ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอย โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สุภาภรณ์ สาชาติ[1*], ยรรยง พันธ์พฤกษ์[2] และ ศศิมา เมืองแก้ว[3]

[1]สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร
[2]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร
[3]ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, จันทบุรี
*sachati08@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอยโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้กิจกรรม การผลิตกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอยเพื่อเป็นสมุนไพรทางการค้า เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2561 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2564 มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อสำหรับการผลิตกล้วยไม้ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ การชักนำให้เกิดต้นและการเพิ่มปริมาณ และการชักนำให้เกิดรากและการย้ายอนุบาล การชักนำให้เกิดต้นและการเพิ่มปริมาณในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร อาหารที่เหมาะสมที่สุด คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรให้จำนวนหน่อมากที่สุดคือ 3.4 หน่อ เมื่อเลี้ยงนาน 60 วัน ส่วนกล้วยไม้หวายตะมอย คืออาหารสูตร VW ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต BA จำนวนหน่อมากที่สุด 6.1 หน่อ เมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน ส่วนการชักนำให้เกิดราก อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร และหวายตะมอย คืออาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณรากดีที่สุดคือ 10.4 และ 4.0 ราก เมื่อเลี้ยงนาน 90 และ 60 วัน ตามลำดับ

คำสำคัญ: กล้วยไม้สมุนไพร หวายเหลืองจันทบูร หวายตะมอย การเกิดต้น การเกิดราก

Study on applicable medium in micropropagation of *Dendrobium friedericksianum* Rchb. f. and *Dendrobium crumenatum* Sw.

Supaporn Sachati[1*], Yanyong Phanpruek[2] and Sasima Muangkaew[3]

[1]Horticultural Research Institute Department of Agriculture, Bangkok
[2] Information and Communication Technology Center Department of Agriculture, Bangkok
[3]Chanthaburi Horticultural Research Center Horticultural Research Institute Department of Agriculture, Chanthaburi
*sachati08@hotmail.com

Abstract

The study of suitable formula for propagation of *Dendrobium friedericksianum* Rchb. f. and *D. crumenatum* Sw. by tissue culture under the activity production of *D. friedericksianum* Rchb. f. and *D. crumenatum* Sw. for commercial medicinal, purposes beginning of October 2018 and ending of September 2021. The objective is to obtain a sterile propagation method for the production of orchids with medicinal potential, consisting of 2 steps: plant induction and proliferation, and root induction and nursery migration. In Induction and proliferation in D. friedericksianum Rchb. f. step, the optimal MS medium combined with 5 mg/L of BA for the maximum number of shoots was 3.4 shoots after culturing for 60 days. While the D. crumenatum Sw. was the VW medium without BA growth regulator, the maximum number of shoots was 6.1 after culturing for 90 days. For the medium of root induction of *D. friedericksianum* Rchb. f. and *D. crumenatum* Sw. were MS medium combined with 0.5 mg/L of NAA. The maximum amount of root were 10.4 and 4.0 roots after 90 and 60 days of cultivation, respectively.

Keywords: herbal orchid, *Dendrobium friedericksianum* Rchb. f., *D. crumenatum* Sw., shoot induction, root induction

1. บทนำ

กล้วยไม้ในสกุล Dendrobium เป็นหนึ่งในสกุลกล้วยไม้ที่ถูกค้นพบสายพันธุ์ถึง 1,100 ชนิด ซึ่งกระจายอยู่ในทวีปเอเชีย ยุโรป และออสเตรเลีย [1] ในประเทศไทยมีมากกว่า 150 ชนิด [2] กล้วยไม้เหล่านี้มีสารฟีนอล (phenol) ในโครงสร้าง ได้แก่ bibenzyl, phenanthrene และ fluorenone เป็นองค์ประกอบหลัก [3] การศึกษาทางเภสัชวิทยาแสดงให้เห็นว่าสารกลุ่มฟีนอล โดยเฉพาะ moscatilin มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ฤทธิ์ต้านการเจริญของหลอดเลือด (anti-angiogenesis) [4-6]

ปี พ.ศ. 2559 การวิจัยหาปริมาณสารประกอบฟีนอลอีก 9 ชนิด ได้แก่ (2S)-eriodictyol, (2S)-homoeriodictyol, dendroflorin, moscatilin, lusianthridin, gigantol, nobilone, chrysotoxine และ crepidatin (ภาพที่ 1) ในกล้วยไม้สกุล Dendrobium จำนวน 23 ชนิด พบว่าหวายตะมอยมีสารทั้ง 9 ชนิด โดยพบ dendroflorin, moscatilin และ

lusianthridin มากที่สุด 0.0433, 0.0834 และ 0.0079 เปอร์เซ็นต์ w/w ตามลำดับ หวายเหลืองจันทรบูรที่เก็บจากทางภาคเหนือ พบสาร (2S)-eriodictyol และ (2S)-homoeriodictyol มากที่สุด 0.0549 และ 0.0425 เปอร์เซ็นต์ w/w ตามลำดับ และสารสำคัญบางชนิดในเอื้องคำป๊อก เอื้องแซะหม่น หวายจีน เอื้องนิ้วมือชะนี และอื่น [7]

กล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) เป็นกล้วยไม้ป่าพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยมีเขตกระจายพันธุ์อยู่ในป่าดงดิบทางภาคตะวันออกแถบจังหวัดจันทบุรีและตราด [8] กล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรจัดเป็นพืชอนุรักษ์บัญชีที่ 2 ตามอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์เป็นพืชอนุรักษ์ในอนุสัญญาไซเตส (CITES: Convention on International Trade In Endangered Species of Wild Fauna and Flora)

กล้วยไม้หวายตะมอย (*Dendrobium crumenatum* Sw.) มีลักษณะเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย โคนต้นเป็นลำลูกกล้วยทรงกระบอก ส่วนปลายเป็นเส้นกลมเรียวและแข็ง ยาวได้ถึง 70 เซนติเมตร ใบรูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 1.5-2.5 เซนติเมตร ยาว 5-7 เซนติเมตร มักทิ้งใบเมื่อผลิดอก ดอกเดี่ยวออกตามข้อ สีขาวนวล บานเต็มที่ กว้าง 2.5-3 เซนติเมตร มีกลิ่นหอม กลีบปากมีแต้มสีเหลืองที่กลางกลีบ การกระจายพันธุ์พบได้ทั่วประเทศ

สารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ที่พบในพืชสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์นั้น ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มสารเมทาโบไลท์ทุติยภูมิ ปริมาณการสังเคราะห์สารดังกล่าวจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสารข้างต้นด้วย ปัจจัยต่าง ๆ ทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายในที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพร มีบทบาทสำคัญต่อการหาแนวทางในการเพิ่มผลผลิตที่เป็นสารออกฤทธิ์ (ชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์) และผลผลิตที่เป็นมวลชีวภาพ (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักสด) ของพืชสมุนไพรให้สูงขึ้น และเพียงพอต่อการนำมาใช้ประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจ จากการศึกษาถึงสารสำคัญในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอย ซึ่งได้ศึกษาสำรวจ รวบรวม และมีการนำกล้วยไม้สมุนไพรเหล่านั้นมาใช้ประโยชน์ จึงควรมีการพัฒนาและขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อกับกล้วยไม้หวายทั้ง 2 ชนิดนี้ เพื่อการผลิตกล้วยไม้ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพรในเชิงการค้า

2. วิธีดำเนินการ

2.1 ขั้นตอนการชักนำให้เกิดต้นและการเพิ่มปริมาณ

นำหน่ออ่อนกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร และหวายตะมอย มาทำการฟอกฆ่าเชื้อ โดยเช็ดทำความสะอาดและลอกกาบนอกออก ฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ตามด้วย NaOCl 1.6 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และ NaOCl 0.4 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ลอกกาบในตู้ปลอดเชื้อจนเหลือจุดเจริญและเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นอ่อนและเพิ่มปริมาณตามกรรมวิธีที่กำหนด วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 10 ซ้ำ (ขวด) ใช้สูตรอาหารเป็นกรรมวิธี คืออาหารสูตร MS และ VW ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเลี้ยงบนชั้นที่มีแสงสว่างประมาณ 1,000-3,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส บันทึกข้อมูลการปนเปื้อนเชื้อ และการเพิ่มปริมาณของต้นอ่อนที่อายุ 30, 60 และ 90 วัน

2.2 ขั้นตอนการชักนำให้เกิดราก

นำต้นอ่อนจากขั้นตอนการชักนำให้เกิดต้นและการเพิ่มปริมาณ มาเพาะเลี้ยงตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยต้นอ่อนต้องมีความสูงอย่างน้อย 1-2 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 10 ซ้ำ (ขวด) ใช้สูตรอาหารเป็นกรรมวิธี คืออาหารสูตร MS และ VW ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 0.1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปวางบนชั้นที่มีแสงสว่างประมาณ 1,000-3,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส บันทึกข้อมูลการปนเปื้อนเชื้อ การเพิ่มปริมาณของรากที่อายุ 30, 60 และ 90 วัน หลังจากนั้นทำการย้ายกล้าอนุบาลในเรือนเพาะชำ บันทึกข้อมูลการรอดชีวิตหลังย้ายปลูก การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติ นำข้อมูลที่ได้จากการรวบรวมมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) จากโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT for Dos โดยใช้หลักในการประเมินที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง คือเริ่มต้น ตุลาคม 2561 – สิ้นสุด กันยายน 2564 ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การชักนำให้เกิดต้นและการเพิ่มปริมาณ

ในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร และหวายตะมอย พบว่าไม่มีจำนวนหน่อที่เพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงนาน 30 วัน ซึ่งในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรที่เลี้ยงนาน 60 และ 90 วัน มีจำนวนหน่อที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันมากนัก ดังนั้นอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อมากที่สุดคือ 3.4 หน่อ เมื่อเลี้ยงนาน 60 วัน ส่วนกล้วยไม้หวายตะมอยเมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน จะให้ปริมาณหน่อมากกว่าที่เลี้ยงนาน 60 วัน ซึ่งอาหารที่เหมาะสมที่สุด คืออาหารสูตร VW ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต BA มีจำนวนหน่อมากที่สุด 6.1 หน่อ เมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเพิ่มจำนวนหน่อเฉลี่ยของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร และหวายตะมอยที่เลี้ยงนาน 60 และ 90 วัน ในอาหารสูตรต่าง ๆ

สูตรอาหาร	เหลืองจันทบูร (หน่อ)		หวายตะมอย (หน่อ)	
	60 วัน	90 วัน	60 วัน	90 วัน
MS	2.8^{ab}	3.0^{a}	2.7^{ab}	3.4^{cde}
MS ที่เติม BA 5 mg/L	3.4^{a}	3.1^{a}	3.6^{a}	5.9^{ab}
MS ที่เติม BA 10 mg/L	1.7^{b}	1.9^{c}	3.2^{a}	4.8^{abc}
MSที่เติม BA 15mg/L	2.6^{ab}	2.3^{abc}	2.8^{ab}	4.5^{bcd}
VW	2.4^{ab}	2.0^{bc}	3.0^{ab}	6.1^{a}
VW ที่เติม BA 5mg/L	2.9^{ab}	2.9^{ab}	2.1^{b}	2.8^{e}
VW ที่เติม BA 10mg/L	2.0^{b}	1.8^{c}	2.1^{b}	3.1^{de}
VW ที่เติม BA 15mg/L	2.2^{ab}	2.3^{abc}	1.0^{c}	1.3^{f}

หมายเหตุ: ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) โดยวิธี DMRT

จากการศึกษาการเพิ่มจำนวนหน่อเฉลี่ยของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอย หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ นาน 60 และ 90 วัน พบว่ากล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร การเพิ่มจำนวนหน่อเฉลี่ยสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 60 วัน และพบหน่อหรือยอดใหม่ browning ตายเมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน ในขณะที่กล้วยไม้หวายตะมอย การเพิ่มจำนวนหน่อเฉลี่ยเพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน ซึ่งแตกต่างกับรายงานผลการทดลองของนายิกา [9] ว่าการเพิ่มจำนวนยอดรวมสูงขึ้นของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร ในสูตรอาหาร MS เมื่อเลี้ยงนาน 30, 60 และ 90 วัน โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยที่ 3.01, 3.32 และ 3.89 ยอดต่อชิ้นส่วนตามลำดับ

และจากผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอย โดยการเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS และ VW พบว่ากล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และที่เติม BA ส่งเสริมการเกิดหน่อเฉลี่ยได้สูงกว่าอาหารสูตร VW ยกเว้นเฉพาะ

กล้วยไม้หวายตะมอยเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร VW ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่งเสริมการเกิดหน่อเฉลี่ยได้สูงกว่าอาหารสูตร MS ซึ่ง Steward [10] ได้เปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารในอาหารสังเคราะห์ พบว่าอาหารสูตร MS มีปริมาณแอมโมเนียและnicotinic acid สูงกว่าอาหารสูตร VW อาจกล่าวได้ว่าอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนหน่อเฉลี่ยของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของปรัชพรรณ [11] ที่ได้ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรในหลอดทดลอง พบว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำการเกิดยอดรวมเฉลี่ย 3.21 ยอดต่อชิ้นส่วนและชักนำการเกิดยอดรวมได้สูงกว่าอาหารสูตร VW และ นายิกา [9] ที่ได้ศึกษาสูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) ในหลอดทดลอง พบว่าอาหารทุกสูตรไม่สามารถชักนำการเกิดดอกได้ โดยอาหารสูตร MS ส่งเสริมการเกิดยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 3.89 ยอดต่อชิ้นส่วน และสอดคล้องกับงานวิจัย [12-14] ที่ทำกับกล้วยไม้เอื้องช้างน้าวและกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิด

เมื่อพิจารณาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และสูตรอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรและหวายตะมอย โดยสูตรอาหาร MS และ VW ที่ไม่เติมและเติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเกิดหน่อเฉลี่ยสูงสุดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรและหวายตะมอย 3.4 และ 3.6 หน่อต่อชิ้นส่วน ที่ระยะเวลา 60 วัน ตามลำดับ และที่ระยะเวลา 90 วัน กล้วยไม้หวายตะมอยที่เลี้ยงในสูตรอาหาร VW ที่ไม่เติม BA ส่งเสริมการเกิดหน่อเฉลี่ยสูงสุด 6.1 หน่อต่อชิ้นส่วน และรองลงมาคือเลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเกิดหน่อเฉลี่ย 5.9 หน่อต่อชิ้นส่วน และเมื่อเติมความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้นอัตราการเกิดยอดรวมลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นายิกา [9] พบว่าอาหารสูตร ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเกิดยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 4.75 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังการเพาะเลี้ยงนาน 90 วัน และเมื่อเติมความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้นอัตราการเกิดยอดรวมลดลง และ Sheelavantmath et al. [15] ได้เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 5 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำการเกิดยอดรวมได้สูงสุด 8.20 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้นจะยับยั้งการเกิดยอดใหม่ จากการศึกษาพบว่า BA มีผลต่อการแบ่งเซลล์และกระตุ้นการเจริญเติบโตด้านข้างของพืช แต่เมื่อเพิ่ม BA ให้สูงขึ้นจะส่งผลยับยั้งการพัฒนาการของยอดและราก

3.2 การชักนำให้เกิดราก

การชักนำให้เกิดรากในกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร จะเห็นได้ว่าเมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน จะให้ปริมาณรากมากกว่าที่เลี้ยงนาน 60 วัน คือ 10.4 ราก โดยอาหารที่ชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด คืออาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนกล้วยไม้หวายตะมอยที่เลี้ยงนาน 60 และ 90 วัน มีปริมาณรากไม่แตกต่างกัน ดังนั้นอาหารที่เหมาะสำหรับการชักนำให้เกิดราก คืออาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรที่เลี้ยงนาน 60 วัน พบว่ามีจำนวนรากมากที่สุด คือ 4.0 ราก (ตารางที่ 4.2.2)

ตารางที่ 2 การชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร และหวายตะมอยที่เลี้ยงนาน 30, 60 และ 90 วัน ในอาหารสูตรต่าง ๆ

สูตรอาหาร	เหลืองจันทบูร (ราก)			หวายตะมอย (ราก)		
	30 วัน	60 วัน	90 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
MS	1.7^{cd}	4.3^{bc}	7.5^{b}	1.6^{bc}	2.4^{bc}	2.8^{bc}
MS ที่เติม NAA 0.5 mg/L	1.8^{cd}	4.6^{bc}	10.4^{a}	2.0^{b}	4.0^{a}	4.5^{a}
MS ที่เติม NAA 1.0 mg/L	1.9^{c}	5.2^{ab}	7.3^{b}	2.8^{a}	4.0^{a}	4.1^{ab}
MS ที่เติม NAA 1.5 mg/L	2.7^{b}	5.2^{ab}	8.2^{ab}	1.6^{bc}	2.8^{b}	3.1^{b}
VW	2.0^{bc}	3.0^{cd}	4.5^{c}	1.2^{d}	1.6^{c}	1.8^{c}
VW ที่เติม NAA 0.5 mg/L	4.6^{a}	6.6^{a}	9.4^{ab}	1.5^{cd}	2.4^{bc}	2.9^{bc}
VW ที่เติม NAA 1.0 mg/L	1.0^{d}	1.5^{d}	3.2^{c}	1.7^{bc}	2.7^{b}	3.0^{bc}
VW ที่เติม NAA 1.5 mg/L	1.5^{cd}	2.0^{d}	2.7^{c}	1.4^{cd}	2.4^{bc}	3.2^{b}

หมายเหตุ: ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) โดยวิธี DMRT

จากผลของสูตรอาหารต่อการเกิดรากของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอย โดยการเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS และ VW พบว่า กล้วยไม้หวายทั้ง 2 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม NAA ส่งเสริมการเกิดรากเฉลี่ยได้สูงกว่าอาหารสูตร VW เมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน ซึ่งผลการทดลองที่ได้ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ นายิกา [9] และปรัชพรรณ [11] อาหารสูตร VW ส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก จำนวนและความยาวของราก ที่กล่าวถึงประโยชน์ของแคลเซียมและแมกนีเซียมสูง จึงทำให้การพัฒนาของระบบรากเกิดได้ดี แต่พบว่ามีรายงานการศึกษาการใช้สูตรอาหาร MS ในขั้นตอนการชักนำให้เกิดราก คือ งานวิจัยของวิชาญ [16] ซึ่งรายงานว่าการเลี้ยงต้นอ่อน *Dendrobium lamellatum* Lindl. บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการแตกรากดีที่สุด เนื่องด้วยสารกลุ่มออกซินเมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ จะมีผลกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชมีการแบ่งเซลล์มากขึ้น ช่วยให้มีการสร้างรากหรือยอดใหม่ขึ้นมา ซึ่งมีการนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้สำเร็จ

เมื่อพิจารณาผลของ NAA และสูตรอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการเกิดรากของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรและหวายตะมอย โดยสูตรอาหาร MS และ VW ที่ไม่เติมและเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุด 10.4 และ 4.5 ราก ตามลำดับหลังปลูกเลี้ยง 90 วัน NAA เป็นสารที่มีฤทธิ์ของออกซินค่อนข้างสูง เคลื่อนย้ายในพืชได้เร็ว แต่สลายตัวได้ช้าและเกิดความเป็นพิษต่อพืชได้ง่าย จึงมีช่วงความปลอดภัยค่อนข้างแคบ หากพืชได้รับในอัตราที่มากเกินไปจะทำให้เกิดความเป็นพิษและเสียต่อการเกิดรากได้ จากการทดลองปริมาณ NAA ที่มากกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป จึงมีผลทำให้มีปริมาณรากน้อย

3.3 การย้ายต้นอ่อนอนุบาลในโรงเรือน

นำต้นอ่อนของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรและหวายตะมอย ที่ได้จากการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อออกปลูกในเดือนมิถุนายน 2564 จำนวน 50 และ 40 ต้น ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำสะอาด แช่น้ำยากันราเป็นเวลา 15 นาที ใช้กาบมะพร้าวชนิดไม่ติดเปลือกแข็งด้านนอก และกาบมะพร้าวชนิดไม่ติดเปลือกแข็งด้านนอกร่วมกับโฟมห่อผลไม้เป็นวัสดุห่อราก วางในจุดที่มีอากาศถ่ายเทดี แต่ไม่มีลมแรง และไม่โดนฝน พบว่าหลังออกปลูกอนุบาล 4 สัปดาห์ (เดือนกรกฎาคม) ต้นอ่อนกล้วยไม้หวายทั้ง 2 ชนิด ยังไม่พบการตาย แต่เมื่อเลี้ยงต่อจนถึง 8 สัปดาห์ (เดือนสิงหาคม) กล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร ที่ใช้วัสดุห่อรากเป็นกาบมะพร้าวชนิดเดียว มีต้นรอดชีวิต 3 ต้น คิดเป็น 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกล้วยไม้หวายตะมอย ต้นอ่อนตาย

ทั้งหมดบนวัสดุทั้ง 2 ชนิด และได้ออกปลูกกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูรอีกครั้งในช่วงเดือนกรกฎาคม จำนวน 50 ต้น โดยใช้กาบมะพร้าวร่วมกับโฟมห่อผลไม้เป็นวัสดุห่อราก ให้ผลในทิศทางเดียวกับการออกปลูกในเดือนมิถุนายน และเมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ (เดือนกันยายน) พบต้นรอดชีวิต 12 ต้น คิดเป็น 24 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 1 ต้นอ่อนเหลืองจันทบูรหลังออกปลูกในสภาพโรงเรือน

4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นและการเพิ่มปริมาณของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเลี้ยงนาน 60 วัน ส่วนกล้วยไม้หวายตะมอย คืออาหารสูตร VW ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เมื่อเลี้ยงนาน 90 วัน

อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร และหวายตะมอย คืออาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อเลี้ยงนาน 90 และ 60 วัน ตามลำดับ

สำหรับการออกปลูกต้นอ่อนของเหลืองจันทบูร ควรออกปลูกในช่วงที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูง (กรกฎาคม - กันยายน) เพื่อให้มีการปรับตัวกับสภาพภายนอกได้ก่อนเข้าสู่ช่วงแล้ง ส่วนหวายตะมอย ต้องทำการศึกษาวิธีการออกปลูกใหม่ เพื่อหาวัสดุ วิธี และช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

[1] Yang, L., Wang, Z.,and Xu, L. (2006). Simultaneous determination of phenols (bibenzyl, phenanthrene, and fluorenone) in Dendrobium species by high-performance liquid chromatography with diode array detection. **Journal of Chromatography A**. 1104, 230-237.

[2] Peyachoknagul S, Mongkolsiriwatana C, Wannapinpong S, Huehne PS, Srikulnath K. Identification of native Dendrobium species in Thailand by PCR-RFLP of rDNA-ITS and chloroplast DNA. **ScienceAsia**. 2014; 40 (2) : 113-20.

[3] Liu, Y. N., Pan, S. L., Peng, C. Y., Huang, D. Y., Guh, J. H., Chen, C. C., Shen, C. C. and Teng, C. M. (2010). Moscatilin repressed lipopolysaccharide induced HIF-1α accumulation and NF-KB activation in murine RAW264.7 cells. **Shock**, 33 (1), 70-75.

[4] Kowitdamrong, A., Chanvorachote, P., Sritularak, B., and Pongrakhananon, V. (2013). Moscatilin inhibits lung cancer cell motility and invasion via suppression of endogenous reactive oxygen species**. BioMed Research International**, 2013, Article ID 765894

[5] Tsai, A.C., Pan, S.L., Liao, C.H., Guh, J.H., Wang, S.W., Sun, H.L.,et al. (2010). Moscatilin, a bibenzyl derivative from the India orchid Dendrobriumloddigesii, suppresses tumor angiogenesis and growth in vitro and in vivo. **Cancer Letter**, 292(2), 163-170.

[6] Seidenfaden G. (1985) **Orchid Genera in Thailand XII. Dendrobium Sw**. Opera Botanica no. 83. Council for Nordic Publications in Botany, Copenhagen.

[7] ยุพิน กษินเกษมพงษ์ ฉัตต์นภา ข่มอาวุธ และอัมพิกา ปุนนจิต. (2560). **รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มสิ้นสุดปีงบประมาณ 2559 เรื่อง การทดลองรวบรวมและคัดเลือกกล้วยไม้สกุล Dendrobium ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ Dendrobium ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร**. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

[8] อบฉันท์ ไทยทอง. (2549). **กล้วยไม้เมืองไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 12. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน.

[9] นายิกา สันทารุนัย. (2558). **การศึกษาสูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f.) ในหลอดทดลอง**. การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ “สร้างสรรค์และพัฒนา เพื่อก้าวหน้าสู่ประชาคมอาเซียน” ครั้งที่ 2 18-19 มิถุนายน 2558 ณ วิทยาลัยนครราชสีมา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา, 155-162.

[10] Stewart S.L. & Kane M.E. (2006). Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of Habenaria macroceratitis (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid. **Plant Cell Tissue Org. Cult**, 86, 147-158.

[11] ปรัชพรรณ หนูจีน. (2550). **ปัจจัยที่มีผลการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร.** วิทยานิพนธ์ของการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร. สาขาวิชาพืชศาสตร์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[12] สุภาวดี รามสูตร ปรีดา บุญเวศน์ และวริยา นวลนุช. (2558). ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าปิดในหลอดทดลอง. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์,** 2 (4), 11-14.

[13] อารยา อาจเจริญ เทียนหอม ธีรภรณ์ ตุ้มน้อย ปรัชญา เตวิยะ และวิทยา แก้วศรี. (2558). การขยายพันธุ์เอื้องช้างน้าวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 46 (3) (พิเศษ), 101-104.

[14] นุชจรี สิงห์พันธ์ และแพรวพรรณ จันเงิน. (2563). ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญเติบโตของเอื้องช้างน้าวในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**, 38 (3), 288-295.

[15] Sheelavantmath S.S., Murthy H.N., Pyati A.N., Ashok Kumar H.G. and Ravishankar B.V. (2000) In vitro propagation of the endangered orchid, *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. through rhizome section culture. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 60 (2), 151-154.

[16] วิชาญ แปงเมือง และอนุพันธ์ กงบังเกิด. (2555**). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายแบนในสภาพปลอดเชื้อ**, ในรายงานการประชุมวิชาการ พะเยาวิจัยครั้งที่ 1 : กลุ่มการเกษตรวิจัย, มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา, 7 น.