การชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

พนม คงเมือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

การชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

พนม คงเมือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

In vitro Flowering Induction of Rosa chinensis var. minima (Sims) Voss and Exacum affine Balf.f. ex Regel

PHANOM KONGMUANG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR MASTER DEGREE OF SCIENCE
IN BIOLOGY EDUCATION
FACULTY OF SCIENCE
BURAPHA UNIVERSITY
2024

COPYRIGHT OF BURAPHA UNIVERSITY

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ พนม คงเมือง ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	
.....	..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิรศาธิญากร บรรหาร)	(รองศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ)
	..... กรรมการ
	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจวรรณ ชิวปรีชา)
	..... กรรมการ
	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิรศาธิญากร บรรหาร)

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร. อุษาวดี ตันติวรานุรักษ์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิทวัส แจ้งเอี่ยม)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

62920421: สาขาวิชา: ชีววิทยาศึกษา; วท.ม. (ชีววิทยาศึกษา)
คำสำคัญ: กุหลาบหนู/ ม่วงเทพรัตน์/ การชักนำให้เกิดดอก/ ซิลเวอร์ไนเตรท/ ปุ๋ยเร่งดอก

พนม คงเมือง : การชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง. (In vitro Flowering Induction of Rosa chinensis var. minima (Sims) Voss and Exacum affine Balf.f. ex Regel) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ศิรศาธิญากร บรรหาร ปี พ.ศ. 2567.

กุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์เป็นไม้ดอกที่สวยงาม แต่การปลูกในสภาพธรรมชาติพบปัญหาเรื่องโรคและแมลง ทำให้ดอกไม่ได้คุณภาพและเกิดดอกน้อย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อและผลของไซโตไคนินและออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่รวมถึงระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกในสภาพหลอดทดลองของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ จากการทดลองพบว่าชิ้นส่วนข้อของพืชทั้ง 2 ชนิดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย Haiter, SJ Biocide และ CP Biocide ในทุกชุดการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อสูงสุด 100% หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนข้อจากต้นกล้าปลอดเชื้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, TDZ และ KN 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล.เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอด จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 มก./ล. ชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของพืชทั้ง 2 ชนิด มีจำนวนยอดมากที่สุด หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA, IAA และ NAA 0.2, 0.5, และ 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.5 มก./ล.ชักนำให้ชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์มีจำนวนรากมากที่สุด แต่ในทุกชุดการทดลองของกุหลาบหนูไม่มีการสร้างรากเกิดขึ้นและจากการชักนำให้เกิดดอก โดยนำชิ้นส่วนยอดของพืชทั้ง 2 ชนิด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครส 20, 30 และ 40 ก./ล.ซิลเวอร์ไนเตรท 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล. และปุ๋ยเร่งดอก 2 ชนิดคือออสโมโค้ท และยารามีร่าดับเบิล 0.5, 1.0 และ 1.5 ก./ล. เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซิลเวอร์ไนเตรท 0.5 มก./ล.มีการชักนำให้เกิดดอกมากที่สุดเท่ากับ 33% ส่วนชิ้นส่วนยอดม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 1.0 ก./ล. มีการชักนำให้เกิดดอกมากที่สุดเท่ากับ 100% ซึ่งงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยชิ้นแรกที่ได้มีการรายงานผลของปุ๋ยเร่งดอกที่นำมากระตุ้นการออกดอกของพืชในสภาพหลอดทดลอง ข้อมูลในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณและการชักนำให้เกิดดอกสำหรับพืชสองชนิดนี้ได้ต่อไป

62920421: MAJOR: BIOLOGY EDUCATION; M.Sc. (BIOLOGY EDUCATION)

KEYWORDS: Rosa chinensis Jacq. var. minima Voss/ Exacum affine (Balf. ex. Regel)/ In Vitro Flowering silver nitrate/ fertilizer

PHANOM KONGMUANG : IN VITRO FLOWERING INDUCTION OF ROSA CHINENSIS VAR. MINIMA (SIMS) VOSS AND EXACUM AFFINE BALF.F. EX REGEL. ADVISORY COMMITTEE: SIRASATIYAKORN BANHARN, Ph.D. 2024.

Rosa chinensis (Jacq.) and *Exacum affine* (Balf. ex. Regel) are beautiful flowering plants but growing in natural conditions encounters problems with diseases and insects. These problems resulted in poor quality and fewer flowers. The objective of this research was to study surface sterilization protocol and type of chemical sterilization suitable for the production of sterile seedlings of these two plants. After that, the effects of cytokinin and auxin on *in vitro* plant regeneration were studied the concentration of sucrose, silver nitrate and fertilizer on *in vitro* flowering. From the experiment, it was found that node explant of both plants was sterilized with Haiter, SJ Biocide and CP Biocide in all experiments in the highest sterilization at 100%. After that, node explant from sterile seedlings was grown on MS media supplemented with 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mg/L of BA, TDZ and KN for 4 weeks to induce new shoot. It was found that MS supplemented with 2.0 mg/l BA gave the highest shoot number in *R. chinensis* and *E. affine*. After that, the shoot explants were grown on MS media supplemented with 0.2, 0.5, and 1.0 mg/L of IBA, IAA, and NAA for 4 weeks to induce root formation. MS media added with 0.5 mg/l IBA had the highest root number in *E. affine* that no roots were formed in any of *R. chinensis* experiments. For *in vitro* flowering, shoot explants were grown on MS media supplemented with 20, 30, and 40 g sucrose or 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mg of $AgNO_3$ and 0.5, 1.0 and 1.5 g of two types of fertilizer like Osmocote and Yaramila Double for 9 weeks. The shoot explant of *R. chinensis* was grown on MS media supplemented with 0.5 mg/l silver nitrate had the flowering at 33% that shoot explant of *E. affine* cultured on MS media supplemented with 1.0 mg/l Osmocote in the highest flowering at 100%. This study is the first to document the impact of fertilizers applied to promote *in vitro* flowering that this result could be utilized for plant regeneration and *in vitro* flowering in these plant species.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิรศาธิญากร บรรหาร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา ทั้งการทดลองในห้องปฏิบัติการ เทคนิคการเตรียมอาหาร การฟอกฆ่าเชื้อ และเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกๆ ขั้นตอน ตลอดระยะเวลาทำการทดลอง 1 ปีเต็ม รวมทั้งการค้นคว้าเอกสาร ข้อมูล รูปแบบและหลักการในการเขียนโครงร่างวิทยานิพนธ์ การยื่นขอจริยธรรมวิจัย การเขียนบทความวิจัย และการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูณณ์ อีกทั้งยังเสียสละเวลาพักผ่อนส่วนตัวทั้งช่วงเวลากลางวันและกลางคืนอย่างดึกดื่น เพื่ออ่านเอกสารด้วยความละเอียดถี่ถ้วน แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ด้วยดี จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสิ้นโดยสมบูรณ์ พร้อมทั้งคอยสร้างขวัญกำลังใจ สอบถาม ติดตามงานทุกๆ ชิ้นงาน จนทำให้เอกสารทุกอย่างที่เขียนออกมาถูกต้องตามหลักการเขียนและอีกมากมายในการเอาใส่ใจดูแล จนผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่เสียสละเวลาทำงานและเดินทางไกลมาเป็นประธานกรรมการสอบในครั้งนี้ รวมทั้งมอบต้นกุหลาบหนูปลอดเชื้อจากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากรมาให้เพื่อใช้ในการทดลอง และ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. เบญจวรรณ ชิวปรีชา อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่คอยซักถามและให้กำลังใจเสมอมา และกรุณาให้ข้อเสนอแนะ และช่วยแก้ไขข้อบกพร่องวิทยานิพนธ์ฉบับนี้กระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่ในการวิจัย และขอขอบคุณน้องๆ นิสิตระดับปริญญาตรีที่ทำโครงงานทางชีววิทยาอยู่ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (BS 3115) ที่เสียสละเวลามาช่วยสอนเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกๆ ขั้นตอน รวมถึงสอนการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ และเพื่อนๆ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา ทุกคน ที่เป็นกำลังใจและให้คำแนะนำ รวมถึงให้ความช่วยเหลือที่ดีเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตา แด่ บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบันที่ทำให้ข้าพเจ้า เป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จตราบเท่าทุกวันนี้

พนม คงเมือง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญภาพ ..... ญ
บทที่ 1 1
บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
วัตถุประสงค์ 4
สมมุติฐานการวิจัย 4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
ขอบเขตการวิจัย 5
ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย 6
สถานที่ดำเนินการวิจัย 6
นิยามศัพท์เฉพาะ 6
บทที่ 2 7
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 7
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์พืชที่ใช้ในการทำวิจัย 7
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 11
บทที่ 3 32

วิธีดำเนินการทดลอง.....32
3.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง.....32
3.2 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....32
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....33
3.4 วิธีการทดลอง.....34
บทที่ 4.....42
ผลการวิจัย.....42
4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต ต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์.....42
4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง.....54
4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง.....59
4.4 การทดลองที่ 4 การศึกษาระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง.....63
บทที่ 5.....69
อภิปรายผลและสรุปผล.....69
5.1 อภิปรายผล.....69
5.2 สรุปผลวิจัย.....78
5.3 ข้อเสนอแนะ.....79
บรรณานุกรม.....81
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....94

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4-1 วิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนู และม่วงเทพรัตน์ในการทดลองซ้ำที่ 1 45

ตารางที่ 4-2 วิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในการทดลองซ้ำที่ 2 49

ตารางที่ 4-3 วิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในการทดลองซ้ำที่ 3 52

ตารางที่ 4-4 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ในสภาพหลอดทดลอง หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 57

ตารางที่ 4-5 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ใน สภาพหลอดทดลอง หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 61

ตารางที่ 4-6 การศึกษาระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนู 66

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2-1 ลักษณะต้นและดอกของกุหลาบหนู 9

ภาพที่ 2-2 ลักษณะต้นและดอกของม่วงเทพรัตน์ 11

ภาพที่ 4-1 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันหลังการ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร 53

ภาพที่ 4-2 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 58

ภาพที่ 4-3 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากในสภาพหลอดทดลอง หลังเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....62

ภาพที่ 4-4 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมซูโครส และซิลเวอร์ไนเตรทในระดับ ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกในสภาพหลอดทดลอง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 สัปดาห์ สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร) 67

ภาพที่ 4-5 การชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซิลเวอร์ไนเตรท 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 9 สัปดาห์ (สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร) 68

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตไม้ดอกไม้ประดับที่สำคัญประเทศหนึ่งของโลก เนื่องจากมีสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เหมาะสม รวมถึงมีการนำเทคโนโลยีต่างๆ มาใช้ในการผลิต การปรับปรุงพันธุ์ และการดูแลรักษาคุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนใกล้เส้นศูนย์สูตร ภูมิอากาศของประเทศจึงมีลักษณะแบบร้อนชื้น ไม้ดอกไม้ประดับส่วนใหญ่ จึงเป็นไม้ดอกไม้ประดับเขตร้อน แต่สามารถปลูกไม้ดอกไม้ประดับเขตหนาวได้บ้างในบริเวณพื้นที่สูงที่มีอากาศหนาวเย็นของภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยกลุ่มไม้ดอกไม้ประดับที่สำคัญทางเศรษฐกิจ มีการส่งออกในปริมาณและมูลค่าสูง เช่น กล้วยไม้ ปทุมมา ส่วนกลุ่มไม้ดอกไม้ประดับที่มีศักยภาพ มีความต้องการใช้ในประเทศ และบางส่วนสามารถส่งออก แม้ยังมีมูลค่าไม่มากนัก แต่มีแนวโน้มว่ามีการส่งออกเพิ่มขึ้น เช่น กุหลาบ บัวหลวง ไม้หัวเมืองร้อน (กระเจียว ไม้ใบ บอนสี ว่านสี่ทิศ) เป็นต้น และกลุ่มเพื่อใช้ภายในประเทศ ได้แก่ เยอบีร่า หน้าวัว แกลดิโอลัส เบญจมาศ มะลิ ซ่อนกลิ่นไทย ลิลลี่ ดาวเรือง และวงศ์ขิง (ดาหลาและขิงแดง) (เสาวลักษณ์ กิตติธนวัตร, 2020)

ในงานทดลองครั้งนี้ ผู้วิจัยสนใจไม้ดอกไม้ประดับที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพหลอดทดลองคือกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ โดยกุหลาบได้รับความนิยมปลูกมากที่สุดชนิดหนึ่งของโลก มีต้นกำเนิดจากทวีปเอเชีย ผู้คนนิยมปลูกเพื่อความสวยงาม ตกแต่งสวน ประดับตกแต่งบ้าน ประดับสถานที่ ปลูกเพื่อการพาณิชย์ อาทิ เพื่อนำไปสกัดน้ำหอม หรือนำไปทำเป็นส่วนประกอบของสปา เป็นต้น ซึ่งกุหลาบมีหลายชนิด ได้แก่ กุหลาบตัดดอก กุหลาบพวง กุหลาบเลื้อย กุหลาบพุ่ม และกุหลาบหนู สำหรับกุหลาบหนู (*Rosa chinensis* var. *minima* (Sims) Voss) จัดเป็นกุหลาบพันธุ์เตี้ยแคระ (Miniature Roses) พุ่มทึบ เป็นกุหลาบที่มีดอกขนาดเล็ก ออกดอกเป็นพวง ไม่มีกลิ่นหอม ต้นสูงไม่เกิน 1 ฟุต เลี้ยงง่าย ทนต่อสภาพแวดล้อม นิยมปลูกประดับแปลงหรือเป็นไม้กระถาง (พันธุ์ไม้, 2558) การขยายพันธุ์กุหลาบหนูส่วนใหญ่นิยมใช้การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เนื่องจากจะได้ต้นที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์ เช่นการตัดชำ การตอนกิ่ง การติดตา เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการเพาะเมล็ดอีกด้วย (นันทิยา วรรธนะภูติ, 2545)

สำหรับม่วงเทพรัตน์ (*Exacum affine* Balf.f. ex Regel) เป็นพืชล้มลุก และถือเป็นพืชท้องถิ่นของเกาะโซโคตร้า ประเทศเยเมน ในมหาสมุทรอินเดีย ใบมีสีเขียวเข้ม รูปไข่ ยาวไม่เกิน 4 เซนติเมตร ความสูงในสภาพธรรมชาติประมาณ 60 เซนติเมตร ออกดอกในช่วงหน้าร้อน และฤดู

ใบไม้ผลิ กลีบดอกมีสีม่วงอมฟ้า รูปร่างของดอกเมื่อบานเต็มที่ แล้วมีรูปทรงคล้ายดาว มีเกสรตัวผู้สีเหลือง มีกลิ่น หอมอ่อนๆ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจาก พระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ได้รับพระราชทาน เนื้อเยื่อพันธุ์พืชต่างๆ จากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ให้ขยายพันธุ์ และเก็บรักษาพันธุ์ไว้ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ได้จากการทูลเกล้าฯ ถวายในวันที่ทรงเปิดงานนิทรรศการเทิดพระเกียรติฯ ณ ศูนย์ประชุมอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย เมื่อ วันที่ 27 มีนาคม พ.ศ. 2551 และในพืชหลายชนิดนั้นพบว่า มีพืชชนิดหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์ต่อได้ดี และสามารถออกดอกในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทาง อพ.สธ. จึงได้ขอพระราชทานชื่อ *Exacum* จากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และทรงพระราชทานนามว่า “ม่วงเทพรัตน์” ในวันที่ 29 กันยายน พ.ศ. 2552 (สารานุกรมเสรี, 2564) ในหลายประเทศปลูกม่วงเทพรัตน์เป็นไม้ประดับ แต่ภูมิปัญญาพื้นบ้านของชาว Yemeni ระบุว่าใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคติดเชื้อทางเดินหายใจและผิวหนังและโรคดีซ่าน นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยหลายฉบับได้กล่าวถึงสารสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของม่วงเทพรัตน์ไว้อีกด้วย การปลูกม่วงเทพรัตน์นั้นมีหลายวิธี ได้แก่ การเพาะเมล็ดซึ่งทำให้ได้ต้นที่แข็งแรง แต่ให้ดอกช้ามาก (5 เดือนหลังการปลูก) จึงทำให้การปลูกด้วยวิธีการดังกล่าวไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้ที่สนใจ อีกวิธีคือการปักชำกิ่งเป็นวิธีการขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งจากต้นแม่ เพื่อให้ได้ต้นใหม่ที่มีปริมาณมากขึ้น แต่ต้นที่ได้จากการปักชำกิ่งจะงอกรากได้ช้า และมักประสบปัญหาต้นเน่าเนื่องจากไม่มีรากในช่วงแรกของการปลูก และอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้วิธีนี้ไม่ได้รับความนิยมคือ กิ่งของม่วงเทพรัตน์มีขนาดค่อนข้างเล็ก ไม่แข็งแรง จึงไม่เหมาะสำหรับการปักชำกิ่ง (ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์, 2553)

จากวิธีการขยายพันธุ์ของต้นกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่มีทั้งแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยข้างต้น แต่มีการเพิ่มปริมาณได้น้อยการออกดอกช้าและเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดต่ำ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชหลายชนิด เพื่อให้ได้ผลผลิตปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว และปลอดโรค ออกดอกเร็วขึ้นและมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูง สำหรับการขยายพันธุ์กุหลาบหนูด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มีการดำเนินการมานานแล้วแต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย ส่วนใหญ่ทำกันในแวดวงวิชาการ ความรู้ที่เกิดจากการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการพัฒนางานทางด้านวิชาการและระบบธุรกิจการค้าของกุหลาบหลายประการ เช่น ประโยชน์ทางด้านการเก็บรักษาพันธุกรรมกุหลาบ ประโยชน์ทางด้านการขยายพันธุ์กุหลาบ ซึ่งกุหลาบหนูที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อนำไปปลูกเลี้ยงเป็นไม้ประดับในกระถางมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วขึ้น ออกดอกเร็ว มีการแตกกิ่งก้านมาก ยอดสั้นเมื่อเปรียบเทียบกับกุหลาบหนูที่ผลิตแบบดั้งเดิม (เยาวลักษณ์ ฉัตรสุวรรณ และกาญจนา รุ่งรัชกานนท์,

2557) ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์ในหลอดทดลองเป็นอีกหนึ่งวิธีที่จะได้ต้นใหม่ที่แข็งแรง และมีจำนวนมาก ในระยะเวลาอันสั้น เนื่องจากต้นม่วงเทพรัตน์เป็นต้นไม้นามพระราชทาน และสามารถเร่งการออกดอกได้ภายในขวดแก้ว ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่สำคัญ ได้แก่ สูตรอาหาร สารประกอบอินทรีย์ สารประกอบ อนินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโต รวมทั้งสภาพแวดล้อมทางกายภาพด้านต่าง ๆ ให้เหมาะสม

จากการศึกษาค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ในการชักนำให้เกิดการออกดอก มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตและสารเคมีหลายชนิด เช่น งานวิจัยของ ประภาพร พงษ์ไทย และ สิริแข พงษ์สวัสดิ์ (2553) รายงานว่า อาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ต้นกุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลองคืออาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลองได้สูงสุดเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ และจากงานวิจัยของสุรีรัตน์ เย็นช้อน, มาลัยวัลย์ ยังนิ่ง และ สมปอง เตชะโต (2557) รายงานว่าการเติมสารซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างดอก จำนวนดอกต่อต้น และสามารถยืดอายุการบานของดอกกุหลาบสายพันธ์มายวาเลนไทน์ในหลอดทดลองได้นาน 21.70 วัน และรายงานวิจัยของอัญชลี จาละ (2548) พบว่ายอดอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างตาดอกได้ จากงานวิจัยข้างต้น จะเห็นได้ว่าการชักนำให้มีการสร้างดอก สามารถทำได้จากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารเคมีบางชนิด นอกจากนี้การให้อาหารเสริมเช่นปุ๋ยเร่งดอก ซึ่งมีประสิทธิภาพในการช่วยเร่งให้พืชออกดอก ออกผล และมีสีสันสวยงามก็เป็นตัวช่วยที่สำคัญ ในปัจจุบันจะเห็นได้ว่ามีผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีขายในท้องตลาดที่ช่วยเร่งการเกิดดอก ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำผลิตภัณฑ์เหล่านี้ มาใช้ในการชักนำให้เกิดดอกในสภาพหลอดทดลอง ด้วยการเติมซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก (ออสโมโค้ทและยารามีร่าดับเบิล) เพื่อช่วยแก้ปัญหาให้ช่วยสร้างตาดอกให้ได้จำนวนดอกที่มีจำนวนมากและรวดเร็วขึ้น

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอด การเพิ่มปริมาณยอด การชักนำให้เกิดราก และระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก (ออสโมโค้ทและยารามีร่าดับเบิล) ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ออกดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการขยายพันธุ์ เพิ่มปริมาณต้น สร้างตาดอกให้ได้จำนวนดอกที่มากและรวดเร็วขึ้น ของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ รวมทั้งนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์และเป็น

แนวทางในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์เพื่อส่งเสริมเป็นการค้าเชิงพาณิชย์ได้ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

2. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

3. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

4. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก (ออสโมโค้ทและยารามีร่าดับเบิล) ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

สมมุติฐานการวิจัย

1. วิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อจะมีความเหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ได้แตกต่างกัน

2. ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่แตกต่างกันสามารถชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลองได้แตกต่างกัน

3. ความเข้มข้นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่แตกต่างกันสามารถชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลองได้แตกต่างกัน

4. ระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก(ออสโมโค้ทและยารามีร่าดับเบิล) ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลองได้แตกต่างกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่มีผลต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

2. ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

3. ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

4. ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก (ออสโมโค้ทและยารามีร่าดับเบิล) ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

5. เป็นแนวทางในการศึกษานำไปประยุกต์ใช้เพื่อการขยายพันธุ์และการเพิ่มปริมาณพืชชนิดอื่นได้ต่อไป

ขอบเขตการวิจัย

การทดลองในครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลองย่อย ๆ ดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ โดยศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อคือ NaOCl (ไฮเตอร์) และ SJ biocide สำหรับ NaOCl ใช้ระดับความเข้มข้น 5%, 10% และ 20% เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ (ถ้ามีรากเกิดขึ้น บันทึกจำนวนรากและความยาวราก)

การทดลองที่ 2 ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง โดยศึกษาจากชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน BA หรือ TDZ หรือ KN ความเข้มข้น 0.5,1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก

การทดลองที่ 3 ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง โดยศึกษาจากชิ้นส่วนยอด ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน IBA, IAA และ NAA ความเข้มข้น 0.2, 0.5,และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ และความยาวใบ

การทดลองที่ 4 ระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง โดยศึกษาการชักจากชิ้นส่วนยอด ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซูโครส ความเข้มข้น 20, 30 และ 40 กรัม/ลิตร ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5,1.0,1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ปุ๋ยเร่งดอก 2 แบบคือ ออสโมโค้ท

(12-25-6+1%แมกนีเซียม) ความเข้มข้น 5,10 และ 15 กรัม/ลิตร และยารามีร่าดับเบิล (8-24-24) ความเข้มข้น 5,10 และ 15 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนดอก และเปอร์เซ็นต์การเกิดดอก

ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

ระยะเวลาในการศึกษาตั้งแต่เดือนมีนาคม 2565 –เมษายน 2567

สถานที่ดำเนินการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (เลขทะเบียน: 2-0110-0212-5) BS 3115 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

นิยามศัพท์เฉพาะ

สารฟอกฆ่าเชื้อ หมายถึง น้ำยาซักผ้าขาวยี่ห้อไฮเตอร์ (ที่มี NaOCl เป็นส่วนประกอบ) และน้ำยาฆ่าเชื้อ SJ biocide (ที่มีกรดเปอร์อะซิติก เป็นส่วนประกอบ)) สำหรับฟอกฆ่าเชื้อต้นกล้ากุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

ความยาวยอด หมายถึง ความยาวของยอดกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ ซึ่งวัดจากโคนยอดที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนข้อ จนถึงปลายยอด

ความยาวราก หมายถึง ความยาวของรากกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อ ซึ่งวัดจากโคนรากที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนข้อ จนถึงปลายราก

การเกิดดอก หมายถึง การเกิดดอกตูมขนาด 0.3 เซนติเมตรขึ้นไป บนเนื้อเยื่อกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงทุกตำแหน่ง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์พืชที่ใช้ในการทำวิจัย

2.1.1 กุหลาบหนู

กุหลาบหนู (Fairy Rose) เป็นพืชในวงศ์ Rosaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rosa chinensis* var. *minima* (Sims) Voss ชื่อสามัญคือ Fairy Rose, Pygmy Rose (สุธานิธิ์ ยกุตะนันทน์, 2538) เป็นกุหลาบแคระ ไม้ดอกขนาดเล็ก เติบโตในกระถางได้ดี ซึ่งในประเทศไทยนั้นเป็นไม้กระถางยอดนิยม แรกเริ่มตอนเข้ามาในไทย มีการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์เป็นสีแดงเป็นส่วนมาก แต่ปัจจุบันมีการเพาะพันธุ์เพิ่มเติม มีทั้ง แดง ขาว ส้ม ชมพู หรือ ดอกสองสีในต้นเดียว โทนเข้มอ่อนที่หลากหลาย (พันธุ์ไม้, 2566)

กุหลาบหนู มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดังนี้ (พวงผกา สุนทรชัยนาคแสน, 2549)

ราก เป็นระบบรากแก้ว ประกอบด้วยรากแก้ว (tap root, primary root) ที่เกิดมาจากรากแรกเกิด (radicle) ของเอ็มบริโอ และรากสาขาหรือรากแขนง (lateral root) จากซึ่งเจริญมาจากชั้น pericycle ของรากแก้ว และรากที่ 3 (tertiary root) เจริญแตกแขนงออกมาจากรากแขนง และมีระบบรากฝอย (Fibrous root system) เจริญมาจากรากแก้ว

ลำต้น ของพวกกุหลาบพันธุ์เตี้ยแคระ (Miniature Roses) เป็นพุ่มทึบ มีหนาม สูงเพียงราว 6-18 นิ้วเท่านั้น (พันธุ์ไม้, 2558)

ใบ ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ (odd-pinnate หรือ imparipinnate) เป็นใบประกอบที่มีใบที่แกนกลางอยู่เดี่ยว ๆ ใบออกสลับ ใบย่อย 5 ใบ เป็นรูปรี ขอบหยัก ปลายแหลม โค้ง มน หูใบติดกับก้าน
ใบสีเขียวสด

ดอก เป็นดอกเดี่ยวออกบริเวณปลายยอด กลีบดอกมีทั้ง ชั้นเดียวและหลายชั้น มีกลีบดอก 5 กลีบ เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียแยกที่อยู่กัน ดอกมีหลายสี เช่น สีแดง สีขาว สีชมพู และดอกเดียว 2 สี ปลายกลีบดอกเป็นสีแดง และโคนกลีบดอกเป็นสีขาว ออกดอกตลอดทั้งปี มีความยาวก้านดอกระหว่าง 20-30 ซม.

ผลและเมล็ด เป็นผลกลุ่ม (Aggregate fruit) เป็นกลุ่มของผลเดี่ยวที่เจริญมาจากดอกเดี่ยว แต่มีรังไข่หลายรังไข่ เป็นเกสรเพศเมียที่มีคาร์เพลแยกออกจากกัน (apocarpous pistil) ทำให้เกิดหลายผลที่เกาะอยู่บนฐานรองดอกอันเดียวกัน (gynophore) เปลือกชั้นนอกคือส่วนที่อยู่ชั้นนอกสุด

เปลือกชั้นกลางและเปลือกชั้นในมักแยกกันไม่ออก ส่วนที่เป็นเนื้อคือ ส่วนที่เจริญมาจากฐานรองดอก เป็นผลแบบ pome

การดูแลและขยายพันธุ์กุหลาบหนู

1.การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์ทำได้หลายวิธี เช่น วิธีการเพาะเมล็ด การตอน การต่อกิ่ง การปักชำ การติดตา และการพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (สุธานิธิ์ ยุกตะนันทน์, 2538)

2.น้ำและแสง

ควรให้น้ำทุกๆ 2 วัน และต้องสัมพันธ์กับการรับแสง วันไหนแดดแรงควรให้น้ำมากขึ้น อย่าให้ผิวดินแห้ง และกุหลาบหนูไม่ชอบน้ำขังซึ่งต้องคอยระวังจุดนี้ในช่วงฤดูฝนเพราะรากจะเน่าได้ง่าย เมื่อเข้าฤดูหนาวพืชจะพักตัวและให้ดอกน้อยลง ควรให้น้ำน้อยลงในฤดูหนาวเพราะฤดูนี้แล้ง ค่าความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำ อาจทำให้พืชดอกแห้งเหี่ยวเร็วและอ่อนแอฟื้นตัวช้า (ประภาพร พงษ์ไทย และสิริแข พงษ์สวัสดิ์, 2553)

3.การเก็บเกี่ยวดอกเพื่อประดับ

กุหลาบหนู ให้ดอกได้ตลอดทั้งปี โดยดอกสามารถตัดได้โดยตรงจากกรรไกรตัดกิ่งที่มีความคม และควรเก็บดอกไม้ในตอนเช้า ที่อากาศยังไม่ร้อนมากนัก เพื่อหลีกเลี่ยงการขาดน้ำจากการคายน้ำออกของต้นไม้ในตอนเที่ยงวัน หลังจากเก็บแล้วตัดแต่งกิ่งให้เป็นลักษณะ 45 องศา เพื่อให้เป็นการเพิ่มพื้นที่ในการดูดน้ำ หลังตัดแต่งเสร็จควรนำลงแจกันหรือภาชนะที่จะใส่ประดับ มีน้ำสะอาดทันทีเพื่อกันการขาดน้ำ (ประภาพร พงษ์ไทย และสิริแข พงษ์สวัสดิ์, 2553)

4.โรคและปัญหาของกุหลาบหนูที่พบได้

กุหลาบหนูนิยมปลูกประดับสวน ปลูกเป็นไม้กระถาง ตัดดอกปักแจกัน (สุธานิธิ์ ยุกตะนันทน์, 2538) แต่ต้นพืชที่ได้มักมีปัญหาด้านความสมบูรณ์และการปลอดโรคของต้นพันธุ์ เช่น โรคใบจุด โรคราแป้ง โรคราน้ำค้าง เป็นต้น รวมทั้งการรบกวนจากแมลงต่าง ๆ นอกจากนี้อาจเจอปัญหาเรื่องดอกแห้งและเหี่ยว ซึ่งอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ อาจเป็นเพราะดอกหมดอายุตามปกติ หรือมีการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมอย่างกะทันหัน วิธีแก้ไขคือ สังเกตการให้น้ำ ไม่ควรมากหรือน้อยเกินไป หลังจากมีการบานเต็มที่ ดอกไม้จะเริ่มแห้ง และร่วงโรยเร็วผิดปกติ ถ้าเกือบทุกดอกในต้นนั้นพบอาการเดียวกัน ควรสังเกตดินว่าลักษณะดินมีการอุ้มน้ำที่เพียงพอและการระบายน้ำที่เหมาะสม นอกจากนี้อาจมีศัตรูพืช เช่น ด้วงกุหลาบ ซึ่งเป็นแมลงขนาดเล็กขนาด 10-20 มิลลิเมตร โดยจะกัดแทะใบให้เกิดรู ไปทั่วใบและลำต้น อาจกำจัดโดยการใช้สารฆ่าแมลงประเภท cabaryl ฉีดพ่นทุก 7-10 วัน (ประภาพร พงษ์ไทย และสิริแข พงษ์สวัสดิ์, 2553)

5.ประโยชน์

เพื่อความสวยงาม ตกแต่งสวน ประดับตกแต่งบ้าน ประดับสถานที่ ปลูกเพื่อการพาณิชย์ (พันธุ์ไม้, 2558)

ภาพที่ 2-1 ลักษณะต้นและดอกของกุหลาบหนู

(ที่มา : พันธุ์ไม้, 2566)

2.1.2 ม่วงเทพรัตน์

ม่วงเทพรัตน์ เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Gentianaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Exacum affine* Balf.f. ex Regel ชื่อสามัญคือ Persian Violet และมีชื่อไทยว่า ม่วงเทพรัตน์ มีถิ่นกำเนิดจากเกาะ Socotra หมู่เกาะเยเมน มหาสมุทรอินเดีย เดิมมีชื่อว่า ดาวล้อมเดือน ด้วยลักษณะดอกที่มีสีม่วงงดงาม จึงมีผู้นิยมนำไปขยายพันธุ์ปลูกไว้ชื่นชม (เศรษฐมันตร์ กาญจนกุล, 2553) เป็นไม้ต่างถิ่น แต่สภาพอากาศในประเทศไทย สามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี เป็นไม้ดอกที่มีความสวยงาม และโดดเด่นด้วยกลีบดอกสีม่วงอมฟ้า ตัดด้วยสีเหลืองของเกสร เหมาะอย่างยิ่งที่จะเป็นไม้ดอก ไม้ประดับ เป็นพืชที่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ได้พระราชทานชื่อไทยว่า“ม่วงเทพรัตน์” เมื่อวันที่ 29 กันยายน 2552 นับว่าเป็นมงคลนาม เพราะสีม่วงเป็นสีประจำพระองค์ (สารานุกรมเสรี, 2564)

ม่วงเทพรัตน์ มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดังนี้ (เศรษฐมันตร์ กาญจนกุล, 2553)

ลำต้น เป็นพืชล้มลุก ลำต้นมักเป็นเหลี่ยม อายุสั้น ลำต้นมีความสูงได้ถึง 30 เซนติเมตร

ใบ รูปรีหรือรูปไข่ ยาว 1.5–3 ซม. ปลายแหลมหรือมน โคนตัดหรือเว้าตื้น เส้นโคนใบข้างละ 1 เส้น เรียวจรดปลายใบ ก้านใบยาว 0.5–1.5 ซม.

ดอก ดอกออกเดี่ยว ๆ เรียงชิดกันคล้ายเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ก้านดอกยาว 1.5–3 ซม. กลีบเลี้ยงแยกจรดโคน มี 5–6 กลีบ มีครีบคล้ายปีกคล้ายรูปไตหรือรูปหัวใจ กว้าง 3–4 มม. ปลายมีจงอยยาวประมาณ 2 มม. ดอกสีม่วงหรือขาว มี 5–6 กลีบ เรียงซ้อนเหลื่อม เชื่อมติดกันที่โคนเป็นหลอดสั้น ๆ กลีบรูปรี กว้างและยาว 7–8 มม. เกสรเพศผู้มี 5–6 อัน ติดระหว่างกลีบดอก ก้านชูอับเรณูสั้นกว่าอับเรณู งอไปด้านเดียว อับเรณูสีเหลือง ยาว 3–4 มม. มีรูเปิดที่ปลาย รังไข่เกลี้ยง เกสรเพศเมียมี 1 หรือ 3 อัน ยาวกว่าเกสรเพศผู้ โค้งงอ ตรงข้ามเกสรเพศผู้ ยอดเกสรเป็นตุ่ม (สารานุกรมพืชในประเทศไทย, 2560)

เมล็ด เมล็ดเกิดหลังดอกแห้งใช้เพื่อขยายพันธุ์

การดูแลและขยายพันธุ์ม่วงเทพรัตน์

1.การขยายพันธุ์

สามารถทำได้โดยการปักชำและการเพาะเมล็ด โดยกลบเมล็ดบาง ๆ เมล็ดจะงอกใน 14–20 วัน ย้ายปลูกเมื่ออายุได้ 35–40 วัน หลังเพาะ 4 เดือนจึงออกดอก ซึ่งการเพาะเมล็ดจะทำให้ได้ต้นที่แข็งแรง แต่ให้ดอกช้ามาก (ประมาณ 5 เดือนหลังการปลูก) จึงทำให้การปลูกด้วยการเพาะเมล็ดจะให้ผลผลิตช้าและไม่เพียงพอต่อความต้องการ นอกเหนือจากการเพาะเมล็ด ยังสามารถขยายพันธุ์ด้วยการปักชำกิ่ง เพื่อให้ได้ต้นใหม่ที่มีปริมาณมากขึ้น แต่ต้นที่ได้จากการปักชำกิ่งจะงอกรากได้ช้าและมักประสบปัญหาต้นเน่าเนื่องจากไม่มีรากในช่วงแรกของการปลูก ทำให้วิธีนี้ไม่ได้รับความนิยมและพบว่ากิ่งของม่วงเทพรัตน์มีขนาดค่อนข้างเล็ก ไม่แข็งแรง จึงไม่เหมาะสำหรับการปักชำกิ่ง ดังนั้นจึงมีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเข้ามาใช้ในการเพิ่มปริมาณพืชชนิดนี้ และมีการชักนำให้ออกดอกในขวดได้อย่างสวยงาม สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติเพื่อใช้เป็นไม้ประดับได้ (สารานุกรมเสรี, 2564)

2.สภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโต

ดินปลูกต้องชุ่มชื้นและร่วนซุย ระบายน้ำดี แสงแดดเต็มวัน อากาศค่อนข้างเย็น ต้องการน้ำและความชื้นปานกลาง (บ้านและสวน, 2559)

3.ประโยชน์

ม่วงเทพรัตน์ มีดอกที่มีสีสวยงาม และมีกลิ่นหอมทำให้เป็นที่นิยมสำหรับปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับ นอกจากนี้ยังใช้เป็นพืชสมุนไพรรักษาโรคติดเชื้อทางเดินหายใจ โรคผิวหนัง และโรคดีซ่าน ซึ่งมีสารสำคัญในกลุ่มแทนนิน และสารสำคัญที่มีฤทธิ์ดึงดูดแมลง โดยเฉพาะผีเสื้อ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์หรือฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, 2558)

ภาพที่ 2-2 ลักษณะต้นและดอกของม่วงเทพรัตน์
(ที่มา : ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์, 2553)

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) หมายถึง การนำส่วนหนึ่งส่วนใดของพืช ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งอาจจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ ตลอดจน โพรโทพลาสต์ (protoplast) ซึ่งได้แก่ส่วนของเซลล์พืชที่ได้แยกเอาผนังเซลล์ออกไป แล้วนำมาเลี้ยง ในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) โดยให้อาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยเกลือแร่ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตภายใต้สภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ เช่น แสง อุณหภูมิ ความชื้นและปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์ ชิ้นส่วนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาจได้มาจากต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดแบบปลอดเชื้อหรือได้จากการนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ปลูกในธรรมชาติมาฆ่าเชื้อที่บริเวณผิว (surface sterilization) ก่อนนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถทำได้บนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง (agar medium) หรือในอาหารเหลว (liquid medium) ซึ่งอย่างหลังนิยมทำบนเครื่องเขย่า (shaker) เพื่อเพิ่มออกซิเจนให้แก่เซลล์ หลังจากเลี้ยงเนื้อเยื่อไปได้ระยะเวลาหนึ่งต้องมีการถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ (subculturing) เนื่องจากอาหารเดิมลดน้อยลง และของเสียที่เซลล์พืชขับออกมาเพิ่มมากขึ้น (รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ, 2545) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีขยายพันธุ์พืชแบบไม่อาศัยเพศวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถผลิตพืชได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว ต้นพืชมีความสม่ำเสมอ สมบูรณ์แข็งแรง ตรงตามพันธุ์ และสะอาดปราศจากโรคแมลงศัตรูพืช ปัจจุบันมีการนำมาเพื่อใช้ขยายพันธุ์พืชในเชิงการค้าอย่างกว้างขวางและส่งเสริมเป็นอาชีพ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559)

2.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช

การฆ่าฟอกเชื้อจุลินทรีย์บริเวณภายนอกชิ้นส่วนพืชเป็นสิ่งจำเป็น และสำคัญต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับบริเวณผิวนอกของชิ้นส่วนพืช เนื่องจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีธาตุอาหารและวิตามินที่เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เจริญได้ดีและรวดเร็วกว่าเนื้อเยื่อพืช การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำได้สะดวกและได้ผลดี โดยการใช้สารเคมีชนิดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้หมดทุกชนิด และล้างออกได้ง่าย เพราะถ้าล้างออกได้ยาก สารเคมีเหล่านี้จะติดไปกับเนื้อเยื่อพืชทำให้พืชตายหรือเจริญเติบโตได้ไม่ดีเท่าที่ควร (ภพเก้า พุทธรักษ์, 2556) การเลือกใช้สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อให้ความเหมาะสมและเกิดประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อมีแนวทางในการเลือกใช้สารฟอกฆ่าเชื้อดังนี้ (ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2538)

1. มีประสิทธิภาพดีให้เปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อสูง
2. ราคาไม่แพงและหาซื้อได้ง่าย
3. เตรียมได้ง่ายไม่มีขั้นตอนที่ยุ่งยาก
4. ไม่เป็นอันตราย หรือมีอันตรายน้อยที่สุดต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคนและชิ้นตัวอย่างพืช

สารเคมีที่นิยมใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช มีดังนี้ (แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ, 2547)

1. แคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ($Ca(OCl)_2$) นิยมใช้กับเนื้อเยื่อที่บอบบาง หรือเมล็ด มี available chlorine 99.2% ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 9-10% เวลาที่ใช้ประมาณ 5 - 30 นาทีมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีมาก

2. โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCI) เป็นสารออกฤทธิ์ของน้ำยาซักผ้าขาวมีโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 6.0% มี available chlorine 95.2% ความเข้มข้นที่ใช้การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 0.25-2.63% เวลาที่ใช้ประมาณ 5-30 นาทีมีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

3. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_20_2) ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 10-12% เวลาที่ใช้ 5- 15 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

4. แอลกอฮอล์ (Alcohol) ที่นิยมใช้ คือ เอทานอล (ethanol) ความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืชประมาณ 70-95% เวลาที่ใช้ 2-5 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

5. สารละลายไอโอดีน (Iodine water) ความเข้มข้นของสารละลายไอโอดีนที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 3% เวลาที่ใช้ 30 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อได้ดี

6. คลอรอกซ์ (Clorox) เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้กันทั่วไปตามบ้านเรือน ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 5-10% เวลาที่ใช้ 5-20 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

7. สารละลายโบรไมด์ (Bromide water) ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 1-2% เวลาที่ใช้ประมาณ 2-10 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

8. เมอคิวริคคลอไรด์ ($HgCl_2$) เป็นสารประกอบที่เป็นพิษสูง มีฤทธิ์กัดกร่อนเยื่อเมือกและใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อเฉพาะที่ ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 0.1-1.0% เวลาที่ใช้ 2- 10 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีพอสมควร

9. เมอคิวริคไอโอไดด์ (HgI_2) ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 0.5% เวลาที่ใช้ 30 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

10. เมอคิวริคโบรไมด์ ($HgBr_2$) ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 0.5% เวลาที่ใช้ 30 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดี

11. กรดกำมะถันหรือกรดซัลฟูริค (H_2SO_4) ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 20 - 70 % เวลาที่ใช้ประมาณ 5- 20 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก

12. ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$มีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อย่างกว้างขวาง ทั้งชนิดแกรมบวก (Gram $^+$) และชนิดแกรมลบ (Gram -) สามารถหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์ (yeast) (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2560) เป็นสารที่ถูกใช้เป็นสารกัดกร่อน น้ำยาฆ่าเชื้อและยาสมานแผล และมีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อ *Staphylococcus* และ *Pseudomonas* เกือบทุกสายพันธุ์ (A Practice of Anesthesia for Infants and Children, 2019) ความเข้มข้นที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืชประมาณ 1% เวลาที่ใช้ 5-30 นาที มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อได้ดี

สารฟอกฆ่าเชื้อที่นิยมใช้กันมากที่สุด ได้แก่ แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (คลอรอกซ์) รองลงมาคือเอทานอล ในการฆ่าเชื้อควรพิจารณาเลือกความเข้มข้นของสารและระยะเวลาการฟอกที่เหมาะสม เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการฟอกเชื้อได้เป็นอย่างดีโดยไม่ทำลายเนื้อเยื่อพืช สำหรับเนื้อเยื่อพืชที่ทำให้ปลอดเชื้อได้ยาก อาจต้องทำการฟอกซ้ำอีกหลังจากการฟอกครั้งแรก 1 - 2 วัน และตัดแต่งเนื้อเยื่อชั้นนอกทิ้งก่อนย้ายลงเลี้ยงในอาหารขวดใหม่ ในเมล็ดพืชบางชนิดหรือเนื้อเยื่อพืชที่มีการปนเปื้อนมาก อาจต้องแช่ในน้ำไหล (Running water) เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมงก่อนแล้วจึงนำไปฟอกฆ่าเชื้อ วิธีการนี้จะช่วยลดการปนเปื้อนได้มาก สารฟอกฆ่าเชื้อโดยปกติจะต้องใช้ร่วมกับสารจับใบ เพื่อช่วยให้มีการแทรกซึมของสารฆ่าเชื้อได้ดีขึ้น สารจับใบที่นิยมใช้ได้แก่ Tween - 80, Tween - 20 และ Triton - x เป็นต้น นอกจากนี้ก่อนฟอกฆ่าเชื้ออาจจุ่มเนื้อเยื่อลงในเอทานอล 70% เป็นเวลา 30 - 60 วินาที เพื่อช่วยในการขจัดสารเคลือบใบพืชจะทำให้สารฟอกฆ่าเชื้อทำงานได้ดีขึ้น การฟอกฆ่าเชื้อโดยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เริ่มต้นด้วยการล้างชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชด้วยน้ำยาและน้ำประปาให้สะอาด แล้วจึงนำมาแช่ในน้ำยาที่มีสารฟอกฆ่าเชื้อตามเวลาที่กำหนดจากนั้นให้ล้างในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 - 5 ครั้ง นำไปผึ่งในจานแก้ว

ปลอดเชื้อที่มีกระดาษกรองรองเพื่อรอการผ่าตัด และย้ายลงขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อโดยเอทานอลนั้นใช้ความเข้มข้นในช่วง 70 - 95% ระยะเวลาไม่เกิน 10 วินาที ซึ่งเนื้อเยื่อที่มาจากส่วนต่างๆ ของพืช โดยทั่วไปแล้วมีความทนต่อการฟอกฆ่าเชื้อมาก แต่เนื้อเยื่อที่ยังอ่อน ซึ่งมีลักษณะบอบบางจะมีความไว (sensitive) ต่อการฟอกฆ่าเชื้อมาก อาจทำให้ตายได้ง่าย ในขณะที่เนื้อเยื่อที่อยู่ติดดินหรืออยู่ในดินจะมีการปนเปื้อนสูงทำให้การฟอกฆ่าเชื้อทำได้ยากที่สุด ดังนั้นวิธีการฟอกฆ่าเชื้อจึงมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและแหล่งของเนื้อเยื่อพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยง (พรพิมล สุริยจันทราทอง, 2545)

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อนี้ทำได้โดยวิธีต่าง ๆ กัน (พรพิมล สุริยจันทราทอง, 2545) เช่น

1) ฉีดพ่นเอทานอลลงบนชิ้นส่วนของพืช เช่น ในช่อดอกอ่อนของข้าวหรือข้าวโพด ที่ยังมีใบธงหุ้มอยู่ แล้วปล่อยให้เอทานอลระเหยจนหมดไปในตู้ลามินาร์แอร์โฟล์ จากนั้นจึงผ่าตัดนำเอาอับละอองเรณูออกมาเลี้ยง

2) ฉีดพ่นเอทานอลลงบนชิ้นส่วนของพืชแล้วลนไฟ เช่น ฝักกล้วยไม้ และเมล็ดพืชที่มีเปลือกแข็ง ซึ่งจะทำการผ่าตัดเอาเมล็ดหรือเอ็มบริโอออกมาเลี้ยง

3) แช่ในเอทานอลตามด้วยการฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายคลอรอกซ์ เช่น เมล็ดพืชตระกูลถั่วหรือเมล็ดน้อยหน่า ซึ่งเป็นเมล็ดที่มีเปลือกแข็งมาก ก่อนนำเมล็ดไปเพาะเลี้ยง

งานวิจัยที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของพืชในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีดังนี้

ประภาพร พงษ์ไทย และ สิริแข พงษ์สวัสดิ์ (2553) รายงานว่าเมื่อนำตาข้างของกุหลาบหนูไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวและสารจับใบความเข้มข้นต่างกัน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาว ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 25 นาที ตามด้วยสารฟอกขาวความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 25 นาที เป็นวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำให้ตาข้างของกุหลาบหนูปราศจากเชื้อโรคได้สูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

มณฑล สงวนเสริมศรี และคณะ (2556) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงใบอ่อนกุหลาบปารากวัย (*Graptopetalum paraguayense* E. Walther) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย สารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที เป็นสภาวะของการฟอกฆ่าเชื้อที่ดีที่สุด มีประสิทธิภาพสามารถฟอกฆ่าเชื้อได้สูงสุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์

กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2558) ได้พัฒนาอาหารอย่างง่ายจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์ (*Exacum affine* Balf. F. ex Regel) และหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni) โดยการนำชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ และหญ้าหวานมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ชื่อทางการค้า Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด Stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละ 0,1,2,3,4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยการเติมน้ำยาฟอกผ้าขาว Haiter สูตรมาตรฐาน 0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร เปรียบเทียบกับอาหารวุ้นสูตร MS ที่ฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอและการเติมน้ำยาฟอกผ้าขาว ทุกชุดการทดลองถูกนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าอาหารวุ้นจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน Stock A และ B ความเข้มข้น อย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้พืชทั้ง 2 ชนิดมีจำนวนยอด จำนวนใบ และความสูงของยอดมากกว่าอาหารสูตร MS ทั้งที่ฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอ และการเติมน้ำยาฟอกผ้าขาวอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 ดังนั้นอาหารสูตรดังกล่าวสามารถใช้ทดแทนอาหารวุ้น MS ได้เนื่องจากส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีกว่าต้นทุนถูกกว่า และขั้นตอนการเตรียมง่ายกว่า

จิราภรณ์ นิคมทัศน์ และคณะ (2563) ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูมาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน 5 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมน้ำยาล้างจาน เป็นเวลา 25 นาที ล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อจำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที โดยการฟอกฆ่าเชื้อใช้น้ำที่ฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร นำชิ้นส่วนจากการฟอกฆ่าเชื้อนำไปวางบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติมไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนปลอดเชื้อที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารอย่างง่าย จำนวน 4 สูตร นั่นคือ สูตรอาหาร Hydroponics A และ B อย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อศึกษาจำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบ พบว่า 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 ตามลาดับ ส่วนความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดเกิดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 1.57 ± 0.86 เซนติเมตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับชุดการทดลองอย่างง่ายทุกสูตร

Songsri et al., (2012) พบว่า การนำชิ้นส่วนข้อของต้นหัวข้าวเย็น (*Dioscorea birmanica* Prain & Burkill) มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ ที่มีส่วนประกอบของโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ จำนวน 2 ครั้ง ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที และความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที มีเปอร์เซ็นการปลอดเชื้อและรอดชีวิตสูงสุด

Puhan & Siddiq (2013) พบว่า การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในพืชหลายชนิด โดยในการทดลองนี้ได้นำสารละลาย sodium hypochlorite (NaOCl) หรือ Clorox มาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อผักหวานบ้าน จากผลการทดลองเมื่อนำสารละลาย Clorox ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ฟอกเป็นเวลา 10 นาที และตามด้วย สารละลาย Clorox ที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ฟอกเป็นเวลา 5 นาที ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชมีเปอร์เซ็นการปนเปื้อนน้อยที่สุดและมีอัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อมากที่สุด

Theerakarunwong & Chouychai (2013) รายงานว่า การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดถั่วเขียวด้วยอนุภาคนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์ที่กระตุ้นด้วยรังสียูวีก่อน 30 นาทีที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 นาที ให้ประสิทธิภาพการฟอกฆ่าเชื้อได้ไม่ต่างจากการใช้ไฮเตอร์ร้อยละ 10 เป็นเวลา 20 นาทีและตามด้วยไฮเตอร์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยอนุภาคนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์ที่กระตุ้นด้วยรังสียูวีก่อน 30 นาที สามารถใช้ฟอกฆ่าเชื้อได้ไม่ต่างจากการใช้ไฮเตอร์ ความเข้มข้นร้อยละ 10

Maheswari & Vaishnavi (2018) ได้ศึกษาหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณในหลอดทดลองของกุหลาบมอญ (*Rosa damascena* Mill.) จากการทดลองพบว่า การ ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (5%) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาแช่ในเอทานอล 70% เป็นเวลา 30 วินาที ตามด้วย เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นเวลา 6 นาที สามารถลดอัตราการปนเปื้อนได้ 10% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 85% เมื่อได้ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อแล้ว นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP, IAA และ 2, 4-D เพื่อชักนำให้เกิดต้น ซึ่งจะเห็นได้ว่า หลังจากนั้นเพิ่มปริมาณต้นโดยการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. มียอดเกิดขึ้น 8.27 ยอดต่อต้น ภายในในเวลา 4 สัปดาห์ และเมื่อเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ต่อไปเรื่อยๆ จนสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 พบว่า อัตราการเพิ่มจำนวนยอดมากขึ้นและมีความยาวเท่ากับ 59.8 ซม. ส่วนการชักนำให้เกิดราก จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหาร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ พบว่ามีรากเกิดขึ้น 2.3 รากต่อต้น เมื่อปรับสภาพและย้ายปลูก พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ต้นใหม่สามารถเจริญเติบโตในสภาพโรงเรือนได้ 90% ดังนั้นจึงสามารถใช้

วิธีการนี้ในการขยายพันธุ์กุหลาบมอญในเชิงพาณิชย์ ซึ่งจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า IBA, IAA และ NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สำคัญในการชักนำให้เกิดยอดและราก

2.2.2 การชักนำยอดในสภาพหลอดทดลอง (*in vitro* shoot induction)

โครงสร้างภายในของปลายยอดพืช ประกอบด้วย 4 ส่วน ดังนี้ 1. ใบเริ่มเกิด (leaf primordium) ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นใบอ่อน 2. ใบที่ยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ (young leaf) 3. บริเวณเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอด (apical meristem) จะเกิดการแบ่งเซลล์ตลอดเวลาทำให้ลำต้นมีความสูงเพิ่มมากขึ้น 4. ตาข้าง (lateral bud) ที่จะเจริญเป็นกิ่ง แขนงหรือก้านช่อดอกต่อไป (อาภรณ์ รับไชย, 2560) ส่วนปลายยอดของพืชมีลักษณะที่ซับซ้อน เนื่องจากเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายสามารถกำเนิดโครงสร้างต่าง ๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อเจริญด้านข้าง เพื่อเกิดเป็นส่วนของใบ และลำต้นส่วนที่เป็นกิ่ง ในที่แห่งเดียวกันก็อาจกำเนิดเป็นตาข้าง หนาม มือเกาะ และอวัยวะสืบพันธุ์ ก็ได้ โครงสร้างบางอย่างนี้มีการเจริญเติบโตเป็นลักษณะไม่ทอดยอด (determinate) ตัวอย่างเช่น ใบ ในขณะที่ตาข้างมีการเจริญเป็นแบบทอดยอด (indeterminate) เช่น การเจริญไปเป็นกิ่ง และช่อดอกในพืชดอกหลายชนิด การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของพืชมีดอกจะต้องอาศัยดอกและส่วนประกอบของดอก ดังนั้นพืชมีดอกจะสร้างดอกได้มากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับการพัฒนา การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเนื้อเยื่อส่วนปลายยอด ที่จะส่งสัญญาณบางอย่างไปกำหนดการสิ้นสุดของการเจริญทางด้านลำต้นของส่วนยอด เพื่อเข้าสู่ระยะสร้างโครงสร้างเพื่อการสืบพันธุ์ ซึ่งการเติบโตและพัฒนาการของพืชถูกควบคุม 3 ระดับ คือ 1) การควบคุมระดับภายในเซลล์เป็นการควบคุมทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมภายในเซลล์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงโปรตีนภายในเซลล์ 2) การควบคุมระดับเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืชที่ควบคุมกิจกรรมของกลุ่มเซลล์ และ 3) การควบคุมโดยสภาพแวดล้อมที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการเติบโตและพัฒนาการของพืช แต่การควบคุมทั้ง 3 ระดับ นี้มีปฏิกริยาสัมพันธ์กัน (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2556)

ดังนั้นสิ่งจำเป็นที่ช่วยในการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ แสงแดด อากาศ น้ำ และแร่ธาตุ และยังพบว่าการเจริญเติบโตของพืชต้องอาศัยกระบวนการทางสรีรวิทยาที่สลับซับซ้อน โดยมีปัจจัยทั้งทางด้านสภาพแวดล้อมภายนอก ตลอดทั้งเกิดจากอิทธิพลภายในต้นพืชเองเข้ามาเกี่ยวข้องในการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเจริญเป็นอวัยวะต่าง ๆ ของพืช สำหรับการเกิดยอดของพืชจะมีกระบวนการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เกิดขึ้น

พร้อมๆ กัน ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อชักนำให้เกิดยอดในหลอดทดลองจึงมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติ ในการกระตุ้น การแบ่งเซลล์ เร่งการขยายตัวของเซลล์และทำให้เกิดการเจริญของตาข้าง (สุมนทิพย์ บุนนาค, 2556) ในการชักนำให้เกิดยอดของพืชในสภาพปลอดเชื้อพบว่า เมื่อมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินหลายชนิด เช่น BA, KN, TDZ และ BAP โดยอาจใช้เติมเพียงชนิดเดียว หรือเติม 2 ชนิดร่วมกัน หรืออาจจะมีการเติมร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินได้แก่ IAA, IBA และ NAA ซึ่งจะส่งผลก่อให้เกิดการชักนำยอดได้ดี ทั้งนี้ชนิดและปริมาณที่ใช้จะผันแปรขึ้นกับชนิดของพืช ชิ้นส่วนและระยะการเจริญเติบโตของพืช และระดับหรือสัดส่วนของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ที่ใช้ในสูตรอาหาร โดยมีข้อสังเกตที่สำคัญ คือ ถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูงขึ้น (ไซโตไคนิน > ออกซิเจน) จะกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นยอด (shoot formation) (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546)

งานวิจัยที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดยอดของพืชในสภาพหลอดทดลอง มีดังนี้

ประภาพร พงษ์ไทย และสิริแข พงษ์สวัสดิ์ (2553) พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้ตาข้างของกุหลาบหนูเกิดยอดได้สูงสุดเท่ากับ 85 เปอร์เซ็นต์ และความสูงเฉลี่ยของยอดเท่ากับ 1.15 เซนติเมตร และอาหารสูตร MS ที่ เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นได้สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 20 ต้น/ชิ้นส่วน

สุจิตรา สืบนุการณ์ (2553) พบว่า หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ เนื้อเยื่อตาข้างกุหลาบที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/ลิตร มีจำนวนยอด ความสูงเฉลี่ยของยอดและอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด

เยาวลักษณ์ ฉัตรสุวรรณ และกาญจนา รุ่งรัชกานนท์ (2557) ที่ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำยอดได้ 4.6 ยอดต่อชิ้น และมีความยาวยอด 0.77 เซนติเมตร

สวิตา วันหวัง และคณะ (2564) ได้ศึกษาผลของ BA ต่อการเจริญและพัฒนาของตาข้างกุหลาบหนู (*Rosa chinensis* Jacq. var. minima Voss) ในหลอดทดลอง โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบหนูบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ที่มีความสมบูรณ์มากที่สุดเฉลี่ย 16.9 ยอดต่อชิ้นส่วน และมีความยาวมากที่สุด 4.03

เซนติเมตร และจากการนำต้นใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไปปรับสภาพและย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่าต้นกล้าสามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ดีเมื่อผ่านไป 6 สัปดาห์โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์

Giridhar et al., (2003) รายงานว่า อาหารสูตร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ 40 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำ ให้เกิดจำนวนยอดและความยาวยอดได้มากที่สุด ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของกาแฟพันธุ์อาราบิก้า (Arabica) และอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร BA 2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ 10 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดและความยาวยอดได้มากที่สุดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของกาแฟพันธุ์โรบัสต้า (robusta)

Al-Khalifah et al., (2005) รายงานว่า อาหาร MS ที่เติม BA 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ KN 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับซูโครส 40 กรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดแตกต่างกับอาหาร MS ที่เติมซูโครส 30 กรัม/ลิตรและ 50 กรัม/ลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกุหลาบตัดดอก (*Rosa hybrida* L.) พันธุ์ Pristine White มีอัตราการเกิดยอดมากที่สุด 8.8% และเฉลี่ยทั้ง 5 พันธุ์ มีอัตราการเกิดยอด 6.5% กุหลาบตัดดอกพันธุ์ Oklahoma Red มีอัตราการยืดยาวของยอดสูงที่สุด 85.9% เฉลี่ยทั้ง 5 พันธุ์ มีอัตราการยืดยาวของยอด 71.1%

Jabbarzadeh & Khosh-Khui (2005) ได้เพาะเลี้ยงส่วนข้อของกุหลาบมอญ (Damask rose) บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA หรือ KN ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.5-3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกบั IBA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร เหมาะสมที่สุดในการชักนำยอดให้เกิดขึ้นหลังจากการย้ายเลี้ยงในอาหาร 4 ครั้ง ทุก 4 สัปดาห์

Jafar Jaskani et al., (2005) ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบพันธุ์ Queen Elizabeth และ Angel Face พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ KN 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร มีการเกิดยอดมากที่สุด 80% ยอดมีความยาว 1.5 เซนติเมตร และอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ BAP 0.3 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ยอดมีความยาวมากที่สุด 3.0 เซนติเมตร

Chotikadachanarong & Dheeranupattana (2013) พบว่า จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานบนอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 3 mg/L เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด 9.31±4.17 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ สามารถการขยายพันธุ์หญ้าหวานด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ดี

Vijay et al., (2016) พบว่าอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนตาข้างของเจตมูลเพลิงขาวเกิดยอดและเพิ่มจำนวนยอดได้ดี และยังพบว่าเมื่อเติม BA ใน

ความเข้มข้นที่สูงขึ้น จะส่งผลให้ตาข้างเกิดยอดใหม่ได้ดีมากขึ้น ทั้งนี้ทั้งนั้นการชักนำให้เกิดยอดจะเกิดมาจากฮอร์โมนไซโตไคนินด้วย แต่อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงในครั้งนี้ยังไม่มีการสังเคราะห์ฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินหรืออาจสร้างได้น้อยจึงไม่เพียงพอที่จะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเกิดการการสร้างยอดได้ ดังนั้นเมื่อได้รับ BA จากอาหารเพาะเลี้ยงในปริมาณที่เพียงพอจึงทำให้เกิดการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นอวัยวะได้ดีขึ้น

Pikulthong et al., (2018) ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของผักน้ำ (*Alternanthea* sp.) บนอาหาร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำให้เกิดยอดและรากได้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เมื่อใช้สัดส่วนของออกซินและไซโตไคนินที่เหมาะสม โดยชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญที่ 12.88±0.51 ยอด/ชิ้นส่วน ($p< 0.05$) และยังพบว่าเนื้อเยื่อจะเจริญเติบโตเป็นต้นที่มีรากได้นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง

Kay et al., (2021) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ของกุหลาบหนูในสภาพหลอดทดลอง (*Hybrid Rosa* spp.) ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยชิ้นส่วนนำตาข้างของกุหลาบหนูไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 กรัม/ลิตร วุ้น 6 กรัม/ลิตร และเติม BAP ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัม/ลิตร จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดและการเพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุด ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ GA3 1 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้มีการยืดยาวของยอดได้ดีที่สุด และเมื่อนำยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5, 2 มก./ล. พบว่าการเติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด ส่วนการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดรากได้น้อยที่สุด

2.2.3 การชักนำให้เกิดรากในสภาพหลอดทดลอง (*in vitro* root induction)

รากเป็นอวัยวะของพืช ที่เจริญมาจากรากแรกเกิดของเอ็มบริโอภายในเมล็ด ในขณะที่รากเจริญเติบโต มีการแบ่งเซลล์ของปลายราก ซึ่งเป็นการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญที่มีลักษณะเป็นแบบ proliferative นั่นคือ มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการแบ่งเซลล์เพื่อสร้างส่วนประกอบต่างๆ (formative divisions) เซลล์ลูกจะเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงและพัฒนา (differentiate) เพื่อแยกออกจากเซลล์อื่น ๆ โดยพบว่า การเพิ่มจำนวนเซลล์ในรากจะมี 2 แบบ นั้นคือ 1.การเพิ่มจำนวนเซลล์ในแนวตั้ง (anticlinal) กับเซลล์เดิม ส่งผลทำให้ทิศทางของการเจริญส่วนใหญ่ของรากในส่วนนี้เกิดขึ้นในแนวตั้ง 2.การเพิ่มจำนวนเซลล์ในแนวทางขวาง (periclinal) กับ

เซลล์เดิม ทำให้ทิศทางของการเจริญส่วนใหญ่มีการขยายตัวไปทางด้านข้าง (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546) เมื่อแบ่งประเภทของรากจะได้ดังนี้ คือ รากแก้ว รากแขนง รากฝอย รากขนอ่อน และรากพิเศษ ซึ่งรากพิเศษเป็นรากที่เกิดหลังจากเอ็มบริโอพัฒนาเต็มที่ และไม่ใช่รากแขนง สามารถเกิดได้หลายบริเวณ เช่น บริเวณลำต้น ใบ และราก มักเกิดภายใต้สภาวะเครียด (stress) ของสภาพแวดล้อม และอาจเกิดหลังจากเกิดความเสียหายเชิงกล เช่น การตัดกิ่ง ใบ และราก หรือเกิดตามหลังการชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ปิตุพร พิมพาเพชร, 2564)

การเกิดรากพิเศษเป็นกระบวนการที่ถูกชักนำและควบคุมด้วยปัจจัยภายนอกที่เป็นสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แสง และปัจจัยภายในของพืชเองซึ่งเป็นสารต่างๆ ที่พืชสร้างขึ้น เช่น น้ำตาล แร่ธาตุ โมเลกุลสารต่างๆ และฮอร์โมนพืช ซึ่งฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญในการชักนำให้เกิดรากพิเศษ คือ ออกซิน หรือสารสังเคราะห์ที่มีสมบัติคล้ายออกซิน โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดออกซินเป็นกลุ่มสารอนุพันธ์ของทริปโทเฟน (tryptophan-derived signals) เป็นฮอร์โมนพืชที่สร้างจากกลุ่มเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ โดยมีการสร้างมากที่เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ออกซินจะมีหน้าที่หลักสำคัญ คือการควบคุมการเจริญเติบโตของต้นพืช การพัฒนาของเอ็มบริโอในระยะแรกของกระบวนการเกิดเอ็มบริโอ (embryogenesis) การจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (phyllotaxy) การแตกกิ่งของลำต้นเหนือดิน (apical dominance) การสร้างรากหลัก รากแขนง และการชักนำให้เกิดรากพิเศษ (ภัณฑิลา อุดร, 2558) จากการค้นคว้างานวิจัย พบว่าการชักนำให้เกิดรากของพืชในสภาพปลอดเชื้อมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินได้แก่ IAA, IBA และ NAA อย่างเดียวหรืออาจเติมร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งมีผลทำให้เกิดการชักนำให้เกิดรากได้ดี ทั้งนี้ชนิดและปริมาณที่ใช้จะผันแปรขึ้นกับชนิดของพืช ชิ้นส่วนและระยะการเจริญเติบโตของพืช และระดับหรือสัดส่วนของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ที่ใช้ในสูตรอาหาร โดยมีข้อสังเกตที่สำคัญ คือ ถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินลดลง (ไซโตไคนิน < ออกซิน) จะกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นราก (root formation) (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546)

งานวิจัยที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดรากในสภาพหลอดทดลอง มีดังนี้

ภพเก้า พุทธรักษ์, รัฐพร จันทร์เดช และวารุต อยู่คง (2555) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนกุหลาบหิน บอนสี และคว่ำตายหงายเป็น ที่เพาะเลี้ยงบนสูตร อาหาร MS ดัดแปลง เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนใบอ่อนกุหลาบหินที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม TDZ

เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดเฉลี่ยมากที่สุด 241 ยอดต่อชิ้นพืชเริ่มต้น และการเพาะเลี้ยงใบอ่อนบอนสีบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 12 ยอดต่อชิ้นพืชเริ่มต้น ส่วนการเพาะเลี้ยงใบอ่อนคว่ำตายหงาย เป็นบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 243 ยอดต่อชิ้นพืชเริ่มต้น การชักนำให้เกิดราก จากยอดใหม่ของกุหลาบหิน พบว่ายอดอ่อนของกุหลาบหินที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 7 รากต่อยอดเริ่มต้น และพืชต้นใหม่ที่มีขนาดความสูงประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร ของบอนสี กุหลาบหิน และคว่ำตายหงายเป็น ที่ได้จากการทดลอง สามารถย้ายออกปลูก และเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อม ปกติ โดยมีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์

นุชจรี ทัดเศษ,การันต์ ผึ่งบรรหาร และลลิดา อุดธา (2562) รายงานว่าการศึกษาผลของ BA (6-benzyladenine) และ NAA (1-Naphthaleneacetic acid) ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยหินในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อนำต้นกล้วยหินในสภาพปลอดเชื้อที่มีอายุ 1 เดือน มาชักนำให้เกิดยอด เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 20 สัปดาห์ พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเท่ากับ 41.67±4.17 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) เกิดรากเท่ากับ 16.67±4.17 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$) และทำให้จำนวนใบสูงสุดเท่ากับ 1.33±0.17 ใบ ($p<0.05$) สำหรับการชักนำการเกิดรากของกล้วยหินที่มีอายุ 6 เดือน เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดเท่ากับ 71.43±18.44 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$) Mangkita et al., (2007) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ในสภาพหลอดทดลองของ บัควีท (*Fagophyrum tataricum* Gaerth.) โดยใช้ชิ้นส่วนยอดที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้ออายุ 3 สัปดาห์ นำมาเพิ่มปริมาณยอดโดยเพาะเลี้ยง บนอาหารสูตร Murashige & Skoog 1962 (MS) ที่เติม BAP เข้มข้น 20 ไมโครโมล่าร์ น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเจลแลนกัม 1 กรัมต่อลิตร ในบางสภาวะที่เพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนมีการพัฒนาเป็นตาข้างและยอด โดยสามารถตรวจนับยอดที่เกิดขึ้นได้โดยเฉลี่ยประมาณ 258 ยอด/ชิ้นส่วน (152,587,890,625 ยอด) ภายในเวลา 1 ปี และสามารถชักนำให้เกิดรากได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 1 ไมโครโมลาร์ หลังจากการปรับสภาพต้นใหม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพโรงเรือนเกือบ 100% ซึ่งสามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ในการขยายพันธุ์บัควีทลูกผสมได้

Sarai et al., (2017) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นและการเกิดดอกของม่วงเทพรัตน์ (*Exacum affine* Balf. f. ex Regel) โดยนำชิ้นส่วนยอดขนาดเล็กมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS กึ่งแข็ง ที่เติม BPA 2.0 มก./ ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ามียอดเกิดขึ้น 100 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนยอดขนาด 2 เซนติเมตรไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 2.0 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีรากเกิดขึ้น 18 รากต่อยอด และเมื่อได้ต้นกล้าที่มียอดรากสมบูรณ์ดี นำไปย้ายปลูกลงในดิน ซึ่งต้นกล้าสามารถรอดชีวิตได้ถึง 82 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าชิ้นส่วนยอด ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถเกิดดอกได้ และเมื่อมีการตัดชิ้นส่วนปลายยอดออก ทำให้มีการแตกกิ่ง และเกิดดอกในหลอดทดลองเพิ่มขึ้น จากการการเปรียบเทียบดอกในสภาพหลอดทดลองกับดอกที่ปลูกในดิน พบว่าโครงสร้างดอกส่วนใหญ่คล้ายคลึงกัน ยกเว้นรังไข่และก้านชูดอกเพศเมียของดอกในสภาพหลอดทดลองจะเล็กกว่าเล็กน้อย แต่ความมีชีวิตของละอองเรณูที่ได้จากดอกในสภาพหลอดทดลองสูงกว่าละอองเรณูของดอกที่ได้จากการปลูกในดิน แต่ละอองเรณูมีการงอกสูงสุด (ประมาณ 33% ในสภาพมืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) ซึ่งพิจารณาจากลักษณะของละอองเรณูจากทั้งสองสภาพบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 5%

Wojtania & Matysiak (2018) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของ *Rosa* 'Konstancin' (*R. rugosa* × *R. beggeriana*) ซึ่งผลมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยการนำชิ้นส่วนยอดที่มีตาข้างของ *Rosa* 'Konstancin' มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.2 µM, GA_3 0.3 µM และซูโครส 88 µM พบว่าในช่วง 2-4 สัปดาห์ ชิ้นส่วนตาข้างมีการพัฒนาไปเป็นยอด และมีอัตราการสร้างยอดสูงสุดที่ 4.8 ยอด/ชิ้นส่วน ภายในระยะเวลา 5 สัปดาห์ที่เพาะเลี้ยงงบนอาหารสูตร MS ที่เติมเกลือไนโตรเจน 50%, BAP 3.1 µM, GA_3 0.9 µM และซูโครส 58 µM และมีการเกิดรากสูงสุด 100% จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.5 µM, Fe-EDDHA 138 µM และซูโครส 88 µM และนอกจากนี้ยังพบว่า Fe-EDDHA มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงของ *Rosa* 'Konstancin' ซึ่งต้นกล้าที่นำมาปรับสภาพและย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากกว่า 90%

Achar & Vinjamuri (2021) ได้ศึกษาหาวิธีอย่างง่ายและมีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของม่วงเทพรัตน์ (*Exacum bicolor* Roxb.) โดยนำชิ้นส่วนใบ ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและเหลวสูตร MS ที่เติม ไคเนติน กรดอินโดลอะซีติก และ 6-เบนซีลามิโนพิวรีน (BAP) จากการทดลองพบว่า การเติม BAP ร่วมกับ Kinetin สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี และมียอดเกิดขึ้นมากที่สุด (81.25%) ในอาหารเพาะเลี้ยงแบบเหลว BAP สำหรับการชักนำให้เกิดราก พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร GA3

0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมผงถ่านกัมมันต์ 0.2% มีเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดราก 88.23% และมีจำนวนรากเฉลี่ย 0.26 ราก โดยต้นใหม่ที่มียอดรากสมบูรณ์ ใช้เวลาทั้งหมด 30 วัน ซึ่งวิธีการนี้สามารถนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นม่วงเทพรัตน์ได้ในระยะเวลาสั้น เมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิม

2.2.4 การชักนำให้เกิดดอกในสภาพหลอดทดลอง *(in vitro* flowering)

ดอก (Flower) คือ ส่วนของพืชที่เปลี่ยนแปลงไปมีลักษณะพิเศษ เพื่อทำหน้าที่เกี่ยวกับการสืบพันธุ์ ซึ่งกระบวนการชักนำให้เกิดดอกของพืชต้องอาศัยปัจจัย หลายปัจจัยทั้งปัจจัยภายในต้นพืช ได้แก่ ชนิดและพันธุ์พืชโดยพืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการสร้างดอกที่แตกต่างกัน อายุของพืชมีความสัมพันธ์กับขนาดของต้นพืชและปริมาณอาหารในพืชโดยพืชที่เจริญจนถึงระยะเต็มวัยจนถึงช่วงอายุที่เหมาะสมจึงมีการสร้างดอกและปริมาณฮอร์โมนพืช รวมทั้งปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสง อุณหภูมิ น้ำปริมาณอาหารในพืช และสารเคมี เป็นต้น (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2548) นอกจากการออกดอกของพืชต้องอาศัยปัจจัยทางภายในและปัจจัยทางภายนอกแล้ว การออกดอกเร็วต้องอาศัยปัจจัยอื่น ๆ เข้าร่วม ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ซูโครส รวมทั้งสารประกอบอนินทรีย์บางชนิดที่มีผลต่อการชักนำการเกิดดอก เช่น ซิลเวอร์ไนเตรท ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นการออกดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในหลอดทดลองที่แตกต่างกัน

การออกดอกเป็นการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาในพืชชั้นสูง เนื่องจากดอกเป็นส่วนประกอบที่สำคัญอย่างยิ่งในวงจรชีวิต ซึ่งดอกประกอบด้วยอวัยวะสำคัญ 4 ส่วนคือ กลีบดอก (sepal) กลีบเลี้ยง (petal) เกสรเพศผู้ (stamen) และเกสรเพศเมีย (pistil หรือ carpel) อวัยวะเหล่านี้เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาเป็นลำดับอย่างต่อเนื่องของเนื้อเยื่อเจริญของดอก (floral meristem) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสภาพและการเติบโตของอวัยวะจากเนื้อเยื่อเจริญส่วนสืบพันธุ์ (reproductive meristem) โดยพบว่าเป็นผลจากปฏิกริยาสัมพันธ์ของยีนที่ควบคุมอยู่ก่อนที่เนื้อเยื่อเจริญของดอกจะเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นอวัยวะต่าง ๆ กับปัจจัยสภาพแวดล้อมที่ได้รับ โดยมีการพัฒนาที่พืชจะเปลี่ยนแปลงจากการเจริญทางด้านลำต้นไปสู่ระยะการสืบพันธุ์ กระบวนการดังกล่าวนี้เรียกว่า floral evocation ซึ่งเป็นกระบวนการที่ถูกกำหนดโดยได้รับสัญญาณคำสั่งที่มีอยู่แล้วในต้นพืช และสัญญาณบางอย่างจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม พืชหลายชนิดถูกชักนำให้เกิดดอกเมื่อได้รับช่วงแสงที่จำเพาะ แต่จะตอบสนองต่อช่วงแสงนั้นได้ก็ต่อเมื่อเจริญและพัฒนาถึงระดับหนึ่งแล้ว (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546)

กระบวนการออกดอกที่ปลายยอดมีการเปลี่ยนแปลงอย่างสำคัญจากการเติบโตทางลำต้น ซึ่งจากการศึกษารายละเอียดของเนื้อเยื่อเจริญของดอกพบว่า เนื้อเยื่อที่ได้จากการพัฒนาของแกนช่อดอกและอวัยวะที่เป็นแขนง โดยชั้นปลายยอด (apical layers) ที่ทำหน้าที่ในการพัฒนาทางลำต้นยังคงมีอยู่ในปลายยอดที่เปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อของดอกแล้ว นอกจากนี้อาจเป็นได้ว่ามีชั้นของปลายยอดที่แตกต่างกันหลายชั้น ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับพัฒนาการของอวัยวะของดอก และในการพัฒนาของปุ่มกำเนิดกลีบเลี้ยงนั้น พบว่าชั้นปลายยอดนี้เกี่ยวข้องกับสัดส่วนของใบย่อย และพบว่าอวัยวะอื่น ๆ มีบทบาทการทำงานที่มีพื้นฐานที่เหมือนกันระหว่างเนื้อเยื่อเจริญของดอกและเนื้อเยื่อเจริญทางด้านลำต้น ซึ่งขณะที่พืชพัฒนาเข้าสู่ระยะการออกดอก บริเวณส่วนปลายยอดจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเช่น เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นชั่วคราว และส่วนปลายยอดขยายใหญ่ขึ้น มีอัตราการกำเนิดปุ่มใบเพิ่มขึ้น เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงเพื่อเกิดสภาพ floral evocation โดยมีการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนขึ้นมาใหม่ รวมทั้งมีการเพิ่มปริมาณของไมโตครอนเดรีย และมีการหายใจที่เพิ่มขึ้น(ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546)

2.2.5 สารเคมีที่ใช้ในการชักนำให้เกิดดอกในการทดลองครั้งนี้

2.2.5.1 ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$)

ซิลเวอร์ไนเตรท เป็นสารประกอบประเภทอนินทรีย์ เมื่อนำมาละลายน้ำ จะได้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่มีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อย่างกว้างขวาง ทั้งชนิดแกรมบวก (Gram +) และชนิดแกรมลบ (Gram -) นอกจากแบคทีเรียแล้วสารซิลเวอร์ไนเตรทยังสามารถหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์ (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2560) สามารถนำมาใช้ในงานได้หลายประเภท เช่น งานทางการแพทย์ งานถ่ายภาพ การย้อมสี การเคลือบเงินและการทำกระจก ซิลเวอร์ไนเตรท เป็นผลึกของแข็ง ไม่มีสีถึงขาว ไม่มีกลิ่น เป็นสารตั้งต้นของสารประกอบเงินหลายชนิด สามารถเตรียมได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างธาตุเงินกับกรดไนตริก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นซิลเวอร์ไนเตรต น้ำและออกไซด์ของไนโตรเจน

นอกจากนี้ยัง มีการนำซิลเวอร์ไนเตรทมาใช้ในเชิงพาณิชย์ในการรักษาสภาพความสดและเพิ่มระยะการบานของไม้ตัดดอก รวมทั้งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งซิลเวอร์ไนเตรทมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี มีความจำเพาะและเสถียรภาพ ทำให้มีประโยชน์อย่างมากในการนำมาใช้ควบคุมการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชทั้งโครงสร้างภายในพืชเองและภายในหลอดทดลอง โดยไอออนของซิลเวอร์จากซิลเวอร์ไนเตรทมีบทบาทสำคัญใน

การชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ ยอด และราก เป็นต้น โดยมีผลยับยั้ง การทำงานของเอทิลีน เนื่องจากไอออนของซิลเวอร์จับกับไอออนของคอปเปอร์ (Cu) บริเวณจำเพาะของตัวรับเอทิลีน จึงทำให้บริเวณนั้นมีการเปลี่ยนแปลงทำให้พืชไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน (Kumar et al., 2009)

การเติมซิลเวอร์ไนเตรทในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้เอทิลีนไม่สามารถทำปฏิกิริยากับพืชได้เนื่องจากเอทิลีนมีคุณสมบัติคล้ายกับออกซินที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งส่งผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้น และเป็นสาเหตุให้เกิด epinasty ดังนั้นจึงใช้สารยับยั้งที่จำเพาะเจาะจงต่อกระบวนการสร้างและทำงานของเอทิลีน เพื่อช่วยแยกกิจกรรมที่เกิดจากออกซินออกจากเอทิลีน (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2549) โดยเอทิลีนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการสำคัญต่างๆ ของพืชเมื่อมีการเติมซิลเวอร์ไนเตรทลงในอาหารเพาะเลี้ยง จึงทำให้พืชมีการสังเคราะห์เอทิลีนลดลงและการทำงานของเอทิลีนอาจลดลงด้วย (Ozdogru, Ozden-tokatli & Akcin, 2005)

2.2.5.2 ปุ๋ยออสโมโค้ท-พลัส (12-25-6+1% แมกนีเซียม) (ปุ๋ยออสโมโค้ท-พลัส, 2565)

ปุ๋ยออสโมโค้ท-พลัส สูตรเร่งดอก 12-25-6+1% เป็นปุ๋ยเม็ดละลายช้า มีการเพิ่มธาตุอาหารเสริม แมกนีเซียมและธาตุอาหารอื่นๆ ของไม้ดอกไม้ประดับ มีประโยชน์ต่อพืช ดังนี้

1.ช่วยสะสมธาตุอาหารต่างๆ เพื่อกระตุ้นการออกดอก และการออกดอกดก

2.เป็นปุ๋ยละลายช้า เนื่องด้วยเม็ดปุ๋ยเคลือบด้วยสารเรซินธรรมชาติชนิดพิเศษ (Natural Organic Resin) ที่ทำมาจากน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยธาตุอาหารได้นานถึง 6 เดือน

3.เปลือกสารเคลือบเรซิน สามารถย่อยสลายไปเองได้ไม่ทำให้ดินแน่น และช่วยปรับโครงสร้างดิน

4.ประกอบไปด้วย ไนโตรเจน(N) 12% ฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ (P_2O_5) 25% โพแทชเซียมที่ละลายน้ำ (K_2O) 6% ปริมาณธาตุอาหารรอง คือ แมกนีเซียม (MgO) 1% ซึ่งการที่มีปริมาณฟอสฟอรัสสูงมีผลไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก กิ่ง ลำต้น ช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง การหายใจ การแบ่งเซลล์ และช่วยให้รากพืชสามารถดูดแร่ธาตุจากดินมาใช้เป็นประโยชน์ได้มากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ฟอสฟอรัสยังมีบทบาทเกี่ยวกับการควบคุมการออกดอก ช่วยเร่งการออกดอกของพืช ทำให้เกิดผล และการสร้างเมล็ด (สุมาลี ชูกำแพง, 2566)

5.ทำให้ดอกมีขนาดใหญ่และมีสีสดใสงดงาม

6.ส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากพืช ให้สมบูรณ์ แข็งแรง ปลอดภัยและสามารถสัมผัสกับรากพืช ได้โดยตรง

7. ไม่มีสารตกค้างในดิน ไม่ทำให้ดินแข็ง หรือดินเสีย ช่วยปรับโครงสร้างของดิน ให้ร่วนซุย ปลอดภัยต่อผู้ใช้และสัตว์เลี้ยง

2.2.5.3 ปุ๋ยยารา มีร่าดับเบิล(8-24-24) (ยาร่า แห่งประเทศไทย, 2023)

ยารามีร่า ดับเบิล เป็นปุ๋ยที่มีส่วนผสมของไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) เพื่อเพิ่มปริมาณและคุณภาพของพืช มีประโยชน์ต่อพืช ดังนี้

1.เป็นสูตรเฉพาะมีโพแทสเซียมสูง

2.มีประสิทธิภาพในการช่วยให้พืชดูดไนโตรเจนได้มาก

3.มีประสิทธิภาพดูดธาตุอาหารประจุบวก (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+})

4.มีออร์โธฟอสเฟต โพลีฟอสเฟตและพี-เอ็กซ์เทนด์ รวมกันทำให้มีฟอสฟอรัสสูง ซึ่งออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphate) เป็นฟอสฟอรัสที่สามารถละลายน้ำได้ดี โพลีฟอสเฟตเป็นสารประกอบชนิดหนึ่งเมื่อเกิดการแตกตัวจะให้ออร์โธฟอสเฟตออกมา (พัทธกมล สมบุตร และวุฒิกร อนันตสิริชัย, 2561) ส่วนพี-เอ็กซ์เทนด์ จะเป็นสารที่ทำให้พืชสามารถดูดฟอสฟอรัสได้อย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตของราก กิ่ง ลำต้น และเร่งการเกิดดอก ได้ดี (ยาร่ามีร่า, 2023)

5.กระตุ้นการเจริญเติบโตของลำต้นที่แข็งแรง จึงช่วยทำให้พืชมีความต้านทานโรคและแมลงโดยการเพิ่มความหนาของผนังเซลล์ชั้นนอก

6.ช่วยทำให้พืชทนต่อสภาพแห้งแล้ง เป็นผลดีต่อขนาดของใบ ผล และเมล็ดเพราะมีปริมาณโพแทสเซียมที่เพียงพอ

เมื่อใส่ปุ๋ยในอัตราส่วนที่ถูกต้องและเหมาะสม พืชจะได้รับธาตุอาหารที่จำเป็นอย่างสมดุล มีการกระจายตัวของธาตุอาหารสม่ำเสมอ ทำให้พืชเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและมีการพัฒนารากที่แข็งแรง

งานวิจัยที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดดอกในสภาพหลอดทดลองและผลของซิลเวอร์ไนเตรทในการชักนำให้เกิดดอกในสภาพหลอดทดลอง มีดังนี้

ศิรินธร คงประพฤติ (2551) ศึกษาการออกดอกของกุหลาบพันธุ์มายาเลนไลนในหลอดทดลองพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งเสริมการสร้างดอกสูงสุด 5 ดอก/ชิ้นส่วน BA ความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดดอกสูงสุด 55.55% หลังวางเลี้ยงไว้ 9 สัปดาห์ นอกจากนี้การย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นจำนวน 6 ครั้ง ในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดดอกสูงสุด 95.08% ซึ่งเป็นดอกปกติ 42 ดอก และดอกผิดปกติ 74 ดอก

ประภาพร พงษ์ไทย และสิริแข พงษ์สวัสดิ์ (2553) รายงานว่า อาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ต้นกุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลองคือ อาหารสูตร MS ที่เติม zeatin ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในสภาพหลอดทดลองได้สูงสุดเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์

ประภาษ กาวิชา และคณะ (2553) ศึกษาการชักนำการออกดอกของกุหลาบหนูในหลอดทดลอง พบว่า อาหารสูตร MS ที่มี BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกได้มากที่สุด 78% ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่มี KN 0.5, 1.0 หรือ 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดดอกที่มีลักษณะของดอกดีที่สุด

สุจิตรา สืบนุการณ์ (2553) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้กุหลาบออกดอกในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เนื้อเยื่อตาข้างกุหลาบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ทุกกลุ่มทดลองไม่สามารถชักนำให้กุหลาบออกดอกในสภาพปลอดเชื้อได้ แต่เมื่อตัดย้ายยอดที่สมบูรณ์มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดตาดอกได้

เยาวลักษณ์ ฉัตรสุวรรณ และกาญจนา รุ่งรัชกานนท์ (2557) ศึกษาการขยายพันธุ์กุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การออกดอกของกุหลาบหนูเกิดขึ้นหลังจากนำยอดไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1.5-2 เดือน มีการออกดอก 20% ดอกสามารถบานในขวดเป็นเวลา 10-14 วัน

สุรีรัตน์ เย็นช้อน, มาลัยวัลย์ ยังนิ่งและสมปอง เตชะโต (2557) รายงานว่าอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 20% ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดดอกสูงสุด 84.38% และพบว่าการเติมสารซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างดอก มีจำนวนดอกสูงสุด 2.46 ต่อต้น และสามารถยืดอายุการบานของดอกกุหลาบสายพันธ์มายาวาเลนไทน์ในหลอดทดลองได้นาน 21.70 วัน ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดดอก

สุภาวดี รามสูตร, นุรมา มะเร๊ะ, และอัลฮูสนา บายอ (2560) รายงานว่า จากการนำชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม $AgNO_3$ เข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูดอกสีแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เมื่อเติม $AgNO_3$ เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างดอกดีที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยืดอายุการบานของกุหลาบหนู 44 วัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

ศิริกาญจน์ กอบเกียรติถวิล และคณะ (2562) รายงานผลการใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) เพียงอย่างเดียวและการใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเทรตร่วมกับ NAA ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของดอกฟักข้าวเพศเมีย โดยพ่นสารละลายซิลเวอร์ไนเทรตความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ของต้นที่มีอายุประมาณ 6 เดือน เวลา 17.30 น. บันทึกผลหลัง 1 สัปดาห์และตั้งแต่ออกดอกดอกแรก พบว่าสามารถชักนำให้เกิดการสร้างก้านชูและอับละอองเกสรเพศผู้ในฟักข้าวเพศเมีย แต่ไม่มีการสร้างละอองเกสรเพศผู้เกิดขึ้น และเมื่อพ่นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1,000 หรือ 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าดอกฟักข้าวเพศเมียมีการสร้างก้านชูและอับละอองเกสร ซึ่งละอองเกสรเพศผู้เป็นหมันเช่นเดียวกับการใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเทรตเพียงอย่างเดียว รังไข่พัฒนาเป็นผลแต่ไม่พบการสร้างเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงและเมล็ดที่สมบูรณ์ และยังพบว่าผลมีอาการขั้วผลแห้งดำและเกิดการหลุดร่วงของผลก่อนถึงระยะเก็บเกี่ยว

Chithra, Martin, Sunandakumari, & Madhusoodanan (2004) ศึกษาผลของซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำการออกดอกของ *Rotula aquatica* Lour. ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ 5.87-17.7 ไมโครโมลาร์ เพียงชนิดเดียวสามารถชักนำให้เกิดดอกได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน อาหารสูตร 1/2MS ที่เติม NAA 2.69 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ $AgNO_3$ 11.7 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ดีที่สุด ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 21-32 วัน และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2.69 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ $AgNO_3$ 11.7 ไมโครโมลาร์ ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 35 วัน จึงจะชักนำให้เกิดดอก

Ozdogru et al., (2005) รายงานว่า อาหารสูตร MS ที่เติมซิลเวอร์ไนเตรทเพียงชนิดเดียวสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนปลายยอดถั่วลิสงเกิดยอดได้ และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 33 ไมโครโมลาร์ NAA 5.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ $AgNO_3$ 23.54 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดมากที่สุด 6.3 ยอด/ชิ้นส่วน และจากการศึกษายังแสดงให้เห็นว่า ซิลเวอร์ไนเตรทมีผลต่อการยืดยาวของยอดและลดการเกิดแคลลัส บริเวณโคนของชิ้นส่วนปลายยอดอีกด้วย

Kanchnapoom, Jingjit, & Kanchnapoom (2011) ศึกษาการชักนำการเกิดดอก *Gypsophila paniculata* L. จากชิ้นส่วนยอดปลอดเชื้อ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 13.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ ซูโครส 50 กรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดดอกได้ดีที่สุด เฉลี่ย 6.8 ดอก/ชิ้นส่วน

Pratheesh & Kumar (2012) พบว่า ยอด *Rosa indica* L. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA, IAA และซูโครส ความเข้มข้นต่างๆ ไม่ชักนำให้เกิดดอก และใบค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลือง และสามารถแก้ไขได้โดยย้ายเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร BA 1

มิลลิกรัม/ลิตร และ $AgNO_3$ 50 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วเพาะเลี้ยงในภาวะที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ย้ายเลี้ยงทุก 3 สัปดาห์ จำนวน 2 ครั้ง สามารถชักนำ ให้กุหลาบออกดอกได้

Nejatzadeh-Barandozi, Darvishzadeh, & Aminkhani (2014) ศึกษาผลของซิลเวอร์นาโนและซิลเวอร์ไนเตรทต่อผลผลิตของเมล็ดโหระพา (*Ocimum basilicum* L.) โดยการพ่นซิลเวอร์นาโนความเข้มข้น 0, 20, 40 และ 60 ppm หรือ $AgNO_3$ ความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 ppm บนต้นโหระพาในระยะเจริญของผล (45 วัน หลังการเพาะเลี้ยง) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ซิลเวอร์นาโน 60 ppm และ $AgNO_3$ 100 ppm สามารถชักนำให้มีการเจริญเติบโตด้านความสูง น้ำหนักของต้นพืช ความยาวและความกว้างของใบได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และ $AgNO_3$ 100 ppm สามารถให้ผลผลิตของเมล็ดได้ดีที่สุด และเมื่อพ่นซิลเวอร์ไนเตรทซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของเอทิลีน จึงทำให้เกิดการลดการหลุดร่วงของเมล็ดและผลผลิตของเมล็ดเพิ่มมากขึ้น

Jeong & Sivanesan (2015) ศึกษาการชักนำ ให้ *Scrophularia takesimensis* Nakai เกิดดอกในหลอดทดลองพบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครส 60 กรัม/ลิตร โดยมวลต่อปริมาตร ภายใต้แสงสีน้ำเงิน (blue LED) เป็นเวลา 45 วัน มีการเกิดดอกได้ดีที่สุด 96.8%

Harathi & Naidu (2016) ศึกษาอิทธิพลของซิลเวอร์ไนเตรทซึ่งเป็นตัวยับยั้งเอทิลีนต่อการชักนำ ให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของ *Sphaeranthus indicus* L. ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม KN หรือ BAP ความเข้มข้น 0.5-3.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.1-0.5 มิลิลกรัม/ลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ ความเข้มข้น 0.1-1 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม KN 1.0 มิลิลกรัม/ลิตร NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ $AgNO_3$ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 34.3± 0.36 ยอด/ชิ้นส่วน ซึ่งการเติมซิลเวอร์ไนเตรทลงในอาหารเพาะเลี้ยงทุกความเข้มข้น ไม่เพียงเพิ่มจำนวนยอดเท่านั้นแต่ยังเพิ่มความยาวยอดได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เติมเพียงสารควบคุมการเจริญเติบโต และยังพบว่ายอดที่ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ $AgNO_3$ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

Srichuay et al., (2018) รายงานว่า จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของม่วงเทพรัตน์ (*Exacum affine* Balf.f. ex Regel) บนอาหารสูตร MS ที่เติมคลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) ร่วมกับซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) เพื่อเพิ่มจำนวนต้นอ่อน พบว่า $AgNO_3$ ที่ความเข้มข้น 1 มก./ล.สามารถชักนำให้เกิดราก 33.33% การออกดอก 58.33 % และดอกบาน 50.00 %

Matos et al., (2020) รายงานว่า จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบ (*Rosa x hybrida* cv. Sena) โดยการนำชิ้นส่วนปลายยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 1.0-2.0 มก./ล. ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง 2 แหล่ง นั้นคือ LED และหลอดฟลูออเรสเซนต์ พบว่า

$AgNO_3$ ความเข้มข้น 2.0 มก./ล.สามารถชักนำให้เกิดยอด 50% และส่งผลให้เกิดการชักนำการออกดอก แต่เป็นดอกที่ไม่สมบูรณ์

2.2.6 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, 2545)

1. สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว

2. ต้นพืชที่ผลิตได้จะปลอดโรค โดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัสมายโคพลาสมา ด้วยการตัด เนื้อเยื่อเจริญที่อยู่บริเวณปลายยอดของลำต้น ซึ่งยังไม่มีท่อน้ำท่ออาหาร อันเป็นทางเคลื่อนย้ายของเชื้อโรค ดังกล่าว

3. ต้นพืชที่ผลิตได้ จะมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ คือ มีลักษณะตรงตามพันธุ์ด้วยการใช้ เทคนิคของการเลี้ยงจากชิ้นตาพืชพัฒนาเป็นต้นโดยตรง หลีกเลี่ยงขั้นตอนการเกิดกลุ่มก้อนเซลล์ที่เรียกว่า แคลลัส

4. ต้นพืชที่ผลิตได้จะมีขนาดสม่ำเสมอ ผลผลิตที่ได้มีมาตรฐานและเก็บเกี่ยวได้คราวละมากๆ พร้อมกัน หรือในเวลาเดียวกัน

5. เพื่อการเก็บรักษาหรือแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชระหว่างประเทศ เช่น การมอบพันธุ์กล้วยในสภาพปลอดเชื้อ ขององค์กรกล้วยนานาชาติ (INIBAP) ให้กรมส่งเสริมการเกษตร เมื่อปี พ.ศ. 2542

6. เพื่อประโยชน์ด้านการสกัดสารจากต้นพืช นำมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ เช่น ยาฆ่าแมลง ยารักษาโรค เป็นต้น (การขยายพันธุ์พืช, 2015)

7. การผลิตสารสำคัญ พืชหลายชนิดสามารถผลิตสาระสำคัญได้ ซึ่งสารสำคัญ เหล่านี้ เช่น สารตัวยารักษาโรค สีที่ใช้ในอุตสาหกรรม ซึ่งการนำพืชเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ควบคุมได้ จะสามารถชักนำให้เซลล์ของพืชผลิตสารในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น

8. การอนุรักษ์พันธุกรรมและการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืช เป็นการเก็บรวบรวมพันธุ์พืช โดยการเพาะเลี้ยงไว้ในขวดและบังคับให้เติบโตอย่างช้า ๆ ซึ่งทำให้สามารถเก็บรักษาพันธุ์พืชไว้ได้นาน ประหยัดพื้นที่และแรงงาน นอกจากนี้ยังสะดวกต่อการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชกับต่างประเทศเพราะอยู่ในขวดและปราศจากเชื้อโรค

9. การปรับปรุงพันธุ์พืช เป็นการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ เช่น การสร้างพืชโครโมโซมชุดเดียว การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ การรวมเซลล์พืช (protoplast fusion) และพันธุ์วิศวกรรมของพืช

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

ต้นกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ จากร้านค้าต้นไม้ ในตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

3.2 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

3.2.1.1 เครื่องชั่งอย่างละเอียด ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO รุ่น PB602-S)

3.2.1.2 เครื่องวัด pH (pH meter) ยี่ห้อ OHAUS รุ่น ST3100

3.2.1.3 ไมโครเวฟ (microwave) ยี่ห้อ Electrolux รุ่น EME2024MW

3.2.1.4 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ยี่ห้อ ALLAMERICAN รุ่น 25X-2

3.2.1.5 บีกเกอร์แก้วขนาด 25,50,100,500 และ 1000 มิลลิลิตร

3.2.1.6 ปิเปต (pipette) ขนาด 0.1,1,5,10 และ 25 มิลลิลิตร

3.2.1.7 กระบอกตวงขนาด 5,10,25,50,100 และ 1000 มิลลิลิตร

3.2.1.8 ขวดปรับปริมาตรขนาด 100,500 และ1000 มิลลิลิตร

3.2.1.9 ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ และ 8 ออนซ์พร้อมฝาปิด

3.2.1.10 แท่งแก้วคนสาร

3.2.1.11 หลอดหยด

3.2.1.12 ช้อนตักสาร

3.2.1.13 ลูกยาง 3 ทาง

3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการฟอกฆ่าชิ้นส่วนพืช

3.2.2.1 ขวดเพาะเลี้ยงขนาด 8 ออนซ์พร้อมฝาปิด

3.2.2.2 กรรไกร

3.2.2.3 มีดคมปลายแหลม

3.2.2.4 กะละมังพลาสติก

3.2.2.5 ถาดสแตนเลส

3.2.2.6 กระบอกฉีดน้ำสำหรับใส่แอลกอฮอล์ 95%

3.2.2.7 บีกเกอร์แก้วขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร

3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ

3.2.3.1 ตู้ย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.3.2 มีดผ่าตัดด้ามเบอร์ 3 ใบมีดเบอร์ 11

3.2.3.3 คีมคีบขนาดสั้นและยาว (forceps)

3.2.3.4 จานแก้วเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร

3.2.3.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์ และไฟแช็ค

3.2.3.6 ขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ สำหรับใส่แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และ 90 เปอร์เซ็นต์ พร้อมฝาปิด

3.2.3.7 กระบอกฉีดน้ำสำหรับใส่แอลกอฮอล์ 70%

3.2.3.8 กรรไกร

3.2.3.9 สำลี

3.2.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวางเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.3.4.1 ชั้นวางเพาะเลี้ยง

3.2.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการบันทึกข้อมูล

3.2.5.1 สมุดบันทึก และเครื่องเขียน

3.2.5.2 ไม้บรรทัด สำหรับวัดความสูง

3.2.5.3 กล้องถ่ายรูป

3.2.5.4 คอมพิวเตอร์

3.2.5.5 กระดาษกราฟสำหรับวัดความยาวและขนาด

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

3.3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)

3.3.1.2 สารปรับความเป็นกรด คือ HCl เข้มข้น 1 N

3.3.1.3 สารปรับความเป็นด่าง คือ KOH เข้มข้น 1 N

3.3.1.4 ผงวุ้น (agar) ยี่ห้อ โบว์แดง

3.3.1.5 น้ำตาลทราย ยี่ห้อมิตรผล

3.3.1.6 น้ำกลั่น

3.3.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต

3.3.2.1 Benzyl adenine (BA)

3.3.2.2 Thidiazuron (TDZ)

3.3.2.3 Kinetin (KN)

3.3.2.4 3-Indolebutyric acid (IBA)

3.3.2.5 1- Naphthaleneacetic acid (NAA)

3.3.2.6 Indole acetic acid (IAA)

3.3.2.7 ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$)

3.3.2.8 ออสโมโค้ท(12-25-6+1%แมกนีเซียม)

3.3.2.9 ยารา มีร่าดับเบิล(8-24-24)

3.3.2.10 น้ำตาลทราย ยี่ห้อมิตรผล

3.3.3 สารเคมีที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ

3.3.3.1 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

3.3.3.2 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

3.3.4 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกชิ้นส่วนพืช

3.3.4.1 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

3.3.4.2 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

3.3.4.3 น้ำยาล้างจาน ยี่ห้อซันไลต์

3.3.4.4 SJ biocide 0.3%

3.3.4.5 CP biocide 0.3%

3.3.4.6 สารฟอกขาว ยี่ห้อไฮเตอร์

3.3.4.7 ทวีน-20

3.4 วิธีการทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ แบ่งออกเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

1.1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

1.1.1 นำต้นกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่สมบูรณ์ ไม่เป็นโรค มาพักไว้ที่เรือนเพาะชำเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยรดน้ำและให้ปุ๋ยตามความเหมาะสม

1.1.2 นำต้นพืชมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยตัดกิ่งที่อ่อนและมีตาข้างติดอยู่ ความยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร

1.1.3 ตัดก้านใบออกโดยใช้กรรไกรหรือมีดปลายแหลมที่สะอาด แล้วนำกิ่งที่ตัดได้ไปล้างด้วยน้ำยาล้างจานผสมน้ำเปล่าโดยใช้แปรงขนนุ่มขัดถูฝุ่น เศษดินหรือสิ่งสกปรกอื่นๆ ที่ติดมาออกให้สะอาด และล้างด้วยน้ำเปล่าอีกครั้ง

1.1.4 นำกิ่งของพืชทั้ง 2 ชนิดที่ล้างเสร็จแล้ววางลงบนถาดสแตนเลสแล้วสเปรย์ด้วยแอลกอฮอล์ 95% ประมาณ 2-3 นาที ทิ้งให้แอลกอฮอล์ระเหยไป พอครบเวลาแล้วนำไปฟอกตามแผนการทดลองที่วางไว้ข้างต้น ซึ่งการฟอกด้วย NaOCl ในแต่ละครั้ง หยด Tween-20 ลงไป 2 หยดในทุกครั้ง

1.1.5 เมื่อฟอกด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อเสร็จสิ้นแล้ว นำชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในขวดฟอก เข้าตู้ปลอดเชื้อเพื่อล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที และน้ำสุดท้ายคือน้ำสะอาดซึ่งเป็นน้ำประปาผสมไฮเตอร์ (อัตราส่วนน้ำประปา 1,000 ml : ไฮเตอร์ 0.5 ml) เขย่าอีก 5 นาที จะได้ชิ้นส่วนข้อของพืชทั้งสองชนิดที่พร้อมลงอาหารเพาะเลี้ยงได้ต่อไป

1.2 วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) เพื่อเปรียบเทียบชนิดและระดับความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ สารฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้ได้แก่ Heiter (น้ำยาฟอกขาวยี่ห้อไฮเตอร์ที่มี NaOCl เป็นส่วนประกอบ) SJ biocide และ CP biocide สำหรับ NaOCl ใช้ระดับความเข้มข้น 20%, 10% และ 5% โดยพืชแต่ละชนิดแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 9 ชุดการทดลอง ๆ ละ 10 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 – NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที

ชุดการทดลองที่ 2 – NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที

ชุดการทดลองที่ 3 – NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 4 – NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 5 – NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที

ชุดการทดลองที่ 6 – NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 7 – NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ ตามด้วย -CP Biocide 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 8 – NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ ตามด้วย -CP Biocide 15 นาที

ชุดการทดลองที่ 9 – NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที

1.3 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.3.1 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige and Skoog (MS, 1962)

1.3.2 ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับค่า pH ที่ 5.8 ด้วย KOH เข้มข้น 1 N และ HCl เข้มข้น 1 N และเติมผงวุ้นปริมาณ 7 กรัม

1.3.3 นำอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้เข้าไมโคเวฟ โดยใช้เวลาประมาณ 10-15 นาที เพื่อให้ผงวุ้นละลาย จากนั้นเทลงในขวดขนาด 8 ออนซ์ที่เตรียมไว้พร้อมปิดฝาขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ(autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

1.3.4 เมื่อได้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาประมาณ 2-3 วัน เพื่อทดสอบการปนเปื้อนของจุลลินทรีย์ เมื่อพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก็สามารถนำอาหารไปทำการเพาะเลี้ยงในขั้นตอนการทดลองต่อไป

1.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.4.1 ใช้มีดผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดส่วนชิ้นพืชที่โดนสารฟอกฆ่าเชื้อ หรือส่วนที่ถูกทำลายทิ้งไป จากนั้นตัดชิ้นส่วนข้อ ความยาว 1.5±0.2 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดการทดลองละ 10 ซ้ำ รวม 120 ขวด (ชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบหนู 60 ขวดและชิ้นส่วนตาข้างของม่วงเทพรัตน์ 60 ขวด)

1.4.2 นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาวางไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ โดยให้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

1.4.3 เมื่อครบ 4 สัปดาห์ บันทึก เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ (ถ้ามีรากเกิดขึ้น บันทึกจำนวนรากและความยาวราก)

การทดลองที่ 2 ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

2.1 วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อจากต้นกล้าปลอดเชื้อของพืชทั้ง 2 ชนิดบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินคือ BA, TDZ และ KN ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แบ่งการทดลองออกเป็นชนิดละ 12 ชุดการทดลอง ๆ ละ 6 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม)
ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสูตร MS + BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 3 อาหารสูตร MS + BA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 4 อาหารสูตร MS + BA 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 5 อาหารสูตร MS + BA 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 6 อาหารสูตร MS + TDZ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 7 อาหารสูตร MS + TDZ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 8 อาหารสูตร MS + TDZ 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 9 อาหารสูตร MS + TDZ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 10 อาหารสูตร MS + KN 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 11 อาหารสูตร MS + KN 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 12 อาหารสูตร MS + KN 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 13 อาหารสูตร MS + KN 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร

2.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.2.1 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (1962)

2.2.2 ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ตามแผนการทดลองข้างต้น

2.2.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นปรับค่า pH ที่ 5.8 ด้วย KOH เข้มข้น 1 N และ HCl เข้มข้น 1 N และเติมผงวุ้นปริมาณ 7 กรัมต่อลิตร

2.2.4 นำอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้เข้าไมโคเวฟ โดยใช้เวลาประมาณ 10-15 นาที จากนั้นเทลงในขวดขนาด 8 ออนซ์ที่เตรียมไว้พร้อมปิดฝาขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

2.2.5 เมื่อได้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาประมาณ 2-3 วัน เพื่อทดสอบการปนเปื้อนของจุลลินทรีย์ เมื่อพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ไม่มีการปนเปื้อนของจุลลินทรีย์ก็สามารถนำอาหารไปเพาะเลี้ยงในขั้นตอนการทดลองต่อไป

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.3.1 คัดเลือกต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่สมบูรณ์ นำมาตัดให้ได้ชิ้นส่วนข้อ ขนาดความยาว 1.5±0.2 เซนติเมตร แล้วนำมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตตามแผนการทดลองข้างต้น ขวดละ 1 ชิ้นส่วน

2.3.2 นำขวดเพาะเลี้ยงไปไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ โดยให้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

2.3.3 เมื่อครบ 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก

การทดลองที่ 3 ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

3.1 วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินคือ IBA, IAA และ NAA ในระดับความเข้มข้น 0.2, 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แบ่งการทดลองทั้งหมดออกเป็น 10 ชุดการทดลอง ๆ ละ 6 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสูตร MS + IBA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารสูตรMS + IBA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารสูตร MS + IBA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารสูตร MS + IAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 6 อาหารสูตร MS + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 7 อาหารสูตร MS + IAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 8 อาหารสูตร MS + NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 9 อาหารสูตร MS + NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 10 อาหารสูตร MS + NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร

3.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.1 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashige and Skoog (1962)

3.2.2 ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ตามแผนการทดลองข้างต้น

3.2.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นปรับค่า pH 5.8 ด้วย KOH เข้มข้น 1 N และ HCl เข้มข้น 1 N จากนั้นใส่วุ้นลงไปปริมาณ 7 กรัมต่อลิตร

3.2.4 นำอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้เข้าไมโครเวฟ เพื่อทำให้ผงวุ้นละลาย โดยใช้เวลาประมาณ 8-10 นาที หลังจากนั้นนำอาหารเพาะเลี้ยงเทใส่ขวดขนาด 4 ออนซ์ ที่เตรียมไว้พร้อมทั้งปิดฝาขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

3.2.5 เมื่อได้อาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาประมาณ 2-3 วัน เพื่อทดสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เมื่อพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก็สามารถนำอาหารไปเพาะเลี้ยงได้ต่อไป

3.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.3.1 นำชิ้นส่วนยอด ขนาดความยาว 1.5±0.2 เซนติเมตร ที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้อ มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตตามแผนการทดลองข้างต้น ขวดละ 1 ชิ้นส่วน

3.3.2 นำขวดเพาะเลี้ยงไปไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ โดยให้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.3.3 เมื่อครบ 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ และความยาวใบ

การทดลองที่ 4 ระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

4.1 วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อของพืชทั้ง 2 ชนิดบนอาหารสูตร MS ที่เติมซูโครส ความเข้มข้น 20, 30 และ 40 กรัม/ลิตร ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5,1.0,1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ปุ๋ยเร่งดอกใช้ 2 แบบคือ ออสโมโค้ท (12-25-6+1%แมกนีเซียม) ความเข้มข้น 0.5,1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร และยารามีร่าดับเบิล (8-24-24) ความเข้มข้น 0.5,1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 สัปดาห์ แบ่งการทดลองออกเป็น 14 ชุดการทดลอง ๆ ละ 6 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม)
ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสูตร MS + ซูโครส 20 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 3 อาหารสูตร MS + ซูโครส 30 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 4 อาหารสูตร MS + ซูโครส 40 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 5 อาหารสูตร MS + $AgNO_3$ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 6 อาหารสูตร MS + $AgNO_3$ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 7 อาหารสูตร MS + $AgNO_3$ 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 8 อาหารสูตร MS + $AgNO_3$ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 9 อาหารสูตร MS + ออสโมโค้ท 0.5 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 10 อาหารสูตร MS + ออสโมโค้ท 1.0 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 11 อาหารสูตร MS + ออสโมโค้ท 1.5 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 12 อาหารสูตร MS + ยารามีร่า ดับเบิล 0.5 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 13 อาหารสูตร MS + ยารามีร่า ดับเบิล 1.0 กรัม/ลิตร
ชุดการทดลองที่ 14 อาหารสูตร MS + ยารามีร่า ดับเบิล 1.5 กรัม/ลิตร

4.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.2.1 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashige and Skoog (1962)

4.2.2 ใส่สารชักนำให้เกิดการออกดอก ตามแผนการทดลองข้างต้น

4.2.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นปรับค่า pH 5.8 ด้วย KOH เข้มข้น 1 N และ HCL เข้มข้น 1 N จากนั้นใส่วุ้นลงไปปริมาณ 7 กรัมต่อลิตร

4.2.4 นำอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้เข้าไมโครเวฟ เพื่อทำให้วุ้นละลาย โดยใช้เวลาประมาณ 8-10 นาที หลังจากนั้นนำอาหารเพาะเลี้ยงเทใส่ขวดขนาด 4 ออนซ์ ที่เตรียมไว้พร้อมทั้งปิดฝาขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

4.2.5 เมื่อได้อาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาประมาณ 2-3 วัน เพื่อทดสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เมื่อพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก็สามารถนำอาหารไปเพาะเลี้ยงได้ต่อไป

4.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.3.1 นำชิ้นส่วนยอด ขนาดความยาว 1.5±0.2 เซนติเมตร ที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้อ มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมด้วยสารชักนำให้เกิดการออกดอก ตามแผนการทดลองข้างต้น ขวดละ 1 ชิ้นส่วน

4.3.2 นำขวดเพาะเลี้ยงไปไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ โดยให้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 9 สัปดาห์

4.3.3 เมื่อครบ 9 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก จำนวนดอก และเปอร์เซ็นต์การเกิดดอก

วิธีการประเมินผล / สังเคราะห์ข้อมูล

แสดงผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s new multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 21

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

จากการศึกษาวิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ โดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อคือ Haiter, SJ Biocide และ CP Biocide ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยหลังจากฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ แล้วนำชิ้นส่วนข้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นบันทึกเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ เปอร์เซ็นการรอดชีวิต จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนรากและความยาวราก โดยได้ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1.1 การทดลองครั้งที่ 1 (ระหว่างวันที่ 25 พฤษภาคม– 25 มิถุนายน พ.ศ. 2566)

4.1.1.1 เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อและเปอร์เซ็นการรอดชีวิตของการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูด้วยวิธีการและสารฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันพบว่า ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที ตามด้วย SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาทีตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที ตามด้วย SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย CP Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 100% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 100% ส่วนชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย SJ Biocide 15 นาที ชุดการทกลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 67% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 67% ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ ในชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ชุดการ

ทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 100% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 100% ส่วนชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 67% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 67% (ตารางที่ 4-1)

4.1.1.2 จำนวนยอด

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.66±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 5.50±0.50 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 5.00±0.57 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 4-1)

4.1.1.3 ความยาวยอด

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.92±0.07 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ที่มีความยาวยอดเฉลี่ย เท่ากับ 0.86±0.01 เซนติเมตรส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.06±0.06 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอก

ฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ย เท่ากับ 2.05±0.05 เซนติเมตร (ตารางที่ 4-1)

4.1.1.4 จำนวนใบ

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 5.66±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 5.33±0.33 และ 5.00±0.57 ใบต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 21.50±0.50 ใบต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 20.50±0.50 และ 20.33±0.88 ใบต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1)

4.1.1.5 ความยาวใบ

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.43±0.01 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีความยาวใบเฉลี่ย เท่ากับ 0.42±0.01 เซนติเมตร ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.61±0.00 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-1)

ตารางที่ 4-1 วิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนู และม่วงเทพรัตน์ในการทดลองซ้ำที่ 1

ชนิดและความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ	กุหลาบหนู							ม่วงเทพรัตน์						
	% ปลอดเชื้อ	% การรอดชีวิต	% จำนวนยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย±SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	% ปลอดเชื้อ	% การรอดชีวิต	% จำนวนยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min	67	67	67	1.00 ± 0.00^{a}	0.92 ± 0.07^{g}	4.00 ± 0.00^{bc}	0.43 ± 0.01^{e}	67	67	67	3.00 ± 0.00^{a}	2.05 ± 0.05^{f}	12.50 ± 0.50^{a}	0.32 ± 0.01^{c}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min	100	100	100	1.33 ± 0.33^{a}	0.53 ± 0.02^{de}	5.33 ± 0.33^{cd}	0.34 ± 0.01^{d}	100	100	100	3.00 ± 0.57^{a}	1.44 ± 0.03^{e}	12.00 ± 0.66^{a}	0.53 ± 0.01^{d}
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min + SJ Biocide 15 min	67	67	67	1.50 ± 0.50^{a}	0.86 ± 0.01^{g}	3.50 ± 0.50^{ab}	0.26 ± 0.00^{b}	67	67	67	5.50 ± 0.50^{b}	0.97 ± 0.02^{bc}	20.50 ± 0.50^{d}	0.27 ± 0.00^{b}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.33 ± 0.00^{a}	4.66 ± 0.33^{bcd}	0.20 ± 0.00^{a}	100	100	100	5.00 ± 0.57^{b}	0.78 ± 0.03^{a}	20.33 ± 0.88^{d}	0.19 ± 0.00^{a}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min	67	67	67	1.50 ± 0.50^{a}	0.43 ± 0.01^{bc}	2.50 ± 0.50^{a}	$0.32\pm0.00c^{cd}$	100	100	100	3.33 ± 0.33^{a}	1.21 ± 0.02^{d}	19.66 ± 0.33^{d}	0.32 ± 0.00^{c}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.60 ± 0.01^{e}	5.66 ± 0.33^{d}	0.42 ± 0.01^{e}	67	67	67	3.50 ± 0.50^{a}	2.06 ± 0.06^{f}	21.50 ± 0.50^{d}	0.55 ± 0.00^{d}
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.66 ± 0.33^{a}	0.79 ± 0.02^{f}	4.33 ± 0.33^{bcd}	0.25 ± 0.00^{b}	67	67	67	4.00 ± 0.00^{a}	1.09 ± 0.09^{cd}	18.00 ± 0.00^{bc}	0.26 ± 0.01^{b}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min + CP Biocide 15 min	67	67	67	1.00 ± 0.00^{a}	0.37 ± 0.01^{ab}	2.50 ± 0.50^{a}	0.33 ± 0.01^{cd}	67	67	67	3.50 ± 0.50^{a}	0.96 ± 0.01^{bc}	18.00 ± 0.00^{bc}	0.61 ± 0.00^{e}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.33 ± 0.33^{a}	0.46 ± 0.00^{cd}	5.00 ± 0.57^{cd}	0.30 ± 0.01^{c}	100	100	100	3.33 ± 0.33^{a}	0.91 ± 0.04^{ab}	17.33 ± 0.33^{b}	0.53 ± 0.00^{d}

หมายเหตุ - ข้อมูลที่แสดงคือ mean ± S.E. (n = 6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ $p \leq 0.05$

4.1.2 การทดลองครั้งที่ 2 (ระหว่างวันที่ 5 กรกฎาคม– 5 สิงหาคม พ.ศ. 2566)

4.1.2.1 เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อและเปอร์เซ็นการรอดชีวิตของการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูด้วยวิธีการและสารฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันพบว่า ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และตามด้วย CP Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 100% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 100% ส่วนชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 67% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 67% ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ใน ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 100% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 100% ส่วนชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที ชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาทีมีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อเท่ากับ 67% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 67% (ตารางที่ 4-2)

4.1.2.2 จำนวนยอด

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.93±0.01 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที จำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 0.92±0.01 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 5.33±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และตามด้วย CP Biocide 15 นาที โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 5.00±1.00 และ 4.00±0.57 ยอดต่อชิ้นส่วนตามลำดับ (ตารางที่ 4-2)

4.1.2.3 ความยาวยอด

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.93±0.01 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ย เท่ากับ 0.92±0.01 เซนติเมตร ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.25±0.15 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-2)

4.1.2.4 จำนวนใบ

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 5.33±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ

SJ Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 5.00±0. 57 และ 4.50±0.50 ใบต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 20.66±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 20.50±0.50 และ 20.33±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ (ตารางที่ 4-2)

4.1.2.5 ความยาวใบ

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.43±0.01 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีความยาวใบเฉลี่ย เท่ากับ 0.42±0.02 และ 0.42±0.01 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ ตามด้วย CP Biocide 15 นาที มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.60±0.01 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-2)

ตารางที่ 4-2 วิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในการทดลองซ้ำที่ 2

ชนิดและความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ	กุหลาบหนู							ม่วงเทพรัตน์						
	% ปลอดเชื้อ	% การรอดชีวิต	% จำนวนยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย±SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	% ปลอดเชื้อ	% การรอดชีวิต	% จำนวนยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min	67	67	67	1.50 ± 0.50^{a}	0.93 ± 0.01^{e}	3.00 ± 0.00^{a}	0.33 ± 0.01^{b}	67	67	67	3.50 ± 0.50^{ab}	2.25 ± 0.15^{f}	13.00 ± 0.00^{a}	0.32 ± 0.00^{c}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min	67	67	67	1.50 ± 0.50^{a}	0.86 ± 0.01^{cd}	4.50 ± 0.50^{abc}	0.42 ± 0.02^{d}	100	100	100	3.33 ± 0.33^{a}	1.46 ± 0.03^{d}	13.00 ± 0.57^{a}	0.50 ± 0.00^{d}
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.86 ± 0.01^{cd}	3.33 ± 0.33^{a}	0.29 ± 0.00^{a}	100	100	100	5.33 ± 0.33^{c}	0.96 ± 0.03^{a}	20.66 ± 0.33^{c}	0.26 ± 0.00^{b}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.54 ± 0.02^{b}	3.66 ± 0.33^{ab}	0.27 ± 0.01^{a}	67	67	67	5.00 ± 1.00^{bc}	0.92 ± 0.03^{a}	19.50 ± 0.50^{c}	0.19 ± 0.01^{a}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.45 ± 0.01^{a}	4.00 ± 0.57^{abc}	0.41 ± 0.00^{d}	100	100	100	3.66 ± 0.33^{ab}	1.26 ± 0.02^{c}	20.33 ± 0.33^{c}	0.33 ± 0.00^{c}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.33 ± 0.33^{a}	0.92 ± 0.01^{de}	5.00 ± 0.57^{abc}	0.43 ± 0.01^{d}	67	67	67	3.50 ± 0.50^{ab}	2.00 ± 0.00^{e}	20.50 ± 0.50^{c}	0.54 ± 0.00^{e}
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.33 ± 0.33^{a}	0.85 ± 0.01^{c}	4.00 ± 0.57^{abc}	0.30 ± 0.01^{ab}	100	100	100	3.33 ± 0.33^{a}	1.15 ± 0.07^{bc}	17.66 ± 0.66^{b}	0.26 ± 0.00^{b}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.33 ± 0.33^{a}	0.55 ± 0.00^{b}	3.66 ± 0.33^{ab}	0.42 ± 0.01^{d}	100	100	100	3.66 ± 0.33^{ab}	1.01 ± 0.04^{ab}	17.66 ± 0.66^{b}	0.60 ± 0.01^{f}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.52 ± 0.01^{b}	5.33 ± 0.33^{c}	0.37 ± 0.01^{c}	100	100	100	4.00 ± 0.57^{abc}	1.04 ± 0.04^{ab}	20.00 ± 0.57^{c}	0.55 ± 0.01^{e}

หมายเหตุ - ข้อมูลที่แสดงคือ mean ± S.E. (n = 6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ $p \leq 0.05$

4.1.3 การทดลองครั้งที่ 3 (ระหว่างวันที่ 10 สิงหาคม– 10 กันยายน พ.ศ. 2566)

4.1.3.1 เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อของการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ด้วยวิธีการและสารฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันพบว่า ในทุกชุดการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อสูงสุดเท่ากับ 100% และไม่มีการปนเปื้อนเกิดขึ้น (ตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-1)

4.1.3.2 จำนวนยอด

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 5 นาที และในชุดทดลองที่ฟอกด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% เป็นเวลา 5 นาที มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดที่มีค่าเท่ากัน เท่ากับ 1.33±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 10 นาที และ SJ Biocide เป็นเวลา 15 นาที และในชุดทดลองที่ฟอกด้วย NaOCl 20% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 5 นาที และ SJ Biocide เป็นเวลา 15 นาที มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดที่มีค่าเท่ากัน เท่ากับ 5.33±0.88 ยอดต่อชิ้นส่วนและ 5.33±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดทดลองอื่นๆ ที่ฟอกโดยมีการเติม SJ biocide และ CP biocide ร่วมด้วย (ตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-1)

4.1.3.3 ความยาวยอด

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% เป็นเวลา 5 นาที และ SJ Biocide เป็นเวลา 15 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.24±0.03 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% เป็นเวลา 5 นาที และ SJ Biocide เป็นเวลา 15 นาที มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.32±0.02 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกด้วย NaOCl 20% เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย NaOCl

10% เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.25±0.05 เซนติเมตร (ตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-1)

4.1.3.4 จำนวนใบ

จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 10 นาที และ CP Biocide เป็นเวลา 15 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 6.66±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 5 นาที และ SJ Biocide เป็นเวลา 15 นาที และชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% เป็นเวลา 5 นาที และ SJ Biocide เป็นเวลา 15 นาที ตามลำดับ (6.33±0.33 และ 6.33±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน) ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% เป็นเวลา 5 นาที และCP Biocide เป็นเวลา 15 นาที มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 22.00±0.57 ใบต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกด้วย NaOCl 20% 20 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 10 นาที และ SJ Biocide 15 นาที รวมถึงชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ SJ Biocide 15 นาที ตามลำดับ (21.33±0.88 และ 21.33±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน) (ตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-1)

4.1.3.5 ความยาวใบ

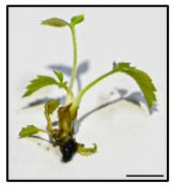
จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูในชุดทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 10% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 5% 5 นาที และ CP Biocide 15 นาที มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.42±0.00 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.61±0.01 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 20% 10 นาที ตามด้วย NaOCl 10% 5 นาที และ CP Biocide 15 นาที ที่มีความยาวใบเฉลี่ยเท่ากับ 0.59±0.01 เซนติเมตร (ตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-1)

ตารางที่ 4-3 วิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในการทดลองซ้ำที่ 3

ชนิดและความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ	กุหลาบหนู							ม่วงเทพรัตน์						
	% ปลอดเชื้อ	% การรอดชีวิต	% จำนวนยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย±SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	% ปลอดเชื้อ	% การรอดชีวิต	% จำนวนยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.73 ± 0.03^{e}	3.33 ± 0.33^{b}	0.35 ± 0.01^{e}	100	100	100	3.00 ± 0.57^{a}	2.25 ± 0.05^{e}	12.33 ± 0.88^{a}	0.29 ± 0.00^{bc}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min	100	100	100	1.33 ± 0.33^{a}	0.51 ± 0.02^{c}	4.33 ± 0.33^{b}	0.11 ± 0.00^{a}	100	100	100	3.00 ± 0.57^{a}	$1.03\pm0.04b^{c}$	12.66 ± 0.88^{a}	0.61 ± 0.01^{e}
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.81 ± 0.02^{e}	2.33 ± 0.33^{a}	0.13 ± 0.00^{a}	100	100	100	5.33 ± 0.88^{b}	0.92 ± 0.02^{b}	21.33 ± 0.88^{cd}	0.28 ± 0.01^{b}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.32 ± 0.04^{b}	6.33 ± 0.33^{cd}	0.11 ± 0.00^{a}	100	100	100	5.33 ± 0.33^{b}	0.55 ± 0.02^{a}	21.33 ± 0.33^{cd}	0.19 ± 0.01^{a}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min	100	100	100	1.33 ± 0.33^{a}	0.17 ± 0.01^{a}	5.33 ± 0.33^{c}	0.26 ± 0.00^{d}	100	100	100	3.00 ± 0.57^{a}	1.34 ± 0.03^{d}	19.00 ± 0.57^{bc}	0.33 ± 0.01^{c}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min + SJ Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	1.24 ± 0.03^{f}	6.33 ± 0.33^{cd}	0.19 ± 0.00^{b}	100	100	100	3.66 ± 0.88^{ab}	2.32 ± 0.02^{e}	20.33 ± 0.88^{bcd}	0.33 ± 0.01^{c}
NaOCl 20% 20 min + NaOCl 10% 10 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.26 ± 0.00^{b}	6.66 ± 0.33^{d}	0.26 ± 0.00^{c}	100	100	100	3.33 ± 0.33^{ab}	1.11 ± 0.06^{c}	18.33 ± 0.88^{b}	0.18 ± 0.00^{a}
NaOCl 20% 10 min + NaOCl 10% 5 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.64 ± 0.02^{d}	5.66 ± 0.33^{cd}	0.34 ± 0.00^{e}	100	100	100	3.66 ± 0.33^{ab}	0.94 ± 0.02^{b}	18.00 ± 0.57^{b}	0.59 ± 0.01^{e}
NaOCl 10% 10 min + NaOCl 5% 5 min + CP Biocide 15 min	100	100	100	1.00 ± 0.00^{a}	0.79 ± 0.02^{e}	3.66 ± 0.33^{b}	0.42 ± 0.00^{f}	100	100	100	3.33 ± 0.66^{ab}	0.50 ± 0.01^{a}	22.00 ± 0.57^{d}	0.42 ± 0.01^{d}

หมายเหตุ - ข้อมูลที่แสดงคือ mean ± S.E. (n = 6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ $p \leq 0.05$

กุหลาบหนู

1	2	3	4	5	6	7	8	9
								

ม่วงเทพรัตน์

1	2	3	4	5	6	7	8	9

ภาพที่ 3-1 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร

1. NaOCl 20% 20 นาที + NaOCl 10% 10 นาที
2. NaOCl 20% 10 นาที + NaOCl 10% 5 นาที
3. NaOCl 20% 20 นาที + NaOCl 10% 10 นาที + SJ Biocide 15 นาที
4. NaOCl 20% 10 นาที + NaOCl 10% 5 นาที + SJ Biocide 15 นาที
5. NaOCl 10% 10 นาที + NaOCl 5% 5 นาที
6. NaOCl 10% 10 นาที + NaOCl 5% 5 นาที + SJ Biocide 15 นาที
7. NaOCl 20% 20 นาที + NaOCl 10% 10 นาที + CP Biocide 15 นาที
8. NaOCl 20% 10 นาที + NaOCl 10% 5 นาที + Biocide 15 นาที
9. NaOCl 10% 10 นาที + NaOCl 5% 5 นาที + CP Biocide 15 นาที

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินคือ BA, TDZ และ KN ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นบันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก ได้ผลการทดลองดังนี้

4.2.1 จำนวนยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนข้อกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.66±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทั้ง 4 ชุดการทดลองมีจำนวนยอดเฉลี่ยที่เท่ากัน เท่ากับ 2.33±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 22.33±0.88 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

4.2.2 ความยาวยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.53±0.04 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (1.40±0.05 เซนติเมตร) ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) ทำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.36±0.20 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

4.2.3 จำนวนใบ

เมื่อนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบได้ดี โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 33.33±0.08 ใบต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบได้ดี โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 109.66±1.20 ใบต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

4.2.4 ความยาวใบ

เมื่อนำชิ้นส่วนข้อกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.47±0.02 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหาร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและอาหาร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อ ตามลำดับ (0.45±0.03 และ 0.39±0.02 เซนติเมตร) ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดความยาวใบได้ดี โดยมีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.27±0.01 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (0.26±0.03, และ 0.26±0.03 เซนติเมตร) (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

4.2.5 จำนวนราก

เมื่อนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าในทุกชุดการทดลองไม่มีรากเกิดขึ้น ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 12.66±1.20 รากต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

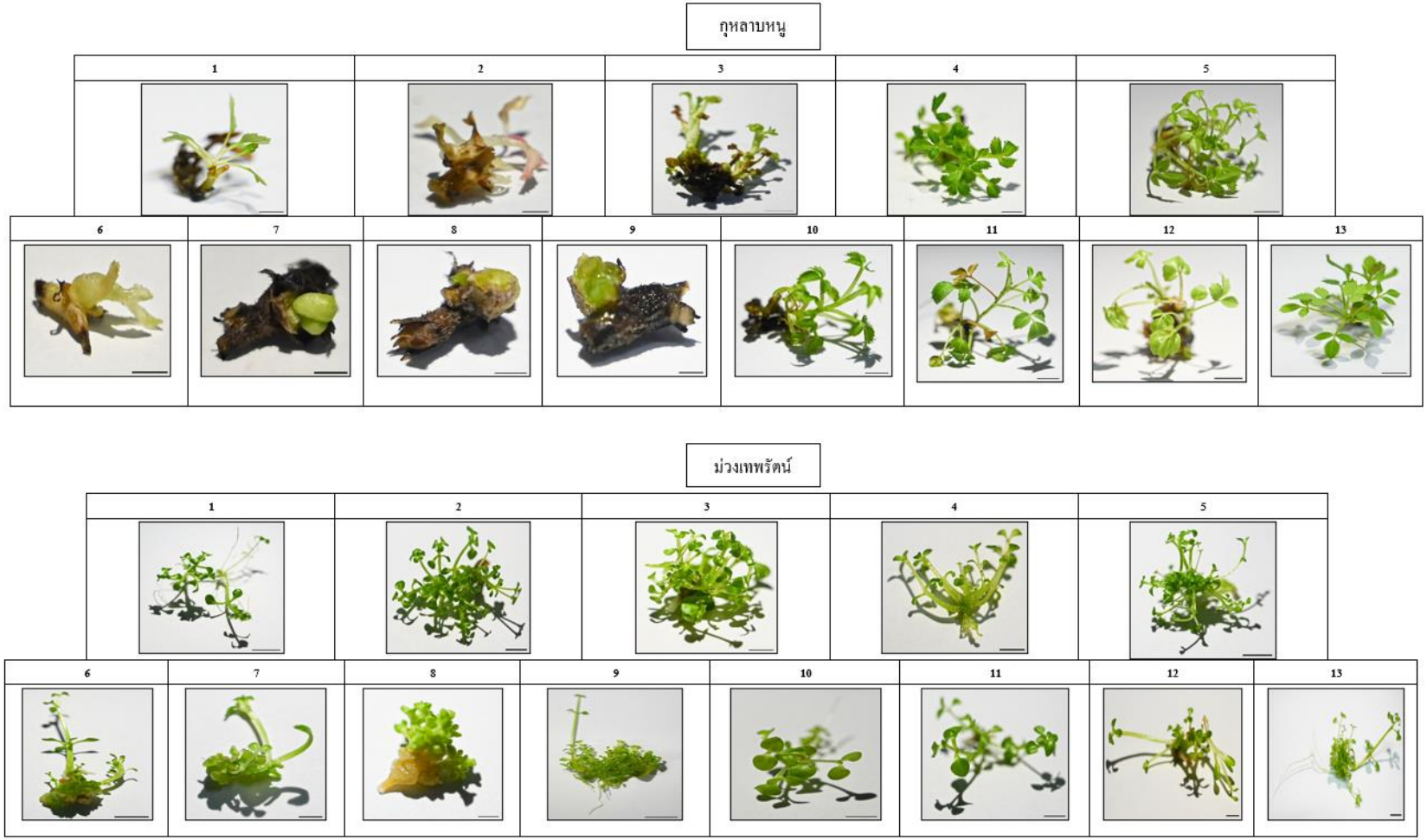
4.2.6 ความยาวราก

เมื่อนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าในทุกชุดการทดลองไม่มีรากเกิดขึ้น ส่วนชิ้นส่วนข้อของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทำให้มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.45±0.08 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

ตารางที่ 4-4 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ในสภาพหลอดทดลอง หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต	กุหลาบหนู				ม่วงเทพรัตน์					
	จำนวนยอด เฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอด เฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบ เฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบ เฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนยอด เฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอด เฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบ เฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบ เฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนราก เฉลี่ย± SE (ราก/ชิ้นส่วน	ความยาวราก เฉลี่ย ± SE (ซ.ม.
MS (ชุดควบคุม)	1.00±0.00^{a}	0.56±0.07^{bc}	5.66±0.66^{b}	0.45±0.03^{ef}	2.66±0.33^{a}	2.36±0.20^{g}	32.33±0.88^{d}	0.27±0.01^{d}	12.66±1.20^{e}	1.45±0.08^{g}
MS + 0.5 BA	2.00±0.00^{b}	0.68±0.07^{c}	5.33±0.33^{b}	0.22±0.02^{c}	14.33±0.88^{d}	0.86±0.06^{de}	78.33±0.88^{g}	0.17±0.01^{c}	4.66±0.88^{d}	0.66±0.04^{d}
MS +1.0 BA	2.33±0.33^{b}	1.12±0.08^{d}	12.66±1.45^{c}	0.23±0.04^{c}	18.66±0.88^{e}	0.70±0.03^{d}	83.33±0.88^{h}	0.15±0.01^{bc}	3.33±0.33^{bcd}	0.45±0.04^{c}
MS + 1.5 BA	2.33±0.33^{b}	0.74±0.10^{c}	33.33±0.88^{e}	0.17±0.04b^{c}	9.33±1.45^{c}	1.28±0.03^{f}	34.33±1.20^{d}	0.18±0.01^{c}	2.66±0.33 ^{abcd}	0.41±0.03^{bc}
MS + 2.0 BA	2.66±0.33^{b}	0.44±0.04^{b}	30.33±1.45^{d}	0.17±0.02^{bc}	22.33±0.88^{f}	0.63±0.03^{cd}	78.33±0.88^{g}	0.12±0.01^{abc}	2.33±0.33^{abc}	0.26±0.02^{b}
MS + 0.5 TDZ	2.33±0.33^{b}	0.23±0.03^{a}	3.33±0.33^{ab}	0.12±0.01^{ab}	5.00±0.57^{ab}	1.02±0.09^{e}	33.66±0.88^{d}	0.10±0.00^{ab}	1.33±0.33^{ab}	0.06±001^{a}
MS + 1.0 TDZ	1.00±0.00^{a}	0.10±0.00^{a}	1.00±0.00^{a}	0.09±0.01^{ab}	5.66±0.66^{b}	0.37±0.02^{ab}	22.33±0.88^{ab}	0.06±0.01^{a}	1.00±0.00^{a}	0.05±0.00^{a}
MS + 1.5 TDZ	1.00±0.00^{a}	0.08±0.03^{a}	2.00±1.0^{0a}	0.08±0.03^{ab}	9.00±0.57^{c}	0.22±0.01^{a}	38.00±1.15^{e}	0.06±0.01^{a}	1.00±0.00^{a}	0.05±0.00^{a}
MS + 2.0 TDZ	1.00±0.00^{a}	0.07±0.02^{a}	1.00±0.00^{a}	0.05±0.00^{a}	17.33±1.45^{e}	0.85±0.05^{de}	109.66±1.20^{i}	0.12±0.01^{abc}	4.66±0.66^{d}	0.74±0.06^{de}
MS + 0.5 KN	2.00±0.00^{b}	1.21±0.07^{de}	14.66±1.45^{c}	0.47±0.02^{f}	3.33±0.33^{ab}	0.46±0.05^{bc}	21.66±0.88^{a}	0.26±0.03^{d}	2.33±0.33^{abc}	0.64±0.04^{d}
MS + 1.0 KN	2.00±0.00^{b}	1.40±0.05^{ef}	15.33±0.88^{c}	0.39±0.02^{def}	3.33±0.33^{ab}	1.46±0.05^{f}	26.00±0.57^{c}	0.16±0.02^{bc}	4.33±0.88^{cd}	0.84±0.06^{e}
MS + 1.5 KN	2.00±0.00^{b}	1.06±0.07^{d}	14.66±0.88^{c}	0.37±0.02^{de}	3.66±0.33^{ab}	1.50±0.05^{f}	25.00±0.57^{bc}	0.26±0.03^{d}	2.66±0.33 ^{abcd}	0.31±0.02^{bc}
MS + 2.0 KN	2.33±0.33^{b}	1.53±0.04^{f}	13.66±0.88^{c}	0.35±0.01^{d}	14.00±1.15^{d}	0.95±0.08^{e}	69.66±0.88f	0.12±0.01^{abc}	4.00±0.57 ^{cd}	1.25±0.09^{f}

หมายเหตุ - ข้อมูลที่แสดงคือ mean ± S.E. (n = 6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ $p \leq 0.05$



ภาพที่ 4-2 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเกลุ่มไซโตไคนินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดในสภาพหลอดทดลอง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

(สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร)

1. MS (ชุดควบคุม) 2 .MS + 0.5 BA 3. MS +1.0 BA 4. MS + 1.5 BA 5. MS + 2.0 BA 6. MS + 0.5 TDZ 7. MS + 1.0 TDZ
8. MS + 1.5 TDZ 9. MS + 2.0 TD 10. MS + 0.5 KN 11. MS + 1.0 KN 12. MS + 1.5 KN 13. MS + 2.0 KN

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินคือ IBA, IAA และ NAA ในระดับความเข้มข้น 0.2, 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นบันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก ได้ผลการทดลองดังนี้

4.3.1 จำนวนราก

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าในทุกชุดการทดลองไม่มีรากเกิดขึ้น ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 27.00±0.57 รากต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3)

4.3.2 ความยาวราก

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าในทุกชุดการทดลองไม่มีรากเกิดขึ้น ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.06±0.07 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3)

4.3.3 จำนวนยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.33±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนยอดม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 11.33±0.33 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความ

แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (11.00±1.15 และ 10.00±0.57 ยอดต่อชิ้นส่วน) (ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3)

4.3.4 ความยาวยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.02±0.03 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.33±0.01 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3)

4.3.5 จำนวนใบ

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบได้ดี โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 8.66±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเฉลี่ย เท่ากับ 8.33±0.33 ใบต่อชิ้นส่วน ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบได้ดี โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 57.00±0.57 ใบต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3)

4.3.6 ความยาวใบ

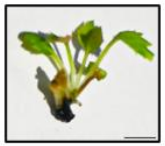
เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทำให้มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.46±0.03 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีความยาวใบเฉลี่ยเท่ากับ 0.41±0.02 เซนติเมตร ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด ที่มีค่าเท่ากันเท่ากับ 0.85±0.07 เซนติเมตร และ 0.85±0.05 เซนติเมตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3)

ตารางที่ 4-5 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ใน สภาพหลอดทดลอง หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต	กุหลาบหนู				ม่วงเทพรัตน์					
	จำนวนยอดเฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยายอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนยอดเฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนรากเฉลี่ย± SE (ราก/ชิ้นส่วน)	ความยาวรากเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)
MS (ชุดควบคุม)	1.00±0.00^{a}	0.54±0.02^{b}	5.00±0.57^{ab}	0.46±0.03^{d}	4.66±0.33^{a}	1.88±0.05^{f}	34.00±0.57^{d}	0.20±0.01^{a}	1.66±0.33^{a}	1.42±0.05^{c}
MS + 0.2 IBA	1.00±0.00^{a}	0.87±0.07^{d}	4.66±0.66^{a}	0.41±0.02^{d}	6.66±0.33^{bc}	1.36±0.00^{d}	35.00±0.57^{d}	0.25±0.01^{a}	18.00±0.57^{f}	1.63±0.01^{de}
MS + 0.5 IBA	1.33±0.33^{a}	0.26±0.03^{a}	4.66±0.33^{a}	0.19±0.02^{abc}	10.00±0.57^{d}	2.33±0.01^{g}	46.66±0.66^{e}	0.16±0.00^{a}	27.00±0.57^{g}	1.44±0.02^{c}
MS + 1.0 IBA	1.00±0.00^{a}	0.22±0.01^{a}	5.00±0.57^{ab}	0.15±0.01^{ab}	11.33±0.33^{d}	1.72±0.01^{ef}	57.00±0.57^{f}	0.17±0.00^{a}	11.66±0.33^{d}	1.53±0.02^{cd}
MS + 0.2 IAA	1.00±0.00^{a}	0.31±0.02^{a}	4.33±0.33^{a}	0.14±0.02^{a}	5.33±0.33^{abc}	0.74±0.02^{a}	22.66±0.66^{b}	0.18±0.00^{a}	2.66±0.33^{a}	1.91±0.02^{f}
MS + 0.5 IAA	1.00±0.00^{a}	0.23±0.01^{a}	5.00±0.57^{ab}	0.23±0.00^{c}	3.66±0.33^{a}	1.36±0.02^{d}	33.33±0.66^{d}	0.19±0.00^{a}	4.66±0.33^{b}	1.27±0.01^{b}
MS + 1.0 IAA	1.00±0.00^{a}	0.22±0.01^{a}	4.66±0.33^{a}	0.14±0.01^{a}	4.66±0.33^{a}	1.11±0.02^{bc}	27.33±0.88^{c}	0.24±0.01^{a}	18.66±0.66^{f}	0.70±0.01^{a}
MS + 0.2 NAA	1.00±0.00^{a}	1.02±0.03^{e}	8.33±0.33^{c}	0.20±0.00^{bc}	7.00±0.57^{c}	0.96±0.08^{b}	24.00±1.15^{b}	0.85±0.07^{c}	9.00±1.15^{c}	1.71±0.07^{e}
MS + 0.5 NAA	1.00±0.00^{a}	0.78±0.02^{cd}	8.66±0.33^{c}	0.15±0.01^{ab}	5.00±0.57^{ab}	1.20±0.005^{cd}	19.66±0.88^{a}	0.85±0.05^{c}	5.00±0.57^{b}	0.72±0.01^{a}
MS + 1.0 NAA	1.00±0.00^{a}	0.69±0.02^{c}	6.33±0.33^{b}	0.16±0.00^{ab}	11.00±1.15^{d}	1.68±0.14^{e}	34.66±0.88^{d}	0.38±0.02^{b}	15.00±0.57^{e}	2.06±0.07^{g}

หมายเหตุ - ข้อมูลที่แสดงคือ mean ± S.E. (n = 6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)
ที่ $p \leq 0.05$

กุหลาบหนู

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
									

ม่วงเทพรัตน์

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

ภาพที่ 5-3 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากในสภาพหลอดทดลอง หลังเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร)

1. MS (ชุดควบคุม)
2. MS + 0.2 IBA
3. MS + 0.5 IBA
4. MS + 1.0 IBA
5. MS + 0.2 IAA
6. MS + 0.5 IAA
7. MS + 1.0 IAA
8. MS + 0.2 NAA
9. MS + 0.5 NAA
10. MS + 1.0 NAA

4.4 การทดลองที่ 4 การศึกษาระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมซูโครส ความเข้มข้น 20, 30 และ 40 กรัม/ลิตร ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5,1.0,1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ปุ๋ยเร่งดอก 2 ชนิด คือ ออสโมโค้ท (12-25-6+1% แมกนีเซียม) และยารามีร่าดับเบิล (8-24-24) ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 9 สัปดาห์ หลังจากนั้นบันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดดอก ได้ผลการทดลองดังนี้

4.4.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดดอก

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซิลเวอร์ไนเตรท 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกเท่ากับ 33% และ 16% ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 1.0 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกมากที่สุดเท่ากับ 100% รองลงมาคืออาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 0.5 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกเท่ากับ 66% ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 20 และ 40 กรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยยารามีร่าดับเบิล 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกที่เท่ากัน คือ 33% (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

4.4.2 จำนวนยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอกทั้ง 2 ชนิด ในทุกระดับความเข้มข้นรวมถึงชุดควบคุม มีผลชักนำให้เกิดยอดได้เท่ากันคือ 1 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนชิ้นส่วนยอดม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยยารามีร่าดับเบิล 0.5 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 27.00±0.57 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 26.00±0.57 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

4.4.3 ความยาวยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.95±0.02 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารชักนำให้เกิดดอก (ชุดควบคุม) ทำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 4.12±0.01 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

4.4.4 จำนวนใบ

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยยารามีร่าดับเบิล 0.5 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบได้ดี โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 16.00±0.57 ใบต่อชิ้นส่วน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบได้ดี โดยมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 323.33±0.88 ใบต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

4.4.5 ความยาวใบ

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.44±0.00 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 0.56±0.00 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 1.0 กรัมต่อลิตร และ $AgNO_3$ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (0.55±0.00 และ 0.54±0.00) (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

4.4.6 จำนวนราก

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซิลเวอร์ไนเตรทและปุ๋ยเร่งดอกทั้ง 2 ชนิด รวมถึงชุดควบคุม พบว่าในทุกชุดการทดลองไม่มีรากเกิดขึ้น ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 84.00±0.57 รากต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

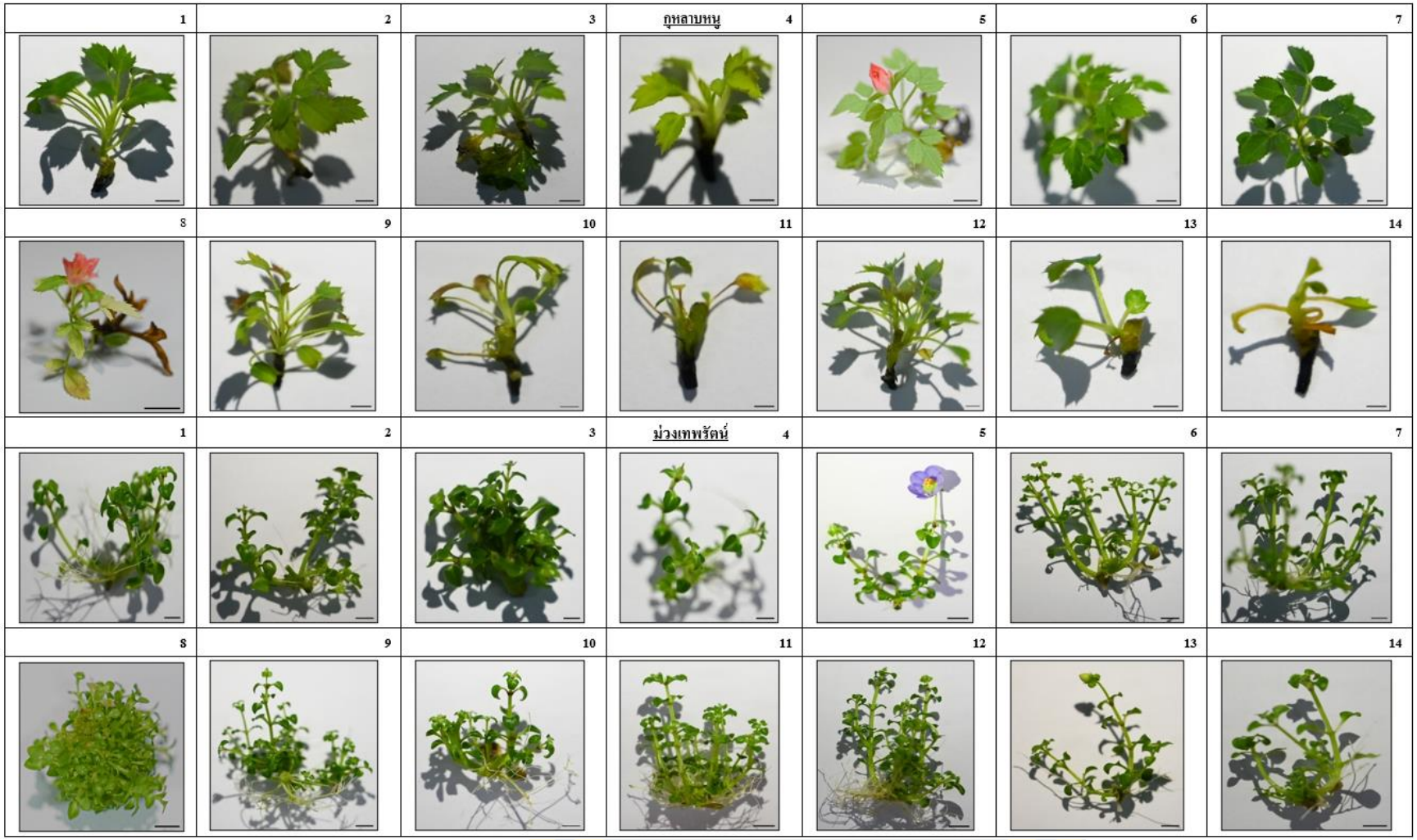
4.4.7 ความยาวราก

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอกทั้ง 2 ชนิด รวมถึงชุดควบคุม พบว่าในทุกชุดการทดลองไม่มีรากเกิดขึ้น ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 1.0 กรัมต่อลิตร มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.77±0.01 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

ตารางที่ 4-6 การศึกษาระดับความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนู และม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 สัปดาห์

สารและระดับความเข้มข้นของสารที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดดอก	กุหลาบหนู					ม่วงเทพรัตน์						
	% การเกิดดอก	จำนวนยอดเฉลี่ย±SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยายอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	% การเกิดดอก	จำนวนยอดเฉลี่ย± SE (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยายอดเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนใบเฉลี่ย± SE (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)	จำนวนรากเฉลี่ย± SE (ราก/ชิ้นส่วน)	ความยาวรากเฉลี่ย ± SE (ซ.ม.)
MS (ชุดควบคุม)	0	1.00±0.00	1.08±0.04^{h}	11.00±0.57^{de}	0.29±0.00^{f}	0	3.66±0.33^{a}	4.12±0.01^{k}	53.00±0.57^{d}	0.28±0.00^{d}	27.66±0.33^{g}	1.90±0.00^{g}
MS + 20 sugar	0	1.00±0.00	1.95±0.02^{i}	11.33±0.33^{e}	0.15±0.00^{bc}	33	3.33±0.33^{a}	2.30±0.01^{f}	27.33±0.33^{a}	0.56±0.00^{h}	36.33±0.33^{h}	1.32±0.00^{d}
MS + 30 sugar	0	1.00±0.00	0.54±0.02^{ef}	10.33±0.33^{de}	0.25±0.00^{e}	0	10.66±0.88^{d}	1.03±0.04^{c}	107.66±0.88^{g}	0.18±0.00^{a}	11.00±0.57^{c}	1.15±0.02^{c}
MS + 40 sugar	0	1.00±0.00	0.31±0.00^{c}	9.00±0.57^{bc}	0.13±0.00^{ab}	33	5.66±0.33^{b}	0.54±0.02^{a}	44.00±0.57^{e}	0.24±0.00^{bc}	1.66±0.33^{a}	0.45±0.02^{a}
MS + 0.5 $AgNO_3$	33	1.00±0.00	0.21±0.00^{b}	9.66±0.33^{cd}	0.26±0.00^{e}	66	2.33±0.33^{a}	3.47±0.01^{j}	30.66±0.33^{b}	0.54±0.00^{h}	11.33±0.33^{c}	0.54±0.02^{b}
MS + 1.0 $AgNO_3$	0	1.00±0.00	0.50±0.01^{e}	10.33±0.33^{de}	0.16±0.00^{c}	0	3.66±0.33^{a}	2.76±0.00^{h}	62.00±0.57^{f}	0.23±0.00^{b}	11.33±0.33^{c}	1.11±0.00^{c}
.MS + 1.5 $AgNO_3$	0	1.00±0.00	0.58±0.00^{f}	11.00±0.57^{de}	0.44±0.00^{h}	0	11.66±0.33^{d}	2.85±0.00^{i}	112.00±0.57^{h}	0.26±0.00^{cd}	43.66±0.33^{i}	1.55±0.00^{e}
MS + 2.0 $AgNO_3$	16	1.00±0.00	0.49±0.00^{e}	8.66±0.33^{bc}	0.21±0.00^{d}	0	26.00±0.57^{e}	0.82±0.01^{b}	323.33±0.88^{j}	0.50±0.00^{g}	84.00±0.57^{j}	2.47±0.01^{i}
MS + 0.5 Osmocote	0	1.00±0.00	0.33±0.00c^{d}	8.33±0.33^{b}	0.25±0.00^{e}	66	6.66±0.33^{b}	2.61±0.02^{g}	111.00±0.57^{h}	0.22±0.01^{b}	12.33±0.33^{c}	1.62±0.01^{f}
.MS +1.0 Osmocote	0	1.00±0.00	0.77±0.01^{g}	3.66±0.33^{a}	0.38±0.00^{g}	100	12.00±0.57^{d}	2.80±0.01^{hi}	55.66±0.33^{e}	0.55±0.00^{h}	12.33±0.33^{c}	2.77±0.01^{j}
MS + 1.5 Osmocote	0	1.00±0.00	0.40±0.01^{d}	3.33±0.33^{a}	0.12±0.00^{a}	0	8.66±0.33^{c}	1.25±0.00^{d}	61.00±0.57^{f}	0.22±0.01^{b}	9.66±0.33^{b}	1.14±0.02^{c}
MS + 0.5 YaraMila	0	1.00±0.00	1.09±0.04^{h}	16.00±0.57^{f}	0.30±0.01^{f}	33	27.00±0.57^{e}	2.77±0.01^{h}	240.66±0.66^{i}	0.33±0.00^{e}	25.33±0.33^{f}	1.56±0.00^{e}
MS + 1.0 YaraMila	0	1.00±0.00	0.39±0.00^{d}	4.33±0.33^{a}	0.13±0.00^{ab}	33	6.00±0.57^{b}	2.56±0.00^{g}	54.00±0.57^{de}	0.42±0.01^{f}	23.00±0.57^{e}	2.14±0.00^{h}
MS + 1.5 YaraMila	0	1.00±0.00	0.13±0.00^{a}	3.33±0.33^{a}	0.11±0.00^{a}	0	6.00±0.57^{b}	1.82±0.01^{e}	44.66±0.33^{c}	0.44±0.00^{f}	16.00±0.57^{d}	1.15±0.02^{c}

หมายเหตุ - ข้อมูลที่แสดงคือ mean ± S.E. (n = 6) ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ $p \leq 0.05$



ภาพที่ 6-4 ลักษณะต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมซูโครส และซิลเวอร์ไนเตรทในระดับ ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกในสภาพหลอดทดลอง หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 สัปดาห์ สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร)

1. MS (ชุดควบคุม) 2. MS + 20 sugar 3. MS + 30 sugar 4. MS + 40 sugar 5. MS + 0.5 $AgNO_3$ 6. MS + 1.0 $AgNO_3$ 7. MS + 1.5 $AgNO_3$

8. MS + 2.0 $AgNO_3$ 9. MS + 0.5 Osmocote 10. MS +1.0 Osmocote 11. MS + 1.5 Osmocote 12. MS + 0.5 YaraMila 13. MS + 1.0 YaraMila 14. MS + 1.5 YaraMila

ก. MS + $AgNO_3$ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร	ข.MS + $AgNO_3$ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

ภาพที่ 7-5 การชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมซิลเวอร์ไนเตรท 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 9 สัปดาห์ (สเกลบาร์ = 1 เซนติเมตร)

บทที่ 5
อภิปรายผลและสรุปผล

5.1 อภิปรายผล

5.1.1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์

จากการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและชนิดของสารฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ โดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อคือ Haiter, SJ Biocide และ CP Biocide ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยหลังจากฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อขอกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ แล้วนำชิ้นส่วนข้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ในการทดลองครั้งที่ 1 (วันที่ 25 พฤษภาคม– 25 มิถุนายน พ.ศ. 2566) และการทดลองครั้งที่ 2 (วันที่ 5 กรกฎาคม– 5 สิงหาคม พ.ศ. 2566) โดยการใช้ NaOCl, SJ Biocide และ CP Biocide ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100% แต่ไม่พบในทุกชุดการทดลอง (บางชุดการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ 67%) จึงได้ทำการทดลองในครั้งที่ 3 (วันที่ 10 สิงหาคม– 10 กันยายน พ.ศ. 2566) พบว่าในทุกชุดการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100% และไม่มีการปนเปื้อนเกิดขึ้น

จากการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 3 ครั้ง จะเห็นได้ว่าชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่ฟอกด้วย NaOCl, SJ Biocide และ CP Biocide ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อตั้งแต่ 67-100% ซึ่งการฟอกฆ่าเชื้อในครั้งที่ 1 และ 2 ทำให้ได้ทราบข้อมูลการฟอกฆ่าเชื้อและข้อบกพร่องต่างๆ และนำมาปรับปรุงในการทดลองครั้งที่ 3 โดยได้เพิ่มเทคนิคต่างๆ ของการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อทำให้สารฟอกฆ่าเชื้อสามารถแทรกซึมเข้าสู่พื้นที่ผิวของพืชทั้ง 2 ชนิด ได้มากขึ้นเช่น การนำพืชมาพักไว้ในเรือนเพาะชำที่สะอาด งดให้น้ำเป็นเวลา 3 วัน การล้างทำความสะอาดชิ้นส่วนของพืช การฉีดพ่นสเปรย์แอลกอฮอร์ 95% ก่อนนำชิ้นส่วนไปฟอกฆ่าเชื้อ ฯลฯ ซึ่งงานวิจัยนี้ได้เลือกเอา Haiter และ Biocide ที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และหาซื้อได้ทั่วไป ราคาไม่แพง เตรียมได้ง่าย ไม่มีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ไม่เป็นอันตราย หรือมีอันตรายน้อยที่สุดต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคนและชิ้นตัวอย่างพืช และประสิทธิภาพดีให้เปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อสูง สำหรับ Heiter มีสารที่เป็นองค์ประกอบคือ Sodium hypochlorite (NaOCl) 6% ซึ่งมีคุณสมบัติทำความสะอาดพื้นผิวได้ดี สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยช่วง pH ที่สามารถฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ 6.0-7.5 และความเข้มข้นที่ใช้การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืช ประมาณ 0.25-2.63% เวลาที่ใช้ประมาณ 5-30 นาที จะ

มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีมาก (สุรวิช วรรณไกรโรจน์ และคณะ, 2564) ส่วน Biocide เป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยงานวิจัยในครั้งนี้ได้เลือกใช้ 2 ชนิด คือ CP Biocide เป็นสารกันเสีย สารฆ่าเชื้อ หรือใช้กับผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดทั่วไป โดยเหมาะสำหรับใช้ผสมน้ำยาซักผ้า น้ำยาล้างจาน หรือน้ำยาทำความสะอาด เนื่องด้วยประกอบด้วย Methylchloro isothiazolinone และ Methyl isothiazolinone วิธีการที่ใช้ให้ละลายในน้ำประมาณ 0.05-0.4 สามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง และปิดภาชนะให้สนิท ปราศจากแสงแดดหรือความร้อน (CP Biocide, 2024) และ SJ Biocide ประกอบด้วยกรดเปอร์อะซิติก (peracetic acid) เป็นของเหลว ไม่มีสี มีกลิ่นฉุน อาจจะมีฤทธิ์กัดกร่อนสูง 5% ซึ่ง เป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพมากสำหรับการฆ่าเชื้อซากการใช้งานในโรงงานนม และนำมาใช้สำหรับการฆ่าเชื้อโรคของวัสดุทางการแพทย์ (เคมีทั่วไป, 2022) ควรเลือกชนิดและความเข้มข้นของสาร รวมทั้งระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อให้เหมาะสมกับชิ้นส่วนพืช เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อได้เป็นอย่างดีโดยไม่ทำลายเนื้อเยื่อพืช (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และคณะ, 2560) ซึ่งสารฟอกฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ รองลงมา คือ เอทานอล ส่วนสารฟอกฆ่าเชื้อบางชนิด เช่น เมอร์คิวริกคลอไรด์เป็นสารที่มีส่วนผสมของโลหะหนัก มีอันตรายต่อผู้ใช้ และกำจัดทิ้งค่อนข้างยาก ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่นิยมใช้สารฟอกขาวที่มีชื่อการค้าคือ Clorox® ซึ่งมีโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 8.25% (Dar et al. 2012 อ้างถึงใน จันทร์เพ็ญ ใจซื่อ และคณะ (2562) แต่ปัจจุบันในประเทศไทย Clorox® ไม่มีการวางขายตามห้างสรรพสินค้าและสั่งซื้อสารที่เป็น Laboratory grade หรือ Analytical grade ค่อนข้างยาก ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีการนำสารฟอกขาวชื่อการค้าไฮเตอร์ (Haiter®) มาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ซึ่งโดยปกติสารฟอกฆ่าเชื้อจะต้องใช้ร่วมกับสารจับใบ เพื่อช่วยให้มีการแทรกซึมของสารฆ่าเชื้อได้ดีขึ้น สารจับใบที่นิยมใช้ได้แก่ Tween - 80, Tween - 20 และ Triton - x เป็นต้น นอกจากนี้ก่อนฟอกฆ่าเชื้ออาจจุ่มเนื้อเยื่อลงในเอทานอล 70% เป็นเวลา 30 – 60 วินาที เพื่อช่วยในการขจัดสารเคลือบใบพืชจะทำให้สารฟอกฆ่าเชื้อทำงานได้ดีขึ้น (พรพิมล สุริยจันทราทอง, 2545) ซึ่งงานวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของจิราภรณ์ นิคมทัศน์ และคณะ (2563) ที่ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูมาล้างด้วยน้ำยาล้างจาน 5 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมน้ำยาล้างจาน เป็นเวลา 25 นาที ล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อจำนวน 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที โดยการฟอกฆ่าเชื้อใช้น้ำที่ฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร นำชิ้นส่วนจากการฟอกฆ่าเชื้อไปวางบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติมไฮเตอร์สูตรมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนปลอดเชื้อที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารอย่างง่าย จำนวน 4 สูตร นั่นคือ สูตรอาหาร Hydroponics A และ B

อย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อศึกษาจำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบ พบว่า 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 ตามลาดับ ส่วนความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดเกิดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 1.57 ± 0.86 เซนติเมตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับชุดการทดลองอย่างง่ายทุกสูตร แตกต่างกับการศึกษาของ Maheswari & Vaishnavi (2018) ที่ได้ศึกษาหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณในหลอดทดลองของกุหลาบมอญ (*Rosa damascena* Mill.) พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (5%) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาแช่ในเอทานอล 70% เป็นเวลา 30 วินาที ตามด้วย เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นเวลา 6 นาที สามารถลดอัตราการปนเปื้อนได้ 10% และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 85% แต่งานวิจัยในครั้งนี้ได้ฟอกชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ โดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์, SJ Biocide และ CP Biocide ในระดับความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกัน ไม่ได้ใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ เนื่องจากเป็นสารพิษอันตราย มีข้อจำกัดในการจัดซื้อและการทำลายเพื่อไม่ให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งการใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่หาซื้อได้ทั่วไป ก็ทำให้ชิ้นส่วนพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อได้เท่ากับ 100% เช่นกัน

5.1.2 ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินคือ BA, TDZ และ KN ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีโดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด จากงานวิจัยในครั้งนี้จะเห็นได้ว่า การใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้นสูงที่สุดจากชุดของการทดลองสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี ทั้งในกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ โดยการเกิดยอดของพืชจะเกิดจากกระบวนการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เกิดขึ้นพร้อมๆ กัน ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อชักนำให้เกิดยอดในหลอดทดลองจึงมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เร่งการขยายตัวของเซลล์และทำให้เกิดการเจริญของตาข้าง (สุมนทิพย์ บุนนาค, 2556) สำหรับการชักนำให้เกิดยอดของพืชในสภาพ

ปลอดเชื้อจะมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินหลายชนิด เช่น BA, KN, TDZ และ BAPโดยอาจเติมเพียงชนิดเดียวหรือเติม 2 ชนิดร่วมกัน หรืออาจจะมีการเติมร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินได้แก่ IAA, IBA และ NAA ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการชักนำยอดได้ดี ทั้งนี้ชนิดและปริมาณที่ใช้จะผันแปรขึ้นกับชนิดของพืช ชิ้นส่วนและระยะการเจริญเติบโตของพืช และระดับหรือสัดส่วนของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ที่ใช้ในสูตรอาหาร โดยมีข้อสังเกตที่สำคัญคือ ถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูงขึ้น (ไซโตไคนิน > ออกซิเจน) จะกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นยอด (shoot formation) (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546)

งานวิจัยในครั้งนี้ได้เลือกใช้ BA เนื่องจาก 6-Benzyladenine (BA) เป็นฮอร์โมนที่มีการสังเคราะห์ขึ้นมา (มัณฑนา บัวหนอง, 2558) และเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และการเจริญพัฒนาเปลี่ยนแปลงของเซลล์ได้ โดยมีบทบาทส่งเสริมการสังเคราะห์ RNAและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแบ่งเซลล์ จึงมีผลทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณยอดได้และเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในการชักนำให้เกิดยอด (รัตนา ขามฤทธิ์ และสุชีรา งอนภูเขียว, 2563) ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Brunda et al. (2015) ที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่และการเพิ่มจำนวนยอดของกุหลาบ (*Rosa hybrida* cv. ‘Jogan’) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่มีค่าเฉลี่ยได้ดีที่สุด 63.4 ยอดต่อชิ้นส่วน (52.79%) และจากการเพิ่มจำนวนยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ADS ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีจำนวนยอดมีค่าเฉลี่ยได้ดีที่สุด 3.4 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ผลที่ได้จากการศึกษาของงานวิจัยในครั้งนี้แตกต่างจากการศึกษาของอัมพิกา ติ๊บกวาง (2561) ที่ได้ศึกษาผลของไซโตไคนินและซูโครสต่อการเพาะเลี้ยงกุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อโดยนำชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมไซโตไคนิน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสร้างยอดมากที่สุด โดยมีจานวนยอดเฉลี่ย 4.50±1.93 ยอด/ชิ้นส่วน

ในด้านความยาวยอด จะเห็นได้ว่า การเติม KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวยอดเฉลี่ยของของกุหลาบหนูมากที่สุด แต่อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ทำให้ความยาวยอดเฉลี่ยของม่วงเทพรัตน์มีค่ามากที่สุด จากการศึกษางานวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Hesar et al., (2011) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นไวโอเล็ต (*Matthiola incana* (L.) W.T. Aiton) ในอาหารสูตร MS ที่เติม KN 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด 1.17 เซนติเมตร ซึ่งการเพิ่มจำนวนยอดและความยาวยอดอาจจะใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินเติมร่วมกัน หรือเติมร่วมกับกลุ่มออกซินก็ได้ เช่น

งานวิจัยของ Kharde & Kshirsagar (2014) รายงานว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ KN 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบตัดดอกพันธุ์ *Rosa hybrida* L. มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.8 เซนติเมตร และงานวิจัยของ Afrin et al., (2022) ที่ได้นำตายอดและตาข้างของกุหลาบมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มก./ลิตร ร่วมกับ KIN ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ 100% ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มก./ลิตร ร่วมกับ KIN ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร และ GA_3 ความเข้มข้น 0.1 มก./ลิตร สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ 100%

5.1.3 ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดรากของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินคือ IBA, IAA และ NAA ในระดับความเข้มข้น 0.2, 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารกลุ่มออกซินในทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีรากเกิดขึ้น แต่ชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด

จากงานวิจัยนี้ที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดราก โดยการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ซึ่งออกซินเป็นกลุ่มของสารที่พืชสังเคราะห์จากส่วนเนื้อเยื่อเจริญ ใบอ่อน ดอก ผล ปลายราก มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ ช่วยในการยืดตัวของเซลล์ ส่งเสริมหรือชักนำการแบ่งเซลล์ การเกิดแคลลัสและการเกิดราก จึงนิยมใช้สารในกลุ่มนี้ช่วยในการเร่งราก ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินได้แก่ IAA, IBA และ NAA โดยอาจเติมอย่างเดียวหรืออาจเติมร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งมีผลทำให้เกิดการชักนำให้เกิดรากได้ดี ทั้งนี้ชนิดและปริมาณที่ใช้จะผันแปรขึ้นกับชนิดของพืช ชิ้นส่วนและระยะการเจริญเติบโตของพืช และระดับหรือสัดส่วนของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด ที่ใช้ในสูตรอาหาร โดยมีข้อสังเกตที่สำคัญ คือ ถ้าสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินลดลง (ไซโตไคนิน < ออกซิน) จะกระตุ้นการกำเนิดและเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นราก (ลิลลี่ กาวีต๊ะ, 2546)

จากงานวิจัยในครั้งนี้เมื่อเติมออกซินในทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถชักนำให้เกิดรากในกุหลาบหนูได้ แตกต่างจากงานวิจัยของ Afrin et al., (2022) รายงานว่า จากการนำตายอดและตา

ข้างของกุหลาบมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร ½MS ที่เติม IBA และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มก./ลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด 80% และเมื่อนำต้นอ่อนออกปลูกสู่สภาพจริงสามารถรอดชีวิตได้ 60% และงานวิจัยของยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ (2557) ได้ศึกษาอิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดของพรมมิด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอาหารสูตร MS ที่ เติม BA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากสูงสุดอยู่ที่ 18.3-24.3 รากต่อชิ้นส่วน รวมถึงงานวิจัยของรัตนา ขามฤทธิ์ และอนัญญา กิ่งหลักเมือง (2561) ที่ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 3.00±0.85 ราก และงานวิจัยของ Aliabad et al., (2019) ที่รายงานว่าเมื่อนำตายอดและตาข้างของกุหลาบ (*Rosa Hybrida*) มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5, 0.75, 1.0, 2.0, และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากได้ดีที่สุด และงานวิจัยของ Maurya et al., (2013) ที่ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดและรากของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบ (*Rosa hybrida* L.) โดยนำชิ้นส่วนยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, KN, NAA และ IBA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดย BAP และ NAA ความเข้มข้น 2.0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนยอดได้สูงสุด 100% และอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนรากได้ดีที่สุด แต่จากงานทดลองครั้งนี้ในทุกชุดทดลองที่เติมออกซินไม่สามารถชักนำให้เกิดรากในกุหลาบหนูได้ หากเพิ่มระยะเวลานานขึ้น หรือมีการเติมออกซินร่วมกับไซโตไคนิน และ/หรือใช้อาหารสูตร MS ที่มีการลดระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารลดครึ่งหนึ่ง ก็อาจจะชักนำให้เกิดรากได้

สำหรับการชักนำให้เกิดรากของชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่และเติม IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้ชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์มีความยาวรากมากที่สุด ซึ่งจะเห็นได้ว่าชิ้นส่วนยอดของม่วงเทรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ในระดับความเข้มข้นต่ำสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีและเกิดรากจำนวนมาก เท่ากับ 27.00 รากต่อยอด ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Sarai et al. (2017) ที่เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของม่วงเทรัตน์ขนาด 2 เซนติเมตรบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดเท่ากับ 18 รากต่อยอด และผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ยังแตกต่างจากงานวิจัยของวันวิสาข์ ระมั่งทอง และมัทนภรณ์ ใหม่คามิ (2563) ที่ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับหญ้าหวานหรือน้ำตาลก็ไม่สามารถชักนำให้ม่วงเทพรัตน์เกิดรากได้ ซึ่งผู้วิจัยได้เสนอแนะว่าในการชักนำให้เกิดรากของม่วงเทพรัตน์นั้นต้องมี

การเติม IBA ที่เป็นออกซินธรรมชาติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าการเติม IBA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีและได้รากจำนวนมาก

5.1.4 ความเข้มข้นของซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท และปุ๋ยเร่งดอก ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมซูโครส ความเข้มข้น 20, 30 และ 40 กรัมต่อลิตร ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 0.5,1.0,1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และปุ๋ยเร่งดอก 2 ชนิด คือ ออสโมโค้ท (12-25-6+1% แมกนีเซียม)และยารามีร่าดับเบิล (8-24-24) ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกสูงที่สุดเท่ากับ 33% ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท (12-25-6+1% แมกนีเซียม) ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นการเกิดดอกมากที่สุด เท่ากับ 100%

ในการชักนำให้พืชออกดอกต้องอาศัยปัจจัยทั้งทางภายในและปัจจัยทางภายนอก และการกระตุ้นให้พืชออกดอกต้องอาศัยปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส รวมทั้งสารประกอบอนินทรีย์บางชนิดที่มีผลต่อการชักนำการเกิดดอก เช่น ซิลเวอร์ไนเตรท และ/หรือปุ๋ยเร่งดอก ซึ่งซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) เป็นสารอนินทรีย์ชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในขั้นตอนการชักนำให้ออกดอก ในสภาพหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อที่ได้จากการเพิ่มจำนวนต้นมาชักนำให้เกิดดอก (Taji et al., 1997) นอกจากนี้ซิลเวอร์ไนเตรทยังมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดี มีความจำเพาะและเสถียรภาพ จึงทำให้มีประโยชน์เป็นอย่างมากต่อการควบคุมการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชทั้งโครงสร้างภายในพืชเองและภายในหลอดทดลอง ซึ่งไอออนของซิลเวอร์ (Ag^+) จากซิลเวอร์ไนเตรทมีบทบาทสำคัญในการชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ ยอด และราก เป็นต้น โดยมีผลยับยั้งการทำงานของเอทิลีน เนื่องจากไอออนของซิลเวอร์ไปจับกับไอออนของคอปเปอร์ (Cu^{2+}) บริเวณจำเพาะของตัวรับเอทิลีน ทำให้เอทิลีนไม่สามารถทำปฏิกิริยากับพืชได้ จึงทำให้บริเวณนั้นมีการเปลี่ยนแปลงทำให้พืชไม่ตอบสนองต่อเอทิลีน จึงใช้ในการยืดอายุการปักแจกันของไม้ดอกหลายชนิดได้ดี (พีรเดช ทองอำไพ, 2557 อ้างถึงใน สุภาวดี รามสูตร และคณะ, 2560) ซึ่งมีรายงานการยืดอายุการบานของดอกกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อ เช่น กุหลาบสายพันธุ์มายาวาเลนไทน์ (สุรีรัตน์ เย็นช้อน, และ สมปอง เตชะโต,

2557 อ้างถึงใน สุภาวดีรามสูตร และคณะ, 2560) นอกจากนี้ซิลเวอร์ไนเตรท ยังเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี มีความจำเพาะและเสถียรภาพ ทำให้มีประโยชน์อย่างมากในการนำมาใช้ควบคุมการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชทั้งโครงสร้างภายในพืชเองและภายในหลอดทดลอง (Kumar et al., 2009) สำหรับเอทิลีน (ethylene) เป็นฮอร์โมนพืชที่มีสภาพเป็นก๊าซที่อุณหภูมิห้อง มีคุณสมบัติคล้ายกับออกซินที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งจะไปส่งผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้น เมื่อมีการเติมซิลเวอร์ไนเตรทลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้เอทิลีนไม่สามารถทำปฏิกิริยากับพืชได้ ดังนั้นซิลเวอร์ไนเตรทจึงใช้เป็นสารยับยั้งที่จำเพาะเจาะจงต่อกระบวนการสร้างและทำงานของเอทิลีน เพื่อช่วยแยกกิจกรรมที่เกิดจากออกซินและเอทิลีน (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2549)

จากงานวิจัยในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นการเกิดดอกเท่ากับ 33% และ 66% ตามลำดับ โดยงานวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ สุรีรัตน์ เย็นช้อน, มาลัยวัลย์ ยังนิ่ง และสมปอง เตชะโต (2557) รายงานว่าอาหารสูตร MS ที่เติมสารซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 20% สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างดอกของกุหลาบสายพันธุ์มายาวาเลนไทน์ได้ดีสูงสุด 84.38% มีจำนวนดอกสูงสุด 2.46 ต่อต้น แต่ในงานวิจัยครั้งนี้จะเห็นการเติม $AgNO_3$ ความเข้มข้นต่ำคือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้กุหลาบหนูมีเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกมากที่สุดเท่ากับ 33% แต่เมื่อเติม $AgNO_3$ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดของการทดลอง ทำให้กุหลาบหนูมีเปอร์เซ็นการเกิดดอกลดลงคือ 16% และจากงานวิจัยของ Matos et al., (2020) ที่ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบ (*Rosa x hybrida* cv. Sena) โดยการนำชิ้นส่วนปลายยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง 2 แหล่ง นั้นคือ LED และหลอดฟลูออเรสเซนต์ พบว่า $AgNO_3$ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดดอก 50% แต่ดอกที่ได้ไม่สมบูรณ์ เป็นการแสดงให้เห็นว่าการใช้ $AgNO_3$ ความเข้มข้นสูงจะเป็นพิษต่อพืช และทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดดอกลดลงในกุหลาบหนู แต่ผลที่ได้ในการทดลองครั้งนี้แตกต่างจากงานวิจัยของสุภาวดี รามสูตร, นุรมา มะเร๊ะ และอัลฮูสนา บายอ (2560) รายงานว่าหลังจากนำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูสีแดง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 93.3 เปอร์เซ็นต์ การเกิดยอดรวมสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 2.75 ยอดต่อชิ้นส่วน จากนั้นนำชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูดอกสีแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS

ที่เติม $AgNO_3$ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างดอกดีที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ และงานวิจัยของอัมพิกา ติ๊บกวาง (2561) ที่ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของข้อกุหลาบหนูบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับซิลเวอร์ไนเตรท ความเข้มข้น 0, 0.25,0.50, 0.75 และ 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองมีการสร้างยอดเกิดขึ้น โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยตั้งแต่ 1.68-1.91 ยอด/ชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและไม่มีการสร้างดอกเกิดขึ้น

สำหรับการชักนำให้เกิดดอกในม่วงเทพรัตน์ จะเห็นได้ว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 1.0 กรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นการเกิดดอกมากที่สุดเท่ากับ 100% โดยงานวิจัยในครั้งนี้ได้มีการนำปุ๋ยเร่งดอกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในห้องปลอดเชื้อ 2 ชนิดคือ ออสโมโค้ท (12-25-6+1%แมกนีเซียม) และยารามีร่าดับเบิล (8-24-24) ซึ่งปุ๋ยออสโมโค้ท-พลัส สูตรเร่งดอก ประกอบไปด้วยธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน (N) 12% ฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ (P_2O_5) 25% โพแทชเซียมที่ละลายน้ำ (K_2O) 6% และปริมาณธาตุอาหารรอง คือ แมกนีเซียม (MgO) 1% ซึ่งธาตุอาหารทั้ง 4 ชนิดนี้ เป็นธาตุอาหารที่ต้นไม้ นำมาใช้ในการช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากพืชให้สมบูรณ์ แข็งแรง ชักนำให้เกิดดอกและทำให้ดอกมีขนาดใหญ่และมีสีสดใสงดงาม โดยเฉพาะฟอสเฟต (P_2O_5) มีมากที่สุด คือ 25% โดยมีหน้าที่และความสำคัญต่อพืช คือ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก กิ่ง ลำต้น ช่วยในการสังเคราะห์ด้วยแสง การหายใจ การแบ่งเซลล์ ช่วยให้รากดูดแร่ธาตุจากดินมาใช้เป็นประโยชน์ได้มากขึ้น ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการรีดิวซ์ไนเตรต ลดความเป็นกรดของน้ำในเซลล์ (cell sap) และที่สำคัญ คือ ช่วยเร่งการออกดอก ส่งผลให้เกิดการติดผล และการสร้างเมล็ดตามมา รวมไปถึงไนโตรเจน (N) ให้ความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะในการสร้างกรดอะมิโน (Amino Acids) กรดนิวคลีอิก (Nucleic Acids) โปรตีน และฮอร์โมนชนิดต่างๆ มีผลโดยตรงต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง และเป็นหนึ่งในองค์ประกอบหลักของคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้ โพแทสเซียม (K) ยังมีบทบาทในกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาล แป้ง และโปรตีน ช่วยส่งเสริมกระบวนการเคลื่อนย้ายน้ำตาล แป้ง และน้ำมัน รวมถึงประสิทธิภาพการใช้น้ำของพืชการให้ผลผลิต และช่วยส่งเสริมภูมิต้านทานของพืชต่อโรคพืช ปุ๋ยออสโมโค้ทสูตรดังกล่าว ยังมีการเพิ่มธาตุอาหารเสริมคือ แมกนีเซียม ซึ่งเป็นส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์ กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เกี่ยวข้องกับกระบวนการการหายใจ และสังเคราะห์ด้วยแสง แต่ที่สำคัญแมกนีเซียมมีส่วนส่งเสริมการดูดซึมและนำการฟอสฟอรัสมาใช้ประโยชน์ได้อีก จึงทำให้พืชมีการสร้างดอกได้มากขึ้น และเป็นปุ๋ยเม็ดละลายช้า ส่งผลให้ส่วนประกอบบางส่วนที่ไม่ละลายน้ำจะเกิดการเปลี่ยนแปลงและ

ค่อยๆ ปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาในรูปที่พืชสามารถใช้ได้ (ปุ๋ยออสโมโค้ท-พลัส, 2022) ส่วนปุ๋ยยาราร่าดับเบิล (8-24-24) เป็นปุ๋ยสูตรเร่งดอกที่มีส่วนผสมประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก นั้นคือ ไนโตรเจน (N) 8% ฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ (P_2O_5) 24% โพแทชเซียมที่ละลายน้ำ (K_2O) 24% ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของลำต้นให้แข็งแรง ช่วยเพิ่มขนาดของใบ ผล เร่งการเกิดดอก และเมล็ด นอกจากนี้ยังช่วยให้พืชมีความต้านทานโรคและแมลงโดยการเพิ่มความหนาของผนังเซลล์ชั้นนอก ทำให้พืชทนต่อสภาพแห้งแล้ง (ยาร่ามีร่า, 2023)

จากคุณสมบัติของปุ๋ยทั้ง 2 ชนิดที่ได้กล่าวมาข้างต้น มีธาตุอาหารครบถ้วนและเกษตรกรนิยมนำมาใช้ในการส่งเสริมการออกดอกของพืช ผู้วิจัยจึงมีแนวคิด และได้นำมาปุ๋ยเร่งดอกทั้ง 2 ชนิดมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรวมถึงการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ ซึ่งยังไม่มีรายงานการใช้ปุ๋ยเร่งดอกกับกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ในสภาพหลอดทดลอง จึงมีความสนใจที่จะนำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้และพบว่าได้ผลดีเป็นอย่างมาก จากการทดลองจะเห็นได้ว่าชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมปุ๋ยยารา มีร่าดับเบิล (8-24-24) ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร สามารถชักนำให้กุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์มีเปอร์เซ็นการเกิดดอกที่เท่ากันคือ 33 % และที่ประสบผลสำเร็จและได้ผลดีคือ อาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์มีเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดดอกเท่ากับ 66 และ 100% ตามลำดับ จากงานวิจัยในครั้งนี้เมื่อมีการเติมปุ๋ยยารามีร่าดับเบิล (8-24-24) ในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีเปอร์เซ็นการชักนำให้เกิดดอกประมาณ 33 % ซึ่งน้อยกว่าอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท (12-25-6+1%แมกนีเซียม) ในระดับความเข้มข้นเดียวกันที่สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ 66-100% ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องด้วยปุ๋ยยารามีร่าดับเบิล (8-24-24) มีอัตราส่วนของฟอสเฟต (P_2O_5) ในสูตรของปุ๋ยน้อยกว่าปุ๋ยออสโมโค้ท (12-25-6+1%แมกนีเซียม) ซึ่งงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยชิ้นแรกที่ได้มีการรายงานผลของปุ๋ยเร่งดอกที่นำมากระตุ้นการออกดอกของพืชในสภาพหลอดทดลอง

5.2 สรุปผลวิจัย

1. จากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์ด้วย NaOCl, SJ Biocide และ CP Biocide ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่า ในทุกชุดการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อมากที่สุดเท่ากับ 100% และไม่มีการปนเปื้อนเกิดขึ้น

2. จากการชักนำให้เกิดยอดโดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA, TDZ, และ KN ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันพบว่าอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด

3. จากการชักนำให้เกิดรากโดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกุหลาบหนูและม่วงเทรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม IBA, IAA และ NAA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่ากุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมออกซินทุกชุดการทดลองไม่มีรากเกิดขึ้น ส่วนม่วงเทพรัตน์จะเห็นได้ว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด

4. จากการชักนำให้เกิดดอกโดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดจากต้นกล้าปลอดเชื้อของกุหลาบหนูและม่วงเทพรัตน์บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมซูโครส ซิลเวอร์ไนเตรท ปุ๋ยเร่งดอก 2 ชนิด คือ ออสโมโค้ท และยารามีร่าดับเบิล ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่า กุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมซิลเวอร์ไนเตรท 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกเท่ากับ 33% ส่วนชิ้นส่วนยอดของม่วงเทพรัตน์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมปุ๋ยออสโมโค้ท 1.0 กรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นการเกิดดอกมากที่สุด เท่ากับ100%

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ในการชักนำให้เกิดยอดของกุหลาบหนู ควรมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินควบคู่ 2 ชนิดร่วมกัน หรืออาจจะมีการเติมร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA, IBA และ NAA เพื่อให้ได้จำนวนยอดที่มากขึ้น

2. ในการชักนำให้เกิดรากในกุหลาบหนู ควรมีเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินร่วมกับกลุ่มไซโตไคนิน หรือเพิ่มระยะเวลาการเก็บผลให้ยาวนานขึ้น นอกจากนี้อาจมีการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักครึ่งหนึ่ง เพื่อเปรียบเทียบการชักนำให้เกิดรากได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

3. ในการชักนำให้เกิดดอกในกุหลาบหนู ควรใช้ต้นกล้าปลอดเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินหรือออกซินมาก่อนหน้านี้ เพื่อส่งเสริมให้เกิดการชักนำดอกได้มากขึ้น

4. ในการศึกษาปุ๋ยเร่งดอก ควรศึกษาผลของธาตุอาหารร่วมด้วย เช่นผลของฟอสฟอรัส ที่มีต่อการชักนำให้เกิดดอก โดยการเปรียบเทียบปุ๋ยฟอสเฟตในรูปต่างๆ ที่นิยมใช้ในงานเกษตรกรรม และนำมาประยุกต์เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

5. การนำปุ๋ยเร่งดอกมาใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นครั้งแรกของงานวิจัย ซึ่งพบว่าปุ๋ยทั้ง 2 ชนิดที่นำมาทดลองเร่งการเกิดดอกได้ดี เหมาะต่อการนำไปใช้ชักนำให้เกิดดอกในสภาพทดลอง และสามารถนำไปต่อยอดงานวิจัยและงานเชิงพาณิชย์ได้ต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์. (2558). อาหารอย่างง่ายจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์และหญ้าหวาน. *Naresuan University Journal : Science and Technology, 23*(1), 74-81.

เกษตรตำบล. (2564). การปลูกต้นกุหลาบให้สวยด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. 22 กุมภาพันธ์ 2566. แหล่งที่มา : https://www.kasettambon.com.

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2559). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. 15 มกราคม 2566. แหล่งที่มา : https://esc.doae.go.th/wp-content/uploads/2018/12.

เคมีทั่วไป. (2022). SJ Biocide. 12 มิถุนายน 2024. แหล่งที่มา : https://www.worldchemical.co.th/product.

จันทร์เพ็ญ ใจซื่อ, สุรพล ฐิติธนากุล, สรายุทธ อ่อนสนิท และ เยาวพรรณ สนธิกุล.(2562). เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. แก่นเกษตร 47 (ฉบับพิเศษ 1), *47*(1).

จิราภรณ์ นิคมทัศน์, ศิริวรรณ โพธิ์แก้ว, สิริวิมล กลิ่นหนู, รณิดา รักธรรม, และบัวหลวง ฝ้ายเยื่อ. (2563). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูโดยอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย. *วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์,* (1), 29–39.

นันทิยา วรรธนะภูติ. (2545). *คู่มือการปลูกไม้ดอก* . กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์.

นุชจรี ทัดเศษ,การันต์ ผึ่งบรรหาร และลลิดา อุดธา. (2562). ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกล้วยหินในสภาพปลอดเชื้อ และผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, *37*(2), 262-273.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์, อัจฉรี เรืองเดช และสมชาย หวังวิบูลย์กิจ. (2560). ผลของ kinetin และ IAA ต่อการเจริญเติบโตและการต้านอนุมูลอิสระจากพรรณไม้น้ำพรมมิ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, *35*(2), 76-83.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. (2558). “ม่วงเทพรัตน์”…ไม้มงคลที่มิใช่เป็นเพียงไม้ประดับ. 19 มีนาคม 2566. แหล่งที่มา : https://pharmacy.mahidol.ac.th.

บ้านและสวน. (2559). ม่วงเทพรัตน์. 11 มกราคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.baanlaesuan.com.

ปุ๋ยออสโมโค้ท-พลัส. (2022). ปุ๋ยออสโมโค้ท-พลัส (สูตรเร่งดอก). 15 มกราคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.siamplants.com.

ประภาพร พงษ์ไทย และสิริแข พงษ์สวัสดิ์ (2553). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้กุหลาบหนูออกดอกในหลอดทดลอง. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*, *14*(2), 13-19.

ประภาษ กาวิชา, น้ำผึ้ง ไชยวรรณ และนิตย์ ศรีแสงเดือน. (2553). การชักนำการออกดอกของกุหลาบหนูในสภาพทดลอง. *ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 9* (หน้า 119). นนบุรี : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. (2538). *เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ :สำนักพิมพ์ โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์.

ปิตุพร พิมพาเพชร. (2564). โครงสร้างของราก. 22 มกราคม 2566 . แหล่งที่มา : https://www.trueplookpanya.com.

ปิยรัษฎ์ เจริญทรัพย์. (2553). ม่วงเทพรัตน์. *หมอชาวบ้าน*, *371*.

พัทธกมล สมบุตร และวุฒิกร อนันตสิริชัย. (2561). การก้าจัดฟอสฟอรัสที่ปนเปื้อนในน้ำโดยกระบวนการตกตะกอนทางไฟฟ้าเคมีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแผ่นทองเหลือง. *รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม*, 1-50.

พันธุ์ไม้. (2558). กุหลาบหนู. 2 มีนาคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.พันธุ์ไม้.com.

พันธุ์ไม้. (2566). กุหลาบหนู. 2 มีนาคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.พันธุ์ไม้.com.

พูนพิภพ เกษมทรัพย์. (2549). *ชีววิทยา 2 สรีรวิทยาของพืช*. กรุงเทพ: ด่านสุทธาการพิมพ์.

พืชเกษตร. (2020). ไม้ดอกไม้ประดับ. 12 มีนาคม 2566 . แหล่งที่มา : https://www.พืชเกษตร.com.

พรพิมล สุริยจันทราทอง. (2545). *หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ*. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

พวงผกา สุนทรชัยนาคแสน. (2549). *กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชมีดอก*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ท้อป จำกัด.

ภพเก้า พุทธรักษ์ รัฐพร จันทร์เดช และวารุต อยู่คง. (2555). การขยายพันธุ์บอนสีกุหลาบหิน และคว่ำตายหงายเป็นโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารวิทยาศาสตร ลาดกระบัง*, *21*(2), 1-15.

ภพเก้า พุทธรักษ์. (2556). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. เชียงใหม่: นพบุรีการพิมพ์.

มัณฑนา บัวหนอง. (2558). การใช้สารในกลุ่มไซโตไคนินในการปรับปรุงคุณภาพและยืดอายุไม้ดอกไม้ประดับ. *Posthavest Newsletter*, *14*(2), 5-7.

มณฑล สงวนเสริมศรี, รัฐพร จันทร์เดช, พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์, วารุต อยู่คง และภพเก้า พุทธรักษ์. (2556). การชักนำให้เกิดหลายยอดจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของกุหลาบปารากวัยในสภาพปลอดเชื้อ. *Naresaun Phayao J [Internet]*, *6*(1), 47-51.

ม่วงเทพรัตน์ไม้มงคลที่มิใช่เป็นเพียงไม้ประดับ. (2558). ม่วงเทพรัตน์. 21 มีนาคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.scimath.org.

ยาร่า แห่งประเทศไทย. (2565). ปุ๋ยยารา มีร่าดับเบิล(8-24-24). 14 มกราคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.yara.co.th.

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. (2557). อิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *Thai Journal of Science and Technology*, *3*(1), 126-131.

เยาวลักษณ์ ฉัตรสุวรรณ และกาญจนา รุ่งรัชกานนท์. (2557). การขยายพันธ์และการออกดอกกุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อ. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ มอบ.วิจัย ครั้งที่ 8 ผลงานนำเสนอโปสเตอร์* (หน้า 33-40). อุบลราชธานี : มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. (2545). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค* (พิมพ์ครั้งที่ 3).กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รัตนา ขามฤทธิ์ และสุชีรา งอนภูเขียว. (2563). การชักนำให้เกิดยอดและรากของว่านสี่ทิศในสภาพปลอดเชื้อ. *KHON KAEN AGR. J.*, *48*(1), 1025-1030.

รัตนา ขามฤทธิ์ และอนัญญา กิ่งหลักเมือง. (2561). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นและรากจากการเพาะเลี้ยงข้อกุหลาบหนูในสภาพหลอดทดลอง. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, *49*(1), 287-290.

ลิลลี่ กาวีเต๊ะ. (2546). *การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงศ์, สุรียา ตันติววัฒน์ และณรงค์ วงศ์กันทรากร. (2556). *สรีรวิทยาของพืช* (พิมพครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ : สำนักพิมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันวิสาข์ ระมั่งทอง และมัทนภรณ์ ใหม่คามิ (2563). อิทธิพลของหญ้าหวานต่อการเจริญเติบโตของม่วงเทพรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อ. *งานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 12 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม*, 92-99

ศิริกาญจน์ กอบเกียรติถวิล, ปริยานุช จุลกะ, พิจิตรา แก้วสอน และเฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์. (2562). ผลของสารละลายซิลเวอร์ไนเทรตและ NAA ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของดอกฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis*) เพศเมีย.*วารสารเกษตร, 35*(1), 13–22.

ศิรินธร คงประพฤติ. (2551). ปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำแคลลัส การเจริญของยอด และการออกดอกของกุหลาบพันธุ์มายวาเลนไทน์ในหลอดทดลอง.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาพืชศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เศรษฐมันตร์ กาญจนกุล. (2553). ร้อยพรรณพฤกษา พรรณไม้สีม่วง. 9 มีนาคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.car.chula.ac.th

สวิตา วันหวัง, มณฑารพ สุธาธรรม, ชเนศ วรรณะ, ธราธร ทีรฆฐิติ และศิริรัตน์ พักปากน้ำ. (2564). ผลของ BA ต่อการเจริญและพัฒนาของตาข้างกุหลาบหนู (Rosa chinensis Jacq. var. minima Voss) ในหลอดทดลอง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี, 9*(1), 19-30.

สารกันเสีย. (2024). CP Biocide. 10 มิถุนายน 2567. แหล่งที่มา : https://www.lazada.co.th/biocide-cp-i4556034956.html.

สารานุกรมเสรี. (2564). ม่วงเทพรัตน์. 26 มกราคม 2567. แหล่งที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki.

สารานุกรมพืชในประเทศไทย (ฉบับย่อ). (2560). ม่วงเทพรัตน์. 5 มีนาคม 2566. แหล่งที่มา : https://www.dnp.go.th/botany.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. (2548). *สรีรวิทยาของพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุจิตรา สืบนุการณ์. (2553). การขยายพันธุ์และการชักนำให้เกิดดอกของกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อ. *การเกษตรราชภัฏ, 9*(1), 13-22.

สุธานีธิ์ ยุกตะนันทน์. (2538). *กุหลาบราชินีดอกไม้.* กรุงเทพ: บ้านและสวน.

สุมนทิพย์ บุนนาค. (2556). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการถ่ายยีนสู่พืช.* ขอนแก่น: ฝ่ายวิชาการและเทคโนโลยีสารสนเทศ สำนักนวัตกรรมการเรียนการสอน มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุมาลี ชูกำแพง. (2566). *การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน : หลักการและแนวคิด (HYDROPONICS: PRINCIPLES AND CONCEPTS)* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์, ยี่โถ ทัพภะทัต, เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี, เกวลิน คุณาศักดากุล, รมณีย์ เจริญทรัพย์, พนมพร วรรณประเสริฐ, เพชรรัตน์ จันทรทิณ และ Ray Lebon Ong. (2564). *งานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพ: ศูนย์การพิมพ์แก่นจันทร์.

สุรีรัตน์ เย็นช้อน, มาลัยวัลย์ ยังนิ่ง และสมปอง เตชะโต. (2557). ผลของซิลเวอร์ไนเตรทต่อการยืดอายุการบานของกุหลาบสายพันธุ์มายวาเลนไทน์ในหลอดทดลอง. *แก่นเกษตร, 42*(3), 573-577.

สุภาวดี รามสูตร, นุรมา มะเร๊ะ และอัลฮูสนา บายอ. (2560). ผลของซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำดอกและการยืดอายุการบานของกุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อ. *วิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, *36*, 39-49.

แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ. (2547). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Plant Tissue Culture).* เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

เสาวลักษณ์ กิตติธนวัตร. (2020). สถานการณ์และทิศทางไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทยในปี 2563. 15 มกราคม. แหล่งที่มา : https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/03.

อภัย ราษฎรวิจิตร. (2560). ซิลเวอร์ไนเตรต. 17 มกราคม 2566. แหล่งที่มา : https://haamor.com.

อัมพิกา ติ๊บกวาง. (2561). ผลของไซโตไคนินและซูโครสต่อการเพาะเลี้ยงกุหลาบหนู. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 23*(2), 712-721.

อัญชลี จาละ และยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ. (2557). ความเข้มข้นของเจลไรต์ น้ำตาล และมุมเอียงลาดในการปักชิ้นส่วนบนอาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของต้นพรมมิในสภาพปลอดเชื้อ. *Thai Journal of Agricultural Science*, *2*(1), 48-54

อัญชลี จาละ. (2548). ผลของสาร NAA BA และ 2,4-D ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูในสภาพปลอดเชื้อ. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะวิยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, ปทุมธานี.

อาภรณ์ รับไชย, (2560). โครงสร้างและหน้าที่ของพืชดอก (Plant form and function). *คลังความรู้ SciMathสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.),* 1-18

อุดม นวพานิช, (2549). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

อุไร จิรมงคลการ, (2563). *รวมพันธุ์ไม้ดอก* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บ้านและสวน.

Achar, S.S., & Vinjamuri, S. (2021). A simple and efficient micropropagation protocol for developing plantlets of *Exacum bicolor* ROXB. – an endangered, ornamental, and antidiabetic herb. *Asian J Pharm Clin Res, 14*(5), 36-40.

Afrin, S., Rahman, M.A., Khalekuzzaman, M., Hasan, M.M., Fahim, A. H. F., & Alam, M.A. (2022). Study on *In Vitro* micropropagation of *Rosa* sp. *Bangladesh J. Agri. 2022, 47*(1), 66-74.

Aliabad, K. K., Rezaee, A., Homayoonfar, F., & Zamani, E. (2019). The Influence of Growth Regulators on *In-Vitro* Culture of *Rosa Hybrida. Journal of Computational and Theoretical Nanoscience, 16*, 2990– 2994.

Al-Khalifah, N. S., Hadi, S., & Khan, F. (2005). Influence of Sucrose Concentration on *in vitro* Growth of Five Rose (*Rosa hybrida* L.) *Cultivars.Plant Tissue Cult*, *15*(1), 43-49.

A Practice of Anesthesia for Infants and Children. (2019). Silver Nitrate. 10 June 2024. Source : https://www.sciencedirect.com.

Barna, K. S., & Wakhlu, A. K. (1995). Effects of thidiazuron on micropropagation of rose. *In Vitro Celt*., *3*, 44-46.

Brunda, S. M., Naveen kumar, K.L., & Umeshkumar, V. (2015). *In vitro* propagation of *Rosa hybrida* cv. 'Jogan'. *Progressive Horticulture*, *49*(2), 178-180.

Charantharayil, G. Sydga & Seeni, S. (1994). "*In vitro* multiplication and field establishment of *Adhatoda beddomei* C.B. Clarke, a rare medicinal plant. *Plant Cell Reports*. *13* , 203-207.

Chithra, M., Martin, K. P., Sunandakumari, C., & Madhusoodanan, P.V. (2004). Silver nitrate induced rooting and flowering *in vitro* on rare rhoeophytic woody medicinal plant, *Rotula aquatica* Lour. *Indian Journal of Biotechnology*, *3*, 418-421.

Chotikadachanarong, K. (2013). Influence of commercial bleachon sterilization of Persian violet (*Exacum affine* Balf. f. ex Regel) tissue culture media. *Rajabhat Journal of Science, Humanities and Social Science, 14*(2), 34-43.

Darwesh, R.S., E.A. Adbolly & E.G. Gadalla. (2013). Impact of indole butyric acid and paclobutrazol on rooting of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) off-shoots cultivar Zaghloul. *J. Hort. Sci. Orn.Plants*, *5*(3), 145-150.

Elom, M., & Beyer, Jr. (1976). A Potent Inhibitor of Ethylene Action in Plants. *Plant Physiol*, *58*, 268-271.

Giridhar, P., Indu, E. P., Ramu, D. V., & Ravishankar, G. A. (2003). Effect of silver nitrate *on in vitro* shoot growth of coffee. *Trop. Sci.*, *43*, 144–146.

Girila, S. Ganapathi, A & Vengadesan, G. (1999). Micropropagation of Crossandra infundibuliformis (L.) Nees. *Scientia Horticulturae*, *82*, 331-337.

Harathi, K., & Naidu, C. V. (2016). Influence of Ethylene Inhibitor Silver Nitrate on Direct Shoot Regeneration from *in Vitro* Raised Shoot Tip Explants of *Sphaeranthus indicus* Linn.-An Important Antijaundice Medicinal Plant. *American Journal of Plant Sciences*, *7*, 525-532.

Hesar, A. A., Kaviani, B., Tarang, A., & Zanjan, S.B. (2011). Effect of different concentrations of kinetin on regeneration of ten weeks (*Matthiola incana*). *Plant Omics Journal*, *4*, 236-238.

Hyde, C., & Philips, G. (1996). Silver nitrate promotes shoot development and plant regeneration of Chile pepper *(Capsicum annuum* L.) via organogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *32*, 72-80.

Jabbarzadeh, Z., & Khosh-Khui, M. (2005). Factors affecting tissue culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.). *Scientia Horticulturae*, *105*, 475–482.

Jafar Jaskani, M., Qasim, M., Sherani, J., Hussain, Z., & Abbas, H. (2005). Effect of growth hormones on shoot proliferation of rose cultivars. *Pak. J. Bot*., *37*(4), 875-881.

Jeong, B. R., & Sivanesan, I. (2015), Direct adventitious shoot regeneration, in vitro flowering, fruiting, secondary metabolite content and antioxidant activity of *Scrophularia takesimensis* Nakai. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, *123*(3), 607-618.

Kanchnapoom, K., Jingjit, S., & Kanchnapoom, K. (2011). *In vitro* flowering of shoots regenerated from cultured nodal explants of *Gypsophila paniculata* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 39*(1), 84-87.

Kay, T. O., Khin, M. L., & Aye, A. K. (2021). In Vitro Micropropagation of Rose (*Hybrid Rosa* spp.) through Plant Tissue Culture Technique. *Journal of Scientific and Innovative Research 2021, 10*(1), 1-4.

Kharde, A.V., & Kshirsagar, A. B. (2014). Effect of BAP and kinetin on nodal culture of *Rosa hybrida L. Bionano Frontier*, *2*, 254-257.

Kumar, V., Parvatam, G., & Ravishankar, G. A. (2009). $AgNO_3$ - a potential regulator of ethylene activity and plant growth modulator. *Molecular Biology and Genetics*, *12*(2), 1-15.

Maheswari, & Vaishnavi K. (2018). *In vitro* micropropagation of rosa damascena mill l. *Asian Journal of Multidimensional Research (AJMR), 7*(10), 107-114.

Mangkita, W., O. Anugoolprasert, R. Ohsawa & S. Hisajima. (2007). Micropropagation of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) plant *in vitro*. *Environment Control in Biology*, *45*(2), 127-132.

Matos, A.V.C.S., Oliveira, B.S., Oliveira, M.E.B.S., & Cardoso, J.C. (2020). $AgNO_3$ improved micropropagation and stimulate *in vitro* flowering of rose (*Rosa* x *hybrida*) cv. Sena**.** *Ornam. Hortic***,** *27*(1), 33-40.

Maurya, R.P., Yadav, R.C., Godara, N. R., Beniwal, V.S. (2013). *In vitro* plant regeneration of rose (*rosa hybrida* L.) cv. „benjamin paul“ through various explants. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 1*(28), 111-119.

Murashige T, Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant, *15*, 473-479.

Nejatzadeh-Barandozi, F., Darvishzadeh, F., & Aminkhani, A. (2014). Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of (*Ocimum basilicum* L.). *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, *4*(11), 1-6.

Ozdogru, E.A., Ozden-tokatli, Y., & Akcin, A. (2005). Effect of silver nitrate on multiple shoot formantion of Virginia-type peanut through shoot tip culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *41*, 151-156.

Ozel, C. A., & Arsian, O. (2006). Efficient micropropagation of english shrub rose “Heritage” under *in vitro* conditions. *International Journal of Agriculture & Biology, 8*(5), 626-629.

Pikulthong, V., Phakpaknam, S., Dechkla, M., & Teerakathiti, T. (2018). Optimal medium for watercress (Alternanthera sp.) micropropagation. *Suan Sunandha Science and Technology Journal, 5*(2), 27- 32.

Pratheesh, P.T., & Kumar, A. M. (2012). *In vitro* flowering in *Rosa indica L*. *IJPBS*, *2*(1), 196-200.

Puhan, P., & Siddiq, E.A. (2013). Protocol optimization and evaluation of rice varieties response to in *vitro* regeneration. Advances in Bioscience and Biotechnology, *4*, 647-653.

Rout, GR. (2004). Effect of cytokinins and auxins on micropropagation of *Clitoria termatea* L. Available online at http://www.biollett.amu.edu.pl. (Access data : 4 August 2008).

Sarai, N., Bodhipadma, K., Noichinda, S., Luangsriumporn, P., & Leung, D.W.M. (2017). Microshoot culture of Persian violet: Plant regeneration and *In Vitro* flowering. *Annals of Agricultural Science, 12*(1),105-111.

Songsri, O., Jirakiattikul, Y., Rithichai, P., & Itharat, A. (2012). Surface sterilization of single node cuttings for *in vitro* culture of *Dioscorea birmanica*. *Agricultural Science Journal, 43*(2), 637-640.

Srichuay, W., Promchan, T., & Te-chato, S. (2018). Effect of Chlorine Dioxide (ClO_2) on Culture Medium Sterilization on Micropropagation of Persian Violet (*Exacum affine* Balf.f. ex Regel). *International Journal of Agricultural Technology, 14*(2), 259-270.

Taji, A. M., Dodd, W. A. & Williams, R. R. (1997). *Plant tissue culture practice*. Armidale, NSW: University of New England Printery.

Theerakarunwong, C. & Chouychai, W. (2013). Efficiency of titanium dioxide on mungbean seed sterile and their nanotoxicity to mungbean growth *in vitro*. *International Journal of Agriculture & Biology, 15*, 1039-1042.

Vijay, R., Shukal, J., & Saxena, R. (2016). Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L.: An Important Medicinal Plant of India. *International Journal of Pure & Applied Bioscience, 4*(6), 159-167.

Wojtania, A., & Matysiak, B. (2018). *In vitro* propagation of *Rosa* 'Konstancin' (*R. rugosa* × *R. beggeriana*), *A plant with high nutritional and pro-health value. Folia Hort, 30*(2), 259-267.

Yusnita, J., Agustian, S., & Hapsoro, D. (2018). A combination of IBA and NAA resulted in better rooting and shoot sprouting than single auxin on Malay apple *Syzygium malaccense* (L.) stem cuttings. *AGRIVITA Journal. of Agricultural Science*, *40*(1), 80-90.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง MS (Murashige & Skoog, 1962)

1.การเตรียม Stock solution

Stock solution I : Macronutrient, 100X	(กรัม/500 มิลลิลิตร)
$CaCl_2.2H_2O$	22
Stock solution II : Micronutrient, 1,000X	(กรัม/100 มิลลิลิตร)
$MnSO_4.4H_2O$	2.23
$ZnSO_4.7H_2O$	0.86
H_3BO_3	0.62
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.025
$CuSO_4.4H_2O$	0.0025
$CoCl_2.6H_2O$	0.0025
Stock solution III : Micronutrient, 1,000X	(กรัม/มิลลิลิตร)
KI	0.083
Stock solution VI : Vitamins, 1,000X	(กรัม/มิลลิลิตร)
Glycine	0.2
Nicotinic acid	0.05
Pytidoxine-HCl	0.05
Thiamin-HCl	0.01
Myo-inositol	10.00
Stock solution I : Iron/EDTA	(กรัม/มิลลิลิตร)
$FeSO_4.4H_2O$	0.557
$NaEDTA.2H_2O$	0.745

ชั่ง $FeSO_4$ และ $Na_2EDTA.2H_2O$ แยกกัน ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ความร้อนประมาณ 60 องศาเซียส จนละลายดีจึงเทรวมกัน Stock solution ทุกขวดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง MS ปริมาตร 1 ลิตร

2.1 ชั่งสารเคมีต่อไปนี้

KNO_3	1.90 กรัม
NH_4NO_3	1.65 กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.37 กรัม
KH_2PO_4	0.17 กรัม

2.2 ละลายสารแต่ละชนิดด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารเคมีที่ละลายไว้ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่เติมน้ำกลั่นไว้ 500 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันตลอดเวลา

2.4 เติมน้ำตาล 30 กรัม

2.5 เติม Stock solution ต่อไปนี้

Stock solution I	10 มิลลิลิตร
Stock solution II	1 มิลลิลิตร
Stock solution III	1 มิลลิลิตร
Stock solution VI	1 มิลลิลิตร
Stock solution V	5 มิลลิลิตร

2.6 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ถ้าใส่)

2.7 ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.8 ปรับ pH ของสารละลายให้ได้ 5.8 ด้วย HCl 1 N และ NaOH 1 N

2.9 เติมวุ้น 7 กรัม แล้วนำเข้าอุ่นในไมโครเวฟเพื่อให้วุ้นละลาย

2.10 เทใส่ขวดเพาะเลี้ยงแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นายพนม คงเมือง	
วัน เดือน ปี เกิด	28 มิถุนายน 2519	
สถานที่เกิด	จ.ตรัง	
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	17/1 หมู่ที่ 7 ต.นาหมื่นศรี อ.นาโยง จ.ตรัง	
ตำแหน่งและประวัติการทำงาน	ครู ค.ศ.3	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2526-2531	การศึกษาระดับประถมศึกษา โรงเรียนบ้านควนสวรรค์ อ.นาโยง จ.ตรัง
	พ.ศ. 2532-2537	การศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลาย โรงเรียนสวัสดิ์รัตนาภิมุข อ.นาโยง จ.ตรัง
	พ.ศ. 2538- 2542	การศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต วิชาเอก ชีววิทยา ม.ทักษิณ จ.สงขลา