

การขยายพันธุ์มัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60
และพันธุ์เวียดนาม GQ2 ในสภาพปลอดเชื้อ
In Vitro Micropropagation of 'Chiangmai 60'
and 'Vietnam GQ2' Mulberry

เจนจิรา ชุมภูคำ* และกาพย์แก้ว แก้วนาบอน

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตบางเขน

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ณัฐพงศ์ จันจุฬา

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Jenjira Chumpookam* and Kapkaew Kaewnabon

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok Campus,

Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

Nattapong Chanchula

Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,

Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นมัลเบอร์รี่ (ตายอด ตาข้าง ก้านใบ และใบอ่อน) จากแปลงทดลองและการปักชำต่อการรอดชีวิตและสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์มัลเบอร์รี่ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าทุกชิ้นส่วนของมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ได้มาจากการปักชำมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าที่นำมาจากแปลงทดลอง โดยใบอ่อนที่มาจาก การปักชำมีการรอดชีวิตสูงที่สุด (70 %) และการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์จากส่วนของตาข้างของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 พบว่าในอาหารสูตร MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ต้นมัลเบอร์รี่มีการเจริญเติบโตได้ดีและมีความสมบูรณ์ที่สุด โดยมีความสูงต้นเฉลี่ย 2.66 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 2.83 ยอด จำนวนใบเฉลี่ย 8.25 ใบ และความยาวใบเฉลี่ย 1.23 เซนติเมตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : การรอดชีวิต; ใบอ่อน; การเจริญเติบโต; เบนซิลอะดีนีน; การเพาะเลี้ยงมัลเบอร์รี่

Abstract

The effect of different explants (apical bud, lateral bud, petiole and leaflet) from the natural field and stem cutting on survival and medium formula for *in vitro* micropropagation of mulberry were studied.

The results showed that all explants of 'Chiangmai 60' mulberry which from the stem cutting had a survival higher than the natural field. The leaflet from the stem cutting gave the highest survival (70 %). In the effect of *in vitro* micropropagation of 'Vietnam GQ2' and study of the medium formula for mulberry. It was found that the lateral bud were cultured on MS + 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA gave the best result for growth and healthy, with maximum of plant height (2.66 cm), number of shoots (2.83 shoots), number of leaves (8.25 leaves) and leave length (1.23 cm), respectively.

Keywords: survival; leaflet; growth; benzyladenine; Mullberry culture

1. คำนำ

มัลเบอร์รี่หรือหม่อนมีชื่อสามัญว่า Mulberry เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Moraceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morus alba* L. มีถิ่นกำเนิดในแถบเขตหนาว (temperate zone) มัลเบอร์รี่จัดเป็นไม้ผลในกลุ่ม deciduous fruit plant หรือประเภท hard wood ใบจะร่วงในฤดูใบไม้ร่วงมีการพักตัวในฤดูหนาว ดอกเป็นชนิดตารวม มีผลแบบรวม (multiple fruit) (วสันต์, 2546) มัลเบอร์รี่สามารถนำมาประกอบอาหารได้ทั้งคาวและหวาน โดยมัลเบอร์รี่มีคุณประโยชน์หลากหลาย เช่น มีสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันโรคหัวใจ โรคกระดูก มีวิตามินบี 6 ช่วยบำรุงเลือด ลดอาการปวดประจำเดือน อีกทั้งเป็นแหล่งวิตามินซีสูง ช่วยป้องกันอาการหวัดและโรคภูมิแพ้ได้ (อุไรวรรณ, 2559) การปลูกมัลเบอร์รี่ในประเทศไทย ส่วนใหญ่เป็นการนำไปปลูกเพื่อการนำไปแปรรูปเป็นผลไม้ มีอีกหลายพันธุ์ที่นำไปใช้ในการรับประทานผลสด ได้แก่ พันธุ์ยูนนาน พันธุ์กำแพงแสน และพันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นต้น

มัลเบอร์รี่เชียงใหม่ 60 เป็นพันธุ์รับประทานผลสด สามารถปลูกได้ทั่วไป ดูแลรักษาง่าย เมื่อมีอายุ 3 ปี ขึ้นไปให้ผลผลิตปีละ 1,000 กิโลกรัมต่อไร่ อีกทั้งสามารถปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับและปลูกเพื่อผลิตผลหม่อนเชิงพาณิชย์ได้ ลักษณะเด่นของพันธุ์เชียงใหม่ 60 คือ ผลมีขนาดใหญ่และปริมาณกรดสูง ให้ผลผลิตสูง คุณภาพดี เหมาะสำหรับบริโภคผลสดและแปรรูปในเชิงอุตสาหกรรม และสามารถ

กำหนดเวลาให้ผลผลิตได้ด้วยวิธีการบังคับให้ออกดอกติดผลนอกฤดูกาล (ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ, 2550) มัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศเวียดนาม เจริญเติบโตได้ดี มีใบใหญ่และหนา เหมาะสำหรับนำไปเลี้ยงหนอนไหม ผลผลิตใบมีประมาณ 35-40 ต้นต่อเอเคอร์ สามารถปลูกได้ในพื้นที่เชิงเขา ที่ราบลุ่ม และสามารถปรับเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ เช่น ร้อนจัด แห้งแล้ง น้ำท่วม และอากาศค่อนข้างหนาวเย็นได้ (Vietnam Sericulture Research Institute, 2015) การขยายพันธุ์มัลเบอร์รี่นั้นมีหลายวิธี ได้แก่ การปักชำ การตอนกิ่ง การติดตา การเพาะเมล็ด และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ, 2550)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของพืช (explant) ในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและปลอดเชื้อ เซลล์ของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความสามารถที่จะเติบโตเป็นต้นพืชที่มีความสมบูรณ์ได้ ด้วยสมบัติดังกล่าวทำให้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์ ส่วนชนิดของสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (สมพร, 2552) การนำชิ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิตหรือเนื้อเยื่อที่มีการพัฒนาและแบ่งเซลล์ตลอดเวลา ได้แก่ ลำต้น ยอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร

สังเคราะห์ ชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ (ปิณ, 2553) ภพแก้ว (2555) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนกุหลาบหิน บอนสี และคว่ำตายหงายเป็นบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง เป็นเวลา 6 สัปดาห์พบว่าชิ้นส่วนใบอ่อนกุหลาบหินที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม TDZ เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดได้ สุลักษณ์ (2553) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเร็วหอม โดยนำหน่ออ่อน (ขนาดยาวประมาณ 5-6 นิ้ว) มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์เข้มข้น 10 % นาน 10 นาที ตามด้วยความเข้มข้น 5 % อีก 5 นาที ตามลำดับ หลังจากการฆ่าเชื้อแล้วนำยอดมาล้างด้วยน้ำที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 1, 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาการแตกยอด และการทดสอบสูตรอาหารสำหรับการเพิ่มปริมาณต้น โดยนำยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ เติม BA ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.01 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดที่แตกใหม่ได้มากที่สุด อรุณี (2557) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาโดยการนำชิ้นส่วนยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige และ Skoog (MS) เติม benzyladenine (BA) และ kinetin (KN) 5 ความเข้มข้น (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส แสง 2,000 ลักซ์เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด คือ มีจำนวนยอด 10.62 ยอดต่อ

ชิ้นส่วน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์มัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 และพันธุ์เวียจนาม GQ2 ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเพิ่มปริมาณจำนวนต้นมัลเบอร์รี่ในการขยายพันธุ์พืชและการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การศึกษาผลของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ต่อการรอดชีวิตในสภาพปลอดเชื้อ

นำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 (ตายอด ตาข้าง ก้านใบ และใบอ่อน) จากแปลงทดลองและการปักชำเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ โดยเก็บชิ้นส่วนต่าง ๆ จากต้นในช่วงเวลา 08:00-09:00 น. และนำชิ้นส่วนใส่ถุงพลาสติกปิดมิดชิด นำสู่ห้องปฏิบัติการ จากนั้นนำมาทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาดไหลนาน 5 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ [clorox®, 8.25 % (v/v) sodium hypochlorite] เข้มข้น 10 % นาน 10 นาที ตามด้วยคลอโรกซ์เข้มข้น 5 % นาน 10 นาที จากนั้นล้างชิ้นส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที หลังจากฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชแล้ว เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เป็นเวลา 7 วัน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์เนื้อเยื่อที่ปนเปื้อนแบคทีเรีย และเปอร์เซ็นต์ที่ปนเปื้อนรา วางแผนการทดลองแบบสุ่ม สมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งออกเป็น 4 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนต์มี 30 ซ้ำ

2.2 การชักนำให้เกิดต้นมัลเบอร์รี่จากแผ่นใบอ่อนมัลเบอร์รี่เชียงใหม่ 60

เมื่อได้ชิ้นส่วนที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อจากการทดลองการศึกษาค้นคว้าของชิ้นส่วนต่าง ๆ

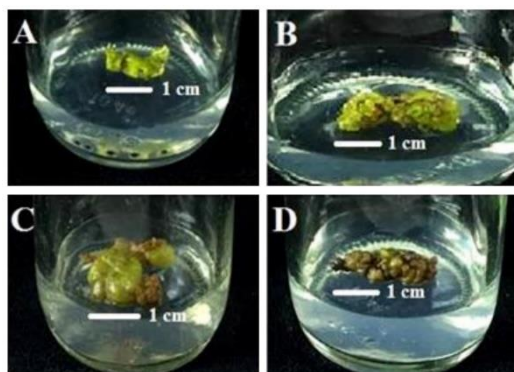
ของต้นมัลเบอร์รี่ต่อการรอดชีวิตในสภาพปลอดเชื้อ จึงนำมาใช้ในการทดลองนี้ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งเป็น 6 ทรีตเมนต์ โดยแต่ละ ทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นส่วนพืช โดยปักชำกิ่งมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ระยะเวลา 3 สัปดาห์ เพื่อให้เกิดจากเจริญเติบโตของใบอ่อน จากนั้นเก็บใบอ่อนมาล้างน้ำไหลเป็นเวลา 15 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที หลังจากนั้นฟอกด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 10 % นาน 10 นาที ตามด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 5 % นาน 10 นาที ฟอกเสร็จแล้วล้างใบอ่อนด้วยน้ำกลั่น ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 3 ครั้ง ซับใบอ่อนบนกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดใบอ่อนให้มีขนาด 1x1 นิ้ว แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติม thidiazuron (TDZ) ที่มีระดับความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 1 : MS ที่ปราศจากการควบคุมการเจริญเติบโต (ควบคุม) ทรีตเมนต์ที่ 2 : MS + TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทรีตเมนต์ที่ 3 : MS + TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทรีตเมนต์ที่ 4 : MS + TDZ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทรีตเมนต์ที่ 5 : MS + TDZ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และทรีตเมนต์ที่ 6 : MS + TDZ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อครบระยะเวลา 7 วัน ย้ายลงสู่อาหาร MS ที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธีของ Chitra และ Padmaja (2005) บันทึกผลที่ระยะเวลา 15, 30 และ 45 วัน หลังย้ายลงสู่สูตรอาหารดังกล่าว โดยสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาการของใบอ่อนมัลเบอร์รี่ การตอบสนองต่อการควบคุมการเจริญเติบโต โดยให้มีการคะแนน 4 ระดับ คือ เนื้อเยื่อตาย = 0 คะแนน เนื้อเยื่อน้ำตาลอ่อน = 1 คะแนน เนื้อเยื่อสีเขียวใบเริ่มบิดงอ = 2 คะแนน และเนื้อเยื่อสีเขียวใบบิดงอ = 3 คะแนน (รูปที่ 1)

2.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจากตาข้างของต้นมัลเบอร์รี่

พันธุ์เวียดนาม GQ2 ในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองนี้มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งออกเป็น 5 ทรีตเมนต์ มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ชิ้น โดยตัดตาข้างของมัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 ที่มีอายุ 8 สัปดาห์ ลงในอาหาร MS ที่มีการเติม BA (benzyladenine) และ NAA (1-naphthaleneacetic acid) ในระดับความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 1 : MS ที่ปราศจากการควบคุมการเจริญเติบโต (ควบคุม) ทรีตเมนต์ที่ 2 : MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทรีตเมนต์ที่ 3 : MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทรีตเมนต์ที่ 4 : MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และทรีตเมนต์ที่ 5 : MS + BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 1 การตอบสนองของใบอ่อนมัลเบอร์รี่หลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 45 วัน โดย (A) เนื้อเยื่อสีเขียวใบเริ่มบิดงอ = 3 คะแนน (B) เนื้อเยื่อสีเขียวใบบิดงอ = 2 คะแนน (C) เนื้อเยื่อน้ำตาลอ่อน = 1 คะแนน และ (D) เนื้อเยื่อตาย = 0 คะแนน

เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 45 วัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอด

ฟลูออเรสเซนส์สีขาว ชนิด cool daylight นาน 16 ชั่วโมงต่อต้น ความเข้มแสง 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ เปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ ตามวิธีการของ Mohamnad และคณะ (2003) บันทึกผลการทดลอง ได้แก่ ความยาวราก (ซม.) ความสูงต้น (ซม.) จำนวนยอดจำนวนใบ และความยาวใบ เป็นต้น

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การศึกษาผลของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ต่อการรอดชีวิตในสภาพปลอดเชื้อ

การศึกษาค้นคว้าของชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 (ตายอด ตาข้าง ก้านใบ และใบอ่อน) ต่อการรอดชีวิต โดยนำชิ้นส่วนต่าง ๆ มาจากแปลงและการปักชำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าทุกชิ้นส่วนของมัลเบอร์รี่ที่ได้จากการปักชำนั้นมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าการนำมาจากแปลงทดลอง โดยใบอ่อนที่มาจากปักชำมีการรอดชีวิตสูงสุดคือ 70 % รองลงมา คือ ตาข้าง และตายอด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 61.00 และ 56.67 % ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับก้านใบ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยสุด คือ 50.00 % (รูปที่ 2) ในขณะที่ส่วนซึ่งนำมาจากแปลงทดลอง พบว่าใบอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 51.11 % รองลงมา คือ ตาข้าง และตายอด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 41.11 และ 38.89 % ตามลำดับ และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับก้านใบ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยสุด คือ 40.00 % สำหรับเปอร์เซ็นต์ที่ปนเปื้อนแบคทีเรียและรา นั้นพบว่าทุกชิ้นส่วนของมัลเบอร์รี่ที่นำมาจากแปลงนั้นมีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ที่ปนเปื้อนของแบคทีเรียและรา มากกว่าส่วนซึ่งนำจากการปักชำ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 1) การปนเปื้อนหรือการติดเชื้อของชิ้นส่วนต่าง ๆ เกิดขึ้นได้ หากพิจารณาใน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการปนเปื้อน (นิพนธ์, 2550) โดยในการปักชำสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมและปัจจัยที่จะส่งผลให้เกิดการติดเชื้อได้ดีกว่าในแปลงทดลองที่ไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อม หรือปัจจัยต่าง ๆ ได้



รูปที่ 2 ชิ้นส่วนต่าง ๆ ของมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 จากการปักชำ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่อายุ 14 วัน (A) = ตาข้าง (B) = ตายอด (C) = ก้านใบ และ (D) = ใบอ่อน

3.2 การชักนำให้เกิดต้นจากแผ่นใบอ่อนมัลเบอร์รี่เชียงใหม่ 60

แผ่นใบอ่อนมีการตอบสนองโดยเปลี่ยนแปลงและพัฒนาอย่างเห็นได้ชัดที่ 30 วัน หลังเริ่มเพาะเลี้ยง โดยสูตรอาหาร MS + TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการตอบสนองได้ดี โดยเนื้อเยื่อใบอ่อนยังเป็นสีเขียว ใบบิดงอ มีคะแนนการตอบสนอง 2.47 คะแนน และไม่แตกต่างในทางสถิติกับสูตรอาหาร MS, MS + TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร MS + TDZ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอาหาร MS + TDZ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS + TDZ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเนื้อเยื่อใบอ่อนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน เมื่อครบระยะเวลา 45 วัน

ตารางที่ 1 ผลของชั้นส่วนของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ต่อการรอดชีวิตในสภาพปลอดเชื้อ ที่ระยะเวลา 7 วัน

ชั้นส่วนพืช	% การรอดชีวิต		% เนื้อเยื่อที่ปนเปื้อนแบคทีเรีย		% เนื้อเยื่อที่ปนเปื้อนรา	
	แปลง	ปักชำ	แปลง	ปักชำ	แปลง	ปักชำ
ตายอด	38.89 ab ^{1/}	56.67 ab	22.22	13.33	36.68	25.56
ตาข้าง	41.11 a	61.00 ab	23.33	15.56	35.55	18.89
ก้านใบ	24.44 b	50.00 b	28.89	24.44	46.67	25.56
ใบอ่อน	51.11 a	70.00 a	18.89	12.22	30.00	16.67
F-test	*	*	ns	ns	ns	ns
% CV	24.87	13.48	31.94	26.89	22.68	29.78

^{1/}ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT); * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 2 คะแนนการตอบสนองของแผ่นใบอ่อนของมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ในสภาพปลอดเชื้อ

สูตรอาหาร	คะแนนการตอบสนองของแผ่นใบอ่อน		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
MS	3	2.43 a ^{1/}	1.57 b
MS + TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	3	2.40 a	1.52 b
MS + TDZ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	3	2.47 a	1.91 a
MS + TDZ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	3	2.40 a	1.65 ab
MS + TDZ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	3	1.90 b	1.13 c
MS + TDZ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	3	2.00 b	1.22 c
F-test	ns	*	*
% CV	0	26.85	23.59

^{1/}ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT); * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

การตอบสนองของพืชลดลง และแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยเนื้อเยื่อใบอ่อนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งทุกสูตรอาหารไม่สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ได้ (ตารางที่ 2) ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดพืชต้นใหม่ คือ การเลือกใช้

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เช่น TDZ ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลกระตุ้นให้เกิดแคลลัสหรือจำนวนยอด TDZ ที่ระดับความเข้มข้นสูงที่ใช้ในการชักนำชั้นส่วนของพืช อาจทำให้เกิดผลในทางยับยั้งหรือเป็นพิษต่อพืชได้ ดังนั้น

การนำ TDZ มาใช้ส่งเสริมหรือยับยั้งการเกิดยอดจากชิ้นส่วนของพืชขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ชนิดของพืช และพันธุกรรมของพืช (Chen *et al.*, 2004)

3.3 การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของตาข้างต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 หลังการเพาะเลี้ยง 45 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

การเจริญเติบโตของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 หลังการเพาะเลี้ยง 45 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ มีผลดังนี้

3.3.1 ความยาวรากเฉลี่ย พบว่าสูตรอาหาร MS มีผลให้มัลเบอร์รี่มีความยาวรากสูงที่สุด

คือ 2.91 เซนติเมตร และแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอาหาร MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความยาวราก 0.04 เซนติเมตร สำหรับสูตรอื่น ๆ ไม่พบการเกิดราก (ตารางที่ 3)

3.3.2 ความสูงของต้นเฉลี่ย พบว่าสูตรอาหาร MS มีความสูงมากที่สุด คือ 3.19 เซนติเมตร และไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหาร MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูง 2.66 เซนติเมตร แต่แตกต่างกับสูตรอาหาร MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงต้นน้อยที่สุด คือ 1.16 เซนติเมตร (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตจากตาข้างของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 หลังการเพาะเลี้ยง 45 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ บนสูตรอาหาร MS ที่มี BA และ NAA ความเข้มข้นต่างกัน

สูตรอาหาร	การเจริญเติบโตจากตาข้างของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2				
	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	ความสูงต้นเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอดเฉลี่ย	จำนวนใบเฉลี่ย	ความยาวใบเฉลี่ย (ซม.)
MS	2.91 a ^{1/}	3.19 a	1.53 b	5.55 b	0.90 b
MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.04 b	2.50 b	1.43 b	5.90 b	0.84 b
MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.00 b	2.66 ab	2.83 a	8.25 a	1.23 a
MS + BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.00 b	1.65 c	3.00 a	8.50 a	0.74 b
MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.00 b	1.16 c	1.20 b	5.35 b	0.65 b
F-test	*	*	*	*	*
% CV	37.21	15.70	17.25	17.48	24.18

^{1/}ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT); * = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.3.3 จำนวนยอดเฉลี่ย พบว่าทุกสูตรอาหารมีการเจริญเติบโต โดยสูตรอาหาร MS + BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดมากที่สุด คือ 3.00 ยอด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสูตรอาหาร MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเกิดยอด 2.83 ยอด และแตกต่างกันทางสถิติกับสูตร

อาหาร MS สูตรอาหาร MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอด คือ 1.53, 1.43 และ 1.20 ยอด ตามลำดับ

3.3.4 จำนวนใบเฉลี่ย พบว่าสูตรอาหาร MS + BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิ

กรัมต่อลิตร และ MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 8.50 และ 8.25 ใบ ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกับสูตรอาหาร MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบเฉลี่ย คือ 5.90 5.55 และ 5.35 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

3.3.5 ความยาวใบเฉลี่ย พบว่าสูตรอาหาร MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวใบมากที่สุด คือ 1.23 เซนติเมตร และแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอาหาร MS สูตรอาหาร MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรอาหาร MS + BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวใบ คือ 0.09, 0.84, 0.74 และ 0.65 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ดังนั้นสูตรอาหาร MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การ

เจริญเติบโตของต้นมัลเบอรี่ได้ดีและมีความสมบูรณ์ (รูปที่ 3) โดยมีความสูงต้นเฉลี่ย 2.66 เซนติเมตร จำนวนยอดเฉลี่ย 2.83 ยอด มีจำนวนใบเฉลี่ย 8.25 ใบ และมีความยาวใบเฉลี่ย 1.23 เซนติเมตร ตาม ลำดับ ขณะที่สูตรอาหาร MS เหมาะต่อการกระตุ้นการเกิดรากได้ดีที่สุด โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 2.91 เซนติเมตร ความสูงต้นเฉลี่ย 3.19 เซนติเมตร แต่มีจำนวนยอดเฉลี่ยค่อนข้างน้อย คือ 1.53 ยอด จำนวนใบเฉลี่ย 5.55 ใบ และความยาวใบเฉลี่ย 0.90 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) การใช้ BA ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจำพวกไม้เนื้อแข็งที่ความเข้มข้นที่สูงจะกระตุ้นให้เกิดยอดได้ดี แต่จะยับยั้งการเกิดราก (ธวัช, 2532) อีกทั้งอาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยภายในของพืชที่แตกต่างกัน เช่น ปัจจัยทางพันธุกรรมของพืชแต่ละชนิด อายุของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (รังสฤษฎ์, 2540) การที่ BA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมากเนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่มีสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตทางลำต้น การแบ่งเซลล์ และการเจริญเติบโตของตาข้าง



รูปที่ 3 ต้นมัลเบอรี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 ที่อายุ 45 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารต่าง ๆ (A) MS (B) MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (C) MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (D) MS + BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ (E) MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. สรุป

4.1 ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่นำมาจากการปักชำมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ดีกว่าชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมัลเบอร์รี่พันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่นำจากแปลงทดลอง

4.2 สูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS + TDZ ทุกความเข้มข้น ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นมัลเบอร์รี่จากแผ่นใบอ่อนได้

4.3 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนจากตาข้างของต้นมัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 คือ MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร MS เหมาะต่อการกระตุ้นการเกิดรากได้ดีที่สุด

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีชีวภาพ และแปลงทดลอง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (บางเขน) ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัยครั้งนี้

6. รายการอ้างอิง

- ธวัชชัย วรธนะวัลย์, 2532, การขยายพันธุ์และการเก็บรักษาพันธุ์ขนุนในสภาพปลอดเชื้อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นิพนธ์ ทวีชัย, 2550, การควบคุมโรคพืชโดยวิธีธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ปวิณ ภิมมย์, 2553, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, โครงการประกวดสื่อดิจิทัลเพื่อการเรียนรู้ ครั้งที่ 3, ไทยกูดดอทคอม, แหล่งที่มา : http://www.freewbs.com/sakesan/min_issue.htm, 10 เมษายน 2559.
- ภพแก้ว พุทธิรักษ์, 2555, การขยายพันธุ์บอนสี

กุหลาบหิน และคว่ำตายหงายเป็น, สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา.

รังสฤษฎ์ กาวีตะ, 2540, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วสันต์ นัยภิมมย์, 2546, หม่อนรับประทานผลและการแปรรูป, สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ, 2550, หม่อนเชียงใหม่ 60, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, เชียงใหม่.

สุลักษณ์ แจ่มจรัส, 2553, การเพาะเลี้ยงเนื้อเร่วหอม, สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน, นครปฐม.

สมพร ประเสริฐสงสกุล, 2552, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการปรับปรุงพันธุ์พืช, โพธิ์เพช, กรุงเทพฯ.

อรุณี ม่วงแก้วงาม, 2557, ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา, ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา, ยะลา.

อุไรวรรณ นิลเพ็ชร, 2559, หม่อน (Mulberry) : พืชมากประโยชน์, ภาควิชาชีววิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

Chen, T.Y., Chen, J.T. and Chang, W.C., 2004, Plant regeneration through direct shoot bud formation from leaf cultures of *Paphiopedilum* orchid, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 76: 11-15.

Chitra, D.S.V. and Padmaja, G., 2005, Shoot

- regeneration via direct organogenesis from *in vitro* derived leaves of mulberry using thidiazuron and 6-benzylaminopurine, Sci. Hort. 106: 593-602.
- Vietnam Sericulture Research Institute, 2015, Research and produced successfully the GQ2 mulberry variety, Hanoi, Vietnam.
- Mohammad, A., Mohammad, F. and Singh, S.K., 2003, Micropropagation of Mulberry (*Morus alba* L.) Through *In vitro* Culture of Shoot Tip and Nodal Explants, Plant Tissue Culture Laboratory, Department of Botany, Aligarh Muslim University, Aligarh, India.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures, Physiol. Plantarum 15: 473-497.