วว•TISTR

โครงการวิจัยที่ ภ.55-02/ย.4/รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)

การวิจัยและพัฒนาการผลิต ต้นพันธุ์เบญจมาศปลอดโรค เพื่อการส่งเสริมและถ่ายทอด

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ.55-02
การพัฒนาเบญจมาศสายพันธุ์ใหม่เพื่อเพิ่มศักยภาพในการใช้ประโยชน์
และยกระดับคุณภาพผลิตภัณฑ์

โครงการย่อยที่ 4
การวิจัยและพัฒนาการผลิตต้นพันธุ์เบญจมาศปลอดโรคเพื่อการส่งเสริมและถ่ายทอด

รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)
การวิจัยและพัฒนาการผลิตต้นพันธุ์เบญจมาศปลอดโรคเพื่อการส่งเสริม และถ่ายทอด

โดย
สมนึก ชัยดรุณ
อิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร

บรรณาธิการ
นฤมล รื่นไวย์
บุญเรียม น้อยชุมแพ
สลิลดา พัฒนศิริ

วว., ปทุมธานี 2559
สงวนลิขสิทธิ์

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย
ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

นางลักษมี ปลั่งแสงมาศ
ผู้ว่าการ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณสมบูรณ์ สิงกิ่ง นายกองค์การบริหารส่วนตำบลไทยสามัคคี อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ที่ให้การสนับสนุนพื้นที่ในการทำแปลงทดลองเบญจมาศในโครงการการวิจัยและพัฒนาการผลิตต้นพันธุ์เบญจมาศปลอดโรคเพื่อการส่งเสริมและถ่ายทอดจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญตาราง	ค
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	2
1. บทนำ	3
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	6
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์	16
4. สรุปผลการวิจัย	25
5. แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์	26
6. ข้อเสนอแนะ	27
7. เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก	29

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1.	การตอบสนองของชิ้นส่วนดอกเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA (คิดเป็นร้อยละ)	16
ตารางที่ 2.	จำนวนต้นเฉลี่ยที่เกิดจากข้อของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี GA3, BAP และ IAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ	17
ตารางที่ 3.	การตอบสนองของชิ้นส่วนปล้องของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 สูตร	20
ตารางที่ 4.	การตอบสนองของชิ้นส่วนข้อของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 สูตร	21
ตารางที่ 5.	การตอบสนองของแผ่นใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	22
ตารางที่ 6.	การตอบสนองของชิ้นส่วนปล้อง ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	23
ตารางที่ 7.	การเกิดต้นจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของเบญจมาศ 16 สายพันธุ์ ในสูตรอาหารที่มี kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	24

RESEARCH AND DEVELOPMENT IN PRODUCING DISEASE-FREE CHRYSANTHEMUM FOR PROMOTION AND TECHNOLOGY TRANSFER

Somnuk Chaidaroon and Ittirit Ungvichien

ABSTRACT

Shoot induction together and callus induction of *Chrysanthemum morofolium* could be achieved through different explants even if cultured on the same media. Shoot induction could be obtained from single - node stem segments explants whereas the number of shoots was different according to cultivars and media.

Moreover, shoot induction of each cultivar was succeeded from internode - stem segment explants cultured on optimum media while leaf explants cultured in callus induction media, MS medium with 2 mg/l 2,4 - D. On the other hand, shoot induction from leaf explants of some cultivars obtained as cultured on MS medium with combinations of cytokinins. Furthermore, shoot induction from callus, MS medium with 2 ppm of Kinetin was the optimum media. Details of responses to media of each cultivar were as shown in experimental results.

การวิจัยและพัฒนาการผลิตต้นพันธุ์เบญจมาศปลอดโรคเพื่อการส่งเสริมและถ่ายทอด

สมนึก ชัยดรุณ[1] และอิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร[1]

บทคัดย่อ

เบญจมาศแต่ละสายพันธุ์สามารถเกิดเป็นต้นและเกิดเป็นแคลลัสจากชิ้นส่วนของดอกแตกต่างกันไป ถึงแม้จะเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกัน การเพาะเลี้ยงส่วนข้อจะสามารถทำให้เกิดยอดอ่อนได้ทุกสายพันธุ์ แต่จำนวนยอดที่เกิดจะแตกต่างกันไปตามแต่ละสายพันธุ์และสูตรอาหาร.

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องจะสามารถเพาะเลี้ยงและเกิดเป็นต้นอ่อนได้เลยหากเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสมกับแต่ละสายพันธุ์ สำหรับการเพาะเลี้ยงแผ่นใบ การใช้สูตรอาหาร MS ที่มี 2,4-D 2 PPM จะทำให้เกิดแคลลัสได้ทุกสายพันธุ์ และบางสายพันธุ์ก็สามารถเกิดเป็นต้นอ่อนจากแผ่นใบได้โดยตรงโดยไม่ผ่านการเกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีสารในกลุ่มของ cytokinin รวมอยู่ด้วย. สำหรับการทดสอบการเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหาร MS ที่มี Kinetin ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดเป็นต้นอ่อนนั้น พบว่า อาหารที่มี Kinetin 2 ppm. จะสามารถกระตุ้นให้เกิดต้นอ่อนได้ดีที่สุด รายละเอียดการตอบสนองของแต่ละสายพันธุ์ที่มีกับแต่ละสูตรอาหารจะกล่าวถึงในส่วนของผลการทดลอง.

----

[1]ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

1. บทนำ

ในปัจจุบันเบญจมาศเป็นไม้ดอกที่ได้รับความนิยมในประเทศไทย การผลิตเบญจมาศในรูปของไม้ตัดดอกจำเป็นต้องมีการใช้ไฟฟ้าในการให้แสงสว่างเพื่อบังคับหรือควบคุมไม่ให้มีการสร้างตาดอกเร็วเกินไป การควบคุมการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืช ระบบจัดการต่างๆ ในการเขตกรรมเบญจมาศจัดเป็นปัจจัยสำคัญและเป็นองค์ประกอบในระบบการผลิต เพื่อผลผลิตที่มีคุณภาพและมาตรฐาน.

ปัญหาโรคแมลงเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่จะต้องให้ความสนใจอย่างจริงจัง เนื่องจากเบญจมาศมีโรคและแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายค่อนข้างมาก ประกอบกับการใช้กิ่งพันธุ์ที่ไม่ปลอดโรค จะทำให้เกษตรกรสูญเสียทั้งต้นทุนและรายได้เนื่องจากไม่สามารถเก็บผลผลิต.

มีเชื้อก่อโรคหลายชนิดที่สามารถระบาดและติดไปกับท่อนหรือกิ่งพันธุ์พืชได้อย่างง่ายดายหากไม่มีเทคโนโลยีการผลิตกิ่งพันธุ์ที่เหมาะสม เบญจมาศเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่ทำการขยายพันธุ์ด้วยกิ่งพันธุ์ ซึ่งโดยทั่วไป เกษตรกรมักจะทำการเก็บยอดในแปลงปลูกเพื่อเก็บและขยายพันธุ์ต่อไปเพื่อเป็นท่อนพันธุ์สำหรับการปลูกในฤดูต่อๆ ไป แต่หากต้นเบญจมาศในแปลงปลูกไม่มีการป้องกันการเข้าทำลายของแมลงและเชื้อก่อโรคได้ดีพอ กิ่งพันธุ์ที่เก็บมาแล้วนำไปขยายพันธุ์ต่อก็จะมีเชื้อก่อโรคติดไปด้วย.

การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีจะเป็นก้าวแรกของการพัฒนาระบบการผลิตผลิตผลทางการเกษตร เพื่อให้สามารถแข่งขันกับตลาดการค้าโลก แต่หากการวิจัยดังกล่าวไม่สามารถส่งไปถึงมือของเกษตรผู้ผลิตจริงๆ แล้ว การทุ่มเงินงบประมาณเพื่อการวิจัยก็จะเป็นการสูญเปล่า จากการที่ชุดโครงการวิจัยนี้เป็นโครงการพัฒนาสร้างสายพันธุ์เบญจมาศสายพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อให้สามารถรองรับความต้องการของตลาด รวมไปถึงการพัฒนาเทคโนโลยีการเขตกรรมเพื่อให้มีประสิทธิภาพและลดต้นทุนการผลิตแล้ว การส่งเสริมการใช้สายพันธุ์ใหม่จึงจำเป็นจะต้องมีการสร้างระบบการผลิตกิ่งพันธุ์เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการ รวมทั้งต้องมีระบบการผลิตกิ่งพันธุ์ที่มีคุณภาพโดยเฉพาะกิ่งพันธุ์ปลอดโรค ประกอบการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตทั้งระบบไปสู่เกษตรกร เพื่อให้เกษตรกรสามารถผลิตเบญจมาศที่มีคุณภาพและพัฒนาระบบการผลิตทางการเกษตรอย่างยั่งยืน.

เบญจมาศ (*Dendranthema grandiflora*) ชื่อเดิม *Chrysanthemum morifolium* เป็นไม้ล้มลุกขนาดเล็กที่มีดอกสีสันสดใส สูงประมาณ 1–3 ฟุต ใบเรียวขอบใบหยัก, สีเขียวอ่อนนุ่ม, มีขนอ่อนทั่วทั้งใบ, ดอกกลมกลีบดอกจะซ้อนกันมีหลากหลายสี. ประเทศไทยนิยมปลูกเบญจมาศดอกช่อมากกว่าดอกเดี่ยวเนื่องจากดูแลรักษาง่าย สามารถผลิตเบญจมาศได้คุณภาพดีในช่วงฤดูกาลผลิต คือ ตั้งแต่เดือนกันยายนถึงมีนาคม การผลิตนอกฤดูมักปลูกในที่สูง หากปลูกในที่ราบจะให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ ผลผลิตไม่ต่อเนื่อง เป็นผลให้มีการนำเข้าเบญจมาศจากมาเลเซียในปริมาณมาก.

การผลิตต้นแม่พันธุ์ในปัจจุบันมีบางส่วนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากสามารถผลิตให้ได้ปริมาณมากและปลอดโรค ต้นกล้ามีความแข็งแรงและสม่ำเสมอ เมื่อได้ต้นแม่พันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วนำมาอนุบาลในโรงเรือนที่มีการจัดการที่ดี มีการควบคุมสภาพแวดล้อม อาทิ แสง, ความชื้น, วัสดุปลูก, วิธีเก็บเกี่ยวกิ่งพันธุ์จากต้นแม่พันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณเพื่อให้ได้กิ่งพันธุ์ที่มีสภาพสมบูรณ์, แข็งแรง, ปลอดโรค พร้อมที่จะนำไปปลูกในแปลงที่เตรียมไว้ต่อไป. Budiarto and Marwoto (2009) ได้มีการศึกษาวิธีการผลิตกิ่งพันธุ์ของเบญจมาศที่ปลูกเป็นการค้าทั้งหมด 12 สายพันธุ์ โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระบบการผลิตต้นแม่พันธุ์ในสภาพแปลงเปิด เปรียบเทียบกับสภาพในโรงเรือนหลังคาพลาสติก และพบว่าการผลิตต้นแม่พันธุ์เบญจมาศทุกสายพันธุ์ในสภาพโรงเรือนที่มีหลังคาพลาสติกจะให้ผลผลิตกิ่งพันธุ์ที่ดีกว่าในสภาพแปลงเปิดทั้งทางด้านการผลิตและคุณภาพของกิ่งพันธุ์ที่ผลิตได้ แต่เกษตรกรส่วนใหญ่ยังใช้กิ่งพันธุ์ที่ได้จากการเก็บรักษาและเพิ่มปริมาณด้วยตนเอง ทำให้กิ่งพันธุ์ที่ได้ไม่แข็งแรงและไม่ปลอดโรค.

การพัฒนาระบบการผลิตต้นกล้าปลอดโรคภายในโรงเรือนจากต้นพันธุ์ที่ผ่านขบวนการเทคโนโลยีชีวภาพ นับว่าเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรสามารถผลิตต้นพันธุ์ปลอดโรคได้เองเพื่อพัฒนาเบญจมาศให้สามารถแข่งขันกับต่างประเทศได้.

ปัจจุบันสายพันธุ์เบญจมาศส่วนใหญ่ที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพืชวันสั้น (Short-day plants หรือ SDPS) คือ พืชที่ออกดอกเมื่อได้รับช่วงแสงสั้นกว่าช่วงวันวิกฤต (critical day length) ซึ่งหมายความว่าหากปลูกเบญจมาศแล้วให้ได้รับแสงในช่วงกลางวันสั้นกว่า 14.5 ชั่วโมง เบญจมาศจะเริ่มสร้างตาดอกและจะมีดอกที่สมบูรณ์เมื่อได้อยู่ในช่วงวันที่สั้นกว่า 13.5 ชั่วโมง, ดังนั้น หากปลูกเบญจมาศในช่วงวันที่ยาวกว่า 13.5 ชั่วโมง เบญจมาศจะให้ดอกทั้งที่ยังเป็นต้นเล็กอยู่และดอกที่ได้จะไม่สมบูรณ์ โดยปรกติเกษตรกรจะให้แสงสว่างในช่วงเวลา 22.00 น. ถึง 02.00 น. จากหลอดไฟโดยมีปริมาณแสงประมาณ 80–100 ลักซ์ ทั้งนี้จะยึดหลักที่ไม่ให้เบญจมาศต้องอยู่ในสภาพมืดเป็นระยะ

เวลานานเกินกว่า 4 ชั่วโมง, ทั้งนี้จะเริ่มให้แสงตั้งแต่เริ่มปลูกใหม่ๆ จนกว่าต้นเบญจมาศที่ปลูกจะมีความสูงประมาณ 30 เซนติเมตร จึงจะปล่อยให้ได้รับแสงปรกติ แต่หากช่วงกลางวันมีช่วงสว่างยาวนานกว่า 13.5 ชั่วโมง จำเป็นที่จะต้องใช้ผ้าพลาสติกสีดำคลุมแปลงเพื่อป้องกันแสงและให้ต้นเบญจมาศได้รับแสงไม่เกิน 13.5 ชั่วโมง (ทีฆชุณหเถียร 2549).

สายพันธุ์เบญจมาศจัดจำแนกตามรูปทรงของดอกซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะของกลีบดอกและการจัดเรียงของกลีบดอก ซึ่งมีหลายแบบ อาทิเช่น ลักษณะดอกชั้นเดียวคล้ายดอกเดซี่ มีกลีบดอกชั้นนอก 1-2 ชั้น และกลีบดอกชั้นในแบนราบอยู่ส่วนกลางของดอก เช่น พันธุ์เรแกน, จูโน, โกลเด้น, วา, ลังเกน หรือลักษณะคล้ายดอกชั้นเดียวแต่กลีบชั้นในยาวกว่าโดยจะยืดออกและมีลักษณะเป็นหลอดทำให้ส่วนกลางของดอกโป่งขึ้น และบางครั้งกลีบดอกชั้นในมีสีแตกต่างจากกลีบดอกชั้นนอก เช่น พันธุ์พูม่า นอกจากนี้ ยังมีอีกลักษณะหนึ่งคล้ายแมงมุม หรือที่เรียกว่า spider ประกอบด้วยกลีบชั้นนอกเป็นส่วนใหญ่, เรียว, เล็ก, ปลายโค้งคล้ายขาแมงมุม เป็นต้น (จันทร์แดง 2549).

เนื่องจากที่ผ่านมา เกษตรกรมักจะใช้วิธีการขยายพันธุ์เบญจมาศจากการเด็ดยอดและปักชำมาโดยตลอด ทำให้กล้าที่ได้ไม่สมบูรณ์ และมีผลผลิตต่ำ การวิจัยครั้งนี้จึงดำเนินเพื่อศึกษาและพัฒนาการผลิตกล้าเบญจมาศโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นกล้าที่สมบูรณ์และปลอดโรค ซึ่งเป็นผลให้เกษตรกรมีรายได้จากการปลูกมากขึ้นตามไปด้วย โดยมีหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมส่งเสริมการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานที่มีห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถใช้องค์ความรู้จากการศึกษานี้ไปใช้เพื่อการผลิตต้นกล้าเบญจมาศที่มีคุณภาพเพื่อการจำหน่ายจ่ายแจกให้กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเบญจมาศ นำไปใช้เป็นต้นแม่พันธุ์เพื่อการผลิตต้นกล้าผลิตไม้ตัดดอกหรือไม้กระถางที่มีคุณภาพต่อไป.

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุทดลอง

สายพันธุ์เบญจมาศ จำนวน 21 สายพันธุ์ คือ M29, M27, M1, M30, M03, M5, M31, M07, M7, M05, M11, M16, M14, MC01, M0, M09, M10/1, M08, M12, M24 และ M20.

2.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ลำดับที่	ชื่อวัสดุ-อุปกรณ์	รุ่น/ยี่ห้อ	บริษัทผู้ผลิต/จำหน่าย
1	ตู้ควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking incubator)	WIS-010RL	บริษัทกิบไทย จำกัด.
2	หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave HIRAYAMA)	HV-50	บริษัทเบคไทย กรุงเทพ-อุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด.
3	ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) 1-5 มิลลิลิตร	BR 5000	บริษัทไบโอ-ราดแลบ-บอราทอรีส์ จำกัด
4	ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) 100-1000 ไมโครลิตร	BR1000 100-1000 µl	บริษัทไบโอ-ราดแลบ-บอราทอรีส์ จำกัด
5	เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH meter)	pH500 Cyberscan	บริษัทเบคไทย กรุงเทพ-อุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด.
6	เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ (Electronics Balance Precisa) ทศนิยม 2 ตำแหน่ง	2200C SCS	บริษัทเบคไทย กรุงเทพ-อุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด.
7	เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ (Electronics Balance Precisa) ทศนิยม 2 ตำแหน่ง	205A SCS	บริษัทเบคไทย กรุงเทพ-อุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด.
8	เครื่องกรองและปรับลดประจุไอออนน้ำ LABCONCO	WATER PRO\RO	บริษัทเบคไทย กรุงเทพ-อุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด.
9	เครื่องกรองและปรับลดประจุไอออนน้ำ LABCONCO	WATER PRO\PS	บริษัทเบคไทย กรุงเทพ-อุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด.

ลำดับที่	**ชื่อวัสดุ-อุปกรณ์**	**รุ่น/ยี่ห้อ**	**บริษัทผู้ผลิต/จำหน่าย**
10	ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow super clean)	120 BSD	บริษัทเมเจอร์แลบ จำกัด.
11	ตู้ดูดควัน (Fume hood)	-	บริษัทศรีไทยคลาสสิคโฮม จำกัด.
12	ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Clean room)	รุ่น Class 10000	บริษัทแอร์บอร์น เอ็น-จิเนียริ่ง จำกัด.
13	นาฬิกาจับเวลาแบบดิจิทัล (Digital timer).	-	บริษัทกิบไทย จำกัด.
14	ตู้เย็น BRANDT	รุ่น CVB 340	บริษัทเบคไทย กรุงเทพ-อุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด.

วัสดุ-อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 250, 500, 1,000 และ 5,000 มิลลิลิตร.
2. กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100 และ 2,000 มิลลิลิตร.
3. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100, 500, 1,000 มิลลิลิตร.
4. ขวดใส่สาร (Duran Bottle) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร.
5. ขวดแก้วพร้อมฝานึ่ง ขนาด 2, 4 และ 8 ออนซ์.
6. ขวดน้ำกลั่น (Water bottle).
7. กรวยกรอง (Glass funnel).
8. ช้อนตักสาร.
9. หม้อต้มสาร.
10. แท่งแก้วคนสาร.
11. Tip ขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร.
12. ด้ามมีดผ่าตัด เบอร์ 3 และเบอร์ 4.
13. ใบมีดผ่าตัด เบอร์ 11 และเบอร์ 20.
14. ชั้นตะแกรงวางอุปกรณ์ในตู้เขี่ยเชื้อ.
15. ปากคีบ.
16. กระบอกแอลกอฮอล์.
17. ตะเกียงแอลกอฮอล์.

18. กระดาษ/จานรองตัด.
19. กรรไกร.
20. ไม้ขีด.
21. ผ้าขาวบาง.
22. ถาดวางพักต้นกล้า.
23. ถาดหลุม.
24. วัสดุปลูก.
25. น้ำยากันเชื้อรา.
26. ภาชนะสำหรับใส่น้ำ.

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

ลำดับที่	ชื่อสารเคมี	ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	บริษัท จำหน่าย/ ผู้ผลิต	ประเทศ
1	แอมโมเนียมไนเทรต	Ammonium nitrate	NH_4No_3	J.T Baker	เยอรมนี
2	โพแทสเซียมไนเทรต	Potassium nitrate	KNO_3	Ajax-Fine	นิวซีแลนด์
3	โซเดียมฟอสเฟต	Sodium phosphate monobasic monohydrate	$NaH_2PO_4.H_2O$	Merck	เยอรมนี
4	มายโอ-อินโนซิทอล	Myo - inositol	$C_6H_{12}O_6$	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
5	แคลเซียมคลอไรด์	Calcium chloride dihydrate	$CaCl_2.2H_2O$	Merck	เยอรมนี
6	แมกนีเซียมซัลเฟต	Magnesium sulfate heptahydrate	$MgSO_4.7H_2O$	Merck	เยอรมนี
7	โซเดียมอีดีทีเอ	Disodium ethylene diamine tetra acetate (Titriplex III)	Na_2 - EDTA	Merck	เยอรมนี
8	โพแทสเซียมฟอสเฟต	Potassium dihydrogen phosphate	KH_2PO_4	Ajax-Fine	นิวซีแลนด์
9	เฟอรัสซัลเฟต	Iron (II) sulfate heptahydrate	$FeSO_4.7H_2O$	Merck	เยอรมนี

ลำดับที่	ชื่อสารเคมี	ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	บริษัท จำหน่าย/ ผู้ผลิต	ประเทศ
10	แมกนีเซียมซัลเฟต	Manganese sulfate monohydrate	$MnSO_4.H_2O$	Carlo-erba	อิตาลี
11	กรดบอริก	Boric acid	H_3BO_3	Biorad	สหรัฐอเมริกา
12	โคบอลต์คลอไรด์	Cobalt chloride hexahydrate	$CoCl_2.6H_2O$	Sigma	สหรัฐอเมริกา
13	คอปเปอร์ซัลเฟต	Copper sulfate pentahydrate	$CuSO_4.5H_2O$	Merck	เยอรมนี
14	โพแทสเซียมไอโอไดด์	Potassium iodide	KI	BDH	อังกฤษ
15	กรดโมลิบดิก	Sodium molybdate dihydrate	$Na_2MoO_4.2H_2O$	Merck	เยอรมนี
16	ซิงค์ซัลเฟต	Zinc sulfate heptahydrate	$ZnSO_4.7H_2O$	Merck	เยอรมนี
17	ไกลซีน	Glycine	H_2NCH_2COOH	Merck	เยอรมนี
18	กรดนิโคตินิก	Nicotinic acid	$C_6H_5NO_2$	Merck	เยอรมนี
19	ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์	Pyridoxin - HCl	$C_8H_{12}ClNO_3$	Merck	เยอรมนี
20	ไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์	Thiamine - HCl	$C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
21	ผงคลอรีน	Calciumhypochloride	$Ca(OCl)_2$	Wee-rin chemical	ญี่ปุ่น
22	โซเดียมคาร์บอเนต	Sodiumcarbonate	Na_2CO_3	Wee-rin chemical	ญี่ปุ่น
23	เอทิลแอลกอฮอล์	Ethyl alcohol	C_2H_5OH	องค์การสุรา กรม สรรพสามิต	ไทย
24	โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	Potassium hydroxide	KOH	Merck	เยอรมนี
25	กรดไฮโดรคลอริก	Hydrochloric acid	HCl	Merck	เยอรมนี

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Regulators : PGRs)

1	บีเอ	N-Benzylaminopurine	$B_{12}H_{11}N_5$	Sigma	สหรัฐอเมริกา
2	กรดอินโดล-3-แอซีติก	Indole-3-acetic acid	$C_{10}H_9NO_2$	Merck	สหรัฐอเมริกา
3	กรด 1-แนฟทาลีน แอซีติก	N-napthalene acetic acid	$C_{12}H_{10}O_2$	Sigma	เยอรมนี
4	กรดจิบเบอเรลลิก	Gibberellic acid	$C_{19}H_{22}O_6$	Sigma	สหรัฐอเมริกา
5	ไคเนติน	Kinetin หรือ 6-furfurylaminopurine	$C_{10}H_9N_5O$	Sigma	สหรัฐอเมริกา
6	กรด 2,4-ไดคลอโร-ฟีนอกซีแอซีติก	2-(2,4-dichlorophenoxy)acetic acid	$C_8H_6Cl_2O_3$	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
7	เอทิลมีเทนซัลโฟเนต	Ethylmethanesulfonate (EMS)	$C_3H_8O_3S$	Sigma	อินเดีย

2.4 วัสดุทดลองและการเตรียม

2.4.1 การเตรียมน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อ

ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 90 มิลลิลิตร และ 85 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ และเติมสารลดแรงตึงผิว จำนวน 3-5 หยด ปิดฝาหลวมๆ นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ระดับความดันไอน้ำ 15 ปอนด์, อุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำออกจากหม้อนึ่ง ปิดฝาให้สนิทเพื่อรอการใช้งาน.

ทำการเติมน้ำยาฆ่าเชื้อ Clorox ปริมาตร 10 และ 15 มิลลิลิตร ลงในขวดที่มีน้ำปริมาตร 90 และ 85 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาให้สนิท จะได้น้ำยาฟอกฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้น 10% Clorox และ 15% Clorox ตามลำดับ.

2.4.2 การเตรียมน้ำล้างทำความสะอาด

ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ ปิดฝาหลวมๆ แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ระดับความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ อุณหภูมิที่ 121 องศา-

เซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำออกจากหม้อนึ่ง ปิดฝาให้สนิทเพื่อรอการใช้งานต่อไป.

2.4.3 ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สูตร MS+1.5 $mg.l^{-1}$BAP+0.5 $mg.l^{-1}$NAA

เทส่วนผสมสารละลายจากขวด Stock MS1–MS7 ตามอัตราส่วนลงหม้อผสมอาหาร เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP (6-Benzyl aminopurine) ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA (alpha-Napthalene acetic acid) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ทำการคนให้สารละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรอาหารตามสูตรและปรับค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ให้ได้ค่า pH = 6.0, จากนั้นนำไปต้มแล้วค่อยๆ เติมวุ้นอาหารในอัตราส่วน 7 กรัมต่อลิตร โดยในระหว่างการต้มอาหารให้คนตลอดเวลาจนวุ้นอาหารละลายจนหมด หลังจากนั้นทำการเทอาหารปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในขวดขนาด 2 ออนซ์ ปิดฝาหลวมๆ แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ระดับความดันไอ 15 ปอนด์ อุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำออกจากหม้อนึ่ง ปิดฝาให้สนิทเพื่อรอการใช้งานต่อไป.

2.4.4 ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.

เทส่วนผสมจากขวด Stock MS1–MS7 ตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ในแต่ละสูตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามสูตรต่างๆ ตามกำหนดแต่ละงานทดลอง.

เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ในทุกสูตรอาหาร และคนจนกระทั่งสารละลายเข้ากันจนหมด จากนั้นปรับปริมาตรอาหารตามสูตร และปรับค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ให้ได้ค่า pH = 6.0 นำไปต้มแล้วค่อยๆ เติมวุ้นอาหารในอัตราส่วน 7 กรัมต่อลิตร โดยในระหว่างการต้มอาหารให้คนตลอดเวลาจนวุ้นอาหารละลายจนหมด หลังจากนั้นทำการเทอาหารปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในขวดขนาด 2 ออนซ์ ปิดฝาหลวมๆ แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ระดับความดันไอ 15 ปอนด์ อุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำออกจากหม้อนึ่ง ปิดฝาให้สนิทเพื่อรอการใช้งานต่อไป.

2.5 วิธีการศึกษาและทดลอง

งานทดลองที่ 1 การทดลองใช้เนื้อเยื่อส่วนของดอกเบญจมาศในระยะต่างๆ เพื่อการขยายพันธุ์

ทำการคัดเลือกต้นพันธุ์เบญจมาศ 10 สายพันธุ์ คือ M29, M27, M1, M30, M09, M03, M5, M31, M07 และ M7 เพื่อเลือกดอกของแต่ละสายพันธุ์ที่มีลักษณะแตกต่างกัน 3 ลักษณะ ดังนี้ คือ ดอกตูมไม่เห็นสี, ดอกตูมที่เริ่มเห็นสี และดอกที่เห็นสีชัดเจน นำชิ้นส่วนดอกแต่ละลักษณะแช่ในน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อเข้มข้น 15% Clorox ที่เตรียมไว้ โดยแยกใส่คนละขวด แล้วเขย่านาน 15 นาที จากนั้นเมื่อครบกำหนด เปลี่ยนถ่ายชิ้นส่วนดอกใส่ในขวดน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อเข้มข้น 10% Clorox แล้วเขย่านาน 10 นาที เมื่อครบเวลา ทำการล้างด้วยน้ำล้าง 3 รอบ หรือจนกว่าจะไม่มีฟอง จากนั้นนำชิ้นส่วนที่ล้างทำความสะอาดแล้วทำการตัดแต่ง ดังนี้:

ชิ้นส่วนดอกตูมไม่เห็นสี ให้ใช้ใบมีดผ่าออกเป็น 2 ส่วน แล้วตัดผิวส่วนนอกของฐานรองดอก (Receptacle) ออกให้หมด.

ชิ้นส่วนดอกตูมที่เริ่มเห็นสี ใช้ปากคีบคีบเอาส่วนของกลีบดอก (petal) ชั้นใน โดยคัดเลือกเฉพาะส่วนของกลีบดอกที่สมบูรณ์ และไม่บอบช้ำจากขั้นตอนฟอกการฆ่าเชื้อ.

สำหรับดอกที่เห็นสีชัดเจน ใช้ปากคีบคีบเอาส่วนของกลีบดอก (petal) ชั้นใน โดยคัดเลือกเฉพาะส่วนของกลีบดอกที่สมบูรณ์ และไม่บอบช้ำจากขั้นตอนฟอกการฆ่าเชื้อ, จากนั้นนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชทั้งหมดที่ได้จากแต่ละลักษณะ ใส่ลงในขวดอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สูตร MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA ที่นึ่งฆ่าเชื้อเตรียมไว้ และนำเข้าวางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Clean room) สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผล.

งานทดลองที่ 2 การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อการขยายพันธุ์โดยใช้ชิ้นส่วนข้อ

ทำการตัดชิ้นส่วนข้อจากต้นเบญจมาศ 7 สายพันธุ์ ที่อยู่ในลักษณะ clean culture คือ M03, M0, M07, M09, M10/1, M27 และ M31 โดยตัดชิ้นส่วนแต่ละข้อ ให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร ลงในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด คือ GA3 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1 ppm, BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06 และ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 0.75 ppm รวมเป็น 36 treatment combinations แต่ละสูตรอาหาร

ประกอบด้วย 10 ซ้ำ และวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ทำการบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกอาทิตย์นับจากวันเพาะเลี้ยงจนครบระยะเวลาทดลอง 60 วัน วิเคราะห์ผล.

งานทดลองที่ 3 การตอบสนองของชิ้นส่วนข้อและปล้องของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 สูตร

เริ่มจากคัดเลือกต้นพันธุ์จากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งอยู่ในสภาพ clean culture และมีลักษณะสมบูรณ์ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ คือ M05, M08, M11, M14, M16 และ M7.

การทดลองโดยใช้เนื้อเยื่อส่วนของปล้อง (internode).

ทำการคัดเลือกต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์ซึ่งมีความยาวของปล้อง (internode) ไม่ต่ำกว่า 5 มิลลิเมตร ทำการตัดส่วนที่อยู่ระหว่างข้อแต่ละข้อ โดยตัดให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแต่ละชิ้นมีความยาวประมาณ 3±1 มิลลิเมตร จากนั้นนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อปล้อง (internode) ที่ตัดแต่งแล้ว ลงในอาหารทั้ง 3 สูตร ที่เตรียมไว้แล้ว อาหารสูตร MS+1.0 mg l^{-1} BAP, อาหารสูตร MS+0.1 mg l^{-1} GA_3+0.04 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} IAA และอาหารสูตร MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้าเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Clean room) สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกอาทิตย์ และสรุปผลวิเคราะห์เมื่ออายุครบ 44 วัน.

การทดลองโดยใช้เนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนข้อ (node).

ทำการตัดให้ข้ออยู่ตรงกึ่งกลางของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชโดยให้ด้านข้างแต่ละข้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อดังกล่าวห่างจากส่วนของข้อด้านละประมาณ 1-2 มิลลิเมตร นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อข้อ (Node) ที่ตัดแต่งแล้ว ลงในอาหารทั้ง 3 สูตร ที่เตรียมไว้แล้ว อาหารสูตร MS+1.0 mg l^{-1} BAP, อาหารสูตร MS+0.1 mg l^{-1}GA3+0.04 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} IAA และอาหารสูตร MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้าเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Clean room) สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกอาทิตย์ และสรุปผลวิเคราะห์เมื่ออายุครบ 44 วัน.

งานทดลองที่ 4 การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเป็นต้นสมบูรณ์จากชิ้นส่วนใบและปล้อง โดยการใช้สาร kinetin และ 2, 4–D

เริ่มจากคัดเลือกต้นพันธุ์จากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งอยู่ในสภาพ clean culture และมีลักษณะสมบูรณ์ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ คือ M05, M08, M11, M14, M16 และ M7.

การทดลองโดยใช้เนื้อเยื่อส่วนของใบ (leaf)

ทำการตัดใบให้มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัส โดยให้มีรอยตัดทั้ง 4 ด้าน แล้วนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อใบพืชที่ตัดแต่งแล้ว ลงในอาหารทั้ง 3 สูตร ที่เตรียมไว้แล้ว คือ สูตรที่ 1 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D), สูตรที่ 2 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D+1.0 mg l^{-1} Ki), สูตรที่ 3 (MS+2.0 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1}2,4-D) จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้าวางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Clean room) สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกอาทิตย์ และสรุปวิเคราะห์ผลเมื่ออายุครบ 75 วัน.

การทดลองเนื้อเยื่อส่วนของปล้อง (internode)

ทำการคัดเลือกต้นพันธุ์ที่ปลอดเชื้อ มีลักษณะสมบูรณ์จากห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยแต่ละต้นมีความยาวของปล้อง (internode) ไม่ต่ำกว่า 5 มิลลิเมตร ทำการตัดส่วนที่อยู่ระหว่างข้อแต่ละข้อ โดยด้านบนของปล้องให้ตัดตรงและด้านล่างของปล้องให้ตัดเฉียง 45 องศา และให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแต่ละชิ้นมีความยาวประมาณ 3±1 มิลลิเมตร จากนั้นนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อปล้อง (internode) ที่ตัดแต่งแล้ว ลงในอาหารทั้ง 3 สูตร ที่เตรียมไว้แล้วแล้ว คือ สูตรที่ 1 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D), สูตรที่ 3 อาหารสูตร MS+2.0 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1}2,4-D, และอาหารสูตรที่4 (MS+0.5 mg l^{-1} BAP+1.0 mg l^{-1}NAA) จากนั้นนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้าเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Clean room) สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทุกอาทิตย์ และสรุปวิเคราะห์ผลเมื่ออายุครบ 75 วัน.

งานทดลองที่ 5 การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสด้วยการใช้สาร Kinetin

จากการคัดเลือกแคลลัสที่เกิดขึ้นจากแผ่นใบที่ผ่านการแช่ในสารละลาย EMS (ethyl methophanesulfate) ความเข้มข้น 2% ระยะเวลา 40 นาที ของต้นเบญจมาศทั้งหมด 16 สายพันธุ์ คือ M1, M03, M6, M10/1, M9, M05, M11, M07, M16, M14, M12, M24, M10/1, MC01, M09 และ M20 ที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ แล้วนำมาทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ Kinetin 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 ppm (MS, MS+1 mg l^{-1} Ki, MS+2 mg l^{-1} Ki และ MS+3 mg l^{-1} Ki) สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผลตลอดช่วงอายุจนครบ 60 วัน.

วิธีการผลิตต้นกล้าปลอดโรคเพื่อการถ่ายทอด

หลังจากที่ได้ทำการทดลองสูตรอาหารต่างๆ และได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นจากชิ้นส่วนชนิดต่างๆ ต้นพันธุ์ที่ได้จะมีลักษณะปลอดเชื้อ, สมบูรณ์, แข็งแรง จากนั้นทำการ

เพิ่มปริมาณจำนวนต้นโดยการตัดชิ้นส่วนของต้นเป็นข้อๆ ลงอาหาร MS free hormone เมื่อได้ปริมาณต้นตามที่ต้องการแล้ว ปล่อยให้ต้นเจริญเติบโตจนออกรากและนำออกปลูกข้างนอก ดังนี้:

นำต้นกล้าเบญจมาศออกจากขวดเพาะเลี้ยง ทำการล้างวุ้นที่ติดอยู่กับรากออกให้หมด ใช้กรรไกรตัดรากให้มีความยาวเหลือประมาณ 1 เซนติเมตร เด็ดใบเสียออกด้วย จากนั้นนำต้นกล้าแช่ในน้ำยากันราที่เตรียมไว้ โดยผสมน้ำยากันรากับน้ำในอัตราส่วน น้ำยากันรา 1 ช้อนชา ต่อน้ำ 2 ลิตร แช่นาน 5-10 นาที วางพักต้นกล้าในถาดที่ปูรองด้วยผ้าขาวบางชุบน้ำหมาดๆ เพื่อมิให้รากแห้งเพื่อรอลงปลูกในถาดปลูก แต่ถ้ารากแห้งก็ทำการพรมน้ำที่ต้นกล้า ทำการเตรียมวัสดุชำ คือ peat moss ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำใส่ลงในถาดหลุมแล้วพรมน้ำให้ชุ่ม นำต้นกล้าลงชำในถาดหลุมๆ ละ 1 ต้น เก็บถาดปลูกในโรงเรือนอนุบาลต้นกล้าซึ่งมีการใช้ซาแรนคลุมและล้อมรอบด้านข้างของโรงเรือนทุกด้าน มีการพ่นน้ำ วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ให้แสงในช่วงเวลา 22.00 น.–02.00 น. ทุกวัน นานประมาณ 1 เดือน. ระหว่างนี้พ่น lamina (biocontrol) กันเชื้อแบคทีเรีย และโรคเน่าอาทิตย์ละครั้ง หลังจากนั้นประมาณ 2-3 สัปดาห์ เมื่อต้นกล้าแข็งแรงหรือตั้งตัวได้แล้ว ใช้กรรไกรตัดยอดเพื่อชำลงในถาดปลูกอีกครั้งหนึ่ง รอจนกว่าต้นกล้าจะเกิดรากแข็งแรงพร้อมลงปลูกในแปลงแม่พันธุ์ เมื่อต้นกล้าในแปลงแม่พันธุ์เจริญเติบโตแข็งแรง จึงตัดยอดชำในถาด ปลูกอีกรอบจนเกิดรากและนำไปแจกจ่ายแก่เกษตรกรแต่ละรายเพื่อปลูกในแปลงต่อไป การให้แสงต้องเริ่มให้ทันทีหลังปลูกเสร็จ หลังจากนั้นประมาณ 5-10 วัน จึงทำการเด็ดยอดเบญจมาศให้มีความยาวประมาณ 5.5-6 เซนติเมตร (ประกอบด้วยใบใหญ่ 2 ใบและใบเล็ก 2 ใบ) และให้เหลือใบที่กิ่งอย่างน้อย 2 ใบ เพื่อให้แตกกิ่งใหม่ การเด็ดยอดนี้ควรทยอยเด็ดสัปดาห์ละ 2-3 ครั้ง แล้วนำไปเก็บในห้องเย็นเพื่อให้ได้ปริมาณพอสมควร จึงนำไปปักชำพร้อมกันในแปลงปลูก.

ทำการถ่ายทอดองค์ความรู้วิธีการปลูกเบญจมาศให้กับเกษตรกรที่ตำบลไทยสามัคคี อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา.

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

งานทดลองที่1 ศึกษาการตอบสนองของชิ้นส่วนดอกเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS + 1.5 mg l^{-1} BAP + 0.5 mg l^{-1} NAA

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของดอกเบญจมาศจำนวน 10 สายพันธุ์ คือ M29, M27, M1, M30, M09, M03, M5, M31, M07 และ M7 โดยใช้ชิ้นส่วนดอกแตกต่างกัน 3 ลักษณะ ดังนี้ คือ กลีบดอกตูมไม่เห็นสี (A), กลีบดอกตูมที่เริ่มเห็นสี (B) และกลีบดอกที่เห็นสีชัดเจน (C).

ตารางที่ 1. การตอบสนองของชิ้นส่วนดอกเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA (คิดเป็นร้อยละ)

สายพันธุ์	เจริญเป็นต้น			เจริญเป็นแคลลัส			อื่นๆ (ราก/Browning)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
M29	0	0	0	99	29	29	1	71	71
M27	0	0	0	100	100	100	0	0	0
M1	0	0	-	100	100	-	0	0	-
M7	100	0	7	0	100	93	0	0	0
M03	17	-	0	83	-	100	0	-	0
M5	60	-	10	40	-	90	0	-	0
M31	100	-	39	0	-	61	0	-	0
M07	100	-	0	0	-	100	0	-	0
M30	-	-	0	-	-	92	-	-	8
M09	-	-	0	-	-	95	-	-	5
เฉลี่ย	47	0	6	53	82	84	0	18	9

หมายเหตุ: ข้อมูลที่กำกับด้วย “-“ หมายถึง เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

จากข้อมูลในตารางที่ 1 โดยภาพรวมจะเห็นว่า เบญจมาศแต่ละสายพันธุ์จะสามารถเกิดเป็นต้นและเกิดเป็นแคลลัสแตกต่างกันไป ถึงแม้จะเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกัน ทั้งนี้สามารถแบ่งกลุ่มสายพันธุ์ตามลักษณะการตอบสนองเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสายพันธุ์ที่สามารถเกิดเป็นต้นอ่อน คือ สายพันธุ์ M7 M31 และ M07 และกลุ่มสายพันธุ์ที่เกิดเป็นแคลลัส ซึ่งพบว่าทุกสายพันธุ์ในการ

ทดลองนี้สามารถที่จะสร้างแคลลัสได้ทุกสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ M27 จะมีความสามารถสูงในการสร้างแคลลัสจากทุกลักษณะของชิ้นส่วน รองลงมา คือ สายพันธุ์ M1.

การทดลองที่ 2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อการขยายพันธุ์โดยใช้ชิ้นส่วนข้อ

จากการใช้ชิ้นส่วนข้อจากต้นเบญจมาศ 7 สายพันธุ์ ที่อยู่ในลักษณะ clean culture คือ M03, M0, M07, M09, M10/1, M27 และ M31 โดยตัดชิ้นส่วนแต่ละข้อ ให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร ลงในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด คือ GA3 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1 ppm, BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06 และ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 0.75 ppm รวมเป็น 36 treatment combinations แล้วทำการเก็บข้อมูลการตอบสนองต่ออาหารสูตรต่างๆ พบว่า ชิ้นส่วนข้อของเบญจมาศทุกสายพันธุ์สามารถแตกต้นอ่อนในทุกๆ สูตรอาหาร และสูตรอาหาร MS + 0.06 BAP+0.75 IAA จะมีการเกิดต้นอ่อนได้จำนวนมากที่สุดคือ เฉลี่ย 2.83 ต้น/ชิ้นส่วน รองลงมา คือ อาหารสูตร MS+0.06 BAP+0.25 IAA และ M+0.06 BAP+0.50 IAA ที่มีค่าเฉลี่ยการเกิดต้นอ่อน 2.39 และ 2.31 ตามลำดับ.

ตารางที่ 2. จำนวนต้นเฉลี่ยที่เกิดจากข้อของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี GA3, BAP และ IAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สูตรอาหาร	จำนวนต้นเฉลี่ย							
	M0	M03	M10/1	M07	M09	M27	M31	เฉลี่ยทุกสายพันธุ์
MS+0.02 BAP	1.6	1.1	1.0	1.1	1.0	1.1	1.1	1.14
MS+0.02 BAP+0.25 IAA	3.5	1.5	1.0	1.0	1.9	2.2	2.4	1.93
MS+0.02 BAP+0.50 IAA	2.9	1.3	1.1	1.8	1.7	1.4	1.6	1.68
MS+0.02 BAP+0.75 IAA	3.7	1.8	1.2	1.2	2.8	1.4	2.7	2.10
MS+0.04 BAP	1.6	3.0	1.1	1.0	2.3	1.3	1.2	1.65
MS+0.04 BAP+0.25 IAA	3.6	1.5	1.6	1.0	2.5	2.1	2.5	2.12
MS+0.04 BAP+0.50 IAA	2.2	2.8	1.1	1.8	2.9	2.1	1.3	2.02
MS+0.04 BAP+0.75 IAA	2.5	1.4	2.4	1.9	1.4	2.0	1.0	1.80
MS+0.06 BAP	2.6	3.5	1.9	1.1	1.3	2.5	1.2	2.01
MS+0.06 BAP+0.25 IAA	5.0	1.9	1.6	1.2	2.3	2.5	2.2	2.39
MS+0.06 BAP+0.50 IAA	2.6	1.9	2.5	1.3	2.9	3.1	1.9	2.31
MS+0.06 BAP+0.75 IAA	3.9	4.2	3.5	2.4	1.6	1.8	2.4	2.83

ตารางที่ 2. (ต่อ)

สูตรอาหาร	จำนวนต้นเฉลี่ย							
	M0	M03	M10/1	M07	M09	M27	M31	เฉลี่ยทุกสายพันธุ์
MS+0.05GA3+0.02 BAP	2.0	2.2	1.2	1.1	1.1	1.8	2.4	1.69
MS+0.05GA3+0.02 BAP+0.25 IAA	1.9	2.9	1.5	1.2	1.0	1.1	2.1	1.67
MS+0.05GA3+0.02 BAP+0.50 IAA	1.7	3.2	1.8	1.4	1.3	1.2	1.4	1.71
MS+0.05GA3+0.02 BAP+0.75 IAA	2.0	1.3	1.7	1.3	1.1	1.1	3.5	1.72
MS+0.05GA3+0.04 BAP	1.6	2.4	1.1	1.2	1.4	2.4	1.3	1.64
MS+0.05GA3+0.04 BAP+0.25 IAA	3.1	1.7	1.6	1.6	1.9	3.2	2.4	2.21
MS+0.05GA3+0.04 BAP+0.50 IAA	1.8	2.9	1.7	2.8	1.6	2.6	2.0	2.20
MS+0.05GA3+0.04 BAP+0.75 IAA	3.1	2.0	1.3	1.8	2.3	2.5	2.2	2.17
MS+0.05GA3+0.06 BAP	3.3	2.7	1.2	1.1	1.1	1.4	1.5	1.76
MS+0.05GA3+0.06 BAP+0.25 IAA	3.6	1.8	2.7	1.5	1.5	2.3	1.4	2.12
MS+0.05GA3+0.06 BAP+0.50 IAA	2.5	1.3	2.0	1.6	2.4	1.8	2.8	2.05
MS+0.05GA3+0.06 BAP+0.75 IAA	2.3	1.3	1.2	1.2	2.1	2.7	3.8	2.10
MS+0.10GA3+0.02 BAP	2.8	5.5	1.3	1.4	1.0	1.1	1.1	2.02
MS+0.10GA3+0.02 BAP+0.25 IAA	2.3	2.9	1.2	1.3	1.4	1.9	1.8	1.82
MS+0.10GA3+0.02 BAP+0.50 IAA	2.0	1.8	1.0	1.4	1.4	2.6	1.3	1.64
MS+0.10GA3+0.02 BAP+0.75 IAA	3.7	1.6	1.0	2.1	1.6	2.8	2.0	2.11
MS+0.10GA3+0.04 BAP	2.1	2.3	1.9	1.6	1.3	1.8	1.7	1.81

ตารางที่ 2. (ต่อ)

สูตรอาหาร	จำนวนต้นเฉลี่ย							
	M0	M03	M10/1	M07	M09	M27	M31	เฉลี่ยทุกสายพันธุ์
MS+0.10GA3+0.04 BAP+0.25 IAA	3.7	2.7	1.5	1.3	2.1	2.4	1.9	2.23
MS+0.10GA3+0.04 BAP+0.50 IAA	2.5	3.1	1.9	1.3	2.5	2.0	2.0	2.18
MS+0.10GA3+0.04 BAP+0.75 IAA	4.1	1.9	2.0	1.3	3.1	1.8	1.9	2.30
MS+0.10GA3+0.06 BAP	2.6	2.4	2.2	1.0	1.0	1.2	1.0	1.62
MS+0.10GA3+0.06 BAP+0.25 IAA	3.1	2.1	2.2	1.5	1.4	2.5	1.1	2.00
MS+0.10GA3+0.06 BAP+0.50 IAA	2.4	1.8	2.7	1.5	1.8	3.3	1.6	2.14
MS+0.10GA3+0.06 BAP+0.75 IAA	2.5	1.9	2.3	1.2	1.9	3.1	1.7	2.07

งานทดลองที่ 3 การตอบสนองของชิ้นส่วนข้อและปล้องของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 สูตร

จากการทดลองใช้ชิ้นส่วนข้อ (node) และปล้อง (internode) จากต้นพันธุ์ 6 สายพันธุ์ คือ M05, M08, M11, M14, M16 และ M7 ซึ่งอยู่ในสภาพ clean culture มาเพาะเลี้ยงในในอาหารทั้ง 3 สูตร คือ อาหารสูตรที่ 1 (MS+0.1 mg l^{-1}GA3+0.04 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} IAA) อาหารสูตรที่ 2 (MS+1.0 mg l^{-1} BAP) และอาหารสูตรที่ 3 (MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA) และบันทึกผลและสรุปผลวิเคราะห์เมื่ออายุครบ 44 วัน พบว่า

ชิ้นส่วนปล้องของสายพันธุ์ M16, M08, M11, M05 และ M1 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 สามารถที่จะเกิดเป็นต้นได้โดยไม่ต้องผ่านการเป็นแคลลัส คิดเป็นร้อยละ 55, 55, 10, 10 และ 5 ตามลำดับ โดย M16 สามารถเกิดต้นเฉลี่ย 2.45 ต้นต่อชิ้นส่วนปล้อง ในขณะที่ชิ้นส่วนปล้องของสายพันธุ์ M08 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 (MS+1.0 mg l^{-1} BAP) สามารถเกิดต้นได้เพียงร้อยละ 20 และร้อยละ 16.66 ในอาหารสูตรที่ 3 (MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA) แต่เมื่อพิจารณา

ข้อมูลการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนปล้องจะพบว่า M1, M11, M16 และ M08 จะสร้างแคลลัสได้ในอาหารสูตรที่ 1 ถึงร้อยละ 80, 80, 45 และ 35 ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์ M14 จะเกิดแคลลัสทุกชิ้นส่วน (ร้อยละ 100) ในอาหารสูตรที่ 3 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. การตอบสนองของชิ้นส่วนปล้องของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 สูตร

สายพันธุ์	เจริญเป็นต้น						เจริญเป็นแคลลัส			อื่นๆ		
	สูตร 1		สูตร 2		สูตร 3		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3
	ร้อยละ	ต้น	ร้อยละ	ต้น	ร้อยละ	ต้น	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)
M1	5	1	0	0	0	0	80	0	0	15	100	100
M05	10	1	0	0	0	0	0	0	15	90	100	85
M08	55	1.36	20	4	16.66	1	35	50	0	10	30	83.34
M11	10	1	0	0	5	2	80	5	0	10	95	95
M14	0	0	0	0	0	0	5	0	100	95	100	0
M16	55	2.45	0	0	0	0	45	0	10	0	100	90

สำหรับการตอบสนองของชิ้นส่วนข้อในอาหารพบว่า สูตรอาหารทั้ง 3 สูตร สามารถใช้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของเบญจมาศให้เกิดต้นได้ดีทุกสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.

ตารางที่ 4. การตอบสนองของชิ้นส่วนข้อของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 3 สูตร

สายพันธุ์	เจริญเป็นต้น						เจริญเป็นแคลลัส			อื่นๆ		
	สูตร 1		สูตร 2		สูตร 3		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3
	ร้อยละ	ต้น	ร้อยละ	ต้น	ร้อยละ	ต้น	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)
M1	100	1.17	90	1.27	75	1	0	0	0	0	10	25
M05	100	1.16	90	1.11	100	1	0	0	0	0	10	0
M08	50	2	60	3	80	1	0	0	0	50	40	20
M11	100	1.4	90	1.77	100	1	0	0	0	0	10	0
M14	95	1	85	1.52	65	1	0	0	0	5	15	35
M16	100	1	100	1.2	20	1	0	0	80	0	0	0

งานทดลองที่ 4 การศึกษาการตอบสนองของชิ้นส่วนแผ่นใบและปล้องของเบญจมาศในอาหารที่มี Kinetin และ 2,4-D

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องและแผ่นใบของเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพ clean culture จำนวน 6 สายพันธุ์ คือ M05, M08, M11, M14, M16 และ M7 พบว่า

การทดลองโดยใช้เนื้อเยื่อส่วนของใบ (leaf).

หลังจากนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อใบพืชที่ตัดแต่งแล้วลงในอาหาร 3 สูตร คือ สูตรที่ 1 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D), สูตรที่ 2 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D+1.0 mg l^{-1} Ki) และสูตรที่ 3 (MS+2.0 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1}2,4-D) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงและสรุปวิเคราะห์ผลเมื่ออายุครบ 75 วัน พบว่า

การเพาะเลี้ยงแผ่นใบโดยใช้อาหารสูตรที่ 1 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D) สามารถเกิดแคลลัสได้ดีมากทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะสายพันธุ์ M1 ที่สามารถเกิดแคลลัสได้ดีในทุกๆ สูตรอาหารที่ทดลอง. อย่างไรก็ตาม พบว่ามีเบญจมาศ 3 สายพันธุ์ คือ M16, M05 และ M08 ที่สามารถเกิดต้นอ่อนจากแผ่นใบในอาหารสูตรที่ 2 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D+1.0 mg l^{-1} mg l^{-1} Ki) ในอัตราร้อยละ 50, 30 และ 20 ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์ M08 สามารถเกิดต้นอ่อนได้ถึงร้อยละ 80 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 3 (MS+2.0 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1}2,4-D) ดังแสดงในตารางที่ 5.

ตารางที่ 5. การตอบสนองของแผ่นใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ

สายพันธุ์	เจริญเป็นต้น						เจริญเป็นแคลลัส			อื่นๆ		
	สูตร 1		สูตร 2		สูตร 3		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3
	ร้อยละ	AV. ต้น	ร้อยละ	AV. ต้น	ร้อยละ	AV. ต้น	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)
M1	0	0	0	0	0	0	90	100	100	10	0	0
M05	0	0	30	1.33	0	0	90	0	0	10	70	100
M08	0	0	20	11	80	3.25	100	0	10	0	80	10
M11	0	0	0	0	0	0	100	70	90	0	30	10
M14	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	100	100
M16	0	0	50	4.2	0	0	100	40	10	0	10	90

การทดลองเนื้อเยื่อส่วนของปล้อง (internode).

หลังจากนำชิ้นส่วนปล้อง ลงในอาหาร 3 สูตร คือ สูตรที่ 1 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D), สูตรที่ 3 (MS+2.0 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1}2,4-D) และอาหารสูตรที่ 4 (MS+0.5 mg l^{-1} BAP+1.0 mg l^{-1}NAA บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงและสรุปวิเคราะห์ผลเมื่ออายุครบ 75 วัน พบว่า ชิ้นส่วนปล้องของเบญจมาศทุกสายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 (MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D) สามารถเกิดแคลลัสได้ทั้งหมดทุกสายพันธุ์ ในขณะที่สายพันธุ์ M08 สามารถเกิดเป็นต้นอ่อนร้อยละ 100 และ 50 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 4 และสูตร 3 ตามลำดับ และสายพันธุ์ M16 แสดงการเกิดต้นอ่อนได้ร้อยละ 60 และ 10 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 3 และ 4 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6.

ตารางที่ 6. การตอบสนองของชิ้นส่วนปล้อง ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ

สายพันธุ์	เจริญเป็นต้น						เจริญเป็นแคลลัส			อื่นๆ		
	สูตร 1		สูตร 3		สูตร 4		สูตร 1	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 1	สูตร 3	สูตร 4
	ร้อยละ	AV. ต้น	ร้อยละ	AV. ต้น	ร้อยละ	AV. ต้น	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)
M1	0	0	0	0	20	1	100	100	80	0	0	0
M05	0	0	0	0	10	1	100	90	90	0	10	0
M08	0	0	50	3.4	100	5.5	100	50	0	0	0	0
M11	0	0	0	0	0	1.33	100	100	90	0	0	10
M14	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0	0	0
M16	0	0	60	1.83	10	2	100	40	90	0	0	0

งานทดลองที่ 5 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสด้วยการใช้สาร kinetin.

จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่เกิดจากแผ่นใบเบญจมาศ 16 สายพันธุ์ คือ M1, M03, M6, M10/1, M9, M05, M11, M07, M16, M14, M12, M24, M10/1, MC01, M09 และ M20 มาทดลองชักนำให้เกิดเป็นต้นสมบูรณ์ โดยใช้อาหาร 4 สูตร คือ MS, MS+1 mg l^{-1} Ki, MS+2 mg l^{-1} Ki และ MS+3 mg l^{-1} Ki สังเกตการเปลี่ยนแปลงและบันทึกผลตลอดช่วงอายุจนครบ 60 วัน พบว่ามีเพียง 8 สายพันธุ์ ที่สามารถพัฒนาจากแคลลัสเป็นต้นอ่อน คือ สายพันธุ์ M6, M07, M14, M12, M24, M20, M05 และ M10/1 โดยสูตรอาหาร MS ที่มี Kinetin 2 ppm. ทำให้มีปริมาณการเกิดต้นจากแคลลัสสูงสุดถึงร้อยละ 25 ในสายพันธุ์ M12 และร้อยละ 20 ในสายพันธุ์ M14.

ตารางที่ 7. การเกิดต้นจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของเบญจมาศ 16 สายพันธุ์ ในสูตรอาหารที่มี kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

สายพันธุ์เบญจมาศ	MS		MS + 1 mg l^{-1} Ki		MS + 2 mg l^{-1} Ki		MS + 3 mg l^{-1} Ki	
	ร้อยละ	AV. ต้น	ร้อยละ	AV. ต้น	ร้อยละ	AV. ต้น	ร้อยละ	AV. ต้น
M1	0	0	0	0	0	0	0	0
M03	0	0	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	10	2.5	0	0	0	0
M10/1	0	0	0	0	0	0	5	2
M9	0	0	0	0	0	0	0	0
M05	0	0	0	0	5	2	0	0
M11	0	0	0	0	0	0	0	0
M07	18.18	1	0	0	4.55	1	0	0
M16	0	0	0	0	0	0	0	0
M14	0	0	12	4	20	1.33	12	1
M12	0	0	10	3	25	6	10	2
M24	0	0	15	2	0	0	0	0
M10/1	0	0	0	0	0	0	0	0
MC01	0	0	0	0	0	0	0	0
M09	0	0	0	0	0	0	0	0
M20	6.67	1	0	0	6.67	1	0	0

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์เบญจมาศ เพื่อให้ได้ต้นกล้าที่สมบูรณ์และปลอดโรคพบว่า สามารถใช้ส่วนของกลีบดอกอ่อนที่เริ่มเห็นสีหรือที่เห็นสีชัดเจนแล้วมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้แคลลัสแล้วจึงพัฒนาให้เป็นต้นอ่อนต่อไป แต่ในบางสายพันธุ์การเพาะเลี้ยงดอกตูมในอาหารสูตร MS+1.5 mg l^{-1} BAP+0.5 mg l^{-1} NAA ก็สามารถสร้างต้นอ่อนได้โดยไม่ต้องผ่านการเกิดแคลลัสแต่อย่างใด.

หลังจากได้ต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อแล้ว การเพิ่มจำนวนสามารถกระทำโดยการใช้ชิ้นส่วนต่างๆของต้นอ่อนมาใช้ในการเพาะเลี้ยง กล่าวคือ ส่วนแผ่นใบ, ส่วนปล้อง และส่วนข้อ.

การใช้ชิ้นส่วนข้อในการเพาะเลี้ยงจะเป็นการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ตาข้างแตกเป็นต้นอ่อนได้ดี จากการศึกษาโดยการเพาะเลี้ยงส่วนข้อของต้นเบญจมาศที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อพบว่า ข้อของเบญจมาศทุกสายพันธุ์สามารถแตกต้นอ่อนในทุกๆ สูตรอาหาร โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในสูตรอาหาร MS+0.06 mg l^{-1} BAP+0.75 mg^{-1} IAA จะเกิดต้นอ่อนมากที่สุดจากค่าเฉลี่ยทุกสายพันธุ์.

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบและปล้อง เพื่อให้เกิดแคลลัสพบว่า สูตรอาหาร MS+2.0 mg l^{-1} 2,4-D เป็นสูตรอาหารที่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้ดี และหากนำแคลลัสมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี kinetin 2 ppm จะสามารถกระตุ้นให้เกิดเป็นต้นอ่อนได้ที่ระดับร้อยละ 25 เฉพาะสายพันธุ์ M12.

อย่างไรก็ตาม จากการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่า เบญจมาศแต่ละสายพันธุ์จะมีความสามารถในการเกิดแคลลัสและเกิดต้นอ่อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นที่จะต้องเลือกใช้สูตรอาหารที่เหมาะสมในแต่ละสายพันธุ์.

5. แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เนื่องจากที่ผ่านมา เกษตรกรมักจะใช้วิธีการขยายพันธุ์เบญจมาศจากการเด็ดยอดและปักชำมาโดยตลอด ทำให้กล้าที่ได้ไม่สมบูรณ์ และมีผลผลิตต่ำ การพัฒนาการผลิตกล้าเบญจมาศโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนอกจากเกษตรกรจะได้ต้นกล้าที่สมบูรณ์ปลอดโรคแล้ว ต้นกล้าที่สมบูรณ์จะทำให้ต้นที่ปลูกมีความต้านทานต่อโรคและมีผลผลิตที่มากขึ้น ซึ่งเป็นผลให้เกษตรกรมีรายได้จากการปลูกมากขึ้นตามไปด้วย.

กลุ่มเป้าหมายด้านการเกษตรที่เป็นเป้าหมายได้แก่กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเบญจมาศในแต่ละพื้นที่ โดยมีหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ที่สำคัญ ได้แก่ กรมส่งเสริมการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานที่มีห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้องค์ความรู้จากการศึกษานี้ไปใช้เพื่อการผลิตต้นกล้าเบญจมาศที่มีคุณภาพเพื่อการจำหน่ายจ่ายแจกให้กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเบญจมาศ นำไปใช้เป็นต้นแม่พันธุ์เพื่อการผลิตต้นกล้าผลิตไม้ตัดดอกหรือไม้กระถางที่มีคุณภาพต่อไป.

6. ข้อเสนอแนะ

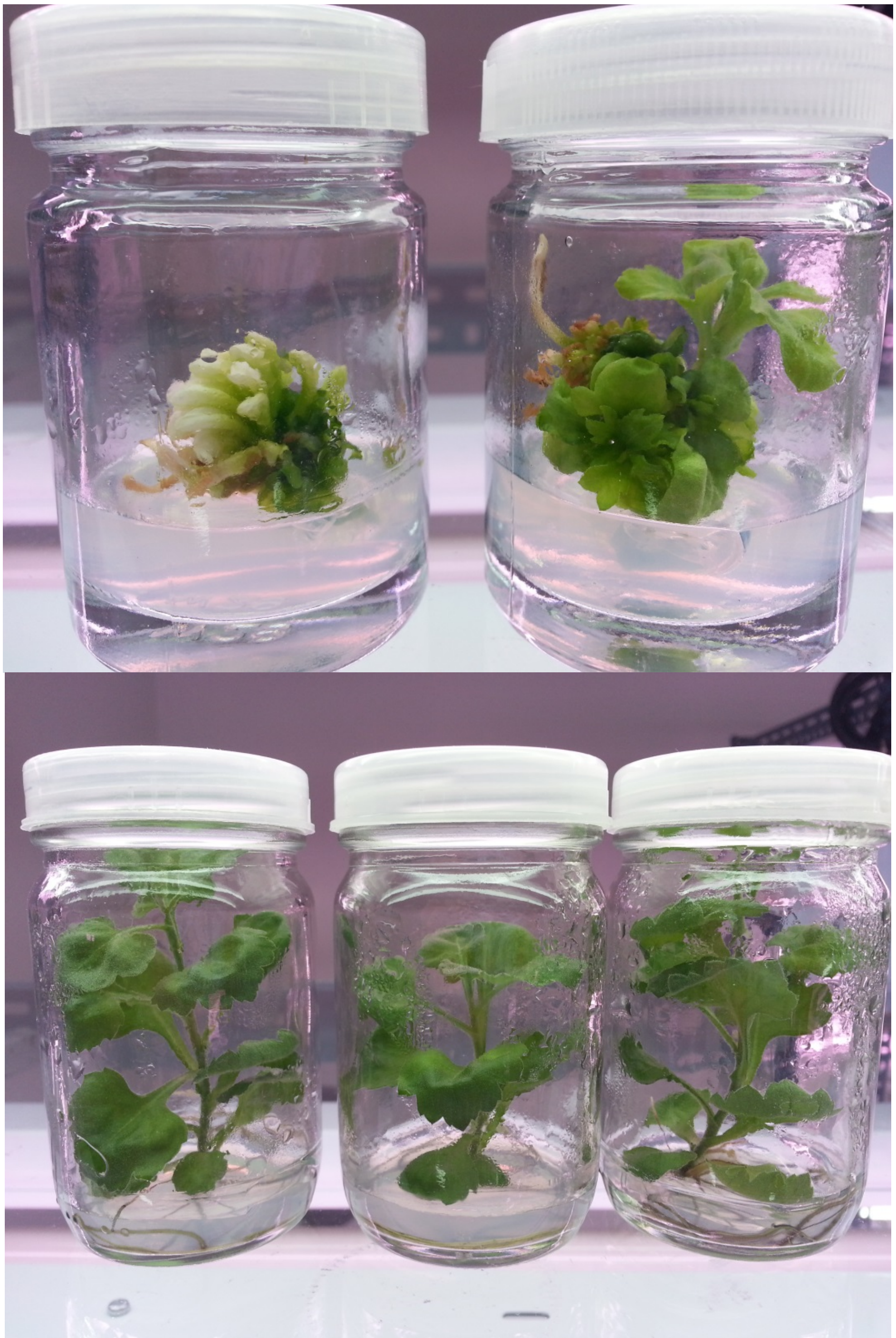
เนื่องจากเบญจมาศสามารถใช้ชิ้นส่วนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ทุกส่วน ไม่ว่าจะเป็นกลีบดอก, แผ่นใบ, ข้อ และปล้อง แต่เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เกิดต้นอ่อนโดยผ่านการเป็นแคลลัสมาก่อน จะทำให้มีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์แบบ somaclonal variation ได้ ดังนั้น หากต้องการขยายพันธุ์เบญจมาศเพื่อให้มีลักษณะคงเดิม จึงจำเป็นที่จะต้องเลือกใช้ชิ้นส่วนของยอดหรือตาข้างในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อป้องกันการเกิดการกลายสายพันธุ์ดังกล่าว.

7. เอกสารอ้างอิง

จันทร์แดง, อนุสรณ์. 2549. เทคโนโลยีการผลิตเบญจมาศที่เหมาะสม ตำบลไทยสามัคคี อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://lovewangnamkeaw.sut.ac.th/doc1/Technology.pdf, [เข้าถึงเมื่อ 6 มกราคม 2559].

ทีฆชุณหเถียร, ธวัชชัย. 2549. รายงานการวิจัย การศึกษาเทคโนโลยีการผลิต การตลาดและปัญหาการผลิตเบญจมาศของเกษตรกร ตำบลไทยสามัคคี อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/2298/2/bib1540_F.pdf, [เข้าถึงเมื่อ 6 มกราคม 2559].

ภาคผนวก



รูปที่ 1. การเกิดต้นอ่อนจากดอกและต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเบญจมาศ.

รูปที่ 2. การฝึกอบรมการย้ายปลูกกล้าออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนือเยื่อเพื่อทำเป็นต้นกล้าในแปลงปลูกแม่พันธุ์.