การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวยักษ์ออสเตรเลีย (*Nymphaea gigantea*)

Micropropagation of Australian Giant Waterlily (*Nymphaea gigantea*)

รุ่งอรุณ ดอนจันทร์ทอง[1]* ณ. นพชัย ชาญศิลป์[2] สรรลาภ สงวนดีกุล[1] และ ณัฐวุฒิ รอดบุตร[2]

Rungaroon Donjanthong[1] N. Nopchai Chansilpa[2] Sunlarp Sanguandeekul[1] and Nattawut Rodboot[2]

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ [2] สถาบันบัวราชมงคลตะวันออก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก จ.ชลบุรี

**E-mail: donjanthong@gmail.com โทร. 038-358201 ต่อ 1473 และ 081-0064435*

บทคัดย่อ

ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อหัวบัวยักษ์ออสเตรเลียในสารฟอกฆ่าเชื้อ 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น ระยะเวลา และวิธีการฟอกต่าง ๆ กัน จำนวน 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 10 ซ้ำ และศึกษาผลของ BA, IAA และ BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการชักนำยอดบัวยักษ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) จำนวน 9 สิ่งทดลอง ๆ ละ 6 ซ้ำ ทำการทดลองที่ สถาบันบัวราชมงคลตะวันออก และคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก จ.ชลบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม 2558 - มกราคม 2559 พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ตามด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 18 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอรอกซ์ 25 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที ไม่ร่วมกับเครื่องล้างอัลตร้าโซนิกส์ เป็นวิธีที่ดีที่สุด เนื่องจากเมื่อนำชิ้นส่วนที่ฟอกด้วยวิธีนี้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เป็นเวลา 30 วัน ได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ 80 เปอร์เซ็นต์ และมีการรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ มีตายอด ก้านใบ และใบเจริญเติบโตปกติ และเมื่อนำชิ้นส่วนยอดบัวยักษ์ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA, IAA และ BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ชิ้นส่วนยอดบัวยักษ์ ให้จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบไม่แตกต่างกัน (*P>0.05*) อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแนวโน้มชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด 1.83 ยอด มีความยาวยอด 0.52 เซนติเมตร และมีจำนวนใบ 3.39 ใบ ให้ยอดอวบ ก้านใบอวบและยาว ใบใหญ่

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ บัวยักษ์ออสเตรเลีย การฟอกฆ่าเชื้อ

Abstract

Micropropagation of Australian Giant Waterlily (*Nymphaea gigantea*) was studied from March 2015 to January 2016 at Rajamangala University of Technology. Tubers of Australian Giant Waterlily were surface sterilized in different concentration of surface disinfectants and methods. The best disinfection method was agitating for 1 min in 50% ethanol, followed by 5 min in 18% hydrogen peroxide, 15 min in 0.2% Mercuric chloride and 15 min in 25% Clorox without ultrasonic, and after cultured in liquid Murashige and Skoog (MS) for 30 days, its sterile percentage was 80% and 100% survival rate, with normal shoots and leaves. The explants were then cultured in liquid MS media supplemented with the combinations of 0, 2 and 4 mgl^{-1} of BA and IAA. A complete randomized design with 9 treatments and 6 replications was used in this experiment. After 30 days of culture, there were no significant difference in shoot number, shoot length and leaf number (*P>0.05*).

However, the media supplemented with 4 mgl^{-1} BA combined with 2 mgl^{-1} IAA tended to give the highest shoot number of 1.83 shoot with 0.52 cm shoot length, and 3.39 leaves, expanded shoots, long petioles and big leaves.

Keywords: Micropropagation, Australian Giant Waterlily, surface disinfectant

1. บทนำ

บัวยักษ์ออสเตรเลีย (Australian Giant Waterlily) จัดเป็นบัวสายเขตร้อนบานกลางวัน ในกลุ่มพรรณไม้น้ำที่มีชื่อเรียกรวมกันว่า อุบลชาติ อยู่ในสกุลย่อย *Anecphya* บัวชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดในทวีปออสเตรเลีย ซึ่งมีการกระจายตัวอยู่มากในตอนเหนือของทวีป จึงจัดว่าเป็นบัวเขตร้อนอย่างแท้จริง เป็นบัวที่ต้องการอุณหภูมิสูงในการเจริญเติบโต ลักษณะสำคัญที่ทำให้บัวยักษ์แตกต่างไปจากบัวสายชนิดอื่น ๆ ก็คือ การไม่มีรยางค์ที่เกสรเพศเมีย (carpellary style) และการที่มีเกสรเพศผู้จำนวนมากสีเหลือง รูปร่างเป็นเส้นแคบ งอโค้ง ไม่มีรยางค์ที่ปลายยอด บัวยักษ์ออสเตรเลียจัดว่าเป็นบัวสายที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ส่วนในด้านความแปลกและความดีเด่นหลายประการที่พบได้ในบัวกลุ่มนี้ หลายลักษณะเป็นสิ่งที่พึงประสงค์ของนักปรับปรุงพันธุ์ทั้งหลาย เช่น ความคงทนในการบานของดอกที่บานเกิน 3 วัน และความสามารถในการเปลี่ยนสีของดอกได้ รวมทั้งกลิ่นหอมของดอกบัวยักษ์ในบางสายพันธุ์ เมื่อนำมาผสมข้ามสกุลย่อยจะให้ลูกผสมที่มีลักษณะสวยงามและแปลกตาขึ้นได้อีกมากมาย ดังเช่น บัวลูกผสมข้ามสกุลย่อยที่มีชื่อว่า “ศรีชล”เป็นบัวลูกผสมระหว่างบัว 2 สกุลย่อย คือ บัวยักษ์ออสเตรเลียและบัวผันปรับปรุงพันธุ์ขึ้นโดย ผศ.ดร.ณ.นพชัย ชาญศิลป์ ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ภายใต้โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาพันธุ์บัวประดับโดยการผสมพันธุ์ข้ามสกุลย่อย บัวศรีชลได้รับรางวัลชนะเลิศจากสมาคมบัวและไม้น้ำนานาชาติ ประจำปี 2558 ถึง 3 รางวัล สร้างชื่อเสียงให้กับประเทศไทยเป็นอย่างมาก จัดเป็นบัวลูกผสมที่มีลักษณะสีที่โดดเด่นเปลี่ยนสีได้ บานได้ถึง 5 วัน เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ แต่บัวลูกผสมส่วนใหญ่มักจะขยายพันธุ์ตามธรรมชาติได้น้อยและใช้เวลานาน ส่งผลให้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด อีกทั้งมีตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวอุบลชาติสกุลย่อยของ *Nymphaea* ต่าง ๆ มาช่วยขยายพันธุ์บัว อาทิ บัวในสกุลย่อย *Brachyceras* เช่น *N.* ‘Daubeniana’ (Jenk *et al*., 1990) *N.* ‘Director G.T. Moore’ (นภาวรรณ และคณะ, 2549) *N.* ‘jongkolnee’ (สลิสา และคณะ, 2550; Donjanthong *et al*., 2014) *N.* hybrid (บัวทิพย์ และคณะ, 2555) สกุลย่อย *Castalia* เช่น *N.* ‘James Brydon’ (Lakshmanans, 1994) *N.* ‘Joey Tomocik’ (สุเม และคณะ, 2551) *N.* ‘Mangkala Ubol’ (บัวทิพย์ และคณะ, 2554) *N.* ‘Wanvisa’ (รุ่งอรุณ และคณะ, 2556) และสกุลย่อย *Lotos* เช่น *N. pubescens* (Ubonprasirt *et al*., 2011) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวในสกุล *Anecphya* หรือบัวยักษ์ออสเตรเลีย ดังนั้นการขยายพันธุ์บัวยักษ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งที่จะแก้ปัญหาดังกล่าวได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำยอดบัวยักษ์ออสเตรเลียโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับบัวลูกผสมข้ามสกุลย่อย และในการพัฒนาแก้ปัญหาด้านการผลิตต้นพันธุ์บัวเชิงการค้า ตลอดจนงานปรับปรุงพันธุ์บัวประดับเป็นพืชเศรษฐกิจของไทยต่อไปในอนาคต

2. วิธีการทดลอง

รายงานวิจัยฉบับนี้ประกอบด้วย 2 การทดลอง ดังนี้ การทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อโดยนำหัวบัวยักษ์มาตัดแต่งล้างน้ำทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานซันไลต์ให้สะอาดโดยผ่านน้ำไหล 2 ชั่วโมง นำชิ้นส่วนมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อ 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น ระยะเวลา และวิธีการต่าง ๆ กัน (โดยเครื่องล้างอัลตร้าโซนิกส์ใช้ความถี่ 100 กิโลเฮิรตซ์) ล้างน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที นำชิ้นส่วนเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS จำนวน 4 สิ่งทดลอง ๆ ละ 10 ซ้ำ บันทึกเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ การรอดชีวิต และลักษณะทั่วไป เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 30 วัน

การทดลองที่ 2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดโดยนำหัวบัวยักษ์ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ดีและเหมาะสมที่สุดจากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำยอดจากหัวบัวยักษ์ อายุ 14 วัน ขนาดกว้าง x ยาว (0.5 x 0.5) เซนติเมตร ที่ปลอดเชื้อลงเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA, IAA และ BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 9 สิ่งทดลอง ๆ ละ 6 ซ้ำ บันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบต่อยอด พร้อมบันทึกภาพ วิเคราะห์ข้อมูล และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การทดลองที่ 1 ผลการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อหัวบัวยักษ์ออสเตรเลียเมื่อนำหัวบัวยักษ์มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการ 4 วิธี พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อหัวบัวยักษ์ด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ตามด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 18 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอรอกซ์ 25 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที ไม่ร่วมกับการใช้เครื่องล้างอัลตร้าโซนิกส์ (วิธีที่ 1) ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนมีลักษณะทั่วไปมีแนวโน้มดีที่สุด (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1) การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวชิ้นส่วนพืช ควรใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่จะมีประสิทธิภาพในการทำลายสิ่งปนเปื้อนได้โดยไม่ทำลายชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งถ้าใช้สารที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปจะมีผลทำลายชิ้นเนื้อเยื่อ ถึงแม้ว่าจะให้ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อสูง (ศิวพงศ์, 2546) ดังในการทดลองของ Ubonprasirt *et al*. (2011) ที่ฟอกฆ่าเชื้อบัวสายด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อ 4 ชนิดเช่นเดียวกัน พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 30 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 9 เปอร์เซ็นต์ เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และคลอรอกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระยะเวลาในการฟอกที่เท่ากับการทดลองในครั้งนี้ตามลำดับ พบว่าให้เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และเป็นความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารฟอกทั้ง 4 ชนิด ที่ใช้ในการทดลอง รวมถึงมีการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ร่วมในการฟอกฆ่าเชื้อจะทำให้ได้ผลดียิ่งขึ้น ถึงแม้ว่าจะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ยังมีผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อพืชสูงเช่นกัน ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องด้วย เช่น พันธุกรรมของพืช การเตรียมต้นพันธุ์ ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์ จึงทำให้มีวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่างกัน (บุญยืน, 2544) ฉะนั้นในการฟอกฆ่าเชื้อหัวบัวยักษ์ออสเตรเลีย จึงเลือกวิธีการฟอกฆ่าเชื้อวิธีที่ 1 ซึ่งใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ความเข้มข้นต่ำสุด 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในการฟอกฆ่าเชื้อด้วยความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 4 ชนิดที่มีความเข้มข้น ระยะเวลาเท่ากันที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ และวิธีต่างกันตรงฟอกฆ่าเชื้อที่ไม่ร่วมและร่วมกับเครื่องล้างอัลตร้าโซนิกส์ พบว่าเมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ตามด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 18 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และ คลอรอกซ์ 25 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที ร่วมกับเครื่องล้างอัลตร้าโซนิกส์ (วิธีที่ 2) ให้เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเท่ากับวิธีการฟอกฆ่าเชื้อวิธีที่ 1 คือ 80 เปอร์เซ็นต์ แต่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าวิธีที่ 1 ที่ไม่ร่วมกับเครื่องล้างอัลตร้าโซนิกส์อาจเนื่องมาจากคลื่นเสียงอัลตร้าโซนิกส์ที่มีความแรงมากจะทำให้เกิดฟองอากาศ เกิดความดันสูง และเกิดความร้อนเฉพาะที่ ซึ่งเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยา เช่น เกิดการทำลายเอนไซม์ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น จัดเป็นคลื่นเสียงที่ค่อนข้างปลอดภัย ไม่ก่อมลภาวะ มีความถี่สูงมากกว่า 20 กิโลเฮิรตซ์ จนถึง 10^6 กิโลเฮิรตซ์ ซึ่งความถี่สูงนี้ก่อให้เกิดผลทางเคมี ผลทางชีววิทยา และผลทางฟิสิกส์ เครื่องล้างทั่วไปมีความถี่ในช่วง 35-60 กิโลเฮิรตซ์ ความถี่ที่สูงกว่าจะสร้างฟองอากาศขนาดเล็กได้ดีกว่า แต่การเกิดฟองอากาศจะน้อยกว่าทำให้สามารถแทรกเข้าไปล้างสิ่งสกปรกขนาดเล็กได้ดีกว่า (ชูชาติ, 2544) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ใช้ความถี่ 100 กิโลเฮิรตซ์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสะอาดของชิ้นส่วนที่ต้องสัมผัสกับสารฟอกฆ่าเชื้ออีกด้วย

การทดลองที่ 2 ผลการศึกษาการชักนำยอดบัวยักษ์ออสเตรเลีย จากการทดลองเมื่อนำชิ้นส่วนยอดบัวยักษ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA, IAA และ BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0, 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอด คือ อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแนวโน้มให้จำนวนยอดมากที่สุดคือ 1.83 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน (*P>0.05*) จากชิ้นส่วนยอดที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่ให้ลักษณะทั่วไปที่มีแนวโน้มดีกว่า คือ ยอดอวบ ก้านใบอวบและยาว ใบใหญ่ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2) การเพิ่มจำนวนยอดได้นั้นเป็นผลมาจากการเติมไซโทไคนินความเข้มข้นสูง และเติมออกซินความเข้มข้นต่ำ จะสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดยอดได้ดี ไซโทไคนินจะมีผลต่อระดับการเกิดตายอด และเพิ่มการแบ่งเซลล์ ซึ่งการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารที่มีไซโทไคนินความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นมักจะได้จำนวนยอดที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Pierik *et al.*, 1982) เนื้อเยื่อหรือชิ้นส่วนพืชสามารถพัฒนาเปลี่ยนเป็นอวัยวะโดยผ่านกระบวนการกำเนิดอวัยวะถ้าได้รับออกซินและไซโทไคนินในอัตราที่เหมาะสม (รังสฤษดิ์, 2540) สอดคล้องงานวิจัยของบัวทิพย์ และคณะ (2555) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวผันโดยนำหัวของบัวผันมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA, 2iP และ TDZ ร่วมกับ NAA และ IAA ความเข้มข้น 0, 2, 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด 2.75 ยอด ขณะที่การทดลองของเยาวมาลย์ และปิยะวดี (2555) ที่ศึกษาผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดบัวฉลองขวัญในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงหัวย่อยบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0, 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ (0, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) และเททับด้วยน้ำกลั่น เป็นเวลา 45 วัน พบว่าที่ BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (2 มิลลิกรัมต่อลิตร) เกิดยอดมากที่สุด 8 ยอดต่อหัว

4. สรุปผล

1. วิธีการฟอกฆ่าเชื้อหัวบัวยักษ์ออสเตรเลียที่เหมาะสมคือ ฟอกด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที ตามด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 18 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอรอกซ์ 25 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที ไม่ร่วมกับเครื่องล้างอัลตร้าโซนิก ซึ่งทำให้ชิ้นส่วนมีการปลอดเชื้อ 80 เปอร์เซ็นต์ และมีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

2. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดบัวยักษ์ออสเตรเลีย คือ อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีแนวโน้มชักนำให้ชิ้นส่วนยอดบัวยักษ์เกิดยอดมากที่สุด 1.83 ยอดต่อชิ้นส่วน

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ และการรอดชีวิตจากการเพาะเลี้ยงหัวบัวยักษ์ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน

วิธีการฟอกที่	การปลอดเชื้อ (%)	การรอดชีวิต (%)
1. Ethanol 50% 1 นาที + H_2O_2 18% 5 นาที + $HgCl_2$ 0.2% 15 นาที + Clorox 25% 15 นาที	80	100
2. Ethanol 50% 1 นาที + H_2O_2 18% 5 นาที + $HgCl_2$ 0.2% 15 นาที + Clorox 25% 15 นาที + Ultrasonic	80	80
3. Ethanol 70% 1 นาที + H_2O_2 30% 5 นาที + $HgCl_2$ 0.3% 15 นาที + Clorox 30% 15 นาที	70	60
4. Ethanol 70% 1 นาที + H_2O_2 30% 5 นาที + $HgCl_2$ 0.3% 15 นาที + Clorox 30% 15 นาที + Ultrasonic	90	80

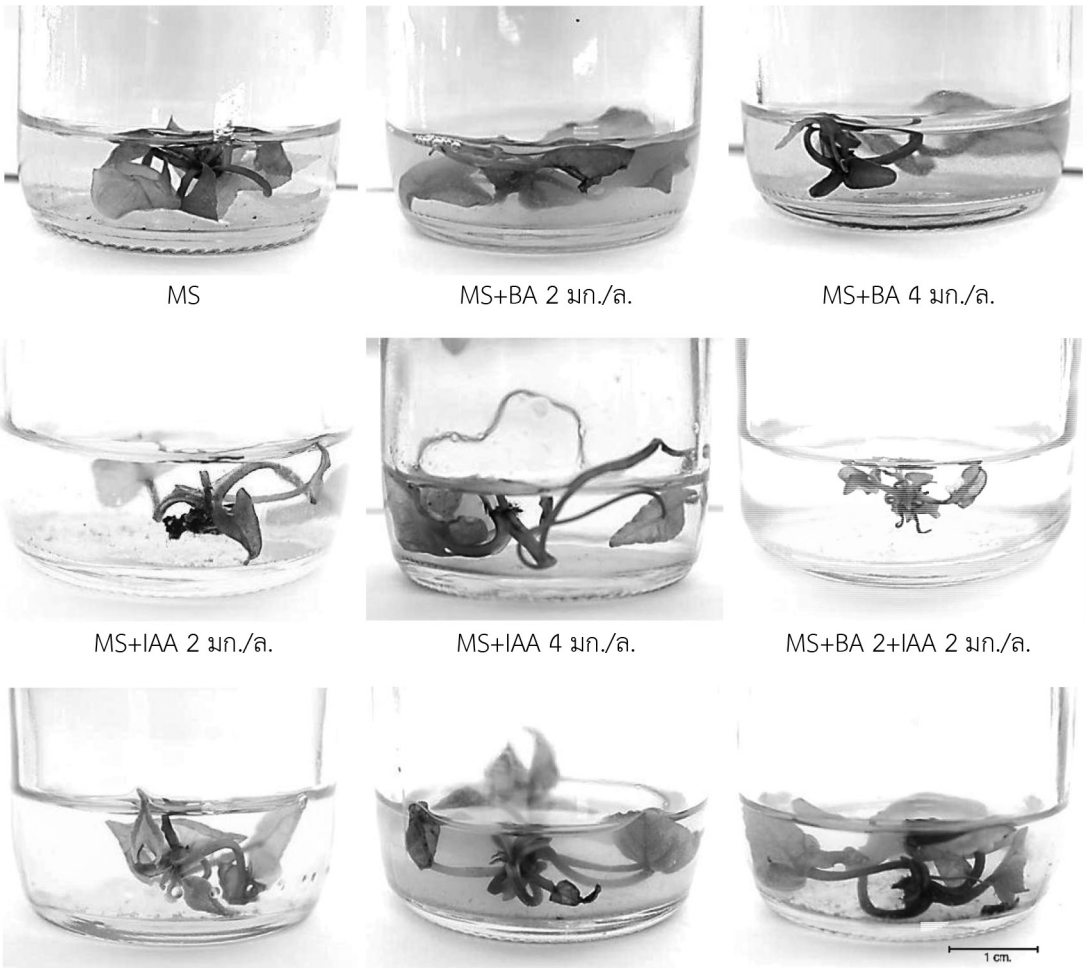
วิธีที่ 1 วิธีที่ 2 วิธีที่ 3 วิธีที่ 4

ภาพที่ 1 ลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหัวบัวยักษ์ออสเตรเลีย หลังจากการฟอกฆ่าเชื้อ 4 วิธี และเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยจำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบบัวยักษ์ออสเตรเลีย จากการเพาะเลี้ยงยอดในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 30 วัน

สูตรอาหาร (มก./ล.)	จำนวนยอด ต่อชิ้นส่วน	ความยาวยอด (ซม.) ต่อชิ้นส่วน	จำนวนใบ ต่อยอด
MS	1.17	0.50	3.92
MS+BA 2	1.50	0.52	3.33
MS+BA 4	1.17	0.52	4.00
MS+IAA 2	1.00	0.52	4.33
MS+IAA 4	1.17	0.50	2.25
MS+BA 2 + IAA 2	1.00	0.50	2.67
MS+BA 2 + IAA 4	1.00	0.52	2.83
MS+BA 4 + IAA 2	1.83	0.52	3.39
MS+BA 4 + IAA 4	1.67	0.50	4.33
F-test	ns	ns	ns
CV. (%)	54.93	5.98	58.36

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s new multiple range test
ns ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 2 ลักษณะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนยอดบัวยักษ์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ 30 วัน

5. กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

6. เอกสารอ้างอิง

ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2544. **เครื่องมือวิทยาศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น : โรงพิมพ์คลังนานา.

นภาวรรณ ผลมณี, กัญจนา แซ่เตียว และสุเม อรัญนารถ. 2549. **ผลของ IAA และ 2iP ต่อการเพิ่มปริมาณบัวประดับพันธุ์ไดเร็คเตอร์จีทีมัวร์**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 37 (6) (พิเศษ): 793-796.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น : โรงพิมพ์คลังนานา.

บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ, ณ. นพชัย ชาญศิลป์, สรรลาภ สงวนดีกุล และ รุ่งอรุณ ดอนจันทร์ทอง. 2554. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวฝรั่งมังคลอุบล**. น. 35-41, ใน เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการการพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจ ครั้งที่ 9 ในงานมหกรรมพืชสวนโลกเฉลิมพระเกียรติฯ ราชพฤกษ์ 2554 21-23 ธันวาคม 2554. ณ โรงแรมเซ็นทารา ดวงตะวัน จังหวัดเชียงใหม่.

_____. 2555. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวสายเขตร้อนบานกลางวัน (*Nymphaea Hybrid*)**, น. 68-75 *ใน* เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ. การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจ ครั้งที่ 10 วันที่ 17-18 ส.ค. 2555. ณ สวนสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ, กรุงเทพฯ.

เยาวมาลย์ น้อยใหม่ และปิยะวดี เจริญวัฒนะ. 2555. **ผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดของบัวฉลองขวัญในสภาพปลอดเชื้อ**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39 (3) (พิเศษ): 207-210.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม.

รุ่งอรุณ ดอนจันทร์ทอง, บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ, สรรลาภ สงวนดีกุล และ ณ. นพชัย ชาญศิลป์. 2556. ผลของ 2iP TDZ และ NAA ที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุบลชาติยืนต้นพันธุ์วันวิสาข์. *ใน* The Proceeding of Rmutto Research Conference 2013. ครั้งที่ 6 วันที่ 15-17 พ.ค. 2556. ณ. โรงแรมชลจันทร์ รีสอร์ท พัทยา, ชลบุรี.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. อุดรธานี : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี

สลิสา อุดร สุริยา ตันติวิวัฒน์ และมาลี ณ นคร. 2550. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวจงกลนี**. น. 133-138 *ใน* The Proceeding of IWGS Annual Symposium 2007. การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจ ครั้งที่ 5 วันที่ 19-20 ก.ค. 2550. ณ สวนหลวง ร.9, กรุงเทพฯ.

สุเม อรัญนารถ, กัญจนา แซ่เตียว และวีรา คล้ายพุก. 2551. **ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณอุบลชาติพันธุ์โจอี้ โทโมคิค โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39 (3) (พิเศษ): 207-210.

Donjanthong R., Sanguandeekul S., Puripunyavanich V. and Boonsirichai K. 2014. **Effects of BA and IAA on Shoot Formation of *Nymphaea* 'jongkolnee' *In vitro*** (Poster Presentation). Burapha University International Conference 2014 Global Warming and It Impacts. July 3-4, 2014. Dusit Thani Hotels & Resorts, Pattaya, Thailand

Jenks, M. A., M. E. Kane, F. Marousky, D. McConnell and T. Sheehan 1990. ***In vitro* establishment and epiphyllous plantlet regeneration of *Nymphaea* 'Daubeniana'**. Hort. Science. 25: 1664.

Lakshmanan, P. 1994. ***In vitro* establishment and multiplication of *Nymphaea* hybrid 'James Brydon'**. Plant Cell Tissue and Organ Culture 36: 145-148.

Murashige, T. and F. Skooge. 1962. A **Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures**. Physiologia Plantarum 15 : 473-497.

Pierik, R.L.M., H.H.M. Stergmans, J.A.M. Verhaeghand and A.N. Wouters. 1982. **Effect of cytokinin and cultivar on shoot formation of Gerbera jamesonii**. *In vitro*. Neth. J. Agric.Sci. 30 : 341-346.

Ubonprasirt B., Chansilpa N. N. and Donjanthong R. 2011. **Micropropagation of Tropical night blomming waterlily (*Nymphaea pubescens*)**. Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal 4(2) : 10-15.