

ผลของน้ำมะพร้าว BA NAA และพาโคลบิวทราโซล ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า เอื้องนางรู้งในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of coconut water, BA, NAA and paclobutrazol on growth and development of *Hygrochilus parishii* (Veitch & Rehb.f.) Pfitzer *in vitro*

โสภา ชูเพ็ง^{1*} และ อัจฉรวินัย ลักษณะสุด¹

Sopa Choopeng^{1*} and Atcharavit Luksanasut¹

บทคัดย่อ: ศึกษาการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อของต้นกล้าเอื้องนางรู้ง (*Hygrochilus parishii* (Veitch & Rehb.f.) Pfitzer) กล้ายไม้อิงอาศัยที่มีดอกสีส้มสวยงาม โดยวางเลี้ยงบนอาหารเดิมและไม่เติมน้ำมะพร้าวร่วมกับ BA (Benzyladenine) เข้มข้น 0 – 2.0 มก./ล. และ NAA (Naphthalene acetic acid) เข้มข้น 0-0.5 มก./ล. หรือบนอาหารเดิมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่างๆ ผลการศึกษา พบว่า เอื้องนางรู้งมีน้ำหนักสดต่อกอสูงสุด 645.33 มก. เมื่อเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร MS₃ (modified Murashige and Skoog medium) หรือการเติมน้ำมะพร้าว ร่วมกับ BA เข้มข้น 2.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มก./ล. อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบการเดิมและไม่เติมน้ำมะพร้าว พบว่า ไม่มีผลทางสถิติต่อน้ำหนักสด จำนวนราก จำนวนใบ และความยาวใบ การศึกษาความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องนางรู้ง พบว่า การเดิมพาโคลบิวทราโซล เข้มข้น 0.1 มก./ล. บนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog medium) ส่งเสริมให้เอื้องนางรู้ง มีน้ำหนักสดต่อกอ และความยาวรากสูงสุด 589.00 มก. และ 1.61 ซม. ตามลำดับ แต่ไม่มีผลความแตกต่างทางสถิติกับต้นกล้าที่เลี้ยงบนอาหารปราศจากพาโคลบิวทราโซล

คำสำคัญ: น้ำมะพร้าว เอื้องนางรู้ง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พาโคลบิวทราโซล

Abstract: The effects of coconut water, benzyladenine (BA), naphthalene acetic acid (NAA) and paclobutrazol on the growth and development of *Hygrochilus parishii* (Veitch & Rehb.f.) Pfitzer, an epiphytic multicolor orchid, were studied *in vitro*. *H. parishii* was grown on various media supplemented with or without coconut water, BA concentrations ranging from 0-2.0 mg/l, NAA concentrations ranging from 0-0.5 mg/l and various concentrations of paclobutrazol. The results showed that *H. parishii* seedlings reached a maximum fresh weight of 645.33 mg on MS₃ medium (modified Murashige and Skoog medium), supplemented with coconut water and 2.0 mg/l BA and 0.5 mg/l NAA. However, the comparison between media supplemented with or without coconut water showed non-significant statistical responses in fresh weight, root number, leaf number and leaf length. The optimum concentration of paclobutrazol for growth and development of *H. parishii* seedlings was the solidified

¹สาขาวิชาการจัดการพืชสวนประดับ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ภูเก็ต 83000

¹Department of Ornamental Horticulture Management, Faculty of Agriculture Technology, Phuket Rajabhat University, Phuket 83000

* Corresponding author: te_sopa@hotmail.com

MS medium (Murashige and Skoog medium) supplemented with 0.1 mg/l paclobutrazol promoting the highest fresh weight and root length of 589.00 mg and 1.61 cm respectively. The seedlings cultured in non-paclobutrazol medium showed non-significant statistical differences.

Keyword: coconut wawter, *Hygrochilus parishii* (Veitch & Rchb.f.) Pftpzer, micropropagation, paclobutrazol

บทนำ

เอื้องนางรู้ง (*Hygrochilus parishii* (Veitch & Rchb.f.) Pftpzer) หรือชื่อเรียกอื่นๆ เช่น ลิ้นกระบือ เอื้องปากเป็ด เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ต้นสูง 15-40 ซม. ใบรูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 5-8 ซม. ยาว 12-25 ซม. ออกดอกเป็นช่อตามข้อ ทอดขนานกับพื้น ช่อยาว 15-30 ซม. จำนวน 4-10 ดอกต่อช่อ ดอกมีสีแสดแกมม่วง หรือสีเหลืองอมเขียว และมีแต้มสีน้ำตาล โคนกลีบสีขาวหรือสีจาง กลีบปากสีม่วงแกมแดง เส้าเกสรสีขาว ดอกบานเต็มที่กว้าง 3.5-4.5 ซม. พบตามป่าผลัดใบหรือป่าดิบแล้งทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันตก ออกดอกช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม เนื่องจากลักษณะดอกที่มีสันสวยงาม และก้านช่อดอกยาวจึงเป็นที่ชื่นชอบของนักสะสมกล้วยไม้ป่าหรือผู้รักกล้วยไม้ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสูตรอาหาร และความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องนางรู้งในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นการอนุรักษ์ และขยายพันธุ์

วิธีการศึกษา

นำฝักแก่ที่ติดมากับต้นเอื้องนางรู้งจากร้านจำหน่ายกล้วยไม้ป่า เช็ดทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70% ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวหน้าโดยการแช่ในสารละลายคลอโร็กซ์ เข้มข้น 20% แช่ 120 รอบ/นาทิตเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นจุ่มแอลกอฮอล์ 95% ลนผ่านเปลวไฟ ฆ่าฝักนำเมล็ดวางเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went medium) เดิมมันฝรั่งบด 70 ก./ล. น้ำมะพร้าว 150 มล./ล. น้ำตาล 20 ก./ล. รุ้น 6.5 ก./ล. ปรับ

pH 5.3 เมล็ดของเอื้องนางรู้งงอกได้ดิบอาหารเลี้ยงสูตร VW หลังเมล็ดงอก 2 เดือน ย้ายโพโทคอร์ม 2 ครั้ง บนอาหารสูตรเดิม นำต้นกล้าที่ได้เลี้ยงเพื่อทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า

การศึกษาที่ 1 ผลของน้ำมะพร้าว BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางรู้ง

นำต้นกล้าเอื้องนางรู้ง ขนาด 1 ซม. หรือหลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 10 เดือน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog medium, 1962) ดัดแปลงโดยเติมและไม่เติมน้ำมะพร้าว 200 มล./ล. ร่วมกับ BA (Benzyladenine) เข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 2.0 มก./ล. และ NAA (Naphthalene acid acid) เข้มข้น 0 และ 0.5 มก./ล. (MS₀₋₇ Table 1) ทุกสูตร เติมน้ำตาล 30 ก./ล. ผงถ่านกัมมันต์ 1.0 ก./ล. รุ้น 6.5 ก./ล. ปรับ pH 5.7 หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน บันทึกผลและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดตอกอ จำนวนหน่อ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และความยาวใบ

การศึกษาที่ 2 ผลของพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางรู้ง

นำต้นกล้าเอื้องนางรู้ง ขนาด 1 ซม. หรือหลังเพาะเมล็ดเป็นเวลา 10 เดือน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog medium) เติมหาโคลบิวทราโซล เข้มข้น 0, 0.05, 0.1, 1.0, และ 2.0 มก./ล. น้ำมะพร้าว 150 มล./ล. ผงถ่านกัมมันต์ 2.0 ก./ล. รุ้น 6.5 ก./ล. ปรับ pH 5.8 หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน บันทึกผลและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดตอกอ จำนวนหน่อ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และความยาวใบ

ทุกการศึกษาวางเลี้ยงให้แสง 16 ชม./วัน อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาที่ 1 ผลของน้ำมะพร้าว BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางรูง

ผลจากการศึกษา พบว่า ต้นกล้าเอื้องนางรูง มีน้ำหนักสดต่อกอสูงสุด 645.33 มก. เมื่อเลี้ยงบนอาหารคัดแปลงสูตร MS₃ เติมน้ำมะพร้าว 200 มล./ล. ร่วมกับ BA เข้มข้น 2.0 มก./ล. และ NAA เข้มข้น 0.5 มก./ล. (Table 1 และ Figure 1) แตกต่างจากผลการศึกษาของ Shadang et al. (2007) รายงานว่า โพรโทคอร์มของเอื้องนางรูงพัฒนาเป็นยอดได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากน้ำมะพร้าว เติม BA เข้มข้น 2.0 มก./ล. และ NAA เข้มข้น 2.0 มก./ล. นอกจากนั้น ยังรายงานว่า การเติมน้ำมะพร้าว 150 มล./ล. ร่วมกับกล้วยบด 100 ก./ล. แทนน้ำตาล ในอาหารสูตร MS 1/2MS MKC (modified Knudson C medium) และ VW ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องนางรูงได้ดี

จากการศึกษานี้ อาหารคัดแปลงสูตร MS₇ ที่ปราศจากน้ำมะพร้าว เติม BA เข้มข้น 2.0 มก./ล. และ NAA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ให้จำนวนรากและความยาวรากสูงสุด 3.80 ราก และ 1.29 ซม. ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม พบว่า การเติมและไม่เติมน้ำมะพร้าวในอาหารปราศจาก BA และ NAA ไม่มีผลทางสถิติต่อน้ำหนักสดต่อกอ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบและความยาวใบ

การศึกษาที่ 2 ผลของ paclobutrazol ต่อการเจริญเติบโตของเอื้องนางรูง

จากการเลี้ยงเอื้องนางรูงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมพาโคลบิวทราโซล เข้มข้น 0.1 มก./ล. พบว่า มีน้ำหนักสดต่อกอ และความยาวราก สูงสุด 589.00 มก.

และ 1.61 ซม. ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารปราศจากพาโคลบิวทราโซล สอดคล้องกับ Minea (2004) รายงานว่า การเติมพาโคลบิวทราโซลไม่มีผลทางสถิติ ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลูกผสมกล้วยไม้ดินใบหมาก (*Spathoglottis kimbrilliana* x *S. plicata*) ในขณะที่การเติมกล้วยบด 100 ก./ล. ช่วยเพิ่มน้ำหนักสด ความสูง จำนวนใบ ความยาวใบและจำนวนราก

อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษานี้ พบว่า การเติมพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่ำ 0-0.1 มก./ล. ช่วยเพิ่มน้ำหนักสดต่อกอ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และความยาวใบ (Table 2 and Figure 2) เนื่องจากพาโคลบิวทราโซลส่งเสริมการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ทำให้ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ โกวิท (2543) ต้นกล้าเอื้องปากนกแก้วมีการเจริญเติบโตที่ดีและแข็งแรง เมื่อเติมพาโคลบิวทราโซล เข้มข้น 0.0001 มก./ล. โดยเมื่อนำลูกกล้วยไม้ปลูกในกระถางนี้ พบว่า มีอัตราการรอด 100 % แต่พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลสูงขึ้น ความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของลูกกล้วยไม้จะลดลง ในขณะที่ การเติมพาโคลบิวทราโซล เข้มข้น 0.1-10 มก./ล. ส่งเสริมการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอโดยตรงจากชิ้นส่วนใบ *Oncidium* Gower Ramsey และความเข้มข้น 10 มก./ล. ช่วยเพิ่มจำนวนโพรโทคอร์มเป็น 2 เท่าของชุดควบคุม หลังเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (Chen and Chang, 2003)

สรุป

1. อาหารสูตร MS₃ หรือการเติมน้ำมะพร้าว ร่วมกับ BA เข้มข้น 2.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มก./ล. ส่งเสริมให้ต้นกล้าเอื้องนางรูงมีน้ำหนักสดต่อกอสูงสุด อย่างไรก็ตาม การเติมและไม่เติมน้ำมะพร้าว ไม่มีผลทางสถิติต่อน้ำหนักสดต่อกอ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนใบ และความยาวใบ

2. ต้นกล้าเอื้องนางรุ่ง มีน้ำหนักสดต่อกอ และความยาวรากสูงสุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS เต็มพาโคลบิวทราโซลเข้มข้น 0.1 มก./ล แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารปราศจากพาโคลบิวทราโซล

คำขอบคุณ

ขอบคุณศูนย์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต สถานที่ทำวิจัย

คุณณรงค์ หึงสวัสดิ์ สำหรับคำแนะนำ กระตุ้นให้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์กล้วยไม้ป่า และคุณพรหมพร วิวัฒวงศา สำหรับการจัดเตรียมเอกสาร

เอกสารอ้างอิง

โกวิท กิตติระกูลขณะนันท์. 2543. การอนุรักษ์และ

ขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องปากนกแก้วโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Chen, J.T. and W.C. Chang. 2003. Effects of GA₃, ancymidol, cytocel and paclobutrazol on direct somatic embryogenesis of *Oncidium Gower Ramsey* in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72 :105-108.

Minea, M. 2004. A Study on Seed Germination and Seedling Development of *Spathoglottis* Bl. Orchids. M.Sc. Thesis. Kasetsart University, Bangkok.

Shadang, R., P. Dwivedi, S.N. Hegde, and N. Ahmed. 2007. Effect of different culture media on seed germination and subsequent *in vitro* development of protocorms of *Hygrochilus parishii* (Veith & Rchb.f.) Pfitz. (Ochidaceae). *Indian Journal of Biotechnology* 6 : 256-261.

Table 1 Effect of medium on growth and development of *Hygrochilus parishii* Veitch. & Rchb. f. Pfitz.

	medium treatment			fresh weight (mg)	shoot number	root number	root length (cm)	leaf length (cm)	leaf number
	CW	BA	NAA						
	(ml/l)	(mg/l)	(mg/l)						
MS ₀ :	200	-	-	501.06 ^{ab}	1.42 ^a	2.30 ^{bc}	0.99 ^b	2.32 ^a	4.47 ^a
MS ₁ :	200	0.5	0.5	248.33 ^e	1.00 ^b	1.87 ^c	0.92 ^b	1.56 ^c	3.27 ^{bc}
MS ₂ :	200	1.0	0.5	478.33 ^{abc}	1.09 ^b	2.67 ^{bc}	1.05 ^{ab}	2.05 ^{abc}	3.76 ^{abc}
MS ₃ :	200	2.0	0.5	645.33 ^a	1.20 ^{ab}	2.70 ^{bc}	1.10 ^{ab}	2.22 ^{ab}	4.27 ^a
MS ₄ :	-	-	-	425.33 ^{bcd}	1.00 ^b	3.07 ^{ab}	1.05 ^{ab}	2.04 ^{abc}	3.77 ^{abc}
MS ₅ :	-	0.5	0.5	257.00 ^{de}	1.00 ^b	1.80 ^c	0.89 ^b	1.83 ^{abc}	3.07 ^c
MS ₆ :	-	1.0	0.5	285.67 ^{cde}	1.10 ^b	2.60 ^{bc}	0.88 ^b	1.65 ^{bc}	3.89 ^{ab}
MS ₇ :	-	2.0	0.5	451.33 ^{abcd}	1.00 ^b	3.80 ^a	1.29 ^a	1.99 ^{abc}	4.00 ^{ab}
F-test				*	**	*	**	*	*
CV (%)				18.5254	15.5199	15.0013	15.3628	11.0018	7.4583

* = significantly different (P<0.05), ** = high significantly different.

Means in column followed by common letter are not significantly different by DMRT at $P \leq 0.05$.

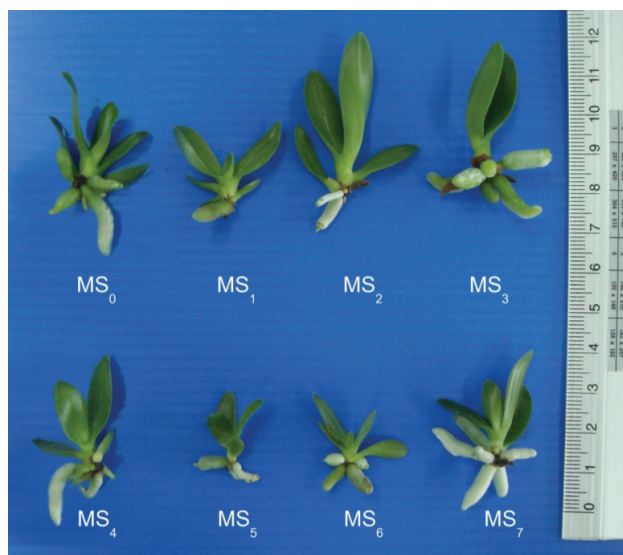
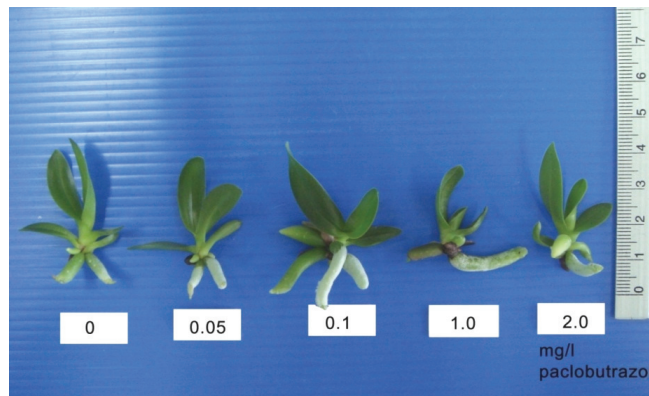
**Figure 1** Growth and development of *Hygrochilus parishii* Veitch. & Rchb. f. Pfitz. on MS₀₋₇ medium.

Table 2 Effect of paclobutrazol on growth and development of *Hygrochilus parishii* Veitch. & Rchb. f. Pfitz.

Concentration of paclobutrazol (mg/l)	fresh weight (mg)	shoot number	root number	root length (cm)	leaf length (cm)	leaf number
0	533.33 ^{ab}	1.03	3.07 ^{ab}	1.50 ^a	2.32 ^a	4.00
0.05	515.67 ^b	1.07	3.77 ^a	1.28 ^b	2.32 ^a	3.83
0.1	589.00 ^a	1.10	3.00 ^{ab}	1.61 ^a	2.06 ^{ab}	3.47
1.0	433.67 ^c	1.10	2.20 ^b	1.24 ^b	1.92 ^b	4.40
2.0	467.67 ^c	1.03	2.37 ^b	1.28 ^b	2.02 ^{ab}	3.47
F-test	*	ns	*	*	*	ns
CV (%)	4.5140	7.2618	17.7049	8.7952	8.3395	21.1931

* = significantly different ($P < 0.05$), ns = non-significantly different.

Means in column followed by common letter are not significantly different by DMRT at $P \leq 0.05$.

**Figure 2** Effects of various concentrations of paclobutrazol on growth and development of *Hygrochilus parishii* Veitch. & Rchb. f. Pfitz.