



ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือ

สมพร ประเสริฐสงสกุล และ ชูไรดา มะ

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือ โดยนำปลายใบ ช่อ และปลายยอด มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม Benzyladenine (BA) และ Kinetin (KN) 5 ระดับความเข้มข้น (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล.) และ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 4 ระดับความเข้มข้น (0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล.) ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดมีการเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ในสูตรอาหาร MS เติมชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ ในด้านจำนวนราก จำนวนใบ น้ำหนักสดและจำนวนหน่อ ในขณะที่ความสูงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในสูตรอาหารที่เติม BA 1.0 มก./ล. ให้ความสูง (5.83 ซม./ต้น) จำนวนใบ (5.50 ใบ/ต้น) และน้ำหนักสด (0.19 กรัม/ต้น) เฉลี่ยสูงสุด ส่วน 2,4-D 0.5 มก./ล. และ KN 0.5 มก./ล. ให้จำนวนราก (6.33 ราก/ต้น) และจำนวนหน่อ (4.67 หน่อ/ต้น) เฉลี่ยสูงสุดตามลำดับ

คำสำคัญ : สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เอื้องดอกมะเขือ กล้วยไม้



Effect of Plant Growth Regulator on Plant Tissue Culture of *Dendrobium hercoglossum* Rchb.f.

Somporn Prasertsongsun* and Suraida Ma*

ABSTRACT

Tissue culture of *Dendrobium hercoglossum* Rchb.f. from leaf tip, node and shoot tip was investigated. These explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with benzyladenine (BA) and kinetin (KN) at 5 different concentrations (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mg/L) and 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) at 4 different concentrations (0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mg/L). All cultures were incubated at 25 ± 2 °C under cool white fluorescent light at intensity of 2000 lux for a 16-h and maintained at 12 weeks. Shoot tip developed into plantlets on MS medium supplemented with different types and concentrations of plant growth regulators. The result showed no significant difference in roots, leaves, fresh weight and shoots whereas significant difference was obtained in shoot length. MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA gave the highest average number of shoot length (5.83 cm/plantlet), leaves (5.50 leaves/plantlet) and fresh weight (0.19 gram/plantlet), 0.5 mg/L 2,4-D and 0.5 mg/L KN gave the highest average number of roots (6.33 roots/plantlet) and shoots (4.67 shoots/plantlet), respectively.

Keywords : Plant growth regulator Plant tissue culture *Dendrobium hercoglossum*
Orchid

*Department of Science, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University Pattani Campus, Pattani, Thailand 94000

บทนำ

เอื้องดอกมะเขือเป็นกล้วยไม้สกุลหวายชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dendrobium hercoglossum* Rchb.f. พบมากที่จังหวัดชลบุรี จันทบุรี และตราด เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลำต้นรูปแท่งดินสอกลม โคนเรียว ยาว 20-30 เซนติเมตร ห้อยลง ใบคล้ายใบหญ้า กว้าง 0.7 เซนติเมตร ยาว 5-7 เซนติเมตร ดอก ออกเดี่ยวหรือเป็นช่อแขนงสั้น ๆ ตามข้อใกล้ปลายยอด กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีชมพูแกมม่วง ปลายกลีบสีเข้ม โคนกลีบสีจาง กลีบปากสีขาว มีแต้มสีม่วงแกมแดงที่โคนกลีบ ขอบกลีบสีชมพูแกมม่วง ฝักรอบกลุ่มเรณูสีม่วงเข้ม ดอกบานเต็มที่กว้าง 1.5-2 เซนติเมตร ออกดอกช่วงเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม (1) ปัจจุบันมีการนำกล้วยไม้มาประดับตกแต่งอาคารสถานที่ เนื่องจากมีสีสันสวยงาม ความต้องการของผู้บริโภคจึงมีมากขึ้น แต่กล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือมีปริมาณลดลง มีแนวโน้มเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ทั้งนี้เนื่องจากการตัดไม้ทำลายป่า และมีสาเหตุอีกประการหนึ่งจากมนุษย์ โดยมีการลักลอบนำกล้วยไม้ออกจากป่าเป็นจำนวนมาก ทำให้กล้วยไม้หลายชนิดใกล้สูญพันธุ์ ดังนั้นจึงควรมีการอนุรักษ์ไว้ ทำให้การขยายพันธุ์ในธรรมชาติไม่เพียงพอ จึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ ซึ่งสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและได้ปริมาณมาก (2) มีรายงานการศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในกล้วยไม้สกุลหวาย ตัวอย่างเช่น Shiau และคณะ (3) นำส่วนข้อของยอด *D. candidum* วางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติมน้ำมะพร้าว (BA) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ naphthaleneacetic acid (NAA) 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชักนำให้เกิดการแตกหน่อมากขึ้น 73.2% นอกจากนี้มีการศึกษาผลของ thidiazuron

(TDZ) ในการเพิ่มจำนวนยอดของ *D. Second Love* พบว่า TDZ ส่งผลให้ระดับ cytokinin และ indoleacetic acid (IAA) ภายในเซลล์สูงขึ้นทำให้เพิ่มจำนวนยอดได้มากขึ้น (4) สารควบคุมการเจริญเติบโตจึงมีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ สำหรับกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือมีการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวและเห็ดหูช้างที่มีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพโทคอร์มได้ (5) แต่ยังไม่มียางานการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ชนิดนี้ งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต่าง ๆ เพื่อให้ได้ต้นกล้วยไม้ปริมาณมาก

วิธีการ

การวิจัยผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือเป็นการวิจัยประยุกต์ เพื่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้ปริมาณมากโดยการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งการเตรียมพืชทดลองทำโดยนำต้นกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 10 เดือน ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี นำมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (6) เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน 0.5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ก่อนที่จะนำมาทดลอง เพื่อปรับสภาพของต้นกล้า

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือเริ่มจากการตัดส่วนปลายใบ ข้อ และปลายยอดของต้นกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือที่เตรียมไว้ โดยตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร

นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม BA หรือ Kinetin (KN) 5 ระดับความเข้มข้น (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล.) หรือ 2,4-Dichlorophenoxy-acetic acid (2,4-D) 4 ระดับความเข้มข้น (0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล.) โดยเพาะเลี้ยงที่สภาวะการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกความสูง จำนวนราก จำนวนใบ น้ำหนักสด และจำนวนหน่อ เปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ๆ ละ 30 ตัวอย่าง วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ที่ระดับความเชื่อมั่นไม่น้อยกว่าร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม EcStat

ผล

เมื่อนำเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือจากชิ้นส่วนปลายใบ ข้อ และปลายยอด วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ พบว่า เนื้อเยื่อส่วนปลายใบและข้อ ไม่มีการตอบสนองต่ออาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ลักษณะของปลายใบและข้อจะเหลืองและตายไปในที่สุด ขณะที่เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ จึงนำส่วนปลายยอดมาศึกษาการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดมีการเจริญเติบโตในทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 1) โดยจะเห็นได้ว่าอาหารทุกสูตรให้จำนวนราก จำนวนใบ น้ำหนักสด และจำนวนหน่อ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามสูตรอาหารที่เติม KN ทุกความเข้มข้นให้จำนวนหน่อมากกว่าเมื่อใช้ BA หรือ 2,4-D โดย KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อมากที่สุด 4.67 หน่อ/ต้น

สำหรับความสูงพบว่าสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ต้นพืชที่มีความสูงมากที่สุด 5.83 เซนติเมตรต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ (ภาพที่ 1)

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือในอาหารสูตร MS เต็ม BA หรือ KN หรือ 2,4-D ความเข้มข้นที่ให้ผลดีที่สุด พบว่าให้ลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 2) โดยกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือที่เจริญเติบโตในอาหารที่มี BA ให้ต้นของกล้วยไม้ที่อวบสูง รากผอมสั้น เมื่อเทียบกับที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในขณะที่ KN ให้ลำต้นผอมเตี้ย รากผอมสั้น ส่วน 2,4-D ให้ลำต้นผอมสูง รากอวบยาว ซึ่งการทดลองที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นการทดลองชุดควบคุม ไม่ได้เก็บข้อมูลเชิงปริมาณ เนื่องจากมีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างมาก แต่สามารถสังเกตผลจากลักษณะทางกายภาพได้อย่างชัดเจน

วิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่าส่วนปลายใบ และข้อ มีการเหลืองและตายไป ไม่มีการพัฒนาเกิดขึ้น หากสารควบคุมการเจริญเติบโตมีความเหมาะสม น่าจะมีการพัฒนาเกิด somatic embryogenesis ขึ้นมาได้ ซึ่ง embryo ที่พัฒนามาจากเซลล์ร่างกายนี้สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้จากรายงานของ Chung และคณะ (7) พบว่าส่วนปลายใบของกล้วยไม้ *Dendrobium Chiangmai* Pink. เกิด somatic embryogenesis ในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม cytokinin ซึ่งจากการทดลองได้แก่ BA, KN,

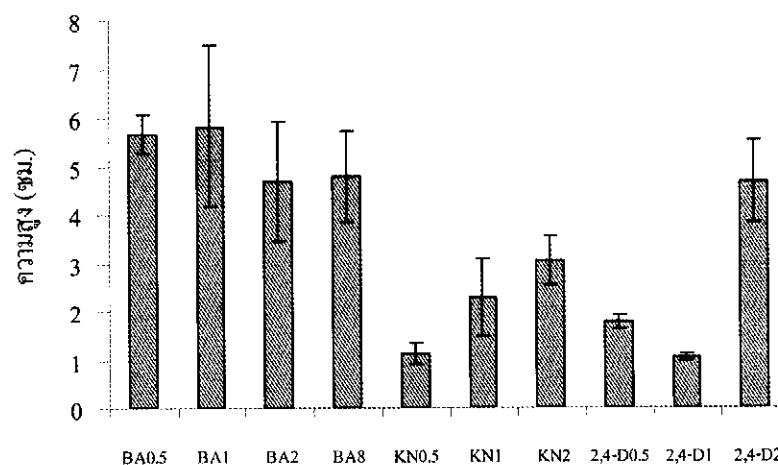
ตารางที่ 1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยไม้เื้องดอกมะเขือที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)	ความสูง (ซม./ต้น)	จำนวนราก (ราก/ต้น)	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)	จำนวนหน่อ (หน่อ/ต้น)
BA 0.5	5.68±0.41	5.50±0.85	4.67±0.21	0.16±0.04	2.50±0.50
BA 1.0	5.83±1.66	3.75±0.63	5.50±1.50	0.19±0.05	1.25±0.25
BA 2.0	4.68±1.23	4.25±1.32	3.50±0.50	0.13±0.04	2.50±0.29
BA 8.0	4.80±0.96	4.71±0.92	5.29±1.11	0.15±0.05	3.00±0.62
Kinetin 0.5	1.13±0.23	1.67±0.67	5.00±3.06	0.02±0.01	4.67±1.33
Kinetin 1.0	2.30±0.80	2.50±0.50	-	0.05±0.03	3.00±1.00
Kinetin 2.0	3.04±0.51	4.20±0.50	3.60±0.51	0.11±0.02	2.80±0.37
2,4-D 0.5	1.77±0.15	6.33±1.67	3.33±0.51	0.11±0.00	1.67±0.67
2,4-D 1.0	1.07±0.07	3.33±1.45	4.67±0.67	0.11±0.03	-
2,4-D 2.0	4.70±0.85	5.67±0.33	4.33±0.88	0.16±0.02	2.33±0.67
F-test	*	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±SE จากการทดลอง 30 ตัวอย่าง ไม่ได้แสดงค่าของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งหมด เนื่องจากข้อมูลที่ได้ไม่พอสำหรับการวิเคราะห์ทางสถิติ

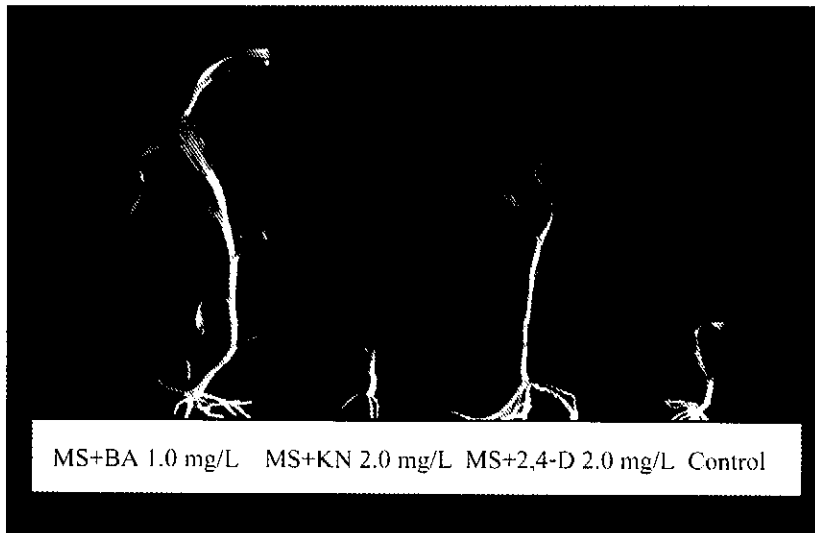
วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม EcStat

- * = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- ns = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- = ไม่สามารถเก็บผลได้ เนื่องจากเนื้อเยื่อตายหมด



ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มก./ล.)

ภาพที่ 1 ความสูงของกล้วยไม้เื้องดอกมะเขือที่ชักนำจากการเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดเมื่อใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือที่ชักนำจากส่วนปลายยอด ซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระดับต่าง ๆ อายุ 12 สัปดาห์

Zeatin, TDZ และ N⁶-[2-isopentenyl]-adenine (2iP) ส่วนการทดลองในเอื้องดอกมะเขือไม่มีการพัฒนาถึงแม้จะเป็นกล้วยไม้สกุลเดียวกัน อาจเป็นเพราะปัจจัยภายในของพืชที่แตกต่างกัน เช่น ปัจจัยทางพันธุกรรมของกล้วยไม้แต่ละชนิด อายุของชิ้นส่วนที่นำเพาะเลี้ยง (8) อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดของกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือสามารถเป็นต้นได้ เนื่องจากปลายยอดมีเนื้อเยื่อเจริญที่เรียกว่า tunica corpus เมื่อนำมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ให้สารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของลักษณะทางกายภาพอย่างชัดเจน

โดยภาพรวม BA ให้ลักษณะต้นที่อวบสูง มีใบจำนวนมาก รากพอมสั้น มีรายงานว่า BA ที่ความเข้มข้นสูง ๆ ในพืชทำให้เกิดรากลดลง (9) ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม KN ให้ลักษณะลำต้นพอมเตี้ย แต่ให้จำนวนหน่อมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหาร MS ที่เติม BA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ เนื่องจาก BA และ KN เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม

cytokinin มีสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของพืช การแบ่งเซลล์ การเจริญของตาข้าง ขณะที่ 2,4-D ให้ต้นกล้วยไม้ที่ไม่สมบูรณ์ แข็งแรงเท่ากับ BA แต่จะให้รากอวบยาว ทั้งนี้เพราะ 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม auxin ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติในการเร่งการเจริญเติบโตและกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การเกิดรากและการยึดตัวของเซลล์ (10) จากการทดลองนี้ หากต้องการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือให้ได้ต้นจำนวนมาก ควรใช้สูตรอาหาร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากให้จำนวนหน่อมากที่สุด ซึ่งเมื่อชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์จะได้ต้นจำนวนมากเพื่อการขยายพันธุ์ต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร. ภัทราวรรณ ทองคำชุม ภาควิชาคณิตศาสตร์และวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

1. วีระชัย ณ นคร: สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. โอ.เอส. พรีนติ้ง เฮาส์, กรุงเทพมหานคร. 291 หน้า, 2543.
2. สมพร ประเสริฐสงสกุล: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกับการปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์โพเพช, กรุงเทพมหานคร. 127 หน้า, 2549.
3. Shiau, Y.J., Nalawade, S.M., Hsia, C.N., Mulabagal, V. and Tsay, H.S.: *In vitro* propagation of the chinese medicinal plant, *Dendrobium candidum* Wall. Ex Lindl., from axenic nodal segments. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 41:666-670, 2005.
4. Ferreira, W.M., Kerbauy, G.B., Kraus, J.E., Pescador, R. and Suzuki, R.M.: Thidiazuron influences the endogenous levels of cytokinins and IAA during the flowering of isolated shoots of *Dendrobium*. *J. Plant Physiol.* 163: 1126-1134, 2006.
5. ปิยะวรรณ พระวิเศษ: อิทธิพลของเหตุหุซังและน้ำมะพร้าวที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องดอกมะเขือ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 62 หน้า, 2545.
6. Murashige, T. and Skoog, F.G.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15 (3): 473-479, 1962.
7. Chung, H.H., Chen, J.T. and Chang, W.C.: Cytokinins induce direct somatic embryogenesis of *Dendrobium* Chiangmai Pink. *Biol. Plant.* 41: 765-769, 2005.
8. รังสฤษฎ์ กาวิด๊ะ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลักการและเทคนิค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 219 หน้า, 2540.
9. Polisetty, R., Paul, V., Deveshwar, J.J., Khetarpal, S., Suresh, K. and Chandra, R.: Multiple shoot induction by benzyladenine and complete plant regeneration from seed explant of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Cell Reports.* 16: 565-571, 1997.
10. อารีย์ วรรณวัณก์: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. อติสรณ์, กรุงเทพมหานคร. 133 หน้า, 2541.