วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 5 ฉบับที่ 3 (กรกฎาคม-กันยายน): 10-17, 2561
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 5, No. 3 (July-September): 10-17, 2018

Research article

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้หางช้างโดยใช้สารพาโคลบิวทราโซล

Tissue Culture of *Grammatophyllum speciosum* by Using Paclobutrazol

สุภาวดี รามสูตร[1*] จีระวรรณ สงเกิด[1] และ ปิยะนุช อินทรพฤกษา[1]
Ramasoot, S.[1*] Songkerd, J.[1] and Intaraphaksa, P.[1]

[1] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช 80280
[1] Biology Department Science and Technology Faculty Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Mueng District, Nakhon Si Thammarat Province, 80280

** Corresponding author: supawadee.rs@gmail.com*
Received 25 August 2017; Revised 07 February 2018; Accepted 30 March 2018

บทคัดย่อ

กล้วยไม้หางช้างเป็นกล้วยไม้ป่าอิงอาศัยขนาดใหญ่ที่สุดในโลกมีลำต้นสูงได้ถึง 3 เมตร จัดอยู่ในสกุลแกรมมาโตฟิลลัม (*Grammatoplyllum*) การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้หางช้างให้มีลำต้นเตี้ยลงเป็นที่ต้องการของตลาด ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซล (Placlobutrazol; PBZ) ที่เหมาะสมต่อการสร้างความแข็งแรงให้กับต้นกล้วยไม้หางช้าง ให้มีลักษณะข้อสั้นลงและมีลำต้นขนาดใหญ่ขึ้นในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนยอดขนาด 1.5×0.1 เซนติเมตร อายุ 1 เดือน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม PBZ เข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในสภาพให้แสงความเข้ม 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส หลังจากวางเลี้ยง 3 เดือน พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม PBZ เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 83.33% ให้ความสูงเฉลี่ยและความยาวข้อเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 4.08 ± 1.81 และ 0.34 ± 0.03 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อนำต้นที่ได้ไปชักนำรากบนอาหารแข็งสูตร MS เติมผงถ่านเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 เดือน พบว่าให้อัตราการเกิดราก 100% และให้อัตราการรอดชีวิต 100% หลังจากออกปลูกในวัสดุปลูกที่เป็นถ่านทุบ กาบมะพร้าว สแฟกนัมมอส (1:1:1) เป็นเวลา 1 เดือน
คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, กล้วยไม้หางช้าง, พาโคลบิวทราโซล

Abstract

Tiger orchid or giant orchid is the largest wild orchid in the world. The stem height reaches 3 meters and classified in genus *Grammatophyllum*. Breeding of *Grammatophyllum speciosum* to have a short stem requires for commercial demand. Thus, the objective of this study was to investigate the effect of various concentrations of placlobutrazol on height of node and stem of plantlet *in vitro*. One-month-old shoot explants (1.5×1.0 cm in size) were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0, 0.5, 1, 1.5, 2 and 3 mg/l PBZ. All culture media were added with 30 g/l sucrose and solidified with 8 g/l agar. The cultures were kept at 25±2 ℃ under light condition at 3,000 lux for 14 h photoperiod. After 3 months of culture, MS medium supplemented with 1.5 mg/l PBZ gave the highest survival rate at 83.33%, the least average of height of stem and node length were obtained at 4.08±1.81 and 0.34±0.03 cm, respectively. For root induction MS medium supplemented with 2% activated charcoal gave root formation at 100% after 2 months of culture. After hardening for 1 month with charcoal smashed, coconut shredded and sphagnum moss (1:1:1), survival rate of seedlings was obtained at 100%.
Keywords: Tissue culture, *Grammatophyllum speciosum*, paclobutrazol

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.

บทนำ

กล้วยไม้หางช้าง (*Grammatophyllum speciosum* Blume) วงศ์ Orchidaceae ชื่ออื่น กล้วยกา (สุราษฎ์ธานี) กะดำพะนาย (จันทบุรี) ตับตาน มือตับแก (ชุมพร) ว่านงูเหลือม และว่านหางช้าง อยู่ในวงศ์ย่อย EPIDENDROIDEAE กล้วยไม้ชนิดนี้เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยขนาดใหญ่ที่สุดในโลก มีลำลูกกล้วยเป็นแท่งกลม สูงได้ถึง 3 เมตร ใบ รูปแถบกว้าง ออกเรียงระนาบเดียวกัน แผ่นใบสีเขียว ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบ ขนาดใบกว้าง 5-6 เซนติเมตร ยาว 30-60 เซนติเมตร ดอก ออกเป็นช่อขนาดใหญ่ซึ่งเกิดจากปลายต้นที่ยังมีใบอยู่ ลักษณะช่อดอกจะห้อยลงหรือเป็นช่อตั้ง กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีเหลือง มีประสีน้ำตาลแกมม่วงกระจายอยู่ทั่ว ส่วนกลีบปากจะสั้นกว่ากลีบอื่น มีเส้าเกสรโค้งเล็กน้อย ฤดูออกดอก ฤดูฝน ช่วงเดือนมิถุนายน – ตุลาคม เขตกระจายพันธุ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้ของไทย พม่า ลาว เวียดนาม และมาเลเซีย (เศรษฐมันตร์, 2552) การขยายพันธุ์กล้วยไม้หางช้างด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น จะเริ่มตั้งแต่การเพาะเมล็ดและการควบคุมสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในห้องปลอดเชื้อ เป็นระยะๆ จนกว่าต้นกล้าจะโตและแข็งแรงก่อนที่จะนำออกมาเลี้ยงแบบธรรมชาติ ซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 1 ปี จากนั้นก็นำมาปลูกเลี้ยงตามธรรมชาติจนกว่าอายุครบ 5 ปี ก็จะเริ่มออกดอก (ศุภวัฒน์, 2556) การขยายพันธุ์กล้วยไม้หางช้างสามารถทำได้โดยการแบ่งแยกลำต้นออกจากกอใหญ่ จำนวนลำต้นที่แยกออกมาต้องใช้ประมาณ 2 ลำต่อกอ เป็นอย่างน้อย และควรมีลำต้นที่แก่อย่างน้อย 1 ลำ ซึ่งลำแก่อาจมีใบหรือไม่มีใบก็ได้ เพราะลำแก่เมื่อถูกแยกออกจากกอ จะแตกหน่อได้เร็วกว่าลำที่อ่อนกว่า (ณิชชา, 2556) พาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol : PBZ) เป็นสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช ใช้เพื่อลดความยาวของข้อปล้อง เพิ่มความแข็งแรงให้ต้นพืช และเร่งการออกดอก (สมบุญ, 2544) มีรายงานการวิจัย ที่เกี่ยวกับการใช้พาโคลบิวทราโซลในการเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อ เช่น กระเจียวฉัตรทิพย์ (Jala *et al*., 2012) กล็อกซิเนีย (ศริญญา และคณะ, 2008) กล้วยไม้เหลืองจันทบูร (Te-chato *et al*., 2009) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการใช้ PBZ กับกล้วยไม้หางช้าง ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการใช้สาร PBZ เพื่อสร้างความแข็งแรงให้กับต้นกล้วยไม้หางช้าง ให้มีลักษณะข้อที่สั้นลงและมีลำต้นขนาดใหญ่ขึ้นในสภาพปลอดเชื้อ

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตกล้วยไม้หางช้าง

นำยอดกล้วยไม้หางช้างอายุ 1 เดือน ที่มีความสูง 1.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 เซนติเมตร ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS เติมพาโคลบิวทราโซลเข้มข้น 0, 1, 1.5, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 5.7 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงในสภาพให้แสง ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการทดลองสูตรอาหารละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 ขวด สังเกตและบันทึก เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต, ความสูง, ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง, ความยาวข้อ, จำนวนใบ, ความกว้างใบ และปริมาณ chlorophyll ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ทำการย้ายเลี้ยงกล้วยไม้หางช้าง ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ผงถ่านเข้มข้น 0.2% วางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน เพื่อชักนำให้เกิดรากก่อนนำออกปลูก โดยบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก

2. ศึกษาชนิดของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้หางช้าง

นำต้นกล้วยไม้หางช้างที่ผ่านการชักนำรากแล้วออกปลูกโดยแบ่งชนิดวัสดุปลูกออกเป็น 8 ทรีตเมนต์ ดังนี้ ทรีตเมนต์ที่ 1 กระถางเปล่า ทรีตเมนต์ที่ 2 กาบมะพร้าว ทรีตเมนต์ที่ 3 ถ่านทุบ ทรีตเมนต์ที่ 4 สแปกนัมมอส ทรีตเมนต์ที่ 5 กาบมะพร้าว : ถ่านทุบ อัตราส่วน 1:1 ทรีตเมนต์ที่ 6 สแปกนัมมอส : ถ่านทุบ อัตราส่วน 1:1 ทรีตเมนต์ที่ 7 สแปกนัมมอส : กาบมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และ ทรีตเมนต์ที่ 8 กาบมะพร้าว : ถ่านทุบ : สแปกนัมมอส อัตราส่วน 1:1:1 ทำการทดลองทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น สังเกตและบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกล้วยไม้หางช้างหลังจากออกปลูกเป็นเวลา 1 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการนำชิ้นส่วนยอดของกล้วยไม้หางช้างที่มีขนาด 1.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

สูงสุด 83.33 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1) ส่วนชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุดคือ 43.33 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น PBZ ความเข้มข้นสูงจะมีผลให้อัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้หางช้างลดลงซึ่งผลการทดลองไม่สอดคล้องกับการรายงานของ Abolfazl และคณะ (2012) ที่รายงานว่าสาร PBZ สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของพืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้

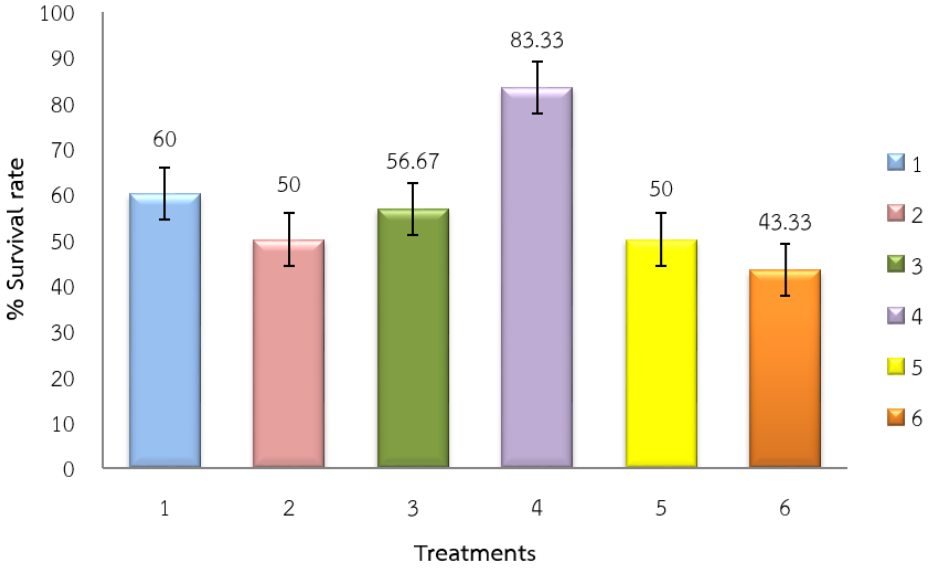

Figure 1 Percentage of survival rate of shoot explant were cultured on MS medium supplemented with various concentrations of PBZ after culturing for 1 month

Treatment 1 MS – free

Treatment 2 MS + 0.5 mg/l PBZ

Treatment 3 MS + 1 mg/l PBZ

Treatment 4 MS + 1.5 mg/l PBZ

Treatment 5 MS + 2 mg/l PBZ

Treatment 6 MS + 3 mg/l PBZ

หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดกล้วยไม้หางช้างบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าชิ้นส่วนยอดของกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ทุกระดับความเข้มข้น ใบจะมีลักษณะเรียวยาว มีสีเขียวสด และมีขนาดเล็กกว่าใบกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Figure 2) แสดงให้เห็นว่าสาร PBZ มีผลต่อการลดอัตราการเจริญของใบกล้วยไม้หางช้าง โดยสาร PBZ จัดเป็นสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชที่อยู่ในกลุ่ม Triazoles ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์สารจิบเบอ-เรลลิน ซึ่งทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช รวมทั้งการขยายขนาดของใบ (ปรารถนา และคณะ, 2549) จึงทำให้ใบกล้วยไม้หางช้างไม่สามารถขยายขนาดได้ตามปกติจึงเป็นผลให้ใบกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม PBZ มีขนาดเล็กกว่าใบกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาจเป็นไปได้ว่าต้นกล้วยไม้หางช้างที่ได้รับพาโคลบิวทราโซลมีการสร้างสารในกลุ่มจิบเบอเรลลินลดลงทำให้แสดงลักษณะใบและข้อลำต้นสั้นลง

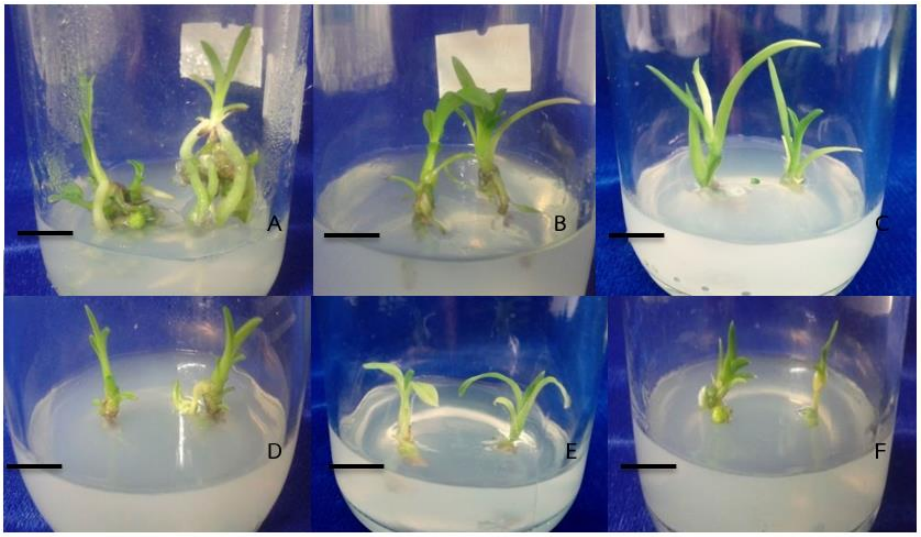

Figure 2 Characteristic of plantlets derived from shoot explant of *Grammatophyllum speciosum* were cultured on MS medium supplemented with various concentrations of PBZ after culturing for 3 months (bar = 1 cm.)

A. MS – free

B. MS + 0.5 mg/l PBZ

C. MS + 1 mg/l PBZ

D. MS + 1.5 mg/l PBZ

E. MS + 2 mg/l PBZ

F. MS + 3 mg/l PBZ

เมื่อสังเกตลักษณะการเจริญเติบโตของลำต้น พบว่าต้นกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีความสูงและความยาวข้อเฉลี่ยมากที่สุด คือ 5.25 ± 0.23 และ 0.83 ± 0.09 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีความสูงและความยาวข้อเฉลี่ยน้อยกว่าสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงและความยาวข้อน้อยที่สุดคือ 3.05 ± 0.07 และ 0.34 ± 0.03 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 1) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าสาร PBZ เป็นสารกลุ่มชะลอการเจริญเติบโตของพืช มีกลไกการทำงานในการรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน หรือออกซิน ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตช้าลง (ระวี, 2549) สอดคล้องกับการทดลองของ Mi-zhen และคณะ (2003) เมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นกล้วยไม้หางช้าง พบว่ากล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมสารเจริญเติบโต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุด คือ 0.48 ± 0.02 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) และกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.48 ± 0.01 สำหรับจำนวนใบและความกว้างของใบของต้นกล้วยไม้หางช้างพบว่าต้นกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีจำนวนใบ และความกว้างใบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 5.32 ± 0.42 และ 0.88 ± 0.04 ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยอาหารเพาะเลี้ยงเติม PBZ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดเท่ากับ 0.82 มิลลิกรัมต่อลิตร (Table 1)

หลังจากเพาะเลี้ยงกล้วยไม้หางช้างบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน ได้ทำการย้ายเลี้ยงชิ้นส่วนยอดกล้วยไม้หางช้างจากสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS ร่วมด้วย IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ เพื่อชักนำรากเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวรากเพิ่มขึ้น (Figure 3) แสดงให้

เห็นว่าสาร PBZ มีผลในการเพิ่มอัตราการเกิดรากของต้นกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ทั้งนี้เนื่องจากสาร PBZ จัดเป็นสารชะลอการเจริญเติบโตในกลุ่ม Triazoles ซึ่งจะยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ส่งผลให้การยืดตัวของข้อปล้องลดลง และเพิ่มการชักนำให้เกิดราก (ปรารถนา และคณะ, 2549) โดยรากที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นเส้นบาง ยาว มีสีขาวขุ่นซึ่งประกอบด้วยทั้งรากแก้ว และรากแขนง สอดคล้องกับการทดลองของ Danuta และคณะ (2008) ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนยอดของเบญจมาศบนอาหารสูตร MS เติม IAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ PBZ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสาร PBZ เข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร รากมีน้ำหนักสดมากที่สุด ขณะที่อาหารสูตรที่ไม่เติม PBZ มีน้ำหนักสดของรากน้อยที่สุด

Table 1 Effect various concentration of PBZ on *Grammatophyllum speciosum* growth after culturing for 3 months

PBZ (mg/l)	Height (cm)	Internode length (cm)	Stem diameter (cm)	no. of leaves (leaves/explant)	Leave length (cm)	Chlorophyll contents(mg/l)
0	5.25 ± 0.23a	0.83 ± 0.09a	0.48 ± 0.01a	5.32 ± 0.42a	0.88 ± 0.04a	0.34
0.5	4.52 ± 0.12b	0.74 ± 0.02a	0.48 ± 0.02a	5.11 ± 0.19a	0.59 ± 0.04c	0.13
1	4.36 ± 0.13b	0.58 ± 0.06b	0.39 ± 0.03b	4.25 ± 0.13b	0.72 ± 0.03b	0.68
1.5	3.05 ± 0.08c	0.34 ± 0.03d	0.37 ± 0.01c	4.04 ± 0.06b	0.66 ± 0.03b	0.60
2	3.35 ± 0.19c	0.45 ± 0.01c	0.34 ± 0.03c	3.17 ± 0.29c	0.45 ± 0.03d	0.82
3	3.34 ± 0.36c	0.44 ± 0.04c	0.33 ± 0.01c	3.82 ± 0.34b	0.44 ± 0.08d	0.47
F-test	*	*	*	*	*	ns
C.V.%	5.15	9.76	7.92	6.26	7.16	56.63

ns not significant difference ($p \geq 0.05$)

* significant difference ($p \leq 0.05$)

นำต้นกล้วยไม้หางช้างที่ผ่านการชักนำรากบนอาหารสูตร MS เติม IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่านเข้มข้น 0.2 % มาออกปลูก โดยปลูกเลี้ยงในวัสดุปลูกต่างๆ หลังจากปลูกเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นกล้วยไม้หางช้างทรีตเมนต์ที่ 1 วัสดุปลูกคือ กระถางเปล่า ต้นกล้วยไม้หางช้างแห้งตาย และทรีตเมนต์ที่ 2-8 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ (Figure 4, 5)

สรุป

ชิ้นส่วนยอดกล้วยไม้หางช้างบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 83.33 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ใบจะมีลักษณะสั้นลง มีสีเขียวสด และมีขนาดเล็กกว่าใบกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติม หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ชิ้นส่วนยอดกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูง และความยาวข้อน้อยที่สุด คือ 3.05 ± 0.08 และ 0.34 ± 0.03 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งค่าความยาวข้อเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือนชิ้นส่วนยอดกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติม PBZ ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความกว้างใบมากที่สุด คือ 0.48 ± 0.02 เซนติเมตร และ 0.88 ± 0.04 เซนติเมตร ตามลำดับ ชิ้นส่วนกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 5.32 ± 0.42 ใบต่อชิ้นส่วนพืช หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ชิ้นส่วนยอดกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ปริมาณคลอโรฟิลล์สูงที่สุดเท่ากับ 0.82 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ชิ้นส่วนยอดกล้วยไม้หางช้างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติม PBZ และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้วยไม้หางช้างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการออกปลูกเป็นเวลา 1 เดือน โดยวัสดุปลูกจำนวน 8 ทรีตเมนต์ พบว่า ส่วนการปลูกในทรีตเมนต์ที่ 1 โดยใช้กระถางเปล่า พบว่า ต้นกล้วยไม้หางช้างแห้งตาย

Figure 3 Characteristic of root formation of *Grammatophyllum speciosum* were cultured on MS medium supplemented with 1 mg/l IBA and 0.2% activated charcoal after culturing for 3 months (bar = 1 cm)

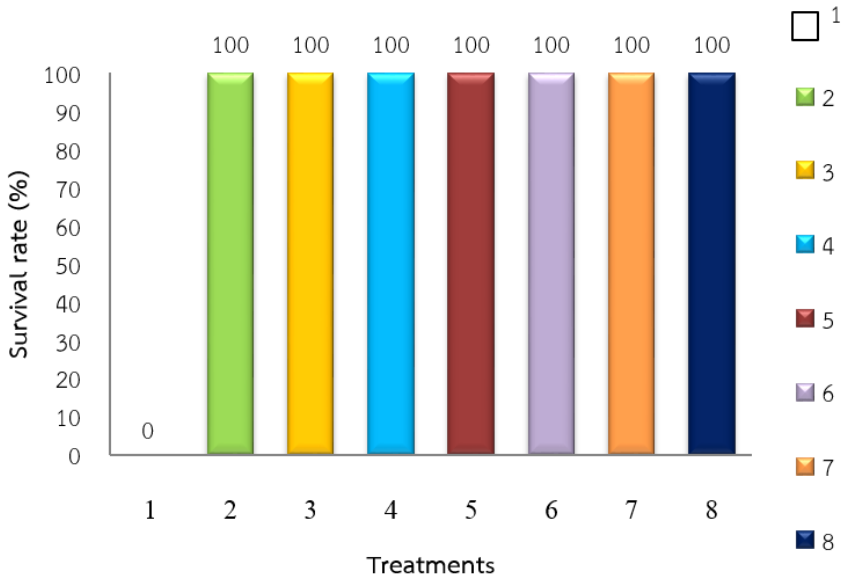

Figure 4 Percentage of survival rate of *Grammatophyllum speciosum* after 1 month of hardening

Treatment 1 potted plastic Treatment 2 chopped coconut

Treatment 3 smashed charcoal Treatment 4 sphagnum moss

Treatment 5 chopped coconut: smashed charcoal ration 1: 1

Treatment 6 sphagnum moss: smashed charcoal ration 1: 1

Treatment 7 sphagnum moss: chopped coconut ration 1: 1

Treatment 8 sphagnum moss: chopped coconut: smashed charcoal ration 1 : 1 : 1

Figure 5 Characteristic of completed plantlet of *Grammatophyllum speciosum* were cultured on various plant materials in green house after culturing for 1 months (bar = 0.5 cm.)

Treatment 1 potted plastic Treatment 2 chopped coconut
Treatment 3 smashed charcoal Treatment 4 sphagnum moss
Treatment 5 chopped coconut : smashed charcoal ration 1 : 1
Treatment 6 sphagnum moss : smashed charcoal ration 1 : 1
Treatment 7 sphagnum moss : chopped coconut ration 1 : 1
Treatment 8 sphagnum moss : chopped coconut : smashed charcoal ration 1 : 1 : 1

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากกระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช (อพ.สธ. – มรภ.นครศรีธรรมราช)

เอกสารอ้างอิง

ณิชชา แหลม. 2557. มารู้จักกล้วยไม้หางช้างกันเถอะ. กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร. 43 (2): 12-17.

เทคโนโลยีชีวภาพและพันธุกรรม. 2554. การเจริญและการพัฒนาของพืชในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. เข้าถึงได้จาก: http://vittayasat.blogspot.com. (เข้าถึงเมื่อ 15 ตุลาคม 2559).

ปรารถนา จันทร์ทา, พัชราพรรณ คงเพชรศักดิ์ และสุกานดา ดอกสันเทียะ. 2549. ฮอร์โมนพืช. เข้าถึงได้จาก: http://mylesson.swu.ac.th/bi456/Plant. (เข้าถึงเมื่อ 13 กันยายน 2559).

พีระเดช ทองอำไพ. 2006. สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช. เข้าถึงได้จาก: http://reg.ksu.ac.th/teacher/myweb /plant. (เข้าถึงเมื่อ 15 ตุลาคม 2559).

ระวี เสริฐภักดี. 2006. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับฮอร์โมนพืช. เข้าถึงได้จาก: http://www.thaigreenagro.com/aticle.aspx?id=911 (เข้าถึงเมื่อ 27 ตุลาคม 2559).

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. อุดรธานี : สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

สถาพร ดียิ่ง. 2544. ฮอร์โมนพืช (Plant Hormone). กรุงเทพฯ : สถาบันราชภัฏราชนครินทร์.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. สรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. 2557. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. เข้าถึงได้จาก: http://kanchana pisek.or.th. (เข้าถึงเมื่อ 15 ตุลาคม 2559).

อนิวรรต เฉลิมพงษ์. 2520. โรคเน่าคอดินของกล้าไม้ในโรงเรือนเพาะชำป่าไม้. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้.

Jala, A. 2013. The effect of the 2,4-Dichlorophenoxy acetic, acid, benzyl adenine and paclobutrazol, on vegetative tissue-derived somatic embryogenesis in Turmeric (*Curcuma* var. *Chattip*). International Transaction Journal of Engineering, Management, Applied Sciences & Technologies 4 (2): 105-110.

Mi-zhen, Z., Man-ni, D., Ya-ming, Q. and Jia-le, S. 2003. Effect of paclobutrazol on conservation of strawberry germplasm *in vitro.* Journal of Plant Genetic Resources 3: 36-41.

Te-chato, S., Nujeen, P. and Muangsorn, S. 2009. Paclobutrazol enhance budbreak and flowering of Friederick's Dendrobium orchid *in vitro.* Journal of Agricultural Technology 5 (1): 157-165.

SJPS-I-M02-25082017