

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ไทยปิ่นจากส่วนของลำต้นในหลอดแก้ว



หอสมุดกลาง

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยี

Technology Library

โดย

นายบุญยืน กิจวิจารณ์ วท.ม (พฤกษศาสตร์)

นายไพบุลย์ มงคลถาวรชัย วท.ม (พันธุศาสตร์)

๒๕๖๓

๒๕๖๓

รายงานการวิจัยฉบับที่

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

S

U

C

1
บทนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกและไม้ประดับชนิดหนึ่งจัดอยู่ใน Family Orchidaceae ดอกกล้วยไม้มีลักษณะที่แตกต่างกันไป บางชนิดมีความสวยงามมาก ในปัจจุบันกล้วยไม้จึงมีบทบาทที่สำคัญของเศรษฐกิจเพราะสามารถตัดดอกขายเป็นสินค้าออกของประเทศ ในปัจจุบันนี้กล้วยไม้ที่นำเข้าประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ด้วยเหตุนี้จึงมีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้กล้วยไม้ที่แปลกและมีลักษณะสวยงามมากขึ้นและเป็นที่ต้องการของตลาด ในประเทศไทยมีพันธุ์กล้วยไม้ป่าจำนวนมาก จึงน่าจะเป็นแหล่งต้นพันธุ์เพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ให้มีลักษณะที่ดีมากขึ้นในอนาคตต่อไป

กล้วยไม้พันธุ์ไผ่ปิ้ง (*Arundina graminifolia* L.) เป็นกล้วยไม้ที่เจริญบนพื้นที่ตามทุ่งหญ้า จึงเรียกว่าเป็นกล้วยไม้ดิน ลักษณะใบยาวเรียวก้านดอกชูตั้งตรงดอกเหมือนดอกกล้วยไม้พันธุ์คัลลิลิยา (*Cattleya*) แต่ขนาดเล็กกว่า มีสีขาว ปลายกลีบดอกของ labellum มีสีชมพู ออกดอกราวเดือนกรกฎาคมจนถึงเดือนตุลาคม การบานของดอกกินเวลาประมาณ 3-4 สัปดาห์ กล้วยไม้พันธุ์ไผ่ปิ้งมีชื่อเรียกตามท้องถิ่น (local name) หลายชื่อและแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น เช่น หญ้าจัมพันควาย หญ้าแยงสี มวนตากหงาย (Seidenfaden, G. and Smittinand, T. 1959)

การขยายพันธุ์กล้วยไม้ในธรรมชาติเกิดจากการแตกหน่อหรือจากเมล็ด ในปีหนึ่งๆกล้วยไม้แตกหน่อได้เพียง 1-2 หน่อเท่านั้น ส่วนการงอกของเมล็ดก็นับว่ามีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตที่น้อยเพราะเมล็ดกล้วยไม้ไม่มีอาหารสะสมสำหรับการเจริญของคัพภะ (embryo) เมล็ดจะเจริญเติบโตได้ก็ต่อเมื่อมีเชื้อรา *Rhizoctonia* เข้าไปภายใน เชื้อรานี้จะให้น้ำตาลและสารอินทรีย์บางชนิดไปเป็นอาหารของคัพภะที่เริ่มงอก ดังนั้นโอกาสของเมล็ดกล้วยไม้ที่งอกเป็นต้นในธรรมชาติได้นั้นมีจำนวนน้อย ในปี ค.ศ. 1922 Knudson เป็นคนแรกที่พบว่าเมล็ดกล้วยไม้สามารถเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์โดยไม่ต้องอาศัยเชื้อรา

การขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์ได้เป็นผลสำเร็จเมื่อปี ค.ศ. 1960 โดย Morel ได้ขยายพันธุ์กล้วยไม้พวกซิมบิ เดียมจากเนื้อเยื่อ

ก
สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
รายการรูปประกอบ	จ
บทนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	2
ผลการทดลอง	3
สรุปและวิจารณ์	6
เอกสารอ้างอิง	7

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1	ลำต้นของกล้วยไม้พันธุ์ไฮบรีดที่นำมาใช้ในการขยายพันธุ์	4
2	ลำต้นที่ลอกใบออกหมดแล้ว	4
3	หน่อหรือต้นที่เกิดจากชิ้นส่วนของลำต้นที่เลี้ยงบนอาหารวุ้น	4
4	หน่อหรือต้นซึ่งสามารถเพิ่มได้จำนวนมาก	4
5	ลักษณะของโปรโตคอร์มที่เลี้ยงในอาหารเหลว	5
6	ต้นกล้วยไม้พันธุ์ไฮบรีดสามารถเพิ่มจำนวนมากและสามารถนำไปปลูกได้	5

ข

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ยี่สิบปีนึ่งจากส่วนของลำต้นในหลอดแก้ว

บุญยืน กิจวิจารณ์

ไพบุลย์ มงคลถาวรชัย

การขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ยี่สิบปีนึ่ง (*Arundina graminifolia* L.) จาก ส่วนของลำต้นในอาหารตัดแปลงของ Vacin และ Went (1949) โดยเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ได้รับแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25-28° ซ เมื่อตัดส่วนของลำต้นออกเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 0.5 ซม. แล้วจึงนำไปเลี้ยงในอาหารวุ้นและอาหารเหลว

ชิ้นส่วนของลำต้นนำไปเลี้ยงในอาหารวุ้นได้รับความเข้มของแสง 3,000 ลักซ์ เนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนของลำต้นสามารถเจริญไปเป็นต้นได้จำนวนมาก เมื่อแยกแต่ละหน่อ ออกไปเลี้ยงในอาหารใหม่ก็สามารถเพิ่มจำนวนได้เรื่อยๆ เนื้อเยื่อที่นำไปเลี้ยงในอาหาร เหลวบนเครื่องเขย่า (100 รอบ/นาที) ได้รับความเข้มของแสง 1,000 ลักซ์ พบว่าเนื้อ เยื่อสามารถเจริญมีลักษณะคล้ายโปรโตคอร์มจำนวนมากใน 2-3 สัปดาห์ เมื่อย้ายโปร- โตคอร์มนั้นไปยังอาหารวุ้นก็จะเปลี่ยนแปลงเป็นต้นที่สมบูรณ์ 6-8 สัปดาห์ การใช้เทคนิค การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ยี่สิบปีนึ่งได้จำนวนมากและรวดเร็ว

Abstract

Clonal Propagation of Arundina graminifolia by Stem Cutting
In Vitro

Mr. Boonyuen Kijwijan

Mr. Paiboon Mongconthawonchai

Vegetative propagation of the orchid, Arundina graminifolia L., was made by using stem parts as explants which were cultured on modified Vacin and Went (1949) media, supplemented with 15 % coconut water under fluorescent light for 16 hours/day at 25-28 c. The stem parts were cut into 0.5 cm long and then transferred on solid and liquid media.

The explants were cultured on solid media under light intensity at 3,000 lux. Numerous buds were formed on these explants. Multiplication could be done by isolating of these buds into the fresh media. In liquid media on rotary shaker, (100 rpm) under light intensity at 1,000 lux, numerous protocorm-like bodies were produced in 2-3 weeks and they were then transferred to solid media differentiated into complete plants within 6-8 weeks. Using this technique, rapid clonal propagation of Arundina graminifolia L. was obtained

กิติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย และภาควิชาชีพ-
วิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ได้อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ การ
วิจัยนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ อันเนื่องมาจากเพื่อนร่วมงาน ณ โอกาสนี้จึงขอขอบคุณไว้
เป็นอย่างสูง

ปลายยอดได้เป็นกล้วยไม้ต้นเล็กๆจำนวนมากในเวลาอันสั้น (Intuwong, O. and Y. Sagawa., 1973.) เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นประโยชน์ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้เป็นอย่างมาก ทั้งนี้จึงมีผู้ศึกษาและนำเอาวิธีการนี้ไปใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ในหลายสกุล เช่น Cattleya, Cymbidium, Dendrobium, Vanda และ Aranda (Cheah, K.T. และ Y. Sagawa, 1978) โดยใช้จากส่วนต่างๆของกล้วยไม้ เช่น ตายอด ตาข้าง ช่อดอกอ่อน ก้านช่อดอก ใบ ราก (Intuwong, O. และ Y. Sagawa, 1973, 1974, 1975) มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ปรากฏว่าสามารถทำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์และนำไปปลูกได้สำเร็จ ด้วยเหตุดังกล่าวจึงได้นำเอาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์มาขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ดีต่อไปนี้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เลือกต้นกล้วยไม้พันธุ์ดีต่อไปนี้ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ด (บุญยืน, 2525) ในสภาพปลอดเชื้อที่มีขนาดยาวประมาณ 7-10 ซม. นำมาลอกส่วนของใบออกให้เหลือเฉพาะส่วนของลำต้น ตัดเนื้อเยื่อของลำต้นออกเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 0.5 ซม. จึงนำไปเลี้ยงในอาหารสูตร Vacin และ Went (1949) ที่ดัดแปลงโดยเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ (V/V) ได้รับความจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 16 ชม./วัน แยกการทดลองออกเป็น 2 ส่วนคือ

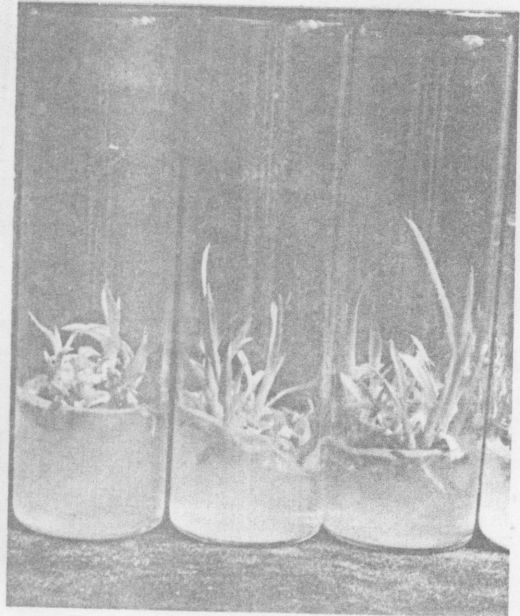
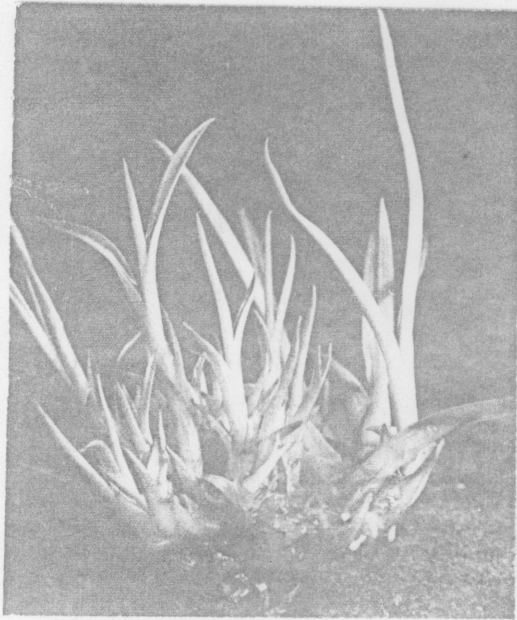
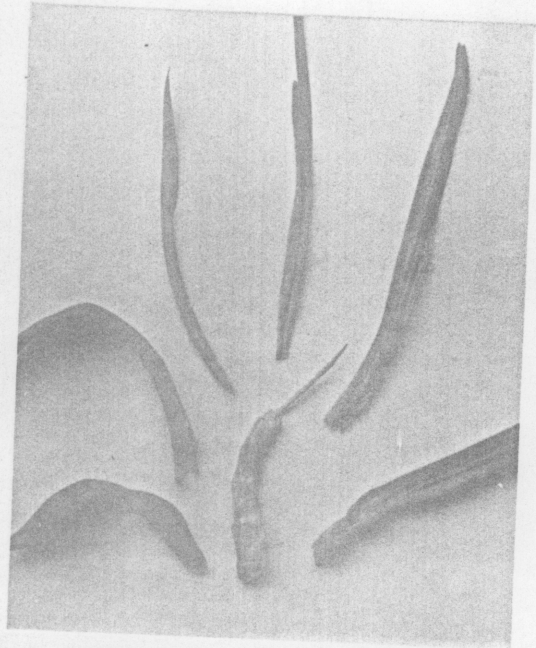
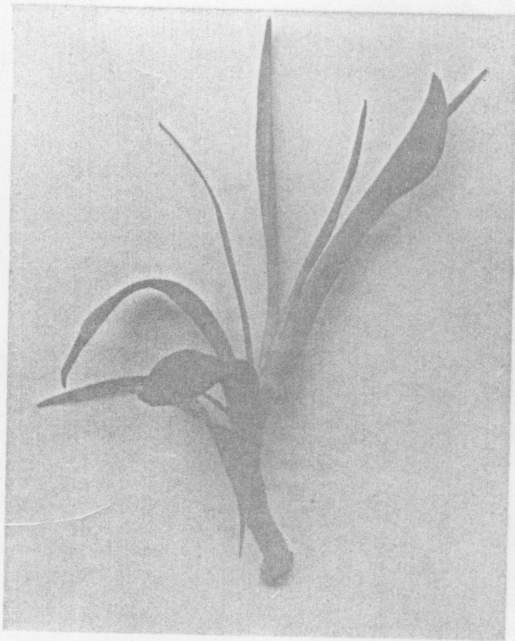
- ก. ชิ้นส่วนของลำต้นที่นำไปเลี้ยงในอาหารวัน ได้รับความเข้มของแสง 3,000 ลักซ์
- ข. ชิ้นส่วนของลำต้นที่นำไปเลี้ยงในอาหารหลอดเขย่า 100 รอบ/นาที ได้รับความเข้มของแสง 1,000 ลักซ์

ก. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของลำต้นบนอาหารวุ้น

เมื่อนำเอาลำต้นที่มีขนาดยาว 7-10 ซม. (รูปที่ 1) มาลอกใบออกให้หมดเหลือเฉพาะเนื้อเยื่อของลำต้น (รูปที่ 2) จึงตัดเนื้อเยื่อลำต้นออกเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 0.5 ซม. นำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin และ Went (1949) ตัดแปลงโดยเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ได้รับความจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 16 ชม./วัน ในความเข้มของแสง 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25-28° ซ ปรากฏว่าเนื้อเยื่อของลำต้นสามารถเจริญเป็นต้นได้จำนวนมาก ลักษณะของต้นประกอบด้วยใบสีเขียวยาวแหลม จากการสังเกตต้นที่เกิดขึ้นระยะแรกกินเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ เมื่อย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารใหม่ทุกๆ 2-3 สัปดาห์ จำนวนต้นสามารถเพิ่มขึ้นได้มาก ถ้าแยกหน่อออกไปเลี้ยงในอาหารใหม่ก็สามารถเพิ่มจำนวนได้เช่นกัน ดังนั้นจึงสามารถเพิ่มจำนวนของต้นยี่สิบปีนี้ได้มากตามที่ต้องการ การเกิดรากจากต้นหรือหน่อที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นนี้เกิดได้ช้าแม้จะเลี้ยงไว้เป็นเวลาถึง 6 สัปดาห์

ข. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว

เมื่อนำเนื้อเยื่อของต้นกล้วยไม้พันธุ์ยี่สิบปีที่มีขนาด 0.5 ซม. เลี้ยงบนอาหารวุ้น สูตร Vacin และ Went (1949) บนเครื่องเขย่า (rotary shaker) 100 รอบต่อนาที ได้รับความจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 16 ชม./วัน ในความเข้มของแสง 1,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25-28° ซ ปรากฏว่าเนื้อเยื่อของลำต้นสามารถเจริญและมองเห็นได้ภายใน 3-4 สัปดาห์ โดยเจริญเป็นก้อนคล้ายโปรโตคอร์ม (protocorm-like bodies) เมื่อย้ายโปรโตคอร์มนั้นไปเลี้ยงในอาหารใหม่ทุกๆ 2-3 สัปดาห์ สามารถเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์มได้มากในเวลาอันสั้น ลักษณะของโปรโตคอร์มเป็นก้อนกลมๆ และมีส่วนที่คล้ายใบเกิดขึ้นโดยรอบ เมื่อย้ายโปรโตคอร์มไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นพบว่ามี การเจริญเป็นต้นจำนวนมาก (multiple shoot) ภายใน 4-6 สัปดาห์



- รูปที่ 1 ลำต้นของกล้วยไม้พันธุ์โกลีนิงที่นำมาใช้ในการขยายพันธุ์
 รูปที่ 2 ลำต้นที่ลดციใบออกหมดแล้ว
 รูปที่ 3 เนื้อหรือค้ำที่เกิดจากชิ้นส่วนของลำต้นที่เลี้ยงบนอาหารวุ้น
 รูปที่ 4 เนื้อหรือค้ำซึ่งสามารถเพิ่มได้จำนวนมาก



รูปที่ 5 ลักษณะของโปรโตคอร์มที่เลี้ยงในอาหารเหลว



รูปที่ 6 ต้นกล้วยไม้ที่ขึ้นด้วยโดปิ้งสามารถเพิ่มจำนวนได้มากและสามารถนำไปปลูกได้

สรุปและวิจารณ์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในอาหารสังเคราะห์สามารถทำได้เกือบทุกชนิด อวัยวะต่างๆของกล้วยไม้ที่นำมาเพาะเลี้ยงได้แก่ ราก ลำต้น ปลายอด ใบ ก้านช่อดอก (Intuwong, O. 1973) การเพาะเลี้ยงเมล็ดของกล้วยไม้พันธุ์ยี่โถปีนังในอาหารวุ้นของสูตร Vacin และ Went (1949) สามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ ส่วนเมล็ดที่นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสามารถเจริญเป็นโปรโตคอร์มจำนวนมากและสามารถทำให้เกิดเป็นต้นได้มากมาย (บุญยืน, 2525) เมื่อนำเอาเนื้อเยื่อของลำต้นกล้วยไม้พันธุ์ยี่โถปีนังที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดมาใช้ในการขยายพันธุ์โดยนำเอาไปเลี้ยงในอาหารวุ้นปรากฏว่าเกิดต้นได้จำนวนมาก จากการสังเกตพบว่าต้นที่เกิดขึ้นเจริญมาจากส่วนของตาข้าง (axillary buds) และเพิ่มจำนวนได้มาก และเมื่อตัดหน่อหรือต้นที่เกิดขึ้นใหม่ไปเลี้ยงในอาหารก็สามารถเพิ่มจำนวนได้เรื่อยๆ ดังนั้นในระยะนี้จึงเหมาะที่จะเพิ่มจำนวนต้นของกล้วยไม้พันธุ์ยี่โถปีนัง ส่วนลำต้นที่นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่า เนื้อเยื่อสามารถเกิดเป็นลักษณะคล้ายโปรโตคอร์มและมีใบเกิดขึ้นโดยรอบ ลักษณะของโปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นแตกต่างจากโปรโตคอร์มของกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium ซึ่งจากการสังเกตพบว่าการเจริญของโปรโตคอร์มนั้นเจริญมาจากส่วนของตาข้าง (Axillary buds) มีลักษณะเป็นก้อนกลม เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของโปรโตคอร์มในกล้วยไม้พันธุ์ยี่โถปีนังและกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium พบว่าการเจริญของกล้วยไม้พันธุ์ยี่โถปีนังเจริญได้ช้ากว่าและได้จำนวนน้อย การเพิ่มจำนวนของกล้วยไม้พันธุ์ยี่โถปีนังก็สามารถเพิ่มจำนวนได้มากโดยการแยกโปรโตคอร์มไปเลี้ยงในอาหารใหม่ทุกๆ 2-3 สัปดาห์ เมื่อย้ายโปรโตคอร์มนั้นไปเลี้ยงในอาหารวุ้นจึงเจริญเป็นต้นได้และมีรากเกิดขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. บุญยืน กิจวิจารณ์ 2524. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ แก่นเกษตร 9(3) : 127-133.
2. บุญยืน กิจวิจารณ์ 2525. การขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ไทยปิ้งในอาหารปลอดเชื้อ วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 10(4) : 313-317.
3. Cheah, K.T. and Y. Sagawa, 1978. In Vitro Propagation of Aranda Wendy Scott and Aranthera James Storei. HortScience 13(6):661-662.
4. Intuwong, O. and Sagawa. 1973. Clonal Propagation of Sarcantine Orchids by Aseptic Culture of Inflorescences. American Orchid Society. 109-215.
5. -----, 1974. Clonal Propagation of Phalaenopsis by Shoot Tip Culture. American Orchid Society. 893-895.
6. -----, 1975. Clonal Propagation of Dendrobium Golden Wave and Other Nobile Types. American Orchid Society. 319-322.
7. Seidenfaden, G. and Smitittinand, T. 1959. The Orchids of Thailand. The Siam Society Bangkok. vol I.P. 184.