ผลของอาหารจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช่ดินและอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลานไพลิน

Effects of Media from Hydroponics Solution and Culture Temperature on Tissue Culture of *Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob.

กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ [1,*]
Kittisak Chotikadachanarong [1,*]

[1] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50300
[1] Center of Excellence in Plant Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50300 Thailand
รับเรื่อง: ธันวาคม 2560 Received: December 2017
รับตีพิมพ์: พฤษภาคม 2561 Accepted: May 2018
* Corresponding author: Kittisak_cho@cmru.ac.th

ABSTRACT: This research had objective to study the effects of media from hydroponics solution and culture temperature on nodal culture of *Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob. The explants were sterilized with 10% Haiter (6% sodium hypochlorite, NaoCl) for 15 min. Sterilized explants were cultured on media from hydroponic solutions (Hydrowork for salad vegetables) with two stocks A and B at the concentration 0, 1, 2, 3, 4 and 5 ml/L associated with 30 g/L sugar, 7 g/L agar and pH was adjusted to 5.7 which were sterilized with 0.5 mL/L Haiter supplementation. They were incubated in 16 h photoperiod at 25 ± 2ºC compared with room temperature for 4 weeks. It was found that all treatments induced shoot production (1.69–1.92 shoots per explant) and then all plantlets were transplanted into the greenhouse for 2 weeks. It was showed 100% survival rate of plantlet.

Keywords: Hydroponics, liquid bleach, simply plant tissue culture medium, *Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob.

Agricultural Sci. J. (2018) Vol. 49(1): 88–95 ว. วิทย. กษ. (2561) 49(1): 88–95

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอาหารอย่างง่ายจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช่ดิน และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของลานไพลิน โดยนำชิ้นส่วนข้อของลานไพลินมาทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Haiter (6% sodium hypochlorite, NaOCl) ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 15 นาที แล้วเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ชื่อทางการค้า Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด Stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละเท่า ๆ กัน คือ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมน้ำตาลทราย 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 5.7 เติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร เติมน้ำยาฟอกผ้าขาว Haiter 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงสภาพให้แสงเป็นเวลา

16 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2°C เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชุดการทดลองสามารถชักให้เกิดยอดเฉลี่ย 1.69 ถึง 1.92 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และเมื่อทำการย้ายออกปลูกในสภาวะโรงเรือนเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อน 100%

คำสำคัญ: ไฮโดรโพนิคส์, น้ำยาฟอกผ้าขาว, อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย, ลานไพลิน

บทนำ

ลานไพลิน (*Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob.) หรือ ผักแบ้ว อยู่ในวงศ์ Scrophulariaceae มีถิ่นกำเนิดทางตอนเหนือของทวีปอเมริกา ปัจจุบันมีการกระจายพบได้ทั่วโลก มีลักษณะเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี สูงประมาณ 10 เซนติเมตร ลำต้นอวบน้ำชูตั้งขึ้น ใบ เป็นใบเดี่ยวออกตรงข้าม เรียงสลับกันรูปไข่หรือรูปรี กว้าง 0.8 – 1 เซนติเมตร ยาว 1 – 2 เซนติเมตร ดอก สีม่วงเป็นดอกเดี่ยวออกตามซอกใบหรือปลายยอด มีใบประดับรองรับ 2 ใบ ขนาดผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยง 5 กลีบ สีเขียว กลีบดอก 5 กลีบ แยกกันไม่เด่นชัด โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปถ้วย เกสรเพศผู้ 4 อัน ผล เป็นผลเดี่ยวแห้งแล้วแตก เจริญเติบโตได้ดีในน้ำขังหรือพื้นดินแฉะ ออกดอกช่วงเดือนพฤษภาคม-พฤศจิกายน นิยมปลูกเป็นไม้ประดับ หรือใช้ปลูกประดับในตู้ปลา และสวนน้ำ สามารถขยายพันธุ์ได้โดยการเพาะเมล็ด และการปักชำ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อขยายพันธุ์ต้นอ่อนให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น และต้นอ่อนที่ได้ยังมีลักษณะที่แข็งแรงปราศโรคอีกด้วย เช่นงานวิจัยของ Sengsoulichan (2015) ซึ่งได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่สอง และสามจากปลายยอดของลานไพลินบนอาหารวุ้นสูตร Murashige and Skoog (1962) ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ในสภาพมีแสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 60 วัน พบว่าชิ้นส่วนข้อที่สอง และข้อที่สามสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 1.50 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อเท่า ๆ กัน และเมื่อทำการย้ายต้นอ่อนออกปลูกในสภาพธรรมชาติเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า มีอัตราการรอดชีวิต 100%

อย่างไรก็ตาม อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS นั้นมีขั้นตอนในการเตรียมที่ซับซ้อน และมีต้นทุนสูงเนื่องจากประกอบด้วยสารเคมีถึง 19 ชนิด โดยเฉพาะแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักในสูตรอาหารเป็นสารที่มีกฎหมายควบคุม รวมถึงในการเตรียมอาหารต้องใช้เครื่องมือหลายชนิด เช่น เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง หม้อนึ่งความดันไอ และเครื่องกลั่นน้ำ เป็นต้น ดังนั้นหากมีการศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายซึ่งใช้สารเคมีและอุปกรณ์ที่หาซื้อได้ง่ายในท้องตลาดเพื่อทดแทนอาหารสูตร MS ตัวอย่างเช่น Kittisak (2015) ได้รายงานว่า อาหารวุ้นอย่างง่ายที่เตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินชื่อทางการค้า Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด ความเข้มข้น stock A และ B อย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 30 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ ม่วงเทพรัตน์ และหญ้าหวานมีการเจริญเติบโตสูงกว่าอาหารสูตร MS นอกจากนี้ Kittisak (2016) ยังรายงานอีกว่า อาหารวุ้นที่เตรียมจาก Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด stock A และ B ความเข้มข้นเท่ากันอย่างละ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เมื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารโดยการเติมน้ำยาฟอกผ้าขาว Haiter 0.1 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถใช้เพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศทดแทนอาหารสูตร MS ได้ อีกทั้งการเตรียมอาหารดังกล่าวยังสามารถเตรียมได้ง่าย และสามารถประยุกต์ใช้อุปกรณ์ที่มีราคาถูก สามารถหาซื้อได้ง่าย เช่น การใช้ช้อนตวงแทนเครื่องชั่งได้ โดยน้ำตาลทราย 30 กรัม เท่ากับ 2 ช้อนโต๊ะ และผงวุ้น 7 กรัม เท่ากับ 2 ช้อนชา และสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารโดยการเติม Haiter แทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอได้

นอกจากนี้ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2°C ตลอด 24 ชั่วโมงต่อวัน จำเป็นต้องใช้งบประมาณลงทุนสูง อีกทั้งยังเป็นการสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า และเพิ่มค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานอย่างมาก

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของลานไพลินบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายซึ่งเตรียมจากสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินความเข้มข้นต่าง ๆ และเพื่อเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของลานไพลินในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25°C กับการเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิห้องต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนข้อของลานไพลินในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการลดต้นทุนสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และการส่งเสริมให้เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่น ๆ ได้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่าย

เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Hydroponics) โดยเติมน้ำประปา 300 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร จากนั้นเติมสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ตรา Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด Stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละเท่า ๆ กันคือ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำประปาเป็น 1 ลิตร ปรับค่า pH เป็น 5.7 ด้วย 1 M NaOH หรือ 1 M HCl เติมผงวุ้น (ตรานางเงือก) 7 กรัมต่อลิตร นำไปต้มจนวุ้นละลาย รอให้อุณหภูมิของอาหารลดลงถึง 60°C จึงเติมน้ำยาฟอกผ้าขาว Haiter 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร (Kittisak, 2013) เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร เทใส่ขวดขนาด 4 ออนซ์ ซึ่งผ่านการล้างทำความสะอาดมาแล้ว ปิดฝา รอจนวุ้นแข็งตัวแล้วจึงนำไปใช้ในการทดลอง

การฟอกฆ่าเชื้อและการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของลานไพลิน

ตัดชิ้นส่วนข้อที่ 1 ถึง 3 จากปลายยอดของลานไพลินความยาวข้อละประมาณ 1.5 เซนติเมตร พร้อมทั้งตัดส่วนใบออก ล้างด้วยน้ำผสมน้ำยาล้างจานขัดบริเวณผิวด้วยแปรงสีฟันเบา ๆ ก่อนล้างด้วยน้ำประปาจนสะอาด จากนั้นทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยนำชิ้นส่วนพืชแช่ในสารละลาย Haiter (6% sodium hypochlorite, NaOCl) ความเข้มข้น 10% ผสมน้ำยาล้างจาน 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการนึ่งด้วยไอน้ำเดือดในลังถึงเป็นเวลา 45 นาที 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ทำการตัดแต่งชิ้นส่วนพืชโดยตัดบริเวณที่โดยน้ำยาฆ่าเชื้อกัดทำลายออกภายในตู้ปลอดเชื้อ แล้วเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมไว้จำนวน 6 สูตร นำไปเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2°C เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในห้องที่เปิดหน้าต่างและมีการถ่ายเทอากาศตลอดเวลา โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ยในระหว่างการทดลองคือเดือนกันยายน ถึงตุลาคม พ.ศ. 2559 เท่ากับ 29.9°C รวม 12 ชุด ๆ ละ 15 ซ้ำ การทดลองทั้งหมดให้แสงนาน 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึก อัตราการปนเปื้อน จำนวนยอด ความสูงของยอด จำนวนใบและจำนวนราก

การศึกษาอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนภายหลังการย้ายออกปลูกในโรงเรือน

นำต้นอ่อนทั้งหมดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงทุกชุดการทดลอง มาล้างเอาวุ้นออกจากรากจนหมด แล้วนำไปปลูกในแก้วพลาสติกขนาด 6 ออนซ์ เติมน้ำประปา 50 มิลลิลิตร แก้วละ 1 ต้น นำไปปลูกในโรงเรือนที่พรางแสง 50% เป็นเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิตภายหลังการย้ายออกปลูก

การวิเคราะห์ผล

การทดลองทั้งหมด 12 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 15 ซ้ำ ด้วยแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomization design) โดยอัตราการปนเปื้อน และอัตราการรอดชีวิตภายหลังการย้ายออกปลูกแสดงผลเป็นร้อยละ สำหรับจำนวนยอด ความสูงของยอด จำนวนใบ และจำนวนราก แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวจากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของลานไพลินบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายที่เตรียมจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (สูตร Hydroponics) Stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละเท่า ๆ กันคือ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร รวม 6 สูตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 2 อุณหภูมิ คือ 25 ± 2°C เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิห้องซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.9°C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนพืชเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุด (33.33%) เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Hydroponics 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25°C และ อาหารสูตร Hydroponics 0 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ในขณะที่อาหารสูตร Hydroponics 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25°C ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เลย (Table 1) โดยลักษณะการปนเปื้อนทั้งหมดจะเกิดจากเชื้อราซึ่งจะเริ่มเจริญออกมาจากบริเวณโคนของชิ้นส่วนพืช สำหรับการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนข้อนั้น พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Hydroponics 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.35 ± 0.90 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่ายอดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Hydroponics 0 และ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25°C และอาหารสูตร Hydroponics 0 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า อาหารสูตร Hydroponics 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ยังชักนำให้เกิดจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 6.31 ± 3.32 ใบต่อยอด ซึ่งมากกว่ายอดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Hydroponics 0, 1 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25°C และอาหารสูตร Hydroponics 0, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับการชักนำให้เกิดรากซึ่งพบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Hydroponics 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยจำนวนมากที่สุดคือ 7.46 ± 2.93 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งมีจำนวนรากมากกว่าทุกชุดการทดลอง ยกเว้นการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Hydroponics 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการเกิดยอดนั้นพบว่าทุกชุดการทดลองมีจำนวนยอดไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยตั้งแต่ 1.69 ถึง 1.92 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (Table 1 และ Figure 1) นอกจากนี้เมื่อนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงทุกชุดการทดลองมาล้างเอาวุ้นออกจนหมด แล้วนำไปปลูกในแก้วพลาสติกขนาด 6 ออนซ์ เติมน้ำประปา 50 มิลลิลิตร แก้วละ 1 ต้น นำไปปลูกในโรงเรือนที่พรางแสง 50% เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนจากทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอดชีวิตภายหลังการย้ายออกปลูก 100% และต้นอ่อนมีลักษณะแข็งแรง (Figure 2) แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงได้จากทุกชุดการทดลองสามารถรอดชีวิตได้ 100% ดังนั้นจึงสามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลานไพลินทดแทนอาหารสูตร MS ได้ทั้งหมด

ผลจากการทดลองพบว่า ทุกชุดการทดลองมีจำนวนยอดไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยตั้งแต่ 1.69 ถึง 1.92 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อนั้น สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ

Sengsoulichan (2015) ซึ่งได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่สอง และสามจากปลายยอดของลานไพลินบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 60 วัน พบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวน 1.50 ± 0.16 และ 1.50 ± 0.16 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ดังนั้นอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินทุกความเข้มข้นมีสามารถชักนำให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงลานไพรินได้เช่นเดียวกับอาหารวุ้นสูตร MS

นอกจากนี้ยังพบว่า อาหารสูตร Hydroponics ความเข้มข้น 1 ถึง 5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อของลานไพลินมีการเจริญเติบโตในด้านอื่นๆ ได้มากกว่าอาหารสูตร Hydroponics 0 มิลลิลิตรต่อลิตร เนื่องจากอาหารสูตรดังกล่าวมีเพียงน้ำตาลทราย แต่ไม่มีธาตุอาหารชนิดอื่น ๆ ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Kittisak (2015) ที่รายงานว่า อาหารสูตร Hydroponics 5 มิลลิลิตรต่อลิตร นั้นให้การเจริญเติบโตของม่วงเทพรัตน์ และหญ้าหวานได้มากกว่าอาหารสูตร Hydroponics 0 มิลลิลิตรต่อลิตร เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า อาหารสูตร Hydroponics 5 มิลลิลิตรต่อลิตรยังให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์ และหญ้าหวานได้ดีกว่าอาหารวุ้นสูตร MS ในขณะที่ Kittisak (2016) รายงานว่า อาหารวุ้นที่เตรียมจากอาหารสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน stock A และ B ความเข้มข้นเท่ากันอย่างละ 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อว่าสี่ทิศได้ไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS เช่นกัน

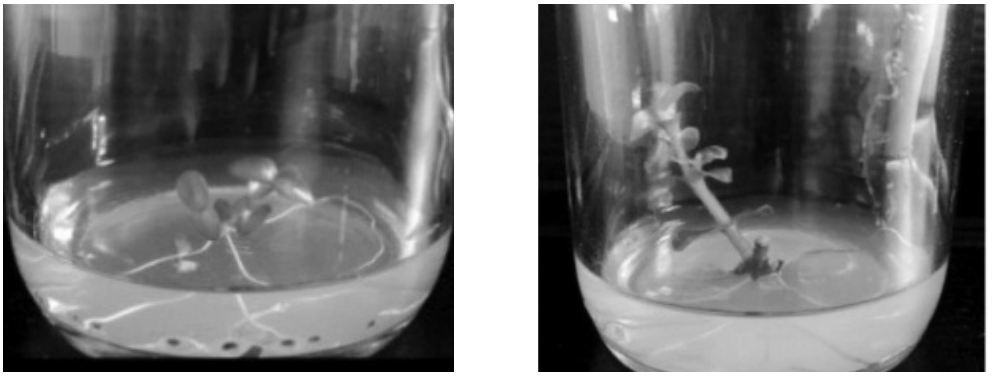
ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นอีกว่า เนื้อเยื่อของลานไพลินนั้นสามารถเจริญเป็นยอดได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต แตกต่างจากงานวิจัยของ Kaur (2013) ซึ่งรายงานว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของพรมมิ (*Bacopa monnieri*) ซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกับลานไพลินบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เนื้อเยื่อไม่สามารถเจริญเป็นยอดได้ และ Kapil and Sonia (2014) รายงานว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อพรมมิบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตได้แก่ Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Indoleacetic acid ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ถึง 16 ยอด เช่นเดียวกับ Sengsoulichan (2015) ซึ่งรายงานว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของลานไพลินบนอาหารวุ้นสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 60 วัน พบว่า อาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นได้สูงสุด 20.20 ± 1.44 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ดังนั้นหากมีการศึกษาผลอาหารวุ้นที่เตรียมจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช่ดินร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตจึงน่าจะสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นได้เช่นเดียวกัน

สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลานไพลินทั้งในอุณหภูมิ 25 ± 2°C และที่อุณหภูมิห้องนั้นมีการเจริญเติบโตของต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีรายงานว่าพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อหลายชนิดสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงในช่วงกลางวันได้ถึง 30 °C และต่ำสุดในช่วงกลางคืนได้ถึง 10 °C โดยไม่ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง (Ahloowalia and Savangikar, 2002) ในทางตรงกันข้าม Kodym *et al*. (2001) รายงานว่า กล้วย และมันฝรั่งซึ่งเพาะเลี้ยงโดยใช้แสงธรรมชาติในอุณหภูมิช่วง 16–41°C มีการเจริญเติบโตสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิจึงเป็นที่หนึ่งทางเลือกสำหรับการประหยัดต้นทุนในการติดตั้งเครื่องปรับอากาศ และลดการใช้พลังงานไฟฟ้าได้

Table 1 Effects of different media and culture temperatures on contamination percentage, growth and development of *Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob. Nodal explants after culture for 4 weeks

Treatment		Contamination (%)	Shoot Length (cm) (mean ± SD)	Shoot number (shoot/ explant) (mean ± SD)	Leaf number (Leaf/shoot) (mean ± SD)	Root number (root/explant) (mean ± SD)
Media	T (C°)					
Hydroponics 0 mL/L	25°C	26.66	0.44 ± 0.18^{c}	1.72 ± 0.46	2.78 ± 1.13^{d}	2.54 ± 0.68^{f}
Hydroponics 1 mL/L	25°C	6.66	0.74 ± 0.48^{bc}	1.80 ± 0.56	4.08 ± 2.23^{bcd}	4.00 ± 1.10^{def}
Hydroponics 2 mL/L	25°C	33.33	1.08 ± 0.38^{ab}	1.80 ± 0.63	5.00 ± 1.60^{ab}	5.30 ± 2.16^{bcd}
Hydroponics 3 mL/L	25°C	00.00	1.00 ± 0.58^{ab}	1.93 ± 0.45	4.72 ± 2.34^{abc}	4.40 ± 1.40^{cde}
Hydroponics 4 mL/L	25°C	6.66	1.04 ± 0.61^{ab}	1.92 ± 0.26	5.14 ± 2.55^{ab}	5.21 ± 1.71^{bcd}
Hydroponics 5 mL/L	25°C	26.66	0.92 ± 0.55^{b}	1.81 ± 0.40	5.10 ± 2.73^{ab}	5.00 ± 1.73^{bcd}
Hydroponics 0 mL/L	29.9°C	33.33	0.48 ± 0.29^{c}	1.80 ± 0.63	3.11 ± 1.71^{cd}	3.10 ± 1.28^{ef}
Hydroponics 1 mL/L	29.9°C	20.00	1.02 ± 0.74^{ab}	1.61 ± 0.50	5.42 ± 2.97^{ab}	6.38 ± 2.06^{ab}
Hydroponics 2 mL/L	29.9°C	20.00	1.15 ± 1.04^{ab}	1.91 ± 0.51	5.00 ± 3.14^{ab}	5.91 ± 2.42^{bc}
Hydroponics 3 mL/L	29.9°C	13.33	1.35 ± 0.90^{a}	1.69 ± 0.63	6.31 ± 3.32^{a}	7.46 ± 2.93^{a}
Hydroponics 4 mL/L	29.9°C	26.66	0.78 ± 0.49^{bc}	1.81 ± 0.40	4.55 ± 2.83^{abc}	4.90 ± 1.37^{bcd}
Hydroponics 5 mL/L	29.9°C	13.33	0.74 ± 0.61^{bc}	1.92 ± 0.27	4.40 ± 2.82^{bcd}	5.00 ± 1.15^{bcd}
F–test			**	ns	**	**

ns = not Significant different, ** Significant different at $P < 0.05$
Value followed by different letter are significantly different according to DMRT at $P < 0.05$ level.



(A) (B)

Figure 1 Development of *Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob. nodal explants after culturing on Hydroponics 0 mL/L in room T (C°) (A) and Hydroponics 3 mL/L in room T (C°) for 4 weeks (B)

Figure 2 *Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob. plantlet after transplanting into greenhouse for 2 weeks

สรุป

ชิ้นส่วนข้อของลานไพลินที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อสามารถเพาะเลี้ยงได้บนอาหารวุ้นที่เตรียมจากสารละลายสำหรับปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ชื่อทางการค้า Hydrowork สูตรสำหรับผักสลัด Stock A และ B ความเข้มข้นอย่างละเท่า ๆ กันคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 30 กรัมต่อลิตร ปรับค่า pH เป็น 5.7 เติมผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร นำไปต้มจนวุ้นละลาย แล้วรอให้อุณหภูมิของอาหารลดลงถึง 60°C จึงเติมน้ำยาฟอกผ้าขาว Haiter 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร จากนั้นนำไปเลี้ยงในสภาวะให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ โดยการเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2°C ให้การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อลานไพลินไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงในห้องไม่ควบคุมอุณหภูมิ วิธีการดังกล่าวจึงเป็นทางเลือกในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างง่ายด้วยอุปกรณ์ และสารเคมีที่สามารถหาซื้อได้ง่ายในท้องตลาด และเป็นแนวทางในการส่งเสริมให้เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่น ๆ ได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ งบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 นอกจากนี้ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ที่สนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Ahloowalia, B.S. and V.A. Savangikar. 2002. Low cost options for tissue culture technology in developing countries. p. 41–43. *In* Proc. Technical Meeting Organized by The Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held, Vienna, Austria.

Kapil, S.S. and V. Sharma. 2014. *In vitro* propagation of *Bacopa Monneri*: an important medicinal plant. Int. J. Curr. Biotechnol. 2(1): 7–10.

Kaur, J., K. Nautiyal and M. Pant. 2013. *In vitro* propagation of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst A medicinally priced herb. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci 2(8): 131–138.

Kittisak, C. 2013. Influence of commercial bleach on sterilization of Persian Violet (*Exacum affine* Balf. f. ex Regel) tissue culture media. Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci. 14(2): 35–44. (in Thai)

Kittisak, C. 2015. Simple media from hydroponics nutrient solution for tissue cultures of *Exacum affine* Balf. f. ex Regel and *Stevia rebaudiana* Bertoni. NU J. Sci Tech. 23(1): 74–81. (in Thai)

Kittisak, C. 2016. Utilization of hydroponics nutrient solution to replace nutrient in *Hippeastrum johnsonii* tissue culture media. KKU Sci. J. 44(1): 103–110. (in Thai)

Kodym, A., S. Hollenthoner and F.A. Zapata-Arias. 2001. Cost reduction in the micropropagation of banana by using tubular skylights as source for natural lighting. *In vitro* Cell. Dev. Biol. 37(2): 237–242.

Murashige T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiol. Plantarum 15: 473–497.

Sengsoulichan, D. 2015. Effects of Plant Growth Regulators on Shoot And Root Induction From Different Explants of *Bacopa caroliniana* (Walt.) Rob. *in vitro.* MS Thesis, Burapha University, Chonburi, Thailand. (in Thai)