ว.วิทย. มข. 45(2) 360-368 (2560) KKU Sci. J. 45(2) 360-368 (2017)

# ผลของ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.) ในหลอดทดลอง

# Effects of TDZ and 2,4-D on Growth and Development of *In Vitro* Seedling Culture of *Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.

วุฒิชัย ฤทธิ[1*] บุญสนอง ช่วยแก้ว[1] กรนิกา นนทารักษ์[1] และ ฐิติพร กิจเจริญ[1]

[1]หน่วยวิจัยชีววิทยาพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี 76000

[*]Corresponding Author, E-mail: Ritti59@gmail.com

## บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.) บนอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2 ชนิด คือ TDZ ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 mg/L ร่วมกับ 2,4-D 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงที่สุด 57 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.68 ยอดต่อต้น มีจำนวนใบเฉลี่ยสูง 5.70 ใบต่อต้น และมีความสูงเฉลี่ย 1.16 เซนติเมตรต่อต้น อย่างไรก็ตาม พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนสูตรควบคุมมีจำนวนยอดและจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุดคิดเป็น 2.32 ยอดต่อต้น และ 10.20 ใบต่อต้นตามลำดับ ต้นอ่อนที่สมบูรณ์มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด 58 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายปลูกในโรงเรือนบนวัสดุกาบมะพร้าวสับ ที่อายุเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

## ABSTRACT

*In vitro* seedling culture of *D. formosum* on semi-solid Murashige and Skoog (MS) (1962) medium supplemented with combination of TDZ at 0.1 0.5 1.0 or 2.0 mg/L and 2,4-D at 0.1 0.5 1.0 or 2.0 mg/L compared with control for 12 weeks. The results showed that the highest percentage of shoot formation (57%), shoot numbers (1.68 shoots/plant), leaf numbers (5.70 leaves/plant) and shoots length (1.16 cm/plant) were obtained when cultured on the medium with 0.5 mg/L TDZ and 0.1 mg/L 2,4-D. However, seedlings cultured on semi-solid MS medium (control) could stimulated better shoot (2.32 shoots/plant) and leaves numbers (10.20

leaves/plant). The complete plantlets were successfully transplanted to the greenhouse and showed a satisfactory survival rate (58%) after 8 weeks when a chopped coconut husks were used as planting materials.

**คำสำคัญ:** เอื้องเงินหลวง สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช หลอดทดลอง การขยายพันธุ์
**Keywords:** *Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl., Plant growth regulators, *In vitro*, Propagation

## บทนำ

กล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb. ex Lindl.) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย มีใบและลำต้นที่อวบหนาเพื่อสะสมอาหาร (สุรางค์รัชต์และสันติ, 2556) ดอกมีสีขาวขนาดใหญ่ ขนาดดอกเมื่อบานกว้าง 5 – 6 เซนติเมตร ช่อดอกสั้นใกล้ปลายยอด 2 – 5 ดอก กลีบเลี้ยงรูปหอก ปลายกลีบแหลม กลีบดอกรูปไข่กลับ ปลายกลีบมน กลีบปากสีขาว โคนกึ่งกลางกลีบมีแถบสีเหลือง ดอกมีกลิ่นหอมอ่อนๆ พบตามป่าดิบเขาทั่วทุกภาค ฤดูกาลออกดอกช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนธันวาคม (Nanakorn and Watthana, 2008) และมีเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศอินเดีย เนปาล สิกขิม พม่า และเวียดนาม (อบฉันท์, 2551)

ปัญหาการบุกรุกและตัดไม้ทำลายป่าเพื่อปลูกสร้างอาคาร การทำไร่เลื่อนลอย หรือการสร้างเขื่อนขนาดใหญ่ในปัจจุบัน เป็นการทำลายถิ่นที่อยู่อาศัยและเขตการกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้ป่าหลายชนิด รวมถึงเอื้องเงินหลวง ประกอบกับปัญหาการถูกลักลอบนำออกมาจากพื้นที่ป่าธรรมชาติเพื่อค้าขายนั้น ส่งผลกระทบโดยตรงต่อจำนวนประชากรของเอื้องเงินหลวงลดลงอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง หากปล่อยให้วิกฤติการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้น อาจเกิดการสูญพันธุ์ได้ในอนาคต ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถช่วยเพิ่มจำนวนได้ในปริมาณมาก และใช้ระยะเวลาสั้น รวมถึงได้ต้นกล้าที่แข็งแรงปราศจากเชื้อโรคต่างๆ (อนุพันธ์และคณะ, 2555) ซึ่งมีรายงานที่ประสบความสำเร็จในกล้วยไม้หลายชนิด เช่น *Paphiopedilum spicerianum* (Rchb.f.) Pfitzer (Chen et al., 2015) *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl. (Roy et al., 2011) *Dendrobium aqueum* Lindl. (Parthibhan et al., 2015) และ *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. (Hossain et al., 2015) เป็นต้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อของพืชในอาหารเพาะเลี้ยงนั้นสามารถเพิ่มจำนวนต้นกล้าได้ในปริมาณมาก (Chen and Chang, 2000; Tao et al., 2011; วุฒิชัยและคณะ, 2558) นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินร่วมกับออกซินส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีเช่นเดียวกัน (Nayak et al., 1997; บวรและคณะ, 2555; ปิยมาศและคณะ, 2553) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องเงินหลวงโดยใช้ไซโทไคนินร่วมกับออกซินมาก่อน ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินร่วมกับออกซิน ต่อการพัฒนาและเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง เพื่อเพิ่มจำนวนต้นกล้าให้ได้ปริมาณมากพร้อมที่จะนำกลับคืนสู่ธรรมชาติต่อไป

## วิธีการดำเนินการวิจัย

**การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงในหลอดทดลอง**

ย้ายเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงอายุ 6 เดือน จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ที่มีความสูงเฉลี่ย 0.5 เซนติเมตร บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (1962) ที่เติม myo-inositol 0.1 g/L น้ำตาลซูโครส 30 g/L ผงวุ้น 8 g/L และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม แต่ละสูตรอาหารมีจำนวนต้นทั้งหมด 60 ต้นต่อสูตร เลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 40 $\mu mol.m^2/s$ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผล

**การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของวัสดุปลูกต่ออัตราการรอดชีวิตเมื่อย้ายออกปลูกในโรงเรือน**

นำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ที่มีลำต้น ใบ และรากสมบูรณ์ นำมาล้างวุ้นออกให้หมด จากนั้นย้ายปลูกในโรงเรือนบนวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ ถ่านทุบ โฟม และหินภูเขาไฟ แต่ละวัสดุปลูกมีจำนวนต้นทั้งหมด 50 ต้น รดน้ำเช้าและเย็นทุกวัน ปลูกเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผล

**การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

บันทึกผลการทดลอง สังเกตการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา การเกิดยอด จำนวนยอด การเกิดราก จำนวนราก การเกิดแคลลัส การเกิดโปรโทคอร์มความสูง อัตราการรอดชีวิต และเปรียบเทียบการเจริญเติบโต วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จากนั้นรวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) (Duncan, 1955)

## ผลการวิจัย

**การทดลองที่ 1 ผลของ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงในหลอดทดลอง**

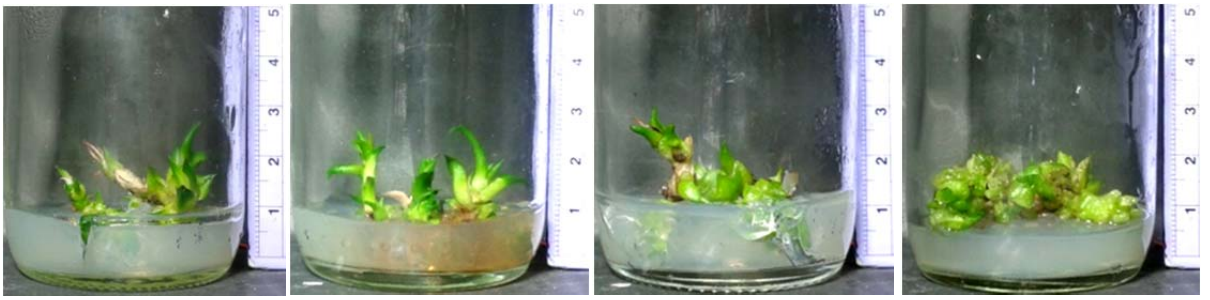
จากการศึกษาผลของ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.5 mg/L ร่วมกับ 2,4-D 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงที่สุดคิดเป็น 57 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.68 ยอดต่อต้น ซึ่งมีลักษณะของต้นที่สมบูรณ์และมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับต้นในอาหารสูตรอื่นๆ (รูปที่ 1 ข) รวมไปถึงส่งเสริมให้มีจำนวนใบเฉลี่ยและความสูงเฉลี่ยสูงคิดเป็น 5.70 ใบต่อต้น และ 1.16 เซนติเมตรต่อต้นตามลำดับ

ขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 1.0 mg/L ร่วมกับ 2,4-D 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงที่สุด 58 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุดคิดเป็น 0.63 รากต่อต้น นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตรควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 35 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 2.32 ยอดต่อต้น และเกิดราก 48 เปอร์เซ็นต์ รวมไปถึงมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุดและมีความสูงเฉลี่ยคิดเป็น 10.20 ใบต่อต้นและ 1.40 เซนติเมตรต่อต้นตามลำดับ (ตารางที่ 1, 2) อย่างไรก็ตามยังพบว่าสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง (1.0, 2.0 mg/L) ร่วมกับ 2,4-D มีแนวโน้มส่งเสริมให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก เกิดแคลลัส และเกิดโปรโท-คอร์มสูงกว่าสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำ (0.1, 0.5 mg/L) (ตารางที่ 1)

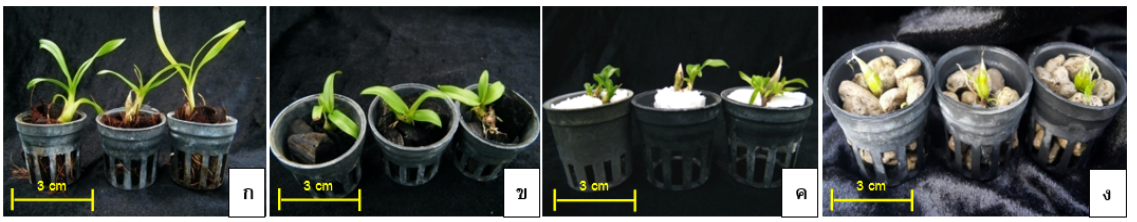
**การทดลองที่ 2 ผลของวัสดุปลูกต่ออัตราการรอดชีวิตเมื่อย้ายออกปลูกในโรงเรือน**

จากการศึกษาย้ายเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อายุ 5 – 6 เดือน บนวัสดุปลูก 4 ชนิด ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ ถ่านทุบ โฟม และหินภูเขาไฟ เมื่ออายุปลูกเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ พบว่า วัสดุปลูกที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงมากที่สุด คือ กาบมะพร้าวสับ และโฟม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด 58 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ยังพบว่าวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับส่งเสริมให้เกิดรากสูงที่สุด 58 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนรากเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย รวมถึงความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คิดเป็น 5.28 รากต่อต้น 3.50 ใบต่อต้น และ 2.29 เซนติเมตรต่อต้น ตามลำดับ รวมไปถึงมีความยาวใบเฉลี่ยและความกว้างใบเฉลี่ยสูงที่สุด คิดเป็น 1.67 เซนติเมตรและ 0.36 เซนติเมตรต่อใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) (รูปที่ 2 ก)



**รูปที่ 1** ผลของ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงอายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์ สูตรอาหารควบคุม (ก) สูตรอาหารที่เติม TDZ 0.5 mg/L + 2,4-D 0.1 mg/L (ข) สูตรอาหารที่เติม TDZ 1.0 mg/L + 2,4-D 0.1 mg/L (ค) สูตรอาหารที่เติม TDZ 2.0 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L (ง)




**รูปที่ 2** การรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง อายุปลูกเลี้ยง 8 สัปดาห์; วัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ (ก) วัสดุปลูกถ่านทุบ (ข) วัสดุปลูกโฟม (ค) วัสดุปลูกหินภูเขาไฟ (ง)

**ตารางที่ 1** ผลของ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

| *PGRs (mg/L) | | การเกิด | การเกิด | การเกิด | การเกิด |
|---|---|---|---|---|---|
| TDZ | 2,4-D | ยอด (%) | **PLBs (%) | ราก (%) | แคลลัส (%) |
| control | | 35 | 0 | 48 | 0 |
| 0.1 | 0.1 | 50 | 2 | 5 | 0 |
| | 0.5 | 18 | 7 | 2 | 0 |
| | 1.0 | 12 | 0 | 2 | 0 |
| | 2.0 | 3 | 0 | 0 | 2 |
| 0.5 | 0.1 | 57 | 0 | 5 | 0 |
| | 0.5 | 35 | 0 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 25 | 2 | 0 | 0 |
| | 2.0 | 3 | 0 | 3 | 2 |
| 1.0 | 0.1 | 50 | 18 | 58 | 25 |
| | 0.5 | 50 | 8 | 2 | 2 |
| | 1.0 | 10 | 13 | 48 | 18 |
| | 2.0 | 40 | 3 | 2 | 12 |
| 2.0 | 0.1 | 55 | 13 | 45 | 13 |
| | 0.5 | 42 | 8 | 40 | 37 |
| | 1.0 | 18 | 5 | 42 | 20 |
| | 2.0 | 30 | 0 | 0 | 7 |

**หมายเหตุ :** *Plant Growth Regulators, **Protocorm like bodies

**ตารางที่ 2** ผลของ TDZ ร่วมกับ 2,4-D ต่อพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์

| *PGRs (mg/L) | | จำนวน | จำนวน | จำนวน | จำนวน | ความสูง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| TDZ | 2,4-D | ยอดเฉลี่ย | ใบเฉลี่ย | **PLBs เฉลี่ย | รากเฉลี่ย | เฉลี่ย (cm) |
| control | | 2.32±0.16$^{a}$ | 10.20±0.76$^{a}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.55±0.07$^{a}$ | 1.40±0.07$^{a}$ |
| 0.1 | 0.1 | 1.48±0.13$^{bcd}$ | 5.32±0.47$^{cd}$ | 0.05±0.05$^{c}$ | 0.07±0.04$^{bc}$ | 1.09±0.08$^{bcd}$ |
| | 0.5 | 1.17±0.08$^{cde}$ | 4.77±0.32$^{cd}$ | 0.27±0.13$^{ab}$ | 0.02±0.01$^{c}$ | 1.22±0.07$^{ab}$ |
| | 1.0 | 0.40±0.08$^{g}$ | 0.57±0.16$^{h}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.03±0.03$^{c}$ | 0.39±0.07$^{g}$ |
| | 2.0 | 0.35±0.07$^{g}$ | 0.73±0.15$^{h}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.36±0.07$^{g}$ |
| 0.5 | 0.1 | 1.68±0.15$^{ab}$ | 5.70±0.60$^{bc}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.08±0.05$^{bc}$ | 1.16±0.09$^{abc}$ |
| | 0.5 | 1.10±0.13$^{def}$ | 2.87±0.37$^{efg}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.89±0.09$^{cde}$ |
| | 1.0 | 0.78±0.12$^{efg}$ | 2.03±0.50$^{fgh}$ | 0.03±0.03$^{c}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.60±0.08$^{efg}$ |
| | 2.0 | 0.52±0.07$^{g}$ | 1.30±0.19$^{gh}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.03±0.02$^{c}$ | 0.77±0.10$^{def}$ |
| 1.0 | 0.1 | 1.62±0.16$^{bc}$ | 5.85±0.55$^{bc}$ | 0.30±0.10$^{a}$ | 0.63±0.07$^{a}$ | 1.15±0.08$^{abc}$ |
| | 0.5 | 1.50±0.12$^{bcd}$ | 7.07±0.55$^{b}$ | 0.10±0.04$^{bc}$ | 0.02±0.01$^{c}$ | 1.42±0.09$^{a}$ |
| | 1.0 | 0.70±0.10$^{fg}$ | 1.52±0.23$^{fgh}$ | 0.13±0.06$^{abc}$ | 0.48±0.08$^{a}$ | 0.64±0.08$^{efg}$ |
| | 2.0 | 1.43±0.14$^{bcd}$ | 4.83±0.51$^{cd}$ | 0.03±0.02$^{c}$ | 0.02±0.01$^{c}$ | 1.35±0.10$^{ab}$ |
| 2.0 | 0.1 | 1.67±0.11$^{b}$ | 6.28±0.40$^{bc}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 1.42±0.06$^{a}$ |
| | 0.5 | 1.28±0.18$^{bcd}$ | 2.98±0.49$^{ef}$ | 0.08±0.03$^{c}$ | 0.48±0.08$^{a}$ | 0.88±0.10$^{cde}$ |
| | 1.0 | 0.58±0.11$^{g}$ | 1.12±0.22$^{h}$ | 0.03±0.03$^{c}$ | 0.20±0.06$^{b}$ | 0.46±0.08$^{fg}$ |
| | 2.0 | 1.15±0.14$^{def}$ | 4.03±0.53$^{de}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 0.00±0.00$^{c}$ | 1.21±0.10$^{ab}$ |

**หมายเหตุ** : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT *Plant Growth Regulators, **Protocorm like bodies

**ตารางที่ 3** ผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง อายุปลูกเลี้ยง 8 สัปดาห์

| วัสดุปลูก | รอดชีวิต (%) | เกิดยอด (%) | จำนวนยอดเฉลี่ย | เกิดราก (%) | จำนวนรากเฉลี่ย | จำนวนใบเฉลี่ย | ความสูงเฉลี่ย (cm) | ความยาวใบเฉลี่ย (cm) | ความกว้างใบเฉลี่ย (cm) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| กาบมะพร้าวสับ | 58 | 52 | 1.52±0.22[a] | 58 | 5.28±0.75[a] | 3.50±0.53[a] | 2.29±0.32[a] | 1.67±0.23[a] | 0.36±0.04[a] |
| โฟม | 58 | 48 | 1.44±0.21[a] | 52 | 2.94±0.43[b] | 2.64±0.42[a] | 1.16±0.19[b] | 0.73±0.13[b] | 0.20±0.02[b] |
| ถ่านทุบ | 56 | 50 | 1.56±0.22[a] | 52 | 3.36±0.52[b] | 2.68±0.42[a] | 1.83±0.30[ab] | 1.26±0.21[ab] | 0.25±0.04[ab] |
| หินภูเขาไฟ | 36 | 36 | 1.04±0.20[a] | 32 | 1.06±0.24[c] | 0.98±0.19[b] | 0.26±0.05[c] | 0.16±0.03[c] | 0.04±0.01[c] |

**หมายเหตุ :** ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

## วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวง ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ที่อายุเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 mg/L ร่วมกับ 2,4-D 0.1 mg/L ส่งเสริมให้เกิดการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสูตรอื่นๆ ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดยอดสูงที่สุดคิดเป็น 57 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.68 ยอดต่อต้น เนื่องจาก TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ ช่วยในการเจริญเติบโตทางลำต้น และเนื้อเยื่อเจริญตาข้าง พร้อมทั้งชักนำการเพิ่มจำนวนยอดของพืช (Hutchinson et al., 1985; Taji and Williams, 1996) เมื่อใช้ร่วมกับ 2,4-D ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน เป็นกลุ่มสารที่กระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ทั้งในส่วนต้นและราก มีผลต่อการแบ่งเซลล์ การยืดยาวของเซลล์ และกระตุ้นให้เกิดราก (คำนูณ, 2544) ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Nayak et al. (1997) ที่รายงานการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ 3 ชนิด ได้แก่ *Cymbidium aloifolium* (L.) SW., *Dendrobium aphyllum* (Roxb) fisch. และ *D. moschatum* (Buch-Ham). SW. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 4.25 μM ร่วมกับ TDZ 0.45 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด และรายงานการวิจัยของ Chen et al. (2004) ได้ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีลูกผสม 2 พันธุ์ จากชิ้นส่วนใบ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีลูกผสม PH59 บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 4.54 μM ร่วมกับ 2,4-D 4.52 μM ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้สูงที่สุด ส่วนการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีลูกผสม PH60 บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.45 μM ร่วมกับ 2,4-D 4.52 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนใบได้สูงที่สุด และสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของบวรและคณะ (2555) ที่ศึกษาการเจริญของต้นอ่อนสิงโตพัดแดง (*Bulbophyllum lepidum* (Bl.) J.J. Sm.) ในหลอดทดลอง โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ที่เติม 2,4-D 2.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 2.0 mg/L สามารถชักนำให้เกิดหน่อใหม่เฉลี่ยสูงที่สุด และอาหารสูตรที่เติม 2,4-D 0.1 mg/L ร่วมกับ TDZ 2.0 mg/L ชักนำให้มีความสูงเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด ขณะที่สูตรอาหารที่เติม 2,4-D 2.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L มีความยาวรากเฉลี่ยดีที่สุด รวมไปถึงรายงานวิจัยการเพาะเลี้ยงใบกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน

(*Paphiopedilum concolor* (Lindl. ex Bateman) Pfitzer) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตรที่เติม 2,4-D 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L ชิ้นส่วนมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุดเช่นเดียวกัน (ปิยมาศและคณะ, 2553) นอกจากนี้ยังพบว่าต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำ สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีกว่าสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูงๆ ซึ่งมีผลยับยั้งการยืดยาวของยอด (Huetteman and Preece, 1993)

การศึกษาผลของวัสดุปลูกต่ออัตราการรอดชีวิตและเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงเมื่อย้ายออกปลูกในโรงเรือน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า วัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับมีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด 58 เปอร์เซ็นต์ และส่งเสริมให้เกิดยอดใหม่สูงที่สุดคิดเป็น 52 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงถึง 1.52 ยอดต่อต้น และชักนำให้เกิดรากสูงที่สุดคิดเป็น 58 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุดคิดเป็น 5.28 รากต่อต้น รวมไปถึงมีจำนวนใบเฉลี่ย และความสูงเฉลี่ยสูงที่สุดคิดเป็น 3.50 ใบต่อต้น และ 2.29 เซนติเมตรต่อต้นตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า มีความยาวใบเฉลี่ยสูงที่สุด 1.67 เซนติเมตรต่อใบ และความกว้างใบเฉลี่ยสูงที่สุด 0.36 เซนติเมตรต่อใบ เนื่องจากกาบมะพร้าวสับเป็นวัสดุปลูกที่สามารถเก็บความชื้นได้เป็นอย่างดี ขณะเดียวกันก็สามารถระบายน้ำได้ดีเช่นเดียวกัน (Withner, 1959) ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของวุฒิชัยและอนุพันธ์ (2553) พบว่าต้นอ่อนกะเรกะร่อนปากเป็ด (*Cymbidium finlaysonianum* Lindl.) ที่ย้ายเลี้ยงบนกาบมะพร้าวสับ มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Marcela et al. (2007) ที่ศึกษาความแข็งแรงของกล้วยไม้ *Cattleya trianae* Linden & Rchb.f. หลังจากออกปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อปลูกในกาบมะพร้าว มีอัตรารอดชีวิตสูงที่สุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวใบสูงที่สุด

## สรุปผลการวิจัย

การทดลองเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงในหลอดทดลอง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.5 mg/L ร่วมกับ 2,4-D 0.1 mg/L สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์เกิดยอดสูงที่สุด ขณะที่สูตรควบคุมมีจำนวนยอดเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุด และต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงเมื่อย้ายปลูกในโรงเรือนบนวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ส่งเสริมให้มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดและสามารถเจริญเติบโตเกิดยอดใหม่และรากใหม่ รวมถึงมีจำนวนใบเฉลี่ยและความสูงเฉลี่ยดีที่สุด

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยชีววิทยาพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรีและโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

## เอกสารอ้างอิง

คำนูณ กาญจนภูมิ. (2544). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพมหานคร: บริษัทด่านสุทธาการพิมพ์ จำกัด. หน้า 25 – 41.

บวร คุณากรนุรักษ์, สุนันท์ โพธิ์น้อยยัง, อนุพันธ์ กงบังเกิด และคงศักดิ์ พร้อมเทพ. (2555). ผลของ 2,4-D ร่วมกับ TDZ ต่อการเจริญของต้นอ่อนสิงโตพัดแดงในหลอดทดลอง. ใน: รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการพะเยาวิจัย ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยพะเยา. พะเยา. 87 – 95.

ปิยมาศ เกิดน้อย, สุเม อรัญนารถ และกัญจนา แซ่เตียว. (2553). ผลของ 2,4-D ร่วมกับ TDZ ต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีนในสภาพปลอด

เชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง. 353 – 356.

วุฒิชัย ฤทธิ และอนุพันธ์ กงบังเกิด. (2553). ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการเติบโตและเจริญของต้นอ่อนกะเรกะร่อนปากเป็ดในสภาพปลอดเชื้อ. ใน: เรื่องเต็มการประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร. 13 – 20.

วุฒิชัย ฤทธิ, บุญสนอง ช่วยแก้ว, ฐิติพร กิจเจริญ และกรนิกา นนทารักษ์. (2558). ผลของออกซินและไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องเงินหลวงในสภาพปลอดเชื้อ. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 9. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร. 128 – 138.

สุรางค์รัชต์ อินทะมุสิก และสันติ วัฒฐานะ. (2556). พรรณไม้เมืองไทย กล้วยไม้ 3. เชียงใหม่: องค์การสวนพฤกษศาสตร์ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. หน้า 52.

อบฉันท์ ไทยทอง. (2551). กล้วยไม้เมืองไทย. (พิมพ์ครั้งที่ 15). กรุงเทพมหานคร: บ้านและสวน. หน้า 199.

อนุพันธ์ กงบังเกิด, บวร คุณากรนุรักษ์, ติณรัตน์ พรหมอารีย์ และขวัญใจ พุ้มโอ. (2555). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญของยอดอ่อนเอื้องจำปาน่าน (*Dendrobium sulcatum* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย 4 (ฉบับพิเศษ): 81 – 86.

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, T.Y., Chen, J.T. and Chang, W.C. (2004). Plant regeneration through direct shoot bud formation from leaf cultures of *Paphiopedilum* orchids. Plant Cell. Tissue and Organ Culture 76: 11 - 15.

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.

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

Hossain, M.M., Sharma, M., da Silva, J.A.T., Pathak, P. (2010). Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. Scientia Horticulturae 123: 479 – 487.

Huetteman, C.A. and Preece, J.E. (1993). Thidiazuron : A potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 33: 105 – 119.

Hutchinson, J.F., Beardsel, D.V.l. and Comb, J.A. M. (1985). Propagation by tissue culture introduction. *In* Horticulture of Australian Plants. Western Australian. Dept. Agriculture, South Perth, W.A. pp. 38-52.

Marcela, F., Giovany, G., Neftali, M. and Gloria, U. (2007). Hardening of the national flower of Colombia, the threatened *Cattleya trianae* (Orchidaceae), from *in vitro* culture with previous invigoration phase. Revista de Biología Tropical 55: 682 – 691.

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

Nanakorn, W. and Watthana, S. (2008). Queen Sirikit Botanic Garden (Thai Native Orchids 1). Chiang Mai: Wanida Press. p. 238.

Nayak, N.R., Rath, S.P. and Patnaik, S. (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 high frequency shoot proliferation. Scientia Horticulturae 71: 243 – 250.

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: 227 – 233.

Roy, A.R., Patel, R.S., Patel, V.V., Sajeev, S. and Deka, B.C. (2011). Asymbiotic seed germination mass propagation and seedling development of *Vanda coerulea* Griff ex. Lindl. an *in vitro* protocol for an endangered orchid. Scientia Horticulturae 128: 325 – 331.

Taji, A.M. and Williams, R.R. (1996). Tissue culture of Australian plants. Australia: University of New England Press. Armidale. NSW. pp. 1 – 15.

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: 15639 – 15646.

Vacin, E. and Went, F. (1949). Some pH changes in nutrient solution. Botanical Gazette. 110: 605 – 613.

Withner, C.L. (1959). The Orchid: a scientific survey. New York: The Ronald Press. pp. 315 – 360.

❑❑❑❑❑