ISSN 3027-6357 (Print)
ISSN 3027-6365 (Online)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : *http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj*
ปีที่ 32 ฉบับที่ 3 (พฤษภาคม-มิถุนายน 2567) หน้า [67-76]

ผลของคลอรีนไดออกไซด์และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการขยายพันธุ์สับปะรดพันธุ์ภูแล

Effects of Chlorine Dioxide and Sodium Hypochlorite in Culture Medium on Micropropagation of Pineapple (*Ananas comosus*) cv. Phulae

สุรธัช พ่วงผจง[1], วุฒิชัย ธรรมอนันต์ธาดา[1, 2], ภาณุมาศ ฤทธิไชย[1], เยาวพา จิระเกียรติกุล[1, *]

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120

[2]ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว กำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

Suratach Phuangphachong[1], Wuttichai Thamanantada[1, 2], Panumart Rithichai[1] and Yaowapha Jirakiattikul[1, *]

[1]Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Pathum Thani 12120

[2]Rice Science Center Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140

Received 21 November 2023; Received in revised 29 December 2023; Accepted 28 February 2024

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่นิยมเนื่องจากผลิตต้นพันธุ์ได้จำนวนมาก แต่การทำให้อาหารปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำมีต้นทุนสูง การเติมสารที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้อาหารปลอดเชื้อและมีต้นทุนต่ำกว่า แต่อาจส่งผลต่อขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนยอดและการเกิดรากของสับปะรดในสภาพปลอดเชื้อ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) และคลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) ความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเกิดยอดใหม่และรากของสับปะรดพันธุ์ภูแล การชักนำให้เกิดยอดใช้อาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 1 mg/L และชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม 1-naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 2 mg/L โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ อาหารเพาะเลี้ยงทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม NaOCl ความเข้มข้น 0.5 1 และ 2 mL/L และ ClO_2 ความเข้มข้น 50 75 และ 100 mg/L เปรียบเทียบกับวิธีกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ทรีตเมนต์ควบคุม) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) มี 7 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนท์ มี 4 ซ้ำ จากการทดลอง พบว่า อาหารปลอดเชื้อ 100% และไม่มีผลต่อการชักนำให้

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** yjirakia@tu.ac.th

doi: 10.14456/tstj.2024.22

Science32-N3.indd 67 3/7/2567 BE 09:14

เกิดยอดและรากเมื่อเติม NaOCl ความเข้มข้น 1-2 mL/L และ ClO_2 ความเข้มข้น 50-100 mg/L โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.81±0.53 ถึง 5.16±0.33 ยอด จำนวนราก 19.88±0.96 ถึง 21.41±1.33 ราก และความยาวราก 1.29±0.11 ถึง 1.75±0.37 cm ต้นสับปะรดพันธุ์ภูแลรอดชีวิต 100% หลังออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

คำสำคัญ: คลอรีนไดออกไซด์; โซเดียมไฮโปคลอไรท์; อาหารเพาะเลี้ยง; สับปะรดพันธุ์ภูแล

Abstract

Plant tissue culture is widely used for pineapple propagation due to its ability to produce many plantlets but the cost of media sterilization through autoclaving is expensive. Medium supplemented with disinfectants can achieve sterility and cost reduction. However, these disinfectants could affect shoot multiplication and root induction of pineapple grown under aseptic conditions. Therefore, the objective of this study was to investigate the effect of various concentrations of sodium hypochlorite (NaOCl) and chlorine dioxide (ClO_2) on shoot and root induction of pineapple cv. Phulae. *In vitro* shoots were cultured for 6 weeks on MS medium supplemented with 1 mg/L benzyladenine (BA) for shoot induction and on MS medium supplemented with 2 mg/L 1-naphthaleneacetic acid (NAA) for root induction. NaOCl at concentrations of 0.5, 1 and 2 mL/L and ClO_2 at concentrations of 50, 75 and 100 mg/L were added to the medium for sterilization, compared to autoclaving (control). The experiments were arranged in a completely randomized design with 7 treatments and 4 replications. The results indicated that a 100% sterilized medium was obtained by adding NaOCl and ClO_2. Furthermore, the application of 1-2 mL/L NaOCl and 50-100 mg/L ClO_2 did not affect shoot and root induction. The number of shoots ranged from 3.81±0.53 to 5.16±0.33, the number of roots varied from 19.88±0.96 to 21.41±1.33, and root length ranged from 1.29±0.11 to 1.75±0.37 cm. After transplanting the plantlets, a 100% survival rate was achieved.

Keywords: Chlorine dioxide; Sodium hypochlorite; Culture medium; *Ananas comosus* cv. Phulae

Science32-N3.indd 68 3/7/2567 BE 09:14

1. บทนำ

สับปะรด (*Ananas comosus*) เป็นผลไม้ที่มีปริมาณการบริโภคมากเป็นอันดับต้น ๆ ของโลก ผลผลิตรวมของโลกประมาณ 18-22 ล้านตันต่อปี ประเทศไทยมีผลผลิตปี 2564 จำนวน 1,750,630 ตัน มีการส่งออกสับปะรดในรูปของบรรจุภัณฑ์กระป๋องมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก [1] ตลาดโลกในภาพรวมยังต้องการสับปะรดในปริมาณมาก ตลาดหลักที่นำเข้าสับปะรดกระป๋องและน้ำสับปะรด ได้แก่ สหรัฐอเมริกา เยอรมนี สเปน เนเธอร์แลนด์ และฝรั่งเศส [2] สับปะรดที่นิยมปลูกและบริโภคมีหลากหลายสายพันธุ์ โดยพันธุ์ภูแล (cv. Phulae) เป็นสับปะรดพันธุ์หนึ่งที่มีถิ่นกำเนิดในตำบลนางแล จังหวัดเชียงราย [3] เป็นพันธุ์ที่มีความต้องการมากในรูปของผลสดและแปรรูปทั้งในและต่างประเทศ [4] การขยายพันธุ์สามารถใช้ส่วนต่าง ๆ ของต้น ได้แก่ หน่อ ตะเกียง และจุก แต่เมื่อต้องการปลูกจำนวนมาก ส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์เหล่านี้มักมีไม่เพียงพอต่อความต้องการ และมีขนาดไม่เท่ากัน ไม่สม่ำเสมอ ทำให้การเจริญเติบโตของต้นไม่พร้อมกัน ส่งผลให้เกิดปัญหาในการจัดการปลูก เช่น การบังคับออกดอกและการเก็บเกี่ยวผลผลิตไม่สามารถทำได้พร้อมกัน [5] จึงได้มีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการขยายพันธุ์สับปะรด [6, 7, 8] เพื่อผลิตต้นจำนวนมากโดยใช้ระยะเวลาสั้น ๆ ต้นมีขนาดสม่ำเสมอเท่ากัน และตรงตามพันธุ์

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นจำเป็นต้องทำให้อาหารเพาะเลี้ยงอยู่ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ ปัจจุบันนิยมใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ หรือหม้อ autoclave เพื่อนึ่งกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร เนื่องจากสะดวก และมีประสิทธิภาพสูง แต่มีข้อจำกัด คือ ราคาแพง และหากใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำชนิดที่ใช้ไฟฟ้า หรือแบบอัตโนมัติส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น จากปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการนำสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ เช่น คลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide; ClO_2) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite; NaOCl) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2) และพาวิโดนไอโอดีน หรือเบตาดีน (povidone-iodine) มาเติมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อทำให้อาหารมีสภาพปลอดเชื้อ และสามารถนำไปเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชได้ ซึ่งได้มีรายงานการเติมสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ลงในอาหารเพาะเลี้ยง โดยที่ไม่ส่งผลต่อการพัฒนาของยอดใหม่ รวมถึงการชักนำให้เกิดรากของพืช หรือส่งผลเล็กน้อย และยังทำให้อาหารปลอดเชื้อได้ด้วย เช่น การเติม ClO_2 ความเข้มข้น 5 และ 10 mg/L ในการเพาะเลี้ยงยอดม่วงเทพรัตน์ [9] การเติมไฮเตอร์หรือโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ความเข้มข้น 2 mL/L และเบตาดีน ความเข้มข้น 2 4 และ 6 mL/L ในการเพาะเลี้ยงยอดฟิโลเดนดรอนพันธุ์รวยทรัพย์ [10] และเติม ClO_2 ความเข้มข้น 100 mg/L ในการเพาะเลี้ยงยอดไวท์อนูเบียส [10] อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงสับปะรดพันธุ์ภูแล ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ NaOCl และ ClO_2 เนื่องจากเป็นสารที่หาซื้อได้ง่ายและราคาถูก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ NaOCl และ ClO_2 ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของสับปะรดพันธุ์ภูแลในสภาพปลอดเชื้อ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

ยอดสับปะรดที่ใช้ในการทดลองเป็นพันธุ์ภูแลที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 1 mg/L เพาะเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±2°C ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลานาน 16 ชั่วโมงต่อวัน ขวดอาหารที่ใช้เป็นขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ ฝาที่ใช้ปิดขวดเป็นฝาพลาสติกทนร้อน ขวดและฝาผ่านการล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน และล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ผึ่งขวดให้แห้งก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

Science32-N3.indd 69 3/7/2567 BE 09:14

2.1 การเตรียมอาหารปลอดเชื้อสำหรับเพาะเลี้ยง

ในการชักนำให้เกิดยอด ใช้อาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/L ส่วนการชักนำให้เกิดราก ใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 1-naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 2 mg/L โดยอาหารทั้ง 2 สูตร เติมน้ำตาลซูโครส 30 g/L และวุ้น 8 g/L pH ของอาหารเท่ากับ 5.6-5.8 ปรับด้วย 1 N NaOH และทำให้อาหารปลอดเชื้อโดยวิธีการแตกต่างกัน 7 ทรีตเมนต์ ดังนี้

1) นึ่งกำจัดเชื้ออาหารด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที (ทรีตเมนต์ควบคุม)

2) เติม NaOCl ความเข้มข้น 0.5 mL/L

3) เติม NaOCl ความเข้มข้น 1 mL/L

4) เติม NaOCl ความเข้มข้น 2 mL/L

5) เติม ClO_2 ความเข้นข้น 50 mg/L

6) เติม ClO_2 ความเข้นข้น 75 mg/L

7) เติม ClO_2 ความเข้นข้น 100 mg/L

โดยการเติม NaOCl และ ClO_2 ทุกความเข้มข้นลงในอาหารเพาะเลี้ยงนั้น ให้เติมหลังจากเติมผงวุ้น และนำอาหารไปต้มแล้ว จากนั้นตักอาหารลงขวดเพาะเลี้ยงทันที โดยไม่ต้องนำไปนึ่งกำจัดเชื้อ นำอาหารทุกทรีตเมนต์ไว้ในห้องเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ก่อนนำไปใช้ เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของอาหาร

2.2 ผลของ NaOCl และ ClO_2 ในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่

นำยอดสับปะรดพันธุ์ภูแลมาตัดให้มีความยาวประมาณ 1-1.5 cm และผ่าครึ่งตามแนวยาวของยอด จากนั้นเพาะเลี้ยงแต่ละส่วนลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/L ที่ผ่านการทำให้อาหารปลอดเชื้อโดยวิธีการต่าง ๆ ตาม 2.1 นำชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงไปวางในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±2°C ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ บันทึก การรอดชีวิต (%) การปนเปื้อน (%) และจำนวนยอดที่พัฒนา

2.3 ผลของ NaOCl และ ClO_2 ในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดราก

นำยอดสับปะรดพันธุ์ภูแลที่มีขนาด 1-1.5 cm เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 mg/L ที่ผ่านการทำให้อาหารปลอดเชื้อโดยวิธีการต่าง ๆ ตาม 2.1 จากนั้นนำไปวางในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิและความเข้มแสงเช่นเดียวกับ 2.2 เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ บันทึก การรอดชีวิต (%) การปนเปื้อน (%) การเกิดราก (%) จำนวนราก และความยาวราก (cm) จากนั้นนำต้นสับปะรดที่มีรากออกปลูก โดยเพาะในขุยมะพร้าวชื้น ฉีดพ่นน้ำให้ชุ่ม ปิดฝากล่องเพาะแล้วนำไปวางไว้ในสภาพธรรมชาติในที่ร่ม อุณหภูมิประมาณ 30°C นาน 7 วัน แล้วเปิดฝากล่อง พร้อมพ่นน้ำเพิ่มความชื้น บันทึกการรอดชีวิต (%) หลังออกปลูกแล้ว 14 วัน

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) มี 7 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนต์มี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 8 ขวด เพาะเลี้ยงขวดละ 1 ยอด นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์ด้วย Tukey'HSD โดยใช้โปรแกรม SPSS

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลของ NaOCl และ ClO_2 ต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่

หลังเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (ทรีตเมนต์ควบคุม) และเติม NaOCl และ ClO_2 ความเข้มข้นต่างๆ นาน 2 สัปดาห์ พบว่า อาหารปลอดเชื้อ 100% เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดสับปะรดพันธุ์ภูแลบนอาหาร นาน 6 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดสามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้บนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อทุกทรีตเมนต์ (Figure 1) และไม่พบการปนเปื้อนระหว่างการทดลอง โดยชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NaOCl ความเข้มข้น 2 mL/L มีการรอด

Science32-N3.indd 70 3/7/2567 BE 09:14

ชีวิต 100% (Figure 2A) ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับค่าดังกล่าวของทรีตเมนต์ควบคุม อาหารที่เติม NaOCl และ ClO_2 ทุกความเข้มข้น โดยมีการรอดชีวิตอยู่ในช่วง 90.63±6.25 ถึง 96.88±6.25% ส่วนจำนวนยอดที่พัฒนาพบว่า ยอดที่พัฒนาบนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม NaOCl ความเข้มข้น 0.5 mL/L มีจำนวนยอด 3.09±0.40 ยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับจำนวนยอดที่พัฒนาของทรีตเมนต์ควบคุม และอาหารที่เติม ClO_2 ความเข้มข้น 100 mg/l โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 5.44±0.54 และ 5.16±0.33 ยอด ตามลำดับ (Figure 2B)

3.2 ผลของ NaOCl และ ClO_2 ต่อการชักนำให้เกิดราก

จากการทดลอง พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดรากที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (ทรีตเมนต์ควบคุม) และเติม NaOCl และ ClO_2 ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 2 สัปดาห์ ปลอดเชื้อ 100% เช่นเดียวกับอาหารที่ใช้สำหรับการชักนำให้เกิดยอด เมื่อเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ เพื่อชักนำให้เกิดราก นาน 6 สัปดาห์ พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงรอดชีวิตและมีการเกิดราก 100% บนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อทุกทรีตเมนต์ (Figure 3) นอกจากนี้ ไม่พบการปนเปื้อนระหว่างการทดลอง อย่างไรก็ตาม จำนวนรากที่พัฒนา และความยาวรากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม ClO_2 ความเข้มข้น 50 mg/L มีจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 21.41±1.33 ราก ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับจำนวนรากที่พัฒนาของทรีตเมนต์ควบคุม โดยมีจำนวนรากเท่ากับ 17.63±1.03 ราก (Figure 4A) ส่วนความยาวราก พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม ClO_2 ความเข้มข้น 50 และ 75 mg/L มีความยาวรากเท่ากับ 1.75±0.37 และ 1.72±0.14 cm ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับค่าดังกล่าวของยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม ClO_2 ความเข้มข้น 100 mg/L โดยมีความยาวรากสั้นที่สุดเท่ากับ 1.29±0.11 cm (Figure 4B)

เมื่อนำต้นสับปะรดพันธุ์ภูแลที่มีรากพัฒนาจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยเติม NaOCl และ ClO_2 รวมถึงทรีตเมนต์ควบคุม ออกปลูกในสภาพธรรมชาติ พบว่า ต้นสับปะรดรอดชีวิตหลังออกปลูก 100% ในทุกทรีตเมนต์ และสามารถเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติได้ (Figure 5)

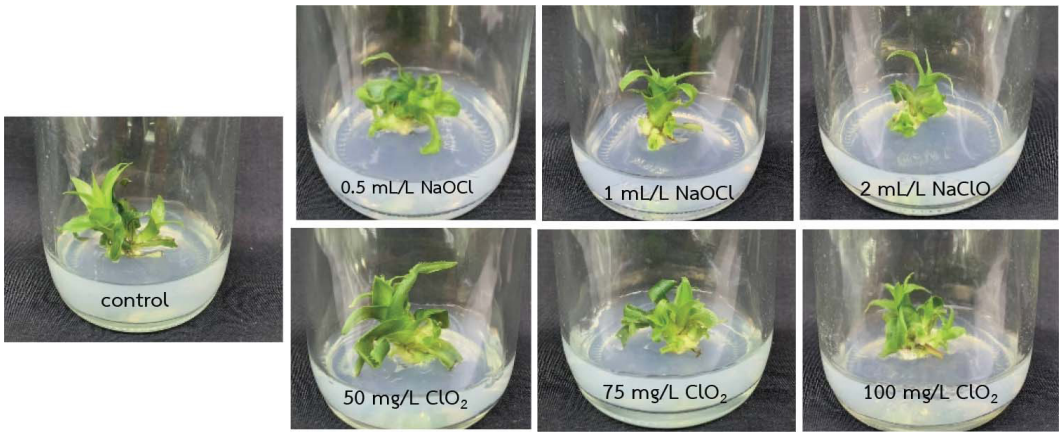

Figure 1 Regenerated shoots of the pineapple cv. Phulae after the explants were cultured on sterilized shoot induction medium using autoclaving (control) or supplemented with NaOCl and ClO_2 at different concentrations for 6 weeks

Science32-N3.indd 71 3/7/2567 BE 09:14

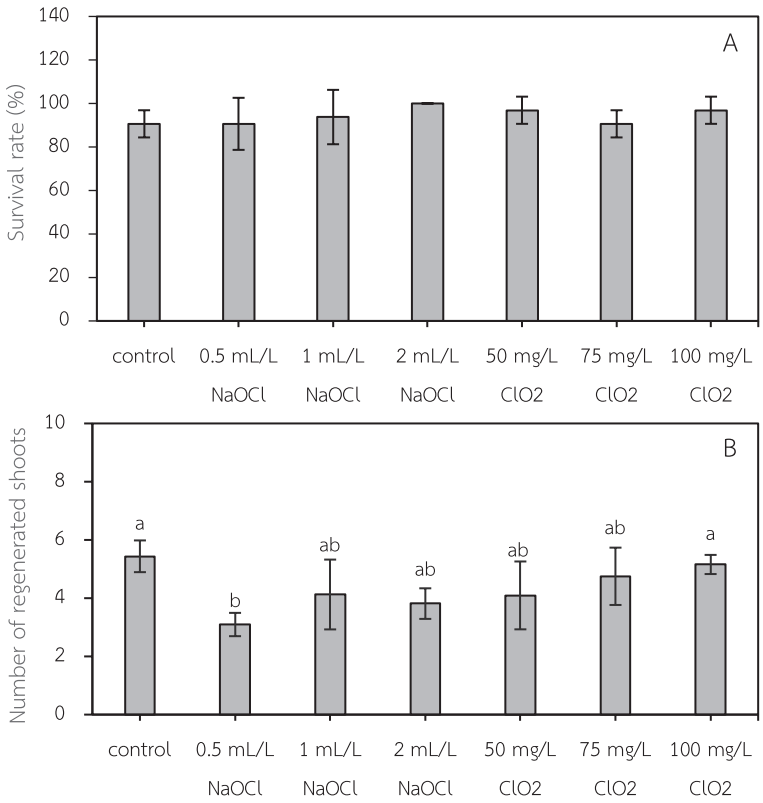

Figure 2 (A) Survival rate (%) and (B) number of the regenerated shoots of pineapple cv. Phulae after the explants were cultured on sterilized shoot induction medium using autoclaving or supplemented with NaOCl and ClO_2 at different concentrations for 6 weeks

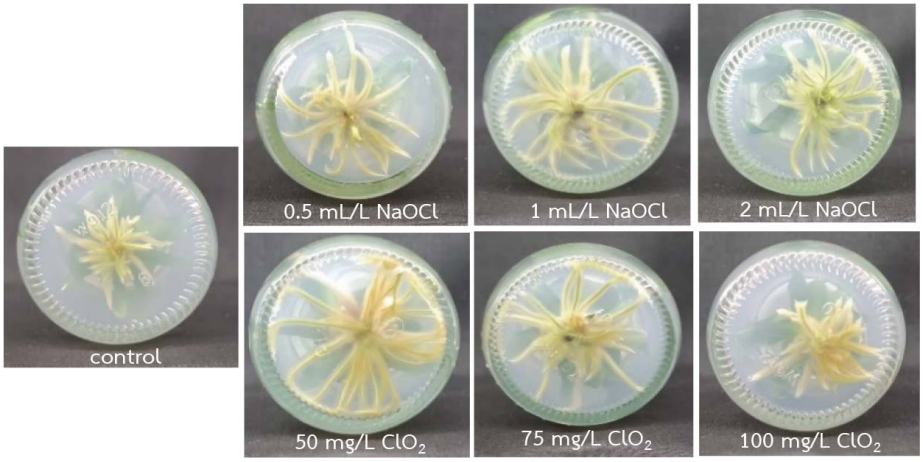

Figure 3 Rooting of the pineapple cv. Phulae shoots after the regenerated shoots were cultured on sterilized root induction medium using autoclaving or supplemented with NaOCl and ClO_2 at different concentrations for 6 weeks

Science32-N3.indd 72 3/7/2567 BE 09:14

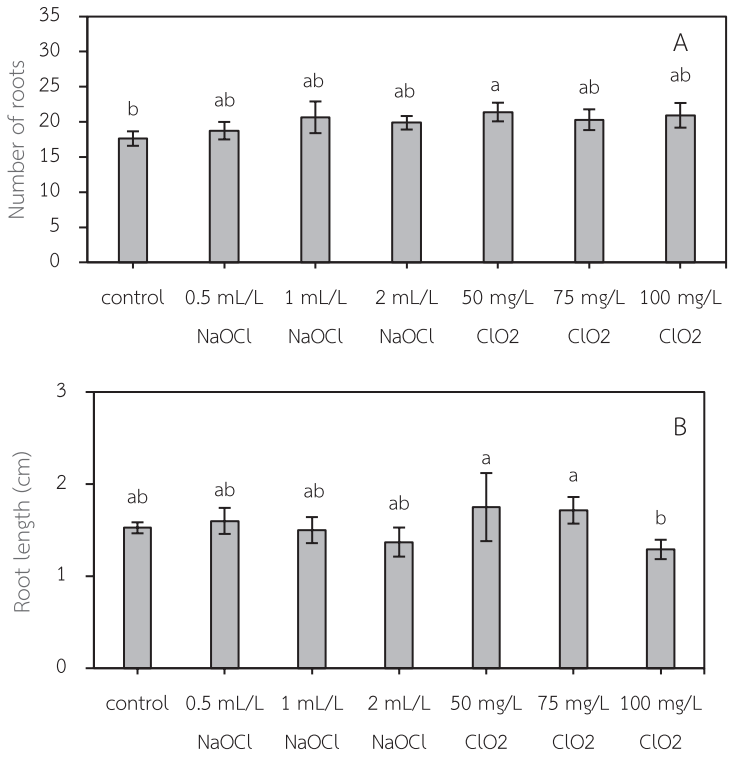

Figure 4 (A) number of roots (B) root length (cm) after the regenerated shoots were cultured on sterilized root induction medium using autoclaving or supplemented with NaOCl and ClO_2 at different concentrations for 6 weeks

Figure 5 Plantlets of pineapple cv. Phulae after transplantation for 2 weeks

Science32-N3.indd 73 3/7/2567 BE 09:14

จากการเติม NaOCl และ ClO_2 ความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเพาะเลี้ยง สามารถทำให้อาหารปลอดเชื้อได้ 100% เช่นเดียวกับการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ซึ่ง Russell [12] รายงานไว้ว่า สารเคมีหลายชนิดมีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ เช่น NaOCl, ClO_2, ไอโอดีน (iodine), เอทานอล (ethanol) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) เป็นต้น จึงได้มีการนำมาเติมในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อทำให้ปลอดเชื้อ และนำไปศึกษาเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชหลายชนิด เช่น ม่วงเทพรัตน์ [9] ฟิโลเดนดรอน [10] เบญจมาศ [13] หน้าวัว [14] และกล้วย [15] เป็นต้น โดย NaOCl เป็นสารกำจัดเชื้ออยู่ในรูปของเหลว เป็นน้ำยากำจัดเชื้อโรคต่าง ๆ เมื่อละลายน้ำจะเกิดการแตกตัวของกรดไฮโดรคลอรัส (hydrochlorous acid; HOCl) และไฮโดรคลอไรท์ไอออน (hypochlorite ion; OCl-) ที่มีคุณสมบัติเป็น oxidizing agent ซึ่งจะปลดปล่อย active chlorine ที่สามารถเข้าทำลายโปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้กำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้ [16] ส่วน ClO_2 มีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ได้ครอบคลุม สามารถกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น ไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่าย และโพรโตซัว เป็นต้น [12] โดย ClO_2 มีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง ทำให้เอนไซม์และการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้อจุลินทรีย์ถูกทำลาย และสามารถกำจัดเชื้อโรคได้ในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.0-9.0 [17] เมื่อนำชิ้นส่วนยอดของสับปะรดพันธุ์ภูแลมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติม NaOCl และ ClO_2 เปรียบเทียบกับการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำเพื่อชักนำให้เกิดยอด พบการรอดชีวิตของยอดสูง 90.63±6.25 ถึง 100.00±0.00% ส่วนการชักนำให้เกิดรากพบว่า ยอดรอดชีวิตและมีการเกิดราก 100% แสดงให้เห็นว่า สารทั้งสองชนิดและความเข้มข้นที่ใช้ไม่เป็นพิษกับพืช ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานการใช้สารกำจัดเชื้อที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงม่วงเทพรัตน์ [9] ฟิโลเดนดรอนพันธุ์รวยทรัพย์ [10] และยอดไวท์อนูเบียส [11] ที่พบการรอดชีวิตของพืช 100%

การเติม NaOCl และ ClO_2 ความเข้มข้นต่าง ๆ ส่งผลต่อจำนวนยอดที่พัฒนา จำนวนราก และความยาวรากของสับปะรดพันธุ์ภูแล โดยการเติม NaOCl ที่ความเข้มข้น 0.5 mL/L ทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทรีตเมนต์ควบคุม แต่การเติม NaOCl ความเข้มข้น 1-2 mL/L และ ClO_2 ความเข้มข้น 50-100 mg/L ส่งผลให้จำนวนยอดเฉลี่ยลดลงเล็กน้อยและไม่แตกต่างกันทางสถิติกับทรีตเมนต์ควบคุม อย่างไรก็ตาม การเติม NaOCl และ ClO_2 ความเข้มข้นต่าง ๆ ส่งเสริมการพัฒนาของราก ยกเว้น ClO_2 ความเข้มข้น 100 mg/L ที่มีความยาวรากสั้นกว่าทรีตเมนต์ควบคุม แต่ไม่มีผลต่อการนำต้นออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ดังนั้น จากการทดลองนี้สามารถใช้ NaOCl ความเข้มข้น 1-2 mL/L และ ClO_2 ความเข้มข้น 50-100 mg/L แทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำในการทำอาหารเพาะเลี้ยงปลอดเชื้อ โดยไม่ส่งผลต่อการเกิดยอดและรากของสับปะรดพันธุ์ภูแล การที่ NaOCl และ ClO_2 ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสับปะรดพันธุ์ภูแล ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเข้มข้นที่ใช้ไม่สูงมาก นอกจากนี้ Peiris et al. [14] ได้รายงานว่า NaOCl สามารถสลายตัวได้ภายในไม่กี่วัน จึงไม่เป็นอันตรายกับพืช ไม่ส่งผลต่อการสลายตัวของวิตามินบีที่อาจเกิดขึ้นได้เมื่อใช้ความร้อนจากการนึ่งกำจัดเชื้อ นอกจากนี้คลอรีนซึ่งเป็นส่วนผสมในรูปคลอไรด์ไอออน (Cl^-) มีบทบาทที่สำคัญต่อพืชในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ช่วยในการเจริญเติบโตของยอดและราก รวมถึงการสร้างน้ำตาลในพืช [18] ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองในฟิโลเดนดรอนพันธุ์รวยทรัพย์ ที่พบว่าอาหารที่เติมไฮเตอร์ความเข้มข้น 2 mL/L ทำให้มีการเจริญเติบโตทางใบดีที่สุด และอาหารที่เติมเบตาดีนความเข้มข้น 2 4 และ 6 mL/L ส่งผลให้มีจำนวนรากและความยาวเฉลี่ยของรากไม่แตกต่างกัน แต่ดีกว่าทรีตเมนต์ควบคุม [10]

Science32-N3.indd 74 3/7/2567 BE 09:14

นอกจากนี้ ในการเพาะเลี้ยงยอดม่วงเทพรัตน์ พบว่า อาหารที่เติม ClO_2 ความเข้มข้น 5 mg/L ทำให้มีการพัฒนาของยอดสูงสุด และอาหารที่เติม ClO_2 ความเข้มข้น 10 mg/L ทำให้ยอดมีการพัฒนารากได้มากที่สุด [9] และในการเพาะเลี้ยงหน้าวัว พบว่า น้ำหนักแห้งของยอดและจำนวนยอดมากกว่าทรีตเมนต์ควบคุมเมื่อเติม NaOCl ความเข้มข้น 10-20% [14]

4. สรุป

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์ภูแล สามารถเติม NaOCl ความเข้มข้น 1-2 mL/L และ ClO_2 ความเข้มข้น 50-100 mg/L ในอาหารเพาะเลี้ยงแทนการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ โดยอาหารปลอดเชื้อ 100% ไม่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและราก ต้นสับปะรดพันธุ์ภูแลรอดชีวิต 100% หลังออกปลูกในสภาพธรรมชาติและเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติได้

5. References

[1] Office of agricultural economics. Pineapple. Agricultural product-pineapple. source: http://mis-app.oae.go.th/product/pineapple. 17 October 2022

[2] Office of agricultural economics. 2022. Guidelines for creating zones to promote the cultivation of important economic crops. Ministry of Agriculture and Cooperatives.

[3] Thu, S. L., Tam, H. L. M., Tongdeesoontorn, W. and Suthiluk, P. 2017. Quality changes and volatile compounds in fresh cut 'Phulae' pineapple during cold storage. Curr. Appl. Sci. Technol. 17: 161-171.

[4] Panyamongkol, S. 2017. The relationship between physical and chemical properties in Poolae pineapple with maturity stage among 0-7. Kasalongkham Research Journal 11: 49-59. (in Thai)

[5] Ampawan, R., Pookmanee, T., Sumransakul, P., Duangbal, D., Taeja, S and Wongchai, K. 2016. Industrial production of pineapple seedlings. The office of agricultural research and extension. Maejo University, Chang Mai. (in Thai)

[6] Usman, I. S., Abdulmalik, M. M., Sani, L. A. and Muhammad, A. N. 2013. Development of an efficient protocol for micropropagation of pineapple (*Ananas comosus* L. var. smooth cayenne). Afr. J. Agric. Res. 8: 2053-2056.

[7] Nelson, B. J., Asare, P. A. and Junior, R. A. 2015. *In vitro* growth and multiplication of pineapple under different duration of sterilization and different concentrations of benzylaminopurine and sucrose. Biol. 14: 35-40.

[8] Atawia, A. R., EL-Latif, F. M. A., EL-Gioushy, S. F., Sherif, S. S. and Kotb, O. M. 2016. Studies on micropropagation of pineapple (*Ananas comosus* L.). Middle East J. Agric. Res. 5 (2): 224-232.

[9] Srichuay, W., Promchan, T. and Te-chato, S. 2018. Effect of chlorine dioxide (ClO_2) on culture medium sterilization on micropropagation of persian violet (*Exacum affine* Balf.f. ex Regel). Int. J. Agric. Technol. 14: 259-270.

[10] Wamaedeesa, R., Ali, B., Chedao, N., Kanjanawattanawong, S. 2021. Chemical sterilization in MS culture medium for *in*

Science32-N3.indd 75 3/7/2567 BE 09:14

vitro culture of *Philodendron* sp. "Ruaysap". Princess of Naradhiwas University Journal 13: 377-387. (in Thai)

[11] Kasam, W., Wangwibulkit, M. and Laohavisuti, N. 2020. Effect of chlorine dioxide (ClO_2) on sterilization in micropropagation of *Anubias* sp. 'White'. J. Fish. Tech. Res. 14: 65-72. (in Thai)

[12] Russell, A. D. 2003. Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. J. Antimicrob. Chemother. 52: 750-763.

[13] Deein, W., Thepsithar, C., Thongpukdee, A. and Tippornwong, S. 2013. Growth of chrysanthemum explants on MS medium sterilized by disinfectants and essential oils. Int. J. Biosci. Biochem. Bioinforma. 3: 609-613.

[14] Peiris, S. E., De Silva, E. D. U. D., Edussuriya, M., Attanayake, A. M. U. R. K. and Peiris, B. C. N. 2012. CSUP technique: a low-cost sterilization method using sodium hypochlorite to replace the use of expensive equipment in micropropagation. J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka 40: 49-54.

[15] Teixeira, S. L. 2006. The development of a new protocol that uses sodium hypochlorite to replace the autoclaving procedure for establishing axenic *in vitro* banana (*Musa* sp.) culture. Agricell Report 47: 17-18.

[16] Matsumoto, K., Coelho, M. C., Momte, D. C. and Teixera, J. B. 2009. Sterilization of non-autoclavable vessels and culture media by sodium hypochlorite for *in vitro* culture. Acta Hort. 839: 329-336.

[17] Huang, J., Wang, L., Ren, N., Ma, F. and Ma, J. 1997. Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water. Water Res. 31: 607-613.

[18] Tachapinyawat, S. 1995. Plant physiology. Rua Khiao Publisher, Bangkok. 213 p. (in Thai)

Science32-N3.indd 76 3/7/2567 BE 09:14