การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูโดยอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย

จิราภรณ์ นิคมทัศน์[1]* ศิริวรรณ โพธิ์แก้ว[2] สิริวิมล กลิ่นหนู[2] รณิดา รักธรรม[2] และบัวหลวง ฝ้ายเยื่อ[3]

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์

[2]สาขาวิชาชีววิทยา คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์

[3]สถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารอย่างง่ายในการชักนำยอดของกุหลาบหนูด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิคอย่างง่ายในสภาพปลอดเชื้อ ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูถูกนำมาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน 5 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมน้ำยาล้างจาน เป็นเวลา 25 นาที ล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อจำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที โดยการฟอกฆ่าเชื้อใช้น้ำที่ฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ชิ้นส่วนจากการฟอกฆ่าเชื้อนำไปวางบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติมไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารอย่างง่าย จำนวน 4 สูตร ได้แก่ สูตรอาหาร Hydroponics A และ B อย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สังเกตและบันทึกจำนวนยอด จำนวนใบและความยาวยอด ผลการวิจัยพบว่า สูตรอาหาร Hydroponics A และ B อย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดและจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 1.33 ± 0.68 ยอด และ 5.96 ± 3.09 ใบ ตามลำดับ ส่วนความยาวยอดเฉลี่ย พบว่า อาหารสูตร MS แสดงความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 1.57 ± 0.86 เซนติเมตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับสูตรอาหารอย่างง่ายทุกสูตร ขณะที่สูตรอาหารอย่างง่ายที่ไม่เติม BA แสดงความยาวยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกับสูตรอาหารอย่างง่ายที่เติม BA 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร งานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยเบื้องต้นในการศึกษาการขยายพันธุ์ต้นกุหลาบหนูเพื่อลดต้นทุนต่อไป

***ผู้เขียนหลัก:** jnikomtat@uru.ac.th

คำสำคัญ: อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย การขยายพันธุ์พืช กุหลาบหนู

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY

Tissue Culture of *Rosa chinensis* Jacq. var. *minima* Voss. by Simple Plant Tissue Culture Media

Jiraporn Nikomtat[1]* Siriwan Pokeaw[2], Siriwimon Klinnoo[2] Ranida Raktham[2] and Bualuang Faiyue[3]

[1]Biology Program, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University

[2]Biology Program, Faculty of Education, Uttaradit Rajabhat University

[3]Environmental Research Institute, Chulalongkorn University

Abstract

The objective of this study was to study effect of simple media on miniature roses (*Rosa chinensis* Jacq. var. *minima* Voss.) shoot induction by a simple technique. The node explants were washed by dishwashing liquid for 5 minutes before being sterilized with 0.5 ml/L of 15% Haiter containing dishwashing liquid for 25 minutes following by 5 minutes of sterilized water for 3 times. Sterilized explants were cultured on 1/2 MS medium supplemented with 0.5ml/L Haiter for 2 weeks. After that, the explants were cultured for 6 weeks on MS medium and simple media prepared from 5 ml/L Hydroponics A and B that supplemented with various concentrations of BA at 0, 1, 3 and 5 mg/L. Then, shoot number, leaf number and shoot length were observed and recorded. The result showed that a simple medium supplemented with 3 mg/L BA displayed the highest average of shoot and leaf number of 1.33 ± 0.68 and 5.96 ± 3.09, respectively. Furthermore, the highest average of shoot length was 1.57 ± 0.86 cm for MS medium with the statistically significant difference from other simple media whereas simple media without BA showed average of shoot length without significant differences from simple media supplemented with 1, 3 and 5 mg/L BA. This research provides a basis for further study in low-cost miniature roses propagation.

***Corresponding Author:** jnikomtat@uru.ac.th

Keywords: Simple Plant Tissue Culture Media, Plant Propagation, Miniature Roses

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY

1. บทนำ

กุหลาบหนูเป็นพืชไม้ประดับชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เป็นไม้พุ่ม ดอกมีหลายสี กลีบดอกมีทั้งชั้นเดียวและหลายชั้น สามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี[1] จึงทำให้เป็นที่นิยมปลูกเป็นไม้กระถาง ปลูกประดับแปลงสวนประดับอาคารสถานที่ นอกจากนี้ กุหลาบหนูยังเป็นพืชที่ปลูกเลี้ยงง่าย ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีทำให้เป็นที่นิยมปลูกเป็นอันดับสองรองจากกุหลาบตัดดอก การขยายพันธุ์กุหลาบหนูส่วนใหญ่นิยมใช้การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เนื่องจาก จะได้ต้นที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์[2] เช่น การปักชำ การตอนกิ่งและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ[3] สำหรับวิธีการปักชำเป็นการตัดชิ้นส่วนของพืชแล้วนำไปปักไว้ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น ปักไว้ในที่มีความชุ่มชื้น แต่ต้นที่ได้จากการปักชำจะงอกรากได้ช้าและมักจะมีประสบปัญหาต้นเน่า เนื่องจากไม่มีรากในช่วงแรกของการปลูก การตอนกิ่งเป็นการทำให้กิ่งพืชออกรากในขณะอยู่ติดกับต้นแม่ การออกรากจะขึ้นอยู่กับความชื้นการถ่ายเทอากาศและระดับอุณหภูมิที่เหมาะสม แต่ถ้าปล่อยให้ดินหรือวัสดุหุ้มกิ่งแห้ง โดยไม่ได้ดูแลย่อมจะเป็นอุปสรรคต่อการเกิดรากได้เช่นกัน เมื่อนำไปปลูกจึงมีโอกาสตั้งตัวได้เร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยกว่าการปักชำ แต่เมื่อโตเต็มที่จะล้มง่ายเพราะไม่มีรากแก้ว[4] และมีปัญหาเรื่องโรคและแมลงที่เข้าไปทำลายต้นกุหลาบหนูให้ได้รับความเสียหายเป็นจำนวนมาก เช่น โรคราแป้ง โรคราน้ำค้าง โรคใบจุดสีดำ เป็นต้น[5]ส่งผลให้ดอกกุหลาบหนูไม่ได้คุณภาพและปริมาณดอกต่อพื้นที่มีปริมาณน้อยมาก นอกจากนี้ พบว่าฤดูกาลยังส่งผลต่อมีอัตราการขยายพันธุ์อีกด้วย[6]

ในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์กุหลาบหลายชนิด ซึ่งการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เป็นวิธีการที่ทำให้ได้ผลผลิตปริมาณมากและปลอดโรค และสามารถขยายพันธุ์กุหลาบได้จำนวนมากในเวลาอันสั้นทำให้ได้ต้นที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงประกอบกับปัจจุบันวิทยาการทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความก้าวหน้ามากขึ้น การชักนำต้น รากและยอด รวมถึงดอกได้ ซึ่งกุหลาบหนูก็ได้รับความสนใจและมีการศึกษาค้นคว้าการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการนำชิ้นส่วนกุหลาบหนูที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยนิยมใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige and Skoog, 1962 (MS) ร่วมกับฮอร์โมนพืชเป็นส่วนใหญ่ แต่เนื่องจากการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS นั้นมีต้นทุนการเตรียมสูงในด้านของสารเคมีและเครื่องมือต่าง ๆ อีกทั้งยังมีขั้นตอนการเตรียมที่ซับซ้อน เนื่องจากอาหารสูตร MS นั้น ประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดในปริมาณที่แตกต่างกันซึ่งต้องชั่งด้วยเครื่องชั่งสารเคมี ถึงแม้ว่าในปัจจุบันจะมีอาหารสูตร MS สำเร็จรูปออกจำหน่ายแล้วก็ตามก็ยังมีราคาที่สูง อีกทั้งยังต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงโดยการนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) เป็นเหตุให้เกษตรกรรายย่อยหรือผู้ที่สนใจการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีงบประมาณจำกัดไม่สามารถดำเนินการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จ ปัจจุบันมีการผลิตสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินจำหน่ายในรูปแบบ

ของสารละลายเข้มข้นซึ่งหาซื้อได้ทั่วไปในท้องตลาดและมีราคาถูกอีกทั้งยังประกอบด้วยธาตุอาหารจำเป็นสำหรับการปลูกพืชเช่นเดียวอาหารสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS ซึ่งรายงานการวิจัยของกิตติศักดิ์[7] พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อหญ้าหวานและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS และสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ไม่มีความแตกต่างกันในระดับนัยสำคัญ 0.05[7] ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงต้องการที่จะใช้เทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเพื่อขยายพันธุ์กุหลาบหนูโดยใช้ สารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นอาหารเพาะเลี้ยงพืชเพื่อลดราคาต้นทุนในการขยายพันธุ์กุหลาบหนูด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารอย่างง่ายในการชักนำยอดของกุหลาบหนูด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิคอย่างง่ายในสภาพปลอดเชื้อ

2. วิธีดำเนินการ

2.1 การเตรียมต้นกุหลาบหนู

นำต้นกุหลาบหนู ดอกสีแดง อายุประมาณ 7-8 เดือน ที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ไม่แสดงอาการของโรค จากสวนดอกไม้ จังหวัดนนทบุรี ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2562 มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยมีการฉีดสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ทั่วลำต้นของต้นกุหลาบหนู 2-3 วัน ก่อนที่จะนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.2 การเตรียมชิ้นส่วนกุหลาบหนู

นำกิ่งกุหลาบหนู ซึ่งอยู่ถัดลงมาจากโคนดอกในช่วงความยาวประมาณ 20 เซนติเมตร นำมาตัดกิ่งที่มีข้อติดอยู่ให้ได้ความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) มาล้างด้วยน้ำยาล้างจานเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาจนฟองหมด จากนั้นจึงนำข้อกุหลาบหนูไปฟอกฆ่าเชื้อในวิธีการต่อไป โดยมีการจัดทำพรรณไม้อัดแห้งอ้างอิงเก็บไว้ที่สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์

ภาพที่ 1 ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนู

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY

2.3 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนู

การฟอกฆ่าเชื้อได้ใช้น้ำปลอดเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์สูตรมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ดัดแปลงวิธีจาก กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์[7] นำชิ้นส่วนกุหลาบหนูฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ โดยหยดน้ำยาล้างจานลงไป 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 25 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อที่เตรียมด้วยวิธีข้างต้น จำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ดัดแปลงวิธีจาก รัตนา ขามฤทธิ์และอนัญญา กิ่งหลักเมือง[8] จากนั้นตัดแต่งเนื้อเยื่อก่อนนำไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติมไฮเตอร์สูตรมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาวะได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เพื่อเตรียมนำชิ้นส่วนในสภาพปลอดเชื้อไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.4 ศึกษาผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อการชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนู

นำชิ้นส่วนข้อกุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อจากข้อ 2.3 ไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารอย่างง่าย วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) รวม 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 15 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อาหารวุ้นสูตร MS

กรรมวิธีที่ 2 Hydroponics (N&P Herbal สูตร A และ B) อย่างละ 5 ml

กรรมวิธีที่ 3 Hydroponics (N&P Herbal สูตร A และ B) อย่างละ 5 ml + 1 mg/L BA

กรรมวิธีที่ 4 Hydroponics (N&P Herbal สูตร A และ B) อย่างละ 5 ml + 3 mg/L BA

กรรมวิธีที่ 5 Hydroponics (N&P Herbal สูตร A และ B) อย่างละ 5 ml + 5 mg/L BA

แต่ละกรรมวิธีเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 5.7 เติมผงวุ้นตรานางเงือก 10 กรัมต่อลิตร นำไปต้มจนวุ้นละลาย จากนั้นฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารโดยวิธีของกิตติศักดิ์ (2558) [7] โดยรอจนอุณหภูมิของอาหารลดลง ถึง 60 องศาเซลเซียส จึงเติมสารละลายไฮเตอร์ให้อาหารมีความเข้มข้นของไฮเตอร์เป็น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแต่ละกรรมวิธีไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะได้รับแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด จำนวนใบ และความยาวยอด และถ่ายภาพแต่ละกรรมวิธี จากนั้นทำวิธีการข้อ 2.2-2.4 ซ้ำอีก 2 ครั้ง รวมเป็น 3 ชุดการทดลอง

2.5 วิธีวิเคราะห์ผลการวิจัย

คำนวณค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY

3. ผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อการชักนำยอดของต้นกุหลาบหนู โดยการนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูที่เลี้ยงบนอาหาร ½ MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS และสูตรอาหารอย่างง่าย Hydroponics (N&P Herbal สูตร A และ B) จำนวน 4 สูตร ได้แก่ Hydroponic A และ B ,Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรและ Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ มีผลการศึกษา ดังนี้

3.1 ผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อการจำนวนยอดและจำนวนใบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนู

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูในสูตรอาหารต่าง ๆ จำนวน 5 สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหาร Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.33 ± 0.68 ยอด รองลงมา คือ สูตรอาหาร Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร, Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, Hydroponic A และ B และ MS จำนวนยอดเฉลี่ย 1.28 ± 0.66, 1.20 ± 0.78, 0.93 ± 0.60 และ 0.86 ± 0.45 ยอด ตามลำดับ ทั้งนี้สูตรอาหาร Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรแสดงจำนวนใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกับสูตรอาหาร MS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 2

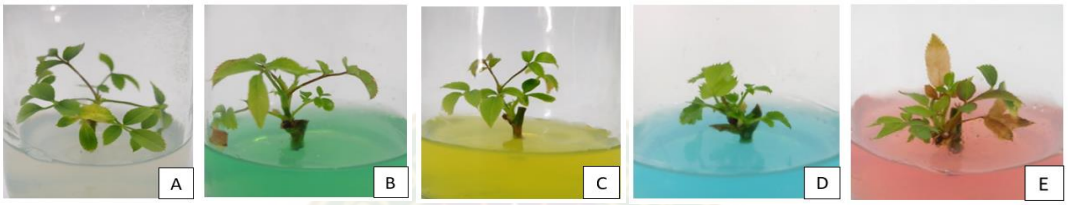
ตารางที่ 1 ผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อจำนวนยอดและจำนวนใบเฉลี่ยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนู

สูตรอาหาร	จำนวนยอดเฉลี่ย*±SD (ยอด)	จำนวนใบเฉลี่ย*±SD (ใบ/ยอด)
MS	0.86 ± 0.45^{a}	4.25 ± 3.52^{ab}
Hydroponic A และ B	0.93 ± 0.60^{ab}	3.68 ± 2.51^{a}
Hydroponic A และ B + 1 mg/L BA	1.20 ± 0.78^{abc}	5.92 ± 3.42^{b}
Hydroponic A และ B + 3 mg/L BA	1.33 ± 0.68^{bc}	5.96 ± 3.09^{b}
Hydroponic A และ B + 5 mg/L BA	1.28 ± 0.66^{c}	5.93 ± 3.68^{b}

*ค่าเฉลี่ยจาก 3 ชุดการทดลอง

อักษร a b c ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี DMRT

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของกุหลาบหนูจากข้อที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์; สูตรอาหาร MS (ชุดควบคุม) (A), สูตรอาหาร Hydroponic A และ B (B), Hydroponic A และ B + 1 mg/L BA (C), Hydroponic A และ B + 3 mg/L BA (D), Hydroponic A และ B + 5 mg/L BA (E)

3.2 ผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อการความยาวยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนู

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูในสูตรอาหารต่าง ๆ จำนวน 5 สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหาร MS มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.57 ± 0.86 เซนติเมตร รองลงมา คือ Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, สูตรอาหาร Hydroponic A และ B, Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 1.18 ± 0.55, 1.15 ± 0.72, 1.08 ± 0.45 และ 0.86 ± 0.45 ตามลำดับ โดยสูตรอาหาร MS (ชุดควบคุม) แสดงความยาวยอดเฉลี่ยแตกต่างกับสูตรอาหารอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 2 และภาพที่ 3

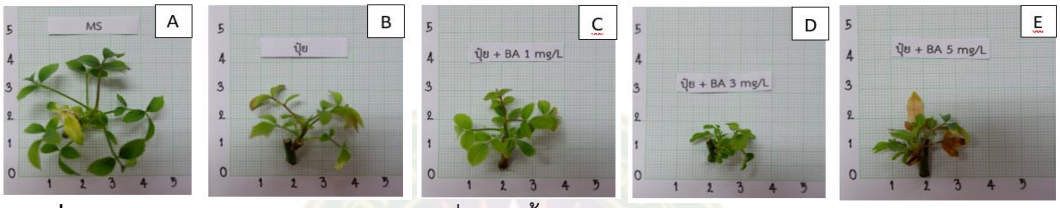
ตารางที่ 2 ผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อความยาวยอดเฉลี่ยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนู

สูตรอาหาร	ความยาวยอดเฉลี่ย*±SD (cm)
MS	1.57 ± 0.86[b]
Hydroponic A และ B	1.15 ± 0.72[a]
Hydroponic A และ B + 1 mg/L BA	1.18 ± 0.55[a]
Hydroponic A และ B + 3 mg/L BA	1.08 ± 0.45[a]
Hydroponic A และ B + 5 mg/L BA	0.86 ± 0.45[a]

*ค่าเฉลี่ยจาก 3 ชุดการทดลอง

อักษร a b c ที่อยู่ในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี DMRT

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY



ภาพที่ 3 ความยาวยอดของต้นกุกลาบหนูที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์; สูตรอาหาร MS (ชุดควบคุม) (A), สูตรอาหาร Hydroponic A และ B (B), Hydroponic A และ B + 1 mg/L BA (C), Hydroponic A และ B + 3 mg/L BA (D), Hydroponic A และ B + 5 mg/L BA (E)

4. อภิปรายผล

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย เป็นการใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน โดยจะใช้วิธีการฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์และสารละลายแอลกอฮอล์แทนวิธีที่ได้มาตรฐานโดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ทำให้ช่วยลดต้นทุนการผลิต โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายจะช่วยป้องกันการปนเปื้อนจุลินทรีย์ได้เทียบเท่ากับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้มาตรฐาน[7]

การศึกษาผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อการชักนำยอดของต้นกุหลาบหนู โดยการนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูที่เลี้ยงบนอาหาร ½ MS เป็นเวลา 2 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS และสูตรอาหารอย่างง่าย Hydroponic A และ B (N&P Herbal) อย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร จำนวน 4 สูตร ที่เพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย เป็นเวลา 6 สัปดาห์ Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.33 ยอด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร MS ทั้งนี้การศึกษาผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อจำนวนใบ พบว่า จำนวนใบเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกับสูตรอาหาร MS โดยในทุกสูตรอาหารสามารถทำให้ต้นกุหลาบหนูเจริญเติบโตได้และมีลักษณะทั่วไปที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งการศึกษาความยาวยอด พบว่าสูตรอาหารอย่างง่ายมีความยาวยอดเฉลี่ยที่แตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหาร MS โดยสูตรอาหาร MS มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.57 เซนติเมตร จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าสูตรอาหาร Hydroponic A และ B ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด สอดคล้องกับรัตนาและอนัญญา[8] ที่รายงานว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อเจริญเป็นต้นได้ในอาหารทุกสูตร โดยอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.8 ± 0.35 ยอดต่อชิ้นส่วน[8] จากวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาตราฐานในห้องปฏิบัติการ แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้อกุหลาบหนูโดยการใช้สารละลาย Hydroponic A และ B (N&P Herbal) สามารถเพิ่มจำนวนยอดกุหลาบหนูได้

เช่นกัน อีกทั้ง BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพในการชักนำเนื้อเยื่อกุหลาบให้เจริญเป็นต้น[9] ขณะที่ผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อจำนวนใบเฉลี่ย พบว่า กุหลาบหนูในสูตรอาหารอย่างง่ายไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร MS โดยในทุกสูตรอาหารสามารถทำให้ต้นกุหลาบหนูเจริญเติบโตได้และมีลักษณะทั่วไปที่ใกล้เคียงกัน แสดงผลการศึกษาไปในทิศทางเดียวกับกิตติศักดิ์[10] ที่ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศบนสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด Stock A และ B ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 30 กรัมต่อลิตร โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย สามารถชักนำให้พืชเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS[10] และกิตติศักดิ์[11] ศึกษาผลของอาหารจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช่ดิน ชื่อทางการค้า Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด Stock A และ B ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 30 กรัมต่อลิตรวุ้น 7 กรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของลานไพลิน โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย โดยสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช่ดินในทุกความเข้มข้นส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อลานไพลินไม่แตกต่างกัน [11] อย่างไรก็ตาม การศึกษาผลของสูตรอาหารอย่างง่ายต่อของความยาวยอด พบว่า สูตรอาหาร MS มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากชนิดและปริมาณของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองต่อการเจริญเติบโตในสูตรอาหาร MS ที่มีมากกว่าในสูตรอาหารอย่างง่าย [12, 13]

การเพาะเลี้ยงเยื่อพืชอย่างง่ายนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน และทำให้ลดต้นทุนการผลิตลงได้ โดยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้มาตรฐานในสูตรอาหาร MS จากรายงานของ กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์[7] รายงานว่าต้องใช้งบประมาณในการลงทุนสูงถึง 87,149 บาท ในขณะสูตรอาหารอย่างง่ายสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินความเข้มข้น Stock A และ B อย่างละ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้งบประมาณเพียง 237 บาท[7] ในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายเช่นกัน รวมทั้งยังศึกษาผลของสูตรอาหารอย่างง่ายจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ซึ่งมีราคาไม่แพงและหาได้ง่ายในท้องตลาดเปรียบเทียบกับสูตรอาหาร MS

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่าสูตรอาหาร Hydroponic A และ B (N&P Herbal) ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 1.33 ± 0.68 ยอด จำนวนใบเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหาร MS แต่แสดงความยาวยอดเฉลี่ยน้อยกว่าสูตรอาหาร MS โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จากการศึกษาครั้งนี้จึงสามารถนำสูตรอาหารอย่างง่ายและเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างง่าย มาชักนำการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูได้เช่นเดียวกับการใช้สูตรอาหาร MS ทั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นที่สามารถนำไปต่อยอดในการศึกษาการขยายพันธุ์กุหลาบหนูเพื่อลดต้นทุนการผลิตในเชิงพาณิชย์ได้ต่อไป

SCIENCE AND TECHNOLOGY
BURAPHA UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณคณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ที่สนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ และศูนย์ประสานงาน อพ.สธ. ภาคเหนือตอนล่าง สนองพระราชดำริโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ที่สนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] Yooktanont, S. Rose, queen of flower plant. Bangkok : baanlaesuan; 1995. (in Thai)

[2] Watanaphoot, N. The flowering plant handbook. Bangkok : O. S. Printing House; 2002. (in Thai)

[3] เศรษฐพงศ กาญจนกุล. กุหลาบหนู. [อินเทอร์เน็ต]; 2553. [เข้าถึงเมื่อ 25 เมษายน 2560] เข้าถึงได้จาก https://rosesplanting.blogspot.com.

[4] ชาวนา. การปกชำ. [อินเทอร์เน็ต]; 2552. [เข้าถึงเมื่อ 10 พฤศจิกายน 2559] เข้าถึงได้จาก www.kasetporpeang.com.

[5] Pongthi, P. & Pongsawat, S. Culture tissue In Vitro flowering of Miniature Rose. Bangkok : Rajamangala university of technology; 2010. (in Thai)

[6] Chatsuwan, Y. & Rungrachakanont, K. Micropropagation & In Vitro flowering of Miniature Rose. Ubon Ratchathani University research conference. 33-40, 2014.

[7] กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. อาหารอย่างง่ายจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์และหญ้าหวาน. Naresuan University Journal. 23(1): 74-81, 2558.

[8] รัตนา ขามฤทธิ์ และ อนัญญา กิ่งหลักเมือง. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นและรากจากการเพาะเลี้ยงข้อกุหลาบหนูในสภาพหลอดทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ). 1: 287-290, 2561.

[9] Subnugarn, S. Propagation and Floral Induction of Rose (*Rosa hybrida*) in vitro. Research report, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani, Thailand; 2007. (in Thai)

[10] กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. การใช้สารละลายปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินทดแทนธาตุอาหารในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศ. วารสารวิททยาศาสตร์ มข. 44(1):103-110, 2559.

[11] กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. ผลของอาหารจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช่ดินและอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลานไพลิน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 49(1):

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY

88-95, 2561.

[12] บุญยืน กิจวิจารณ์. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ขอนแก่น : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2540.

[13] อิทธิสุนทร นันทกิจ. ผงอาหารสำหรับเตรียม Stock ปุ๋ย A ปุ๋ย B สำหรับผักสลัด. [อินเทอร์เน็ต]; 2561. [เข้าถึงเมื่อ 31 มีนาคม 2562] เข้าถึงได้จาก http://www.plantmediashop.com.

SCIENCE AND TECHNOLOGY
UTTARADIT RAJABHAT UNIVERSITY