ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และไซโทไคนินต่อการรอดชีวิตและการพัฒนาของยอดกุหลาบมอญในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Sodium Hypochlorite and Cytokinin Concentrations on Survival and Shoot Development of *In Vitro* Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.)

ธนภูมิ ศิริงาม[1*] และ วาสินี พงษ์ประยูร[2]

Thanapoom Siringam[1*] and Wasinee Pongprayoon[2]

Received: 21 September 2020, Revised: 15 January 2021, Accepted: 5 February 2021

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมจัดเป็นปัญหาสำคัญในการขยายพันธุ์กุหลาบมอญที่ปลูกในสภาพแปลงกลางแจ้ง ซึ่งส่งผลโดยตรงต่ออัตราการรอดชีวิต ปริมาณ และคุณภาพของกุหลาบมอญ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และไซโทไคนินต่อการขยายพันธุ์กุหลาบมอญภายใต้สภาพปลอดเชื้อ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) จำนวน 5 ซ้ำ จากการศึกษาพบว่า ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบมอญที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS, 1962) เป็นเวลา 28 วัน มีการปนเปื้อนมากที่สุด คือ 40.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ ในทางตรงกันข้าม ชิ้นส่วนข้อที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีการรอดชีวิตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อมากที่สุด คือ 76.67±1.67 เปอร์เซ็นต์ และ 53.33±3.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดและจำนวนใบมากที่สุด คือ 2.67±0.17 ยอด และ 35.00±0.50 ใบ ตามลำดับ ส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP

---

[1] สาขาวิชาการจัดการเทคโนโลยีการเกษตรสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร 10220

[1] Modern Agricultural Technology Management Program, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University, Anusawaree, Bangkhen, Bangkok 10220, Thailand.

[2] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

[2] Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Saensook, Muang, Chonburi 20131, Thailand.

[*] ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): thanapoom@pnru.ac.th Tel: 08 0795 1451

มีความยาวยอด จำนวนราก และความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 2.05±0.15 เซนติเมตร 2.17±1.01 ราก และ 2.13±0.82 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, การขยายพันธุ์พืช, สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช, กุหลาบ

ABSTRACT

In the present, environmental variation is an important problem for propagation of damask rose grown under field condition which affects survival, quantity and quality of damask rose. Therefore, the objective of this study was to investigate the effect of sodium hypochlorite and cytokinin concentrations on micropropagation of *in vitro* Damask rose. The experimental design was completely randomized design with 5 replications. The results showed that the highest contamination of 40.00±0.00% was obtained after single node explants of damask roses were sterilized by 5% and 10% (v/v) sodium hypochlorite and cultured on the Murashige and Skoog (1962) for 28 days. In contrast, the highest survival and development of 76.67±1.67% and 53.33±3.33%, respectively occurred when single node explants were sterilized by 15% (v/v) sodium hypochlorite. The greatest of shoot number (2.67±0.17) and leaf number (35.00±0.50) were found on MS medium supplemented with 2.00 mg L^{-1} BAP. In addition, the highest shoot length (2.05±0.15 cm), root number (2.17±1.01) and root length (2.13±0.82 cm) were achieved when shoot explants were cultured on the MS medium without BAP for 42 days.

Key words: plant tissue culture, plant propagation, plant growth regulators, rose

บทนำ

กุหลาบมอญ (*Rosa damascena* Mill.) อยู่ในวงศ์ Rosaceae เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย โดยพืชในวงศ์ Rosaceae มีมากกว่า 200 ชนิด และมากกว่า 18,000 สายพันธุ์ กุหลาบมอญจัดเป็นพืชดอกที่นิยมปลูกมากที่สุดชนิดหนึ่งในโลก เนื่องจากกุหลาบเป็นพืชดอกที่มีความสวยงามและมีมูลค่าทางการตลาดสูง (Hameed *et al.*, 2006) โดยนิยมนำมาปลูกเพื่อใช้ในการประดับตกแต่งสถานที่ให้มีความสวยงาม รวมทั้งใช้ประโยชน์ในทางพาณิชย์ทั้งในรูปแบบของไม้ตัดดอก นอกจากนี้กุหลาบมอญยังมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมความงามโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์เวชสำอางต่างๆ และอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ น้ำหอม สารแต่งกลิ่น (Zeinali *et al.*, 2009; Bruneau *et al.*, 2007) เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกลีบดอกของกุหลาบมอญประกอบด้วย น้ำมัน คิดเป็น 0.12 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และสารประกอบที่สามารถจำแนกลักษณะของสารได้ จำนวน 50 ชนิด คิดเป็น 99.06 เปอร์เซ็นต์ (Naquvi *et al.*, 2014) รวมทั้งยังมีสรรพคุณในทางเภสัชวิทยาเนื่องจากอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับสูงที่ช่วยในการต่อต้านมะเร็ง (Ren *et al.*, 2003) ต่อต้านริ้วรอย (Jafari *et al.*, 2008) ยาระบาย (Abbaszadeh *et a*l., 2010) ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Gholamhoseinian *et al.*, 2010; Gholamhoseinian *et al.*, 2012) ยาต้านเบาหวาน

(Gholamhoseinian *et al*., 2009) ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Basim and Basim, 2003) และต่อต้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Aridogan *et al*., 2002)

ในปัจจุบันการปลูกและการขยายพันธุ์กุหลาบมอญนิยมใช้วิธีการติดตาและทาบกิ่ง ซึ่งเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชที่ต้องอาศัยความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน รวมทั้งความสามารถในการเข้ากันได้ระหว่างต้นตอและ กิ่งพันธุ์ รวมถึงความสามารถในการออกรากที่มีผลต่อความสำเร็จในการขยายพันธุ์กุหลาบมอญ (Horn *et al*., 1992) ในปัจจุบันการปลูกกุหลาบมอญส่วนใหญ่ปลูกในสภาพแปลงกลางแจ้ง มักประสบปัญหาความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมที่ส่งผลโดยตรงต่อการรอดชีวิต ปริมาณ และคุณภาพของกุหลาบ (Pati *et al*., 2006) ดังนั้นจึงควรศึกษาหาแนวทางการขยายพันธุ์กุหลาบมอญเพื่อให้ได้ต้นกุหลาบมอญที่มีความสมบูรณ์และตรงตามพันธุ์ ในปัจจุบันมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ในการขยายพันธุ์กุหลาบแต่ละชนิดมากขึ้น (Khosravi *et al*., 2007) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจัดเป็นเทคโนโลยีการผลิตพืชที่มีการนำองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมปัจจัยพื้นฐานที่จำเป็นต่อการเจริญและพัฒนาของพืช ได้แก่ ธาตุอาหาร แหล่งคาร์บอน สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ค่าความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ ความชื้น แสง เป็นต้น ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการขยายพันธุ์พืช การพัฒนาพันธุ์พืช การผลิตสารทุติยภูมิจากพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ประโยชน์ในด้านการขยายพันธุ์พืชที่มีความแข็งแรงและปราศจากเชื้อสาเหตุของโรคพืช (Razavizadeh and Ehsanpour, 2008)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจัดเป็นวิธีการที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้ภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว อย่างไรก็ตามขั้นตอนที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การทำให้เนื้อเยื่อพืชสะอาดปราศจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ของสารฟอกกำจัดเชื้อที่มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ โดย Pumisutapon *et al.* (2018) พบว่า ชิ้นส่วนยอดของพืชสกุลกนกนารีที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 5 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำที่สุด และ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด ในขณะที่ชิ้นส่วนตายอดของต้นบูเซปที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 20 นาที และสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนและการตายน้อยที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (Laohavisuti *et al*., 2018) ส่วนเนื้อเยื่อปลายยอดของกล้วยหินที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด (Tudses *et al*., 2019) นอกจากนี้ยังมีรายงานที่แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารฟอกกำจัดเชื้อมีความสัมพันธ์ต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด เช่น ไพล (Khamrit and Preeman, 2019) ไวท์อนูเบียส (Srisawang *et al*., 2019) สตรอเบอรี (Topoonyanont *et al*., 2019) ส้มซ่า (Somsong, 2013) และ กาบหอยแครง (Jala and Paitoon, 2013) ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาความเข้มข้นของสารฟอกกำจัดเชื้อที่เหมาะสมต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านการขยายพันธุ์พืชนิยมนำสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมาเป็นองค์ประกอบในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินที่มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มจำนวนยอดและจำนวนต้น โดย

Gogoi *et al.* (2017) รายงานว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของมัลเบอร์รี่พันธุ์ K-2 บนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS, 1962) ที่เติม kinetin (Kn) ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดและความยาวยอดใหม่ได้ ในขณะที่ Baig *et al.* (2011) พบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดของยี่สุ่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 6-Benzylaminopurine; (BAP) ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอด ความยาวยอด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด นอกจากนี้ยังมีรายงานการนำสารควบคุมการเจริญเติบโต กลุ่มไซโทไคนินมาใช้ประโยชน์ในการเพิ่มปริมาณพืชหลายชนิด เช่น พรมมิ (Kachonpadungkitti and Jala, 2014) มัลเบอร์รี่ (Chumpookam *et al.*, 2017) ดาหลา (Prasertsongskun, 2016) กุหลาบ (Nak-Udom *et al.*, 2009) แก้วมังกร (Kachonpadungkitti and Jala, 2016) ว่านค้างคาวดำ (Sukkeaw *et al.*, 2016) กะเพราแดง (Autaijamsripon *et al.*, 2019) และ องุ่น (Kaewpiboon and Boonnak, 2019) อย่างไรก็ตามการศึกษาการขยายพันธุ์กุหลาบมอญภายใต้สภาพปลอดเชื้อยังคงมีรายงานไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารฟอกกำจัดเชื้อและสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโทไคนินต่อการรอดชีวิตและการพัฒนาของยอดกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ต่อการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อกุหลาบมอญ

นำชิ้นส่วนข้อของกุหลาบมอญ ความยาว 3.00±0.50 เซนติเมตร มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำความสะอาดบริเวณพื้นผิวโดยแช่ในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนข้อมาฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Haiter®) ที่มีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เติมสารลดแรงตึงผิว (Sunlight®) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปเขย่าภายในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งกำจัดเชื้อแล้ว จำนวน 3-5 ครั้ง จนกระทั่งไม่มีฟองของสารกำจัดเชื้อ

หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนข้อมาตัดแต่งให้มีความยาว 1.00±0.50 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Gellan Gum (Kelcogel® CP Kelco A HUBER COMPANY, USA) จำนวน 0.30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 5.60±0.20 หลังจากนั้นนำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ (TLD 36 W/84 Cool White 3350 lm, Philips, Thailand) ความเข้มแสง 60±5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน ทำการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อน การรอดชีวิต และการพัฒนาของชิ้นส่วนข้อกุหลาบมอญ โดยมีวิธีการบันทึกข้อมูล ดังนี้

1) การปนเปื้อน (เปอร์เซ็นต์) สามารถคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

$$\text{การปนเปื้อน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนข้อที่ปนเปื้อน}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยง}} \times 100$$

2) การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์) สามารถคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

$$\text{การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนข้อที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยง}} \times 100$$

3) การพัฒนาของชิ้นส่วนข้อ (เปอร์เซ็นต์) สามารถคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

$$\text{การพัฒนาของชิ้นส่วนข้อ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนข้อที่มีการพัฒนา}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยง}} \times 100$$

2. ผลของความเข้มข้นของ BAP ต่อการพัฒนาของยอดกุหลาบมอญ

นำยอดของกุหลาบมอญที่มีอายุ 28 วันหลังฟอกกำจัดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP (Merck, Germany) ความเข้มข้น 0.00 0.50 1.00 2.00 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Gellan Gum (Kelcogel® CP Kelco A HUBER COMPANY, USA) จำนวน 0.30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 5.60±0.20 หลังจากนั้นนำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ (TLD 36 W/84 Cool White 3350 Im, Philips, Thailand) ความเข้มแสง 60±5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน ทำการบันทึกข้อมูลจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ จำนวนราก และ ความยาวราก

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) จำนวน 5 ซ้ำ นำข้อมูลการปนเปื้อน การรอดชีวิต และการพัฒนาของเนื้อเยื่อกุหลาบมอญมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมประยุกต์ทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองโดยวิธี Tukey's ที่ระดับนัยสำคัญ $p \leq 0.05$

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ต่อการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อกุหลาบมอญ

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่แตกต่างกัน 4 ระดับ มีผลต่อการปนเปื้อน การรอดชีวิต และการพัฒนาของชิ้นส่วนข้อกุหลาบมอญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) โดยการปนเปื้อนของชิ้นส่วนข้อเกิดขึ้นมากที่สุด เท่ากับ 40.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนข้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ในขณะที่การฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด เท่ากับ 23.33±1.67 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (Table 1)

ชิ้นส่วนข้อที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีการรอดชีวิตมากที่สุด เท่ากับ 76.67±1.67 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

มีการรอดชีวิตน้อยที่สุด เท่ากับ 60.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

การพัฒนาของชิ้นส่วนข้อไปเป็นยอดเกิดขึ้นมากที่สุด เท่ากับ 53.33±6.67 เปอร์เซ็นต์ และ 53.33±3.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 และ 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ในขณะที่การฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีการพัฒนาของชิ้นส่วนข้อไปเป็นยอดน้อยที่สุด เท่ากับ 26.67±6.67 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

Table 1 Contamination (%), survival (%) and development (%) of single node explants of damask rose sterilized with sodium hypochlorite at 5, 10, 15 and 20 % (v/v) after culturing on MS medium for 28 days

Sodium Hypochlorite (%) (v/v)	Contamination (%)	Survival (%)	Development (%)
5	40.00±0.00 a	60.00±0.00 b[1/]	53.33±6.67 a
10	40.00±0.00 a	60.00±0.00 b	46.67±6.67 a
15	23.33±1.67 b	76.67±1.67 a	53.33±3.33 a
20	26.67±6.67 b	73.33±6.67 a	26.67±6.67 b
ANOVA	*	*	*

* Statistical significant different at $p \leq 0.05$

[1/]Means ± S.E. within column with the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ by Tukey's

ANOVA, Analysis of variance

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนข้อของกุหลาบมอญ เนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์มีสารประกอบประเภทเกลือที่มีคุณสมบัติเป็นสารฟอกขาวเป็นองค์ประกอบ นิยมนำมาใช้ประโยชน์ในการทำความสะอาดเนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ ในการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ส่งผลต่อความสำเร็จในการฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนข้อกุหลาบมอญ ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากการรอดชีวิตและการพัฒนาของชิ้นส่วนข้อกุหลาบมอญ (Table 1) โดยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีผลทำให้ชิ้นส่วนข้อของกุหลาบมอญมีการรอดชีวิตน้อยที่สุดและมีการปนเปื้อนมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์อาจมีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อต่ำ ทำให้กำจัดเชื้อบนชิ้นส่วนข้อของกุหลาบมอญได้น้อย จึงมีผลทำให้มีการปนเปื้อนมากที่สุดและมีการรอดชีวิตน้อยที่สุด โดย Laohavisuti *et al.* (2018) ที่รายงานว่า ชิ้นส่วนตายอดของต้นบูเซปที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร นาน 20 นาที และสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร นาน 10 นาที มีการรอดชีวิต

มากที่สุด เท่ากับ 90.00±6.88 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนตายอดของต้นบูเซปที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และสารละลาย เมอร์คิวริกคลอไรด์ในระดับความเข้มข้นอื่น

ส่วนสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แม้ว่าจะมีอัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อกุหลาบมอญไม่แตกต่างทางสถิติกับสารละลายสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อกุหลาบมอญน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Khamrit and Preeman (2019) ที่พบว่า สารฟอกกำจัดเชื้อที่ระดับความเข้มข้นสูงอาจเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อของพืชและส่งผลทำให้เนื้อเยื่อพืชมีการพัฒนาน้อยและตายในที่สุด นอกจากนี้ชนิดของชิ้นส่วนพืช จำนวนครั้งและระยะเวลาในการฟอกกำจัดเชื้อล้วนส่งผลต่อการปนเปื้อนและการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืช โดย Topoonyanont *et al.* (2019) รายงานว่า การฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนไหลของสตรอเบอรีพันธุ์พระราชทาน 80 ในระยะปลายยอดตูมด้วยสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด แต่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อนำชิ้นส่วนไหลในระยะใบขนาดกลางและระยะใบแผ่เต็มที่มาฟอกกำจัดเชื้อ ในขณะที่ชิ้นส่วนไหลของสตรอเบอรีพันธุ์ 329 ในระยะปลายยอดตูม ระยะใบขนาดกลางและระยะใบแผ่เต็มที่ที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ใกล้เคียงกันในขณะที่ส้มซ่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุดเมื่อฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1.00-1.50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (Somsong, 2013)

2. ผลของความเข้มข้นของ BAP ต่อการพัฒนาของยอดกุหลาบมอญ

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของ BAP ที่แตกต่างกัน 5 ระดับ มีผลต่อจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ จำนวนราก และความยาวรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) โดยมีจำนวนยอดมากที่สุด เท่ากับ 2.67±0.44 และ 2.67±0.17 ยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.00 และ 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับจำนวนยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนยอด 2.00±0.00 ยอด จำนวนยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP และ เติม BAP ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดน้อยที่สุด เท่ากับ 1.00±0.00 และ 1.00±0.00 ยอด ตามลำดับ (Table 2)

ยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความยาวยอดมากที่สุด เท่ากับ 2.05±0.15 เซนติเมตร ในขณะที่ยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.00 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดน้อยที่สุด เท่ากับ 0.72±0.03 และ 0.72±0.02 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับความยาวของยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวยอด เท่ากับ 0.77±0.04 เซนติเมตร (Table 2 and Figure 1)

ยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด เท่ากับ 35.00±0.50 ใบ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับค่าดังกล่าวของยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนใบ เท่ากับ 33.67±0.44 ใบ (Table 2) ในขณะที่ยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีจำนวนใบน้อยที่สุด เท่ากับ 22.17±2.59 ใบ

แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับจำนวนใบของยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนใบเท่ากับ 26.00±0.29 และ 22.67±0.73 ใบ ตามลำดับ ในขณะที่ยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีการพัฒนาของราก โดยมีจำนวนรากและความยาวราก เท่ากับ 2.17±1.01 ราก และ 2.13±0.82 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.50 1.00 2.00 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีการพัฒนาของราก (Table 2 and Figure 2)

BAP เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินที่มีผลในการควบคุมการขยายขนาดและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์พืชที่มีความสำคัญต่อการกระตุ้นการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อส่วนตาของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มปริมาณยอดใหม่ ดังเช่นผลการทดลองที่แสดงให้เห็นว่ายอดกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดและจำนวนใบมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Hameed *et al.* (2006) ที่พบว่า ยอดกุหลาบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่มากที่สุด ในขณะที่ยอดกุหลาบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุด ส่วน Sharma *et al.* (2014) รายงานว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.50 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดใหม่จากข้อของกะเพราได้ อย่างไรก็ตามการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโทไคนินควรต้องคำนึงถึงชนิด ความเข้มข้น และชนิดของชิ้นส่วนพืช ดังเช่นงานทดลองของ Palee (2016) ที่พบว่า การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของลิงลาว (*Tupistra albiflora* K. Larsen) บนอาหารสูตร MS ที่เติม 6-Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและรากสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่ Chumpookam *et al.* (2017) รายงานว่า การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 บนอาหารสูตร MS ที่เติม Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.00-3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีการตอบสนองของแผ่นใบอ่อนที่ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 4.00 และ 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่ายอดกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.00-3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดลดลงอย่างเด่นชัด รวมทั้งยังไม่พบการพัฒนาของรากทั้งในด้านจำนวนรากและความยาวราก ในทางตรงกันข้ามยอดกุหลาบมอญที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความสูง จำนวนราก และความยาวรากมากที่สุด (Table 2) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการชักนำยอดโดยใช้สารควบคุม การเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินที่มีความเข้มข้นสูงเป็นเวลานานทำให้เกิดการสะสมไซโทไคนินภายในเนื้อเยื่อพืชมีผลทำให้สัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินในเนื้อเยื่อพืชมีปริมาณมากกว่ากลุ่มออกซิน ทำให้เกิดภาวะไม่สมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตภายในพืช ส่งผลทำให้ยอดที่ถูกชักนำจากการได้รับ BAP ความเข้มข้นสูงไม่สามารถออกรากได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chanprame *et al.* (2018) ที่พบว่าชิ้นส่วนข้อของสักที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 6.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดใหม่เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 7.10 ยอดต่อข้อ ส่วนอาหารที่ไม่เติม BA เกิดยอดใหม่เฉลี่ย เท่ากับ 2.00 ยอด อย่างไรก็ตาม

ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะข้อสั้น แต่ละยอดมีความสูงไม่สม่ำเสมอ ใบหงิกงอ และมีลักษณะฉ่ำน้ำ ในขณะที่ผลการทดลองของ Kachonpadungkitti and Jala (2014) รายงานว่า ต้นพรมมิที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA มีความสูงมากกว่าต้นพรมมิที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.10 0.20 0.50 1.00 และ 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกันกับงานทดลองของ Kachonpadungkitti and Jala (2016) ที่พบว่า เนื้อเยื่อใบแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA และ kinetin (Kn) มีความสูงและความยาวรากมากที่สุด รวมทั้งยังพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ BA และ Kn ในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้ความสูง จำนวนราก และความยาวรากมีแนวโน้มลดลง

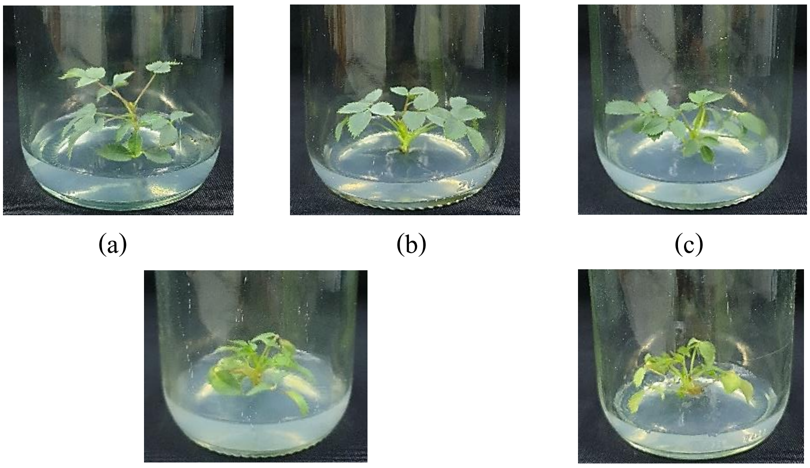
Table 2 Shoot length (cm), shoot number, leaf number, root number and root length (cm) of shoot explants of damask rose cultured on MS (1962) medium supplemented with BAP at the concentrations of 0.00, 0.50, 1.00, 2.00 and 3.00 mg L^{-1} after culturing for 42 days

BAP (mg L^{-1})	Shoot length (cm)	Shoot number	Leaf number	Root number	Root length (cm)
0.00	2.05±0.15 a	1.00±0.00 b	22.17±2.59 b	2.17±1.01 a	2.13±0.82 a
0.50	1.20±0.22 b	1.00±0.00 b	26.00±0.29 b	0.00±0.00 b[1/]	0.00±0.00 b
1.00	0.77±0.04 c[1/]	2.67±0.44 a	33.67±0.44 a	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b
2.00	0.72±0.03 c	2.67±0.17 a	35.00±0.50 a	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b
3.00	0.72±0.02 c	2.00±0.00 a	22.67±0.73 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b
ANOVA	*	*	*	*	*

* Statistical significant different at $p \leq 0.05$

[1/]Means ± S.E. within column with the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ by Tukey's

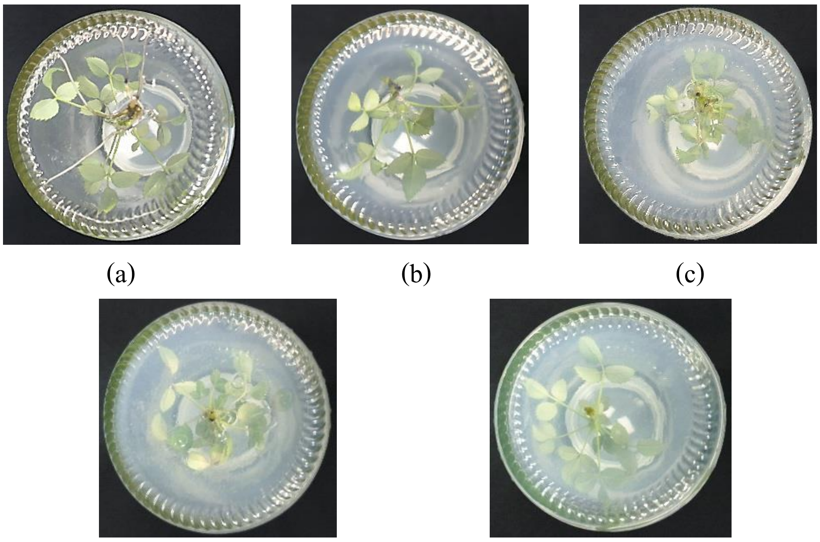
ANOVA, Analysis of variance



(a) (b) (c)

(d) (e)

Figure 1 Shoot explants of damask rose cultured on MS (1962) medium supplemented with BAP at the concentrations of 0.00 (a), 0.50 (b), 1.00 (c), 2.00 (d) and 3.00 (e) mg L^{-1} after culturing for 42 days



(a) (b) (c)

(d) (e)

Figure 2 Root development of damask rose cultured on MS (1962) medium supplemented with BAP at the concentrations of 0.00 (a), 0.50 (b), 1.00 (c), 2.00 (d) and 3.00 (e) mg L^{-1} after culturing for 42 days

สรุป

ชิ้นส่วนข้อกุหลาบมอญที่ฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการพัฒนาของเนื้อเยื่อมากที่สุด ในขณะที่ยอดกุหลาบมอญที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.00 และ 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดและจำนวนใบมากที่สุด ส่วนยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความยาวยอด จำนวนราก และความยาวรากมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

Abbaszadeh, M., Kazerani, H.R. and Kamrani, A. 2010. Laxative effects of *Rosa damascena*

Mill. in dogs. **Journal of Applied Animal Research** 38(1): 89-92.

Aridogan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbasar, D. and Mumcu, E. 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. **Archives of Pharmacal *Research*** 25(6): 860-864.

Autaijamsripon, J., Jirakiattikul, Y., Rithichai, P. and Itharat, A. 2019. Effect of plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication and root induction of *Ocimum sanctum* L. (Holy Basil Purple Type). **Thai Science and Technology Journal** 27(4): 630-638. (in Thai)

Baig, M.M.Q., Hafiz, I.A., Hussain, A., Ahmad, T. and Abbasi, N.A. 2011. An efficient protocol for *in vitro* propagation of *Rosa gruss an teplitz* and *Rosa centifolia*. **African Journal of Biotechnology** 10(22): 4564-4573.

Basim, E. and Basim, H. 2003. Antibacterial activity of *Rosa damascena* essential oil. **Fitoterapia** 74(4): 394-396.

Bruneau, A., Starr, J.R. and Joly, S. 2007. Phylogenetic relationships in the Genus Rosa: New evidence from chloroplast DNA sequences and an appraisal of current knowledge. **Systematic Botany** 32(2): 366-378.

Chanprame, S., Sontikun, Y., Onwimol, P. and Chanprame, S. 2018. Shoots Induction from *In Vitro* Node of Teak. **King Mongkut's Agricultural Journal** 36(2): 126-134. (in Thai)

Chumpookam, J., Kaewnabon, K. and Chanchula, N. 2017. *In vitro* micropropagation of 'Chiangmai 60' and 'Vietnam GQ2' mulberry. **Thai Journal of Science and Technology** 5(3): 273-282. (in Thai)

Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B., Joukar, S. and Iranpoor, M. 2012. Effect of *Quercus infectoria* and *Rosa damascena* on lipid profile and atherosclerotic plaque formation in rabbit model of hyperlipidemia. ***Pakistan Journal* of *Biological Sciences*** 15(1): 27-33.

Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B. and Sharififar, F. 2010. Inhibitory effect of some plant extract on pancreatic lipase. **International Journal of Pharmacology** 6(1): 18-24.

Gholamhoseinian, A., Fallah, H. and Sharififar, F. 2009. Inhibitory effect of methanol extract of *Rosa damascena* Mill. Flowers on aglucosidase activity and postprandial hyperglycemia in normal and diabetic rats. **Phytomedicine** 16(10): 935-941.

Gogoi, G., Borua, P.K. and Al-Khayri, J.M. 2017. Improved micropropagation and *in vitro* fruiting of *Morus indica* L. (K-2 cultivar). **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology** 15(1): 249-256.

Hameed, N., Shabbir, A., Ali, A. and Bajwa, R. 2006. *In vitro* micropropagation of disease free rose (*Rosa indica* L.). **Mycopathology** 4(2): 35-38.

Horn, W.A.H., Schlegel, G. and Lerstuhl, K.J. 1992. Micropropagation of roses (*Rosa hybrida*). **Acta Horticulturae** 226: 623-627.

Jafari, M., Zarban, A., Pham, S. and Wang, T.J. 2008. *Rosa damascena* decreased mortality in adult Drosophila. **Journal of Medicinal Food** 11(1):9-13.

Jala, A. and Paitoon, S. 2013. Micropropagation of *Dionaea muscipula* by tissue culture. **Thai Journal of Science and Technology** 2(2): 134-139. (in Thai)

Kachonpadungkitti, Y. and Jala, A. 2014. Influence of BA and NAA on inducing new shoots and roots in *Bacopa monaneiri* (L.) Pennel *in vitro*. **Thai Journal of Science and Technology** 3(1): 7-14. (in Thai)

Kachonpadungkitti, Y. and Jala, A. 2016. Influence of BA, IAA, 2,4-D and Kinetin on micropropagation of *Hylocereus undatus* from segments of hypocotyl and true leaf. **Thai Journal of Science and Technology** 4(2): 147-154. (in Thai)

Kaewpiboon, C. and Boonnak, N. 2019. Effect of plant growth regulators on the grape callus induction and growth for secondary metabolite production. **Thai Science and Technology Journal** 27(4):675-683. (in Thai)

Khamrit, R. and Preeman, J. 2019. *In vitro* surface sterilization and shoot induction from the rhizome of *Zingiber montanum*. **Khon Kaen Agriculture Journal** 47(1) (Suppl.): 1393-1398. (in Thai)

Khosravi, P., Kermani, M.J., Nematzadeh, G.A. and Bihamta, M.R. 2007. A protocol for mass production of *Rosa hybrida* cv. Iceberg through *in vitro* propagation. **Iranian Journal of Biotechnology** 5(2): 100-104.

Laohavisuti, N., Ruangdej, U., Seesanong, S. and Wangwibulkit, S. 2018. Effect of disinfectants and plant growth regulator in aquatic plant *Bucephalandra* sp. Micropropagation. **King Mongkut's Agricultural Journal** 35(2): 95-103. (in Thai)

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum** 15(3): 473-497.

Nak-Udom, N., Kanchanapoom, K. and Kanchanapoom, K. 2009. Micropropagation from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L. cv. 'Perfume Delight'). **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 31(6): 583-586.

Naquvi, K.J., Ansari, S.H., Ali M. and Najmi, A.K. 2014. Volatile oil composition of *Rosa damascene* Mill. (Rosaceae). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 2(5): 130-134.

Palee, J. 2016. Natural propagation and micropropagation of *Tupistra albiflora* K. Larsen. **Science and Technology RMUTT Journal** 6(2): 1-16. (in Thai)

Pati, P.K., Rath, S.P., Sharma, M., Sood, A. and Ahuja, P.S. 2006. *In vitro* propagation of rose: A review. **Biotechnology Advance** 24(1): 94-114.

Prasertsongskun, S. 2016. *In vitro* propagation of *Etlingera elatior*. **Journal of Yala Rajabhat University** 10(2): 21-28. (in Thai)

Pumisutapon, P., Saisueb, S. and Rodpradit, S. 2018. Studies on surface sterilization and callus

induction in *Selaginella*. **Agricultural Science Journal** 49(1)(Suppl.): 270-272. (in Thai)

Razavizadeh, R. and Ehsanpour, A.A. 2008. Optimization of *in vitro* propagation of *Rosa hybrida* L. cultivar Black Red. **American-Eurasian Journal of Agricultural Environment Science** 3(1): 96-99.

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L. and Zhang, L. 2003. Flavonoids: promising anticancer agents. **Medicinal Research Reviews** 23(4): 519-534.

Sharma, N.K., Choudhary, R.C. and Kumar, M. 2014. An improved plant regeneration system of *Ocimum sanctum* L- An important Indian holy basil plant. **Journal of Cell Tissue Research** 14(1): 4143-4148.

Somsong, U. 2013. Tissue culture of *citrus medica* L. var. *linetta Risso*. **Prawarun Agricultural Journal** 10(1): 29-37. (in Thai)

Srisawang, A., Laohavisuti, N. and Ruangdej, U. 2019. The optimum sterilization procedures on micropropagation of *Anubias* sp. 'White'. **King Mongkut's Agricultural Journal** 37(4): 648-654. (in Thai)

Sukkeaw, T., Ramasoot, S. and Parinyapong Chareonsap, P. 2016. Microprapagation of Black Bat Flower. **Wichcha Journal** 35(2): 33-40. (in Thai)

Topoonyanont, N., Audtama, N. and Kaewdam, T. 2019. Factors affecting micropropagation system of strawberry cv. Praratchatan 80 and cv. 329. **Thai Journal of Science and Technology** 8(2): 176-189. (in Thai)

Tudses, N., Phungbunhan, K. and Audta, L. 2019. Effects of BA and NAA on growth and development of *Musa sapientum* (ABB group) cv 'Kluai Hin' *in vitro* and effects of substrate on growth *in vivo*. **King Mongkut's Agricultural Journal** 37(2): 262-273. (in Thai)

Zeinali, H., Tabaei-Aghdaei, S.R. and Arzani, A. 2009. A study of morphological variations and their relationship with flower yield and yield components in *Rosa damascena*. **Journal of Agricultural Science and Technology** 11(4): 439-448.