



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2562

เรื่องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สิงโตรวงข้าวและ
การตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมาย
เอสเอสอาร์

สุภาวดี รามสูตร

ผการัตน์ โรจน์ดวง

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช

อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏ

นครศรีธรรมราช

บทคัดย่อ

หัวข้อวิจัย	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สิงโตรวงข้าวและการตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายเอสแอลอาร์
ผู้วิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร อาจารย์ผการัตน์ โรจน์ดวง
ปีงบประมาณ	2562

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สิงโตรวงข้าวในสภาพปลอดเชื้อ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระดับความเข้มข้นต่างๆของ Benzylaminopurine (BA) และNaphaleneacetic (NAA) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลสิงโตรวงข้าว จากการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว บนอาหารสูตร Murashing and Skoog (MS) เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ BA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า กล้วยไม้สิงโตรวงข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA และ NAA ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์การชักนำรากสูงสุด คือ 2.23 รากต่อชิ้นส่วน บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์จำนวนยอดสูงสุด คือ 3.93 ยอดต่อชิ้นส่วน ให้เปอร์เซ็นต์จำนวนใบสูงสุด คือ 1.83 ใบต่อชิ้นส่วน และให้เปอร์เซ็นต์จำนวนโปรโตคอร์มสูงสุด คือ 15.10 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วน และบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ความยาวต้นสูงสุด คือ 0.47 เซนติเมตร แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับทริตเมนต์อื่นๆ สำหรับการศึกษาผลของอาหารสูตร MS ที่เหมาะสมต่อการสร้างรากและยอดของกล้วยไม้สกุลสิงโตรวงข้าว จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์มกล้วยไม้สิงโตรวงข้าวขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ต่างๆ ได้แก่ อาหารสูตร MS ควบคุม , ½ MS - free , ¼ MS - free , MS - free + 0.2% ผงถ่าน , ½ MS - free + 0.2% ผงถ่าน และ ¼ MS - free + 0.2% ผงถ่าน ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กล้วยไม้สิงโตรวงข้าวที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS - free ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 97.0 เปอร์เซ็นต์ และให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด คือ 9.60 ยอดต่อชิ้นส่วน บนอาหารสูตร ½ MS - free + 0.2% ผงถ่าน ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดคือ 5.46 รากต่อชิ้นส่วน บนอาหารสูตร ¼ MS - free ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโปรโตคอร์มสูงสุด คือ 13.17 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วน บนอาหารสูตร MS - free ให้เปอร์เซ็นต์ความยาวต้นสูงสุด คือ 1.17 เซนติเมตร บนอาหารสูตร ¼ MS - free + 0.2% ผงถ่าน

ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นสูงสุดคือ 0.87 ต้น แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับพรีตเมนต์อื่นๆ

จากการนำดีเอ็นเอจากชิ้นส่วนใบของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าวที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค SSR โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ไพรเมอร์ คือ mEgCIR008 และ mEgCIR465 หลังจากเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ แล้วนำมาตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยเครื่อง Multina พบว่าไพรเมอร์ mEgCIR008 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 3 แถบ โดยให้จำนวนแถบแบบ monomorphic จำนวน 1 แถบ คิดเป็นอัตราการเกิด monomorphic เท่ากับ 33.33% ในขณะที่ไพรเมอร์ mEgCIR465 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 14 แถบ โดยให้จำนวนแถบแบบ monomorphic จำนวน 7 แถบ คิดเป็นอัตราการเกิด monomorphic เท่ากับ 50%

คำสำคัญ : กล้วยไม้สกุลสิงโตรวงข้าว, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, ความแปรปรวนทางพันธุกรรม, เครื่องหมายเอสเอสอาร์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากผู้วิจัยได้รับความช่วยเหลือ ดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีจากหลายๆ ฝ่าย ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการกองทุนสนับสนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ประสานงานและให้ข้อเสนอแนะในการวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้คำแนะนำและเสนอแนะในการวิจัย และผู้ทรงคุณวุฒิท่านอื่นๆ ที่ให้ข้อเสนอแนะจนรายงานการวิจัยเสร็จสมบูรณ์

ผศ.ดร.สุภาวดี รามสูตร

อ.ผการัตน์ โจรจน์ดวง

ตุลาคม 2562

สารบัญ

	หน้า
หน้ารับรอง	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญตาราง	iv
สารบัญภาพ	xv
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	2
1.5 คำนิยามศัพท์	2
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 กล้วยไม้	5
2.2 กล้วยไม้สิงโตรวงข้าว	10
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	14
2.4 อาหารสูตร MS	17
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	28
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี	28
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย	32
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล	34
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	35
4.1 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในการ เจริญเติบโต ของกล้วยไม้ สกุลง สิงโตรวงข้าว	35
4.2 ศึกษาผลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการสร้างรากและยอดของ กล้วยไม้สกุลง สิงโตรวงข้าว	42

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	72
5.1 สรุปผลการวิจัย	72
5.2 ข้อเสนอแนะ	76
บรรณานุกรม	77
ภาคผนวก	79

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashing และ Skoog (1962)	17
3.1 สูตรอาหาร MS ที่ใช้ศึกษาผลของระดับความเข้มข้นต่างๆของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลสิงโตรวงข้าว	24
3.2 สูตรอาหาร MS ที่ใช้ในการศึกษาผลของสูตรอาหารการชักนำรากและยอดของต้นที่กล้วยไม้สกุลสิงโตรวงข้าว	25
4.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	28
4.2 เปอร์เซ็นต์จำนวนรากกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	30
4.3 เปอร์เซ็นต์จำนวนยอดกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	33
4.4 เปอร์เซ็นต์จำนวนใบกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	36
4.5 เปอร์เซ็นต์จำนวนโปรโตคอร์มกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	38
4.6 เปอร์เซ็นต์ความยาวต้นของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0, 0.5, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	41
4.7 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว เพาะเลี้ยงขึ้นส่วนโปรโตคอร์มกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งจะมีสูตรอาหารควบคุม , 1/2 MS – free , 1/4 MS – free , MS - free + 0.2% ผงถ่าน , 1/2 MS - free + 0.2% ผงถ่าน และ 1/4 MS - free + 0.2% ผงถ่าน ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	43

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตาราง	หน้า
4.8 เพอร์เซ็นต์การชักนำยอดของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม กล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งจะมี สูตรอาหารควบคุม , 1/2 MS – free , 1/4 MS – free , MS - free + 0.2% ผงถ่าน , 1/2 MS - free + 0.2% ผงถ่าน และ 1/4 MS - free + 0.2% ผงถ่าน ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	44
4.9 เพอร์เซ็นต์การชักนำรากของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม กล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งจะมี สูตรอาหารควบคุม , 1/2 MS – free , 1/4 MS – free , MS - free + 0.2% ผงถ่าน , 1/2 MS - free + 0.2% ผงถ่าน และ 1/4 MS - free + 0.2% ผงถ่าน ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	46
4.10 เพอร์เซ็นต์การเกิดใบของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม กล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งจะมี สูตรอาหารควบคุม , 1/2 MS – free , 1/4 MS – free , MS - free + 0.2% ผงถ่าน , 1/2 MS - free + 0.2% ผงถ่าน และ 1/4 MS - free + 0.2% ผงถ่าน ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	48
4.11 เพอร์เซ็นต์การเกิดโปรโตคอร์มของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว เพาะเลี้ยงชิ้นส่วน โปรโตคอร์มกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ซึ่งจะมีสูตรอาหารควบคุม , 1/2 MS – free , 1/4 MS – free , MS - free + 0.2% ผงถ่าน , 1/2 MS - free + 0.2% ผงถ่าน และ 1/4 MS - free + 0.2% ผงถ่าน ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	50
4.12 เพอร์เซ็นต์ความยาวต้นของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม กล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งจะมี สูตรอาหารควบคุม , 1/2 MS – free , 1/4 MS – free , MS - free + 0.2% ผงถ่าน , 1/2 MS - free + 0.2% ผงถ่าน และ 1/4 MS - free + 0.2% ผงถ่าน ตามลำดับ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	51
4.13 เพอร์เซ็นต์จำนวนต้นของกล้วยไม้สิงโตรวงข้าว เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม กล้วยไม้สิงโตรวงข้าว ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งจะมี	53