

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อิทธิพลของฮอร์โมนพืช พิเอช ความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต และปริมาณน้ำใน

อาหารสูตร Gamborg B5 ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ

EFFECT OF PHYTOHORMONE, pH, FERROUS SULFATE  
CONCENTRATION AND WATER CONTENT IN GAMBORG B-5  
MEDIUM ON ROSE TISSUE CULTURE



T117335

นางสาวนิโลบล

พระไตรยะ

นายภาณุพงศ์

ธีรศักดิ์วรกุล

นายวรัธก์

สุขพานิช

สาขา.....  
เลขทะเบียน..... 117335  
พ.เดือน,ปี..... 20 ก.ค. 2554

b. 12340017  
.....  
.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECT OF PHYTOHORMONE, PH, FERROUS SULFATE  
CONCENTRATION AND WATER CONTENT IN GAMBORG B-5  
MEDIUM ON ROSE TISSUE CULTURE**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN BIOTECHNOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**ACADEMIC YEAR 2010**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ อธิทธิพลของฮอร์โมนพืช พิเอช ความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต และปริมาณน้ำในอาหารสูตร Gamborg B5 ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ  
Effect of phytohormone, pH, ferrous sulfate concentration and water content in Gamborg B-5 medium on rose tissue culture

ชื่อนักศึกษา นางสาวนิโลบล พระไตรยะ รหัสนักศึกษา 50050732  
นายภานุพงศ์ ชีรศักดิ์วรกุล รหัสนักศึกษา 50050751  
นายวรวิทย์ สุขพานิช รหัสนักศึกษา 50050762


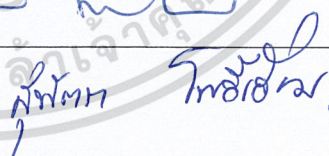
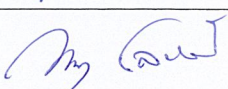
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

ปีการศึกษา 2553

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม กรรมการ	
ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	อิทธิพลของฮอร์โมนพืช พีเอช ความเข้มข้นของเฟอร์ริซัลเฟต และปริมาณน้ำในอาหารสูตร Gamborg B5 ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนิโลบล	พระไตรยะ	รหัสนักศึกษา 50050732
	นายภาณุพงศ์	ธีรศักดิ์วรกุล	รหัสนักศึกษา 50050751
	นายวรวิทย์	สุขพานิช	รหัสนักศึกษา 50050762
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
ปีการศึกษา	2553		
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี		

### บทคัดย่อ

อาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนูที่ใช้ในโครงการพิเศษนี้คืออาหารสูตร Gamborg B5 ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 1% ซึ่งใช้ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต pH ความเข้มข้นของเฟอร์ริซัลเฟตและปริมาณน้ำต่อการเจริญของยอดในกุหลาบหนู จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าอาหารสูตร Gamborg B5 ที่เติม BA 1.0 มก./ล และ NAA 1.0 มก./ล เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญของยอดและ pH ที่มากกว่า 7 จะยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดกุหลาบหนู ความเข้มข้นของเฟอร์ริซัลเฟตที่ความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นปกติในอาหารสูตร Gamborg B5 จะยับยั้งการเจริญของยอดกุหลาบหนู นอกจากนี้ปริมาณน้ำในอาหารที่มีมากช่วยในการเจริญของยอดกุหลาบหนู การวัดการเจริญเติบโตโดยถ้านับจำนวนก้านใบ ไม่สามารถใช้วัดการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบหนู

**คำสำคัญ :** ต้นกุหลาบหนู สารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของเฟอร์ริซัลเฟต และ pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Title** Effect of phytohormone, pH, ferrous sulfate concentration and water content in Gamborg B-5 medium on rose tissue culture

**Student** Miss Nilobol Pratraiya ID 50050732  
Mr. Panupong Teerasakworakun ID 50050751  
Mr. Worawat Sukpanit ID 50050762

**Degree** Bachelor of Science

**Major Program** Biotechnology

**Academy Year** 2010

**Advisor** Asst.Prof.Dr. Pana Lohasupthawee



### ABSTRACT

The medium for rose tissue culture that used in this special project was Gamborg B5 medium supplemented with 1% activated charcoal. The effect of phytohormone, pH, ferrous sulfate concentration and water content in this medium were studied for the growth of rose shoots in vitro. The results showed that Gamborg B5 medium supplemented with 1.0 mg/l BA and 1.0 mg/l NAA was found to be the best combination for shoot elongation. pH above 7 could inhibit the shoot elongation. Higher concentration of ferrous sulfate than that of the normal concentration in Gamborg B5 medium could inhibit the growth of shoots. High water content could support the shoot elongation. To measure the growth by counting the number of petioles per shoot could not be used to determine the growth of rose tissue culture.

**Keywords** : Fairy Rose, Hormone, Ferrous sulfate concentration and pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้เนื่องจากได้รับความกรุณา และ คำแนะนำจากท่านอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี จึงกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำสั่งสอนเทคนิค วิธีการต่าง ๆ ให้ความรู้เพิ่มเติม และประสบการณ์ที่ดีในด้านต่าง ๆ แก่ เจ้า ตลอดจนแนวทางในการแก้ปัญหาที่เป็นประโยชน์รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขโครงการพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากอาจารย์ในทุก ๆ ด้าน

ขอกราบ ขอบพระคุณ ผศ.ดร. อนุรักษ์ โปธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ ผศ.ดร. สุพัตรา โปธิ์เอี่ยม และ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการสอบโครงการพิเศษที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบและชี้แนะในการแก้ไข โครงการพิเศษฉบับนี้ให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงานด้านต่าง ๆ อำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการปฏิบัติงานจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณทุกคนในครอบครัว ที่ให้กำลังใจในการสนับสนุน ตลอดจนความช่วยเหลือในทุก ๆ เรื่องเสมอมา

ขอขอบคุณพี่ ๆ และ เพื่อน ๆ ที่คอยให้คำปรึกษา เสนอ ให้กำลังใจ และ มิตรภาพที่ดี ทำให้โครงการพิเศษเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี และขอบคุณพระเจ้าที่อยู่ด้วยกับเราตลอดการทำโครงการพิเศษ

นางสาวนิโลบล พระไทรยะ

นายภานุพงศ์ ชีรศักดิ์วรกุล

นายวรวิทย์ สุขพานิช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	IX

## บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและสำคัญของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2

## บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของกุหลาบหนู	3
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	4
2.3 เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	4
2.4 การคัดเลือกและการแยกเนื้อเยื่อพืช	5
2.4.1 การเลือกชิ้นส่วนพืช	5
2.4.2 การจัดตั้งปนเปื้อน	6
2.5 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	7
2.5.1 องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	7
2.5.2 ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการเตรียมอาหาร	7
2.6 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช	9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ออกขึ้นสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.2 จิบเบอเรลลิน	9
2.6.3 ไซโตไคนิน	10
2.6.4 เอทิลินและสารปลดปล่อยเอทิลิน	10
2.6.5 สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช	10
2.6.6 สารยับยั้งการเจริญเติบโต	10
2.6.7 สารอื่นๆ	10
2.7 แสงและอุณหภูมิ	11
2.8 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	11
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย</b>	
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	14
3.1.1 ดินพืชที่นำมาใช้ในการทดลอง	14
3.1.2 สารเคมี	14
3.1.3 อุปกรณ์	14
3.1.4 เครื่องมือ	15
3.2 ขั้นตอนการทดลอง	15
3.2.1 การเตรียมตัวอย่างต้นพืชที่นำมาใช้ในการทดลอง	15
3.2.2 ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง	15
3.2.3 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต	
ต่อส่วนตาข้างของต้นกุหลาบหนู	16
3.2.4 การศึกษาอิทธิพลของเฟอรส์ซัลเฟตที่มีผลต่อการเจริญ	
ส่วนตาข้างของต้นกุหลาบหนู	16
3.2.5 การศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรด่างที่มีผลต่อ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
การเจริญของต้นกุหลาบหนู 17  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.6 การศึกษาอิทธิพลของสถานะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่มีผลต่อ การเจริญของต้นกุหลาบหนู	17
---	----

### บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อ ส่วนต่าข้างของต้นกุหลาบหนู	18
4.2 การศึกษาอิทธิพลของเฟอรืสซัลเฟตที่มีผลต่อการเจริญ ส่วนต่าข้างของต้นกุหลาบหนู	23
4.3 การศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดต่าที่มีผลต่อการเจริญ ของต้นกุหลาบหนู	26
4.4 การศึกษาอิทธิพลของสถานะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่มีผลต่อ การเจริญของต้นกุหลาบหนู	29

### บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อ ส่วนต่าข้างของต้นกุหลาบหนู	32
5.2 การศึกษาอิทธิพลของเฟอรืสซัลเฟตที่มีผลต่อการเจริญ ส่วนต่าข้างของต้นกุหลาบหนู	32
5.3 การศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดต่าที่มีผลต่อการเจริญ ของต้นกุหลาบหนู	33
5.4 การศึกษาอิทธิพลของสถานะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่มีผลต่อ การเจริญของต้นกุหลาบหนู	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	38
ภาคผนวก ข	39



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 แสดงอัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในสูตรอาหารต่างๆ	16
ตารางที่ 4.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญ ของกุหลาบหนุส่วนตาข้าง	21
ตารางที่ 4.2 ผลของระดับความเข้มข้นของธาตุเฟอร์ริลเฟตที่แตกต่างกันต่อ ค่าเฉลี่ยของความสูงและค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบหนุ	25
ตารางที่ 4.3 ผลของค่าความป็นกรดค้างที่แตกต่างกันต่อค่าเฉลี่ยความสูง และค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบหนุส่วนตาข้าง	28
ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบหนุที่เพาะเลี้ยง ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5	30



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 กุหลาบหนู	3
รูปที่ 4.1 กุหลาบหนูที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนตาข้างในอาหารเพาะเลี้ยง สูตร Gamborg B-5 ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ	20
รูปที่ 4.2 ค่าความสูงโดยเฉลี่ยของกุหลาบหนูส่วนตาข้างในอาหารเพาะเลี้ยง สูตร Gamborg B-5 ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ	22
รูปที่ 4.3 จำนวนก้านใบโดยเฉลี่ยของกุหลาบหนูส่วนตาข้างในอาหารเพาะเลี้ยง สูตร Gamborg B-5 ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ	22
รูปที่ 4.4 ต้นกุหลาบหนูที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 โดยมีความเข้มข้นของเฟอรส์ซัลเฟตแตกต่างกัน	24
รูปที่ 4.5 ค่าความสูงโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยง สูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอรส์ซัลเฟตแตกต่างกัน	25
รูปที่ 4.6 จำนวนก้านใบโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยง สูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอรส์ซัลเฟตแตกต่างกัน	26
รูปที่ 4.7 ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน	27
รูปที่ 4.8 ค่าความสูงโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยง สูตร Gamborg B-5 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน	28
รูปที่ 4.9 จำนวนก้านใบโดยเฉลี่ยของกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยง สูตร Gamborg B-5 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน	29
รูปที่ 4.10 ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5	30
รูปที่ 4.11 ความสูงโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนู ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B5	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

ประเทศไทยมีกุหลาบหลากหลายชนิด ตั้งแต่ดอกเล็ก ดอกกลาง ดอกใหญ่ ด้วยลักษณะของดอกรวมไปถึงการมีสีสันทที่สวยงามจึงทำให้ดอกกุหลาบเป็นที่นิยม กุหลาบเป็นไม้ตัดดอกที่มีการปลูกเป็นการค้ากันแพร่หลาย ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกุหลาบตัดดอกประมาณ 5,500 ไร่ กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ตาก นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี และกาญจนบุรี

การผลิตกุหลาบในประเทศไทยส่วนใหญ่จะเพาะปลูกกุหลาบตัดดอกเพื่อการค้าขาย โดยอาจแบ่งลักษณะการผลิตกุหลาบได้เป็น 2 ลักษณะคือ การผลิตกุหลาบในเชิงปริมาณ และการผลิตกุหลาบเชิงคุณภาพ การผลิตกุหลาบเชิงปริมาณ หมายถึง การปลูกกุหลาบในพื้นที่ขนาดใหญ่ หรือปลูกในพื้นที่ราบ ซึ่งจะให้ผลผลิตมีปริมาณมาก ส่วนการผลิตกุหลาบในเชิงคุณภาพ นิยมปลูกในเขตภาคเหนือ และบนที่สูง โดยปลูกกุหลาบภายใต้โรงเรือนพลาสติก ในพื้นที่จำกัด มีการจัดการการผลิตและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวที่ดี ใช้แรงงานที่ชำนาญ ทำให้กุหลาบที่ได้มีคุณภาพดี และปักแจกันได้นาน และกุหลาบหนูก็เป็นสายพันธุ์กุหลาบอีกหนึ่งชนิดที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีขนาดดอกที่เล็ก สีสันทสวยงาม และปลูกง่ายออกดอกในปริมาณมาก

ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพของพืชได้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว และวิธีที่ได้รับความนิยมมากวิธีหนึ่งคือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จึงมีหลายคนได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มาใช้ในการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณของกุหลาบหนู ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถทำได้ในห้องทดลองและทำได้ในปริมาณมากๆ ได้ ซึ่งเราสามารถที่จะควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้ไม่ว่าจะเป็นสารอาหาร อุณหภูมิ แร่ธาตุ รวมไปถึงสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่สำคัญการพัฒนาให้กุหลาบหนูออกดอกในขวดทดลองก็เป็นงานวิจัยกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากสามารถทำได้ในปริมาณมาก และได้ต้นกุหลาบหนูที่มีขนาดเล็กในขวดอาหาร ประหยัดพื้นที่ในการเพาะปลูก ดังนั้นจึงได้มีการจัดทำโครงการนี้เพื่อขยายพันธุ์กุหลาบหนูในขวดอาหารให้มีปริมาณมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

- 1.2.1. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบหนูจากสูตรอาหารที่เดิม  
สารควบคุมการเจริญเติบโต
- 1.2.2. เพื่อศึกษาการเจริญของต้นกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของธาตุเหล็กที่  
แตกต่างกัน
- 1.2.3. เพื่อศึกษาการเจริญของต้นกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง  
แตกต่างกัน
- 1.2.4. เพื่อศึกษาปริมาณของน้ำในอาหารเพาะเลี้ยงที่ส่งผลต่ออัตราการเจริญของต้นกุหลาบหนู

## 1.3. ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นกุหลาบหนู เช่น ความเข้มข้นของสารควบคุม  
การเจริญเติบโต ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของธาตุเหล็ก ปริมาณน้ำในอาหารเพาะเลี้ยง ที่  
จะส่งผลต่อการเจริญของต้นกุหลาบหนู การศึกษาวิจัยนี้จะดำเนินการศึกษาในระยะเวลา 8 เดือน  
ตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ.2553 ถึงเดือน กุมภาพันธ์ 2554

## 1.4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1. ได้ปริมาณต้นกุหลาบหนูในขวดอาหารเพิ่มมากขึ้น
- 1.4.2. สามารถปรับปรุงพัฒนาสูตรอาหารและปัจจัยต่างๆ ที่มีความเหมาะสมต่อการ  
เจริญเติบโตของกุหลาบหนูส่วนตาข้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ลักษณะทั่วไปของกุหลาบหนู ( ปิฎฐะ , 2549)

กุหลาบหนูเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ ROSACEAE ชื่อวิทยาศาสตร์ *Rosa chinensis* Jacq. var. *minima* Voss ชื่อสามัญ Fairy Rose หรือ Pygmy Rose ลักษณะทั่วไปเป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 20 - 50 เซนติเมตร ลำต้นมีหนาม ใบเป็นใบประกอบออกสลับ ใบย่อย 5 ใบ เป็นรูปรี ขอบหยัก ปลายแหลม โคนมน หูใบติดกับก้านใบ สีเขียวสด ดอกมีหลายสี เช่น สีแดง สีขาว สีชมพู และดอกเดี่ยว 2 สี ออกเป็นดอกเดี่ยวๆ ที่ปลายยอดกลีบดอกมีทั้งชั้นเดียวและหลายชั้น มีกลีบดอก 5 กลีบ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียแยกที่อยู่กัน ปลายกลีบดอกเป็นสีแดง โคนกลีบดอกเป็นสีขาว เวลาออกดอกบานจะดูสวยงามสดใส มากออกดอกตลอดทั้งปี (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 รูปกุหลาบหนู

ที่มา :<http://gotoknow.org/blog/nature/387007>

การขยายพันธุ์ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด การตอนกิ่ง การปักชำกิ่ง การติดตา กุหลาบหนูเป็นไม้กลางแจ้งปลูกได้ทั้งลงดินและปลูกลงกระถางจัดเป็นไม้ขอบเขตจัด ไม่ชอบน้ำท่วมขัง

การดูแลรักษา ถ้าปลูกลงดินควรยกแปลงปลูกให้สูง ปลูกในกระถางควรทำทางระบายน้ำให้ระบายน้ำได้ดี ตั้งในที่ที่มีแดดส่องถึงทั้งวัน ดินที่ใช้ปลูกเพิ่มฟางแห้งหั่น ปุ๋ยหมักปุ๋ยคอก แกลบคั่ว แกลบคิบ คลุกให้เข้ากัน จากนั้นนำดินลงปลูก กลบดินโคนต้นให้แน่น ใช้ฟางแห้งคลุมหน้าดินไว้บำรุงปุ๋ยคอกแห้งโรยตามหน้าดิน 15 วันครั้ง จะทำให้โตเร็วและมีดอกสวยงาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) (รังสฤษฎ์, 2540)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น ใบ ตายอด ตาข้าง เนื้อเยื่อหรือเซลล์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล ไรตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังต้องทำ การเพาะเลี้ยงในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และในสภาวะที่ควบคุมสิ่งแวดล้อมได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้น ซึ่งชิ้นส่วนของพืชดังกล่าวจะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปในรูปแบบต่างๆ เช่น เกิดเป็นยอด เกิดเป็นราก เกิดเป็นเอ็มบริโอ หรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า “แคลลัส” ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์จำนวนมากได้ หลักการสำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือต้องทำในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ กล่าวคือทุกขั้นตอนต้องปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยขั้นตอนในการทำงานจะเริ่มจากการฟอกฆ่าเชื้อที่ชิ้นส่วนพืชแล้วตัดเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการนำมาวางเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองหรือขวดแก้วที่บรรจุอาหารสังเคราะห์ ซึ่งได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วเช่นกัน ขวดเพาะเลี้ยงนี้จะถูกนำมาวางเลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมสภาวะต่างๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ให้เป็นไปตามที่ต้นพืชต้องการ ชิ้นส่วนของพืชจะได้รับแร่ธาตุและสารอาหารจากอาหารสังเคราะห์และเจริญเติบโตต่อไป ซึ่งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชนี้สามารถควบคุมได้โดยการเลือกใช้สารอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เช่น ฮอร์โมนพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยงว่าต้องการให้ชิ้นส่วนนั้นเจริญไปเป็นส่วนใด เช่น ถ้าต้องการให้เจริญไปเป็นส่วนลำ ต้นก็สามารถทำ การชักนำ โดยใช้ฮอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) หากต้องการให้เกิดรากอาจใช้ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (Auxin) หรืออาจจะใช้ฮอร์โมนหลายๆ ชนิดรวมกัน

## 2.3 เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (รงรอง, 2538)

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell) เนื้อเยื่อ (tissue) และอวัยวะ (organ) ต่างๆ เพื่อชักนำให้ชิ้นส่วนเหล่านั้นมีการพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้สำเร็จ นอกจากนี้ได้มีการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่ผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ เช่น การขยายพันธุ์ให้มีปริมาณมาก และการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการ ฯลฯ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง การนำชิ้นส่วนของพืชชนิดใดก็ได้ เช่น อวัยวะต่างๆ ขั้ว ตา ปลายยอด ราก เนื้อเยื่อพวงไคมา หรือในระดับเซลล์หรือโปรโตพลาส มาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ที่สังเคราะห์ขึ้นซึ่งประกอบไปด้วย เกลือแร่ ธาตุอาหารต่างๆ วิตามิน น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulator) ในกลุ่มของออกซิน หรือ ไซโตไคนิน เนื้อเยื่อจะถูกเก็บไว้ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ได้รับแสงประมาณ 1000-2000 ลักซ์ ชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชจะสามารถพัฒนาเป็นต้นพืชโดยตรง หรือเจริญเป็นแคลลัส หรือเอ็มบริอย (embryoid) และหลังจากนั้นพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถจำแนกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ดังนี้คือ

1. การเพาะเลี้ยงอวัยวะ (organ culture) เช่น การเพาะเลี้ยงปลายยอด (shoot tip culture) การเพาะเลี้ยงปลายราก (root tip culture) การเพาะเลี้ยงตาข้าง (axillary bud culture) การเพาะเลี้ยงใบ (leaf culture) การเพาะเลี้ยงดอก (flower culture) การเพาะเลี้ยงผล (fruit culture) การเพาะเลี้ยงไข่อ่อนและรังไข่ (ovule and ovary culture) การเพาะเลี้ยงละอองเกสรและอับละอองเกสร (pollen and anther culture) การเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo culture) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ (meristem culture)

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือแคลลัส (tissue or callus culture) เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพาราเรนาโคมมา (จาก storang organ)

3. การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) เช่นการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (suspension culture) การเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยว (single cell culture)

4. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ (protoplast culture) เช่น การรวมโปรโตพลาสต์ (protoplast fusion) หรือ การทำพันธุวิศวกรรม (genetic engineering)

การเลือกชิ้นส่วนพืชชนิดต่างๆสามารถเลือกใช้ตามวัตถุประสงค์ ยกตัวอย่าง เช่นการขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจโดยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำชิ้นส่วนต่างๆ เช่น ตายอด ตาข้าง มาขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ในปริมาณมาก ต้นที่ได้จะมีความสม่ำเสมอ (uniform) อายุใกล้เคียงกัน และปลอดจากเชื้อโรค นอกจากนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังสามารถใช้ได้กับพืชหลายชนิด

## 2.4 การคัดเลือกและแยกเนื้อเยื่อพืช (อารีย์, 2541)

### 2.4.1 การเลือกชิ้นส่วนพืช (Choice of explants)

ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อที่ใช้ ทั้งนี้รวมถึง ชนิด (species) พันธุ์ (Cultivars) สภาพที่มา (source condition) ขนาด (explants size) ตลอดจนวัตถุประสงค์และระบบของการเพาะเลี้ยง ข้อพิจารณาในการเลือกเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะในกรณีที่ยังไม่มีข้อมูลใดๆ ในพืชนั้น อาจใช้ข้อมูลที่ได้จากพืชใกล้เคียง หรือจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมเอง

โดยปกติ มักพบความแตกต่างในพืชแต่ละชนิดและแต่ละพันธุ์ เช่นการเกิดรากมีความสัมพันธ์ทางบวกกับชนิดของพืชที่ง่ายต่อการขยายพันธุ์ทางลำต้น (vegetative propagated plants หรือ micropropagated plants) ทำให้สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดในการแสดงออกของเซลล์พืชแต่ละชนิด (cell expression) ที่มีผลต่อ totipotency ของเซลล์พืชนั้นๆซึ่งพบว่าเนื้อเยื่อเจริญพวก meristemoids ตอบสนองต่อการกระตุ้นและสมดุลของสารชักนำการกำเนิดอวัยวะ (organogenetic stimuli) เช่นออกซิน และไซโตไคนิน ได้มากกว่าเซลล์ปกติ เซลล์เหล่านี้จำแนกได้จากลักษณะที่ค่อนข้างเล็กและมีไซโตพลาสซึมหนาแน่นกว่าเซลล์ปกติ รูปร่างของเซลล์เมื่อผ่าครึ่งจะคล้ายกันทั้ง สองซีก (isodiametric) ผนังเซลล์บาง ช่องว่างภายในเซลล์น้อย นิวเคลียสขนาดต่อไปจะมีการพัฒนาเป็นคัพภะ (proembryonic mass) การชักนำเป็นต้นใหม่เกิดได้ง่ายเนื่องจากเซลล์นี้ง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงและชักนำ ซึ่งพบในบริเวณปลายยอดและราก

#### 2.4.2 การกำจัดสิ่งปนเปื้อน (Disinfection หรือ disinfection)

ในการแยกเนื้อเยื่อพืชมาเลี้ยง กระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญและขาดไม่ได้คือการกำจัดสิ่งปนเปื้อนโดยเทคนิค disinfection หรือ disinfections เพื่อขจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ออกจากผิวของเนื้อเยื่อ มีจุดมุ่งหมายสำคัญ 2 ประการ คือ

2.4.2.1 ขจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนทำให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงได้

2.4.2.2 เพื่อลดผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อความเป็นกรดและด่าง การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารและสารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และการปลดปล่อยสารต่างๆ ที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการทางชีวเคมีของสิ่งมีชีวิต (metabolic by-products) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนโดยทั่วไปแล้ว การกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิว (surface sterilization หรือ disinfection) ทำได้ยากในชิ้นส่วนพืชที่มีขนหรือผิวขรุขระไม่เรียบ จึงควรใช้สารฟอกกำจัดเชื้อ (sterilizing agents หรือ disinfectants)

สารฟอกกำจัดเชื้อที่นิยมใช้มากที่สุดคือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite) มีชื่อการค้าที่รู้จักคือ Clorox มีจำหน่ายในท้องตลาดด้วยความเข้มข้น 10-14% w/v available chlorine เมื่อใช้ควรเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:10 อาจใช้สารจับใบ (surfactant) เพื่อช่วยให้สารฟอกกำจัดเชื้อเข้าไปในผิวของเนื้อเยื่อที่ไม่เรียบหรือมีขนได้ดีขึ้น

การเลือกชิ้นส่วนพืชจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และจุดประสงค์ในการศึกษา ถ้าต้องการชักนำให้เกิดต้น ชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยงควรจะเป็น ตายอด ตาข้าง ขั้ว ควรคำนึงถึงระยะการเจริญของต้นแม่ที่เอามาทำและต้องคำนึงถึงความสะอาดของชิ้นส่วน โดยจะต้องระมัดระวังการให้น้ำแก่พืชในเรือนเพาะชำ การฟอกฆ่าเชื้อโดยทั่วไปในกรณีของพืชสามารถใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite) ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเป็นเวลา 10-20 นาที หรือในกรณีของเมล็ด เช่น เมล็ดข้าว ถั่วเหลือง ที่เปลือกเมล็ดมีความแข็งสามารถนำเมล็ดมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70% ประมาณ 1-2 นาที ก่อนแล้วค่อยนำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ดังโซเดียมไฮโปคลอไรท์ออกด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง จากนั้นนำมาเลี้ยงเพื่อให้ได้ต้นพืชที่ไม่ปนเปื้อน นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนจากเมล็ด เพื่อนำชิ้นส่วนต่างๆ มาตัดและทดลองหาสูตรอาหารที่เหมาะสม ก็เป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้เพราะสามารถหลีกเลี่ยงปัญหาการปนเปื้อนและการตายจากการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่ออ่อนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

### 2.5.1 องค์ประกอบของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.5.1.1 น้ำที่ใช้ในการเตรียมอาหารตลอดจนในกระบวนการอื่นๆควรใช้น้ำกลั่น น้ำที่นำมากลั่นควรเป็นน้ำที่คั่งอ็อกซิเจนออกแล้ว กรณีที่ไม่มีน้ำกลั่นใช้น้ำดื่มแทนได้

2.5.1.2 สารอนินทรีย์ ธาตุอาหารและเกลือแร่ต่างๆมีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาก พืชที่เพาะเลี้ยงต้องการชนิดและปริมาณที่ไม่เหมือนกันแบ่งประเภทธาตุอาหาร อนินทรีย์ตามความต้องการของพืชได้เป็น 2 ชนิด

ก.) แมกโครนิวเทรียนต์ (macronutrients) เป็นแร่ธาตุที่พืชต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ N P K Ca Mg และ S

ข.) ไมโครนิวเทรียนต์ (micronutrients) เป็นแร่ธาตุที่พืชต้องการในปริมาณน้อย ได้แก่ Fe Zn B Mn Cu Co Ni Al และ Mo สารอนินทรีย์เหล่านี้ต้องมีความบริสุทธิ์ มากหากมีสิ่งอื่นเจือปนจะทำให้การอ่านผลการทดลองคลาดเคลื่อนหรืออาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อได้ง่าย

#### 2.5.1.3 สารอนินทรีย์

ก.) คาร์บอนแหล่งที่ให้คาร์บอนที่สำคัญ คือ น้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นไดแซคาไรด์มักใส่น้ำตาลในความเข้มข้น 20-45 กรัมต่อลิตร

ข.) กรดอะมิโนทั้งหลายไม่มีความจำเป็นต่อการเจริญของเนื้อเยื่อพืช ยกเว้น ไกลซีนซึ่งมีการใช้ในหลายสูตรอาหารถ้าหากว่าจำเป็นต้องใช้สารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจน นิยมใช้เคซีอินไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate) ช่วยเพิ่มจำนวนของอวัยวะได้

ค.) วิตามิน หน้าหน้าที่ของวิตามินคือ เป็นตัวเร่งในการทำงานของเอนไซม์ พบว่าพืชต้องการวิตามินในปริมาณน้อย เช่น ไทอามีนเป็นวิตามินเพียงชนิดเดียวที่จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแทบทุกชนิด

#### 2.5.1.4 วุ้น (agar)

จัดเป็นพอลิแซคาไรด์ที่มีมวลโมเลกุลสูงเป็นส่วนหนึ่งของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อละลายน้ำแล้วจะเกิดเป็นเจล ซึ่งสามารถไปจับตัวกับน้ำ ถ้าความเข้มข้นของวุ้นสูงความสามารถในการจับกับน้ำและสารต่างๆ ก็ยิ่งมากตาม ดังนั้นถ้าใส่วุ้นมากขึ้นส่วนของพืชจะดูดน้ำและสารอาหารได้ยาก

### 2.5.2 ปัจจัยที่ต้องคำนึงในการเตรียมอาหาร

2.5.2.1 สภาพความเป็นกรด-เบส หรือค่า pH ของอาหาร ซึ่งปกติควรอยู่ในช่วง pH 5.0-6.5 หากค่า pH ของอาหารต่ำหรือสูงกว่านี้ พืชจะหยุดการเจริญเติบโต ทั้งนี้อาจเนื่องจากธาตุอาหารบางชนิดตกตะกอนหรืออยู่ในรูปซึ่งไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชโดยสภาพความเป็นกรดนั้นทำให้อาหารวุ้นไม่แข็งตัว ไวตามินบี 1 และ ไวตามินบี 5 ไม่เสถียร เกลือของเหล็กและฟอสเฟตตกตะกอน และการดูดน้ำของเนื้อเยื่อลดลง ค่า pH ที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโต

ของพืชควรเป็น 5.4-5.5 ปกติค่า pH ของอาหารก่อนและหลังการนึ่งฆ่าเชื้อจะต่างกัน โดยอาหารวุ้นจะมีค่า pH ลดลงราว 0.2-0.5 หน่วย ขณะที่อาหารเหลวจะมีค่า pH เพิ่มขึ้นราว 0.2 หน่วย นอกจากนี้ค่า pH ของอาหารยังเปลี่ยนไปเมื่อดังอาหารทิ้งไว้ด้วย ดังนั้นจึงได้มีการใช้สารบัฟเฟอร์ในอาหารสังเคราะห์เช่น MES หรือ TRIS การเพาะเลี้ยงพืช ในอาหารก็สามารถทำให้ค่า pH ของอาหารลดลง จนอาหารเหลวได้

2.5.2.2 สภาพทางฟิสิกส์ของอาหาร เกี่ยวข้องกับความสม่ำเสมอในการใช้อาหารของพืชโดยทั่วไปนั้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้อาหารวุ้นหรืออาหารเหลว สำหรับอาหารวุ้นนั้นวุ้นที่ใช้เป็น polysaccharide ซึ่งสกัดจากสาหร่ายสีแดง คุณสมบัติของวุ้นแตกต่างกันไปตามความบริสุทธิ์ของวุ้น การใช้วุ้นที่มีความบริสุทธิ์ต่ำ จะทำให้อาหารแข็งมาก พืชดูดเอาเกลือแร่ไปใช้ได้ยาก นอกจากนี้วุ้นพวกนี้ยังอาจปลดปล่อยสารซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตออกมาด้วย แต่การใช้ agarose ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ของวุ้น ก็อาจไม่เกิดผลดีต่อพืชมากนัก agarose จึงนิยมใช้กับเนื้อเยื่อที่ต้องการความบริสุทธิ์ของอาหารอย่างมาก เช่นการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์

2.5.2.3 ค่าแรงดันออสโมติกของอาหาร ซึ่งขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุล และการแตกตัวขององค์ประกอบของอาหารน้ำตาลมีผลต่อแรงดันออสโมติกมากกว่าเกลือแร่ค่าแรงดันออสโมติกของสารอาหารและน้ำตาลของอาหารบางสูตรมีดังนี้ White 0.43 และ 1.46 bar Heller 0.96 และ 4.05 bar , MS 2.27 และ 2.2 bar

2.5.2.4 ปริมาณอาหารต่อภาชนะ ขึ้นกับขนาดของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง หากใส่อาหารน้อยเกินไป จะทำให้อาหารเป็นปัจจัยที่จำกัดการเจริญเติบโตของพืช จะต้องเปลี่ยนอาหารบ่อย แต่หากใส่อาหารมาก ช่องว่างสำหรับให้พืชเติบโตและปริมาณอากาศภายในภาชนะจะเป็นปัจจัยที่จำกัดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อวิธีที่นิยมปฏิบัติกันคือการแบ่งองค์ประกอบของอาหารเป็น 4 ส่วน ได้แก่ มหาธาตุ จุลธาตุ สารอินทรีย์ และสารควบคุมการเจริญเติบโต จากสูตรอาหารต่าง ๆ ร่วมกัน โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของแมกโครนิวเทรียนต์ ที่นิยมใช้นั้น อาจมาจากสูตรอาหาร MS (Murashige และ Skoog, 1962) Woody Plant Media (Lloyd และ McCown, 1980) Vacin and Went (1949) และ White (1943) ไมโครนิวเทรียนต์ที่นิยมใช้อาจมาจากสูตรอาหาร Gamborg B-5 (Gamborg และคณะ 1970) Heller (1953) และ MS (Murashige และ Skoog, 1962) ส่วนสารอินทรีย์นั้น

ชิ้นส่วนของพืชชนิดใดก็ตามไม่ว่าจะเป็นราก ตายอด ตาข้าง เซลล์ หรือระดับโปรโตพลาสต์สามารถที่จะนำมาเลี้ยงและมีการพัฒนาได้ในอาหารสูตรพื้นฐานทั่วไปที่ประกอบด้วยเกลือแร่ต่างๆที่เป็นแมกโครนิวเทรียนต์ (macronutrients) และ ไมโครนิวเทรียนต์ (micronutrients) ที่จำเป็นสำหรับพืช

โดยปกติแล้วเกลือแร่ที่พืชต้องการ เช่น เกลือไนเตรท( $\text{NO}_3$ ) และเกลือแอมโมเนียม( $\text{NH}_4$ ) จะถูกลำเลียงไปตามระบบท่อน้ำท่ออาหาร (vascular system) นอกจากเกลือแร่ที่จำเป็นแล้ว น้ำตาล อะมิโน วิตามิน และสารเร่งการเจริญเติบโตก็เป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับการสังเคราะห์อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ

## 2.6 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ( พีรเดช , 2529)

สารควบคุมการเจริญเติบโต หรือฮอร์โมนพืช (plant hormones) จัดเป็นกลุ่มของสารที่สามารถใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางและเห็นผลได้ค่อนข้างเด่นชัด โดยมากใช้ในการติดผล เร่งหรือชะลอการแก่ การสุกซึ่งลักษณะต่าง ๆ เหล่านี้ถูกควบคุมโดยสารแต่ละชนิดแตกต่างกันไป การเลือกใช้ได้อย่างถูกต้องทำให้สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้ตามต้องการ

ฮอร์โมนพืช (plant hormones) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นเองในปริมาณน้อยมากแต่มีผลในด้านการส่งเสริมหรือยับยั้งการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาภายในต้นพืชนั้น ๆ ทั้งนี้ไม่รวมพวกน้ำตาลหรือสารอาหารที่เป็นอาหารพืชโดยตรง โดยมีปริมาณเพียงพอที่จะควบคุมการเติบโตภายในต้นพืชนั้น ๆ จึงได้มีการค้นคว้าและสังเคราะห์สารต่าง ๆ ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนธรรมชาติขึ้นมาใช้ประโยชน์ ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมน ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นยับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชได้

สารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้ 7 กลุ่มด้วยกัน คือ

2.6.1 ออกซิน (auxins) เป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ (cell enlargement) การแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเปียม การขยายขนาดของใบ การเกิดราก การขยายขนาดของผล ป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นก็คือ ไอเอเอ (IAA) โดยสร้างมากที่สุดบริเวณปลายยอด ปลายราก ผลอ่อน และบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) อยู่มาก ปริมาณไอเอเอภายในเนื้อเยื่อพืชแต่ละส่วนมีมากน้อยแตกต่างกันไป โดยจะมีอยู่มากในส่วนที่กำลังเจริญเติบโต การรักษาระดับปริมาณภายในเนื้อเยื่อพืชถูกควบคุมโดยระบบการสร้างและการทำลายพร้อม ๆ กันไป ถ้าเป็นเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตจะมีการสร้างมากกว่าการทำลาย และในทางตรงกันข้ามในเนื้อเยื่อที่มีอายุมากขึ้นจะมีการทำลายมากกว่าการสร้าง

2.6.2 จิบเบอเรลลิน (gibberellins) เป็นสารที่มีผลเกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation) ทำลายการพักตัวของพืช กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิด และยับยั้งการออกดอกของพืชบางชนิด สารกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเองและเชื้อราบางชนิดสร้างขึ้น ในปัจจุบันพบจิบเบอเรลลินทั้งหมด 71 ชนิด โดยที่ทุกชนิดเรียกชื่อเหมือนกันคือ จิบเบอเรลลิน เอ หรือ จีเอ (gibberellin A) (GA) แต่มีหมายเลขตามหลังตั้งแต่ 1 ถึง 71 เช่น จีเอ 3 จีเอ 4 จีเอ 7 ( $\text{GA}_3$ ,  $\text{GA}_4$ ,  $\text{GA}_7$ ) สารจีเอ 3 เป็นจิบเบอเรลลินที่นำมาใช้มากทางการเกษตร โดยมีชื่อเรียกเฉพาะของสาร จีเอ 3 ว่า จิบเบอเรลลิกแอซิด (gibberellic acid) พืชสามารถสร้างจีเอ 3 ได้โดยมีปริมาณน้อยมาก ซึ่งจีเอ 3 ที่นำมาใช้ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางการเกษตรนั้นได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบางชนิดแล้วสกัดเชื้อ 3 ออกมาเนื่องจากปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์ได้ ด้วยวิธีทางเคมี

2.6.3 ไซโตไคนิน (cytokinins) เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช ชะลอการแก่ชราและกระตุ้นการแตกตาข้าง พบมากในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญและในศัพพะ(embryo) ส่วนใหญ่แล้วไซโตไคนินมีการเคลื่อนย้ายน้อย แต่มีคุณสมบัติสำคัญในการดิงสารอาหารต่าง ๆ มายังแหล่งที่มีไซโตไคนินสะสมอยู่ (cytokinin-induced translocaton) ฮอร์โมนที่พบในพืชได้แก่ ซีอาติน (zeatin) ส่วนการสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ บีเอพี (BAP)ไคนิติน (Kinetin)

2.6.4 เอทิลินและสารปลดปล่อยเอทิลิน (ethylene and ethylene releasing compounds) เอทิลินเป็นก๊าซชนิดหนึ่งและจัดเป็นฮอร์โมนพืชเนื่องจากพืชสร้างขึ้นมาได้ โดยมีผลควบคุมการแก่ชรา การสุก รวมทั้งการออกดอกของพืชบางชนิดและเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของใบ ดอกผล การเหี่ยวของใบ การงอกของหัวพืชและเมล็ดพืชบางชนิด เอทิลินจะสร้างมากในส่วนของพืชที่กำลังเข้าสู่ระยะชราภาพ (senescence) เช่น ในผลแก่หรือใบแก่ใกล้หลุดร่วง เนื่องจากเอทิลินเป็นก๊าซดังนั้นจึงฟุ้งกระจายไปได้ทั่ว จึงไม่มีการเคลื่อนย้ายเหมือนกับฮอร์โมนในกลุ่มอื่นๆ สารอินทรีย์บางชนิดมีคุณสมบัติคล้ายเอทิลิน เช่น อะเซทิลีน (acetylene) โพรพิลีน (propylene) ดังนั้นจึงอาจนำสารเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรได้เช่นกัน ยกตัวอย่างได้แก่การใช้อะเซทิลีนในการบ่มผลไม้ และเร่งการออกดอกของสับปะรด เป็นต้น

2.6.5 สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (plant growth retardants) สารกลุ่มนี้ไม่จัดเป็นฮอร์โมนพืชแต่เป็นสารสังเคราะห์ทั้งหมด มีคุณสมบัติสำคัญคือยับยั้งการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในพืช จึงมีผลลดการยืดตัวของเซลล์ทำให้ปล้องสั้น ใบหนา เขียวเข้ม กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิดและมีคุณสมบัติอื่น ๆ ได้แก่ ทำให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ร้อนจัด เย็นจัด ดินแห้ง ดินเกลือ เพิ่มผลผลิตพืชบางชนิด เพิ่มการติดผลของพืชบางชนิด สารชะลอการเจริญเติบโตที่สำคัญได้แก่แอนซิมิดอล (ancymidol) กลอมีควอน(chlormequat) แดมิโนไซด์ (daminozide)พาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol)

2.6.6 สารยับยั้งการเจริญเติบโต (plant growth inhibitors) สารกลุ่มนี้มีหน้าที่ในการถ่วงดุลกับสารเร่งการเติบโตพวกออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน เพื่อให้การเติบโตเป็นไปอย่างพอเหมาะพอดี ส่วนใหญ่มีหน้าที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์ และการเติบโตของเซลล์ ทำให้เกิดการพักตัว (dormancy) และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของอวัยวะ ฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีพบในพืชมีกว่า 200 ชนิด แต่ที่สำคัญที่สุดและรู้จักกันดีคือ เอบีเอ (abscisic acid)

2.6.7 สารอื่นๆ (miscellaneous) เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติแตกต่างจากทั้ง 6 กลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น ส่วนใหญ่ใช้เพื่อประโยชน์เฉพาะอย่าง เช่น เพิ่มผลผลิต ขยายขนาดผล ป้องกันผลร่วง ช่วยในการแบ่งเซลล์ อย่างไรก็ตามยังจัดว่ามีประโยชน์ค่อนข้างน้อยและการใช้ยังไม่กว้างขวางการค้า ยกตัวอย่างสารเหล่านี้ได้แก่ เออร์โกสตีม บอโทนิก เป็นต้น อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบพวกคาร์บอนที่ได้พลังงาน คือ น้ำตาล ที่ใช้กันมากคือน้ำตาลซูโครสในปริมาณ 2-4% และน้ำตาลกลูโคสซึ่งใช้กันมากกับเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว รวมทั้งวิตามินและสารอื่นๆ ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชที่ใช้กันมากได้แก่ ไทอามีน(thiamine) นิโคตินิกแอซิก (nicotinic acid) ไพริดอกซิน (pyridoxine) อินโนซิทอล (inositol) แพนโททีนิกแอซิก (pantothenic acid) และ ไบโอติน (biotin) ตลอดจนสารอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ น้ำมะพร้าว น้ำมะเขือเทศ น้ำสดจากหัวมันฝรั่ง กัลยอบด์ ซึ่งส่วนประกอบต่างๆ ในอาหารเหล่านี้มีความสำคัญทั้งสิ้น การใช้ผงถ่านในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะใช้ในความเข้มข้น 0.2-3.0 % โดยผงถ่านจะมีคุณสมบัติในการดูดซับสารบางชนิดออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ละเอียด มีพื้นผิวในช่องว่างสูง จึงใช้ผงถ่านในการดูดซับสารพิษ เช่น สารประกอบฟีนอล เอทิลีน ทำให้ปริมาณสารดังกล่าวในอาหารลดลง การใช้ผงถ่านในระยะที่เกิดรากเพื่อลดแสงบริเวณราก ทำให้รากเจริญเติบโตได้ดีผงถ่านจึงสำคัญแก่การสร้างต้นใหม่ สารที่มีคุณสมบัติเหมือนผงถ่านคือ PVP (polyvinyl pyrrolidone) ที่สามารถดูดซับสารฟีนอลได้ หรือการเติม diethyl-dithiocarbonate (DIECA) ที่ช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชัน

## 2.7 แสงและอุณหภูมิ (Light and Temperature conditions)

โดยปกติแล้วพืชในหลอดทดลองจะสามารถที่จะสังเคราะห์แสงได้เองหรือบางครั้งจะไม่จำเป็นต้องสังเคราะห์แสงถ้าในอาหารที่เลี้ยงมีน้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับใช้สังเคราะห์แสงอย่างไรก็ตามแสงมีความจำเป็นต่อการสร้างรูปร่างหรืออวัยวะของพืช(morphogenesis) และการสร้างคลอโรฟิลล์(chlorophyll formation) หลอดไฟ fluorescent จะให้แสงสีขาวมีความเข้มประมาณ 1000-5000 ลักซ์ ได้ในปริมาณมากกว่า และช่วงแสงประมาณ 16 ชั่วโมง จะกระตุ้นการผลิตยอดได้ดีกว่าช่วงแสง 8 ชั่วโมง ดังนั้นแสงจึงมีความจำเป็นต่อขบวนการสังเคราะห์แสงและสร้างการเจริญเติบโตของลำต้น, ใบ และราก

## 2.8 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.8.1 การขยายพันธุ์พืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถขยายพันธุ์พืชที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีอื่นได้ยาก หรือขยายได้ช้า เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้จำนวนมากอย่างรวดเร็ว สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปี ซึ่งต้นพันธุ์ที่ได้จะมีลักษณะเหมือนเดิมทุกประการและให้ผลผลิตคุณภาพดี พืชหลายชนิดที่มีปัญหาในการขยายพันธุ์แบบปกติแต่ปัจจุบันประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น กัลยไม้ หน่วไม้ฝรั่ง

2.8.2 การผลิตต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรค พืชหลายชนิดจะมีเชื้อไวรัสแฝงตัวอยู่ในท่อน้ำเลี้ยง จึงเป็นการยากต่อการผลิตพันธุ์พืชที่ปราศจากโรค ดังนั้นการเพาะเลี้ยงส่วนของปลายยอดที่ยังไม่มีท่อน้ำเลี้ยงจะสามารถจัดการปนเปื้อนของไวรัสเหล่านั้นได้ มีพืชหลายชนิดที่ใช้เทคนิคนี้ได้สำเร็จ เช่น มันฝรั่งสตรอบเบอร์รี่ ชิง ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.3 การผลิตสารสำคัญ พืชหลายชนิดสามารถผลิตสารสำคัญได้ ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้ เช่น สารตัวยารักษาโรคลีที่ใช้ในอุตสาหกรรม ซึ่งการนำ พืชเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ควบคุมได้จะสามารถชักนำให้เซลล์ของพืชผลิตสารในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น

2.8.4 การอนุรักษ์พันธุกรรมและการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืช เป็นการเก็บรวบรวมพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงไว้ในขวดและบังคับให้เติบโตอย่างช้าๆ ซึ่งทำให้สามารถเก็บรักษาพันธุ์พืชไว้ได้นาน ประหยัดพื้นที่และแรงงาน นอกจากนี้ยังสะดวกต่อการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชกับต่างประเทศเพราะอยู่ในขวดและปราศจากเชื้อโรค

2.8.5 การปรับปรุงพันธุ์พืช เป็นการนำ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ เช่น การสร้างพืชโครโมโซมชุดเดียว การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ การรวมเซลล์ (Protoplast Fusion) และ พันธุวิศวกรรมของพืช

## 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การพัฒนากระบวนการขยายพันธุ์กุหลาบ โดยการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง Carelli และ Echeverrigaray (2001) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนของตาข้างของกุหลาบพันธุ์ *Rosa hybrida* สายพันธุ์ Boronesse อายุ 2-5 ปี จากผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต แหล่งคาร์บอน และอาหารเพาะเลี้ยงที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบตามสูตรของ Quoirin และ Lepoive (1977) ซึ่งใช้น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร benzyl adenine 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Naphthalene acetic acid 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะนี้มีอัตราการเพิ่มจำนวนของต้นพืชเป็น 30.3 ต้น ต่อตัวอย่างพืชหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 180 วัน ในสภาวะนี้มีผลต่ออัตราการเพิ่มจำนวนของตัวอย่างพืชในจำนวน 6 สายพันธุ์จาก 9 สายพันธุ์พบว่า อัตราการเพิ่มจำนวนของต้นพืชเป็น 1.85-2.88 ต้นต่อตัวอย่างพืชหลังจากการเพาะเลี้ยงนาน 60 วัน

การส่งเสริมการเกิดรากของ *Rosa hybrida* ในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Khosh-Khui และ Sink (1982) ศึกษาผลของออกซินร่วมกับอุณหภูมิต่างๆ แสงและบริเวณปลายยอดที่มีความสัมพันธ์ในการเกิดรากของ *Rosa hybrida* สายพันธุ์ L.Bridal Plink ในหลอดทดลอง ซึ่งการใช้ 2,4-D อย่างเดียวนั้นส่วนใหญ่ไม่ได้ผล ในขณะที่การใช้ IBA เพียงอย่างเดียว นั้นไม่สามารถเร่งให้เกิดรากได้ ในการใช้ IAA และ NAA ร่วมกันจะให้ผลที่ดีในการเร่งการเกิดรากมากกว่าที่ใช้ IAA IBA หรือ NAA เพียงอย่างเดียว เมื่อพิจารณาคุณภาพของรากแล้ว การใช้ NAA ร่วมกับ IBA จะมีคุณภาพของรากที่ดีกว่าการใช้ NAA ร่วมกับ IAA ปริมาณ NAA ที่ใช้เร่งรากได้ดีคือ 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ปริมาณแสง 1,000 ลักซ์ และเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์จะส่งเสริมการเกิดราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การขยายพันธุ์กุหลาบหนูโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนันทิญา พิมพ์วิศา (2546) ได้ทำการศึกษาการขยายพันธุ์กุหลาบหนูโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยนำส่วนตาข้างของกุหลาบหนูฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ผสม Tween-20 จำนวน 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที และคลอโรกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 5 นาที ตามลำดับ เลี้ยงในสูตรอาหาร Murashige และ Skoog ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ทุกระดับความเข้มข้นสามารถสามารถพัฒนาเกิดเป็นยอดได้ อาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญพัฒนาเป็นยอดได้เร็ว และมากที่สุด ส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร การเจริญพัฒนาเกิดเป็นยอดต้องใช้เวลาจนถึงจะไดยอดจำนวนมาก

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบมอญ *Rosa damascene* Jaddarzadeh และ Khosh-Khui (2005) ได้มีการศึกษาการเพิ่มปริมาณของกุหลาบมอญ ซึ่งการนำตาข้างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ (chlorox) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที และเพาะเลี้ยงลงอาหารเพาะเลี้ยง Murashige และ Skoog's (MS) ที่เติมด้วย BA 2.5 ถึง 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับ IBA ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ถูกนำมาใช้ในการเพิ่มจำนวนต้น ทำการเปลี่ยนอาหาร 4 ครั้ง ภายในช่วงเวลา 4 สัปดาห์ การใช้ IBA IAA NAA มีความเข้มข้นต่างๆกันในอาหาร MS พบว่าให้ผลการทดลองไม่น่าพอใจ การใช้สารตัวอื่น เช่น การใช้ความเข้มข้นของกรดแอบไซซิก (Abscisic acid, ABA) ร่วมกับ IAA IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน และใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และวุ้นที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าไม่มีการเกิดราก การใช้ 2,4-D ปริมาณ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

##### 3.1.1 ต้นพืชที่นำมาใช้ในการทดลอง

- ต้นกุหลาบหนู (Fairy Rose)

##### 3.1.2 สารเคมี

- อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร GAMBORG B-5
- น้ำกลั่น
- น้ำตาลทราย
- ผงวุ้น
- ผงถ่าน
- สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA , NAA
- ภาชนะเล็ก
- สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 70 , 95 เปอร์เซ็นต์(ethyl alcohol)

##### 3.1.3 อุปกรณ์

- กระบอกตวง (cylinder)
- บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 500 , 1000 มิลลิลิตร
- ขวดแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (tissue culture flask) ขนาด 4 , 8 ออนซ์
- มีดผ่าตัด (scalpel)
- จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri disc)
- ช้อนตักสาร (spectula)
- คีมคีบ (forcept)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)
- ฟลาสก์ (flask)
- กระจกน้ำกลั่น (plastic ware)
- แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ (aluminum foil)
- กระดาษขี้สาร (paper wax)
- ไฟแช็ค (lighter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ (rack) การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น-อีกสิ่ง (cotton wool) หนึ่งเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.4 เครื่องมือ

- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow cabinet)
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแบบใช้ความดัน (autoclave)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เครื่องชั่งสาร (balance)
- เครื่องไมโครเวฟ (microwave oven)
- เครื่องเขย่า (shaker)

## 3.2 ขั้นตอนการทดลอง

### 3.2.1 การเตรียมตัวอย่างต้นพืชที่นำมาใช้ในการทดลอง

นำชิ้นส่วนตาข้างของต้นกุหลาบหนูมาล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อล้างเอาคราบและฝุ่นละอองออก แช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ และเติม tween 20 ในอัตราส่วน 1 หยด ต่อ สารละลาย 100 มิลลิลิตร เขย่าเป็นระยะ หรือใช้เครื่องเขย่า ที่ความเร็วประมาณ 120-150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทสารละลายคลอโรกซ์ และ tween 20 ออกแล้วเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ทำ การล้าง 3-4 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ใช้ปากคีบตาข้างวางบนจานแก้วที่มีกระดาษซับนึ่งฆ่าเชื้อ และใช้มีด ผ่าตัดตัดเอาเนื้อเยื่อที่ตายออก ใช้ปากคีบบ้างตาข้างมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 โดยควบคุม สภาวะการเจริญเติบโตที่ 25 องศาเซลเซียส และให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็น ระยะเวลา 2 เดือนจนได้ต้นกุหลาบหนูที่เจริญในสภาวะปลอดเชื้อ และนำมาศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการ เจริญของต้นกุหลาบหนู

### 3.2.2 ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Gamborg B-5

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Gamborg B-5 โดยการชั่งอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตร Gamborg B-5 3.21 มิลลิกรัมต่อลิตรละลายในน้ำกลั่น 300 - 500 มิลลิลิตร ในภาชนะขนาด 1 - 2 ลิตร เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA โดยใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันตามตาราง ที่ 3.1 ชั่งน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตรคนให้ละลาย ตามด้วยผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร ทำการปรับปริมาตรให้ได้ ปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไปปรับความเป็นกรด - ด่าง ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไฮโดรคลอริก ให้ ค่า pH อยู่ในช่วง 5.6 - 5.8 ชั่งผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร ให้ความร้อนเพื่อละลายวุ้นจนเป็นเนื้อเดียวกับ อาหารเหลว บรรจุอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชปิดฝาขวดให้แน่น ใส่ลงในเครื่องนึ่งความดัน ใอน้ำ ใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที หลังผ่านการ นึ่งฆ่าเชื้อต้องปิดฝาขวดให้แน่นอีกครั้ง นำอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่ามาพักไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อนนำไปใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.3 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อส่วนตาข้างของกุหลาบหนู

นำชิ้นส่วนตาข้างของต้นกุหลาบหนูที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขนาด 5 มิลลิเมตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตรและเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกัน 16 สูตร โดยความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต แสดงในตารางที่ 3.1 สูตรละ 10 ซ้ำ โดยควบคุมสภาวะการเจริญเติบโตที่ 25 องศาเซลเซียส และให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วันการดูแลการทดลองโดยศึกษาการเจริญของลำต้นโดยวัดความสูงและนับจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบหนู

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อ NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5

สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สารควบคุมการเจริญเติบโต BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	0.5	1.0	2.0
0	สูตร A	สูตร B	สูตร C	สูตร D
0.5	สูตร E	สูตร F	สูตร G	สูตร H
1.0	สูตร I	สูตร J	สูตร K	สูตร L
2.0	สูตร M	สูตร N	สูตร O	สูตร P

### 3.2.4 การศึกษาอิทธิพลของเฟอร์รัสซัลเฟต( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ที่ความเข้มข้นต่างกันที่มีผลต่อการเจริญส่วนตาข้างของกุหลาบหนู

นำชิ้นส่วนตาข้างของต้นกุหลาบหนูที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขนาด 5 มิลลิเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Gamborg B-5 ที่ผสมด้วยสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 43 86 129 172 และ 215 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงโดยควบคุมสภาวะการเจริญเติบโตที่ 25 องศาเซลเซียส และให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน ตรวจสอบผลการทดลองโดยวัดความสูงของลำต้น และนับจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบหนู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 การศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดต่างที่มีผลต่อการเจริญของกุหลาบหนูส่วนตาข้าง

นำชิ้นส่วนตาข้างของต้นกุหลาบหนูที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขนาด 5 มิลลิเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Gamborg B-5 โดยมีความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 5.8 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 ทำสูตรละ 10 ข้ำ เพาะเลี้ยงโดยควบคุมสภาวะการเจริญเติบโตที่ 25 องศาเซลเซียส และให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน ตรวจสอบผลการทดลองโดยวัดความสูงของต้นกุหลาบและนับจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบในอาหารแต่ละสูตร

3.2.6 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณน้ำในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีผลต่อการเจริญของต้นกุหลาบหนู

นำต้นกุหลาบหนูที่ผ่านการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ โดยนำต้นกุหลาบหนูที่มีลักษณะใบขาวซีดขนาดความสูงลำต้น 2 เซนติเมตรมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่แตกต่างกัน โดย นำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตรและเติมผงถ่านกัมมันต์ นำต้นกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้นแต่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ และนำต้นกุหลาบหนูมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงวุ้นและไม่เติมผงถ่านกัมมันต์โดยใช้สำลีทำหน้าที่เป็นที่ยึดเกาะของรากแทนผงวุ้น ทำทั้งหมด 10 ข้ำ เพาะเลี้ยง 45 วัน ตรวจสอบผลโดยการวัดความสูงของต้นกุหลาบหนู

3.2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ในทุกการทดลองวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance ; ANOVA) ทำการเปรียบเทียบโดยใช้โปรแกรม SPSS statistics version 18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

#### 4.1 ศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อส่วนตาข้างของกุหลาบหนู

เพาะเลี้ยงกุหลาบหนูส่วนตาข้างโดยตัดส่วนตาข้างของต้นกุหลาบหนูจากต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ เพาะในอาหารแข็งสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตรและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ทั้งหมดตามตารางที่ 3.1 ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเวลา 45 วัน ทำการวัดความสูงและนับจำนวนก้านใบเฉลี่ยแสดงในตาราง 4.1 ได้ผลดังนี้

สูตร A ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 17.3 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 8.0 ก้าน มีความยาวของข้อลำต้นสั้น และใบสีเขียว เกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1ก)

สูตร B ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 14.7 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 5.7 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นยาว และใบสีเขียวยาว เกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1ข)

สูตร C ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 14.8 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 6.1 ก้าน มีความยาวของข้อลำต้นสั้น ใบสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1ค)

สูตร D ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 15.6 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 8.6 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นสั้น ใบสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1ง)

สูตร E ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 15.0 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 7.2 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นมีลักษณะสั้น ใบมีสีเขียวอ่อน เกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1จ)

สูตร F ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 15.6 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 4.1 ก้าน มีความยาวของข้อลำต้นสั้น ใบมีสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1ฉ)

สูตร G ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 16.9 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 5.4 ก้าน มีความยาวของข้อลำต้นสั้น ใบมีสีเขียว และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1ช)

สูตร H ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 22.0 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 6.9 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นมีลักษณะยาว ใบมีสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1ซ)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตร I ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 20.5 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 6.7 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นมีลักษณะสั้น ใบมีสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ฉ)

สูตร J ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 20.3 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 7.4 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นยาว ใบมีสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ฉ)

สูตร K ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 25.3 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 7.9 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นมีลักษณะยาว ใบมีสีเขียว และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ฎ)

สูตร L ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 16.8 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 4.4 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นยาว และใบสีเขียวอ่อน เกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ฎ)

สูตร M ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 17.5 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 5.6 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นมีลักษณะสั้น ใบสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ฐ)

สูตร N ต้นกุหลาบหนูมีความยาวของลำต้นเฉลี่ย 17.5 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 5.2 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นสั้น และใบมีสีเขียว เกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ท)

สูตร O ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 16.2 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 5.1 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นมีลักษณะสั้น ใบสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ด)

สูตร P ต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ย 17.6 มิลลิเมตร มีจำนวนก้านใบเฉลี่ย 5.3 ก้าน ความยาวของข้อลำต้นยาว ใบสีเขียวอ่อน และเกิดรากทุกต้น (รูปที่ 4.1 ฉ)

ต้นกุหลาบหนูมีค่าเฉลี่ยความสูงที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  โดยต้นกุหลาบหนูที่เจริญบนอาหารสูตร K ต้นกุหลาบหนูมีค่าความสูงเฉลี่ยมากที่สุดคือมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 25.3 มิลลิเมตร และต้นกุหลาบหนูมีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุดที่อาหารสูตร L ก็มีค่าเฉลี่ยความสูงเท่ากับ 16.8 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.2) โดยต้นกุหลาบหนูที่เจริญบนอาหารสูตร D จะได้ต้นกุหลาบหนูที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบมากที่สุดเท่ากับ 8.6 ก้าน และค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบที่น้อยที่สุดได้จากต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร F มีค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบเท่ากับ 4.1 ก้าน (รูปที่ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)



(ช)



(ซ)



(ด)



(ฎ)



(ฏ)



(ถ)



(ฐ)



(ฑ)



(ฒ)



(ณ)

**รูปที่ 4.1** กุหลาบหนูที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนตาข้างในอาหาร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของผง ถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อ NAA (ก)สูตร A (ข)สูตร B (ค)สูตร C (ง)สูตร D (จ)สูตร E (ฉ)สูตร F (ช)สูตร G (ซ)สูตร H (ด)สูตร I (ฎ)สูตร J (ฏ)สูตร K (ถ)สูตร L (ฐ)สูตร M (ฑ)สูตร N (ฒ)สูตร O (ณ)สูตร P

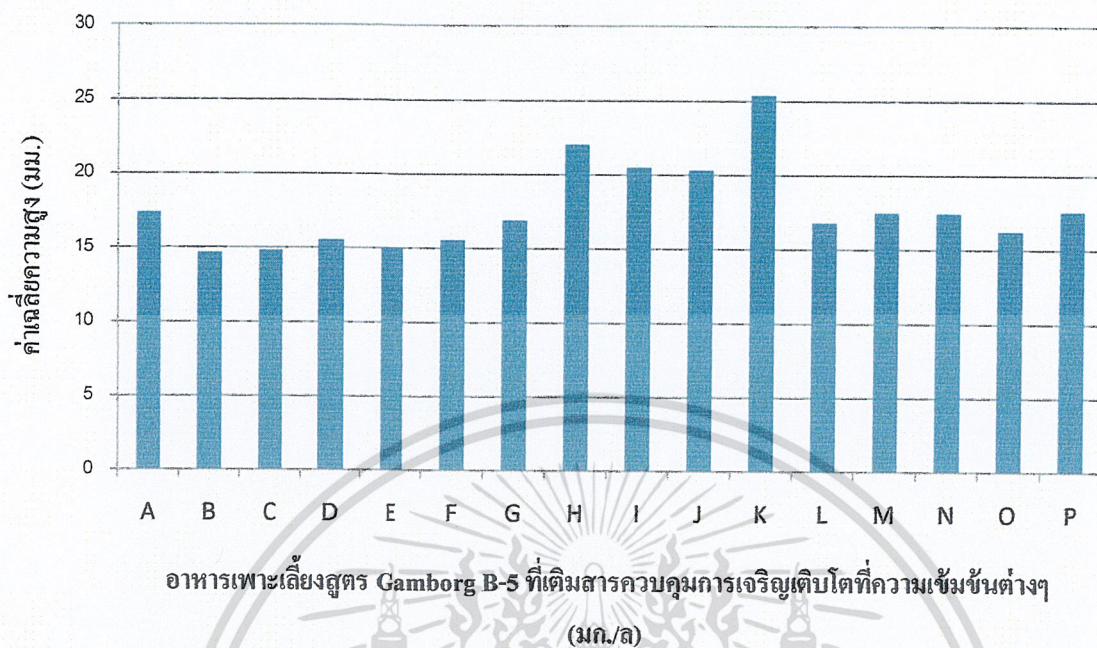
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบหนู ส่วนตาข้าง

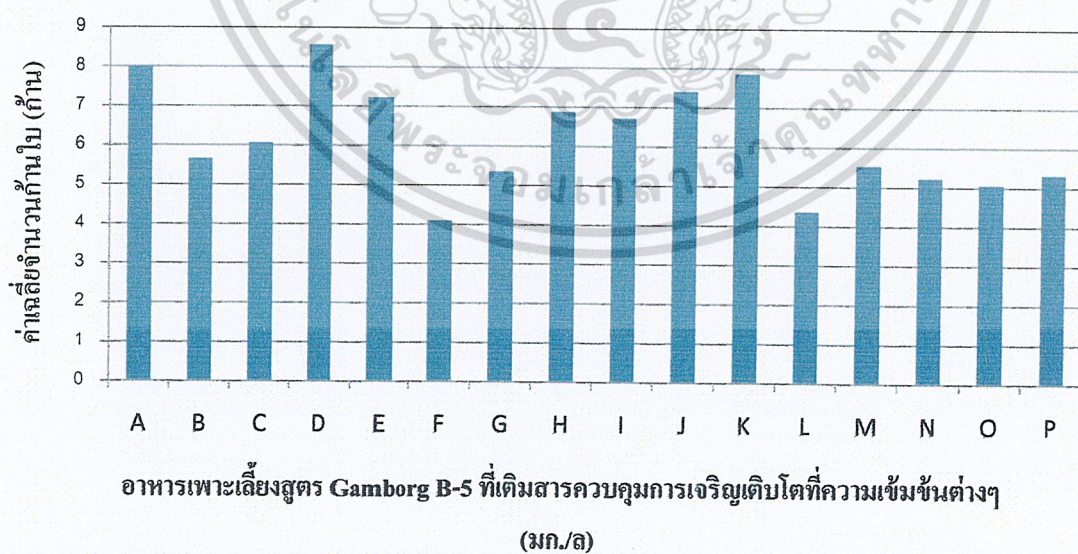
อาหารที่เติมสารควบคุม การเจริญเติบโต BA : NAA	ค่าเฉลี่ยความสูง (มิลลิเมตร)	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบ (ก้าน)
A	17.39 ± 0.92 <sup>b</sup>	8.00 ± 0.85 <sup>ab</sup>
B	14.69 ± 0.92 <sup>c</sup>	5.67 ± 0.85 <sup>cdef</sup>
C	14.83 ± 0.92 <sup>dc</sup>	6.07 ± 0.85 <sup>bcdef</sup>
D	15.56 ± 0.92 <sup>cdc</sup>	8.57 ± 0.85 <sup>a</sup>
E	15.03 ± 0.92 <sup>dc</sup>	7.23 ± 0.85 <sup>abcd</sup>
F	15.57 ± 0.92 <sup>cdc</sup>	4.10 ± 0.85 <sup>f</sup>
G	16.91 ± 0.92 <sup>cd</sup>	5.35 ± 0.85 <sup>def</sup>
H	22.04 ± 0.92 <sup>b</sup>	6.88 ± 0.85 <sup>abcde</sup>
I	20.50 ± 0.92 <sup>b</sup>	6.73 ± 0.85 <sup>abcde</sup>
J	20.32 ± 0.92 <sup>b</sup>	7.42 ± 0.85 <sup>abc</sup>
K	25.38 ± 0.92 <sup>a</sup>	7.87 ± 0.85 <sup>ab</sup>
L	16.82 ± 0.92 <sup>cdc</sup>	4.37 ± 0.85 <sup>f</sup>
M	17.48 ± 0.92 <sup>c</sup>	5.55 ± 0.85 <sup>cdef</sup>
N	17.47 ± 0.92 <sup>c</sup>	5.23 ± 0.85 <sup>def</sup>
O	16.25 ± 0.92 <sup>cdc</sup>	5.07 ± 0.85 <sup>cf</sup>
P	17.59 ± 0.92 <sup>b</sup>	5.33 ± 0.85 <sup>def</sup>

ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบหนู และค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบ ถ้าเหมือนกันแสดงว่า  
ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ความสูง โดยเฉลี่ยของกุหลาบหนูส่วนตาข้างที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มี สารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4.3 จำนวนก้านใบ โดยเฉลี่ยของกุหลาบหนูส่วนตาข้างที่เพาะเลี้ยงอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มี สารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ

ไม่ผ่านการคัดกรองและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 ศึกษาอิทธิพลของเฟอร์รัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ที่มีผลต่อการเจริญของกุหลาบหนูส่วนตาข้าง

ใช้กุหลาบหนูที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ ตัดส่วนตาข้างขนาด 5 มิลลิเมตร มาทำการทดลองเพาะเลี้ยงกุหลาบหนูส่วนตาข้างในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 คือที่ความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) เท่ากับ 86 129 172 และ 215 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน สังเกตและบันทึกผลการทดลองโดยการวัดค่าความสูงและนับจำนวนก้านใบ และแสดงค่าความสูงเฉลี่ยและจำนวนก้านใบเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนู ตารางที่ 4.2 และได้ผลดังนี้

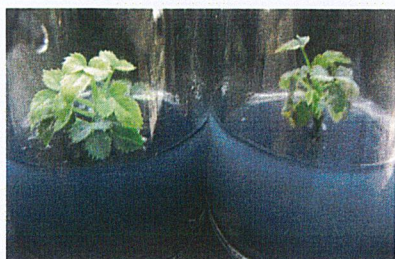
อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต 86 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นกุหลาบหนูมีความสูงลำต้นเฉลี่ย 19.30 มิลลิเมตร จำนวนก้านใบเฉลี่ย 4.09 ก้าน ใบสีเขียวเข้ม มีรากทุกต้น (รูปที่ 4.4ก)

อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต 129 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นกุหลาบหนูมีความสูงลำต้นเฉลี่ย 16.09 มิลลิเมตร จำนวนก้านใบเฉลี่ย 3.32 ก้าน ใบสีเขียวเข้ม และมีรากทุกต้น (รูปที่ 4.4ข)

อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต 172 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นกุหลาบหนูมีความสูงลำต้นเฉลี่ย 12.82 มิลลิเมตร จำนวนก้านใบเฉลี่ย 3.09 ก้าน ใบสีเขียวเข้ม และมีรากทุกต้น (รูปที่ 4.4ค)

อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟต 215 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นกุหลาบหนูมีความสูงลำต้นเฉลี่ย 12.39 มิลลิเมตร จำนวนก้านใบเฉลี่ย 3.02 ก้าน ใบสีเขียวเข้ม และมีรากทุกต้น (รูปที่ 4.4ง)

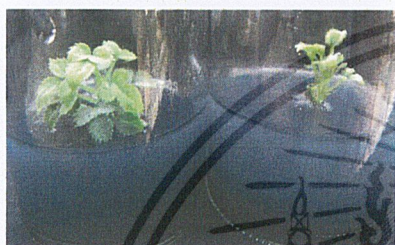
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



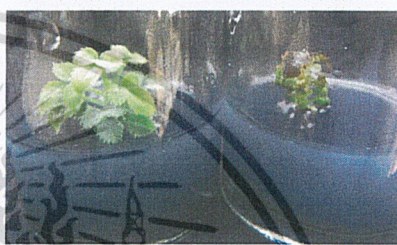
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

**รูปที่ 4.4** การเจริญของต้นกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีปริมาณเฟอรส์ซัลเฟตแตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบกับอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ปกติ (ด้านซ้ายมือของแต่ละรูป) (ก)ความเข้มข้นเฟอรส์ซัลเฟต 86 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข)ความเข้มข้นเฟอรส์ซัลเฟต 129 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ความเข้มข้นเฟอรส์ซัลเฟต 172 มิลลิกรัมต่อลิตร(ง) เฟอรส์ซัลเฟต 215 มิลลิกรัมต่อลิตร

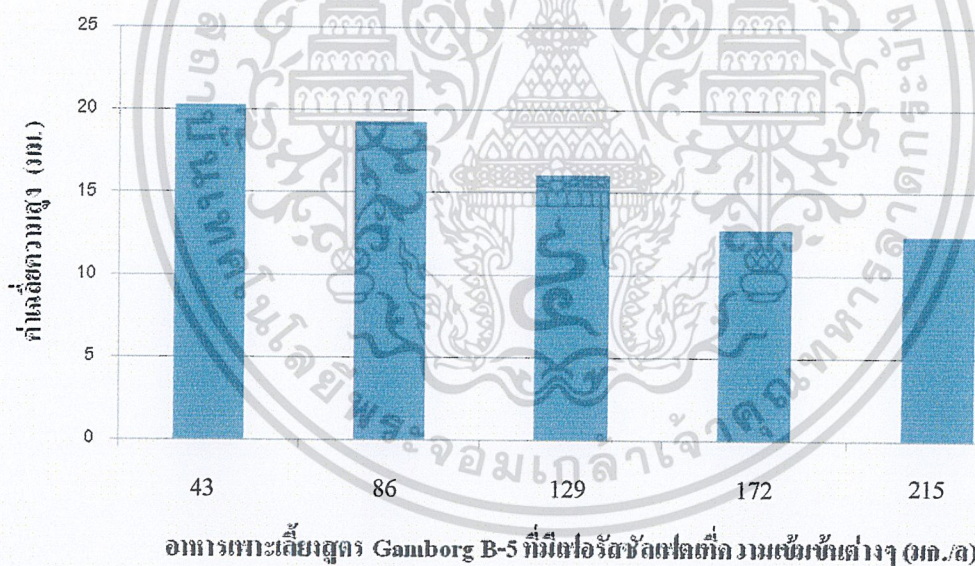
บันทึกผลการทดลองค่าความสูงเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนู โดย อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นเฟอรส์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 86 และ 129 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นกุหลาบหนูมีค่าความสูงเฉลี่ยที่มีความแตกต่างทางสถิติที่  $P < 0.05$  และมีความแตกต่างจากอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นเฟอรส์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 172 และ 215 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีค่าความสูงเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  (รูปที่ 4.5) และนับจำนวนก้านใบเฉลี่ย พบว่าจำนวนก้านใบเฉลี่ยในอาหารทุกความเข้มข้นของเฟอรส์ซัลเฟตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  (รูปที่ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลของระดับความเข้มข้นของเฟอร์สซัลเฟตที่แตกต่างกันต่อค่าเฉลี่ยความสูงและค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบหนู

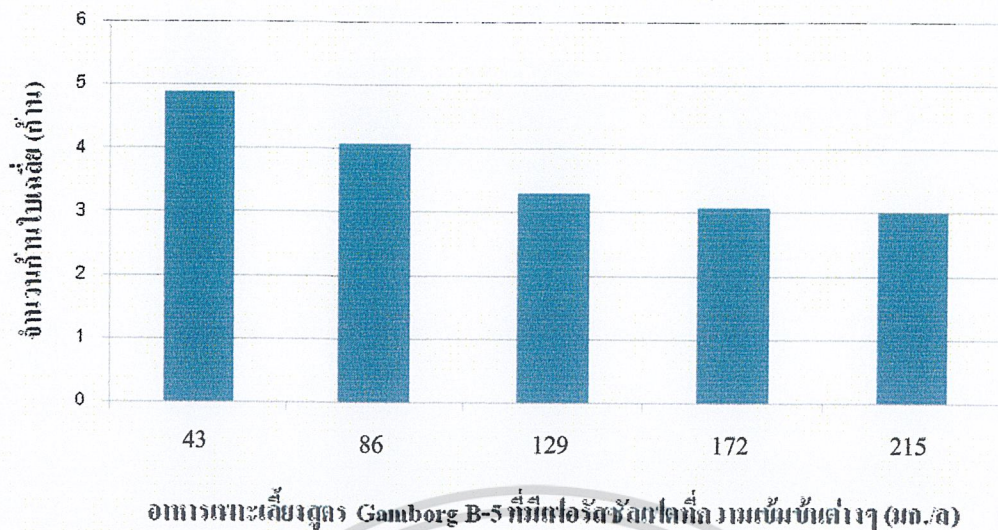
ความเข้มข้นของ เฟอร์สซัลเฟตเฮปตะไฮ เดรต(มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยความสูงของต้น กุหลาบ (มิลลิเมตร)	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบ (ก้าน)
86	19.30 ± 1.08 <sup>a</sup>	4.09 ± 0.92 <sup>a</sup>
129	16.09 ± 1.08 <sup>b</sup>	3.32 ± 0.92 <sup>a</sup>
172	12.82 ± 1.08 <sup>c</sup>	3.09 ± 0.92 <sup>a</sup>
215	12.39 ± 1.08 <sup>c</sup>	3.02 ± 0.92 <sup>a</sup>

ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบ และค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบ ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มี ความแตกต่างทางสถิติที่  $P < 0.05$



รูปที่ 4.5 ความสูงโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอร์สซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 จำนวนก้อนใบโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเพอร์ซัลลิตที่ความเข้มข้นต่างๆ

#### 4.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดต่างที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบหนู

ใช้กุหลาบหนูที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อมาทำการทดลอง โดยการเพาะเลี้ยงส่วนตาข้างของกุหลาบหนูในอาหาร Gamborg B-5 ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน โดยเปรียบเทียบระดับความแตกต่างของค่า pH ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบหนู โดยเปรียบเทียบอาหารที่มีค่า pH 5.8 กับอาหารที่มีค่า pH 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 สังเกตการเจริญเติบโตของกุหลาบหนูในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 แต่ละระดับ pH ทำการวัดความสูงและนับจำนวนก้อนใบของต้นกุหลาบหนูได้ผลดังนี้

อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มี pH 7.0 ต้นกุหลาบหนูมีลำต้นสูงเฉลี่ย 15.4 มิลลิเมตร และจำนวนก้อนใบเฉลี่ย 4.8 ก้อน ใบมีสีเขียวและมีบางต้นมีใบสีเขียวอ่อน (รูปที่ 4.7ก)

อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มี pH 8.0 ต้นกุหลาบหนูมีลำต้นสูงเฉลี่ย 13.8 มิลลิเมตร และจำนวนก้อนใบเฉลี่ย 3.4 ก้อน ใบมีสีเขียวอ่อน มีบางต้นที่มีใบสีเขียวออกเหลือง (รูปที่ 4.7ข)

อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มี pH 9.0 ต้นกุหลาบหนูมีลำต้นสูงเฉลี่ย 13.5 มิลลิเมตร และจำนวนก้อนใบเฉลี่ย 3.2 ก้อน ใบมีสีเขียวอ่อน และมีบางต้นที่มีใบสีเขียวออกเหลือง (รูปที่ 4.7ค)

อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มี pH 10.0 ต้นกุหลาบหนูมีลำต้นสูงเฉลี่ย 12.1 มิลลิเมตร และจำนวนก้อนใบเฉลี่ย 2.9 ก้อน ใบมีสีเขียวออกเหลือง (รูปที่ 4.7ง)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

**รูปที่ 4.7** ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มีระดับ pH แตกต่างกัน (ก) pH เท่ากับ 7.0 (ข) pH เท่ากับ 8.0 (ค) pH เท่ากับ 9.0 (ง) pH เท่ากับ 10.0 โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบกับอาหารที่มีค่า pH 5.8 โดยอยู่ทางด้านซ้ายมือของแต่ละรูป

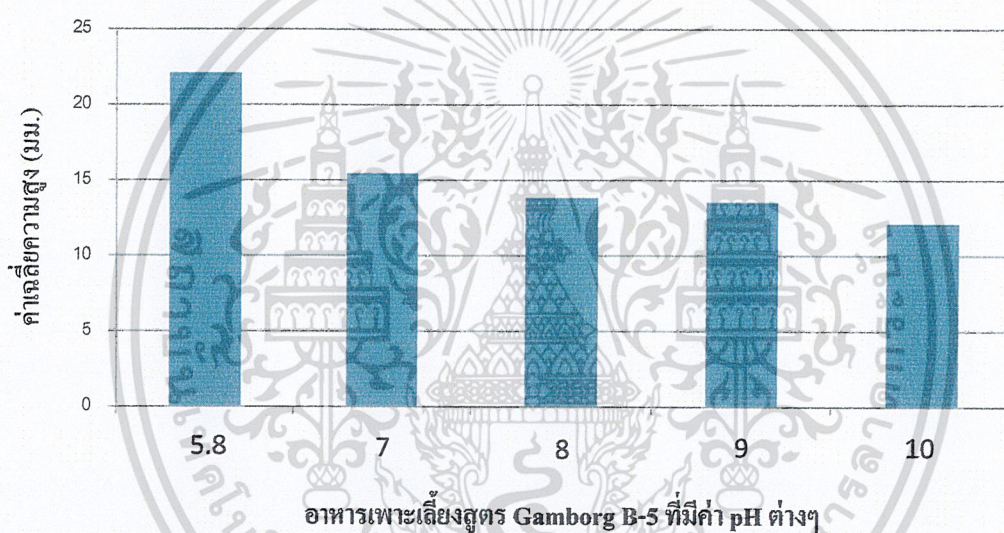
หาค่าเฉลี่ยความสูงและจำนวนก้านใบเฉลี่ยของกุหลาบหนูในอาหาร Gamborg B-5 ที่ค่า pH ต่างๆ ให้ผลดังตารางที่ 4.3 และค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบหนูที่เพาะในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มี pH เท่ากับ 7 8 9 และ 10 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$  แต่แตกต่างจากอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีค่า pH เท่ากับ 5.8 ที่มีค่าเฉลี่ยความสูงมากที่สุดคือ 22.1 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.8) และค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบหนูที่เพาะในอาหาร Gamborg B-5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P < 0.05$  (รูปที่ 4.9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ระดับ pH ต่างๆ ต่อค่าเฉลี่ยความสูงและ ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบของกุหลาบหนู

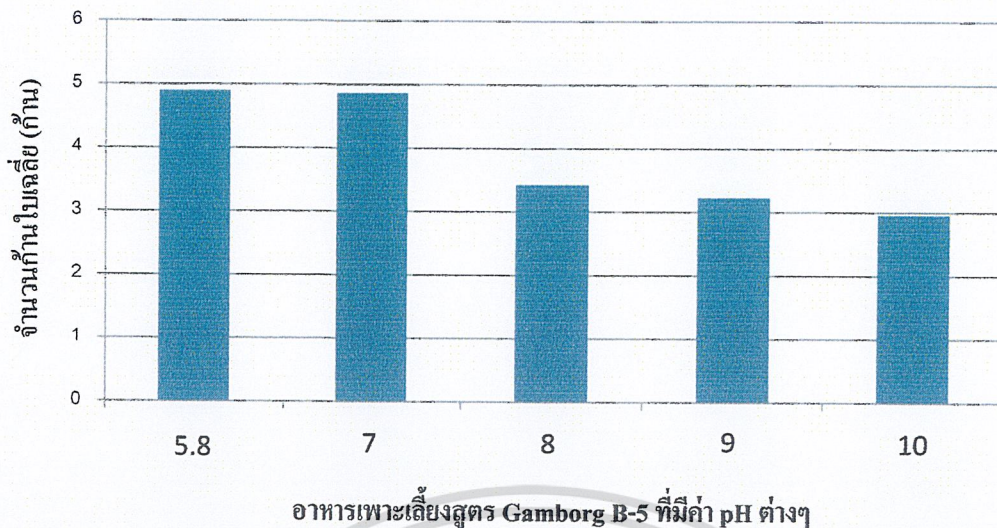
ค่า pH ที่แตกต่างกัน ในอาหารสูตร B5	ค่าเฉลี่ยความสูงของ ต้นกุหลาบหนู (มิลลิเมตร)	ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบ ของกุหลาบหนู(ก้าน)
7	15.47 ±1.64 <sup>b</sup>	4.87 ±1.10 <sup>a</sup>
8	13.86±1.64 <sup>b</sup>	3.43 ±1.10 <sup>a</sup>
9	13.57 ±1.64 <sup>b</sup>	3.23 ±1.10 <sup>a</sup>
10	12.14 ±1.64 <sup>b</sup>	2.96 ±1.10 <sup>a</sup>

ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบ และค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบ ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  $P<0.05$



รูปที่ 4.8 ความสูงโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มีค่า pH ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 จำนวนก้านใบ โดยเฉลี่ยของกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มีค่า pH แตกต่างกัน

#### 4.4 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณน้ำในอาหาร Gamborg B-5 ที่มีผลต่อการเจริญของต้นกุหลาบหนู

ใช้กุหลาบหนูที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อที่มีลักษณะใบขาวซีดมาทำการทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยสูตรแรกเติมผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร และเติมผงวุ้นในอาหารสูตร Gamborg B-5 สูตรที่สองอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้นและไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ และอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงวุ้นและไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ สังเกตผลการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบหนู โดยวัดความสูงให้ผลดังนี้

อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตรและเติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร ลักษณะต้นกุหลาบหนูมีความสูงของลำต้นเฉลี่ย 11.3 มิลลิเมตร ความยาวของข้อสั้นและมีสีใบสีเขียวอ่อน (รูปที่ 4.10ก)

อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ ลักษณะต้นกุหลาบหนูมีความสูงของลำต้นเฉลี่ย 12.6 มิลลิเมตร ความยาวของข้อสั้น มีใบสีเขียว ออกดอกหลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 3 สัปดาห์ (รูปที่ 4.10ข) ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์และไม่เติมผงวุ้น ลักษณะต้นกุหลาบหนูมีความสูงลำต้นเฉลี่ย 14.4 มิลลิเมตร ความยาวของข้อยาว ใบมีสีเขียว ออกดอกหลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 3 สัปดาห์ (รูปที่ 4.10ค)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.10 ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร (ก) ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตรและเติมผงวุ้น 7.0 กรัมต่อลิตร (ข) ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้น 7.0 กรัมต่อลิตร ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ (ค) ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ และเติมไม่เติมผงวุ้น

ค่าความสูงเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์และไม่เติมผงวุ้น ให้ค่าเฉลี่ยความสูงที่แตกต่างกันทางสถิติจากค่าความสูงของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้นและเติมผงถ่านกับอาหาร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้นแต่ไม่เติมผงถ่านที่มีค่าเฉลี่ยความสูงที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  ในตารางที่ 4.4

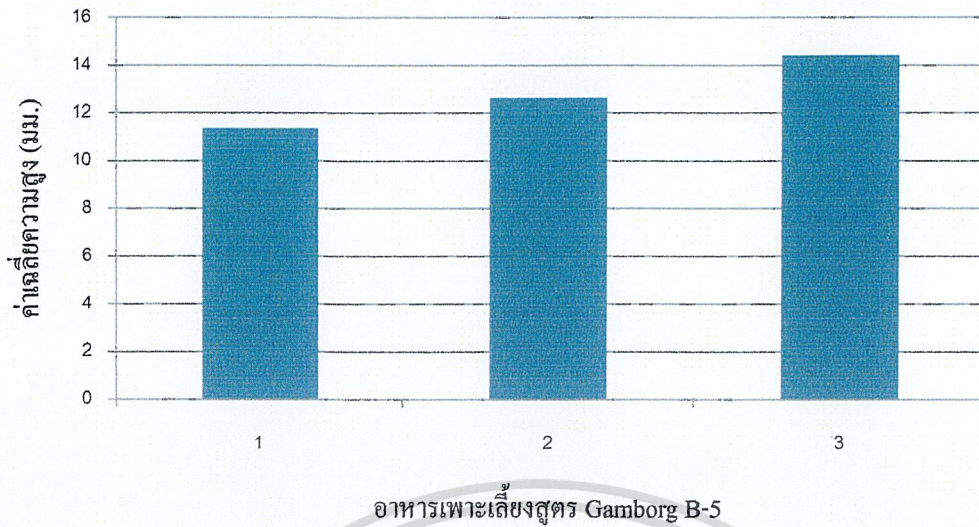
ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5

อาหารสูตร Gamborg B-5	ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบ
เติมผงถ่านและผงวุ้น	$11.37 \pm 0.53^b$
เติมผงวุ้นแต่ไม่เติมผงถ่าน	$12.65 \pm 0.53^b$
ไม่เติมผงถ่านและไม่เติมผงวุ้น	$14.43 \pm 0.53^a$

ตัวอักษรที่แสดงเหนือค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบ ถ้าเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่

$P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ความสูงโดยเฉลี่ยของต้นกุหลาบที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 ต่างๆ (1) อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้นและเติมผงถ่านกัมมันต์ (2)อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้นแต่ไม่เติมผงถ่าน (3)อาหารสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงวุ้นและไม่เติมผงถ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 5.1 ศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญของกุหลาบหนูส่วนตาข้าง

จากการทดลองโดยใช้ส่วนตาข้างของกุหลาบหนูเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตรและความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อ NAA ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน 16 สูตรแสดงในตารางที่ 3.1 แต่ละสูตรทำการทดลอง 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงนาน 45 วัน โดยต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร K จะมีค่าเฉลี่ยความสูงมากที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยความสูงเท่ากับ 25.3 มิลลิเมตร ซึ่งในอาหารสูตร K มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และต้นกุหลาบหนูที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบมากที่สุดคือ ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร D คือมีจำนวนก้านใบเฉลี่ยเท่ากับ 8.6 ก้าน โดยในอาหารสูตร D มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตรที่ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบหนูน้อยที่สุดคืออาหารสูตร B โดยได้ต้นกุหลาบหนูที่มีค่าเฉลี่ยความสูงเท่ากับ 14.6 มิลลิเมตร และสูตรอาหารที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบน้อยที่สุดคือ อาหารสูตร F คือได้ต้นกุหลาบหนูที่มีจำนวนก้านใบเฉลี่ยเท่ากับ 4.1 ก้าน เมื่อระยะเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยงต้นกุหลาบหนูนานมากขึ้น จะสังเกตเห็นว่าสีใบของต้นกุหลาบหนูบางต้นจะมีสีเขียวอ่อนและบางต้นกลายเป็นสีซีด เนื่องจากการเพาะเลี้ยงต้นกุหลาบหนูในอาหารที่มีการเติมผงถ่านกัมมันต์ โดยเปรียบเทียบจากต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์

#### 5.2 ศึกษาอิทธิพลของเฟอร์รัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบหนูส่วนตาข้าง

ศึกษาอิทธิพลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อการเจริญของต้นกุหลาบหนู โดยใช้ส่วนยอดเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และมีความเข้มข้นของเฟอร์รัสซัลเฟตแตกต่างกันคือ 86 129 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

172 และ 215 มิลลิกรัมต่อลิตรค่าเฉลี่ยความสูงของกุหลาบหนูไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  ยกเว้นที่ความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟต 172 และ 215 มิลลิกรัมต่อลิตรที่มีค่าเฉลี่ยความสูงน้อยที่สุดคือ 12.8 และ 12.3 ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบของต้นกุหลาบหนูไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟต 86 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ผลดีที่สุดคือลำต้นสมบูรณ์และมีความสูงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มีความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟต 129 172 และ 215 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่าเฟอรัสซัลเฟตมีส่วนช่วยให้ใบกุหลาบหนูมีสีเขียวขึ้นและยังพบอีกว่ายิ่งความเข้มข้นของเฟอรัสซัลเฟตมากขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญของต้นกุหลาบหนูได้

### 5.3 ศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดต่างที่มีผลต่อการเจริญของกุหลาบหนู

จากผลการทดลองโดยใช้ส่วนตางข้างของต้นกุหลาบหนูเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีค่า pH แตกต่างกันคือ 5.8 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 โดยเปรียบเทียบ pH 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 กับอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มี pH 5.8 พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีค่า pH 7.0 ให้ผลดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกุหลาบหนูที่เจริญในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี pH 8.0 9.0 และ 10.0 และเปรียบเทียบกับต้นกุหลาบหนูที่เจริญในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี pH 5.8 คือต้นกุหลาบหนูที่เจริญในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี pH 7.0 มีความสูงเท่ากับ 15.4 มิลลิเมตร กุหลาบหนูมีลำต้นที่สมบูรณ์ดีโดยมีค่าเฉลี่ยความสูงที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  และให้ค่าเฉลี่ยจำนวนก้านใบเฉลี่ยเท่ากับ 4.8 ก้าน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าที่ค่า pH สูงจะไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกุหลาบหนูเนื่องจาก ถ้าในอาหารมีค่า pH สูงจะทำให้เกิดการยับยั้งหรือชะลอการเจริญของกุหลาบหนูได้

### 5.4 การศึกษาปริมาณน้ำในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่มีผลต่อการเจริญของกุหลาบหนู

นำต้นกุหลาบหนูที่ผ่านการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงถ่านกัมมันต์และมีลักษณะใบขาวซีดขนาดความสูงลำต้น 2 เซนติเมตรมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่แตกต่างกันโดย นำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 ที่เติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตรและไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงวุ้นและเติมผงถ่านกัมมันต์ 1.0 กรัมต่อลิตร และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงวุ้นและไม่เติมผงถ่านกัมมันต์โดยใช้

ลำไส้ทำหน้าที่เป็นที่ยึดเกาะของรากแทนผงวุ้น เมื่อวัดความสูงของต้นกุหลาบหนูได้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกุหลาบหนูที่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  $P < 0.05$  ซึ่งอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่ให้ผลดีที่สุดคือ อาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์และไม่เติมผงวุ้นได้ลำต้นสมบูรณ์และมีค่าเฉลี่ยความสูงมากที่สุด ซึ่งในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีน้ำเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์และไม่เติมผงวุ้นจะมีปริมาณของแข็งในอาหารน้อยกว่าอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่เติมผงถ่านกัมมันต์หรือเติมผงวุ้น ทำให้รากของต้นกุหลาบหนูสามารถดูดซึมแร่ธาตุและสารอาหารไปใช้ในการเจริญได้มากกว่าจึงทำให้ต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Gamborg B-5 ที่ไม่เติมผงวุ้นและไม่เติมผงถ่านกัมมันต์โดยใช้ลำไส้ทำหน้าที่เป็นที่ยึดเกาะของรากแทนผงวุ้น ต้นกุหลาบเติบโตได้ดี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

ปิฎกษะ บุนนาค. 2549. ไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักพิมพ์บรรณกิจ. กรุงเทพฯ.

สนั่น จำเลิศ. 2518. การปลูกกุหลาบ. ปีที่ 11 ฉบับที่ 4, ภาควิชาพืชและสวน คณะเกษตร , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รังสฤษฎ์ กาวิตะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค, ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รรอง วิเศษสุวรรณ. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นพื้นฐาน, เอกสารฝึกอบรมทางวิชาการ เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขั้นพื้นฐาน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

คำนูน กาญจนานูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช:Plant tissue culture สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

มณฑา วงศ์มณีโรจน์. 2542. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการเทคนิคการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อพืช ขั้นพื้นฐาน.งานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน. นครปฐม.

ปิยะดา ต้นตะสวัสต์ และอารีย์ วรรณวุฒิก. 2551.ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ฮอว์โมนพืชและสารสังเคราะห์: แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. สำนักพิมพ์ไดนามิกการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

วิชัย โฆสิตรัตน์. 2542. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขั้นพื้นฐาน ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตร-ศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม.

เศรษฐมนตร์ กาญจนกุล. 2550. กุหลาบราชินีแห่งดอกไม้. สำนักพิมพ์เศรษศิลป์. กรุงเทพฯ

อารีย์ วรรณวุฒิก. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ.

อุไร จิรมงคลการ. 2549. มือใหม่หัดปลูกกุหลาบ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2528. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช . คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พีรเดช ทองอำไพ. 2532. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (ฉบับร่าง) คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทิญา พิมพ์วิชา. 2546. การขยายพันธุ์กุหลาบหนูโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพฯ

Carelli,B.P.and Echeverrigaray,S.2001. An improved system for the in vitro propagation of rose cultivars. Scientia Horticulturae.92(1), 69-74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้ทางเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dennis Thomas, T.2008. The rule of activated charcoal in plant tissue culture . *Biotechnology Advances*. 26(6), 618-631.
- Jaddarzadeh,Z. and Khosh-Khui M.2005. Factors affecting tissue culture of Damark rose (*Rosa damascene* Mill.). *Scientia Horticulturae*. 105(4),475-482
- Khosh-Khui, M. and Sink, K.C.1982. Rooting-enhancement of *Rosa hybrid* for tissue culture propagation. *Scientia Horticulturae*. 17(4),371-376.
- Kunitake, H.,Imamizo, H. and Mii, M. 1993. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature seed-derived calli of rugosa rose (*Rosa rugosa* Thunb) . *Plant Science*. 90(2),187-194
- Misra, P.and Chakrabarty D. 2009. Clonal propagation of *Rosa clinophylla* Thory. Through axillary bud culture.*Scientia Horticulturae*. 119(2),212-216
- Gamborg, O.L. T. Murashige, T.A. Thorpe, and I.K. Vasil. 1976. Plant tissue culture media. *In Vitro*. 12:473-478.
- Gamborg, O.L. and J.P. Shyluk. 1981. Nutrition, media and characteristics of plant cell and tissue cultures, p.21-44. In: T.A. Thorpe (ed.). *Plant Tissue Culture*.
- Murashige, T. 1975. Nutrition of plant cells and organs *In Vitro*. *In Vitro*. 9:81-85.
- Dougall. D.K. 1980. Nutrition and metabolism, In: E.J. Staba (ed.). *Plant Tissue Culture as Source of Biochemical*. CRC Press, Boca Raton, Florida. p.21-58.
- Pierik, M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers.
- [online] [http://learners.in.th/file/kronika\\_ss/ms.doc](http://learners.in.th/file/kronika_ss/ms.doc)
- [online] [http://bot.swu.ac.th/upload/meattree\\_document/1228998408.pdf](http://bot.swu.ac.th/upload/meattree_document/1228998408.pdf)
- [online] [http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/ct\\_8\\_2545\\_plant\\_tissue.pdf](http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/ct_8_2545_plant_tissue.pdf)
- [online] <http://www.it.mju.ac.th/dbresearch/organize/extention/book-other/book039.html>
- [online] <http://gotoknow.org/blog/na-ture/387007>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก.

ตารางภาคผนวกที่ 1 stock solution สำหรับสูตรอาหาร Gamborg B-5

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
<b>Macronutrients (g/l)</b>	<b>(B5I)</b>
KNO <sub>3</sub>	25.0
KH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	-
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.5
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2.5
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	1.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	1.5
<b>Micronutrients (mg/l)</b>	<b>(B5II)</b>
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	1000
MnSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	-
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	300
Zn SO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	200
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	25
Cu SO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	2.5
Co Cl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	2.5
<b>Vitamins (mg/100ml) เก็บแช่แข็ง</b>	
Glycine	-
Nicotinic acid	100
Pyridoxine.HCl	100
Thiamine.HCl	1000
Myo – inositol	10,000
อื่น ๆ*	-
KI (mg/100 ml)	75

● สามารถเตรียมรวมกับ macronutrient ได้เลย  
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่หรือการเขียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข.

## ข้อมูลวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยความสูงและจำนวนก้านใบเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงใน อาหารที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน

## ANOVA

Hight

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	389.133	15	25.942	20.440	.000
Within Groups	40.614	32	1.269		
Total	429.748	47			

## Hight

Hormone	N	Subset for alpha = 0.05				
		1e	2d	3c	4b	5a
Duncan <sup>a</sup>						
B	3	14.6933				
C	3	14.8367	14.8367			
E	3	15.0300	15.0300			
D	3	15.5567	15.5567	15.5567		
F	3	15.5667	15.5667	15.5667		
O	3	16.2467	16.2467	16.2467		
L	3	16.8233	16.8233	16.8233		
G	3		16.9167	16.9167		
A	3			17.3967		
N	3			17.4767		
M	3			17.4800		
P	3			17.5933		
J	3				20.3233	
I	3				20.5033	
H	3				22.0367	
K	3					25.3800
Sig.		.051	.056	.066	.087	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่... สำหรับการ... ใช้งาน... ศึกษา... ไม่... 0.066... 0.087... 1.000... ในการค่า

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## ANOVA

จำนวนก้านใบ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81.310	15	5.421	4.983	.000
Within Groups	34.810	32	1.088		
Total	116.120	47			

จำนวนก้านใบ

Hormone	N	Subset for alpha = 0.05					
		1f	2e	3d	4c	5b	6a
Duncan <sup>a</sup>							
F	3	4.1000					
L	3	4.3667					
O	3	5.0667	5.0667				
N	3	5.2333	5.2333	5.2333			
P	3	5.3333	5.3333	5.3333			
G	3	5.3500	5.3500	5.3500			
M	3	5.5500	5.5500	5.5500	5.5500		
B	3	5.6667	5.6667	5.6667	5.6667		
C	3	6.0667	6.0667	6.0667	6.0667	6.0667	
I	3		6.7333	6.7333	6.7333	6.7333	6.7333
H	3		6.8833	6.8833	6.8833	6.8833	6.8833
E	3			7.2333	7.2333	7.2333	7.2333
J	3				7.4167	7.4167	7.4167
K	3					7.8667	7.8667
A	3					8.0000	8.0000
D	3						8.5667
Sig.		.055	.076	.052	.064	.055	.069

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยความสูงและจำนวนก้านใบเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่ค่าความเป็นกรดต่างๆ

## ANOVA

Hight

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	174.607	4	43.652	24.815	.000
Within Groups	17.591	10	1.759		
Total	192.197	14			

## Hight

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1b	2a
Duncan <sup>a</sup> 10	3	12.1467	
8	3	13.5767	
9	3	13.8600	
7	3	15.4767	
5.8	3		22.1100
Sig.		.087	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## ANOVA

จำนวนก้านใบ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.670	4	1.917	1.500	.274
Within Groups	12.785	10	1.278		
Total	20.454	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## จำนวนก้านใบ

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1a	
Duncan <sup>a</sup>	10	3	2.9667
	9	3	3.2333
	8	3	3.4333
	7	3	4.8667
	5.8	3	4.9000
	Sig.		.138

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวกที่ 4 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยความสูงและจำนวนก้านใบเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5 ที่ความเข้มข้นของเฟอริสซัลเฟตต่างๆ

## ANOVA

Hight

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	183.914	4	45.978	11.445	.001
Within Groups	40.172	10	4.017		
Total	224.085	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Hight

FeSO4	N	Subset for alpha = 0.05		
		1c	2b	3a
Duncan <sup>a</sup>	215	3	12.3933	
	172	3	12.8200	
	129	3		16.0900
	86	3		19.3067
	43	3		20.9633
	Sig.		.702	1.000
				.15

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## ANOVA

จำนวนก้านใบ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.397	4	2.599	1.428	.294
Within Groups	18.207	10	1.821		
Total	28.604	14			

จำนวนก้านใบ

FeSO4	N	Subset for alpha = 0.05
		1a
Duncan <sup>a</sup>	215	3
	129	3
	172	3
	86	3
	43	3
	Sig.	.091

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยความสูงและจำนวนก้านใบเฉลี่ยของต้นกุหลาบหนูที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B-5

## ANOVA

Hight

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.174	2	7.087	16.694	.004
Within Groups	2.547	6	.425		
Total	16.721	8			

## Hight

B5		N	Subset for alpha = 0.05	
			1b	2a
Duncan <sup>a</sup>	เต็มวุ้นและถ่าน	3	11.3733	
	เต็มวุ้นไม่เต็มถ่าน	3	12.6500	
	ไม่เต็มวุ้นและถ่าน	3		14.4333
Sig.			.053	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้