

มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างตาออกได้ Vu, Anh and Nhut [5] ศึกษาอิทธิพลของน้ำตาลซูโครสและไซโตไคนนต่อการชักนำให้กุหลาบพันธุ์ "First Prize" ออกดอกบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างกัน และใช้ไซโตไคนนชนิดต่างๆ ได้แก่ BA, TDZ และ zeatin กับ NAA พบว่าน้ำตาลซูโครสเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดดอกและช่วยในการพัฒนาตาออกและการใช้ไซโตไคนนทั้ง 3 ชนิด พบว่า BA และ zeatin เป็นฮอร์โมนที่ชักนำให้เกิดดอกดีกว่า TDZ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงตาข้างกุหลาบหนูให้ได้ต้นกล้าที่สมบูรณ์และสามารถออกดอกปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนากุหลาบหนูออกดอกในขวดให้เป็นสินค้าที่มีรูปแบบที่หลากหลายสำหรับผู้บริโภคและส่งเสริมตลาดการค้าของกุหลาบหนูให้กว้างขวางมากขึ้น

2. วิธีการวิจัย

1. ศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อตาข้างของกุหลาบหนู

นำชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบหนู (*Rosa chinensis* (Jacq.)) ขนาด 1.5 เซนติเมตร มาล้างด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 วินาที เพื่อกำจัดยางของกุหลาบหนู จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองรวมเป็น 15 วิธีการทดลองๆ ละ 10 ข้ว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมทวิน-20 จำนวน 2-3 หยด เขย่านาน 15 20 25 และ 30 นาที (A1-A4)

ชุดการทดลองที่ 2 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ผสมทวิน-20 จำนวน 2-3 หยด เขย่านาน 15 20 25 และ 30 นาที (B1-B4)

ชุดการทดลองที่ 3 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ผสมทวิน-20 จำนวน 2-3 หยด เขย่านาน 15 20 25 และ 30 นาที ตามด้วยสาร

ฟอกขาว ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมทวิน-20 จำนวน 2-3 หยด เขย่านาน 15 20 25 และ 30 นาที (C1-C4)

ชุดการทดลองที่ 4 ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารจับใบความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เขย่านาน 30 นาที ตามด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ 15 เปอร์เซ็นต์ และ 20 เปอร์เซ็นต์ ผสมทวิน-20 จำนวน 2-3 หยด เขย่านาน 15 นาที (D1-D3)

จากนั้นนำตาข้างของทุกวิธีการทดลองไปล้างด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog, 1962 (MS) ในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน จากนั้นบันทึกเปอร์เซ็นต์การปราศจากเชื้อโรคและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกุหลาบหนู

2. คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดยอดในหลอดทดลอง

นำตาข้างของกุหลาบหนูไปฟอกฆ่าเชื้อในวิธีที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 1 และแบ่งการทดลองออกเป็น 16 วิธีการทดลองๆ ละ 20 ข้ว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนต่างชนิดกัน คือ α -naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 6-benzyladenine (BA) หรือ 6-furfurylamino purine (kinetin) ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 21 วัน จากนั้นบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และความสูง ของยอด

3. คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ยอดกุหลาบหนูเจริญเป็นต้นและออกดอกในหลอดทดลอง

นำยอดของกุหลาบหนูจำนวน 1 ยอดที่ได้จากการทดลองที่ 2 ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมนต่างกัน ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 30 วิธีการทดลองๆ ละ 20 ข้ว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS

ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA หรือ thidiazuron (TDZ) หรือ 9-aminocaroxyethyltransferase (zeatin) ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 45-60 วัน จากนั้นบันทึกจำนวนต้นเฉลี่ย/ชิ้นส่วน และเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกของกุหลาบหนู

วิเคราะห์ผลการทดลองและหาค่าทางสถิติด้วยวิธี Analysis of variance (ANOVA) ทำการเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS

3. ผลและการอภิปรายผล

1. ศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อตาข้างของกุหลาบหนู

เมื่อศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างของกุหลาบหนูจำนวน 15 วิธีการทดลอง พบว่า ทุกวิธีการทดลองสามารถทำให้ตาข้างของกุหลาบหนูปราศจากเชื้อโรคได้สูง ซึ่งความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อและจำนวนครั้งในการฟอกฆ่าเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทำให้ตาข้างกุหลาบหนูปราศจากเชื้อโรค โดยการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 25 นาที ตามด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 25 นาที (C3) สามารถทำให้ตาข้างของกุหลาบหนูปราศจากเชื้อโรคได้เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1) ซึ่งวิธีดังกล่าวที่มีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาว 2 ครั้งมีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อสูงกว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารจับใบและการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวเพียงครั้งเดียว สอดคล้องกับรังศฤษฎี [1] รายงานว่า สารฟอกขาวหรือคลอโรกซ์เป็นสารฟอกฆ่าเชื้อในกลุ่มไฮโปคลอไรต์ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อสูงและนิยมใช้กันมาก ส่วนสารจับใบเหมาะสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อผิวเนื้อเยื่อที่ไม่เรียบและมีขน และเมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ พบว่า หากใช้เวลาในการฟอกฆ่าเชื้อมากกว่า 25 นาที จะมีผลทำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดการชำ บวม น้ำ เป็นอันตรายต่อเซลล์และ

เนื้อเยื่อ นอกจากนี้ยังไปกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง phenolic compound ซึ่งเป็นสารที่มีผลเสียต่อความสมดุลของออกซินและไซโตไคนิน และมีผลต่อการปิดกั้นการสร้างอวัยวะของพืช ทำให้ชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบหนูมีการเจริญลดลง [1]

2. คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดยอดในหลอดทดลอง

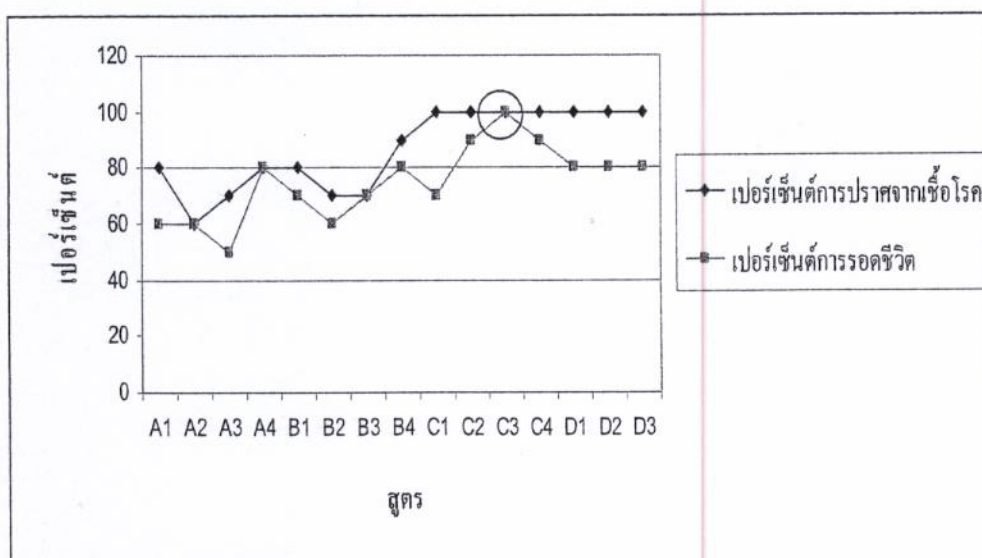
จากการศึกษาการชักนำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดยอดในสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA ร่วมกับฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA หรือ kinetin ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดยอดในอัตราที่สูง โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงตาข้างของกุหลาบหนูในสูตรอาหาร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (S203) สามารถเกิดยอดได้สูงสุดเท่ากับ 85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับอาหารสูตรอื่น และความสูงเฉลี่ยของยอดเท่ากับ 1.15 เซนติเมตร (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2) แสดงว่าหากมีการใช้ฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินเพียงอย่างเดียวก็สามารถกระตุ้นให้มีการเจริญของเนื้อเยื่อบริเวณตาข้างได้ดีกว่าการใช้ฮอร์โมนกลุ่มออกซินเพียงอย่างเดียว หรือใช้ฮอร์โมนกลุ่มออกซินร่วมกับไซโตไคนิน และถึงแม้ว่าในหลายการทดลองได้รายงานว่า BA เป็นฮอร์โมนที่สามารถชักนำให้ตาข้างเกิดยอดได้ดี แต่ในการทดลองนี้ พบว่า kinetin เป็นอีกฮอร์โมนหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถชักนำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดยอดได้ดีเช่นกัน ใกล้เคียงกับรายงานของ Hong [3] ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบหนู (*Rosa chinesis* var. *Floribunda*) พบว่าตาข้างของกุหลาบหนูจะเกิดยอดได้ดี เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5, NAA 0.05 และ zeatin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ kinetin ความเข้มข้น 1.0, NAA 0.05 และ zeatin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร Ozel and Arsian [4] รายงานว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA, kinetin หรือ TDZ สามารถชักนำให้ตาข้าง

ของกุหลาบมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้น NAA หรือ TDZ ในอาหาร จะทำให้ตาข้างกุหลาบมีการเจริญลดลง

3. คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ยอดกุหลาบหนูปิณทุเป็นต้นและออกดอกในหลอดทดลอง

จากการศึกษาการชักนำให้ยอดกุหลาบหนูปิณทุมีการเกิดต้นและออกดอกในสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA ร่วมกับฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA, TDZ และ zeatin ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่าทุกสูตรอาหารที่มีการเติมฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินสามารถชักนำให้กุหลาบหนูปิณทุเกิดต้นได้ดี เนื่องจากไซโตไคนินมีคุณสมบัติส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดแต่ยังยับยั้งการเกิดราก ส่งเสริมการแตกตาข้าง จากการเพาะเลี้ยงยอดกุหลาบหนูปิณทุในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำ

ให้มีการเกิดต้นได้สูงสุดเท่ากับ 20 ต้นเฉลี่ย/ชิ้นส่วน และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น และเมื่อพิจารณาการออกดอกของกุหลาบหนูปิณทุในหลอดทดลอง พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมเนื่องจาก zeatin เป็นฮอร์โมนที่สังเคราะห์ได้จากพืชสามารถชักนำให้กุหลาบหนูปิณทุออกดอกในสภาพหลอดทดลองได้สูงสุดเท่ากับ 70 เปอร์เซนต์ (ภาพที่ 3) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ กับอาหารสูตรอื่น ใกล้เคียงกับ Vu, Anh and Nbut [5] รายงานว่าเมื่อมีการศึกษาการใช้ไซโตไคนิน 3 ชนิด ได้แก่ BA, TDZ และ zeatin ในการชักนำให้กุหลาบพันธุ์ First Prize ออกดอกในสภาพหลอดทดลอง พบว่า BA และ zeatin เป็นฮอร์โมนที่สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ดีกว่า TDZ



ภาพที่ 1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การปราศจากเชื้อโรคและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกุหลาบหนูปิณทุเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน โดยพบว่าวิธีการที่ C3 มีประสิทธิภาพสูงสุด

< 801-36 >

26

วารสารวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ฉบับพิเศษ ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 (มกราคม - เมษายน 2554)

ISSN 1686 - 8420

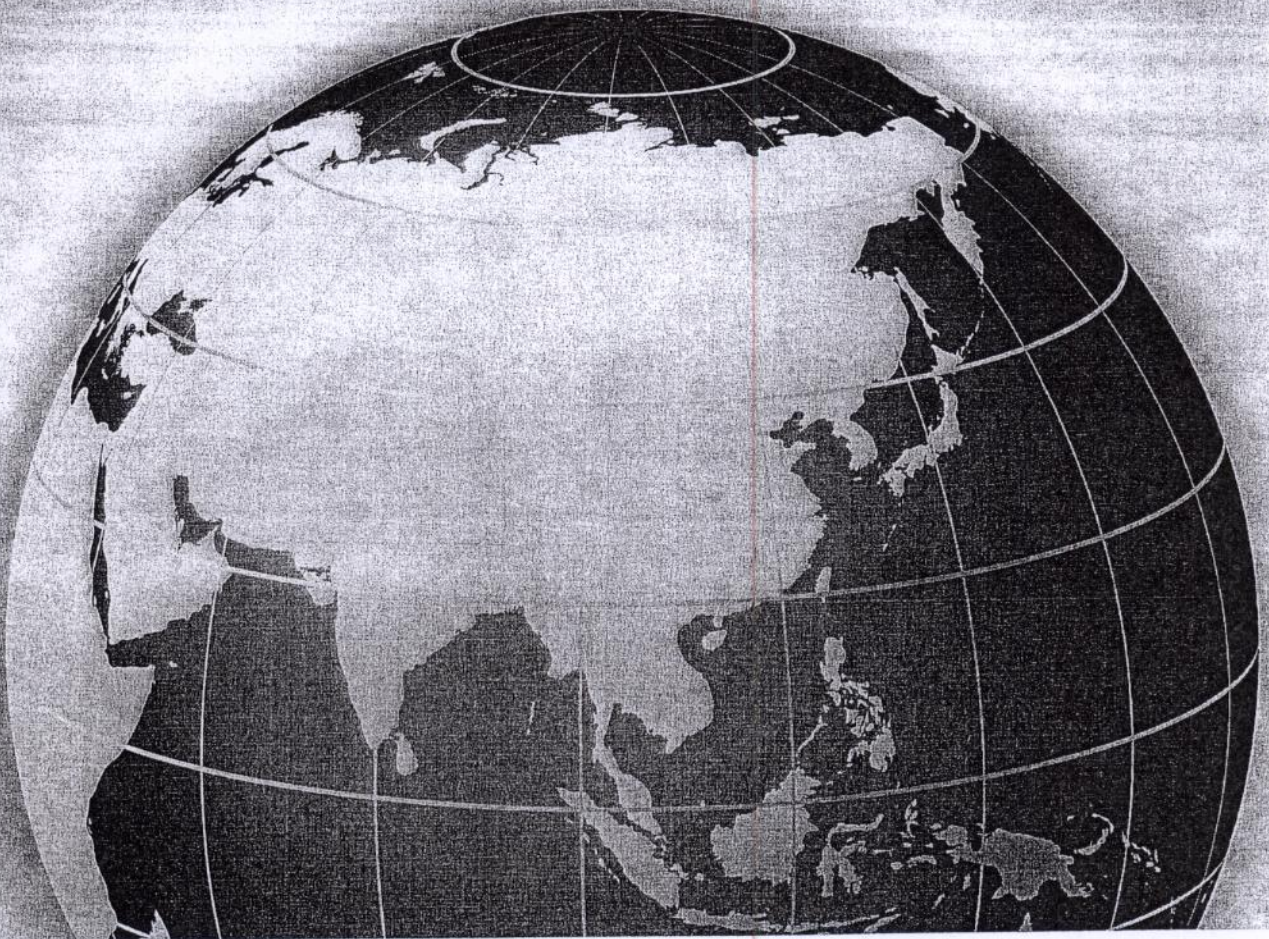
เล่มที่ 2



การประชุมวิชาการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 3

“การพัฒนาวិทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในยุคเศรษฐกิจสร้างสรรค์”



24 - 26 พฤศจิกายน 2553
ศูนย์ประชุมสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

3rd RMUTCON

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในหลอดทดลอง

ประภาพร พงษ์ไทย¹ และ สิริเวช พงษ์สวัสดิ์²

บทคัดย่อ— การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลอง โดยนำตาข้างของกุหลาบหนูไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวและสารจับใบความเข้มข้นต่างกัน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาว ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 25 นาที ตามด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 25 นาที เป็นวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำให้ตาข้างของกุหลาบหนูปราศจากเชื้อโรคได้สูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำตาข้างของกุหลาบหนูไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA หรือ kinetin ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 21 วัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดยอดได้สูงสุดเท่ากับ 85 เปอร์เซ็นต์ และความสูงเฉลี่ยของยอดเท่ากับ 1.15 เซนติเมตร จากนั้นนำยอดที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA หรือ TDZ หรือ zeatin ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 45-60 วัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นได้สูงสุดเท่ากับ 20 ต้นเฉลี่ย/ชิ้นส่วน และอาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลองได้สูงสุดเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ กุหลาบหนู ฟอกฆ่าเชื้อ สารฟอกขาว ออกดอกในสภาพหลอดทดลอง

1. บทนำ

กุหลาบหนู (*Rosa chinensis* (Jacq.)) จัดอยู่ในวงศ์ Rosaceae เป็นกุหลาบพันธุ์ที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในการนำมาใช้เป็นไม้ตัดดอกเพื่อการค้า แต่เนื่องจากกุหลาบหนูมีปัญหาเรื่องโรคและแมลงที่เข้าไปทำลายต้นกุหลาบหนูให้ได้รับความเสียหายเป็น

จำนวนมาก เช่น โรคราแป้ง โรคราดำ โรคใบจุดสีดํา เป็นต้น ส่งผลให้ดอกกุหลาบหนูไม่ได้คุณภาพ และปริมาณดอกต่อพื้นที่มีปริมาณน้อยมาก จึงทำให้ผลผลิตในประเทศไทยยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของท้องตลาด ปัจจุบันจึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการผลิตพืชหลากหลายชนิดให้ปราศจากเชื้อโรคในปริมาณมาก ใช้ระยะเวลาสั้น และได้ผลผลิตที่มีความสม่ำเสมอมากกว่าการเพาะขยายพันธุ์โดยวิธีธรรมชาติ แต่ในการวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงกุหลาบหนูยังมีไม่มากนัก และมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการเจริญเป็นต้นใหม่และการออกดอกของกุหลาบหนู ดังรายงานของ อัญชลี [2] ได้ศึกษาผลของฮอร์โมน NAA และ BA ต่อการเกิดดอกกุหลาบในหลอดทดลอง พบว่ายอดอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี 39 หมู่ 1 ต. คลองหก อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12110

โทรศัพท์ : +66(2)-549-4158 โทรสาร : +66(2)-5494179

E-mail : pongthai_p@hotmail.com

²สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี 39 หมู่ 1 ต. คลองหก อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12110

โทรศัพท์ : +66(2)-549-4143 โทรสาร : +66(2)-5494179

E-mail : pongswat_s@yahoo.com