ผลของแสงต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของโปรโตคอร์มและต้นอ่อนกล้วยไม้สำเภางามในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Light on Growth and Development of Protocorm and Seedling of *Cymbidium seidenfadenii* (P.J. Cribb & Du Puy) P.J. Cribb

อนุพันธ์ กงบังเกิด สกุลรัตน์ ทองดอนง้าว สมจิตต์ หอมจันทร์ และ พิทักษ์ อินธิมา*

Anupan Kongbangkerd Sakunrat Thongdonngaw Somjit Homchan and Phithak Inthima*

หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Plant Tissue Culture Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University

Received : 11 June 2017

Accepted : 17 June 2017

Published online : 29 June 2017

บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงโปรโตคอร์ม และต้นอ่อนของกล้วยไม้สำเภางาม (*Cymbidium seidenfadenii* (P.J. Cribb & Du Puy) P.J. Cribb) บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงภายใต้แหล่งกำเนิดแสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีขาวแบบ Cool white และ Warm white จากหลอด LED, แสงสีขาวแบบ Cool white, Warm white, สีน้ำเงิน, สีเหลือง, สีแดง และสีเขียว จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า โปรโตคอร์มของกล้วยไม้สำเภางามที่เลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีน้ำเงินมีผลชักนำให้เกิด PLBs เฉลี่ยสูงที่สุด (16.0 โปรโตคอร์ม) ซึ่งสูงกว่าแสงชนิดอื่นๆ ประมาณ 1.5-3.1 เท่า ในขณะที่แสงสีขาวแบบ Cool white จากหลอดฟลูออเรสเซนต์กระตุ้นให้เกิดตายอดจำนวนมากที่สุด (2.1 ยอด) และเมื่อใช้ต้นอ่อนเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการทดลองพบว่า แสงสีน้ำเงินและสีขาวแบบ Cool white จากหลอดฟลูออเรสเซนต์สามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนมีการสร้าง PLBs และตายอดได้มากที่สุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ : กล้วยไม้สำเภางาม แสง การเจริญเติบโต

Abstract

In vitro protocorms and seedlings of *Cymbidium seidenfadenii* (P.J. Cribb & Du Puy) P.J. Cribb) were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0.1 mgL^{-1} TDZ, and 1.0 mgL^{-1} NAA. The cultures were incubated under different light sources; cool white LED, warm white LED, cool white fluorescent, warm white fluorescent, blue, yellow, red, and green fluorescent light for 12 weeks. The results found that the blue light fluorescent could induce the highest number of PLBs (16.0protocorms) which was about 1.5-3.1 folds higher than other light sources, whereas the highest number of shoot buds (2.1shoot buds) could be noticed under the cool white fluorescent when using protocorms as explants. Seedlings explants were also incubated under different light treatments. The results showed that both blue light and cool white fluorescent could promote highest PLBs and shoot buds no statistically significant difference with non - significant difference.

Keyword: *Cymbidium seidenfadenii* (P. J. Cribb & Du Puy) P. J. Cribb, Light, Growth

***Corresponding author. E-mail** : phithaki@nu.ac.th

บทนำ

กล้วยไม้สำเภางาม (*Cymbidium seidenfadenii* (P. J. Cribb & Du Puy) P. J. Cribb) เป็นกล้วยไม้ดินที่มีขนาดใหญ่ และมีความสำคัญในเชิงพาณิชย์เนื่องจากดอกมีสีสันสวยงามสะดุดตา มีสีชมพูและจุดเข้ม ช่อดอกตั้งตรง อายุการบานของดอกนาน ด้วยลักษณะดอกดังกล่าวจึงเหมาะกับการทำเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถาง และถูกนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับการสร้างกล้วยไม้ลูกผสมที่หลากหลาย (Kannan, 2009) แต่เนื่องจากในสภาพธรรมชาติกล้วยไม้สำเภางามมีการขยายพันธุ์ได้ช้า กอปรกับปริมาณกล้วยไม้สำเภางามในธรรมชาติลดน้อยลงจากพื้นที่ที่เป็นแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติเป็นอย่างมาก จึงทำให้ถูกจัดสถานภาพเกือบอยู่ในข่ายใกล้สูญพันธุ์ (Vulnerable) ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีบทบาทในการช่วยขยายพันธุ์เพื่ออนุรักษ์พืชหลายชนิด รวมไปถึงกล้วยไม้โดยเฉพาะกล้วยไม้ในสกุล *Cymbidium* ด้วย อาทิ *C. pendulum* (Kaur and Bhutani, 2012) *C. lowianum* (Wang *et al*., 2013) *C. finlaysonianum* (Islam *et al*., 2015) รวมไปถึง *C. Insigne* ด้วย (Nahar *et al*., 2012) อย่างไรก็ตาม มีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นกล้วยไม้ รวมไปถึงปัจจัยทางกายภาพ โดยเฉพาะปัจจัยเรื่องแสง ที่ปัจจุบันเริ่มมีรายงานการศึกษาผลของแสงต่อการเจริญและพัฒนาของกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อเพิ่มมากขึ้น อาทิ ใน กล้วยไม้แคทลียา (Cybularz-Urban *et al.,* 2007) รวมไปถึงกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* เช่น *Cymbidium* hybrids (Kamal *et al.,* 2014) และ *C. finlaysonianum* (Nahar *et al.,* 2015) ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาผลของแสงต่อการเจริญและพัฒนาของกล้วยไม้สำเภางามมาก่อน ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ทดสอบผลของแสงต่อการเจริญและพัฒนาของโปรโตคอร์มและต้นอ่อนกล้วยไม้สำเภางามในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สำเภางามในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

ตารางที่ 1 แหล่งกำเนิดแสงรูปแบบต่างๆ ที่ใช้ในการเลี้ยงโปรโตคอร์ม และต้นอ่อนกล้วยไม้สำเภางาม

คำย่อ	ชนิดหลอด	ชนิดแสง
LED-cool white	LED	สีขาวแบบ Cool white
LED-warm white	LED	สีขาวแบบ Warm white
Fl-cool white	ฟลูออเรสเซนต์	สีขาวแบบ Cool white
Fl-warm white	ฟลูออเรสเซนต์	สีขาวแบบ Warm white
Fl-blue	ฟลูออเรสเซนต์	สีน้ำเงิน
Fl-red	ฟลูออเรสเซนต์	สีแดง
Fl-green	ฟลูออเรสเซนต์	สีเขียว
Fl-yellow	ฟลูออเรสเซนต์	สีเหลือง

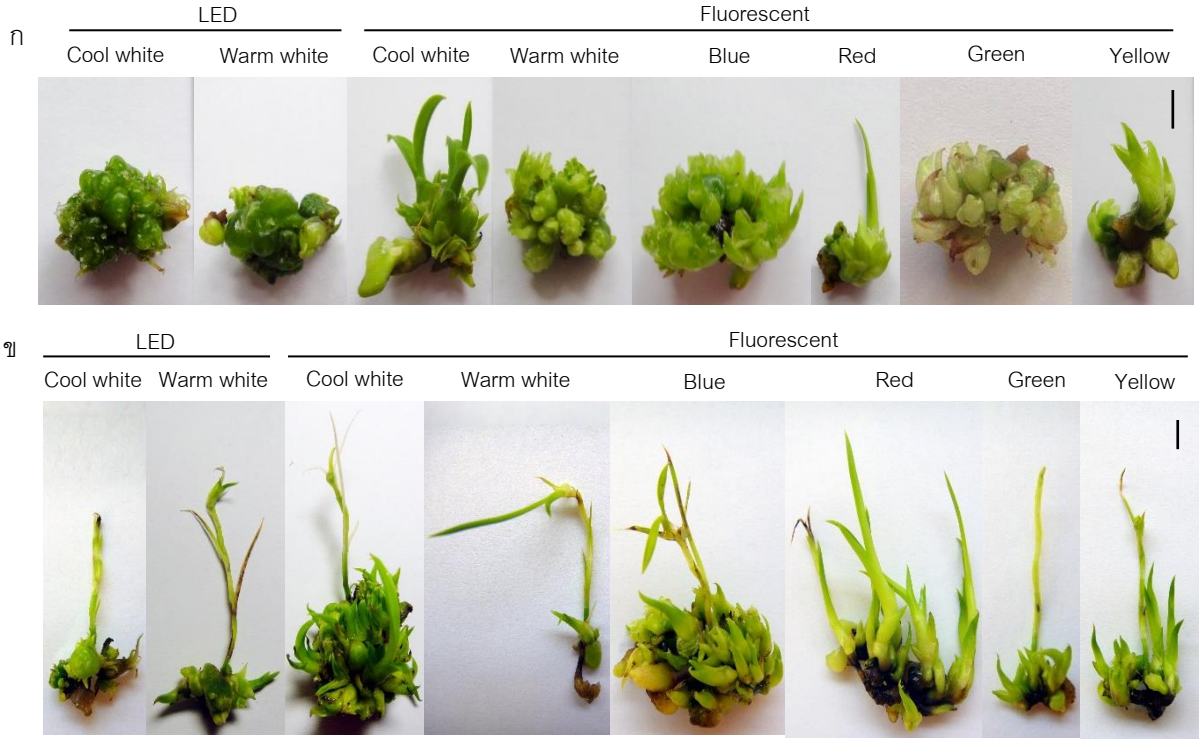
วิธีดำเนินการวิจัย

นำโปรโตคอร์ม (protocorms) และต้นอ่อนสำเภางามในสภาพปลอดเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และเจลไลท์ 2 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปเลี้ยงภายใต้แหล่งกำเนิดแสงสีแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) ซึ่งปรับค่าความเข้ม

แสงให้ได้ประมาณ 12 $\mu molm^{-2}s^{-1}$ ให้แสงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการทดลองในแต่ละแสง 15 ซ้ำบันทึกผลการทดลองที่เวลา 12 สัปดาห์หลังจากการเพาะเลี้ยง แล้วนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากการเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้สำเภางามในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้แหล่งกำเนิดแสงสีต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์พบว่าชิ้นส่วนโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตและพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยในสัปดาห์ที่ 2 โปรโตคอร์มเริ่มมีการแตกเป็นโปรโตคอร์มใหม่ (Protocorm Like Bodies, PLBs) เกิดขึ้น และมีการพัฒนาของตายอด และใบเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 8 สัปดาห์ หลังจากเพาะเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 2) พบว่า ชิ้นส่วนโปรโตคอร์มเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงินสามารถชักนำให้เกิด PLBs ได้มากที่สุด คือ 16.0 PLBs ต่อชิ้นส่วนโปรโตคอร์มเริ่มต้น (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1ก) ซึ่งสูงกว่าแสงชนิดอื่นๆ ประมาณ 1.5-3.1 เท่า ในขณะที่แสงสีแดง เขียว และเหลือง มีจำนวน PLBs ไม่แตกต่างจากแสงสีขาวแบบ Cool white และ Warm white ที่ได้จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ และ LED แต่อย่างไรก็ตาม แสงสีขาวแบบ Cool white จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ทำให้ชิ้นส่วนโปรโตคอร์มเริ่มต้นมีการสร้างจำนวนตายอดมากที่สุด (ภาพที่ 1ก) คือ 2.1 ยอดต่อชิ้นส่วนโปรโตคอร์มเริ่มต้น ซึ่งมากกว่าแสงชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 1 การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม (ก) และต้นอ่อน (ข) กล้วยไม้สำเภางามที่เลี้ยงภายใต้แสงรูปแบบต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (สเกลบาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

เมื่อพิจารณาถึงการใช้ต้นอ่อนกล้วยไม้สำเภางามเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยง พบว่า ฟลูออเรสเซนต์สีน้ำเงินและสีขาวแบบ Cool white ทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้สำเภางามมีจำนวน PLBs ตายยอด และใบ มากที่สุด (ตารางที่ 3 และภาพที่ 1ข) เป็นที่น่าสังเกตว่าฟลูออเรสเซนต์สีแดง สีเขียว และ LED สีขาวแบบ Warm white ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากในต้นอ่อนกล้วยไม้สำเภางามได้ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 การเจริญและพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้สำเภางามที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงรูปแบบต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

แหล่งกำเนิดแสง	จำนวนPLBs	จำนวนตายยอด
LED-cool white	9.7 ± 0.9 bc*	0.1 ± 0.1 b
LED-warm white	7.5 ± 0.9 bc	0.1 ± 0.1 b
FI-cool white	5.1 ± 1.3 c	2.1 ± 0.8 a
FI-warm white	10.4 ± 1.8 b	0.5 ± 0.3 b
FI-blue	16.0 ± 1.7 a	0.1 ± 0.1 b
FI-red	9.3 ± 1.1 bc	0.5 ± 0.2 b
FI-green	9.6 ± 1.9 bc	0.1 ± 0.1 b
FI-yellow	7.9 ± 1.2 bc	0.6 ± 0.3 b

* ข้อมูลในตารางคือ ค่าเฉลี่ย (mean)± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของ 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 โปรโตคอร์ม) ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) วิเคราะห์ความแตกต่างโดย DMRT

แสงเป็นปัจจัยที่จำเป็นอย่างหนึ่งต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเป็นแหล่งพลังงานเบื้องต้นให้แก่การสังเคราะห์แสงเพื่อเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี สำหรับนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช ซึ่งทั้งปริมาณ (ความเข้ม) และคุณภาพ (ชนิด) ของแสงจะส่งสัญญาณไปสู่ตัวรับแสงชนิดต่างๆ ในพืช เช่น phytochromes, criptochromes และ phototropins เป็นต้น (Kami *et al.,* 2010) แล้วจะเกิดการถ่ายทอดสัญญาณไปเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาพแสงนั้นๆ ทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และสัณฐานวิทยาของพืช (Huché-Thélier *et al.,* 2016) ซึ่งรวมถึงกระบวนการงอกและพัฒนาการของต้นอ่อน ด้วยจากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า แสงสีน้ำเงิน สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม และต้นอ่อนของกล้วยไม้สำเภางามสร้าง PLBs และตายยอด ได้ดีกว่าแสงอื่นๆ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากแสงสีน้ำเงินเป็นช่วงคลื่นที่คลอโรฟิลล์ในพืชสามารถดูดกลืนได้ดีที่สุด ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย อีกทั้งยังมีรายงานว่าแสงสีน้ำเงินสามารถชักนำให้มีการสร้างคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ได้มากขึ้น (Nhut *et al*., 2003) และยังมีผลต่อการเปิดปิดของปากใบ (Kim *et al.,* 2004) ทำให้พืชเกิดการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lin *et al.* (2000) ที่พบว่า แสงสีน้ำเงินสามารถชักนำให้ PLBs ของกล้วยไม้ *Dendrobium officinale* สร้างยอดใหม่ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับแสงสีอื่นๆ นอกจากนี้ ยังมีรายงานของ Huan and Tanaka (2004) ที่พบว่า แสงสีน้ำเงินร่วมกับแสงสีแดงชักนำให้ชิ้นส่วนมีการพัฒนา และเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มใหม่ของกล้วยไม้ *Cymbidium* ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์แบบ Cool white ก็สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนโปรโตคอร์ม และต้นอ่อนสำเภางามมีการ

พัฒนาและเจริญได้ดีไม่แตกต่างจากแสงสีน้ำเงิน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก แสงสีขาวแบบ Cool white มีช่วงแสงสีน้ำเงินปนอยู่ในปริมาณที่สูงกว่า แสงสีขาวแบบ Warm white

ตารางที่ 3 การเจริญและพัฒนาของต้นกล้วยไม้สำเภางามที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงรูปแบบต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

แหล่งกำเนิดแสง	จำนวนPLBs	จำนวนตายอด	จำนวนใบ	จำนวนราก
LED-cool white	8.3±1.2bc	2.8±0.6b	1.8±0.3b	0.1±0.0ab
LED-warm white	5.1±1.6c	1.6±0.1b	1.4±0.3bc	0.0±0.0c
Fl-cool white	12.0±2.6ab	5.3±0.8a	2.9±0.2 a	0.4±0.1a
Fl-warm white	7.1±2.1bc	2.0±0.4b	1.9±0.2b	0.3±0.1ab
Fl-blue	16.9±3.1a	4.2±0.5a	2.8±0.1a	0.2±0.1ab
Fl-red	7.8±1.2bc	1.8±0.4b	1.8±0.3b	0.0±0.0c
Fl-green	5.2±1.6c	1.4±0.3b	0.9±0.3c	0.0±0.0c
Fl-yellow	7.3±1.1bc	2.2±0.3b	1.9±0.2b	0.1±0.0ab

* ข้อมูลในตารางคือ ค่าเฉลี่ย (mean) ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของ 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 ต้น) ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) วิเคราะห์ความแตกต่างโดย DMRT

สรุปผลการวิจัย

จากการเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มและต้นอ่อนของกล้วยไม้สำเภางาม (*Cymbidium seidenfadenii* (P. J. Cribb & Du Puy) P. J. Cribb) ที่เลี้ยงภายใต้แสงที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีน้ำเงินมีผลกระตุ้นให้โปรโตคอร์มและต้นอ่อนกล้วยไม้สำเภางามสามารถสร้าง PLBs และตายอด ได้สูงที่สุด

เอกสารอ้างอิง

Cybularz-Urban, T., Hanus-Fajerska, E. and Świderski, A. (2007). Effect of light wavelength on *in vitro* organogenesis of a *Cattleya* hybrid. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *49*(1), 113-118.

Huan, L.V.T. and Tanaka, M. (2004). Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation, and protocorm-like body formation from callus in *Cymbidium* orchid. *Environmental Control in Biological*, *42*(1), 57-64.

Huché-Thélier, L., Crespel, L., Gourrierec, J., Morel, P., Sakr, S., and Leduc, N. (2016). Light signaling and plant responses to blue and UV radiations-Perspectives for applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany*, *121*, 22-38.

Islam, T., Bhattacharjee, B., Islam, S.M.S. Uddain, J. and Subramanium, S. (2015). Axenic seed culture and *in vitro* mass propagation of Malayan wild orchid *Cymbidium finlaysonianum* Lindl. *Pakistan Journal of Botany*, *47*(6), 2361-2367.

Kamal, M.M., Shimasaki, K. and Akter, N. (2014). Effect of light emitting diode (LED) lamps and N-acetylglucosamine (NAG) on organogenesis in protocorm-like bodies (PLBs) of a *Cymbidium* hybrid cultured *in vitro*. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, *24*(2), 273-277.

Kami, C., Lorrain, S., Hornitschek, P., Fankhauser, C. (2010). Light-regulated plant growth and development. *Current Topics in Developmental Biology*, *91*, 29-66.

Kannan, N. (2009). An *in vitro* study on micropropagation of *Cymbidium* orchids.*Current Biotica, 3*(2), 244-250.

Kaur, S. and Bhutani, K.K. (2012). Organic growth supplement stimulants for *in vitro* multiplication of *Cymbidium pendulum* (Roxb.) Sw. *Horticultural Science*, *39*(1), 47-52.

Kim, S.J., Hahn, E.J., Heo, J.W., and Paek, K.Y. (2004). Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, *101*, 143-151.

Lin, C. (2000). Plant blue-light receptors.*Trends in Plant Science*, *5*, 337-342.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*(3), 473-497.

Nahar, S.J., Shimasaki, K. and Haque, S.M. (2012). Effect of polysaccharides including elicitors on organogenesis in protocorm-like body (PLB) of *Cymbidium insigne in vitro*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *2*, 1029-1033.

Nahar, S.J., Haque, S.M. and Shimasaki, K. (2015). Organogenesis of *Cymbidium finlaysonianum* under different sources of lights.*American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, *15*(10), 2095-2101.

Nhut, D.T., Takamura, T., and Watanabe, H. (2003). Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, *73*, 43-52.

Wang, Y., Li, Z., Huang, L. and Su, J. (2013). *In vitro* mass scale propagation of wild *Cymbidium lowianum* with a rare and endangered plant. *American Journal of Plant Science*, *4*, 1500-1507.