

การขยายพันธุ์กล้วยไม้ *Anoectochilus koshunensis* Hayata ในสภาพปลอดเชื้อMicropropagation of *Anoectochilus koshunensis* Hayata Orchid

กัญญพร สวัสดิ์วงศ์ (Kanyaphorn Sawatdiwong)\* ดร.เสมอมาลัย วงศ์ชาวจันทน์ (Dr.Shermarl Wongchaochant)\*\*

## บทคัดย่อ

กล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata เป็นกล้วยไม้ดินที่มีใบลักษณะโดดเด่น สวยงามทั้งรูปร่างทรงและสีสัน จึงเป็นที่ต้องการของตลาดไม้ดอกไม้ประดับในปัจจุบัน ซึ่งการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการทางธรรมชาติไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนและการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ของกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata โดยทำการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata จำนวน 2 ตัวอย่าง บนอาหารกึ่งแข็ง 8 สูตรอาหาร จากการศึกษาพบว่า กล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 1 มีการเพิ่มจำนวนยอดและพัฒนาขนาดยอดรวมถึงสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้อย่างเหมาะสมที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่มี BA ปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ผลดีกว่าสูตรอาหารอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 2 พบว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่มี BA ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดและรากเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้เหมาะสมที่สุด

## ABSTRACT

*A. koshunensis* Hayata is a terrestrial orchid. Its leaf is a dominant characteristic with beautiful shapes and colors. It has an ornamental market demand at the present. A natural propagation could not multiply for the large amount to support the market demand. Therefore, this research aimed to study the appropriate media for multiplication and development of *A. koshunensis* Hayata. The 2 accessions of *A. koshunensis* Hayata were cultured on 8 semi-solid medium formulas. The results showed that *A. koshunensis* Hayata 1 could increase shoots, developed shoot size and plantlets when cultured on ½MS + 0.5 mg/l BA which significant difference from other media. For *A. koshunensis* Hayata 2, culture on ½MS + 1 mg/l BA could multiply the highest number of plantlets.

คำสำคัญ: กล้วยไม้ดิน อาหารเพาะเลี้ยง ไซโตไคนิน

Keywords: Terrestrial orchid, Culture media, Cytokinins

\* นิสิต หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

\*\* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## บทนำ

กล้วยไม้ลายน้ำทอง *Anoectochilus* spp. เป็นกล้วยไม้ดินในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งมีมากกว่า 50 สายพันธุ์ (San, 2013) สามารถพบได้ในประเทศอินเดีย เทือกเขาหิมาลัย แถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และอินโดนีเซียไปจนถึงฮาวาย (Tseng et al., 2006; Zhang et al., 2015) รวมถึงในประเทศไทย โดยจะมีการเจริญเติบโตในฤดูฝนและจะพักตัวในฤดูแล้งโดยมีเหง้าหรือลำต้นใต้ดิน (อบฉันท, 2551) กล้วยไม้ลายน้ำทองนี้มีลำต้นใต้ดิน ลำต้นเหนือดินตั้งตรงและอวบ น้ำรากแข็งแรงและมีขนราก (Chen et al., 2009) *A. koshunensis* Hayata เป็นชนิดหนึ่งที่มีเส้นใบโดดเด่น และรูปร่างใบที่สวยงาม โดยมีลักษณะใบนุ่มเหมือนกำมะหยี่ มีสีเขียวไปจนถึงสีน้ำตาลหรือม่วงเข้ม (San, 2013) จากลักษณะโดดเด่นของใบนั้นทำให้กล้วยไม้ชนิดนี้เป็นที่ต้องการของตลาดไม้ดอกไม้ประดับเพิ่มขึ้น (Gangaprasad et al., 1999) ปกติกล้วยไม้ชนิดนี้ มีการขยายพันธุ์ด้วยวิธีตามธรรมชาติโดยการเพาะเมล็ดนั้น ซึ่งมีอัตราการงอกที่ค่อนข้างต่ำ ทำให้การขยายพันธุ์เป็นไปได้ช้า (Belitsky, 1999; Ket et al., 2004) จึงมีการนำเอาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ ที่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้ สามารถใช้ได้กับพืชหลายชนิด และได้มีการนำมาทดลองใช้กับกล้วยไม้ชนิดนี้ เมื่อได้มีการเริ่มพัฒนาการขยายพันธุ์จากต้นอ่อนด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและประสบความสำเร็จ มีการนำวิธีการมาพัฒนาและต่อยอด (Chow et al., 1982; Ket et al., 2004) โดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant Growth Regulators; PGRs) เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชในส่วนต่างๆ ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของ PGRs และปริมาณที่ใช้ (Trigiano, Gray, 2004) ซึ่งกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สามารถใช้เพิ่มจำนวนยอดได้ก็คือ สารกลุ่มไซโตไคนิน โดยสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นและใช้อย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือ 6-benzyladenine (BA) ซึ่งยังช่วยกระตุ้นการแตกกิ่งก้านได้ดี (พัชรียา, 2557) โดยการศึกษาของ Sherif et al. (2012) พบว่าการใช้ BA สามารถชักนำการเกิดยอดได้เร็วทั้งปริมาณที่มากและมีขนาดสมบูรณ์จากทั้งส่วนปลายยอดและส่วนตาข้างของ *A. elatus* และการศึกษาของ Zhang et al. (2015) ได้สรุปว่าการใช้ BA เพียงอย่างเดียวนั้นมีประสิทธิภาพที่ดีเพียงพอต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลนี้

## วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาที่สมบูรณ์ของกล้วยไม้ลายน้ำทอง (*A. koshunensis* Hayata)

## วิธีการวิจัย

### อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design) ทดลองโดยใช้ส่วนปลายยอดเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 8 สูตร ได้แก่

อาหารสูตรที่ 1 ½MS

อาหารสูตรที่ 2 ½MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 3 ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 4 ½MS ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 5 MS

อาหารสูตรที่ 6 MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 7 MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารสูตรที่ 8 MS ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ทำการทดลองต่อสิ่งทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น โดยอาหารสูตร MS (Murashige, Skoog, 1962) และ ½MS มีการเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร Kelcogel® 2.5 กรัมต่อลิตร ที่ pH 5.7 เพาะเลี้ยงพืชในขวดแก้วขนาด 4 ออนซ์ ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปรับอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว ชนิด cool

daylight ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง  $30 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  บันทึกเก็บข้อมูลผลการเจริญเติบโต จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนข้อ จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ และความสูงต้น หลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร 1 เดือน

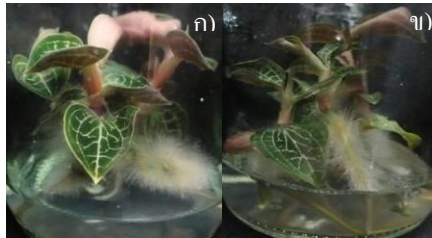
### พืชทดลอง

#### 1. *Anoectochilus koshunensis* Hayata #1 (ตัวอย่างที่ 1)

ลักษณะลำต้นอวบน้ำ ใบมีสีเขียวเข้ม เงาม ขอบใบและเส้นใบมีสีขาวเป็นประกาย ปลายใบแหลม ลำต้น กาบใบและหลังใบมีสีแดง (รูปที่ 1)

#### 2. *Anoectochilus koshunensis* Hayata #2 (ตัวอย่างที่ 2)

ลักษณะคล้ายกับตัวอย่างที่ 1 คือลำต้น กาบใบและหลังใบมีสีแดงเช่นเดียวกัน แต่ใบนั้นสีเขียวอ่อนกว่า ไม่เงาม เส้นใบมีสีขาวเป็นประกายเหลือง (รูปที่ 2)



ภาพที่ 1 ลักษณะของ *A. koshunensis* หลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 2 เดือน; ก) ตัวอย่างที่ 1 และ ข) ตัวอย่างที่ 2

### การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน Analysis of Variance (ANOVA) ของข้อมูลในแต่ละลักษณะที่ศึกษาและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang Tests (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS (version 16.0)

### สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง

ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งใช้ระยะเวลาในการทดลอง 3 เดือน ตั้งแต่เดือนตุลาคม ถึง เดือนธันวาคม 2559

### ผลการวิจัย

จากการทดลองเพาะเลี้ยงกล้วยไม้โดยใช้สูตรอาหารกึ่งแข็งทั้ง 8 สูตร เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยไม้ *Anoectochilus koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 1 พบว่า จำนวนรากสามารถถูกชักนำได้ดีที่สุดด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร  $\frac{1}{2}\text{MS}$  และเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร  $\frac{1}{2}\text{MS}$  ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร,  $\frac{1}{2}\text{MS}$  ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, MS, MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนราก ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความยาวรากสามารถชักนำได้ดีในอาหารสูตร MS แต่อาหารสูตร  $\frac{1}{2}\text{MS}$ ,  $\frac{1}{2}\text{MS}$  ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนจำนวนยอดและจำนวนข้อสามารถถูกชักนำให้มีจำนวนมากได้โดยการใช้อาหารสูตร  $\frac{1}{2}\text{MS}$  ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร  $\frac{1}{2}\text{MS}$  ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อและจำนวนยอดที่มีจำนวนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แต่ในส่วนของการขยายยอด อาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรจะให้ผลที่ดีกว่า และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนของจำนวนใบมีจำนวนมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารทุกสูตรยกเว้นอาหารสูตร ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งชักนำให้มีการสร้างจำนวนใบน้อยที่สุด แต่ทำให้ใบมีขนาดความยาวและความกว้างมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในด้านความสูงของต้น การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร ½MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นพืชมีความสูงต้นมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของ *A. kosshunensis* Hayata #1 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยทั้งอาหาร 8 สูตร

Media	Number of Root	Root Length (cm)	Number of Shoot	Shoot Length (cm)	Number of Node	Number of Leaf	Leaf Length (cm)	Leaf Width (cm)	Height (cm)
½MS	2.6±1.1 <sup>ab</sup>	0.6±0.2 <sup>ab</sup>	0.2±0.6 <sup>c</sup>	0.1±0.2 <sup>d</sup>	2.9±0.7 <sup>ab</sup>	3.3±0.5 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>abc</sup>	0.6±0.1	1.3±0.3 <sup>d</sup>
½MS + 0.5 mg/l BA	2.4±0.8 <sup>ab</sup>	0.5±0.2 <sup>abc</sup>	1.9±1.4 <sup>a</sup>	0.5±0.2 <sup>bc</sup>	3.0±0.0 <sup>a</sup>	3.2±0.4 <sup>ab</sup>	0.5±0.1 <sup>bc</sup>	0.6±0.1	2.3±0.3 <sup>a</sup>
½MS + 1 mg/l BA	2.1±0.7 <sup>ab</sup>	0.4±0.1 <sup>bcd</sup>	1.6±1.2 <sup>ab</sup>	0.6±0.3 <sup>ab</sup>	3.1±0.6 <sup>a</sup>	3.0±1.3 <sup>ab</sup>	0.6±0.2 <sup>ab</sup>	0.6±0.1	2.3±0.2 <sup>a</sup>
½MS + 2 mg/l BA	1.5±0.9 <sup>bc</sup>	0.2±0.1 <sup>c</sup>	0.7±1.0 <sup>bc</sup>	0.1±0.2 <sup>d</sup>	2.8±0.4 <sup>ab</sup>	3.4±0.7 <sup>a</sup>	0.5±0.0 <sup>c</sup>	0.5±0.1	2.0±0.3 <sup>bc</sup>
MS	2.0±0.8 <sup>ab</sup>	0.6±0.3 <sup>a</sup>	0.5±0.7 <sup>c</sup>	0.2±0.3 <sup>cd</sup>	2.4±0.5 <sup>b</sup>	3.4±0.7 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>abc</sup>	0.5±0.1	1.3±0.3 <sup>d</sup>
MS + 0.5 mg/l BA	1.7±1.0 <sup>abc</sup>	0.4±0.2 <sup>cde</sup>	1.9±1.6 <sup>a</sup>	0.4±0.3 <sup>bc</sup>	2.9±0.6 <sup>ab</sup>	3.0±0.8 <sup>ab</sup>	0.5±0.1 <sup>bc</sup>	0.6±0.1	2.2±0.5 <sup>ab</sup>
MS + 1 mg/l BA	2.4±1.0 <sup>ab</sup>	0.4±0.1 <sup>bcd</sup>	2.2±1.2 <sup>a</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>	3.0±0.5 <sup>a</sup>	2.5±0.7 <sup>b</sup>	0.7±0.2 <sup>a</sup>	0.6±0.1	2.2±0.4 <sup>abc</sup>
MS + 2 mg/l BA	0.9±1.0 <sup>c</sup>	0.3±0.3 <sup>de</sup>	0.4±0.7 <sup>c</sup>	0.2±0.3 <sup>d</sup>	2.8±0.8 <sup>ab</sup>	3.2±0.4 <sup>ab</sup>	0.5±0.1 <sup>c</sup>	0.7±0.7	1.9±0.4 <sup>c</sup>

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ส่วนกล้วยไม้ *A. kosshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้ง 8 สูตรอาหาร เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้น พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS มีการสร้างรากจำนวนมากว่าการใช้อาหารกึ่งแข็งสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการใช้อาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS และ MS ทำให้ได้รากที่มีความยาวรากมากกว่าการใช้อาหารกึ่งแข็งสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้จำนวนมากที่สุด และมีความยาวยอดมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านการเจริญเติบโตและการพัฒนาของใบ พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS และ MS ทำให้ใบมีขนาดความกว้างและความยาวมากที่สุดเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่น แต่เมื่อพิจารณาในส่วนของการขยายยอด อาหารสูตร ½MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS สามารถชักนำให้ต้นกล้วยไม้สร้างใบได้จำนวนมากว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นมีความสูงต้นมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

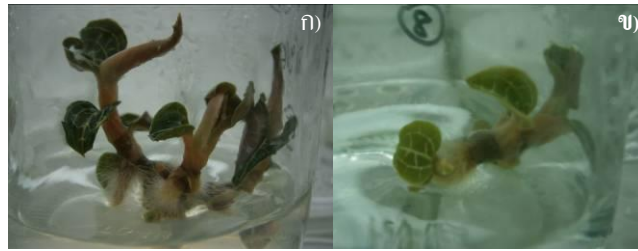
ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของ *A. koshunensis* Hayata #2 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 8 สูตร

Media	Number of Root	Root Length (cm)	Number of Shoot	Shoot Length (cm)	Number of Node	Number of Leaf	Leaf Length (cm)	Leaf Width (cm)	Height (cm)
½MS	1.4±0.8 <sup>ai/</sup>	0.7±0.4 <sup>a</sup>	0.1±0.3 <sup>c</sup>	0.1±0.4 <sup>b</sup>	2.4±0.5 <sup>bc</sup>	2.0±0.5 <sup>a</sup>	0.7±0.2 <sup>a</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>	1.7±0.2 <sup>c</sup>
½MS + 0.5 mg/l BA	1.9±1.0 <sup>a</sup>	0.5±0.2 <sup>bc</sup>	1.8±1.4 <sup>a</sup>	0.8±0.6 <sup>a</sup>	2.7±0.5 <sup>b</sup>	2.0±0.5 <sup>a</sup>	0.7±0.2 <sup>a</sup>	0.6±0.2 <sup>bc</sup>	2.9±0.4 <sup>a</sup>
½MS + 1 mg/l BA	1.5±0.9 <sup>a</sup>	0.4±0.2 <sup>cd</sup>	1.9±1.1 <sup>a</sup>	0.9±0.3 <sup>a</sup>	3.4±0.5 <sup>a</sup>	2.2±0.4 <sup>a</sup>	0.7±0.2 <sup>a</sup>	0.7±0.2 <sup>ab</sup>	2.6±0.4 <sup>ab</sup>
½MS + 2 mg/l BA	0.5±0.7 <sup>b</sup>	0.1±0.1 <sup>c</sup>	0.7±0.5 <sup>bc</sup>	0.2±0.2 <sup>b</sup>	2.0±0.0 <sup>c</sup>	1.4±0.5 <sup>b</sup>	0.5±0.1 <sup>b</sup>	0.5±0.1 <sup>c</sup>	1.9±0.3 <sup>c</sup>
MS	1.6±0.7 <sup>a</sup>	0.6±0.2 <sup>ab</sup>	0.2±0.4 <sup>c</sup>	0.1±0.2 <sup>b</sup>	2.0±0.7 <sup>c</sup>	2.3±0.5 <sup>a</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>	1.8±0.5 <sup>c</sup>
MS + 0.5 mg/l BA	1.7±1.0 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>d</sup>	1.5±1.4 <sup>ab</sup>	0.8±0.5 <sup>a</sup>	2.6±0.5 <sup>b</sup>	1.8±0.4 <sup>ab</sup>	0.7±0.2 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>bc</sup>	2.6±0.3 <sup>ab</sup>
MS + 1 mg/l BA	2.0±0.9 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>cd</sup>	1.3±1.0 <sup>ab</sup>	0.8±0.5 <sup>a</sup>	2.9±0.3 <sup>b</sup>	1.4±0.7 <sup>b</sup>	0.7±0.3 <sup>a</sup>	0.5±0.2 <sup>bc</sup>	2.5±0.4 <sup>b</sup>
MS + 2 mg/l BA	0.6±0.7 <sup>b</sup>	0.1±0.2 <sup>c</sup>	0.4±0.5 <sup>c</sup>	0.2±0.2 <sup>b</sup>	2.5±0.9 <sup>bc</sup>	1.8±0.6 <sup>ab</sup>	0.5±0.1 <sup>b</sup>	0.5±0.2 <sup>c</sup>	2.0±0.5 <sup>c</sup>

<sup>i/</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

เมื่อพิจารณาผลการศึกษาศูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata ทั้งสองตัวอย่าง พบว่า *A. koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 1 สามารถเพาะเลี้ยงได้ด้วยอาหาร 2 สูตรคือ ½MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ผลการเจริญเติบโตและการพัฒนาในทุกส่วนของต้นกล้วยไม้ได้เป็นอย่างดี ซึ่งหากต้องการใช้สูตรอาหารในการช่วยชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดหรือการขยายพันธุ์ด้วยส่วนข้อ สามารถเลือกใช้อาหารสูตรใดก็ได้จากทั้งสองสูตรที่กล่าวมาข้างต้น แต่หากพิจารณาต้นทุนในการผลิตสามารถลดต้นทุนสารเคมีสำหรับการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลงได้ด้วยการเพาะเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหาร ½MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรกับกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 1 เนื่องจากสามารถชักนำให้ต้นกล้วยไม้มีการเพิ่มจำนวนยอดและข้อได้จำนวนมากสำหรับใช้ในการขยายพันธุ์ต่อไปได้นอกจากนี้ อาหารสูตรนี้ยังสามารถชักนำให้ยอดกล้วยไม้เกิดรากและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ดี ส่วนผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 2 นั้น การใช้สูตรอาหาร ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้กล้วยไม้มีจำนวนยอดและการพัฒนาของขนาดยอดได้ดีกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้เป็นอย่างดี สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang et al. (2015) ซึ่งรายงานว่าการใช้อาหารสูตร ½MS ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *A. roxburghii* มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งแบบส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดินได้ค่อนข้างดี รวมถึงการใช้สูตรอาหาร ½MS มีความเหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดและการเพิ่มจำนวนยอด และเมื่อใช้ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของส่วนยอดและข้อได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sherif et al. (2012) ที่ทดลองกับกล้วยไม้สกุลเดียวกันพบว่าการใช้อาหารสูตร ½MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีการเกิดยอดใหม่ได้จำนวนมากจากการเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอด ซึ่งหากมีการใช้ BA ที่มีปริมาณความเข้มข้นมากกว่านั้นจะทำให้มีอัตราการเกิดยอดที่ลดลง นอกจากนี้ ส่วนลำต้นและใบจะมีสีอ่อนกว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่มีปริมาณ BA น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 3)



ภาพที่ 3 *A. koshunensis* Hayata เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน; ก)  $\frac{1}{2}$ MS + 1 mg/l BA และ ข)  $\frac{1}{2}$ MS + 2 mg/l BA

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 1 ด้วยอาหารกึ่งแข็งสูตร  $\frac{1}{2}$ MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *A. koshunensis* Hayata ตัวอย่างที่ 2 ด้วยอาหารสูตร  $\frac{1}{2}$ MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอด ส่งเสริมการพัฒนาด้านขนาดของยอด จำนวนข้อ การเพิ่มจำนวนรากและการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้เหมาะสมที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น

#### เอกสารอ้างอิง

- พัชรียา บุญกอกแก้ว. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชสวน. กรุงเทพฯ: สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2557.
- อบฉันท ไททอง. กล้วยไม้เมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 14. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน; 2551.
- Belitsky I., Bersenev V.N.A. Jewel Orchids. The American Orchid Society; 1999. 33-37.
- Chen Xinqi, Stephan W. Gale, Phillip J. Cribb and Paul Ormerod. 18. ANOECTOCHILUS Blume, Bijdr. 411. 1825 ["Anecoehilus"], nom. cons. Flora of China; 2009. 76-80.
- Chow, H.T., Hsieh, W.C., Chang, C.S. *In vitro* propagation of *Anoectochilus formosanus*. Journal of Science and Engineer; 1982. 155-166.
- Gangaprasad A., P. G. Latha and S. Seeni. Micropropagation of terrestrial orchids, *Anoectochilus sikkimensis* and *Anoectochilus regalis*. Indian Journal of Experimental Biology; 2000. 149-154.
- Ket N.V., Hahn E.J., Park S.Y., Chakrabarty D. and K.Y. Peak. Micropropagation of an endangered orchid *Anoectochilus formosanus*. Biologia Plantarum; 2004. 339-344.
- Murashige T. and Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. Journal of Plant Physiology; 1962. 473-497.
- San Mint Mint Daw. Preliminary study on medicinal values and phyto-chemicals of the *Anoectochilus albolineatus* Parish & Rehb.f. in Kutkai Township, Northern Shan State. (Research Paper). Forest Research Institute; 2013.
- Sherif N.A., Benjamin J.H.F., Muthukrishnan S., Kumar Senthil and Rao M.V. Regeneration of plantlets from nodal and shoot tip explants of *Anoectochilus elatus* Lindley, an endangered terrestrial orchid. African Journal of Biotechnology; 2012. 7549-7553.
- Trigiano R. N. and Gray D. J. Plant development and biotechnology. CRC Press. Florida; 2004.
- Tseng, C.C., Shang, H.F., Wang, L.F., Su, B., Hsu, C.C., Kao, H.Y., Cheng, K.T. Antitumor and immunostimulating effects of *Anoectochilus formosanus* Hayata. Phytomedicine; 2006. 366-370.



Zhang Ailian, Wang Honzhzen, Shao Qingsong, Xu Mengjie, Zhang Wangshu and Li Mingyan. Large scale *in vitro* propagation of *Anoetochilus roxburghii* for commercial application: Pharmaceutically important and ornamental plant. *Industrial crops and Products*; 2015. 158-162.