ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในหลอดทดลอง

Effect of Chitosan on *In Vitro* Growth and Development of *Dendrobium formosum* Roxb.

สมพร ประเสริฐส่งสกุล[1*] *และ หาพิส ปุโรง*[1]

บทคัดย่อ

นำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb.) มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) ในสภาพอาหารแข็งและอาหารเหลวที่เติมไคโตซานทางการค้า หรือไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก ความเข้มข้น 5 10 20 40 และ 60 ppm สภาวะการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความสว่างของแสง 2000 ลักซ์ ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ในอาหารแข็งที่มีความเข้มข้นของไคโตซานทางการค้าที่ระดับ 5 20 40 และ 60 ppm หรือไคโตซานจากแกนหมึกความเข้มข้น 10 ppm ช่วยส่งเสริมการเติบโตด้านน้ำหนักสด เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมไคโตซาน และความเข้มข้นของไคโตซานจากแกนหมึก 5-40 ppm ส่งเสริมจำนวนราก สำหรับด้านความสูง จำนวนใบ จำนวนหน่อ เมื่อได้รับไคโตซานทางการค้าให้ผลใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก ส่วนการเลี้ยงในอาหารเหลวไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่ำให้การเจริญเติบโตดี

ABSTRACT

Dendrobium formosum seedlings were cultured on solid and liquid VW (Vacin and Went, 1949) media supplemented with commercial chitosan or chitosan from cuttlebone at various concentrations (5, 10, 20, 40 and 60 ppm). The cultures were incubated at 25±2 °C under cool white-fluorescent light at 2000 lux for 16 hours and maintained for 3 months. The results showed that VW solid medium supplemented with 5, 20, 40 and 60 ppm of commercial chitosan or 10 ppm of chitosan from cuttlebone could enhance growth on a fresh weight basis compared to the control without chitosan. Chitosan from cuttlebone at concentrations of 5-40 ppm promoted the number of roots. The shoot length, number of leaves and number of shoots

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี, ประเทศไทย 94000

*Corresponding Author, E-mail: psomporn@bunga.pn.psu.ac.th

of the seedling treated with commercial chitosan were not significantly different from those treated with chitosan from cuttlebone. Culture in liquid medium supplemented with low concentration of chitosan enhanced seedling growth.

คำสำคัญ: ไคโตซาน กล้วยไม้เอื้องเงินหลวง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
Keywords: Chitosan, *Dendrobium formosum* Roxb., Plant tissue culture

บทนำ

กล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (*Dendrobium formosum* Roxb.) จัดเป็นกล้วยไม้ป่าที่มีความสวยงามและหายาก มีใบรูปรีแกมขอบขนาน ช่อดอกแบบกระจะออกที่ปลายกิ่ง มี 2-5 ดอก ดอกกว้าง 5-6 เซนติเมตร สีขาว กลีบเลี้ยงรูปหอก ปลายกลีบแหลม กลีบดอกรูปไข่กว้าง ปลายกลีบมน กลีบปากรูปไต โคนกลีบถึงกลางกลีบสีเหลืองปลายกลีบหยักเว้า ดอกมีกลิ่นหอม ออกดอกช่วงเดือนกันยายนถึงพฤษภาคม แหล่งที่พบในประเทศไทย ได้แก่ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน น่าน พิษณุโลก เลย และสงขลา (สลิลและนฤมล, 2545) ปัจจุบันกล้วยไม้เป็นที่ต้องการของตลาด เนื่องจากมีสีสันสวยงาม จึงได้มีการลักลอบนำกล้วยไม้ออกมาขาย ดังนั้นปริมาณกล้วยไม้ในป่าในธรรมชาติจึงมีแนวโน้มลดลงซึ่งอาจสูญพันธุ์ ได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้เพิ่มปริมาณกล้วยไม้นอกเหนือจากการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติ

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า มีการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลต่าง ๆ เช่น ในสกุลหวาย (Zhao et al., 2007; Jala and Balla., 2011) และมีการเติมสารเติมแต่ง เช่น น้ำมะพร้าว กล้วย มันฝรั่ง ลงไปในอาหารเพื่อให้พืชมีการเจริญเติบโตดีขึ้น (Arditti and Emst, 1993) นอกจากนี้มีรายงานการใช้ไคโตซานในการกระตุ้นการพัฒนาของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองใน *Dendrobium* Eiskul, *D. bigibbum* var. *compactum, D. formosum* และ *Phalaennopsis cornucervi* (Breda) Blume & Rchb.f (Limpanavech et al., 2003; Nge et al., 2006; Pornpienpakdee et al., 2010; Kananont et al. 2010; Prasertsongskun and Chaipakdee, 2011) ซึ่งไคโตซาน คือ อนุพันธ์ของไคตินที่กำจัดหมู่อะซีติลของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ตั้งแต่ร้อยละ 50 ขึ้นไป ไคโตซานนำมาใช้อย่างกว้างขวางทางด้าน ต่าง ๆ เพราะไคโตซานไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ (Dutta et al., 2004) ดังนั้นจึงศึกษาผลของไคโตซานระดับ ที่เหมาะสมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงเพื่อการขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนมากต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างพืช

นำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงที่ได้จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร VW (Vacin and Went, 1949) อายุ 10 เดือน มาวางเลี้ยงบนอาหาร VW ใหม่เป็นเวลา 1 เดือน เพื่อปรับสภาพของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวง ก่อนเริ่มดำเนินการทดลอง

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในอาหารแข็ง

นำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงที่ปรับสภาพแล้วเป็นเวลา 1 เดือน ที่มีขนาดเท่า ๆ กัน โดยมีความสูงประมาณ 5 มิลลิเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ที่ไม่เติมไคโตซาน เพื่อใช้เป็นชุดควบคุม

(control) และที่เติมไคโตซานทางการค้า (2-Amino-2-deoxy-(1-4)-β-D-glucopyranan) จากบริษัท Fluka และไคโตซานที่เตรียมจากแกนหมึกที่ได้จากการเตรียมโดยจิรศักดิ์ (2550) ซึ่งมีร้อยละการกำจัดหมู่อะซีติลเท่ากับ 56 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 5 10 20 40 และ 60 ppm วางเลี้ยงบนชั้นวางเลี้ยงที่มีความสว่างของแสง 2000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกผลการเจริญเติบโตหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน โดยวัดความสูงของต้น (มิลลิเมตร/ต้น) ชั่งน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) นับจำนวนใบ (ใบ/ต้น) จำนวนราก (ราก/ต้น) จำนวนหน่อ (หน่อ/ต้น) และสังเกตลักษณะทางกายภาพโดยใช้ 20 ตัวอย่างต่อการทดลอง

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในอาหารเหลว

นำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงที่ปรับสภาพแล้วเป็นเวลา 1 เดือน ที่มีขนาดเท่า ๆ กัน โดยมีน้ำหนัก 0.2 กรัม ใส่ลงไปในอาหารเหลว VW ที่ไม่เติมไคโตซาน เพื่อใช้เป็นชุดควบคุม (control) และที่เติมไคโตซานจากบริษัท Fluka และจากแกนหมึกที่ได้จากการเตรียมโดยจิรศักดิ์ (2550) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 5 10 20 40 และ 60 ppm นำไปวางเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 110 รอบต่อนาที ในห้องวางเลี้ยงที่มีความสว่างของแสง 2000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกผลการเจริญเติบโต โดยการชั่งน้ำหนักสด (กรัม) ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการวิจัย

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในอาหารแข็ง

จากการนำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวง มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง โดยใช้ไคโตซานจากบริษัท Fluka และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก ที่ระดับความเข้มข้น 5 10 20 40 และ 60 ppm และที่ไม่เติมไคโตซานในอาหารสูตร VW เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าการเติมไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ มีผลต่อการเจริญเติบโต ด้านความสูง น้ำหนักสด จำนวนใบ จำนวนราก และจำนวนหน่อ (ตารางที่ 1) โดยน้ำหนักสดของกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงที่เลี้ยงบนอาหาร VW ที่เติมไคโตซานจากบริษัท Fluka ที่ระดับ 5 20 40 และ 60 ppm และที่เติมไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก 10 ppm ให้น้ำหนักสดสูงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมไคโตซาน และความเข้มข้นของไคโตซานจากแกนหมึก 5-40 ppm ส่งเสริมการเกิดราก ซึ่งน้ำหนักสดและจำนวนรากให้ผลต่างจากชุด ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความสูง จำนวนใบ และจำนวนหน่อของต้นกล้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไคโตซานจากบริษัท Fluka ที่ระดับ 5-60 ppm มีค่าสูงกว่าชุดควบคุมแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ และความสูง จำนวนใบ จำนวนหน่อบนอาหารที่เติมไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก ระดับ 5 10 40 ppm ตอบสนองสูงกว่าชุดควบคุม ยกเว้นที่ระดับ 20 และ 60 ppm ทำให้จำนวนใบและจำนวนหน่อมีแนวโน้มที่ต่ำกว่าชุดควบคุม ลักษณะของต้นกล้าที่เลี้ยงบนอาหารที่เติมไคโตซานจากบริษัท Fluka และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก ใบมีสีเขียวอ่อน ขนาดเล็ก (รูปที่ 1 และ 2)

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงในอาหารเหลว

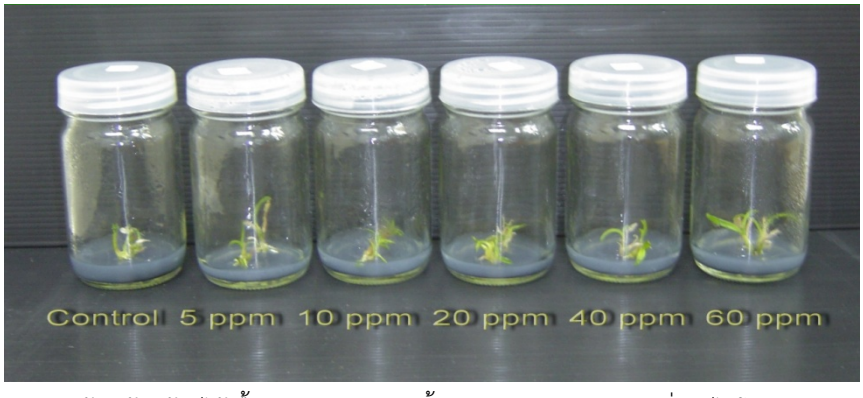
เมื่อนำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวง มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว โดยใช้ไคโตซานจากบริษัท Fluka

และที่แยกได้จากแกนหมึก ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน (รูปที่ 3) จะเห็นได้ว่าไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกที่ระดับความ เข้มข้น 5 ppm ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.65 กรัม ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10 20 40 และ 60 ppm มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.63 0.53 0.51 และ 0.56 กรัม ตามลำดับ และไคโตซานจากบริษัท Fluka ที่ระดับ 5 10 20 40 และ 60 ppm ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยต่ำกว่าเมื่อใช้ไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกทุกระดับความเข้มข้น

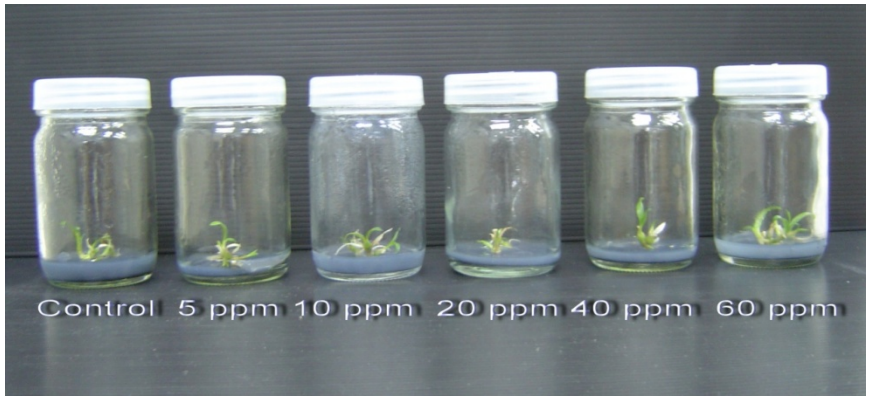
ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น โดยใช้ไคโตซานจากบริษัท Fluka และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในสูตรอาหาร VW เป็นเวลา 3 เดือน

สูตรอาหาร VW ที่เติมไคโตซาน (ppm)	ความสูง (มม./ต้น)	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	จำนวนราก (ราก/ต้น)	จำนวนหน่อ (หน่อ/ต้น)
ชุดควบคุม	8.03	0.07^{cd}	1.75	1.25^{c}	0.88
Fluka 5	12.04	0.13^{ab}	2.25	3.75^{b}	1.13
Fluka 10	11.10	0.10^{abcd}	4.25	3.25^{b}	1.13
Fluka 20	10.19	0.12^{ab}	4.00	3.75^{b}	1.38
Fluka 40	11.22	0.14^{a}	3.88	5.63^{ab}	1.75
Fluka 60	9.96	0.14^{a}	4.50	7.25^{a}	1.25
แกนหมึก 5	8.98	0.07^{d}	2.75	4.38^{b}	1.25
แกนหมึก 10	10.64	0.13^{ab}	2.63	4.00^{b}	1.13
แกนหมึก 20	8.31	0.08^{cd}	1.50	4.63^{b}	0.38
แกนหมึก 40	10.99	0.12^{abc}	3.38	4.88^{b}	1.00
แกนหมึก 60	8.22	0.08^{bcd}	1.25	3.13^{bc}	0.75
F-test	ns	**	ns	**	ns
%CV	20.64	26.47	56.49	36.19	67.93

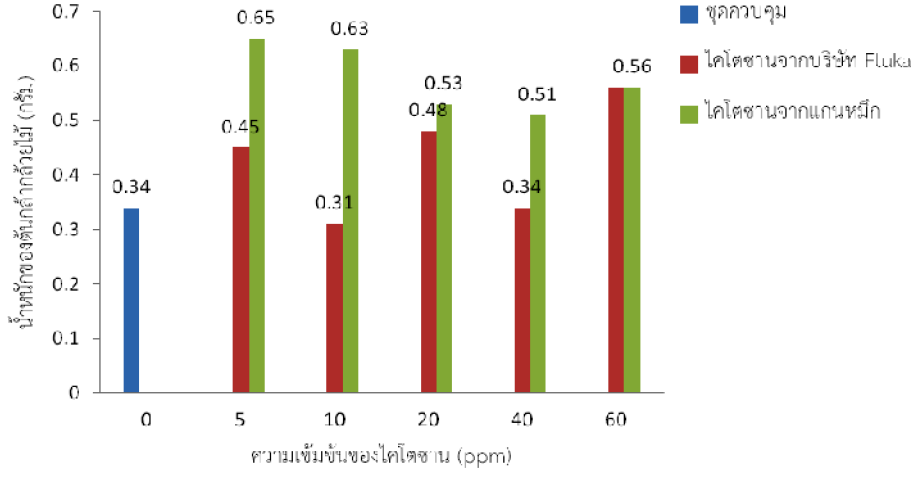
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, ** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)



รูปที่ 1 ลักษณะของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวง วางเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมไคโตซานจากบริษัท Fluka ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน



รูปที่ 2 ลักษณะของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวง วางเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน



รูปที่ 3 การเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว VW ที่เติมไคโตซานจากบริษัท Fluka และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 1 เดือน

วิจารณ์ผลการวิจัย

ไคโตซานทุกระดับความเข้มข้นสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงได้ เนื่องจากไคโตซานมีสมบัติในการออกฤทธิ์เป็นตัวกระตุ้น (elicitor) ต่อพืช ทำให้สามารถกระตุ้นระบบป้องกันหรือช่วยเสริมสร้างระบบภูมิต้านทานในพืช โดยกระตุ้นยีนสร้างภูมิคุ้มกันต่อการเกิดโรคในพืช ได้แก่ ARnase β-glucanase phytoalexines lingnins และยีนบางยีนที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของพืช ไคโตซานจึงช่วยให้พืชเจริญเติบโตและมีการพัฒนารวมทั้งต้านทานต่อโรคพืช (สุวลี, 2543; Dzung, 2006) เนื่องจากไคโตซาน คือ ไคตินในรูปที่มีปริมาณหมู่อะซีติลต่ำที่เกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล (deacetylation) ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างทางเคมีของไคตินเปลี่ยนไป โดยหมู่อะซีตามิโด ($-NHCOCH_3$) เปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ดังนั้น ไคโตซาน คือ พอลิเมอร์ของ D-glucosamine (2-amino-2-deoxy-glucose) และไคโตซานเป็นพอลิอิเล็กโตรไลท์ประเภทบวก (cationic polyelectrolyte) เนื่องจากในสารละลาย

กรดอะมิโนในสายโซ่โมเลกุลจะรับโปรตอน แล้วอยู่ในรูป $-NH_3^+$ conformation ของไคโตซาน โมเลกุลในสารละลายสามารถไปจับกับกลุ่มประจุลบบน ผนังเซลล์ของแบคทีเรียมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบ โตของจุลินทรีย์ได้ (Hirano, 1999) Kleangkeo et al. (2003) ได้ศึกษาพบว่าการใช้สารไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 0 2.5 5 10 20 และ 40 ppm สามารถกระตุ้นให้ต้นกล้วยไม้งอกราก เกิดใบใหม่ และกระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านความกว้างและ ความยาวของใบ จากการเลี้ยงต้นกล้ากล้วยไม้เอื้อง เงินหลวงนี้ในอาหารแข็งโดยใช้ความเข้มข้นของ ไคโตซานจากบริษัท Fluka และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกที่ระดับต่าง ๆ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ของต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงได้ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และไคโตซานจากบริษัท Fluka ให้ผลดีกว่าไคโตซานจากแกนหมึก โดยเฉพาะด้านน้ำหนักสดและจำนวนราก แต่ไม่มีผลต่อการเติบโตในด้านความสูง จำนวนใบ และจำนวนหน่อ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าไคโตซานจากบริษัท Fluka สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีกว่าอย่างไรก็ตามไม่สามารถเปรียบเทียบในระดับความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ที่เท่ากันแต่ทำให้ทราบว่าไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกมีประสิทธิภาพ สามารถช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีเช่นเดียวกับไคโตซานมาตรฐานที่ผลิตจากบริษัท เมื่อนำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงมาวางเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมไคโตซานจากบริษัท Fluka และไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก พบว่าอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่ง Pornpienpakdee et al. (2006) ศึกษาการเลี้ยง protocorm-like bodies ของกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอียสกุล' ในอาหารเหลวสูตร VW ดัดแปรที่เติมไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 20 40 80 และ 160 ppm พบว่าไคโตซานความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 10 และ 20 ppm ส่วนที่ความเข้มข้น 160 ppm มีผลทำให้เนื้อเยื่อชีดขาวและเซลล์ตาย ส่วนที่ความเข้มข้น 80 ppm มีผลการยับยั้งการเติบโตของ protocorm-like bodies เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ให้ไคโตซาน Nge et al. (2006) รายงานการใช้ไคโตซานที่เตรียมได้จากกุ้งและเห็ดราที่ ขนาดและความเข้มข้นต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโต ของกล้วยไม้ *D. phalaenopsis* ในอาหารแข็งและอาหารเหลว พบว่าการเจริญของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญ ไปเป็น protocorm-like bodies ในอาหารเหลวที่มีไคโตซานโอลิโกเมอร์อยู่จะกระตุ้นให้เพิ่มขึ้นเป็น 15 เท่า และความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 15 มิลลิกรัม/ลิตร โอลิโกเมอร์จากเปลือกกุ้งขนาด 1 กิโลดาลตัน มีผลดีกว่าเล็กน้อยเมื่อเทียบกับไคโตซานจากเปลือกกุ้ง ขนาด 10 กิโลดาลตัน และมีผลเป็นสี่เท่าเมื่อเทียบกับไคโตซานจากเปลือกกุ้งขนาด 100 กิโลดาลตัน ส่วนไคโตซานจากเห็ดรามีผลดีกว่าเมื่อเทียบกับโอลิโกเมอร์จากเปลือกกุ้งขนาด 1 กิโลดาลตัน นอกจากนี้มีการนำไคโตซานมาใช้กับการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มของ กล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อน (*Phalaenopsis cornucervi* (Breda) Blume & Rchb.f.) โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมไคโตซานที่เตรียมได้จากแกนหมึกความเข้มข้น 5 10 15 20 และ 25 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ไคโตซานทุกระดับความเข้มข้นกระตุ้นการเพิ่มปริมาณของโพรโทคอร์มเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไคโตซาน เมื่อนำโพรโทคอร์มมาเพาะเลี้ยงใน อาหารแข็ง พบว่า ไคโตซานกระตุ้นการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Prasertsongskun and Chaipakdee, 2011) จะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพอาหารเหลว ช่วยส่งเสริมการเติบโตของโพรโทคอร์มได้ดีกว่าในสภาพอาหารแข็ง เป็นเพราะในสภาพอาหารเหลวเนื้อเยื่อพืชสามารถสัมผัสกับอาหารได้ดีกว่าอาหารแข็ง

จึงมีการนำสารอาหารไปใช้ได้ดี ทำให้การเติบโตดีกว่า (Mbiyu et al., 2012) Bookerd et al. (1996) รายงานว่าโครงสร้างของไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ จึงสามารถปลดปล่อยออกมาเพื่อให้พืชใช้ ทั้งนี้ความเข้มข้นของไคโตซานต้องเหมาะสมหากมากหรือน้อยไปส่งผลให้เกิดปริมาณไนโตรเจนที่ไม่พอดีกับที่พืชนำไปใช้ได้ ทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโต ดังนั้นการเติมไคโตซานลงไปในอาหารแข็งและอาหาร เหลว จึงส่งผลให้การพัฒนาของกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงมีการเจริญเติบโตดีกว่าเมื่อเทียบกับที่ไม่เติมไคโตซาน

สรุปผลการวิจัย

ต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวง เมื่อเลี้ยงบนแข็งอาหารที่เติมไคโตซานทางการค้า ความเข้มข้น 5 20 40 และ 60 ppm ส่งเสริมการเติบโตด้านน้ำหนักสด สำหรับไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกความเข้มข้น 10 ppm ช่วยส่งเสริมการเติบโตด้านน้ำหนักสด เมื่อเทียบกับที่ไม่มีการเติมไคโตซาน สำหรับการเติบโตของรากไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึก ความเข้มข้น 5-40 ppm ส่งเสริมจำนวนราก ส่วนด้านความสูง จำนวนใบ และจำนวนหน่อ เมื่อได้รับไคโตซานทางการค้าให้ผลใกล้เคียงและไม่แตกต่างทางสถิติกับ ไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกและที่ไม่ได้รับไคโตซาน ดังนั้นไคโตซานไม่มีผลต่อการเติบโตในด้านความสูง จำนวนใบ และจำนวนหน่อ เมื่อนำต้นกล้ากล้วยไม้เอื้องเงินหลวงเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมไคโตซานที่แยกได้จากแกนหมึกทุกระดับความเข้มข้น จะให้น้ำหนักสดเฉลี่ยสูงกว่าการใช้ไคโตซานทางการค้า อย่างไรก็ตาม การนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้องคำนึงถึงร้อยละของการกำจัดหมู่อะซีติล ขนาดโมเลกุลของไคโตซานและปริมาณที่เหมาะสมในการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เอกสารอ้างอิง

จิรศักดิ์ คงกูล. (2550). ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเขากวางอ่อน. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี สาขาเคมี-ชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. 38 หน้า.

สลิล สิทธิสัจจธรรม และนฤมล กฤษณชาญดี. (2545). คู่มือกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์สารคดี. 248 หน้า.

สุวลี จันทร์กระจ่าง. (2543). การใช้ไคติน-ไคโตซานในประเทศไทย. สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย. ปทุมธานี 5 หน้า.

Arditti, J. and Ernst, R. (1993). Micropropagation of Orchids. New York: John Willey & Sons, Inc.

Boonkerd, N., Chandrkrachang, S. and Stevens, W.F. (1996). Effect of chitin on nodulation N_2 fixation rhizobia-soybean symbiosis, chitin and chitosan. In: Proceedings of the 2nd Asia Pacific Symposium 21-33 November 1996, Bangkok, Thailand 183-187.

Dutta, P.K., Dutta, E.T., Grandmaison, E.W. and Goosen, M.F.A. (2004). Chitin and chitosan: chemistry, properties and applications. J. Sci & Industrial Res. 63: 20-31.

Dzung, N.A. (2010). Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and their Derivative Biological Activities and Applications. Edited by Se-Kwon Kim. CRC Press. pp. 619-620.

Hirano, S. (1999). Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. Polym Int. 48: 732-734.

Jala, A. and Balla, N. (2011). Trimming protocorms for multiplication new protocorm of *Dendrobium formosum* Roxb. Sci. Technol. RMUTT J. 1(1): 29-38.

Kananont, N., Pichyangkura, R., Chanprame, S., Chadchawan, S. and Limpanavech, P. (2010). Chitosan specificity for the *in vitro* seed germination of two *Dendrobium* orchid (Asparagales. Orchidaceae). Sci. Hortic. 124:

239-247.

Kleangkeo, C., Chankrajang, S. and Sawetsila, P. (2003). A study on the influences of chitosan upon the transplanting on growth of *Paphiopedilum bellatulum* x PAPH. angthong derived from tissue culture. In: The national-chitin-chitosan conference 17-18 July 2003, Chulalongkorn University Bangkok, Thailand. 65-68.

Limpanavech, P., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A. and Akaraeakpanya, T. (2003). The effects of polymer type, concentration and %DD of biocatalyte modified chitosan on floral production of *Dendrobium* 'Eiskul'. In: The national-chitin-chitosan conference 17-18 July 2003, Chulalongkorn University Bangkok, Thailand. 60-64.

Mbiyu, M. Muthoni, J., Kabira, J., Muchira, C, Pwaipwai, P. Ngaruiya, J., Onditi, J. and Otieno, S. (2012). Comparing liquid and solid media on the growth of plantlets from three Kenyan potato cultivars. American J. Exp. Agricult. 2(1): 81-89.

Nge, K.L., New, N., Chandrkrachang, S. and Stevens, W.F. (2006). Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Sci. 170: 1185-1190.

Pornpienpakdee, P., Pichyangkura, R., Chadchawan, S. and Limpanavech, P. (2006). Chitosan effects on *Dendrobium* 'Eiskul' protocorm-like body production. In: 31st Congress on Science and Technology of Thailand 18-20 October 2006, Suranaree University of Technology, Thailand. 1-3.

Pornpienpakdee, P., Singhasurasak, R., Chaiyasap, P., Pichyangkura, R., Bunjongrat R., Chadchawan, S. and Limpanavech, P. (2010). Improving the micropropagation efficiency of hybrid *Dendrobium* orchids with chitosan. Sci. Hortic. 124: 490-499.

Prasertsongskun, S. and Chaipakdee, W. (2011). Effect of chitosan on growth and development of *Phalaenopsis cornucervi* (Breda) Blume & Rchb.f. KKU. Sci. J. 39(1): 113-119.

Vacin, E. and Went, F. (1949). Some pH change in nutrient solution. Botan. Gaz., 110: 605-613.

Zhao, P., Wang, W, Feng, F.-S., Wu, F. Yang, Z.-Q. and Wang, W.-J. (2007). High-frequency shoot regeneration though transverse thin cell layer culture in *Dendrobium candidum* Wall EX Lindl. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 90: 131-139.

❑❑❑❑❑