



# ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวน PLBs ของกล้วยไม้สกุล *Psygmorchis pusilla* (L.) Dodson & Dressler ในสภาพปลอดเชื้อ

Study on suitable culture media for PLBs multiplication of *Psygmorchis pusilla* (L.) Dodson & Dressler *in vitro*

## บทนำ

กล้วยไม้สกุล *Psygmorchis pusilla* (L.) Dodson & Dressler มีถิ่นกำเนิดแถบทวีปอเมริกาใต้ ช่อดอกสีเหลือง เป็นช่อกระจุกแน่น เกิดจากบริเวณซอกใบด้านล่าง โดยปกติช่อกระจุกแต่ละช่อจะออกดอกเพียงครั้งละหนึ่งดอก แต่สามารถออกดอกได้หลายครั้งติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน เป็นที่นิยมในประเทศไต้หวันเนื่องจากมีขนาดเล็ก ออกดอกได้ตลอดทั้งปีและมีสีสวยงาม การปลูกเลี้ยงดูแลได้ง่าย สามารถออกดอกได้ในสภาพปลอดเชื้อ แต่มีอัตราการเพิ่มจำนวนและการเจริญเติบโตช้า Vaz and Kerbauy (2008) รายงานการใช้อาหารสูตร VW ดัดแปลงที่ปรับลดปริมาณไนโตรเจนลง จากปริมาณปกติ ทำให้เกิดความยุ่งยากในการเตรียมสารละลายเข้มข้นแยกต่างหากจากสูตรอาหารตามวิธีมาตรฐานที่ใช้ร่วมกันในห้องปฏิบัติการดังนั้นการพัฒนาสูตรอาหารที่สะดวกในการใช้งานและต้นทุนไม่สูงจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ชนิดนี้ ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ทดลองใช้อาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin & Went, 1949) หรือสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่มีการเพิ่มปุ๋ย Hyponex<sup>®</sup> หรือน้ำมะพร้าวร่วมกับสูตรอาหารในกรรมวิธีต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวน PLBs รวมถึงสังเกตลักษณะการเจริญเติบโตและการพัฒนา PLBs ของกล้วยไม้ *P. pusilla* ที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารแต่ละกรรมวิธี

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### พืชทดลอง

เพาะเมล็ดจากฝักกล้วยไม้ *Psygmorchis pusilla* ที่มีอายุฝัก 180 วัน บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร Kelcogel<sup>®</sup> 2.5 กรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 90 วัน เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร จำนวน 10 หยดลงบนอาหารกึ่งแข็งในขวดเพาะเลี้ยงเดิม และเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 90 วัน (Feng & Chen, 2014) จนกระทั่งเมล็ดงอก

### สูตรอาหาร

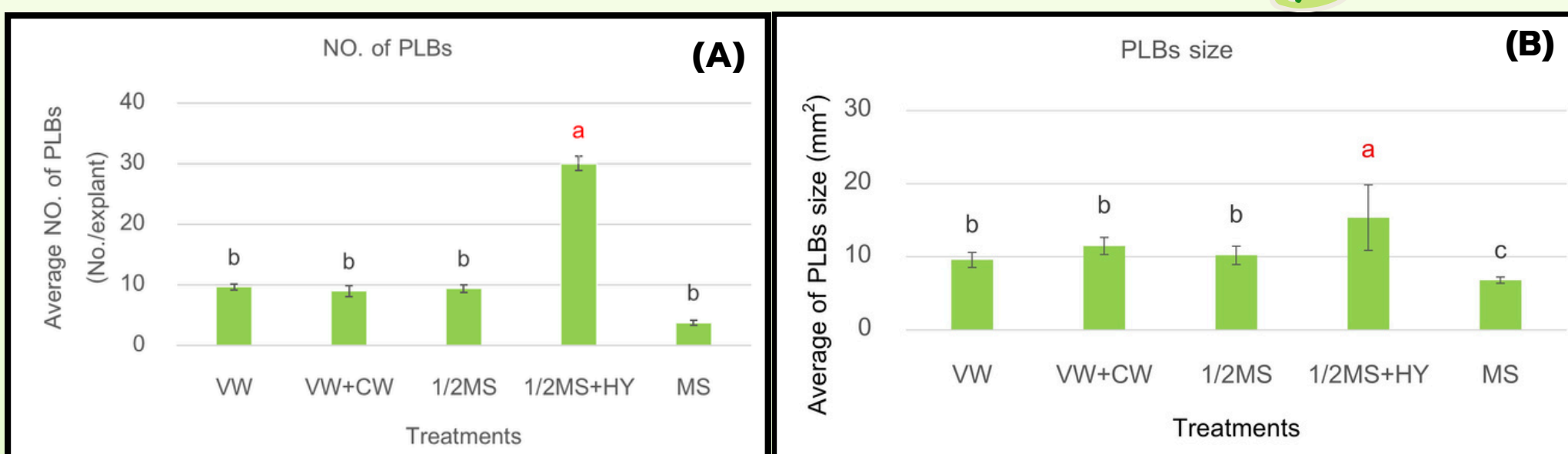
นำโปรโตคอร์มของต้นกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 180 วัน ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็ง 5 กรรมวิธี ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 : อาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร VW
- กรรมวิธีที่ 2 : อาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร
- กรรมวิธีที่ 3 : อาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร ½ MS
- กรรมวิธีที่ 4 : อาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร ½ MS + ปุ๋ย Hyponex<sup>®</sup> 1 กรัมต่อลิตร
- กรรมวิธีที่ 5 : อาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร MS

### การออกแบบการทดลอง

ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ขวด ขวดละ 3 โปรโตคอร์ม

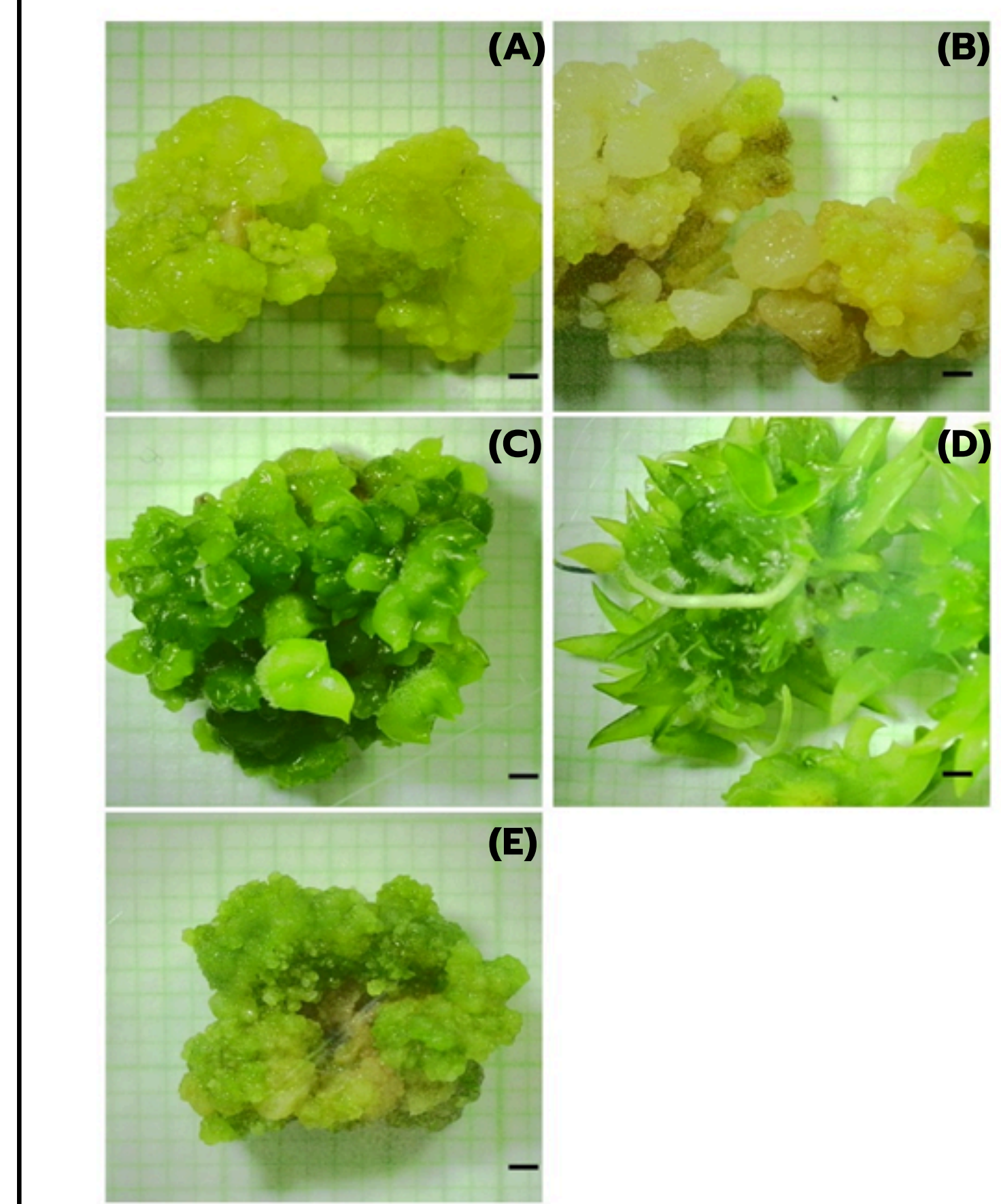
## ผลและวิจารณ์การทดลอง



**Fig.1** Effect of each medium on number of PLBs (A) and PLBs size (B) of *P. pusilla* after culturing for 90 days. Different letters above bars indicate significantly differences among treatments ( $p < 0.05$ ).

**Table 1** Effects of culture media on number and size of *P. pusilla* PLBs after culturing for 90 days

Treatments	PLBs size (mm <sup>2</sup> )	NO. of PLBs
VW	9.58±1.05 <sup>b</sup>	9.71±0.51 <sup>b</sup>
VW+Coconut water	11.47±1.18 <sup>b</sup>	9.02±0.88 <sup>b</sup>
1/2MS	10.2±1.25 <sup>b</sup>	9.47±0.65 <sup>b</sup>
1/2MS+Hyponex <sup>®</sup>	15.38±4.47 <sup>a</sup>	30.09±1.16 <sup>a</sup>
MS	6.8±0.45 <sup>c</sup>	6.8±0.38 <sup>c</sup>
F-test	**	**
CV	48.2	118.97



**Fig.2** PLBs derived from *P. pusilla* protocorms after culturing for 90 days on: VW medium (A); VW supplemented with coconut water 150 ml/L (B); ½ MS medium (C); ½ MS supplemented with Hyponex<sup>®</sup> 1 g/L (D); MS medium (E). Scale bar: 1 mm

## สรุป

โปรโตคอร์มกล้วยไม้ *P. pusilla* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งกรรมวิธีที่ 4 (½ MS ที่เติมปุ๋ย Hyponex<sup>®</sup> 1 กรัมต่อลิตร) พบว่าสามารถพัฒนาเป็นกลุ่ม PLBs ที่จำนวน 30.09 PLBs และมีขนาดเฉลี่ย 15.38 ตารางมิลลิเมตร ซึ่งมากกว่าค่าเฉลี่ยของ PLBs ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ สีของ PLBs เมื่อเทียบกับ RHS color chart ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสีเขียวอ่อน YELLOW-GREEN GROUP 144B และ PLBs มีการพัฒนาเป็นยอดขนาดเล็กพร้อมที่จะพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้

### เอกสารอ้างอิง

- Feng, J. H., & Chen, J. T. (2014). A novel *in vitro* protocol for inducing direct somatic embryogenesis in *Phalaenopsis aphrodite* without taking explants. *ScientificWorldJournal*, 2014, 263642.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3).
- Vacin, E. F., & Went, F. (1949). Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette*, 110(4), 605-613.
- Vaz, A. P. A., & Kerbauy, G. (1998). Effects of mineral nutrients on *in vitro* growth and flower formation of *Psygmorchis pusilla* (Orchidaceae). XXV International Horticultural Congress, Part 10: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding-In Vitro 520.

เขมชาติ ศรีบัว<sup>a</sup>, เชนมาลัย วงศ์ชาวจันท์<sup>a</sup>  
Khemchart Sribua<sup>a</sup>, Shermarl Wongchaochant<sup>a,\*</sup>  
<sup>a</sup>ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900  
<sup>a</sup>Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand  
\*Corresponding author. E-mail address: agrsmw@ku.ac.th