

ผลของวัสดุปลูกและสารไคโตซาน (chitosan) ต่อการอนุบาล กล้วยไม้ม้าวิง ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of growing media and chitosan on acclimatization of *Doritis pulcherrima* Lindl. seedlings from seed culture

นัตยา มนตรี^{1*}, สุกัญญา แสนภักดี¹ และ สิทธิโชค วินะคุปต์¹

Nattaya Montri^{1*}, Sukanya Saenphakdi¹ and Sitthichok Vinakub¹

บทคัดย่อ: ผลของการแช่สารละลาย chitosan ก่อนการย้ายปลูกร่วมกับชนิดของวัสดุปลูก ต่อการอนุบาลกล้วยไม้ม้าวิง โดยการนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ มาแช่สารละลาย chitosan ความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 มก./ล. เป็นเวลา 40 นาที ก่อนการย้ายปลูกในวัสดุปลูก 3 ชนิด ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ กาบมะพร้าวสับและถ่าน (1:1) และ กาบมะพร้าวสับ อิฐทุบ และถ่าน (1:1:1) หลังการอนุบาลเป็นเวลานาน 2 เดือน พบว่า ต้นกล้าที่ได้รับการแช่ในสารละลาย chitosan ความเข้มข้น 20-30 มก./ล. และย้ายปลูกในวัสดุปลูก กาบมะพร้าวสับและถ่าน (1:1) มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสด จำนวนใบ จำนวนราก และความสูงต้นมากที่สุด

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, กล้วยไม้, สารควบคุมการเจริญเติบโต

ABSTRACT: The effect of various chitosan concentrations and growing media on acclimatization of *Doritis pulcherrima* Lindl. seedlings from seed culture were investigated. Seedlings were soaked in 0, 10, 20 and 30 mg/l chitosan before acclimatized in 3 different growing media; coconut husk chipped, coconut husk chipped and charcoal (1:1), charcoal : broken brick and coconut husk chipped (1:1:1) for 2 months. The result showed that soaking with 20-30 mg/l chitosan and transferred to coconut husk chipped: charcoal (1:1) gave the best result for seedlings development with maximum of the fresh weight, leaf number, root number and highest seedlings.

Keywords: tissue culture, orchid, plant growth regulators

บทนำ

กล้วยไม้ม้าวิง (*Doritis pulcherrima* Lindl.) เป็น กล้วยไม้ดิน สูง 5-12 ซม. ใบ รูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 2-4 ซม. ยาว 7-12 ซม. ดอก ออกเป็นช่อตั้งตามซอกใบ ยาว 20-50 ซม. บานเต็มที่กว้าง 1.5-2 ซม. กลีบเลี้ยง และกลีบดอกสีม่วงอ่อน สีม่วงแดง หรือสีขาว

กลีบเลี้ยงคู่ไปด้านหลัง กลีบปากสีม่วงแดง (Nanakorn and Watthana, 2008) พบทุกภาคของ ประเทศ บนลานหินตามป่าดิบเขาหรือบนหาดทราย ตามป่าชายหาด (สมศักดิ์, 2535) กล้วยไม้ม้าวิง เป็น กล้วยไม้ที่พบในพื้นที่อนุรักษ์ของสถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตอุดมศักดิ์ และพื้นที่ต่างๆ ในจังหวัดชุมพร จากการ

¹ หลักสูตรพืชสวน สาขาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตอุดมศักดิ์

Program in Horticulture, Division of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus

* Corresponding author: kmnattay@kmitl.ac.th

สำรวจตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 พบว่าได้มีการทำลายพื้นที่ที่กล้วยไม้มีรังกระจายพันธุ์เป็นจำนวนมาก เนื่องจากการปรับเปลี่ยนพื้นที่เพื่อใช้ประโยชน์ทางการเกษตร การก่อสร้างถนน อาคารสำนักงาน และที่อยู่อาศัย ต่อเนื่องเรื่อยมา ทำให้ปัจจุบันกล้วยไม้มีรังมีปริมาณลดลงมาก ประกอบกับความต้องการเชิงการค้า จึงได้มีการลักลอบนำออกจากพื้นที่อนุรักษ์แหล่งพันธุ์อยู่ตลอดเวลา จึงได้มีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอาไว้เพื่อป้องกันการสูญพันธุ์ และเพิ่มปริมาณให้เพียงพอต่อความต้องการเพื่อการจำหน่าย การปลูกสะสม และการลดการลักลอบนำต้นออกจากพื้นที่อนุรักษ์และพื้นที่ธรรมชาติที่พบกล้วยไม้มีรังในบริเวณใกล้เคียง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณกล้วยไม้ในระยะเวลาสั้นและได้ต้นปริมาณมาก และสามารถนำไปปลูกทดแทนต้นที่ถูกนำออกมาจากสภาพธรรมชาติได้ ซึ่งมียางงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีรังและกล้วยไม้ในสกุลเดียวกัน เช่น Mondalet.al. (2013) พบว่าการนำชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยไม้มีรังมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Knudson's C ที่เติม benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 2 มก./ล. มีผลต่อการเพิ่ม axillary shoot มากที่สุด และ เกิด protocorm-like body (PLB) สูงที่สุดเมื่อเติม naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ Rungruchkanont (2009) รายงานว่าสามารถชักนำใบอ่อนของ *D. pulcherrima* var. *Buyssoniana* ให้เกิด PLBs ได้ 18% จำนวนยอดแตกใหม่ 17% และ ใบแตกใหม่ 26% ในสูตรอาหาร NDM ที่เติม NAA 0.1 มก./ล. และ benzyladenine (BA) 1 มก./ล. นาดยา และสิทธิโชค (2553) ได้ทำการศึกษาขยายปลูกต้นกล้าของกล้วยไม้มีรัง พบว่ากล้วยไม้ทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตดีที่สุด เมื่อแช่สาร ancymidol ความเข้มข้น 10 มก./ล. แล้วทำการย้ายปลูกในวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับและถ่าน (1:1) และกาบมะพร้าวสับ ในการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของวัสดุปลูกร่วมกับการแช่สารละลายไคโตซาน (chitosan) ซึ่งไคโตซานเป็นสารมีคุณสมบัติในการเร่ง

การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ ทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรง พร้อมสำหรับการนำออกปลูกเพื่อการอนุรักษ์และการค้าต่อไป

วิธีการศึกษา

นำฝักกล้วยไม้มีรัง ที่ฝักยังไม่แตก มาทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยการจุ่มฝักด้วยแอลกอฮอล์ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Vacin and Went (VW, 1949) จนเมล็ดงอกและได้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ ทำการคัดเลือกต้นกล้าที่มีขนาดเท่ากันมาใช้ในการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (3×4 Factorial in CRD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือปัจจัยที่ 1 ชนิดของวัสดุปลูก ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ กาบมะพร้าวสับและถ่าน (1:1) และ กาบมะพร้าวสับ ถ่านและอิฐทุบ (1:1:1) ปัจจัยที่ 2 ระดับความเข้มข้นของสาร chitosan ได้แก่ 0 10 20 และ 30 มก./ล. ทำการทดลองโดยนำต้นกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไปแช่ในสาร chitosan ที่มีความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 มก./ล. เป็นเวลา 40 นาที ก่อนการย้ายปลูกในวัสดุปลูกซึ่งประกอบด้วย กาบมะพร้าวสับ กาบมะพร้าวสับและถ่าน (1:1) และ กาบมะพร้าวสับ ถ่านและอิฐทุบ (1:1:1) จำนวน 10 ซ้ำต่อกรรมวิธี โดยทำการปลูกเลี้ยงในโรงเรือนพรางแสง 50 % เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกผลโดยเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิต อัตราการเจริญเติบโต ความสูง จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวราก วัดค่าสีของใบด้วยเครื่องวัดค่าสี Hunter lab ©

รุ่น Miniscan XE PLUS วัดพื้นที่ใบด้วยเครื่อง Area meter (LI-COR®) รุ่น LI-3100 น้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักแห้งราก ของแต่ละกรรมวิธี เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rank Test (DMRT) ความเชื่อมั่น 95 %



Figure 1 Pod (A), mature seed (B), seeds culture on VW (Vacin and Went, 1949) medium (C) and seedlings of *Doritis pulcherrima* Lindl.derived from tissue culture (D).

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

จากการทดลองย้ายปลูkdต้นกล้ากล้วยไม้ม้าวัง ในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน 3 ชนิด และทำการแช่สาร chitosan ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 30 มก./ล. นาน 40 นาที ก่อนย้ายปลูกเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ชนิดของวัสดุปลูกมีความแตกต่างทางสถิติต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ม้าวัง โดย ต้นกล้าที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ : ถ่าน (1:1) และแช่สาร chitosan ความเข้มข้น 20 มก./ล. มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 4.25 ใบ (Table 1) และ การแช่สาร chitosan ที่ความเข้มข้น 30 มก./ล. มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 5.66 ราก (Figure 3) สำหรับต้นกล้าที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ : ถ่าน (1:1) และ กาบมะพร้าวสับ: ถ่าน: อิฐทุบ (1:1:1) และแช่สาร chitosan ความเข้มข้น 20 มก./ล. มีผลให้ความสูงของต้นเพิ่มมากที่สุด แต่วัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับมีความสูงต้นลดลงเมื่อความเข้มข้นของสาร chitosan เพิ่มขึ้น (Figure 2A) สอดคล้องกับ Asghari-Zakaria et.al. (2009) ที่ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสาร chitosan ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาของมันฝรั่งและพบว่าความสูงของต้น

ลดลงเมื่อได้รับสาร chitosan ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น สำหรับวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ: ถ่าน: อิฐทุบ (1:1:1) ให้ผลเช่นเดียวกับ นาดยาและอุกฤษฏ์ (2552) ที่ได้ทำการย้ายปลูkdต้นกล้ากล้วยไม้เพชรหึงและพบว่ามีความสูงต้นมากที่สุด ในส่วนของต้นกล้าที่ย้ายปลูกในกาบมะพร้าวสับ และ กาบมะพร้าวสับ: ถ่าน: อิฐทุบ (1:1:1) พบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักรากเพิ่มขึ้นเมื่อแช่สารที่ความเข้มข้น 20 มก./ล. แต่การปลูกในกาบมะพร้าวสับ:ถ่าน (1:1) มีแนวโน้มที่ให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักรากลดลงเมื่อแช่สารที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (Figure 2C) พื้นที่ใบของต้นกล้าที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับ : ถ่าน (1:1) และ กาบมะพร้าวสับ: ถ่าน: อิฐทุบ (1:1:1) มีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร chitosan (Figure 2B) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ กุลนาถและกรกช (2553) ที่รายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ chitosan ที่ 20 มก./ล. มีผลให้น้ำหนักรากสูงที่สุดในการเพาะเลี้ยงต้นกล้าของ *Dendrobium* Queen Pink และพื้นที่ใบลดลงเมื่อต้นกล้าได้รับสาร chitosan ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น คำสี่เขียวของใบพบว่า การปลูกในกาบมะพร้าวสับดีที่สุดในทุกความเข้มข้นของสาร chitosan ที่ใช้แช่ก่อนย้ายปลูก (Figure 2D)

Table 1 Leave numbers of *Doritis pulcherrima* Lindl. seedlings after soaking with various concentrations of chitosan and acclimatized in various media for 2 months.

Growing Media	Chitosan concentration (mg/L)				
	0	10	20	30	Average
coconut husk chipped	3.33	3.33	4.25	2.66	3.46a
coconut husk chipped : charcoal (1:1)	2.33	2.33	2.75	3.33	2.69b
coconut husk chipped : charcoal : broken brick (1:1:1)	2.33	3.00	2.75	2.66	2.69b
Average	2.66	2.88	3.25	2.88	
C.V.% = 28.88					
Growing media (A)	*				
Chitosan concentrations (B)	ns				
A×B	ns				

* = significant at 0.05, ns = non-significant. Means followed by the same letters are not statistically different ($P < 0.05$) from each other according to DMRT.

Table 2 New root numbers of *Doritis pulcherrima* Lindl. seedlings after soaking with various concentrations of chitosan and acclimatized in various media for 2 months.

Growing Media	Chitosan concentration (mg/L)				
	0	10	20	30	Average
coconut husk chipped	4.33	4.33	5.25	5.66	4.92a
coconut husk chipped : charcoal (1:1)	2.33	2.33	3.00	3.66	2.84b
coconut husk chipped : charcoal : broken brick (1:1:1)	3.00	3.33	4.00	3.00	3.38b
Average	3.22	3.33	4.08	4.11	
C.V.% = 49.49					
Growing media (A)	*				
Chitosan concentrations (B)	ns				
A×B	ns				

* = significant at 0.05, ns = non-significant. Means followed by the same letters are not statistically different ($P < 0.05$) from each other according to DMRT.

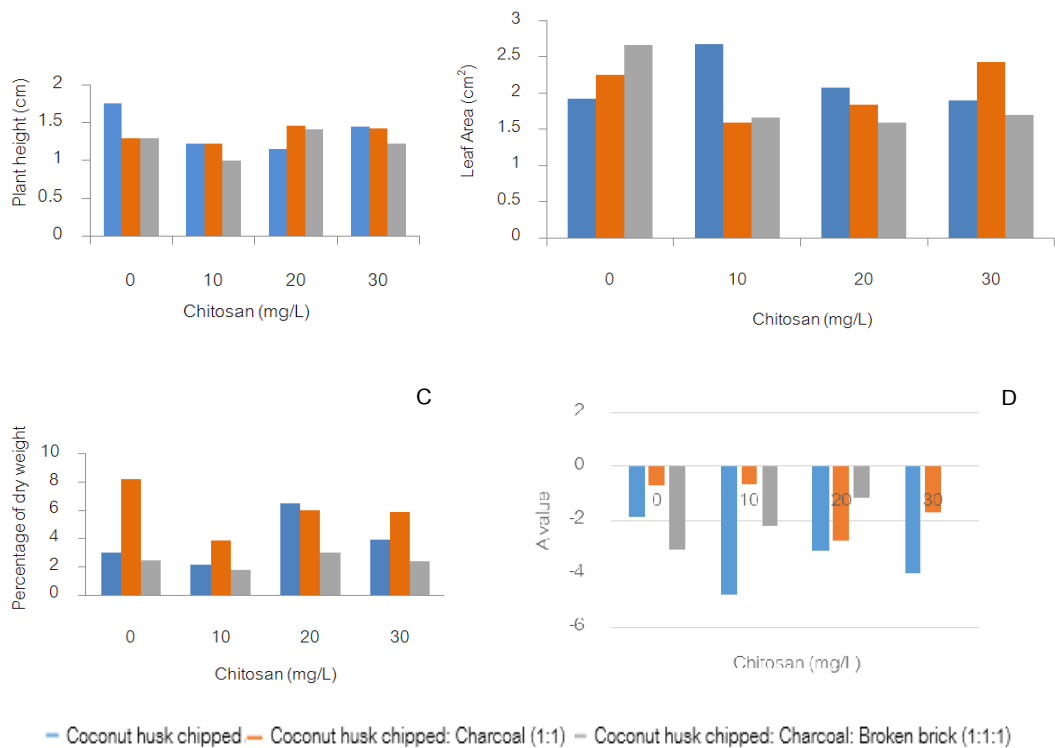


Figure 2 Plant height (A), leaf area (B), percentage of dry weight (C) and A value (measured by Hunter Lab ®, Miniscan XE Plus) (D) of *Doritis pulcherrima* Lindl. seedlings after soaking with various concentrations of chitosan and acclimatized in various media for 2 months.

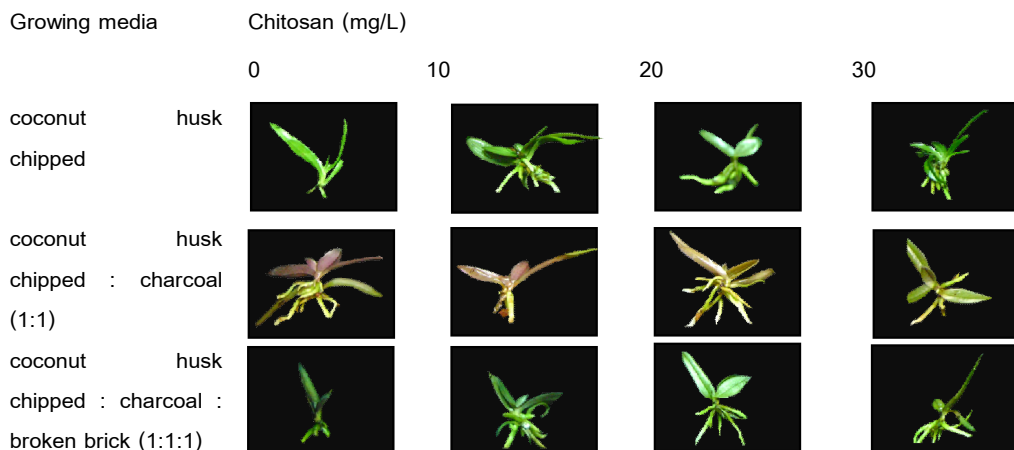


Figure 3 Characters of *Doritis pulcherrima* Lindl. seedlings after soaking with various concentrations of chitosan and acclimatized in various media for 2 months.

สรุป

การย้ายปลูกต้นกล้วยไม้ม้าวิ่งในวัสดุปลูก กาบมะพร้าวสับให้ผลดีที่สุดที่มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโต เนื่องจากภายหลังการอนุบาลต้นกล้วยไม้มีความสูง ต้น จำนวนใบ และพื้นที่ใบมากที่สุด และการย้ายปลูก ในวัสดุปลูก กาบมะพร้าวสับ : ถ่าน (1:1) มีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งมากที่สุด สำหรับการแช่สาร chitosan ก่อนการย้ายปลูกให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ แต่ต้นกล้วยไม้ที่แช่สารความเข้มข้น 20-30 มก./ล. แล้ว ย้ายปลูกในวัสดุปลูก กาบมะพร้าวสับ : ถ่าน (1:1) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ได้ดี

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้อยู่ภายใต้โครงการอนุรักษ์ พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ของ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ได้รับการ สนับสนุนงบประมาณงานวิจัยส่วนหนึ่งจากโครงการ วิจัยเงินงบประมาณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารอ้างอิง

- กุลนาถ อบสุวรรณ, และ กรกช สว่างศรี. 2553. ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink*. ว. วิทย. กษ. 41(3/1) (พิเศษ): 477-480.
- นาตยา มนตรี, และสิทธิโชค วิณะคุปต์. 2553. ผลของวัสดุปลูก และสารแอนซิไมโดล (ancymidol) ต่อการอนุบาลกล้วยไม้พื้นเมืองบางชนิด. น. 1148-1155. ใน: การประชุมวิชาการ และเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 20 เรื่อง พัฒนาสังคมไทยด้วยงานวิจัยเชิงสร้างสรรค์ 16-18 กันยายน 2553. มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- นาตยา มนตรี, และอุกฤษฏ์ จิมระสัง. 2552. การใช้วัสดุปลูกในการย้ายปลูกต้นกล้วยไม้เพชรหึงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ว. วิทย. กษ. 40(3): 335-338.
- สมศักดิ์รัก ไพบูลย์สมบัติ. 2535. ทำเนียบกล้วยไม้ไทย. สุวิวงศ์ บุ๊คเซนเตอร์, เชียงใหม่.
- Asghari-Zakaria, R., B. Maleki-Zanjani, and E. Sedghi. 2009. Effect of *in vitro* chitosan application on growth and minituber yield of *Solanum tuberosum* L. Plant soil environ. 55(6): 252-256.
- Mondal, T., S. Aditya, and N. Banerjee. 2013. *In vitro* Axillary shoot regeneration and direct protocorm-like body induction from axenic shoot tips of *Doritis pulcherrima* Lindl. Plant Tissue Cult. & Biotech. 23(2): 251-261.
- Anakorn, W., and S. Watthana. 2008. Queen Sirikit Botanic Garden (Thai Native Orchids 2). Wanida Press, Chiang Mai.
- Rungruchkanont, K. 2009. *In vitro* young leaf culture of *Doritis pulcherrima* var. *Buyssoniana*. Journal of Ubon Rajathanee University. 11(3): 1-8.