

ผลของสารอินทรีย์บางชนิดต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of some organic substances on growth of *Dendrobium* hybrids *in vitro* culture

พุทธิชาติ แก้วเขียว¹, วรัญญู แก้วดวงตา^{1*} และ พนิดา อริมัตลี¹

Phutthachat Kaewkhiew¹, Waranyoo Kaewduangta^{1*} and Panida Arimatsu¹

บทคัดย่อ: กล้วยไม้สกุลหวายเป็นกล้วยไม้ที่มีการส่งออกมากที่สุดของไทย ในการผลิตได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์ การวิจัยครั้งนี้ จึงมีความมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของอาหารสูตร Vacin และ Went (VW) ที่เติมผงถ่าน, กล้วยหอม และมันฝรั่ง ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้หวายสเปลเบา และหวายเมนิลอุไรวรรณ (*Dendrobium spellbound* x *D. Maynin Uraivan*) จากนั้นนำฝักที่มีอายุ 120 วันหลังการผสมไปเพาะบนอาหารสูตร VW แล้วนำต้นอ่อนที่ได้ไปศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ร่วมกับวัสดุธรรมชาติ ได้แก่ ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร, กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร และ มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพควบคุมอุณหภูมิที่ 25±2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ความเข้ม 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า เมล็ดสามารถพัฒนาไปเป็น โปรโตคอร์มได้บนอาหารสูตร VW ภายหลังจากเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และโปรโตคอร์ม สามารถพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนที่มีใบ 2-3 ใบ ภายหลังจากเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ หลังการงอกของเมล็ดพบว่าอาหารสูตร VW ที่เติมผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร, กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมมีเจริญเติบโตด้านความสูง จำนวนใบ และจำนวนรากที่สุด คือ 1.64 เซนติเมตร/ต้น 3.50 ใบ/ต้น และ 2.50 ราก/ต้น ตามลำดับภายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

คำสำคัญ: *Dendrobium spellbound*, *Dendrobium Maynin Uraivan*, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารอินทรีย์

Abstract: *Dendrobium* is exported more than other orchids. Tissue culture has been used for orchid propagation. The objective of the research was to investigate the effect of Vacin and Went (VW) medium supplemented with activated charcoal, banana and potato on growth and development of *Dendrobium* hybrids *In vitro* culture. Constructed *Dendrobium* hybrids by crossing between *D. spellbound* and *D. Maynin Uraivan*. Pods were harvested 120 days after pollination and seeds were then germinated aseptically on VW medium. Seedlings were transferred to VW medium supplemented with 2 g/l activated charcoal, 50 g/l banana and 50 g/l potato. All cultures were incubated at 25±2 °C under 16 hrs of 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ from daylight fluorescent lamps. Seeds developed into protocorm after four weeks of culture and protocorm subsequently developed into have 2-3 leaves seedling within eight weeks on VW medium. The VW medium supplemented with 2 g/l activated charcoal, 50 g/l banana and 50 g/l potato induced the seedling of *Dendrobium* hybrids had the highest plant height, leave and root number of 1.64 cm/plant, 3.50 leaves/plant and 2.50 roots/plant respectively after six weeks.

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150

¹ Department of Agricultural Technology Faculty of Technology, Mahasarakham University 44150

* Corresponding author: a_waran@hotmail.com

Key words: *Dendrobium spellbound*, *Dendrobium* Maynin Uraiwan, tissue culture, organic substance

บทนำ

กล้วยไม้เป็นสินค้าประเภทไม้ดอกไม้ประดับที่มีการส่งออกมากที่สุดของไทย ประเทศไทยมีการส่งออกกล้วยไม้ในรูปแบบกล้วยไม้ตัดดอก ต้นกล้วยไม้ ต้นกล้วยไม้ในขวด และผลิตภัณฑ์จากดอก (ฉกรรจ์, 2547) โดยในปี พ.ศ. 2550–2553 (มกราคม-พฤศจิกายน) ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกปีละ 2,944.71, 2,833.80, 2,738.33 และ 2,502.38 ล้านบาทต่อปี ตามลำดับ (กระทรวงพาณิชย์, 2553) นับได้ว่ากล้วยไม้เป็นพืชส่งออกที่มีมูลค่ามหาศาล สำหรับตลาดของกล้วยไม้สามารถแบ่งได้ตามความต้องการ คือใช้ภายใน ประเทศร้อยละ 50 ส่วนที่เหลือร้อยละ 50 ส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศ และหากพิจารณาถึงสัดส่วนการส่งออกพบว่า ร้อยละ 86 ของกล้วยไม้ที่ส่งออกเป็นกล้วยไม้ สกุลหวาย (*Dendrobium*) (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2551) และกล้วยไม้ที่น่าสนใจในสกุลนี้ เช่น กล้วยไม้สเปลบาว (*Dendrobium spellbound*) เป็นพันธุ์ที่ปลูกเลี้ยงง่าย มีความเด่นในเรื่องให้ผลผลิตดี การเรียงตัวของดอกสวยเป็นระเบียบ และมีความยาวทั้งช่อประมาณ 70.50 เซนติเมตร และกล้วยไม้เมนิลอุไรวรรณ (*D. Maynin Uraiwan*) เป็นกล้วยไม้ที่ดอกมีกลิ่นหอมจำนวนดอกบนช่อดอก 15 – 20 ดอก การเรียงตัวของดอกบนช่อดอก 3 แถว (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2552)

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อเป็นแนวทางหนึ่งที่ประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นในเวลาอันรวดเร็ว (Martin and Madassery, 2006) และประเทศไทยมีการผลิตกล้วยไม้เพื่อการส่งออกเป็นจำนวนมาก งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา

อิทธิพลการใช้สารอินทรีย์บางชนิด ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีการศึกษา

1. การผสมข้ามสายพันธุ์ และการเพาะเมล็ด

ผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้หวายสเปลบาว (*D. spellbound*) และหวายเมนิลอุไรวรรณ (*D. Maynin Uraiwan*) โดยให้กล้วยไม้หวายสเปลบาวเป็นต้นแม่ และกล้วยไม้หวายเมนิลอุไรวรรณเป็นต้นพ่อ หลังจากนั้นนำฝักที่ได้ (120 วันหลังการผสม) ไปเพาะบนอาหารสูตร Vacin และ Went (VW, 1949) เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพความคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ความเข้ม $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

2. การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ร่วมกับวัสดุธรรมชาติ

นำต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมที่ได้จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร VW (1949) ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ที่เติมสารอินทรีย์ต่างๆ ดังนี้ 1.) VW ร่วมกับ ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร (VA) 2.) VW ร่วมกับ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร (VB) 3.) VW ร่วมกับ มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร (VP) 4.) VW ร่วมกับ ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร และกล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร (VAB) 5.) VW ร่วมกับ ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร (VAP) 6.) VW ร่วมกับ กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร (VBP) และ 7.) VW ร่วมกับ ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร, กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร และมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร (VABP) ที่สภาพความคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ความเข้ม $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เปลี่ยน

อาหารทุก 1 สัปดาห์ เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้น จำนวนใบ และจำนวนราก เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบข้อมูลกับ VW (1949) ที่ไม่เติมสารอินทรีย์ (control)

ทำการทดลองที่แปลงทดลองการเกษตร และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ประกอบด้วย 4 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Statistix

ผลการศึกษา

1. การผสมข้ามสายพันธุ์ และการเพาะเมล็ด

จากการนำฝักที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้หวายสเปลขาว และหวายเมนิลอุไรวรรณ อายุ 120 วัน หลังการผสมมาเพาะบนอาหารสูตร VW (1949) พบว่าหลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์เมล็ดมีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์รัม และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 4 สัปดาห์ พบว่า โปรโตคอร์รัมพัฒนาเป็นต้นอ่อน (seedling) ที่มีขนาด 0.5 เซนติเมตร และมีใบเกิดขึ้น 2-3 ใบ/ต้น

2. การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ร่วมกับวัสดุธรรมชาติ

หลังจากนำต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมที่ได้จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร VW (1949) ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ร่วมกับวัสดุธรรมชาติ ได้แก่ ผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร, กล้วยหอม 50 กรัมต่อลิตร และ มันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร พบว่า วัสดุธรรมชาติที่เติมลงไปในการอาหารสูตร VW (1949) มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสม (Figure 1) ดังนี้

2.1 การเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้นของกล้วยไม้ลูกผสม พบว่า ใน 3 สัปดาห์แรกของการ

ทดลองความสูงต้นของกล้วยไม้ลูกผสม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในสัปดาห์ที่ 4-6 ของการทดลองพบว่าอาหารสูตร VABP สามารถชักนำให้กล้วยไม้ลูกผสมมีความสูงต้นสูงที่สุดคือ 0.95, 1.29 และ 1.64 เซนติเมตร/ต้น ตามลำดับ ($p \leq 0.01$) และในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองพบว่า กล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VB, VP, VAB, VAP และ VBP มีความสูงที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 1.11, 1.15, 1.20, 1.25 และ 1.21 เซนติเมตร/ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสูงของกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW และ VABP พบว่ากล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VABP มีความสูงมากกว่ากล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Figure 2a)

2.2 การเจริญเติบโตทางด้านจำนวนใบของกล้วยไม้ลูกผสม พบว่าใน 5 สัปดาห์แรกของการทดลองจำนวนใบของกล้วยไม้ลูกผสมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลองพบว่าอาหารสูตร VABP สามารถชักนำให้กล้วยไม้ลูกผสมมีจำนวนใบสูงที่สุดคือ 3.50 ใบ/ต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ กล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่มีจำนวนใบ 2.88 ใบ/ต้น ส่วนกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VA, VB, VP, VAB, VAP และ VBP มีจำนวนใบที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 2.75, 2.38, 2.50, 2.50, 2.38 และ 2.50 ใบ/ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตด้านจำนวนใบของกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW และ VABP พบว่า กล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VABP มีจำนวนใบที่ไม่แตกต่างกันกับกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Figure 2b)

2.3 การเจริญเติบโตทางด้านจำนวนรากของกล้วยไม้ลูกผสม พบว่า ในสัปดาห์ที่ 1 และ 4 ของการทดลองจำนวนรากของกล้วยไม้ลูกผสมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ของการทดลองพบว่าอาหารสูตร VABP สามารถชักนำให้กล้วยไม้

ลูกผสมมีจำนวนรากสูงที่สุดคือ 1.68 และ 1.93 ราก/ต้น ($p \leq 0.01$) ส่วนในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ของการทดลองพบว่า อาหารสูตร VABP สามารถชักนำให้กล้วยไม้ลูกผสมมีจำนวนรากสูงที่สุดคือ 2.38 และ 2.50 ราก/ต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW และ VA ที่มีจำนวนรากในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 2.23 และ 2.25 ราก/ต้นตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนรากของกล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW และ VABP พบว่า กล้วยไม้ลูกผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VABP มีการเจริญเติบโตด้านจำนวนรากสูงกว่ากล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Figure 2c)

สรุปและวิจารณ์

เมล็ดของกล้วยไม้ลูกผสม สามารถพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มได้บนอาหารสูตร VW (1949) ภายหลังจากเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนที่มีขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร ภายหลังจากเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ หลังการงอกของเมล็ดพบว่า ต้นอ่อนของกล้วยไม้ลูกผสมสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร VW ที่เพิ่มวัสดุธรรมชาติ ได้แก่ ผงถ่าน กล้วยหอม และมันฝรั่ง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อรรถพล และสุรียา (2552) พบว่าอาหารสูตร VW ที่เติมกล้วยหอม ทำให้การเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเงินแดงดีที่สุด โดยมีผลทำให้กล้วยไม้เอื้องเงินแดงมีการเติบโตด้านความสูงต้น ความกว้างลำต้น เกิดรากดีที่สุด และ Vyas *et al.* (2009) รายงานว่า การเติมกล้วยลงไป ในอาหารสูตร Kundson's C (KC) มีผลต่อการเกิดใบและรากของ *D. lituiflorum* Lindl. มากที่สุด เนื่องจากในกล้วยหอม ประกอบด้วย วิตามิน และแร่ธาตุจำหลายชนิด และยังมีสาร indole acetic acid (IAA) และ gibberellic acid (GA) อีกด้วย และในมันฝรั่ง มีโพลีเอมีน (polyamine) ซึ่งสารโพลีเอมีนมีผลต่อการเจริญและพัฒนาของเซลล์ ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบ

ไมโทซิส (mitosis) ในเนื้อเยื่อมากขึ้น (Vyas *et al.*, 2529) ส่วนผงถ่านมีความสามารถในการดูดซับสารประเภท ฟีนอล (phenol) และ เมลานิน (melanin) ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนั้นยังทำให้อาหารเป็นสื่อค้ำมีผลให้เกิดการพัฒนาของรากและเจริญเติบโตขึ้น (Arditti and Ernst, 1993)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำงานวิจัย และภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงพาณิชย์. 2552. การส่งออกสินค้าสำคัญของไทยเรียงตามมูลค่า. http://www2.ps3.moc.go.th/export/recode_export_rank/report.asp ค้นเมื่อ 28 ธันวาคม 2553.
- ฉกรรจ์ แสงรักษาวงศ์. 2547. กล้วยไม้. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 255. กล้วยไม้ไทยก้าวไกลในเวทีโลก. <http://www.positioningmag.com/prnews/prnews.aspx?id=68935> ค้นเมื่อ 28 ธันวาคม 2553.
- สถาบันวิจัยพืชสวน. 2552. ศูนย์บริการจัดการเครือข่ายข้อมูลกล้วยไม้ Orchid net. http://orchidnet.doae.go.th/home/orchid_detail_all.php ค้นเมื่อ 18 พฤษภาคม 2553].
- อรรถพล วิศิษฐาณิษฐ์ และสุรียา ต้นดิวิวัฒน์. 2552. ผลของไซโตไคนินและกล้วยหอมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ เอื้องเงินแดงในสภาพปลอดเชื้อ. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47: สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Arditti, J., and R. Ernst. 1993. Micropropagation of Orchids. John Willey & Sons, Inc, New York
 Martin, K.P., and J. Madassery. 2006. Rapid *in vitro* propagation of *Dendrobium* hybrids through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm-like bodies. *Scientia Horticulturae*. 108 : 95-99.

Vyas, S., G. Satyakam, B. Minakshi, and I.R. Usha. 2009. Rapid regeneration of plants of *Dendrobium lituiflorum* Lindl. (Orchidaceae) by using banana extract. *Scientia Horticulturae*. 121 : 32-37.

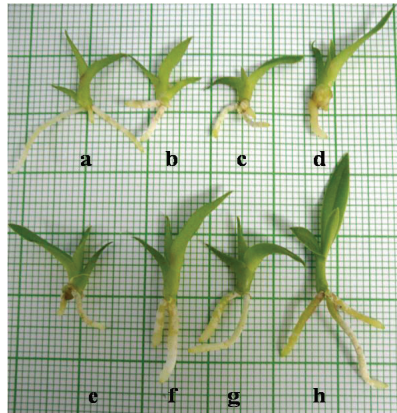


Figure 1 *Dendrobium* hybrids seedling developed on each mediums a) VW, b) VA, c) VB, d) VP, e) VAB, f) VAP, g) VBP and h) VABP after cultured for 6 weeks. One small square = 1 mm²

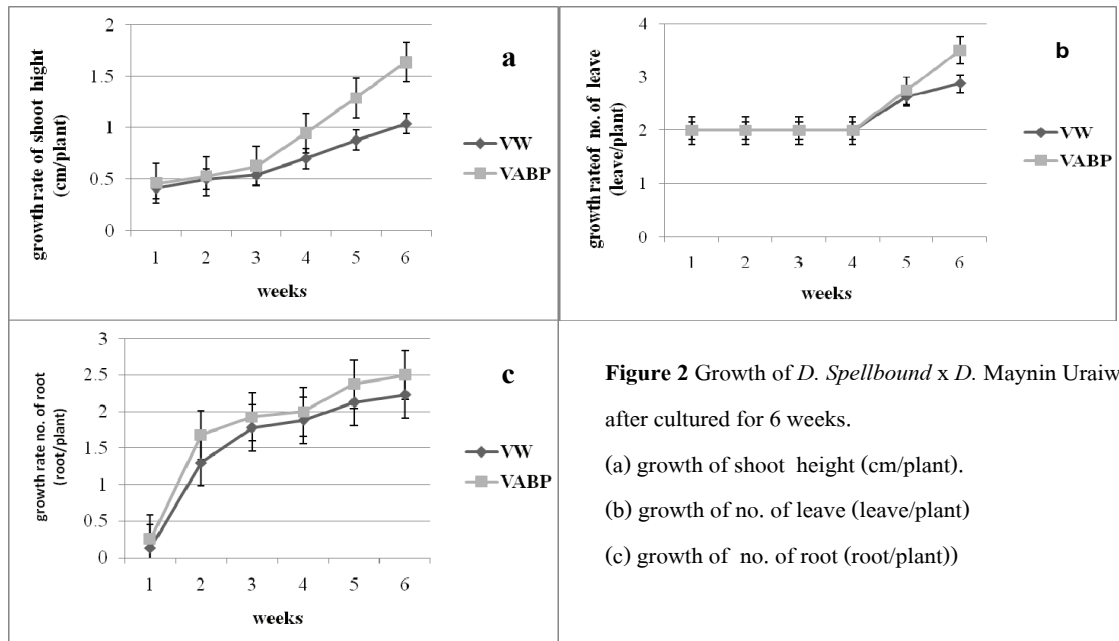


Figure 2 Growth of *D. Spellbound x D. Maynin Uraiwan* after cultured for 6 weeks.
 (a) growth of shoot height (cm/plant).
 (b) growth of no. of leave (leave/plant)
 (c) growth of no. of root (root/plant))