NU Science Journal 2011; 8(2) : 67 - 76

ผลขององค์ประกอบในอาหารต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ

อนุพันธ์ กงบังเกิด* และแสงเดือน วรรณชาติ

Effect of medium components on growth and development of *in vitro* shoot culture of *Dendrobium ochreatum* Lindl.

Anupan Kongbangkerd* and Sangduean Wannachart

หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Corresponding author, E-mail address: anupank73@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาผลขององค์ประกอบในอาหาร ได้แก่ สูตรอาหาร (VW, MS, 1/2MS และ KC) น้ำตาล (0, 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อลิตร) ผงถ่าน (0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 กรัมต่อลิตร) น้ำมะพร้าว (0, 100, 150 และ 200 มิลลิลิตรต่อลิตร) กล้วยหอม (0, 50, 100, 150 และ 200 กรัมต่อลิตร) มันฝรั่ง (ไม่ใส่มันฝรั่ง, ใส่มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และใช้น้ำต้มมันฝรั่ง) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH 4.8, 5.0, 5.2, 5.4 และ 5.6) ของอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 16 สัปดาห์ โดยทำการทดลองเพื่อศึกษาผลของแต่ละปัจจัยแยกกัน ผลการทดลองพบว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบที่เลี้ยงบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร Vacin และ Went (VW) (1949) ที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 0.5 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 5.2 มีอัตราการเจริญการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

คำสำคัญ : in vitro, องค์ประกอบอาหาร, เอื้องคำผักปราบ

Abstract

Effects of medium components; formulas (VW, MS, 1/2MS และ KC), sucrose (0, 10, 20, 30 and 40 g/l), activated charcoal (0, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 g/l), coconut water (0, 100, 150 and 200 ml/l), banana (0, 50, 100, 150 and 200 g/l), potato (no potato added, 50 g/l potato added and potato juice) and pH (4.8, 5.0, 5.2, 5.4 and 5.6) on growth and development of *in vitro* shoot culture of *Dendrobium ochreatum* Lindl. were investigated. Each experiment was conducted separately and results were recorded after 16 weeks of culture. The results showed that the optimal conditions for growth and development of *in vitro* shoot culture of *Dendrobium ochreatum* Lindl. were obtained when cultured on modified Vacin and Went (VW) (1949) medium supplemented with 10 g/l sucrose, 0.5 g/l activated charcoal, 100 ml/l coconut water, 50 g/l grinded potato, 8.0 g/l agar and adjusted pH to 5.2.

Keywords : in vitro, medium components, *Dendrobium ochreatum* Lindl.

บทนำ

กล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) เป็นกล้วยไม้ป่าชนิดหนึ่งที่หายากและใกล้จะสูญพันธุ์ พบในบริเวณป่าดิบชื้นทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของประเทศไทย มีการแพร่กระจายพันธุ์ในประเทศอินเดีย พม่า ลาว และไทย ที่ความสูงตั้งแต่ 1,200 ถึง 1,600 เมตรจากระดับน้ำทะเล ลำต้นของเอื้องคำผักปราบมีลักษณะเป็นลำลูกกล้วย มักจะเป็นลำคดโค้ง บริเวณข้อพองออกเล็กน้อย ขึ้นเป็นกอห้อยลง ลำต้นมีสีเขียวอ่อนอมเทา อวบน้ำ และอ่อนใบเป็นรูปไข่ถึงรูปใบหอก แผ่นใบบางและอ่อน มีสีเขียวอ่อน ดอกออกเป็นช่อสั้น ๆ ประมาณ 1-3 ดอกต่อช่อ ออกดอกตรงบริเวณปลายลำที่ยังมีใบติดอยู่ ขนาดดอกประมาณ 4 เซนติเมตร ดอกมีกลิ่นหอมนานประมาณ 10-14 วัน โดยปกติจะออกดอกช่วงเดือนมีนาคมถึงมิถุนายน (อบฉันท์ ไทยทอง, 2546; Bill *et al*., 2002) เนื่องจากในปัจจุบันมีการลักลอบนำเอื้องคำผักปราบออกจากป่าธรรมชาติมาขายเป็นจำนวนมากทำให้ปริมาณในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว และอาจเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ในระยะเวลาอันใกล้นี้ โดยทั่วไปถ้าหากปล่อยให้มีการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ เนื่องจากเอื้องคำผักปราบนั้น มีการเจริญเติบโตช้า ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช น่าจะเป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์เอื้องคำผักปราบ ให้ได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว ลักษณะของต้นที่ได้เหมือนเดิมทุกประการ ได้ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ ปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญ และการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงให้เกิดเป็นต้นพืช

ใหม่ได้ดีคือ องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงผลของปัจจัยดังกล่าวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้จึงต้องการศึกษาปัจจัยองค์ประกอบของอาหารเบื้องต้น ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบในสภาพปลอดเชื้อ อันจะเป็นแนวทางในการช่วยให้การขยายพันธุ์กล้วยไม้ดังกล่าวรวดเร็วยิ่งขึ้นต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ อายุ 28 สัปดาห์ ที่มีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร มีใบ 2-3 ใบ ในสภาพปลอดเชื้อ มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร Vacin และ Went (VW) (1949) ที่ไม่เติมฮอร์โมน ทำการทดลองโดยแปรผันสูตรอาหารและองค์ประกอบของอาหารบางประการ ได้แก่ สูตรอาหาร Vacin และ Went (1949), Murashige และ Skoog, (1962) ครึ่งสูตร Murashige และ Skoog (1/2MS) และ Knudson C (KC) (1946) น้ำตาล (0 10 20 30 และ 40 กรัมต่อลิตร) ผงถ่าน (0 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 กรัมต่อลิตร) น้ำมะพร้าว (0 100 150 และ 200 มิลลิลิตรต่อลิตร) กล้วยหอม (0 50 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร) มันฝรั่ง (ไม่ใส่มันฝรั่ง ใส่มันฝรั่งบดปริมาณ 50 กรัมต่อลิตรและใช้น้ำต้มมันฝรั่ง) และผลของ pH อาหาร (4.8 5.0 5.2 5.4 และ 5.6) โดยดำเนินการทดลองเป็นลำดับ นำต้นอ่อนไปวางเลี้ยงไว้ในห้องเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 40 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ให้ได้รับแสง 12 ชั่วโมง สลับกับช่วงมืด 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล โดยวางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) มีจำนวน 30 ซ้ำ พร้อมกับบันทึกภาพ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง แล้วนำข้อมูลที่บันทึกได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตรต่างๆ คือสูตร KC 1/2 MS MS และ VW พบว่า อาหารดัดแปลงสูตร VW ทำให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (ตาราง 1) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอาหารสูตรดังกล่าวมีความเข้มข้นของสารอาหารต่ำกว่าสูตรอื่นๆ จึงทำให้การปลดปล่อยธาตุอาหารต่างๆ เกิดขึ้นได้ดีกว่า พืชสามารถดูดธาตุอาหารไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพทำให้มีการเจริญเติบโตได้เร็ว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Arditti (1982) ที่กล่าวว่า สูตรอาหาร VW นั้นเป็นสูตรที่นิยมใช้ทั่วไปกับกล้วยไม้รากอากาศและรากกึ่งอากาศ เนื่องจากกล้วยไม้สามารถดูดซึมสารอาหารได้เร็วและดีกว่าสูตรอาหารอื่นๆ เหมาะสำหรับการเพาะเมล็ดและพัฒนาเป็นต้นอ่อน โดยในการทดลอง พบว่าสารอาหารในสูตร Knudson และ Murashige และ Skoog นั้น มีผลทำให้การเจริญ

เติบโตของต้นอ่อนลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอาหารทั้ง 2 สูตรดังกล่าว มีสารประกอบบางอย่างในปริมาณที่มากเกินไป และอาจอยู่ในรูปที่ไม่เหมาะสมจึงทำให้ต้นอ่อนไม่สามารถดูดธาตุอาหารต่างๆ ได้เต็มที่ และบางชนิดอาจมีผลไปยับยั้งการเจริญของต้นอ่อนได้

ตาราง 1 ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบที่เวลา 16 สัปดาห์

สูตรอาหาร	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (cm) (Mean±SE)	จำนวนใบ (Mean±SE)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (cm) (Mean±SE)
VW	3.13±0.48a*	1.00±0.10b	1.92±0.20b	3.78±0.60a	0.84±0.10a
KC	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.00±0.00c
1/2MS	2.79±0.30a	1.55±0.11a	2.46±0.16a	4.00±0.73a	1.04±0.12a
MS	1.55±0.28b	0.88±0.14b	1.68±0.26b	1.68±0.56b	0.46±0.11b

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

จากการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เติมน้ำตาล 0 10 20 30 และ 40 กรัมต่อลิตร พบว่า เมื่อเติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยง จะทำให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตดีที่สุด และจะลดลงเมื่อในอาหารเพาะเลี้ยงมีความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น (ตาราง 2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Winwright และ Sceace (1989) ที่กล่าวว่า การใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงมากเกินไป ร่วมกับการใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า osmotic potential ของอาหาร ซึ่งจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อได้ โดยอัตราการเจริญเติบโตของต้นจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเกินจุดสูงสุดที่เหมาะสม จะมีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง (Pierik, 1997)

ตาราง 2 ผลของซูโครสต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบที่เวลา 16 สัปดาห์

ซูโครส (g/l)	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (cm) (Mean±SE)	จำนวนใบ (Mean±SE)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (cm) (Mean±SE)
0	2.68±0.94ab*	0.51±0.16a	0.85±0.26a	3.42±1.22b	0.40±0.12ab
10	5.30±1.14a	0.82±0.15a	1.45±0.26a	7.30±1.41a	0.63±0.11a
20	3.56±0.84ab	0.67±0.12a	1.40±0.26a	6.56±1.84a	0.56±0.11a
30	2.70±0.97ab	0.43±0.14a	0.93±0.29a	6.15±2.78a	0.36±0.14ab
40	1.08±0.51b	0.38±0.17a	0.90±0.39a	1.50±1.04c	0.13±0.09b

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ในการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบ บนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เติมผงถ่าน 0 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 กรัมต่อลิตร พบว่า ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหารที่เติมผงถ่าน 0.5 กรัมต่อลิตร (ตาราง 3, รูป 1) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผงถ่านสามารถดูดซับสารที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตที่เกิดขึ้นจากขบวนการเมแทบอลิซึมของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยง (Pierik, 1987) นอกจากนี้ Druart และ Wolf (1993) กล่าวว่า ผงถ่านยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และการสร้างอวัยวะของเนื้อเยื่อพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wang และ Huang (1976) ที่กล่าวว่า ถ่านมีส่วนช่วยทำให้รากของกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* มีการพัฒนาช่วยให้เจริญในอาหารได้ดี และเมื่อเพิ่มปริมาณของผงถ่านในอาหารเพาะเลี้ยงมากขึ้น มีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตของต้นอ่อนลดลง ทั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Fridborg และ Eriksson (1975) ที่กล่าวว่าการเติมผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้การเจริญเติบโตลดลงอาจเนื่องจากถ่านดูดซับออกซิเจนไป จึงทำให้การเจริญเติบโตของพืชช้าลง

ตาราง 3 ผลของผงถ่านต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบที่เวลา 16 สัปดาห์

ผงถ่าน (g/l)	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (cm) (Mean±SE)	จำนวนใบ (Mean±SE)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (cm) (Mean±SE)
0	3.44±0.61ab*	0.83±0.11a	1.61±0.21a	8.09±1.56a	0.73±0.12ab
0.5	5.79±0.88a	1.05±0.11a	2.01±0.19a	11.39±1.73a	0.90±0.11a
1.0	4.31±0.83ab	0.87±0.14a	1.58±0.24a	9.41±1.97a	0.70±0.12ab
2.0	2.13±0.46b	0.68±0.14a	1.48±0.30a	2.22±0.63b	0.40±0.11bc
4.0	2.11±1.28b	0.29±0.16b	0.43±0.23b	3.06±1.85b	0.15±0.08c

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

รูป 1 ลักษณะของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบที่เลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมผงถ่านปริมาณ 0.5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 16 สัปดาห์

และในการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 0 100 150 และ 200 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงที่เติมน้ำมะพร้าวปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร จะชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด (ตาราง 4, รูป 2) และเมื่อปริมาณน้ำมะพร้าวในอาหารเพาะเลี้ยงมากขึ้น มีผลทำให้การเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลง แต่จากการทดลองสังเกตเห็นว่า อาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติมน้ำมะพร้าว หรือเติมน้ำมะพร้าวในปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อลิตร ถึงแม้ว่าจะชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุดก็ตาม แต่จะทำให้ต้นที่เกิดขึ้นนั้นมีขนาดเล็ก ไม่แข็งแรง และโปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นมีการพัฒนาเป็นต้นจำนวนน้อยมาก โดยต้นที่เกิดขึ้นไม่มีรากหรือเกิดรากที่มีลักษณะผิดปกติ ส่วนในอาหารที่มีการเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มได้จำนวนมากและมีการพัฒนาเป็นต้นได้อย่างสมบูรณ์ มีลักษณะของรากที่แข็งแรง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kunisaki และคณะ (1972) ที่กล่าวว่า เมื่อนำชิ้นส่วนของตายอดและตาข้างของกล้วยไม้สกุล *Vanda* มาเลี้ยงบนอาหารที่มีการเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดโปรโตคอร์มจำนวนมากและโปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้นได้ ส่วนอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าวนั้น จะทำให้ต้นมีขนาดเล็กไม่แข็งแรง

ตาราง 4 ผลของน้ำมะพร้าวต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบที่เวลา 16 สัปดาห์

น้ำมะพร้าว (ml/l)	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (cm) (Mean±SE)	จำนวนใบ (Mean±SE)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (cm) (Mean±SE)
0	2.11±0.70a*	0.61±0.25a	1.29±0.51a	3.78±1.75a	0.51±0.21a
100	2.67±1.57a	0.41±0.18a	0.68±0.30a	3.33±1.86a	0.77±0.50a
150	1.75±1.97a	0.43±0.17a	0.80±0.31a	1.62±0.93a	0.32±0.14a
200	1.36±0.63a	0.37±0.17a	0.78±0.34a	3.57±1.75a	0.31±0.14a

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

รูป 2 ลักษณะของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบที่เลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 16 สัปดาห์

จากการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมบด 0 50 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของกล้วยหอมบดในอาหารเพาะเลี้ยง ส่งผลให้จำนวนต้นเฉลี่ยมีจำนวนลดลง (ตาราง 5) ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณสารประกอบบางชนิดที่มีมากเกินไปในกล้วยหอม มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้น หรือผลของการใส่กล้วยอาจส่งผลในระยะเวลาที่นานกว่า 16 สัปดาห์ ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกับรายงานของสุจรรยา เรืองวีรยุทธ (2539) กล่าวว่า การเพิ่มปริมาณของโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องบุษราคัมในอาหารสูตรที่เติมกล้วยหอมระดับต่างๆ พบว่า จำนวนโปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นจะเพิ่มขึ้นทุกสูตรอาหาร แต่เมื่อมีปริมาณกล้วยหอมบดมากเกินไปมีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตลดลง

ตาราง 5 ผลของกล้วยหอมต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบที่เวลา 16 สัปดาห์

กล้วยหอม (g/l)	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (cm) (Mean±SE)	จำนวนใบ (Mean±SE)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (cm) (Mean±SE)
0	2.78±0.99a*	0.60±0.16a	1.04±0.28a	3.13±1.02a	0.54±0.16a
50	1.70±0.64ab	0.39±0.14ab	0.79±0.28ab	2.20±0.95ab	0.25±0.10b
100	0.73±0.51b	0.10±0.07b	0.23±0.16b	1.18±0.82ab	0.08±0.05b
150	0.50±0.27b	0.19±0.09b	0.46±0.22ab	0.36±0.24b	0.10±0.05b
200	0.50±0.25b	0.16±0.08b	0.41±0.20ab	0.50±0.42b	0.05±0.04b

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

สำหรับการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่ไม่เติมมันฝรั่ง เติมน้ำต้มมันฝรั่ง หรือเติมมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร พบว่า การใช้มันฝรั่งบดเติมในอาหารเพาะเลี้ยง ทำให้การเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบดีกว่าการใช้น้ำต้มมันฝรั่ง (ตาราง 6) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก มันฝรั่งบดยังคงมีสารอินทรีย์ และกรดอะมิโนที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตที่ยังไม่ถูกทำลายโดยความร้อนมากกว่าน้ำต้มมันฝรั่ง และในการทดลองยังพบว่าอาหารที่ไม่มีการเติมมันฝรั่ง มีผลทำให้ต้นอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดน้อยเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน ในขณะที่อาหารที่เติมมันฝรั่ง จะมีผลทำให้โปรโตคอร์มสามารถเพิ่มจำนวน และมีพัฒนาการเกิดยอดและรากอย่างต่อเนื่อง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมมันฝรั่งลงในอาหารมีผลทำให้ต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดี สอดคล้องกับรายงานของกนกวรรณ ถนอมจิตร (2541) ที่พบว่า ในอาหารเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ว่านน้ำทอง ที่เติมมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์ม และพัฒนาเป็นต้นได้ดี

ตาราง 6 ผลของมันฝรั่งต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบที่เวลา 16 สัปดาห์

การทดลอง	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (cm) (Mean±SE)	จำนวนใบ (Mean±SE)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (cm) (Mean±SE)
ไม่เติมมันฝรั่ง	2.43±0.48b*	0.72±0.12a	1.41±0.22a	0.00±0.00b	0.00±0.00b
มันฝรั่งบด (50 g/l)	5.87±1.31a	0.77±0.17a	1.60±0.35a	9.93±2.38a	0.67±0.16a
น้ำต้มมันฝรั่ง	4.31±1.13a	0.89±0.20a	1.66±0.39a	9.15±2.17a	0.86±0.21a

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

และจากการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ บนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW ที่ปรับค่า pH ของอาหารเป็น 4.8 5.0 5.2 5.4 และ 5.6 เพื่อศึกษาผลของ pH ของอาหารที่มีต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบ พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง 5.2 จะชักนำให้มีจำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบเฉลี่ยดีที่สุด ส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่มีค่าค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.4 จะให้จำนวนรากและความยาวรากดีที่สุด ทั้งนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเพาะเลี้ยง เป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการนำรูปที่เป็นประโยชน์ของธาตุอาหารและการนำฮอร์โมนไปใช้ในการเจริญเติบโต (Indra and Thorpe, 1994) จากการทดลองพบว่าเมื่อต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่ 4.8 มีผลทำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตน้อยกว่าที่ 5.0 อาจเป็นเพราะว่า สภาพอาหารที่เป็นกรดมากเกินไปจะส่งผลให้สภาพทางกายภาพของวุ้นอาหารเปลี่ยนแปลงไป (Singh, 1993) วุ้นจะเหลวไม่คงรูป (Pierik, 1997) และจากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 5.6 กลับทำให้การเจริญเติบโตลดลง แสดงว่าสภาพที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงมากเกินไป ไม่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ ซึ่งสอดคล้องกับ Pierik (1987) ที่กล่าวว่า หากสภาพที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงมากเกินไป อาจทำให้การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มและต้นอ่อนกล้วยไม้หยุดชะงัก และอาจตายได้

ตาราง 7 ผลของ pH อาหารต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบที่เวลา 16 สัปดาห์

pH	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (cm) (Mean±SE)	จำนวนใบ (Mean±SE)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (cm) (Mean±SE)
4.8	2.14±1.17a*	0.50±0.23a	0.81±0.36a	3.57±1.65ab	0.36±0.16a
5.0	3.80±1.14a	0.75±0.18a	1.24±0.29a	8.95±2.98a	0.54±0.14a
5.2	4.75±1.47a	0.83±0.17a	1.77±0.36a	6.38±1.64ab	0.53±0.13a
5.4	4.40±1.61a	0.80±0.22a	1.63±0.45a	7.80±3.19ab	0.59±0.16a
5.6	1.28±0.54a	0.43±0.13a	0.94±0.30a	1.22±0.42b	0.31±0.10a

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสดมภ์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 0.5 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 5.2 มีอัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ได้มอบทุนการศึกษาส่วนหนึ่งไว้สำหรับการดำเนินการวิจัย ขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้ ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ถนอมจิตร. (2541). การขยายพันธุ์กล้วยไม้ว่านน้ำทอง *Ludisia discolor* (Ker-Gawl.) A. Rich. ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุจรรยา เรืองวีรยุทธ. (2539). การขยายโคลนเอื้องบุษราคัม (*Eulophia flava* (Lindl.) Hk.f.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อบฉันท์ ไทยทอง. (2546). กล้วยไม้เมืองไทย (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ : บ้านและสวน.

Arditti, J. (1982). Orchid seed germination and seedling culture – A manual. In J. Arditti (ed.). Orchid Biology II. (pp. 244-370). New York : Cornell University Press.

Bill, L., Geoff, S. and Wayne, H. (2002). *Dendrobium* and its relative. Portland: Timber Press.

Druart, P. and Wolf, O.D.E. (1993). Activated charcoal catalyses sucrose hydrolysis during autoclaving. *Plant Cell Tissue and Organ Culture, 32*, 97-99.

Fridborg, G. and Eriksson, T. (1975). Effect of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. *Plant Physiology, 34,* 306-308.

Indra, K.A. and Thorpe, T.A. (1994). Plant Cell and Tissue Culture. Netherlands : Kluwer Academic Publishers.

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

Kunisaki, J.T., Kim, K.K. and Sagawa, Y. (1972). Shoot tip culture of *Vanda*. *American Orchid Society Bulletin, 41*, 435-439.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum, 15,* 473-497.

Pierik, R.L.M. (1987). *In Vitro* Culture of Higher Plants. Dordrecht : Martinus Nijhoff Pubilshers.

Pierik, R.L.M. (1997). *In Vitro* Culture of Higher Plants. 4th (ed.). Netherlands : Kluwer Acadamic Publishers.

Singh, F. (1993). *In vitro* orchid seed germination and cloning of orchid-α success story. In J. F. Prakash & R.L.M. Pierik (eds.). Plant Biotechnology Commercial Prospects and Problems. (p. 129). New Delhi : Mohan and Primlani for Oxford & IBH Publishing.

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

Wainwright, H. and Sceace, J. (1989). Influence of *in vitro* precondition with carbohydrates during the rooting of micropropagation on *in vivo* establishment. *Scientia Horticulturae, 38,* 261-267.

Wang, P.J. and Huang, L.C. (1976). Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue cultures. *In Vitro*, *12*, 260-262.