

การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดออนซีเดียมไบพาย (*Trichocentrum* sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ

Development of *in vitro* seed culture medium for *Trichocentrum* sp.

บุญสนอง ช่วยแก้ว และ วิชุกร ฤกษ์ดี

หน่วยวิจัยชีววิทยาพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี เมือง เพชรบุรี 76000

บทคัดย่อ

ออนซีเดียมไบพาย (*Trichocentrum* sp.) เป็นกล้วยไม้ที่พบได้ในเม็กซิโกและอเมริกาเขตร้อน นิยมปลูกเป็นไม้กระถาง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเมล็ดออนซีเดียมไบพาย ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดออนซีเดียมไบพายจากฝักอ่อนอายุ 9 เดือน มาเพาะบนอาหารวุ้นดัดแปลงสูตร VW (1949) เมื่อได้โปรโทคอร์มแล้ว ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นดัดแปลงสูตร VW (1949) เพื่อทดสอบผลของน้ำตาลซูโครส 2 ระดับ คือ 10 และ 20 g/L ร่วมกับการเติมกล้วยหอม (100 g/L) และ (50 g/L) ร่วมกับมันฝรั่ง (50 g/L) หรือมันฝรั่งอย่างเดียว (100 g/L) และการเติมธาตุอาหารรองสูตร MS (1962) ผลการศึกษาพบว่า อาหารที่เติมกล้วยหอมหรือกล้วยหอมผสมมันฝรั่ง ให้ผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนดีที่สุดในด้านความยาวใบ (1.92 ± 0.12 cm) ความกว้างใบ (0.53 ± 0.03 cm) จำนวนราก (12.40 ± 1.59 รากต่อต้น) และความยาวราก (3.56 ± 0.43 cm) ส่วนอาหารที่เติมมันฝรั่งอย่างเดียว ให้ผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนดีที่สุดในด้านจำนวนใบ (11.10 ± 0.71 ใบต่อต้น)

คำสำคัญ: ออนซีเดียมไบพาย การเพาะเลี้ยง สภาวะปลอดเชื้อ

Abstract

Orchid in the genus *Trichocentrum* can be found in Mexico and tropical America. Plants can be grown potted. The purpose of this study was to develop *in vitro* seed culture medium for *Trichocentrum* sp. Seeds from 9 month old immature pod were cultured on modified VW (1949) agar medium. Protocorms developed from the seeds were then transplanted to the modified VW (1949) agar medium supplemented with 10 or 20 g/L sucrose. The banana at the concentration of 100 g/L, and (50 g/L) with potato (50 g/L), potato (100 g/L) and micronutrients of MS (1962) medium were tested. Culture media supplemented with banana or banana with potato were the best for increasing leaf length (1.92 ± 0.12 cm), leaf width (0.53 ± 0.03 cm), number of roots (12.40 ± 1.59 roots per plantlet) and root length (3.56 ± 0.43 cm). Whereas culture media with potato gave the best results in the number of leaves (11.10 ± 0.71 leaves per plantlet).

Keywords: *Trichocentrum* sp., *in vitro*, seed culture



บทนำ

ออนซีเดียมไบพายเป็นกล้วยไม้ในสกุล *Trichocentrum* พบในเม็กซิโกและอเมริกาเขตร้อน มีดอกค่อนข้างใหญ่ นิยมปลูกเป็นไม้กระถาง [1] มีทั้งชนิดเกาะอาศัยต้นไม้ เกาะหิน หรือเจริญบนพื้นดิน เป็นกล้วยไม้ที่มีใบ ลำต้น และดอกขนาดใหญ่ ในประเทศไทยมีการปลูกแพร่หลายเพื่อตัดดอก [2]

การขยายพันธุ์กล้วยไม้ทำได้หลายวิธีการผลิตต้นกล้าจำนวนมาก นิยมเพาะเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอด [3] มีรายงานการศึกษาพบว่า มันฝรั่งและน้ำตาลซูโครสส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพโทคอร์มกล้วยไม้สกุลแวนด้า (*Vanda*) [4] นอกจากนี้มีรายงานการใช้ผงถ่านร่วมกับกล้วยหอมบดและมันฝรั่งบด ศึกษาการเจริญเติบโตของโพโทคอร์มกล้วยไม้กะระร่อนปากเปิด (*Cymbidium findlaysonianum*) อาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ การเติมสารบางชนิด เช่น น้ำมะพร้าว กล้วยหอมบด มันฝรั่งบด และผงถ่าน อย่างไม่อย่างหนึ่ง หรือร่วมกัน มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หลายชนิด [5] ผู้วิจัยต้องการศึกษาอาหารที่เหมาะสม ต่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนออนซีเดียมไบพายในสภาพปลอดเชื้อ โดยไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เพื่อลดต้นทุนการผลิต

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมต้นอ่อนออนซีเดียมไบพาย

เพาะเมล็ดออนซีเดียมไบพายจากฝักอ่อนอายุ 9 เดือน บนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) [6] ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 mL/L ซูโครส 20 g/L ปรับ pH 5.2 เติมน้ำ 7 g/L ผงถ่าน 1.5 g/L ึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°C 15 นาที ทำความสะอาดฝักกล้วยไม้ด้วยแอลกอฮอล์ 70% นำเข้าตู้ถ่ายเชื้อ จุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟ 2 ครั้ง ฆ่าฝักออกนำเมล็ดลงเพาะบนอาหาร เพาะเลี้ยงในห้องอุณหภูมิ 27±1°C ความสว่าง 2,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 5 เดือน

การเจริญเติบโตของต้นอ่อนออนซีเดียมไบพาย

ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นอ่อนออนซีเดียมไบพายอายุ 5 เดือน บนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 mL/L ปรับ pH 5.2 เติมน้ำ 7 g/L ผงถ่าน 1.5 g/L ร่วมกับองค์ประกอบอื่นที่ต่างกัน 12 สูตร คือ สูตรที่ 1-3 ประกอบด้วย ซูโครส 10 g/L ร่วมกับกล้วยหอม 100 g/L กล้วยหอมผสมมันฝรั่งอย่างละ 50 g/L และมันฝรั่ง 100 g/L ตามลำดับ สูตรที่ 4-6 เหมือนสูตรที่ 1-3 แต่เติมซูโครส 20 g/L ในทุกสูตร และสูตรที่ 7-12 เหมือนสูตรที่ 1-6 แต่เติมธาตุอาหารรองสูตร MS (1962) [7] ในทุกสูตร เพาะเลี้ยงต้นอ่อนออนซีเดียมไบพายสูตรละ 10 ขวด ขวดละ 5 ต้น เป็นเวลา 11 เดือน บันทึกจำนวน ความยาว และความกว้างใบ จำนวนและความยาวราก วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเจริญเติบโต วิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ผลการศึกษา

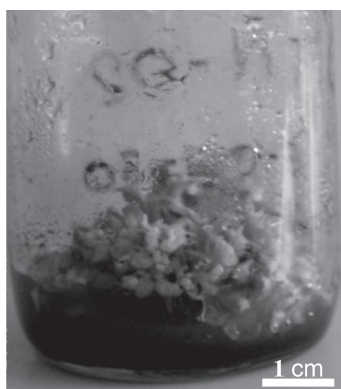


Figure 1. Plantlet development after 5 mounts.



Figure 2. Plantlets development on media 1, 2, 3 and 4 after 11 months.

การเพาะเมล็ดออนซีเดียมใบพายจากฝักอ่อนบนอาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) จนต้นอ่อนอายุ 5 เดือน พบว่า เมล็ดพัฒนาเป็นโพรโทคอร์มสีเขียว จำนวนมาก และมีบางส่วนที่พัฒนาเป็นต้นอ่อน โดยเกิดยอดและราก (Figure 1) และเมื่อศึกษาการเจริญเติบโต

ของต้นอ่อนออนซีเดียมใบพายอายุ 11 เดือน ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารต่างกัน 12 สูตร พบว่าจำนวน ความยาวและความกว้างใบ จำนวนและความยาวราก มีความแตกต่างกันในอาหารแต่ละสูตร

Table 1 Mean number of leaves per plantlet, leaf length, and leaf width of *G. speciosum* cultured on VW medium supplemented with various combinations after 11 months.

medium	mean number of leaves	leaf length (cm)	leaf width (cm)
	$\bar{x} \pm SE$	$\bar{x} \pm SE$	$\bar{x} \pm SE$
1 (10S+B)	10.00 ± 1.63 ^{ab}	0.94 ± 0.08 ^d	0.44 ± 0.04 ^d
2 (10S+B+P)	8.50 ± 0.78 ^{abc}	1.19 ± 0.10 ^b	0.35 ± 0.02 ^{bc}
3 (10S+P)	11.10 ± 0.71 ^a	1.11 ± 0.05 ^b	0.39 ± 0.03 ^b
4 (20S+B)	8.20 ± 0.83 ^{bc}	1.19 ± 0.62 ^b	0.50 ± 0.07 ^a
5 (20S+B+P)	6.60 ± 0.50 ^c	1.04 ± 0.14 ^b	0.26 ± 0.03 ^c
6 (20S+P)	8.50 ± 0.45 ^{abc}	1.25 ± 0.13 ^b	0.38 ± 0.02 ^b
7 (10S+B+MS)	6.80 ± 0.33 ^c	1.27 ± 0.07 ^b	0.31 ± 0.02 ^{bc}
8 (10S+B+P+MS)	10.10 ± 0.85 ^{ab}	1.52 ± 0.17 ^b	0.38 ± 0.03 ^b
9 (10S+P+MS)	9.30 ± 1.06 ^{abc}	1.49 ± 0.08 ^b	0.32 ± 0.03 ^{bc}
10 (20S+B+MS)	8.90 ± 0.72 ^{abc}	1.79 ± 0.11 ^a	0.52 ± 0.04 ^a
11 (20S+B+P+MS)	10.10 ± 1.16 ^{ab}	1.92 ± 0.12 ^a	0.53 ± 0.03 ^a
12 (20S+P+Ms)	6.50 ± 0.43 ^c	0.93 ± 0.19 ^b	0.36 ± 0.02 ^b

Mean value in each column followed by different superscript differs significantly by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$)

ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 3 มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 11.10 ± 0.71 ใบ รองลงมาคือสูตรที่ 11 มีจำนวนใบเฉลี่ย 10.10 ± 1.16 ใบ และสูตรที่ 8 มีจำนวนใบเฉลี่ย 10.10 ± 0.85 ใบ จำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุดคือสูตรที่ 12 มี 6.50 ± 0.43 ใบ ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 3 มีจำนวนใบเฉลี่ยมากกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (Table 1, Figure 2 3 และ 4)

ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 11 มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด 1.92 ± 0.12 cm รองลงมาคือสูตรที่ 10 มีความยาวใบเฉลี่ย 1.79 ± 0.11 cm ความยาวใบเฉลี่ยน้อยที่สุดคือสูตรที่ 12 มี 0.93 ± 0.19 cm ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 11 และ 10 มีความยาวใบเฉลี่ยมากกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (Table 1, Figure 4)

ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบน

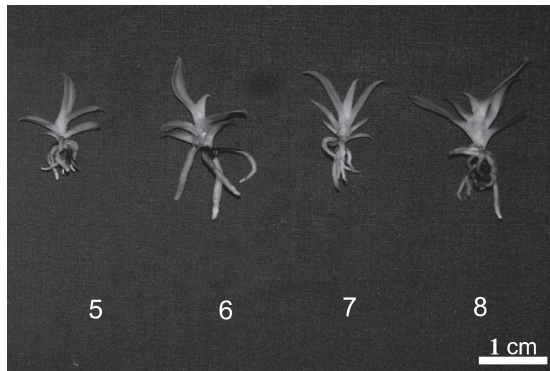


Figure 3. Plantlets development on media 5, 6, 7 and 8 after 11 months.

อาหารสูตรที่ 11 มีความกว้างใบเฉลี่ยมากที่สุด 0.53 ± 0.03 cm รองลงมาคือสูตรที่ 10 มีความกว้างใบเฉลี่ย 0.52 ± 0.04 cm และสูตรที่ 4 มีความกว้างใบเฉลี่ย 0.50 ± 0.07 cm ความกว้างใบเฉลี่ยน้อยที่สุดคือสูตรที่ 5 มี 0.26 ± 0.03 cm ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 11 10 และ 4 มีความกว้างใบเฉลี่ยมากกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (Table 1, Figure 2 3 และ 4)

ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 10 มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 12.40 ± 1.59 ราก รองลงมาคือสูตรที่ 11 มี 11.70 ± 0.67 ราก จำนวนรากน้อยที่สุดคือสูตรที่ 12 มี 4.60 ± 0.52 ราก ต้นอ่อนออนอนซีเดียมใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 10 และ 11 มีจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (Table 2, Figure 2, 3 และ 4)



Figure 4. Plantlets development on media 9, 10, 11 and 12 after 11 months.

Table 2 Mean number of roots per plantlet, and root length of *G. speciosum* cultured on VW medium supplemented with various combinations after 11 months.

medium	mean number of roots	root length (cm)
	$\bar{x} \pm SE$	$\bar{x} \pm SE$
1 (10S+B)	8.70 \pm 0.85 ^b	1.65 \pm 0.23 ^d
2 (10S+B+P)	6.00 \pm 0.54 ^b	1.66 \pm 0.32 ^{cd}
3 (10S+P)	6.00 \pm 0.58 ^b	1.35 \pm 0.19 ^d
4 (20S+B)	7.40 \pm 1.16 ^b	2.79 \pm 0.54 ^b
5 (20S+B+P)	4.80 \pm 0.55 ^b	0.93 \pm 0.13 ^d
6 (20S+P)	10.30 \pm 0.88 ^{ab}	1.94 \pm 0.19 ^{cd}
7 (10S+B+MS)	6.20 \pm 0.59 ^b	1.34 \pm 0.14 ^d
8 (10S+B+P+MS)	8.60 \pm 0.65 ^b	1.85 \pm 0.21 ^{cd}
9 (10S+P+MS)	7.00 \pm 1.57 ^b	1.27 \pm 1.15 ^d
10 (20S+B+MS)	12.40 \pm 1.59 ^a	2.54 \pm 0.29 ^{bc}
11 (20S+B+P+MS)	11.70 \pm 0.67 ^a	3.56 \pm 0.43 ^a
12 (20S+P+MS)	4.60 \pm 0.52 ^b	1.28 \pm 0.15 ^d

Mean value in each column followed by different superscript differs significantly by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$)

ต้นอ่อนออนนซีเดียวมีใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 11 มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดคือ 3.56 ± 0.43 cm รองลงมาคือสูตรที่ 4 มีความยาวรากเฉลี่ย 2.79 ± 0.54 cm ความยาวรากเฉลี่ยน้อยที่สุดคือสูตรที่ 5 มี 0.93 ± 0.13 cm ต้นอ่อนออนนซีเดียวมีใบพายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ 11 มีความยาวรากต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (Table 2, Figure 2 3 และ 4)

การเจริญเติบโตของต้นอ่อนออนนซีเดียวมีใบพาย พบว่าอาหารที่เติมกลิ่นหอมอย่างเดียวหรือกลิ่นหอมผสมมันฝรั่ง ให้ผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนดีที่สุดในด้านความยาวใบ (สูตรที่ 11 คือ 1.92 ± 0.12 cm) ความกว้างใบ (สูตรที่ 11 คือ 0.53 ± 0.03 cm) จำนวนราก (สูตรที่ 10 คือ 12.40 ± 1.59 รากต่อต้น) และความยาวราก (สูตรที่ 11 คือ 3.56 ± 0.43 cm) ส่วนอาหารที่เติมมันฝรั่งอย่างเดียว ให้ผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนดีที่สุด ในด้านจำนวนใบ (สูตรที่ 3 คือ 11.10 ± 0.71 ใบต่อต้น)

อภิปรายผล

ต้นอ่อนออนนซีเดียวมีใบพายเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่เติมกลิ่นหอมหรือกลิ่นหอมผสมมันฝรั่ง สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อนออนนซีเดียวมีใบพายที่มากที่สุดคืออาหารดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมซูโครส 20 g/L ร่วมกับกลิ่นหอมผสมมันฝรั่งอย่างละ 50 g/L เติมน้ำตาล 1.5 g/L และเติมธาตุอาหารรองสูตร MS (1962) เพราะให้จำนวนใบ ความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวรากที่ดี แม้จะเป็นสูตรที่ไม่ให้ความยาวใบสูงสุด งานวิจัยนี้สอดคล้องกับการศึกษาในกล้วยไม้กะเหรี่ยงร่อนปากเปิด (*Cymbidium findlaysonianum*) [5] ที่พบว่ากลิ่นหอมผสมมันฝรั่งร่วมกับผงถ่านส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพทโคธรมกล้วยไม้กะเหรี่ยงร่อนปากเปิดให้เกิดต้นอ่อนได้สูงสุด

มีรายงานการใช้น้ำต้มมันฝรั่งในอาหารที่ใช้ขยายพันธุ์กล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำ ด้วยการเพาะเมล็ด ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเมล็ดเข็มขาวและ



เอื้องคำเกิดเป็นโพเทโคธรมได้ดี [8] นอกจากนี้มี การศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* เปรียบเทียบการใช้ น้ำตาลซูโครสร่วมกับกล้วยหอมบด และผงถ่าน พบว่า น้ำตาลและผงถ่านมีผลต่อการงอก ของเมล็ด และการเจริญเติบโตเป็นโพเทโคธรม โดย น้ำตาลซูโครส 10 g/L และไมใส่ผงถ่านให้การเจริญ เติบโตสูงสุด เมื่อย้ายโพเทโคธรมลงบนอาหารสูตรเดิม พบว่าอาหารที่ใส่ผงถ่าน มีผลให้โพเทโคธรมเจริญเติบโต เป็นต้นกล้าได้ดี อาหารที่เติมน้ำตาล 10 g/L ร่วมกับ ผงถ่านให้การเจริญเติบโตสูงสุด [9] สอดคล้องกับ งานวิจัยสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน ออนซิเดียมไบพายนี้ที่พบว่า น้ำตาล 20 g/L และ ผงถ่านร่วมกับกล้วยหอมอย่างเดี่ยว หรือกล้วยหอม ผสมมันฝรั่ง ให้การเจริญเติบโตต้นอ่อนออนซิเดียม ไบพายดีที่สุด

การศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญ เติบโตของต้นอ่อนออนซิเดียมไบพายที่เพาะเลี้ยงบน อาหาร 12 สูตร สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ เติบโตของต้นอ่อนออนซิเดียมไบพายที่ดีที่สุดคืออาหาร ดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมซูโครส 20 g/L ร่วมกับ กล้วยหอมผสมมันฝรั่งอย่างละ 50 g/L เติมผงถ่าน 1.5 g/L และเติมธาตุอาหารรองสูตร MS (1962)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากสำนักงาน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

เอกสารอ้างอิง

1. Croix, I.L. 2008. *The New Encyclopedia of Orchids: 1500 Species in Cultivation*. Timber Press: Portland.

2. ปฐพีชล วายุอัคคี. 2547. *คู่มือกล้วยไม้*. กรุงเทพมหานคร :เพ็ท-แพล้น พับลิชชิ่ง.
3. ครรชิต ธรรมศิริ. 2550. *เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้, ปรับปรุงครั้งที่ 2*. กรุงเทพมหานคร: อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง.
4. Wasixsiri, W., P. Limpanavech and M.Vajrabhaya. 2003. Modified media for growth and differentiation of Vanda protocorm in vitro. In *The 29th Congress on Science and Technology of Thailand*. Khon Kean: Khon Kean University.
5. Tawaro, S., P. Suraninpong and S. Chanprame. 2008. Germination and regeneration of *Cymbidium findlaysonianum* Lindl. on a medium supplemented with some organic sources. *Walailak J. Sci. & Tech.* 5: 125-135.
6. Vacin, E.F. and F.W. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Bot. Gaz.* 110: 605-613.
7. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15: 473-497.
8. วริศา พิลลาโฮม และ สุมณฑิพย์ บุญนาค. 2548. การขยายพันธุ์กล้วยไม้เข็มขาวและเอื้องคำด้วยการเพาะเมล็ด ในสภาพปลอดเชื้อ. *ว. วิจัย มช. (บศ.)*. 5 (พิเศษ): 36-45.
9. จุฑามาต ศรีสำราญ จิตราพรพรณ พิสิฎ ธีญญะ เตชะศีลพิทักษ์ และ สุรียา ตันติวิวัฒน์. 2548. การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอบซิสในสภาพปลอดเชื้อ. *ว. วิทย. กษ.* 36: 677-680.