ประสิทธิภาพของอาหารเหลวต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องมันปู (*Robiquetia succisa*)

Efficiency of liquld media culbres on growth and development of *Robiquetia succisa* (Lindl.) Seidenf. & Garay

หนึ่งฤทัย จักรศรี[1], อรญา คำมะปะนา[1], อนุพันธ์ กงบังเกิด[2] และ ธนากร วงษศา[1*]

Nuengruethai Jacksri[1], Aoraya Kammapana[1], Anupan Kongbangkerd[2] and Thanakorn Wongsa[1*]

Received: 21 October 2024 ; **Revised**: 12 December 2024 ; **Accepted**: 15 January 2025

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของอาหารเหลว Murashige and Skoog (1962) สำหรับการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องมันปูแบบวางนิ่งและเขย่า ด้วยการเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร ร่วมกับ 6-Benzylaminopurine (BA) และ 1-Naphthalene acetic acid (NAA) (ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า วิธีที่มีประสิทธิภาพในการช่วยชักนำให้การเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ (PLBs) (เฉลี่ยมากกว่า 30 โปรโตคอร์มต่อชิ้นส่วนต้นอ่อน) จากโครงสร้างรากของต้นอ่อนเอื้องมันปูได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารเหลวที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร เลี้ยงแบบวางนิ่ง อีกทั้งต้นกล้าเอื้องมันปูที่นำออกปลูกโดยไม่มีวัสดุปลูกมีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด 90% เมื่อเทียบกับการใช้ถ่านไม้หรือสแฟกนั่มมอสเป็นวัสดุปลูก เมื่อเลี้ยงในสภาพโรงเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

คำสำคัญ: เอื้องมันปู, อาหารเหลว, โปรโตคอร์มไลค์บอดี้

Abstract

The study of efficiency of Murashige and Skoog (1962) liquid medium for *in vitro* culture of young seedlings of *Robiquetia succisa* (Lindl.) Seidenf. & Garay in static and shaking culture conditions, supplemented with 150 ml/l coconut water and various concentrations of 6-Benzylaminopurine (BA) and 1-Naphthalene acetic acid (NAA) (0, 0.5, 1.0, and 2.0 mg/l) for 12 weeks. The results indicated that culturing young seedlings in the liquid medium supplemented with 150 ml/l coconut water, using the static culture method, was the most effective in inducing the proliferation of protocorm-like bodies (PLBs) (more than 30 PLBs per explant in average) from the root segments of *R. succisa* seedlings. Additionally, *R. succisa* plantlets developed without planting materials exhibited the highest survival rate of 90% compared to those grown with lump charcoal or sphagnum moss as planting materials when cultivated in a greenhouse for 12 weeks.

Keywords: *Robiquetia succisa*, liquid culture media, protocorm-like bodies

[1] โปรแกรมวิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร, กำแพงเพชร 62000

[2] หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

[1] Program in Biology, Faculty of Science and Technology. Rajabhat Kamphaeng Phet University, Kamphaeng Phet, 62000 Thailand.

[2] Plant Tissue Culture Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok 65000

* Corresponding author, e-mai: thanakorn_wo@kpru.ac.th

บทนำ

กล้วยไม้จัดเป็นทรัพยากรทางชีวภาพที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตรอยต่อของเขตพฤกษภูมิศาสตร์ 3 เขต คือเขตพฤกษภูมิศาสตร์ Indo-Burmese, Indo-Chinese และ Malesian (วรดลย์ แจ่มจำรูญ, 2558) ส่งผลให้ประเทศไทยมีความหลากหลายของกล้วยไม้พื้นเมืองหลากหลายชนิด โดยเอื้องมันปูเป็นกล้วยไม้พื้นเมืองของไทย เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย มีช่อดอกห้อยลงยาวประมาณ 20 เซนติเมตร ดอกสีเหลืองจำนวน 20-30 ดอก กลีบเลี้ยงและกลีบดอกสีเหลืองมีประสีน้ำตาลแดงกระจาย กลีบปากมีเดือยดอกยื่นออกเป็นกระเปาะ ปลายกลีบปากสั้นเป็นติ่งแหลมสีเหลืองและมีขีดสีแดงคาดบริเวณขอบกลีบปากทั้งสองข้าง ออกดอกเดือนพฤษภาคม พบได้ในป่าแทบทุกภาคของประเทศไทย ถึงแม้ว่ามีการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณของกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ มีรายงานความสำเร็จแล้วในกล้วยไม้ในกลุ่ม *Vanda* spp. และสกุลใกล้เคียงหลายชนิดแล้ว เช่น *V. cristata* Wall. ex Lindl (Pathak *et al*., 2002) *V. brunnea* Rchb.f. (Nowakowska *et al*., 2022) และรูปแบบการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เช่น *V. coerulea* Griff ex. Lindl. (Seeni & Latha, 2000) และกล้วยไม้ *Brassavola nodosa* ‘Remar’ x ‘Mas Mejor’ (Xu *et al*., 2022) แต่มีเพียงรายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสกุล *Robiquetia* เพียงรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนใบ *R. spathulata* (Bhowmik & Rahman, 2021) เท่านั้น ดังนั้นการศึกษาถึงกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในกล้วยไม้แต่ละชนิด จึงมีความจำเป็นต่อการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นเอื้องมันปูในสภาพปลอดเชื้อ เป็นแนวทางในการทวีจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น สำหรับการผลิตต้นพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์หรือการนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ต่อไป

การทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นอ่อนเอื้องมันปู

ต้นอ่อนเอื้องมันปูในสภาพปลอดเชื้อซึ่งต้นอ่อนมีใบ 1-2 ใบ ราก 1-2 ราก ขนาด 1.0-1.5 เซนติเมตร (cm) โดยนำต้นอ่อนเอื้องมันปูตัดรากออกทั้งหมด นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ดัดแปลงเติมน้ำมะพร้าว (coconut water; cw) 150 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมร่วมกับ 6-Benzylaminopurine (BA) และ 1-Naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหารขวดละ 15 มิลลิลิตร ขวดละ 4 ต้น สูตรละ 5 ขวด ทำการวางเลี้ยงแบบวางนิ่ง (static) และเขย่า (shaking) บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายใต้สภาวะแสง 10 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 โมลล์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 12 สัปดาห์ การบันทึกผลการทดลอง ทำการบันทึกจำนวนราก ความยาวราก ความยาวของใบ ความกว้างของใบ จำนวนโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ (Protocorm-like bodies; PLBs)

การทดลองที่ 2 ศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการออกปลูกในสภาพโรงเรือน

นำต้นเอื้องมันปูออกจากขวดแล้วล้างวุ้นอาหารออกให้หมด นำต้นอ่อนปลูกลงในกระถางพลาสติกทรงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว โดยแปรผันวัสดุปลูก 3 ทรีตเมนต์ คือ ไม่ใช้วัสดุปลูก ใช้วัสดุปลูกเป็นถ่านไม้ และใช้สแฟกนั่มมอสกรรมวิธีละ 30 ต้น รดน้ำวันละ 1 ครั้ง คลุมกระถางด้วยถุงพลาสติกเพื่อปรับสภาพความชื้น และเปิดออกเมื่อสังเกตว่ามีความชื้นมากเกินไป บันทึกการรอดชีวิตของต้นอ่อนเอื้องมันปูทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่บันทึกได้หาค่าเฉลี่ย ค่าความแปรปรวนของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ชิ้นส่วนต้นอ่อนเอื้องมันปูที่เลี้ยงบนอาหารเหลวมีการเจริญแตกต่างกันไปในแต่ละสภาวะการเพาะเลี้ยง (Figure 1) โดยพบว่าต้นอ่อนเอื้องมันปูที่วางเลี้ยงแบบวางนิ่งมีการสร้างรากออกมาในทุกกลุ่มทดลอง ให้ผลเช่นเดียวกับการเลี้ยงแบบเขย่า อีกทั้งการเติมน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียว หรือเติมร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (BA และ NAA) ช่วยชักนำให้ต้นอ่อน

เอื้องมันปูมีการพัฒนาของรากเป็นจำนวนมากแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยต้นอ่อนเอื้องมันปูที่เลี้ยงในอาหารด้วยการวางนิ่งส่งผลให้ต้นอ่อนพัฒนารากมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด 4.8 รากต่อต้น (Figure 2)

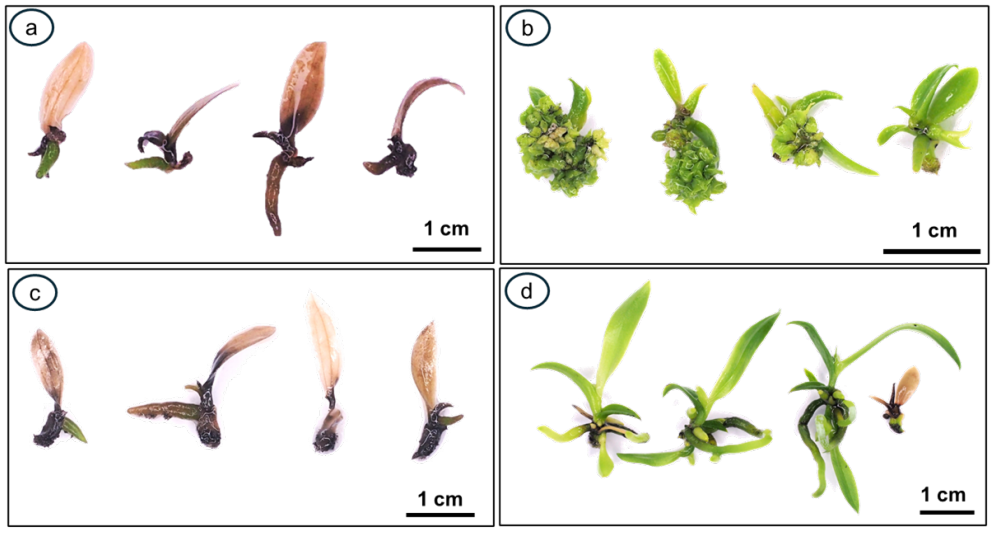

Figure 1 Some treatments of *R. succisa* plantlets were grown static (a: MS liquid medium and b: MS added 150 ml/l CW) and shaking conditions (c: MS liquid medium and d: MS added 150 ml/l CW) for 12 weeks, the scale bar is 1 cm.

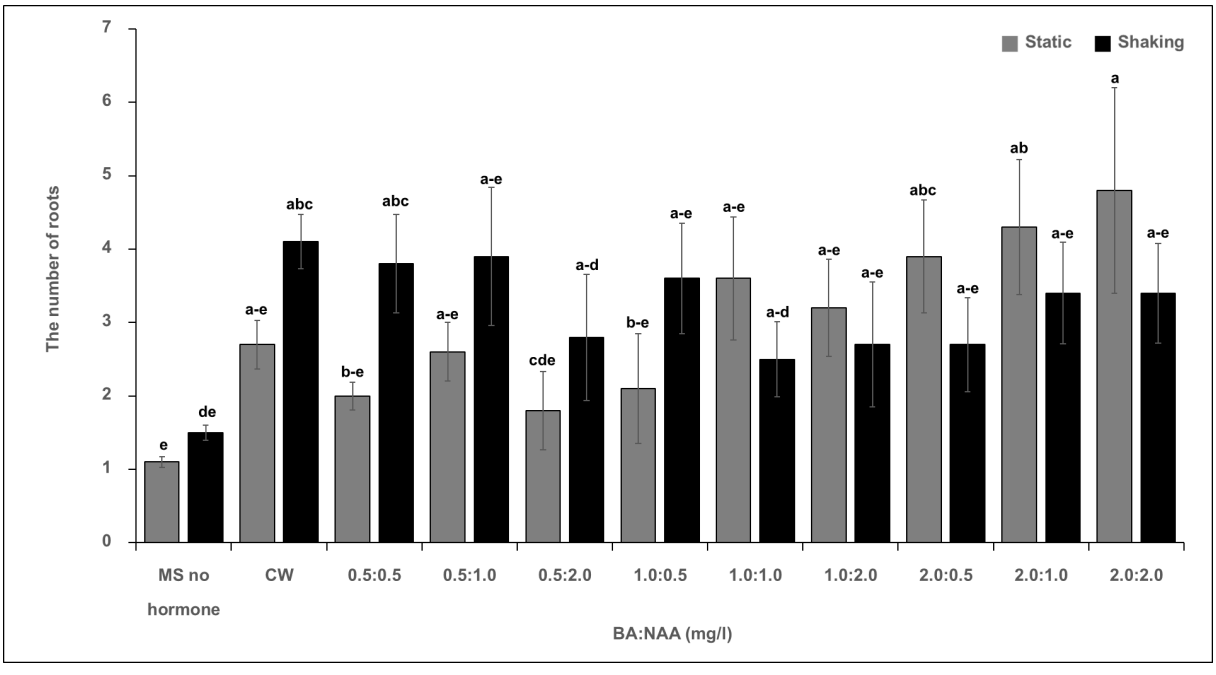

Figure 2 The number of roots of *R. succisa* plantlets grown in MS liquid medium supplemented with growth regulators and grown under static and shaking conditions for 12 weeks.

การเลี้ยงชิ้นส่วนต้นอ่อนเอื้องมันปูที่เลี้ยงบนอาหารเหลวนั้นส่งผลให้ต้นอ่อนมีการตอบสนองเกิดการเจริญกลับเป็นพืชต้นใหม่ โดยบริเวณโคนต้นและรากของต้นอ่อนเกิดการสร้างโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ (Figure 3) และไม่พบการเกิดแคลลัสหรือเจริญกลับเป็นโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ที่บริเวณแผ่นใบ โดยต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่มีการเติมน้ำมะพร้าวหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช พบว่าต้นที่ในสภาวะการเลี้ยงแบบวางนิ่งไม่พบการสร้างโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ แต่พบการสร้างโปรโตคอร์มไลค์บอดี้จำนวนเฉลี่ย 1.8 โปรโตคอร์มไลค์บอดี้ต่อชิ้นส่วนของต้นอ่อน เมื่อเลี้ยงในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า และพบว่ามีการสร้างโปรโตคอร์มไลค์บอดี้เพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อมีการเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร ทั้งในสภาวะการเลี้ยงทั้งแบบวางนิ่งและแบบเขย่า (32.8 และ 25.5 โปรโตคอร์มไลค์บอดี้ต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ) อีกทั้งการ

เพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (BA ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่งผลให้มีการพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ได้แตกต่างกันในแต่ละสภาวะการเลี้ยง โดยต้นอ่อนที่เลี้ยงในสภาวะการเลี้ยงแบบวางนิ่ง ต้นอ่อนสามารถเกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ได้เป็นจำนวนแตกต่างกัน ซึ่งอาหารเหลวที่เติมน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียว (32.8 โปรโตคอร์มไลค์บอดี้ต่อชิ้นส่วน) หรือเติมร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะการเลี้ยงแบบวางนิ่ง (34.3 โปรโตคอร์มไลค์บอดี้ต่อชิ้นส่วน) ส่งผลให้ต้นอ่อนเกิดการสร้างโปรโตคอร์มไลค์บอดี้เฉลี่ยไม่แตกต่างจากการเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารเหลวที่เติมน้ำมะพร้าวร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า (34.3 โปรโตคอร์มไลค์บอดี้ต่อชิ้นส่วน) (Figure 4) โดยการเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารเหลวที่เติมน้ำมะพร้าวร่วมกับ BA และ NAA ที่มีระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ส่งผลให้การสร้างโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ลดลงทั้งสองสภาวะ โดยเฉพาะในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าส่งผลให้ต้นอ่อนมีการพัฒนาของต้นและใบที่ไม่สมบูรณ์ โดยใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเปลี่ยนไปทั้งแผ่นใบเมื่อเลี้ยงผ่านไปเป็นเวลา 5 สัปดาห์

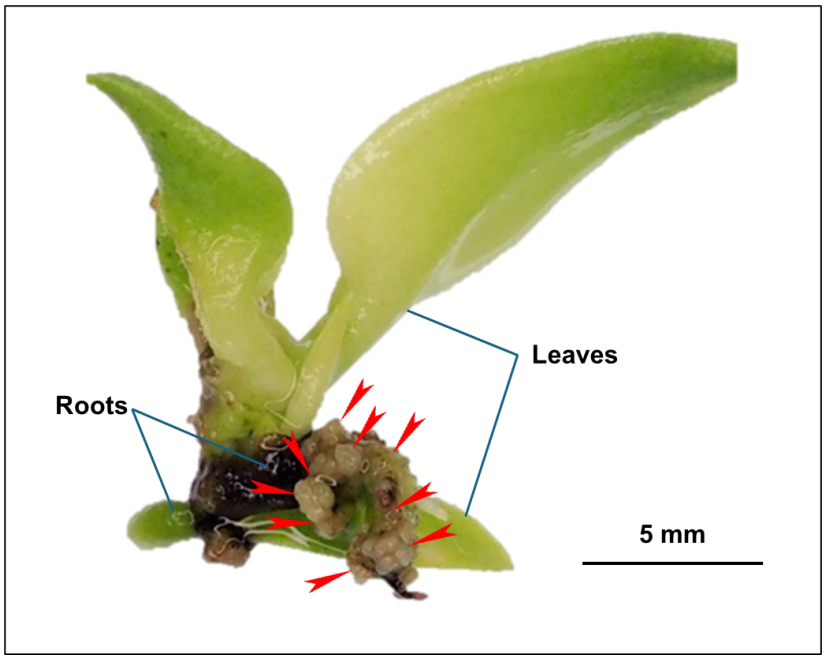

Figure 3 The direct regeneration of PLBs (arrow symbols) in root explant of *R. succisa* plantlet for 12 weeks, the scale bar is 5 mm.

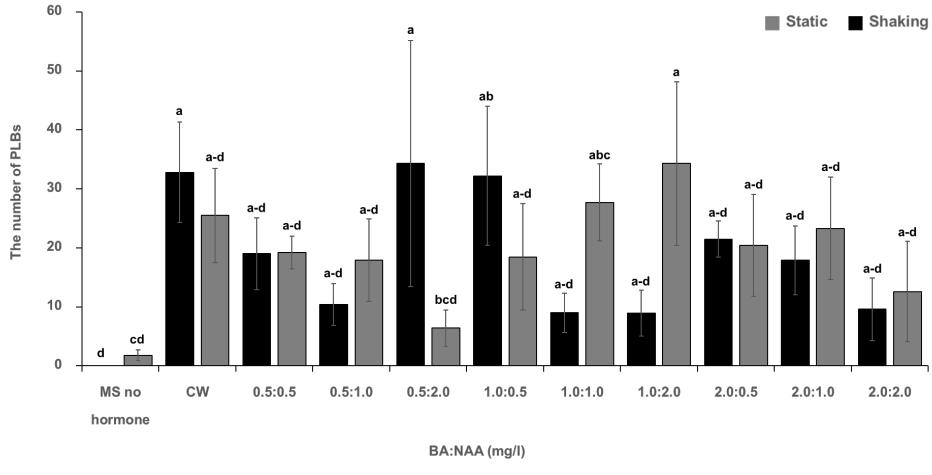

Figure 4 The number of PLBs of *R. succisa* plantlets grown in MS liquid medium supplemented with growth regulators and grown under static and shaking conditions for 12 weeks.

สำหรับการเจริญยืดยาวออกของใบและรากนั้น มีการพัฒนาที่ใกล้เคียงกัน (Figure 5 - 7) โดยต้นอ่อนที่เลี้ยงทั้งในสภาวะการเลี้ยงแบบวางนิ่งและแบบเขย่า ต้นอ่อนมีความกว้างของใบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ยกเว้นกลุ่มทดลองที่มีการเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารที่เติมน้ำพร้าวร่วมกับ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า ชักนำให้ต้นอ่อนมีความกว้างใบเฉลี่ยสูงที่สุด 0.45 เซนติเมตร สำหรับการยืดยาวออกของใบมีค่าเฉลี่ยมากที่สุด 1.30 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารที่เติมน้ำพร้าวเพียงอย่างเดียว และเลี้ยงในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า ซึ่งทำให้มีการยืดยาวออกของรากมีความยาวเฉลี่ย 1.44 เซนติเมตรต่อราก แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยเช่นกัน

ต้นอ่อนเอื้องมันปูที่เลี้ยงในสองสภาวะมีการเจริญเติบโตได้ดีแตกต่างกัน โดยการเลี้ยงแบบเขย่าช่วยให้ต้นอ่อนมีการเจริญของรากและใบเกิดขึ้นได้ดี แต่ส่งผลให้ต้นอ่อนมีพัฒนาการไม่ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีความเข้มข้นมาก ซึ่งต้นอ่อนที่เลี้ยงในสภาวะวางนิ่งสามารถเจริญและรอดชีวิตได้ อีกทั้งยังมีการพัฒนาสร้างโปรโตคอร์มไลค์บอดี้เพื่อเพิ่มจำนวนให้เกิดต้นใหม่ได้ โดยสภาวะการเลี้ยงแบบวางนิ่งพบว่าสภาวะนี้ช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้ *Doritaenopsis* ได้ดีกว่า (Tsai & Chu, 2008) ซึ่งกล้วยไม้ใน Subfamily Epidendroideae: monopodial taxa ส่วนใหญ่มักเกิดการเจริญกลับเป็นต้นใหม่โดยการเกิดแคลลัสหรือโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ โดยเฉพาะชิ้นส่วนของแผ่นใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง (Sheelavanthmath *et al*., 2005; Pathaka *et al*., 2022) จากการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเจริญกลับเป็นต้นใหม่ของการเกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ที่บริเวณรากต้นอ่อนเอื้องมันปู เป็นรูปแบบของการเจริญกลับเป็นต้นใหม่เช่นเดียวกับการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี้จากชิ้นส่วนรากของกล้วยไม้ลูกผสม *Doritaenopsis* ‘New candy’/D. (‘Mary Anes’/‘Ever Spring’) (Park *et al*., 2003) และรากของกล้วยไม้ลูกผสม *Phalaenopsis* ‘Join Angle X Sogo Musadian’ (Meilasari & Iriawati, 2016)

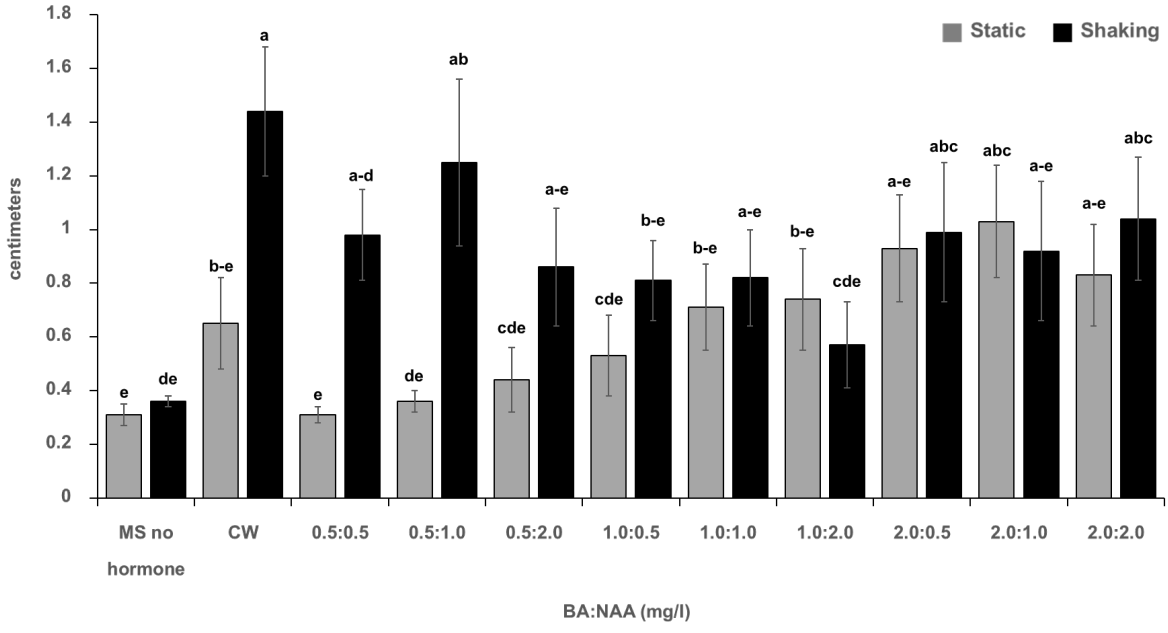

Figure 5 The length of roots of *R. succisa* plantlets grown in MS liquid medium supplemented with growth regulators and grown under static and shaking conditions for 12 weeks.

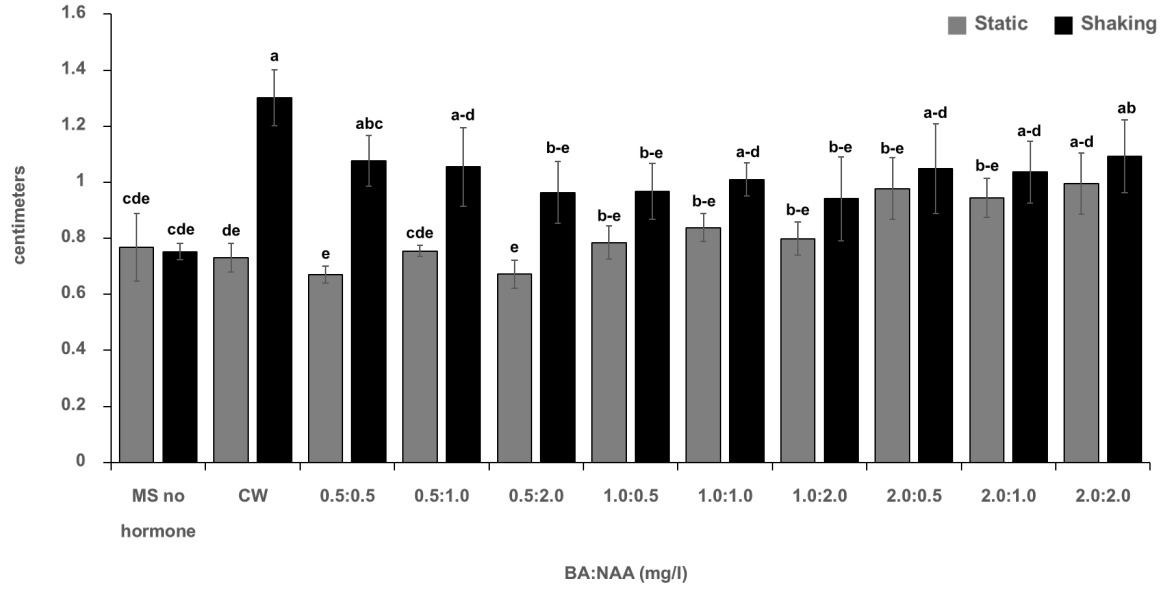

Figure 6 The length of leaves of *R. succisa* plantlets grown in MS liquid medium supplemented with growth regulators and grown under static and shaking conditions for 12 weeks.

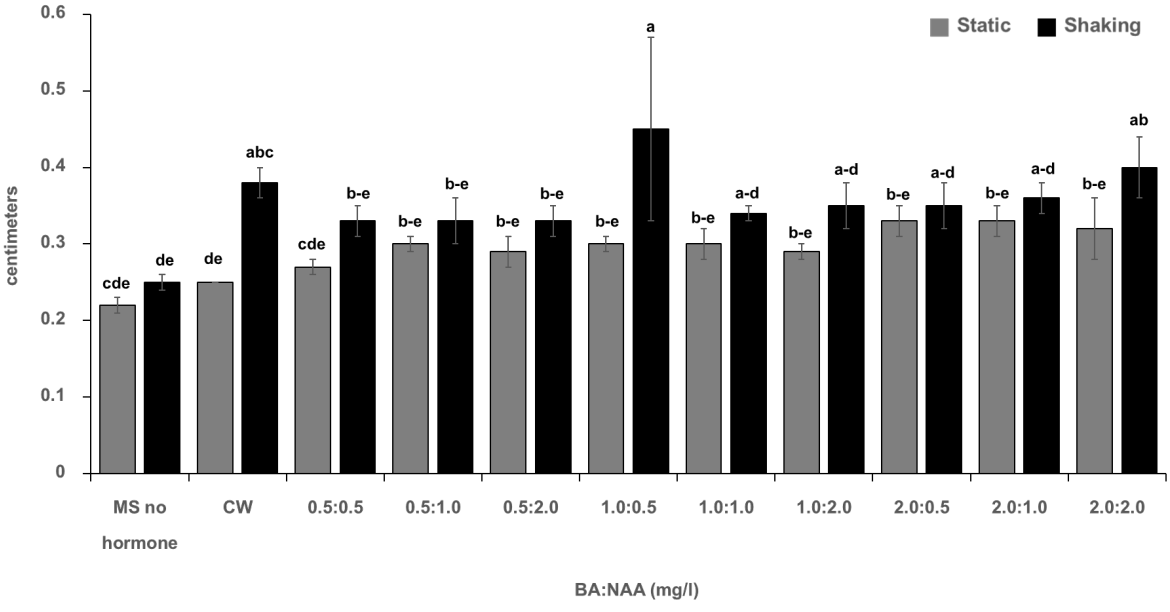

Figure 7 The width of leaves of *R. succisa* plantlets grown in MS liquid medium supplemented with growth regulators and grown under static and shaking conditions for 12 weeks.

อีกทั้งการเติมสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อน (น้ำมะพร้าว) และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เติมลงไปในอาหารเหลวนั้น ช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นอ่อนเอื้องมันปูได้อย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่มีการเติมสารอินทรีย์ดังกล่าว โดยมีรายงานการศึกษาผลของสารประกอบอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำมะพร้าว น้ำสกัดมันฝรั่ง กล้วยบด ‘Gros Michel’ (AAA group) และกล้วยบด ‘Namwa’ banana (ABB group) ที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงมีส่วนช่วยให้ต้นกล้วยไม้ในสกุล *Vanda* และ *Mokara* มีพัฒนาการของต้นและรากที่ดี ซึ่งชนิดของกล้วยไม้มีผลต่อการตอบสนองต่อสารประกอบอินทรีย์ที่แตกต่างกันอีกด้วย (Obsuwan & Thepsithar, 2014) อีกทั้งยังมีรายงานการศึกษาถึงผลของน้ำมะพร้าวในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญร่วมด้วย น้ำมะพร้าวช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้ *V. pumila* ได้ดีมากยิ่งขึ้น (Maharjan *et al*., 2019) นอกจากนี้การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของ

พืชที่เติมลงไปในอาหารเหลว โดยเฉพาะการเติม BA ร่วมกับ NAA นั้น สามารถชักนำให้เกิด PLBs จากชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงได้ดี เช่น ชิ้นส่วนใบของ *V. coerulea* เกิดโปรโตคอร์มจำนวน 75 โปรโตคอร์มไลค์บอดี้ต่อใบ เมื่อเลี้ยงใบบนอาหาร Mitra *et al*. medium ที่มี 3% sucrose ร่วมกับการเติม 8.8 µM BA ร่วมกับ 4.1 หรือ 8.8 µM NAA เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (Seeni & Latha, 2000) อีกทั้งการใช้ชิ้นส่วนแผ่นใบของ *R. spathulata* มาชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี้บนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มไลค์บอดี้สูงสุดถึง 70% (Bhowmik & Rahman, 2021) และการเลี้ยงชิ้นส่วนฐานใบของ *Aerides odorata* เกิดการสร้างยอดใหม่เฉลี่ย 4.8 ยอดต่อชิ้นส่วนใบ เมื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหาร ½ MS ที่มีการเติม BA 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Devi *et al*., 2013) ด้วยเช่นกัน

การทดลองที่ 2 ศึกษาเปรียบเทียบวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการออกปลูกในสภาพโรงเรือน

การศึกษาเปรียบเทียบวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการออกปลูกในสภาพโรงเรือน ด้วยวัสดุปลูกต่างกัน พบว่า ต้นกล้าเอื้องมันปูที่ไม่ใช้วัสดุปลูกเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 3 และมีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด 27 ต้นจาก 30 ต้นคิดเป็น 90% ต้นเอื้องมันปูที่ใช้ถ่านไม้เป็นวัสดุปลูกเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 4 และมีอัตราการรอดชีวิตจำนวน 24 ต้นจาก 30 ต้นคิดเป็น 80% และต้นเอื้องมันปูที่ใช้สแฟกนั่มมอสเป็นวัสดุปลูกเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 3 และมีอัตราการรอดชีวิตจำนวน 24 ต้นจาก 30 ต้นคิดเป็น 80% ในสัปดาห์ที่ 12 ต้นเอื้องมันปูที่ไม่มีวัสดุปลูกมีการรอดชีวิตสูงที่สุดเมื่อเทียบกับที่ใช้ถ่านไม้และ สแฟกนั่มมอสในการเป็นวัสดุปลูกเป็นอัตราการรอดชีวิต 90% โดยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Figure 8) ซึ่งไม่สอดคล้องกับการทดลองที่ใช้ต้นกล้วยไม้ *Dendrobium wilsonii* ในการทดลองพบว่าเมื่อนำต้นกล้ามาเลี้ยงบนสแฟกนั่มมอสมีอัตราการรอดชีวิต 100% (Zhang & Fang, 2005) ส่วนการนำกล้วยไม้ *D.* 'Sonia' ย้ายปลูกในถ่านไม้มีอัตราการรอดชีวิตเป็น 84% (Puchooa, 2004) เนื่องจากเอื้องมันปูเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยที่มีการเจริญทางยอด มีความต้องความการความชื้นที่เหมาะสม หากมีความชื้นมากไป จะส่งผลให้รากเกิดการเน่า ดังนั้นการใช้ถ่านไม้หรือสแฟกนัมมอสเป็นวัสดุปลูกจึงไม่เหมาะสม ซึ่งเป็นข้อดีในการอนุบาลต้นอ่อนออกปลูกโดยไม่มีการใช้วัสดุปลูก ทำให้ลดต้นทุนของขั้นตอนการอนุบาลต้นพืชได้เป็นอย่างมาก

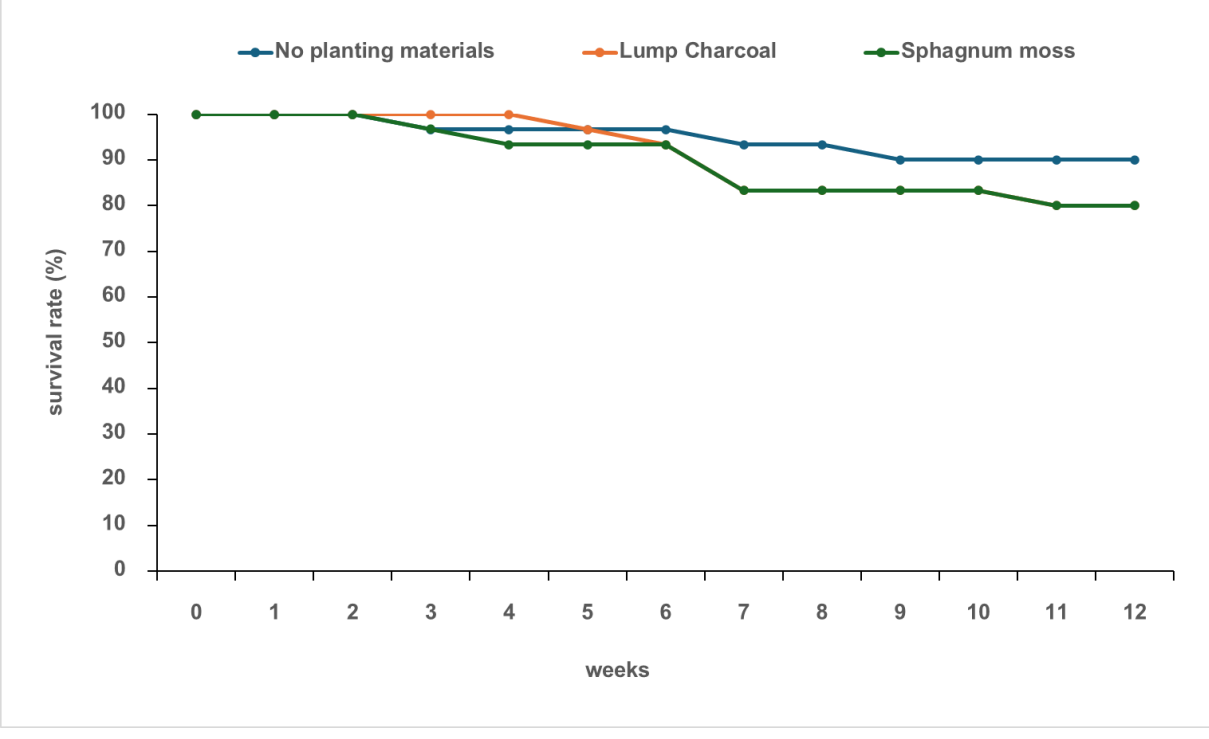

Figure 8 The survival rate of *R. succisa* plantlets during 12 weeks of acclimatization.

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

วิธีการเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องมันปูในอาหารเหลวที่มีการเติมน้ำมะพร้าวและวางเลี้ยงแบบไม่มีการเขย่านั้น เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับขั้นตอนการทวีจำนวนต้นต้นอ่อนเอื้องมันปูในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งเป็นรูปแบบการเลี้ยงที่ช่วยลดต้นทุนการใช้เครื่องเขย่าเลี้ยงได้ อีกทั้งยังสามารถนำต้นกล้าเอื้องมันปูออกปลูกและปรับสภาพในโรงเรือนเพาะชำโดยไม่จำเป็นต้องใช้วัสดุปลูกซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาวอรัญา สมหวัง สำหรับความอนุเคราะห์ฝักเอื้องมันปู และนางสาวอาทิตยา ใจเที่ยง สำหรับการเก็บรวบรวมข้อมูลในงานวิจัย และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร สำหรับสถานที่ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

วรดลย์ แจ่มจำรูญ. (2558). รูปแบบของความเฉพาะถิ่นและความหายากของพืชในประเทศไทย. ใน ดอกรัก มารอด, & จงรัก วัชรินทร์รัตน์ (บ.ก.), *การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิชาการเครือข่ายวิจัยนิเวศวิทยาป่าไม้แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 4* (น. 36–43). คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

Bhowmik, T. K., & Rahman, M. (2021). Development of an efficient protocol for *Robiquetia spathulata* (Bl) J.J. Sm. an endangered orchid species through *in vitro* techniques. *SUST Journal of Science and Technology*, *31*(1), 1–6.

Devi, H. S., Devi, S. I., & Singh, T. D. (2013). High frequency plant regeneration system of *Aerides odorata* Lour. through foliar and shoot tip culture. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *41*(1), 169–176.

Maharjan, S., Pradhan, S., Thapa, B. B., & Pant, B. (2019). *In vitro* propagation of endangered orchid, *Vanda pumila* Hook.f. through protocorms culture. *American Journal of Plant Sciences*, *10*, 1220–1232.

Meilasari, D., & Iriawati, I. (2016). Regeneration of plantlets through plb (protocorm-like body) formation in *Phalaenopsis* 'Join Angle X Sogo Musadian'. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*, *48*(3), 204–212.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*, 473–497.

Nowakowska, K., Marciniak, P., & Pacholczak, A. (2022). A protocol for efficient micropropagation of rare orchid *Vanda brunnea* Rchb.f. *South African Journal of Botany*, *150*, 233–239.

Obsuwan, K., & Thepsithar, C. (2014). An effect of organic supplements on stimulating growth of *Vanda* and *Mokara* seedlings in tissue culture. *International Journal of Bioengineering and Life Sciences*, *8*(7), 696–698.

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

Pathak, P., Kumari, A., Chandler, B. D., & Zettler, L. W. (2022). *In vitro* propagation and phytochemical analysis of *Vanda cristata* Wall. ex Lindl.: An endangered medicinal orchid of biopharmaceutical importance. *South African Journal of Botany*, *151*, 109–123.

Pathak, P., Sunita, Kumari, A., Thakur, B., Vasundhra, & Madhu. (2022). Regeneration competence of an endangered orchid, *Vanda cristata* Wall. ex Lindl. using leaf explants: A study *in vitro*. *South African Journal of Botany*, *151*, 1018–1024.

Puchooa, D. (2004). Comparison of different culture media for the *in vitro* culture of *Dendrobium* (Orchidaceae). *International Journal of Agriculture & Biology*, *6*(5), 884–888.

Seeni, S., & Latha, P. G. (2000). *In vitro* multiplication and ecorehabilitation of the endangered blue Vanda. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *61*, 1–8.

Sheelavanthmath, S. S., Murthy, H. N., Hema, B. P., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2005). High frequency of protocorm-like bodies (PLBs) induction and plant regeneration from protocorm and leaf sections of *Aerides crispum*. *Scientia Horticulturae*, *106*(3), 395–401.

Tsai, W. T., & Chu, C. Y. (2008). Static liquid culture of *Doritaenopsis* seedlings. *HortScience*, *43*(1), 206–210.

Xu, J., Beleski, D. G., & Vendrame, W. A. (2022). Effects of culture methods and plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Brassavola nodosa* (L.) Lindl. hybrid. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, *58*, 931–941.

Zhang, Q. X., & Fang, Y. M. (2005). Tissue culture and *in vitro* seedling and protocorm-like body examination of *Dendrobium candidum*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, *25*, 1761–1765.