การศึกษาประสิทธิภาพของกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 กับการเจริญของกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อ

Study the Efficiency of Filter Paper Whatman No. 5 on the Growth of Rose *(Rosa hybrida) in vitro*

รงรอง วิเศษสุวรรณ[1] ชาดา ชัยยะศิริสุวรรณ[1] และ เบญจา อ้นแพ[1]

Rongrong Visessuwan Chada Chaiyasirisuwan and Benja Ounpae

ABSTRACT

The using of a filter paper (Whatman No.5) on the growth of rose *(Rosa hybrida) in vitro* has been investigated. Rose buds were cultured on Murashige and Skoog (1962) containing 2 mg/l benzyl amino purine; 10% (by volumn) coconut water and 0.08 g/l adenine sulfate for shoot induction. These shoots were experimented in the glass bottles covered with plastic cops with and without filter cultured on the same media for studing growth rate of rose. The result showed that the roses cultured in the bottles with the filter grew better than that shoots cultured in the bottles without filter which they were determined by calculating increment of fresh and dry weight. After that plantlets were transferred to the rooting medium in the the bottles with filter. Completed plantlets were successfully transplanted into soil. We concluded that the using of filter paper (whatman No.5) can be improved physical environmental factors in particular, gas environment between inside and outside the bottles and promoted growth rate of rose *in vitro*.

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 กับการเจริญของกุหลาบในสภาพปลอดเชื้อทำโดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของตากุหลาบ ในอาหารสูตร Murashige และ Skoog (1962) ที่เติม Benzyl amino purine 2 มก./ล. ร่วมกับน้ำมะพร้าว 10% โดยปริมาตรและ adenine sulfate 0.08 กรัม/ลิตร เมื่อได้ต้นจำนวนมาก นำมาเลี้ยงในขวดแก้วที่มีความจุประมาณ 100 มล. ปิดด้วยฝาพลาสติก (non-filter) เปรียบเทียบกับการปิดด้วยฝาพลาสติกเจาะรูขนาด 5 มม.และติดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 (filter) จากการทดลองพบว่า ต้นกุหลาบที่เลี้ยงในอาหารสูตรดังกล่าว ต้นแม่มีการเจริญแตกตาข้าง เกิดกระจุกต้นเล็ก ๆ 8-10 ต้น บริเวณฐานของต้นแม่ ภายในเวลา 2 เดือน เมื่อพิจารณาต้นกุหลาบในขวดที่ปิดด้วยฝาแบบ filter จะมีแนวโน้มการเจริญเติบโตดีกว่า มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงกว่า ลักษณะของต้น ใบสดใสกว่า ในขวดที่ใช้ฝาพลาสติกธรรมดา (non-filter) ซึ่งจะพบอาการใบร่วงและเหลือง จากนั้นนำต้นกุหลาบที่โตขึ้นย้ายมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม น้ำตาล 4.5% และถ่าน 0.5% เพื่อศึกษาความสมบูรณ์ของต้น และย้ายต้นกุหลาบที่แข็งแรงเลี้ยง

[1] ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม

Central Laboratory and Greenhouse Complex, KURDI, Kasetsart Universiry. Kamphaengsaen Campus, Nakhon-Pathom

ในอาหารสูตรชักนำให้ออกรากในขวดที่ใช้ฝาแบบ filter พบว่าต้นกุหลาบเขียวสดใส แข็งแรง ออกรากดี และประสบความสำเร็จในการย้ายปลูก

คำนำ

กุหลาบเป็นดอกไม้ที่มีความสวยงาม นิยมปลูกใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศและต่างประเทศ กุหลาบสามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นไม้กระถาง ไม้ตัดดอก ตกแต่งสถานที่ ตลอดจนเป็นวัตถุดิบสำหรับกลั่นน้ำมันหอมระเหย และทำเป็นดอกไม้แห้ง ประเทศไทยพบว่ามีการส่งดอกกุหลาบไปจำหน่ายต่างประเทศ แต่ยังมีปริมาณไม่มากนัก นอกจากนี้ก็มีการนำเข้าดอกกุหลาบพันธุ์ต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการผลิตกุหลาบให้มีคุณภาพดีโดยวิธีต่าง ๆ เช่น การขยายพันธุ์กุหลาบพันธุ์ต่างประเทศโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะจะทำให้ได้ต้นพันธุ์ปริมาณมากและใช้เวลารวดเร็ว นอกเหนือจากการขยายพันธุ์ตามปกติคือ การติดตา การตอน หรือการชำ

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ มีนักวิจัยบางท่านได้เสนอว่ากุหลาบที่เลี้ยงโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา พบว่าปากใบจะอิ่มตัวด้วยน้ำ ทำให้ปากใบเปิดอยู่ตลอดเวลา ในขณะที่ปากใบพืชปกติจะปิด ดังนั้นเมื่อย้ายปลูกต้นกุหลาบจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปากใบก็จะยังเปิดอยู่ ทำให้การย้ายปลูกมีปัญหา กุหลาบมีโอกาสตายได้ง่ายขึ้น (Capellades, M. *et al* 1990) ถ้าเรามีการปรับปรุงสภาพแวดล้อมภายในขวด เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ อากาศ ฯลฯ นอกเหนือไปจากองค์ประกอบของอาหาร สิ่งเหล่านี้น่าจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ความแข็งแรงของพืชและเมื่อย้ายปลูกพืชมีโอกาสรอดตายสูง (Fujiwara, 2533) นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมว่าการปรับปรุงสภาพแวดล้อมภายในและนอกขวด โดยการใช้แผ่นกรองและระบายอากาศจะช่วยปรับปรุงสภาพแวดล้อมของอากาศให้เหมาะสม และมีแนวโน้มจะส่งเสริมการเจริญของยอดหรือต้นในสภาพปลอดเชื้อ (Kozai, 1988) จากแนวคิดนี้จึงได้ดัดแปลงนำมาใช้กับงานวิจัย โดยมีวัตถุประสงค์คือต้องการเพิ่มการเจริญเติบโต ลดการคายน้ำของกุหลาบ และปรับปรุงสิ่งแวดล้อม เช่น การแลกเปลี่ยนอากาศภายในและภายนอกขวด โดยดัดแปลงกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 (filter paper) มาใช้แทนแผ่นกรองและระบายอากาศ (Millipore membrane filter CAT No. FWMS 01800) ที่ได้เคยศึกษาแล้ว (รงรอง และคณะ, 2533)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ

นำส่วนของตายอด ตาข้างของกุหลาบตัดดอก (hybrid tea) มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยใช้คลอรอกซ์ 10% และคลอรอกซ์ 5% นาน 10 นาที ตามลำดับ ล้างคลอร็อกซ์ออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำตายอดหรือตาข้างมาเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige และ Skoog 1962 (MS) ที่เติมฮอร์โมน benzyl amino purine (BA) 2 มก./ล. ร่วมกับน้ำมะพร้าว 10% (โดยปริมาตร) และ adenine sulfate 0.08 กรัม/ลิตร น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร เพื่อเตรียมต้นไว้ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นกรอง Whatman เบอร์ 5 (filter paper) ในการแลกเปลี่ยนอากาศกับการเจริญของกุหลาบ

2. การศึกษาประสิทธิภาพของกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 กับการเจริญของกุหลาบในขวด

สามารถแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองคือ

2.1 การเลี้ยงต้นกุหลาบในขวดแก้วที่ปิดด้วยฝาพลาสติกธรรมดา (non-filter)

นำต้นเดี่ยว ๆ ของกุหลาบสูงประมาณ 1-1.5 ซม. มีใบ 3-4 คู่ น้ำหนักต้นเฉลี่ย 0.12 กรัม จำนวน 20 ต้น มาเลี้ยงในขวดแก้วที่มีความสูงปริมาณ 7.5 ซม. กว้างประมาณ 4.5 ซม. มีความจุประมาณ 100 มล. ภายในมีอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. น้ำมะพร้าว 10% โดยปริมาตร และ adenine sulfate 0.08 กรัม/ลิตร น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร และปิดด้วยฝาพลาสติกทึบสีขาว

2.2 การเลี้ยงต้นกุหลาบในขวดแก้วที่ปิดด้วยฝาพลาสติก เจาะรูขนาด 5 มม. และปิดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5

นำต้นเดี่ยว ๆ ของกุหลาบ สูงประมาณ 1-1.5 ซม. มีใบ 3-4 คู่ น้ำหนักต้นเฉลี่ย 0.12 กรัม จำนวน 20 ต้น มาเลี้ยงในขวดแก้วมีขนาดสูงและความจุ ตลอดจนอาหารที่ใช้เลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 ต่างกันที่ฝาปิด โดยจะเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ที่ฝาพลาสติก และปิดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 ปิดทับบนฝาที่เจาะรูเตรียมไว้

การบันทึกผลการทดลอง

การทดลองที่ 2.1 และ 2.2 สังเกตการเจริญเติบโต บันทึกผลการทดลองโดยการชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งทุก 1 เดือน จนครบ 2 เดือน วัดความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งภายในและนอกขวด เพื่อศึกษาการสังเคราะห์แสงและการหายใจของกุหลาบในขวด

น้ำหนักแห้งหาโดยนำต้นกุหลาบไปเก็บไว้ที่ vacuum oven อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในและภายนอกขวด

วิเคราะห์ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในและภายนอกโดยใช้เครื่อง Gas chromatograph ที่ต่อกับ TCD (thermoconductivity detector) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ การประมาณค่าอัตราการสังเคราะห์และการหายใจ ของกุหลาบในขวด มีสมการดังนี้

$M = N.V. (c-c_{out})$

$M = CO_2$ evolution rate [u Cm^3 $CO_2.h^{-1}.vessel^{-1}$]

N = the number of air change per hour (มีค่าคงที่ = $2[h^{-1}]$ เมื่อใช้ภาชนะและฝาที่กำหนดในการทดลอง)

C = CO_2 concentration ในขวด

Cout = CO_2 concentration อยู่ในอากาศ (นอกขวด)

ถ้า M มีค่าเป็นลบ (−) หมายถึง ค่า photosynthetic rate ของต้นกุหลาบในขวด

ถ้าค่า M มีค่าเป็นบวก (+) หมายถึง ค่า respiration rate ของต้นกุหลาบในขวด

3. ศึกษาความสมบูรณ์ของต้นกุหลาบในขวดที่มีฝาปิดแบบชนิด non-filter และ filter

นำต้นกุหลาบที่มีความสูงประมาณ 3.40 ซม. ที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 2 มาเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and Skoog(1962) ที่เติมน้ำตาล 4.5% และถ่าน (activated charcoal) 0.5% บรรจุในขวดที่ปิดฝาพลาสติกธรรมดา (non-filter) และขวดที่ปิดฝาพลาสติกเจาะรูและติด

กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 (filter) อย่างละ 20 ต้น สังเกตการเจริญเติบโต การออกราก ความเขียวสดใสของใบ ในระยะเวลา 1 เดือน

4. การชักนำให้กุหลาบออกราก เมื่อเลี้ยงในขวดที่มีฝาปิดกระดาษกรอง whatman เบอร์ 5 (filter)

นำต้นกุหลาบที่มีความสูงประมาณ 3.0 ซม. มาเลี้ยงในขวดแก้วที่มีฝาพลาสติกเจาะรู และติดกระดาษกรอง whatman เบอร์ 5 เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 แต่ดัดแปลงสูตรอาหารเพื่อทดสอบการออกราก โดยใช้สูตร Murashige and skoog และดัดแปลงโดยเติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0.5-1.5 มก./ล.

MS = MS + น้ำตาล 30 กรัม/ล.

R_6 = MS + NAA 0.5 มก./ล. + น้ำตาล 30 กรัม/ล.

R_7 = MS + NAA 1 มก./ล. + น้ำตาล 30 กรัม/ล.

R_8 = MS + NAA 1.5 มก./ล. + น้ำตาล 30 กรัม/ล.

สังเกตการออกรากในอาหารสูตรต่าง ๆ เมื่อเลี้ยงครบ 1 เดือน

5. การย้ายปลูก

นำต้นกุหลาบที่แข็งแรง เริ่มมีรากแล้วออกปลูก โดยเอาต้นออกจากขวด ล้างวุ้นออกให้หมด นำต้นมาชำในดินผสมในอัตราส่วนดิน : ทราย : ถ่านแกลบ เท่ากับ 1:1:1 เก็บไว้ในภาชนะหรือถุงพลาสติกและปิดปากถุงเพื่อป้องกันการคายน้ำของใบพืช ในช่วงแรกให้ความชื้นสูง และแสงรำไร เมื่อกุหลาบตั้งตัวได้แล้วปลูกลงกระถาง หรือลงแปลงต่อไป

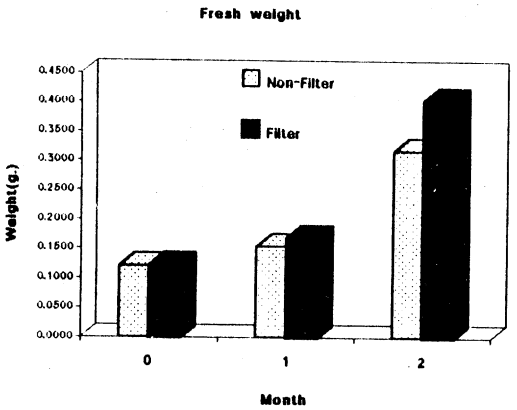
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบ

เมื่อนำตายอดตาข้างของกุหลาบมาเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 2 มก./ล. น้ำมะพร้าว 10% โดยปริมาตร และ adenine SO_4 0.08 ก./ล. ประมาณ 2 อาทิตย์ ตายอด ตาข้าง เริ่มงอกเป็นต้น เมื่อเลี้ยงต่อไปจนครบ 1 เดือน ต้นจะยืดยาวออก มีใบ 4-5 คู่ จากนั้นคัดเลือกต้นที่แข็งแรงมาทดลองประสิทธิภาพของการแลกเปลี่ยนอากาศภายในและภายนอกขวด

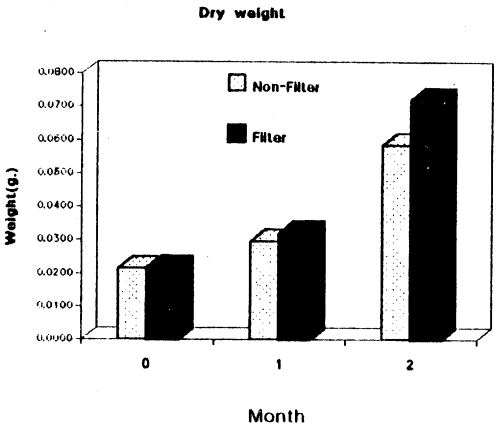
2. การศึกษาประสิทธิภาพของกระดาษกรอง whatman เบอร์ 5 กับการเจริญของกุหลาบในขวด

เมื่อนำต้นกุหลาบมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. น้ำมะพร้าว 10% โดยปริมาตร และ adenine SO_4 0.08 ก./ล. โดยเปรียบเทียบการใช้ฝาพลาสติกปกติกับฝาพลาสติกที่เจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. และติดกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 หลังจากเลี้ยงได้ประมาณ 1 เดือน พบว่าต้นกุหลาบจะแตกกอเป็นกระจุกเล็ก และเมื่อเลี้ยงต่อไปจนครบ 2 เดือน กระจุกเล็ก ๆ จะเกิดเป็นต้นกุหลาบมีจำนวนประมาณ 8-10 ต้น ที่บริเวณฐานของต้นแม่ ในขวดที่ปิดฝาทั้ง 2 แบบ เมื่อสังเกตลักษณะของต้นกุหลาบ พบว่าในขวดที่ปิดฝาพลาสติกสนิทจะมีอาการใบร่วง และใบเหลืองมากกว่าขวดฝาพลาสติกที่ปิดด้วยกระดาษกรอง เมื่อนำต้นกุหลาบที่ได้จากการทดลองทั้ง 2 ไปชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง พบว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกุหลาบที่เลี้ยงในขวดที่ปิดด้วยกระดาษกรอง แนวโน้มจะมีน้ำหนักสูงกว่าต้นกุหลาบที่เลี้ยงในสภาพปกติ (รูปที่ 1 และ 2) นอกจากนี้ใบยังมีสีเขียวสด เมื่อวัดค่าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ภายในและภายนอกขวด (ตารางที่ 1) นำค่าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้มาคำนวณหาค่า



Month	Fresh wt.(gm) Non-Filter	Filter
0	0.1200	0.1200
1	0.1525	0.1668
2	0.3170	0.4014

Figure 1. Show the effects of using filter and non-filter on fresh weight of rose for 1 month and 2 months.



Month	Dry wt.(gm) Non-Filter	Filter
0	0.0214	0.0214
1	0.0295	0.0317
2	0.0584	0.0719

Figure 2. Show the effects of using filter and non-filter on dry weight of rose for 1 month and 2 months.

Figure 3. The development of apical buds and axillary buds of roses cultured on MS medium containing 2 mg/l BA, 10% coconut water and 0.08 g/l adenine SO_4 for 1 month.

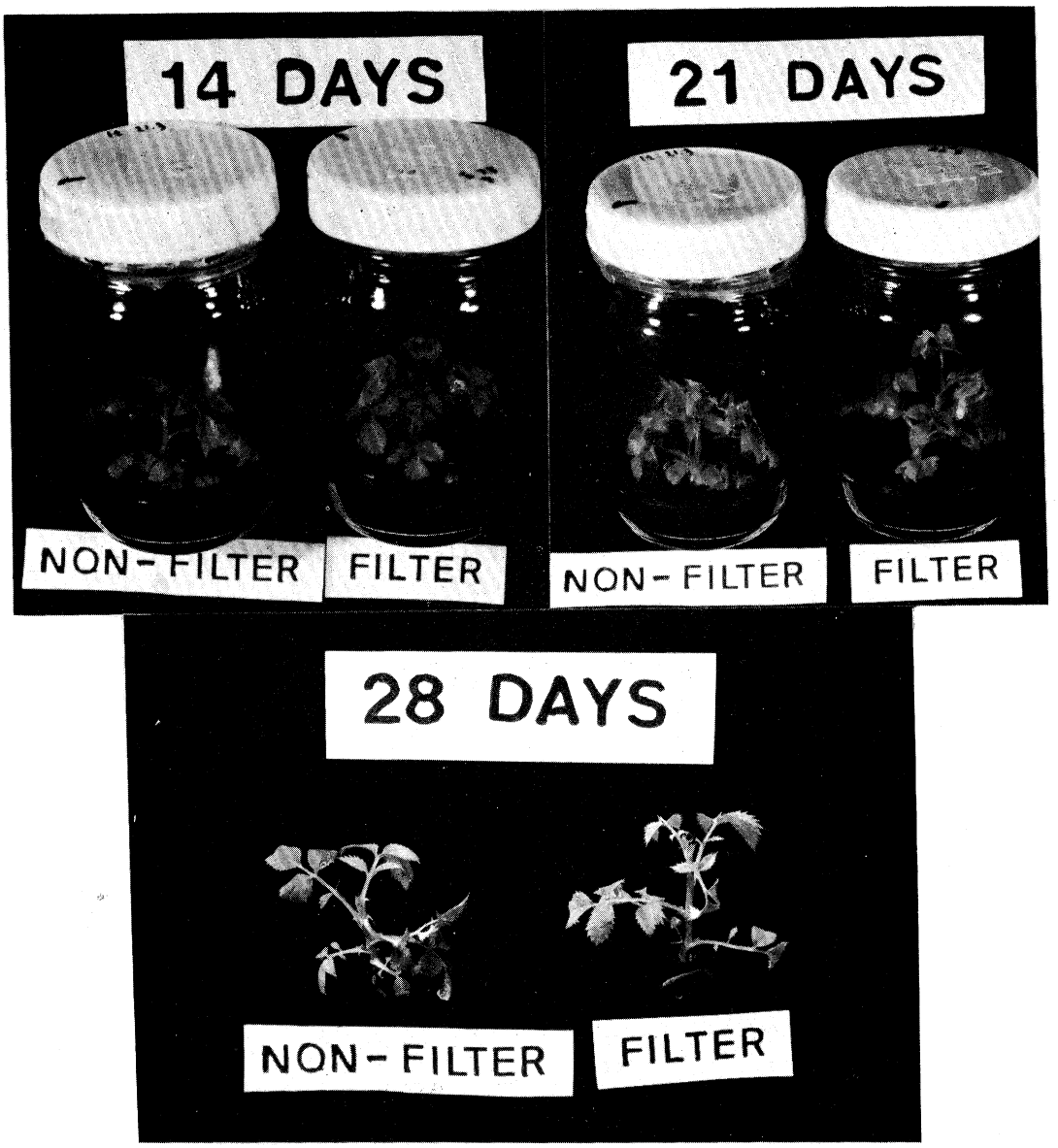


Figure 4. The growth of rose cultured on MS medium containing 4.5% sucrose and 0.5% activated charcoal, compare using the caps with non-filter and filter for 14, 21 and 28 days respectively.

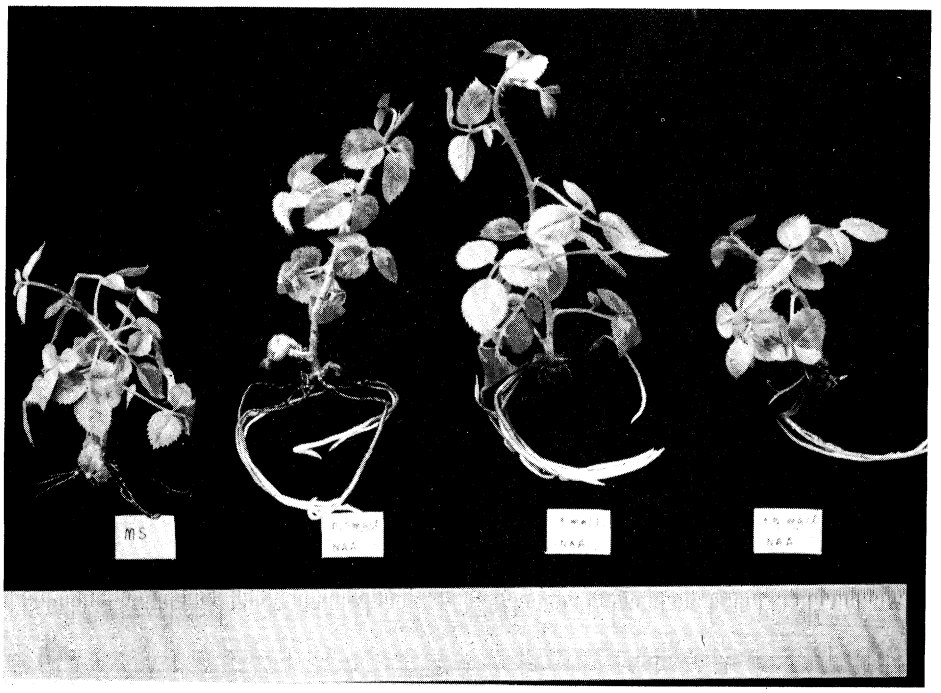


Figure 5. Show the rooted plantlet of roses when culture on MS media varied concentration of 0.5-1.5 mg/l NAA for 1 month.

Figure 6. The transplantation of green and healthy plantlets, 3-week-old, some plantlets showed flower bud initiation.

Table 1. CO_2 concentration inside the bottle with non-filter and with filter (Whatman No. 5) of roses which were cultured on MS + 10% CW + 0.08 g/l adenine sulfate for 1, 2 month, compared with the CO_2 concentration outside.

month		% [CO_2] in bottle non-filter	filter	%]CO_2] out bottle
0	-	-	-	
1		0.116	0.0998	0.08
	M_1*	7.2	3.96	
2		0.2296	0.1372	0.0889
	M_2*	26.68	8.2	

$M = -NV[C_{out} - C]$

* M_1 = CO_2 evolution rate [u $Cm^3CO_2.h^{-1}.vessel^{-1}$] ; 1-month-old rose
* M_2 = CO_2 evolution rate]u $Cm^3CO_2.h^{-1}.vessel^{-1}$] ; 2-month-old-rose

Table 2. The characteristic of rose cultured on MS + 4.5% Su + 0.5% activated charcoal in non-filter and filter condition for 1 month

Observation	non-filter	filter
High increment (initial 2.40 cm.)	0.1182	0.2363
% root induction	36.36	45.45
% yellow leaf	60.46	32.32
% died plantlet	36.36	0

M ค่า M หมายถึง ค่าของ CO_2 evolution rate ถ้า M มีค่าลบจะแสดงค่าการสังเคราะห์แสงของพืชในขวด ถ้าค่า M มีค่าเป็นบวกจะแสดงค่าของการหายใจของพืชในขวด ค่าของ M ที่คำนวณได้จากตารางที่ 1 จะให้ค่าเป็นบวกในทุกกรณีแต่จำนวนตัวเลขจะสูงในขวดที่ปิดฝาพลาสติกธรรมดา (non filter) ซึ่งไม่มีการระบายอากาศ สันนิษฐานว่าในขวดที่ปิดสนิทจะมีการหายใจค่อนข้างสูง มีการผลิตก๊าซ CO_2 ซึ่งจะสะสมอยู่ภายในขวด นอกจากนี้การหายใจของพืชยังส่งเสริมให้มีการสร้างก๊าซเอธิลีน ซึ่งจะมีผลต่อการร่วงของใบพืชตามธรรมชาติกุหลาบเองก็สามารถผลิตก๊าซหอมระเหยบางชนิดได้ แล้วแต่ชนิดของพันธุ์ ดังนั้นภายในขวดจะมีการสะสมก๊าซชนิดต่าง ๆ จนมีผลทำให้ความเข้มข้นหรือปริมาณของก๊าซต่าง ๆ อยู่ในสภาพที่มากเกินไปจนมีผลต่อการเจริญของต้นกุหลาบ พันทวี (2529) รายงานว่าถ้ามีการสะสมก๊าซ CO_2 ในช่วงแรกพืชจะมีการสังเคราะห์แสงได้มาก แต่พืชจะทนระดับที่มีก๊าซ CO_2 สูงได้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง หลังจากนั้น CO_2 ที่ระดับสูงนี้ก็จะเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของพืช อาจจะสังเกตเห็นอาการใบเริ่มเหลือง และร่วงของกุหลาบในการทดลองที่ใช้ฝาปิดสนิท (non-filter) ส่วนในกรณีที่ใช้กระดาษกรอง (filter) สันนิษฐานว่าอากาศจะมีการแลกเปลี่ยนระหว่างอากาศภายในและภายนอกขวด ทำให้พืชได้รับ CO_2 และก๊าซอื่น ๆ ในอัตราที่เหมาะสม มีผลให้ต้นกุหลาบเจริญเติบโตดีกว่า สอดคล้องกับการทดลองของ Kozai (1988) ซึ่งรายงานว่าการใช้แผ่นกรองและระบายอากาศ (gas permeable membrane filter) จะ

ช่วยปรับปรุงสภาพแวดล้อมของแก๊สให้เหมาะสม และมีแนวโน้มจะส่งเสริมการเจริญของยอดและต้นในสภาพปลอดเชื้อ

3. ศึกษาความสมบูรณ์ของต้นกุหลาบในขวดที่มีฝาปิดแบบ non-filter และ filter

หลังจากนำกุหลาบที่มีความสูงประมาณ 3.40 ซม. มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 4.5% และถ่าน (activated charcoal) 0.5% ซึ่งเจริญในขวดที่มีฝาปิดแบบ non-filter และ filter โดยศึกษาการเจริญทางด้านความสูง สีใบ การออกราก (ตารางที่ 2) ในช่วง 14 วันแรก ต้นกุหลาบในขวดทั้ง 2 แบบ มีการเจริญสูงขึ้น แต่เมื่อเลี้ยงครบ 21 วัน ต้นกุหลาบในขวดแบบ non-filter มีอาการใบเหลืองและใบร่วง ในขณะที่กุหลาบในขวดแบบ filter เริ่มมีอาการใบเหลือง เมื่อครบ 28 วัน พบว่าต้นกุหลาบที่เลี้ยงในขวดทั้ง 2 ชนิด เริ่มออกราก จากการทดลองสันนิษฐานว่าต้นกุหลาบที่เลี้ยงในขวดที่มีฝาปิดแบบ filter มีแนวโน้มส่งเสริมการเจริญทั้งลำต้นและรากได้ดีกว่าขวดที่มีฝาปิดแบบ non-filter แต่เนื่องจากสูตรอาหารนี้อาจจะยังไม่เหมาะสมกับการชักนำให้กุหลาบออกราก จึงได้ทดลองเพิ่มเติมเฉพาะสูตรอาหาร และเลี้ยงในขวดชนิดที่เป็น filter อย่างเดียว

4. การชักนำให้กุหลาบออกราก เมื่อเลี้ยงในขวดที่มีฝาปิดเจาะรูและติดกระดาษกรอง whatman เบอร์ 5

เมื่อศึกษาการออกรากของต้นกุหลาบในอาหารแต่ละสูตร พบว่าในอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้กุหลาบออกรากได้ ภายใน 12 วัน แต่ลักษณะของรากจะแตกต่างกัน คือในสูตร MS รากที่งอกค่อนข้างดำ ฝอย ส่วนอาหารที่เติม ฮอร์โมน NAA ตั้งแต่ 0.5-1.5 มก./ล. รากจะยาว ขาว มีปริมาณมาก

กุหลาบสามารถชักนำให้ออกรากได้ค่อนข้างง่ายในอาหารทุกสูตร ในกรณีของอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 4.5% และถ่าน 0.5% กุหลาบออกรากได้น้อยกว่าอาจจะมีผลเนื่องจากปริมาณน้ำตาลและถ่านซึ่งมีปริมาณค่อนข้างสูงเกินไปอาจยับยั้งการออกราก

5. การย้ายปลูก

เมื่อได้ต้นกุหลาบที่ออกรากแล้ว ย้ายลงปลูกในดินผสม ดิน:ทราย:ถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1:1 พบว่ามีอัตราการรอดสูงประมาณ 95% ต้นแข็งแรง เขียวสดใส และบางต้นจะเริ่มออกดอกหลังจากเลี้ยงแล้วประมาณ 3 สัปดาห์ สันนิษฐานว่าต้นที่ย้ายปลูกค่อนข้างแข็งแรง และมีการเตรียมปรับตัวและสภาพแวดล้อมภายในขวดอย่างเหมาะสม อาจเนื่องจากการใช้แผ่นกรองระบายอากาศซึ่งมีผลส่งเสริมการย้ายปลูกให้ประสบผลสำเร็จ ซึ่ง Short and Roberts (1987) กล่าวว่า การลดความชื้นและการระบายอากาศภายในขวดจะมีผลต่อความแข็งแรงของต้น cauliflower ในขวด

สรุป

การใช้แผ่นกระดาษกรอง whatman เบอร์ 5 ติดที่ฝาพลาสติกสามารถระบายอากาศและลดความชื้นสัมพัทธ์ภายในขวด ซึ่งมีแนวโน้มส่งเสริมให้ต้นกุหลาบมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ต้นแข็งแรง ใบเขียวสดใส สามารถย้ายปลูกได้ประสบผลสำเร็จ แต่มีข้อควรคำนึงถึงคือ ขนาดของรูระบายอากาศต้องเหมาะสมกับปริมาตรขวด ถ้ารูมีขนาดใหญ่เกินไป มีการระบายอากาศดีเกินไปจะทำให้อาหารแห้งและมีผลทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมากผิดปกติ

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2530. คู่มือการผลิตไม้ตัดดอก กลุ่มพืชสวน กองส่งเสริมพืชพันธุ์. 100 น.

รงรอง วิเศษสุวรรณ ศิริวรรณ บุรีคำ ชาดา ชัยยะศิริสุวรรณ และ คาสุฮิโร ฟูจิวารา. 2534. การลดอาการอวบน้ำของหม่อนในสภาพปลอดเชื้อ โดยการใช้แผ่นกรองและระบายอากาศ ในรายงานผลการวิจัย สาขาพืช การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 น. 565-573.

พันทวี มาไพโรจน์. 2529. การสังเคราะห์แสงและการหายใจ. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 192 น.

Capellades, M; Fontarnau, R; Carulla, C; Debergh, P. 1990. Leaf water loss and ion content in the guard cells of tissue cultured Rosa multiflora. Hort. Abs. 60(8) : 747.

Fujiwara. K. 2533. Light, gas and water environment in plant tissue culture vessels. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 8 เทคนิคของวิธีการทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยฯ ม.เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน น. 24.

Kozai T. 1988. Autotrophic tissue culture for promoting the growth of plantlets *in vitro* and for reducing biological contamination. International Sym. on Application of Biotechnology for Small Industries Developing Countries Bangkok, Thailand. 21 pp.

Short K.C., Warburtion J. and Roberts A.V. 1987. *in vitro* hardening of cultured cauliflower and chrysanthemum plantlets to humidity. Acta Horticulturae (212) : 329-334.