

513  
153282  
7-3

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ Rosa multiflora Thunb.

ปริญญาโท

ของ

วิไลรัตน์ อุตชยัค

๕๑ ก.บ. 2527

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ  
ตึกวิทย 23 พระโขนง กรุงเทพมหานคร 11 โทร. 3921525, 3915158

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กันยายน 2526

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

153282

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตและคณะกรรมการสอบ ได้พิจารณาปฏิญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการที่ปรึกษา

คณะกรรมการสอบ

..... ดงดง นรจ./ทว. .... ประธาน  
..... กรรมการ

..... ดงดง นรจ./ทว. .... ประธาน  
..... กรรมการ

..... กรรมการ

## ประกาศคุณูปการ

ปริญญาโทฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือ และการให้คำแนะนำอย่างดียิ่ง จาก คร.คงศักดิ์ พร้อมเทพ และได้รับการตรวจแก้ไขจากอาจารย์พิมพ์วรรณ ณ พัทลุง ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมณฑา พรหมบุญ ที่กรุณาช่วยเหลือ และให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดระยะเวลาที่ศึกษาอยู่ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ อรพันธ์ แก้วลาย ที่กรุณาช่วยเหลือในการตรวจแก้ปริญญาโท

ขอขอบพระคุณอาจารย์หรรษา จักรพันธุ์ ณ อยู่ธมา คุณเสียงใส พิริยพจนต์ คุณเขาวนุช หงษรานนท์ ที่ช่วยฝึกเทคนิคเบื้องต้นของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และขอขอบคุณ คุณณัฐยา ชินประยูร ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับเอกสารอ้างอิงของ กุหลาบ

ขอขอบคุณ คุณสมเพชร พรหมเมืองคี ที่ได้นำขบถิ่งกุหลาบเพื่อใช้ในการวิจัย และขอขอบคุณ คุณลิขิต พุ่มอยู่ ที่กรุณาช่วยเหลือในการถ่ายภาพผลการวิจัยทั้งหมด

ขอขอบคุณ คุณเกศรินทร์ ภูมิศรีแก้ว และเพื่อน ๆ ทุกคนที่ช่วยเหลือให้การวิจัยนี้ สำเร็จลงได้ด้วยดี

วิไลภรณ์ อุทธยอก

## สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ .....	1
คำนำ .....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า .....	2
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า .....	3
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า .....	3
เวลาที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า .....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	5
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกุหลาบ .....	5
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ....	6
3 วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า .....	13
อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า .....	13
วิธีทดลอง .....	14
วิธีเก็บรวบรวมข้อมูลและวิธีวิเคราะห์ข้อมูล .....	16
4 ผลการศึกษาค้นคว้า .....	17
ผลการทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ..	17
ผลการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 ..	31
ผลการทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงหน่อที่ได้จากการทดลองที่ 1 ...	37
5 สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ .....	46
จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า .....	46
วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า .....	46

บทที่	หน้า
การวิเคราะห์ข้อมูล .....	47
สรุปและอภิปรายผล .....	47
ข้อเสนอแนะ .....	52
บรรณานุกรม .....	53
ภาคผนวก .....	59

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 จำนวนเนื้อเยื่อกุหลาบที่เพาะเลี้ยง จำนวนเนื้อเยื่อที่เกิดการปะปนของเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนเนื้อเยื่อที่รอดตาย และเปอร์เซ็นต์การรอดตายของเนื้อเยื่อกุหลาบ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ MS คัดแปลง เป็นเวลา 1 เดือน .....	18
2 น้ำหนักสดเฉลี่ย จำนวนเฉลี่ย และความสูงเฉลี่ยของหน่อ ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ ในอาหารสูตร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA kinetin และน้ำมะพร้าว เป็นเวลา 2 เดือน .....	20
3 น้ำหนักสดเฉลี่ย และขนาดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อกุหลาบที่เพาะเลี้ยง ในอาหารสูตร MS MSC <sub>0</sub> MSN MSNC <sub>0</sub> MSD และ MSDC <sub>0</sub> เป็นเวลา 2 เดือน .....	28
4 น้ำหนักสดเฉลี่ย และขนาดเฉลี่ยของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSC <sub>0</sub> MSBAN และ MSBANC <sub>0</sub> เป็นเวลา 2 เดือน ...	33
5 จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยของพืชต้นใหม่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ซึ่งเติม IBA และชูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 1 เดือน .....	41

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 กิ่งของกุหลาบ <i>R. multiflora</i> ที่มีตาข้างตึกอยู่ และลักษณะของเนื้อเยื่อส่วนตาข้างที่นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพที่ตึกอยู่กับส่วนข้อ .....	13
2 เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ <i>R. multiflora</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBA <sub>1</sub> Co เป็นเวลา 1 เดือน .....	19
3 เปรียบเทียบน้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อ จำนวนเฉลี่ยของหน่อ และความสูงเฉลี่ยของหน่อ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA BA กับน้ำมะพร้าว kinetin และ kinetin กับน้ำมะพร้าว เป็นเวลา 2 เดือน .....	21
4 เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ <i>R. multiflora</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBA และ MSBACo .....	23
5 เปรียบเทียบเนื้อเยื่อของกุหลาบ <i>R. multiflora</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBA และ MSBACo .....	24
6 เปรียบเทียบลักษณะของหน่อ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบในอาหารสูตร MSBA MSBACo MSK และ MSKCo เป็นเวลา 2 เดือน .....	26
7 เปรียบเทียบน้ำหนักสดเฉลี่ย และขนาดเฉลี่ยของแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA (MSN) NAA กับน้ำมะพร้าว (MSNCo) 2, 4 - D (MSD) และ 2, 4 - D กับน้ำมะพร้าว (MSDCo) เป็นเวลา 2 เดือน ...	29
8 เปรียบเทียบแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบในอาหารสูตร MSN MSNCo MSD และ MSDCo เป็นเวลา 2 เดือน .....	30

9	น้ำหนักลดเฉลี่ยของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBAN และ MSBANCo เป็นเวลา 2 เดือน .....	34
10	ขนาดเฉลี่ยของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBAN และ MSBANCo เป็นเวลา 2 เดือน .....	35
11	ลักษณะของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ( $BA_0N_0$ ) และ MS ที่เติมน้ำมะพร้าว ( MSCo หรือ $BA_0N_0Co$ ) เป็นเวลา 2 เดือน .....	36
12	ลักษณะของแคลลัสที่มีสีเขียว เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS คัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 ppm และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ( $MSBA_{0.5}N_0Co$ ) .....	38
13	ลักษณะของหน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBAN เป็นเวลา 2 เดือน...	39
14	หน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA ความเข้มข้น 5.0 ppm และซูโครส 4.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน .....	40
15	จำนวนรากเฉลี่ยของพืชต้นใหม่ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 1 เดือน ...	42
16	การสร้างรากของพืชต้นใหม่ในอาหารที่ไม่เติม IBA แต่เติมซูโครสความเข้มข้นสูง ( 8.0 เปอร์เซ็นต์) .....	44
17	ความยาวรากเฉลี่ยของพืชต้นใหม่ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 1 เดือน ....	45

กุหลาบเป็นดอกไม้ที่มีความสวยงามมากชนิดหนึ่ง จนกระทั่งมีผู้ยกย่องให้เป็น "ราชินีแห่งดอกไม้" (Sudell. 1946 : 605) เป็นดอกไม้ที่มีสถิติการจำหน่ายสูง จากจำนวนไม้ตัดดอกที่จำหน่ายในยุโรปเป็นกุหลาบ 30 เปอร์เซ็นต์ คาร์เนชั่น 20 เปอร์เซ็นต์ อีก 50 เปอร์เซ็นต์เป็นดอกไม้ชนิดอื่น (บรรเจิด คติการ 2516 : 4, สนั่น ขำเลิศ 2516 : 8) จึงเห็นได้ว่าการปลูกกุหลาบเป็นไม้ตัดดอกเป็นเรื่องที่น่าสนใจและควรส่งเสริมให้มีการปลูกเป็นการค้ามากยิ่งขึ้น เนื่องจากกุหลาบเป็นดอกไม้ที่ได้รับความนิยมมานาน ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับการสร้างความนิยมใหม่ของตลาด และมีลักษณะพิเศษคือ ควบคุมการตัดดอกได้ง่าย บังคับการออกดอกให้ตรงกับเทศกาลได้ นอกจากนี้ประเทศไทยยังสามารถปลูกกุหลาบในฤดูหนาวได้เป็นอย่างดี จึงได้เปรียบบางประเทศที่ต้องปลูกกุหลาบในเรือนกระจก (Young and others . 1975 : 1) ทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูงและดอกกุหลาบมีราคาแพง ดังนั้นจึงเป็นโอกาสดีของประเทศไทยที่จะปลูกกุหลาบตัดดอกเป็นการค้าและส่งไปขายยังตลาดต่างประเทศให้มากขึ้น

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จของการปลูกกุหลาบได้แก่ การเลือกพันธุ์ที่ใหม่ผลผลิตสูง สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี อายุยืน และมีการบำรุงรักษาอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการเกษตรสมัยใหม่ พันธุ์กุหลาบตัดดอกที่นิยมปลูกในประเทศไทยเป็นกุหลาบลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ เมื่อขยายพันธุ์โดยการตอนกิ่งหรือตัดชำแล้วทำให้ระบบรากต้น ไม่แข็งแรง มีความอ่อนแอ ไม่ทนทานต่อโรค และอายุการให้ผลสั้น (สนั่น ขำเลิศ 2516 : 87, Bailey . 1947 : 237, Perry. 1977 : 257) แต่ในประเทศไทยยังนิยมขยายพันธุ์ด้วยวิธีการตอนกิ่ง ซึ่งทำให้เสียเวลา แรงงาน และทุนมาก ส่วนการตัดชำมีเปอร์เซ็นต์ในการออกรากน้อย (Simon and others . 1942 : 221) โดยเฉพาะกุหลาบที่มีดอกสีขาวหรือสีเหลือง และกุหลาบพันธุ์ที่บางพันธุ์จะไม่ออกรากเลย (Jeramias. 1979 : 100) ดังนั้นพันธุ์กุหลาบที่ปลูก

ในประเทศไทยจึงมีเพียงไม่กี่พันธุ์ ทำให้มีการแข่งขันในด้านตลาดมากขึ้น การขยายพันธุ์โดยวิธีติดตาเป็นวิธีการที่ดีที่สุด และได้รับความนิยมมากที่สุดในต่างประเทศ (Brickell, 1979 : 19) เพราะสามารถขยายพันธุ์ได้มาก รวดเร็ว ไม้ในต้นที่มีความชำนาญในการติดตาสองคนจะทำได้มากกว่า 1,000 ต้นต่อวัน (สมเพียร เกษมทรัพย์ 2522 : 109) ความสำเร็จจะมีสูงมากคือ ประมาณ 90 - 100 เปอร์เซ็นต์ (Hartmann and Kester, 1959 : 128) ต้นกุหลาบที่ขยายพันธุ์โดยวิธีติดตาจะมีความแข็งแรงมากกว่าต้นที่ขยายพันธุ์โดยวิธีตอนกิ่ง หรือตัดชำ เนื่องจากสามารถเลือกต้นตอ (Rootstock) พันธุ์ป่าที่มีระบบรากแข็งแรงและเจริญได้ไกล ทำให้ดูดซึมอาหารได้ดี ถัดต้นตอกับต้นพันธุ์ที่เข้ากันได้ (Compatible) ต้นตอจะส่งเสริมลักษณะเด่นของต้นพันธุ์ที่ให้แสดงออกมากยิ่งขึ้น เช่น การเจริญเติบโตของตน ขนาดของทรงพุ่ม จำนวน และคุณภาพของดอก ความทนทานต่อสภาพดินฟ้าอากาศ ความต้านทานต่อโรคและแมลง อาชยุขึ้น (Fadden, 1914 : 5, Bilou and others, 1964 : 27 - 31, Dick, 1972 : 93 - 97) อย่างไรก็ตาม การที่ชาวสวนยังขยายพันธุ์โดยวิธีตอนกิ่งหรือตัดชำอยู่นั้น มีสาเหตุจากการติดตาเป็นวิธีใหม่ ชาวสวนยังไม่คุ้นเคย จึงเห็นว่ามีขบวนการยุ่งยาก ต้องอาศัยความรู้ความชำนาญพอสมควร (สนั่น ชำเลิศ 2516 : 38) และต้นตอหาได้ยาก มีปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อการติดตา (ปิฎกระ บุนนาค 2499 : 2) การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการแก้ปัญหาการขาดแคลนกุหลาบที่เป็นต้นตอได้ เพราะการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้สามารถทำได้ในปริมาณมากโดยใช้พืชเริ่มต้นเพียงเล็กน้อย ทำให้มีต้นตอสำหรับการติดตาของกุหลาบพันธุ์ที่ใช้อย่างพอเพียง และต้นตอที่ใช้พืชเริ่มต้นที่เหมือนกันจะมีความสม่ำเสมอมากที่สุด ด้วยเหตุผลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบที่ใช้เป็นต้นตอ เพื่อช่วยส่งเสริมการขยายตัวและความสำเร็จในการปลูกกุหลาบตัดดอกเพื่อการค้าให้มากยิ่งขึ้น

#### จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตาข้าง (Lateral bud) ของ

กุหลาบ Rosa multiflora ที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ MS คัดแปลง

2. เพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารที่เติมลงไปในการเพาะเลี้ยง MS ที่เหมาะสมต่อการเกิดเนื้อ แคลลัส (Callus) และรากของกุหลาบ R. multiflora

### ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ทำให้ทราบวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ R. multiflora ที่สามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากกว่าการขยายพันธุ์โดยวิธีปกติ เช่น การตัดชำและการเพาะเมล็ด โดยใช้พืชเริ่มต้นเพียงเล็กน้อย
2. การศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของงานวิจัยนี้ จะเป็นพื้นฐานของการศึกษาค้นคว้าของพืช การผลิตพืชที่ปราศจากโรค และการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

### ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. พืชทดลองคือ กุหลาบ R. multiflora
2. สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบมีดังนี้
  - 2.1 สูตร MS
  - 2.2 สูตร MS คัดแปลง
    - 2.2.1 สูตร MS คัดแปลง ที่เติมสารต่าง ๆ ได้แก่ BA (6 - benzyladenine) kinetin (6 - furfurylamino-purine) NAA ( $\alpha$ -naphthalene acetic acid) 2, 4 - D (2, 4 - dichlorophenoxy acetic acid) และน้ำมะพร้าว ลงในอาหารสูตร MS ในระดับความเข้มข้นเป็นอัตราส่วนต่าง ๆ กัน (ตาราง 2 ภาคผนวก)
    - 2.2.2 สูตร MS คัดแปลงที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก

ลงครึ่งหนึ่ง ( MS/2 ) แล้วเติม IBA (Indole butyric acid) และซูโครส  
ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (ตาราง 2 ภาคผนวก)

3. เนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง คือเนื้อเยื่อของตาข้าง โดยตัดเอา  
มาเพาะเลี้ยงในสภาพที่ติดอยู่กับส่วนข้อ (Node)

เวลาที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เริ่มทดลองเมื่อ 1 พฤศจิกายน 2525

สิ้นสุดการทดลองเมื่อ 30 กรกฎาคม 2526

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกุหลาบ

กุหลาบ *R. multiflora* เป็นกุหลาบป่าที่จัดอยู่ในวงศ์ (Family) Rosaceae มีถิ่นกำเนิดในญี่ปุ่น (Stout. 1959 : 150, Aoki. 1967 : 33, Thomas. 1968 : 124, Craig. 1971 : 23) มีลักษณะโดยทั่วไปดังนี้คือ มีระบบรากค้ำทรงพุ่มแข็งแรง ยอดอ่อนมีสีเขียวหรือสีแดง ช่วงกลางใบบางพันธุ์ไม่มีหนาม ใบเป็นรูปไข่ซึ่งมีใบย่อย 3 - 5 คู่ ใบเป็นหยักแหลมลึกมีขน ดอกสีขาว เหลือง และชมพูอ่อน ดอกเป็นช่อแบบโครีมบ์ (Corymb) มีกลิ่นหอม ผลกลม เมื่อผลสุกจะมีสีแดง มีอายุยืน ทนอากาศหนาวปานกลาง เจริญได้ดีในเขตร้อน ไม่เหมาะที่จะใช้ปลูกในเรือนกระจก มีความต้านทานต่อโรคใบจุด (Black spot) แต่ต้นตอไม่สามารถถ่ายทอดลักษณะนี้ให้แก่ต้นพันธุ์ได้ เพียงแต่ทำให้เป็นโรคใบจุดซ้ำลงเท่านั้น ไม่มีความต้านทานโรคราแป้งขาว (Powdery mildew) และโรคเหี่ยว (Verticillium wilt) ลำต้นมีข้อสั้นทำให้มีจำนวนตามากกว่าชนิดอื่น เมื่อขยายพันธุ์โดยการปักชำจะมีกิ่งที่เกิดจากตาที่ฝังอยู่ในดิน (Sucker) เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งทำให้เสียเวลาในการปลิดทิ้ง แต่อย่างไรก็ตามถ้าเพาะด้วยเมล็ด รากของกุหลาบ *R. multiflora* ก็สามารถแตกกิ่งเหล่านี้ได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังถูกซาตุโบรอนกับคลอรีนสะสมไว้ในใบ ทำให้ขอบใบของต้นพันธุ์ใหม่ในฤดูร้อน และต้นพันธุ์จะหักง่ายตรงรอยแผลที่เกิดตาเมื่อมีลมพัดแรง เพราะมีเปลือกบาง (Buck. 1951 : 162, Dorsman. 1962 : 100, Allen. 1966 : 133, Carter. 1969 : 179, Saunder. 1970 : 123, Ticknor. 1971 : 64 - 68, Thomas. 1973 : 57, สมเพียร เกษมทรัพย์ 2522 : 110)

กุหลาบ *R. multiflora* เหมาะสมที่จะเป็นต้นตอของกุหลาบพันธุ์ต่อไปคือ Ms.All American Beauty, Peace, Royal Highness, Jiminy Cricket, Queen Elizabeth, Chrysler Imperial, Sutter Gold และ Montezuma (Dorsman. 1962 : 100, 1964 : 159, ศิริยา สามพระยา 2518 : 35, Pandey . 1976 : 132)

การขยายพันธุ์กุหลาบที่เป็นต้นตอนิยมขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดและการตัดชำ แต่การเพาะเมล็ดทำได้ช้าและมีกระบวนการทำยุ่งยาก ไร่จำนวนต้นน้อย เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดมีน้อยมาก (สุภารัตน์ สามพระยา 2516 : 56) ส่วนการตัดชำทำได้เร็วกว่า เพราะต้นแม่หนึ่งต้นจะให้กิ่งชำประมาณ 10 กิ่ง ในเวลาประมาณ 6 เดือน แต่มีปัญหาคือมีเปอร์เซ็นต์ในการออกรากไม่เท่ากัน กิ่งชำจะไม่มีความสำเร็จกันถ้าตัดมาจากกิ่งที่มีความอ่อนแก่ไม่เท่ากัน ทำให้ยากแก่การเลี้ยงดู ดังนั้นควรจะมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ *R. multiflora* เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณของต้นตอให้มากพอเพียงแก่การศึกษากุหลาบพันธุ์ต่อไป

#### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การศึกษากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เริ่มมีขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1902 โดย ฮาเบอร์แลนด์ ( Haberlandt ) ( Murashige. 1977 : 127) ได้พยายามเอาเซลล์จากใบพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ โดยมีแนวความคิดว่าเซลล์แต่ละเซลล์จะมีการแบ่งตัว และสามารถเจริญเป็นพืชต้นใหม่ได้ แต่ไม่สำเร็จเพราะใช้เซลล์จากใบพืชใบเลี้ยงเดี่ยวซึ่งเพาะเลี้ยงยาก (อรดี สหวัชรินทร์ 2522 : 35) , ประกอบกับในสมัยนั้นยังไม่มีการใช้ฮอร์โมนพืชและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่เหมาะสม ในปี ค.ศ. 1934 ไวท์ ( White . 1934 : 585 - 600) ประสบความสำเร็จเมื่อเลี้ยงรากมะเขือเทศในอาหารที่เติมน้ำตาลจากอ้อยและสารสกัดจากยีสต์ ที่ประกอบด้วยวิตามินบีโดยเฉพาะไทอามีน ( Thiamine )

ในปี ค.ศ. 1939 ไวท์ โนบีคอร์ท (Nobecourt) และกัวทีเรท (Gauteret) ต่างก็รายงานพ้องกันว่าสามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เป็นแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่เกาะรวมตัวกันอยู่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่อื่น ในอาหารสังเคราะห์ที่ได้อย่างไม่จำกัด (Hartmann and Koster . 1959 : 509) จากนั้นมาสูตรอาหารต่าง ๆ รวมทั้งเทคนิคและวิธีการในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็ได้รับการค้นคว้าและปรับปรุงมาเรื่อย ๆ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1962 มูราชิกและสคูก (Murashige and Skoog . 1962 : 473 - 497) ได้ศึกษาและปรับปรุงสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของยาสูบให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ในปัจจุบันนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้นำมาใช้ประโยชน์ในงานวิจัยอย่างกว้างขวาง ไม่ว่าจะเป็นงานวิจัยพื้นฐานหรืองานวิจัยประยุกต์ เช่น การศึกษาทางชีวเคมี (Fosket . 1981 : 146 - 152, Amorim, and others. 1977 : 91 - 95) การศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่อื่นของเซลล์ (Grun and Chu . 1978 : 538 - 543, Unger and Feng. 1978 : 511 - 515) การเพาะเลี้ยงอะดองเรณูเพื่อผลิตพืชที่มีโครโมโซมชุดเดียว (Nitsch and Nitsch . 1969 : 85 - 87) การเพาะเลี้ยงคัพภะที่ปล่อยให้เจริญตามธรรมชาติแล้วมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ (Ivanicka and Proteva. 1980 : 82) การผลิตพืชที่ปราศจากโรค (McGrew . 1980 : 80 - 85) และใช้ขยายพันธุ์พืชให้ได้จำนวนมากในเวลาสั้นและพืชต้นใหม่จะมีลักษณะเหมือนกันแก่ทุกประการ (Murashige and others . 1974 : 175, Ben - Jaacov and Langhans . 1972 : 289) มูราชิกและสคูก (Murashige and Skoog . 1962 : 473 - 497) ได้รายงานไว้ว่าปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือ การเลือกเนื้อเยื่อที่จะนำมาเลี้ยง การหาวิธีทำความสะอาดเนื้อเยื่อของพืช และการเลือกใช้อาหารที่เหมาะสม เนื้อเยื่อของพืชที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงได้คือ เนื้อเยื่อส่วนปลายยอด ปลายราก ตา ช่อดอก ใบ ลำต้น เรณู อับเรณู เมล็ดอ่อน รังไข่ และเนื้อเยื่อส่วนอื่น ๆ

ที่ยังอ่อนนุ่มก็เป็นเนื้อเยื่อที่สำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยง (Meyer . 1976 : 486, Butcher and Ingram. 1976 : 2 - 15) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีขนาดเล็ก (0.1 - 0.2 มิลลิเมตร) อัตราการอยู่รอดและอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าเนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่ แต่มีโอกาสปลอดเชื้อโรคโดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสได้สูงกว่า ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่ (1.00 - 10.0 มิลลิเมตร) อัตราการเจริญเติบโตของพืชเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว แต่ต้นพืชที่ได้อาจจะไม่ปลอดโรค (Murashige . 1974 : 150, 1977 : 127 - 130)

ส่วนประกอบของอาหารจะเป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญของเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และอัตราส่วนของสารแต่ละอย่างจะแตกต่างกันแล้วแต่นิคมของพืช จากการศึกษาสูตรอาหารต่าง ๆ สามารถแบ่งส่วนประกอบของอาหารได้ดังนี้

1. สารอนินทรีย์ ประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญของเนื้อเยื่อพืช แบ่งออกเป็น

1.1 ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน โปแตสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ฟอสฟอรัส คลอรีน โซเดียม และเหล็ก (Murashige and Skoog . 1962 : 476)

1.2 ธาตุอาหารรอง ได้แก่ โบรอน มังกานีส สังกะสี ไอโอดีน ทองแดง โมลิบดีนัม และโคบอลต์ (Murashige and Skoog. 1962 : 477)

2. สารอินทรีย์ แบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ได้ดังนี้ คือ

2.1 คาร์โบไฮเดรต เป็นสารที่ให้ธาตุคาร์บอนซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของพืช ส่วนใหญ่จะใช้ซูโครสประมาณ 2 - 3 เปอร์เซ็นต์ (Murashige. 1974 : 151)

2.2 วิตามิน ไทอะมีนเป็นวิตามินที่มีความจำเป็นมากต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ นอกจากไทอะมีนแล้ว กรดนิโคตินิก (Nicotinic acid) อินโนสิทอล (Inositol) และไพริดอกซิน (Pyridoxine) ก็มีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อให้ดีขึ้น (White. 1951 : 231 - 242)

### 2.3 กรดอะมิโน (Amino acid) ได้แก่ ไกลซีน (Glycine)

ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเกิดราก (Murashige . 1974 : 170)

2.4 สารเร่งการเจริญเติบโต กลุ่มของสารเร่งการเจริญเติบโตที่นิยมใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีดังนี้

2.4.1 ออกซิน (Auxins) มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดจุดกำเนิดของราก การแบ่งตัวและการยึดตัวของเซลล์ สารเร่งการเจริญเติบโตในกลุ่มนี้ นิยมใช้ 2, 4 - D NAA IBA และ IAA ( Indole acetic acid) ( Murashige . 1974 : 170, 1974 : 152 - 153, Skoog and Miller. 1957 : 118 - 131)

2.4.2 ไซโตไคนิน (Cytokinins) มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของยอด การแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดของเซลล์ สารเร่งการเจริญเติบโตในกลุ่มนี้ นิยมใช้ BA และ Kinetin (Murashige. 1974 : 152)

การใช้ ออกซินหรือไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว อาจทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตลดลงได้ แต่เมื่อใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินในอัตราส่วนที่เหมาะสมจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ ถ้าออกซินมีความเข้มข้นสูงกว่าไซโตไคนินจะเร่งให้เกิดราก ตรงกันข้ามถ้าออกซินมีความเข้มข้นต่ำและไซโตไคนินมีความเข้มข้นสูง อัตราการเกิดยอดจะมีมากขึ้น ถ้ามีอัตราส่วนที่สมดุลอาจจะเกิดทั้งสองพวก หรือเนื้อเยื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง และความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น ควรจะอยู่ในช่วง 0.1 - 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ( Skoog and Miller . 1957 : 118 - 131 , Butcher and Ingram. 1976 : 18, 23)

3. สารอินทรีย์อื่น ๆ ที่ได้จากผลิตภัณฑ์ของพืช เช่น น้ำมะพร้าว น้ำมะเขือเทศ มันฝรั่ง กัลวย และสารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) โอเวอร์เบ็ค และคณะ ( Overbeek and others , 1941 : 351) ได้รายงานว่า การเติมน้ำมะพร้าวลงไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ผลมากขึ้น เพราะมีสารช่วยส่งเสริม

การเจริญเติบโต ต่อมาสตาเคนและครีเวส (Staden and Drewes. 1974 : 347 - 352, 1975 : 106 - 109, 1976 : 123 - 126) พบว่า สารเหล่านี้ขึ้นอยู่กับกลุ่มของไซโตโคติน ได้แก่ ซีติน (Zeatin) ซีตินไรโบไซด์ (Zeatinriboside) และซีตินกลูโคไซด์ (Zeatin glucoside)

สภาพของอาหารก็เป็นปัจจัยสำคัญอีกอย่างหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อของพืชทุกชนิดจะเจริญเติบโตในขั้นแรกได้ดี เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว ส่วนการเพิ่มปริมาณพืชบางชนิดจะให้ผลดีเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว แต่พืชบางชนิดจะมีการเพิ่มปริมาณได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง สำหรับการเตรียมย้ายก่อนปลูกจะต้องเลี้ยงบนอาหารแข็ง

( Murashige, 1974 : 154 )

สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คืออุณหภูมิและแสงสว่าง ที่แตกต่างกันต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกันออกไป การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชล้มลุกและพืชเมืองร้อน ควรให้อุณหภูมิห้องประมาณ 25 - 27 องศาเซลเซียส แต่สำหรับพืชเมืองหนาวที่มีอายุหลายปี ( Temperate perennial plant ) จะต้องใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่านี้ แต่อย่างไรก็ตามในท้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชควรจะรักษาอุณหภูมิให้คงที่ ส่วนในเรื่องของแสงจะต้องพิจารณาถึงคุณภาพของแสง ความเข้มของแสง และระยะเวลาของการให้แสง พืชแต่ละชนิดมีความต้องการแสงไม่เท่ากัน เชื่อกันว่าการให้แสงแก่พืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่ได้มีจุดมุ่งหมายเพื่อช่วยในการปรุงอาหาร แต่เพื่อให้เกิดการสร้างส่วนต่าง ๆ เช่น ยอด และราก แสงสีม่วงจะชักนำให้เกิดจุกกำเนิดของยอด ในขณะที่แสงสีแดงชักนำให้เกิดจุกกำเนิดของราก (Murashige, 1974 : 157 - 158, 1974 : 170) ความเข้มของแสงที่เหมาะสมสำหรับการเกิดตายอดคือ 100 กำลังเทียนหรือต่ำกว่า ถ้าเพิ่มความเข้มของแสงให้เป็น 300 - 1,000 กำลังเทียน จะช่วยให้ตายอดเจริญได้ดี และระยะเวลาของการให้แสงควรจะเป็น 16 ชั่วโมงต่อวัน ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับชนิดของพืชด้วย. (ไพบลีย์ กวินเล็กวัฒนา 2524 : 80)

มูราชิกิ (Murashige. 1974 : 138 - 140) ได้เสนอขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไว้ดังนี้

ขั้นที่ 1 ทำความสะอาดเนื้อเยื่อของพืชให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์เพื่อให้มีชีวิตรอด และมีการเจริญเติบโต

ขั้นที่ 2 ทำการเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อ พร้อมทั้งกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์

ขั้นที่ 3 เตรียมพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์ให้มีความแข็งแรง แล้วย้ายปลูกตามสภาพธรรมชาติ

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้มากในเวลาอันรวดเร็ว ภายใต้สภาพแวดล้อมที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ และพืชต้นใหม่จะมีลักษณะเหมือนต้นแม่ทุกประการ จึงนิยมนำวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชชนิดต่าง ๆ เพื่อประโยชน์ทางการค้าอย่างกว้างขวาง สำหรับกุหลาบมีการศึกษากันว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดังนี้

เอลเลียต (Elliott . 1970 : 183 - 186) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงปลายยอดของกุหลาบ *R. multiflora* ในอาหารสูตร RM - 1962 (Murashige and Skoog. 1962) ภายใต้อุณหภูมิเวลากลางวัน 28 - 30 องศาเซลเซียส กลางคืน 23 - 25 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ และอินแคนเดสเซนต์ ความเข้ม 750 กำลังเทียน พบว่าการเจริญเติบโตของยอดจะเกิดขึ้นเมื่อเติม BAP (6 - benzylaminopurine) และซิทิน การเติม kinetin และ 6 - (3 methylbut - 2 enyl) aminopurine จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของยอดเลย ส่วนการเกิดรากพบว่าจะเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ของยอดทั้งหมด

เดวิส (Davies . 1980 : 385 - 389) ได้ขยายพันธุ์กุหลาบ 7 พันธุ์ คือ King's Ransom, Plentiful, Parade, Fragrant Cloud, Lili Marlene, Garnet Yellow และ Paul's Lemon Pillar โดยใช้ส่วนของตาข้างเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ MS ดัดแปลงที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตต่าง ๆ คือ NAA BAP IBA และ GA<sub>3</sub> (Gibberellic acid)

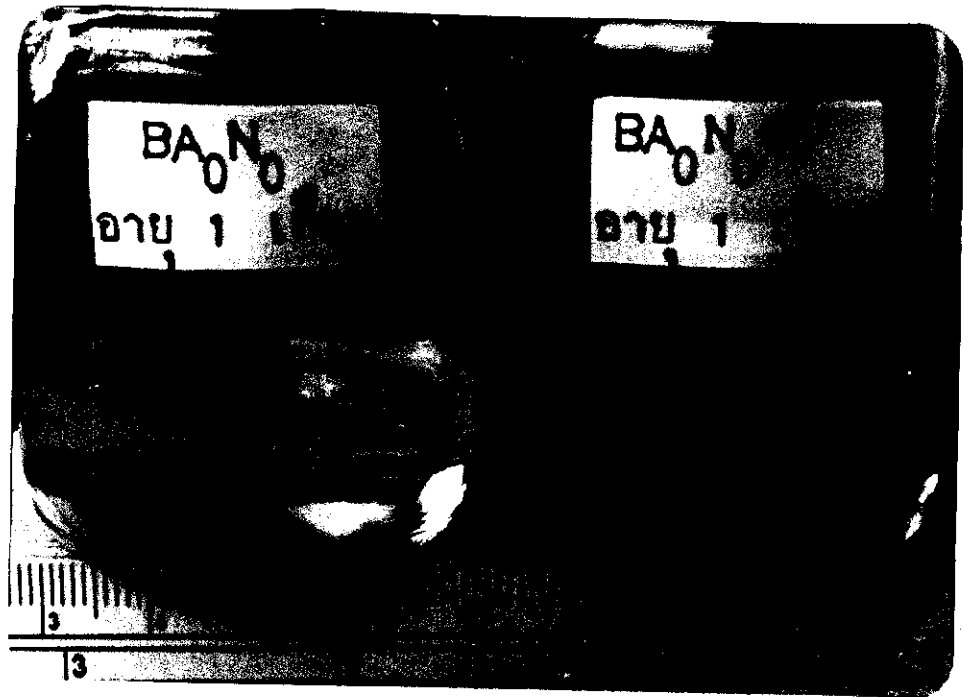
พบว่า อาหารที่เติม NAA และ IBA จะกระตุ้นให้เกิดแคลลัส ในกulture พันธุ์ Paul ' s Lemon Pillar เกิดแคลลัสได้ดีเมื่อใช้ NAA ความเข้มข้น 0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้แสงที่มีความเข้มสูงจะกระตุ้นให้ใบใหญ่ขึ้น ส่วนแสงที่มีความเข้มต่ำจะกระตุ้นให้มีการสร้างยอดมากขึ้น และการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อจะให้ผลดีเมื่อเลี้ยงในวัฒนธรรมระหว่าง 20 - 25 องศาเซลเซียส สำหรับการกระตุ้นให้เกิดรากไร้สูตรอาหารเติมที่มีวุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ซูโครส 4.0 เปอร์เซ็นต์ NAA ความเข้มข้น 0.0 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า รากที่เกิดขึ้นไม่มีรากแขนง และมีขนราก (Root hair) เกิดขึ้นน้อย เนื่องจาก วัฏจักรช่วงการซึมผ่านของอากาศ การเจริญเติบโตของรากจะดีขึ้นเมื่อย้ายลงปลูกในส่วนผสมของพีท (Peat) และเพอร์ไลท์ (Perlite) ในอัตราส่วน 1 : 1 ซึ่งแช่อยู่ในน้ำหรืออาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารเร่งการเจริญเติบโต

ทาบิซาเค และกอสกุย ( Tabaezadeh and Khosh - Khui, 1981 : 61 - 66) ได้เพาะเลี้ยงอับเรณูของกulture ที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด ( 4n ) คือ *R. damascena* กับ *R. hybrida* ในอาหารสูตร MS ผลปรากฏว่า อับเรณูจากดอกที่บานเล็กน้อยของกulture *R. damascena* สร้างแคลลัสได้ดีในอาหารที่มี IAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนอับเรณูของกulture *R. hybrida* จากดอกตูมสร้างแคลลัสได้ดีในอาหารสูตร MS ที่มี IAA ความเข้มข้น 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อตรวจสอบทางไซโตจีเนติก ( cytogenetic ) พบว่า เซลล์ของกulture ทั้งสองพันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเป็นสองชุด ( 2n ) ซึ่งเป็นจำนวนเดียวกับโครโมโซมของละอองเรณู

วิธีดำเนินการศึกษาก้นคว่ำ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาก้นคว่ำ

1. กิ่งของกุหลาบ *R. multiflora* ที่มีตาข้างติดอยู่ (ภาพประกอบ 1)



- ภาพประกอบ 1 A. กิ่งของกุหลาบ *R. multiflora* ที่มีตาข้างติดอยู่  
B. ลักษณะของเนื้อเยื่อส่วนตาข้างที่นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพ  
ที่ติดอยู่กับส่วนยอด

2. อาหารสูตร MS (ตาราง 1 ภาคผนวก)
3. สารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ BA kinetin NAA 2, 4 - D

และ IBA

4. น้ำมะพร้าว
5. Activated charcoal

### วิธีทดลอง

#### 1. การเตรียมอาหาร

##### 1.1 เตรียมสารละลาย Stock ของอาหารสูตร MS ดังนี้คือ

- Stock ที่ 1 Macronutrient stock  
 Stock ที่ 2 Micronutrient stock  
 Stock ที่ 3 Iron stock  
 Stock ที่ 4 Vitamin stock

1.2 เตรียมอาหารแข็งสูตร MS โดยใช้สารละลาย Stock ในข้อ 1.1 จาก Stock ที่ 1 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร Stock ที่ 2 3 4 อีก Stock ละ 10 มิลลิลิตร เติมซูโครส 30 กรัม วุ้น 0.6 กรัม และน้ำให้ครบ 1 ลิตร ละลายให้เข้ากันด้วยความร้อน เมื่อละลายดีแล้วเติมน้ำซกเซยส่วนที่ระเหยไปให้ครบ 1 ลิตร ปรับ pH ให้ได้  $5.6 \pm 1$  ด้วย 1 M. NaOH และ 1 M. HCl

1.3 เตรียมอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยการเติม BA kinetin NAA 2, 4 - D และน้ำมะพร้าว ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (ตาราง 2 ภาคผนวก) ลงในอาหารสูตร MS ในข้อ 1.2 โดยให้ปริมาณสารและน้ำที่เติมลงไปแล้วเท่ากับ 1 ลิตร

1.4 เตรียมอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง (MS/2) โดยมีวิธีเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1.2 แต่ใช้ Stock ที่ 1 เพียง 50 มิลลิลิตร ส่วน Stock อื่น ๆ คงเดิม แล้วเติม IBA และซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (ตาราง 2 ภาคผนวก)

1.5 บรรจุอาหารสูตร MS และ MS ดัดแปลง 20 มิลลิลิตร ลงขวดขนาด 120 มิลลิลิตร สำหรับการทดลองที่ 1 และ 3 ส่วนการทดลองที่ 2 ใช้ขวด

ขนาด 60 มิลลิลิตร บรรจุอาหาร 15 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 - 20 นาที

2. การทำความสะอาดเนื้อเยื่อของกุกหลาบ

นำข้อของกุกหลาบที่มีตาติดอยู่มาล้างด้วยผงซักฟอกให้สะอาด ซับให้แห้ง แล้วฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อีก 5 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง

3. การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุกหลาบ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองคือ

การทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุกหลาบ

ตัดเนื้อเยื่อส่วนข้อมีตาข้างติดอยู่ให้มีความยาวประมาณ 3 - 5 มิลลิเมตรนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 - 56 (ตาราง 2 ภาคผนวก) แต่ละสูตรทำการทดลอง 20 ซอก

การทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1

นำแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาตัดแบ่งให้มีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ มีขนาดประมาณ 5 x 5 x 5 มิลลิเมตร และมีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.26 กรัม มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 2. 57 - 104 (ตาราง 2 ภาคผนวก) แต่ละสูตรทำการทดลอง 5 ซอก

การทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงหน่อที่ได้จากการทดลองที่ 1

นำหน่อที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 2 57 - 184 (ตาราง 2 ภาคผนวก) แต่ละสูตรทำการทดลอง 5 ซอก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุกหลาบทุกชั้นตอนทำในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 - 27 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ฟิลิปส์ที่มีความเข้มของแสง 750 กำลังเทียน ช่วงแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

วิธีเก็บรวบรวมข้อมูลและวิธีวิเคราะห์ข้อมูล

1. นับจำนวนของเนื้อเยื่อที่รอกตาย เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอกตายในทุกสูตรอาหารของการทดลองที่ 1 เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 1 เดือน
2. ในแต่ละการทดลอง จะเก็บรวบรวมข้อมูลดังนี้
  - 2.1 วัดขนาดของแคลลัส ซึ่งหน้าหนักสดของแคลลัสและหน่อ นับจำนวนของหน่อ และวัดความสูงของหน่อ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 2 เดือน
  - 2.2 นับจำนวนของราก และวัดความยาวของราก เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 1 เดือน
  - 2.3 ถ่ายภาพ และบรรยายลักษณะชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง
3. วิเคราะห์ข้อมูลในหัวข้อ 2.1 - 2.2 โดยใช้ One - Way Analysis of Variance และเมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจะทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่โดยใช้ Least Significant Difference (LSD)

ผลการศึกษาค้นคว้า

การทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ

เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ *R. multiflora* ในอาหารสูตร MS และ MS ดัดแปลง ปรากฏว่า ในสัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบางชิ้นเกิดการปะปนของเชื้อจุลินทรีย์ (ตาราง 1) เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 1 เดือน เนื้อเยื่อที่เหลือจากการปะปนของเชื้อจุลินทรีย์มีชีวิตรอดทั้งหมด คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ในทุกสูตรอาหาร (ตาราง 1) หลังจากเดือนแรกของการเพาะเลี้ยง ได้เลือกเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเติบโต แข็งแรง เป็นจำนวน 10 ชิ้นต่อสูตรอาหารหนึ่งสูตร ไว้ทำการทดลองต่อไป ผลการทดลองมีดังนี้ คือ

1.1 การเกิดหน่อ (Shoots)

เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBA MSBACo MSK และ MSKCo มีการขยายขนาดใหญ่ขึ้นในสัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง บริเวณตาจะมีสีเขียวสดและมีการแตกหน่อ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 1 เดือน พบว่าในอาหารสูตร MS MSCo MSK และ MSKCo มีการสร้างหน่อเพียงหน่อเดียว ส่วนเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBA และ MSBACo จะสร้างหน่อเป็นจำนวนมาก (ภาพประกอบ 2) แต่หน่อที่ได้ทั้งหมดไม่มีการสร้างราก

น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อกุหลาบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 2 เดือน เท่ากับ 0.07 กรัม เมื่อเติม BA และ BA กับน้ำมะพร้าว น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ BA และเนื้อเยื่อน้ำหนักสดมากที่สุดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.39 กรัม ในอาหารสูตร MSBA<sub>1.5</sub> ซึ่งเติม BA ความเข้มข้น 1.5 ppm (ตาราง 2 และภาพประกอบ 3) เมื่อความเข้มข้นของ BA

ตาราง 1 จำนวนใบต่อต้นที่แตกใบใหม่เพราะใบร่วง จำนวนใบต่อต้นที่เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนใบต่อต้นที่รอดตาย และเปอร์เซ็นต์การรอดตายของเนื้อใบต่อความชื้น  
 ที่ระดับความชื้นในอากาศสูงถึง MS และ MS<sub>2</sub> ที่แต่ละวันเวลา 1 เดือน

สูตรอาหาร <sup>a</sup>	จำนวนใบต่อต้นที่ แตกใบใหม่ (วัน)	จำนวนใบต่อต้นที่ เกิดการปนเปื้อน ของเชื้อจุลินทรีย์ (วัน)	จำนวนใบต่อต้นที่ รอดตาย (วัน)	เปอร์เซ็นต์การ รอดตาย (%)	สูตรอาหาร <sup>a</sup>	จำนวนใบต่อต้นที่ แตกใบใหม่ (วัน)	จำนวนใบต่อต้นที่ เกิดการปนเปื้อน ของเชื้อจุลินทรีย์ (วัน)	จำนวนใบต่อต้นที่ รอดตาย (วัน)	เปอร์เซ็นต์การ รอดตาย (%)
MS	20	2	18	100	MSN <sub>1</sub>	20	3	17	100
MSCo	20	2	18	100	MSN <sub>1.5</sub>	20	5	15	100
MSBA <sub>0.1</sub>	20	-	20	100	MSN <sub>2</sub>	20	3	17	100
MSBA <sub>0.5</sub>	20	1	19	100	MSN <sub>3</sub>	20	3	17	100
MSBA <sub>1</sub>	20	2	18	100	MSN <sub>4</sub>	20	3	17	100
MSBA <sub>1.5</sub>	20	3	15	100	MSN <sub>5</sub>	20	5	15	100
MSBA <sub>2</sub>	20	5	15	100	MSN <sub>6</sub>	20	5	15	100
MSBA <sub>3</sub>	20	5	15	100	MSN <sub>7</sub>	20	4	16	100
MSBA <sub>0.1</sub> Co	20	1	19	100	MSN <sub>0.1</sub> Co	20	3	17	100
MSBA <sub>0.5</sub> Co	20	3	17	100	MSN <sub>0.5</sub> Co	20	3	17	100
MSBA <sub>1</sub> Co	20	1	19	100	MSN <sub>1</sub> Co	20	-	20	100
MSBA <sub>1.5</sub> Co	20	1	19	100	MSN <sub>1.5</sub> Co	20	3	17	100
MSBA <sub>2</sub> Co	20	-	20	100	MSN <sub>2</sub> Co	20	4	16	100
MSBA <sub>3</sub> Co	20	1	19	100	MSN <sub>3</sub> Co	20	3	17	100
MSK <sub>0.1</sub>	20	5	15	100	MSN <sub>4</sub> Co	20	5	15	100
MSK <sub>0.5</sub>	20	5	15	100	MSN <sub>5</sub> Co	20	4	16	100
MSK <sub>1</sub>	20	5	15	100	MSN <sub>6</sub> Co	20	4	16	100
MSK <sub>1.5</sub>	20	5	15	100	MSN <sub>7</sub> Co	20	3	17	100
MSK <sub>2</sub>	20	5	15	100	MSD <sub>0.1</sub>	20	2	18	100
MSK <sub>3</sub>	20	5	15	100	MSD <sub>0.5</sub>	20	-	20	100
MSK <sub>0.1</sub> Co	20	3	17	100	MSD <sub>1</sub>	20	2	18	100
MSK <sub>0.5</sub> Co	20	3	17	100	MSD <sub>1.5</sub>	20	2	18	100
MSK <sub>1</sub> Co	20	5	15	100	MSD <sub>2</sub>	20	1	19	100
MSK <sub>1.5</sub> Co	20	3	17	100	MSD <sub>0.1</sub> Co	20	5	15	100
MSK <sub>2</sub> Co	20	6	14	100	MSD <sub>0.5</sub> Co	20	6	12	100
MSK <sub>3</sub> Co	20	-	20	100	MSD <sub>1</sub> Co	20	2	18	100
MSM <sub>0.1</sub>	20	3	17	100	MSD <sub>1.5</sub> Co	20	2	18	100
MSM <sub>0.5</sub>	20	3	17	100	MSD <sub>2</sub> Co	20	1	19	100

a - ที่ระดับความชื้นในอากาศสูงถึง 90%  
 b - เนื้อที่เพาะเลี้ยงใบ 1 เดือน จะเลือกเนื้อที่เจริญเติบโตแล้ว 10 ซม.  
 เนื้อที่ทำการทดลองต่อไป  
 c - ใช้เปอร์เซ็นต์การรอดตายจากเนื้อที่ที่ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อโรค  
 MS - สูตรอาหาร Murashige and Skoog, 1962  
 Co - ใช้ความยาว 15.0 เปอร์เซ็นต์ โคนใบยาว  
 BA - 6-benzyladenine  
 K - kinetin (6-furfurylamino-purine)  
 N - NAA (2-naphthalene acetic acid)  
 D - 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid)

มากกว่า 1.5 ppm น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อมีแนวโน้มที่จะลดลง ส่วนการเติม kinetin และ kinetin กับน้ำมะพร้าว ไม่มีสูตรใดที่ให้น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อมากที่สุด (ตาราง 2 และภาพประกอบ 3) จากการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่า



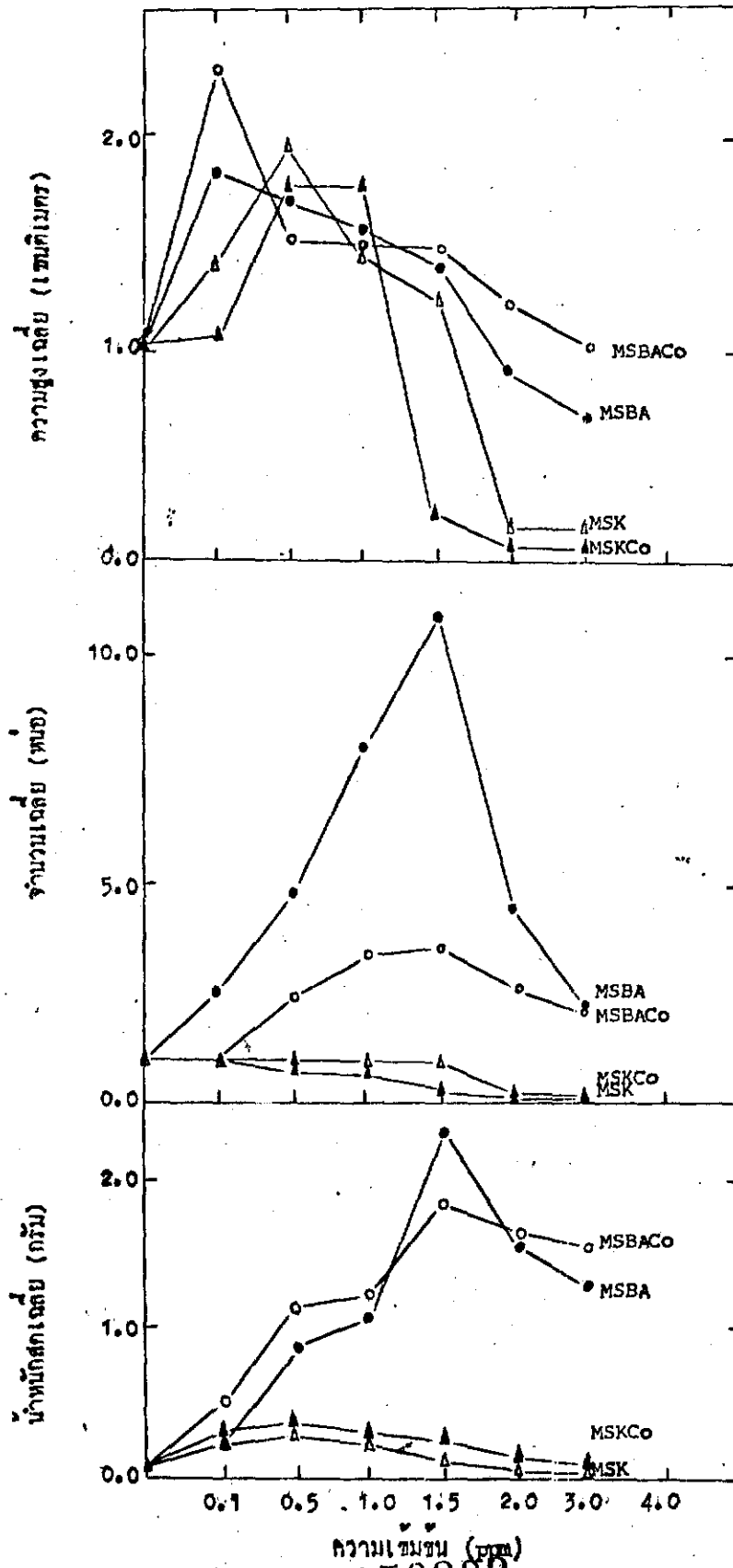
ภาพประกอบ 2 เนื้อเยื่อส่วนคางข้างของกุหลาบ *R. multiflora* ที่เพาะเลี้ยง  
ในอาหารสูตร MSBA<sub>1</sub> Co เป็นเวลา 1 เดือน

ตาราง 2 น้ำหนักสดเฉลี่ย จำนวนเฉลี่ย และความสูงเฉลี่ยของหน่อที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ  
ส่วนตาข้างของกุหลาบ ในอาหารสูตร MS และ MS คัดแปลงที่เติม BA kinetin และน้ำมะพร้าว  
เป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	น้ำหนักสดเฉลี่ย <sup>a</sup> (กรัม)	จำนวนเฉลี่ย <sup>a</sup> (หน่อ)	ความสูงเฉลี่ย <sup>b</sup> (เซนติเมตร)
MS	0.07	1.0	1.03
MSCo	0.09	1.0	1.01
MSBA <sub>0.1</sub>	0.28	2.6	1.84
MSBA <sub>0.5</sub>	0.88	4.9	1.70
MSBA <sub>1</sub>	1.08	8.0	1.59
MSBA <sub>1.5</sub>	2.39	11.0	1.49
MSBA <sub>2</sub>	1.56	4.4	0.90
MSBA <sub>3</sub>	1.30	2.2	0.72
MSBA <sub>0.1</sub> Co	0.51	1.0	2.30
MSBA <sub>0.5</sub> Co	1.16	2.4	1.58
MSBA <sub>1</sub> Co	1.20	3.3	1.55
MSBA <sub>1.5</sub> Co	1.83	3.6	1.53
MSBA <sub>2</sub> Co	1.64	2.8	1.12
MSBA <sub>3</sub> Co	1.53	2.1	1.07
MSK <sub>0.1</sub>	0.28	1.0	1.19
MSK <sub>0.5</sub>	0.29	1.0	1.96
MSK <sub>1</sub>	0.28	1.0	1.48
MSK <sub>1.5</sub>	0.13	1.0	1.15
MSK <sub>2</sub>	0.09	0.2	0.20
MSK <sub>3</sub>	0.09	0.2	0.20
MSK <sub>0.1</sub> Co	0.31	1.0	1.05
MSK <sub>0.5</sub> Co	0.39	0.9	1.78
MSK <sub>1</sub> Co	0.30	0.8	0.71
MSK <sub>1.5</sub> Co	0.26	0.3	0.27
MSK <sub>2</sub> Co	0.17	0.2	0.17
MSK <sub>3</sub> Co	0.16	0.2	0.17
LSD <sub>0.05</sub>	0.68	0.98	0.39
0.01	0.89	1.28	0.51

<sup>a</sup> - เฉลี่ยจากเนื้อเยื่อจำนวน 10 ชิ้น

<sup>b</sup> - เฉลี่ยจากหน่อที่มีความสูงมากที่สุดจำนวน 10 หน่อ



ภาพประกอบ 3 เปรียบเทียบค่าคุณสมบัติเจลของเนื้อเยื่อ จำนวนเจลของเนื้อเยื่อ (และความสูงเจลของเนื้อเยื่อ) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสัตว์ MS และ MS กับแปลงที่เก็บ BA (MSBA) BA กับน้ำขี้วัว (MSBACo) kinetic (MSK) kinetic (MSKCo) เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้น (ppm)  
153282

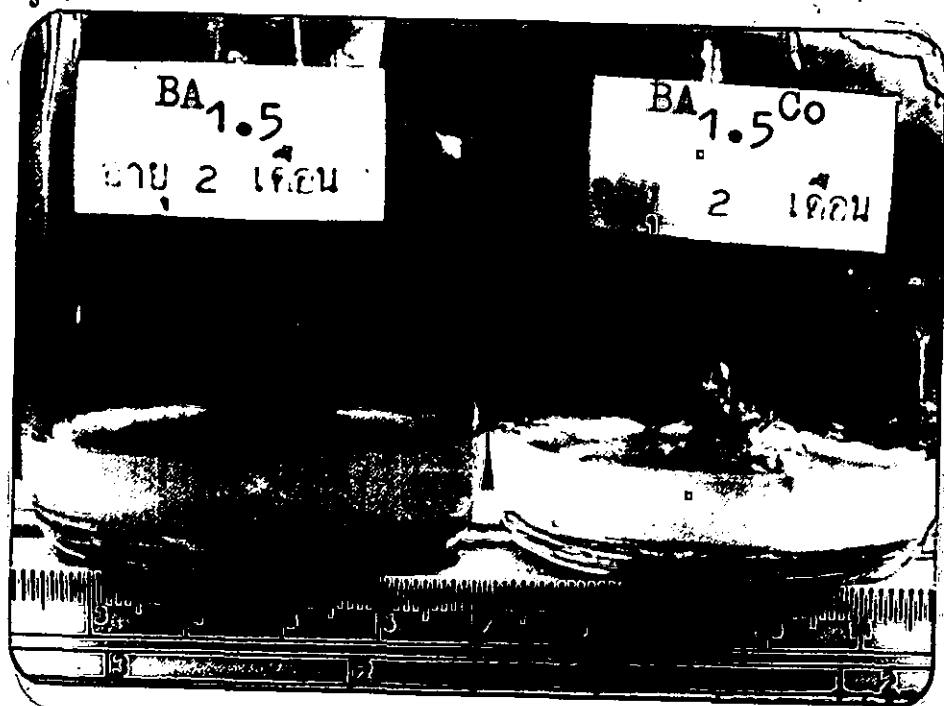
น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อทุกลำที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSC<sub>0</sub> MSBA MSBAC<sub>0</sub> MSK และ HSKC<sub>0</sub> มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 3 ภาคผนวก) จากการเปรียบเทียบน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ kinetin โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่เนื้อเยื่อมีน้ำหนักสดมากที่สุด พบว่าน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม kinetin ระหว่าง kinetin ด้วยกันเอง เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติแล้วพบว่าน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อในอาหารที่เติม kinetin และ kinetin กับน้ำมะพร้าว ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการเติมน้ำมะพร้าวลงในอาหารสูตร MS แม้ว่าจะใช้ร่วมกับ BA และ kinetin หรือไม่ก็ตาม พบว่าทำให้น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยอย่างไม่เป็นนัยสำคัญทางสถิติ

จำนวนของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุกลำในอาหารสูตร MS จะมีเพียงหน่อเดียว มีความสูงเฉลี่ย 1.03 เซนติเมตร เมื่อเติม BA ตั้งแต่ 0.1 0.5 และ 1.0 ppm จำนวนของหน่อจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และมากที่สุดเมื่อเติม BA ความเข้มข้น 1.5 ppm โดยมีจำนวนเฉลี่ย 11.0 หน่อ (ตาราง 2 และภาพประกอบ 3) เมื่อความเข้มข้นของ BA สูงกว่า 1.5 ppm จำนวนของหน่อจะลดลง ส่วนเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA กับน้ำมะพร้าว จะได้ผลเช่นเดียวกัน คือจำนวนของหน่อจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามความเข้มข้นของ BA ตั้งแต่ 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 ppm (ตาราง 2 และภาพประกอบ 3) เมื่อความเข้มข้นของ BA มากกว่า 1.5 ppm จำนวนหน่อจะลดลง แต่มีการสร้างแคลลัสเกิดขึ้นรอบรอยตัดและส่วนของตมมากขึ้น (ภาพประกอบ 4) จากการเปรียบเทียบระหว่างอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวกับไม่เติมน้ำมะพร้าว พบว่าในอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าวจะสร้างหน่อจำนวนมากกว่า และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัย



ภาพประกอบ 4 เนื้อเยื่อส่วนทาบข้างของกุหลาบ *R. multiflora* ที่เพาะเลี้ยง  
 ในอาหารสูตร MSBA และ MSBACo เมื่อความเข้มข้นของ BA มากกว่า  
 1.5 ppm การสร้างหน่อจะลดลง แต่มีการสร้างแคลลัสรอบรอยตัดและส่วน  
 ของทาบมากขึ้น

สำคัญยิ่ง แต่เนื้อเยื่อไม่สร้างแคลลัส (ภาพประกอบ 5) นอกจากนี้ในอาหารสูตรที่มี BA ความเข้มข้นสูง ๆ (มากกว่า 1.5 ppm) ส่วน kinetin ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของหน่อ ไม่ว่าจะเป็ความเข้มข้นใดก็ตาม (ตาราง 2 และภาพประกอบ 3) จากการวิเคราะห์ผลการทดลอง พบว่าจำนวนเฉลี่ยของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบในอาหารสูตร MS MSCo MSBA MSBACo MSK และ MSKCo มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 4 ภาคผนวก) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างอาหารที่เติม BA กับ kinetin โดยเปรียบเทียบเฉพาะสูตรที่ให้จำนวนหน่อมากที่สุด พบว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA จะสร้างหน่อมีจำนวนมากกว่เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม kinetin อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

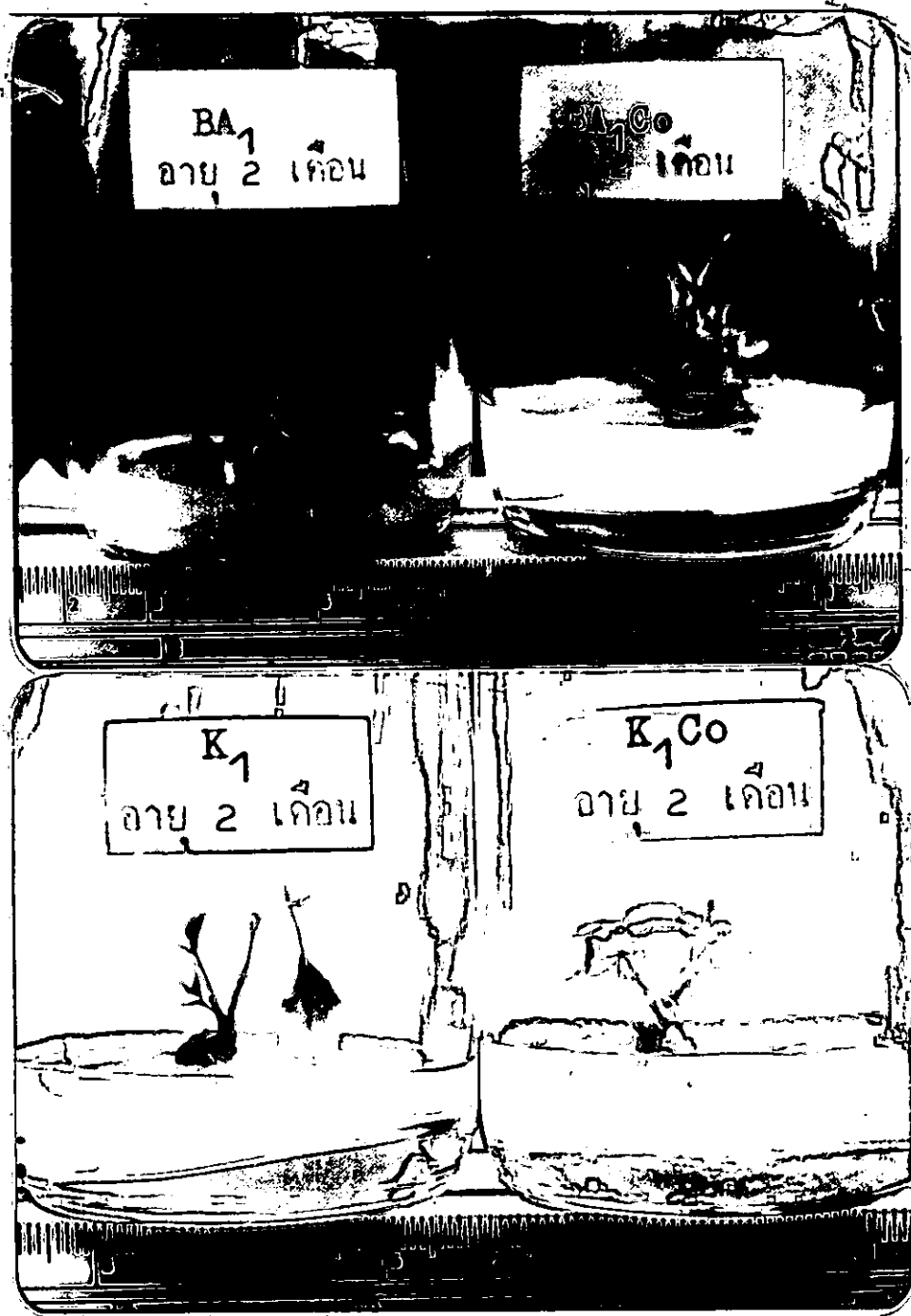


ภาพประกอบ 5 เปรียบเทียบเนื้อเยื่อของกุหลาบ *R. multiflora* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBA และ MSBACo ในอาหารที่มีเฉพาะ BA จะสร้างหน่อจำนวนมาก แต่มีแคลลัสเกิดขึ้นน้อยกว่าในอาหารที่มีทั้ง BA และน้ำมะพร้าว

หน่อที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบในอาหารสูตร MSBA ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 ppm. พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องความสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการเติม kinetin และ kinetin กับน้ำมะพร้าวลงไปในการเพาะเลี้ยง กุหลาบ พบว่า การเติม kinetin ความเข้มข้นมากหรือน้อยกว่า 0.5 ppm. ทำให้ความสูงของหน่อลดลง จากการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่า ความสูงเฉลี่ยของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบในอาหารสูตร MS MSCo MSBA MSBACo MSK และ MSKCo มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 5 ภาคผนวก) เมื่อเปรียบเทียบหน่อที่มีความสูงมากที่สุดในอาหารที่เติม BA และ kinetin พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA จะมีใบสีเขียวสด มีลักษณะสมบูรณ์ และแข็งแรงมากกว่าหน่อที่เกิดขึ้นในอาหารที่เติม kinetin ซึ่งมีจำนวนน้อยไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ไม่มีความแข็งแรง มีสีเขียวคล้ำ หลังจากเดือนแรกของการเพาะเลี้ยง หน่อจะเริ่มเป็นสีน้ำตาลและตายไปในที่สุด (ภาพประกอบ 6)

#### 1.2 การเกิดแคลลัส

ในอาหารสูตร MS และ MSCo เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ จะเจริญเติบโตเป็นหน่อเพียงหน่อเดียว มีลักษณะสมบูรณ์ ในสูตร MSCo เนื้อเยื่อจะสร้างแคลลัสสีขาวเป็นกลุ่มเล็ก ๆ บริเวณรอยตัดเพียงเล็กน้อย การเติม NAA NAA กับน้ำมะพร้าว 2, 4 - D และ 2, 4 - D กับน้ำมะพร้าว เนื้อเยื่อจะมีการพัฒนาไปเป็นแคลลัสในทุกสูตรอาหาร



ภาพประกอบ 6 เปรียบเทียบลักษณะของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย  
ในอาหารสูตร MSBA MSBACo MSK และ MSKCo เป็นเวลา 2 เดือน

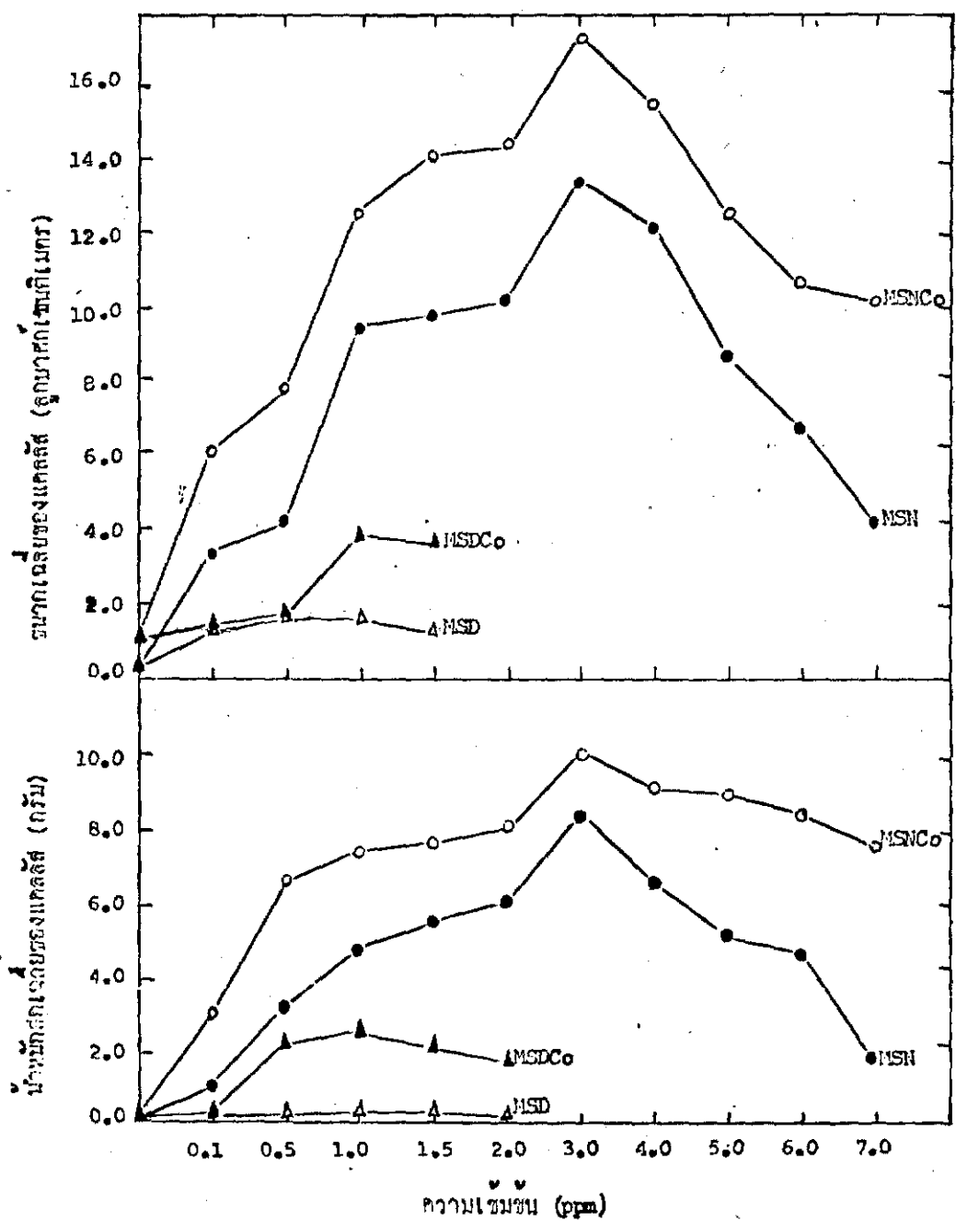
น้ำหนักสดของแคลลัสในอาหารที่เติม NAA นั้น พบว่า ถ้าใช้ NAA ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้แคลลัสมีน้ำหนักสดมากกว่าในอาหารที่ไม่ได้เติมน้ำมะพร้าว เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA ให้สูงขึ้นตั้งแต่ 0.1 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ppm น้ำหนักสดของแคลลัสจะเพิ่มขึ้นตามลำดับและมากที่สุด ในสูตรที่มี NAA ความเข้มข้น 3.0 ppm กับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ (MSN<sub>3</sub>Co) โดยมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 10.02 กรัม (ตาราง 3 และภาพประกอบ 7) ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ NAA เป็น 4.0 5.0 6.0 และ 7.0 ppm น้ำหนักสดของแคลลัสจะลดลงตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตร MSD ทุกสูตร น้ำหนักสดของแคลลัสไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 3 และภาพประกอบ 7) แต่ถ้าเติมน้ำมะพร้าวร่วมกับ 2, 4 - D ในอาหารสูตร MSDCo จะก่อให้เกิดความแตกต่างของแคลลัส ในเรื่องน้ำหนักสดจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ จากการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่า น้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSN MSNCo MSD และ MSDCo มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 6 ภาคผนวก) เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA และ 2, 4 - D โดยเลือกเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่ให้ผลดีที่สุด พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในสูตรอาหารที่มี NAA จะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อสร้างแคลลัสได้ดีกว่า โดยเฉพาะ NAA ที่มีน้ำมะพร้าวร่วมอยู่ด้วย แคลลัสจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีสีเหลือง เหลืองปนขาว และเหลืองปนน้ำตาล ในขณะที่แคลลัสจากอาหารที่เติม 2,4 - D และ 2,4 - D กับน้ำมะพร้าวมีลักษณะแข็ง สีเข้มกว่าคือเป็นสีเหลืองปนน้ำตาล และบางชิ้นจะเป็นสีน้ำตาลเข้ม (ภาพประกอบ 8)

ขนาดของแคลลัสจากอาหารสูตร MSN และ MSNCo จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NAA ตั้งแต่ 0.1 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ppm จนกระทั่งสูงสุดเมื่อเติม NAA ความเข้มข้น 3.0 ppm กับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุดคือ 17.64 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ตาราง 3 และ ภาพประกอบ 7) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA เป็น 4.0 5.0 6.0 และ

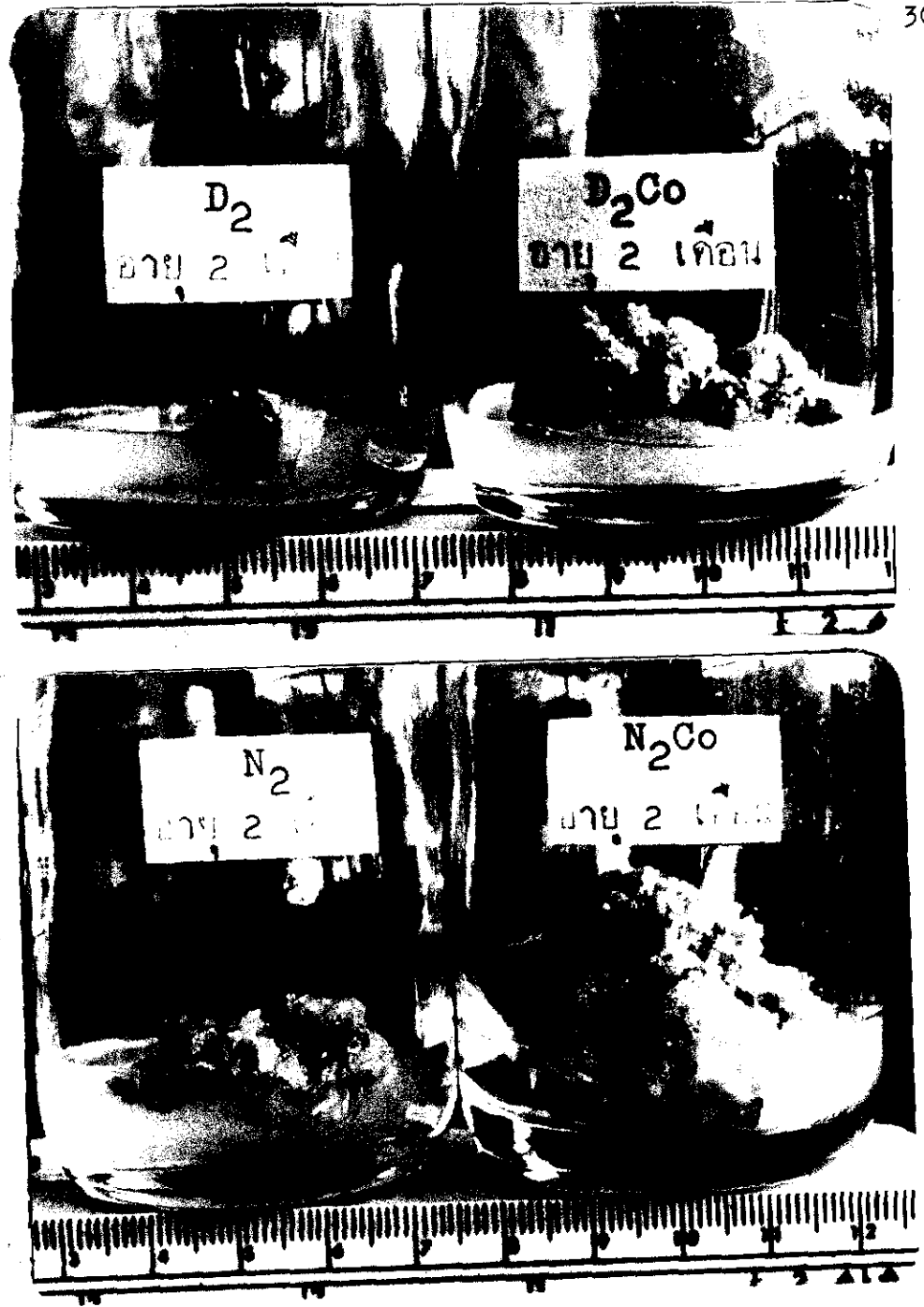
ตาราง 3 น้ำหนักสดเฉลี่ย และขนาดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSN MSNCo MSD และ MSDCo เป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	น้ำหนักสดเฉลี่ย <sup>a</sup> (กรัม)	ขนาดเฉลี่ย <sup>a</sup> (ลูกบาศก์ เซนติเมตร)	สูตรอาหาร	น้ำหนักสดเฉลี่ย <sup>a</sup> (กรัม)	ขนาดเฉลี่ย <sup>a</sup> (ลูกบาศก์ เซนติเมตร)
MS	0.07	0.22	MSN <sub>2</sub> Co	8.07	14.23
MSCo	0.09	1.06	MSN <sub>3</sub> Co	10.02	17.64
MSN <sub>0.1</sub>	1.16	3.43	MSN <sub>4</sub> Co	9.28	15.53
MSN <sub>0.5</sub>	3.24	4.12	MSN <sub>5</sub> Co	9.08	12.48
MSN <sub>1</sub>	4.95	9.54	MSN <sub>6</sub> Co	8.49	10.77
MSN <sub>1.5</sub>	5.51	9.89	MSN <sub>7</sub> Co	7.64	10.35
MSN <sub>2</sub>	6.08	10.03	MSD <sub>0.1</sub>	0.96	0.94
MSN <sub>3</sub>	8.42	13.40	MSD <sub>0.5</sub>	0.12	1.41
MSN <sub>4</sub>	6.74	12.15	MSD <sub>1</sub>	0.16	1.88
MSN <sub>5</sub>	5.15	8.88	MSD <sub>1.5</sub>	0.14	1.64
MSN <sub>6</sub>	4.84	6.89	MSD <sub>2</sub>	0.09	1.06
MSN <sub>7</sub>	1.93	4.15	MSD <sub>0.1</sub> Co	0.21	1.28
MSN <sub>0.1</sub> Co	3.10	6.17	MSD <sub>0.5</sub> Co	2.14	1.81
MSN <sub>0.5</sub> Co	6.85	7.82	MSD <sub>1</sub> Co	2.57	3.91
MSN <sub>1</sub> Co	7.54	12.30	MSD <sub>1.5</sub> Co	2.07	3.84
MSN <sub>1.5</sub> Co	7.76	14.01	MSD <sub>2</sub> Co	1.95	2.61
LSD <sub>0.05</sub>	0.47	1.68	-	0.47	1.68
0.01	0.61	2.21	-	0.61	2.21

a - เฉลี่ยจากเนื้อเยื่อจำนวน 10 ชิ้น



ภาพประกอบ 7 เปรียบเทียบน้ำหนักตกเฉลี่ย และขนาดเฉลี่ยของแคลลัสที่เกิดจากสาร  
 พืชไร่ชนิดเนื้อเปลือกส่วนท้ายของทุเรียน ในอาหารสูตร MS ที่เปลี่ยนแปลงที่เดิม  
 NAA (MSN) NAA กับน้ำมะพร้าว (MSNCo) 2, 4 -D(MSD) และ 2, 4 -D  
 กับน้ำมะพร้าว (MSDCo) เป็นเวลา 2 เดือน



ภาพประกอบ 8 เปรียบเทียบแกดดีส์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบ  
ในอาหารสูตร MSN MSNCo MSD และ MSDCo เป็นเวลา  
2 เดือน

7.0 ppm ขนาดของแคลลัสจะลดลงตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตร MSD แคลลัสจะไม่เพิ่มขนาด การเติมน้ำมะพร้าวร่วมกับ 2, 4 - D ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 ppm แคลลัสจะมีขนาดใหญ่กว่าในสูตรที่มีเฉพาะ 2, 4 - D จากการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่า ขนาดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSN MSNCo MSD และ MSDCo มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 7 ภาคผนวก) เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA และ 2, 4 - D โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่ให้ผลดีที่สุดพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในสูตรอาหารที่เติม NAA และ NAA กับน้ำมะพร้าว จะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อสร้างแคลลัสได้รวดเร็วมาก ขนาดของแคลลัสใหญ่ เซลล์ที่มาเกาะรวมตัวกันเป็นแคลลัสจะเกาะกันอย่างหลวม ๆ โดยสังเกตจากตอนย้ายเนื้อเยื่อ แคลลัสจะหลุดออกจากกันได้ง่ายกว่าแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม 2, 4 - D และ 2, 4 - D กับน้ำมะพร้าว เมื่อวิเคราะห์ขนาดและน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อพบว่า การเติมน้ำมะพร้าวลงในอาหารสูตร MS กักแปลงทำให้เกิดการสร้างแคลลัสเพียงเล็กน้อย ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม แต่เมื่อใช้ร่วมกับออกซินทำให้เกิดการสร้างแคลลัสมากกว่าปกติ

#### การทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1

เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 ในอาหารสูตร MS MSBAN และ MSBANCo เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าในทุกสูตรอาหารไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดหรือรากเลย มีแต่เพียงการเพิ่มปริมาณของแคลลัสเท่านั้น

แคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS กักแปลงที่เติม BA และ NAA จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอาหารที่เติมเฉพาะ BA หรือ NAA แต่เพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอาหารที่เติมทั้ง BA NAA และน้ำมะพร้าว แคลลัสจะ

เจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณโคคิที่สูงสุดในอาหารสูตร MSBA<sub>0.5</sub>N<sub>20</sub>Co ซึ่งเติม BA ความเข้มข้น 0.5 ppm NAA ความเข้มข้น 20.0 ppm และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ โดยมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 6.73 กรัม (ตาราง 4 ภาพประกอบ 9) สูตรอาหารอื่น ๆ ที่โคคิที่ร่วงลงไปได้แก่ MSBA<sub>1</sub>N<sub>5</sub>Co MSBA<sub>1</sub>N<sub>10</sub> MSBA<sub>0</sub>N<sub>20</sub> MSBA<sub>10</sub>N<sub>1</sub>Co MSBA<sub>0</sub>N<sub>1</sub>Co MSBA<sub>5</sub>N<sub>10</sub> MSBA<sub>0</sub>N<sub>5</sub>Co MSBA<sub>10</sub>N<sub>5</sub> และ MSBA<sub>0.5</sub>N<sub>10</sub>Co โคคิที่น้ำหนักสด 5.85 5.76 5.67 5.66 5.64 5.59 5.51 5.45 และ 5.41 กรัม ตามลำดับ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสูตร MSBA<sub>0.5</sub>N<sub>20</sub>Co แต่เมื่อวิเคราะห์ผลการทดลองทั้งหมด พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBAN และ MSBANCo มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 8 ภาคผนวก)

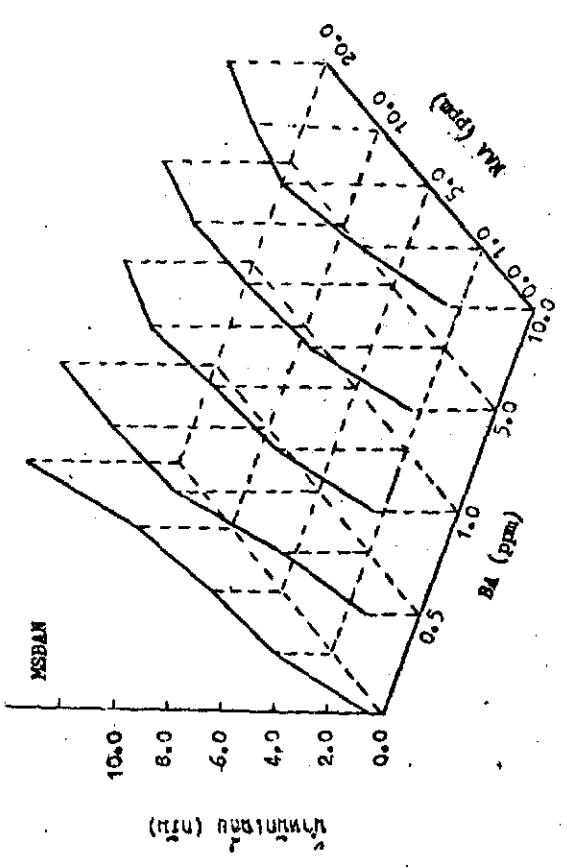
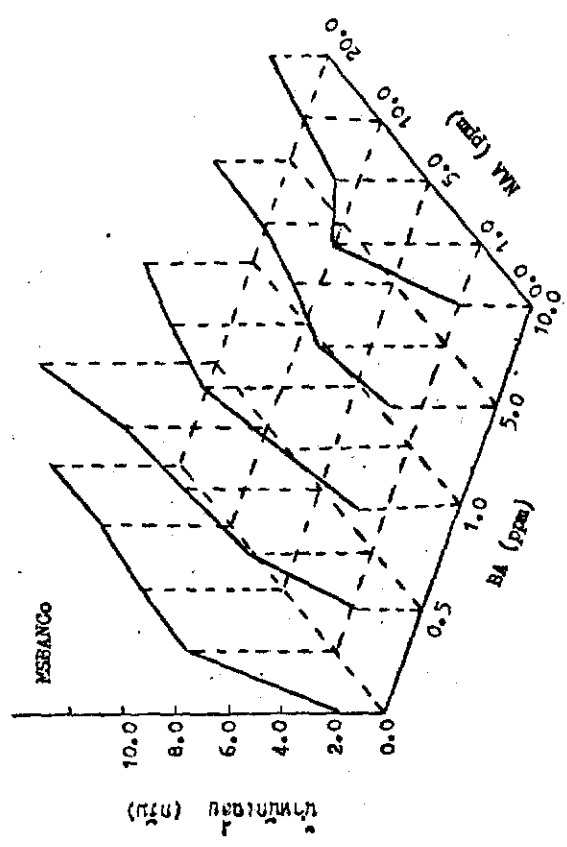
เมื่อพิจารณาถึงขนาดของแคลลัส พบว่ามีขนาดใหญ่ที่สุดคือ 23.25 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในอาหารสูตร MSBA<sub>1</sub>N<sub>20</sub>Co ซึ่งมี BA ความเข้มข้น 1.0 ppm NAA ความเข้มข้น 20.0 ppm และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 4 ภาพประกอบ 10) สูตรที่โคคิที่ร่วงลงไปได้แก่ MSBA<sub>10</sub>N<sub>1</sub>Co MSBA<sub>1</sub>N<sub>1</sub>Co MSBA<sub>5</sub>N<sub>1</sub>Co MSBA<sub>1</sub>N<sub>5</sub>Co MSBA<sub>0.5</sub>N<sub>5</sub>Co MSBA<sub>1</sub>N<sub>10</sub>Co และ MSBA<sub>5</sub>N<sub>5</sub>Co ได้ขนาด 19.80 18.57 18.28 18.27 18.10 17.97 และ 17.67 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสูตร MSBA<sub>1</sub>N<sub>20</sub>Co จากการวิเคราะห์ผลการทดลองทั้งหมด พบว่าขนาดของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBAN และ MSBANCo มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 9 ภาคผนวก)

ลักษณะของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมและไม่เติมน้ำมะพร้าว จะแตกต่างกันคือ แคลลัสที่เกิดขึ้นในอาหารที่มีน้ำมะพร้าวรวมอยู่ด้วยจะเพิ่มขนาดอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนเมื่อผ่านสัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยงไปแล้ว

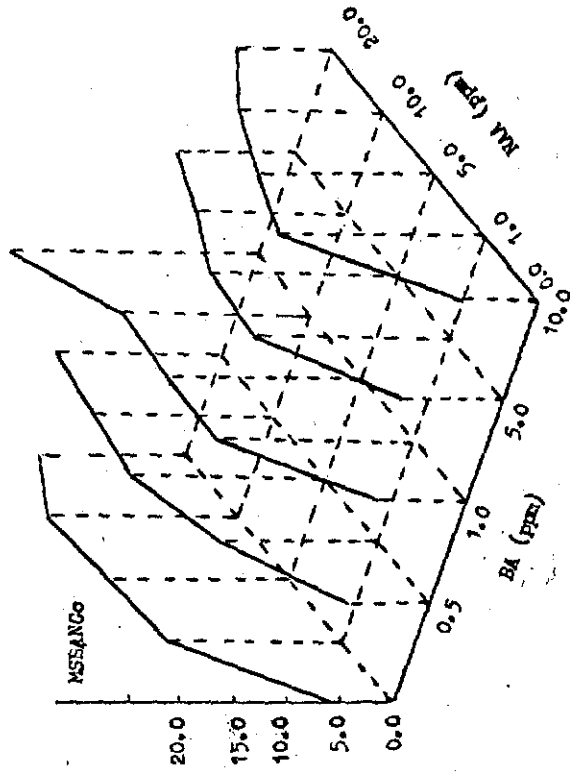
ตาราง 4 น้ำหนักสดเฉลี่ย และขนาดเฉลี่ยของเมล็ดพืชที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBAN และ MSBANCo เป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	น้ำหนักสดเฉลี่ย <sup>a</sup> (กรัม)	ขนาดเฉลี่ย <sup>a</sup> (ลูกบาศก์ เซนติเมตร)	สูตรอาหาร	น้ำหนักสดเฉลี่ย <sup>a</sup> (กรัม)	ขนาดเฉลี่ย <sup>a</sup> (ลูกบาศก์ เซนติเมตร)
MS	0.28	1.06	MSCo	1.55	6.17
MSBA <sub>0</sub> N <sub>1</sub>	2.06	9.90	MSBA <sub>0</sub> N <sub>1</sub> Co	5.64	16.33
MSBA <sub>0</sub> N <sub>5</sub>	2.60	9.63	MSBA <sub>0</sub> N <sub>5</sub> Co	5.51	16.82
MSBA <sub>0</sub> N <sub>10</sub>	3.43	9.13	MSBA <sub>0</sub> N <sub>10</sub> Co	4.96	15.30
MSBA <sub>0</sub> N <sub>20</sub>	5.67	8.27	MSBA <sub>0</sub> N <sub>20</sub> Co	4.93	13.96
MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>0</sub>	1.89	10.35	MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>0</sub> Co	2.56	7.41
MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>1</sub>	3.14	11.27	MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>1</sub> Co	4.59	14.58
MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>5</sub>	5.37	11.52	MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>5</sub> Co	5.25	18.10
MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>10</sub>	5.67	12.28	MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>10</sub> Co	5.41	16.62
MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>20</sub>	5.64	11.48	MSBA <sub>0.5</sub> N <sub>20</sub> Co	6.73	15.53
MSBA <sub>1</sub> N <sub>0</sub>	3.17	7.82	MSBA <sub>1</sub> N <sub>0</sub> Co	3.87	8.16
MSBA <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	4.89	12.77	MSBA <sub>1</sub> N <sub>1</sub> Co	4.96	18.57
MSBA <sub>1</sub> N <sub>5</sub>	5.22	12.90	MSBA <sub>1</sub> N <sub>5</sub> Co	5.85	18.27
MSBA <sub>1</sub> N <sub>10</sub>	5.76	13.87	MSBA <sub>1</sub> N <sub>10</sub> Co	5.09	17.97
MSBA <sub>1</sub> N <sub>20</sub>	4.86	14.63	MSBA <sub>1</sub> N <sub>20</sub> Co	4.05	23.25
MSBA <sub>5</sub> N <sub>0</sub>	3.09	7.70	MSBA <sub>5</sub> N <sub>0</sub> Co	4.18	9.01
MSBA <sub>5</sub> N <sub>1</sub>	5.08	14.08	MSBA <sub>5</sub> N <sub>1</sub> Co	4.86	18.28
MSBA <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	5.41	12.86	MSBA <sub>5</sub> N <sub>5</sub> Co	3.93	17.62
MSBA <sub>5</sub> N <sub>10</sub>	5.59	13.67	MSBA <sub>5</sub> N <sub>10</sub> Co	3.18	14.21
MSBA <sub>5</sub> N <sub>20</sub>	4.80	13.91	MSBA <sub>5</sub> N <sub>20</sub> Co	2.97	11.10
MSBA <sub>10</sub> N <sub>0</sub>	3.10	8.20	MSBA <sub>10</sub> N <sub>0</sub> Co	2.95	7.13
MSBA <sub>10</sub> N <sub>1</sub>	4.68	13.54	MSBA <sub>10</sub> N <sub>1</sub> Co	5.66	19.80
MSBA <sub>10</sub> N <sub>5</sub>	5.45	12.63	MSBA <sub>10</sub> N <sub>5</sub> Co	3.64	16.35
MSBA <sub>10</sub> N <sub>10</sub>	4.84	10.93	MSBA <sub>10</sub> N <sub>10</sub> Co	3.09	13.53
MSBA <sub>10</sub> N <sub>20</sub>	3.93	8.89	MSBA <sub>10</sub> N <sub>20</sub> Co	2.28	9.01
LSD <sub>0.05</sub>	2.01	5.76	-	2.01	5.76
0.01	2.64	7.57	-	2.64	7.57

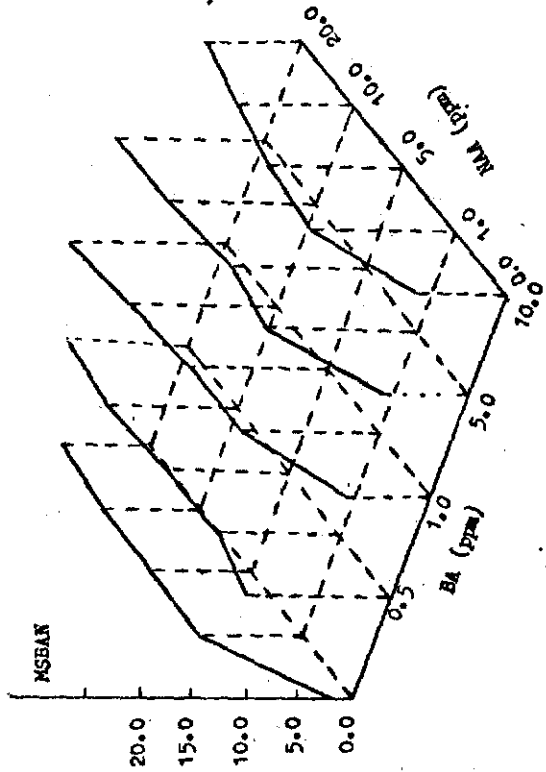
<sup>a</sup> - เฉลี่ยจากเนื้อใบ จำนวน 10 ชิ้น



ภาพประกอบ 9 จำนวนค่าการตอบสนองและค่าการวิเคราะห์สำหรับ MS MSCO MSBAN และ MSBANGCO ที่เวลา 2 นาที



(ค่าที่พบสูงสุด)  
ค่าที่พบต่ำสุด



(ค่าที่พบสูงสุด)  
ค่าที่พบต่ำสุด

การแปรของ 10 ส่วนต่อร้อยของค่าที่พบได้แก่ค่าที่พบสูงและค่าที่พบต่ำ

MS MSBAN MSBANCO และ MSBANCO (เป็นค่า 2 เท่า)

แคลลัสมีขนาดใหญ่ สีเหลืองและเหลืองปนน้ำตาล (ภาพประกอบ 11) นอกจากนี้ยังพบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA และน้ำมะพร้าว จะมีสีเขียวก่อกขึ้นเป็นบริเวณกว้าง และมีสีเขียวเข้มเกิดขึ้นมากในอาหารสูตร MSBA<sub>0.5</sub>N<sub>0</sub>Co ซึ่งเติม BA ความเข้มข้น 0.5 ppm และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาผ่านไปจะเกิดจุดที่มีสีเขียวเข้มมากขึ้น แต่ไม่สามารถ



ภาพประกอบ 11 ลักษณะของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ( BA<sub>0</sub>N<sub>0</sub> ) และ MS ที่เติมน้ำมะพร้าว ( MS<sub>Co</sub> หรือ BA<sub>0</sub>N<sub>0</sub>Co ) เป็นเวลา 1 เดือน

กระตุ้นให้เกิดยอกใหม่ได้ (ภาพประกอบ 12) ส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี น้ำมะพร้าวรวมอยู่ด้วย มีน้ำหนักน้อยกว่าและขนาดเล็กกว่า แคลลัสมีลักษณะยุบ บาง ขึ้นมีลักษณะชุ่มน้ำ และหลุดออกจากกันได้ง่ายกว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่มีน้ำมะพร้าวรวมอยู่ด้วย

### การทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงหน่อที่ไต่จากการทดลองที่ 1

เมื่อนำหน่อของกุหลาบ *R. multiflora* จากการทดลองที่ 1 มาตัดแบ่ง แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBAN MSBANCo MSAc MSCoAc MSBANAc และ MSBANCoAc ปรากฏว่า ในอาหารสูตร MS หน่อไม่มีการ สร้างราก ส่วนในสูตรอาหารที่เหลือหน่อจะสร้างแคลลัสดีเหลือง และเหลืองปนน้ำตาล ที่โคนของหน่อในสัปดาห์ที่ 2 เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปอีกเป็นเวลา 2 เดือน แคลลัส บริเวณโคนของหน่อจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ จนในที่สุดหน่อจะตายไป (ภาพ ประกอบ 13) และไม่พบการสร้างรากของหน่อในอาหารสูตร MS MSCo MSBAN MSBANCo MSAc MSCoAc MSBANAc และ MSBANCoAc

ในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง แล้วเติม IBA กับซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า หน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตร MS/2 ISu มีการสร้างแคลลัสบริเวณโคนของหน่อ เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 1 สัปดาห์ และต่อมาจะสร้างรากจากแคลลัสนั้นเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์ในสัปดาห์ที่ 2 รากที่เกิดขึ้นมีสีขาว อวบ และมีขนรากจำนวนมาก (ภาพประกอบ 14) ในอาหารสูตร MS/2 I<sub>5</sub>Su<sub>4</sub> ซึ่งมี IBA ความเข้มข้น 5.0 ppm และซูโครส 4.0 เปอร์เซ็นต์ หน่อจะสร้างรากมากที่สุดคือ 10.0 ราก (ตาราง 5 และภาพประกอบ 15) ถ้า อาหารขาดซูโครส เช่น สูตร MS/2 I<sub>0</sub>Su<sub>0</sub> MS/2 I<sub>5</sub>Su<sub>0</sub> MS/2 I<sub>10</sub>Su<sub>0</sub> MS/2 I<sub>15</sub>Su<sub>0</sub> และ MS/2 I<sub>20</sub>Su<sub>0</sub> หน่อจะไม่มีการสร้างราก แต่ขาด IBA หน่อยังคงสร้าง รากได้ในสูตรที่มีซูโครสความเข้มข้นสูง ๆ เช่น สูตร MS/2 I<sub>0</sub>Su<sub>8</sub> และ

ภาพประกอบ 12 ลักษณะของแคลสที่มิลีเขียวเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS  
ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 ppm และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์  
( MSBA<sub>0.5</sub>N<sub>0</sub>Co )



ภาพประกอบ 13 ลักษณะของหน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBAN  
เป็นเวลา 2 เดือน



ภาพประกอบ 14 หน่อเดี่ยวในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA  
ความเข้มข้น 5.0 ppm และชุดโครส 4.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน

ตาราง 5 จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยของพืชต้นใหม่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ซึ่งเติม IBA และซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 1 เดือน

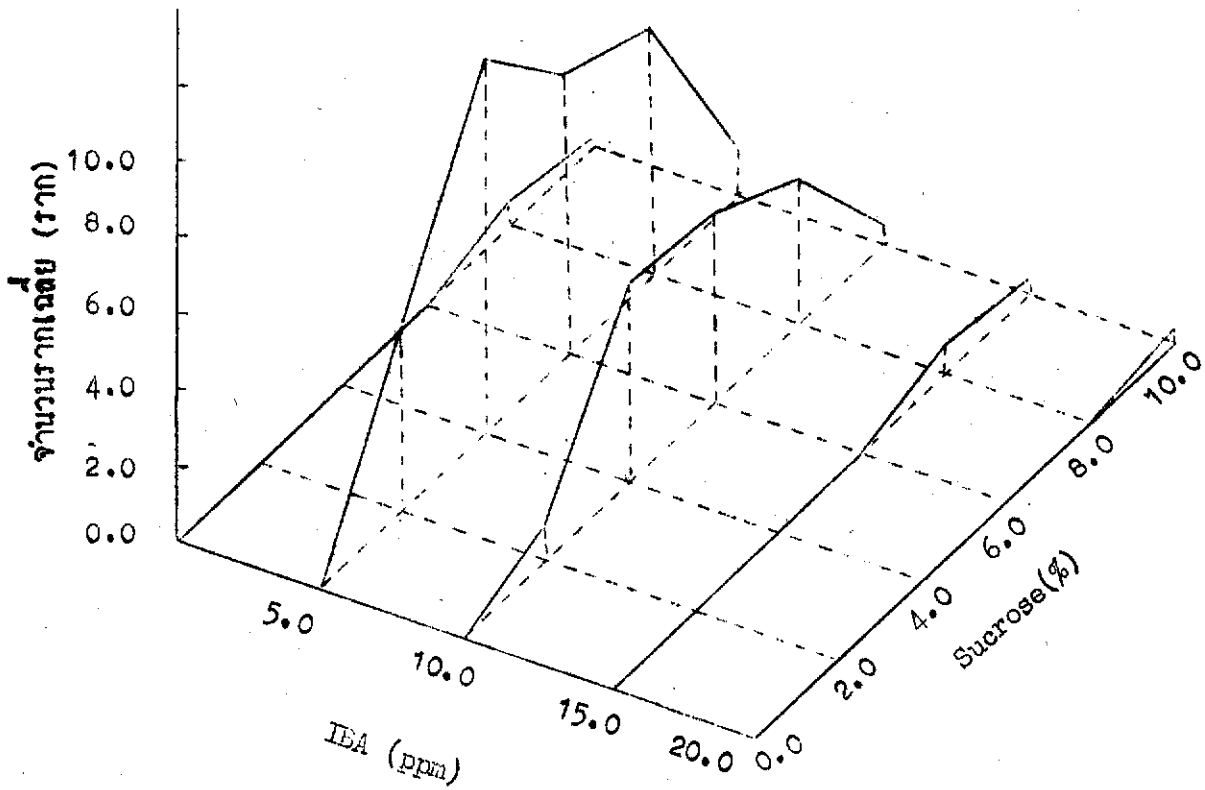
สูตรอาหาร	จำนวนเฉลี่ย <sup>a</sup> (ราก)	ความยาวเฉลี่ย <sup>b</sup> (เซนติเมตร)	สูตรอาหาร	จำนวนเฉลี่ย <sup>a</sup> (ราก)	ความยาวเฉลี่ย <sup>b</sup> (เซนติเมตร)
MS/2 I <sub>0</sub> Su <sub>0</sub>	0.0	0.00	MS/2 I <sub>10</sub> Su <sub>6</sub>	4.8	1.60
MS/2 I <sub>0</sub> Su <sub>2</sub>	0.0	0.00	MS/2 I <sub>10</sub> Su <sub>8</sub>	3.8	0.42
MS/2 I <sub>0</sub> Su <sub>4</sub>	0.0	0.00	MS/2 I <sub>10</sub> Su <sub>10</sub>	0.4	0.04
MS/2 I <sub>0</sub> Su <sub>6</sub>	0.0	0.00	MS/2 I <sub>15</sub> Su <sub>0</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>0</sub> Su <sub>8</sub>	0.6	0.40	MS/2 I <sub>15</sub> Su <sub>2</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>0</sub> Su <sub>10</sub>	0.2	0.18	MS/2 I <sub>15</sub> Su <sub>4</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>5</sub> Su <sub>0</sub>	0.0	0.00	MS/2 I <sub>15</sub> Su <sub>6</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>5</sub> Su <sub>2</sub>	4.8	0.70	MS/2 I <sub>15</sub> Su <sub>8</sub>	0.6	0.26
MS/2 I <sub>5</sub> Su <sub>4</sub>	10.0	1.00	MS/2 I <sub>15</sub> Su <sub>10</sub>	0.4	0.24
MS/2 I <sub>5</sub> Su <sub>6</sub>	7.4	1.90	MS/2 I <sub>20</sub> Su <sub>0</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>5</sub> Su <sub>8</sub>	6.6	1.10	MS/2 I <sub>20</sub> Su <sub>2</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>5</sub> Su <sub>10</sub>	1.2	0.10	MS/2 I <sub>20</sub> Su <sub>4</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>10</sub> Su <sub>0</sub>	0.0	0.00	MS/2 I <sub>20</sub> Su <sub>6</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>10</sub> Su <sub>2</sub>	0.8	0.18	MS/2 I <sub>20</sub> Su <sub>8</sub>	0.0	0.00
MS/2 I <sub>10</sub> Su <sub>4</sub>	5.2	2.00	MS/2 I <sub>20</sub> Su <sub>10</sub>	0.4	0.04
LSD <sub>0.05</sub>	2.41	0.31	-	2.41	0.31
0.01	3.19	0.41	-	3.19	0.41

a - เฉลี่ยจากรากของพืชต้นใหม่ จำนวน 5 ต้น

b - เฉลี่ยจากรากที่มีความยาวมากที่สุด จำนวน 5 ราก

I - IBA

Su - ซูโครส

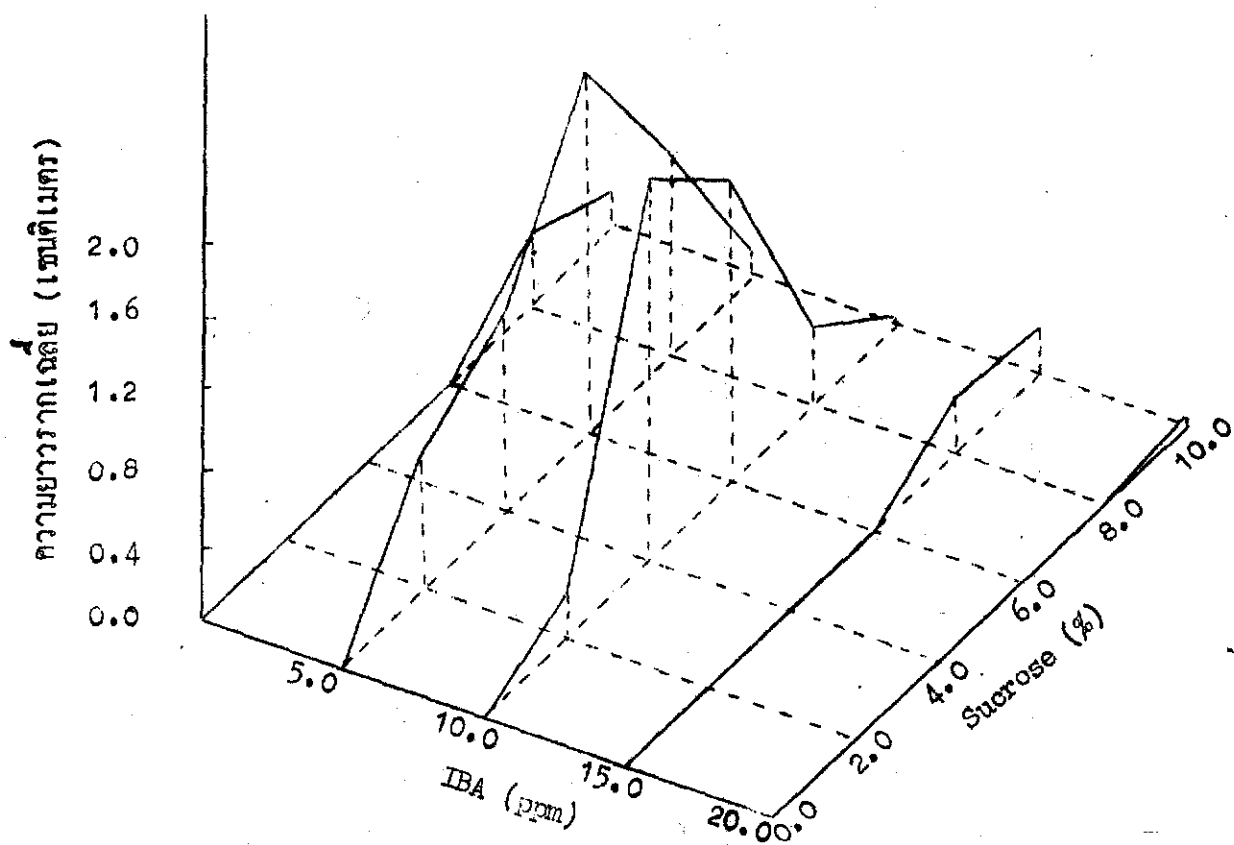


ภาพประกอบ 15 จำนวนรากเฉลี่ยของพืชต้นใหม่ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 1 เดือน

MS/2  $I_0Su_{10}$  : (ภาพประกอบ 16) เมื่อวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่า จำนวน รากที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงหน่อของกุหลาบในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตาราง 10 ภาคผนวก) เกี่ยวกับความยาวของราก พบว่าในอาหารสูตร MS/2  $I_{10}Su_4$  ซึ่งมี IBA ความเข้มข้น 10.0 ppm และซูโครสความเข้มข้น 4.0 เปอร์เซ็นต์ รากจะมีความยาวมากที่สุดคือ 2.0 เซนติเมตร รองลงมาคือสูตร MS/2  $I_5Su_6$  รากจะมีความยาวเท่ากับ 1.90 เซนติเมตร (ตาราง 5 และ ภาพประกอบ 17) ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่า ความยาวของรากในอาหาร สูตร MS/2  $I_5Su_6$  ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสูตร MS/2  $I_{10}Su_4$  จากการวิเคราะห์ความยาวของรากในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง 11 ภาคผนวก)



ภาพประกอบ 16 การสร้างรากของพืชต้นใหม่ในอาหารที่ไม่เติม IBA แต่เติม  
ซูโครสความเข้มข้นสูง (8.0 เปอร์เซ็นต์)



ภาพประกอบ 17 ความยาวรากเฉลี่ยของพืชต้นใหม่ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นเวลา 1 เดือน

สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ R. multiflora ที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ MS กักแปลง
2. เพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารที่เติมลงไปในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมต่อการเกิดหน่อ แคลลัส และรากของกุหลาบ R. multiflora

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

นำเนื้อเยื่อส่วนข้อของกุหลาบที่มีตาติดอยู่ มาฆ่าเชื้อในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อีก 5 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ฆ่าเชื้อแล้วในอาหารสูตร MS และ MS กักแปลง ภายในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 - 27 องศาเซลเซียส ให้แสงที่มีความเข้ม 750 กำลังเทียน ช่วงแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ ในอาหารสูตร MS และ MS กักแปลงที่เติม BA kinetin NAA 2, 4-D และ น้ำมะพร้าว

การทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 ในอาหารสูตร MS และ MS กักแปลงที่เติม BA NAA และน้ำมะพร้าว

การทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงหน่อที่ได้จากการทดลองที่ 1 ในอาหารสูตร MS MS กักแปลงที่เติม BA NAA น้ำมะพร้าว และ MS กักแปลงที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง พร้อมทั้งเติม IBA และชูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

### การวิเคราะห์ข้อมูล

1. หาเปอร์เซ็นต์การรอดตายของเนื้อเยื่อส่วนตาข้าง
2. วิเคราะห์น้ำหนักสด จำนวน และความสูงของหน่อ น้ำหนักสดและขนาดของแคลลัส จำนวนและความยาวของราก โดยใช้ One - Way Analysis of Variance
3. เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ โดยใช้ Least Significant Difference (LSD)
4. บรรยายลักษณะชิ้นส่วนของพืชจากภาพถ่าย

### สรุปและอภิปรายผล

เมื่อนำตาข้างของกุหลาบ *R. multiflora* ที่ติดอยู่กับส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ MS ดัดแปลงที่เติม BA kinetin NAA 2, 4 - D และน้ำมะพร้าว พบว่าเนื้อเยื่อส่วนตาข้างสามารถเจริญได้ในทุกสูตรอาหาร

การเติม BA มีแนวโน้มในการกระตุ้นการเจริญของตาข้าง และก่อให้เกิดการสร้างหน่อได้ดี หน่อที่เกิดขึ้นมีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง มีใบสีเขียว ในสูตรอาหารที่มี BA ความเข้มข้นต่ำ คือ 0.1 - 1.5 ppm เนื้อเยื่อส่วนตาข้างจะสร้างหน่อเป็นจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สิงหะ วาญ และสงว (Singha. 1980 : 61, Wang. and Huang. 1978 : 137 - 144) ที่รายงานไว้ว่า BA ช่วยกระตุ้นให้มีการเพิ่มปริมาณหน่อได้ดี เมื่อเติม BA ร่วมกับน้ำมะพร้าว ทำให้การเกิดหน่อมีจำนวนน้อยกว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่ได้เติมน้ำมะพร้าว แต่มีการสร้างแคลลัสบริเวณตาและรอยคัททั้งสองด้านของเนื้อเยื่อมากกว่า. ที่เป็นเช่นนั้นน่าจะเป็นเพราะน้ำมะพร้าวมีซิทิน ซิตินโรโบไซท์ ซิตินกลูโคไซด์ ไคฟีนิลยูเรีย (Diphenylurea) และ 9 -  $\beta$  - D - ribofuranosylzeatin ซึ่งช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์

(Staden and Drewos. 1974 : 347 - 352, 1975 : 106 - 109, 1976 : 123 - 126, Staden and Drewos. citing Shantz and Steward. 1955, Letham. 1968) จึงทำให้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA และนํ้ามะพร้าว สร้างแคลลัส มากกว่าเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ไม่มีนํ้ามะพร้าว นอกจากนี้อาหารที่มี BA ความเข้มข้นสูง (มากกว่า 1.5 ppm) ไม่ว่าจะเติมนํ้ามะพร้าวหรือไม่ก็ตามจะสร้างแคลลัสบริเวณรอยตัดมากขึ้น และสร้างหน่ออ่อนลง ซึ่งตรงกับรายงานของฮัสเซย์ (Hussey. 1976 : 1323 - 1325) ที่รายงานว่า BA ความเข้มข้นสูงจะชักนำให้เกิดแคลลัส ส่วน kinetin ไม่มีผลต่อการสร้างหน่อเลย ผลการทดลองนี้ตรงกับผลการทดลองของเอลเลียต (Elliott. 1970 : 183 - 186) ซึ่งได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบ *R. multiflora* ในอาหารเหลวสูตร RM - 1962 แล้วพบว่า BAP และซิติคินจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อส่วนปลายยอด แต่ถ้าเติม kinetin และ 6-(3-methylbut-2 enyl)-aminopurine เนื้อเยื่อจะไม่มี การเจริญเติบโต

เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MSBA ซึ่งเติม BA ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 ppm ไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องความสูงของหน่อ แต่จะแตกต่างกันในเรื่องจำนวนของหน่อ คือในสูตร MSBA<sub>1.5</sub> หน่อจะมีจำนวนมากที่สุด ส่วนในอาหารที่เติมทั้ง BA และนํ้ามะพร้าว แม้ว่าจะทำให้หน่อมีความสูงมากที่สุด ในสูตร MSBA<sub>0.1 Co</sub> ก็ตาม แต่ก็กระตุ้นให้หน่อเกิดขึ้นได้เพียงหน่อเดียว ทั้งนี้สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ *R. multiflora* สร้างหน่อได้ก็ควรจะเป็นสูตร MSBA<sub>1.5</sub> โดยพิจารณาถึงจำนวนของหน่อเป็นเกณฑ์

เนื้อเยื่อส่วนตาข้างที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ทดแปลงที่เติมออกซินและนํ้ามะพร้าว พบว่ามีแนวโน้มที่จะก่อให้เกิดการสร้างแคลลัสมากกว่ายอด เนื้อเยื่อจะสร้างแคลลัสจากส่วนของตา และรอยตัดทั้งสองด้าน บริเวณตามีเนื้อเยื่อเจริญอยู่แล้ว เมื่อถูกกระตุ้นโดย NAA และ 2, 4 - D ซึ่งเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตที่อยู่ในกลุ่มออกซิน เนื้อเยื่อเจริญบริเวณนี้จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนได้เป็นแคลลัสกลุ่มใหญ่

ส่วนแคลลัสที่เกิดขึ้นบริเวณรอยตัดทั้งสองด้านของเนื้อเยื่อ อาจจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาจากรอยแผลที่ถูกตัด (Wound reaction) (Street. 1977 : 271) โดยบริเวณรอยตัดจะสร้างฮอร์โมน (Wound hormone) ซึ่งเป็นสารที่ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ขึ้น แต่การแบ่งเซลล์จะเกิดขึ้นอย่างค่อเนื่องไ้ก็ต่อเมื่อมีสารเร่งการเจริญเติบโตมาช่วยส่งเสริมการทำงาน จนกระทั่งไ้เป็นแคลลัสในที่สุด ยีโอมแมน และมิเชลล์ (Yeoman and Michell. 1970 : 799 - 810) ไ้เพาะเลี้ยงหัวของอาร์ทีโชก (Artichoke tuber) ในอาหารที่ไม่มี 2, 4 - D พบว่ามีการสะสมของโปรตีนบางชนิด และสารพวกโพลีฟีนอล (Polyphenol) อีกหลายชนิด แต่การแบ่งเซลล์จะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น การสร้างแคลลัสจะเกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มี 2, 4 - D เขาไ้สันนิษฐานว่าการเกิดแคลลัสอาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างฮอร์โมนที่สร้างขึ้นบริเวณรอยแผลที่ถูกตัดกับ 2, 4 - D ในทำนองเดียวกันเกี่ยวกับการเกิดแคลลัสของเนื้อเยื่อทุกหลาบ อาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างฮอร์โมนบริเวณรอยแผลที่ถูกตัดกับ NAA หรือ 2, 4 - D ก็เป็นไ้ และถ้าในอาหารมีน้ำมะพร้าวร่วมอยู่ด้วย แคลลัสจะมีการเจริญเติบโตค้ยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพราะในน้ำมะพร้าวมีสารกระตุ้นการแบ่งเซลล์เช่น ซิติน ซิตินไรโบไซค์ ซิตินกลูโคไซค์ โคพินิลยูเรีย และ 9 -  $\beta$  - D - ribofuranosylzeatin ทั้งที่ไ้กล่าวมาแล้ว สำหรับสีของแคลลัสในอาหารที่มี 2, 4 - D จะเป็นสีน้ำตาล และสีจะเข้มกว่าแคลลัสในอาหารที่มี NAA แสดงว่า 2, 4 - D ที่มีความเข้มข้นสูงอาจไปกระตุ้นให้สร้างลิกนิน (Lignin) มากขึ้น แคลลัสจึงมีสีน้ำตาล (Street. 1977 : 162, 176)

เมื่อนำแคลลัสที่ไ้จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เปลี่ยนแปลงที่เติม BA และ NAA กับ BA NAA และน้ำมะพร้าว ปรากฏว่า BA และ NAA ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในแคลลัสไปเป็นหน่อหรือรากไ้ มีแต่การเพิ่มปริมาณของแคลลัสไปเรื่อย ๆ สกุก และมิลเลอร์ (Skoog and Miller. 1957 : 118 - 131) ไ้รายงานไว้ว่าการเกิดเป็นต้น ราก หรือแคลลัสของพืชแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับความสมดุลของปริมาณไซโตไคนินและออกซินในอาหาร ถ้าอัตรา

ส่วนของไซโตไคนินและออกซินมีอยู่ในอัตราส่วนที่เหมาะสม เนื้อเยื่อจะเจริญไปเป็นต้น และรากที่สมบูรณ์ แต่ถ้าไซโตไคนินมีปริมาณมากกว่าออกซินเนื้อเยื่อจะเจริญไปเป็นยอด และถ้าออกซินมีปริมาณมากกว่าไซโตไคนินเนื้อเยื่อจะเจริญไปเป็นแคลลัสและราก การที่แคลลัสของกุหลาบ *R. multiflora* ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อหรือรากเลย น่าจะเป็นเพราะไซโตไคนิน (BA) และออกซิน (NAA) ที่เติมลงไปในการเลี้ยง MS กักแปลงยังมีอัตราส่วนที่ไม่เหมาะสมต่อการเกิดต้นและราก เมื่อพิจารณาว่าหน่อและขนาดแคลลัสพบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กัน คือสูตรอาหารที่เพาะเลี้ยงแคลลัสแล้วได้แคลลัสที่มีน้ำหนักมากที่สุด ไม่ใช่สูตรเดียวกันกับที่แคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด ทั้งนี้ อาจจะเป็นเพราะว่า เซลล์ที่มาเกาะกลุ่มกันเป็นแคลลัสมีการจัดเรียงตัวแตกต่างกัน ในอาหารที่แคลลัสมีน้ำหนักมากที่สุด เซลล์อาจจะเกาะกันหนาแน่นมากกว่า จึงทำให้ขนาดของแคลลัสเล็กลงไป

จากการทดลองพบว่า การใช้สูตรอาหาร MS ไม่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดรากของหน่อที่ได้จากการทดลองที่ 1 ทั้งนี้ อาจจะเป็นเพราะในสูตรอาหาร MS มีไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของโปตัสเซียมไนเตรท ( $KNO_3$ ) และแอมโมเนียมไนเตรท ( $NH_4NO_3$ ) ในความเข้มข้นที่สูงมาก ซึ่งไนโตรเจนความเข้มข้นสูงนี้จะยับยั้งการเกิดรากได้ (Hyndman and others, 1982 : 82 - 83) การกระตุ้นให้เกิดรากของหน่อของกุหลาบ *R. multiflora* จำเป็นต้องใช้สูตรอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงครั้งหนึ่ง ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจาก การลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักทำให้ไนโตรเจนมีความเข้มข้นลดลงตามไปด้วย ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนที่เหลืออยู่ในสูตร MS/2 จึงไม่มีความเข้มข้นสูงพอที่จะยับยั้งการเกิดรากได้ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของฮาเซกาวา และคณะ (Hasegawa and others, 1980 : 210 - 216) ที่ได้รายงานไว้ว่า การเกิดรากของกุหลาบ Improved Blaze จะได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงเหลือ 1/2 และ 1/4 ของความเข้มข้นเดิม

การเติม NAA ลงในอาหารสูตร MS ไม่ก่อให้เกิดการสร้างรากของกุหลาบ *R. multiflora* หน่อจะสร้างแคลลัสบริเวณโคนจนได้เป็นแคลลัสก้อนใหญ่ ซึ่งผลการทดลองนี้ตรงกับผลการทดลองของ เอลเลียต (Elliott. 1970 : 183 - 186) ที่พบว่า NAA ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่อื่นของเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดของกุหลาบ *R. multiflora* จากการทดลองนี้พบว่า IBA สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ เนื่องจาก IBA เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตที่อยู่ในกลุ่มออกซิน ซึ่งจะช่วยให้เกิดจุกกำเนิดของราก แต่ถ้าใช้ในความเข้มข้นที่สูงเกินไปก็จะยับยั้งการเกิดรากได้ (Skog and Miller. 1957 : 118 - 131, Murashige. 1974 : 170, 1974 : 135 - 166)

การใช้ซูโครสความเข้มข้นสูงจะมีผลต่อการเกิดรากของกุหลาบ *R. multiflora* ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ ฮินด์แมน และคณะ (Hyndman and others. 1982 : 229) ที่พบว่า การสร้างรากของกุหลาบ Improved Blaze จะให้ผลดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS/2 ที่เติมซูโครสความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 146.07 - 262.93 มิลลิโมล และจากการทดลองนี้ยังพบว่า ในอาหารที่ขาดซูโครส หน่อของกุหลาบจะไม่สร้างราก การเจริญเติบโตของหน่อจะลดลง เนื่องจากซูโครสเป็นแหล่งของคาร์บอนที่สำคัญในการสร้างอวัยวะของพืช (Thorpe. 1974 : 77) แต่ถ้าวาง IBA หน่อของกุหลาบยังคงสร้างรากได้ แต่มีจำนวนน้อยกว่ารากที่เกิดขึ้นในอาหารที่มีทั้งซูโครส และ IBA

ในสูตรอาหารที่กระตุ้นให้หน่อสร้างรากเป็นจำนวนมาก รากจะมีความยาวน้อย ตรงกันข้าม ถ้าจำนวนของรากมีน้อยความยาวของรากก็จะมากขึ้น เช่นในสูตร MS/2  $I_5Su_4$  มีจำนวนรากเฉลี่ย 10.0 ราก และมีความยาวเฉลี่ยของราก 1.0 มิลลิเมตร ในขณะที่สูตร MS/2  $I_5Su_6$  มีจำนวนรากเฉลี่ย 7.4 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 1.90 เซนติเมตร ถ้าพิจารณาถึงจำนวนของรากในสูตร MS/2  $I_5Su_4$  จะมีจำนวนของรากมากกว่าในสูตร MS/2  $I_5Su_6$  อย่างมีนัยสำคัญ แต่ถ้าพิจารณาถึงความยาวของราก พบว่ารากของกุหลาบในสูตร MS/2  $I_5Su_6$  จะมีความยาวมากกว่าสูตร MS/2  $I_5Su_4$  อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ดังนั้นสูตรที่ควรจะนำมาใช้เพาะเลี้ยง

หน่อของกุหลาบ *R. multiflora* เพื่อกระตุ้นให้เกิดรากควรจะเป็นสูตร MS/2 I<sub>5</sub>Su<sub>6</sub>

ขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ *R. multiflora* มีดังต่อไปนี้คือ

1. ทำความสะอาดเนื้อเยื่อส่วนตาข้างในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อีก 5 นาที
2. กระตุ้นให้เนื้อเยื่อส่วนตาข้างสร้างหน่อ ในอาหารสูตร MSBA<sub>1.5</sub>
3. กระตุ้นให้หน่อสร้างรากเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ ในอาหารสูตร MS/2 I<sub>5</sub>Su<sub>6</sub>

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกุหลาบ *R. multiflora* พบว่า เนื้อเยื่อส่วนตาข้าง 1 ตา จะให้ต้นใหม่ 11 ต้น ในเวลา 3 เดือน ถึงของกุหลาบ

*R. multiflora* ที่มีความยาว 8 นิ้ว จะมีตาโดยเฉลี่ย 12 ตา\* และใน 1 ต้น จะมีกิ่งอยู่ประมาณ 5 กิ่ง\*\* ถ้านำตาทุกตามาเพาะเลี้ยง จะได้ต้นใหม่ประมาณ 660 ต้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ปริมาณของต้นมากกว่าการขยายพันธุ์โดยวิธีปักชำหรือการเพาะเมล็ด ถ้าสามารถย้ายพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออกปลูกในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติได้ทั้งหมด

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรจะทดสอบหาออกซินและไซโตไคนินตัวอื่น ๆ รวมทั้งอัตราส่วนที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดหน่อ และรากจากแคลลัส
2. ควรจะทดสอบย้ายต้นกุหลาบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออกปลูกในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติว่าในสภาพอย่างไร ต้นกุหลาบจึงจะสามารถมีชีวิตรอด และเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

\*เฉลี่ยจากกิ่งที่มีความยาว 8 นิ้ว จำนวน 10 กิ่ง

\*\*เฉลี่ยจากต้นที่มีอายุ 8 เดือน จำนวน 10 ต้น

גזר הדין

บรรณานุกรม

กฤษณา สัมพันธารักษ์ "อาหารสำหรับใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืช" รายงาน  
การสัมมนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เอกสารโรเนียว 2525, 22 หน้า

ณัฐยา สามพระยา การศึกษาการเจริญเติบโตของกุหลาบลูกผสมพันธุ์ฮอลลีวูด  
อเมริกันปีวี่บนต้นคอพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในกระถาง ปัญหาพิเศษ ภาควิชาโ  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2518, 65 หน้า

บรรเจิด คติการ "ไม้ค้ำคอก" รายงานการสัมมนาเรื่องไม้ค้ำคอก สมาคม  
วิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งประเทศไทย 2516, 230 หน้า

ปิฎระ บุนนาค การทดลองปักชำกิ่งกุหลาบใน Medium ต่าง ๆ ชนิด วิทยานิพนธ์ \*  
วท.บ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2499, 52 หน้า อักษรานา

ไพบุลย์ กวินเลิศวัฒนา หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 2524, 133 หน้า  
สนั่น ขำเลิศ "การปลูกกุหลาบค้ำคอก" รายงานการสัมมนาเรื่องไม้ค้ำคอก หน้า  
8 - 89 สมาคมวิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งประเทศไทย, 2516

สมเพียร เกษมทรัพย์ การปลูกไม้พอก คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
2522, 446 หน้า

สุการ์คัน สามพระยา "การผสมพันธุ์กุหลาบและการเพาะเมล็ด" วารสารพืชสวน  
8 : 51 - 58, 2516

อรดี สหวัชรินทร์ "ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทางด้านการเกษตร"  
วารสารพืชสวน 14 : 35 - 43, 2522

Allen, E.F. "Recent Research on Roses," The Rose Ann. p. 127-137.  
Hazell Watson and Viney Ltd. England, 1966.

Amorim, H.V. and others. "The Effect of Carbohydrate and Nitrogen  
Concentration on Phenol Synthesis in Paul's Scarlet Rose Cell  
Grown in Tissue Culture," Physiologia Plantarum. 39 :  
91 - 95.

- Aoki, M. "Japanese Roses," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U.S.A. 52 : 32 - 36, 1976.
- Bailey, L.H. Gardener's Handbook. p. 235 - 238. The McMillan Company, New York, 1947.
- Ben - Jaacov, J. and R.W. Langhans. "Rapid Multiplication of Chrysanthemum Plants by Stem Tip Proliferration," Hort Science. 7 : 289 - 290, 1972.
- Bilou, V.N. and others. "Rose USSR," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U.S.A. 49 : 27 - 31, 1964.
- Brickell, C. Pruning. p. 6 - 20. Michell Beazley Publisher Ltd., 1977.
- Buck, G.T. "Varieties of Roses Understock," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U.S.A. 36 : 101 - 116, 1951.
- \_\_\_\_\_. "Stock - Scion Relationship in Roses," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U.S.A. 49 : 159 - 164, 1964.
- Butcher, D.N. and D.S. Ingram. Plant Tissue Culture. Camelot Press Ltd., Southampton, 1976. 67 p.
- Carter, A.R. "Rose Rootstock: Performance and Propagation From Seed," Soc. Comb. Proc. 19 : 172 - 180, 1969.
- Craig, J.E. "Japan's Rose Heritage," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U.S.A. 56 : 23 - 29, 1971.
- Davies, D.R. "Rapid Propid Propagation of Roses in Vitro," Scientia Horticulturae. 13 : 385 - 389, 1980.
- Dick, D.A. "Rose Rootstock for the Amature," The Rose Ann. p. 39 - 97. Hazell Watson and Viney Ltd., England, 1972.
- Dorsman, G. "Rose Root - Stocks : Experiance in Dutch Nurseries," The Rose Ann. p. 98 - 100. Hazell Watson and Viney Ltd., England, 1962.
- Elliott, R.F. "Axenic Culture of Meristem Tips of R. multiflora," planta. 95 : 183 - 186, 1970.
- Fadden, S.E. Rose Culture. p. 1 - 18. Cooperative Extention Service Institute of food and Agricultural Science University of Florida, Gainesville, 1914.

- Fosket, D.E. "Protein Synthesis During the Transition from the Resting to the Growing Stage in Suspension Culture of Paul's Scarlet Rose Cells," Physiologia Plantarum. 53 : 146 - 152, 1981.
- Grun, P. and L.J. Chu. "Development of Plants from Propagators of Solanum (Solanaceae)," American Journal Botany. 65 : 538 - 543, 1978.
- Hartmann, H.T. and D.E. Kester. Plant Propagation. 3rd Edition, Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1959. 622 p.
- Hussey. "In Vitro Release of Axillary Shoots from Apical Dominance in Monocotyledonous Plantlets," Ann. Bot. 40 : 1323 - 1325.
- Hyndman, S.E. and others. "Regulation of Shoot Multiplication and Adventitious Root Initiation from Culture Rose Shoot Tips," Environmental and Experimental Botany. 21 : 440 - 441, 1981.
- \_\_\_\_\_. "Stimulation of Root Initiation from Cultured Rose Shoots through the Use of Reduced Concentrations of Mineral Salts," Hort. Science. 17 : 82 - 83, 1982.
- \_\_\_\_\_. "The Role of Sucrose and Nitrogen in Adventitious Root Formation on Cultured Rose Shoots," Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1 : 229 - 238, 1982.
- Ivanicka, J. and A. Proteva. "Embryo Culture and Micropropagation of Cherries in Vitro," Scientia Horticulturae. 12 : 77 - 82, 1980.
- Jeramias, C.G. "Rooting Rose Cutting," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U.S.A. 64 : 91 - 108, 1979.
- Linsmaier, E.M. and F. Skoog. "Organic Growth Factor Requirements of Tobacco Tissue Cultures," Physiologia Plantarum. 18 : 100, 1965.
- McGrew, J.H. "Meristem Culture for Production of Virus - Free Strawberries," In : R.H. (ed) Proceedings of the Conference on Nursery Production of Fruit Plants Through Tissue Culture, p. 80-85. Applications and Feasibility U.S. Dept. Agri. Beltsville Md. 1980.
- Meyer, M.M. "Propagation of Day Lilies by Tissue Culture," Hort. Science. 11 : 485 - 487, 1976.
- ✓ Murashige, T. "Plant Propagation through Tissue Cultures," Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 135 - 166, 1974.
- \_\_\_\_\_. "Propagation through Tissue Culture," Hort. Science. 9 : 170, 1974.

- Murashige, T. "Current Status of Plant Cell and Organ Culture," Hort. Science. 12 : 127 - 130, 1977.
- Murashige, T. and F. Skoog. "A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assay with Tobacco Tissue Culture," Physiologia Plantarum. 15 : 473 - 497, 1962.
- Murashige, T. and others. "Clonal Multiplication of Gerbera," Hort. Science. 9 : 175 - 180, 1974.
- Nitsch, J.P. and C. Nitsch. "Haploid Plants from Pollen Grains," Science. 163 : 85 - 87, 1969.
- Okazawa, Y. and others. "Effects of Auxin and Kinetin on The Development and Differentiation of Potato Tissue Culture In Vitro," Physiologia Plantarum. 20 : 862 - 869, 1966.
- Overbeek, V.J. and others. "Factors in Coconut Milk Essential for Growth and Development of Very Young Datura Embryos," Science. 94 : 350 - 351, 1941.
- Pandey, B.S. and R.K. Sharma. "The Performance of Rose Varieties on Different Rootstocks in Allahabad," In Biological Abstract. 69 : 132, 1980.
- Perry, F. Flowers of The World. p. 257 - 260. The Hamlyn Publishing Group Ltd., 1977.
- Saunders, J.W. "The Resistance of Some Cultivars and Species of Rose to Diplocarpon rosae Wolf. Causing Black Spot Disease." The Rose Ann. p. 118 - 128. Hazell Watson and Viney Ltd., England, 1970.
- Simon, M.J. and others. The Complete Handbook. p. 179 - 221. D. Van Nostrand Company Inc., 1942.
- Singha, S. "In Vitro Propagation of 'Seckel' Pear," In : R.H. Zimmerman (ed) Proceedings of The Conference on Nursery Production of Fruit Plants through Tissue Culture. p. 59 - 63. Applications and Feasibility, U.S. Dept. Agri. Beltsville. Md., 1980.
- Staden, J.V. and S.E. Drewes. "Identification of Cell Division Inducing Compounds from Coconut Milk," Physiologia Plantarum. 32 : 347 - 352, 1974.
- , "Identification of Zeatin and Zeatinriboside in Coconut Milk," Physiologia Plantarum. 34 : 106 - 109, 1975.
- , "The Identification of Zeatin Glucoside from Coconut Milk," Physiologia Plantarum. 36 : 123 - 126, 1976.

- Stout, W. "Asia, The Land of Flowers," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U. S. A. 44 : 150 - 155, 1959.
- Street, H.E. Plant Tissue and Cell Culture. 2nd Edition, Berkley and Los Angeles, University of California Press, 1977. 614 p.
- Sudell, R. New Illustrated Gardening Encyclopedia. p. 605 - 616. Odam Press Ltd., London, 1946.
- Tabaezadeh, Z. and M. Khosh - Khui. "Anther Culture of Rosa," Scientia Horticulturae. 15 : 61 - 66, 1981.
- Thomas, A.S. "Alkalinity and Magnesium," The Rose Ann. p. 118 - 125. Hazell Watson and Viney Ltd., England, 1968.
- , "Autumn Heps," The Rose Ann. p. 52 - 57. Hazell Watson and Viney Ltd., England, 1968.
- Thorpe, T.A. "Carbohydrate Availability and Shoot Formation in Tobacco Callus Cultures," Physiologia Plantarum. 30 : 77 - 81, 1974.
- Ticknor, R.L. "Nutrition and Bloom Production of Roses Affect by Rootstock," Amer. Rose Ann. Kingsport Press Inc., U.S.A. 56 : 64 - 68, 1971.
- Unger, J.W. and K.A. Feng. "Growth and Differentiation of Juice Vesicles of Orange Grown In Vitro," American Journal Botany. 65 : 551 - 515, 1978.
- White, P.R. "Potentially Unlimited Growth of Excised Tomato Root Tip in Liquid Medium," Physiologia Plantarum. 9 : 585 - 630, 1934.
- Young, T.W. and others. Rose Response to Nitrogen Phosphorus and Potassium Fertilization Rates, p. 1 - 41. The Conard - Pyle Company, Pennsylvania, 1975.

ภาคผนวก

ตาราง 1 การเตรียม Stock solution และสารอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)

Stock solution	สารเคมี	ปริมาณสารเคมีใน Stock solution (g/l)	ปริมาณ Stock solution ที่ใช้เตรียมอาหาร 1 ลิตร (ml)	ปริมาณสารเคมีในอาหาร (mg/l)
1(10 X)	อัมโมเนียมไนเตรท ( $NH_4NO_3$ )	16.5	100	1,650
	โพแทสเซียมไนเตรท ( $KNO_3$ )	19.0		1,900
	แคลเซียมคลอไรด์ ( $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ )	4.4		440
	แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	3.7		370
	โพแทสเซียมไดไฮโปฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ )	1.7		170
2(100 X)	บอริกแอซิด ( $H_3BO_3$ )	0.62	10	6.2
	โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)	0.083		0.83
	โซเดียมโมลิบเดต ( $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ )	0.025		0.25
	โคบอลต์คลอไรด์ ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ )	0.0025		0.025
	แมงกานีสซัลเฟต ( $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ )	2.23		22.3
	สังกะสีซัลเฟต ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.86		8.6
	คอปเปอร์ซัลเฟต ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )	0.0025		0.025
3(100 X)	ไดโซเดียมเอทิลีเอต ( $Na_2EDTA$ )	3.73	10	37.3
	เฟอร์รัสซัลเฟต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )	2.78		27.8
4(100 X)	ไทอามีน (Thiamine .HCl)	0.01	10	0.1
	นิโคตินิกแอซิด (Nicotinic acid)	0.05		0.5
	ไพริดอกซีน (Pyridoxine .HCl)	0.05		0.5
	ไกลซีน (Glycine)	0.20		2.0
	มายโออินโนซิทอล (Myo-Inositol)	10.00		100.0
	ยูโรส	-	-	3%
	วุ้น	-	-	1%



ตาราง 3 วิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่

เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSBA MSBACo MSK และ MSKCo  
เป็นเวลา 2 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	25	107.41	4.13	** 6.55
Error	225	153.63	0.63	
Total	250	261.04		

$$\text{LSD}_{0.05} = 0.68, \quad \text{LSD}_{0.01} = 0.89$$

ตาราง 4 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนเฉลี่ยของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อในอาหารสูตร MS MSCo MSBA MSBACo MSK  
และ MSKCo เป็นเวลา 2 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	25	1,616.99	62.19	** 49.75
Error	225	297.70	1.25	
Total	250	1,914.69		

$$\text{LSD}_{0.05} = 0.98, \quad \text{LSD}_{0.01} = 1.28$$

ตาราง 5 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสูงเฉลี่ยของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยในอาหารสูตร MS MSCo MSBA MSBACo MSK และ MSKCo เป็นเวลา 2 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	25	90.55	3.62	18.10**
Error	225	45.37	0.20	
Total	250	135.92		

$$\text{LSD}_{0.05} = 0.39, \quad \text{LSD}_{0.01} = 0.51$$

ตาราง 6 วิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS MSCo MSN MSNCo MSD และ MSDCo เป็นเวลา 2 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	31	3,590.83	115.83	386.10**
Error	288	89.06	0.30	
Total	319	3,679.89		

$$\text{LSD}_{0.05} = 0.47, \quad \text{LSD}_{0.01} = 0.61$$

ตาราง 7 วิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงใน  
อาหารสูตร MS MSCo MSN MSNCo MSD และ MSDCo เป็น  
เวลา 2 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	31	8,341.69	269.08	72.33 <sup>***</sup>
Error	288	1,073.61	3.72	
Total	319	9,415.30		

$$LSD_{0.05} = 1.68, \quad LSD_{0.01} = 2.21$$

ตาราง 8 วิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงใน  
อาหารสูตร MS MSCo MSBAN และ MSBANCo เป็นเวลา  
2 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	49	5,004.16	102.13	38.83 <sup>***</sup>
Error	200	526.95	2.63	
Total	249	5,531.11		

$$LSD_{0.05} = 2.01, \quad LSD_{0.01} = 2.64$$

ตาราง 9 วิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดเฉลี่ยของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงใน

อาหารสูตร MS MSCo MSBAN และ MSBANCo เป็นเวลา 2 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	49	4,324.40	88.25	** 4.08
Error	200	4,324.46	21.62	
Total	249	8,558.86		

$$\text{LSD}_{0.05} = 5.76,$$

$$\text{LSD}_{0.01} = 7.57$$

ตาราง 10 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากเฉลี่ยที่เกิดจากการเพาะเลี้ยง

หน่อของกุหลาบในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และขุโครตความเข้มข้นต่าง ๆ  
กัน เป็นเวลา 1 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	29	1,080.16	37.25	** 10.04
Error	120	444.80	3.71	
Total	129	1,524.96		

$$\text{LSD}_{0.05} = 2.41,$$

$$\text{LSD}_{0.01} = 3.19$$

ตาราง 11 วิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวรากเฉลี่ยที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงหน่อ  
ของกุหลาบในอาหารสูตร MS/2 ที่เติม IBA และซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ กัน  
เป็นเวลา 1 เดือน

SV	df	SS	MS	F
Treatment	29	49.85	1.72	28.67**
Error	120	7.55	0.06	
Total	129	57.40		

$$\text{LSD}_{0.05} = 0.31, \quad \text{LSD}_{0.01} = 0.41$$

\*\* มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ Rosa multiflora Thunb.

บทคัดย่อ

ของ

วิไลภรณ์ อุทธยอก

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กันยายน 2526

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของกุหลาบ Rosa multiflora Thunb.

ในอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ MS คัดแปลง พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA (6 - benzyladenine) และ BA กับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เนื้อเยื่อสร้างหน่อได้ การเกิดหน่อมีจำนวนมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 ppm หน่อที่ได้มีความแข็งแรง สมบูรณ์ และมีสีเขียว เมื่อความเข้มข้นของ BA มากกว่าหรือน้อยกว่า 1.5 ppm หน่อจะมีจำนวนน้อยลง เมื่อนำหน่อที่เกิดขึ้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง (MS/2) แล้วเติม IBA (Indole butyric acid) ความเข้มข้น 5.0 ppm และซูโครส 6.0 เปอร์เซ็นต์ หน่อจะมีรากเป็นจำนวนมากเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ การเติม kinetin (6 - furfurylaminopurine) และ kinetin กับน้ำมะพร้าว ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนหน่อไม่ว่าจะเป็นความเข้มข้นใดก็ตาม ส่วนในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA ( $\infty$  - naphthalene acetic acid) NAA กับน้ำมะพร้าว 2, 4 - D (2, 4 - dichlorophenoxy acetic acid) และ 2, 4 - D กับน้ำมะพร้าว เนื้อเยื่อตาข้างจะสร้างแคลลัสซึ่งเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 3.0 ppm กับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม BA และ NAA BA NAA และน้ำมะพร้าว แคลลัสจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นเรื่อย ๆ แต่ไม่มีการสร้างหน่อและรากจากแคลลัสเลย

TISSUE CULTURE OF Rosa multiflora Thunb.

AN ABSTRACT

BY

WILA IPORN UTTAYOD

Present in partial fulfillment of the requirements  
for the Master of Education degree  
at Srinakharinwirot University  
September 1983

Lateral buds of Rosa multiflora Thunb were aseptically cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) agar medium and modified MS medium. The buds grown on modified MS medium containing BA (6 - benzyladenine) and BA plus coconut milk developed healthy and green shoots. On modified MS medium containing 1.5 ppm BA produced the highest number of shoots. Tissue growth and shoot formation decreased when the tissue was cultured on modified MS medium containing BA over 1.5 ppm. The shoots subcultured on modified MS medium with half - concentrated macronutrient plus 5.0 ppm IBA (Indole butyric acid) and 6.0% sucrose developed several roots. On modified MS medium containing varied concentrations of kinetin (6 - furfurylaminopurine) and kinetin plus coconut milk, the number of shoots did not increase. Lateral buds produced calluses on modified MS medium containing NAA ( $\alpha$  - naphthalene acetic acid), NAA plus coconut milk, 2, 4 - D (2, 4 - dichlorophenoxy acetic acid) and 2, 4 - D plus coconut milk. On modified MS medium containing 3.0 ppm NAA and 15.0% coconut milk calluses showed maximum growth. The calluses subcultured on modified MS medium containing a combination of BA and NAA and a combination of BA, NAA and coconut milk proliferated, but they produced neither shoots nor roots.