



อิทธิพลของ NAA ร่วมกับ BA หรือน้ำตาลซูโครส ต่อการเจริญของโปรโตคอร์มเอื้องคำกั่ว

(*Dendrobium signatum* Rchb.f.) ในหลอดทดลอง

Effect of NAA Combined with BA, or Sucrose on Growth of *Dendrobium signatum*

Rchb.f. Protocorms *in vitro*

แก้วลำพัน สีดาวง* ฤชฎา บุราไกร ธารว สุภพรม สุทธนา ปลอดสมบุญ และ อรัญญา พิมพ์มงคล

Keolamphanh Sidavong*, Kritsada Burakri, Thavorn Supaprom, Sutthana Plodsomboon and Aranya Pimmongkol

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

*E-mail : keolamphanh.si.62@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาอิทธิพลของ Naphthaleneaceticacid (NAA) Benzyladenine (BA) และน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องคำกั่ว (*Dendrobium signatum* Rchb.f.) ในหลอดทดลอง โดยเฉพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำกั่วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตรบนสูตรอาหาร 1/2MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 38 สัปดาห์ พบว่าจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวรากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นความกว้างของใบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยอาหารที่เติม NAA: BA ความเข้มข้น 1: 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นมากที่สุด 7.25 ต้นต่อขวด อาหารที่เติม NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้น ความกว้างใบ คือ 5.05 เซนติเมตร 0.40 เซนติเมตร ตามลำดับ อาหารที่เติม NAA:BA ที่ความเข้มข้น 0: 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนใบ ความยาวใบ คือ 5.50 ใบต่อต้น 2.25 เซนติเมตร ตามลำดับ อาหารที่เติม NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุด 8.25 รากต่อต้น และอาหารที่เติม NAA:BA ที่ความเข้มข้น 0.5: 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักน้ำให้มีความยาวรากสูงสุดคือ 1.27 เซนติเมตร การทดลองที่สองเป็นการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของเอื้องคำกั่วบนสูตรอาหาร 1/2MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 38 สัปดาห์พบว่าอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนต้น และจำนวนรากสูงสุดคือ 4.90 ต้นต่อขวด และ 8.80 รากต่อต้น ตามลำดับ อาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีความสูงต้นสูงสุดคือ 4.38 เซนติเมตร อาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนใบสูงสุดคือ 6.00 ใบต่อต้น อาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีความยาวใบ ความกว้างของใบ และความยาวรากสูงสุด คือ 2.16 เซนติเมตร 0.38 เซนติเมตร และ 1.56 เซนติเมตร ตามลำดับ ทุกพารามิเตอร์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

คำสำคัญ : เอื้องคำกั่ว Naphthaleneaceticacid Benzyladenine ซูโครส การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Abstract

This study was aimed to investigate the effect of naphthaleneaceticacid (NAA), benzyl adenine (BA) and sucrose on growth of *Dendrobium signatum* Rchb.f. protocorms *in vitro*. Protocorms with 0.5 mm diameter were cultured on 1/2MS (Murashige and Skoog, 1962) medium added with combinations of 0, 0.5



and 1 mg/l NAA with 0, 1, 2 and 4 mg/l BA for 38 weeks. The results showed that the number of shoots per bottle, shoot height, leaf number leaf length, number of roots and root length were significantly different. However, leaf width was not significantly different ($p > 0.05$). This study discovered that application of NAA:BA at 1: 4 mg/l increased the highest number of shoots as 7.25 shoots per bottle. The application of NAA:BA at 1: 1 mg/l promoted the highest of shoot height and leaf width as 5.05 cm, 0.40 cm, respectively. The application of NAA:BA at 0:1 mg/l the leaf number and leaf length as 5.50 leaves per shoot 2.25 cm, respectively. Moreover, the highest root number as 8.25 roots per shoot was promoted by application of NAA:BA at 1: 2 mg/l. Application of NAA:BA at 0.5:2 mg/l initiated the highest root length as 1.27 cm. The second experiment was *D. signatum* Rchb.f. protocorms culturing on $\frac{1}{2}$ MS medium added with 0, 10, 20, 30, 40 and 50 g/l sucrose for 38 weeks. It was found that the application of 30 g/l sucrose promoted the highest number of shoots and roots as 4.90 shoots per bottle and 8.80 roots per shoot. The medium added with 10 g/l sucrose promoted the highest leaf number as 6.00 leaves per shoot. The medium containing 20 g/l sucrose promoted the highest leaf length, leaf width and root length as 2.16 cm, 0.38 cm and 1.56 cm, respectively. All parameters were significantly different ($p > 0.05$).

Keywords : *Dendrobium signatum* Rchb.f., Naphthaleneaceticacid, Benzyl Adenine, Sucrose, Plant Tissue Culture

บทนำ

กล้วยไม้เอื้องคำกั่ว (*Dendrobium signatum* Rchb.f.) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย อยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีลักษณะรูปร่างต้นเป็นลำกลม โคนเรียวยาวเล็กน้อยและปล้องพองตรง ส่วนล่างสุด ผิวแห้งเป็นร่องตามยาว ขึ้นเป็นกอตรงหรือไม่มีทิศทางแน่นอน ใบรูปรี แผ่นใบค่อนข้างหนาและเหนียว ปลายมนหยักเว้าตื้น ๆ ใบเกิดตั้งแต่ช่วงกลางต้นขึ้นไป ก้านช่อดอกสั้น ขอบกลีบเป็นคลื่น ปลายบิดเล็กน้อย กลางกลีบปากบางพันธุ์สีเหลืองล้วน บางพันธุ์มีแต้มสีม่วงเข้ม ดอกบานทนมากกว่า 1 สัปดาห์ ออกดอก มีนาคม-พฤษภาคม แหล่งที่พบในประเทศไทยเป็นป่าดิบแล้งและป่าผลัดใบทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อบฉันท, 2543)

ปัจจุบันนี้กล้วยไม้หลายชนิดกำลังเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในธรรมชาติ จากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม และแหล่งที่อยู่อาศัยเนื่องจากการบุกรุกป่าการเก็บกล้วยไม้ป่าธรรมชาติเพื่อการค้าและการสะสมเป็นไม้ประดับทำให้กล้วยไม้ในป่าธรรมชาติลดจำนวนลงเรื่อย ๆ ตลอดมา และอาจสูญพันธุ์ได้ในที่สุดโดยเฉพาะชนิดที่มีประชากรและมีการกระจายพันธุ์แคบและเฉพาะเจาะจงต่อพื้นที่ทำให้โอกาสสูญพันธุ์เพิ่มมากขึ้น เอื้องคำกั่วในป่าธรรมชาติก็มีจำนวนลดลงเช่นเดียวกับกล้วยไม้ป่าชนิดอื่น ๆ ซึ่งเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เช่นกัน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทความสำคัญในการขยายพันธุ์พืชที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์พืชได้จำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งเป็นอีกทางเลือกสำหรับการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้โดยไม่ต้องคำนึงถึงฤดูกาล สามารถผลิตได้เพียงพอต่อความต้องการสำหรับการขยายพันธุ์ทางการค้า และการอนุรักษ์ และยังทำให้ได้ต้นใหม่ที่ปลอดโรคที่อาจติดมากับต้นพันธุ์เดิมได้ด้วย (คำณูณ, 2544) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ได้จากการสังเคราะห์หรือจากธรรมชาติสองกลุ่ม คือ ออกซิน (Auxins) และไซโตไคนิน (Cytokinins) ที่มีบทบาทสำคัญต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันออกไปโดยขึ้นอยู่กับปริมาณสารและอัตราส่วนระหว่างสารทั้งสองกลุ่มที่เหมาะสมต่อพืช กลุ่มที่ช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์พืชและกระตุ้นการเกิดรากเป็นสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA) Naphthaleneaceticacid (NAA) และ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ส่วนกลุ่มที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และกระตุ้นการเกิดยอดของเนื้อเยื่อพืชเป็นสารกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ benzyladenine (BA) และ kinetin (พรพิมล สุริยจันทร์หาทอง, 2545) ถ้าใช้สารทั้งสองกลุ่มนี้ในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน



จะชักนำให้เกิดแคลลัส ถ้ามีออกซินสูงกว่าไซโตไคนินจะชักนำให้เกิดราก และหากอัตราส่วนของไซโตไคนินสูงกว่าเมื่อเทียบกับออกซินจะชักนำให้เกิดยอด (ดวงพร, 2546)

นอกจากนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจำเป็นต้องใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการพัฒนาและการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ (Pierik, 1987) แม้ว่าพืชมีการสร้างน้ำตาลได้จากการสังเคราะห์แสงแต่ก็ยังไม่เพียงพอ จึงต้องเติมน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วย น้ำตาลที่นิยมเติมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ซูโครส (Sucrose) กลูโคส (Glucose) ฟรุคโตส (Fructose) และซอร์บิทอล (Sorbitol) ซูโครสเป็นน้ำตาลที่ได้รับความนิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากที่สุด เนื่องจากเป็นน้ำตาลที่พบมากที่สุดไหลในโฟลเอ็ม (Phloem) ของพืชและยังมีบทบาทต่อกระบวนการหลายอย่างในพืช (ศิวพงศ์, 2546)

มีงานวิจัยที่ศึกษาอิทธิพลของ NAA BA และซูโครสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้หลายชนิดในหลายสกุล เช่น *Coelogyne cristata* (Naing and Chung, 2011) *Laelia speciose* (Avila-Diaz, 2009) กระแจะร้อนด้ามขาว (*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) (ศิริพรและคณะ, 2561) และในสกุล *Dendrobium* อีกหลายชนิด เช่น เอื้องนางชี (*D. kontumense* Gagnep) (Senavongse, 2014) *D. sabin* H. (Rafique et al., 2013) *D. draconis* Rchb.f. (Rangsayatorn, 2009) เอื้องเอื้องแก้ว (*D. nobile*) (Laishram et al., 2019) เอื้องสายสามสี (*D. crystallinum*) (Lan, 2019) และเหลืองจันทร์บูร (*D. friedericksianum* Rchb.f.) (ธนชัยและอรุณญา, 2555) จากการศึกษาเหล่านี้ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด NAA และ BA รวมทั้งซูโครสมีบทบาทส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของพืช ดังนั้น ในงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด NAA ร่วมกับ BA และน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญของโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องคำแก้ว เพื่อใช้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องคำแก้วเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์กรรมต่อไป

วิธีการวิจัย

1. พืชทดลอง

โปรโตคอร์มของกล้วยไม้ของเอื้องคำแก้ว ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสังเคราะห์สูตร $\frac{1}{2}$ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่เติมฮอร์โมน

2. วิธีการ

การทดลองแรก นำโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตรมาเลี้ยงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และการทดลองที่สอง นำโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตรนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร ทุกสูตรอาหารเติมผงถ่าน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร และปรับระดับ pH 5.6-5.8 วางโปรโตคอร์ม จำนวน 5 โปรโตคอร์มต่อขวด จำนวน 10 ขวดต่อทรีตเมนต์ (Treatment) เพาะเลี้ยงในสภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 42 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 38 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองโดยการนับจำนวนต้น วัดความสูงของต้น จำนวนใบ ความยาวของใบ ความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวของราก ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Duncan's new Multiple Range Test) และการทดลองแรกวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD)



ตารางที่ 1 สูตรอาหาร ½MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

NAA(มิลลิกรัมต่อลิตร)	BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	4
0	NB1	NB2	NB3	NB4
0.5	NB5	NB6	NB7	NB8
1	NB9	NB10	NB11	NB12

ผลการวิจัย

จากการทดลองการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มบนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มี NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวรากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ยกเว้นความกว้างของใบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยสูตรอาหาร ½MS ที่มี NB12 (NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) สูงที่สุด 7.25 ต้นต่อขวด สูตรอาหาร ½MS ที่มี NB10 (NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความสูงที่สุด 5.05 เซนติเมตร และความเข้มข้นเดียวกันนี้ยังส่งเสริมให้มีความกว้างใบสูงสุด 0.40 เซนติเมตร สูตรอาหาร ½MS ที่มี NB2 (NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0: 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) จำนวนใบสูงสุด 5.50 ใบต่อต้น และความเข้มข้นเดียวกันนี้ยังส่งเสริมให้มีความยาวใบสูงสุด 2.25 เซนติเมตร และสูตรอาหาร ½MS ที่มี NB11 (NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีจำนวนรากสูงสุด 8.25 รากต่อต้น และสูตรอาหาร ½MS ที่มี NB7 (NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0.5: 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ชักน้ำให้มีความยาวรากสูงสุดคือ 1.27 เซนติเมตร (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1) เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี Two-way ANOVA หาความสัมพันธ์ระหว่าง สูตรอาหารที่เติม NAA และสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าความเข้มข้นของสูตรอาหารมีความสัมพันธ์หรืออิทธิพลต่อจำนวนต้น ความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก ส่วนสูตรอาหารที่เติม NAA และสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ความเข้มข้นของ สูตรอาหารไม่มีความสัมพันธ์หรืออิทธิพลต่อความกว้างของใบ (ตารางที่ 3)

จากการทดลองที่สองที่ได้เพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำก๊วบนสูตรอาหาร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 38 สัปดาห์ พบว่าจำนวนต้นต่อขวด ความสูงของต้น จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างของใบ จำนวนราก และความยาวรากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งอาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีจำนวนต้นสูงสุดคือ 4.90 ต้นต่อขวด ในความเข้มข้นเดียวกันนี้ยังส่งเสริมให้มีจำนวนรากสูงสุด 8.80 รากต่อต้น อาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีความสูงต้นสูงสุด 4.38 เซนติเมตร อาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตรส่งเสริมให้มีจำนวนใบสูงสุด 6.00 ใบต่อต้น อาหารสูตร ½MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีความยาวใบสูงสุด 2.16 เซนติเมตร และความเข้มข้นเดียวกันนี้ยังส่งเสริมให้มีความกว้างของใบสูงสุด 0.38 เซนติเมตร และชักน้ำให้มีความยาวรากสูงสุดคือ 1.56 เซนติเมตร (ตารางที่ 4 และภาพที่ 2)



ตารางที่ 2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำกั่ว ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 38 สัปดาห์

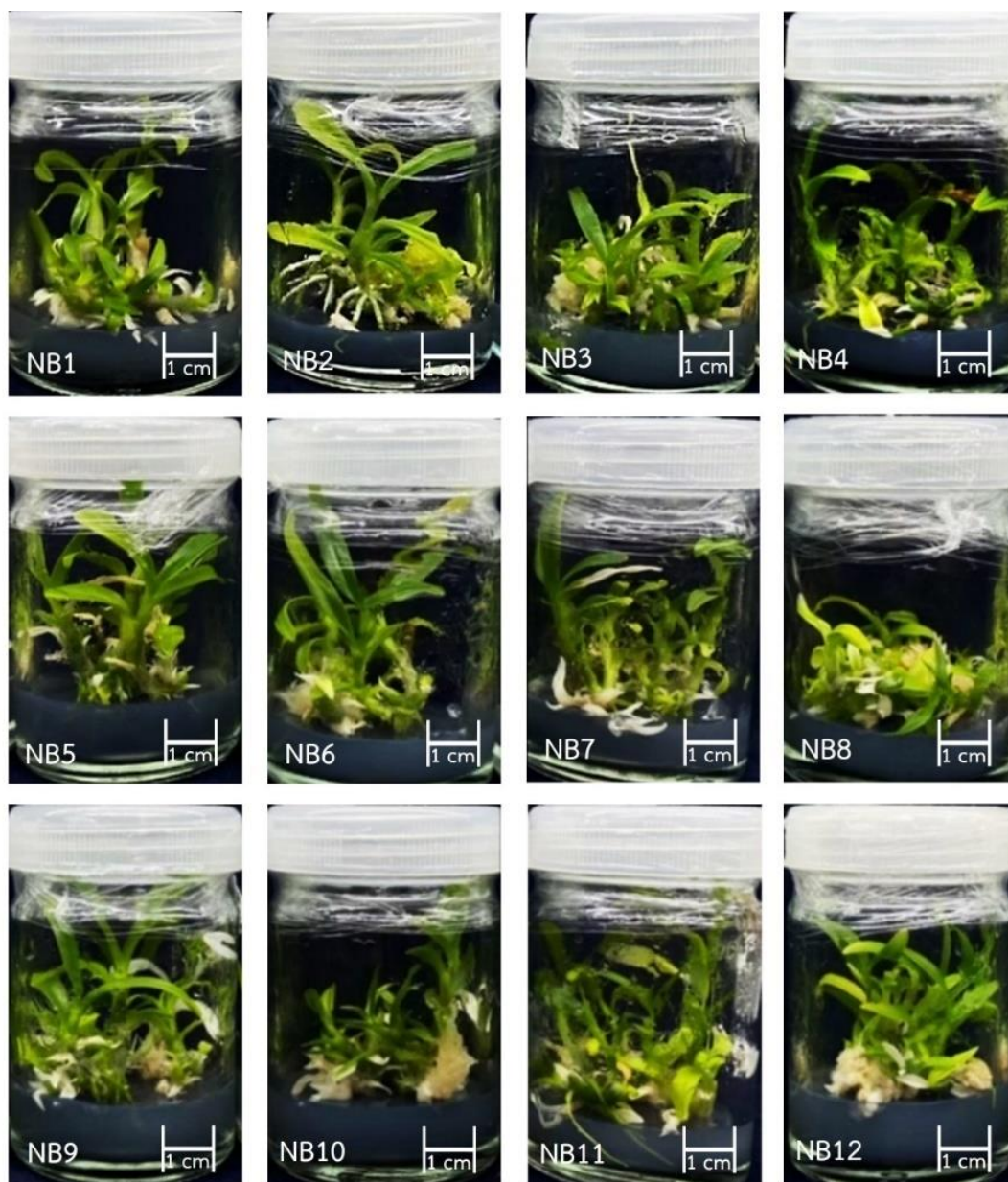
Treatments								
NAA:BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนต้นต่อขวด	ความสูงของต้น (เซนติเมตร)	จำนวนใบต่อต้น	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	จำนวนรากต่อ ต้น	ความยาวราก (เซนติเมตร)
NB1	0:0	4.00±0.70 ^{BCD}	2.71±0.26 ^C	3.50±0.26 ^D	2.18±0.50 ^{AB}	0.32±0.04	2.16±0.47 ^D	0.52±0.38 ^{CD}
NB2	0:1	5.16±0.83 ^B	4.37±0.65 ^A	5.50±0.50 ^A	2.25±0.25 ^A	0.25±0.02	7.75±0.62 ^A	1.12±0.25 ^{AB}
NB3	0:2	2.50±0.22 ^D	2.93±0.22 ^{BC}	3.57±0.20 ^D	1.68±0.12 ^{ABCD}	0.32±0.03	4.60±0.87 ^{BCD}	0.96±0.40 ^{ABC}
NB4	0:4	4.83±0.30 ^{BC}	2.92±0.45 ^{BC}	4.12±0.47 ^{BCD}	1.98±0.28 ^{ABCD}	0.32±0.03	3.40±0.74 ^{CD}	0.83±0.33 ^{ABCD}
NB5	0.5:0	3.75±0.52 ^{BCD}	4.00±0.55 ^{ABC}	5.12±0.35 ^{AB}	0.26±0.03 ^E	0.26±0.03	6.85±0.59 ^{AB}	0.91±0.64 ^{ABC}
NB6	0.5:1	5.16±0.60 ^B	3.00±0.29 ^{BC}	3.57±0.20 ^D	1.44±0.10 ^{BCD}	0.33±0.03	3.66±0.33 ^{CD}	0.42±0.11 ^D
NB7	0.5:2	4.75±0.52 ^{Bc}	4.22±0.58 ^{AB}	4.85±0.50 ^{ABC}	1.68±0.21 ^{ABCD}	0.34±0.04	8.14±1.05 ^A	1.27±0.56 ^A
NB8	0.5:4	4.33±0.76 ^{BCD}	2.83±0.42 ^{BC}	3.83±0.70 ^{CD}	1.33±0.16 ^{CD}	0.21±0.03	3.66±0.61 ^{CD}	1.00±0.40 ^{ABC}
NB9	1:0	3.00±0.57 ^{CD}	3.75±0.40 ^{ABC}	4.11±0.30 ^{BCD}	1.96±0.24 ^{ABCD}	0.35±0.03	6.33±0.79 ^{AB}	0.85±0.24 ^{ABCD}
NB10	1:1	3.50±0.59 ^{BCD}	5.05±0.31 ^A	4.25±0.16 ^{BCD}	2.06±0.23 ^{ABC}	0.40±0.03	5.87±0.69 ^{ABC}	1.16±0.43 ^{AB}
NB11	1:2	5.16±0.94 ^B	4.37±0.38 ^A	4.50±0.42 ^{ABCD}	1.66±0.16 ^{ABCD}	0.36±0.04	8.25±0.59 ^A	0.97±0.37 ^{ABC}
NB12	1:4	7.25±0.85 ^A	2.78±0.34 ^C	4.00±0.30 ^{BCD}	1.23±0.24 ^D	0.34±0.05	8.00±1.22 ^A	0.72±0.24 ^{BCD}
F-test		*	*	*	*	ns	*	*
C.V.(%)		14.03	11.42	8.53	12.57	10.65	13.68	41.18

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 3 Two-way ANOVA ของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำกั่ว ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 38 สัปดาห์

Treatments	จำนวนต้นต่อขวด	ความสูงของต้น (เซนติเมตร)	จำนวนใบต่อต้น	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	จำนวนรากต่อต้น	ความยาวราก (เซนติเมตร)
NAA	10.927ns	5.633ns	0.713ns	0.79*	0.008*	15.397*	0.44ns
BA	2.151*	3.546*	0.22ns	4.878ns	0.044ns	40.324*	0.033*
NAA*BA	10.255*	3.595*	4.139*	1.904*	0.012ns	24.806*	0.644*
Error	2.561	1.346	1.043	0.385	0.012	3.623	0.164

หมายเหตุ: สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ให้ผลผลิตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

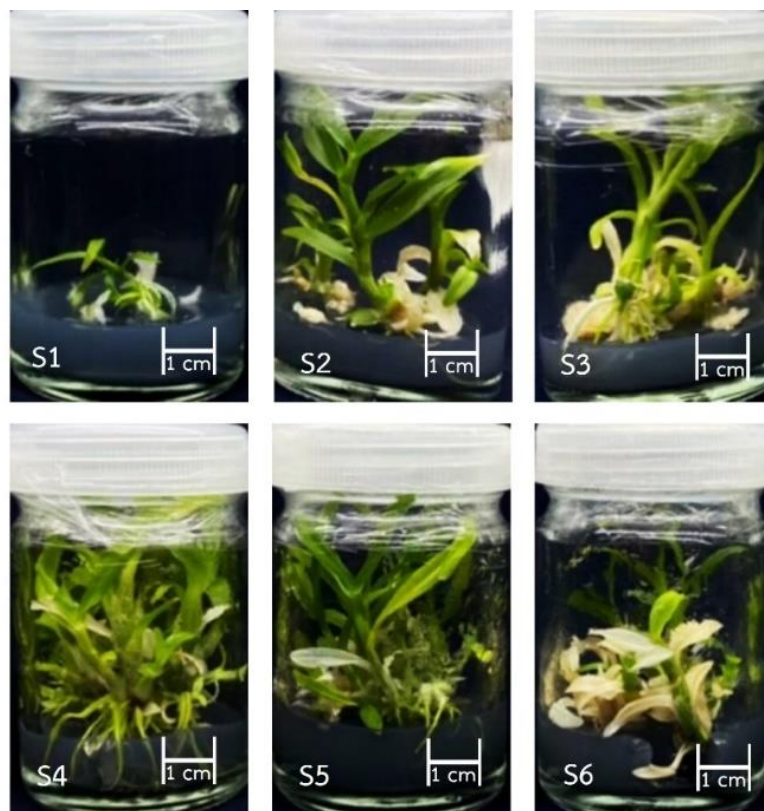


ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำกั่วที่เลี้ยงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (NB1) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0:0 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB2) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0: 1 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB3) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0: 2 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB4) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0: 4 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB5) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0.5: 0 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB6) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0.5: 1 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB7) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0.5: 2 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB8) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 0.5: 4 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB9) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 0 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB10) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 1 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB11) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 2 มิลลิกรัมต่อลิตร; (NB12) NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 4 มิลลิกรัมต่อลิตร; เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 38 สัปดาห์

ตารางที่ 4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำกัว ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 38 สัปดาห์

Sucrose (กรัมต่อ ลิตร)	จำนวนต้นต่อ ขวด	ความสูงของ ต้น (เซนติเมตร)	จำนวนใบต่อ ต้น	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	จำนวนรากต่อ ต้น	ความยาวราก (เซนติเมตร)
0	1.25 ± 0.16 ^C	2.18 ± 0.27 ^C	4.62 ± 0.32 ^B	1.17 ± 0.17 ^B	0.27 ± 0.02 ^A	2.33 ± 0.50 ^B	0.37 ± 0.06 ^C
10	3.44 ± 0.24 ^{AB}	4.38 ± 0.33 ^A	4.16 ± 0.40 ^{BC}	1.83 ± 0.16 ^{AB}	0.32 ± 0.01 ^{AB}	3.85 ± 0.59 ^B	0.70 ± 0.10 ^{BC}
20	4.16 ± 0.74 ^{AB}	4.00 ± 0.60 ^{AB}	3.20 ± 0.29 ^{CD}	2.16 ± 0.39 ^A	0.38 ± 0.04 ^A	7.75 ± 0.95 ^A	1.56 ± 0.13 ^A
30	4.90 ± 0.64 ^A	2.85 ± 0.32 ^{BC}	3.66 ± 0.37 ^{BC}	1.12 ± 0.22 ^B	0.31 ± 0.04 ^{AB}	8.87 ± 0.78 ^A	0.61 ± 0.07 ^{BC}
40	2.87 ± 0.51 ^B	2.68 ± 0.18 ^C	6.00 ± 0.00 ^A	1.06 ± 0.22 ^B	0.21 ± 0.02 ^B	8.80 ± 0.73 ^A	0.92 ± 0.17 ^{BC}
50	4.40 ± 0.87 ^{AB}	2.50 ± 0.50 ^C	2.75 ± 0.47 ^D	2.06 ± 0.44 ^A	0.26 ± 0.06 ^{AB}	4.00 ± 0.83 ^B	1.04 ± 0.32 ^B
F-test	*	*	*	*	*	*	*
C.V.(%)	14.69	12.14	8.80	17.18	11.09	14.48	16.59

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องคำกัว ที่เลี้ยงในอาหารสูตร 1/2MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ : (S1) ไม่ใส่น้ำตาล; (S2) น้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร; (S3) น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร; (S4) น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร; (S5) น้ำตาล 40 กรัมต่อลิตร; (S6) น้ำตาล 50 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 38 สัปดาห์



อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าอาหารที่เติม NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มเอื้องคำกั่วเกิดเป็นต้นและรากได้ดีที่สุด ซึ่งเป็นผลการทดลองที่เป็นไปในแนวทางกับงานวิจัยในกล้วยไม้อื่น ๆ คือใช้ NAA ในความเข้มข้นค่อนข้างต่ำ ส่วน BA ความเข้มข้นสูงกว่า เช่น ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร (*D. friedericksianum* Rchb.f.) ในอาหารที่มี NAA 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0-5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นและรากได้ดี (ธนชัยและอรัญญา, 2555) ในขณะที่การเลี้ยงต้นอ่อนของเอื้องช้างน้าว (*D. pulchellum* Roxb. ex. Lindl.) พบว่าอาหารที่เติม BA 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นจำนวนมากที่สุด (ภาณุกรณ์, 2561) ส่วนใหญ่แล้วจะใช้ NAA มักให้อยู่ในช่วง 0-1 มิลลิกรัมต่อลิตรควบคู่กับ BA ในช่วง 2-5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่พบว่ามีบางงานวิจัยที่ใช้ BA ความเข้มข้นสูงถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวในการเพาะเลี้ยง โปรโตคอร์มของ *D. aqueum* Lindley สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด (Parthibhan et al., 2015) อย่างไรก็ตามพบว่าในการเลี้ยงเอื้องคำปอน (*D. dixanthum* Rchb.f.) และเอื้องคำกั่ว (*D. signatum* Rchb.f.) ในอาหารที่มี NAA:BA ที่ความเข้มข้น 3: 0.5 และ 3: 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นต้นและรากมากที่สุด ตามลำดับ ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ NAA ที่สูงกว่าการทดลองนี้ และความเข้มข้นของ BA ที่ต่ำกว่าการทดลองนี้ (นพวรรณและคณะ, 2561)

จากผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีจำนวนต้น ความสูงต้น ความยาวใบความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวรากมากที่สุด ถือว่าเป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการทดลองนี้ คล้ายกับผลการทดลองในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องช้างน้าว (ภาณุกรณ์, 2561) และกะเหรี่ยงร้อนด้ามข้าว (ศิริพรและคณะ, 2561) พบว่าน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนต้นและความสูงต้นได้ดีที่สุดในขณะที่การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรเกิดเป็นต้นและรากได้ดีที่สุดในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร (ธนชัยและอรัญญา, 2555)

การทดลองในครั้งนี้ พบว่าอาหารที่เติม NAA: BA ที่ความเข้มข้น 1: 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้โปรโตคอร์มเอื้องคำกั่วเกิดเป็นต้นและรากได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ให้ได้จำนวนมาก ในระยะเวลาอันสั้นและสามารถพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเอื้องคำกั่วในหลอดทดลองเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของเซลล์และต้นที่มีสารสำคัญนี้ต่อ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนวัสดุสารเคมีและสถานที่สำหรับทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- คำณูญ กาญจนภูมิ. (2544). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. (ครั้งที่พิมพ์ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ดวงพร บุญชัย. (2546). การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Phalaenopsis violacea* ในสภาพปลอดเชื้อ. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์].
- ธนชัย จารุจิต และอรัญญา พิมพ์มั่งคณ. (2555). อิทธิพลของ NAA BA และน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.). การประชุมวิชาการ มอว.วิจัย ครั้งที่ 6 (น. 62-68.)
- นพวรรณ พูลพิพัฒน์, พุทธิพงษ์ สร้อยเพชรเกษม และพีระศักดิ์ ฉายประสา. (2561). ศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องคำปอน (*Dendrobium dixanthum* Lchb.f.) เอื้องคำกั่ว (*Dendrobium signatum* Rchb.f.) และเอื้องแก้วแม่สะเรียง (*Dendrobium tortile* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารเกษตรศาสตร์, 49(1), 230-233.



- พรพิมล สุริยจันทร์หาทอง. (2545). *หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ*. อุบลราชธานี: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- ภาณุกรณ์ บุญสิทธิ์. (2561). *การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนและข้อกล้วยไม้เอื้องช้างน้าว (Dendrobium pulchellum Roxb. ex Lindl.)* [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี].
- ศิริพร ทวีโรจนการ, ไขนียะ สมะลา และกิตติมา คงทน. (2561). ผลของน้ำตาลซูโครสและวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้กะเหรี่ยงร่อนด้ามข้าว (*Cymbidium alofolium* (L.) Sw.) ในหลอดทดลอง. *วารสารพืชศาสตร์สงขลา นครินทร์*, 5(4), 9-17.
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. (2546). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ*. อุบลราชธานี: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- อบฉันท ไทยทอง. (2543). *กล้วยไม้เมืองไทย*. (พิมพ์ครั้งที่ 12). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน.
- Avila-Díaz, I., Oyama, K., Gómez-Alonso, C. and Salgado-Garciglia, R. (2009). In vitro propagation of the endangered orchid *Laelia speciosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 99(3), 335-343.
- Laishram, H., Rocky, T., Sachin, S., Lakshmi, H. and Preema, D. M. (2019). In vitro conservation and asymbiotic propagation of *Dendrobium nobile* Lindl.: A rare threatened orchid of Northeast India. *Research Journal of Biotechnology*, 14, 2.
- Lan, T. T. N. (2019). In vitro micropropagation of the orchid (*Dendrobium crystallinum* var. alba), 7(3), 1-8.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Naing, A. H., Chung, J. D., Park, I. S. and Lim, K. B. (2011). Efficient plant regeneration of the endangered medicinal orchid, *Coelogyne cristata* using protocorm- like bodies. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 659-666.
- Pierik, R. L. M. (1987). In vitro Culture of Higher Plants. as a tool in the propagation of horticultural crops. *International Symposium on Propagation of Ornamental Plants 226* (pp. 25-40)
- Parthibhan, S., Rao, M. V. and Kumar, T. S. (2015). In vitro regeneration from protocorms in *Dendrobium aqueum* Lindley–An imperiled orchid. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(2), 227-233.
- Rafique, R., Fatima, B., Usman, M., Iqbal, M. S., Hasan, S. U., Shabbir, K. and Rasheed, M. (2013). Effect of sucrose on in vitro callogenesis, embryogenesis and organogenesis of *Dendrobium sabin* H. *International Journal of Modern Agriculture*, 2(1), 43-47.
- Rangsayatorn, N. (2009). Micropropagation of *Dendrobium draconis* Rchb. f. from thin cross-section culture. *Scientia horticulturae*, 122(4), 662-665.
- Senavongse, R., Saensouk, P. and Saensouk, S. (2014). In vitro tissue culture of *Dendrobium kontumense* gagnep. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 19(3), 399-413.