

ชื่องานวิจัย

การขยายพันธุ์หญ้าหวานโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจุ่ม
แช่ชั่วคราว

ชื่อผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิตติศักดิ์ โชติกเดชานรงค์

ปีงบประมาณ

2560

บทคัดย่อ

การศึกษาการขยายพันธุ์หญ้าหวานด้วยระบบจุ่มแช่ชั่วคราว (TIB) โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชได้แก่ ปัจจัยแรก คือ ความถี่ในการเติมอาหารโดยการนำขึ้นส่วนข้อของหญ้าหวานซึ่งมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยประมาณ 0.0187 g ไปเลี้ยงในระบบ TIB โดยเติมอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ Kinetin 3 mg/L ครั้งละ 3 นาที ทุก ๆ 3, 4, 6, 8 และ 12 ชั่วโมง ทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 45 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำมาวัดจำนวนยอด และน้ำหนักแห้งพบว่าชุดการทดลองที่เติมอาหารวันละ 8 ครั้ง หรือทุก ๆ 3 ชั่วโมง มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงสุด คือ 0.0408 g และให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 3.6000 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จากนั้นจึงศึกษาปัจจัยที่สอง คือ ระยะเวลาในการเติมอาหาร เนื่องจากการทดลองที่ 1 พบว่าขึ้นส่วนหญ้าหวานภายหลังการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยเติมอาหารครั้งละ 3 นาที ทุก ๆ 3 ชั่วโมง สามารถชักนำให้ขึ้นส่วนมีน้ำหนักแห้ง และจำนวนยอดมากที่สุด ดังนั้นจึงกำหนดให้ความถี่ในการเติมอาหารเท่ากัน คือ เติมน้ำอาหารทุก ๆ 3 ชั่วโมง แต่ในแต่ละครั้งจะมีการเติมน้ำอาหารด้วยช่วงเวลาที่แตกต่างกัน คือ 1, 3, 5, 7 และ 10 นาทีต่อครั้ง ทุก ๆ 3 ชั่วโมง ทำการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่เติมน้ำอาหารครั้งละ 3 นาที จะให้น้ำหนักแห้ง และจำนวนยอดสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คือ 0.0405 กรัม และ 3.6000 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ และจากการทดลองที่ 1 และ 2 พบว่าขึ้นส่วนหญ้าหวานภายหลังการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยเติมน้ำอาหารครั้งละ 3 นาที ทุก ๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถชักนำให้ขึ้นส่วนมีน้ำหนักแห้ง และจำนวนยอดมากที่สุด ดังนั้นในการทดลองที่ 3 จึงได้นำชุดการทดลองดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่าความเร็ว 110 รอบต่อนาที และการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น โดยให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เช่นเดียวกัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB จะทำให้ได้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.0405 กรัม ซึ่งมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว และอาหารวุ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB และอาหารวุ้นให้จำนวนยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 3.6000

และ 3.1429 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อตามลำดับ และอาหารเหลวทำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยได้น้อยที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ดังนั้นการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของหน่อยาวในระบบ TIB โดยการเติมอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 3 mg/L น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 5.9 ครั้งละ 3 นาที ทุก ๆ 3 ชั่วโมง โดยนำไปเลี้ยงในสภาวะให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะสามารถชักนำให้ได้น้ำหนักแห้งมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว และบนอาหารวุ้น นอกจากนี้ยังพบว่า สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวอีกด้วย การเพาะเลี้ยง ด้วยระบบ TIB จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตต้นอ่อนหน่อยาวในระดับอุตสาหกรรมต่อไป



The Title : Micropropagation of Stevia by Tissue Cultures in Temporary Immersion System

The Author : Asst. Prof. Dr. Kittisak Chotikadachanarong

Year : 2017

ABSTRACT

The study of Stevia growth and development factors for micropropagation in Temporary Immersion bioreactor (TIB). First factor, Immersion frequency, was study by *In vitro* Stevia nodal explants (0.0187 g DW.) were cultured in TIB with liquid MS medium supplemented with Kinetin 3 mg/L. Media were fed with air flow regulated using automatic timer with immersion frequency of 3 minutes every 3, 4, 6, 8 and 12 hour period. Cultures were cultivated in 25°C, photoperiod of 16 h for 4 weeks. It was found that treatment of immersion frequency of 3 minutes every 3 hour period showed the highest average dry weight (0.0408 g DW.) and shoot production (3.6000 shoots per explant) with significantly. Then, immersion period was study by explants were cultured in TIB with immersion periods of 1, 3, 5, 7 and 10 minutes every 3 hour period. Cultures were cultivated in 25°C, photoperiod of 16 h for 4 weeks. The result also showed that immersion frequency of 3 minutes every 3 hour period produced the highest average dry weight (0.0405 g DW.) and shoot production (3.6000 shoots per explant) with significantly. Finally, culture condition was study by nodal explants were cultured in liquid MS medium supplemented with Kinetin 3 mg/L agitated at 110 rpm, agar MS medium supplemented with Kinetin 3 mg/L and TIB with immersion periods of 3 minutes every 3 hour period. All cultures were cultivated in 25°C, photoperiod of 16 h for 4 weeks. The was found that TIB showed the highest average dry weight (0.0405 g DW.) with significantly. However, TIB and agar media induced shoot production at 3.6000 and 3.1429 shoots per explant, respectively higher than liquid medium with significantly. The results indicated that TIB system can be used for Stevia micropropagation and this system can be used for plant industry.