

ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ
Effect of Culture Media on Growth of *Chrysanthemum* Seed *In Vitro*

ชญานีย์ สังกวาลย์*, ผการัตน์ โรจน์ดวง **, สุภาวดี รามสูตร์ *** ,
ศุภมาส แซ่เตี้ยว **** และ เสาวลักษณ์ ชูด้วง ****
Chayaneer Sangwan*, Phakarot Rotduang **, Supawadee Ramasoot ***,
Suppamas Saedeaw **** and Saowalak Chuduang ****

บทคัดย่อ

เมล็ดเบญจมาศสายพันธุ์เหลืองเกษตรเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962), อาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง ($1/2$ MS) และอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงหนึ่งในสี่ ($1/4$ MS) ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 2 % และผงวุ้น 0.75 % ภายใต้สภาพให้แสง ที่ความเข้มแสง $3000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าอาหารสูตร $1/4$ MS ให้อัตราการงอกสูงสุด 55.3 % รองลงมาคืออาหารสูตร $1/2$ MS (41.7%) และ อาหารสูตร MS (39.8%) ตามลำดับ สำหรับการเจริญของยอด พบว่า อาหารสูตร $1/4$ MS ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.06 ซม. ส่วนอาหารสูตร $1/2$ MS ให้ความยาวใบเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 1.29 ซม. และ 5.77 ± 4.65 ใบ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามอาหารสูตร MS ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.16 ± 2.32 ซม.ต่อชิ้นส่วน

คำสำคัญ : สูตรอาหาร, การเจริญเติบโต, เบญจมาศ, สภาพปลอดเชื้อ

* นักวิทยาศาสตร์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

** อาจารย์ประจำหลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
Corresponding author e-mail: phakarot.r@gmail.com

*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

**** นักศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

Abstract

The seeds of *Chrysanthemum* cv. Luang Kaset were cultured on Murashige and Skoog, 1962), ½ MS and ¼ MS medium supplemented with 2 % sucrose and solidified with 0.75% agar. The cultures were maintained at 25±2 °C under a 16-h photoperiod with 3,000 µmol/m²/sec photosynthetic photon flux density. After culturing for 3 months, ¼ MS medium gave the highest average percentage of germination rate at 55.3, followed by ½ MS (41.7%) and MS medium (39.8%). For shoot growth, ¼ MS medium gave the highest average shoot length at 3.06±2.04 cm ½ MS medium gave the highest average leaf length and average number of leaves at 1.29±1.08 cm and 5.77±4.65 leaves, respectively. However, MS medium gave the highest average root length at 2.16±2.32 cm

Keywords: Culture medium, growth, *Chrysanthemum*, aseptic condition

1. บทนำ

เบญจมาศ (*Dendranthema grandiflora*) จัดเป็นไม้ดอกไม้ประดับอยู่ในวงศ์ Asteraceae มีชื่อสามัญว่า *Chrysanthemum* เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศจีนและประเทศญี่ปุ่น รวมทั้งเป็นไม้ดอกไม้ประดับปลูกในเชิงการค้า ซึ่งพันธุ์ที่ปลูกเป็นพันธุ์ลูกผสมที่สลับซับซ้อนหลาย species แต่บรรพบุรุษที่สำคัญได้แก่ *C. indicum* และ *C. sinense* (สุเม อธิษฐาน, 2533) เนื่องจากดอกของเบญจมาศมีรูปร่างและขนาดที่หลายรูปแบบและหลากสีสวยงาม รวมทั้งมีอายุการปักแจกันไม่ต่ำกว่า 7 วัน จึงเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่นิยมปลูกกันมากในหลายประเทศโดยเฉพาะประเทศในกลุ่มยุโรปและอเมริกา การปลูกเบญจมาศสามารถทำรายได้ให้กับผู้ปลูกเลี้ยงได้เป็นอย่างดีและมีความสำคัญเป็นอันดับ 2 รองจากกุหลาบ การปลูกเบญจมาศส่วนใหญ่เป็นการปลูกในรูปของไม้ตัดดอก (Cut flower) อย่างไรก็ตามเบญจมาศสามารถปลูกเป็นไม้กระถาง (Pot plant) ได้ด้วย (วัลลภ พรหมทอง, 2541) สำหรับประเทศไทยไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่ามีการนำเบญจมาศมาปลูกเมื่อใด แต่การปลูกเป็นไม้ตัดดอกนั้น มีการปลูกที่ถนนตึก กรุงเทพมหานคร แต่ไม่ทราบสายพันธุ์ที่ปลูก จนกระทั่งประมาณ พ.ศ.2509 คุณชาวซึ่งเป็นเจ้าของสวนการะเกดในซอยเอกมัยได้นำเบญจมาศจากประเทศญี่ปุ่นเข้ามาปลูกในประเทศไทยหลายสายพันธุ์ แต่พบว่ามีเพียงพันธุ์ดอกสีขาวพันธุ์เดียวที่สามารถเจริญได้ดี จึงเรียกเบญจมาศพันธุ์นี้ว่าขาวการะเกด สำหรับประเทศไทยปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกเบญจมาศประมาณ 1,400 ไร่ นิยมปลูกเบญจมาศดอกช่อมากกว่าดอกเดี่ยว เนื่องจากการดูแลรักษาง่ายกว่า เบญจมาศสามารถผลิตดอกที่มีคุณภาพได้ดีในช่วงฤดูการผลิตคือตั้งแต่เดือนกันยายน ถึงมีนาคม การผลิตนอกฤดูมักจะต้องปลูกบนที่สูง หากปลูกในที่ราบจะให้ผลผลิตที่มีคุณภาพต่ำ ผลผลิตไม่ต่อเนื่องและคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ส่งผลให้มีการนำเข้าเบญจมาศจากประเทศมาเลเซียในปริมาณมาก (Aung Htay N., 2014) เบญจมาศสามารถขยายพันธุ์ได้ง่ายโดยวิธีการตัดยอดมาปักชำหรือแยกหน่อมาปลูกลงดิน ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีที่ทำให้เกิดการแพร่

ระบาศของเชื้อต่างๆ ได้ เช่น เชื้อรา และแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังขยายพันธุ์ได้ในอัตราต่ำ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนับเป็นวิธีการที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมาก และปลอดภัย(พินุช จอมพุก, 2544) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องนำเอาความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วยเพื่อเพิ่มปริมาณและอนุรักษ์พันธุ์กรรม ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์พืชให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น สามารถขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากเพียงพอต่อความต้องการปลูก รวมทั้งเป็นการช่วยให้เกิดการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติของประเทศได้อีกทางหนึ่ง (คำณูณ กาญจนภูมิ, 2542) ดังนั้นในการศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดเบญจมาศสายพันธุ์เหลืองเกษตร เพื่อใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์กรรมของเบญจมาศต่อไป

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมวัสดุพืช

นำเมล็ดเบญจมาศสายพันธุ์เหลืองเกษตร มาล้างด้วยน้ำประปา ก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการจุ่มแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ต่อด้วยสารละลายคลอรีน 20% เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนนำเมล็ดเบญจมาศไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ต่อไป

2.2 การศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการงอกของเมล็ดเบญจมาศ

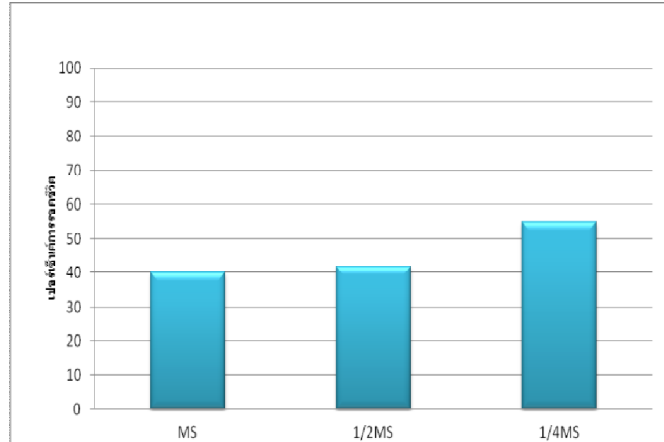
นำเมล็ดเบญจมาศสายพันธุ์เหลืองเกษตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร คือ MS, ½ MS และ ¼ MS อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 20 g/L และผงวุ้น 4 g หลังจากนั้นนำอาหารไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7 วางเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสง 3,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26 ± 4 °C โดยวางเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ บรรจุอาหารขวดละ 15 ml สังเกตและบันทึกเปอร์เซ็นต์การงอก การเจริญทางลำต้นในรูปของ ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ และความยาวรากเปรียบเทียบกับในแต่ละสูตรอาหารหลังจากหว่านเมล็ดเป็นเวลา 3 เดือน

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์(Completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ขวดๆ ละ 2 เมล็ด เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

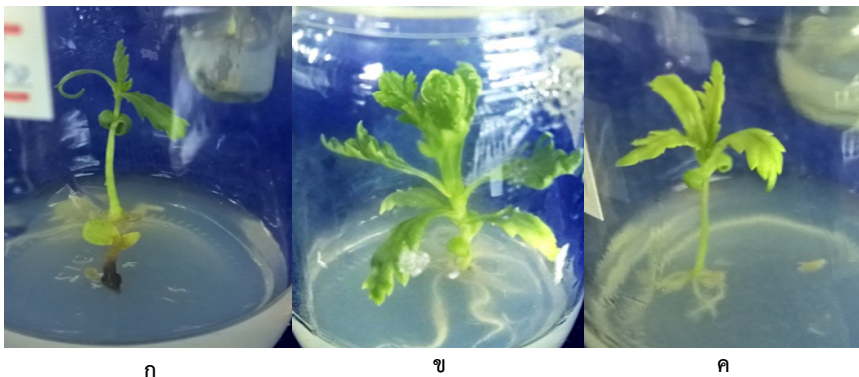
3. ผลการวิจัย

หลังเพาะเลี้ยงเมล็ดเบญจมาศสายพันธุ์เหลืองเกษตรบนอาหารสูตร MS, ½ MS และ ¼ MS เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า อาหารสูตร ¼ MS ให้อัตราการงอกสูงสุด 55.3 % รองลงมาคือ อาหารสูตร ½ MS และ MS ซึ่งให้อัตราการงอก 41.7 % และ 39.8 % ตามลำดับ ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเบญจมาศสายพันธุ์เหลืองเกษตรที่ได้จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

สำหรับการเจริญเติบโตของเบญจมาศพบว่า เมล็ดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS มีความยาวใบเฉลี่ยสูงสุด 1.29 ซม. รองลงมาคืออาหารสูตร MS มีความยาวใบเฉลี่ย 0.92 ซม. และอาหารสูตร 1/4 MS มีความยาวใบเฉลี่ย 0.88 ซม. ตามลำดับ ซึ่งแต่ละสูตรอาหารให้ผลการเจริญเติบโตของความยาวของใบที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเมล็ดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 5.76 ใบ รองลงมาคืออาหารสูตร 1/4 MS มีจำนวนใบเฉลี่ย 4.72 ใบ และอาหารสูตร MS มีจำนวนใบเฉลี่ย 3.97 ใบ ซึ่งแต่ละสูตรอาหารให้ผลการงอกของจำนวนใบที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4 MS ให้ความสูงของลำต้นเฉลี่ยสูงสุด 3.06 ซม. รองลงมาคืออาหารสูตร 1/2 MS ให้ความสูงของลำต้นเฉลี่ย 2.83 ซม. และอาหารสูตร MS ให้ความสูงของลำต้นเฉลี่ย 2.46 ซม. ซึ่งแต่ละสูตรอาหารให้ความสูงของลำต้นที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1 ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ต้นเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

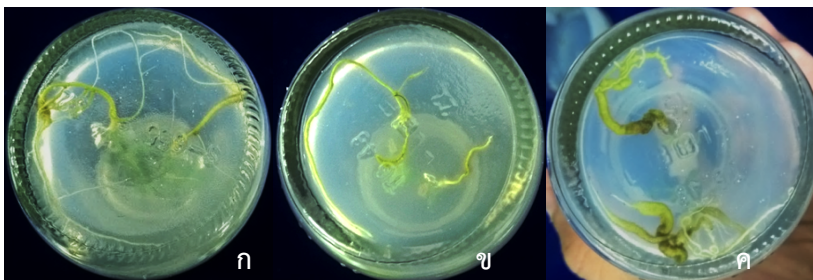
- ก. ต้นเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร MS
- ข. ต้นเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร 1/2 MS
- ค. ต้นเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร 1/4 MS

จากการสังเกตหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าอาหารแต่ละสูตรให้ผลการเจริญเติบโตของความยาวรากที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นอาหารสูตร MS มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.16 ซม. รองลงมาคืออาหารสูตร 1/2 MS มีความยาวรากเฉลี่ย 2.00 ซม. และอาหารสูตร 1/4 MS มีความยาวรากเฉลี่ย 1.93 ซม. ซึ่งแต่ละสูตรดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 3

ตารางที่ 1 ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของเมล็ดเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

| สูตรอาหาร | การงอก(%) | ความยาวใบ (ซม.ต่อ ชิ้นส่วน) | ความยาวราก (ซม.ต่อ ชิ้นส่วน) | จำนวนใบ (ใบต่อ ชิ้นส่วน) | ความสูงต้น (ซม.ต่อ ชิ้นส่วน) |
|-----------|-----------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| MS | 25.9 | 0.92 | 2.16 | 3.96 | 2.46 |
| 1/2 MS | 37.8 | 1.29 | 2.00 | 5.77 | 2.83 |
| 1/4 MS | 45.4 | 0.88 | 1.93 | 4.72 | 3.06 |
| F-test | | ns | ns | ns | ns |

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 3 ลักษณะของรากเบญจมาศที่พัฒนาจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

- ก. รากของเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS
- ข. รากของเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS
- ค. รากของเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/4 MS

4. วิจัยรณผล

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดเบญจมาศ ปัญหาที่มักพบคืออัตราการงอกต่ำ ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดเบญจมาศในอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง (1/2 MS) และ อาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงหนึ่งในสี่ (1/4 MS) ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 2 % และผงวุ้น 0.75 % ภายใต้สภาพให้แสง ที่ความเข้มแสง 3,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวดขวดละ 2 เมล็ด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน จากการทดลองนำเมล็ดเบญจมาศสายพันธุ์เหลืองเกษตรมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร

ได้แก่ อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962), อาหารสูตร MS พบว่าอาหารสูตร ¼ MS ให้อัตราการงอกสูงสุด 55.3 % รองลงมาคืออาหารสูตร ½ MS (41.7%) และอาหารสูตร MS (39.8%) จะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงเมื่อความเข้มข้นของอาหารเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีสารอาหารตัวใดตัวหนึ่งสูงเกินไป และทำให้เป็นพิษ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดเบญจมาศ ควรใช้อาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงหนึ่งในสี่ (¼ MS) ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 2 % และผงวุ้น 0.75 %

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการงอก และการเจริญของยอด พบว่า อาหารสูตร ¼ MS ให้อัตราการงอกสูงสุด 45.4 % และให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.06 ซม. ต่อขึ้นส่วน ส่วนอาหารสูตร ½ MS ให้ความยาวใบเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 1.29 ± 1.08 ซม. ต่อขึ้นส่วน และ 5.77 ใบต่อขึ้นส่วน เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ และการขยายขนาดของเซลล์ จึงทำให้มีอัตราการงอกของเมล็ดสูงสุด และความยาวยอดสูงสุด แต่ในอาหารสูตร ½ MS ที่มีความเข้มข้นของสารอาหารสูงกว่า ส่งผลให้เกิดการจำนวนใบสูงสุดและมีความยาวใบเฉลี่ยสูงสุด

ส่วนอาหารสูตร MS ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.16 ซม.ต่อขึ้นส่วน รองลงมาคือ อาหารสูตร ½ MS ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.00 ซม. ต่อขึ้นส่วน และอาหารสูตร ¼ MS ให้ความยาวรากเฉลี่ย 1.93 ซม.ต่อขึ้นส่วน อาจเป็นเพราะอาหารสูตร MS มีปริมาณความเข้มข้นของสารอาหารที่เหมาะสม และมีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งพลังงานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตให้เกิดการขยายเซลล์ เพิ่มความยาวของราก

5. สรุปผล

อาหารสูตร ¼ MS มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดเบญจมาศมากที่สุด เพราะทำให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด มีเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดสูงสุด และเมื่อนำยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดรากที่มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด อาหารทั้ง 2 สูตร จึงเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดเบญจมาศ

6. กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช (อพ.สธ.- มรภ. นครศรีธรรมราช)

7. เอกสารอ้างอิง

คำนูน กาญจนภูมิ. (2542) . การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พีรเดช ทองอำไพ. (2537). ฮอโมนพืชและสารสังเคราะห์: แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: หจก.ไดนามิกส์การพิมพ์.

- พีรนุช จอมพุก. (2544). การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในเบญจมาศด้วยรังสีแกมมา ร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรุงเทพมหานคร: สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วัลลภ พรหมทอง. (2541). ไม้ดอกยอดฮิต ตระกูลคอมโพสิต์. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มติชน.
- สุเม อรัญนารถ. (2533, กันยายน-ตุลาคม). เบญจมาศพันธุ์ใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *กสิกร*, 63(5), 420-425.
- Aung Htay N., Su Min J., Jeung-Sul H., Sun Hyung L., Ki Byung L. and Chang Kil K. (2014). **Factors influencing in vitro shoot regeneration from leaf segments of Chrysanthemum**. Daegu: Kyungpook National University.
- Ihsanul, H., Jehangir, A. and Khattak, M. S. (1998). **In vitro culture of Chrysanthemum**. *Sarhad J. Agri*, 14(3), 289-290.