นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาล และผงวุ้นต่อการสร้างโพรโทคอร์มของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร

สกุลรัตน์ แสนปุตะวงษ์ [1] และ สมปอง เตชะโต [1]

Abstact

Sanputawong, S. and Te-chato, S.

Effects of plant growth regulator, sugar and gelling agent on protocorm formation of Friederick's Dendrobium Orchid

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2007, 29(3) : 647-654

Shoot tip explants of Friederick's Dendrobium Orchid (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) were cultured on solidified Murashing and Skoog (MS) medium supplemented with various types of sugar, agar and various concentrations of 2,4-dichorophenoxyacetic acid (2,4-D) and thidiazuron (TDZ). The pH of medium was adjusted to 5.7 before autoclaving. The medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D and 2 mg/l TDZ provided the highest percentage of protocorm-like bodies (PLBs) (51%), and PLB-produced shoots (PLB-PS) (3%). The combination of 1 mg/l 2,4-D and 1.5 mg/l TDZ gave 47% PLB formation and 2% PLB-PS. A 3% sucrose resulted in the highest number of PLBs at 51.21%. Phytagel at concentration of 0.17% gave the highest percentage of PLBs (51.65%)

Key words : Friederick's Dendrobium, protocom like body, shoot tip, TDZ, gelling agent, sugar

Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand.

[1]นักศึกษาปริญญาโทหลักสูตร วท.ม. สาขาพืชศาสตร์ [2]Ph.D.(Plant Science) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail: sompong.t@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 28 มิถุนายน 2549 รับลงพิมพ์ 16 พฤศจิกายน 2549

บทคัดย่อ

สกุลรัตน์ แสนปุตะวงษ์ และ สมปอง เตชะโต

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาล และผงวุ้นต่อการสร้างโพรโทคอร์ม ของกล้วยไม้เหลือง จันทบูร

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2550 29(3) : 647-654

ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-dichorophenoxyacetic acid (2,4-D) ร่วมกับ thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้นต่าง ๆ ปรับระดับความเป็นกรดด่าง 5.7 ก่อนนึ่งฆ่าเชื้อ เติมวุ้นชนิดต่าง ๆ พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร และ TDZ เข้มข้น 2 มก./ลิตร ให้การสร้างโพรโทคอร์มสูงสุด (51%) และการสร้างยอดที่มีใบ 1 คู่ (3%) การเติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร และ TDZ เข้มข้น 1.5 มก./ลิตร ให้การสร้างโพรโทคอร์ม 47% และการเกิดยอดที่มีใบ 1 คู่ (2%) การเติมน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3% ให้การสร้างโพรโทคอร์มสูงสุด 51.21% และการเติมวุ้น Phytagel เข้มข้น 0.17% ให้การสร้างโพรโทคอร์มสูงสุด (51.65%)

กล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.) เป็นกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย จัดเป็นสกุลหวายไทยแท้ (ครรชิต, 2541) ที่มีแหล่งกำเนิดในผืนป่าแถบเทือกเขาคิชกูฏและเทือกเขาสอยดาว จังหวัดจันทบุรี ออกดอกปีละครั้ง หายาก และราคาแพง จึงทำให้เหลืองจันทบูรถูกลักลอบนำออกจากป่าเพื่อการค้าจนเกือบสูญพันธุ์ กล้วยไม้เหลืองจันทบูรเป็นกล้วยไม้สกุลเดียวกับเอื้องปากนกแก้ว เอื้องเงินแดง เอื้องดอกมะขาม เอื้องคำปอน เป็นต้น โดยปกติกล้วยไม้เหลืองจันทบูรมีลำลูกกล้วยที่ยาวบางต้นอาจยาวถึง 75 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลางต้น 1-1.5 ซม. เมื่อต้นแก่จะมีลักษณะเป็นสีเหลือง ออกดอกในช่วงเดือนมกราคมถึงเมษายน ออกดอกตามข้อของลำต้น ออกดอกเป็นช่อ ๆ ละประมาณ 2-4 ดอก ขนาดดอกโตประมาณ 3.5-5.5 ซม. ดอกมีความทน 3-4 สัปดาห์ กล้วยไม้ชนิดนี้มี 2 พันธุ์ คือพันธุ์ที่มีดอกสีเหลืองล้วน ออกดอกช่วงแรกจะมีสีเหลืองอ่อนแล้วค่อย ๆ เข้มขึ้นจนเป็นสีจำปา ปากมีสีเข้มกว่ากลีบ ที่โคนปากมีขน ซึ่งพันธุ์นี้ใกล้สูญพันธุ์หรือเป็นพันธุ์ที่หายาก ทำให้มีราคาแพง และพันธุ์ที่มีแต้มสีม่วงแดง 2 แต้ม ที่บริเวณโคนกลีบปากและโคนปากมีขนเช่นเดียวกัน (สมพร, 2547; อบฉันท์, 2543) ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยในการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณให้มากขึ้น ช่วยแก้ปัญหาการสูญพันธุ์ของกล้วยไม้ที่หายาก และเป็นการคืนกล้วยไม้สู่แหล่งปลูกทั่วไปได้อีกทางหนึ่ง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำได้โดยการเพาะเมล็ดและชักนำโพรโทคอร์มใน *Cypripedium macranthos* พันธุ์ rebunense (Shimura and Koda, 2004) หรือชักนำโครงสร้างโพรโทคอร์ม (Protocorm-like body, PLB) จากชิ้นส่วนปลายยอดของ *Cymbidium* (Huan and Tanaka, 2004) ปลายยอดของ *Vanda coerulea* (Malabadi *et al.*, 2004) ใบอ่อน *phalaenopsis* (Young *et al.*, 2000) ตาดอก *Aranda* (พัฐวดี, 2536) ปลายราก *Doritaenopsis* (Park *et al.*, 2003) เมื่อได้ PLB ที่ต้องการแล้วจึงนำมาชักนำพืชที่สมบูรณ์และย้ายลงดินปลูกต่อไป ผลสำเร็จดังกล่าวข้างต้นได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (Huan and Tanaka, 2004) หรือเติม TDZ (thidiazuron) เพียงอย่างเดียว (Park *et al.*, 2003) หรือใช้ร่วมกับ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (Lee and Lee, 2003) แหล่งของคาร์บอนที่ใช้โดยทั่วไปเป็นน้ำตาลซูโครส (Ishii *et al.*, 1998; Huan and Tanaka, 2004; Lee and Lee, 2003; Chai *et al.*, 2002) ความเข้มข้นที่ใช้อยู่ในช่วง 2-4% สำหรับวุ้นที่ใช้เพื่อเป็นตัวค้ำจุนนั้นส่วนใหญ่ใช้ Agar เพื่อชักนำโพรโตคอร์มจากการเพาะเมล็ด (Bain *et al.*, 2002) ส่วนการชักนำการสร้างโพรโตคอร์มหรือแคลลัสจากชิ้นส่วนอื่น ๆ ใช้ Phytagel (Tokuhara and Mii, 2003; Ishii *et al.*, 1998; คำนูณ, 2540)

สำหรับในกล้วยไม้เหลืองจันทบูรยังไม่มีรายงานการ

ชักนำ PLB จาก shoot tip ดังนั้นในการศึกษานี้เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ PLB จากปลายยอดโดยการดัดแปลงสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลและผงวุ้นเพื่อขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนมากต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพืช

ใช้ปลายยอดกล้วยไม้เหลืองจันทบูรจากต้นที่ดูแลในหลอดทดลอง ซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 เติมผงวุ้น Phytagel 0.17% วางเลี้ยงในที่มีแสง 14 ชั่วโมง/วัน ความเข้มแสง 1,900-2,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 26±4°C

วิธีการศึกษา

1. ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างโพรโทคอร์ม

ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0, 1 และ 2 มก./ลิตร ทุกความเข้มข้นใช้ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 มก./ลิตร เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3% ปรับระดับความเป็นกรดด่างเป็น 5.7 เติมวุ้น Phytagel เข้มข้น 0.17% เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±4°C เป็นระยะเวลา 3 เดือน บันทึกจำนวนการเกิดโพรโทคอร์มเปรียบเทียบกันในแต่ละทรีตเมนต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, completely randomized design) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's mutiple range test) ทำการทดลอง 5 ซ้ำๆ ละ 10 ขวด

2. ศึกษาผลของชนิดของน้ำตาลต่อการสร้างโพรโทคอร์ม

ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโพรโทคอร์มในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ลิตร เติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส แลกโตส แมนนิทอล และซอร์บิทอล ความเข้มข้น 3% ปรับระดับความเป็นกรดด่างเป็น 5.7 เติมวุ้น phytagel เข้มข้น 0.17% เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±4°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน บันทึกจำนวนการเกิดโพรโทคอร์มเปรียบเทียบกันในแต่ละทรีตเมนต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ทำการทดลอง 5 ซ้ำๆ ละ 10 ขวด

3. ศึกษาผลของชนิดของวุ้นต่อการสร้างโพรโทคอร์ม

ทำการวางเลี้ยงชิ้นส่วนโพรโทคอร์มในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ลิตร เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3% ปรับระดับความเป็นกรดด่างเป็น 5.7 เติมวุ้น Agar เข้มข้น 0.75% Agarose เข้มข้น 0.65% และ Phytagel เข้มข้น 0.17% เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±4°C เป็นระยะเวลา 1 เดือน บันทึกจำนวนการเกิดโพรโทคอร์มเปรียบเทียบกันในแต่ละทรีตเมนต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ทำการทดลอง 5 ซ้ำๆ ละ 10 ขวด

ผลการทดลอง

1. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างโพรโทคอร์ม

จากผลการทดลอง พบว่า การเกิดโพรโทคอร์มในอาหารแข็งสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร และ TDZ เข้มข้น 2 มก./ลิตร ส่งเสริมการสร้างจำนวนโพรโทคอร์มสีเขียวเข้ม 51% (Figure 1A) เกิดยอดที่มีใบ 1 คู่ 3% (Figure 1B) รองลงมาคือ 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร และ TDZ เข้มข้น 1.5 มก./ลิตร ส่งเสริมการสร้างจำนวนโพรโทคอร์มสีเขียวอ่อน 47% (Figure 1C) เกิดยอดที่มีใบ 1 คู่ 2% (Table 1) นอกจากนี้ TDZ เข้มข้น 2 มก./ลิตร ส่งผลให้เกิดยอดที่มีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ (Figure 1D) ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึงเลือกใช้ 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร และ TDZ เข้มข้น 2 มก./ลิตร

2. ผลของชนิดของน้ำตาลต่อการสร้างโพรโทคอร์ม

จากผลการทดลอง พบว่า อาหารแข็งสูตร MS เติม

Table 1. Effect of 2,4-D and TDZ containing MS medium on the PLB induction from shoot tip explant in Friederick's Dendrobium Orchid (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) after 3 months of culture.

Plant growth regulators (mg/l)		PLB formation (%)	PLB-derived shoots	
2,4-D	TDZ		1 pair of leaves	2 pair of leaves
0	0	8.00g	4d	2a
0	0.5	21.00d	0h	0c
0	1	19.00d	2f	1b
0	1.5	16.00e	1g	0c
0	2	0.00i	4d	1b
1	0	19.00d	6b	2a
1	0.5	32.00c	6b	0c
1	1	4.00h	7a	1b
1	1.5	47.00b	2f	0c
1	2	51.00a	3e	0c
2	0	14.00e	5c	2a
2	0.5	11.00f	5c	1b
2	1	11.00f	7a	0c
2	1.5	9.00fg	6b	0c
2	2	7.00g	7a	0c
F-test		**	**	**
CV.		8.91	12.17	39.78

**** Significant difference at P <0.01**
Means not sharing common letter within a columns differ significantly by Duncan's multiple range test.

2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2 มก./ลิตร เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% ส่งเสริมการสร้างจำนวนโพรโทคอร์มสูงสุด 51.21% (Figure 2, Figure 3A) เกิดยอดที่มีใบ 1 คู่ 3% (Figure 3B) รองลงมาคือ น้ำตาลกลูโคส 35.74% เกิดยอดที่มีใบ 1 คู่ 1% ส่วนน้ำตาลฟรุกโตสส่งเสริมการสร้างจำนวนโพรโทคอร์มต่ำสุด 1.97% (Figure 2)

3. ผลของชนิดของวุ้นต่อการสร้างโพรโทคอร์ม

จากผลการทดลอง พบว่า อาหารแข็งสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2 มก./ลิตร เติมวุ้น Phytagel เข้มข้น 0.17% ส่งเสริมการสร้างจำนวนโพรโทคอร์มสูงสุด 51.65% (Figure 4, Figure 5A) การสร้างยอดที่มีใบ 1 คู่ 3% และการสร้างยอดที่มีใบ 2 คู่ 2% (Figure 5B) รองลงมาคือ การเติมวุ้น Agar เข้มข้น 0.75% ให้การสร้างจำนวนโพรโทคอร์ม 29.67% การสร้างยอดที่มีใบ 1 คู่ 3% และการสร้างยอดที่มีใบ 2 คู่ 1% ส่วนการเติมวุ้น Agarose เข้มข้น 0.65% ให้การสร้างจำนวนโพรโทคอร์มน้อยสุด 3.26% การสร้างยอดที่มีใบ 1 คู่ 2% และไม่เกิดยอดที่มีใบ 2 คู่ (Figure 4)

วิจารณ์

การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้จากโพรโทคอร์มในอาหารแข็งสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ TDZ จากชิ้นส่วนปลายยอด สามารถสร้างโพรโทคอร์มได้สูงสุด และยังช่วยในการสร้างยอดและใบ เช่นเดียวกับ Malabadi และคณะ (2004) รายงานการใช้

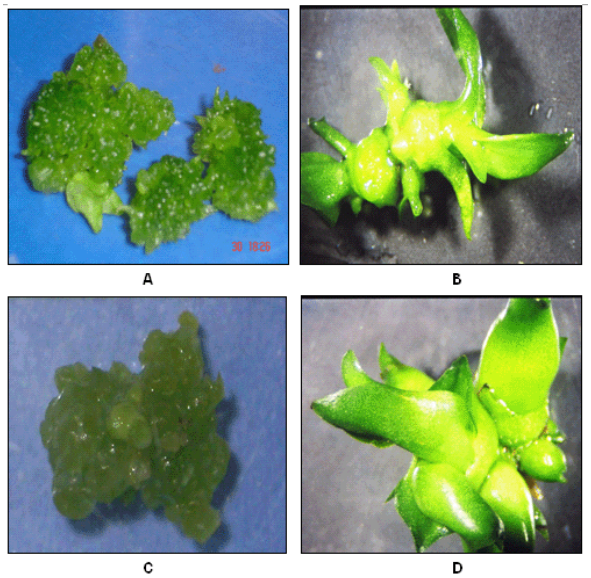

Figure 1. Induction of PLBs from shoot tip and plant regeneration after 3 months. (A) MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D and 2 mg/l TDZ. (B) 1 mg/l 2,4-D and 1.5 mg/l TDZ. (C) Shoot development on 1 mg/l 2,4-D and 2 mg/l TDZ. (D) Shoot development on 2 mg/l TDZ.

(Color figure can be viewed in the electronic version)

TDZ ช่วยเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์มของ *Vanda coerulea* โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดบนอาหารสูตร VW (Vacin & Went) ซึ่งส่งเสริมการสร้างโพรโทคอร์มสูงสุด และยังช่วยในการสร้างยอดและใบอีกด้วย Park และคณะ (2003) รายงานการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มจากชิ้นส่วนปลายรากของ *Doritaenopsis* ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ, BA และ Zeatin ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน โดยใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกัน พบว่าการใช้ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2.3 μM เพียงชนิดเดียวให้การเจริญและพัฒนาการของโพรโทคอร์มสูงสุด Lee และ Lee (2003) รายงานการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มของ *Cypripedium formosanum* ในอาหารสูตร ½ MS เติม 2,4-D (0.45-4.52 μM) และ TDZ (0.45-4.54 μM) ให้การเจริญเติบโตและพัฒนาการของโพรโทคอร์มสูงสุด อย่างไรก็ตาม การศึกษาในบางพืชไม่ต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตก็สามารถชักนำการสร้างโพรโทคอร์มได้ Huan และ Tanaka (2004) รายงานการย้ายเลี้ยงชิ้นส่วนของ

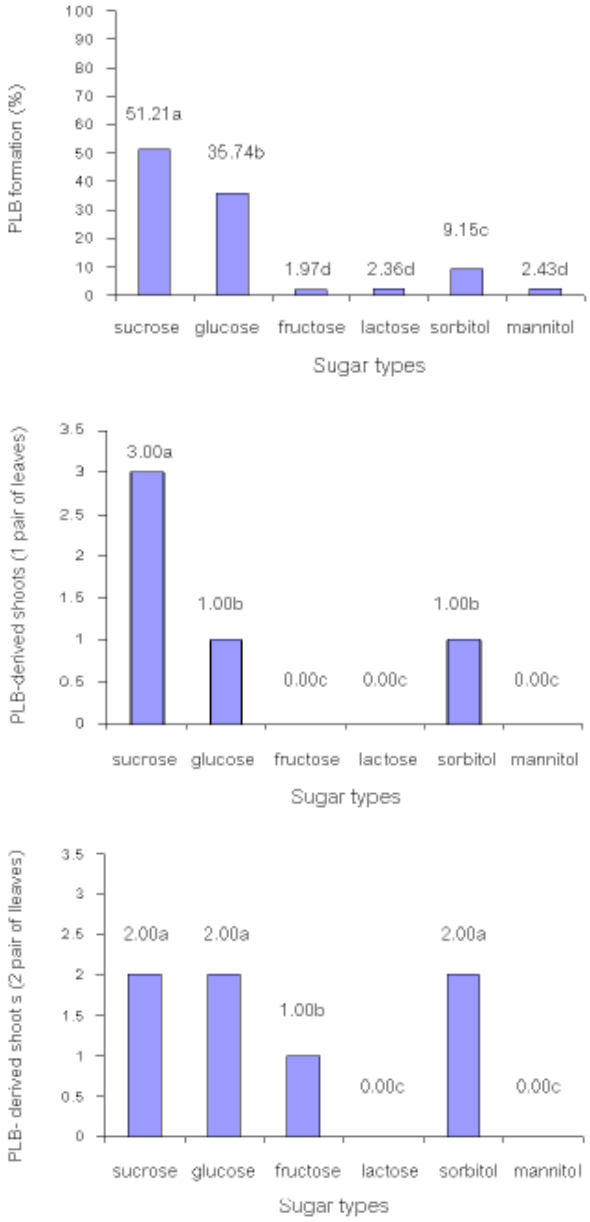

Figure 2. Effect of carbon source on the PLB formation of Friederick's Dendrobium Orchid (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) in MS medium with 1 mg/l 2,4-D and 2 mg/l TDZ after 1 month of culture.

แคลลัสบนอาหารสูตร VW ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมน้ำมะพร้าว หรือน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งหรือเติมร่วมกัน พบว่า การเติมซูโครสมีส่วนช่วยในการ

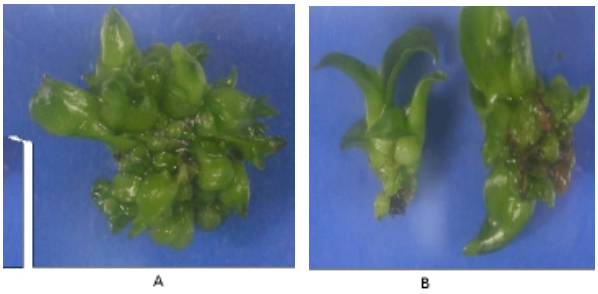

Figure 3. PLB formation from shoot tip of Friederick's Dendrobium Orchid on MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D, 2 mg/l TDZ and 3% sucrose after 1 months of culture (A) and PLB-produced shoots (B).

(Color figure can be viewed in the electronic version)

พัฒนาเป็นโพรโทคอร์มได้ดีโดยไม่จำเป็นต้องเติมน้ำมะพร้าวก็ได้

ชนิดของน้ำตาลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มมีผลต่อพัฒนาการของโพรโทคอร์มโดยทั่วไปใช้น้ำตาลซูโครส 2-9% Teo และ Wong (1978) รายงานผลการศึกษาชนิดของน้ำตาล ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และแมนนิทอล ต่อการเจริญของโพรโทคอร์มของกล้วยไม้สกุล *Holttumara* ซึ่งเป็นกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างอะแรนด้ากับเรแนนเธอร่า บนอาหารสูตร Knudson C (KC) ร่วมกับการเติมน้ำมะพร้าว พบว่าชนิดของน้ำตาลให้ผลในการเจริญของโพรโทคอร์มไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การศึกษานี้พบความแตกต่างระหว่างชนิดของน้ำตาลที่ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ ฟรุคโตส แลคโตส แมนนิทอล และซอร์บิทอล ให้อัตราการสร้างโพรโตคอร์มต่ำมาก ซูโครสให้ผลดีที่สุด Ishii และคณะ (1998) รายงานการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มของฟาแลนนอปซีสในอาหารสูตร VW ที่มีการเติมซูโครส ที่ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 และ 8% พบว่าการเติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 4% ให้การเจริญและพัฒนาสูงสุด จากนั้นจึงนำไปชักนำแคลลัสต่อไปโดยใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 2% ซึ่งให้ปริมาณแคลลัสสูงสุด Lee และ Lee (2003) ใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 2% ในการชักนำโพรโทคอร์มจากการเพาะเมล็ดของ *Cypripedium formosanum* คำนูณ (2540) ใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 2% ในการชักนำโพรโทคอร์มจากตาดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีส และแวนด้า พบว่าสามารถชักนำโพรโทคอร์มได้ในปริมาณมากเช่นกัน

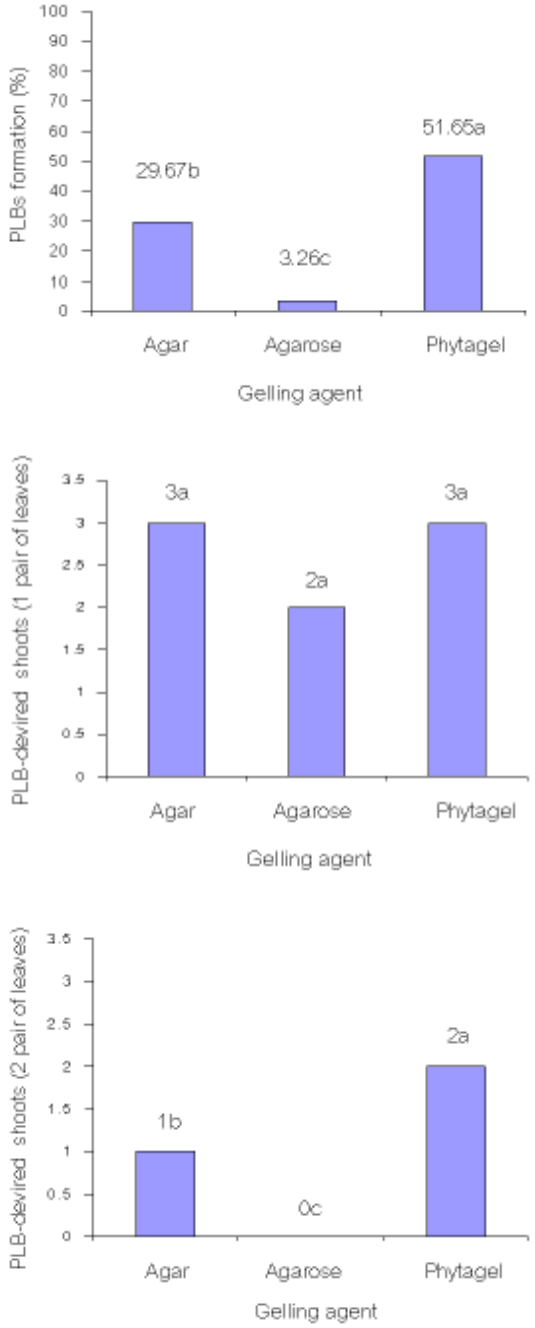

Figure 4. Effect of gelling agent concentration on the PLB formation of Friederick's Dendrobium Orchid (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) on MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D, 2 mg/l TDZ and 3% sucrose after culture for 1 month.

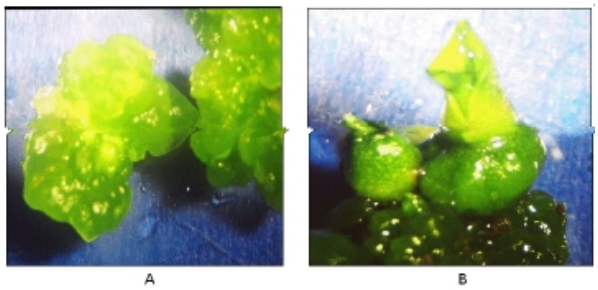

Figure 5. Development of PLB from shoot tip of Friederick's Dendrobium Orchid (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) on MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D, 2 mg/l TDZ, 3% sucrose with 0.17% phytagel (A) and regeneration into plantlets (B).

Chai และคณะ (2002) ใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 2% ในการชักนำโพรโทคอร์มจากตาที่ก้านดอกของ *Phalaenopsis* แต่การเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์มต้องใช้น้ำตาลซูโครส 4% Nayak และคณะ (2002) ใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% ในอาหารเพื่อชักนำ และเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์มของ *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. และ *Dendrobium nobile* Lindl. ในทำนองเดียวกับการศึกษานี้ พบว่า การชักนำและเพิ่มปริมาณของโพรโทคอร์มสูงสุดของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรคือ น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3%

ชนิดของวุ้นที่ใช้มีผลต่อพัฒนาการของโพรโทคอร์มแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดและชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วย Ishii และคณะ (1998) รายงานการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มในอาหารสูตร VW ที่มีการเติมวุ้น Phytagel และ Agar พบว่า การเติมวุ้น Phytagel 2% ให้พัฒนาการของโพรโทคอร์มสูงสุด เช่นเดียวกับ คำนูณ (2540) ที่เพาะเลี้ยงตาดอกกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีสและแวนด้า สำหรับในการศึกษานี้ Phytagel ก็ให้ผลดีเช่นเดียวกัน แต่ใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าคือ 0.17% อย่างไรก็ตาม Bian และคณะ (2002) รายงานการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มจากเมล็ดของ *Dendrobium candidum* ในอาหารสูตร MS เติม Agar 0.8 % เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จึงย้ายลงในอาหารเหลวสูตร ½ MS พบว่า โพรโทคอร์มสามารถเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น นอกจาก Phytagel ส่งเสริมการสร้าง PLB แล้ว ยังมีรายงานส่งเสริมการสร้างแคลลัสด้วย Tokuhara และ Mii (2003) รายงานการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มจากชิ้นส่วนปลายยอดจากตาที่ก้านดอกของฟาแลนนอปซีสในอาหารที่เติม Phytagel 2% ว่าให้การพัฒนาไปเป็นแคลลัสสูงสุด

สรุป

1. สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะต่อการสร้างจำนวนโพรโทคอร์ม คือการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 2 มก./ลิตร
2. ชนิดของน้ำตาลที่ส่งเสริมการสร้างจำนวนโพรโทคอร์ม คือ น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3%
3. ชนิดของวุ้นที่ส่งเสริมการสร้างจำนวนโพรโทคอร์ม คือ วุ้น Phytagel เข้มข้น 0.17%

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ครรชิต ธรรมศิริ. 2541. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: อัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. 230 น.

คำนูณ กาญจนภูมิ. 2540. การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้โดยเทคโนโลยีโปรโตพลาสต์ฟิวชั่น. สงขลา : รายงานการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พัฐวดี ทองสีดำ. 2536. การแยกและเลี้ยงโปรโตพลาสต์อะแรนด้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. 2547. กล้วยไม้กับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) 19 : 37-40.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. เหลืองจันทบูร. **ใน** กล้วยไม้เมืองไทย หน้า 200-201. กรุงเทพฯ : บ้านและสวน.

Bian, H. W., Wang, J.H., Lin, W.Q., Han, N. and Zhu, M.Y. 2002. Accumlation of soluble sugars, heat-

stable proteins and dehydrins in cryopreservation of protocorm-like bodies of *Dendrobium candidum* by the air-dring method. J. Plant Physiol 159 : 1139-1145.

Chai, M.L., Xu, C.J., Senthil, K.K., Kim, J.Y. and Kim, D.H. 2002. Stable transformation of protocorm-like bodies in *Phalaenopsis* orchid mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Scientia Horticulturae 96 : 213-224.

Huan, L.V.T. and Tanaka, M. 2004. Callus induction from protocorm-like bodies segments and plant regeneration in *Cymbidium* (Orchidaceae). J. Hortic. Sci. Biotech. 79 : 406-410.

Ishii, Y., Takamura, T., Goi, M. and Tanaka, M. 1998. Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis*. Plan Cell Reports 17 : 446-450.

Lee, Y.I. and Lee, N. 2003. Plant regeneration from protocorm-derived callus of *Cypripedium fomosanum*. **In** *In Vitro* Cellular and Developmental Biology - Plant (ed S. Guha-Mukherjee) Vol. 39, pp. 475-479. Taiwan : Department of Horticulture, National Taiwan University.

Marabadi, R.B., Mulgund, G.S. and Nataraja, K. 2004. Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, an endangered orchid using thidiazuron. Plant Cell Tiss. and Org. Cult. 76 : 289-293.

Nayak, N.R., Sahoo, S., Patnaik, S. and Rath, S.P. 2002. Establishment of thin cross section (TCS) culture method for rapid micropropagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. and *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). Scientia Horticulturae 94 : 107-116.

Park, S.Y., Murthy, H.N. and Paek, K.Y. 2003. Protocorm-like body induction and subsequent plant regeneration from root tip cultures of *Doritaenopsis*. Plant Science 164 : 919-923.

Shimura, H. and Koda, Y. 2004. Micropropagation of *Cypripedium macranthos* var. rebunense though protocorm-like bodies derived from mature seeds. Plant Cell Tiss. and Org. Cult. 78 : 273-276.

Teo, C.K.H. and Wong, C.H. 1978. Effect of sucrose on the growth of protocorms of *Holttumara* Lock TucK Yip. The Orchid Rev. 86 : 285-289.

Tokuhara, K. and MII, M. 2003. Highly-efficient somatic embryogenesis from cell suspension cultures of *Phalaenopsis* orchids by adjusting carbohydrate sources. **In** *In Vitro* Cellular and Developmental Biology - Plant (ed. D.D. Songstad) Vol. 39, pp. 635-639. Japan : Faculty of Horticulture, Chiba University.

Young, P.S., Murthy, H.N. and Yoeup, P.K. 2000. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor sys and subsequentplant regeneration in *Phalaenopsis*. Plant Cell Tiss. and Org. Cult. 63 : 67-72.