ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการเจริญของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก (*Pholidota imbricata* Lindl.) ในหลอดทดลอง

Effects of Culture Media and Plant Growth Regulators on *In Vitro* Seedling Growth of *Pholidota imbricata* Lindl.

วุฒิชัย ฤทธิ* บุญสนอง ช่วยแก้ว และ จารุวรรณ สุวรรณวงค์

Wuttichai Ritti*, Boonsanong Chourykaew and Charuwan Suwannawong

หน่วยวิจัยชีววิทยาพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

Plant Biology Research Unit, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University

Received : 11 June 2017

Accepted : 26 June 2017

Published online : 7 July 2017

บทคัดย่อ

การศึกษาเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องกาบดอก (*Pholidota imbricata* Lindl.) บนอาหารที่แตกต่างกัน ได้แก่ MS, ½MS, VW และ ½VW เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร ½VW ชักนำการเกิดยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.68 ยอดต่อต้น เกิดยอดสูงสุด 47.5% มีใบเฉลี่ยมากสุด 5.18 ใบต่อต้น และมีจำนวนรากเฉลี่ยดีที่สุด 7.60 รากต่อต้น เกิดรากสูง 100% รวมถึงมีความสูงต้นเฉลี่ยมากสุด 3.81 เซนติเมตร และการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องกาบดอกบนอาหาร ½VW ที่เติมไซโทไคนิน ได้แก่ BA kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร ½VW ที่เติม TDZ 0.1 mg/L เกิดลำลูกกล้วยสูงที่สุด 30% มียอดเฉลี่ยสูง 1.68 ยอดต่อต้น เกิดยอดสูง 60% และมีใบเฉลี่ยสูง 4.25 ใบต่อต้น ขณะที่การเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องกาบดอกบนอาหาร ½VW ที่เติมออกซิน ได้แก่ NAA IAA และ IBA ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร ½VW ที่เติม IAA 0.1 mg/L มียอดเฉลี่ยสูงที่สุด 1.63 ยอดต่อต้น เกิดยอดสูงสุด 32.5% และมีใบเฉลี่ยมากที่สุด 6.55 ใบต่อต้น

คำสำคัญ: เอื้องกาบดอก สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช อาหาร หลอดทดลอง

Abstract

The effect of different media (MS, ½MS, VW and ½VW) on growth of *in vitro* seedling culture of *Pholidota imbricata* Lindl. was studied for 8 weeks. The results showed that the highest average of shoot numbers (1.68 shoots/plant) (47.5%), leaf numbers (5.18 leaves/plant) and root numbers (7.60 roots/plant) (100%) and shoot length (3.81 cm) were found in plantlet culture on the ½VW medium. Moreover, effect of different types and concentrations of cytokinins (BA, kinetin, TDZ) on *in vitro* seedling culture of *P. imbricata* Lindl. on ½VW medium for 8 weeks was also investigated. The results showed that the highest percentage of pseudobulb formation (30%), shoot numbers (1.68 shoots/plant) (60%) and leaf numbers (4.25 leaves/plant) were obtained when cultured on the medium with 0.1 mg/L TDZ. The seedling culture of *P. imbricata* Lindl. on ½VW medium supplemented with different types and concentrations of auxins (NAA, IAA, IBA) for 8 weeks demonstrated that highest average of shoot numbers (1.63 shoots/plant), the percentage of shoot formation (32.5%) and leaf numbers (6.55 leaves/plant) were observed when cultured on the medium with 0.1 mg/L IAA.

Keyword: *Pholidota imbricata* Lindl., plant growth regulators, media, *in vitro*

***Corresponding author; E-mail:** Ritti59@gmail.com

บทนำ

เอื้องกาบดอก (*Pholidota imbricata* Lindl.) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยขนาดใหญ่ (Nanakorn and Watthana, 2008) กระจายพันธุ์ในทวีปเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประเทศไทยรายงานพบเกือบทุกภาคในป่าดิบเขา ป่าดิบแล้ง ความสูง 600 – 1,400 เมตรจากระดับน้ำทะเล ออกดอกเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม (Thaithong, 2008) ช่วงออกดอกไม่ทิ้งใบ ช่อดอกห้อยลงจากโคนกอ ดอกย่อยมากกว่า 50 ดอก บานเต็มที่กว้าง 1 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาวนวล กลีบปากเป็นอุ้งลึกเว้าเป็น 2 แฉก มีใบประดับเป็นกาบสีน้ำตาล ลำลูกกล้วยขนาดใหญ่สีเขียว เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 – 4 เซนติเมตร ใบแข็งและหนา กว้าง 5 – 8 เซนติเมตร ยาว 20 – 25 เซนติเมตร มี 1 ใบ ผิวใบสาก (Nanakorn and Indhamusika, 2000; Sittisujjatham, 2006)

ปัจจุบันมีการลักลอบเก็บกล้วยไม้ออกจากป่าเพื่อค้าขายมากขึ้นส่งผลให้กล้วยไม้มีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็ว ขณะเดียวกันเอื้องกาบดอกในธรรมชาติมีแนวโน้มอาจเกิดการสูญพันธุ์ได้จากปัญหาการตัดไม้ทำลายป่าซึ่งเป็นถิ่นที่อยู่อาศัยและเขตการกระจายพันธุ์ ประกอบกับสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปมีผลต่อการเจริญเติบโต (Roy *et al*., 2011; Hossain *et al*., 2008) รวมถึงไม่ได้รับความสนใจในการขยายพันธุ์ มีรายงานเพียงหนึ่งฉบับ คือการเลี้ยงบนอาหาร KC (Knudson C,1946) ที่เติม BAP 2.0 mg/L ร่วมกับ NAA 5.0 mg/L และน้ำมะพร้าว 50 ml/L เกิดยอดได้ดี (Mary and Divakar, 2015) อย่างไรก็ตามสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนในหลอดทดลอง การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชต่อการขยายพันธุ์ต้นอ่อนเอื้องกาบดอกให้ได้ปริมาณมากเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมให้คงอยู่และคืนกลับสู่ธรรมชาติต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก

นำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 7 เดือน ความสูง 1 เซนติเมตร ย้ายเลี้ยงบนอาหาร ได้แก่ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม myo-inositol 0.1 g/L น้ำตาล 30 g/L ปรับ pH 5.7, ½MS (ลดสัดส่วนสารลงครึ่งหนึ่ง) เติมน้ำตาล 30 g/L ปรับ pH 5.7, VW (Vacin and Went, 1949) เติมน้ำมะพร้าว 150 ml/L กล้วยหอมสุก 50 g/L มันฝรั่ง 50 g/L น้ำตาล 20 g/L ปรับ pH 5.2 และ ½VW (ลดสัดส่วนสารลงครึ่งหนึ่ง) เติมน้ำตาล 20 g/L ปรับ pH 5.2 วางเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2°C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 40 μmol/m^2/s เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ใช้ต้นอ่อน 40 ต้นต่อสูตรอาหาร และบันทึกการเจริญเติบโต

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก

ย้ายเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหาร ½VW เติมน้ำมะพร้าว 75 ml/L กล้วยหอมสุก 25 g/L มันฝรั่ง 25 g/L น้ำตาล 20 g/L ผงวุ้น 7 g/L และเติมสารกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ BA (Benzyladenine) kinetin (N^6-furfuryladenine) และ TDZ (Thidiazuron) ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ปรับ pH 5.2 วางเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2°C ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 40 μmol/m^2/s ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ใช้ต้นอ่อน 40 ต้นต่อสูตรอาหาร และบันทึกการเจริญเติบโต

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 แต่เติมสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA (Naphthyl acetic acid) IAA (indole-3-acetic) และ IBA (Indole-3-butyric acid) ความเข้มข้น 0 0.1 0 .5 1.0 หรือ 2.0 mg/L ตามลำดับ

การบันทึกและการวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกการเกิดยอด ใบ ราก ความสูง PLBs (protocorm like bodies) และแคลลัส วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan, 1955) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

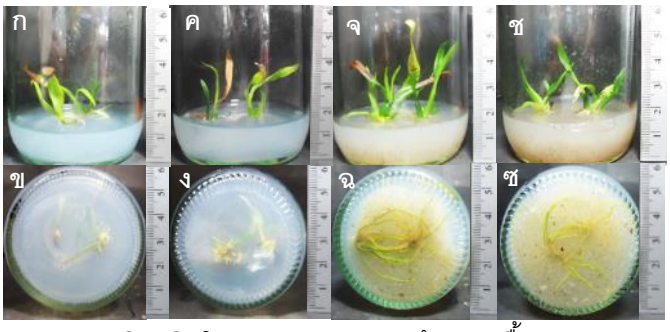
ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก

จากการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องกาบดอกบนอาหารที่แตกต่างกัน พบว่าในช่วง 4 สัปดาห์แรก ต้นอ่อนเจริญเติบโตและมีพัฒนาการดีในทุกสูตรอาหาร ในบางต้นใบเดิมที่ติดอยู่กับต้นอ่อนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเหี่ยวแห้ง ขณะเดียวกันเกิดใบใหม่ขึ้นมาทดแทน มีสีเขียวและแผ่ขยายได้ดี รวมถึงเกิดยอดที่แตกจากโคนต้นเดิมและเกิดเป็นลำลูกกล้วย (pseudobulb) กลมรีสีเขียว และเกิดรากสีเขียวอ่อนมีขนรากสีขาวปกคลุมปลายราก เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร VW และ ½VW มีการเจริญเติบโตของยอด จำนวนใบ จำนวนราก และความสูงเฉลี่ยมากกว่า อาหาร MS และ ½MS ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากอาหาร MS มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร macronutrient และ micronutrient สูง (Trigiano and Gray, 2004; Street, 1977) อาจมากเกินความต้องการของเอื้องกาบดอกและมีผลยับยั้งการเติบโตได้ (Stewart and Kane, 2006) เนื่องจากเอื้องกาบดอกเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยที่เจริญบนโขดหินหรือต้นไม้อื่นการได้รับธาตุอาหารเพียงเล็กน้อยก็เพียงพอต่อการเติบโต (Chen and Chen, 2007) ดังนั้นอาหาร ½VW ที่ลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง จึงเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอื้องกาบดอกได้ดี โดยเกิดยอดได้สูงที่สุด 47.5% มียอดเฉลี่ยสูงสุด 1.68 ยอดต่อต้น ใบเฉลี่ยมากสุด 5.18 ใบต่อต้น และมีความสูงเฉลี่ยดีที่สุด 3.81 เซนติเมตร สอดคล้องกับรายงานของ Pierik *et al*. (1988) รายงานว่าการลดธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งมีผลส่งเสริมการพัฒนาของต้นกล้า *Paphiopedilum ciliolare* Pfitz. และรายงานของ Kuljaroensub *et al*. (2014) พบว่ากล้วยไม้ *Panisea uniflora* (Lindl.) Lindl. ที่เลี้ยงบนอาหาร ½VW ชักนำการเกิดยอดสูง รวมถึงรายงานการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Hygrochilus parishii* (Veitch & Rchb.f.) Pfitzer บนอาหาร ½VW ส่งเสริมการงอกได้ดี 40% (Shadang *et al*., 2007) ขณะที่รายงานของ Vaz and Kerbuay (2000) กล่าวว่ากล้วยไม้ *Psygmorchis pusilla* (L.) Dodson & Dressler เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ลดธาตุอาหารทุกชนิดลงครึ่งหนึ่ง (½VW) เกิดช่อดอกได้สูง 80% แตกต่างจากรายงานของ Santarunai (2015) พบว่ากล้วยไม้ *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. ที่เลี้ยงบนอาหาร MS เกิดยอดมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าเอื้องกาบดอกที่เลี้ยงบนอาหาร ½VW มีจำนวนรากและจำนวนใบเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับอาหาร VW และทุกสูตรอาหารไม่เกิด PLBs และแคลลัส (ตารางที่ 1) (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก อายุเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย	ความสูงเฉลี่ย (cm)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย
½MS	22.5	1.30±0.08^{b}	3.38±0.21^{c}	2.78±0.11^{c}	95	3.58±0.30^{b}
MS	30	1.38±0.10^{ab}	3.70±0.23^{bc}	2.72±0.09^{c}	95	4.25±0.30^{b}
½VW	47.5	1.68±0.14^{a}	5.18±0.35^{a}	3.81±0.10^{a}	100	7.60±0.61^{a}
VW	35	1.48±0.11^{ab}	4.43±0.30^{ab}	3.10±0.06^{b}	100	6.53±0.41^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 1 ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก อายุเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์; (ก, ข) ½MS, (ค, ง) MS, (จ, ฉ) ½VW และ (ช, ซ) VW

ผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก

จากการศึกษาผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก พบว่ามีการพัฒนาและเกิดอวัยวะต่างๆ ได้ดีเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เมื่อเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร ½VW เติม TDZ 0.1 mg/L เกิด pseudobulb สูงที่สุดคิดเป็น 30% มียอดเฉลี่ยสูง 1.68 ยอดต่อต้น เกิดยอดสูง 60% และมีใบเฉลี่ย 4.25 ใบต่อต้น อย่างไรก็ตามพบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับอาหารที่เติม BA 2.0 mg/L และสูตรควบคุมซึ่งมียอดเฉลี่ย 1.80 และ 2.00 ยอดต่อต้น รวมถึงเกิด pseudobulb สูง 25% และ 22.5% ตามลำดับ เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มไซโทไคนินมีผลต่อการขยายตัวของเซลล์ ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ ช่วยการเจริญของตาข้างและลำต้น (Hutchinson *et al*., 1985; Taji and Williams, 1996) จึงชักนำการเพิ่มจำนวนยอดของเอื้องกาบดอกได้ดี และ TDZ เป็นไซโทไคนินสังเคราะห์ที่ให้ผลดีต่อการเพิ่มจำนวนยอดและกระตุ้นการแตกยอดในพืชหลายชนิด (Huetteman and Preece, 1993) สอดคล้องกับรายงานของ Choopeng and Musoryaena (2014) พบว่าการเลี้ยงกล้วยไม้ *Calanthe vestita* Wall. ex Lindl. บนอาหาร ½MS ที่เติม TDZ 0.1 mg/L เจริญเติบโตดี และรายงานของ Ruengverayut *et al*. (2005) พบว่าเอื้องทอง (*D. ellipsophyllum* Tang & F.T.Wang) เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม TDZ 5 µM เกิดยอดและใบเฉลี่ยดีที่สุด รวมถึงรายงานของ Kuljaroensub *et al*. (2014) พบว่าอาหาร ½MS ที่เติม TDZ 1.0 mg/L ชักนำกล้วยไม้ *P. uniflora* (Lindl.) Lindl. เกิดยอดได้ดีที่สุด และรายงานของ Wattanawikkit *et al*. (2011) พบว่าเมล็ดกล้วยไม้

P. callosum (Rchb.f.) Stein เลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่เติม TDZ 0.5 µM เกิดยอดเฉลี่ยสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องกาบดอกในทุกสูตรอาหารไม่เกิด PLBs และแคลลัส แต่การเลี้ยงบนอาหารที่เติม kinetin และ TDZ ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มการเกิดยอดลดลงอย่างต่อเนื่อง อาจเนื่องจากต้นอ่อนเอื้องกาบดอกสร้างไซโทไคนินได้เองอยู่แล้วเมื่อได้รับจากอาหารสูงมากเกินไป จึงมีผลยับยั้งการเติบโต สอดคล้องกับรายงานการเลี้ยงเอื้องผึ้ง (*D. lindleyi* Steud.) พบว่าชิ้นส่วนตายเมื่อได้รับไซโทไคนินเข้มข้นมากเกินไป (Supinrach and Supinrach, 2014) (ตารางที่ 2) (ภาพที่ 2)

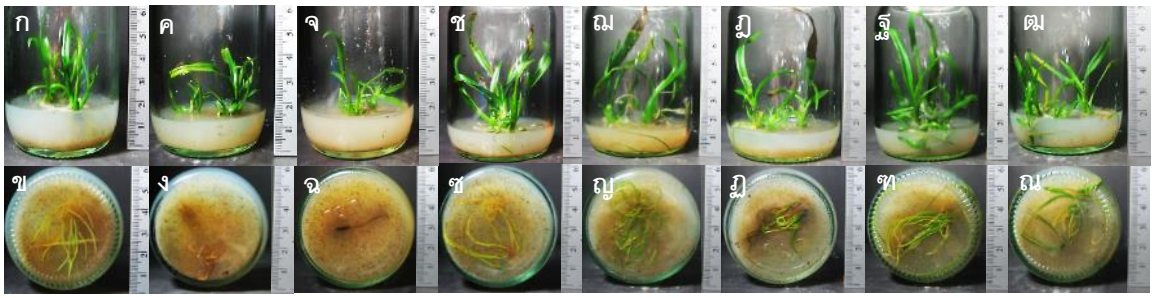
ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก

จากการศึกษาผลของออกซิน เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ พบว่าอาหาร ½VW ที่เติม IAA 0.1 mg/L เกิดยอดสูงที่สุด 32.5% มียอดเฉลี่ยสูงสุด 1.63 ยอดต่อต้น และมีใบเฉลี่ยมากสุด 6.55 ใบต่อต้น รวมถึงมีรากเฉลี่ยสูง 13.13 รากต่อต้น และเกิดรากสูงถึง 100% ในทุกสูตรอาหาร อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ IAA เพิ่มสูงขึ้นมีผลต่อการเกิดยอดและจำนวนรากลดลง เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน มีคุณสมบัติกระตุ้นการเกิดราก การแบ่งเซลล์และยืดตัวของเซลล์ แต่การใช้ในปริมาณที่สูงมากเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (Hossain *et al*., 2010; Razdan, 2002) สอดคล้องกับรายงานของ Ritti *et al*. (2013) พบว่าอาหาร MS เติม IAA 0.1 mg/L ชักนำให้ *Eulophia siamensis* Rolfe ex Downie เกิดยอดและใบเฉลี่ยสูงที่สุด และรายงานการวิจัยของ Vejsadova (2006) เลี้ยงกล้วยไม้ *Dactylorhiza maculate* subsp. *maculata* บนอาหาร Vejsadova *et al*. (2002) ที่เติม IAA 1.43 µM กระตุ้นการเจริญของยอดและใบได้ดี ขณะที่รายงานของ Giri and Tamta (2012) เลี้ยงกล้วยไม้ *D. hatagirea* (D. Don) Soo บนอาหาร MS เติม IAA 100 µM เกิดราก 11.10% และรายงานของ Fangmuang and Kongbangkerd (2012) พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้ *D. lamellatum* Lindl. ที่เลี้ยงบนอาหาร MS เติม IAA 0.5 mg/L ชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูง 2.70 รากต่อต้น รวมถึงรายงานการศึกษาของ Dasri *et al*. (2016) รายงานว่ากล้วยไม้ *D. delacourii* Guillaumin ที่เลี้ยงในอาหาร MS เติม IAA 0.25 mg/L เกิดรากได้ดี นอกจากนี้การเลี้ยงเอื้องกาบดอกไม่เกิด PLBs และแคลลัสในทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 3) (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก อายุเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

PGR	Conc. (mg/L)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย	ความสูงเฉลี่ย (cm)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย	ลำลูกกล้วย (%)
	Control	65	2.00±0.18^{a}	3.90±0.28^{a-d}	3.85±0.14^{ab}	100	6.20±0.36^{b}	22.5
BA	0.1	37.5	1.52±0.12^{b-e}	3.74±0.20^{bcd}	4.22±0.17^{a}	100	5.70±0.38^{b}	20
	0.5	35	1.43±0.10^{b-e}	4.04±0.26^{abc}	2.58±0.11^{e}	100	3.78±0.16^{de}	25
	1.0	22.5	1.20±0.06^{d}	3.80±0.21^{bcd}	3.52±0.18^{bc}	100	3.75±0.16^{de}	17.5
	2.0	70	1.80±0.10^{ab}	3.15±0.25^{d}	2.54±0.09^{e}	100	3.78±0.16^{de}	25
Kn	0.1	45	1.75±0.17^{abc}	3.37±0.32^{cd}	3.86±0.19^{ab}	100	6.28±0.40^{b}	7.5
	0.5	20	1.28±0.09^{de}	3.50±0.19^{bcd}	2.88±0.14^{de}	100	4.70±0.25^{c}	12.5
	1.0	20	1.34±0.15^{cde}	4.25±0.27^{ab}	3.30±0.24^{cd}	100	4.30±0.34^{cd}	25
	2.0	12.5	1.18±0.08^{e}	4.03±0.20^{abc}	3.86±0.21^{ab}	100	7.35±0.45^{a}	15
TDZ	0.1	60	1.68±0.10^{a-d}	4.25±0.24^{ab}	3.40±0.13^{bc}	100	2.85±0.14^{fg}	30
	0.5	42.5	1.48±0.10^{b-e}	4.69±0.29^{a}	3.69±0.16^{bc}	100	2.55±0.21^{g}	7.5
	1.0	35	1.58±0.15^{b-e}	3.92±0.25^{a-d}	3.59±0.13^{bc}	100	3.25±0.20^{efg}	7.5
	2.0	32.5	1.45±0.14^{b-e}	4.20±0.29^{abc}	3.40±0.14^{bc}	100	3.45±0.22^{def}	7.5

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT, (PGR; Plant growth regulators), (Kn; kinetin)



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องกาบดอกเมื่อเลี้ยงบนอาหาร ½VW ที่เติมไซโทไคนิน; (ก, ข) สูตรควบคุม, (ค, ง) TDZ 0.1 mg/L, (จ, ฉ) BA 2.0 mg/L, (ช, ซ) kinetin 1.0 mg/L และเติมออกซิน; (ฌ, ญ) สูตรควบคุม, (ฎ, ฏ) NAA 0.5 mg/L, (ฐ, ฑ) IAA 0.1 mg/L, (ฒ, ณ) IBA 0.5 mg/L อายุเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ตารางที่ 3 ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องกาบดอก อายุเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

PGR	Conc. (mg/L)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย	ความสูงเฉลี่ย (cm)	การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย	ลำลูกกล้วย (%)
	Control	25	1.33±0.10^{ab}	5.28±0.44^{a}	5.02±0.20^{a}	100	13.53±0.85^{a}	5
NAA	0.1	27.5	1.35±0.10^{ab}	3.33±0.21^{b}	5.00±0.24^{a}	100	12.08±0.70^{ab}	12.5
	0.5	30	1.48±0.13^{ab}	6.20±0.36^{a}	5.03±0.20^{a}	100	8.88±0.76^{de}	12.5
	1.0	27.5	1.53±0.16^{ab}	5.28±0.44^{a}	5.00±0.21^{a}	100	13.40±0.86^{a}	15
	2.0	20	1.28±0.10^{ab}	3.33±0.21^{b}	5.07±0.23^{a}	100	11.78±0.66^{ab}	7.5
IAA	0.1	32.5	1.63±0.18^{a}	6.55±0.59^{a}	4.32±0.22^{ab}	100	13.13±0.94^{a}	10
	0.5	25	1.33±0.12^{ab}	5.73±0.43^{a}	3.75±0.18^{bcd}	100	10.38±0.55^{bcd}	10
	1.0	22.5	1.35±0.11^{ab}	6.07±0.54^{a}	3.61±0.18^{bcd}	100	11.50±0.90^{abc}	12.5
	2.0	17.5	1.20±0.07^{b}	5.40±0.41^{a}	3.65±0.19^{bcd}	100	9.33±0.76^{cde}	7.5
IBA	0.1	22.5	1.38±0.13^{ab}	6.20±0.57^{a}	4.03±0.55^{bc}	100	8.15±0.93^{de}	7.5
	0.5	27.5	1.53±0.17^{ab}	5.65±0.48^{a}	3.53±0.16^{cd}	100	7.80±0.66^{e}	15
	1.0	30	1.40±0.11^{ab}	5.60±0.45^{a}	3.01±0.14^{d}	100	7.83±0.58^{e}	7.5
	2.0	15	1.15±0.06^{b}	5.13±0.38^{a}	3.41±0.20^{cd}	100	10.18±0.92^{b-e}	12.5

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT, (PGR; Plant growth regulators)

สรุปผลการวิจัย

ต้นอ่อนเอื้องกาบดอกเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร macronutrient และ micronutrient ต่ำ (½VW); อาหาร ½VW ที่เติมไซโทไคนิน (kinetin, TDZ) และออกซิน (IAA, IBA) ความเข้มข้นต่ำเจริญเติบโตดีและลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยชีววิทยาพืช และโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

เอกสารอ้างอิง

Chen, W.H. and Chen, H.H. (2007). *Orchid biotechnology*. Singapore: World Scientific.

Choopeng, S. and Musoryaena, N. (2014). Effects of PBZ, BA and TDZ on growth and development of *Calanthe vestita* Lindl. *in vitro*. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, *1*(2), 35 – 38. (in Thai)

Dasri, K., Munglue, P., Rattana, K. and Sangchanjiradet, S. (2016). The effects of IAA produced by *Bacillus pumilus* A1_YM_1 on growth of orchids under micropropagation. *Khon Kaen Agriculture Journal, 44*(1), 832 – 837.

Duncan, D.B. (1955). Multiple range and multiple F test. *Biometrics, 11*, 1 – 42.

Fangmuang, W. and Kongbangkerd, A. (2012). Effect of plant growth regulators on development of *in vitro* shoot culture of *Dendrobium lamellatum* Lindl. In *Proceedings of the 1st Phayao Research Conference*. (pp. 96 – 102). University of Phayao. (in Thai)

Giri, D. and Tamta, S. (2012). Propagation and conservation of *Dactylorhiza hatagirea* (D. Don) Soo, an endangered alpine orchid. *African Journal of Biotechnology*, *11*(62), 12586 – 12594.

Hossain, M.M. (2008). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Epidendrum ibaguense* Kunth. (Orchidaceae). *African Journal of Biotechnology*, *7*(20), 3614 – 3619.

Hossain, M.M., Sharma, M, da Silva, J.A.T., Pathak, P. (2010). Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. *Scientia Horticulturae*, *123*, 479 – 487.

Huetteman, C.A. and Preece, J.E. (1993). Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *33*, 105 – 119.

Hutchinson, J.F., Beardsell, D.V. and Comb, J.A.M. (1985). *Propagation by tissue culture introduction*. In Lamont, B.B. and Watkins, P.A. (eds). Horticulture of Australian Plants. Western Australian Dept. Agriculture, South Perth, W.A., 38 – 52.

Knudson, L. (1946). A new nutrient for the germination of orchid seeds. *American Orchid Society Bulletin*, *15*, 214 – 217.

Kuljaroensub, V., Kunakhonnuruk, B. and Kongbangkerd, A. (2014). Effect of media and cytokinins on growth and development of *in vitro* culture of *Panisea uniflora* (Lindl.) Lindl. In *Proceedings The 6th National Science Research Conference*. (pp. 225 – 230). Burapha University. (in Thai)

Mary, S.S. and Divakar, K.M. (2015). *In vitro* propagation of epiphytic orchid *Pholidota imbricata* Hook. of Western Ghats. *International Journal of Engineering Research & Technology, 4*(10), 107 – 112.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, *15*, 473 – 497.

Nanakorn, W. and Indhamusika, S. (2000). *Queen Sirikit Botanic Garden* (Vol 6.) Chiang Mai: Wanida Press.

Nanakorn, W. and Watthana, S. (2008). *Queen Sirikit Botanic Garden* (Thai Native Orchids 2.) Chiang Mai: Wanida Press.

Pierik, R.L.M., Sprenkels, P.A., Harst, B.V.D. and Meys, Q.G.V.D. (1988). Seed germination and further development of plantlets of *Paphiopedilum ciliolare* Pfitz. *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, *34,* 139-153.

Razdan, M.K. (2002). *Introduction to plant tissue culture*. (2nd ed.) USA: Science Publishers.

Ritti, W., Thapyai, C. and Kongbangkerd, A. (2013). Effect of cytokinins and auxins on morphological changes of *in vitro* rhizome tip culture of *Eulophia siamensis* Rolfe ex Downie. In *Proceedings of the 5th Science Research Conference*. (pp. 207 – 213). University of Phayao. (in Thai)

Roy, A.R., Patel, R.S., Patel, V.V., Sajeev, S. and Deka, B.C. (2011). Asymbiotic seed germination, mass propagation and seedling development of *Vanda coerulea* Griff ex. Lindl. (Blue Vanda) an *in vitro* protocol for an endangered orchid. *Scientia Horticulturae*, *128*, 325 – 331.

Ruengverayut, S., Bhinija, K., Loprasert, S. and Huehne, P.S. (2005). Effect of cytokinin on multiple shoots induction in *Coelogyne*, *Dendrobium* and *Vanda* orchids. In *Proceedings of 43rd Kasetsart University Annual Conference: Plants.* (pp. 467 – 474). Kasetsart University. (in Thai)

Santarunai, N. (2015). Effect of medium and plant growth regulator on development and flowering (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.) of orchid *in vitro*. In *The National Conference & Research Presentation 2015 "Create and Development to Approach ASEAN Community II".* (pp. 155 – 162). Nakhon Ratchasima College. (in Thai)

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

Sittisujjatham, S. (2006). *Wild Orchid of Thailand* (6th ed). Bangkok: Baan Lae Suan Printing. (in Thai)

Stewart, S.L. and Kane, M.E. (2006). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Habenaria macroceratitis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *86*, 147 – 158.

Street, H.E. (1977). *Plant tissue and cell culture*. (2nd ed) California: University of California Press.

Supinrach, S and Supinrach, I. (2014). Effects of BA and NAA on *in vitro* growth of *Dendrobium lindleyi* Steud. seedlings. *Burapha Science Journal, 19*(2), 84 – 92. (in Thai)

Taji, A.M. and Williams, R.R. (1996). *Tissue culture of Australian plants*. Australia: University of New England Press.

Thaithong, O. (2008). *Thai orchids.* (15th.) Bangkok: Baan Lae Suan Printing. (in Thai)

Trigiano, R.N. and Gray, D.J. (2004). *Plant development and biotechnology*. USA: CRC Press LLC.

Vacin, E. and Went, F. (1949). Some pH changes in nutrient solution. *Botanical Gazette, 110*, 605 – 613.

Vaz, A.P. and Kerbuay, G.B. (2000). Effects of mineral nutrients on *in vitro* growth and flower formation of *Psygmorchis pusilla* (Orchidaceae). *Acta Horticulture*, *250*, 149 – 156.

Vejsadova, H. (2006). Factors affecting seed germination and seedling growth of terrestrial orchids cultured *in vitro*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *48*(1), 109 – 113.

Vejsadova, H., Latalova, K., and Rizkova, R. (2002). Influence of growth regulators on terrestrial orchid culture under *in vitro* conditions. *Acta Pruhoniciana*, *73*, 27 – 36.

Wattanawikkit, P., Bunn, E., Chayanarit, K. and Tantiwiwat, S. (2011). Effect of cytokinins (BAP and TDZ) and auxin (2,4-D) on growth and development of *Paphiopedilum callosum*. *Kasetsart Journal Natural Science*, *45*, 12 – 19.