

ผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ

รัตนาภรณ์ จองไพจิตรสกุล

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร กำแพงเพชร

e-mail : chongphaichitsakul@msn.com

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการชักนำขึ้นส่วนต้นอ่อนให้เกิดเป็นยอดใหม่จำนวนมาก โดยนำต้นอ่อนเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งตัดแปลงสูตร Vacin และ Went (VW) ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินชนิดต่าง ๆ ได้แก่ 6-Benzylaminopurine (BA) Kinetin และ Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงครบระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า การเพิ่มระดับความเข้มข้นของไซโตไคนินทั้งสามชนิดนั้น มีแนวโน้มให้เกิดต้นใหม่และชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มมากขึ้นแต่ส่งผลยับยั้งการการเจริญของราก การยืดยาวออกของรากและยอดใหม่ให้ลดลงอีกด้วย โดยขึ้นส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติม Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุดถึง 11.1 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้นและอาหารกึ่งแข็ง VW ที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุด 6.9 ราก

คำสำคัญ : เอื้องผึ้ง ไซโตไคนิน การเพิ่มปริมาณต้น

Effect of cytokinins on *in vitro* shoot multiplication of *Dendrobium lindleyi* Steudel

Rattanaporn Chongphaichitsakul

Faculty of Science and Technology, Kamphaengphet Rajabhat University,

Kamphaengphet, Thailand

e-mail : chongphaichitsakul@msn.com

Abstract

Effects of plant growth regulator, cytokinin, on shoot multiplication of *Dendrobium lindleyi* Steudel were studied. *In vitro* shoots were cultured on modified Vacin and Went medium supplemented with BA, Kinetin and TDZ at 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg.l⁻¹ for 12 weeks. The results showed that the highest number of shoots (11.1 shoots) was obtained when cultured on modified VW (1949) with 2.0 mg.l⁻¹ kinetin whereas the highest number of roots (6.9 roots) was observed on medium with 0.1 mg.l⁻¹ Thidiazuron (TDZ).

Keywords : *Dendrobium lindleyi* Steudel, cytokinin, shoot multiplication

บทนำ

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium Swartz*) จัดอยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) ทั่วโลกพบประมาณ 2,890 ชนิด ในประเทศไทยสำรวจพบประมาณ 186 ชนิด (WSCP, 2012) กล้วยไม้สกุลหวายมีลักษณะของดอกที่มีสีสันทสวยงาม รูปร่าง

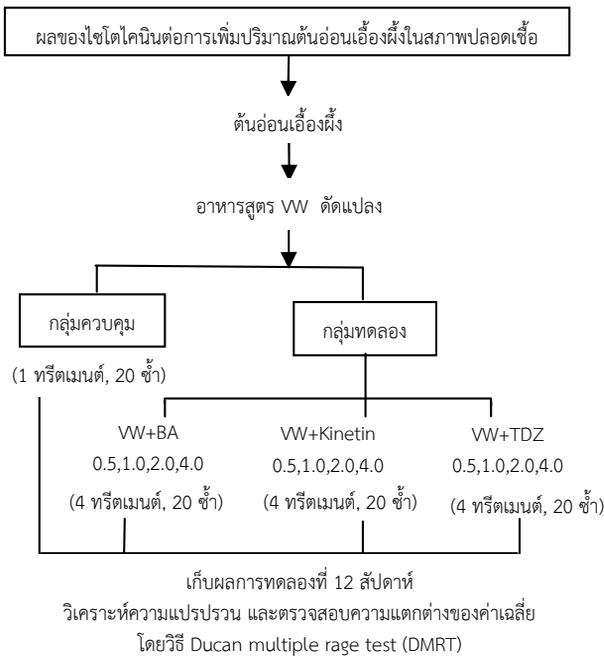
แตกต่างกันออกไปในแต่ละสายพันธุ์ รวมไปถึงเอื้องผึ้ง (*Dendrobium lindleyi* Steudel) ที่จัดเป็นกล้วยไม้เมืองที่สวยงามมากทั้งลักษณะของต้น ใบ และช่อดอกที่มีกลิ่นหอม ดอกไม่แน่นอนจนเกินไปและพริ้วไหวได้ง่าย ทำให้ดูเหมือนฝูงผึ้งที่กำลังบิน

(อบฉันท, 2543) เอื้องผึ้งเป็นกล้วยไม้สกุลหวายที่นิยมปลูกเลี้ยงกันมาก ทำให้มีการนำต้นเอื้องผึ้งออกจากสภาพธรรมชาติ แนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดการนำต้นเอื้องผึ้งออกจากแหล่งธรรมชาติคือ การเพิ่มจำนวนต้นโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ เพราะเป็นวิธีที่สามารถขยายพันธุ์พืชให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว อีกทั้งยังสามารถคัดเลือกต้นที่สมบูรณ์แข็งแรงนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ ซึ่งพบว่าประสบความสำเร็จในการเพิ่มจำนวนกล้วยไม้สกุลหวายหลายชนิด โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินในการทวีจำนวนต้น เช่น *Dendrobium Green Lantern* (อนุพันธ์ และธนากร, 2550) *D. nanum* Hook. f. (Maridass et al., 2010) *D. nobile* var. *Emma white* (Asghar et al., 2011) *D. lamellatum* Lindl. (วิชาญ และอนุพันธ์, 2554) และ *D. sulcatum* Lindl. (อนุพันธ์ และคณะ, 2555) อีกทั้งยังมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ โดย Kaur & Sarma (1997) ซึ่งรายงานถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องผึ้งเท่านั้น อีกทั้งยังมีรายงานการศึกษาของราตรี (2549) รายงานถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเมล็ดเอื้องผึ้ง และระดับน้ำตาล 10 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ต้นอ่อนเอื้องผึ้งมีน้ำหนักต้นเฉลี่ยสูงขึ้น ในการเพิ่มปริมาณต้นในสภาพปลอดเชื้อมักใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโตไคนิน เนื่องจากคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการสร้างยอดใหม่ กระตุ้นการเกิดกระบวนการ embryogenesis รวมไปถึงการกระตุ้นการแตกตาข้าง (axillary shoot proliferation) อีกด้วย (George et al., 2008) ปัจจุบันยังไม่มีรายงานวิจัยที่รายงานถึงการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อด้วยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน จึงเป็นที่มาของการศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนเอื้องผึ้งในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มจำนวนประชากรสำหรับการอนุรักษ์สายพันธุ์และการใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนินที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่ของต้นอ่อนเอื้องผึ้งโดยนำต้นอ่อน (seedling) ความสูงประมาณ 1.0-1.5 เซนติเมตร ที่มีใบ 1.0-2.0 ใบต่อยอด เลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin & Went (1949) ดัดแปลง ที่มีการเติมน้ำตาล 10.0 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าวอ่อน 150.0 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง (จากมันฝรั่ง 50.0 กรัมต่อลิตร) กล้วยหอมบด 50.0 กรัมต่อลิตร ผงถ่าน 2.0 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร โดยเติม Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 6-Benzylaminopurine (BA) ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารให้มีค่าประมาณ 5.2 ด้วย 1 นอร์มอล HCl และ 1 นอร์มอล NaOH รวมทั้งหมด 13 ทริตเมนต์ๆ ละ 20 ซ้ำ เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีการให้แสงสว่าง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน เก็บผลการทดลอง โดยบันทึกจำนวนยอด ใบ ราก ความยาวยอด และ ความยาวราก พร้อมทั้งบันทึกภาพเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 12 สัปดาห์ นำข้อมูลไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan multiple range test (DMRT) ที่ระดับ $p \leq 0.05$ สรุปขั้นตอนการทดลองได้ดังภาพที่ 1

ในการทดลองครั้งนี้ใช้ TDZ ในปริมาณที่ต่ำกว่า BA และ Kinetin เนื่องจากมีรายงานพบว่า TDZ เป็นสารที่มีฤทธิ์สะสมมากกว่า BA และ Kinetin เมื่อใช้ในปริมาณที่เท่ากัน และอาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโต หรือทำให้ต้นใหม่เกิดการพัฒนาที่ผิดปกติได้ ถ้าใช้หรือกำหนดให้ใช้ TDZ ความเข้มข้นที่สูงเกินไป (Huetteman & Preece, 1993; Murthy et al., 1998)



ภาพที่ 1 แผนผังสรุปขั้นตอนการทดลอง

ผลการวิจัย

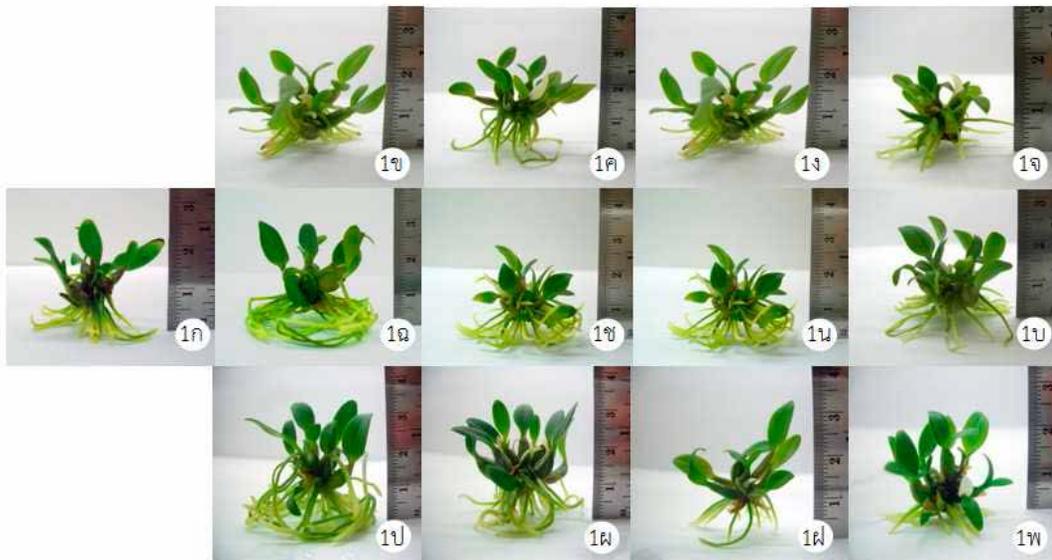
การเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องผึ้งบนอาหารสูตร Vacin & Went (1949) คัดแปลง มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) Kinetin (0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ TDZ (0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนต้นอ่อนในสิ่งทดลองต่าง ๆ นั้น มีการเกิดการพัฒนาคอร์นที่แตกต่างกันออกไป โดยในสัปดาห์แรกเริ่มมีการแตกออกของยอดใหม่เกิดขึ้นบริเวณโคนต้นและข้อปล้องของต้นอ่อนชิ้นส่วนเริ่มต้น และเกิดโปรโตคอร์ม (Protocorm Like Bodies; PLBs) ขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงไปได้ 1-2 สัปดาห์ เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์พบว่า ต้นอ่อนเกิดการพัฒนาในส่วนของยอด ราก และใบเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า โปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นมีการพัฒนาเป็นต้นใหม่ เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ต้นอ่อนที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม BA ในความเข้มข้นแตกต่างกัน ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันออกไป โดย BA ที่

ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ย 9.6 ยอด จำนวนใบเฉลี่ย 1.6 ใบ และอัตราการเกิดโปรโตคอร์มร้อยละ 60 ได้ดีที่สุด โดย BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดอัตราการเกิดโปรโตคอร์มได้ดี เช่นเดียวกับอาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่สูตรอาหารที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้ต้นอ่อนมีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.97 เซนติเมตร และสูตรอาหารที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรส่งเสริมให้รากยืดยาวเฉลี่ยมากที่สุด 1.74 เซนติเมตร โดยจำนวนรากของต้นอ่อนไม่มีความแตกต่างกันในสูตรอาหารที่เติม BA ทุกความเข้มข้นเมื่อพิจารณา BA ที่ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีแต่ยอดใหม่นั้นมีความยาวลดลงเช่นเดียวกับฮอร์โมน TDZ ที่ความเข้มข้นสูงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาการเกิดยอดใหม่ได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำแต่ยอดที่เกิดการพัฒนาขึ้นมาใหม่นั้นมีความยาวยอดเฉลี่ยน้อยกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำโดย TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดเป็นยอดเฉลี่ย 8.2 ยอด และอัตราการเกิดโปรโตคอร์มได้ดีถึงร้อยละ 70 ส่วน TDZ ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด คือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีความยาวยอด จำนวนรากและความยาวรากได้ดี คือ 2.46 เซนติเมตร 6.9 รากและ 2.92 เซนติเมตรตามลำดับ สำหรับต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม Kinetin ความเข้มข้นต่างๆ มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันออกไป โดย Kinetin ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด คือ 11.1 ยอด ในขณะที่ Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้ต้นอ่อนมีความยาวยอดเฉลี่ย 1.94 เซนติเมตร และเกิดรากเฉลี่ย 6.7 ราก และไม่พบอัตราส่วนการเกิดโปรโตคอร์มอีกด้วย ส่วนในการชักนำให้เกิดเป็นราก และใบ ในสูตรอาหารที่เติม Kinetin แต่ละความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องผึ้งบนอาหารสูตร VW (1949) ที่เติม BA Kinetin และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

ไซโตไคนิน (mg/l)	จำนวนยอด (Mean±SE)	ความยาวยอด (Mean±SE) (เซนติเมตร)	จำนวนราก (Mean±SE)	ความยาวราก (Mean±SE) (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (Mean±SE)	อัตราการเกิด PLBs (%)
control	7.6 ± 0.62 ^{b-e*}	1.47 ± 0.09 ^d	4.4 ± 0.44 ^c	1.72 ± 0.20 ^c	1.2 ± 0.13 ^c	20
BA 0.5	7.9 ± 1.14 ^{b-e}	1.81 ± 0.08 ^{bc}	5.7 ± 0.55 ^{ab}	1.24 ± 0.12 ^{efg}	1.4 ± 0.15 ^{abc}	60
BA 1.0	6.4 ± 0.63 ^{de}	1.82 ± 0.11 ^{bc}	6.0 ± 0.4 ^{7ab}	1.74 ± 0.16 ^{cd}	1.3 ± 0.17 ^{bc}	40
BA 2.0	6.5 ± 0.57 ^{cde}	1.97 ± 0.09 ^b	6.1 ± 0.36 ^{ab}	1.55 ± 0.12 ^{de}	1.3 ± 0.17 ^{bc}	20
BA 4.0	9.6 ± 1.12 ^{ab}	1.38 ± 0.12 ^d	6.3 ± 0.6 ^{1ab}	0.93 ± 0.13 ^g	1.6 ± 0.14 ^a	60
Kinetin 0.5	7.7 ± 0.62 ^{b-e}	1.94 ± 0.09 ^b	6.7 ± 0.23 ^{ab}	2.25 ± 0.20 ^b	1.4 ± 0.12 ^{abc}	0
Kinetin 1.0	8.3 ± 0.54 ^{bcd}	1.62 ± 0.14 ^{cd}	6.2 ± 0.26 ^{ab}	1.26 ± 0.12 ^{efg}	1.4 ± 0.12 ^{abc}	20
Kinetin 2.0	11.1 ± 0.87 ^a	1.40 ± 0.06 ^d	5.7 ± 0.55 ^{ab}	1.06 ± 0.09 ^f	1.5 ± 0.11 ^{ab}	30
Kinetin 4.0	8.8 ± 0.71 ^{cd}	1.61 ± 0.11 ^{cd}	6.4 ± 0.72 ^{ab}	1.41 ± 0.19 ^{def}	1.5 ± 0.13 ^{ab}	30
TDZ 0.1	5.7 ± 0.47 ^e	2.46 ± 0.04 ^a	6.9 ± 0.53 ^a	2.92 ± 0.19 ^a	1.4 ± 0.14 ^{abc}	40
TDZ 0.5	6.1 ± 0.56 ^{de}	2.42 ± 0.07 ^a	5.4 ± 0.22 ^{bc}	2.14 ± 0.16 ^{bc}	1.3 ± 0.12 ^{bc}	70
TDZ 1.0	6.3 ± 0.84 ^{de}	2.01 ± 0.11 ^b	5.9 ± 0.47 ^{ab}	1.04 ± 0.07 ^{fg}	1.4 ± 0.16 ^{abc}	80
TDZ 2.0	8.2 ± 0.73 ^{bcd}	1.78 ± 0.09 ^{bc}	5.9 ± 0.47 ^{ab}	0.85 ± 0.07 ^g	1.4 ± 0.13 ^{abc}	70

* ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสัปดาห์แสดงถึงความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 2 ผลการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องผึ้งบนอาหารสูตร VW ที่มีการเติมฮอร์โมน BA Kinetin และ TDZ ที่ความเข้มข้นแตกต่าง คือ 0 mg/l (1ก) BA 0.5 mg/l (1ข) BA 1.0 mg/l (1ค) BA 2.0 mg/l (1ง) BA 4.0 mg/l (1จ) Kinetin 0.5 mg/l (1ฉ) Kinetin 1.0 mg/l (1ช) Kinetin 2 mg/l (1น) Kinetin 4 mg/l (1บ) TDZ 0.1 mg/l (1ป) TDZ 0.5 mg/l (1ผ) TDZ 1.0 mg/l (1ฝ) และ TDZ 2.0 mg/l (1พ) เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

อภิปรายผล

การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการชักนำขึ้นส่วนต้นอ่อนให้เกิดเป็นยอดใหม่จำนวนมาก โดยนำต้นอ่อนเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งตัดแปลงสูตร Vacin & Went (1949) ที่มีการเติมฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินชนิดต่าง ๆ ได้แก่ BA, Kinetin และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเลี้ยงครบระยะเวลา 12 สัปดาห์พบว่า ต้นอ่อนสามารถเจริญและพัฒนาได้ดีในทุกทริตเมนต์ โดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นของไซโตไคนินทั้งสามชนิดนั้น มีแนวโน้มให้เกิดต้นใหม่เกิดการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญกลุ่มไซโคไคนินชนิดต่าง ๆ แตกต่างกันไป และชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มมากขึ้น แต่ส่งผลยับยั้งการเจริญของราก การยืดยาวออกของรากและยอดใหม่ให้ลดลงอีกด้วย ซึ่งขึ้นส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง Vacin & Went (1949) ที่เติม Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุดถึง 11.1 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้นเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมกับการเพิ่มจำนวนต้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้นแม้ว่ามีอัตราการเกิดโปรโตคอร์มเพียงร้อยละ 30 ก็ตาม ซึ่งจากการทดลองให้ผลการชักนำยอดที่ดีกว่าการทดลองที่รายงานไว้แล้ว เช่น การชักนำโปรโตคอร์ม *Dendrobium Serdang Beauty* ซึ่งเจริญและพัฒนาได้ดีที่สุดบนอาหาร Murashige & Skoog (1962) ที่เติม Kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เกิดเป็นต้นใหม่ 4.0 ต้น (Khosravi et al., 2008) แม้วากกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิดมีการตอบสนองได้ดีต่อฮอร์โมน BA ก็ตาม ดังเช่นรายงานของ Maridass et al. (2010) ซึ่งเลี้ยงตาเหง้า (rhizome buds) ของ *D. nanum* บนอาหาร Murashige & Skoog (1962) ที่เติม 0.5 ไมโครโมลาร์ (μM) BAP ส่งผลให้ตาเหง้าพัฒนาเป็นต้นใหม่มากที่สุด 4.7 ยอดต่อชิ้นส่วน และ Asghar et al. (2011) ได้ทำการเลี้ยงตาข้าง (axillary buds) ของ *D. nobile* var. Emma white ที่เลี้ยงบน phytotechnology medium (O753) ที่มีการเติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ตาข้างเจริญเป็นยอดใหม่ถึง 4.3 ยอด หรือมีการตอบสนองได้ดีต่อ

TDZ ดังรายงานการวิจัยของ Nayak et al. (1997) ซึ่งการเลี้ยงชิ้นส่วนยอด *D. aphyllum* และ *D. moschatum* บนอาหารสูตร Murashige & Skoog (1962) ที่มีการเติมฮอร์โมนพืช ในกลุ่มไซโตไคนิน คือ BA หรือ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผลการทดลองที่ได้ คือ TDZ ที่ความเข้มข้น 2.2 - 4.5 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดและจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า TDZ ที่ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้ต้นอ่อนเอื้องผิ๊งเกิดเป็นโปรโตคอร์มใหม่ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรที่เติมไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นอื่น ๆ และให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับรายงานของ Roy et al. (2007) ที่เลี้ยงต้นอ่อนเอื้องคำ (*Dendrobium chrysotoxum* Lindl.) บนอาหารสูตรที่เติมไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเอื้องคำเกิดโปรโตคอร์มใหม่ได้จำนวนมากที่สุด

การตอบสนองของฮอร์โมนที่แตกต่างกันในแต่ละชนิดนั้น อาจเป็นผลเนื่องจากอาหาร ขึ้นส่วนเริ่มต้น ลักษณะทางพันธุกรรมของพืชเองที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนให้ได้ปริมาณมากแตกต่างกันไป (Gitonga et al., 2010; Kassim et al., 2010)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการชักนำขึ้นส่วนต้นอ่อนให้เกิดเป็นยอดใหม่จำนวนมาก โดยเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารกึ่งแข็งตัดแปลงสูตร Vacin & Went ที่มีการเติมฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินชนิดต่าง ๆ ได้แก่ BA Kinetin และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเลี้ยงครบระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า Kinetin มีความสามารถในการชักนำการเพิ่มจำนวนยอดใหม่ให้ได้ปริมาณมากโดย Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุดถึง 11.1 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น อีกทั้ง TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มมากที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ และ BA 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีใบเฉลี่ยมากที่สุด 1.6 อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้การเอื้อเฟื้อต้อนรับอำนวยความสะดวกและคุณอภิญา เตชิตคุณานนท์ สำหรับเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องในการวิจัยในครั้งนี้ ทำให้การศึกษานี้เสร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ราตรี พระนคร. 2549. การขยายพันธุ์เอื้องผึ้ง (*Dendrobium lindleyi* Steud.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. เอกสารการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ กำหนดการประชุมและบทคัดย่อ: สัณวัตกรรมพืชสวนไทยเพื่ออาหารปลอดภัยและเศรษฐกิจพอเพียง.การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 6, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 334.

วิชาญ แผงเมือง และอนุพันธ์ กงบังเกิด. 2554. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายแบนในสภาพปลอดเชื้อ. รายงานสืบเนื่องจาก“การประชุมวิชาการพะเยาวิจัยครั้งที่ 1 “ปัญญาเพื่อความเข้มแข็งของชุมชน”, วันที่ 12 - 13 มกราคม 2555, ณ อาคารเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสารมหาวิทยาลัยพะเยา อ.เมือง จ.พะเยา. หน้า. 96-102.

อปฉันท ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้เมืองไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน.

อนุพันธ์ กงบังเกิด บวร คุณากรนุรักษ์ ดิณรัตน์ พรหมอารีย์ และขวัญใจ พุ่มโอ. 2555. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญของยอดอ่อนเอื้องจำปาน่าน (*Dendrobium sulcatum* Lindl.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย. 4 (ฉบับพิเศษ): 81-86.

อนุพันธ์ กงบังเกิด และธนากร วงษศา. 2550. ผลของไซโตโคตินต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้ลูกผสมดอนมาลี X เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium Green Lantern*). วารสารวิทยาศาสตร์ มศว 23(2): 15-125.

Asghar S, Ahmad T, Hafiz IA, Yaseen M. 2011. *In vitro* propagation of orchid (*Dendrobium nobile* var. Emma white), African Journal of Biotechnology 10(16): 3097-3103.

George EF, Hall M, De Klerk GJ. 2008. Plant propagation by tissue culture 3rd edition Volume 1. The Background. Springer, Netherlands.

Gitonga LN, Gichuki ST, Ngamau K, Muigai AWT, Kahangi EM, Wasilwa LA, Wepukhulu S, Njogu N. 2010. Effect of explant type, source and genotype on *in vitro* shoot regeneration in Macadamia (*Macadamia* spp.). Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development 2(7): 129-135.

Huetteman CA, Preece JE. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell. Tissue and Organ Culture 33(2): 105-119.

Kassim NE, Abou Rayya SM, Ali EAM . 2010. Effect of explant types and different basal nutrient media on *in vitro* growth of bitter almond cuttings during establishment and proliferation stages. Journal of American Science 6(10): 408-411.

Kaur S, Sarma CM. 1997. Selection of best medium for *in vitro* propagation of *Dendrobium lindleyi* Steud, Advance Plant Sciences 10: 1-5.

Khosravi AR, Kadir MA, Kazemin SB, Zaman FQ, De Silva AE. 2008. Establishment of a plant regeneration system from callus of *Dendrobium* cv. Serdang Beauty. African Journal of Biotechnology 7(22): 4093-4099.

Maridass M, Mahesh R, Raju G, Benniamin A, Muthuchelian K. 2010. *In vitro* propagation of *Dendrobium nanum* through rhizome bud culture. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 1(2): 50-54.

Murthy BNS, Murch SJ, Saxena PK. 1998. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant* 34(4): 267-275.

- Nayak NR, Rath SP, Patnaik S. 1997. *In vitro* propagation of three epiphytic orchids, *Cymbidium aloofolium* (L.) Sw., *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch. and *Dendrobium moschatum* (Buch-Ham) Sw. through thidiazuron-induced high frequency shoot proliferation. *Scientia Horticulturae* 71 (3-4): 243-250.
- Roy J, Naha S, Majumdar M, Banerjee N. 2007. Direct and callus-mediated protocorm-like body induction from shoot-tips of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. (Orchidaceae). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 90(1): 31-39.
- Vacin EF, Went EW. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette* 110: 605-613.
- WCSP. 2012. World checklist of selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. [ออนไลน์]. available at: [http:// apps.kew.org /wcsp /](http://apps.kew.org/wcsp/) Retrieved (accessed: 21 December 2012).