

## ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้วยไม้หางช้างหลังจากได้รับสารพาโคลบิวทราโซล ในสภาพปลอดเชื้อ

### Morphology of *Grammatophyllum speciosum* Blume after Paclobutrazol Treatment in Sterile Conditions

ยุพารณ์ วิริยะนันท์<sup>1\*</sup> และ พรนภา นิลประภา<sup>1</sup>

Yupaporn Wiriyanant<sup>1\*</sup> and Pornnapa Nilprapa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000

<sup>1</sup> Department of Agriculture, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phra Nakhon Si Ayutthaya, 13000

\* Corresponding author: sirisomy@gmail.com

Received 11 July 2023; Revised 25 March 2024; Accepted 07 May 2024

#### บทคัดย่อ

สารพาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol; PBZ) เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งได้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อกระตุ้นให้ต้นพืชมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างไปจากเดิม ในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้มีการใช้สาร PBZ กับโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ (protocorm-like bodies; PLBs) ของกล้วยไม้หางช้าง โดยเติมสารละลาย PBZ เข้มข้น 0 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ PBZ ที่สูงขึ้นส่งผลให้การรอดชีวิต และการสร้างยอดรวมของชิ้นส่วนพืชลดลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ ( $P \leq 0.01$ ) โดยที่ความเข้มข้นของ PBZ เข้มข้น 49.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการตายของชิ้นส่วนพืช 50 เปอร์เซ็นต์ ( $LD_{50}$ ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้หางช้างที่เพาะเลี้ยงในอาหารไม่เติม PBZ พบว่า มีการเจริญเติบโตตามปกติ ยอดยืดยาวมีสีเขียว ความยาวลำต้นเฉลี่ยสูงสุด 10.30 เซนติเมตร ส่วนต้นกล้าที่อยู่ในอาหารเติม PBZ มีลำต้นสั้นกว่าชุดควบคุม โดยที่ความเข้มข้นของ PBZ เข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ลำต้นกล้วยไม้สั้นที่สุดเฉลี่ย 3.78 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์การสร้างรากน้อยสุด 57.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจำนวนรากในแต่ละชุดทดลองไม่มีความแตกต่างกัน เมื่ออนุบาลต้นกล้างในวัสดุปลูก พบว่ากล้วยไม้หางช้างมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่มาจากอาหารที่ไม่ได้เติม PBZ มีลักษณะยืดยาว ใบเรียวยาว ส่วนต้นกล้าที่ได้จากอาหารที่เติม PBZ มีลำต้นสั้น หนา ใบมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม และเมื่อย้ายต้นกล้างปลูกในกระถางบรรจุดินผสม ต้นกล้วยไม้หางช้างยังสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

**คำสำคัญ:** สารพาโคลบิวทราโซล, ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช, กล้วยไม้, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

#### Abstract

Paclobutrazol (PBZ) is a plant hormone in the group of plant growth retardants that has been applied to plants in sterile conditions. The purpose is to encourage plants to have different morphological characteristics. Therefore, in this study, PBZ was applied to the protocorm-like bodies (PLBs) of the Tiger orchid. PBZ solution at concentrations of 0, 20, 40 and 60 mg/l were added to MS medium with 1 mg/l BA, 3% sucrose and 0.75% agar and the explants were cultured for 4 weeks. It was found that higher PBZ concentrations resulted in survival and shoot formation decreased statistically significant difference ( $P \leq 0.01$ ). The PBZ concentration of 49.22 mg/l caused the death of 50% of PLBs. The morphology of orchids grown in a PBZ-free medium showed normal growth. Elongated shoots are green with an average height of 10.30 cm. The seedlings in the PBZ medium had shorter stems than the control. At the concentration of 60 mg/l PBZ, the shortest orchid stem was 3.78 cm, and the lowest root formation of 57.14%. However, there was no difference in several roots in each experiment. The seedlings had a 100% survival rate after acclimatization. After hardening, plants derived from PBZ-free medium had elongated, slender leaves, while seedlings grown on PBZ medium had short, thick stems, large leaves, and dark green color. The orchid plants can continue to grow normally after transplanting into the soil.

**Keywords:** Paclobutrazol, plant morphology, orchids, plant tissue culture

## บทนำ

กล้วยไม้ทางช้าง หรือว่านเพชรหึง เป็นกล้วยไม้ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Grammatophyllum speciosum* Blume จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae พบได้โดยทั่วไปในป่าเขตร้อนชื้นบริเวณภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ นิยมปลูกเป็นไม้ประดับ เนื่องจากมีลำต้น และดอกขนาดใหญ่ สวยงาม สะดุดตา อีกทั้งยังมีสรรพคุณทางยา (Chowjarean *et al.*, 2018) ซึ่ง Uawonggul และคณะ (2006) ได้รายงานไว้ว่า ในทางแพทย์แผนไทย ยาต้มจากกล้วยไม้ทางช้าง ใช้รักษาอาการเจ็บคอและหลอดลมอักเสบ นอกจากนี้สารสกัดจาก pseudobulb ยังสามารถใช้ทาบริเวณผิวหนังที่โดนแมงป่องกัดเพื่อบรรเทาอาการเจ็บปวดได้ กล้วยไม้ทางช้าง เป็นพืชอนุรักษ์ตามบัญชีแนบท้ายที่ 2 ของอนุสัญญา CITES หมายถึงเป็นพืชที่เหลือน้อยในธรรมชาติยังไม่สูญพันธุ์ สามารถทำการค้าได้โดยไม่ละเมิดกฎหมาย (Samala *et al.*, 2014) กล้วยไม้ทางช้าง นิยมขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งวิธีการนี้ได้รับความนิยมในการใช้ขยายพันธุ์กล้วยไม้กล้วยไม้หลายชนิด โดยส่วนใหญ่วัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ทางช้าง นอกจากจะเป็นการเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ในปริมาณมากโดยใช้ระยะเวลาอันสั้นแล้ว ยังเป็นการเพิ่มจำนวนต้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในทางยาอีกด้วย (Chatsuwan and Rungruchkanont, 2018)

สารพาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol; PBZ) เป็นสารอยู่ในกลุ่มสารประกอบไตรอะโซล (Triazole) มีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์หีบเบอเรลลิน (Gibberellin; GA) ในพืช จึงมีผลชะลอการแบ่งเซลล์และการยืดยาวของเซลล์ในบริเวณใต้ปลายยอด วิธีการให้สาร PBZ ทำได้ 2 วิธี คือ ฉีดพ่นทางใบ และการราดสารลงดิน ซึ่งการราดลงดินจะมีประสิทธิภาพมากกว่าการฉีดพ่นทางใบ เนื่องจาก PBZ ถูกลำเลียงได้โดยตรงผ่านท่อลำเลียงน้ำไปสู่น้ำเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญโดยตรง (Desta and Amare, 2021) การนำสาร PBZ มาใช้เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของพืชนั้น พบว่าสามารถควบคุมได้ทั้งความสูงและขนาดทรงพุ่มในพืชหลายชนิด เช่น ดาวเรืองพันธุ์ Antigua (Hongpakdee, 2014) ขนชมสายพันธุ์ฮอลแลนด์ (Pattanachatchai, 2014) ต้นดาหลา (Muangkaewngam and Te-chato, 2016) และ แกนตะวัน (Saenthongkham *et al.*, 2019) เป็นต้น นอกจากนี้ยังได้มีการประยุกต์ใช้สาร PBZ ในพืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อลดขนาดของทรงพุ่ม จำกัดความสูง หรือกระตุ้นการออกดอกในพืชได้ (Abdalla *et al.*, 2021) เช่น การเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นเทียมกล้วยหอมทอง (Phengchang *et al.*, 2022) ต้นม่วงเทพรัตน์ (Jiropasphanuwong *et al.*, 2015) ต้นกล้วยไม้ *Dendrobium nobile* (Wen *et al.*, 2013) เป็นต้น ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารละลาย PBZ ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของกล้วยไม้ทางช้าง เพื่อให้ได้ต้นพืชลักษณะที่แตกต่างไปจากเดิม อาจจะสามารถนำมาผลิตเป็นไม้กระถางที่มีขนาดกะทัดรัด หรือเพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นกล้วยไม้ เพื่อเพิ่มโอกาสการรอดชีวิตหลังการอนุบาล หรือหากต้นที่ได้มีลักษณะทางสัณฐานที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ก็อาจจะเป็นแนวทางหนึ่งในการต่อยอดเพื่อการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ทางช้าง และการนำวิธีการไปประยุกต์ใช้ในพืชอื่น ๆ ต่อไป

## วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

### การเตรียมชิ้นส่วนพืช

ในการวิจัยครั้งนี้ ใช้ชิ้นส่วนโปรโตคอร์มไลค์บอดี (Protocorm like bodies; PLBs) กล้วยไม้ทางช้างที่ได้จากการเพาะเมล็ด อายุ 2 เดือนหลังจากการย้ายเลี้ยง บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) เติม BA (Benzylamniopurine) เข้มข้น 1 มิลลิกรัม ตอลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงภายใต้การให้แสงนาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มข้นแสง 2000 ลักซ์ อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

### ศึกษาผลของพาโคลบิวทราโซลต่อการพัฒนาของ PLBs กล้วยไม้ทางช้างในสภาพปลอดเชื้อ

นำชิ้นส่วน PLBs กล้วยไม้ทางช้าง มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสาร PBZ (LGC Dr Ehrenstorfer, Germany) เข้มข้น 0 20 40 และ 60 มิลลิกรัมตอลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก Wiriyayanont *et al.*, 2019) เพาะเลี้ยงในที่ที่มีแสงสีขาว จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26 - 28 องศาเซลเซียส หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด และความยาวยอด ในแต่ละชุดทดลอง

จากนั้น นำชิ้นส่วนต้นกล้วยไม้ทางช้าง จากอาหารที่เติมสาร PBZ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำรากคือ ½ MS ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงในที่ที่มีแสงสีขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26 - 28 องศาเซลเซียส หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากต่อชิ้นส่วนในแต่ละชุดทดลอง

### ศึกษาการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้ทางช้างหลังการอนุบาลลงในวัสดุปลูก

ใช้ปากคีบ ดึงต้นกล้วยไม้ทางช้างจากขวดอาหารเพาะเลี้ยง โดยระวังอย่าให้รากขาด นำมาล้างด้วยน้ำประปาให้ร้อนออกให้สะอาด แล้วนำไปเพาะลงบนกระบะเพาะ ที่บรรจุ สแฟกนัมมอส รดน้ำ เข้า-เย็น ครั้งละ 10 มิลลิลิตร หลังจากการอนุบาลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและลักษณะทางสัณฐานของต้นพืช

### สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple's Range test (DMRT) แต่ละการทดลอง ทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นส่วน

## ผลการทดลองและวิจารณ์

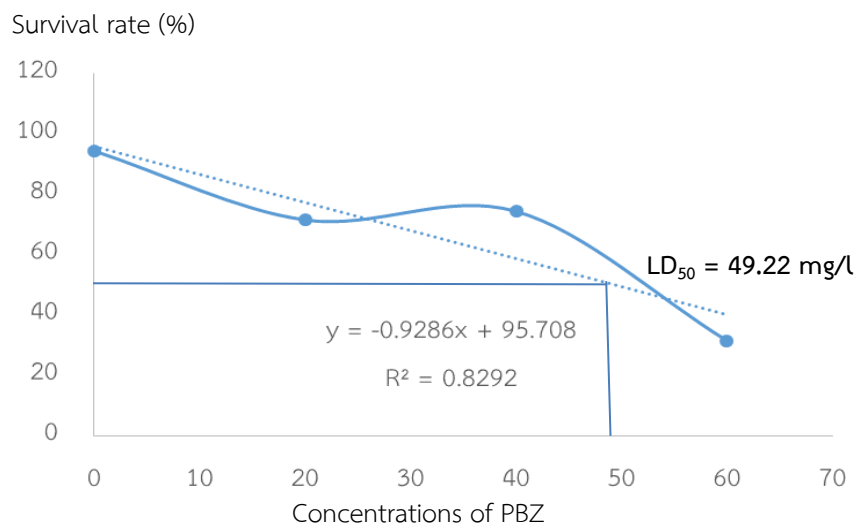
### ผลของสาร PBZ ต่อการพัฒนาและลักษณะทางสัณฐานของกล้วยไม้ทางช้าง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน PLBs บนอาหารเต็ม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า PLBs บนอาหารที่ไม่เติม PBZ มีการพัฒนาให้ยอดรวมมากที่สุด 94.28 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 20.69 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ความเข้มข้นของ PBZ เข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนพืชเกิดยอดรวมน้อยสุด 31.42 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 5.14 ยอดต่อชิ้นส่วน (Table 1) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.01$ ) เมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของ PBZ ที่ทำให้เกิดการตายของชิ้นส่วนพืชตลอดครึ่งหนึ่ง ( $LD_{50}$ ) พบว่ามีค่าเท่ากับ 49.22 มิลลิกรัมต่อลิตร (Figure 1) ในการศึกษาครั้งนี้ PBZ ส่งผลต่อจำนวนยอดรวมของกล้วยไม้ทางข้างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อความเข้มข้นของ PBZ เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ PLBs มีการพัฒนาของยอดรวมที่ลดลงสอดคล้องกับ Tauk และคณะ (2021) ที่ใช้ PBZ เข้มข้น 0-40 มิลลิกรัมต่อลิตร กับไม้เนื้อน้ำ Dwarf Water Hyssop พบว่าความเข้มข้นของ PBZ เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้การสร้างยอดรวมของพืชน้อยสุด 3.71 เปอร์เซ็นต์ แต่ในพืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลายชนิดกลับพบว่า PBZ ไม่ส่งผลต่อการสร้างยอดรวม โดย Muangkaewngam และ Te-chato (2016) พบว่า การใช้สาร PBZ ที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่ส่งผลต่อการสร้างยอดรวมของตาหาลา นอกจากนี้ Wiriyananont และ (2019) ยังได้รายงานไว้ว่า การใช้สาร PBZ ความเข้มข้น 0-60 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ PLBs กล้วยไม้กะระรอนปากเปิด ไม่ส่งผลต่อการสร้างยอดรวมของชิ้นส่วนพืช อีกทั้ง ChooPeng และ Te-chato (2019) ยังได้รายงานผลในทำนองเดียวกันคือ เมื่อใช้สาร PBZ เข้มข้น 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่ส่งผลต่อจำนวนยอดรวมของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุดชอนเดียวกัน ซึ่งหากพิจารณาคุณสมบัติของสาร PBZ พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน และเพิ่มระดับไซโตไคนิน ส่งผลให้ต้นพืชหดสั้นลง ในขณะที่อาจเพิ่มจำนวนตาข้างหรือยอดรวมของพืชได้ (Desta and Amare, 2021) ทั้งนี้อาจต้องพิจารณาถึงความเข้มข้นของ PBZ ที่ใช้กับชนิดของพืชด้วย หากใช้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจกลับกลายเป็นการยับยั้งการพัฒนาของพืชได้

**Table 1** Protocorm-like bodies survived and several shoots after being treated with differentiation of paclobutrazol for 4 weeks.

Concentrations of PBZ (mg/L)	Survival of explants (%)	Number of shoots/explants
0	94.28 <sup>a</sup>	20.69 <sup>a</sup>
20	71.42 <sup>b</sup>	13.23 <sup>b</sup>
40	74.28 <sup>b</sup>	13.97 <sup>b</sup>
60	31.42 <sup>c</sup>	5.14 <sup>c</sup>
F-test	**	**
C.V. (%)	20.81	29.48

Different letters were significantly different by DMRT; \*\* = significant at  $P \leq 0.01$



**Figure 1** The concentrations of paclobutrazol resulted in the death of half of the plant parts ( $LD_{50}$ ) after culturing of PLBs on MS medium with 1 mg/l BA for 4 weeks.

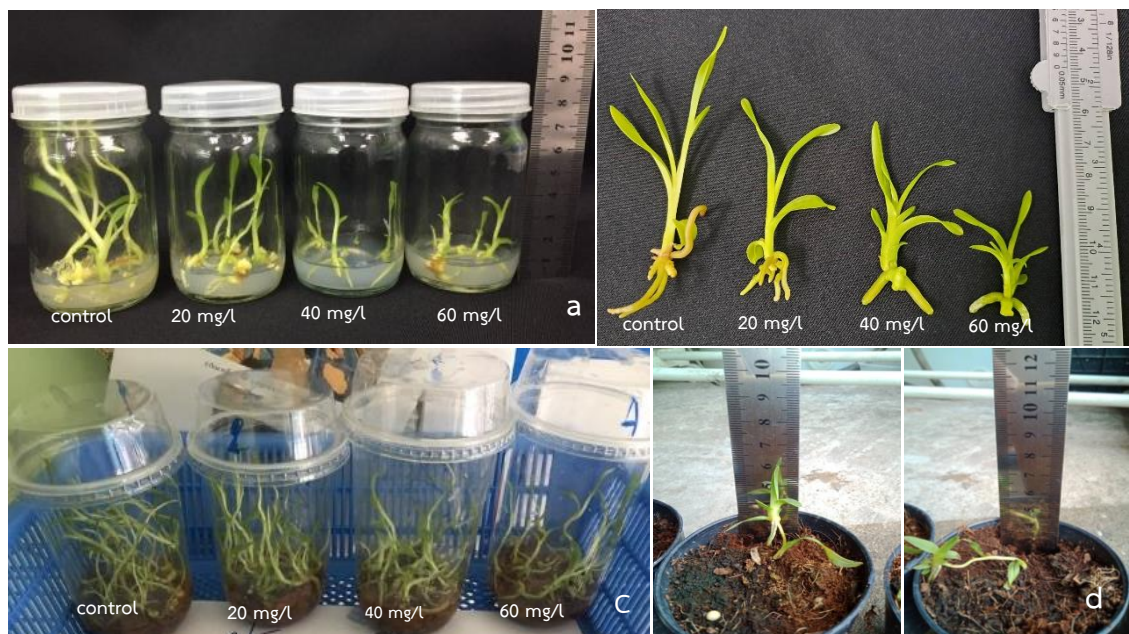
ลักษณะทางสัณฐานของกล้วยไม้ทางข้างที่เพาะเลี้ยงในอาหารไม่เติม PBZ พบว่ามีการเจริญเติบโตตามปกติ ยอดยืดยาวมีสีเขียว ลำต้นสูงเฉลี่ย 10.30 เซนติเมตร ส่วนต้นกล้าที่อยู่ในอาหารเต็ม PBZ มีลำต้นสั้นกว่าชุดควบคุม โดย PBZ เข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ลำต้นกล้วยไม้มีขนาดสั้นที่สุดเฉลี่ย 3.78 เซนติเมตร (Table 2) จากการศึกษาครั้งนี้ เห็นได้ว่าสาร PBZ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชในสภาพปลอดเชื้ออย่างชัดเจน โดยเฉพาะขนาดของลำต้นที่สั้นลง (Figure 2-a) เช่นเดียวกับรายงานการใช้สาร PBZ เข้มข้น 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ความยาวยอดของตาหาลาสั้นลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้เพาะเลี้ยงในอาหารเต็ม PBZ (Muangkaewngam and Te-chato, 2016) ผลทางด้านความสูงของต้นพืชยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wen และ (2013) ที่ได้ทดลองใช้สาร PBZ ในต้นกล้วยไม้สกุลหวาย (*D. nobile*) และพบว่า การใช้ PBZ ที่ความเข้มข้นสูงส่งผลให้ต้นกล้วยไม้เตี้ยกว่าต้นในชุดควบคุม และทำให้รากของพืชแข็งแรงขึ้นเพิ่มโอกาสการรอดชีวิตหลังออกปลูกในสภาพ

ธรรมชาติ เช่นเดียวกับการใช้สาร PBZ ในกล้วยไม้สกุลหวาย “Sonia Jo Daeng” (Obsuwan *et al.*, 2021) สำหรับการสร้างรากของต้นกล้วยไม้ทางข้าง พบว่า เมื่อความเข้มข้นของ PBZ สูงขึ้น การสร้างรากของต้นพืชกลับลดลง โดยเฉพาะเมื่อใช้ความเข้มข้นของ PBZ สูงถึง 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เปอร์เซ็นต์การสร้างรากของต้นพืชเพียง 57.14 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) อย่างไรก็ตาม การใช้สาร PBZ ไม่ส่งผลต่อจำนวนรากต่อต้น เมื่อสังเกตลักษณะราก พบว่า ต้นพืชที่ได้รับสาร PBZ รากจะหนา และสั้นกว่ารากของต้นพืชที่ไม่ได้รับสาร PBZ (Figure 2-b) ทั้งนี้เนื่องจาก กลไกการทำงานของสาร PBZ จะยับยั้งการสังเคราะห์ฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน ซึ่งจิบเบอเรลลินมีผลยับยั้งการพัฒนาของ adventitious roots ดังนั้นเมื่อจิบเบอเรลลินถูกยับยั้ง การสร้างรากของพืชจึงถูกกระตุ้นได้มากขึ้นจากการใช้สาร PBZ ที่ความเข้มข้นต่ำ (Bueno *et al.*, 2021) แต่ในการศึกษานี้ ความเข้มข้นของ PBZ ที่สูงเกินไป อาจกลับกลายเป็นยับยั้งการสร้างรากเช่นเดียวกับการใช้ฮอร์โมนพืชชนิดอื่น ๆ คือจะใช้ได้ผลดีเมื่อใช้ในปริมาณน้อย หากใช้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลยับยั้งการพัฒนาหรือการเจริญเติบโตของพืช

**Table 2** Morphological characteristics of Tiger orchid plant after being treated with differentiation of paclobutrazol for 12 weeks.

Concentrations of PBZ (mg/L)	Stem average height (cm)	Root formation (%)	Number of roots/shoot	Plant morphology
0	10.30 ± 0.92 <sup>a</sup>	100.00 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.28	The stem is elongated and thin. The young leaves are green and slender.
20	7.80 ± 1.01 <sup>b</sup>	100.00 <sup>a</sup>	1.93 ± 0.53	The stem is short and thick; the leaves are large with dark green.
40	5.03 ± 0.66 <sup>c</sup>	85.71 <sup>b</sup>	1.74 ± 0.93	The stem is short and thick; the leaves are large with dark green.
60	3.78 ± 0.76 <sup>c</sup>	57.14 <sup>c</sup>	1.28 ± 1.26	The stem is short and thick; the leaves are large with dark green.
F-test	**	**	ns	
C.V. (%)	7.81	5.04	40.75	

Different letters were significantly different by DMRT; \*\* = significant at  $P \leq 0.01$



**Figure 2** Morphological characteristics of *in vitro* Tiger orchid plant after being treated with differentiation of paclobutrazol.

- a; Morphological characteristics of Tiger orchid plants in sterile condition after cultured for 8 weeks.  
 b; Tiger orchid seedlings after cultured on different concentrations of PBZ for 8 weeks.  
 c; Tiger orchid seedlings after nursed with sphagnum moss for 4 weeks.  
 d; Tiger orchid seedlings after nursed into the soil mixture for 2 weeks.





**Figure 3** Morphological characteristics of *in vitro* Tiger orchid plant after being treated with differentiation of paclobutrazol and transplanted in soil mixtures for 4 months.

เมื่อพิจารณาการรอดชีวิตของต้นพืช หลังจากการอนุบาล พบว่าต้นกล้วยไม้ทางข้างมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกชุดทดลอง ต้นที่มาจากอาหารที่ไม่ได้เติม PBZ มีลักษณะยืดยาว ใบเรียวยาว ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้จากอาหารที่เติม PBZ มีลำต้นสั้น หนา ใบมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม (Figure 2-c) และเมื่อย้ายต้นกล้วยไม้ลงในกระถางบรรจุดินผสม ต้นกล้วยไม้ทางข้างยังสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ แต่ต้นที่ได้รับสาร PBZ มีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร PBZ (Figure 2-d) และเป็นที่น่าสังเกตว่า หลังจากการเพาะต้นกล้วยไม้ในดินผสมเป็นเวลา 4 เดือน ต้นพืชที่ได้รับสาร PBZ ยังคงเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร PBZ (Figure 3) เป็นไปได้ว่าสาร PBZ ยังคงสะสมอยู่ในต้นพืช ซึ่ง Kumer และคณะ (2021) ได้รายงานไว้ว่า สาร PBZ มีระยะเวลาที่สารสลายตัวไปจนเหลือปริมาณครึ่งหนึ่งของปริมาณเดิม (half life) อยู่ที่ 43- 618 วัน (เฉลี่ย 182 วัน) จึงเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ของสาร PBZ ในต้นกล้วยไม้ทางข้างยังคงมีอยู่ จึงส่งผลให้ต้นพืชเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร PBZ ทั้งนี้ อาจต้องมีการตรวจสอบปริมาณสาร PBZ ที่เหลือจริงอยู่ในต้นพืชรวมด้วยเพื่อยืนยันผลการทดลองที่ได้ให้ชัดเจนมากขึ้น ในส่วนของผลของ PBZ ต่อการรอดชีวิตของต้นพืชหลังการอนุบาลนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Gimenes และคณะ (2018) ที่ได้รายงานไว้ว่า การใช้ PBZ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในกล้วยไม้ *Zygopetalum crinitum* ไม่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของกล้วยไม้หลังออกปลูก เพียงแต่จะส่งเสริมให้ต้นพืชมีลักษณะลำต้นที่เตี้ยลงและมีลักษณะทางสัณฐานที่แตกต่างไปจากเดิม แต่ในพืชบางชนิดสาร PBZ ส่งผลต่อการรอดชีวิตหลังการอนุบาลปลูก เช่นการใช้สาร PBZ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นมวงเทพรัตน์ พบว่า ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสาร PBZ รวมด้วยส่งผลให้ต้นพืชมีอัตราการรอดชีวิตหลังการอนุบาลสูงกว่าต้นที่ไม่ได้เพาะเลี้ยงในอาหารเติม PBZ เนื่องจาก ต้นมวงเทพรัตน์ที่ได้รับสาร PBZ อาจมีผนังเซลล์หนา ส่งผลให้ลำต้นพืชแข็งแรงมากขึ้น จึงเพิ่มโอกาสในการรอดชีวิตหลายหลังอนุบาลปลูก (Jiropasphanuwong *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตาม ผลจากการใช้สาร PBZ ที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดนั้น มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้ง ชนิดของพืช ขึ้นสวนพืช รวมทั้งความเข้มข้นของสารที่ใช้อีกด้วย

ด้วยคุณสมบัติของสาร PBZ ที่เด่นชัดในเรื่องของการควบคุมให้พืชมีลำต้นหรือข้อปล้องที่สั้นลง นอกจากการประยุกต์ใช้ในสภาพปลอดเชื้อ ยังมีการใช้สาร PBZ กับต้นพืชในสภาพธรรมชาติ ซึ่ง Promchan และคณะ (2015) รายงานไว้ว่า เมื่อใช้สารละลาย PBZ ที่ระดับและปริมาณที่สูงขึ้น ส่งผลให้ความสูงของต้นดาวเรืองสายพันธุ์ลูกผสมอเมริกันนั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับ Hongpakdee (2014) ที่ได้รายงานไว้ในต้นดาวเรืองเช่นเดียวกัน คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PBZ มากขึ้น ส่งผลให้ความสูงของต้นพืชนั้นลดลง และผลที่ได้นี้ยังสอดคล้องกับการรายงานการใช้สารละลาย PBZ ในพืชชนิดอื่น ๆ อีกด้วย เช่น ขวนชม (Pattanachatchai, 2014) แก่นตะวัน (Saenthongkham *et al.*, 2019) เป็นต้น โดยความเข้มข้นที่นิยมใช้อยู่ระหว่าง 1 – 90 มิลลิกรัมต่อลิตร (Gaston, 2001) แต่อาจจะต้องพิจารณาถึงการปรับตัวของต้นพืชหลังจากการนำไปปลูกในสภาพธรรมชาติด้วย โดยต้นพืชที่ได้รับสาร PBZ อาจใช้เวลาในการปรับตัวนานกว่าต้นพืชปกติเพื่อให้สามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมธรรมชาติได้ (Abdalla *et al.*, 2021)

ในการศึกษานี้ ได้ต้นกล้วยไม้ทางข้างที่คาดว่าอาจจะมีลักษณะทางสัณฐานที่แตกต่างไปจากเดิม จากการใช้สาร PBZ กับ PLBs ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 20 – 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะต้นพืชในแต่ละชุดทดลอง ลักษณะการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นที่เด่นชัดคือ ความสูงของต้นพืชลดลง ใบ และรากสั้นลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ยังคงต้องมีการศึกษาและเก็บข้อมูลเพิ่มเติมจากต้นที่มีการอนุบาลในวัสดุปลูกอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งอนุบาลต่อเนื่องมาประมาณ 4 เดือน (Figure 3) เพื่อสังเกตการเจริญเติบโต จนกระทั่งต้นพืชออกดอก ทั้งนี้ เพื่อให้ผลการศึกษาที่แน่ชัดว่า ต้นพืชที่ได้รับสาร PBZ นั้นมีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมในระดับใด หรือการตรวจสอบข้อมูลทางด้านพันธุกรรมเพื่อยืนยันผลว่า ลักษณะที่เกิดขึ้นนั้น เกิดขึ้นในระดับดีเอ็นเอ หรือเป็นเพียงลักษณะที่เกิดขึ้นจากอิทธิพลของสาร PBZ ที่ได้รับเขาไป ซึ่งพอสาร PBZ ในต้นพืชลดลงจนกระทั่งหมดไป ต้นพืชนั้นจะสามารถกลับมาเจริญเติบโตได้ตามปกติหรือไม่ ข้อมูลต่างๆ เหล่านี้ ยังจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาอย่างต่อเนื่อง และยังเป็นข้อมูลพื้นฐาน ในการนำไปประยุกต์ใช้กับพืชอื่นๆ ต่อไป

## สรุป

การใช้สาร PBZ เข้มข้น 0-60 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ PLBs ของกล้วยไม้ทางช้าง ในอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ PBZ ที่สูงขึ้นส่งผลให้การรอดชีวิต และการสร้างยอดรวมของชิ้นส่วนพืชลดลง โดยที่ความเข้มข้นของ PBZ เข้มข้น 49.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการตายของชิ้นส่วนพืช 50 เปอร์เซ็นต์ (LD<sub>50</sub>) ลักษณะทางสัณฐานของกล้วยไม้ทางช้างที่เพาะเลี้ยงในอาหารไม่เติม PBZ พบว่ามี การเจริญเติบโตตามปกติ ยอดยึดยาวมีสีเขียว สูงเฉลี่ย 10.30 เซนติเมตร ส่วนต้นกล้าที่อยู่ในอาหารเติม PBZ มีลำต้นสั้นกว่าชุดควบคุม โดยที่ความเข้มข้นของ PBZ เข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ลำต้นกล้วยไม้มีขนาดสั้นที่สุดเฉลี่ย 3.78 เซนติเมตร เมื่ออนุบาลต้นกล้างใน วัสดุปลูก พบว่า ต้นกล้วยไม้ทางช้างมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่มาจากอาหารที่ไม่ได้เติม PBZ มีลักษณะยึดยาว ใบเรียวยาว ส่วนต้นกล้าที่ได้จากอาหารที่เติม PBZ มีลำต้นสั้น หนา ใบมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม เจริญเติบโตได้ช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร PBZ และเมื่อย้ายต้นกล้างปลูกในกระถางบรรจุดินผสม ต้นกล้างกล้วยไม้ทางช้างยังสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

## เอกสารอ้างอิง

- Abdalla, N., Taha, N., Bayoumi, Y., El-Ramady, H. and Shalaby, T.A. 2021. Paclobutrazol applications in agriculture, plant tissue cultures and its potential as stress ameliorant: a mini-review. *Environment, Biodiversity and Soil Security* 5: 245-257.
- Bueno, P.M.C., Tofaneli, M.B.D., Vendrame, W.A. and Biasi, L.A. 2021. Paclobutrazol as an alternative to improve propagation of *Rubus brasiliensis* Mart. *Scientia Horticulturae* 287(2): 110215 DOI:10.1016/j.scienta.2021.110215.
- Chatsuwan, Y. and Rungruchkanont, K. 2018. Effects of media composition and light condition germination and development of *Grammatophyllum speciosum* Blume seed *in vitro*. The 19<sup>th</sup> National Graduate Research Conference March 9, 2018, at Khon Kaen University.
- Choopeng, S. and Te-chato, S. 2019. Effect of plant growth regulators on growth and *in vitro* flowering of hybrid between *Dendrobium santana* and *D. friedericksianum*. *Songklanakarin Journal of Plant Science* 6(1): 38-47.
- Chowjarean, V., Sucontphunt, A., Vchirawongkwin, S., Charoonratana, T., Songsak, T., Harikarnpakdee, S. 2018. Validated RC-HPLC method for quantification of gastrin in ethanolic extract from the pseudobulbs of *Grammatophyllum speciosum* Blume," *Malaysian Journal of Analytical Science* 22(2): 219– 226.
- Desta, B. and Amare, G. 2021. Paclobutrazol as a plant growth regulator. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 8(1): 1-15.
- Gaston, M.L. 2001. Tips on regulating the growth of floriculture crops. United States: O.F.A. Services Incorporated.
- Gimenes, R., Pivetta, Kathia F.L., Mazzini-Guedes, R.B., Ferraz, M.V., Pereira, S.T.S., Santos, Á.S., Tadeu de Faria, R. and Praseres de Almeida, L.C. 2018. Paclobutrazol on *in vitro* growth and development of *Zygopetalum crinitum* Orchid, and on seedling acclimatization. *American Journal of Plant Science* 9: 1029-1036.
- Hongpakdee, P. 2014. Effects of paclobutrazol on water use and growth of potted marigolds. *Journal of Agriculture* 30(3): 281-289.
- Jiropasphanuwong, Y., Ramasoot, S., Mahannop, K. and Ninkrawat, T. 2015. Enhancement of *Exacum affine* Balf. tissue culture *in vitro* by using paclobutrazol. *Wichcha Journal* 34(1): 53-60.
- Kumar, G., Lal, S., Bhatt, P., Ram, R.A., Bhattacharjee, A.K., Dikshit, A., and Rajan, S. 2021. Mechanisms and kinetics for the degradation of paclobutrazol and biocontrol action of a novel *Pseudomonas putida* strain T7. *Pesticide Biotechnology and Physiology* 175: 1-10.
- Muangkaewngam, A. and Te-chato, S. 2016. Effect of paclobutrazol on *in vitro* culture of Torch Ginger (*Etlingera elatior* [Jack] R.M.Smith.). *Princess of Naradhiwas University Journal* 8(1): 111-116.
- Obsuwan, K., Deesubin, P., Tongam, A. and Juneenat, O. 2021. Influence of paclobutrazol on growth of *Dendrobium* 'Sonia Jo Daeng' under salt stress condition in tissue culture. *Science, Engineering and Health Studies* 15, 21030001. <https://doi.org/10.14456/sehs.2021.3>.
- Pattanachatchai, N. 2014. Paclobutrazol: effects on canopy growth and chlorophyll content of *Adenium obesum* cv. Holland. *Khon Kaen Agriculture Journal* 42(1): 39-46.
- Phengchang, P., Suvittawat, K., Tanongjid, K., Thawornchareon, D. and Saradhulhat, P. 2022. Effect of paclobutrazol on pseudostem sucker growth of *Musa* (AAA group) 'Kluai Hom Thong'. *Journal of Agricultural Science and Management* 5(1): 13-18.
- Promchan, T., Harattaya, K., Rungsawang, P., Tabtim, A. and Meetum, P. 2015. Effect of applied volume of paclobutrazol on growth and flowering of American hybrids marigold. *Wichcha Journal* 34(1): 26-37.
- Saenthongkham, A., Sumana, N., Jogloy, S. and Hongpakdee, P. 2019. Effects of PBZ and MPC for control of growth and flowering of potted Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *King Mongkut's Agricultural Journal* 37(2): 200-211.
- Samala, S., Te-chato, S., Yenchon, S. and Thammasiri, K. 2014. Protocorm-like body proliferation of *Grammatophyllum speciosum* through a symbiotic seed germination. *ScienceAsia* 40: 379-383.

- Tauk, C., Chuaduangpui, P. and Khawniam, T. 2021. Effect of explants on plant regeneration and concentration of paclobutrazol on morphological response of Dwarf Water Hyssop (*Bacopa monnieri*). Naresuan University Journal: Science and Technology 29(3): 56-66.
- Uawonggul, N., Chaveerach, A., Thammasirirak, S., Arkaravichien, T., Chua, C. and Daduang, S. 2006. Screening of plants acting against *Heterometrus laoticus* scorpion venom activity on fibroblast cell lysis. Journal of Ethnopharmacology 103(2): 201-207.
- Wen, Z.Z., Lin, Y., Lui, Y.Q., Wang, M., Wang, Y.Q. and Liu, W. 2013. Effects of paclobutrazol *in vitro* on transplanting efficiency and root tip development of *Dendrobium nobile*. Biologia Plantarum 57(3): 576-580.
- Wiriyananont, Y., Krajang, N. and Samitthiarporn, S. 2019. Effect of paclobutrazol on morphological characteristics of *Cymbidium finlaysonianum* Lindl. *in vitro*. Songklanakarin Journal of Plant Science 6(4): 19-24.

---

SJPS-11-01-M02-O-86-004