

อิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้อง สายม่านพระอินทร์

Effect of NAA and BA on protocorm multiplication of *Dendrobium devonianum*

Paxt.

พรทิพย์ อติชาติ,^{1*} อิศราภรณ์ อ้นสนั่น²

Porntip Atichart,^{1*} Israporn Unsanant²

บทคัดย่อ

ศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นของกล้วยไม้เอื้องสายม่านสายพระอินทร์ (*Dendrobium devonianum* Paxt.) โดยการนำเอา
ต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์ที่มีอายุ 2 เดือนที่ได้จากการเพาะเมล็ด มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร
สังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต α -naphthaleneacetic
acids (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มก/ล ร่วมกับ N6-Benzyl Adenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2
มก/ล เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิด
ยอดได้ทุกระดับความเข้มข้นของ NAA และ BA และพบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความ
เข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.00 ยอดต่อต้น เมื่อ
เปรียบเทียบกับต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตใดๆ จะให้
จำนวนการเกิดยอดเฉลี่ย 1.38 ยอดต่อต้น

คำสำคัญ : สารควบคุมการเจริญเติบโต , การเพิ่มยอด, กล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์

¹ อาจารย์, ² นิสิตปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัด
มหาสารคาม 44150

¹ Lecturer, ² Undergraduate student, Department of biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantarawichai District,
Mahasarakham 44150, Thailand

Abstract

The study of multiplication shoot of *Dendrobium devonianum* Paxt. Plantlets of *D. devonianum* two-months-old were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with α -naphthaleneacetic acids (NAA) 0, 0.5 and 1 mg/l and N6-Benzyl Adenine (BA) 0, 0.5, 1 and 2 mg/l for 8 weeks. The results showed that in every concentration of NAA and BA the plantlets could induce shoot and the plantlet that culture on MS supplemented with 0.5 mg/l NAA and 1 mg/l BA increased the highest average number of shoot 3.00 shoot/ plantlet. Compare with the plantlet that culture on MS medium without plant growth regulators show the average number of shoot 1.38 shoot/ plantlet.

Key words : plant growth regulators, multiplication shoot, *Dendrobium devonianum* Paxt.

บทนำ

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์ ORCHIDACEAE ซึ่งเป็นไม้ตัดดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย การผลิตกล้วยไม้ในประเทศไทยในปัจจุบันเน้นการผลิตเพื่อการค้าและการส่งออกเป็นส่วนใหญ่^{1,2} ซึ่งประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกกล้วยไม้เมืองร้อนรายใหญ่ที่สุดของโลก มีมูลค่าส่งออกปีละประมาณ 3,000 ล้านบาทโดยส่งออกกล้วยไม้เป็นอันดับ 2 รองจากเนเธอร์แลนด์ และส่งออกต้นกล้วยไม้มากเป็นอันดับที่ 2 รองจากไต้หวัน³ ในปี พ.ศ 2555 ประเทศไทยส่งออกกล้วยไม้ทั้งสิ้น 30,447,053 ต้น คิดเป็นมูลค่า 586 ล้านบาท⁴ กล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์ (*D. devonianum*) เป็นกล้วยไม้สกุลหวาย จัดได้ว่าเป็นกล้วยไม้ที่หายากและเลี้ยงค่อนข้างยาก พบในอินเดีย พม่า ไทย ลาว เวียดนาม และจีนตอนใต้ โดยทั่วไปแล้วการขยายพันธุ์กล้วยไม้ด้วยเมล็ดในธรรมชาตินั้นทำได้ยาก ดังนั้นในการเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมากนั้นจำเป็นต้องใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็วทำให้ได้ต้นที่ปลอดโรคที่ติดมากับต้นหรือหน่อ โดยการใช้น้ำสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม โดยเฉพาะสารในกลุ่มของออกซิน (auxin) เช่น NAA (1-naphthylacetic acid), IAA (indol-3-yl acetic acid) ที่มีบทบาทในการควบคุมการขยายตัวของเซลล์ การเติบโตของใบ การติดผล หรือแม้แต่การเกิดราก และไซโตไคนิน (cytokinin) เช่น benzyl adenine (BA), 6-furfurylamino purine (Kinetin) และ Thidiazuron

(TDZ) ซึ่งจัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีบทบาทชักนำการแบ่งเซลล์และเกิดยอด⁵ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน คือ NAA และ BA ที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้นของกล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์อายุ 2 เดือน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด เพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2 มก/ล นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสงเป็นเวลา 16/8 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงประมาณ $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ จนกระทั่งมีการเกิดยอดใหม่ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3 เดือน ทำการบันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้นทำการทดลองแบบ Factorial in CRD มี 12 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 8 ซ้ำ

ผลการทดลอง

จากการศึกษาอิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเพิ่มจำนวนต้นของกล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์ โดยการนำเอาต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์ที่มีอายุ 2 เดือน มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตร MS ที่มีการเติม NAA (0, 0.5, 1 มก/ล) ร่วมกับ BA (0, 0.5, 1, 2 มก/ล) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จะสังเกตเห็นว่าต้นอ่อนของเอื้องสายม่านพระ

อินทร์จะมีการเกิดยอดประมาณ 4-6 ยอด ยอดใหม่จะมีการแทรกขึ้นระหว่างต้นอ่อน (figure1) โดยต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมเฉพาะ BA ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2 มก/ล จะเห็นว่าที่ความเข้มข้น 2 มก/ล ของ BA จะมีจำนวนสูงสุดของการเกิดยอด 2.38 ± 1.68 ยอดต่อต้น (Table 1 และ figure 1b) แสดงให้เห็นว่า BA ความเข้มข้นที่สูงสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าความเข้มข้นต่ำๆ เมื่อมีการเติม NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับ BA พบว่า NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มก/ล (Table 1 และ figure 1c) จะมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.00 ± 1.41 ยอด/ต้น เมื่อเพิ่มความ

เข้มข้นของ BA เป็น 2 มก/ล จะจำนวนการเกิดยอด 2.00 ± 0.75 ยอดต่อต้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA เป็น 1 มก/ล ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มก/ล จะชักนำให้กล้วยไม้เกิดยอดสูงที่สุด คือ 2.50 ± 1.06 ยอดต่อต้น และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าทุกความเข้มข้นของ NAA ที่ใช้ร่วมกับ BA ไม่ทำให้จำนวนการเกิดยอดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง NAA และ BA พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองชนิดไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน

Table 1 Effect of NAA and BA on shoot multiplication of *D. devonianum*

NAA (mg/l)	BA (mg/l)	number shoot \pm SD (shoot / plant)
0	0	1.38 \pm 0.51
0	0.5	2.25 \pm 1.28
0	1	2.25 \pm 0.70
0	2	2.38 \pm 1.68
0.5	0	2.75 \pm 1.48
0.5	0.5	2.38 \pm 1.18
0.5	1	3.00 \pm 1.41
0.5	2	2.00 \pm 0.75
1	0	1.63 \pm 0.74
1	0.5	2.25 \pm 1.16
1	1	2.13 \pm 0.99
1	2	2.50 \pm 1.06

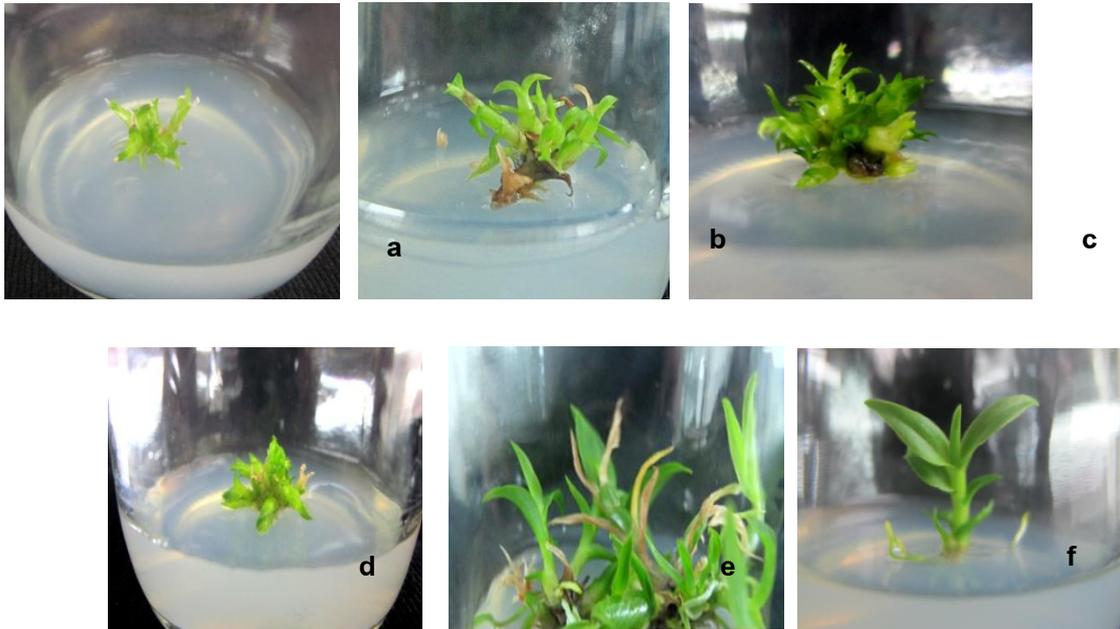


Figure 1 Shoot multiplication of *D. devonianum* culture on MS modified medium contain with (a) 0 mg/l NAA, 0 mg/l BA (b) 0 mg/l NAA, 2 mg/l BA (c) 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BA (d) 1 mg/l NAA, 2 mg/l BA (e) shoot development when culture on 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BA for 3 months (f) plantlet of *D. devonianum* that transplant from shoot culture on MS contain with 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BA

Figure 2 Average shoot of *D. devonianum* culture on MS modified medium contain with 0, 0.5 and 1 mg/l NAA and 0, 0.5, 1 and 2 mg/l BA for 8 weeks.

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาอิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเพิ่มจำนวนต้นของกล้วยไม้เอื้องสายม่านสายพระอินทร์ โดยการนำเอาต้นอ่อนของกล้วยไม้เอื้องสายม่านพระอินทร์ที่มีอายุ 2 เดือน มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตร MS ที่มีการเติม NAA (0, 0.5, 1 มก/ล) ร่วมกับ BA (0, 0.5, 1, 2 มก/ล) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบน

อาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ทุกระดับความเข้มข้นของ NAA และ BA และพบว่า ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมเฉพาะ BA ที่ความเข้มข้น 2 มก/ล ของ BA จะมีการเกิดยอดจำนวนสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hafiz *et al.*⁶ ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย *Dendrobium nobile* var Emma white ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย เบนซิน benzylaminopurine (BAP) และ kinetin

รวมทั้งน้ำมะพร้าว พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นที่ 2 มก/ล BAP จะเพิ่มจำนวนของการเกิดยอดได้มากที่สุด แต่จะให้ผลที่ตรงกันข้ามกับการทดลองของ Murthy *et al.*⁷ ซึ่งได้ศึกษาการขยายพันธุ์ของกล้วยไม้ *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr ผ่านการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของ rhizome บนอาหารสูตร MS ที่เติม benzyladenine (BA), kinetin, indole-3-acetic acid (IAA) และ indole-3-butyric acid (IBA) พบว่า BA ที่ความเข้มข้น 5 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 8.20 ยอดต่อชิ้นส่วนพืชภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังแตกต่างจากการทดลองของ Martin and Madassery Josrph⁸ ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดการสร้างโปรโตคอร์ม และเกิดการเปลี่ยนแปลงของยอดโดยใช้ชิ้นส่วนของใบจากข้อของก้านช่อดอก มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ความเข้มข้นครึ่งเท่าที่เสริมด้วย *N*⁶-benzyladenine (BA) และ kinetin พบว่า BA จะช่วยในการพัฒนา ยอดมากกว่า 7 ยอดต่อชิ้นส่วนพืชแสดงให้เห็นว่า BA ที่ความเข้มข้นที่สูงสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าความเข้มข้นต่ำๆ แต่เมื่อมีการใช้ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับ BA พบว่า NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มก/ล จะมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.00 \pm 1.41 ยอด/ต้น จากผลการทดลองดังกล่าวไม่สอดคล้องกับการทดลองของ Thi Hong Nhat *et al.*⁹ ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับชักนำให้เกิดโปรโตคอร์ม และการเพิ่มจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ โดยนำส่วนของลำต้นของกล้วยไม้สกุลหวาย 2 สายพันธุ์คือ D16 และ D36 มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรดัดแปลงที่เติม BA และ NAA ผลการศึกษาพบว่า จำนวนสูงสุดของการเกิดยอดได้จากชิ้นส่วนพืชที่มีความยาว 5 มิลลิเมตร. ของชนิด D36 ที่ความเข้มข้น 1 มก/ล BA และ 1 มก/ล NAA และยังคงแตกต่างจากการทดลองของ Puchooa⁷ ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบความแตกต่างของอาหารเพาะเลี้ยงในการ

เพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองโดยใช้ชิ้นส่วนของใบที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของกล้วยไม้สายพันธุ์ *Dendrobium Sonia* นำโปรโตคอร์มมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร 3 สูตร ได้แก่ VW, KC, MS ร่วมกับการเติม BA และ NAA ทั้งที่เป็นอาหารเหลวและอาหารแข็ง พบว่าจำนวนสูงสุดของโปรโตคอร์ม ได้รับจากอาหารเหลวสูตร MS ยอดเกิดใหม่ได้เมื่อโปรโตคอร์ม ถูกย้ายไปบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เสริมด้วย 0.1 มก/ลของ BA 1.0 มก/ลของ NAA และ ยอดมีการพัฒนาของรากหลังจาก 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกัน จากรายงานที่กล่าวมาข้างต้นทั้งหมดนี้ทำให้เห็นว่าการขาดของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อปริมาณการเกิดยอดสูงในช่วงเวลาสั้นๆ¹⁰

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. อนุพันธ์ กงบังเกิด และ ธนากร วงษ์ศา. ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium Green Lantern*). วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 2550; 23[2]: 115-123
2. สลิล สิทธิสังขธรรม และ นฤมล กฤษณชาติ. คู่มือกล้วยไม้. สำนักพิมพ์สารคดี, กรุงเทพมหานคร. 2545
3. รัฐบาลไทย .เกษตรฯ ผลักดันส่งออกกล้วยไม้ปีละ 10,000 ล้านบาทเล็งส่งเสริมการผลิตใน 10 จังหวัดเป้าหมายเพื่อรองรับการขยายตัวในตลาดต่างประเทศ โดยเฉพาะตลาดใหม่กว่า 450 ล้านบาทต่อปี. 2556. <http://www.thaigov.go.th/th/news-ministry/> 2012-08-15-09-40-18/item/13340-.html
4. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. ระบบแสดงข้อมูลด้านเศรษฐกิจ. 2556.

http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export.php

5. พีรเดช ทองอำไพ. ฮอว์โมนพืชและสารสังเคราะห์
แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ
: ไดนามิคการพิมพ์; 2529.

6. Hafizl shfaq Ahmad, Asghar Sana, Ahmad
Touqeer, YaseenMehwish. In vitro propagation
of orchid (*Dendrobium nobile*) var Emma white.
African Journal of Biotechnology 2011; 0[16]:
3097-3103.

7. Murthy H.N, Sheelavantmath S.S, Pyati A.N,
Ashok Kumar H.G, Ravishankar B.V. In vitro
propagation of the endangered orchid,
Geodorum densiflorum (Lam.) Schltr. Through
rhizome section culture. Plant Cell, Tissue and
Organ Culture 2000; 60: 151-154.

8. Martin K.P., and Madassery Josrph. Rapid in

vitro propagation of *Dendrobium* hybrids
through direct shoot formation from foliar
explants, and protocorm-like bodies. Scientia
Horticulturae. 2006. 108 (1); 95-99.

9. Thi Hong Nhat Nguyen, Thi Dung Tran . In vitro
propagation of *Dendrobium* orchid through thin
stem section culture". Proceedings of
International Workshop on Biotechnology in
Agriculture 2006; 154-155.

10. Puchooa D. Comparison of Different Culture
Media for the In Vitro Culture of *Dendrobium*
(Orchidaceae). International Journal of
Agriculture of Agriculture & Biology 2004; 6[5]:
884-888.