7±0.59^{bcdefg}	2.0±0.18^{bcde}
	1.0	3.7±0.25^{abc}	2.1±0.27^{b}	2.7±0.21^{bcdef}	6.1±0.57^{abcd}	2.0±0.12^{bcd}
	2.5	3.5±0.28^{abc}	2.1±0.20^{b}	2.9±0.23^{abcdef}	5.4±0.66^{abcdef}	1.9±0.19^{bcde}
	5.0	3.3±0.24^{abc}	2.1±0.24^{b}	2.7±0.19^{bcdef}	5.4±0.70^{abcdef}	1.8±0.19^{bcdef}
Zeatin	0.1	3.4±0.28^{abc}	2.0±0.25^{b}	3.2±0.24^{abc}	6.4±0.73^{ab}	2.2±0.15^{b}
	0.5	4.1±0.35^{a}	1.8±0.21^{b}	3.2±0.20^{abc}	5.9±0.49^{abcde}	1.9±0.11^{bcde}
	1.0	3.8±0.26^{ab}	2.3±0.27^{b}	3.2±0.29^{abc}	6.3±1.38^{abc}	2.0±0.12^{bcd}
	2.5	3.7±0.18^{abc}	1.7±0.18^{b}	3.5±0.29^{a}	6.3±1.38^{abcdef}	2.8±0.12^{a}
	5.0	3.4±0.36^{abc}	3.6±0.38^{a}	2.6±0.20^{bcdef}	5.5±0.93^{abcdef}	0.9±0.11^{g}

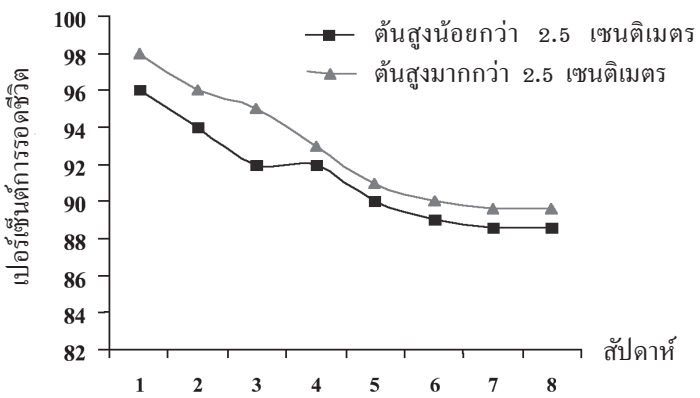
หมายเหตุ: * ตัวอักษรที่แตกต่างในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

** ค่าเฉลี่ยของความยาวที่มีหน่วยเป็นเซนติเมตร



รูปที่ 2 ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW (2549) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
ก. ที่ไม่เติมฮอร์โมน
ข. เติม Kinetin 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ค. เติม BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ง. เติม TDZ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการทดลองนำเอาต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern ออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกห้องทดลอง สำหรับต้นที่มีความสูงน้อยกว่า 2.5 เซนติเมตร พบว่า ส่วนของลำต้นและใบจะเหี่ยวลงมาก และไม่ค่อยเจริญเติบโต ส่วนต้นอ่อนในกลุ่มที่มีความสูงมากกว่า 2.5 เซนติเมตรนั้น พบว่า ใบจะยืดยาวแผ่ขยายและเริ่มมีรากงอกใหม่ออกมาจากโคนต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความชื้นสัมพัทธ์ภายในบรรยากาศ บริเวณที่ทำการปลูกเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดังกล่าวไม่เพียงพอ จึงทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่มีความสูงน้อยกว่า 2.5 เซนติเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กไม่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาได้ดีเหมือนกับต้นอ่อนที่มีความสูงมากกว่า 2.5 เซนติเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาได้ดี และจากผลการทดลอง พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern ที่มีความสูงน้อยกว่า 2.5 เซนติเมตร และต้นกล้วยไม้ที่ความสูงมากกว่า 2.5 เซนติเมตร จะมีแนวโน้มให้อัตราการรอดชีวิตลดลงหลังจากเวลาผ่านไป และไม่แตกต่างกันทางสถิติกล่าวคือ 88.6 เปอร์เซ็นต์ และ 89.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมปกติภายนอกเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ (รูปที่ 3 และรูปที่ 4)



รูปที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern หลังการย้ายออก ปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

รูปที่ 4 ลักษณะของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern ต้นกล้วยไม้ที่มีความสูงน้อยกว่า 2.5 เซนติเมตร (ซ้าย) และต้นกล้วยไม้ที่มีความสูงมากกว่า 2.5 เซนติเมตร (ขวา) ภายหลังการย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนของกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern จะชักนำให้ต้นอ่อนที่เจริญเติบโตบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Zeatin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้จำนวนใบเฉลี่ย (4.1 ใบต่อต้น) สูงที่สุด ในขณะที่อาหารสูตรที่เติม Zeatin 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าความยาวยอดและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 3.5 เซนติเมตร และ 2.8 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยที่ Zeatin 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่า จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.6 ยอดต่อชิ้นส่วน อย่างไรก็ตาม ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรดัดแปลง VW ที่เติม 2iP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คิดเป็น 6.8 รากต่อยอด โดยต้นอ่อนกล้วยไม้ *Dendrobium* Green Lantern ที่มีขนาดความสูงน้อยกว่า 2.5 เซนติเมตร และมากกว่า 2.5 เซนติเมตรขึ้นไปนั้น เมื่อนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ จะมีอัตราการรอดชีวิต คือ 88.6 เปอร์เซ็นต์ และ 89.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการดำเนินการวิจัย ทำให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Kamemoto, H. and Sagarik, R. 1975. Beautiful Thai Orchid Species. Bangkok. Akornsampan Press. p. 186.
2. ปฐพีชล วายุอัคคี. 2547. คู่มือกล้วยไม้. กรุงเทพฯ. แพ็ท-แพล็น พับลิชชิ่ง.

3. ไมตรี ปทุมวงษ์. 2541. ไม้ดอกเศรษฐกิจ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ. อักษรสยามการพิมพ์.
4. มาลินี อนุพันธ์สกุล. 2542. กล้วยไม้. พิมพ์ครั้งที่ 3. นนทบุรี. สำนักพิมพ์เกษตรบุ๊ค พับลิเคชั่น.
5. Roy, J. and Banerjee, N. 2003. Induction of Callus and Plant Regeneration from Shoot-Tip Explants of *Dendrobium fimbriatum* Lindl. var. *oculatum* Hk. F. *Scientia Horticulturae* 97: 333-340.
6. Pierik, R. L. M. 1989. *In vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Netherland. p. 344.
7. Fosket, D. E. 1994. Plant Growth and Development. New York. Academic Press. p. 580.
8. Sutter, E. G. 1996. General Laboratory Requirements, Media and Sterilization Methods. In: Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Edited by Trigiano, R. N. and Gray, D. I., Boca Raton. CRC Press, Inc. p. 11-25.
9. Arditti, J. 1977. Clonal Propagation of Orchids by Means of Tissue Culture- A Manual, In: Orchid Biology II. Arditti, J. (Ed.) New York. Cornell University Press. p. 203-293.
10. Pierik, R. L. M. and Steegmans, H. H. M. 1972. The Effect of 6-Benzylaminopurine on Growth and Development of *Cattleya* Seedlings Grown from Unripe Seed. *Zeischriften fuer Pflanzenphysiologie* 68: 228-234.
11. Kusumoto, M. 1979. Effects of Combinations of Growth Regulators and of Some Supplements on the Growth of *Cattleya* Plantlets Cultured *in vitro*. *Journal of Japanese Society for Horticultural Science* 47: 502- 510.
12. Vacin, E. and Went, F. 1949. Some pH Changes in Nutrient Solutions. *Botanical Gazette* 110: 605-613.
13. Nayak, N. R., Patnaik, S., Rath, S. P. and Sahoo, S. 2002. Establishment of Thin Cross Section (TCS) Culture Method for Rapid Micropropagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. and *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). *Scientia Horticulturae* 94: 107-116.
14. Coleman, G. D. and Ernst, S. G. Axillary Shoot Proliferation and Growth of *Populus deltoides* Shoot Cultures. *Plant Cell Report* 9: 165-167.
15. Nayak, N. R., Patnaik, S. and Rath, S. P. 1997. *In vitro* Propagation of Three Epiphytic Orchids, *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw., *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch. and *Dendrobium moschatum* (Buch-Ham) Sw. Through Thidiazuron-Induced Frequency Shoot Proliferation. *Scientia Horticulturae* 71: 243-250.

16. Park, S. Y., Yeung, E. C. and Chakrabarty, D. 2002. An Efficient Direct Induction of Protocorm-Like Bodies from Leaf Subepidermal Cells *Doritaenopsis* Hybrid Using Thin-Section Culture. *Plant Cell Reports* 21: 46-51.
17. Park, S. Y., Murthy, H. N. and Paek, K. Y. 2003. Protocorm-Like Body Induction and Subsequent Plant Regeneration from Root Tip Cultures of *Doritaenopsis*. *Plant Science* 164: 919-923.
18. โกวิท กิติตระกูลญะนันท์. 2542. การอนุรักษ์และขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องปากนกแก้วโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
19. Steward, F. C. and Simonds, N. W. 1964. Growth-Promoting Substances in the Ovary and Immature Fruit of Banana. *Nature* 173: 1083-1084.
20. Dix, L. and Standen, V. 1982. Auxin and Gibberellin-Like Substance in Coconut Milk and Malt Extract. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 1: 239-245.
21. Wang, P. D. and Huang, L. C. 1976. Beneficial Effect of Activated Charcoal on Plant Tissue and Organ Cultures. *In vitro,* 12: 260-262.
22. Ernst, R. 1974. The Use of Activated Charcoal in Asymbiotic Seedling Culture of *Paphiopedilum*. *American Orchid Society Bulletin* 43: 35-38.

ได้รับบทความวันที่ 24 กรกฎาคม 2550
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 5 พฤศจิกายน 2550