

## ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อ

### Effects of Cytokinins on Shoot Induction of *Nepenthes mirabilis* in vitro

ปิยะวดี เจริญวัฒน์<sup>1\*</sup>, ภัทราวดี ศรีอ่อน<sup>1</sup>, ขวัญตา เฉียบแหลม<sup>1</sup>, เกษราพร พลอยเกิด<sup>1</sup> และ ปรียานัฐ หงษ์ทอง<sup>1</sup>  
Charoenwattana, P.<sup>1\*</sup>, Srion, P.<sup>1</sup>, Chiablaem, K.<sup>1</sup>, Ploykerd, K.<sup>1</sup> and Hongthong, P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12130

<sup>1</sup>Crop Production Division, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathumthani 12130, Thailand

\*Corresponding author: piyavadee\_c@mutt.ac.th

#### บทคัดย่อ

การทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการชักนำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ สูตรอาหาร 1/3 MS ให้ความสูงของต้นเฉลี่ยเท่ากับ  $7.03 \pm 0.49$  เซนติเมตร จำนวนใบที่เกิดใหม่เฉลี่ยเท่ากับ  $10.60 \pm 1.05$  ใบ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ สำหรับการชักนำต้น อาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุดเฉลี่ย  $6.70 \pm 1.02$  ต้น ไม่แตกต่างกับอาหารสูตร 1/3 MS ที่เติม Benzyladenine (BA) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้จำนวนต้นเฉลี่ย  $5.90 \pm 0.87$  ต้น นอกจากนี้สูตรอาหารที่เติมน้ำตาล 90 กรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการสร้างกระเปาะที่มีจำนวนมากและขนาดใหญ่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับสูตรอื่น โดยสูตรที่เติมน้ำตาล 90 กรัมต่อลิตร ให้จำนวนกระเปาะสูงสุดเฉลี่ย  $5.33 \pm 1.24$  กระเปาะ ความกว้าง และความยาวสูงสุดของกระเปาะเฉลี่ยเท่ากับ  $0.50 \pm 0.11$  และ  $0.53 \pm 0.12$  เซนติเมตร ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** หม้อข้าวหม้อแกงลิง, ไซโตไคนิน, การชักนำต้น, น้ำตาล

#### ABSTRACT

This study examined the effect of cytokinins on shoot induction in the micropropagation of tropical pitchers (*Nepenthes mirabilis*). The experiments were carried out using a completely randomized design (CRD) and means were compared using the Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The explants cultured on 1/3 MS medium gave the tallest shoots ( $7.03 \pm 0.49$  cm.) with the highest leaf number ( $10.60 \pm 1.05$  leaves) after 10 week culture. For shoot induction, the explants cultured on 1/3 MS medium supplemented with 2 mg l<sup>-1</sup> kinetin gave the maximum number of shoots ( $6.70 \pm 1.02$  shoots), but there was no significant difference with the explants cultured on 1/3 MS supplemented with 2 mg l<sup>-1</sup> benzyladenine (BA) which gave  $5.9 \pm 0.87$  shoots. Shoots cultured on 1/3 MS medium supplemented with 90 g l<sup>-1</sup> sucrose gave the highest pitcher number ( $5.33 \pm 1.24$  pitchers), whereas the maximum width and length of a pitcher were at  $0.50 \pm 0.11$  and  $0.53 \pm 0.12$  cm, respectively.

**Keywords:** *Nepenthes mirabilis*, cytokinins, shoot induction, sucrose

## บทนำ

หม้อข้าวหม้อแกงลิง (Nepenthes) คือ ไม้กินแมลงชนิดหนึ่งที่ใช้พัฒนาเป็นกับดักเพื่อใช้ในการดักจับแมลง ซึ่งหม้อข้าวหม้อแกงลิงส่วนใหญ่จะมีการกระจายตัวในโซนเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นอกจากนี้ยังมีการกระจายตัวไปถึงทางตะวันออกเฉียงของประเทศอินเดีย ศรีลังกา มาดากัสการ์ หมู่เกาะ Seychelles ทางตอนใต้ของจีน และทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย ในประเทศไทยสามารถพบได้ในธรรมชาติโดยส่วนใหญ่พบใน อุทยานแห่งชาติ ป่าพรุ, ภูเขา, สวนยาง ที่ราบลุ่มพบเห็นในหลายจังหวัด เช่น จังหวัดอุบลราชธานี, จังหวัดนครราชสีมา, จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นต้น หม้อข้าวหม้อแกงลิงหลายชนิดที่เป็นที่ต้องการของตลาดไม้ประดับถูกเก็บมาจำหน่ายจนแทบจะสูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ เนื่องจากตลาดไม้ประดับมีความต้องการมาก ถ้าทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการปักชำกิ่ง, เพาะเมล็ด, ปักชำข้อและลำต้นนั้นจะได้ปริมาณต้นน้อยและยังใช้เวลานานในการเลี้ยงดู (Sangdanuch and Dovanve, 2008) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตมากขึ้นในระยะเวลาที่รวดเร็วตามความต้องการของตลาดในปัจจุบัน ดังนั้นการศึกษาผลของสารที่อยู่ในกลุ่มของไซโตไคนิน ได้แก่ Benzyladenine และ Kinetin ได้ถูกนำมาใช้ในการชักนำต้น และระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีผลต่อการสร้างกระเปาะที่มักมีสีส้มหรือลวดลายสวยงามสะดุดตาอันเป็นลักษณะที่โดดเด่นของหม้อข้าวหม้อแกงลิง จึงนับเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตหม้อข้าวหม้อแกงลิงสายพันธุ์ต่างๆ ให้ทันต่อความต้องการของตลาดไม้ประดับต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิง ในสภาพปลอดเชื้อ

โดยใช้ชิ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงความยาวขนาด 3 เซนติเมตร ที่มีใบจำนวน 4 ใบ เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทั้งหมด 5 สูตร คือ MS 1/2MS 1/3MS 1/4MS และ 1/5MS เติมน้ำตาล 0.5 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร pH 5.7 จำนวน 10 ข้ำ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ปริมาณแสง 3000 ลักส์ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ บันทึกความสูงต้นและจำนวนใบที่เกิดใหม่ ทุก 2 สัปดาห์

### 2. ผลของ Benzyladenine (BA) และ Kinetin (KIN) ในการชักนำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง

นำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงตัดเป็นท่อนยาวประมาณ 1 เซนติเมตร มีตาข้าง 3 ตา เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/3MS ที่เติม Benzyladenine (BA) เข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin เข้มข้น 2 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาล 0.5 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร pH 5.7 จำนวน 10 ข้ำ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ปริมาณแสง 3000 ลักส์ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ บันทึกจำนวนต้นที่เกิดใหม่ และขนาดทรงพุ่ม ทุก 2 สัปดาห์

### 3. ความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการสร้างกระเปาะหม้อข้าวหม้อแกงลิง

นำชิ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงสูง 3 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 30 60 70 80 และ 90 กรัมต่อลิตร pH 5.7 จำนวน 3 ข้ำ ซ้ำละ 3 ขวด เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ปริมาณแสง 3000 ลักส์ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ บันทึกความสูงต้น จำนวนกระเปาะ ความกว้างและความยาวของกระเปาะ ทุก 2 สัปดาห์

วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิง ในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อเพาะเลี้ยงหม้อข้าวหม้อแกงลิงบนอาหารทั้งหมด 5 สูตร คือ MS 1/2MS 1/3MS 1/4MS และ 1/5MS เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร 1/3MS ให้ความสูงของต้นเฉลี่ยเท่ากับ  $7.03 \pm 0.49$  เซนติเมตร และต้นมีลักษณะสมบูรณ์กว่าสูตรอื่น จำนวนใบที่เกิดขึ้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/3MS และ สูตรอาหาร 1/2MS ให้จำนวนใบที่เกิดขึ้นใหม่

เฉลี่ยเท่ากับ  $10.60 \pm 1.05$  และ  $9.50 \pm 0.80$  ใบ ตามลำดับ ใบลักษณะเรียวยาวสีเขียวอ่อนและมีการสร้างกระเปาะขนาดเล็กเกิดขึ้น นอกจากนี้พบการเกิดรากในอาหารสูตร 1/5MS ให้จำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ  $5.80 \pm 1.20$  ราก โดยความสูงของต้นจำนวนใบ และจำนวนราก พบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) ซึ่งจากงานวิจัยของ Jala (2012) พบว่าอาหารสูตร 1/2MS ที่เติม BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่ทำให้มีจำนวนใบ ความกว้างใบ รวมทั้งความยาวรากมากที่สุด

## 2. ผลของ Benzyladenine (BA) และ Kinetin (KIN) ในการชักนำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง

เมื่อเพาะเลี้ยงหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสูตรอาหาร 1/3MS ที่เติม BA ที่มีความเข้มข้น 1 3 5 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KIN ที่มีความเข้มข้น 2 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรที่เติม KIN 2 และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ  $6.70 \pm 1.02$  และ  $5.90 \pm 0.87$  ต้น และขนาดทรงพุ่มสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ  $1.34 \pm 1.14$  และ  $1.24 \pm 1.20$  เซนติเมตร ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) (Table 1) ส่วนสูตรที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงชนิดโลเวีย (*Nepenthes lowii* Hook. f.) คือ สูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่มากที่สุดเฉลี่ย 34 ยอด/ชิ้นพืช ภายใน 32 สัปดาห์ (Muangkroot, 2014)

## 3. ความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการสร้างกระเปาะหม้อข้าวหม้อแกงลิง

เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 30 60 70 80 และ 90 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ อาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 90 กรัมต่อลิตร ที่ให้ความสูงของต้นเฉลี่ยเท่ากับ  $6.06 \pm 1.18$  เซนติเมตร จำนวนกระเปาะสูงสุดเฉลี่ย  $5.33 \pm 1.24$  กระเปาะ กระเปาะมีขนาดใหญ่สีเขียวสวยงาม วัดความกว้างและความยาวกระเปาะสูงสุดเฉลี่ย  $0.50 \pm 0.11$  และ  $0.53 \pm 0.12$  เซนติเมตร ตามลำดับ ความสูงต้น จำนวนและขนาดกระเปาะ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) (Table 2 Figure 1) การเพิ่มปริมาณน้ำตาลในอาหารสังเคราะห์จะให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืช โดยทั่วไปพืชจะเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อได้รับปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง จากนั้นการเพิ่มปริมาณน้ำตาลมากขึ้นอีกจะลดการเจริญเติบโตลง (Lampang Agricultural Research and Training Center, 2016) และน้ำตาลยังช่วยเก็บรักษาน้ำในเซลล์ (Gago *et al.*, 2014) ซึ่งการที่พืชได้รับความชื้นที่เพียงพอเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่ช่วยให้พืชสร้างหม้อและให้หม้อขนาดใหญ่ (Sangdanuch and Dovanve, 2008)

## สรุป

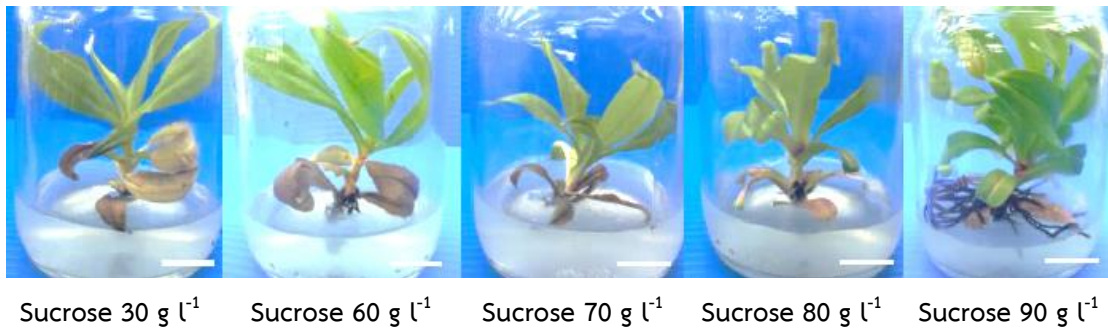
สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิงคือ สูตรอาหาร 1/3MS ส่งผลต่อการพัฒนาความสูงของต้น จำนวนใบ และราก ต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์กว่าสูตรอาหารอื่นๆ สูตรอาหาร 1/3MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดต้นและมีลักษณะสมบูรณ์กว่าสูตรอาหารอื่นๆ โดยเฉลี่ยให้จำนวนต้นสูงสุด 5.90 ต้น ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงมีการสร้างกระเปาะมากที่สุดในสูตรอาหารที่เติมน้ำตาล 90 กรัมต่อลิตร ได้จำนวนกระเปาะสูงสุดเฉลี่ย 5.33 กระเปาะ

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่สนับสนุนสถานที่ในการทำการทดลอง ตลอดจนเครื่องมือและอุปกรณ์ ในการดำเนินโครงการวิจัยนี้

### เอกสารอ้างอิง

- Gago, J. Martínez-Núñez, L., Landín, M., Flexas, J. and P. P. Gallego. 2014. Modeling the Effects of Light and Sucrose on *In Vitro* Propagated Plants: A Multiscale System Analysis Using Artificial Intelligence Technology. Available source: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085998>, July 15, 2017.
- Jala, A. 2012. Effect Types of light and Synthetic Media on Germination and Growth of *Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce *In Vitro*. Science and Technology. 1: 27-36. (in Thai)
- Lampang Agricultural Research and Training Center. 2016. Knowledge of Plant tissue Culture. Available source: <http://www.lartc.rmutl.ac.th>, March 19, 2017. (in Thai)
- Muangkroot, A. 2014. Appropriate medium for micropropagation of *Nepenthes lowii* Hook.f. Available source: <http://www.tci-thaijo.org/index.php/tstj/issue/view/1663>, February 27, 2017. (in Thai)
- Sangdanuch, P. and W. Dovanve. 2008. Carnivorous Plant. Baanlaesuan Book House, Bangkok. 178 pp. (in Thai)



**Figure 1** Growth and pitcher formation of tropical pitchers cultured on MS media supplemented with 30, 60, 70, 80 and 90 g l<sup>-1</sup> sucrose after 10 weeks (Bar = 1 cm.)

**Table 1** Shoot induction of tropical pitcher cultured on MS with different concentrations of BA or kinetin after 10 weeks.

Concentration (mg l <sup>-1</sup> )	Number of shoots/ explant	Diameter of shoots (cm.)
BA/ KIN 0	4.30 <sup>c</sup> ± 0.90	1.19 <sup>bc</sup> ± 1.15
BA 1	5.40 <sup>bc</sup> ± 0.92	1.17 <sup>bc</sup> ± 1.03
BA 3	5.40 <sup>bc</sup> ± 1.10	1.15 <sup>bc</sup> ± 0.99
BA 5	5.90 <sup>ab</sup> ± 0.87	1.24 <sup>ab</sup> ± 1.20
BA 7	5.00 <sup>bc</sup> ± 1.08	1.17 <sup>bc</sup> ± 0.98
BA 9	5.20 <sup>bc</sup> ± 0.85	1.08 <sup>c</sup> ± 1.21
KIN 2	6.70 <sup>a</sup> ± 1.02	1.34 <sup>a</sup> ± 1.14
KIN 4	5.60 <sup>ab</sup> ± 1.12	1.06 <sup>c</sup> ± 0.89
KIN 6	6.00 <sup>ab</sup> ± 1.03	1.08 <sup>c</sup> ± 1.01
<b>F-test</b>	<b>**</b>	<b>**</b>
<b>CV (%)</b>	<b>18.08</b>	<b>10.27</b>

\*\* indicate significant difference at  $p < 0.01$  levels of probability.

Means followed by different letters are significantly different at  $p < 0.05$  according to *DMRT*.

**Table 2** The height, number and size of pitchers of tropical pitchers cultured on MS media supplemented with 30, 60, 70, 80 and 90 g l<sup>-1</sup> sucrose after 10 weeks.

Sucrose concentrations (g l <sup>-1</sup> )	Height (cm.)	Number of pitchers	Size of pitchers	
			Width (cm.)	Length (cm.)
30	4.50 <sup>c</sup> ± 1.32	1.66 <sup>c</sup> ± 1.30	0.11 <sup>c</sup> ± 0.21	0.10 <sup>b</sup> ± 0.15
60	5.33 <sup>b</sup> ± 1.25	2.77 <sup>bc</sup> ± 1.21	0.16 <sup>bc</sup> ± 0.18	0.23 <sup>b</sup> ± 0.12
70	5.50 <sup>b</sup> ± 1.09	2.33 <sup>c</sup> ± 1.35	0.24 <sup>b</sup> ± 0.23	0.33 <sup>b</sup> ± 0.14
80	5.73 <sup>ab</sup> ± 1.22	3.66 <sup>b</sup> ± 1.19	0.26 <sup>b</sup> ± 0.16	0.33 <sup>b</sup> ± 0.17
90	6.06 <sup>a</sup> ± 1.18	5.33 <sup>a</sup> ± 1.24	0.50 <sup>a</sup> ± 0.11	0.53 <sup>a</sup> ± 0.12
<b>F-test</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>
<b>CV (%)</b>	<b>3.29</b>	<b>14.43</b>	<b>18.08</b>	<b>26.85</b>

\*\* indicate significant difference at  $p < 0.01$  levels of probability.

Means followed by different letters are significantly different at  $p < 0.05$  according to *DMRT*.