วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 5 ฉบับที่ 4 (ตุลาคม-ธันวาคม): 9-17, 2561
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 5, No. 4 (October-December): 9-17, 2018

Research article

ผลของน้ำตาลซูโครสและวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว (*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) ในหลอดทดลอง

Effects of Sucrose and Growing Media on Growth of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. *In vitro*

ศิริพร ทวีโรจนการ[1] ไซนีย๊ะ สะมาลา[1] และ กิตติมา คงทน[1*]
Taweerodjanakarn, S.[1] Samala, S.[1] and Kongton, K.[1*]

[1] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี 84100
[1] Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University, Suratthani, Thailand, 84100

** Corresponding author: kkongton@gmail.com*
Received 15 January 2018; Revised 27 April 2018; Accepted 6 May 2018

บทคัดย่อ

กล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว (*Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) เป็นกล้วยไม้ป่าที่จัดเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่สวยงามและยังเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา การทำลายป่าและการลักลอบเก็บกล้วยไม้ป่าส่งผลให้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่มีอยู่ในธรรมชาติลดลง การศึกษานี้จึงพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์กล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่มีประสิทธิภาพด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดที่พัฒนาจากโปรโตคอร์มไลค์บอดีในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอด ใบ และรากมากที่สุดคือ 20.86 ยอด 26.28 ใบ และ 15.43 รากต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ และในอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลซูโครสสามารถชักนำยอด ใบ และรากที่มีความยาวเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 6.56 3.67 และ 3.40 เซนติเมตร ตามลำดับ และจากการศึกษาอิทธิพลของวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ต่ออัตราการรอดชีวิตของต้นกล้าของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยง มาอนุบาลปลูกในกระถาง เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า การใช้กาบมะพร้าวสับร่วมกับพีทมอส (1:1) ถ่านร่วมกับพีทมอส (1:1) กาบมะพร้าวร่วมกับพีทมอสและถ่าน (1:1:1) เป็นวัสดุปลูก ส่งผลให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีการนี้สามารถขยายพันธุ์กล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: กะเรกะร่อนด้ามข้าว, น้ำตาลซูโครส, การอนุบาลปลูก

Abstract

Cymbidium aloifolium (L.) Sw. is an exquisite epiphytic orchid with high ornamental and medicinal values. The deforestation and indiscriminate collection for illegal trade deplete the natural population of this orchid. In this study, plant tissue culture technique was used to develop effective propagation for *C. aloifolium* (L.) Sw. To culture shoots which were developed from protocorm-liked bodies (PLBs) in VW liquid medium supplemented with 15% (v/v) coconut water and different concentration levels of sucrose

Published by Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. All rights reserved.
For Permissions, please e-mail: nr-sjps@group.psu.ac.th.

at 0, 1, 2, 3 and 4% (v/v) for 10 weeks. The results showed that the 2% (v/v) sucrose induced the highest number of shoots, leaves and roots as 20.86 shoots/explant, 26.28 leaves/shoot and 15.43 roots/shoot, respectively. While, the liquid medium without sucrose induced the longest of shoots, leaves, and roots length as 6.56, 3.67 and 3.40 cm, respectively. In addition, the different types of growing media were studied on the survival rate of *C. aloifolium* (L.) Sw. plantlet in nursery pot for 5 weeks. The results showed the 100% survived plantlet in coconut husk chips with peat moss (1:1), peat moss with charcoal (1:1) and coconut husk: peat moss: charcoal (1:1:1). In this study, suggested that this methodology effective for *C. aloifolium* (L.) Sw. propagation.

Keywords: *Cymbidium aloifolium*, sucrose, plantlet acclimatization

บทนำ

กล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว *(Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยที่นิยมปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับ เนื่องจากมีดอกสีม่วงสวยงามและบานเป็นระยะเวลานาน จึงเป็นที่ต้องการในตลาดดอกไม้ ส่งผลให้มีราคาที่เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้กะเรกะร่อนด้ามข้าวยังจัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณค่าทางยา สารสกัดจากส่วนต่างๆ สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคได้มากมาย เช่น สารสกัดจากเมล็ดนำมาใช้ในการรักษาบาดแผล (Medhi and Chakrabarti, 2009) สารสกัดจากใบสามารถรักษาอาการปวดหู บรรเทาไข้ และลดการเกิดหนองได้ (Pradhan *et al*., 2014; Syndhya *et al*., 2006) สารสกัดจากรากนำมาใช้ในการรักษาโรคหอบหืดและลดอาการระคายเคือง (Mohammed *et al*., 2010) สารสกัดจากรากผสมขิงและพริกไทยดำช่วยรักษาโรคอัมพาตและบรรเทาอาการเจ็บป่วยเรื้อรัง (Dash *et al*., 2008) นอกจากนี้สารสกัดจากพืชทั้งต้นยังเป็นยาบำรุงเพื่อบรรเทาอาการเวียนศีรษะ อาการปวดจากแผลไหม้และแก้ปัญหากล้ามเนื้อตาอ่อนแรงได้ (Hossain, 2011) จากการใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย จึงมีการลักลอบเก็บและถอนรากกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวจากป่า อีกทั้งปัญหาการตัดไม้ทำลายป่า การใช้ยาฆ่าแมลงและการดัดแปลงทางพันธุกรรมที่ทำให้การถ่ายละอองเรณูในธรรมชาติเกิดขึ้นได้น้อยลง และการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสก่อโรคพืช (Chowdhery, 2001; Chugh *et al*., 2009; Pradhan *et al*., 2016) ส่งผลกระทบให้กล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวลดลงอย่างรวดเร็วและอยู่ในภาวะถูกคุกคาม (Pradhan *et al*., 2014)

โดยทั่วไปแล้วพบว่ากล้วยไม้จะเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งอาศัยตามธรรมชาติ แต่การขยายพันธุ์กะเรกะร่อนด้ามข้าวในธรรมชาติยังมีข้อจำกัดอยู่มาก เนื่องจากการงอกของเมล็ดต้องการปฏิสัมพันธ์กับราจึงทำให้เมล็ดมีอัตราการงอกช้า (Mohanraj *et al*., 2009) เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการขยายพันธุ์กล้วยไม้หายากและมีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ให้สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว (Vij and Aggarwal, 2003) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลองนั้น พืชจะต้องการธาตุอาหารเฉพาะที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์เพื่อใช้ในการพัฒนาและเจริญเติบโต อาหารสูตร Vacin and Went (VW) เป็นสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้กันอย่างแพร่หลายและที่ถูกพัฒนาขึ้นมาให้เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ในหลอดทดลองโดยเฉพาะ (Vacin and Went, 1949) และการเติมสารอินทรีย์ เช่น น้ำมะพร้าว น้ำแครอท น้ำมะเขือเทศ ลงในอาหารสังเคราะห์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากสารอินทรีย์ดังกล่าวประกอบด้วยธาตุอาหารและฮอร์โมนที่ควบคุมการเจริญเติบโตและช่วยในการแบ่งเซลล์ (Texeira *et al*., 2006) ซึ่งน้ำมะพร้าวมักจะถูกเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เพื่อใช้ในการงอก การเจริญเติบโต และการเพิ่มจำนวนของกล้วยไม้หลายชนิด (Aktar *et al*., 2007; Chugh *et al*., 2009; Tawaro *et al*., 2008; Zahara *et al*., 2016) นอกจากนี้การเติมคาร์โบไฮเดรตซึ่งจัดเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่สำคัญของพืช (Aktar *et al*., 2007; Al-Khateeb, 2008; Sopalun *et al*., 2010) ยังเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ โดยน้ำตาลซูโครสจะถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเลี้ยงกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นคาร์โบไฮเดรตที่พบมากที่สุดในท่อลำเลียงอาหารของพืชและเกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการพัฒนาต่างๆ (Gibson, 2000) อย่างไรก็ตาม

ปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมยังเป็นตัวกำหนดศักยภาพการพัฒนาและการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการขยายพันธุ์กล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่มีประสิทธิภาพ โดยศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวในสภาพปลอดเชื้อ พร้อมทั้งศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการอนุบาลต้นอ่อนเพื่อให้ได้ต้นกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่สมบูรณ์และนำกลับสู่สภาพธรรมชาติได้ในอนาคต

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

ผลของน้ำตาลซูโครสต่อการพัฒนาเป็นยอด ใบ และรากของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว

นำยอดที่พัฒนาจากโปรโตคอร์มไลค์บอดีของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ โดยย้ายเลี้ยงทุก 5 สัปดาห์ และทำการทดลอง 15 ซ้ำ สังเกตและบันทึกผลการทดลองโดยการนับจำนวนและวัดขนาดของยอด ใบ และราก

ผลของวัสดุปลูกต่อการอนุบาลต้นอ่อนของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว

นำต้นกล้ากล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวอายุ 4 เดือน จากชุดการทดลองที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์มาอนุบาลปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ พีทมอส ถ่าน กาบมะพร้าวสับร่วมกับพีทมอสในอัตราส่วน 1:1 กาบมะพร้าวสับร่วมกับถ่านในอัตราส่วน 1:1 ถ่านร่วมกับพีทมอสในอัตราส่วน 1:1 และกาบมะพร้าวสับร่วมกับพีทมอสและถ่านในอัตราส่วน 1:1:1 โดยมีกลุ่มที่ไม่ใช้วัสดุปลูกเป็นกลุ่มควบคุม (control) โดยอนุบาลปลูกจำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 4 กระถาง ให้น้ำวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น และให้แสงตามธรรมชาติ เป็นเวลา 5 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกอัตราการรอดชีวิต

การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple rang test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลอง

ผลของน้ำตาลซูโครสต่อการพัฒนาเป็นยอด ใบ และรากของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว

จากการเพาะเลี้ยงยอดที่พัฒนาจากโปรโตคอร์มไลค์บอดีของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะปลายแหลม เรียวและมีสีเขียว (Figure 1A) โดยอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดการพัฒนาเป็นยอดได้ดี โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 20.86 ยอดต่อชิ้นส่วน ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้จำนวนยอดเฉลี่ย 18.71 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) จากการวิเคราะห์การเกิดใบพบว่า ยอดมีการพัฒนาเป็นใบได้ดีในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ โดยให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 26.28 ใบต่อชิ้นส่วน ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่ให้จำนวนใบเฉลี่ย 23.82 ใบต่อชิ้นส่วน แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นอื่น โดยใบที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ ผิวใบค่อนข้างมันวาว ใบมีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม (Figure 1A) และจากการวิเคราะห์การเกิดราก พบว่าอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้พัฒนาเป็นรากได้ดี (Figure 1B) โดยให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 15.43 รากต่อชิ้นส่วน ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยให้จำนวนรากเฉลี่ย 13.86 รากต่อชิ้นส่วน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นอื่น

นอกจากนี้ยังพบว่า การเพาะเลี้ยงยอดของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครส ส่งผลให้ยอด ใบ และรากมีความยาวเฉลี่ยมากที่สุด 6.56 3.67 และ 3.40 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 1 และ Figure 1) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับอาหารที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส

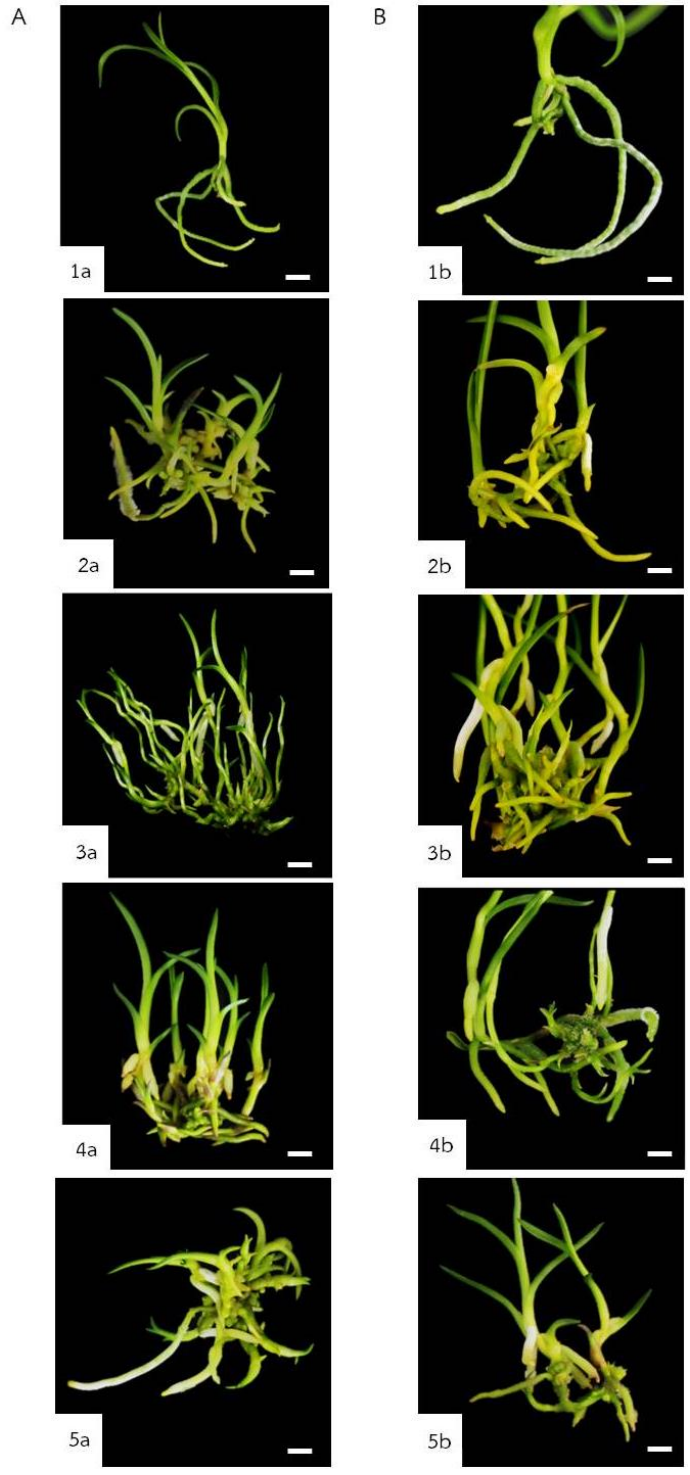

Figure 1 *In vitro* growth response on shoots and leaves (A), and roots (B) of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. after cultured in VW liquid medium supplemented with 15% (v/v) coconut water and different concentration of sucrose at 0% (1a, 1b), 1% (2a, 2b), 2% (3a, 3b), 3% (4a, 4b) and 4% (5a, 5b) for 10 weeks. (bar = 1 cm.)

Table 1 Effect of sucrose concentration at 0, 1, 2, 3 and 4% on growth of *in vitro Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. cultured in VW liquid medium supplemented with 15% (v/v) coconut water for 10 weeks

Sucrose concentration (%)	Shoots		Leaves		Roots	
	Number	Length (cm)	Number	Length (cm)	Number	Length (cm)
0	7.57±2.29^{c}	6.56±1.76^{a}	14.85±4.62^{b}	3.67±0.80^{a}	5.43±0.97^{c}	3.40±0.56^{a}
1	13.14±4.79^{bc}	4.37±1.03^{b}	23.82±5.54^{a}	1.75±0.24^{b}	10.29±3.11^{b}	1.69±0.58^{b}
2	20.86±4.17^{a}	2.41±0.32^{c}	26.28±2.73^{a}	1.97±0.26^{b}	15.43±2.32^{a}	1.59±0.15^{b}
3	12.57±1.25^{bc}	2.02±0.23^{c}	16.41±2.02^{b}	2.19±0.25^{b}	13.86±0.85^{a}	1.95±0.16^{b}
4	18.71±3.31^{ab}	1.70±0.14^{c}	14.71±1.65^{b}	1.40±0.16^{b}	5.14±1.58^{c}	1.84±0.25^{b}
C.V. (%)	6.83	10.87	8.7	7.17	13.61	9.14
F-test	*	*	*	*	*	*

* Significant difference at $P \leq 0.05$

Mean ± SE with the different letters in the same column are significantly different by DMRT ($P \leq 0.05$)

ผลของวัสดุปลูกต่อการอนุบาลต้นอ่อนของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว

การอนุบาลต้นอ่อนกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวอายุ 4 เดือน ที่มีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองด้วยวัสดุปลูกที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่อนุบาลด้วยกาบมะพร้าวสับร่วมกับพีทมอส (1:1) ถ่านร่วมกับพีทมอส (1:1) และกาบมะพร้าวร่วมกับพีทมอสและถ่าน (1:1:1) มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) โดยต้นพืชมีใบตั้งแต่ 6 ใบขึ้นไป ลำต้นอวบมากกว่า 2 มิลลิเมตร (Figure 2) ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ใช้วัสดุปลูก (control) มีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 50 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

Table 2 Effect of growing media on survival rate of *in vitro Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. plantlets after 5 weeks acclimatization

Type of growing media	Survival rate (%)
Control	50±0.53^{c}
Coconut husk chips	60±0.52^{bc}
Peat moss	90±0.32^{abc}
Charcoal	90±0.32^{ab}
Coconut husk chips: peat moss (1:1)	100±0.00^{a}
Coconut husk chips: charcoal (1:1)	80±0.42^{abc}
Peat moss: charcoal (1:1)	100±0.00^{a}
Coconut husk: peat moss: charcoal (1:1:1)	100±0.00^{a}
C.V. (%)	21.94
F-test	*

* Significant difference at $P \leq 0.05$

Mean ± SE with the different letters in the same column are significantly different by DMRT ($P \leq 0.05$)

วิจารณ์

จากการศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการชักนำยอด ใบ และรากจากชิ้นส่วนยอดที่เกิดจากการชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดีของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่วางเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดยอด ใบ และรากสูงที่สุด ในขณะที่การวางเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครสร่วมด้วยสามารถชักนำให้เกิดยอด ใบ และรากที่มีความยาวเฉลี่ยสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการเจริญของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าว ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลซูโครสเป็นตัวช่วยในการรักษาสมดุลของแหล่งคาร์บอนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์พืชโดยผ่านทางเอนไซม์อินเวอร์เทสและซูโครสซินเทส ส่งผลให้เซลล์สามารถนำน้ำตาลเฮกโซสเข้าสู่วิถีไกลโคลิซีส (glycolytic pathway) และวิถีเพนโตสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway) ได้โดยตรง (Zha *et al*., 2007) อีกทั้งยังสามารถเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kumarraswamy *et al*., 2010) ประกอบกับการศึกษาในครั้งนี้มีการเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมด้วย โดยในน้ำมะพร้าวนอกจากจะมีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบแล้ว ยังมีสารไดฟีนิลยูเรียซึ่งทำหน้าที่เป็นสารควบคุมการเจริญของพืชในกลุ่มไซโทไคนิน (Gnasekaran *et al*., 2010) ที่สามารถส่งเสริมการเจริญและแบ่งเซลล์ของพืชได้อีกด้วย สอดคล้องกับการรายงานผลของน้ำตาลซูโครสและน้ำมะพร้าวต่อการเจริญของกล้วยไม้สิงโตประหลาด (*Bulbophyllum affine* Lindl.) ที่วางเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำมะพร้าว 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดยอด (2.65 ยอด) และความยาวยอด (3.21 เซนติเมตร) เฉลี่ยมากที่สุด และเมื่อวางเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำมะพร้าว 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดราก (17.81 ราก) และความยาวราก (2.13 เซนติเมตร) เฉลี่ยมากที่สุด (ชัยชาญ และคณะ, 2554) นอกจากนี้ Zahara และคณะ (2017) ได้ศึกษาการเจริญของต้นอ่อนของกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซีส (*Phalaenopsis* Hybrid 'Pink') ที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำมะพร้าว 0 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารที่ไม่เติมน้ำตาลซูโครสและน้ำมะพร้าว สามารถชักนำให้เกิดใบได้สูงสุดจำนวน 5.6 ใบ และเมื่อวางเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการเติมน้ำมะพร้าวร่วมด้วย สามารถชักนำให้เกิดใบและความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 7.33 ใบ และ 4.0 เซนติเมตร ตามลำดับ

จากการนำต้นอ่อนกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาอนุบาลปลูกด้วยวัสดุปลูกชนิดต่างๆ พบอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ บนวัสดุปลูกกาบมะพร้าวสับร่วมกับพีทมอส (1:1) ถ่านร่วมกับพีทมอส (1:1) และกาบมะพร้าวร่วมกับพีทมอสและถ่าน (1:1:1) ทั้งนี้เนื่องจากวัสดุปลูกทั้ง 3 ชนิด เป็นวัสดุที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของกล้วยไม้ โดยพีทมอสสามารถอุ้มน้ำได้ดีและมีธาตุอาหารที่เหมาะสม กาบมะพร้าวสับมีความพรุนและโปร่ง ทำให้รากกล้วยไม้ยึดเกาะได้ดี และถ่านมีความสามารถในการถ่ายเทอากาศได้ดี ไม่เป็นแหล่งสะสมเชื้อโรคหรือปล่อยสารพิษให้กับราก และรากสามารถยึดเกาะได้ (ชัยชาญ และคณะ, 2554; รัตนาวลี และคณะ, 2557) สอดคล้องกับงานวิจัยของโสภา (2558) ซึ่งอนุบาลต้นกล้าเอื้องพร้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยขุยมะพร้าว เวอร์มิคูไลท์ และขุยมะพร้าวผสมกับพีทมอส ในอัตราส่วน 1:1 พบว่าต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเอื้องนางชีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาอนุบาลปลูกในกาบมะพร้าวสับ พบอัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์ (รัตนาวลี และคณะ, 2557) เช่นเดียวกับ Bhattacharjee และ Islam (2014) ที่รายงานว่าเมื่อนำเอื้องไอยเรศลงปลูกในกาบมะพร้าวร่วมกับถ่านและอิฐ ในอัตราส่วน 1:1:1 ส่งผลให้เอื้องไอยเรศมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์

สรุป

การขยายพันธุ์กล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวบนอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดยอด ใบ และรากได้มากที่สุด และอาหารที่ไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครสส่งผลให้มีความยาวยอด ใบ และรากมาก

ที่สุด การใช้กาบมะพร้าวสับร่วมกับพีทมอส (1:1) ถ่านร่วมกับพีทมอส (1:1) กาบมะพร้าวร่วมกับพีทมอสและถ่าน (1:1:1) เป็นวัสดุปลูกเหมาะสำหรับการอนุบาลต้นอ่อนของกล้วยไม้กะเรกะร่อนด้ามข้าวมากที่สุด ซึ่งทำให้สามารถอนุบาลต้นกล้าเพื่อนำกลับสู่สภาพธรรมชาติได้

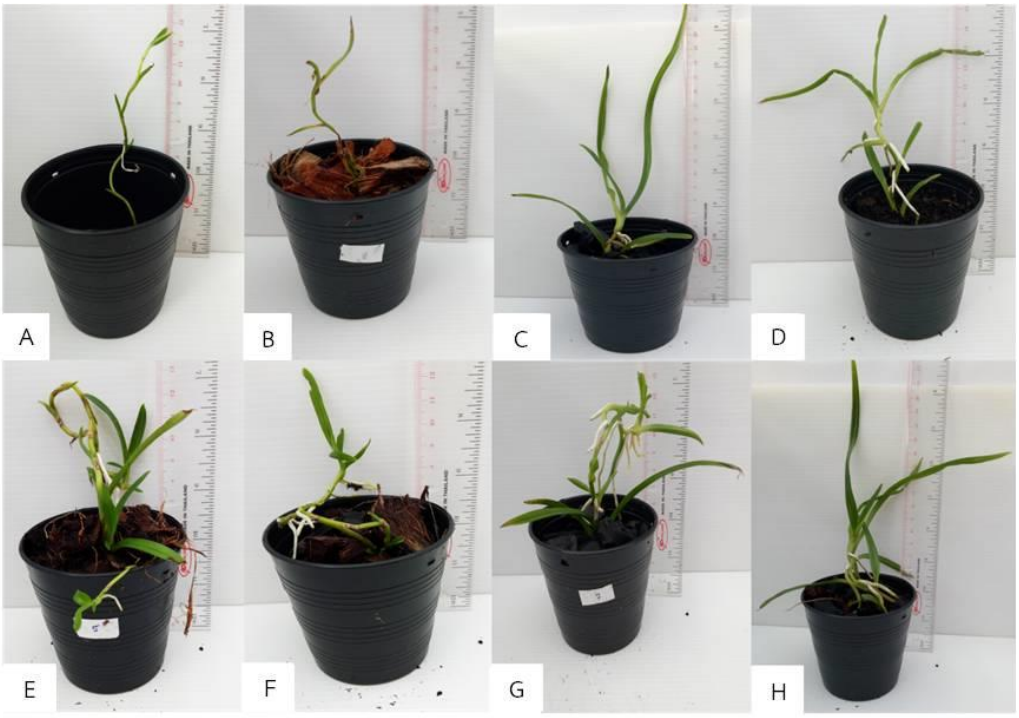

Figure 2 Effect of growing media including control (A), coconut husk chips (B), peat moss (C), charcoal (D), coconut husk chips with peat moss in ratio 1:1 (E), coconut husk chips with charcoal in ratio 1:1 (F), peat moss with charcoal in ratio 1:1 (G), and coconut husk chips with peat moss and charcoal in ratio 1:1:1 (H) on the survival rate of *in vitro Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. plantlets after 5 weeks acclimatization

เอกสารอ้างอิง

ชัยชาญ มณีรัตนรุ่งโรจน์, ศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล และอนุพันธ์ กงบังเกิด. 2554. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สิงโตประหลาด. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 7: 45–59.

รัตนาวลี เสนาวงศ์, ปิยะพร แสนสุข และ สุรพล แสนสุข. 2557. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไมเอื้องนางชีในหลอดทดลอง. วารสารวิจัย มข. 19: 399–413.

โสภา ชูเพ็ง. 2558. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของเอื้องพร้าวในหลอดทดลอง. ว. พืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 2: 32–35.

Aktar, S., Nasiruddin, K.M. and Khaldun, A.B. 2007. Organogenesis of *Dendrobium* orchid using traditional media and organic extracts. J. Agric. Rural. Dev. 5: 30–35.

Al-Khateeb, A.A. 2008. Regulation of *in vitro* bud formation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Khanezi by different carbon sources. Bioresour. Technol. 99: 6550–6555.

Bhattacharjee, B. and Islam, S.M.S. 2015. Effects of plant growth regulators on multiple shoot induction in *Vanda tessellata* (Roxb.) Hook. Ex G.Don an endangered medicinal orchids. I. J. S. N. 5: 707–712.

Chowdhery, H.J. 2001. Orchid diversity in North-East India. J. Orchid Soc. Ind. 15: 1–17.

Chugh, S., Guha, S. and Rao, I.U. 2009. Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explants. Sci. Hortic. 122: 507–520.

Dash, P.K., Sahoo, S. and Bal, S. 2008. Ethnobotanical studies on orchids of Niyamgiri Hill Ranges, Orissa, India. Ethnobot Leaflets. 12: 70–78.

Gibson, S.I. 2000. Plant sugar-response pathways. Part of a complex regulatory web. Plant Physiol. 124: 1532–1539.

Gnasekaran, P., Rathinam, X., Sinniah, U.R., Subramaniam, S. 2010. A study on the use of organic additives on the protocorm-like bodies (PLBs) growth of *Phalaenopsis violaceae* orchid. J. Phytol. 2: 29–33.

Hossain, M.M. 2011. Therapeutic orchids: Traditional uses and recent advances-An overview. Fitoterapia. 82: 102–140.

Kumaraswamy, M., Sudipta, K.M., Balasubramanya, S., Anuradha, M. 2010. Effects of different carbon sources on *in vitro* morphogenesis response of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.). J. Phytol. 2: 11–17.

Medhi, R.P. and Chakrabarti, S. 2009. Traditional knowledge of NE people on conversation of wild orchids. Indian J. Traditional Knowledge. 8: 11–16.

Mohammed, R., Kabir, T., Rahman, M., Hossan, S., Khatun, Z., Khatun, A, and Jahan, R. 2010. Ethnomedicinal practices among a minority group of Christians residing in Mirzapur village of Dinajpur district, Bangladesh. Adv. Nat. Appl. Sci. 4: 45–51.

Mohanraj, R., Ananthan, R. and Bai, V.N. 2009. Production and storage of synthetic seeds in *Coelogyne breviscapa* Lindl. Asian J. Biotechn. 1: 124–128.

Pradhan, S., Tiruwa, B., Subedee, B.R. and Pant, B. 2014. *In vitro* germination and propagation of a threatened medicinal orchid, *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. through artificial seed. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 4: 971–976.

Pradhan, S., Regmi, T., Ranjit, M. and Pant, B. 2016. Production of virus-free orchid *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. by various tissue culture techniques. Heliyon. 2: e00176.

Sandhya, B., Thomas, S., Isabel, W. and Shenbagarathai, R. 2006. Ethno medicinal plants used by the Valaiyan community of Piranmalai Hills (Reserved Forests) Tamil Nadu, India- a Pilot Study, Afr. J. Traditional Complement. Altern. Med. 3: 101–114.

Sopalun, K., Thammasiri, K. and Ishikawa, K. 2010. Micropropagation of the Thai orchid *Grammatophyllum speciosum* blume. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 101: 143–150.

Tawaro, S., Suraninpong, P. and Chanprame, S. 2008. Germination and regeneration of *Cymbidium findlay sonianum* Lindl. on a medium supplemented with some organic sources. Walailak J. Sci. Tech. 5: 125–135.

Texeira da silva, J.A., Chan, M.T., Sanjaya, Chai, M.L. and Tanaka, M. 2006. Priming abiotic factors for optimal hydrid *Cymbidium* (Orchidaeceae) PLB and callus induction, plantlet formation, and their subsequent cytogenetic stability analysis. Sci Hortic.; 109: 368–378.

Vacin, E. and Went, F.W. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. Bot. Gaz. 110: 605–613.

Vij, S.P. and Aggarwal S. 2003. Regenerative competence of foliar explants: *Vanda coerulea*. Griff J. Orchid Soc. India. 17: 73–78.

Zahara, M., Datta, A. and Boonkorkaew, P. 2016. Effects of sucrose, carrot juice and culture media on growth and net CO_2 exchange rate in *Phalaenopsis* hybrid 'Pink'. Sci. Hortic. 205: 17–24.

Zahara, M., Datta, A., Boonkorkaew, P. and Mishra, A. 2017. The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis* hybrid 'Pink'. Braz. Arch. Biol. Technol. 60: e17160149**.**

Zha, X.Q., Luo, J.P., Jiang, S.T., Wang, J.H. 2007. Enhancement of polysaccharide production in suspension cultures of protocorm like bodies from *Dendrobium huoshanense* by optimization of medium compositions and feeding of sucrose. Process Biochem. 42: 344–351.

SJPS-O-M02-4PSS-041